

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC

# Thermo Scientific 赛默飞液相色谱柱使用及维护指南

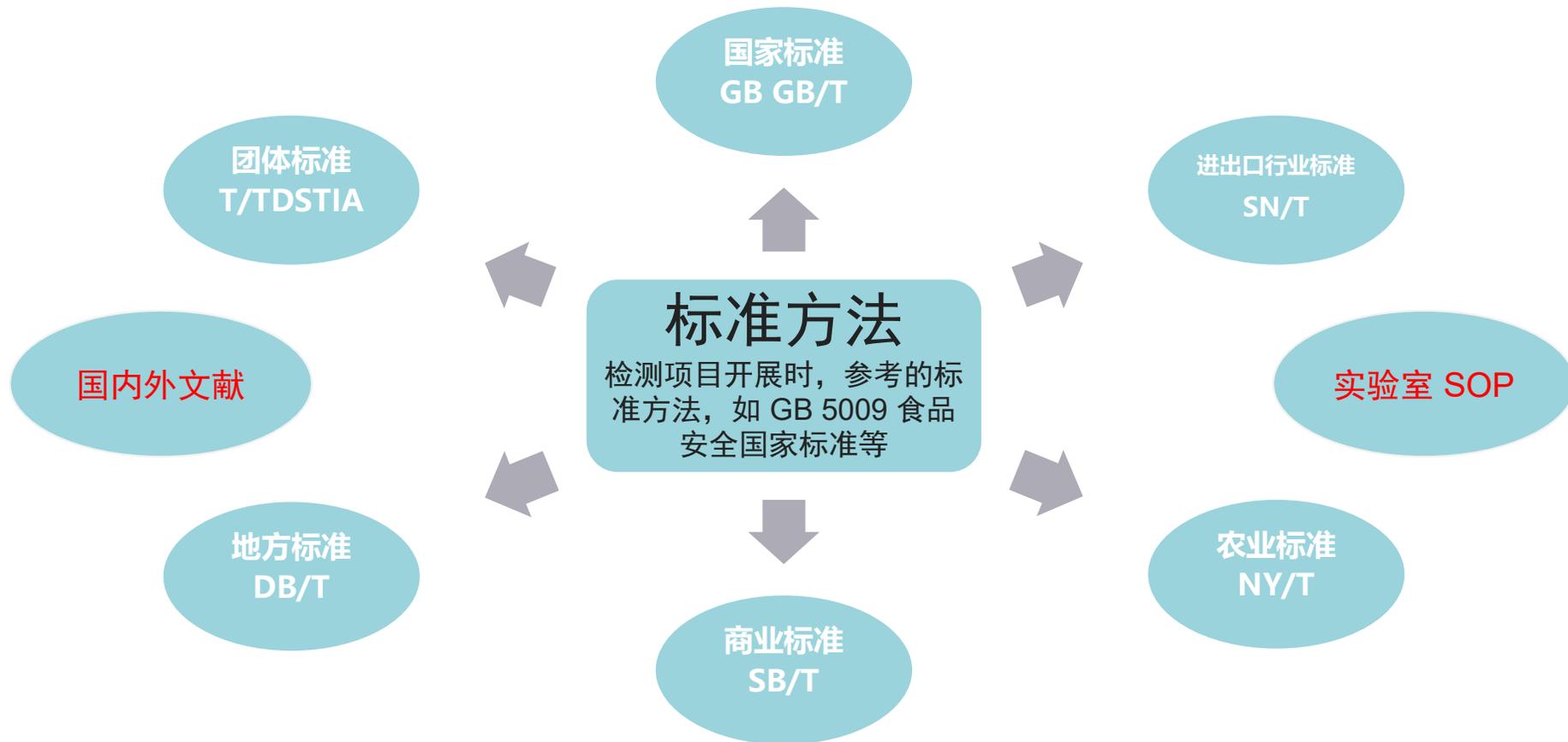
Jinsheng Hu

CCS Application Engineer

 The world leader in serving science



## 食品行业如何选择液相色谱柱?

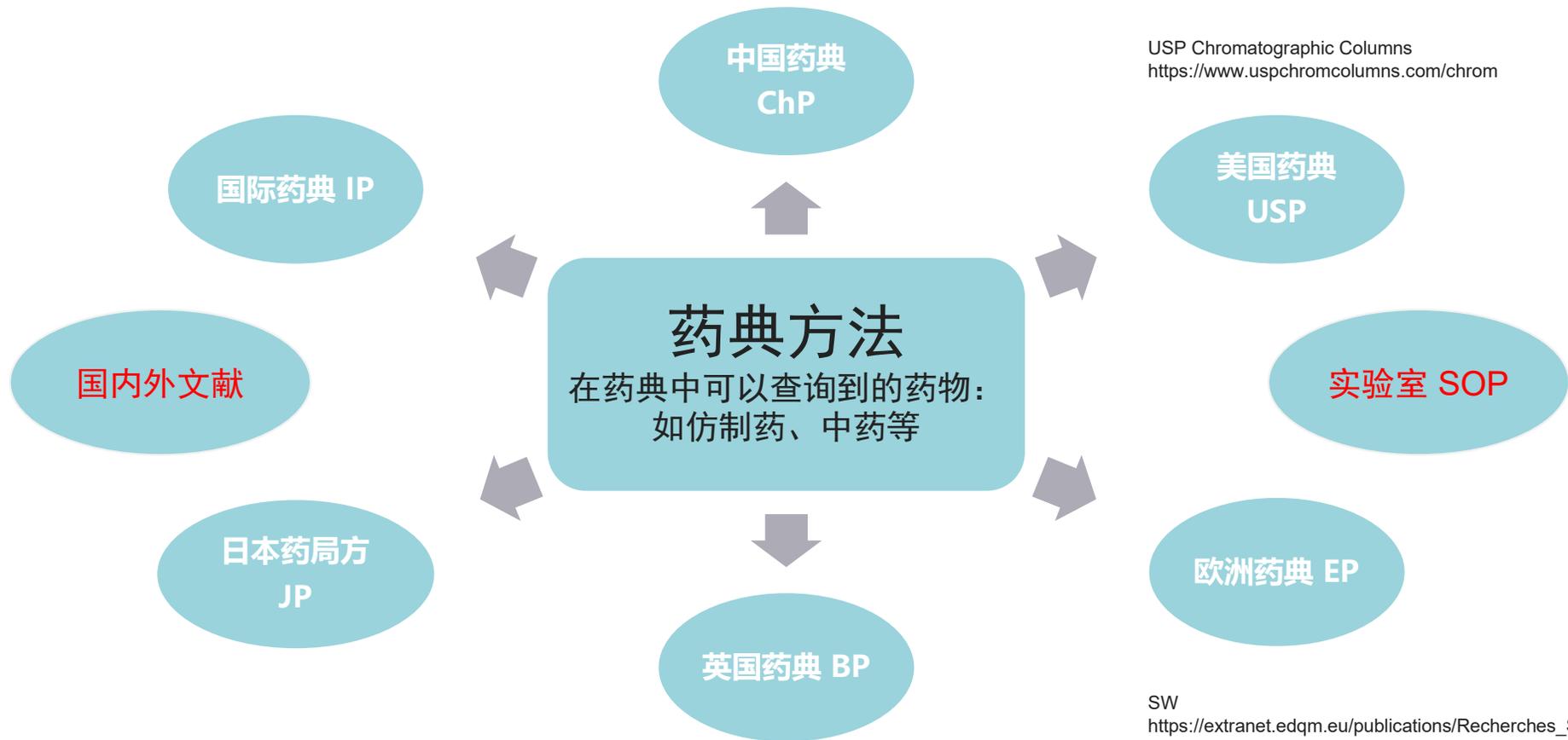


# 制药行业如何选择液相色谱柱?



国家药典委员会 官方网站 - 国家药典委员会  
<https://www.chp.org.cn/>

USP Chromatographic Columns  
<https://www.uspchromcolumns.com/chrom>



SW  
[https://extranet.edqm.eu/publications/Recherches\\_SW.shtml](https://extranet.edqm.eu/publications/Recherches_SW.shtml)

## 根据化合物性质选择液相色谱柱

弱极性-弱电离

强极性-弱电离

强极性-强电离

烷烃、芳烃、黄酮、皂苷

糖、糖醇、聚乙二醇

有机酸、生物碱、离子

### 反相 RP

亲水型反相 Hydrophilic-RP

Accucore C18      Accucore aQ  
 Accucore XL C18      Hypersil GOLD aQ  
                                  Synchronis aQ  
 Hypersil GOLD      Aquasil C18  
 Acclaim 120 C18  
 Synchronis C18      Accucore Polar Premium  
                                  Acclaim PolarAdvantage II  
 Hypersil BDS C18      Acclaim PolarAdvantage  
 Hypersil ODS  
 BetaSil C18      Accucore C30  
 BetaBasic C18      Acclaim C30  
 Umisil C18  
                                  Acclaim Organic Acid  
 C8/C6/C4/C1      Acclaim AmG C18  
                                  Phenyl/PFP

### 亲水作用色谱

HILIC

Accucore HILIC  
 Hypersil GOLD Silica  
 Synchronis Silica  
 Hypersil GOLD Amino  
 Synchronis Amino  
 Hypersil APS-2  
 Hypersil GOLD Cyano  
 Hypersil BDS Cyano  
 Hypersil GOLD HILIC  
 Synchronis HILIC  
 Accucore 150-Amide-  
 HILIC  
 Accucore Urea-HILIC  
 Acclaim HILIC-10  
 Betasil Diol

### 石墨化碳

Hypercarb

Hypercarb

### 混合模式

Mixed-Mode

Acclaim Mixed-Mode  
 WAX-1  
 Acclaim Mixed-Mode  
 WCX-1  
 Acclaim Mixed-Mode  
 HILIC-1  
 Acclaim Trinity P1  
 Acclaim Trinity P2  
 Acclaim Trinity Q1  
 Acclaim Surfactant Plus  
 GlycanPac AXR-1  
**GlycanPac AXH-1**

通则 3130 N 糖谱测定法 第五法 混合机理色谱法  
 用以阴离子交换和亲水相互作用混合模式填料为固定相  
 的色谱柱 (2.1×150 mm, 1.9 μm, 或等效的色谱柱)

### 离子交换

Ion exchange

BioBasic SCX  
 Hypersil GOLD SAX  
 Hypersil SAX  
 Hypersil GOLD AX

## 根据液相色谱条件选择反相液相色谱柱

### 确认流动相 pH 及水相比例

#### 流动相 pH 2-8

##### 水相比例 ≤ 95%

Accucore C18  
Accucore aQ  
Accucore XL C18  
Hypersil GOLD  
Hypersil GOLD aQ  
Acclaim 120 C18  
Synchronis C18  
Synchronis aQ  
Hypersil BDS C18  
Hypersil ODS

##### 水相比例 > 95%

Accucore aQ  
Hypersil GOLD aQ  
Synchronis aQ  
HyPURITY Aquastar  
  
Accucore Polar Premium  
Acclaim PolarAdvantage II  
Acclaim PolarAdvantage

#### 反相弱保留

强极性, 弱电离

HILIC 模式

柱温及流速(柱压)

#### 流动相 pH < 2

Accucore Polar Premium  
Acclaim PolarAdvantage II

Acclaim Organic Acid  
Acclaim AmG C18

#### 反相弱保留

强极性, 强电离

Hypersil GOLD SAX  
Hypersil SAX  
Hypersil GOLD AX  
Acclaim Mixed-Mode WAX-1  
Acclaim Trinity P1/P2

#### 流动相 pH > 8

Accucore Polar Premium  
Acclaim PolarAdvantage II

Hypersil GOLD  
Acclaim AmG C18

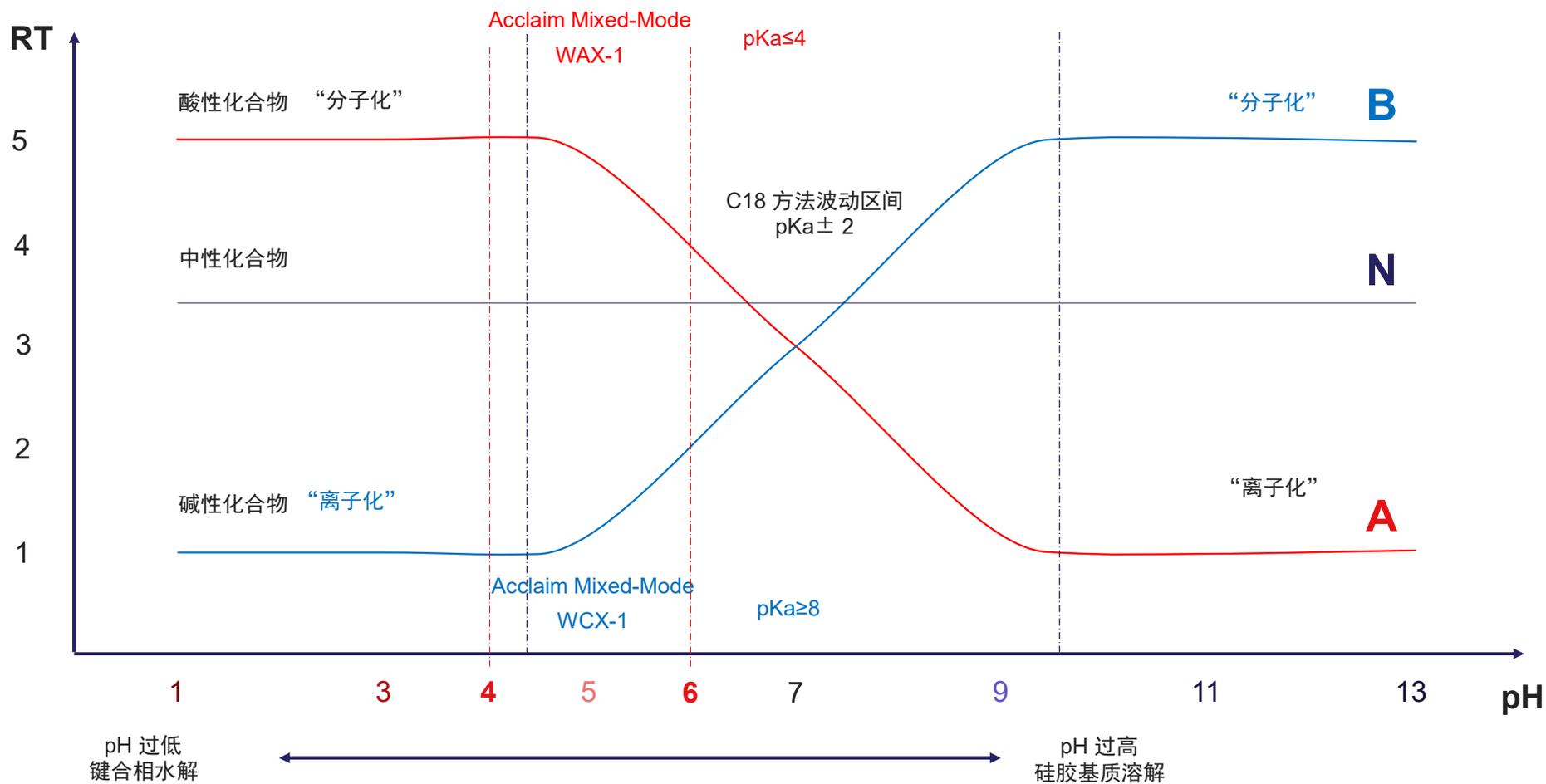
#### 反相弱保留

强极性, 强电离

BioBasic SCX  
Acclaim Mixed-Mode WCX-1  
Acclaim Trinity P1/P2

Tips: 当流动相 pH < 1 时, 液相流路中所含的酸会造成不锈钢管路的腐蚀; 当 pH > 10 时, 会超出液相系统中进样阀转子密封垫、检测器流通池的耐受范围, 加速部件的磨损、老化等。因此, 强烈建议将方法转为流动相条件较为温和的混合模式或离子交换模式。

