

ULTRAHYDROGEL 色谱柱

I. 前言

您购买的Waters Ultrahydrogel™色谱柱是一款高级水溶性凝胶色谱柱，适用于水溶性聚合物的分析型和制备型分离。凝胶是一种交联羟基聚合物，其中含有若干残余的羧基官能团。Ultrahydrogel DP含有若干残余的胺基官能团。通常可表征的化合物包括低聚物和生物物质，例如多糖、核酸、蛋白质和肽。

此款Ultrahydrogel色谱柱具有：

- 高分离度
- 低吸附性
- 广泛的分子量分离范围
- 可在2~12的pH值范围内保持稳定
- 适用温度范围为10~80 °C

请花一定时间仔细阅读本手册，按照本手册所述的步骤进行操作以确保获得优质结果，同时充分发挥沃特世色谱柱的功能。

目录

I. 前言

II. 色谱柱安装

III. 柱效

IV. 色谱柱存放

V. 质保

VI. 订购信息

II. 色谱柱安装

a. 溶剂

Ultrahydrogel 色谱柱在运输过程中将采用蒸馏水进行填充。表1所示为每根Ultrahydrogel 色谱柱的最大溶剂替换流速。请以低于表2所示的流速进行溶剂转换，用于分析。

注意：ULTRAHYDROGEL 色谱柱对流速(压力)非常敏感，务必谨慎操作以免启动时超过最大流速限制。

b. 色谱柱

表1. 替换溶剂的流速

色谱柱	色谱柱尺寸	溶剂更换过程中的最大流速
Ultrahydrogel(所有孔径)	7.8 mm (内径) x 30 cm	0.3 mL/min
Ultrahydrogel DP	7.8 mm (内径) x 30 cm	0.3 mL/min
Ultrahydrogel DNA	7.8 mm (内径) x 30 cm	0.3 mL/min
Ultrahydrogel Linear	7.8 mm (内径) x 30 cm	0.3 mL/min

注：请尽可能少更换溶剂。频繁更换溶剂会加快柱效的降低。

c. 有机溶剂

Ultrahydrogel 色谱柱在常规与水兼容的有机溶剂混合物中具有物理和化学稳定性。甲醇、乙醇、乙腈、甲酸和二甲基亚砶的水溶液也能够实现可靠的分离。有机溶剂浓度不应超过20%。如果流动相按照梯度引入，可兼容达50%有机溶剂比例。

d. 盐溶液和缓冲液

虽然某些非离子样品可在蒸馏水中完成分析，但大多数水溶性聚合物都需要使用盐溶液或缓冲液。

以下是一些典型的盐溶液：

- 硫酸钠
- 醋酸钠
- 磷酸二氢钠
- 醋酸铵
- 甲酸铵

兼容的缓冲溶液：

- 磷酸盐
- 三磷酸酯
- 三羟甲基氨基甲烷盐酸盐
- 柠檬酸盐
- 三羟基氨基甲烷醋酸盐
- 醋酸盐

e. 流速

为获得最佳分离度和最长色谱柱寿命，流速不应超过下表列出的最大流速。请通过下表2确定建议的流速和最大压力。

表2. 建议流速

色谱柱	典型操作流速 (mL/min)	最大流速 (mL/min)
Ultrahydrogel 120	0.5-0.8	1.0
Ultrahydrogel 250	0.5-0.8	1.0
Ultrahydrogel 500	0.3-0.6	1.0
Ultrahydrogel 1000	0.3-0.6	1.0
Ultrahydrogel 2000	0.3-0.6	1.0
Ultrahydrogel Linear	0.3-0.6	1.0
Ultrahydrogel DP	0.5-0.8	1.0

f. 溶剂和样品制备

- 使用LC级溶剂，通过GHP(或其它合适的)滤膜过滤除去大于0.45 μm 的微粒物质。建议使用沃特世溶剂过滤装置(部件号176002987)。
- 不含颗粒的溶剂可减少过滤器和柱床的堵塞问题，延长色谱柱使用寿命。
- 溶剂的真空过滤或超声处理可去除可能对溶剂输送系统产生不良影响的溶解气体。
- 请始终对制备的样品溶液进行过滤，防止颗粒物引起的压力增加过高(可选用Acrodisc®过滤器)。
- 建议使用沃特世在线预柱过滤器(部件号WAT084560)最大程度延长色谱柱寿命。

g. 保护柱

虽然保护柱通常不用于脂溶性GPC，但它们可以去除和/或过滤水溶性样品中的许多杂质，例如可能会在Ultrasorb®色谱柱上发生不可逆吸附的糖类、肽和水解产物。保护柱还可用于去除颗粒和强保留样品组分，以免样品和溶剂中的这些物质缩短色谱柱的使用寿命。保护柱可帮助Ultrasorb®色谱柱获得始终如一的可靠且可重现的结果。Ultrasorb®保护柱提供有Ultrasorb®(部件号WAT011565)和Ultrasorb® DP(部件号WAT011570)两种配置可选。

