

# 色谱柱使用说明

## Shodex OHpak LB-800 系列

(为充分发挥色谱柱性能并保持长期稳定的使用, 请在使用前仔细阅读使用说明。)

### 使用注意事项 <重要>

#### 警告

※当取用用于分析的溶剂和试剂时, 请确认制造商发出的安全数据表(SDS), 并遵守使用的注意事项, 否则可能会导致严重伤害或死亡。

※在取用有机溶剂、酸和碱等试剂时, 应穿戴防护设备, 如防护眼镜和手套, 避免与人体直接接触, 存在化学伤害的风险。

### 使用前

- 检查色谱柱的包装和外观是否有异常。
- 检查色谱柱盒、柱身标签上的产品名称和序列号(Serial no.或S/N)。
- 出厂检测报告(CERTIFICATE OF ANALYSIS)请在Shodex官方网站点击出厂检测报告下载进行下载。下载时需要输入产品序列号。  
出厂检测报告下载链接 <https://www.shodex.com/download/>

### 1. 前言

感谢您购买Shodex的产品。

Shodex OHpak LB-800 系列是水溶性尺寸排阻色谱柱。适用于各种水溶性高分子、蛋白质、低聚物的分离以及高分子的分子量分布测定。通过尽可能抑制柱流失, 有效降低了配合光散射检测器使用时的基线噪音, 实现了更准确地分子量测定。我们有一系列排阻限不同的产品, 可以根据样品的分子量范围进行选择。

### 2. 色谱柱各部分名称

请参照Shodex官方网站。

参照链接 <https://www.shodex.com/cn/da/07.html>

### 3. 色谱柱规格

订货号	产品名称	尺寸 (mm)		粒径 ( $\mu\text{m}$ )	理论塔板数 (1 根色谱柱)	线性分析范围*1 (普鲁兰换算)	排阻限分子量*1 (普鲁兰换算)	光散射检测器 噪音 (V)*3
		内径	长度					
F6429206	OHpak LB-802.5	8.0	300	6	$\geq 16,000$	500 ~ 10,000	10,000	$\leq 5.0 \times 10^{-5}$
F6429201	OHpak LB-803	8.0	300	6	$\geq 16,000$	1,000 ~ 100,000	100,000	$\leq 2.0 \times 10^{-5}$
F6429204	OHpak LB-804	8.0	300	10	$\geq 16,000$	5,000 ~ 400,000	1,000,000	$\leq 5.0 \times 10^{-5}$
F6429203	OHpak LB-805	8.0	300	13	$\geq 12,000$	100,000 ~ 1,000,000	(4,000,000)*2	$\leq 5.0 \times 10^{-5}$
F6429205	OHpak LB-806	8.0	300	13	$\geq 12,000$	100,000 ~ (20,000,000)*2	(20,000,000)*2	$\leq 5.0 \times 10^{-5}$
F6429202	OHpak LB-806M	8.0	300	13	$\geq 12,000$	500 ~ (20,000,000)*2	(20,000,000)*2	$\leq 2.0 \times 10^{-5}$
F6709434	OHpak LB-G 6B	6.0	50	13	(保护柱)	—	—	—

LB-806M 是适合分析分子量分布广的样品的混合填料色谱柱

\*1 参考值

\*2( )内估算值

\*3 使用 0.1 M 硝酸钠水溶液作为流动相测定

填料 : 聚羟基甲基丙烯酸酯多孔颗粒  
 色谱柱材质 : SUS-316  
 色谱柱末端螺母 : 外螺纹型 No.10-32 UNF  
 出厂储存溶剂 : 水

#### 4. 使用条件

产品名称	流速 (mL/min)		耐压 (MPa/色谱柱)	pH 范围	温度范围 (°C)
	常用	最大			
OHpak LB-802.5	0.5 ~ 1.0	1.2	5.5	3 ~ 10	4 ~ 80
OHpak LB-803			3.5		
OHpak LB-804					
OHpak LB-805					
OHpak LB-806					
OHpak LB-806M			—		
OHpak LB-G 6B					

可用溶剂如下。

- (1) 可以使用磷酸盐、醋酸盐、柠檬酸盐、Tris 等各种缓冲溶液和氯化钠、硫酸钠、硫酸钾、硫酸铵等盐的各种水溶液。也可以两者混合使用。总盐浓度请控制在 0.5 M 以下，通常建议使用 0.05 ~ 0.3 M 的浓度。
- (2) 使用甲醇、乙腈、N,N-二甲基甲酰胺 (DMF) 作为流动相时，浓度可用至 100 %。
- (3) 也可以在 DMF 中添加溴化锂等盐，建议添加 10 ~ 50 mM。
- (4) 也可以使用蛋白质变性剂如尿素和盐酸胍的水溶液。但是这些水溶液通常使用高浓度，溶剂置换时可能导致色谱柱劣化，建议作为专用色谱柱使用。
- (5) 也可以添加 SDS 和 Brij-35 等表面活性剂。但是，表面活性剂容易在色谱柱中残留，使用后更换溶剂比更换一般溶剂需要更多时间。使用 30 ~ 50 % (v/v) 的甲醇水溶液置换，可以在较短时间内完成。

