

ACQUITY UPC² BEH、CSH 和 HSS 色谱柱

目录

I. 引言

II. 入门指南

- a. 安全注意事项
- b. 色谱柱接头与安装
- c. 安装eCord
- d. 柱平衡
- e. 初始柱效监测
- f. VanGuard预柱

III. 色谱柱使用

- a. 样品制备
- b. 溶剂
- c. 添加剂
- d. 压力
- e. 温度
- f. 可用的流速范围和预期的ACQUITY UPC²系统压力
- g. 峰展宽最小化

IV. 故障排除

V. 色谱柱的清洗、老化、再生与储存

- a. 清洗
- b. 老化
- c. 再生
- d. 储存

VI. 引入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

VII. ACQUITY UPC² 色谱柱系列

I. 引言

感谢您选择ACQUITY UPC²®色谱柱！ACQUITY UPC²色谱柱以亚乙基桥杂化颗粒技术(BEH)、表面带电杂化颗粒技术(CSH™)和高强度硅胶颗粒技术(HSS)为特色，可提供多种多样的选择性、出色的峰形和高柱效。ACQUITY UPC²填充材料专为配合ACQUITY UPC²系统而设计，并在经ISO 9000认证的工厂内采用超纯试剂生产而得。每批ACQUITY UPC²填料均经过测试并且其结果均在合格范围内，从而可确保达到良好的重现性。每根色谱柱均经过单独测试并在eCord®智能芯片中提供相应的柱效测试谱图和填料的批次分析证书。

ACQUITY UPC²色谱柱为配合ACQUITY UPC²系统而设计并经过了专门测试。ACQUITY UPC²色谱柱只有在用于经过整体设计的ACQUITY UPC²系统时才能表现出最大的色谱性能和优势，因为这类仪器和色谱柱为共同工作而创建和设计。因此，沃特世不建议将ACQUITY UPC²色谱柱用于除ACQUITY UPC²系统之外的任何其他色谱系统。



化学颗粒	颗粒形状	粒径	孔径 (Å)	表面积 (m ² /g)	微孔体积 (cc/g)	碳含量 (%)	封端与否	颗粒技术
BEH 2-乙基吡啶 (2-EP)	球形	1.7, 3.5	130	185	0.7	9	否	BEH
BEH (未键合型)	球形	1.7, 3.5	130	185	0.7	不适用	不适用	BEH
CSH 氟苯基	球形	1.7, 3.5	130	185	0.7	10	否	CSH
HSS C ₁₈ SB	球形	1.8, 3.5	100	230	0.7	8	否	HSS

表 1. 物理特征。

II. 入门指南

每根 ACQUITY UPC² 色谱柱均附带一份分析证书和一张性能测试色谱图。该分析证书给出每批填充材料的测试数据，其中包含填料批号、物理表征、未键合型颗粒的分析结果、键合型颗粒的分析结果以及一项 SFC 色谱批次检验结果。性能测试色谱图针对每根色谱柱给出并包含以下信息：填料批号、柱序列号、USP 塔板数、USP 拖尾因子、载量系数以及正相 LC 条件下的色谱条件。这些数据应妥善保存，以备将来参照。

a. 安全注意事项

SFC 色谱柱在使用期间需要承受作为超临界流体的 CO₂ 及相关改性剂所带来的压力。主要的安全顾虑是当 CO₂ 在常压下从流体减压为气体时因绝热冷却而引起的霜害。请注意色谱柱或系统接头上存在的任何结霜现象。这表明存在渗漏问题，通常温度远低于 0°C。

任何微量渗漏都可能会出现达到 LEL (暴露下限) 的情况。实验室在使用二氧化碳 (CO₂) 时应配备 CO₂ 和/或 O₂ 传感器。

b. 色谱柱连接与安装

ACQUITY UPC² 系统采用经过专门设计可达到严格公差水平的管件和接头，能最大限度减小柱外体积。关于色谱系统所用的管件和接头的信息，请查阅《ACQUITY UPC² 系统操作指南》(文献编号 720004226EN)。