## 反相液相色谱方法开发时，调节流动相 pH 应避免方法波动区间



# 液相色谱柱的使用及维护——反相柱 (C18/C8/Phenyl/C30)

ThermoFisher  
SCIENTIFIC

thermoscientific

Part Number: 25005-254630  
Column: Hypersil GOLD™  
Serial Number: 20031942  
Lot Number: 16881  
Column Dimensions: 250 mm x 4.6 mm

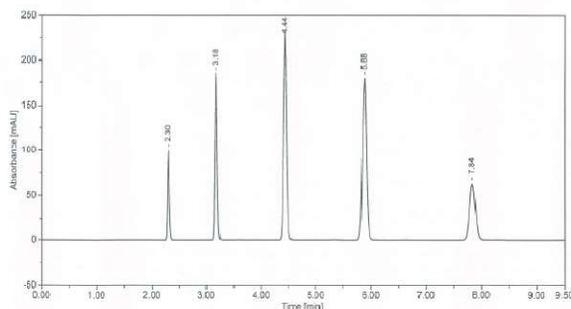
PN / SN / LN

### Chromatographic Parameters

Mobile Phase: 60/40 Acetonitrile/Water  
Flow Rate: 1.25 mL/min  
Sample Volume: 2.5 µL  
Wavelength: UV @ 254 nm  
Particle Size: 5 µm  
Pore Size: 175 Å  
Temperature: Ambient  
Column Storage: Mobile Phase  
Column Back Pressure: 1650 psi

Mobile Phase

Column Storage



Peak No.	Component	RT (min)	N plates/meter	Tailing Factor (FP)	Capacity
1	Theophylline	2.30	84472	1.09	0.00
2	p-Nitroaniline	3.10	108808	1.07	0.38
3	Methyl Benzoate	4.44	111364	1.05	0.93
4	Phenetole	5.88	110888	1.04	1.55
5	o-Xylene	7.84	108888	1.04	2.40

QC Approval:

Legacy Production/VT/VL-LEGPROD13/D5032/2019-10/16

柱效测试

Certificate of Analysis

ThermoFisher  
SCIENTIFIC

以 Hypersil GOLD C18, 250 x 4.6 mm, 5 µm (PN: 25005-254630) 为例, 参照 GB 5009.28-2016, 流动相: 甲醇+20mM 乙酸铵 = 5:95

操作	流动相比例	流速 (mL·min <sup>-1</sup> )	时间 (min)
新柱启用	100% 甲醇*	1.0	60
平衡	100% 甲醇	1.0	30
	5:95 甲醇+水	1.0	30
进样	5:95 甲醇+20mM 乙酸铵	1.0	60
	5:95 甲醇+20mM 乙酸铵	1.0	—
冲柱	5:95 甲醇+水	1.0	30
	5:95 甲醇+水	0.2	60
	95:5 甲醇+水	0.2	120

\*初次启用时, 活化色谱柱所用流动相须与出厂储存溶剂相兼容, 如 100% 甲醇 / 100% 乙腈 / 80% 甲醇水 / 60% 乙腈水 等。在连接色谱柱之前, 须对液相系统进行充分过渡。

柱长 250 mm, 内径 4.6 mm 的色谱柱, 换算系数 0.68, 柱体积约为 2.82 cm<sup>3</sup> 色谱柱的平衡以 10-20 个柱体积为宜, 可结合实际情况作适当调整

Tips: 柱体积计算公式 (V—柱体积; d—内径; L—柱长; f—换算系数)

$$V = \pi \left( \frac{d}{2} \right)^2 \cdot L \cdot f = 3.14 \times \left( \frac{4.6}{2} \right)^2 \times 250 \times 0.68 \times 10^{-3} = 2.82 \text{ mL}$$

## 液相色谱柱的使用及维护——正相柱 (NH<sub>2</sub>/CN/Silica/Diol)

thermoscientific

Part Number: 25705-254630  
Column: Hypersil GOLD™ Amino  
Serial Number: 10907723  
Lot Number: 16247  
Column Dimensions: 250 mm x 4.6 mm

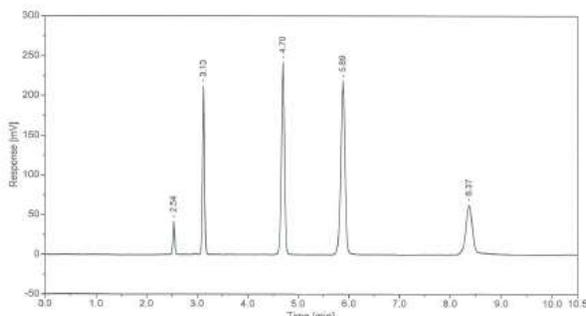
PN / SN / LN

### Chromatographic Parameters

Mobile Phase: 85/14.7/0.3 Isooctane/Ethanol/Water  
Flow Rate: 1.25 mL/min  
Sample Volume: 2.5 µL  
Wavelength: UV @ 254 nm  
Particle Size: 5 µm  
Pore Size: 175 Å  
Temperature: Ambient  
Column Storage: 100% Ethanol  
Column Back Pressure: 1132 psi

Mobile Phase

Column Storage



Peak No.	Component	RT (min)	N plates/meter	Tailing Factor (EP)	Capacity
1	Toluene	2.54	129108	0.97	0.00
2	Nitrobenzene	3.13	125528	0.96	0.23
3	o-Nitroaniline	4.70	102912	0.93	0.85
4	m-Nitroaniline	5.88	98244	0.94	1.32
5	p-Nitroaniline	8.37	83996	1.01	2.30

QC Approval: *Saw*

Legacy Production\USBEL\_LEGPROD06\ASSET#10812019-0426

柱效测试

Certificate of Analysis

ThermoFisher  
SCIENTIFIC

以 Hypersil GOLD Amino, 250 x 4.6 mm, 5 µm (PN: 25705-254630) 为例, 参照 枸杞子中甜菜碱含量测定, 流动相: 乙腈-水 = 85:15

操作	流动相比例	流速 (mL·min <sup>-1</sup> )	时间 (min)
新柱启用	100% 异丙醇*	0.5	240
	100% 乙腈	1.0	60
平衡	100% 乙腈	1.0	30
	85:15 乙腈-水	1.0	60
进样	85:15 乙腈-水	1.0	—
	85:15 乙腈-水	1.0	30
冲柱	70:30 乙腈-水	0.2	60
	100% 乙腈	0.2	120
	100% 乙腈 (短期)	0.2	120
封柱 (存放时间)	100% 乙腈 (短期)	0.2	120
	100% 异丙醇 (长期)	0.2	120

\*初次启用时, 活化色谱柱所用流动相须与出厂储存溶剂相兼容, NH<sub>2</sub>/CN/Silica/Diol 等正相柱出厂均保存在正相溶剂中, 官方仅推荐 100% 异丙醇作为活化溶剂。在连接色谱柱之前, 须对液相系统进行充分过渡。

柱长 250 mm, 内径 4.6 mm 的色谱柱, 换算系数 0.68, 柱体积约为 2.82 cm<sup>3</sup>  
色谱柱的平衡以 20-40 个柱体积为宜, 可结合实际情况作适当调整

氨基柱出厂储存溶剂一般为正相溶剂——100% 乙醇 (Hypersil APS-2 溶剂为异辛烷:乙醇:水=85:14.7:0.3), 在正相模式下使用时, 在乙醇或/异丙醇活化 20 个柱体积后切换至正相流动相平衡; 如需转换到 HILIC 模式, 需用异丙醇过渡至少 40 个柱体积

Tips: 氨基柱和氰基柱在 HILIC 模式下, 水相比例不建议超过 40%, 过高的水相会导致键合相水解, 柱流失严重。

## 液相色谱柱的使用及维护——亲水作用色谱柱 (HILIC/Silica)

thermoscientific

Column: Synchronis HILIC  
Length (mm): 250  
Part No: 97505-254630

I.D. (mm): 4.6  
Serial No: 20160082

Particle Size (µm): 5  
Lot Number: 17132

PN / SN / LN

Chromatographic Parameters

Mobile Phase: 80/20 Acetonitrile/Water **Mobile Phase**

Flow Rate: 1 mL/min

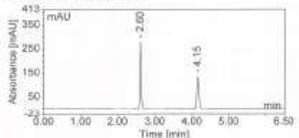
Temperature (°C): 30

Sample Volume: 2.0 µL

Wavelength: UV @ 254 nm

Chromatographic Test

**Column Storage**



	Specification		Result
	Minimum	Maximum	
Retention Time- min (Uracil)	3.3	4.5	4.15
Capacity Factor (Uracil)	0.4	0.7	0.60
Efficiency- N/m (Uracil)	80000	115000	103852
USP Tailing Factor (Uracil)	0.9	1.2	1.19
Column Back Pressure* - psi	500	800	541

**柱效测试**

QC Verification:  Legacy Production\LT\VL-LEGPROD15\ID4930\2020-09\30

Certificate of Analysis

ThermoFisher  
SCIENTIFIC

以 Synchronis HILIC, 250 x 4.6 mm, 5 µm (PN: 97505-254630) 为例, 参照 BJS 201602, 流动相: 乙腈+水 = 90:10

操作	流动相比例	流速 (mL·min <sup>-1</sup> )	时间 (min)
活化	80:20 乙腈+水	1.0	60
平衡	90:10 乙腈+水	1.0	60
进样	90:10 乙腈+水	1.0	—
冲柱	90:10 乙腈+水	1.0	30
	60:40 乙腈+水	1.0	60
	80:20 乙腈+水	0.2	120

柱长 250 mm, 内径 4.6 mm 的色谱柱, 换算系数 0.68, 柱体积约为 2.82 cm<sup>3</sup> 色谱柱的平衡以 20-40 个柱体积为宜, 可结合实际情况作适当调整

Accucore Urea-HILIC / Accucore 150-Amide-HILIC / Hypersil GOLD HILIC / Synchronis HILIC / Acclaim HILIC-10 等键合 HILIC 柱, 出厂溶剂一般为乙腈-水/乙腈-缓冲盐, 需用乙腈-水活化至少 20 个柱体积

Hypersil GOLD Silica / Synchronis Silica 等非键合 HILIC 柱, 出厂储存溶剂一般为**正相溶剂**——100% 乙醇, 如需转换到 HILIC 模式, 需用**异丙醇**过渡至少 40 个柱体积, 然后用乙腈水活化至少 20 个柱体积

Tips: 对于键合的 HILIC 色谱柱, 水相比例不建议超过 40%, 过高的水相会导致键合相水解, 柱流失严重。

## 液相色谱柱的反冲维护

当强保留物质或析出的缓冲盐在柱头累积时，会导致目标物峰型拖尾分叉。采集结束后的正常冲洗操作无法有效去除污染物，采用强溶剂冲洗又有将污染物扩散至色谱柱中后端的风险。对于粒径大于 2  $\mu\text{m}$  的色谱柱，可尝试反向冲洗作为日常维护的补充。

以 Hypersil GOLD C18 5  $\mu\text{m}$  和 Accucore C18 2.6  $\mu\text{m}$  为例，反冲维护操作步骤如下：

将色谱柱反接至液相色谱仪，同时断开检测器，废液经管线流入废液桶

Hypersil GOLD C18, 250 x 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$

Accucore C18, 100 x 3.0 mm, 2.6  $\mu\text{m}$

步骤	流动相比例	流速/ $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$	时间/min
1	5:95 乙腈+水	0.5	60
2	95:5 乙腈+水	0.5	60
3	反接色谱柱，流动相平衡，进标准品/对照品		
4	正接色谱柱，流动相平衡，进标准品/对照品		

步骤	流动相比例	流速/ $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$	时间/min
1	5:95 乙腈+水	0.2	30
2	95:5 乙腈+水	0.2	30
3	反接色谱柱，流动相平衡，进标准品/对照品		
4	正接色谱柱，流动相平衡，进标准品/对照品		

- Tips:
- 1) 反接冲洗仅限粒径大于 2 $\mu\text{m}$  的色谱柱，亚 2 微米色谱柱由于装填工艺的原因，不建议反冲
  - 2) 反接测试不得进样品/供试品，在不确定反冲效果的情况下，避免色谱柱入口端/出口端同时被污染
  - 3) 反接冲洗时，可适当升高柱温，可降低柱压，有利于强保留物质的洗脱或缓冲盐的溶解
  - 4) 保护柱的日常冲洗维护，须与分析柱拆分开来，单独冲洗（反冲），应避免保护柱富集的污染物被冲洗至分析柱中
  - 5) 若常规溶剂（乙腈-水、甲醇-水）反冲效果不佳时，可依次采用 **50:50 异丙醇-水**、**50:50 异丙醇-乙腈** 低流速反冲至少20个柱体积
  - 6) 在色谱柱耐受压力范围内，可适当调整冲洗流速，如条件允许，推荐设置冲洗程序**低流速过夜**冲洗

## 液相色谱柱的再生维护（再生有风险，请酌情尝试）

当色谱柱填料被样品基质严重污染，且常规冲洗维护无效时，可尝试以下色谱柱再生冲洗操作。再生后的色谱柱通常较难恢复到最初的柱效，如果没有明显的改善迹象，建议更换新的色谱柱。



Tips: 冲洗的流速应根据系统压力作适当调整，不得超出色谱柱耐受压力上限

## 溶剂相容性表

对于液相色谱分析，了解各种溶剂的相容性非常重要，因为，如果系统中使用不兼容的溶剂，可能会得到不可靠的色谱结果，甚至**导致色谱柱(筛板堵塞、柱头塌陷)或仪器的损坏(管路堵塞、流通池爆裂)**。