#### 注意

※请遵守使用条件，在可用范围之外使用可能会导致色谱柱性能下降。

※当使用缓冲液（或含盐的水溶液）和有机溶剂的混合溶液作为流动相时，请务必防止盐的析出。

※添加氯离子时，请在 pH 大于 6 的条件下使用。

※当使用高腐蚀性的盐类如氯化钠时，在分析结束后请冲洗设备和色谱柱，以确保没有盐的残留。否则设备和柱子的金属部件可能会生锈。

※不要使用硼酸盐缓冲液，因为它会与填料中的二醇基团形成络合物。

※柱压随流动相组成、流速和柱温而变化。在改变流动相组成时，要调整流速和柱温，使其不超过最大可用压力。

※高分子的分子量越大越容易引起分子链断裂。如果分子链断裂测试结果会比实际值小，造成再现性差的问题。在可能引起分子链断裂的时候，请降低分析流速。

#### 参考

※配合光散射检测器使用时，相比纯水作为流动相，使用盐的水溶液或者缓冲溶液作为流动相可以改善基线噪音。为了降低噪音，建议使用 0.1 M 硝酸钠作为流动相。

#### 5. 流动相的配制

- (1) 流动相请充分脱气防止有气泡。
- (2) 流动相中含有不溶的杂质可能会导致色谱柱性能下降和色谱图噪声，因此请使用滤膜(0.45 μm)过滤流动相。

**注意**

※使用水时，请使用超纯水装置新配制的水或者刚开封的 HPLC 级蒸馏水。使用有机溶剂时，请使用 HPLC 级以上的试剂。使用品质不同的有机溶剂时，使用前请确认其品质适合分析。开封时间长的有机溶剂可能有性质改变、吸湿、污染的问题，请不要使用。

※请勿使用已长时间保存的流动相，组成的变化可能导致洗脱行为的变化和色谱柱的劣化。

**参考**

※建议使用具有在线脱气功能的脱气机。

**6. 样品的配制**

- (1) 尽量使用流动相溶解和稀释样品。如果难以溶解在流动相中，请尽量和流动相组成接近。
- (2) 为了防止由于颗粒物（不溶物）的堵塞导致色谱柱变差，劣化或性能变差，请使用滤膜(0.45 μm)过滤样品。
- (3) 分子量 1,000,000 以上的高分子样品，请在流动相中静置半天至一天，使样品充分浸润后小心搅拌使样品完全溶解。搅拌时要注意避免分子链断裂。
- (4) 高分子样品溶液的粘度和分子量及浓度有很大关系。样品溶液的粘度过高会造成峰变宽或延迟洗脱等问题，影响分子量分布测定。一般来说分子量越大粘度越高，请降低样品浓度。请根据下列表格配制样品溶液。

样品分子量范围	浓度 (w/v)
~ 5,000	1.0 % 以下
5,000 ~ 25,000	0.5 % 以下
25,000 ~ 200,000	0.25 % 以下
200,000 ~ 2,000,000	0.1 % 以下
2,000,000 ~	0.05 % 以下

**注意**

※样品使用非流动相溶剂溶解时，如果含有不溶于流动相的物质，可能会产生进样后堵塞色谱柱的情况。

**参考**

※为了保护分析柱，建议使用保护柱。

**7. 色谱柱的使用方法****7-1. 流路中的溶剂置换**

安装色谱柱前请先将设备中的流路充分洗净，完全置换成流动相。另外，请切换阀清洗并置换进样器的流路（进样环）。置换不互溶或溶解性低的溶剂时，先使置换成双方溶剂都能互溶的溶剂，再置换成使用溶剂。

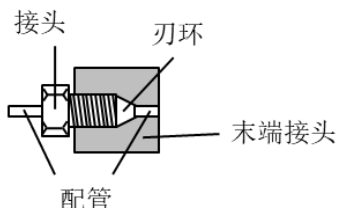
**注意**

※色谱柱不能使用的溶剂在流路中残留可能会造成色谱柱的劣化。

※流动相组成发生显著变化，可能造成泵、管路中的污垢脱落，可能会造成色谱柱的劣化。

**7-2. 色谱柱的连接**

- (1) 查看色谱柱身标签，然后将色谱柱连接到设备，使流动相沿流动方向（→）流动。使用保护柱时，请依次先连接保护柱，再连接分析柱。
- (2) 请一边按住配管一边拧紧色谱柱的末端接头，防止配管和末端接头中产生空隙。空隙会造成样品的扩散，导致色谱峰变宽。



