

如何选择色谱柱

目录

颗粒技术	45
亚乙基桥杂化(BEH)颗粒技术	45
表面带电杂化(CSH)颗粒技术	46
高强度硅胶(HSS)颗粒技术.....	46
实心核(CORTECS)颗粒技术.....	46
USP “L” 色谱柱列表	47
Waters可供无缝转换UPLC/HPLC方法的色谱颗粒物理性质列表	51
Waters经典HPLC颗粒物理性质列表	52
根据液相系统配置合适的色谱柱	53
色谱柱配置.....	53
液相色谱柱的L/d _p 值对比表.....	54
常规反相分析色谱柱安装及使用维护指南	55
VanGuard分体式保护柱.....	56
如何选择HPLC制备柱	57
Waters制备柱应用选择快速推荐表.....	57
制备保护柱卡套及替换配件.....	57
制备色谱的适用性标准品	57
从分析到制备放大的计算方法	58
关于沃特世OBD色谱柱设计	59

如何选择合适的色谱柱

分离科学家一直在不断地寻求创新的解决方案以获得更高的色谱性能。大量的色谱柱填料及规格的选择使得他们可以根据不同的应用方向选择合适的色谱柱。下面的内容介绍了沃特世色谱柱颗粒技术以及柱规格，在面临下一个色谱挑战时能够帮助您选择最合适的色谱柱以达到高通量、高分离度以及高效率的目的。

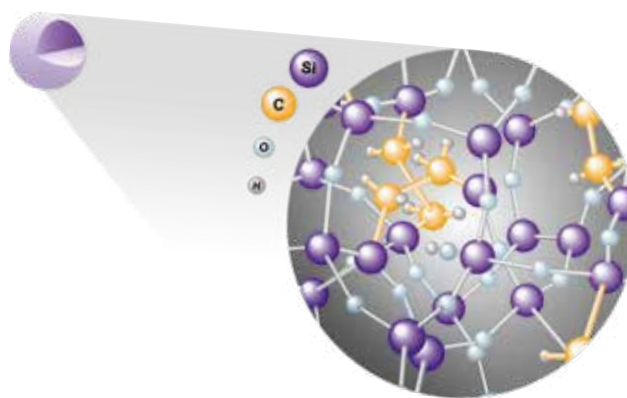
颗粒技术

重现性和可转移性是沃特世色谱柱四大颗粒技术(BEH、CSH、HSS以及CORTECS)的基石。我们一流的可扩展的液相色谱柱展现了现代液相色谱柱填料的所有化学和物理特性。

BEH颗粒技术*	CSH颗粒技术	HSS颗粒技术	实心核颗粒技术
<ul style="list-style-type: none"> 对碱性化合物有更好的保留 在高pH值条件下具有卓越峰形 适用于多种类型的化合物，具有通用性 耐受宽的pH值使用范围 可用于高温(80 °C)条件下的色谱分离 	<ul style="list-style-type: none"> 在低pH值条件下对碱性化合物有更好的峰形 甲酸作为流动相添加剂时具有更好的质谱响应 pH切换时快速平衡 	<ul style="list-style-type: none"> 对极性化合物及代谢物有更好的保留 平衡保留极性和非极性分析物 高强度硅胶具有高的机械稳定性 	<ul style="list-style-type: none"> 最高柱效 更高灵敏度 从UPLC到UHPLC到HPLC的无缝转换

亚乙基桥杂化(BEH)颗粒技术

亚乙基桥杂化(BEH)颗粒色谱柱在色谱多功能性、化学耐受性和机械稳定性方面处于行业领先地位。在极端的pH和温度的条件下使用BEH色谱柱可以增强酸性、碱性以及中性分析物的保留和选择性。BEH颗粒家族包含通用型和针对特定应用的键合相，这些键合相覆盖了ACQUITY UPLC、ACQUITY UPC²、ACQUITY APC以及XBridge系列的柱家族，可服务于多种应用领域。

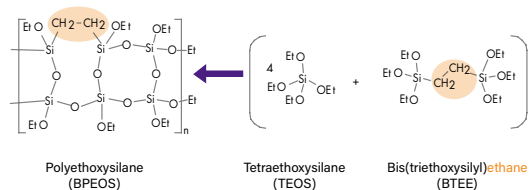


如下色谱柱系列最为著名:

- ACQUITY UPLC BEH柱;
- XBridge柱: 从UHPLC柱到制备柱;
- 基于BEH的肽分析专用柱: C₄, C₁₈(130A, 300A);
- 基于BEH的蛋白分析专用柱: SEC, Glycan。



Particle Synthesis



*US Patents 6,686,035; 7,223,473; 7,250,214.

Refer to "Ethylene-Bridged (BEH Technology™) Hybrids and Their Use in Liquid Chromatography" whitepaper (p/n: 720001159EN) for further detail.

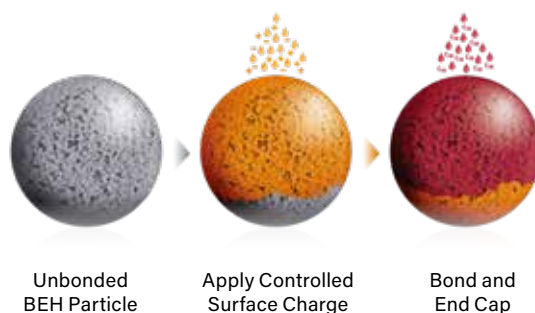
表面带电杂化(CSH)颗粒技术

表面带电杂化(CSH)颗粒填充的色谱柱具有BEH颗粒的最佳属性。CSH颗粒在低离子强度的流动相条件下可提供更好的色谱选择性和卓越的峰形,其优化的表面电荷、孔隙性质以及键合相使其成为快速方法开发的理想选择。ACQUITY UPLC CSH以及XSelect CSH HPLC柱家族提供从亚2微米到制备型颗粒尺寸的简单可扩展的分析解决方案。

如下色谱柱系列最为著名:

- ACQUITY UPLC CSH柱;
- XSelect CSH柱: 从UHPLC柱到制备柱;
- 基于CSH的肽分析专用柱: C₁₈。

The Charged-Surface Hybrid Particle

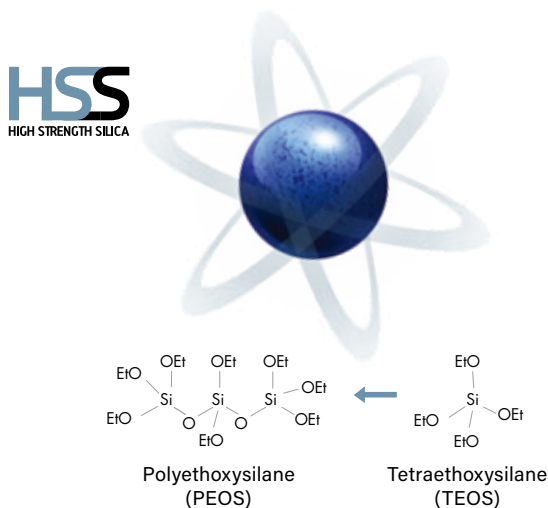


高强度硅胶(HSS)颗粒技术

高强度硅胶(HSS)技术的发展补充了BEH和CSH颗粒的色谱性能。相较于亚乙基桥杂化的BEH和CSH颗粒, HSS颗粒更高的硅烷亲合性(100%二氧化硅)给色谱工作带来了显著的优势,包括提高极性化合物的保留和提供不同的选择性。此外,正如其名字所示, HSS颗粒具备高的机械强度,可耐受18,000 psi(1240 bar)的压力条件。ACQUITY UPLC HSS和XSelect HSS柱家族是公认的硅胶基质色谱分离的首选。

如下色谱柱系列最为著名:

- ACQUITY UPLC HSS柱;
- XSelect HSS柱: 从UHPLC柱到制备柱;
- T3键合相: 有效增强极性保留的C₁₈柱。



实心核颗粒技术

相较于全多孔颗粒填充的色谱柱,实心核颗粒色谱柱展现了更高的柱效和更低的柱背压。实心硅胶核表面围绕的优化多孔层带来了分析速度以及柱效方面的提升。CORTECS 1.6 μm颗粒填充的UPLC色谱柱用于具有超低扩散的ACQUITY UPLC仪器平台时可提供最高柱效。2.7 μm颗粒的CORTECS色谱柱可在UHPLC和HPLC操作平台背压允许的范围内提供最大的灵活性和更高的柱效。

如下色谱柱系列最为著名:

- CORTECS UPLC柱, 1.6 μm;
- CORTECS HPLC柱, 2.7 μm。

实心核颗粒

严格控制实心内核表面围绕的多孔硅胶层厚度可在宽泛样品条件下保证保留时间的可重现性和方法的耐受性。

键合技术

实心核颗粒填充的CORTECS色谱柱系列补充了沃特世色谱柱家族,并提供独特的键合相属性,可用于方法的开发。

颗粒直径

单分散颗粒尺寸给色谱柱提供了高的渗透性,因此具有低的柱背压。

填充效率

实心核颗粒的高柱效带来了更好的色谱分离,减少了分离共流出峰的工作量。

根据USP号选择相应色谱柱

确保您目前所使用的沃特世色谱柱最具重现性并最可靠是我们的质量使命。作为硅胶以及杂化颗粒的主要制造商，科学家们可以保证我们的产品在整个分析方法的生命周期内具有一致性、批次间的重复性以及可用性。

