

# Atlantis Premier BEH C<sub>18</sub> AX色谱柱

## 目录

- I. 简介
- II. 入门指南
  - a. e-Cord安装
  - b. 色谱柱安装
  - c. 色谱柱平衡
  - d. 初始柱效测定
- III. 色谱柱使用
  - a. 样品制备
  - b. pH范围
  - c. 溶剂
  - d. 压力
  - e. 温度
  - f. 更换VanGuard FIT保护柱
- IV. 色谱柱清洗、再生和储存
  - a. 清洗与再生
  - b. 储存
- V. eCORD智能芯片技术
  - a. 简介
  - b. 安装
  - c. 生产信息
  - d. 色谱柱使用信息
- VI. 注意事项

## I. 简介

非常感谢您选择Waters™ Atlantis™ Premier BEH C<sub>18</sub> AX色谱柱。Atlantis Premier BEH C<sub>18</sub> AX色谱柱填料由通过cGMP和ISO9001认证的工厂采用超纯试剂制造而成。每批Atlantis Premier BEH C<sub>18</sub> AX色谱柱填料都经过色谱测试，其结果均在合格范围内，可确保色谱柱具有优异的重现性能。每根色谱柱都经过单独测试，色谱柱包装或eCord™智能芯片中随附性能色谱图和批次COA报告(Certificate of Analysis)。

Atlantis Premier BEH C<sub>18</sub> AX色谱柱提供带或不带VanGuard™完全集成技术(FIT)保护柱两种规格。VanGuard FIT保护柱专为延长分析柱使用寿命而设计，可防止不需要的样品基质或颗粒物进入色谱柱，而不会影响分离性能。VanGuard FIT保护柱可轻松更换，以便恢复分离性能，延长分析柱的使用寿命。

Atlantis Premier BEH C<sub>18</sub> AX色谱柱采用创新型MaxPeak™高性能表面技术，该技术能够尽可能减少分析物/表面相互作用，避免可能由此造成的样品损失，从而提高分析物回收率、分析灵敏度和重现性。



## II. 入门指南

每根Atlantis Premier BEH C<sub>18</sub> AX色谱柱的色谱柱包装盒或色谱柱eCord智能芯片中都随附COA报告和性能测试色谱图。批次COA报告为每批填料所特有，包括批号、未键合颗粒和键合颗粒分析结果，以及色谱结果和检测条件。性能测试色谱图提供每根色谱柱的以下信息：批号、色谱柱序列号、USP正切法柱效、USP拖尾因子、保留因子以及色谱条件。这些数据应妥善保存，以备将来参考。如果无法读取eCord智能芯片中的信息，可访问[www.waters.com/coa](http://www.waters.com/coa)获取COA报告和性能测试色谱图。

### a. eCord安装 (可能并非所有色谱柱配置都适用)

eCord智能芯片按钮适用于ACQUITY™ UPLC™和ACQUITY Arc™系统，应安装在仪器柱温箱模块的侧面。eCord按钮经过磁化处理，不需要专门安装。有关eCord智能芯片功能的更多信息，请参阅本维护和使用手册第V部分。

### b. 色谱柱安装 (带或不带VanGuard FIT保护柱)

注：在处理Atlantis Premier BEH C<sub>18</sub> AX色谱柱和任何化学品之前，请咨询您的安全主管部门和/或参照当地法规，使用适当的防护装备。请参阅本文档第VI部分获取更多信息。

Atlantis Premier BEH C<sub>18</sub> AX色谱柱出厂时保存于100%乙腈中；以下步骤中给出的流速适用于典型2.1 mm内径 x 50 mm柱长的1.7 μm色谱柱。

1. 灌注泵系统，排出其中含缓冲液的流动相，然后将色谱柱的入口端连接至进样器出口。
2. 将泵流速设置为0.1 mL/min，并且在5 min内增加至0.5 mL/min，用100%有机流动相(甲醇或乙腈)冲洗色谱柱。

3. 当流动相可从色谱柱出口自由流出时，停止液流并将色谱柱出口连接至检测器。这能防止空气进入检测系统。
4. 按照步骤2所述逐渐增加流速。
5. 一旦背压和基线达到稳定状态，即可继续进行下一部分操作。