保护柱的杂质容量存在一定的限制，根据样品进样次数或观察到的柱压变化可确定何时需要更换保护柱。如果超过保护柱容量，那么污染物将被洗脱到分析柱上。

虽然保护柱有助于延长色谱柱的使用寿命，但它们仅可在短时间内发挥特定功能，因此必须经常更换或进行再生处理。利用良好实验室规范来延长色谱柱使用寿命，这一点非常重要。Ultrasorb®保护柱的再生处理可使用一种或多种以下所列溶剂(6 - 10倍柱体积)进行冲洗来完成：

- NaCl缓冲盐溶液(0.5M-1.0M)
- 磷酸钾缓冲液用氨水调节(pH9~12)
- 尿素、SDS或其它表面活性剂
- 磷酸钾缓冲液用磷酸调节(pH2~3)
- 20%甲醇或乙腈水溶液

h. 色谱柱安装

从钢制色谱柱上拆下端盖接头并保存，以便在从系统中拆下色谱柱时重新盖上。色谱柱出口处有箭头标识，此箭头显示溶剂的流向。如果拆下端盖后看不到溶剂，请将色谱柱的出口侧连接到系统，然后缓慢泵送溶剂通过色谱柱以排出空气。快速加压或增加溶剂流速可能会导致柱效降低。色谱柱的入口侧看到溶剂液流后，沿正常流向连接色谱柱，将色谱柱入口侧连接到进样器或保护柱。请按照此程序的以下四个步骤切割管路以连接新的钢制色谱柱，或改进现有接头的端部连接。

注：更换色谱柱时，必须小心地重新安装新锥箍，确保没有死体积存在。

1. 使用带刀刃的三角形锉刀在所选断点处对管路圆周进行标记。
2. 利用包覆有织物(以防损坏管路表面)的钳子夹住管路标记的两侧，轻轻地来回弯折管路使其断开。
3. 依次将压力接头和锥箍(锥体较大的末端朝前)套到管路上。务必将管路底部放入接头座中，确保连接无渗漏。

注：连接色谱柱之前，请连接一段管节替代色谱柱，将管路中之前的溶剂冲洗干净。

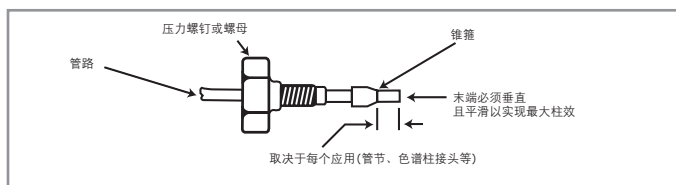


图1. 锥箍和压力螺母组件

如果您希望将Ultrahydrogel色谱柱进行串联使用：

1. 按照孔径减小的顺序连接色谱柱（例如将Ultra 500连接在Ultra 250之前）。
2. 为了尽可能地减小死体积，请将互连管路插入压力接头后再拧紧接头。
3. 将最后一根色谱柱的出口端连接到检测器。

II. 操作提示

- 请务必按照箭头指示的方向安装色谱柱，逆向液流可能导致色谱柱性能降低。
- 安装或拆卸过程中，请注意不要将空气引入色谱柱。气泡将导致色谱柱填料出现空隙。
- 请缓慢增加流速和更换溶剂。
- 分离完成后，应继续向色谱柱泵送溶剂。如果在色谱柱仍然发热时关闭泵，空气可能会因溶剂收缩而被吸入色谱柱中。
- 将色谱柱中的液流维持在较低的流速（低于0.2 mL/min）下，避免日常操作使用的缓冲盐产生沉淀。如果使用卤化物，请用蒸馏水替代缓冲液进行过夜储存。
- Ultrahydrogel色谱柱可在10 °C~80 °C的温度范围内操作。高温分析会降低粘度，增加理论塔板数和分离度，并降低吸附性。