相容性是指一种溶液与另一种溶液按任意比例混合成为新的均匀溶液的能力。

液相色谱仪在正反相切换时，须使用相溶度较好的异丙醇、乙醇、丙酮等进行充分过渡；

液相色谱柱出厂测试采用正相模式的，如氨基柱、氰基柱、硅胶柱等，需转换到HILIC模式，须使用异丙醇或乙醇进行充分过渡。

本表中将两种溶剂能以任意比例混合在一起不分层，归为相容。表中信息来自 Honeywell Burdick & Jackson

溶剂	丙酮	乙腈 (ACN)	正丁醇	氯仿	环己烷	二氯甲烷 (DCM)	N,N-二甲基甲酰胺	二甲基亚砜 (DMSO)	1,4-二噁烷	乙酸乙酯	乙醇	乙醚	二氯乙烯	庚烷	己烷	异辛烷	异丙醇 (IPA)	甲醇	甲基叔丁基醚	甲乙酮	戊烷	四氢呋喃 (THF)	甲苯	水	邻二甲苯
丙酮	相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶
乙腈 (ACN)	不相溶	相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶
正丁醇	不相溶	不相溶	相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶
氯仿	不相溶	不相溶	不相溶	相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶
环己烷	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶
二氯甲烷 (DCM)	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶
N,N-二甲基甲酰胺	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶
二甲基亚砜 (DMSO)	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶
1,4-二噁烷	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶
乙酸乙酯	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶
乙醇	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶
乙醚	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶
二氯乙烯	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶
庚烷	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶
己烷	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶
异辛烷	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶
异丙醇 (IPA)	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶
甲醇	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶
甲基叔丁基醚	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶
甲乙酮	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶
戊烷	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶
四氢呋喃 (THF)	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	相溶	不相溶	不相溶	不相溶
甲苯	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	相溶	不相溶	不相溶
水	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	相溶	不相溶
邻二甲苯	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	不相溶	相溶

## 反相液相色谱法流动相中添加四氢呋喃的使用注意事项

ThermoFisher  
SCIENTIFIC

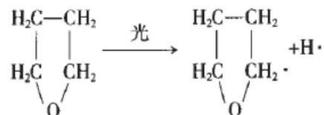
《化妆品安全技术规范 2015 年版（修订）》中 22 种防晒剂的测定，由于部分化合物结构相似，极性相近，传统的甲醇/乙腈/缓冲盐体系，分离非常困难，因而引入四氢呋喃作为流动相，在使用四氢呋喃的过程中，需要注意以下事项：

### 1. 四氢呋喃的理化性质与生理毒性

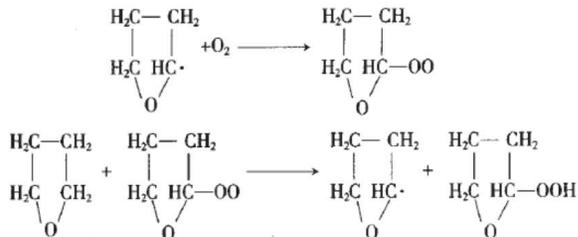
四氢呋喃，无色、可与水混溶，沸点低、易挥发，吸入微毒，经口低毒，气味和化学性质与乙醚很相似，有轻度麻醉作用，高浓度吸入后可能出现头晕、恶心等症状，有实验数据表明四氢呋喃会对肝脏、肾脏造成一定损害，长期接触可能会导致失去性功能、生育能力，被列于 2B 类致癌物清单中。

### 2. 四氢呋喃自动氧化生成过氧化物的机理

在光的作用下四氢呋喃分子中最小结合能的氢从分子中脱离出来，分子切断生成自由基



自由基再与氧作用生成新的活性基团进行链的传递和增长，自由基自动氧化生成氧化自由基和氢过氧化物



自由基向另一分子转移，这种现象经常以一定的循环而复这就形成了完整的自由基链式



1. 避免 THF 挥发：实验室通风系统正常运作，溶剂瓶和废液桶配合使用安全盖

2. 避免 THF 氧化：使用小容积(500mL 或 1L)的棕色溶剂瓶，避光盛放，根据使用量及时添加

3. 高比例的 THF 会使 PEEK 材质的管线和接头出现老化，尽量更换为不锈钢材质

4. THF 超强的洗脱能力可能将进样系统中某些污染物清洗下来，应注意设备的预先处理

5. 四氢呋喃自动氧化生成的过氧化物，会损伤色谱柱填料，实验结束后应及时甲醇水或乙腈水冲洗色谱柱和洗脱，以延长使用寿命

6. 部分市售的 THF 会加入抗氧化剂 BHT(2,6-二叔丁基对甲酚)，干扰检测结果，采购试剂时应注意甄别

## 反相离子对试剂使用注意事项

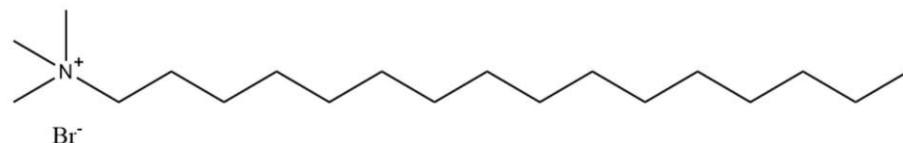
参照 GB 5009.86-2016 第一法 离子对试剂-反相液相色谱法测定食品中的 L-抗坏血酸和 D-异抗坏血酸

流动相: A:6.8g 磷酸二氢钾和 0.91g 十六烷基三甲基溴化铵, 用水溶解并定容至 1L (用磷酸调 pH 至 2.5~2.8); B:100% 甲醇。

按 A:B=98:2 混合, 过 0.45 $\mu$ m 滤膜, 超声脱气。

十六烷基三甲基溴化铵作为一种离子对试剂添加到流动相中, 对于整个液相方法, 需要注意以下事项:

1. 离子对试剂的质量, 对于色谱分离和方法重现的影响较大, 方法确证之后, 不建议更换离子对试剂品牌及规格;
2. 离子对试剂的使用量尽可能少, 缓冲盐pH值尽可能调节精确, 对于配备四元泵的液相系统, 建议有机相和缓冲盐混匀后走单通道;
3. 开始进样前需要用流动相平衡至少 40 个柱体积, 采集结束后需要用甲醇水冲洗至少 40 个柱体积, 最后 95:5 甲醇水封柱;
4. 专柱专用, 使用过离子对试剂的色谱柱要与其他色谱柱区分开来, 并做好标识, 离子对试剂会对色谱柱造成不可逆的损;
5. 使用过离子对试剂的色谱柱, 不建议用来做常规项目的确证, 因为色谱柱柱上残留的离子对试剂, 会改变色谱柱的选择性。



以 Hypersil GOLD aQ, 5  $\mu$ m, 4.6 $\times$ 250 mm 为例, 色谱柱维护操作如下:

操作	流动相	流速/mL $\cdot$ min <sup>-1</sup>	时间/min
平衡	98:2 水+甲醇	1.0	30
	标准流动相	1.0	120
进样	标准流动相	1.0	—
	98:2 水+甲醇	1.0	30
冲柱	98:2 水+甲醇	0.2	60
	5:95 水+甲醇	0.2	120
维护	40:60 甲醇+水	0.5	120+
	40:60 异丙醇+水	0.5	120+

## Hypersil GOLD SAX / Hypersil SAX / BioBasic SCX 液相色谱柱的使用及维护

### 1. 使用二通替代色谱柱连接液相系统，进行系统过渡冲洗操作

序号	系统冲洗操作		
1	100% 超纯水	1.0 mL/min	15 min
2	50:50 乙腈水	1.0 mL/min	15 min
3	100% 乙腈	1.0 mL/min	15 min
4	100% 异丙醇	1.0 mL/min	30 min

- Tips:
- Hypersil GOLD SAX / Hypersil SAX / BioBasic SCX 等色谱柱储存在正相溶剂中，初次启用必须使用**异丙醇**充分过渡，将色谱柱内残留的正相溶剂冲洗干净；
  - 异丙醇黏度较大，流速较大会产生较高背压，容易导致柱头塌陷，因此在异丙醇活化时，须设置为低流速，建议 0.1 mL/min 低流速过夜冲洗。

柱长 250 mm，内径 4.6 mm 的色谱柱，换算系数 0.68，柱体积约为 2.82 cm<sup>3</sup> 反相色谱柱的平衡以 10-20 个柱体积为宜，正相色谱柱的平衡以 20-40 个柱体积为宜，离子交换/亲水作用色谱柱的平衡以 20-40 个柱体积为宜，可结合实际情况作适当调整

$$V = \pi \left(\frac{d}{2}\right)^2 \cdot L \cdot f = 3.14 \times \left(\frac{4.6}{2}\right)^2 \times 250 \times 0.68 \times 10^{-3} = 2.82 \text{ mL}$$

**Tips:** 柱体积计算公式 (V—柱体积; d—内径; L—柱长; f—换算系数)

### 2. 连接色谱柱，进行色谱柱初次启用活化冲洗操作

序号	系统冲洗操作		
1*	100% 异丙醇	0.3 mL/min	400 min
2	100% 超纯水	0.3 mL/min	300 min
3	500mM 氯化钠溶液	0.5 mL/min	180 min
4	100% 超纯水	0.5 mL/min	180 min
5	100% A 相	1.0 mL/min	120 min

#### 梯度洗脱，数据采集

1	100% 超纯水	1.0 mL/min	90 min
2	500mM 氯化钠溶液	0.5 mL/min	120 min
3	100% 超纯水	0.5 mL/min	100 min
4	20:80 乙腈水 (短期存放)	0.3 mL/min	200 min
5	50:50 乙腈水 (长期存放)	0.3 mL/min	200 min

#### Hypersil SAX 应用于硫酸软骨素钠有关物质测定

\*初次启用时，活化色谱柱所用流动相须与出厂储存溶剂相兼容，Hypersil GOLD SAX / Hypersil SAX / BioBasic SCX 等正相柱出厂均保存在正相溶剂中，官方仅推荐 100% 异丙醇作为活化溶剂。在连接色谱柱之前，须对液相系统进行充分过渡。

## RP 反相液相系统与 NP 正相液相系统 相互切换注意事项

### 反相系统切换至正相系统 RP→NP

序号	系统冲洗操作		
1	100% 超纯水	1.0 mL/min	15 min
2	50:50 乙腈水	1.0 mL/min	15 min
3	100% 乙腈	1.0 mL/min	15 min
4	100% 异丙醇	1.0 mL/min	30 min
5	正相方法 初始流动相	1.0 mL/min	15 min

### 正相系统切换至反相系统 NP→RP

序号	系统冲洗操作		
1	100% 异丙醇	1.0 mL/min	30 min
2	100% 乙腈	1.0 mL/min	15 min
3	50:50 乙腈水	1.0 mL/min	15 min
4	100% 超纯水	1.0 mL/min	15 min
5	反相方法 初始流动相	1.0 mL/min	15 min

- 液相系统在进行正/反相切换时，须确认液相关键部件是否耐受正相/反相溶剂，如流动相管路、脱气机管路、柱塞杆密封圈、转子密封垫等；
- 通常情况下，正/反相溶剂是不相溶的，系统在未进行充分过渡时，容易出现流动相不兼容或残留盐析出，从而损伤仪器及色谱柱；
- 为避免上述情况，强烈建议液相系统在进行正/反相切换时，须进行充分的过渡冲洗操作；
- 系统在过渡冲洗时，**请勿连接色谱柱**，用二通替代色谱柱连接系统管路；
- 在完成第 5 步过渡操作后，液相系统可开展相应的正/反相分析工作；
- 如需对色谱柱进行活化，须确认系统溶剂与**色谱柱储存溶剂**的相容性，可将第 5 步的流动相更换为与**色谱柱储存溶剂**相容的条件，在此之后开始色谱柱活化操作。

## 赛默飞出厂溶剂为正相溶剂的相关色谱柱高频售后 Q&A

色谱柱	出厂测试溶剂	出厂储存溶剂
Hypersil GOLD Silica	异辛烷-乙醇-水	乙醇
Syncronis Silica	异辛烷-乙醇-水	异辛烷-乙醇-水
Hypersil Silica	异辛烷-乙醇-水	异辛烷-乙醇-水
BetaSil Silica	异辛烷-乙醇-水	异辛烷-乙醇-水
Hypersil GOLD Amino	异辛烷-乙醇-水	乙醇
Syncronis Amino	异辛烷-乙醇-水	异辛烷-乙醇-水
Hypersil APS-2	异辛烷-乙醇-水	异辛烷-乙醇-水
Hypersil GOLD Cyano		
Hypersil BDS Cyano	异辛烷-乙醇-水	异辛烷-乙醇-水
Hypersil CPS	异辛烷-乙醇-水	异辛烷-乙醇-水
Hypersil CPS-2	异辛烷-乙醇-水	异辛烷-乙醇-水
BetaSil Cyano	异辛烷-乙醇-水	异辛烷-乙醇-水
BetaBasic Cyano	异辛烷-乙醇-水	异辛烷-乙醇-水
BetaSil Diol	异辛烷-乙醇-水	异辛烷-乙醇-水
Hypersil GOLD SAX	异辛烷-乙醇-水	乙醇
Hypersil GOLD AX	异辛烷-乙醇-水	乙醇
Hypersil SAX	异辛烷-乙醇-水	乙醇
BioBasic SCX	异辛烷-乙醇-水	乙醇

\*工厂可能会变更色谱柱出厂储存溶剂，具体以 COA 或 QAR 报告为准

### 1. 如何确认色谱柱的出厂溶剂？

在色谱柱附带的 COA 或 QAR 报告上找到 **Column Storage** 信息，没有标注出厂溶剂的，通常参考测试流动相 **Mobile Phase**。

### 2. 哪些色谱柱出厂溶剂为正相溶剂？

正相色谱柱 (硅胶柱、氨基柱、氰基柱)、离子交换色谱柱 (强阴离子、弱阴离子、强阳离子) 等，详见左表。

### 3. 出厂溶剂为正相溶剂的色谱柱，相应的正相溶剂有哪些？

色谱柱出厂的柱效测试采用正相方法，出厂溶剂可与流动相一致，使用异辛烷-乙醇-水 =85:14.7:0.3(v/v/v)，亦有部分色谱柱使用 100% 乙醇冲洗后封柱。为了兼顾效率，工厂通常不会用 100% 乙醇长时间冲洗，因此色谱柱内**仍会残留少量未被置换**的异辛烷-乙醇-水。

### 4. 初次启用这类色谱柱，应该如何活化？

在连接色谱柱之前，须对液相系统进行充分过渡。官方仅推荐 100% 异丙醇作为活化溶剂，低流速活化至少 40 个柱体积。异丙醇黏度较大，流速较大会产生较高背压，容易导致柱头塌陷，因此在异丙醇活化时，须设置为低流速，建议 0.1 mL/min 低流速过夜冲洗。

### 5. 为什么仅推荐异丙醇作为初次使用的活化溶剂？

异丙醇兼容性好，与绝大多数正相溶剂相容。一旦流动相溶剂与色谱柱储存溶剂不相溶，则会导致色谱柱压力异常波动，柱头塌陷，填料固定相坍塌，影响色谱柱柱效及使用寿命。我们应遵守色谱柱活化原则：初次启用时，活化色谱柱所用流动相须与出厂储存溶剂相兼容。

### 6. 乙醇也与异辛烷相容，为什么不推荐乙醇作为活化溶剂？

实验室通常以反相为主，比较少会备有色谱纯乙醇，有一些使用者会错误地用 95% 乙醇替代，乙醇含水量较高，高比例的水与异辛烷出现不相溶，乙醇活化色谱柱损伤概率 50%。甚至有人可能认为甲醇与乙醇相近，直接用甲醇活化，而甲醇与异辛烷不相溶，甲醇活化色谱柱损伤概率 100%。