注：这些色谱柱需要的初始平衡时间可能比传统反相色谱柱更长。

### c. 色谱柱平衡

在将色谱柱更换至其它流动相体系之前，务必确保流动相的兼容性。请用至少10倍柱体积的流动相平衡色谱柱(请参阅表1中的色谱柱体积)。当色谱柱达到恒定背压时，可认为该柱已达到热平衡。

表1.空色谱柱体积(mL)  
(乘以10得到冲洗溶剂体积)

柱长(mm)	内径	
	2.1 mm	4.6 mm
30	0.10	-
50	0.17	0.83
75	0.26	1.25
100	0.35	1.66
150	0.52	2.49
250	-	4.15

为了避免流动相缓冲液在色谱柱或系统中发生沉淀，使用五倍柱体积的水/有机溶剂混合物冲洗色谱柱，其中有机溶剂的比例与将要使用的缓冲流动相相同或更低。(例如，使用60%的甲醇水溶液冲洗色谱柱和系统，然后再引入60%甲醇/40%缓冲液的流动相)。

#### d. 初始柱效测定

1. 使用色谱柱之前，需要先进行一次柱效测试。这项测试可包括：
  - a. 您所在实验室常用的分析测试混合物，和/或
  - b. 色谱柱随附的“性能测试色谱图”中的分析混合物。

注：如果采用b项的分析物进行柱效测试，那么您所在实验室在等度条件下测得的柱效可能低于沃特世“性能测试色谱图”中所示的柱效。这种情况是正常的。为了尽可能减小系统体积，沃特世的等度色谱柱测试系统进行了相应的改进。这是对色谱柱的填充优劣程度更为严格的测试，能够保证最高的填充柱品质。这些特殊的测试系统经过修改后，变得不具商业可行性，并且除等度色谱柱测试外，方法的灵活性亦受限。

2. 测定理论塔板数(N)，并定期对比该数值。
3. 按预定的时间间隔进行重复测试，跟踪色谱柱性能随时间的变化情况。采用两台不同的系统进行测试时，所得柱效结果可能会有微小差异，这可能是由于连接质量、运行环境、系统电子设备、试剂质量、色谱柱条件和操作员技术等因素所致。

### III. 色谱柱使用

为了确保Atlantis Premier BEH C<sub>18</sub> AX色谱柱始终保持优良性能，请遵循以下原则：

#### a. 样品制备

1. 样品中的杂质通常会污染色谱柱。避免污染的方法之一是在分析之前使用填充有适当填料的Oasis™固相萃取小柱/色谱柱或Sep-Pak™小柱净化样品。有关详细信息，请访问 [www.waters.com/sampleprep](http://www.waters.com/sampleprep)
2. 为获得最佳峰形和灵敏度，最好使用操作流动相或比操作流动相更弱的流动相来制备样品。除非已安装了己烷/四氢呋喃兼容性套件，否则切勿将丙酮用作样品溶剂/稀释剂。
3. 如果样品不溶于流动相，请确保样品、溶剂和流动相可以混溶，以避免样品和/或缓冲液产生沉淀。
4. 用0.2 μm滤膜过滤样品，去除颗粒物。如果用于溶解样品的溶剂含有机改性剂(如乙腈、甲醇等)，请确保滤膜材料不溶于该溶剂。请联系滤膜生产商，了解有关滤膜的溶剂相容性问题。或者，可以考虑将样品在8000 rpm下离心20 min，然后将上清液转移至适当的样品瓶中。

#### b. pH范围

Atlantis Premier BEH C<sub>18</sub> AX色谱柱的推荐pH操作范围是2-10。表2列出了常用的缓冲液和添加剂。此外，色谱柱寿命根据运行温度、缓冲液类型和浓度而有所不同。