III. 柱效

液相色谱柱的使用寿命有限，与其维护和使用情况直接相关。色谱柱的使用寿命会受到进样次数、样品和溶剂洁净度、溶剂更换频率、处理和储存步骤的影响。

如需计算塔板数以检查柱效，请按以下步骤操作：

流速：	0.8 mL/min
检测器：	示差折光
洗脱液：	水
温度：	室温
进样体积：	20 µL
标记物：	乙二醇
测试标准品浓度：	0.0025 mL/mL

请使用图2所示的计算式计算半高处的塔板数(MN)。

半高法测试计算

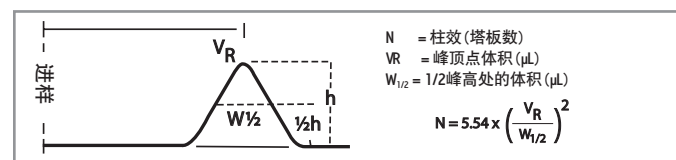


图2. 半高法测试计算

a. 系统效率

样品分离度不合格的原因，不仅仅只有色谱柱柱效降低，可能还需要对整个系统进行故障排除，以确定性能降低的确切原因。为了找出系统效率降低的原因，在安装色谱柱之前请务必先测量谱带展宽。如果使用色谱柱后发现分离度有所降低，请重复系统谱带展宽测试，并将测试结果与初始谱带展宽结果进行比较。如果谱带展宽增加，请对系统硬件（如进样器或在线过滤器）进行集中故障排除。

确定色谱柱是导致LC系统效率降低的源头或排除此可能之后，操作人员能够顺利执行维护程序，在最短的停机时间内恢复系统效率。

IV. 色谱柱存放

a. 短期(数天)

- 如果溶剂不含缓冲液或其它有害盐(例如卤素)，请将色谱柱从系统中取出，使用随附的端盖接头将其两端密封。
- 如果溶剂含有缓冲液等，请用蒸馏水润洗色谱柱，将色谱柱从系统中取出，使用随附的端盖接头将其两端密封。
- 室温下存放。
- 避免阳光直接照射。
- 远离腐蚀性气体。

b. 长期(三天以上)

- 使用蒸馏水替换溶剂。将色谱柱从系统中取出，使用随附的端盖接头将其两端密封。
- 存放时间达72小时或以上时，建议向水中加入叠氮化钠(0.05%)。
- 室温下存放。
- 避免阳光直接照射。
- 远离腐蚀性气体。

注意：切勿将ULTRAHYDROGEL色谱柱暴露在低于10°C的环境下。

V. 质保

沃特世公司将根据以下条款和条件为高效液相色谱柱提供保修服务：

如果用户在收到钢制色谱柱后90天内提出保修需求，沃特世将为其免费重装或更换(由沃特世决定)任何性能不达标的色谱柱。退回的任何色谱柱必须具备沃特世客户服务部出具的“退货授权号”。以下情况将不予批准：

- 由于误用或滥用对色谱柱造成物理损坏。
- 由于使用不相容的溶剂或缓冲液，或在不当pH值条件下使用，对填充材料造成化学损坏。
- 由于在不正确的温度或压力条件下操作，对填充材料造成物理损坏。
- 因溶剂或样品过滤操作不当导致色谱柱或末端接头中出现颗粒积聚或沉淀，致使内部压力偏高。

VI. 订购信息

产品	部件号
Ultrahydrogel 120	WAT011520
Ultrahydrogel 250	WAT011525
Ultrahydrogel 500	WAT011530
Ultrahydrogel 1000	WAT011535
Ultrahydrogel 2000	WAT011540
Ultrahydrogel Linear	WAT011545
Ultrahydrogel DP	WAT011550
保护柱	
Ultrahydrogel (适用于Ultrahydrogel 120 - 2000和Linear)	WAT011565
Ultrahydrogel DP (适用于Ultrahydrogel DP)	WAT011570



扫一扫，关注沃特世微信

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

©2008年 沃特世公司。Waters、The Science of What's Possible和Ultrahydrogel
是沃特世公司的商标。Acrodisc是Pall Corporation的商标。

2008年5月 WAT011556TP 修订版E VW-PDF

沃特斯中国有限公司
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