



Sepax Technologies, Inc.

Delaware Technology Park

5 Innovation Way, Suite 100 Newark DE 19711 USA

Phone: (302) 366-1101; Fax: (302) 366-1151

Toll Free: (877) SEPAX-US; www.sepax-tech.com

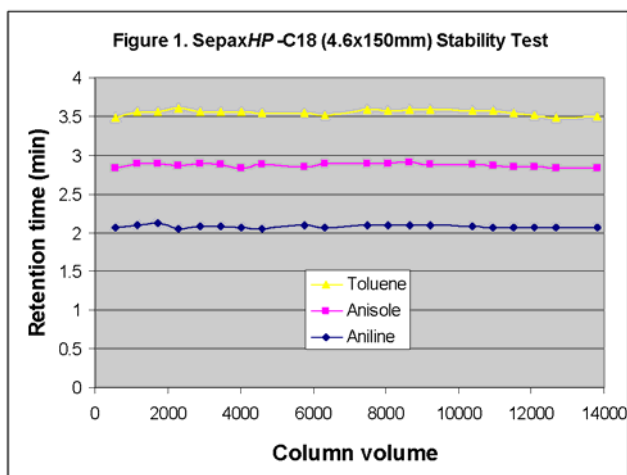
## 赛分 HP-C18 柱使用手册

### 色谱柱信息

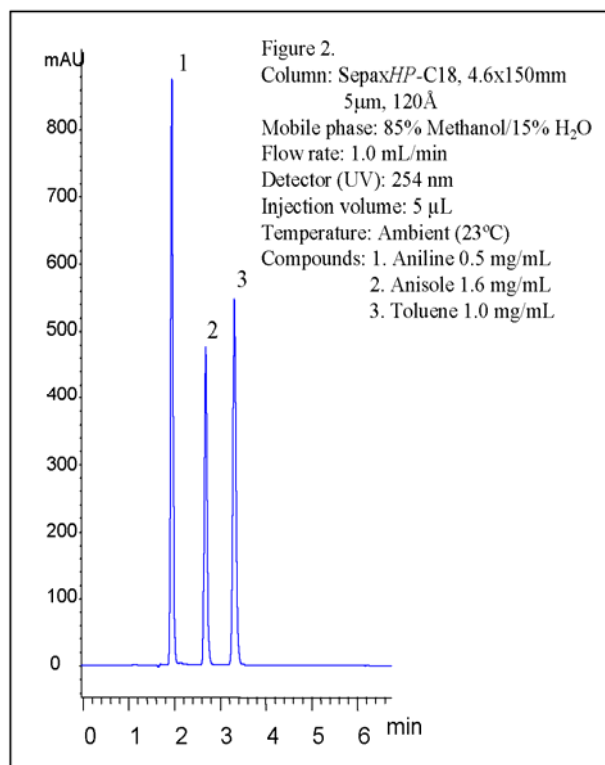
HP-C18 键合固定相采用独特的创新设计，以高纯度具有良好机械稳定性的硅胶为基质，通过采用高纯度键合试剂，最大限度实现单层官能团的覆盖和完全的残余硅醇基封尾，含碳量可高达 15.0%。通过严格控制单分子层形成以及封尾的化学反应条件，可确保柱与柱之间有着可靠的重现性。HP-C18 表面覆盖率已达到最大化，因此具有优异的稳定性。该填料为均一的球形颗粒，孔径 120Å 或 200Å，比表面积 300m<sup>2</sup>/g 或 200m<sup>2</sup>/g。通过运用独有的匀浆装填技术装填得到的 HP-C18 柱柱床密度均一稳定，因此可保证具有最高的柱效。赛分 HP-C18 特别为极性和亲水性化合物的分离而设计，保留效果强且选择性好。专利的表面修饰使其在纯水中也不会引起 C18 键合相的崩解，表现出优异的分性能。该款色谱柱可用于各种极性和非极性化合物，如药物、多肽、氨基酸、寡核苷酸、低聚糖和有机酸等的分离。

### 稳定性和性能

HP-C18 柱使用的是被完全覆盖的键合硅胶填料，因此具有优异的化学稳定性。从图 1 的结果可以看到，3 个标准化合物（苯胺、苯甲醚和甲苯）在运行 13,000 倍柱体积流动相（85% 甲醇-15% 水）后保留时间依然高度重现。



如此高的稳定性使其非常适合于许多分析物的确认。HP-C18 所采用的单层官能团化学键合技术可避免形成复合的 C18 分子层。具备这种均匀涂层的固定相具有高选择性和高分离效率的特点。图 2 是对 4.6×150mm HP-C18 柱进行测试得到的色谱图。



### 安全注意事项

HP-C18 柱通常在高压下运行。如果管路连接不紧，将会导致有机溶剂和注入样品的泄漏，从而对操作人员的健康产生影响。一旦发生泄漏，应佩戴适当的手套进行处理。另外当打开色谱柱时还应采取适当的保护措施，以防止微小的硅胶颗粒进入呼吸道。

