



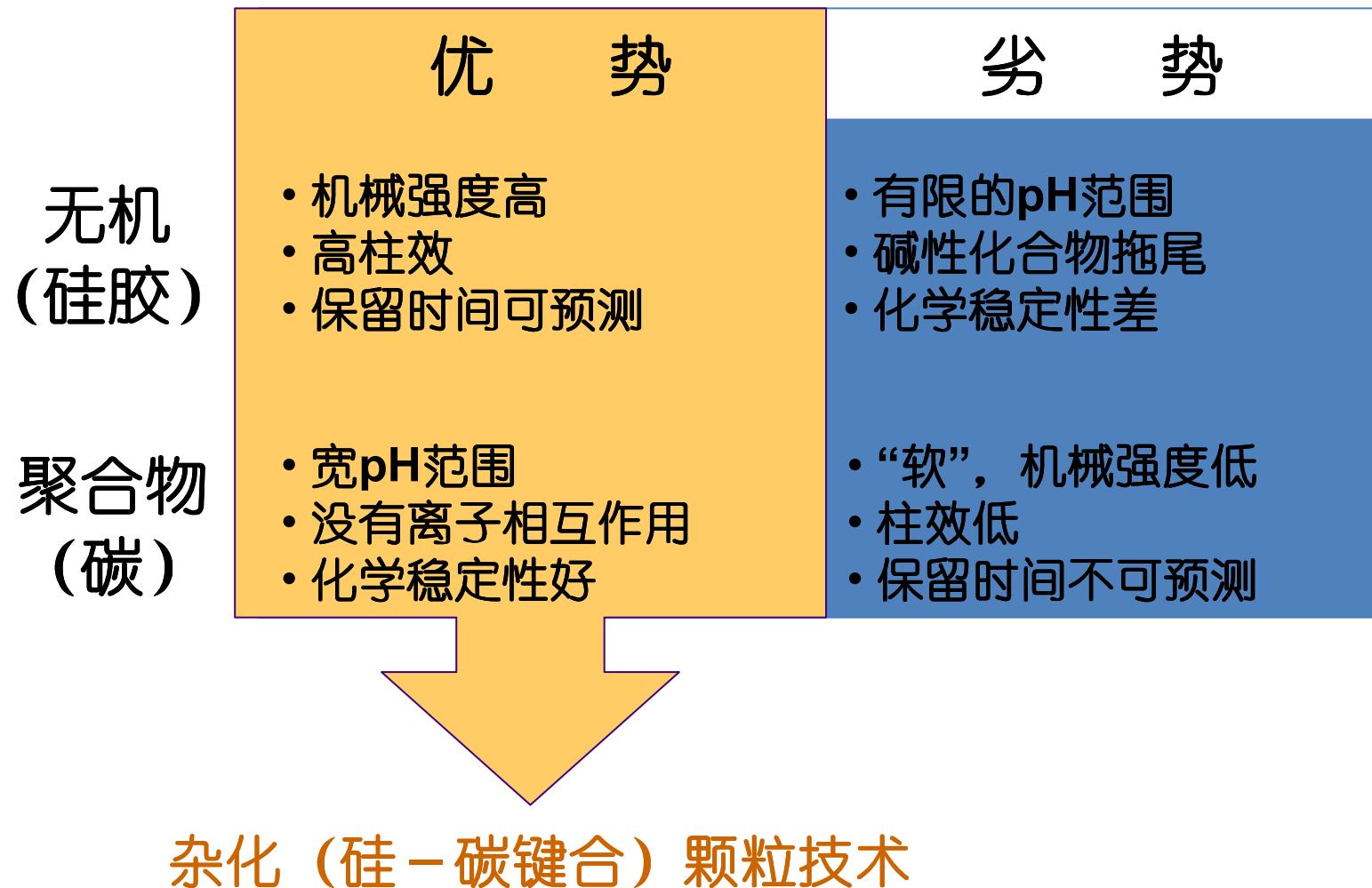
# 培训教程

## H-Class 基础



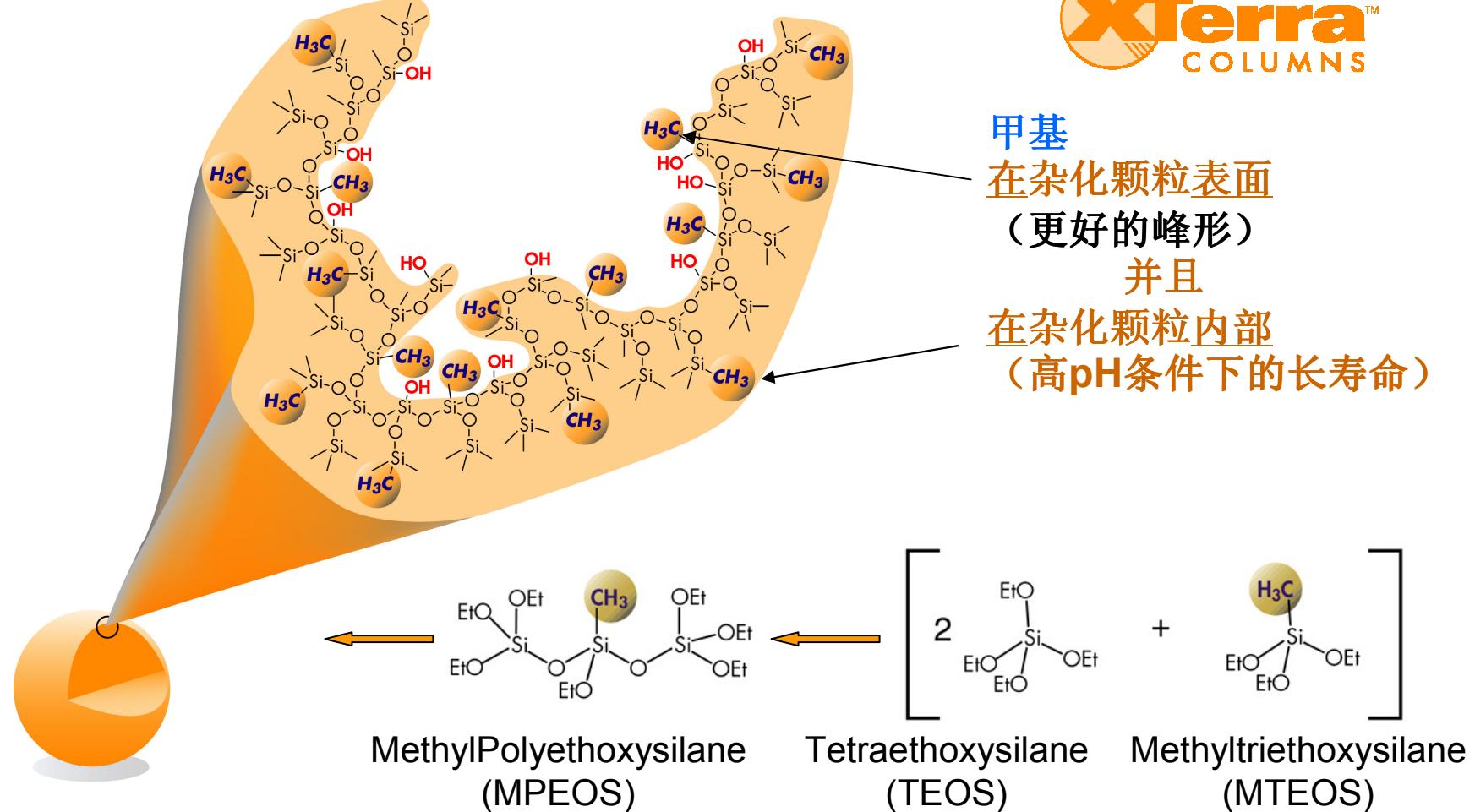
- ACQUITY UPLCTM 色谱柱简介
  - BEH 第二代杂化颗粒化学
  - Waters 颗粒技术
  - 色谱柱硬件
  - eCord
- ACQUITY UPLCTM 色谱柱使用指南

- 在杂化的碳-硅基质内具有桥式乙烷的1.7  $\mu\text{m}$ 颗粒
  - 改善了高pH稳定性
  - 改善了硅胶的柱效与反压
  - 三官能团键合C18 配体
  - 改善低pH稳定性
- 专利端基封口技术
  - 可达到的最佳峰形