下表列出了根据美国药典(USP)规定分类注册的所有沃特世色谱柱品牌。

USP “L” 色谱柱列表

L1 十八烷基硅烷化学键合多孔或非多孔硅胶或陶瓷微粒 (直径1.5-10 μm), 或整体棒 Octadecyl silane chemically bonded to porous or non-porous silica or ceramic micro-particles, 1.5 to 10 μm in diameter, or monolithic rod		
Brand	Particle Size	Type
AccQTag Ultra C ₁₈	1.7 μm	球形
ACQUITY UPLC BEH130	1.7 μm	球形
ACQUITY UPLC BEH300	1.7 μm	球形
ACQUITY UPLC BEH C ₁₈	1.7 μm	球形
ACQUITY UPLC BEH Shield RP18	1.7 μm	球形
ACQUITY UPLC CSH C ₁₈	1.7 μm	球形
ACQUITY UPLC HSS C ₁₈	1.7 μm	球形
ACQUITY UPLC HSS C ₁₈ SB	1.7 μm	球形
ACQUITY UPLC HSS T3	1.7 μm	球形
ACQUITY UPLC Oligonucleotide C ₁₈	1.7 μm	球形
ACQUITY UPLC Peptide BEH C ₁₈	1.7 μm	球形
Atlantis dC ₁₈	3, 5, 10 μm	球形
Atlantis T3	3, 5, 10 μm	球形
CORTECS C ₁₈	2.7 μm	球形
CORTECS C ₁₈ +	2.7 μm	球形
CORTECS Shield RP18	2.7 μm	球形
CORTECS T3	2.7 μm	球形
CORTECS UPLC C ₁₈	1.6 μm	球形
CORTECS UPLC C ₁₈ +	1.6 μm	球形
CORTECS UPLC Shield RP18	1.6 μm	球形
CORTECS UPLC T3	1.6 μm	球形
Delta-Pak C ₁₈	5 μm	球形
μBondapak C ₁₈	10 μm	不定形
μBondapak C ₁₈ Radial-Pak	10 μm	不定形

L1 十八烷基硅烷化学键合多孔或非多孔硅胶或陶瓷微粒 (直径1.5-10 μm), 或整体棒 Octadecyl silane chemically bonded to porous or non-porous silica or ceramic micro-particles, 1.5 to 10 μm in diameter, or monolithic rod		
Brand	Particle Size	Type
Nova-Pak C ₁₈	4, 6 μm	球形
Prep Nova-Pak HR C ₁₈	6 μm	球形
Radial-Pak C ₁₈	Spherical	球形
Resolve C ₁₈	5, 10 μm	球形
Spherisorb ODS1	3, 5, 10 μm	球形
Spherisorb ODS2	3, 5, 10 μm	球形
Spherisorb ODS-B	5 μm	球形
SunFire C ₁₈	2.5, 3.5, 5, 10 μm	球形
Symmetry C ₁₈	3.5, 5 μm	球形
SymmetryPrep C ₁₈	5, 7 μm	球形
Symmetry 300 C ₁₈	3.5, 5 μm	球形
SymmetryShield RP18	3.5, 5 μm	球形
XBridge C ₁₈	2.5, 3.5, 5, 10 μm	球形
XBridge Peptide BEH, 130 Å	3.5, 5, 10 μm	球形
XBridge Peptide BEH, 300 Å	3.5, 5, 10 μm	球形
XBridge BEH C ₁₈	2.5, 3.5, 5, 10 μm	球形
XBridge Oligonucleotide C ₁₈	2.5 μm	球形
XBridge Shield RP18	2.5, 3.5, 5, 10 μm	球形
XSelect CSH C ₁₈	2.5, 3.5, 5 μm	球形
XSelect HSS C ₁₈	2.5, 3.5, 5 μm	球形
XSelect HSS C ₁₈ SB	2.5, 3.5, 5 μm	球形
XSelect HSS T3	2.5, 3.5, 5 μm	球形
XTerra MS C ₁₈	2.5, 3.5, 5, 10 μm	球形
XTerra RP18	3.5, 5, 10 μm	球形

() - Denotes particle sizes available outside of L class.

Source: United States Pharmacopeia.

L2 十八烷基硅烷化学键合表面多孔薄壳型硅胶, 直径30-50 μm
Octadecyl silane chemically bonded to silica gel of a controlled surface porosity that has been bonded to a solid spherical core, 30 to 50 μm in diameter

Brand	Particle Size	Type
Bondapak Prep C ₁₈	15-20 μm	不定形

L3 多孔硅胶颗粒(直径1.5-10 μm), 或整体硅棒
Porous silica particles, 1.5 to 10 μm in diameter, or a monolithic silica rod

Brand	Particle Size	Type
ACQUITY UPLC BEH HILIC	1.7 μm	球形
Atlantis HILIC Silica	3, 5 μm	球形
CORTECS HILIC	2.7 μm	球形
CORTECS UPLC HILIC	1.6 μm	球形
μPorasil	10 μm	球形
Nova-Pak Silica	4, 6 μm	球形
Prep Nova-Pak HR Silica	6 μm	球形
Resolve Silica	5, 10 μm	球形
Spherisorb Silica	3, 5, 10 μm	球形
SunFire Silica	5, 10 μm	球形
XBridge BEH HILIC	2.5, 3.5, 5, 10 μm	球形

L4 表面多孔薄壳型硅胶柱, 直径30-50 μm
Silica gel controlled surface porosity bonded to a solid spherical core, 30 to 50 μm in diameter

Brand	Particle Size	Type
Porasil Prep Silica	15-20 μm	球形

L7 辛基硅烷化学键合全多孔或者表面多孔硅胶颗粒(直径1.5-10 μm), 或整体棒
Octylsilane chemically bonded to totally or superficially porous silica particles, 1.5 to 10 μm in diameter, or a monolithic silica rod

Brand	Particle Size	Type
ACQUITY UPLC BEH C ₈	1.7 μm	球形
CORTECS C ₈	2.7 μm	球形
CORTECS UPLC C ₈	1.6 μm	球形
Nova-Pak C ₈	4, 6 μm	球形
Resolve C ₈	10 μm	球形
Spherisorb C ₈	3, 5, 10 μm	球形
SunFire C ₈ Silica	3.5, 5, 10 μm	球形
Symmetry C ₈	3.5, 5, 7 μm	球形
SymmetryPrep C ₈	7 μm	球形
SymmetryShield RP8	3.5, 5 μm	球形
XBridge BEH C ₈	2.5, 3.5, 5, 10 μm	球形
XTerra MS C ₈	2.5, 3.5, 5, 10 μm	球形
XTerra Shield RP8	3.5, 5, 10 μm	球形

L8 非交联NH₂化学键合全多孔硅胶颗粒(直径1.5-10 μm), 或整体棒
An essentially monomolecular layer of aminopropylsilane chemically bonded to totally porous silica gel support, 1.5 to 10 μm in diameter, or a monolithic silica rod

Brand	Particle Size	Type
High Performance Carbohydrate Analysis	3, 5 μm	-
μBondapak NH ₂	10 μm	不定形
Spherisorb NH ₂	3, 5, 10 μm	球形

L9 强酸性阳离子交换基团化学键合全多孔不规则或球形硅胶, 直径3-10 μm
Irregular or spherical, totally porous silica gel having a chemically bonded, strongly acidic cation-exchange coating, 3 to 10 μm in diameter

Brand	Particle Size	Type
Spherisorb SCX	5, 10 μm	球形

L10 氰基基团化学键合多孔硅胶颗粒(直径1.5-10 μm), 或整体棒
Nitrile groups chemically bonded to porous silica particles, 1.5 to 10 μm in diameter, or a monolithic silica rod

Brand	Particle Size	Type
ACQUITY UPLC HSS CN	1.7 μm	球形
μBondapak CN	10 μm	不定形
NovaPak CN HP	4 μm	球形
Resolve CN	10 μm	球形
Spherisorb CN	3, 5, 10 μm	球形
Spherisorb CN RP	3, 5, 10 μm	球形
XSelect HSS CN	2.5, 3.5, 5 μm	球形

L11 苯基基团化学键合多孔硅胶颗粒(直径1.5-10 μm), 或整体棒
Phenyl groups chemically bonded to porous silica particles, 1.5 to 10 μm in diameter, or a monolithic silica rod

Brand	Particle Size	Type
ACQUITY UPLC BEH Phenyl	1.7 μm	球形
ACQUITY UPLC CSH Phenyl-Hexyl	1.7 μm	球形
CORTECS Phenyl	2.7 μm	球形
CORTECS UPLC Phenyl	1.6 μm	球形
μBondapak Phenyl	10 μm	不定形
NovaPak Phenyl	4 μm	球形
Spherisorb Phenyl	3, 5, 10 μm	球形
XBridge BEH Phenyl	2.5, 3.5, 5 μm	球形
XSelect CSH Phenyl-Hexyl	2.5, 3.5, 5 μm	球形
XTerra Phenyl	3.5, 5 μm	球形

L12 季铵基团化学键合实心硅胶球的强阴离子交换柱, 直径30-50 μm
A strong anion-exchange packing made by chemically bonding a quaternary amine to a solid silica spherical core, 30 to 50 μm in diameter

Brand	Particle Size	Type
AccellPlus QMA	40 μm	不定形

() - Denotes particle sizes available outside of L class.