### 7. 其他补充

我们再次强调出厂溶剂为正相溶剂的色谱柱，官方仅推荐 **100% 异丙醇**作为活化溶剂，不建议使用乙醇活化，绝对禁止使用甲醇活化。

# Acclaim Mixed-Mode WAX-1 / WCX-1 / Trinity P1 COA/QAR

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC

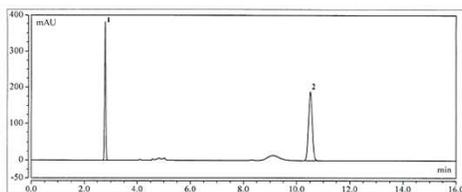
## Acclaim Mixed-Mode WAX-1

### Quality Assurance Report

Better Separations Through  
Better Chemistry

**Acclaim™ Mixed-Mode WAX-1**  
5µm 120Å (4.6 X 250 mm)  
Product No. 064985

Date: 01-Oct-21 08:36  
Serial No.: 001973  
Lot No.: 02020135  
Mobile Phase: 50:50 v/v Acetonitrile/50 mM Phosphate buffer, pH 6.0  
Flow Rate: 1.00 mL/min  
Detection: 220 nm  
Injection Volume: 5.0 µL  
Temperature: 30 °C  
Storage Solution: Mobile Phase



No.	Peak Name	Ret.Time (min)	Asymmetry (EP)	Plates/Column (EP)	Concentration (ppm)
1	Uracil	2.78	1.15	23671	100.0
2	Iodide	10.51	1.08	27557	100.0

#### QA Results:

Analyte	Parameter	Specification	Results
Iodide	Efficiency	>=16,811	Passed
Iodide	Asymmetry	0.95-1.32	Passed
Iodide	Pressure	<=1980	938

Production Reference:  
Database: Acclaim7  
Directory: Silica/Silica\_1  
Sequence: 2002544\_064985\_AM  
Sample No: 8  
7.2.10.23925  
065167-02 (QAR)  
Chromatop™ Thermo Fisher Scientific

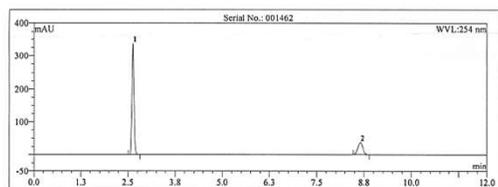
## Acclaim Mixed-Mode WCX-1

### Quality Assurance Report

Better Separations Through  
Better Chemistry

**Acclaim™ Mixed-Mode WCX-1**  
5µm 120Å (4.6 x 250 mm)  
Product No. 068352

Date: 17-Jun-20 07:15  
Serial No.: 001462  
Lot No.: 01834176  
Mobile Phase: 50:50 v/v Acetonitrile/0.10 M NH4OAc, pH 5.4  
Flow Rate: 1.00 mL/min  
Detection: UV, 254 nm  
Injection Volume: 5.0 µL  
Temperature: 30 °C  
Storage Solution: Acetonitrile



No.	Peak Name	Ret.Time (min)	Asymmetry (EP)	Efficiency (EP)	Concentration (µg/mL)
1	Cytosine	2.6	1.11	12106	100
2	Naphthalene	8.7	0.98	19685	100

#### QA Results:

Analyte	Parameter	Specification	Results
Naphthalene	Efficiency	>=16,200	Passed
Naphthalene	Asymmetry	0.95-1.32	Passed
Naphthalene	Retention Time	8.0-9.6	Passed
Naphthalene	Pressure	<=1980	1352

Production Reference:  
Database: Silica  
Directory: Silica/Silica\_1  
Sequence: 1533273\_068352\_AM  
Sample No: 12  
6.80 DU134 Bulk 3981 (22475) (Demo-Installation)  
Chromatop™ Thermo Fisher Scientific

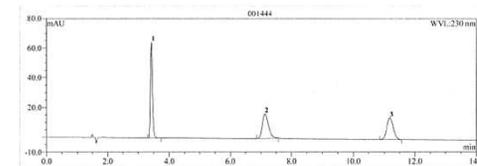
## Acclaim Trinity P1

### Quality Assurance Report

Better Separations Through  
Better Chemistry

**Acclaim™ Trinity™ P1**  
3µm (3.0 x 150 mm)  
Product No. 075563

Date: 26-Jun-19 09:08  
Serial No.: 001444  
Lot No.: 01705135  
Mobile Phase: 50:50 v/v Acetonitrile/30 mM (total) ammonium acetate, pH 5  
Flow Rate: 0.50 mL/min  
Detection: UV, 230 nm  
Injection Volume: 2.0 µL  
Temperature: 30 °C  
Storage Solution: Mobile Phase



No.	Peak Name	Ret.Time (min)	Asymmetry (EP)	Efficiency (EP)	Concentration
1	1,1-Diethyl bisulfide	3.4	1.17	11972	0.02 mg/mL
2	Triphenylene	7.1	1.36	6154	0.02 mg/mL
3	Nitraz	11.2	1.08	12907	0.10 mg/mL

(1) Efficiency (Plates/Column)

#### QA Results:

Analyte	Parameter	Specification	Results
Nitraz	Efficiency	>=10,000	Passed
Nitraz	Asymmetry	0.95-1.28	Passed
Nitraz	Retention Time	10.1-12.9	Passed
1,1-Diethyl bisulfide	Asymmetry	<=1.7	Passed
1,1-Diethyl bisulfide	Pressure	<=2970	1434

Production Reference:  
Database: Silica  
Directory: Silica/Silica\_1  
Sequence: 1521599\_075563\_KM  
Sample No: 1  
6.80 SRI 4 Bulk 4521 (23099) (Demo-Installation)  
065167-02 (QAR)  
Chromatop™ Thermo Fisher Scientific

thermoscientific.com/dionex  
© 2018 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries. Specifications, terms and pricing are subject to change. Not all products are available in all countries. Please consult your local sales representative for details.  
XX2155-EN 02155 031298-11

Thermo Fisher Scientific  
12291 River Way  
P.O. Box 3003  
Sunnyvale, CA 94088-3003  
(408) 737-0700

**thermo**  
scientific

thermoscientific.com/dionex  
© 2018 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries. Specifications, terms and pricing are subject to change. Not all products are available in all countries. Please consult your local sales representative for details.  
XX2155-EN 02155 031298-11

Thermo Fisher Scientific  
12291 River Way  
P.O. Box 3003  
Sunnyvale, CA 94088-3003  
(408) 737-0700

**thermo**  
scientific

thermoscientific.com/dionex  
© 2018 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries. Specifications, terms and pricing are subject to change. Not all products are available in all countries. Please consult your local sales representative for details.  
XX2155-EN 02155 031298-11

Thermo Fisher Scientific  
12291 River Way  
P.O. Box 3003  
Sunnyvale, CA 94088-3003  
(408) 737-0700

**Thermo**  
SCIENTIFIC  
A Thermo Fisher Scientific Brand

## 赛默飞 Acclaim 系列混合模式色谱柱的活化与储存 (\*\*\*)

### Quality Assurance Report (QAR)

	出厂溶剂	活化方法	短期储存	长期储存
Column	Storage Solution	Column Flushing	For short-term storage (< 3 days)	For long-term storage
Acclaim Mixed-Mode WAX-1	50:50 v/v Acetonitrile / 50 mM Phosphate buffer, pH 6.0	50:50 Acetonitrile/20 mM Ammonium acetate, pH 5.0 at least 40 column volumes	Mobile phase at room temperature	Acetonitrile at room temperature
Acclaim Mixed-Mode WCX-1	Acetonitrile			80:20 Acetonitrile/10 mM Ammonium acetate, pH 5.0 at room temperature
Acclaim Mixed-Mode HILIC-1	60:40 v/v Acetonitrile / 100 mM Ammonium acetate, pH 5.0			
Acclaim Trinity P1	50:50 v/v Acetonitrile / 30 mM (Total) Ammonium acetate, pH 5.0			
Acclaim Trinity P2	60:40 v/v Acetonitrile / 100 mM Ammonium formate, pH 3.65			
Acclaim Trinity Q1	75:25 v/v Acetonitrile/100 mM (Total) Ammonium acetate, pH 5.0			
Acclaim Surfactant Acclaim Surfactant Plus	Acetonitrile			

- Acclaim Mixed-Mode WAX-1 / WCX-1, Acclaim Surfactant Plus 色谱柱必须始终使用含有缓冲盐的流动相进行活化、分析。
- Acclaim Trinity P1 / P2 / Q1 色谱柱必须始终使用含有缓冲盐的流动相进行活化、分析或保存；在使用过程中应避免频繁大幅度的切换流速，否则会导致柱压激增，损伤柱床。
- 对于 Acclaim Mixed-Mode WAX-1, 和 Acclaim Surfactant Plus 具有弱阴离子交换 (WAX) 功能的色谱柱在乙腈-10 mM 乙酸铵 (pH=5.0) 充分过渡后, 推荐用 100% 乙腈作为长期储存溶剂。
- 对于 Acclaim Mixed-Mode WCX-1, Acclaim Trinity P2 和 Acclaim Trinity Q1 具有弱阳离子交换 (WCX) 功能的色谱柱应禁止使用醇类 (甲醇、乙醇、异丙醇等) 作为样品溶剂或流动相, 醇类在一定条件下会与羧酸官能团发生酯化反应, 导致保留时间漂移。如若色谱柱键合相已被醇类酯化, 可尝试以 10mM 甲磺酸溶液作为流动相在 45°C 柱温下冲洗 30min, 并进行保留测试。

## Acclaim Mixed-Mode WAX-1 使用及维护

示例：参考方法流动相为 乙腈-25mM 磷酸氢二铵 (pH=6.0) (梯度洗脱)，流速为 1.0 mL/min，检测器为 DAD

Acclaim Mixed-Mode WAX-1 色谱柱出厂储存溶剂为 乙腈-50mM 磷酸缓冲盐(pH=6.0)=50:50(v/v)，初次使用色谱柱活化须 乙腈-25mM 磷酸氢二铵 (pH=6.0)=50:50 冲洗至少 40 个柱体积

日常使用维护后，色谱柱的储存溶剂推荐为乙腈-缓冲盐体系 [如乙腈-20mM 乙酸铵(pH=5.0)=80:20(v/v)]。在使用乙腈-10 mM 乙酸铵 (pH=5.0) 充分过渡后，可使用 100% 乙腈作为长期储存溶剂。

Acclaim Mixed-Mode WAX-1, 5  $\mu$ m, 4.6 $\times$ 250 mm, 使用及维护注意事项如下：

色谱柱使用及维护				
操作	流动相比例	流速 mL/min	时间 min	柱体积
活化	乙腈-20mM 乙酸铵 (pH=5.0)=50:50	0.50	240	40CV
平衡	乙腈-25mM 磷酸氢二铵 (pH=6.0)=50:50	0.50	60	10CV
	乙腈-25mM 磷酸氢二铵 (pH=6.0)=70:30	1.00	60	20CV
进样	乙腈-25mM 磷酸氢二铵 (pH=6.0)=70:30 (梯度)	1.00	—	—
冲柱	乙腈-20mM 乙酸铵 (pH=5.0)=10:90	1.00	60	20CV
	乙腈-20mM 乙酸铵 (pH=5.0)=50:50	0.50	60	10CV
	乙腈-20mM 乙酸铵 (pH=5.0)=90:10	0.50	60	10CV
封柱	短期：乙腈-20mM 乙酸铵 (pH=5.0)=50:50	0.50	30	5CV
	长期：乙腈-20mM 乙酸铵 (pH=5.0)=80:20	0.50	30	5CV

## Acclaim Mixed-Mode WAX-1 使用及维护 (HILIC 模式)

示例：参考方法流动相为 乙腈-20mM 甲酸铵 (pH=4.0) (梯度洗脱)，流速为 1.0 mL/min，检测器为 CAD

Acclaim Mixed-Mode WAX-1 色谱柱出厂储存溶剂为 乙腈-50mM 磷酸缓冲盐(pH=6.0)=50:50(v/v)，初次使用色谱柱活化时必须断开 CAD 检测器，使用 乙腈-20mM 甲酸铵 (pH=4.0)=50:50 冲洗至少 40 个柱体积，充分置换色谱柱内残留的磷酸缓冲盐，否则会导致 CAD 基线噪音过高。

日常使用维护后，储存溶剂推荐为乙腈-缓冲盐体系 [如乙腈-20mM 甲酸铵(pH=4.0)=80:20(v/v)]。在使用乙腈-10 mM 乙酸铵 (pH=5.0) 充分过渡后，可使用 100% 乙腈作为长期储存溶剂。

Acclaim Mixed-Mode WAX-1, 5  $\mu$ m, 4.6 $\times$ 250 mm, 使用及维护注意事项如下：

### 色谱柱使用及维护

操作	流动相比例	流速 mL/min	时间 min	柱体积
活化 (断开检测器)	乙腈-20mM 甲酸铵 (pH=4.0)=50:50	0.50	240	40CV
平衡	乙腈-20mM 甲酸铵 (pH=4.0)=50:50	0.50	30	5CV
	乙腈-20mM 甲酸铵 (pH=4.0)=90:10	1.00	60	20CV
进样	乙腈-20mM 甲酸铵 (pH=4.0)=90:10 (梯度)	1.00	—	—
冲柱	乙腈-20mM 甲酸铵 (pH=4.0)=90:10	1.00	30	10CV
	乙腈-20mM 甲酸铵 (pH=4.0)=50:50	0.50	60	10CV
	乙腈-20mM 甲酸铵 (pH=4.0)=10:90	0.50	60	10CV
封柱	短期：乙腈-20mM 甲酸铵 (pH=4.0)=50:50	0.50	30	5CV
	长期：乙腈-20mM 甲酸铵 (pH=4.0)=80:20	0.50	30	5CV

## Acclaim Mixed-Mode WCX-1 使用及维护

示例：参考方法流动相为 乙腈-25mM 磷酸氢二铵 (pH=4.0) (等度洗脱)，流速为 0.5 mL/min，检测器为 VWD

Acclaim Mixed-Mode WCX-1 色谱柱出厂储存溶剂为 乙腈，初次使用色谱柱活化须用 乙腈-20mM 乙酸铵 (pH=5.0)=50:50 冲洗至少 40 个柱体积，禁止使用醇类(甲醇、乙醇、异丙醇等)作为溶剂或流动相。

Acclaim Mixed-Mode **WCX-1**, 3  $\mu$ m, 3.0  $\times$  150 mm, 使用及维护注意事项如下：

色谱柱使用及维护				
操作	流动相比例	流速 mL/min	时间 min	柱体积
活化	乙腈-20mM 乙酸铵 (pH=5.0)=50:50	0.25	120	40CV
平衡	乙腈-25mM 磷酸氢二铵 (pH=4.0)=50:50	0.25	30	10CV
	乙腈-25mM 磷酸氢二铵 (pH=4.0)=25:75	0.50	30	20CV
进样	乙腈-25mM 磷酸氢二铵 (pH=4.0)=25:75 (等度)	0.50	—	—
冲柱	乙腈-20mM 乙酸铵 (pH=5.0)=10:90	0.50	30	20CV
	乙腈-20mM 乙酸铵 (pH=5.0)=50:50	0.25	30	10CV
	乙腈-20mM 乙酸铵 (pH=5.0)=90:10	0.25	30	10CV
封柱	短期：乙腈-20mM 乙酸铵 (pH=5.0)=50:50	0.25	15	5CV
	长期：乙腈-20mM 乙酸铵 (pH=5.0)=80:20	0.25	15	5CV