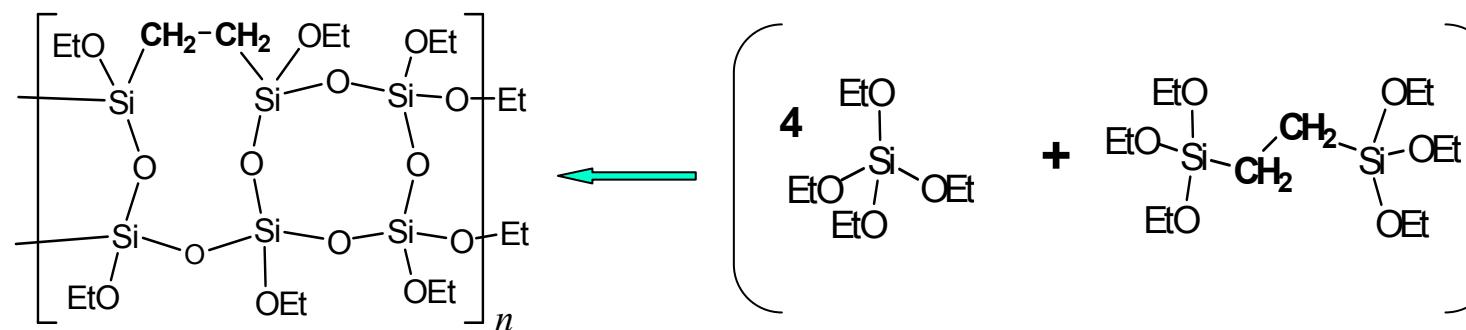


# 第一代杂化技术 (1999) (甲基-碳-硅) 颗粒

Waters  
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



## ■ 桥式乙基硅氧烷/硅胶 杂化颗粒



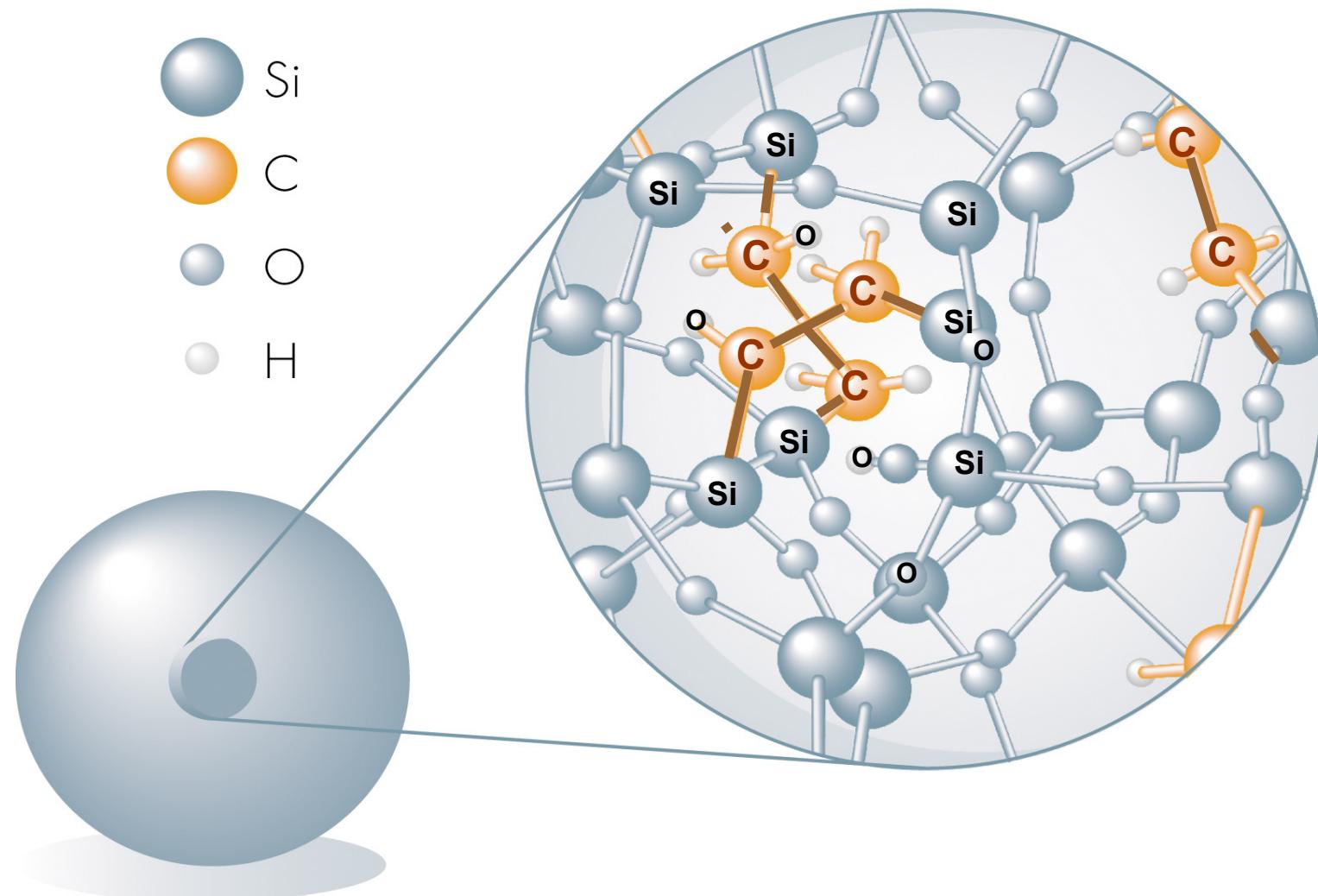
**Polyethoxysilane  
(BPEOS)**

**Bis(triethoxysilyl)ethane  
(BTEE)**

**Tetraethoxysilane  
(TEOS)**

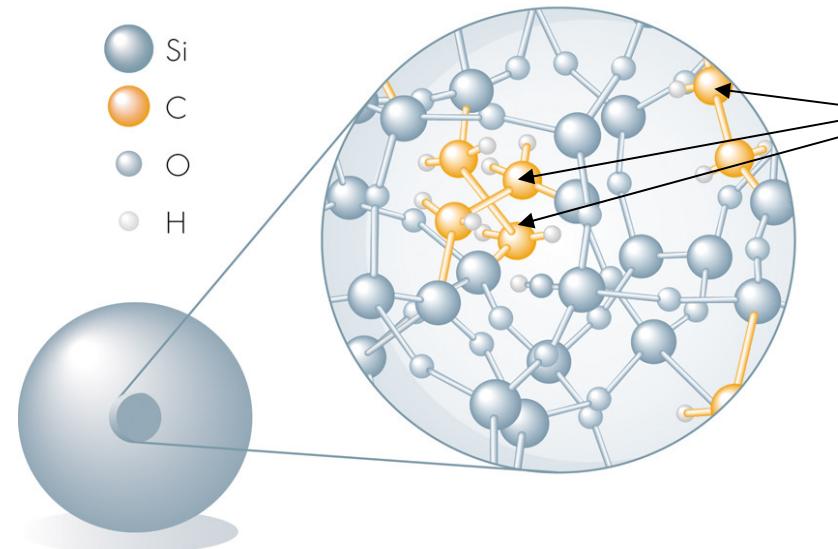
# 新的第二代 桥式乙基硅氧烷/硅胶杂化颗粒

Waters  
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



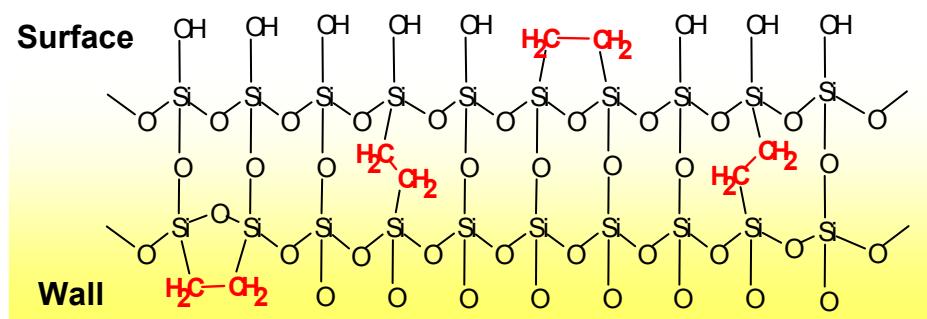
# Ethylene Bridged Hybrid (BEH) 颗粒

Waters  
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



硅胶基质中的乙基桥