- (3) 将流速设置为 0.3 mL/min 以下然后开始送液。在升温使用色谱柱时，以低流送液直到达到设定温度，然后逐渐将流速增加到所需流速。

- (4) 色谱柱可以串联使用。排阻限分子量不同的色谱柱串联时，请先连接排阻限大的色谱柱。LB-806M 是为了优化标准曲线的直线性，使用不同排阻限分子量填料混合填充的色谱柱，和其他系列色谱柱串联使用会破坏填料混合比例，可能使标准曲线弯曲。需要 LB-806M 串联使用时，请串联同款 LB-806M。

**警告**

※请检查溶剂是否泄露。否则可能会造成漏电、腐蚀或化学损坏。

**注意**

※色谱柱连接到仪器上时，请避免气泡进入色谱柱，否则可能造成色谱柱劣化。

※当连接色谱柱或从停泵状态开始送液时，以 0.3 mL/min 以下流速送液，压力突然升高可能会使色谱柱劣化。

※升温使用色谱柱后，将流速降低至 0.3 mL/min 以下并保持送液，柱温恢复至室温，然后停泵。否则洗脱液冷却时发生收缩，在色谱柱内形成空隙可能导致色谱柱劣化。

**参考**

※建议设置泵的报警压力，以避免超过最大可用压力。

**7-3. 流动相的置换**

置换流动相时，请以 0.3 mL/min 以下的流速通液 3 ~ 5 倍的柱体积。

(1) 请事先确认柱中溶剂与要置换的溶剂是否互溶。

(2) 置换成和色谱柱储存溶剂互溶的溶剂时，先置换成储存溶剂和使用溶剂 1:1 的混合溶剂，再置换成使用溶剂。

(例) 从缓冲液（或者盐的水溶液）置换成甲醇时，先置换成缓冲液（或者盐的水溶液）和甲醇 1:1 的混合溶液，再置换成甲醇溶液。

(3) 置换不互溶或溶解性低的溶剂时，先置换成双方溶剂都能互溶的溶剂，再置换成使用溶剂。

(例) 从盐浓度高的缓冲液（或者盐的水溶液）置换成水/乙腈混合溶液时，先置换成水，再置换成水/乙腈混合溶液。

**注意**

※请不要频繁更换流动相组成，可能会造成色谱柱劣化。

**7-4. 色谱柱清洗方法**

流路或者样品中有不溶物质或者吸附性物质残留在色谱柱内，可能会影响色谱柱的洗脱及压力的变化，这种情况清洗色谱柱可能有改善效果。

使用保护柱时，请先去除保护柱进行检测，如果效果改善了，则可能是保护柱的原因，请清洗保护柱。

如果去除了保护柱仍然没有改善，请清洗保护柱和分析柱，请注意把保护柱和分析柱分开清洗。另外，几根色谱柱串联使用时，请分开清洗。清洗色谱柱时，请不要连接检测器，流动相从色谱柱流出后直接流入废液缸即可。如果清洗色谱柱后仍未改善，请更换新的色谱柱。

**【清洗方法】**

(1) 如果不溶物堵在色谱柱入口，可以逆接色谱柱并以小于正常流速一半的流速通流动相来将其除去。

(2) 吸附物质的具体清洗方法请参考下面例子。在清洗色谱柱时，请逆接色谱柱。请使用 0.5 mL/min 以下的流速，通液量建议为 5 ~ 10 倍柱体积。

(清洗例 1) 疏水性物质的清洗（使用水相流动相时）

添加乙腈、甲醇等极性有机溶剂通液。

(清洗例 2) 离子性物质的清洗

增加盐浓度通液。

**注意**

※极性有机溶剂和盐浓度的添加范围，请参照第 4-2 节“可使用溶剂”。

※洗净液长时间保留在色谱柱中可能会造成色谱柱提前劣化，色谱柱清洗后请尽快更换成流动相。

**8. 色谱柱的保存**

置换成出厂时的储存溶剂，从装置中卸下色谱柱并拧紧两端堵头，在温度变化小的阴凉处储存。关于置换流动相，请参照第 7-3 节“流动相的置换”。

**注意**

※色谱柱内绝对不能干燥，否则可能导致色谱柱劣化。

## 9. 色谱柱的检定方法

检定方法请参照产品的出厂检测报告(CERTIFICATE OF ANALYSIS)。Shodex采用「半峰宽法」测定理论塔板数，采用非对称系数(Fas)作为峰对称性指标。详细的检定方法请参照Shodex官方网站。

参照链接 <https://www.shodex.com/cn/da/07.html>

### 注意

※理论塔板数和 Fas 根据样品及分析条件的变化会有较大差异。在检定色谱柱出厂性能的时候，请根据 CERTIFICATE OF ANALYSIS 记载的条件进行测试。

## 10. 其它注意事项

- (1) 请勿拧开色谱柱的末端螺丝。
- (2) 请勿对色谱柱施加敲击，掉落等强烈冲击。
- (3) 请按照各地废弃物标准正确废弃旧的产品。

产品相关的应用实例，请参考 Shodex 官方网站(<https://www.shodex.com/>)。如果还有其他问题，请联系购买的经销商或者通过 Shodex 官方网站的[联系我们]进行咨询。