Source: United States Pharmacopeia.

L13 三甲基硅烷化学键合多孔硅胶颗粒, 直径3-10 μm
Trimethylsilane chemically bonded to porous silica particles, 3 to 10 μm in diameter

Brand	Particle Size	Type
Spherisorb C ₁	3, 5, 10 μm	球形

L14 强碱性季铵盐化学键合硅胶基质的阴离子交换柱, 直径5-10 μm
Silica gel having a chemically bonded strongly basic quaternary ammonium anion-exchange coating, 5 to 10 μm in diameter

Brand	Particle Size	Type
Spherisorb SAX	5, 10 μm	球形

L15 己基硅烷化学键合全多孔硅胶颗粒, 直径3-10 μm
Hexylsilane chemically bonded to totally porous silica particles, 3 to 10 μm in diameter

Brand	Particle Size	Type
Spherisorb C ₆	3, 5, 10 μm	球形

L17 氢型磺化交联苯乙烯-二乙烯基苯共聚物的强阳离子交换柱, 直径6-12 μm
Strong cation-exchange resin consisting of sulfonated cross-linked styrene-divinylbenzene copolymer in the hydrogen form, 6 to 12 μm in diameter

Brand	Particle Size	Type
Fast Fruit Juice	N/A	N/A
IC-Pak Cation	10 μm	不定形
IC-Pak Ion Exclusion	7 μm	球形
Shodex RSPak DC-613	6 μm	球形

L19 钙型磺化交联苯乙烯-二乙烯基苯共聚物的强阳离子交换柱, 直径5-15 μm
Strong cation-exchange resin consisting of sulfonated cross-linked styrene-divinylbenzene copolymer in the calcium form, 5 to 15 μm in diameter

Brand	Particle Size	Type
Shodex Sugar SC-1011	7 μm	球形
Sugar-Pak 1	9 μm	球形

L20 二羟基丙烷化学键合多孔硅胶或杂化颗粒(直径1.5-10 μm), 或整体棒
Dihydroxypropane groups chemically bonded to porous silica or hybrid particles, 1.5 to 10 μm in diameter, or a monolithic silica rod

Brand	Particle Size	Type
ACQUITY BEH SEC, 125Å和200Å	1.7 μm	球形
ACQUITY UPLC BEH 450Å	2.5 μm	球形
BioSuite 125, 250, 450 series	4, 5, 8, 10, (13), (17) μm	球形
Insulin HMWP	-	N/A
Protein-Pak 60	10 μm	球形
Protein-Pak 125	10 μm	球形
Protein-Pak 200SW and 300SW	10 μm	球形
XBridge Protein BEH SEC, 125 Å和200Å	2.5, 3.5 μm	球形
XBridge Protein BEH SEC, 450 Å	2.5 μm	球形

L21 刚性苯乙烯-二乙烯基苯共聚物微球填料柱, 直径3-30 μm
A rigid, spherical styrene-divinylbenzene copolymer, 3 to 30 μm in diameter

Brand	Particle Size	Type
Shodex RSPak RP18-613	6 μm	球形
Styragel HR 0.5, 1, 2, 3 and 4	-	球形
Styragel HR 4E	-	球形
Styragel HR 5E	-	球形

L22 带有磺酸基团的多孔苯乙烯阳离子交换柱, 直径5-15 μm
A cation-exchange resin made of porous polystyrene gel with sulfonic acid groups, 5 to 15 μm in diameter

Brand	Particle Size	Type
IC-Pak Ion Exclusion	7 μm	球形
Shodex RSPak DC-613	6 μm	球形
Shodex Sugar SP0810	8 μm	球形

L23 带有季铵基团的聚甲基丙烯酸甲酯或聚丙烯酸酯多孔离子交换柱, 直径7-12 μm
An anion-exchange resin made of porous polymethacrylate or polyacrylate gel with quaternary ammonium groups, 7 to 12 μm in size

Brand	Particle Size	Type
BioSuite DEAE	(2.5), 10, 13 μm	球形
BioSuite Q AXC	10, 13 μm	球形
BioSuite Q-PEEK	10 μm	球形
IC-Pak Anion	10 μm	球形
IC-Pak A HC	10 μm	球形
Protein-Pak Q 8HR	8 μm	球形

L25 以能分离分子量在100-5000 Da范围的水溶性中性、阳离子型及阴离子型聚合物(用聚氧乙烯测定)作为固定相, 键合聚甲基丙烯酸酯树脂交联羟基醚(表面含有残余羧基官能团)树脂。Packing having the capacity to separate compounds with a molecular weight range from 100-5000 (as determined by polyethylene oxide), applied to neutral, anionic, and cationic water-soluble polymers. A polymethacrylate resin base, cross-linked with polyhydroxylated ether (surface contained some residual carboxyl functional groups) was found suitable

Brand	Particle Size	Type
Ultrahydrogel DP, +120	10 μm	球形

L26 丁基硅烷化学键合全多孔或表面多孔型硅胶颗粒(直径1.5-10 μm), 或整体棒
Butyl silane chemically bonded to totally porous or superficially porous silica particles, 1.5 to 10 μm in diameter

Brand	Particle Size	Type
ACQUITY UPLC BEH300 C ₄	1.7 μm	球形
Delta-Pak C ₄	5 μm	球形
Symmetry300 C ₄	3.5, 5 μm	球形
XBridge BEH300 C ₄	3.5, 5, 10 μm	球形

L27 多孔硅胶颗粒, 直径30-50 μm
Porous silica particles, 30 to 50 μm in diameter

Brand	Particle Size	Type
Porasil	37-55 μm	球形

() - Denotes particle sizes available outside of L class.

Source: United States Pharmacopeia.

L33

以能够分离分子量在4000-500000 Da范围右旋糖酐的球形硅胶作为固定相,是球形的硅胶基质且pH稳定性好
Packing having the capacity to separate dextrans by molecular size over a range of 4000 to 500,000 Da. It is spherical, silica-based, and processed to provide pH stability

Brand	Particle Size	Type
ACQUITY UPLC Protein BEH SEC, 125 Å	1.7 µm	球形

L34

铅型磺化交联苯乙烯-二乙烯基苯共聚物的强阳离子交换柱 (直径7-9 µm)
Strong cation-exchange resin consisting of sulfonated cross-linked styrene-divinylbenzene copolymer in the lead form, 7 to 9 µm in diameter

Brand	Particle Size	Type
Shodex Sugar SP-0810	N/A	球形

L37

适合分离分子量在2000-40000 Da范围蛋白质分子的聚甲基丙烯酸酯凝胶
Packing having the capacity to separate proteins by molecular size over a range of 2000 to 40,000 Da. It is a polymethacrylate gel

Brand	Particle Size	Type
Ultrahydrogel 250	N/A	球形

L38

水溶性甲基丙烯酸酯基质的体积排阻色谱柱
A methacrylate-based size-exclusion packing for water-soluble samples

Brand	Particle Size	Type
Ultrahydrogel series	N/A	球形

L39

亲水全多孔聚羟基甲基丙烯酸酯色谱柱
A hydrophilic polyhydroxymethacrylate gel of totally porous spherical resin

Brand	Particle Size	Type
Ultrahydrogel series	N/A	球形

L43

五氟代苯基基团经丙基间隔物键合硅胶颗粒,直径1.5-10 µm
Pentafluorophenyl groups chemically bonded to silica particles by a propyl spacer, 1.5 to 10 µm in diameter

Brand	Particle Size	Type
ACQUITY UPLC CSH Fluoro-Phenyl	1.7 µm	球形
ACQUITY UPLC HSS PFP	1.8 µm	球形
XSelect CSH Fluoro-Phenyl	2.5, 3.5, 5 µm	球形
XSelect HSS PFP	2.5, 3.5, 5 µm	球形

L52

带有磺丙基或磺甲基的强阳离子交换多孔硅胶柱,直径1-10 µm
A strong cation exchange resin made of porous silica with sulfopropyl or sulfoethyl groups, 1 to 10 µm in diameter