注：可根据所安装 ACQUITY UPC² 色谱柱的柱内径、长度、粒径和背压，相应地增加或降低流速。

1. 确保共溶剂泵已灌注完毕并能在进样前提供足够的溶剂/改性剂。建议使用纯度为 99.97% (食品级) 的 CO₂ 并将高品质色谱级溶剂 (多为甲醇) 用作有机改性剂。
2. 将柱入口和柱出口同时连接至 SFC 系统。
3. 如果色谱柱仍充满某种溶剂，则使用一种低流速和低背压设置 (100ba) 开启 CO₂ 通过色谱柱。
4. 如果您看见柱入口或出口结霜，那么请拧紧同侧的指旋紧固定配件或压缩螺丝。如果这时仍存在结霜现象，则要中止 CO₂ 供气并使系统进行排气。在断开柱入口或出口以查找并排除渗漏问题之前，应将色谱柱完全减压。

c. 安装 eCord

eCord® 按钮装在色谱柱加热器模块的侧面。eCord 按钮经过磁化处理，不需专门定向。

d. 柱平衡

ACQUITY UPC² 色谱柱在干燥状态下进行运输。使用前，需用至少 10 倍于柱体积的流动相进行柱平衡。(空色谱柱体积列表请参见表 2。)

e. 测定初始柱效

1. 使用色谱柱前，先进行一次柱效测试。沃特世建议，收货时应使用一种合适的混合溶液对色谱柱进行分析。我们建议选择较弱的溶剂作为进样溶剂。溶剂作用强会使色谱峰变形，进而导致柱效测试值降低。(甲醇在 SFC 条件下可被视为一种强溶剂。)

2. 确定理论塔板数 (N) 并使用该数值作为定期比较的基准值。
3. 按照预定的时间间隔重复此项测试，以跟踪色谱柱的长期性能。(如果性能测试在接头质量、运行环境、系统电子器件、试剂品质和色谱柱条件方面存在差异的两台 ACQUITY UPC² 系统中进行，那么色谱柱性能可能会出现微小改变。)

空色谱柱体积 (mL)	柱内径 (mm)	
	2.1 mm	3.0 mm
柱长		
50 mm	0.2	0.4
75 mm	0.3	0.6
100 mm	0.4	0.8
150 mm	0.5	1.0

表2. 空色谱柱体积 (mL) (乘以 10 即为冲洗溶剂体积)。

f. VanGuard 预柱

VanGuard™ 预柱是专为用于 ACQUITY UPC² 系统而设计的内径 2.1mm x 长度 5 mm 的保护柱装置。VanGuard 预柱所填充的化学颗粒和釉料与内径 2.1mm ACQUITY UPC² 色谱柱完全相同。VanGuard 预柱设计为可直接与 ACQUITY UPC² 色谱柱的入口相连接。

注：为了确保实现无缝隙、无渗漏连接，VanGuard 预柱的运输包装内附带未固定的螺母和锥箍。在取下用来将这两个部件固定在预柱管件上的 O 形圈时必须谨慎操作。

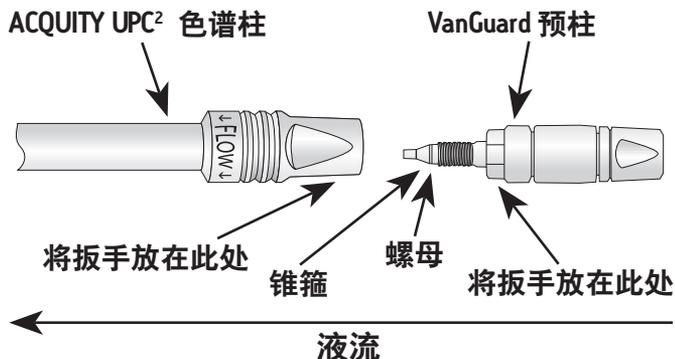


图1. 将一根 VanGuard 预柱与一根 ACQUITY UPC² 色谱柱相连接。

安装操作指南

1. 从包装箱中取出 VanGuard 预柱和运输包装内附带的管件，然后取下塑料塞子。
2. 将预柱放在凸端朝上的方位并小心取下用来在运输期间将螺母和锥箍固定在合适位置的 O 形圈 (螺母和锥箍尚未固定)。
3. 将 ACQUITY UPC² 柱放在与工作表面成直角的方位，以使柱入口位于底部 (朝下)、柱出口位于顶部 (朝上)。
4. 将 VanGuard 预柱从下方插进 ACQUITY UPC² 柱入口并用手拧紧 (螺母和锥箍尚未固定)。
5. 当把 VanGuard 预柱推进柱入口时，将组装好的色谱柱和预柱旋转 180°，这时预柱位于顶部。
6. 用位于 ACQUITY UPC² 色谱柱扁平部分的两把 5/16" 扳手拧紧上图所示的 VanGuard 预柱螺帽 (凸端)。
7. 紧固 1/4 转弯处，以安装螺母和锥箍。
8. 通过拧松接头并检查锥箍深度而确认锥箍是否已固定到位。锥箍深度的适当设置值与 ACQUITY UPC² 系统的其他接头类似。
9. 再次接入预柱，并将 VanGuard 预柱与分析柱一起连接至 ACQUITY UPC² 系统，然后给与流动相液流并检查渗漏情况。