表2.在pH 2-10范围内使用Atlantis Premier BEH C<sub>18</sub> AX色谱柱的推荐缓冲液

添加剂/缓冲液	pKa	缓冲液范围	挥发性 (±1个pH)	能否用于 质谱分析	注释
TFA	0.3	—	挥发性	是	离子对添加剂，能抑制MS信号，在0.02%-0.1%范围内使用。
乙酸	4.76	—	挥发性	是	与醋酸铵盐一起使用时缓冲作用最强。在0.1%-1.0%范围内使用。
甲酸	3.75	—	挥发性	是	与甲酸铵盐一起使用时缓冲作用最强。在0.1%-1.0%范围内使用。
醋酸盐 (NH <sub>4</sub> CH <sub>2</sub> COOH)	4.76	3.76 - 5.76	挥发性	是	在1-10 mM范围内使用。 请注意，其钠盐或钾盐无挥发性。
甲酸盐(NH <sub>4</sub> COOH)	3.75	2.75 - 4.75	挥发性	是	在1-10 mM范围内使用。 请注意，其钠盐或钾盐无挥发性。
磷酸盐1	2.15	1.15 - 3.15	非挥发性	否	常用的低pH缓冲液，具有良好的UV透光性。
磷酸盐2	7.2	6.20 - 8.20	非挥发性	否	pH值大于7，降低温度/浓度并使用保护柱，以便尽可能延长使用寿命。
磷酸盐3	12.3	11.3 - 13.3	非挥发性	否	pH值大于7，降低温度/浓度并使用保护柱，以便尽可能延长使用寿命。
4-甲基吗啡	~8.4	7.4 - 9.4	挥发性	是	通常在10 mM或更低浓度下使用。
氨(NH <sub>4</sub> OH)	9.2				在5-10 mM范围内使用(对于MS分析，保持源>150 °C)。用氢氧化铵或醋酸调节pH值。在pH 10处具有良好的缓冲容量 注意：请使用碳酸氢铵(NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> )，而不是碳酸铵((NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )
碳酸氢铵	10.3 (HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	8.2 - 10.2	挥发性	是	
	9.2 (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )	8.2 - 11.3	挥发性	是	
醋酸铵	9.2	8.2 - 10.2	挥发性	是	在1-10 mM范围内使用。
(甲酸)铵	9.2	8.2 - 10.2	挥发性	是	在1-10 mM范围内使用。
硼酸盐	9.2	8.2 - 10.2	非挥发性	否	降低温度/浓度并使用保护柱，以便尽可能延长使用寿命。
3-(环己胺) -2-羟基-1-丙磺酸	9.7	8.7 - 10.7	非挥发性	否	两性离子缓冲液，与乙腈兼容，在1-10 mM范围内使用。气味小。
甘氨酸	2.4, 9.8	8.8 - 10.8	非挥发性	否	两性离子缓冲液，相较于硼酸盐缓冲液更有助于延长色谱柱寿命。

### c. 溶剂

为了保持最佳色谱柱性能，请使用优质的色谱级溶剂。所有水性缓冲液在使用前都应使用0.2 μm过滤器过滤。含有悬浮颗粒物的溶剂通常会堵塞色谱柱入口筛板，这会导致操作压力增大，性能变差。

### d. 压力

内径为2.1 mm的Atlantis Premier BEH C<sub>18</sub> AX色谱柱内填充的1.7 μm和2.5 μm颗粒可承受最高18000 psi(1241 bar或124 MPa)的操作压力。注：在极限压力、pH和/或温度下运行可能会导致色谱柱使用寿命缩短。

### e. 温度

为了增强选择性、降低溶剂粘度和提高传质速率，Atlantis Premier BEH C<sub>18</sub> AX色谱柱的推荐操作温度范围为20 °C-60 °C。在高pH条件下操作时，建议降低操作温度以延长色谱柱使用寿命。在较高温度下(如60 °C以上)运行也可能缩短色谱柱使用寿命。

### f. 更换VanGuard FIT保护柱

必要时，可以使用两个3/8英寸扳手更换Atlantis Premier BEH C<sub>18</sub> AX色谱柱上的VanGuard FIT保护柱。只需用扳手咬合住保护柱和色谱柱末端螺母的平坦部分，然后逆时针方向转动(见图1)，即可拆下VanGuard FIT保护柱，然后按照良好实验室规范将其合理弃置。

接下来可以使用新的VanGuard FIT保护柱更换弃置的保护柱。您还可以根据需要额外单独购买保护柱。沿顺时针方向用手拧紧新的保护柱，再用两个3/8英寸扳手拧紧。正确密封的位置不应超过手拧紧处的1/4圈。