Brand	Particle Size	Type
IC-Pak Cation	10 µm	不定形

L55

带有聚丁二烯-马来酸共聚物的强阳离子交换硅胶柱,直径约5 µm
A strong cation exchange resin made of porous silica coated with polybutadiene-maleic acid copolymer, about 5 µm in diameter

Brand	Particle Size	Type
IC-Pak C M/D	N/A	N/A

L59

能分离分子量在5-7000 kDa蛋白质分子的具有亲水性涂层的球形硅胶或杂化颗粒SEC色谱柱,直径1.5-10 µm
Packing for the size-exclusion separations of proteins (separation by molecular weight) over the range of 5 to 7000 kDa. The packing is spherical 1.5 to 10 µm, silica or hybrid packing with a hydrophilic coating

Brand	Particle Size	Type
ACQUITY BEH200 SEC	1.7 µm	球形
BioSuite 125, 250, 450 series	4-17 µm	球形
Protein-Pak 60	10 µm	球形
Protein-Pak 300SW	10 µm	球形

L68

表面经烷基酰胺基共价改性且未封端的球形多孔硅胶,直径小于或等于10 µm
Spherical, porous silica, 10 µm or less in diameter, the surface of which has been covalently modified with alkyl amide groups and not endcapped

Brand	Particle Size	Type
ACQUITY UPLC Glycan BEH Amide	1.7 µm	球形
ACQUITY UPLC BEH Amide	1.7 µm	球形
XBridge BEH Amide Glycan	2.5, 3.5 µm	球形
XBridge BEH Amide	2.5, 3.5 µm	球形

应用案例:基于LC-MS/MS的尿药检测

"在色谱分析过程中,我们依赖于这些色谱柱的一致性,因为它们具有最小化的批次间差异,在保留时间以及柱生命周期方面都具有一致性。液相色谱柱任何一个细微的问题对于每天分析数千样本的实验室来说都会造成极大的影响。沃特世公司给我们带来的技术以及客户方面的支持都是无可非议的,这让我们对沃特世有了另一层面的信任。XBridge XP系列的液相色谱柱由于其针对大多数分析物都具有相对高的回收率、分离度以及峰形,因此是我们研发团队方法开发的首选。"

审稿人: Francine Leone

机构: Dominion Diagnostics



Waters可供无缝转换UPLC/HPLC方法的色谱颗粒物理性质列表

品牌	固定相	USP 分类号	pH 范围	温度限制	孔径	表面积 [m ² /g]	配基密度 [μmol/m ²]	碳载量 %	封端
CORTECS [®] COLUMNS	C ₁₈	L1	2-8	45 °C	90 Å	100	2.7	6.6	专利封端
	C ₁₈₊	L1	2-8	45 °C	90 Å	100	2.4	5.7	专利封端
	HILIC	L3	1-5	45 °C	90 Å	100	无键合	无	无
	C ₈	L7	2-8	45 °C	90 Å	100	3.4	4.5	专利封端
	T3	L1	2-8	45 °C	120 Å	100	1.6	4.7	专利封端
	Shield RP18	L1	2-8	45 °C	90 Å	100	3.2	6.4	专利封端
	Phenyl	L11	2-8	45 °C	90 Å	100	3.2	5.9	专利封端
Bridge COLUMNS BEH Technology [®]	C ₈	L1	1-12	80 °C(低pH时) 60 °C(高pH时)	130 Å	185	3.1	18	专利封端
	Shield RP18	L1	2-11	50 °C(低pH时) 45 °C(高pH时)	130 Å	185	3.3	17	TMS
	C ₈	L7	1-12	60 °C(低pH时) 60 °C(高pH时)	130 Å	185	3.2	13	专利封端
	苯基	L11	1-12	80 °C(低pH时) 60 °C(高pH时)	130 Å	185	3.0	15	专利封端
	Amide (酰胺基)	L68	2-11	90 °C(低pH时) 90 °C(高pH时)	130 Å	185	7.5	12	无
	HILIC (无键合)	L3	1-9	45 °C	130 Å	185	无键合	无	n/a
	BEH130 C ₁₈ 寡核苷酸专用	L1	1-12	80 °C(低pH时) 60 °C(高pH时)	130 Å	185	3.1	18	专利封端
	BEH130 C ₁₈ 肽专用	L1	1-12	80 °C(低pH时) 60 °C(高pH时)	130 Å	185	3.1	18	专利封端
	BEH300 C ₁₈ 肽专用	L1	1-12	80 °C(低pH时) 60 °C(高pH时)	300 Å	90	3.1	12	专利封端
	BEH300 C ₄ 蛋白专用	L26	1-10	80 °C(低pH时) 50 °C(高pH时)	300 Å	90	2.4	8	无
	BEH125 SEC 蛋白专用	L33	1-8	60 °C(低pH时) 60 °C(高pH时)	125 Å	395	4.9	15	无
	BEH200 SEC 蛋白专用	L33	1-8	60 °C(低pH时) 60 °C(高pH时)	200 Å	220	5.5	12	无
	BEH450 SEC 蛋白专用	L33	1-8	60 °C(低pH时) 60 °C(高pH时)	450 Å	80	4.8	8	无
Glycan BEH130 Amide蛋白 糖基专用	L68	2-11	90 °C(低pH时) 90 °C(高pH时)	130 Å	185	7.5	12	无	
Glycan BEH300 Amide 糖 蛋白专用	L68			300 Å					
XSELECT [®] Columns CSH Technology	C ₈	L1	1-11	80 °C(低pH时) 45 °C(高pH时)	130 Å	185	2.3	15	专利封端
	苯基	L11	1-11	80 °C(低pH时) 45 °C(高pH时)	130 Å	185	2.3	14	专利封端
	氟苯基	L43	1-8	60 °C(低pH时) 45 °C(高pH时)	130 Å	185	2.3	10	无
	CSH130 C ₁₈ 肽分析/制备专用柱	L1	1-11	80 °C(低pH时) 45 °C(高pH时)	130 Å	185	2.3	15	专利封端
XSELECT [®] Columns HSS HIGH STRENGTH SILICA	T3 (C ₁₀)	L1	2-8	45 °C	100 Å	230	1.6	11	专利封端
	C ₁₈	L1	1-8	45 °C	100 Å	230	3.2	15	专利封端
	C ₁₈ SB	L1	2-8	45 °C	100 Å	230	1.6	8	无
	PPF(五氟苯基)	L43	2-8	45 °C	100 Å	230	3.2	7	无
	CN(氰基)	L10	2-8	45 °C	100 Å	230	2	5	无

Waters经典HPLC颗粒物理性质列表(节选)

品牌	固定相	颗粒形状	粒径	孔径**	表面积 [m ² /g]	孔容 [cc/g]	碳载量%	封端
SunFire	C ₁₈	球形	2.5, 3.5, 5, 10 μm	100Å	340	0.90	16	Yes
	C ₈	球形	2.5, 3.5, 5, 10 μm	100Å	340	0.90	12	Yes
	Silica	球形	5, 10 μm	100Å	340	0.90	未键合	n/a
Atlantis	T3	球形	3, 5, 10 μm	100Å	330	1.00	14	Yes
	dC ₁₈	球形	3, 5, 10 μm	100Å	330	1.00	12	Yes
	HILIC	球形	3, 5 μm	100Å	330	1.00	未键合	n/a
XTerra	RP18	球形	3.5, 5, 10 μm	125Å	175	0.70	15	Yes
	RP8	球形	3.5, 5, 10 μm	125Å	175	0.70	13.5	Yes
	MS C ₁₈	球形	2.5, 3.5, 5, 10 μm	125Å	175	0.70	15.5	Yes
	MS C ₈	球形	2.5, 3.5, 5, 10 μm	125Å	175	0.70	12	Yes
	Phenyl	球形	3.5, 5 μm	125Å	175	0.70	12	Yes
Symmetry	C ₁₈	球形	3.5, 5 μm	100Å	335	0.90	19.1	Yes
	C ₈	球形	3.5, 5 μm	100Å	335	0.90	11.7	Yes
SymmetryShield	RP8	球形	3.5, 5 μm	100Å	335	0.90	15	Yes
	RP18	球形	5 μm	100Å	335	0.90	17	Yes
	Silica	球形	3, 5, 10 μm	80Å	220	0.50	n/a	n/a
	ODS2	球形	3, 5, 10 μm	80Å	220	0.50	11.5	Yes
	ODS	球形	3, 5, 10 μm	80Å	220	0.50	6.2	No
Symmetry300	C ₁₈	球形	3.5, 5 μm	300Å	110	0.80	8.5	Yes
	C ₄	球形	3.5, 5 μm	300Å	110	0.80	2.8	Yes
SymmetryPrep	C ₁₈	球形	7 μm	100Å	335	0.90	19.1	Yes
	C ₈	球形	7 μm	100Å	335	0.90	11.7	Yes
Delta-Pak	C ₄	球形	5, 15 μm	100Å	300	1.00	7.3	Yes
	C ₁₈	球形	5, 15 μm	100Å	300	1.00	17	Yes
	C ₄	球形	5, 15 μm	300Å	125	1.00	2.6	Yes
	C ₁₈	球形	5, 15 μm	300Å	125	1.00	6.8	Yes
Nova-Pak	C ₁₈	球形	4, 6 μm	60Å	120	0.30	7.3	Yes
	C ₈	球形	4 μm	60Å	120	0.30	4	Yes
	Phenyl	球形	4 μm	60Å	120	0.30	4.6	Yes
	CN HP	球形	4 μm	60Å	120	0.30	3	Yes
	Silica	球形	4, 6 μm	60Å	120	0.30	n/a	n/a
Spherisorb	Silica	球形	3, 5, 10 μm	80Å	220	0.50	n/a	n/a
	ODS2	球形	3, 5, 10 μm	80Å	220	0.50	11.5	Yes
	ODS	球形	3, 5, 10 μm	80Å	220	0.50	6.2	No
	ODSB	球形	5 μm	80Å	220	0.50	11.5	Yes
	C ₈	球形	3, 5, 10 μm	80Å	220	0.50	5.8	Yes
	C ₆	球形	3, 5, 10 μm	80Å	220	0.50	4.7	Yes
	C ₁	球形	3, 5, 10 μm	80Å	220	0.50	2.2	No
	Nitrile	球形	3, 5, 10 μm	80Å	220	0.50	3.1	No
	Amino	球形	3, 5, 10 μm	80Å	220	0.50	1.9	No
	Phenyl	球形	3, 5, 10 μm	80Å	220	0.50	2.5	No
	OD/CN	球形	5 μm	80Å	220	0.50	5	Yes
SAX, SCX	球形	5, 10 μm	80Å	220	0.50	4	No	
μBondapak	C ₁₈	不定形	10 μm	125Å	330	1.00	9.8	Yes
	Phenyl	不定形	10 μm	125Å	330	1.00	9.3	Yes
	CN	不定形	10 μm	125Å	330	1.00	6	Yes
	NH ₂	不定形	10 μm	125Å	330	1.00	4	No
Bondapak	C ₁₈	不定形	15-20 μm	125Å	330	1.00	10	Yes
	C ₁₈	不定形	15-20 μm	300Å	100	1.00	3.5	Yes

