# 色谱柱使用说明
# Shodex ODP2 HP-4B, 4D, 4E

（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 ODP2 HP 系列是和一般的 ODS 色谱柱相比，对亲水性物质保留能力更高的聚合物基质反相色谱柱。填料采用孔径小、不易保留蛋白质的构造，非常适合样品中含有蛋白质的药物等小分子成分的分析。
流动相使用高浓度硫酸铵水溶液，可以作为疏水性相互作用模式(HIC)色谱柱使用。

## 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) |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 内径 | 长度 | | |
| F7622001 | **ODP2 HP-4B** | 4.6 | 50 | 5 | ≥ 3,500 |
| F7622002 | **ODP2 HP-4D** | 4.6 | 150 | 5 | ≥ 10,000 |
| F7622003 | **ODP2 HP-4E** | 4.6 | 250 | 5 | ≥ 17,000 |
| F6714010 | **ODP2 HPG-4A** | 4.6 | 10 | 5 | （保护柱） |

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/乙腈=55/45

## 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 (℃) |
|---|---|---|---|---|---|
| | 常用 | 最大 | | | |
| **ODP2 HP-4B** | 0.3 ~ 1.0 | 1.5 | 15 | 3 ~ 12 | 20 ~ 60 |
| **ODP2 HP-4D** | | | | | |
| **ODP2 HP-4E** | | | | | |
| **ODP2 HPG-4A** | — | — | — | | |

可用溶剂如下。

(1) 基本的流动相为水和甲醇、水和乙腈的混合溶液（任意比例），每种都可以添加至 100 %。含有芳香环的物质，使用甲醇可能会明显降低理论塔板数，这种情况建议使用乙腈。

(2) 也可以使用 100 %的乙醇、吲哚丙酸(IPA)、四氢呋喃(THF)。

(3) 除水以外，也可以使用磷酸盐、醋酸盐、Tris 等缓冲溶液和氯化钠、氯化钾等各种盐的水溶液。总盐浓度请控制在 0.1 M 以下。一般建议使用 1 ~ 50 mM 的浓度。此外，也可以使用三氟乙酸(TFA)、甲酸、乙酸等酸作为流动相。

(4) 硫酸铵的最高使用浓度为 2 M。

**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。

※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。

※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。

※请不要使用盐酸，盐酸会腐蚀不锈钢。

## 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。对于梯度洗脱，建议使用初始流动相配制样品。

(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) 样品进样量为每柱 40 μL 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。

※如果样品浓度过高，过量进样可能导致色谱柱无法发挥原有性能，造成峰型异常、分离不良或再现性不好等情况。如有这种情况，可以稀释样品溶液或者减少进样量进行调整。

**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。

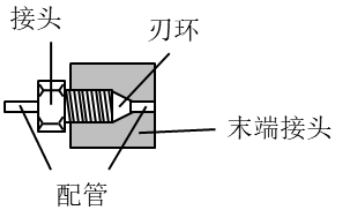
**注意** ※色谱柱不能使用的溶剂在流路中残留可能会造成色谱柱的劣化。

※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。

**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 以下的流速送液，压力突然升高可能会使色谱柱劣化。

※色谱柱升温使用后，请使用 0.3 mL/min 以下的流速继续送液至色谱柱回复室温后再停泵。如果在色谱柱温度很高时停止送液，当流动相温度降低时发生收缩会造成色谱柱内部空隙，使色谱柱劣化。

**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） 当用水/乙腈混合溶液置换高浓度的缓冲溶液（或盐的水溶液）时，请先置换成水，再置换成水/乙腈混合溶液。

(3) 在进行梯度洗脱时，由于流动相成分的变化，在梯度洗脱过程中柱压可能超过最大可用压力。调整流速和柱温，使其不超过最大可用压力。

### 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 0.3 mL/min 的流速。

（清洗例 1：碱清洗） 长期使用酸性至中性的流动相条件时

| 清洗液 | | 通液时间 | | |
|---|---|---|---|---|
| | | ODP2 HP-4B | ODP2 HP-4D | ODP2 HP-4E |
| (1) | 水 | 5 分钟 | 10 分钟 | 20 分钟 |
| (2) | 10 mM 氢氧化钠水溶液/乙腈=80/20 | 40 分钟 | 125 分钟 | 200 分钟 |
| (3) | 水 | 5 分钟 | 10 分钟 | 20 分钟 |
| (4) | 10 mM 醋酸水溶液 | 40 分钟 | 125 分钟 | 200 分钟 |
| (5) | 水 | 10 分钟 | 20 分钟 | 40 分钟 |
| (6) | 流动相 | 20 分钟 | 70 分钟 | 100 分钟 |

（清洗例 2：酸清洗） 长期使用碱性至中性的流动相条件时

| 清洗液 | | 通液时间 | | |
|---|---|---|---|---|
| | | ODP2 HP-4B | ODP2 HP-4D | ODP2 HP-4E |
| (1) | 水 | 5 分钟 | 10 分钟 | 20 分钟 |
| (2) | 50 mM 磷酸水溶液/乙腈=90/10 | 40 分钟 | 125 分钟 | 200 分钟 |
| (3) | 水 | 10 分钟 | 20 分钟 | 40 分钟 |
| (4) | 流动相 | 20 分钟 | 70 分钟 | 100 分钟 |

（清洗例 3：有机溶剂清洗） 长期使用水比例高的流动相条件时

| 清洗液 | | 通液时间 | | |
|---|---|---|---|---|
| | | ODP2 HP-4B | ODP2 HP-4D | ODP2 HP-4E |
| (1) | 水 | 5 分钟 | 10 分钟 | 20 分钟 |
| (2) | 水/乙腈=20/80 | 40 分钟 | 125 分钟 | 200 分钟 |
| (3) | 水 | 10 分钟 | 20 分钟 | 40 分钟 |
| (4) | 流动相 | 20 分钟 | 70 分钟 | 100 分钟 |

**注意** ※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。