

GL Sciences 技尔 液相色谱柱使用维护指南

目录

- 入门指南
 - 色谱柱安装
 - 色谱柱的活化与平衡
 - 柱效测试
- 色谱柱使用
 - pH适用范围及耐温
 - 压力范围
 - 溶剂选择
 - 保护柱的选择
- 色谱柱清洗、再生及保存
 - 正相色谱柱
 - HILIC色谱柱
 - 反相色谱柱
- 其他日常使用注意事项
- 常见峰形问题及解决思路



技尔上海官方微信公众号

GL Sciences液相色谱柱

- Inertsil系列
- InertSustain系列
- WondaSil系列
- GL系列

关于技尔GL Sciences

技尔(上海)商贸有限公司是由日本色谱耗材、分析仪器生产厂商GL Sciences在中国设立的全资子公司。我们秉承“以用户需求为先”的理念, 将GL Sciences在色谱行业积累的经验与不断发展的进步科技相结合, 为中国色谱行业用户提供解决方案与服务, 让您的色谱分析工作更便捷。

GL Sciences扎根分析领域五十余年, 旗下产品覆盖环境、医药、材料、食品、化工、生命科学等多个领域, 可为客户提供分析中所需的仪器及耗材。

1. 入门指南

a. 色谱柱安装-关于接头

GL Sciences自2019年后出厂的液相色谱柱接头形式为UP型, 市面HPLC色谱柱接头有1/16英寸W型和Parker型(UP型), 使用不匹配的接头可能会导致死体积、液体泄漏以及无法连接到管路, 使用不锈钢管路时需特别注意。



b. 色谱柱的活化与平衡

种类	主要色谱柱	出厂封存溶剂
反相柱	Inertsil hybrid-C18, InertCore C8, InertCore Biphenyl, InertSustain C18, AQ C18, phenyl, PFP, Cyano等 Inertsil ODS-4, ODS-3, C8-3, Ph-3等	65%乙腈/35%水混合溶液
正相柱	InertSustain NH2 Inertsil SIL-100A, CN-3, NH2, Diol等	98%正己烷/2%乙醇混合溶液
HILIC柱	InertSustain Amide, Inertsil HILIC, Amide等	95%乙腈/5%水混合溶液
	InertSustain NH2 with 100%CH ₃ CN	100%乙腈
离子交换柱	Inertsil CX, Inertsil AX等	100%甲醇

色谱柱活化常用封存溶剂或较高比例(80%以上)有机相, 活化流速可逐渐升高至实验常用流速, 再活化30倍柱体积以上(如5 μ m, 250 \times 4.6mm I.D.色谱柱, 流速可在0.5h内由0.2升至1.0mL/min, 再活化2h以上), 之后使用初始比例实验流动相平衡。注意: 若流动相为含盐体系, 需先用初始比例不含盐的流动相过渡。

正相模式色谱柱: InertSustain NH2, Inertsil SIL-100A, CN-3, NH2, Diol等可以使用98%正己烷:2%乙醇活化。InertSustain NH2, Inertsil NH2出厂保存溶剂为98%正己烷:2%乙醇。若用在HILIC模式中, 应使用异丙醇过渡后, 再使用高比例乙腈活化。

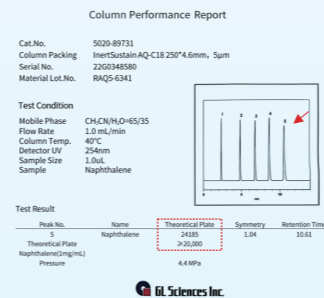
反相模式色谱柱: Inertsil hybrid-C18, InertCore C8, InertCore Biphenyl, InertSustain C18, AQ-C18, phenyl, PFP, Cyano等, Inertsil ODS-4, ODS-3, C8-3, Ph-3等, 可以使用高比例(80%以上)乙腈或甲醇活化。

HILIC模式色谱柱: InertSustain Amide, Inertsil HILIC, Amide等, 可以使用95%乙腈:5%水活化。InertSustain NH2, Inertsil NH2应使用异丙醇过渡后, 再使用高比例乙腈活化。InertSustain NH2 with 100%CH₃CN可以使用100%乙腈活化。

c. 柱效测试

如何测试柱效: 我们建议在收到新柱以及使用过程中定期进行柱效测试, 以便监视色谱柱性能变化。可根据随附的柱效报告所示条件, 以1mg/mL浓度萘为样品进行测试, 萘峰理论塔板数即为柱效数据, 同时关注保留时间、拖尾因子、柱压等参数。