* 产品排列顺序：按柱产品推出的年代回溯排列

**名义值

根据液相系统配置合适的色谱柱

根据液相系统配置合适的色谱柱

可扩展的颗粒技术确保了我们的液相色谱柱可与广泛的色谱仪器匹配使用。根据分离的目标、所用的仪器平台或所分析的样品类型，您可以选择与系统配置匹配的最合适的色谱柱而不对色谱结果产生不利影响。

下表为根据仪器的分类选择合适的液相色谱柱提供了指南。

Nano/Micro	UPLC	UHPLC	HPLC	Preparative
ACQUITY UPLC M-CLASS BEH (1.7 μm)	ACQUITY UPLC BEH (1.7 μm)	XBridge BEH XP (2.5 μm)	XBridge BEH (3.5, 5 μm)	XBridge BEH OBD™ (5, 10 μm)
ACQUITY UPLC M-CLASS CSH (1.7 μm)	ACQUITY UPLC CSH (1.7 μm)	XSelect CSH XP (2.5 μm)	XSelect CSH (3.5, 5 μm)	XSelect CSH OBD (5, 10 μm)
ACQUITY UPLC M-CLASS HSS (1.8 μm)	ACQUITY UPLC HSS (1.8 μm)	XSelect HSS XP (2.5 μm)	XSelect HSS (3.5, 5 μm)	XSelect HSS OBD (5 μm)
—	CORTECS UPLC (1.6 μm)	CORTECS (2.7 μm)	CORTECS (2.7 μm)	—
UPLC M-Class	UPLC	XP	—	OBD

色谱柱配置

系统扩散是每个色谱系统固有的，它是造成色谱谱带展宽的仪器因素，并取决于系统管路体积、切换阀配件、柱连接以及流通池体积。系统扩散与色谱柱扩散一起构成了影响分离的总扩散因素。

因此，在选择色谱柱配置时了解系统对于色谱峰谱带展宽的影响是非常重要的。扩散值高的系统使用较大柱体积的色谱柱可以获得最佳柱效；相反，扩散值低的系统使用较小柱体积的色谱柱可以获得最佳柱效。

下表总结了沃特世液相系统的参数特点以及在保证色谱分离效率条件下可匹配的色谱柱配置。



System	Nano/Micro	UPLC	UHPLC	HPLC	Preparative
Dispersion	1 μL	<20 μL	22–29 μL	>40 μL	—
Routine Pressure	<15,000 psi	<18,000 psi	<10,000 psi	<4000 psi	<4000 psi
Particle Size	<2 μm	<2 μm	2–3 μm	3–5 μm	>5 μm
Column I.D.	75–300 μm	2.1 mm (1.0 mm)	3.0 mm (2.1 mm)	4.6 mm (3.0 mm)	>7.8 mm
Column Length	50–250 mm	<150 mm	50–150 mm	75–300 mm	50–300 mm

不同品牌仪器的谱带展宽值、以及色谱柱配置规格建议，请见下页。

在液相方法转移时，仪器扩散也是需考虑的最实用的液相色谱仪器参数之一。了解仪器的谱带展宽体积有助于开发系统兼容的方法，使您无缝缩放色谱柱规格或实现方法在不同仪器平台和实验室功能方面的转换。下表是根据不同仪器的谱带展宽值给出的色谱柱配置建议。

System	Bandspread*	Recommended Column Particle Sizes and I.D.s
Shimadzu Prominence UFLC	41 µL	CORTECS 2.7 µm
Alliance 2695 HPLC	29 µL	XBridge 3.5, 5 µm
		XSelect 3.5, 5 µm
Agilent 1260 UHPLC (600 bar)	28 µL	3.0-4.6 mm I.D.
		XBridge 2.5, 3.5, 5 µm
		XSelect 2.5, 3.5, 5 µm
ACQUITY Arc	23 µL	CORTECS 2.7 µm
		3.0 mm I.D.
Thermo Accela UHPLC	21 µL	XBridge 2.5, 3.5, 5 µm
		XSelect 2.5, 3.5, 5 µm
Agilent 1290 UHPLC (1200 bar)	17 µL	CORTECS 2.7 µm
		3.0 mm I.D.

System	Bandspread*	Recommended Column Particle Sizes and I.D.s
ACQUITY UPLC	12 µL	ACQUITY UPLC BEH 1.7 µm
ACQUITY UPLC H-Class with Column Manager	12 µL	ACQUITY UPLC CSH 1.7 µm
		ACQUITY UPLC HSS 1.8 µm
ACQUITY UPLC H-Class	9 µL	CORTECS UPLC 1.6 µm
		2.1 mm I.D.
ACQUITY UPLC I-Class (FTN)	7.5 µL	ACQUITY UPLC BEH 1.7 µm
		ACQUITY UPLC CSH 1.7 µm
ACQUITY UPLC I-Class (FL)	5.5 µL	ACQUITY UPLC HSS 1.8 µm
		CORTECS UPLC 1.6 µm
		1.0-2.1 mm I.D.

*These data are based on nominal values for unmodified systems. As such, they are intended for reference only. Any adjustment to a system's plumbing, connectivity, and configuration will change the instrument's bandspread, affecting the quality of chromatography.

液相色谱柱的L/d_p值对比表

为了保证一个HPLC方法转移到UPLC或UHPLC方法时不损失分离度，需要选择柱长与粒径比值(L/d_p)相当的色谱柱。

沃特世公司用这个比值来衡量一个色谱柱的分离能力。L/d_p值相等的色谱柱可以获得相同的分离度。因此，对于两根具有相当L/d_p值的色谱柱，越短的色谱柱(粒径较小的填充颗粒)则可以在更短的时间内提供相当的分离效果。

$$\text{EXAMPLE: } \frac{150 \text{ mm}}{5 \mu\text{m}} = \frac{150,000 \mu\text{m}}{5 \mu\text{m}} = 30,000$$

L/d _p		Column length (mm)							
		20	30	50	75	100	150	250	
Particle size (µm)	Fully porous	1.7	-	17,600	29,400	44,100	58,000	88,200	-
		2.5	8,000	12,000	20,000	30,000	40,000	60,000	-
		3.5	5,700	8,600	14,300	21,400	28,600	42,900	71,400
		5.0	4,000	6,000	10,000	15,000	20,000	30,000	50,000

你知道吗？

方法转换包：含有填料一致、柱效相当的UPLC柱和HPLC柱，以及软件工具。

关于“UPLC色谱柱计算器”(UPLC Column Calculator)：小程序，可以让计算与转换变得异常简单、直观。不仅计算UPLC-HPLC，还可以计算UHPLC-HPLC、甚至HPLC-HPLC之间的转换。