III. 使用色谱柱

为了确保ACQUITY UPC²始终保持优良性能，请遵照以下操作指南：

a. 样品制备

1. 样品杂质通常会引起色谱柱受污染。沃特世提供固相萃取(SPE)和超临界流体萃取(SFE)产品。对于SPE，在分析前先使用Oasis[®]固相萃取小柱或填充合适化学颗粒的Sep-Pak[®]小柱对样品进行净化。如需了解更多信息，请访问www.waters.com/sampleprep。或者，沃特世也提供适合对众多样品基质进行高通量萃取的MV-10ASFE超临界流体萃取系统。
2. 尽量选用一种弱溶剂(如：庚烷)配制样品，以获得最佳峰形和灵敏度。使用弱样品稀释液可避免“强溶剂效应”引起的色谱峰变形。较强溶剂尤其会影响低保留性分析物的峰形。
3. 如果样品未溶解于流动相的改性剂中，请确保样品、溶剂和流动相可以混溶，以避免样品沉淀。用0.2 μm膜过滤样品以除去颗粒物。如果样品溶解于某种溶剂中，请确保滤膜材料不会在该溶剂中溶解。关乎溶剂相容性的问题，请联系滤膜制造商。建议使用Acrodis[®]过滤膜(更多信息请查阅Waters Quality Parts[®]和《沃特世色谱柱和耗材目录》)。请注意有些分析物可能会存留在特定滤膜材料上并由此导致回收率低于预期(或检测器信号低于预期)。或者，可以考虑在8000 rpm下离心20分钟，然后将上清液转移至合适的样品瓶内。

b. 溶剂

为了始终保持最佳色谱柱性能，请使用高品质色谱级溶剂。含有悬浮颗粒物的溶剂通常会堵塞色谱柱入口分配物料的外表面。这将导致工作压力增高、色谱柱使用寿命缩短和性能受损。

c. 添加剂

ACQUITY UPC² BEH、CSH和HSS色谱柱可以安全地与超临界流体色谱(SFC)中常用的酸性和碱性添加剂一同使用，例如三氟乙酸(TFA)、甲酸、醋酸铵、甲酸铵、氢氧化铵、有机胺类(例如，二乙胺和三乙胺)以及氨化甲醇，在常用的20 mM或0.2%添加剂浓度下可安全耐受。选择合适的添加剂时，请综合考虑添加剂的挥发性、溶解性以及检测器的兼容性。使用适合的添加剂能够改善峰形，并且有助于控制分析物的保留特性，但同时也可能导致选择性发生改变。我们建议您在储存色谱柱之前对其进行冲洗，清除其中残留的添加剂和盐类。

d. 压力

ACQUITY UPC²色谱柱的硬件和填充材料可耐受高达18,000 psi (1241 ba或124 Mpa)的压力。为了最大限度延长色谱柱和ACQUITY UPC²系统的使用寿命，应避免出现高于5000 - 6000 psi的压力。

e. 温度

ACQUITY UPC² BEH、CSH和HSS色谱柱的最高推荐运行温度为60 °C。

f. 可用的流速范围和预期的ACQUITY UPC²系统压力

表3统计了在不超过ACQUITY UPC²系统压力承受范围的情况下所能达到的最大流速和系统压力。ACQUITY UPC²系统的最大流速为4 mL/分钟、最大压力为6000 psi (~400 ba)。

预期流速和预期背压信息以ACQUITY UPC²系统BPR(背压调节器)在1800 psi (~120 ba)下的设置值为依据。

ACQUITY UPC²柱, 1.7 μm

规格	100% CO ₂		60/40 CO ₂ /MeOH	
	预期最大流速 (mL/min)	预期最大压力 (psi)	预期最大流速 (mL/min)	预期最大压力 (psi)
2.1 x 50 mm	3.45	5581	2.00	6011
2.1 x 75 mm	2.65	5970	1.35	5938
2.1 x 100 mm	2.05	5969	1.05	6060
2.1 x 150 mm	1.40	5951	0.70	6002
3.0 x 50 mm	4.00	4179	3.60	5946
3.0 x 75 mm	3.75	4897	2.60	5959
3.0 x 100 mm	3.45	5499	2.00	5919
3.0 x 150 mm	2.70	5977	1.40	6023