## Acclaim Trinity P1 色谱柱冲洗维护操作步骤 (Acclaim Trinity P1/P2/Q1)

### 日常冲洗维护操作

色谱柱日常冲洗维护操作				
操作	流动相比例	流速 mL/min	时间 min	柱体积
活化	乙腈-20mM 乙酸铵 (pH=5.0)=50:50	0.15	60	40CV
平衡	乙腈-10mM 乙酸铵=30:70	0.15	30	20CV
进样	乙腈-10mM 乙酸铵=30:70 (梯度)	0.15	30	20CV
冲柱	乙腈-20mM 乙酸铵 (pH=5.0)=10:90	0.15	30	20CV
	乙腈-20mM 乙酸铵 (pH=5.0)=50:50	0.15	30	20CV
	乙腈-20mM 乙酸铵 (pH=5.0)=90:10	0.15	30	20CV
封柱	乙腈-20mM 乙酸铵 (pH=5.0)=80:20	0.15	30	20CV

Tips: 以 Acclaim Trinity P1 , 3  $\mu$ m, 100 $\times$ 2.1 mm 为例, 当色谱柱性能下降、背压过高时, 可参照以下步骤进行色谱柱强力冲洗维护

1. 流速 **0.15** mL/min, 使用 乙腈/20 mM 甲酸铵溶液=50:50 (v/v) 清洗色谱柱 10 个柱体积;
2. 流速 **0.15** mL/min, 使用 乙腈/200 mM 甲酸铵溶液=20:80 (v/v) 清洗色谱柱 20 至 50 个柱体积的 (以清除强保留的离子);
3. 流速 **0.15** mL/min, 使用 乙腈/20 mM 甲酸铵溶液=80:20 (v/v) 冲洗色谱柱 20 个柱体积 (以清除强保留的疏水污染物);
4. 使用初始流动相平衡色谱柱至少 20 个柱体积。

色谱柱强力冲洗维护操作				
操作	流动相比例 (A-B-C)	流速 mL/min	时间 min	柱体积
1	MeCN - 200 mM NH <sub>4</sub> OOCH - H <sub>2</sub> O = 50:5:45	0.15	15	10CV
2	MeCN - 200 mM NH <sub>4</sub> OOCH - H <sub>2</sub> O = 20:80:0	0.15	60	40CV
3	MeCN - 200 mM NH <sub>4</sub> OOCH - H <sub>2</sub> O = 80:2:18	0.15	30	20CV
4	MeCN - 200 mM NH <sub>4</sub> OOCH - H <sub>2</sub> O = 50:5:45	0.15	30	20CV

Tips: Acclaim Trinity P1 色谱柱背压过高时, 正接冲洗效果不明显, 可酌情考虑反接色谱柱冲洗, 即反冲。

色谱柱反接冲洗维护操作				
操作	流动相比例	流速 mL/min	时间 min	柱体积
1	MeCN - 20 mM NH <sub>4</sub> OOCH= 20:80	0.15	30	20CV
2	MeCN - 20 mM NH <sub>4</sub> OOCH= 80:20	0.15	30	20CV

Thermo Scientific 混合模式色谱柱的  
日常使用维护指南和通用方法开发信息

# 保护柱 Guard Cartridge Kits



## Uniguard™ 直连式保护柱组件 UNIGUARD™ Drop-in Guard Column Kit



保护柱卡套  
Guard Cartridge Holder

- 850-00 4.6/4.0 mm ID
- 852-00 3.0/2.1 mm ID
- 851-00 1.0 mm ID



保护柱柱芯  
Guard Cartridge, 10 mm, 4 pk

- Accucore
- Hypersil GOLD
- Hypercarb
- Synchronis
- Hypersil BDS
- Hypersil Classical

保护柱柱芯的填料类型，粒径、内径  
原则上应与分析柱保持一致

## Acclaim 保护柱套装 069707

069580  
Acclaim Guard Cartridge  
Holder V-2

保护柱柱套



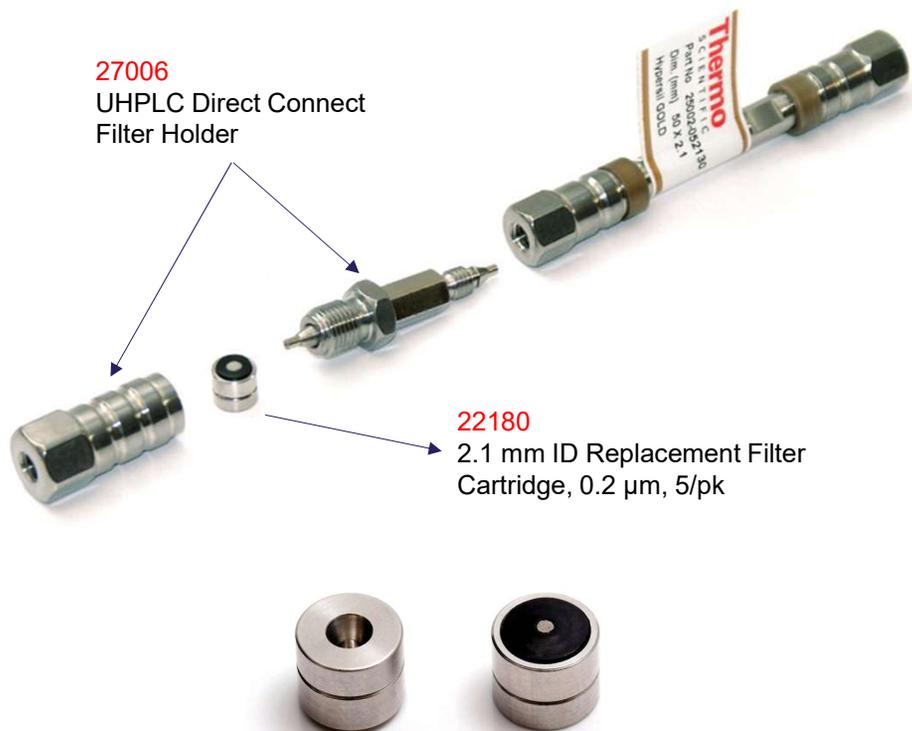
连接器

074188  
Acclaim Guard  
Cartridge Coupler V-2



保护柱柱芯  
Guard Cartridge, 10 mm, 2 pk

# 在线过滤器 Inline Filters

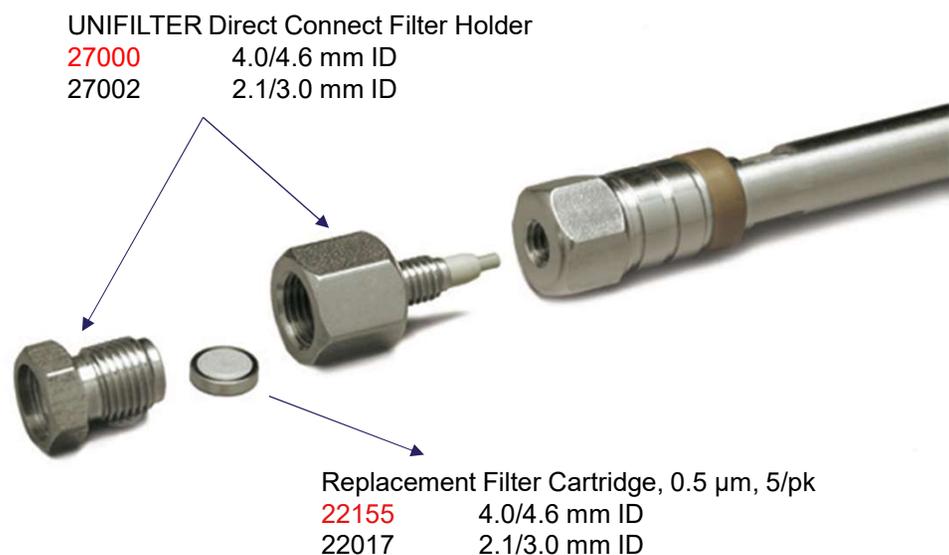


**27006**  
UHPLC Direct Connect  
Filter Holder

**22180**  
2.1 mm ID Replacement Filter  
Cartridge, 0.2  $\mu$ m, 5/pk



UHPLC 在线过滤器

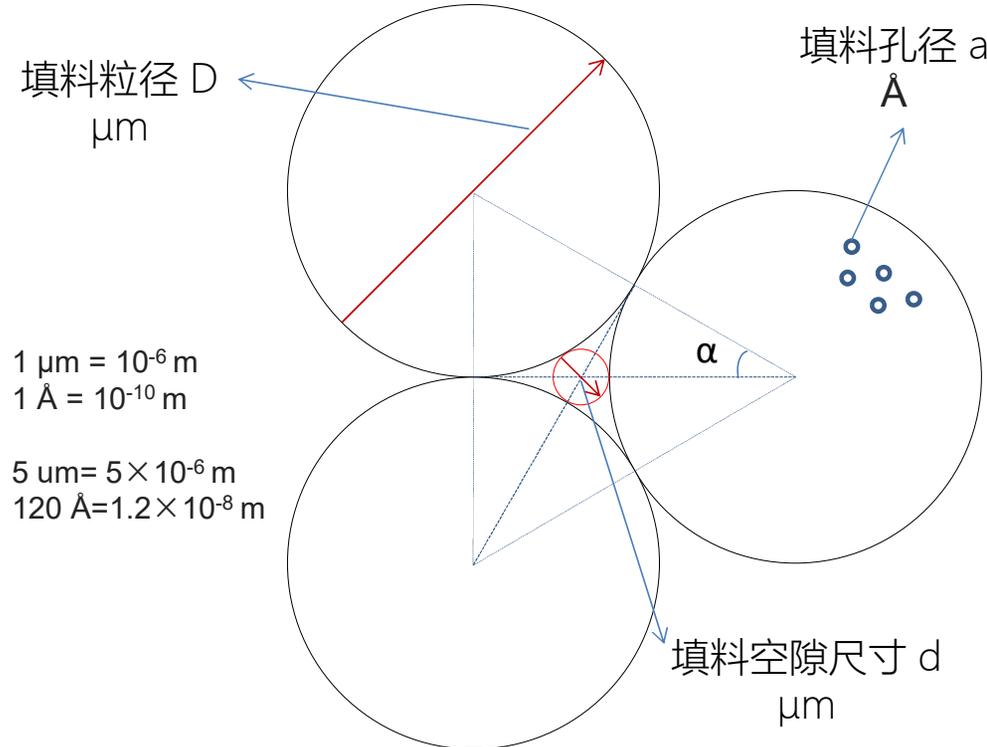


UNIFILTER Direct Connect Filter Holder  
**27000** 4.0/4.6 mm ID  
**27002** 2.1/3.0 mm ID

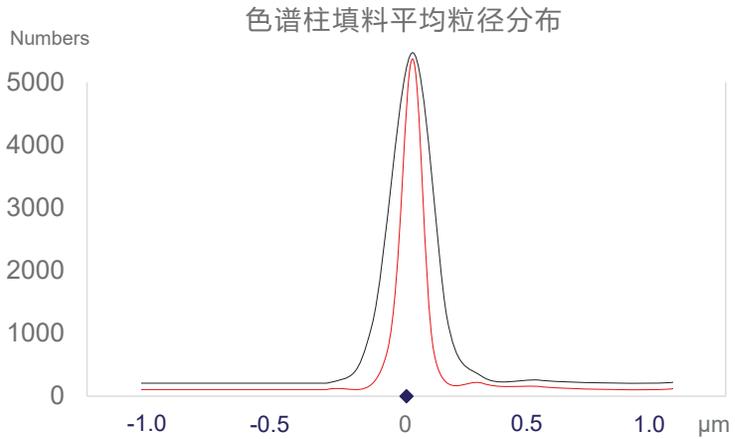
Replacement Filter Cartridge, 0.5  $\mu$ m, 5/pk  
**22155** 4.0/4.6 mm ID  
**22017** 2.1/3.0 mm ID

HPLC 在线过滤器

# 液相色谱柱填料空隙尺寸理论值



$$\cos\alpha = \frac{\frac{D}{2}}{D+d} = \frac{D}{D+d} \quad d = \left(\frac{2\sqrt{3}}{3} - 1\right)D = 0.155D$$



色谱柱填料类型	Accucore 2.6μm	Accucore XL 4μm
平均粒径分布(D90/10)	1.12	1.15

色谱柱填料粒径分布越均匀，填料空隙尺寸越接近理论值

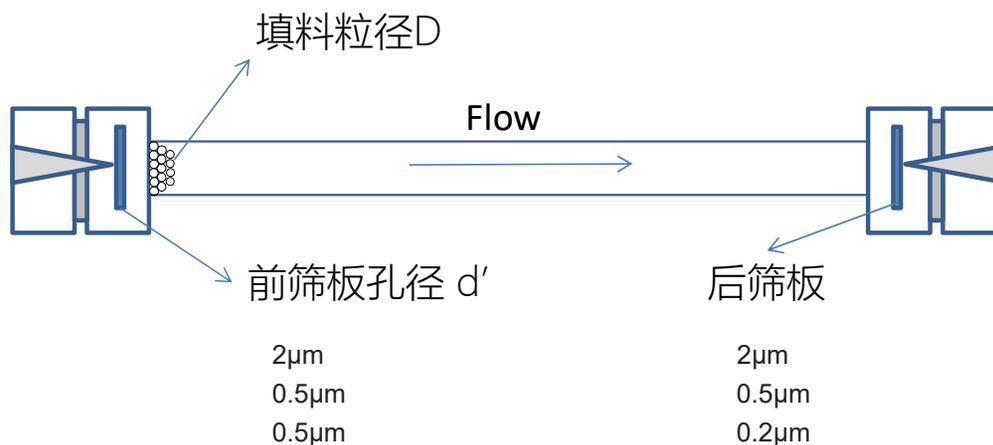
D/μm	5	4	3	2.6	2.4	2.2	1.9	1.7	1.5
d/μm	0.775	0.620	0.465	0.403	0.372	0.341	0.295	0.264	0.233

## 填料空隙尺寸的实际应用

- 色谱柱筛板孔径须小于填料粒径，以确保填料不会被流动相冲出来，部分色谱柱前后筛板孔径不同
- 针式过滤器可过滤掉大于 0.45/0.2  $\mu\text{m}$  的颗粒，而较小尺寸的颗粒则经由填料空隙流出色谱柱

填料粒径 D / $\mu\text{m}$	5	4	3	2.6	2.4	2.2	1.9	1.7	1.5	
筛板孔径 d' / $\mu\text{m}$	2					0.5(0.2)				
填料空隙尺寸 d / $\mu\text{m}$	0.775	0.620	0.465	0.403	0.372	0.341	0.295	0.264	0.233	
针式过滤器孔径 d'' / $\mu\text{m}$	0.45				0.2					