新柱测试数据偏低的原因: 您在实验室条件下测试所得数据可能低于“Column Performance Report”中所示柱效, 不必担心, 测试数值不低于出厂报告值的70%是符合预期的, 由于GL Sciences色谱柱出厂时所进行的柱效测试是在更加严谨的液相系统上进行, 死体积更小, 也是为了得到更加严格的数据。需注意: 小柱体积色谱柱柱效数据受系统死体积影响更大。



2. 色谱柱使用

a. pH适用范围及耐温

Inertsil系列色谱柱pH适用范围一般为2-7.5, 而聚合物包被封端的InertSustain系列常规反相柱pH适用范围多为1-10, 最高耐温均为60°C。但是也需综合考虑, 如InertSustain AQ-C18在pH1-7条件下最高耐温60°C, 在pH7-10条件下最高耐温为50°C。若您需要耐碱性更强的色谱柱, Inertsil Hybrid-C18在温度不超60°C条件下pH耐受1-12。

产品	使用pH范围(常用20~40°C)	最高使用温度	
Inertsil hybrid-C18	1-12	80°C (pH1-10)	60°C (pH1-12)
InertSustain C18, Swift C18, Bio C18, AQ-C18	1-10	60°C (pH1-7)	50°C (pH1-10)
InertSustain C8, Swift C8, phenylhexyl	1-10	60°C (pH2-7)	50°C (pH1-9)
InertSustain Amide	2-8.5	60°C (pH2-7)	50°C (pH2-8.5)
InertSustain phenyl, NH2, Cyano, PFP	2-7.5	60°C (pH2-7)	50°C (pH2-7.5)
Inertsil系列	2-7.5	60°C (pH2-7)	50°C (pH2-7.5)

b. 耐压

如右图, 表格说明了我司不同粒径色谱柱的耐压情况。需注意: 尽量避免在极限压力、pH和/或温度下运行, 否则可能会导致色谱柱加快劣化。

*1MPa=10bar \approx 145psi

*不同内径、粒径色谱柱推荐流速

柱内径mm	流速mL/min	粒径 μ m	对应技术
>20	>150	10-25	制备
10	30	5-10	半制备
3/4/4.6	0.6-1.2	3-5	HPLC
2/2.1	0.25-1	\leq 2-3	UHPLC

粒径	色谱柱尺寸	推荐使用压力
1.9 μ m, 2 μ m	所有尺寸	80MPa以下
HP 3 μ m	所有尺寸	50MPa以下
3 μ m, 5 μ m	所有尺寸	20MPa以下

*Inertsil hybrid-C18除外

c. 溶剂选择

为减缓色谱柱劣化, 推荐用较优质的色谱级溶剂, 添加盐的缓冲相, 需用0.22 μ m滤膜过滤。确认样品无固体颗粒等异物, 样品溶剂尽量与流动相初始梯度成分相近。流动相或样品含有固体颗粒或由于通入的溶剂不合适造成盐析, 会导致色谱柱堵塞, 压力升高, 柱效下降。

d. 保护柱选择

- 填料对应: 确保分离选择性一致
- 规格匹配: 粒径一致, 内径相近
- 连接死体积尽可能小(尤其小内径色谱柱)
- 耐压符合要求, 与UHPLC柱匹配, 需耐高压



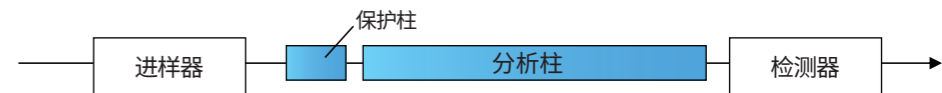
GL Cart经济款保护柱
柱芯*5+柱套*1

UHPLC分析保护柱
柱芯*2+柱套*1

填料	粒径 μ m	货号(柱芯*5+柱套*1)
InertSustain AQ-C18	3	5020-89919
	5	5020-89823
InertSustain AX-C18	3	5020-91083
	5	5020-91036
Inertsil ODS-HL	3	5020-87314
	5	5020-87224

