

YMC GEL 反相制备填料使用说明书

1. 前言

非常感谢您这次选用 YMC 公司的高效液相色谱柱 YMC GEL 反相制备填料。本公司在 YMC GEL 填料的制造过程中进行了严格的质量管理，保证能为客户提供最高品质的产品。为了使该产品最大地发挥其性能并能够长时间使用，请认真阅读本产品的使用说明书。

2. 产品规格一览

项 目	ODS-A-HG	C8-HG	C4-HG
基 质	硅胶基质		
官 能 团	C18	C8	C4
颗粒径 (μm)	10, 15, 20, 50		
微孔径 (nm)	12, 20, 30		
使用 pH 范围	2~7.5		
装填比重 (g/cm ³)	0.5~0.58		

3. 动态轴向压缩柱的填充方法

3.1 计算填料量

装填比重 × 计划装填柱床体积 (cm³)

3.2 硅胶匀浆的配制及色谱柱的装填

推荐使用甲醇作为装填溶剂进行硅胶匀浆的配制。按匀浆浓度*约为 30~40%，加入装填溶剂搅拌均匀进行快速上柱装填。装填压力与动态轴向压缩柱的耐压相关，以 250 × 50mm I.D. 色谱柱为例，一般推荐设定使用压力在 6~8MPa 之间。

*匀浆浓度 (w/v) = 填料量 (kg) / 匀浆体积 (L)

3.3 色谱柱性能确认 (填充状态的评价)

装填后，推荐对色谱柱性能进行评价，包括理论塔板数 (N)、峰形的确认。如果理论塔板数及不对称系数未达到目标值的情况，请重新对填充条件等进行摸索。

➤ 色谱柱性能评价案例

250×50mm I.D. 色谱柱的情况

流动相：甲醇/水 (85/15, v/v)

流速：50mL/min

检测器：UV at 254nm

样品：尿嘧啶 (0.6mg/mL)、苯甲酸甲酯
(10μL/mL)、甲苯 (40μL/mL)

溶解样品溶剂：流动相

进样量：1mL

评价：甲苯 (苯甲酸甲酯) 的理论塔板数 (N)
(若色谱柱内径不同，请将流速、进样量根据横截面积的比例设定。)

理论塔板数 (N/m) 的判断基准：

	10 μm	20 μm
C18	20,000~25,000/m	10,000~12,000/m
C8	20,000~25,000/m	10,000~12,000/m
C4	20,000~25,000/m	10,000~12,000/m

* 易受色谱柱及 LC 系统影响，会上下有所浮动

4. 使用时的注意事项

- 制备时的使用压力应低于装填压力。
- 反相制备中使用的常规流动相、缓冲盐均可使用。
- 从水性溶剂到非水性溶剂都可使用，但在极性极端不同的溶剂之间进行反复置换后，分析柱性能可能会降低。

- 在pH 值临界点附近, 请使用含有10%以上的有机溶剂的洗脱液。另外, 在pH 值临界点附近, 会有由于温度、洗脱液组成等条件影响而使色谱柱的寿命缩减的现象发生。
- 在pH 值临界点附近使用后, 如只用水来清洗, 可能会引起色谱柱的劣化。
- 填料的寿命除和pH相关外, 还与流动相组成和载样量等条件有关。一般而言, 载样量或缓冲盐及添加剂的浓度过高, 是引起填料寿命缩短的一个主要原因。为了使填料可以长期使用, 建议定期进行柱清洗。
- 对于含杂质较多的样品, 请先进行过滤等预处理或使用保护柱。

5. 色谱柱的清洗及保存

一般的清洗方法

- 流动相中未含有缓冲盐的情况, 请提高流动相中的有机溶剂浓度清洗在色谱柱中残存的保留能力强的物质。有机溶剂浓度可升至100%。特别是脂溶性较高的成分被吸附在柱内的情况下, 如添加THF, 有时可以取得比较好的效果。
- 流动相中含有缓冲盐的情况, 请先使用不含缓冲盐的同等浓度配比的水/有机溶剂混合液进行置换后, 再按上述方法进行清洗。如是 50mM 左右的缓冲液或盐类, 可用 60%的乙腈水溶液直接替换。
- 如果蛋白质或多糖类高分子化合物附着在柱内, 一般很难用清洗来去除附着物。如使用含有此类物质或杂质较多的样品进行分离时, 请对样品进行预处理。

色谱柱的保管方法

- 长时间不使用时, 请先进行清洗, 然后使用甲醇、乙腈等有机溶剂置换, 并避免在高温潮湿的条件下保存。
- 短时间不使用时, 也请避免使用含盐或酸的流动相进行保存。

6. 填料的保管

未使用的填料保存方法: 请直接使用出厂时的容器, 避免在高温潮湿的条件下保存。

使用完后的填料保存法: 制备完后, 请按色谱柱的清洗方法对色谱柱进行清洗。如计划干燥保存, 请使用甲醇、异丙醇 (IPA) 等有机溶剂置换后, 再将填料从色谱柱内取出。填料在 90 度以下干燥后保存, 请避免在高温潮湿环境下保存。如打算在匀浆中保存的话, 请使用匀浆溶剂对色谱柱内溶液进行置换后, 再取出保存。