在线过滤器 (样品、流动相)



针式过滤器 (样品)

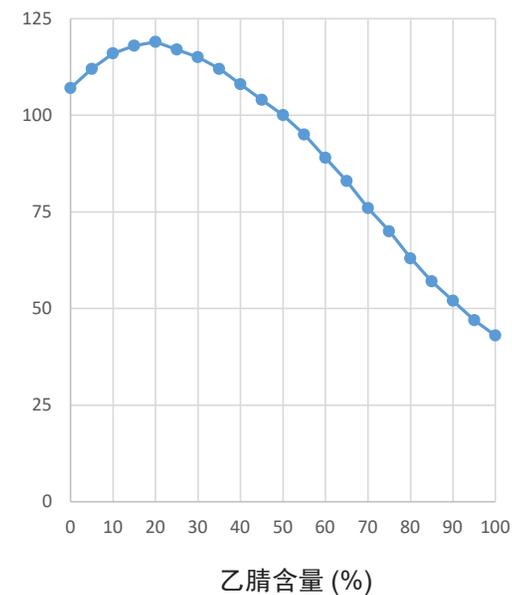
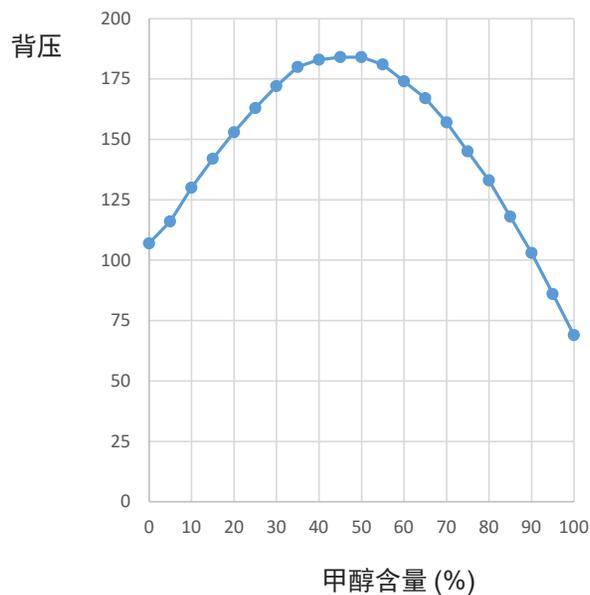


## 液相色谱柱压力 (Vanquish Core)

压力方程包含影响系统压力的 5 个重要参数：溶剂粘度 ( $\eta$ )、流速 (F)、柱长 (L)、色谱柱内径 (d) 和填料粒径 (dp)

$$\Delta P = \frac{\eta FL}{K^0 \pi \left(\frac{d_c}{2}\right)^2 d_p^2}$$

粘度  $\eta$       流速  $F$       柱长  $L$   
 渗透参数  $K^0$       内径  $d_c$       粒径  $d_p$



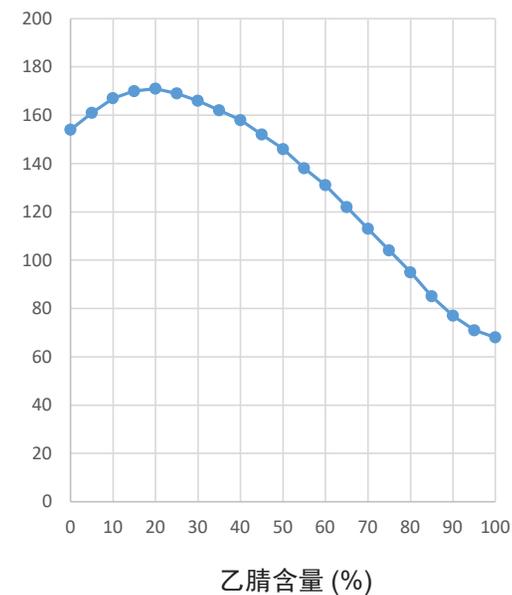
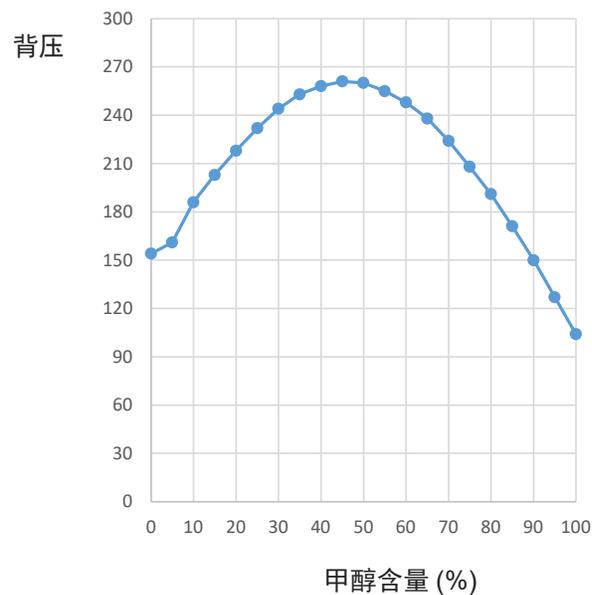
Hypersil GOLD aQ, 5  $\mu$ m, 4.6  $\times$  250mm  
 Vanquish Core HPLC, 流速 1.0 mL/min, 柱温 30  $^{\circ}$ C  
 100% 水, 接二通时, 系统压力 15 bar

## 液相色谱柱压力 (Vanquish Flex)

压力方程包含影响系统压力的 5 个重要参数：溶剂粘度 ( $\eta$ )、流速 (F)、柱长 (L)、色谱柱内径 (d) 和填料粒径 (dp)

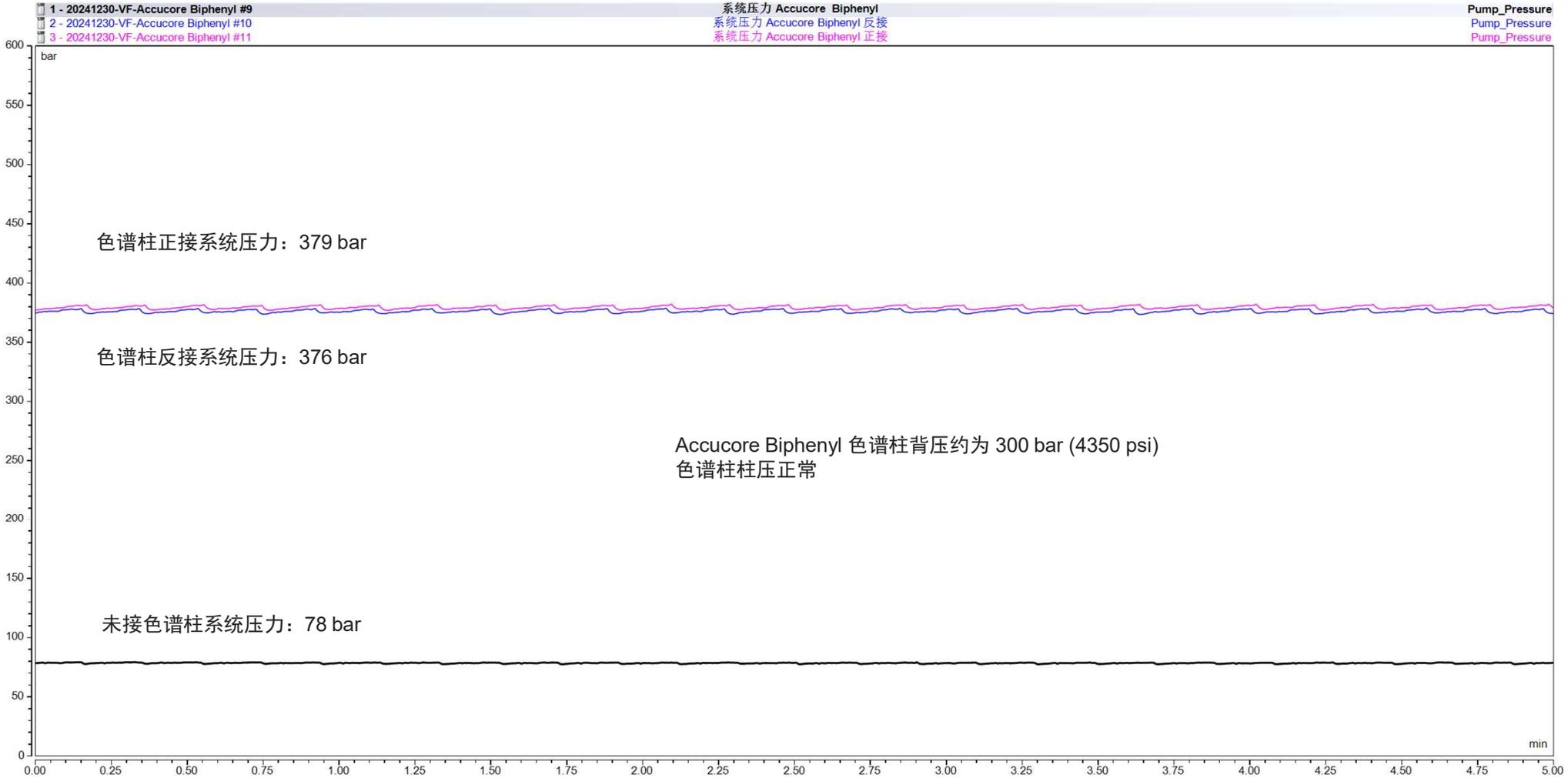
$$\Delta P = \frac{\eta FL}{K^0 \pi \left(\frac{d_c}{2}\right)^2 d_p^2}$$

粘度 (η) 指向分子 η  
 流速 (F) 指向分子 F  
 柱长 (L) 指向分子 L  
 渗透参数 (K<sup>0</sup>) 指向分母 K<sup>0</sup>  
 内径 (d<sub>c</sub>) 指向分母 (d<sub>c</sub>/2)  
 粒径 (d<sub>p</sub>) 指向分母 d<sub>p</sub><sup>2</sup>



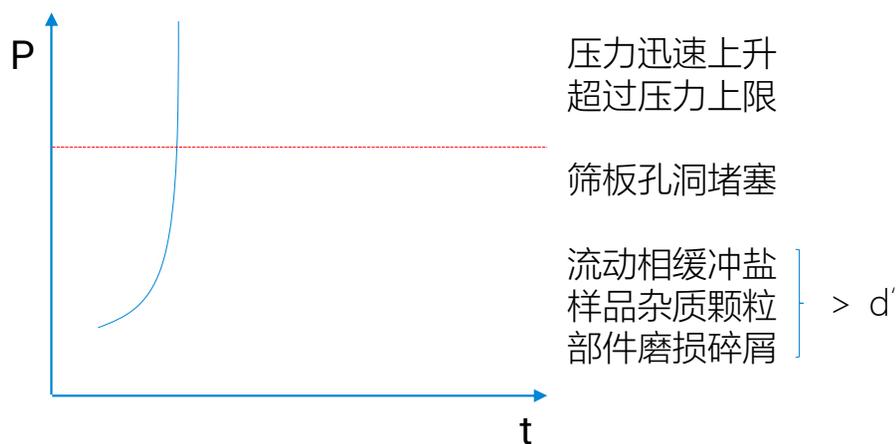
Acclaim 120 C18, 5 μm, 4.6 × 250mm  
 Vanquish Flex, 流速 1.0 mL/min, 柱温 30 °C  
 100% 水, 接二通时, 系统压力 56 bar

# 色谱柱背压及系统压力

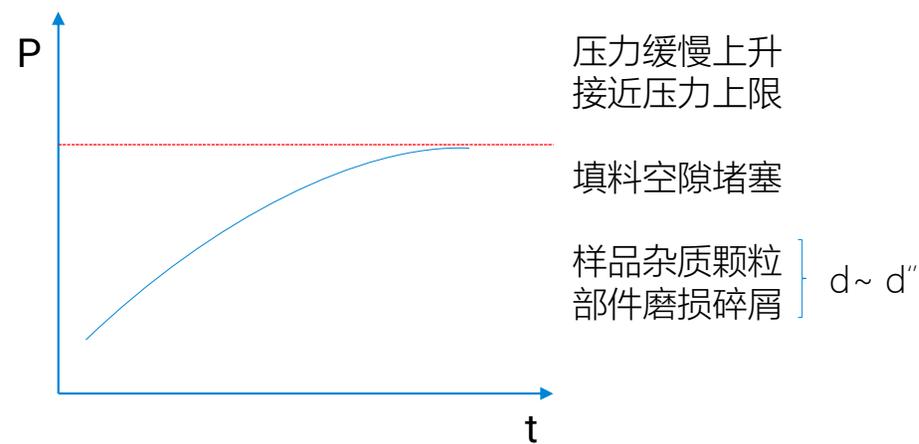


## 色谱柱压力变化与色谱柱维护

在仪器运行正常的情况下，色谱柱压力出现异常变化时，可参考以下思路进行排查



分析柱筛板堵塞 → 低流速反冲维护  
保护柱柱芯筛板堵塞 → 更换柱芯  
在线过滤器筛板堵塞 → 更换筛板

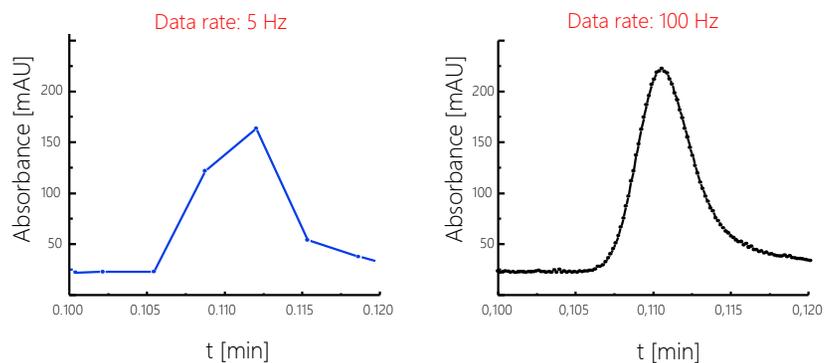


分析柱填料空隙污染堵塞 → 定期低流速冲洗维护  
保护柱柱芯填料空隙污染堵塞 → 定期低流速冲洗维护

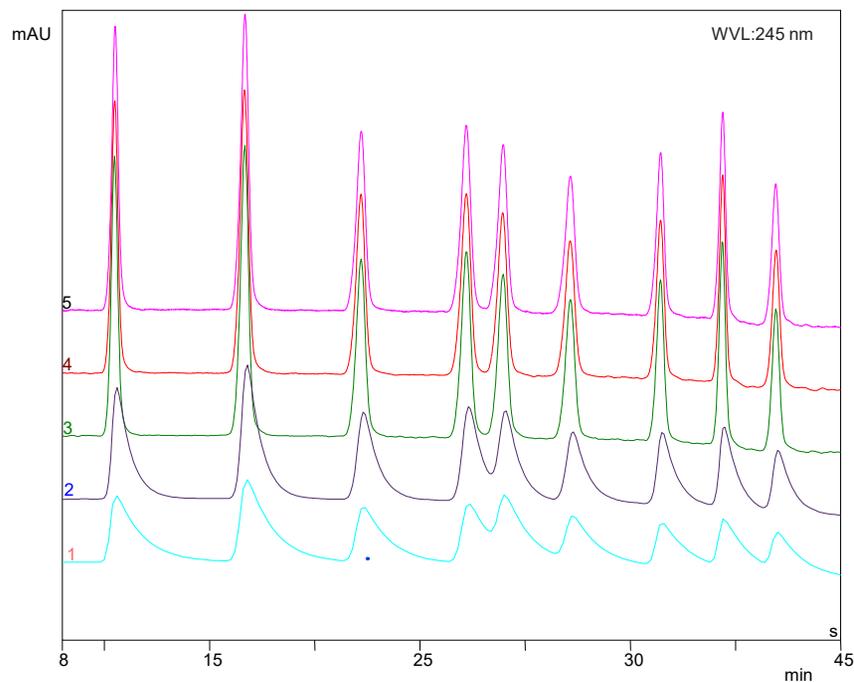
Tips: 正冲效果不明显，可尝试反冲  
分析柱和保护柱建议分开冲洗维护

## 从 HPLC 到 UHPLC 方法转换：优化检测器采样频率

采样频率是指 Chromeleon 软件从检测器采集并将其储存为原始数据的每秒数据点数量 (Hz)。通常，每个峰应由至少 20 个数据点定义，当色谱分离有共洗脱峰或低信噪比时，建议每个峰至少 40 个数据点。对于快速洗脱的色谱峰，要确保在色谱峰上收集到足够的数据点，数据系统才能准确测定出峰宽、峰面积和保留时间。