*更多产品信息详询客户服务热线400-089-1889。

保护柱可有效延长色谱柱使用寿命。由泵、流动相、样品带入的不溶性颗粒会堵塞色谱柱, 还有样品可能存在的强吸附、可溶性污染物也会损伤色谱柱, 如反相模式样品中高疏水性、正相模式中高极性杂质。保护柱可提前去除这些杂质。



3. 色谱柱清洗、再生及保存

完成实验后,需充分对色谱柱进行清洗后再保存,清洗时需谨慎操作以避免缓冲盐析出。色谱柱峰形变差、展宽、分叉、漂移或背压升高等,都可能使色谱柱受到污染、柱效降低,必要时可对色谱柱进行再生清洗。

	反相	正相	HILIC
冲洗	<ul style="list-style-type: none"> 若流动相中含有缓冲盐或离子对,先用高比例水相冲洗5-10倍柱体积,再以高比例有机相冲洗5-10倍柱体积。 若色谱柱内发生轻微盐析可使用80%或更高比例的3%磷酸水:20%有机进行冲洗使可能存在磷酸盐、醋酸盐等更易溶解。 	<ul style="list-style-type: none"> 可使用高比例正己烷冲洗5-10倍柱体积。 	<ul style="list-style-type: none"> 可使用流动相冲洗 若流动相中有缓冲盐,可使用50%水乙腈进行冲洗5-10倍的柱体积,再使用高比例乙腈冲洗保存(注意无论使用还是冲洗,水相最高不应超过50%,以防止过大极性溶剂破坏固定相)。
再生	<ul style="list-style-type: none"> 可依次使用非极性逐渐增强的溶剂(如甲醇-乙腈-异丙醇)冲洗色谱柱,换为100%异丙醇时冲洗5-10倍柱体积,由于异丙醇粘度较大,需时刻注意压力,可适当降低流速,避免超压。 	<ul style="list-style-type: none"> 可依次使用极性逐渐增强的溶剂(如正己烷-异丙醇)冲洗色谱柱。 	<ul style="list-style-type: none"> 可使用最高50%水乙腈进行冲洗5-10倍的柱体积。
保存	<ul style="list-style-type: none"> 保存在高比例有机(甲醇或乙腈)中若停用时间超过一周,最好保存在纯有机相中。 	<ul style="list-style-type: none"> 高比例正己烷冲洗后保存在正己烷中。 	<ul style="list-style-type: none"> 保存在纯乙腈中。

4. 其他日常使用注意事项

1. 色谱柱内保存溶剂与仪器系统内存留溶剂如若和流动相不匹配,需提前过渡转换。特别是流动相含有缓冲盐时,直接通入高有机相保存的色谱柱内可能会造成盐析。
2. 常见缓冲盐缓冲范围及溶剂截止吸收波长:

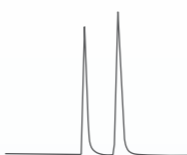
缓冲盐	pKa	缓冲范围	挥发性	溶剂	截止吸收波长
TFA	0.3	-	挥发	甲醇	205
甲酸	3.75	-	挥发	乙醇	210
乙酸	4.76	-	挥发	乙腈	190
甲酸盐NH ₄ COOH	3.75	2.75-4.75	挥发	异丙醇	205
乙酸盐NH ₄ CH ₃ COOH	4.76	3.76-5.76	挥发	四氢呋喃	230
磷酸盐1	2.15	1.15-3.15	非挥发	正己烷	200
磷酸盐2	7.2	6.20-8.20	非挥发	二氯甲烷	233
磷酸盐3	12.3	11.3-13.3	非挥发	TFA	210 (0.1%)
氨水	9.2	8.2-10.2	挥发	醋酸	210 (10mM)
醋酸盐	9.2	8.2-10.2	挥发	磷酸	<200 (0.1%)
硼酸盐	9.2	8.2-10.2	非挥发	三乙胺	<200 (10mM)

3. 正确使用缓冲盐:使用前过滤,脱气,使用后冲洗。建议样品使用针头过滤器过滤以避免堵塞色谱柱筛板,推荐使用0.22μm的滤膜过滤。
4. 初次在反相柱中使用离子对试剂时,需充分平衡,约4-5h,平衡不充分可能会出现峰漂移现象。实验结束后,也需使用高比例水相→高比例有机相梯度充分清洗。使用了离子对的色谱柱最好专柱专用,不然可能会影响方法的重现性。
5. 若色谱柱需要长时间停用,使用保存溶剂保存后,拧紧堵头,可使用封口膜再次密封,减少溶剂挥发。启用时,最好再进行一次活化过程。
6. 应避免压力和温度的急剧变化及强烈的机械振动,在调节流速及流动相比时应该缓慢进行。在冲洗和再生时可适当升高柱温。
7. 常用规格色谱柱的柱体积:

柱尺寸mm×mm	Φ4.6×250	Φ4.6×150	Φ3×150	Φ2.1×150	Φ4.6×50
柱体积mL	2.5	1.5	0.64	0.28	0.5

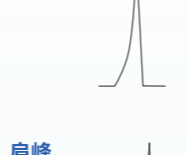
5. 常见峰形问题及解决思路

峰拖尾



原因	排查
管路连接存在死体积	重新正确连接
保护柱污染	取下保护柱或更换新的保护柱尝试
样品吸附	如是可逆性吸附,可清洗解决;如是不可逆性吸附,需更换新的柱子
流通池与进样体积	更换成匹配的流通池,如问题解决,就是流通池的问题
溶剂效应	可使用初始比例流动相作为进样溶剂来进样尝试
样品浓度过高或进样量过大	稀释后再分析如果变正常了就是样品浓度或进样量的问题,可降低进样量或样品浓度、使用碳含量高的色谱柱
仪器漏液	检查漏点并修复

峰前延



原因	排查
样品浓度过高或进样量过大	稀释后再分析,降低进样量或样品浓度、使用碳含量高的色谱柱
柱头堵塞	清洗柱子或更换新色谱柱
柱温偏低	升高柱温

肩峰



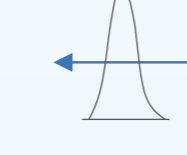
原因	排查
柱头堵塞(大多是因缓冲液结晶所致)	高比例水相清洗柱子或更换新色谱柱
流动相pH不合适	了解目标物pKa,调整流动相pH值
流动相梯度过大	优化流动相梯度

宽峰



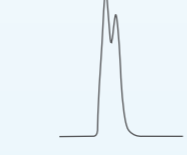
原因	排查
出峰时间过长	更换为碳含量低的柱子或短柱,改为梯度分析,降低缓冲液浓度,选择表面多孔填料液相色谱柱
色谱柱污染或失效,造成塔板数降低	清洗柱子,若不行更换新色谱柱
柱子与检测器之间的PEEK管路太长或管路内径太大	更换内径较小的短管路
检测器池体积过大或检测器配置不恰当	使用更匹配的流通池

峰漂移



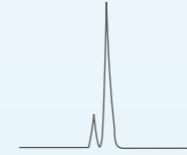
原因	排查
色谱柱平衡不充分	流动相充分平衡10倍柱体积以上
流动相污染或组成变化	重配流动相
固定相劣化、色谱柱污染	再生冲洗或更换新色谱柱
柱温不稳定	检查柱温箱,避免温度波动

分叉峰



原因	排查
样品浓度过高或进样量过大	稀释后再分析,降低进样量或样品浓度、使用碳含量高的色谱柱
色谱柱前端部分的污染	清洗色谱柱并使用保护柱或更换新色谱柱
异构体杂质分析时出现分叉峰	确认出峰的物质本身是一个物质还是两个物质,确认分析物本身是否发生降解
溶剂效应	更改溶剂溶剂,推荐使用流动相溶解

未分离



原因	排查
流动相梯度洗脱设置不合理	优化梯度洗脱程序
流动相污染或变质(引起保留时间变化)	重新配置流动相
色谱柱固定相选择不合适	选择更合适固定相的色谱柱
柱温偏低	升高柱温
保护柱或分析柱污染	去掉保护柱或者更换保护柱,如果分析柱阻塞,建议进行再生或更换色谱柱

