

HP-Amide 色谱柱使用手册

色谱柱信息

HP-Amide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，最大限度实现酰胺基团覆盖。通过严格控制酰胺表面修饰形成的化学反应条件，可确保柱与柱之间有着可靠的重现性。HP-Amide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80 Å、100 Å，粒径1.8 μm和5.0 μm。通过运用独有的匀浆装填技术装填得到的HP-Amide柱柱床密度均一稳定，因此可保证具有最高的柱效。HP-Amide柱特别适合于高选择性地分离极性和亲水性化合物。HP-Amide柱固有的酰胺基团作用对大多数非极性化合物的保留作用将非常小。HP-Amide柱在有机溶剂或水与有机溶剂（如甲醇、乙腈等）的混合物中有很好的分离效果。该款色谱柱特别适合于分离极性和非极性化合物如药物、多糖、氨基酸、核苷酸和有机酸等。

安全注意事项

HP-Amide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。

稳定性和性能

HP-Amide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，特别适合于许多分析物的确认。所采用的化学键合技术可避免形成复合的吡啶分子层。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。分离可以在诸如己烷等非极性溶剂或乙腈的水溶液等极性溶剂中进行。右图1是对4.6×250 mm HP-Amide柱进行测试得到的色谱图。

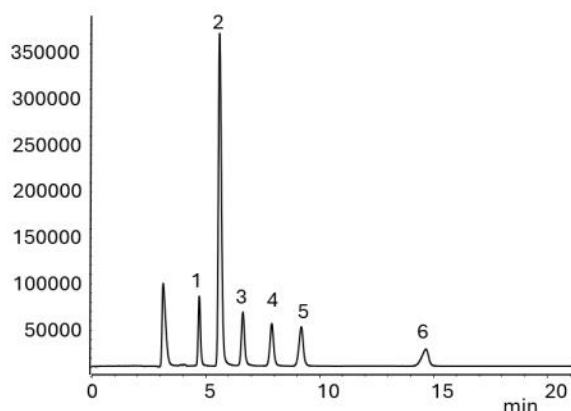


图1. HP-Amide色谱柱混合样品洗脱曲线

色谱柱: 5 μm, 80 Å, 4.6×250 mm

流动相: acetonitrile: water (75:25)mixture

流速: 1.0 mL/min

温度: 25 °C, 检测器: UV 214 nm 进样体积: 10 μL

样品: 1) ethylene glycol; 2) glycerol; 3) erythritol; 4) xylitol
5) mannitol; 6) inositol

色谱柱安装及操作

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。

(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-Amide 柱保存在乙腈-水的混合溶液中。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 0.1 mL/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 × 150 mm 的色谱柱可采用流速 2 mL/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 0.45 μm 或 0.2 μm 的滤膜过滤。HP-Amide 键合固定相与许多溶剂相容，这些溶剂既可以是非极性溶剂如异丙醇/己烷等，也可以是极性溶剂如水、有机试剂与水的混合物（如甲醇或乙腈的水溶液），或缓冲液（如磷酸盐或硼酸盐）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 5 min。

色谱柱的保养

pH 避免在 pH 低于 3 或高于 8 的条件下使用 HP-Amide 柱。较高的 pH 会溶解硅胶，从而使部分或全部的吡啶基团从固定相表面脱落，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 3-8.0 范围内的流动相。

压力 尽管 HP-Amide 柱可在高至 5,000 psi 的压力下使用，但正常的操作压力应当低于 3,000 psi。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% 乙腈-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。

HP-Amide 产品规格

产品	内径×长度 mm×mm	粒径 μm	孔径 Å	货号
HP-Amide	2.1×150	1.8	100	121121-2115
HP-Amide	4.6×150	5	80	121085-4615
HP-Amide	4.6×250	5	80	121085-4625

*其他规格色谱柱产品及任何问题可致电：400-636-8880
或联系 marketing@sepax-tech.com.cn。