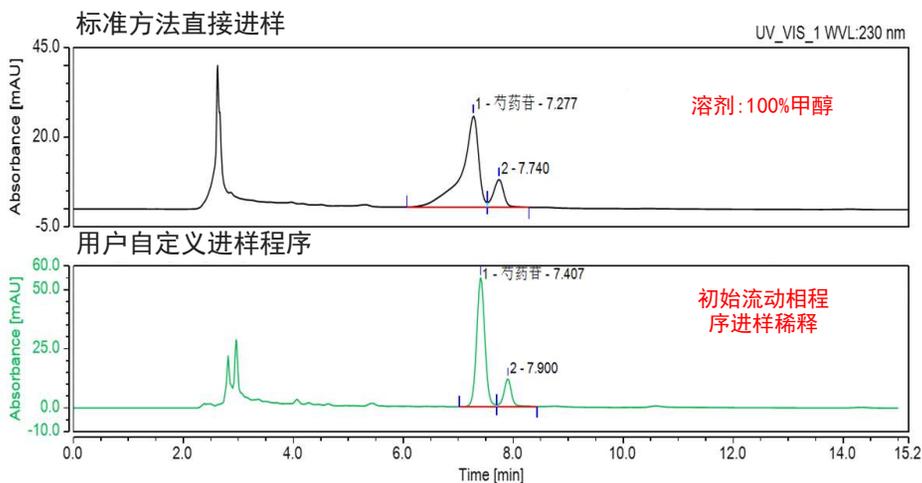
Data acquisition rate	Time constant
100Hz	0.01sec
50Hz	0.02sec
25Hz	0.025sec
10Hz	0.5sec
5Hz	1sec



## 消除进样过程中的溶剂效应

柱前管路内径较小  
初始溶剂差异较大

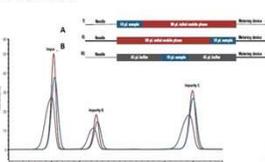
对照品和供试品溶剂：100%甲醇，100%乙醇，70%乙醇水  
初始流动相比例：20%甲醇水，10%乙腈水，5%乙腈-磷酸缓冲盐  
样品在色谱柱前端的迁移速率不同，导致峰型前延



赤芍（芍药）配方颗粒含量测定溶剂效应

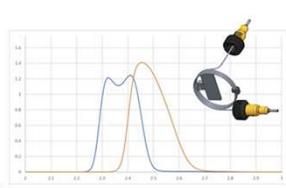
### 用户自定义进样程序 (UDP)

- 简单又实用的方案
- 改善峰对称性
- 更好的分离度和柱效
- 无需硬件改动

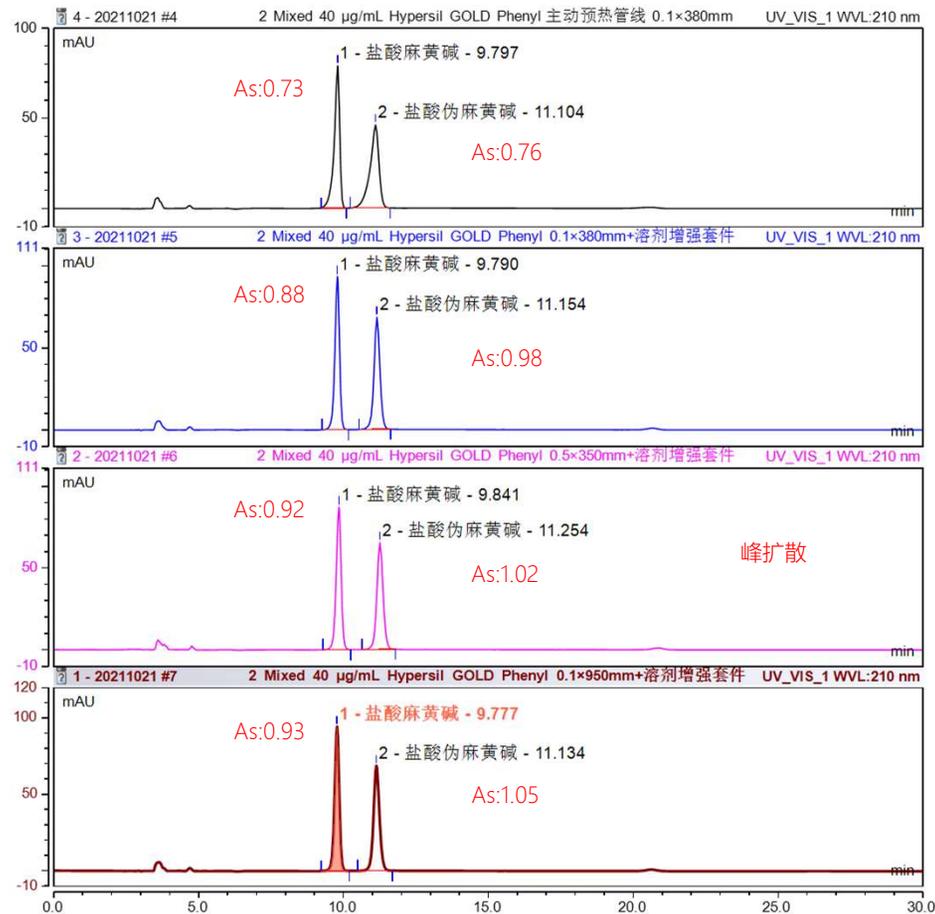


### 溶剂增强套件

- 在进样阀与色谱柱之间增加柱外体积
- 通过稀释强洗脱溶剂来克服溶剂效应



麻黄中盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱含量测定 溶剂效应 (Hypersil GOLD Phenyl)



# 赛默飞液相色谱柱日常使用维护指南和通用方法开发信息

ThermoFisher  
SCIENTIFIC

Development guide | Hydrophobic columns

ThermoFisher  
SCIENTIFIC

## LC columns

### Column care guide and general method development information for Thermo Scientific hydrophobic columns

Applies to columns bonded with phases such as C18, C8 C4, C30 and polar embedded C18s, polar endcapped C18s and other proprietary hydrophobic phases

#### Before you get started

Manuals, specification sheets or technical guides for your column might be available to download from [thermofisher.com](http://thermofisher.com). Type the P/N or product name in the search box. Helpful literature is near the bottom of the product page. Some columns include a Quick-Start Guide in the box and/or a yellow caution tag on the column. Please read these before using the column.

Always start by investigating the Certificate of Analysis (CoA) or Quality Assurance Report (QAR) accompanying your column. This document includes a lot of valuable information. For instance, investigate what solvent the column is shipped in. If the column is filled with something incompatible with your mobile phase, flush it out with a mutually compatible intermediate solvent. Some detectors such as charged aerosol and mass spectrometers are highly sensitive to column bleed. Condition the column before connecting it to the detector.

You should always strive to reproduce the chromatogram in your CoA or QAR when you receive the column into your lab. This way you can assure that the column is operating correctly when you start your method, and if you routinely repeat the column's CoA or QAR, you can notice column degradation early on and implement preventative measures if needed.

For UH-PLC columns operating at high pressure > 400 bar, it can take the column 20–30 minutes of extra time to come to thermal steady-state after the column oven is ready. Continue equilibration until the pressure and detector baselines are stable.

Always check for leaks before use.



#### Operational limits

Respect the limits for pressure, pH, temperature and solvent compatibility. The product manual, specification sheet or technical guide is the best reference for operational limits. If there is not a manual, see the online [catalog](http://catalog) or product web page on [thermofisher.com](http://thermofisher.com)

Operating near the extremes of the pH or temperature limits can reduce column life and increase column bleed.

thermo scientific

Development guide | Phenyl columns

ThermoFisher  
SCIENTIFIC

## LC columns

### Column care guide and general method development information for Thermo Scientific phenyl columns

Applies to columns bonded with aromatic phases such as Phenyl, Phenyl X, Phenyl Hexyl, PFP and Biphenyl

#### Before you get started

Manuals, specification sheets or technical guides for your column might be available to download from [thermofisher.com](http://thermofisher.com). Type the P/N or product name in the search box. Helpful literature is near the bottom of the product page. Some columns include a Quick-Start Guide in the box and/or a yellow caution tag on the column. Please read these before using the column.

Always start by investigating the Certificate of Analysis (CoA) or Quality Assurance Report (QAR) accompanying your column. This document includes a lot of valuable information. For instance, investigate what solvent the column is shipped in. If the column is filled with something incompatible with your mobile phase, flush it out with a mutually compatible intermediate solvent. Some detectors such as charged aerosol and mass spectrometers are highly sensitive to column bleed. Condition the column before connecting it to the detector.

You should always strive to reproduce the chromatogram in your CoA or QAR when you receive the column into your lab. This way you can assure that the column is operating correctly when you start your method, and if you routinely repeat the column's CoA or QAR, you can notice column degradation early on and implement preventative measures if needed.

For UH-PLC columns operating at high pressure > 400 bar, it can take the column 20–30 minutes of extra time to come to thermal steady-state after the column oven is ready. Continue equilibration until the pressure and detector baselines are stable.

Always check for leaks before use.



#### Operational limits

Respect the limits for pressure, pH, temperature and solvent compatibility. The product manual, specification sheet or technical guide is the best reference for operational limits. If there is not a manual, see the online [catalog](http://catalog) or product web page on [thermofisher.com](http://thermofisher.com)

Operating near the extremes of the pH or temperature limits can reduce column life and increase column bleed.

thermo scientific

Development guide | HILIC columns

ThermoFisher  
SCIENTIFIC

## LC columns

### Column care guide and general method development information for Thermo Scientific HILIC columns

Applies to columns bonded with phases such as HILIC, amino, cyano and bare silica

#### Before you get started

Manuals, specification sheets or technical guides for your column might be available to download from [thermofisher.com](http://thermofisher.com). Type the P/N or product name in the search box. Helpful literature is near the bottom of the product page. Some columns include a Quick-Start Guide in the box and/or a yellow caution tag on the column. Please read these before using the column.

Always start by investigating the Certificate of Analysis (CoA) or Quality Assurance Report (QAR) accompanying your column. This document includes a lot of valuable information. For instance, investigate what solvent the column is shipped in. If the column is filled with something incompatible with your mobile phase, flush it out with a mutually compatible intermediate solvent. Some detectors such as charged aerosol and mass spectrometers are highly sensitive to column bleed. Condition the column before connecting it to the detector.

You should always strive to reproduce the chromatogram in your CoA or QAR when you receive the column into your lab. This way you can assure that the column is operating correctly when you start your method, and if you routinely repeat the column's CoA or QAR, you can notice column degradation early on and implement preventative measures if needed.

For UH-PLC columns operating at high pressure > 400 bar, it can take the column 20–30 minutes of extra time to come to thermal steady-state after the column oven is ready. Continue equilibration until the pressure and detector baselines are stable.

Always check for leaks before use.



#### Operational limits

Respect the limits for pressure, pH, temperature and solvent compatibility. The product manual, specification sheet or technical guide is the best reference for operational limits. If there is not a manual, see the online [catalog](http://catalog) or product web page on [thermofisher.com](http://thermofisher.com)

Operating near the extremes of the pH or temperature limits can reduce column life and increase column bleed.

thermo scientific

Hydrophobic LC Columns Care Guide-CN  
Phenyl LC Columns Care Guide-CN  
HILIC LC Columns Care Guide-CN

Mixed Mode LC Columns Care Guide-CN  
Hypercarb LC Columns Care Guide-CN  
HyperREZ LC Columns Care Guide-CN

# Hypersil GOLD 柱效测试报告

ThermoFisher  
SCIENTIFIC

thermoscientific

Part Number: 25005-254630  
Column: Hypersil GOLD™  
Serial Number: 20031942  
Lot Number: 16961  
Column Dimensions: 250 mm x 4.6 mm

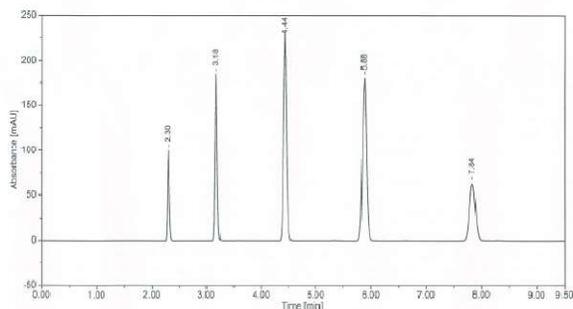
PN / SN / LN

## Chromatographic Parameters

Mobile Phase: 60/40 Acetonitrile/Water  
Flow Rate: 1.25 mL/min  
Sample Volume: 2.5 µL  
Wavelength: UV @ 254 nm  
Particle Size: 5 µm  
Pore Size: 175 Å  
Temperature: Ambient  
Column Storage: Mobile Phase  
Column Back Pressure: 1650 psi

Mobile Phase

Column Storage



Peak No.	Component	RT (min)	N plates/meter	Tailing Factor (EP)	Capacity
1	Theophylline	2.30	84472	1.09	0.00
2	p-Nitroaniline	3.18	108808	1.07	0.38
3	Methyl Benzoate	4.44	111364	1.05	0.93
4	Phenetole	5.88	110888	1.04	1.55
5	o-Xylene	7.84	108668	1.04	2.40

QC Approval:

JY

Lot: 25005-254630-16961-20031942-1016

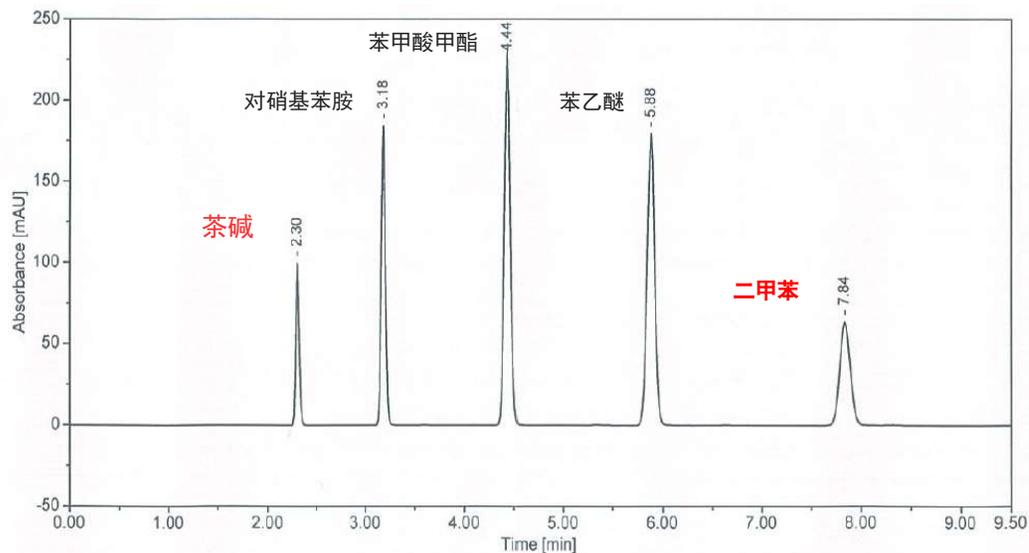


柱效测试

ThermoFisher  
SCIENTIFIC

Certificate of Analysis

以 Hypersil GOLD C18, 250 x 4.6 mm, 5 µm (PN: 25005-254630) 为例,



Peak No.	Component	RT (min)	N plates/meter	Tailing Factor (EP)	Capacity
1	Theophylline	2.30	84472	1.09	0.00
2	p-Nitroaniline	3.18	108808	1.07	0.38
3	Methyl Benzoate	4.44	111364	1.05	0.93
4	Phenetole	5.88	110888	1.04	1.55
5	o-Xylene	7.84	108668	1.04	2.40

茶碱用来评估进样后系统死体积

$$V_0 = 1.25 \text{ mL/min} \times 2.30 \text{ min} = 2.875 \text{ mL}$$

## Hypersil GOLD 色谱柱死体积

系统死体积包括流路产生的体积以及色谱柱的死体积。  
进样后流路产生的体积包含进样口至柱前端和柱后端至流通池体积。  
柱前管路 0.18×350mm，柱后管路 0.18×650mm，  
针座死体积约为 10μL，标准流通池体积 13μL，  
流路产生的死体积约 50μL

总孔率 (total porosity) 系指被固定相填充后的色谱柱，在横截面上可供流动相通过的孔隙率，用  $\epsilon_T$  表示。

$$\epsilon_T = \frac{F}{u_0 r^2} = \frac{F t_M}{L r^2} = \frac{F t_M}{V} \quad (8-14)$$

式中， $F$  为流动相的体积流速，mL/min； $u$  为流动相的平均线速，cm/s； $r$  为柱内径的半径，cm； $t_M$  为柱的死时间，min； $L$  为柱长，cm； $V$  为色谱柱的空体积，mL。

$\epsilon_T$  表达了色谱柱填料的多孔性能，其由柱内颗粒间孔隙 ( $\epsilon_s$ ) 和颗粒内的孔隙 ( $\epsilon_i$ ) 两部分组成 ( $\epsilon_T = \epsilon_s + \epsilon_i$ )。当使用全多孔硅胶固定相时， $\epsilon_T$  约为 0.85；对表面多孔硅胶固定相， $\epsilon_T$  约为 0.75；使用非多孔的玻璃微珠（或硅胶）固定相时， $\epsilon_T$  约为 0.40，可认为是柱中颗粒之间的孔率。

于世林 著，高效液相色谱方法及应用（第三版）

色谱柱死体积

$$V_C = 2.875\text{mL} - 0.050\text{mL} = 2.825\text{mL}$$

色谱柱空柱管体积

$$V = \pi \left(\frac{d}{2}\right)^2 \cdot L = 3.14 \times \left(\frac{4.6}{2}\right)^2 \times 250 \times 10^{-3} = 4.153\text{mL}$$

色谱柱总孔隙率

$$\epsilon_T = 2.835 / 4.135 \times 100\% = 68.3\%$$

The void volume of the column is the volume that is not taken up by the stationary phase (approximately 68% of the column volume):

$$V_c = 0.68 \times p \times r^2 \times L$$

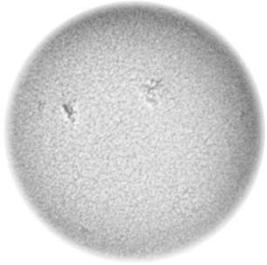
$V_c$  – column volume (mL)

$L$  – column length (cm)

$r$  – column radius (cm)

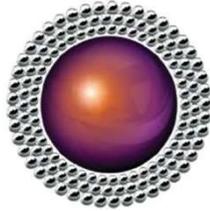
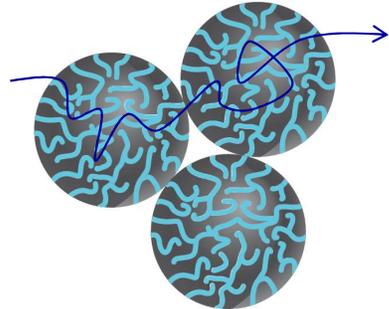
$$V = \pi \left(\frac{d}{2}\right)^2 \cdot L \cdot f = 3.14 \times \left(\frac{4.6}{2}\right)^2 \times 250 \times 0.68 \times 10^{-3} = 2.82\text{mL}$$

总孔隙率  $\epsilon_t = \text{颗粒内孔隙 } \epsilon_i + \text{颗粒间孔隙率 } \epsilon_e$



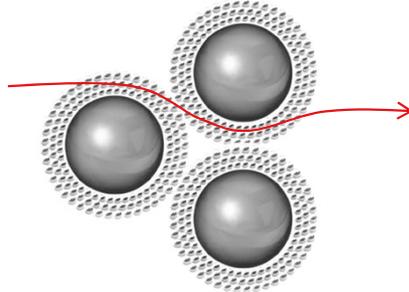
全多孔颗粒  
Fully Porous Particles  
FPP

→ 组分在整个全多孔填料颗粒内扩散

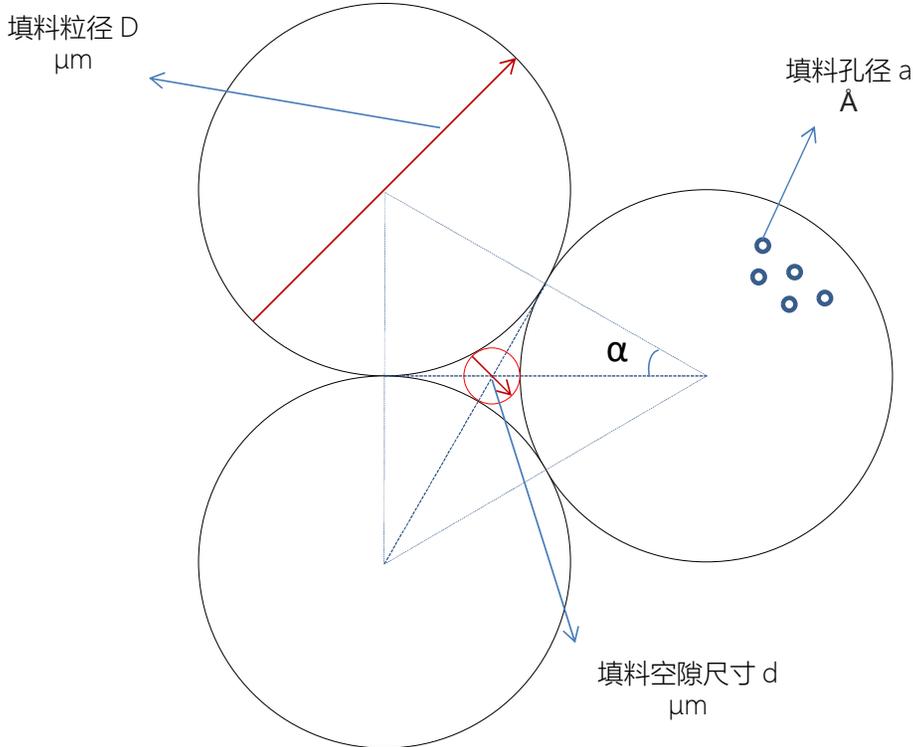


实心核颗粒  
Solid Core Particles  
SCP

→ 组分仅在表面多孔层内进行吸附分配



颗粒内孔隙  $\epsilon_i$



颗粒间孔隙  $\epsilon_e$

# Accucore XL C18 柱效测试报告及色谱柱死体积

ThermoFisher  
SCIENTIFIC

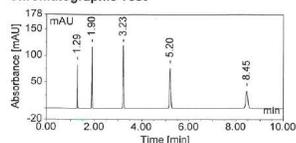
thermoscientific

Column: Accucore™ XL C18  
Length (mm): 250 I.D. (mm): 4.6 Particle Size (µm): 4  
Part No: 74104-254630 Serial No: 20438002 Lot Number: 920585

### Chromatographic Parameters

Mobile Phase: 50/50 Acetonitrile/Water  
Flow Rate: 1.5 mL/min  
Temperature (°C): 30  
Sample Volume: 1.0 µL  
Wavelength: UV @ 254 nm

### Chromatographic Test



	Specification		Result
	Minimum	Maximum	
Retention Time- min (o-Xylene)	6.9	9.6	8.45
Capacity Factor (o-Xylene)	4.5	6.3	5.55
Efficiency- N/m (o-Xylene)	150000	220000	181972
USP Tailing Factor (o-Xylene)	0.9	1.2	1.05
Column Back Pressure* - psi	2500	4000	2938

\*These values are for column testing in the factory. Actual upper pressure limit for the column is higher. Please check the Technical Guide for more details. To convert PSI to Bar divide by 14.5.

QC Verification: *oc*

Legacy Production\LT\VL-LEGPROD15\ID4930\2022\2022-08\17

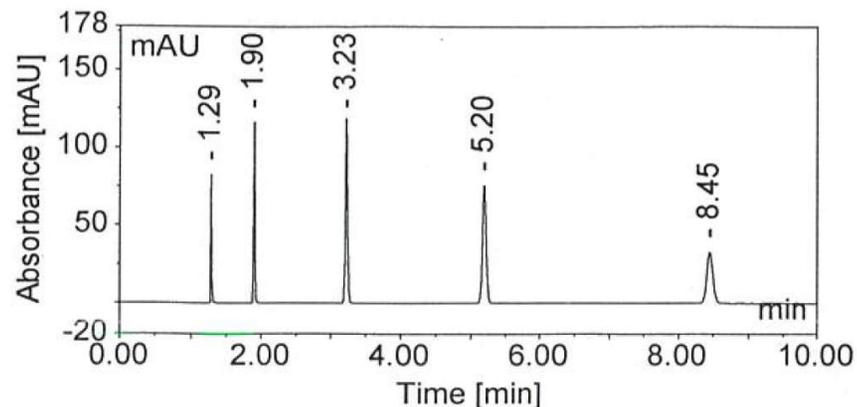


Certificate of Analysis

ThermoFisher  
SCIENTIFIC

以 Accucore XL C18, 250 x 4.6 mm, 4 µm (PN: 74104-254630) 为例,

## Chromatographic Test



进样后系统死体积  $V_0 = 1.5 \text{ mL/min} \times 1.29 \text{ min} = 1.935 \text{ mL}$

色谱柱死体积  $V_C = 1.935 \text{ mL} - 0.050 \text{ mL} = 1.885 \text{ mL}$

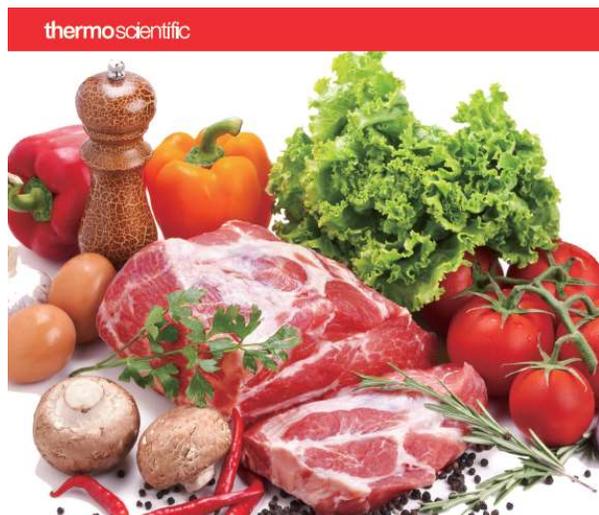
色谱柱总孔隙率  $\epsilon_t = 1.885 / 4.153 \times 100\% = 45.4\%$

# 赛默飞食品安全应用文集汇总



赛默飞色谱及质谱客户解决方案系列  
食品安全色谱耗材应用文集

The world leader in serving science



Thermo Scientific  
食品安全应用文集



从农场到餐桌  
赛默飞用专业一路守护  
引领从质量到效率的创新变革

赛默飞食品安全与农业整体解决方案



The world leader in serving science

# 赛默飞制药行业应用文集汇总



Thermo Scientific  
中药配方颗粒应用文集



中药配方颗粒应用文集



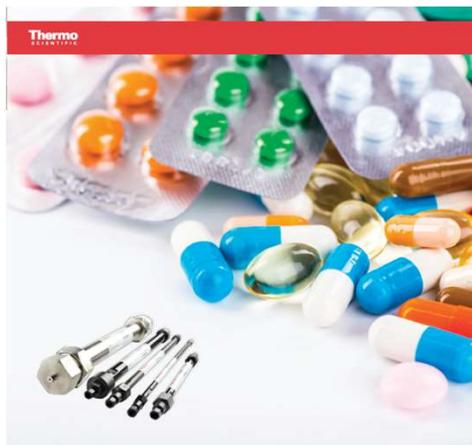
全面 高效 合规

2020 版《中国药典》色谱与质谱解决方案



The world leader in serving science

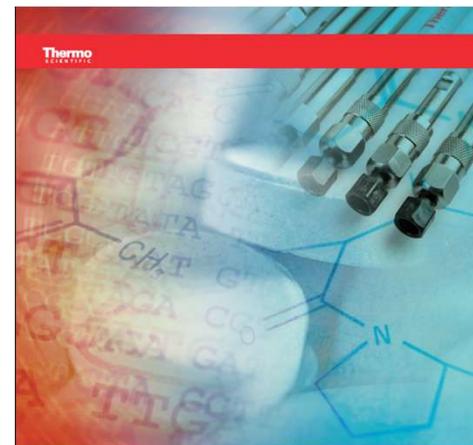
20 版药典解决方案



2015版中国药典液相色谱应用图集



15 版药典应用文集



美国药典/欧洲药典原料药  
液相色谱应用图集



原料药应用文集