ACQUITY UPC²柱, 3.5 μm

规格	100% CO ₂		60/40 CO ₂ /MeOH	
	预期最大流速 (mL/min)	预期最大压力 (psi)	预期最大流速 (mL/min)	预期最大压力 (psi)
2.1 x 50 mm	4.00	3549	4.00	4963
2.1 x 75 mm	4.00	4096	3.75	5973
2.1 x 100 mm	3.85	4530	3.00	5979
2.1 x 150 mm	3.50	5386	2.10	5946
3.0 x 50 mm	4.00	3042	4.00	3703
3.0 x 75 mm	4.00	3275	4.00	4283
3.0 x 100 mm	4.00	3528	4.00	4906
3.0 x 150 mm	4.00	4063	3.80	5965

表3. 可用流速范围和ACQUITY UPC²预期系统压力。

g. 峰展宽最小化

ACQUITY UPC²系统的设计上使峰展宽最小化。管内径的偏差可能会导致色谱性能的下降，沃特世特制管件不会因管内径不合适而引起峰展宽。图2显示出管内径对系统峰展宽和峰形的影响。正如我们看到的，管内径较大会引起色谱峰过宽和灵敏度降低。

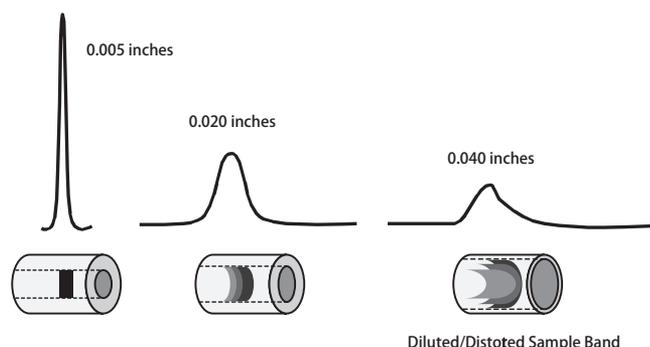


图2. 管件连接对色谱系统的影响。

IV. 故障排除

1. 涉及色谱柱的最常见问题之一就是共溶剂/改性剂泵灌注不当或不充分。如果进样后未观察到色谱峰或者经常观察到保留时间较长，那么请先检查共溶剂/改性剂泵的灌注情况。
2. 如果您看见柱入口或出口结霜，那么请拧紧同侧的压缩螺丝。如果拧紧后仍不起作用，则可对仪器系统和色谱柱减压，然后再更换密封不当的配件。
3. 如果这时色谱柱上仍存在结霜现象，则可中止CO₂供气并使系统进行排气。在断开柱入口或出口之前，应使色谱柱完全减压。请联系您的沃特世代表，获取更多支持。

V. 色谱柱的清洗、老化、再生与储存

峰形改变、峰分叉、肩峰、保留时间改变、分辨率变化或反压升高都可能表示色谱柱受到污染。用高浓度有机溶剂进行冲洗通常可以除去污染物，但这时要小心操作以避免缓冲液沉淀。如果冲洗工序不能解决问题，那么可采用以下清洗和再生步骤对色谱柱进行净化。

a. 清洗

请使用与样品和/或您认为导致色谱柱受污染物质的属性相匹配的常规清洗方法(参见表4)。将色谱柱安装在一台ACQUITY UPLC®系统(或HPLC系统)中，这样就能使用多种溶剂和水以改善清洗效果。用20倍于柱体积的溶剂对色谱柱进行冲洗。升高柱温可提高清洗效率。如果柱性能在清洗和再生后仍比较差，请致电您当地的沃特世办事处以获得更多支持。

注：不建议使用ACQUITY UPC²系统进行清洗和再生程序，因为建议溶剂和高浓度水不能与超临界CO₂相融合。恰恰相反，我们建议使用一台ACQUITY UPLC系统进行清洗和再生。

极性样品	非极性样品
1. 水(也可以是一种由乙腈和水组成的混合液)	1. 异丙醇(或一种由水和异丙醇组成的适当混合液)
2. 甲醇	2. 四氢呋喃
3. 四氢呋喃	3. 二氯甲烷
4. 甲醇	4. 正己烷
5. 水	5. 异丙醇(然后再使用一种由水和异丙醇组成的适当混合液)
6. 流动相	6. 流动相