如果您已有Waters UPLC系统，可以联系Waters免费获取该程序。



常规反相分析色谱柱安装及使用维护指南

何谓常规反相色谱柱？

那些在硅胶或杂化基质颗粒上键合了如C₁₈、C₈、C₄或苯基等键合相的色谱填料所装填的色谱柱，按反相色谱条件进行操作和分离。反相是液相色谱中最常使用的分离模式，而C₁₈柱是最常使用的反相色谱柱之一。

新色谱柱开启和安装的推荐步骤：

1. 使用新鲜洁净的水与乙腈。冲洗系统，确保系统干净，不含任何缓冲盐和污染物。
2. 取用色谱柱时避免磕碰掉落。
3. 将色谱柱入口端连接到系统上，柱出口端先不要连接，色谱柱身上有箭头标明正确流向。
4. 在0.1 mL/min流速条件下用纯乙腈润洗色谱柱，然后在2分钟内将流速升至0.5 mL/min。
5. 当溶剂均匀的从柱出口端流出，停流速，将色谱柱出口端接到系统检测器上(这样可以避免气泡进入检测系统，并且可快速达到基线平衡)。
6. 重启流速，按照步骤4的方法逐渐提高流速，至常规分析时所使用的流速。
7. 参考柱效测试报告中的方法，使用该流动相条件平衡色谱柱，通常需要使用5-10倍柱体积的流动相，直至压力与基线稳定。
8. 测试柱效。如果没有柱效测试报告中的分析物，请联系沃特世化学消耗品部门寻求支持，使用合适的浓度与进样量。柱效结果略低于柱效测试报告属正常情况。如结果明显偏低、峰形拖尾，提示色谱柱和/或所使用的液相系统处于非理想状态，需要进行故障排查。

当使用2.1 mm内径色谱柱时，建议优化系统以减少谱带展宽，包括：使用检测器微量流通池，减少进样器loop环体积，使用较小内径(如0.005"或0.12 mm)的系统管路。并确保管路与色谱柱连接恰当、无死体积。

当使用小颗粒填料(如2.5 μm)短柱进行高效快速分离时，需要考虑以下因素：

- 确保管路与色谱柱连接恰当、无死体积，尽量优化系统减少谱带展宽；
- 提高采样频率至10点/秒以上；
- 较小粒径的色谱柱产生的柱压较高，而较小粒径要达到最优色谱效率所需的线速度较高，请根据所用LC系统的实际情况调节流速；
- 可使用较高的柱温来补偿小颗粒造成的压力升高，例如40 °C。使用杂化颗粒反相色谱柱时，可使用45 °C或更高。

进行实际样品分析的推荐步骤：

1. 确保流动相洁净，每隔24-48小时就应新配水相流动相，并同时更换或仔细清洗流动相溶剂瓶，以避免流动相长菌。确保实验室纯水系统工作正常。
2. 确保样品不含颗粒型杂质。如样品过脏，或有微粒存在，需要考虑适合的样品制备方法。在使用样品过滤器时，确保滤膜为0.22 μm，且与样品溶剂完全兼容(不发生溶解)。也可考虑使用高速离心法去除颗粒性杂质，例如8000 rpm转速以上离心20分钟后，移取样品上清液进样。
3. 确保样品溶液与流动相条件兼容，进样后不会发生沉淀、或溶剂不互溶情况。通常使用流动相或比流动相洗脱强度弱的溶液(即有机溶剂比例较低)溶解或稀释样品，这样可以获得最好的峰形和检测灵敏度。

4. 如系统在线混合生成流动相，预先检查流动相各组分的兼容性。例如，当磷酸盐缓冲液与高浓度乙腈(例如≥70%)混用时，可能发生盐析出。
5. 了解色谱柱的操作使用限度。如果所使用的流动相条件、柱温、以及样品溶液条件，不利于色谱柱寿命时，请使用保护柱以延长柱寿命。
6. 在使用流动相进行柱平衡之前，如果流动相中含有可能析出的缓冲盐，先使用5倍柱体积的有机溶剂-水溶液进行过渡。例如，在使用40/60甲醇/磷酸盐缓冲液流动相之前，先使用5倍柱体积的40/60甲醇/纯水溶液冲洗色谱柱。
7. 在常规分析过程中，每针或间隔若干针清洗柱内可能积累的污染物。完成分析后，彻底清洗色谱柱，除去柱内缓冲盐和污染物。
8. 在色谱柱使用过程中，定期进行柱效测试，记录塔板数与压力，从而追踪监控色谱柱的性能变化。柱效测试方法应固定。
9. 反相色谱柱应保存于100%乙腈中。如色谱柱用于高温或极端PH条件，或停用色谱柱超过72小时，用100%乙腈保存色谱柱。
10. 使用原配的柱堵头，确保堵头拧紧以避免柱内溶剂挥发。取放色谱柱时避免磕碰掉落。

柱清洗与再生的推荐步骤：

压力升高，色谱柱峰形发生变化如出现严重拖尾、肩峰甚至峰分岔，分离度降低，这些都强烈提示色谱柱受到污染。可采用以下步骤处理：

1. 如系统接有在线过滤器和保护柱，首先排查在线过滤器与保护柱，进行更新替换。日常操作中，当压力升高10%或柱效降低10%时，就应考虑更换在线过滤器和/或保护柱。
2. 使用高比例的有机溶剂进行冲洗(请注意避免盐析出，通常可使用梯度升高法，然后维持在高比例甚至100%有机溶剂条件下)。此操作通常可洗去大部分污染物。
3. 如有机溶剂清洗不能解决问题，可采用如下方法进行色谱柱的清洗和再生。根据样品性质以及你所了解的污染物性质选择清洗方法，用20倍柱体积(即，对于4.6x250 mm柱，相当于80 mL)的HPLC级溶剂清洗色谱柱，将流动相温度升至35-55 °C可提高清洗效率。

极性样品	非极性样品	蛋白质类样品
1.水	1.异丙醇*	选择1: 连续进几针DMSO(二甲亚砜)，以溶解柱头析出样品
2.甲醇	2.THF**	选择2: 10-90%B梯度冲洗，其中A为0.1%TFA水溶液，B为0.1%TFA乙腈。
3.THF**	3. 二氯甲烷**	选择3: 使用7M盐酸胍或7M尿素水溶液(配制后膜过滤)冲洗色谱柱，促使柱上吸附蛋白样品变性溶解。
4.甲醇	4. 正己烷**	
5.水	5. 异丙醇*	
6.流动相	6. 流动相	

* 注意防止缓冲盐析出，可调整为适当比例的异丙醇和水的混合溶液

** 除非确保您的系统与四氢呋喃和正己烷完全兼容，否则四氢呋喃或正己烷只有在色谱柱无法用反相有机溶剂如乙腈清洗干净时才考虑使用。降低流速及操作温度，并尽量减少系统在四氢呋喃和正己烷中的暴露时间。

4. 可以考虑对色谱柱进行倒冲，特别是当问题表现为压力急剧升高，提示有颗粒型物质直接堵塞于色谱柱入口端筛板处时。操作时，将色谱柱倒接，并与检测器断开。使用低流速0.2 ml/min，进行过夜冲洗，并封堵检测器入口及出口端以免溶剂挥发产生气泡。甚或，将色谱柱小心的打开，直接更换柱入口端筛板。注意！这类操作需要技巧，仅作问题确实无法得到有效解决时的最后尝试，或供某些经验丰富的分析操作人员参考使用。

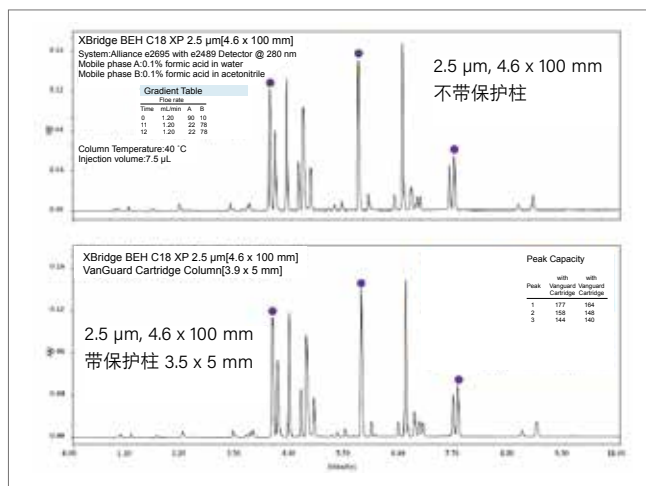
VanGuard分体式保护柱



2015年，沃特世最新开发了VanGuard保护柱(分体式)，将VanGuard连接死体积最小化的优秀设计理念广泛服务于UHPLC色谱柱与HPLC色谱柱，同时，还增加了柱芯可拆卸替换的便利因素。

特点	好处
第一个用于HPLC和UHPLC应用的保护柱	耐压上限可达18,000 psi
正在申请专利，超低体积设计	对色谱性能影响最小化
使用Waters柱硬件和色谱填料生产	先进的HPLC, UHPLC和XP柱的性能与保护
直接接入Waters® HPLC, UHPLC和XP色谱柱	消除溶剂泄漏问题与连接死体积；日常操作使用更方便简洁

VanGuard保护柱 — 不影响精细的分离



技术小贴士 — 初次安装注意!