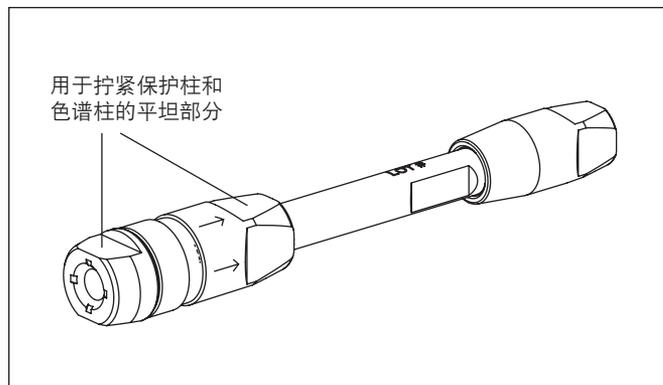


图1: 从Atlantis Premier BEH C<sub>18</sub> AX色谱柱上拆下VanGuard FIT保护柱时，放置3/8英寸扳手的推荐位置。

## IV. 色谱柱清洗、再生和储存

### a. 清洗与再生

如果发生峰形改变、谱峰分叉、出现肩峰、保留时间改变、分离度变化或柱压升高，说明色谱柱可能已被污染。通常情况下，用纯有机溶剂进行冲洗(小心避免缓冲液出现沉淀)就足以去除污染物。如果冲洗不能解决问题，可采用以下清洗和再生步骤灌注色谱柱。

根据样品和/或您认为污染色谱柱的物质的性质，选择与之匹配的常规清洗方法(见表3)。请使用20倍柱体积的溶剂冲洗色谱柱。升高柱温可提高清洗效率。如果清洗和再生之后色谱柱性能仍然很差，请致电当地的沃特世办事处获取更多支持。

表3. 色谱柱清洗说明

极性样品	非极性样品**	蛋白质样品
1. 水	1. 异丙醇(或适当的异丙醇/水混合溶液*)	选项1: 重复进样等份的二甲基亚砜(DMSO)
2. 甲醇	2. 四氢呋喃(THF)	选项2: 10%-90% B的梯度, 其中:
3. 四氢呋喃(THF)	3. 二氯甲烷	A = 0.1% 三氟乙酸(TFA)水溶液
4. 甲醇	4. 己烷	B = 0.1% 三氟乙酸(TFA)乙腈溶液(CH <sub>3</sub> CN)溶液
5. 水	5. 异丙醇(然后使用适当的异丙醇/水混合溶液*)	选项3: 使用7M盐酸胍或7M尿素冲洗色谱柱
6. 流动相	6. 流动相	

\* 使用低有机溶剂含量的溶液, 以避免出现缓冲液沉淀。

\*\* 除非安装了己烷/四氢呋喃兼容性套件(P/N: 205000464), 否则只有在纯反相有机溶剂(如乙腈)无法清洗色谱柱时, 方可考虑使用诸如THF或己烷之类的溶剂。降低流速, 使用较低的操作温度并限制系统与THF和/或己烷的接触。

### b. 色谱柱储存

如果需要将色谱柱在室温下放置四天以上, 应将其保存于100%乙腈中。对于高温应用, 请在使用后立即使用100%乙腈保存色谱柱, 以便尽可能延长色谱柱使用寿命。切勿使用缓冲液冲洗液保存色谱柱。如果流动相中含有缓冲盐, 请先用10倍柱体积的HPLC级水(请参阅表1)冲洗Atlantis Premier BEH C<sub>18</sub> AX色谱柱, 然后使用10倍柱体积的100%乙腈进行冲洗, 之后再储存色谱柱。如果不执行这一中间步骤, 在引入100%乙腈时, 色谱柱内可能会出现缓冲盐沉淀。将色谱柱完全密封, 防止溶剂蒸发而导致柱床变干。

注: 如果色谱柱运行了含甲酸盐(如甲酸铵、甲酸等)的流动相, 并且之后使用100%乙腈进行冲洗, 那么在重新安装色谱柱并再次运行含甲酸盐的流动相时, 可能需要花费略长的柱平衡时间。

### V. eCord智能芯片技术

(可能并非所有色谱柱配置都适用)

#### a. 简介

eCord智能芯片可记录色谱柱在整个使用寿命期间的性能历史。eCord将永久性地安装在色谱柱上, 确保色谱柱从一台仪器转移到另一台仪器时, 其性能记录能够得到完整保存。