表4. 柱清洗顺序。

清洗程序结束后，重新测试色谱柱以确定相应问题是否得到解决。如果是，则可继续使用该色谱柱，同时避免可能堵塞柱入口的样品和溶剂。

b. 老化

沃特世公司研究证实SFC色谱柱因填充材料表面出现变化而可能引起保留时间改变。SFC业内专家通常将其称之为“老化”。流动相添加剂和甲醇会引起硅胶或杂化颗粒表面出现改变，进而导致保留时间变化。当使用一根新色谱柱时，可用CO₂/甲醇对色谱柱进行冲洗，以避免或减少将来出现保留时间改变问题。建议将其储存在100% CO₂中，以确保柱保留和选择性在从一项试验结束时到另一项试验开始期间保持不变。100% CO₂可停止老化进程并使保留时间不会再出现改变。

c. 再生

如果您观察到柱保留或选择性出现明显改变，那么可采用一种附加的再生过程以恢复柱性能。在假定柱床未受到损害的情况下，导致ACQUITY UPC²柱的保留性或选择性出现改变的原因主要有两个。流动相添加剂和甲醇会引起硅胶或杂化颗粒表面出现改变。这类情况可能逐渐显现或迅速出现，也可能长久存在。

峰形、保留性或选择性方面出现改变的色谱柱最好在一台ACQUITY UPLC系统中进行清洗和再生。在将色谱柱置于一台液相色谱系统中进行再生之前，它应该不含流动相共溶剂和添加剂。以1 mL/min的速度使100% CO₂在色谱柱(3.0 x 100 mm)流动5分钟(40°C、ABPR下2000 psi)。对于其它的柱规格，应当重新计算流速，以免色谱系统压力过高。

应根据待再生的固定相选用不同冲洗试剂，以避免填充材料受损。高pH冲洗试剂(pH > 8)应避免用于清洗硅胶材料。低pH冲洗试剂(pH < 1)应避免用于清洗含键合相的硅胶材料。

第1步：未键合型和键合型硅胶材料应使用200倍柱体积以上的纯水进行冲洗。所有杂化颗粒材料(如：BEH和CSH)可使用200倍柱体积以上的纯水或30倍柱体积以上的0.1% N,N-二甲基丁胺(或类似叔胺)水溶液进行冲洗。

第2步：所有色谱柱均再使用10倍柱体积的90/10 IPA/水进行冲洗，以除去流动相添加剂。

第3步：所有色谱柱均应使用10倍柱体积的异丙醇进行冲洗，以在重新将色谱柱安装到ACQUITY UPC²之前除去任何残留的水。

再生后，请将ACQUITY UPC²色谱柱重新安装在ACQUITY UPC²系统中并进行平衡。清洗程序结束后，重新测试色谱柱以确定相应问题是否已解决。

d. 储存

建议净化色谱柱并将其储存在纯CO₂中。这可避免或最大限度减小色谱柱在储存期间出现改变。不建议将色谱柱储存在甲醇中。

VI. 引入eCORD智能芯片技术

a. 简介

eCord智能芯片可在色谱柱整个使用寿命内提供关于其性能的历史记录。eCord被永久性地装在色谱柱上，以保证色谱柱在从一台仪器转移到另一台仪器时可使其性能记录得以保存。



图3. eCord智能芯片。

生产时，跟踪和质控信息会被下载至eCord。将该信息储存在芯片上，就不再需要提供纸质《分析证书》。

一旦用户安装了色谱柱，软件就会自动将关键参数下载至芯片上以储存在色谱柱使用历史中。在本手册中，我们说明了eCord是如何提供一种可轻松跟踪色谱柱历史记录解决方案，可减少因文书工作延误而造成的挫败感，并让客户放心的将性能优良的色谱柱安装在自己仪器上。

b. 安装

将色谱柱安装在ACQUITY®柱管理器中。将eCord插入柱加热器一侧。一旦eCord被插入柱加热器后，就会看见相应的标识信息和色谱柱总体使用信息，从而可使用户在桌面上就能获取色谱柱信息。