仪器咨询

如您有关于仪器方面的疑问,可通过右侧途径进行咨询,我们会尽快与您取得联系。

STEP1:扫描**技尔(上海)**官方微信公众号

STEP2:回复关键词【**仪器**】

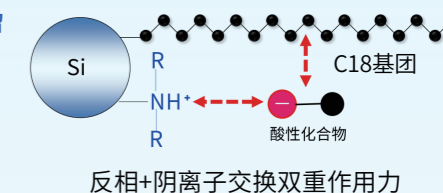
STEP1

STEP2

适合酸性化合物分析液相色谱柱—InertSustain AX-C18

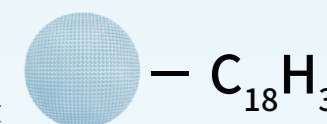
键合C18和叔胺基团,增强酸性、极性化合物保留

- 聚合物包被封端,惰性更高
- 低背压、高耐久、高批次重现性
- pH耐受范围1-9



杂化硅胶液相色谱柱—Inertsil Hybrid-C18

- 稳定耐用的杂化有机/无机基质颗粒
- 改善碱性化合物峰形-硅烷醇活性低
- 操作pH范围更宽(1-12),提升方法开发灵活性
- 机械强度高,能够在UHPLC操作压力下大幅提高柱效
- 能兼容100%水系流动相方法



电化学检测器 ED743

电化学检测器具有高灵敏度和高选择性的特点,适用于分析紫外吸收较弱、但易发生氧化/还原反应的化合物,其检测原理为通过对流通池中的电极施加电位,测量由于电子转移产生的电流,来达到定量效果。



ED743电极类型及可分析物选择

钻石电极/部分可对应玻璃碳电极		金电极	产品名	Cat.No.
维生素: 抗坏血酸 生物素等	儿茶酚胺及相关物质: 去甲肾上腺素 多巴胺 肾上腺素 血清素等	糖·糖醇:葡萄糖 乳糖 果糖 木糖醇 蔗糖 山梨糖醇等	ED743配套钻石电极流通池	6001-74310
酚类: 氯酚 酚酸 儿茶素 双酚 雌二醇等	特定氨基酸/肽: 酪氨酸 胱氨酸 蛋氨酸 色氨酸 半胱氨酸 GSH GSSG	白金电极 过氧化氢等	ED743配套金电极流通池	6001-74311
		银电极 碘等	ED743配套玻璃碳电极流通池	6001-74312
			ED743配套银电极流通池	6001-74313
			ED743配套白金电极流通池	6001-74314

GLS系列针式过滤器及进样瓶

样品及流动相需过滤后上机。针对样品过滤,推荐GLS Filter系列针式过滤器,根据使用环境可选不同滤头产品。同时,我司也有高性价比进样小瓶等产品,欢迎广大客户选购。

- 聚醚砜(PES):主要用于水系,pH范围广。
- 尼龙(Nylon):主要用于有机系,也可用于水系。
- 聚四氟乙烯(PTFE):分亲水PTFE和疏水PTFE,耐受大多强酸强碱。
- 聚偏氟乙烯(PVDF):分亲水PVDF和疏水PVDF,高化学稳定性和惰性,耐腐蚀、强酸、强碱。

产品	描述	货号
聚醚砜(PES)	直径13mm,孔径0.22μm,包边,无印字	GLS0622
尼龙(Nylon)	直径13mm,孔径0.22μm,包边,无印字	GLS0602
聚四氟乙烯 亲水(PTFE)	直径25mm,孔径0.22μm,包边,无印字	GLS0608
聚偏氟乙烯 疏水(PVDF)	直径25mm,孔径0.45μm,包边,无印字	GLS0621
进样小瓶	2mL 12×32mm 透明螺纹带刻度	GLS0008
小瓶瓶盖	红PTFE白胶垫片 蓝色开孔盖	GLS0143

*更多产品信息详询客户服务热线400-089-1889。

技尔(上海)商贸有限公司 GL Sciences (Shanghai) Ltd.

- 技尔(上海)商贸有限公司 地址:上海市长宁区仙霞路319号远东国际广场A座903室 电话:021-62782272
 - 技尔(上海)实验器材有限公司 地址:上海市长宁区仙霞路319号远东国际广场A座902室 电话:400-089-1889
 - 技尔应用技术中心 地址:上海市徐汇区桂林路418号1号楼701室 电话:021-64260228
 - 技尔成都分公司 地址:成都市锦江区东御街18号百扬大厦2602室 电话:028-85596177
 - 技尔广州办事处 地址:广州市天河区天河北路233号中信广场办公楼3217单元 电话:020-38101074
- 客户咨询热线:400-089-1889 邮箱:contact@glsciences.com.cn 网址:www.glsciences.cn



技尔(上海)官方网站 技尔(上海)官方微信公众号