图2. 沃特世eCord智能芯片。

在生产时, 溯源和质量控制信息被下载到eCord中。这些信息存储于芯片中之后, 就不再需要纸质COA报告。用户安装色谱柱后, 软件会自动将重要参数下载到存储在芯片上的色谱柱历史文档中。在本节中, 我们将介绍eCord如何为以下各方面提供解决方案: 轻松追踪色谱柱的历史信息, 减少繁琐的文书工作, 确保安装的色谱柱性能良好。

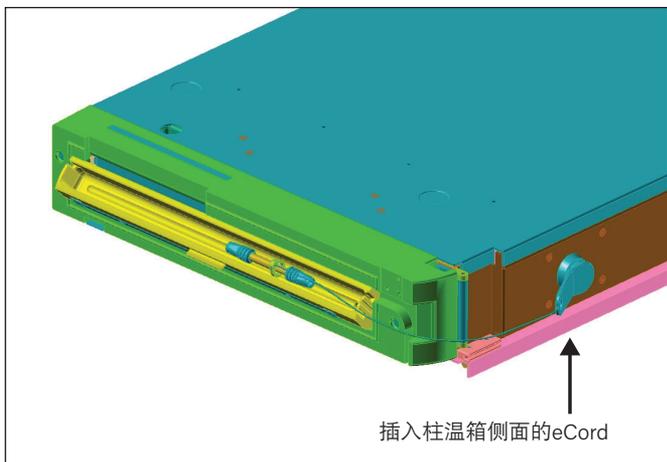


图3.插入柱温箱侧面的eCord。

### b. 安装

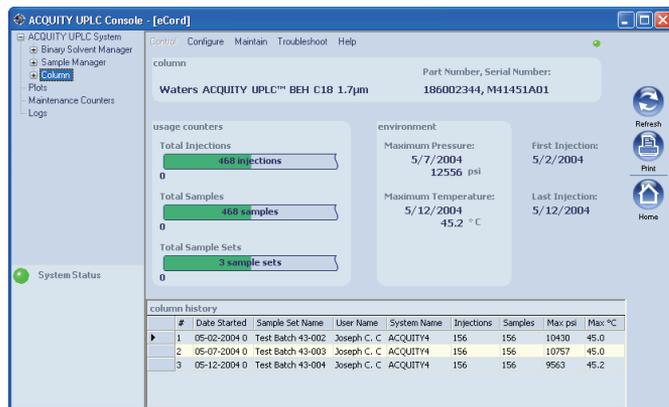
将色谱柱安装到柱温箱中，并将eCord插入柱温箱侧面。当eCord插入柱温箱后，ACQUITY™控制台将提供色谱柱的识别信息和全部使用信息，方便用户查看色谱柱信息。

### c. 生产信息

eCord智能芯片中存储了性能测试色谱图和批次COA报告。此外，它还可提供确定上述结果时采用的色谱测试条件，包括所用流动相、分析物和系统参数。

仅供研究使用，不适用于IVD。

### d. 色谱柱使用信息



eCord智能芯片可存储色谱柱的使用数据。屏幕上方标识了色谱柱的填料类型、尺寸和序列号。色谱柱总体使用信息包括样品总数、进样总数、样品组总数、首次进样日期、末次进样日期、最大压力和最高温度。此信息还将按样品组详细记录色谱柱历史，包括开始使用日期、样品组名称、用户名称、系统名称、该样品组的进样次数、该样品组的样品个数、该样品组的最大压力和最高温度，以及该色谱柱是否满足基本的系统适应性要求。

### VI. 注意事项

根据用户的具体应用，这些产品在使用后可能会被归类为危险品，因此应当由经过培训、有能力处理此类物质的专业实验室人员使用。产品的安全使用与处置完全由采购方和用户负责。如需本产品的安全数据表(SDS)，请访问[www.waters.com/sds](http://www.waters.com/sds)。



扫一扫，关注沃特世微信

沃特世科技(上海)有限公司

北京: 010 - 5769 0500  
上海: 021 - 6156 2666  
广州: 020 - 2829 6555

Waters China Limited

香港: 852 - 2964 1800

免费售后服务热线: 800 (400) 820 2676  
[www.waters.com](http://www.waters.com)

# Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Waters、Atlantis、eCord、ACQUITY、UPLC、ACQUITY Arc、MaxPeak、Oasis和Sep-Pak是沃特世公司的商标。其它所有商标均归各自的拥有者所有。