为了确保在高压条件下也不会泄漏，同时确保连接死体积最小化，VanGuard保护柱的连接锥箍与箍环都未做固定(运输时由一个黑色O型圈保持其位置)，直到安装时，才根据所配合的UHPLC柱或HPLC柱的柱接头，对锥箍与箍环位置进行固定。这样操作，可以确保连接死体积最小化。



产品规格选配

根据色谱柱的规格选择VanGuard尺寸规格，根据色谱柱填料选择柱芯填料：

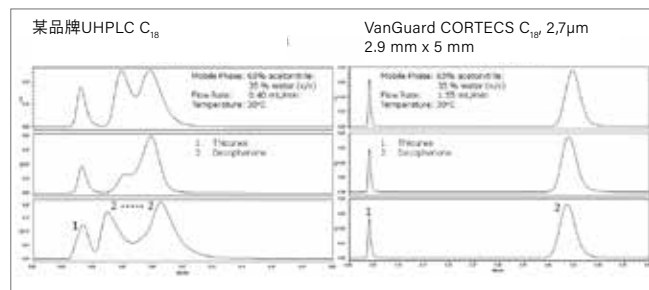
色谱颗粒品牌	填料粒径(µm)	2.1 mmid和3.0 mmid分析柱	3.9 mmid和4.6 mmid分析柱
CORTECS	2.7	2.1 x 5 mm	3.9 x 5 mm
XBridge® BEH	2.5, 3.5, 5	2.1 x 5 mm	3.9 x 5 mm
XSelect® CSH	2.5, 3.5, 5	2.1 x 5 mm	3.9 x 5 mm
XSelect HSS	2.5, 3.5, 5	2.1 x 5 mm	3.9 x 5 mm
SunFire®	2.5, 3.5, 5	2.1 x 5 mm	3.9 x 5 mm
Atlantis®	3, 5	2.1 x 5 mm	3.9 x 5 mm
Symmetry®	3.5, 5	2.1 x 5 mm	3.9 x 5 mm
XTerra	2.5, 3.5, 5	2.1 x 5 mm	3.9 x 5 mm

*通用VanGuard保护柱柱套186007949

为什么要选择VanGuard?

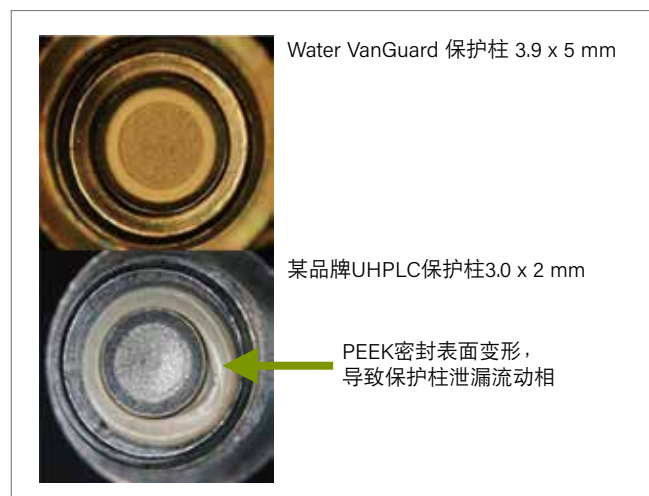
原因1: 关注保护柱的填料以及装填性能

VanGuard保护柱芯使用与沃特世分析柱完全一致的填料，并经过柱效测试确保装填性能极佳。我们发现，有些品牌保护柱的装填很不理想，例如下图，对保护柱的单独测试显示，甚至存在峰分岔的情况。



原因2: 关注UHPLC条件下的耐压能力

在UHPLC的高压条件下，色谱柱密封容易发生变形和泄漏。如图所示，在极端压力条件下(20,000 psig, 或1,380 Bar)，某品牌UHPLC保护柱中的PEEK密封圈发生变形，从而造成流动相泄漏。



如何选择HPLC制备柱

沃特世制备柱应用选择快速推荐表

应用类型	色谱柱品种	应用特色
常规反相制备	XBridge C ₁₈ : 实验室必备柱	BEH 杂化颗粒技术, 柱耐受性与通用性最佳, pH 1-12。 尤其适用于对胺基类化合物选择高pH 条件以获得更好的保留与载量。 色谱选择性与ACQUITY UPLC BEH C ₁₈ 完全一致。
常规反相制备	SunFire C ₁₈ : 实验室必备柱	高纯硅胶C ₁₈ , pH 2-8。载量大、分辨率高, 在中、低pH 使用范围内通用性极佳。 特别适用于要求高分辨、高载量的痕量组分制备。 对于胺基类化合物, 当需要使用低pH 条件、甚至甲酸体系时, 峰形佳。
常规反相制备	XSelect CSH C ₁₈ : 实验室必备柱	CSH 杂化颗粒技术, 柱耐受性与通用性极佳, pH 1-11。 切换氨水/ 甲酸反相体系时柱平衡迅速, 特别适用于配MS 引导的制备纯化系统。对胺基类化合物峰形卓越。 色谱选择性与ACQUITY CSH C ₁₈ 完全一致, 可先用UPLC 进行pH 条件切换筛选, 再放大到纯化系统进行制备。
极性较大和/或疏水性强的化合物	Atlantis T3	高纯硅胶C ₁₈ , pH 2-8。有效增强对极性化合物的反相保留, 三键键合C ₁₈ 不易流失, 与100% 水相完全兼容, 与MS 检测完全兼容。 同时对强疏水性化合物的保留减弱, 有助于减少有机溶剂耗量, 并提高对强保留化合物的制备回收率。 色谱选择性与ACQUITY UPLC HSS T3 柱类似。
反相无法保留的高极性化合物	XBridge Amide	BEH 杂化颗粒基质, 三键键合酰胺基, 耐受性与通用性极佳, pH 2-11。 按HILIC 原理保留高极性化合物, 尤其适用于酸性化合物(如磷酸类)、中性化合物(如寡糖类或多羟基类)或混合组分样品。 色谱选择性与ACQUITY UPLC BEH Amide 完全一致。
反相无法保留的高极性化合物	XBridge HILIC	BEH 杂化颗粒基质, 无键合相, 耐受性优于硅胶基质柱, pH 1-9。 按HILIC 原理保留高极性化合物, 尤其适用于碱性化合物(如季铵盐类)。 色谱选择性与ACQUITY UPLC BEH HILIC 完全一致。
芳香类化合物或苯基柱应用	XBridge Phenyl	BEH 杂化颗粒技术, 柱耐受性极佳, pH 1-12。 苯基键合相对芳香类化合物有特殊的选择作用。三键键合苯基有效增强键合相耐受性与柱寿命。 当分离目标还具有胺基或羧基官能团时, 可利用不同pH 条件下的选择性提高载量和分离度。 色谱选择性与ACQUITY UPLC BEH Phenyl 柱完全一致。
合成肽	PST 肽分离技术柱: XBridge BEH30 C ₁₈ XBridge BEH300 C ₁₈	BEH 杂化颗粒技术, 柱耐受性与通用性最佳(pH 1-12), 尤其适用于肽分离时常用的TFA 体系及较高温度。 填料经肽混标质控, 以确保批次重现性。 有130Å 和300Å 两种孔径可供选择。 色谱选择性与ACQUITY UPLC BEH30 C ₁₈ 或BEH300 C ₁₈ 完全一致。
合成寡核苷酸	OST 寡核苷酸分离技术柱	BEH 杂化颗粒技术, 柱耐受性与通用性最佳(pH 1-12), 尤其适用于寡核苷酸分离纯化所需的高盐、高温条件。 填料经寡核苷酸混标质控, 以确保批次重现性。 色谱选择性与ACQUITY UPLC OST C ₁₈ 柱完全一致。

制备保护柱卡套及替换配件

一 预防污染, 有效提高柱寿命

产品	部件编号	产品	部件编号
7.8 x 10 mm 柱卡套	186000708	替换0型圈7.8 mm, 2/pk	700001019
10 x 10 mm 柱卡套	289000779	替换0型圈10 mm, 2/pk	700001436
19 x 10 mm 柱卡套	186000709	替换0型圈19 mm, 2/pk	700001020
30 x 10 mm 柱卡套	186006912	替换0型圈30 mm, 2/pk	186007012



制备色谱的适用性标准品

一 用于评价系统性能, UV与MS均有良好响应

- 分离良好
- 紫外和质谱均具有良好峰形
- 可用于多种色谱柱

制备色谱混标		
产品	类型	部件编号
制备色谱混标	用于大部分纯化 HPLC 的中性、酸性、碱性物	186006703
AutoPurification染料混标	确认组分收集的可见标记物	716000765



