色谱柱使用说明
Shodex OHpak SB-800 HQ 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

(1) 检查色谱柱的包装和外观是否有异常。

(2) 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)。

(3) 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 SB-800 HQ 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。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 (μm)	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）
		内径	长度				
F6429100	**OHpak SB-802 HQ**	8.0	300	8	≥ 12,000	200 ~ 1,000	1,000
F6429101	**OHpak SB-802.5 HQ**	8.0	300	6	≥ 16,000	500 ~ 10,000	10,000
F6429102	**OHpak SB-803 HQ**	8.0	300	6	≥ 16,000	1,000 ~ 100,000	100,000
F6429103	**OHpak SB-804 HQ**	8.0	300	10	≥ 16,000	5,000 ~ 400,000	1,000,000
F6429104	**OHpak SB-805 HQ**	8.0	300	13	≥ 12,000	100,000 ~ 1,000,000	(4,000,000)*2
F6429105	**OHpak SB-806 HQ**	8.0	300	13	≥ 12,000	100,000 ~ (20,000,000)*2	(20,000,000)*2
F6429106	**OHpak SB-806M HQ**	8.0	300	13	≥ 12,000	500 ~ (20,000,000)*2	(20,000,000)*2
F6709430	**OHpak SB-G 6B**	6.0	50	10	（保护柱）	－	－
F6429108	**OHpak SB-807 HQ**	8.0	300	35	≥ 1,500	500,000 ~ (500,000,000) *2	(500,000,000)*2
F6709431	**OHpak SB-807G**	8.0	50	35	（保护柱）	－	－

SB-806M HQ 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

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　　：0.02 % 叠氮化钠水溶液（SB-802 HQ ~ SB-806M HQ 及 SB-G 6B）
　　水（SB-807 HQ 及 SB-807G）

4. 使用条件

4-1. 基本条件

产品名称	流速（mL/min）		耐压 (MPa/色谱柱)	pH 范围	温度范围 (℃)
	常用	最大			
OHpak SB-802 HQ ~ SB-803 HQ	0.5 ~ 1.0	1.2	5.0	3 ~ 10	4 ~ 70
OHpak SB-804 HQ ~ SB-806M HQ			3.0		
OHpak SB-G 6B	—	—	—		
OHpak SB-807 HQ	0.5 ~ 1.0	1.5	0.5		4 ~ 60
OHpak SB-807G	—	—	—		

4-2. 可使用溶剂

产品名称	最大浓度（%）			
	甲醇	乙腈	N,N-二甲基甲酰胺 (DMF)	二甲基亚砜 (DMSO)*
OHpak SB-802 HQ	0	0	0	0
OHpak SB-802 5 HQ ~ SB-803 HQ	100	75	100	100
OHpak SB-804 HQ ~ SB-806M HQ, OHpak SB-G 6B	75	75	100	100
OHpak SB-807 HQ, OHpak SB-807G	30	30	0	0

* 请在 50 ~ 70 ℃的范围内使用。

(1) 可以使用磷酸盐、醋酸盐、柠檬酸盐、Tris 等缓冲溶液和氯化钠、氯化钾、硫酸钠、硫酸钾、硫酸铵等各种盐的水溶液。也可以两种混合使用。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) 也可以在 DMF 或 DMSO 中添加溴化锂等盐，建议添加 10 ~ 50 mM。

(3) 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。

(4) 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。（SB-802 HQ 不可以使用有机溶剂。）

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。

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) 样品进样量建议为 50 ~ 100 μL。

(5) 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。

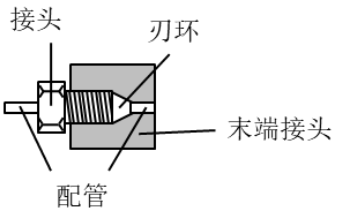
注意 ※色谱柱不能使用的溶剂在流路中残留可能会造成色谱柱的劣化。

※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。SB-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 SB-806M 串联使用时，请串联同款 SB-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。