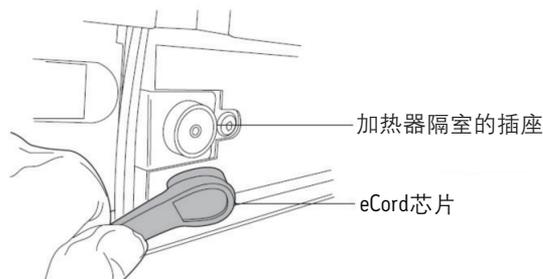


图4. 安装eCord智能芯片。

c. 生产信息

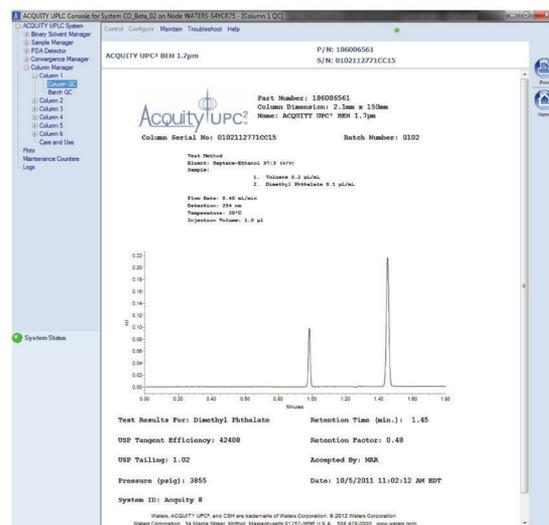
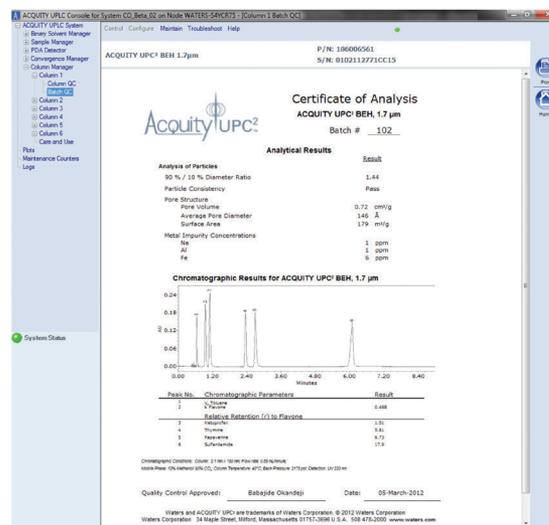


图5. 存储在eCord中的生产结果。

d. 色谱柱使用信息

eCord芯片可为客户提供色谱柱使用数据、柱规格和序列号。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、最大压力和温度。这类信息还详细说明了每个样品组的色谱柱使用历史，其中包括开始使用日期、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温度以及该色谱柱是否满足基本的系统适用性要求。eCord芯片最多可存储50个样品组。此外，eCord可在eCord芯片和Empower®软件之间实现双向通讯。

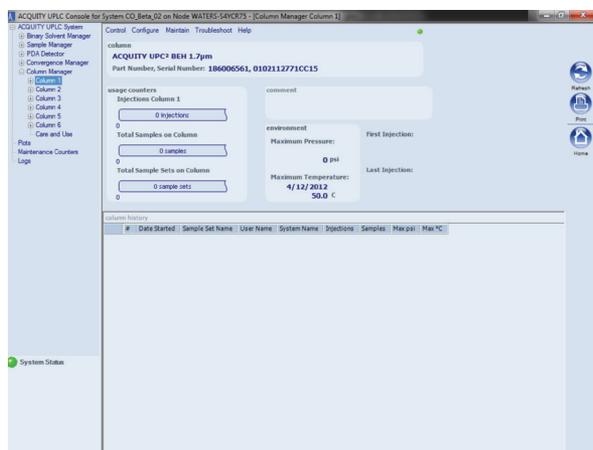


图6. 色谱柱使用信息。

VII. ACQUITY UPC²色谱柱系列

《UPC² BEH、CSH和HSS色谱柱维护和使用手册》是ACQUITY UPC²色谱柱系列三本手册的其中一本。其它两本维护和使用手册可访问www.waters.com/CU进行下载。

ACQUITY UPC² Trefoil™色谱柱维护和使用手册 — 720004828ZH

ACQUITY UPC² Torus™色谱柱维护和使用手册 — 720005203ZH



扫一扫，关注沃特世微信

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Waters, The Science of What's Possible, ACQUITY UPC², Sep-Pak, Oasis, Waters Quality Parts, ACQUITY, eCord, ACQUITY UPLC和Empower是沃特世公司的注册商标。Trefoil, VanGuard和Torus是沃特世公司的商标。所有其它商标均为其各自所有者的资产。

沃特世中国有限公司
沃特世科技(上海)有限公司

北京：010-5209 3866
上海：021-6156 2666
广州：020-2829 5999
成都：028-6765 3588
香港：852-2964 1800

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