从分析柱到制备柱直接放大，常用计算公式：

■ 放大倍数 - 用于估算上样量：

$$\text{放大倍数} = \frac{(\text{制备柱内径})^2 \times \text{制备柱柱长}}{(\text{分析柱内径})^2 \times \text{分析柱柱长}}$$

■ 流速放大估算：

$$\text{制备流速} = \text{分析流速} \times \frac{(\text{制备柱内径})^2}{(\text{分析柱内径})^2}$$

流速可用于计算与分析柱应用时完全相当的线性流速条件下对应于更大色谱柱的体积流速。但是，合理的流速将取决于柱规格。当柱长增加、粒径减小时，柱背压会相应增加，会受到液相系统耐压性的限制。

■ 梯度持续时间估算： $\text{梯度持续时间} = \text{分析时梯度持续时间} \times \frac{\text{制备柱柱长}}{\text{分析柱柱长}} \times \frac{(\text{制备柱内径})^2}{(\text{分析柱内径})^2} \times \frac{\text{分析时体积流速}}{\text{制备柱体积流速}}$

制备柱上样量预估

对于OBD制备柱的大概上样量(毫克)，梯度洗脱模式时：

柱长(mm)	柱内径(mm)				
	4.6	10	19	30	50
30	-	-	27	-	-
50	3	15	45	110	310
75	-	-	-	165	-
100	5	25	90	225	620
150	8	40	135	335	930
250	13	60	225	560	1550
合理的流速 ¹ (mL/min)	1.4	6.6	24	60	164
合理的进样体积 ² (μ L)	20	100	350	880	2450

¹合理流速取决于柱内径。随柱长增加及填料粒径减少，柱背压增大，使用时会受到液相设备的耐压性的限制。在制备柱上的梯度持续时间，应按照与分析柱应用时相等的梯度洗脱体积与柱体积之比的倍数因子计算(计算公式见“梯度持续时间估算”公式)。

²此处进样体积数值基于50 mm柱长并使用较强溶剂溶解样品时。如增加柱长，进样体积亦可增加，但并不成正比。使用较弱强度的溶剂溶解样品，能显著提高进样体积量。

制备柱的样品载量受制于许多因素。左边所列数据仅为“平均状况下”的预估值。通常规律有：

- 强保留的目标物载量较大
- 样品简单时载量较大
- 需要高分辨时载量降低
- 样品载量受上样条件影响很大：
 - 受限于样品体积
 - 受限于样品溶剂的强度
- 对于肽样品，其载量主要取决于目标肽序列以及肽样品的溶解性，建议按所列值的5-20%预估*。

OBD制备柱计算器

设计用于简化常规制备计算：

- 柱/管路背压
- 样品载量放大
- 梯度流程放大
- 梯度设计

在线计算 www.waters.com/precalculator。

沃特世AutoPurification™自动纯化系统

无论您怎样收集流分，是按MS、UV、ELS或其它检测器信号，沃特世AutoPurification™系统都能满足您的需求。该系统以多种配置规格方式提供简便操作、升级能力和速度效率。市场领先的FractionLynx™应用管理软件提供了直观简便的操作界面，用于管理从样品采集到报告的纯化过程。

此处所展示的AutoPurification系统图片，配置了具有进样、收集和再进样功能的2767样品管理器、高压混合的2545二元梯度泵、接受软件控制进行阀切换、流路和柱管理的系统流路管理器，以及2998PDA、2424ELS和SQD-2质谱检测器。



装填技术与柱硬件对性能的影响

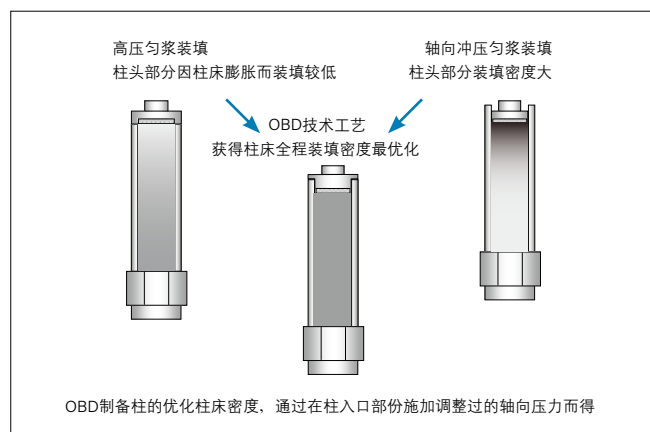
实验室规模的HPLC分离纯化对色谱工作者提出了诸多挑战，其中一个最大的挑战是制备色谱柱本身。由于柱与柱之间在性能和使用寿命上的不一致性，常常导致样品损失、重复纯化操作以及从小体积柱到大体积柱的放大能力差。沃特世科学家意识到这个问题的存在，历经三年，研究了装填工艺过程中的所有因素以及柱设计本身。在此基础上，沃特世公司于2003年推出了专利*技术OBD™(Optimum Bed Density, 最佳柱床密度)应用于沃特世制备柱产品。(*UK专利号 # GB2408469)。

问题的根本原因就是在于，制备柱的柱床装填必须足够致密，才能在使用过程中能够承受流动相压力而仍保持稳定的柱床状态。传统的匀浆装填方法，用于分析柱规格时能够产生必需的柱床密度；但是当用于制备柱并使用较小粒径填充制备柱时，随着柱内径与长度的增加，就越来越难以达到柱长期使用仍能保持稳定耐用时所必需的柱床密度。柱床密度的优化，取决于色谱填料的特定性质与所采用的柱设计。

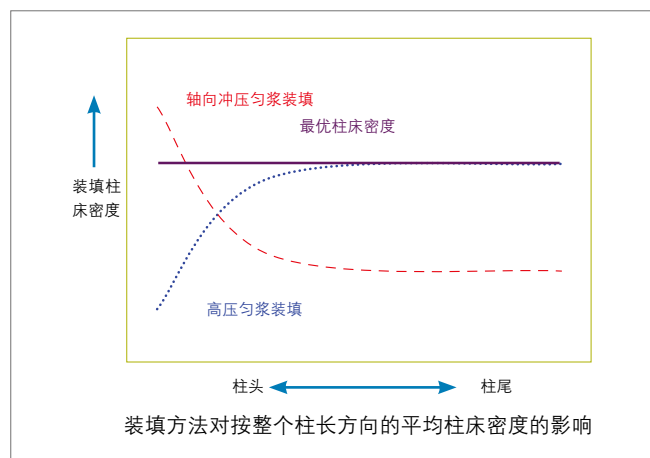
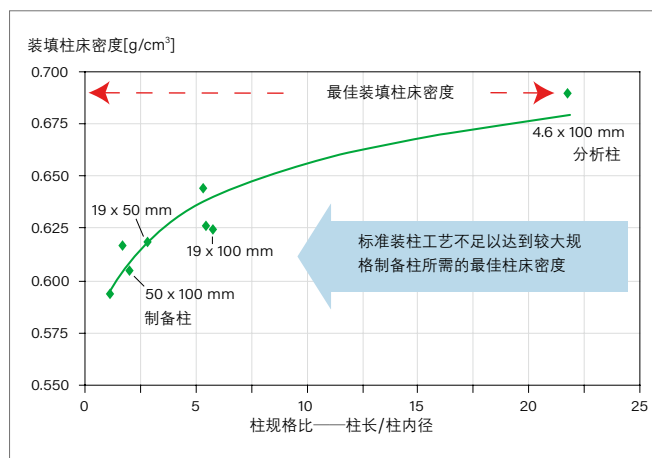
沃特世OBD色谱柱设计



沃特世已将高压匀浆填充与经过仔细计算的轴向压缩因素相结合，应对于柱头装填密度较小的部分。



传统分析柱匀浆填充工艺下的平均柱床密度vs柱规格



按照制备柱OBD设计理念，并按每种填料类型和每种柱规格的立体几何学加以精心微调的实际操作工艺，就可以获得可预测的、对整个柱床长度都均匀一致的装填密度。在装填结束后的封柱过程中，沃特世柱装填操作依从仔细严格的操作流程，从而确保不会以任何不均匀的方式过度压缩或扰动柱端部分。

OBD制备柱硬件设计包括一对精心设计的分流板和化学惰性密封圈，以防止在高压操作下出现漏液情况。

OBD制备柱装配件图解



参考文献

OBD制备柱产品手册: 720002336ZH(中文)
应用文集: 制备色谱应用方案(2009), 720003224en
技术期刊: 沃特世液相色谱·质谱通讯(第59期), 分离纯化技术及应用专刊

电子工具帮助方法转换

基于保持色谱柱长度[L]与粒径[dp]的比值[L/dp]不变的概念，ACQUITY UPLC色谱柱计算器(AQUITY UPLC Columns Calculator)可使方法从HPLC转换为UPLC或从UPLC转换为HPLC，同时保持分离的一致性。另外，这个简便直观的软件程序可对梯度延迟体积差别进行补偿，无论采用哪种LC系统类型，均能重现色谱峰流出的轮廓。