### 色谱柱安装与操作

色谱柱在运输过程中或在没有使用时，它的两端总是用堵头进行密封。当将色谱柱接入色谱仪器系统时，首先移去两端的堵头。请注意将流动相流动的方向与柱上标记的方向保持一致。除非出于特殊考虑，例如为了清除堵在色谱柱入口端的脏污等而需要将色谱柱反接以进行冲洗时，建议用户在接上色谱柱时一定要遵循柱上标记的方向。由于色谱

柱的连接是整个色谱操作过程的一部分，如果密封卡套过紧，或安装不合适，或者密封卡套与色谱柱端口不匹配，都有可能造成溶液的泄漏。请按照下面步骤将色谱柱与密封卡套及管线相连接，从而将色谱柱接入 HPLC 系统：

(a) 第一次使用的管线，请依次将管线接头和密封卡套装在外径 1/16”的管线上。密封卡套的宽口端应朝向管线接头。

(b) 将管线紧紧插入色谱柱的接口，向前滑动密封卡套和管线接头，并使管线接头的螺纹与色谱柱端口的螺纹相互衔接，然后拧紧管线接头。如果管线为高分子材料，请转到步骤 (d)；如果是金属管线，请继续 (c)。

(c) 在用力将管线压入柱端接口之后，用 1/4”扳手将已拧紧的螺帽再进一步紧固。

(d) 对色谱柱的另一端采用上述方法进行操作。

新的 HP-C18 柱中的液相是甲醇（或乙腈）与水的混合溶液。在储存和运输过程中，硅胶填料可能会干涸。这时推荐用 10-20 倍柱体积的纯有机溶剂如甲醇、乙腈等进行冲洗以活化色谱柱。接着可用用户自己选择的流动相冲洗色谱柱。流速由 0.1mL/min 逐渐升至所需的操作条件，直至基线稳定为止。如果柱压和基线波动较大，这可能是气泡进入了色谱柱中。这时可用较高流速冲洗色谱柱 2-5 分钟，例如 4.6×150mm 的色谱柱可采用流速 2mL/min。

### 样品与流动相

为了避免色谱柱的堵塞，所有样品和溶剂，包括缓冲溶液在内，都必须在使用前用 0.45μm 或 0.2μm 的滤膜过滤。赛分 HP-C18 键合相特别为与水流动相相容而设计；即使使用纯水来进行分离，固定相也会很稳定。HP-C18 键合固定相与许多溶剂相容，包括有机溶剂，水缓冲溶液，或者有机溶剂与水的混合液如甲醇（或乙腈）的水溶液等。流动相在使用前需要脱气。一个简单的脱气方法是将流动相在由水泵形成的真空下超声 5min。当 HP-C18 柱用于梯度洗脱时，起始流动相通常为 5% 甲醇（或乙腈）。

### 色谱柱的保养

**pH** 避免在 pH 低于 2 或高于 9 的条件下使用 HP-C18 柱。较高的 pH 会溶解硅胶，从而使部分或全部 C18 链从固定相表面脱落，引起分离效率的降低和保留时间的改变。为了获得最佳的分离效果和延长柱的使用寿命，请尽量使用 pH 在 3-7.5 范围内的流动相。

**压力** 尽管 HP-C18 柱可在高至 5000psi 的压力下

使用，但正常的操作压力应当低于 3000psi。长时间在高压下运行会损坏色谱柱和输液泵。由于压力来源于流速，因此最大流速将受制于系统所能承受的压力。一般而言，柱压会随着色谱柱使用时间的增加而逐渐增加。压力突然增加预示色谱柱入口端的筛板发生了堵塞。在这种情况下，建议将色谱柱反接后用适宜的溶剂进行冲洗。

**温度** 最高操作温度为 60°C。长时间在高温 (>75°C) 下操作也会损坏色谱柱，这种情形在高的 pH (>8) 条件下特别突出。

**储藏** 长期不用时，请不要让水或缓冲液存留在色谱柱中。在替代缓冲液时，请用至少 20-30 倍柱体积的 50% 甲醇（或乙腈）的水溶液冲洗色谱柱，再用 20-30 倍柱体积的纯有机溶剂如乙腈等进行冲洗。每根色谱柱在运输过程中均会附有两个可拆卸的堵头。为了防止柱床干涸，请用堵头塞紧色谱柱的两端。

### Sepax HP-C18 产品规格

内径×长度	粒径	孔径	型号
2.1×150mm	3 μm	120 Å	103183-2115
4.6×250mm	3 μm	120 Å	103183-4625
4.6×150mm	3 μm	120 Å	103183-4615
4.6×50mm	3 μm	120 Å	103183-4605
2.1×150mm	5 μm	120 Å	103185-2115
2.1×100mm	5 μm	120 Å	103185-2110
2.1×50mm	5 μm	120 Å	103185-2105
2.1×30mm	5 μm	120 Å	103185-2103
4.6×250mm	5 μm	120 Å	103185-4625
4.6×150mm	5 μm	120 Å	103185-4615
21.2×250mm	5 μm	120 Å	103185-21225
21.2×150mm	5 μm	120 Å	103185-21215