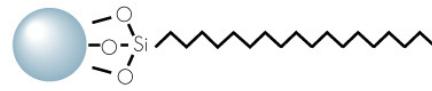
Acquity  
Ultra Performance LC™



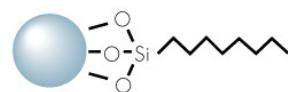
## BEH 颗粒的益处

- 耐高压
- 宽 pH 范围 (1-12)
- 高柱效 (1.7  $\mu\text{m}$ )
- 比硅胶低的硅醇基活性

- 1.7  $\mu\text{m}$  颗粒
  - 新的专利桥式杂化颗粒
    - 提供更高的机械强度同时改善色谱性能
  - 适于保留和质量传递的多孔
  - 创新的筛分技术
- 色谱柱硬件
  - 新的筛板技术以便保留小颗粒
  - 新的端口接头技术以便高压下使用
- 填充技术
  - 色谱柱填充压力超过 20,000 psi
  - 专利技术



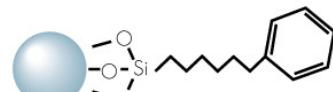
USP L1



USP L7



USP L1



USP L11



- BEH C18
  - ◆ 三官能团键合 C<sub>18</sub>
  - ◆ 专利的端基封口技术
  - ◆ 宽 pH 范围
- BEH C8
  - ◆ 三官能团键合 C<sub>8</sub>
  - ◆ 专利的端基封口技术
  - ◆ 宽 pH 范围
- BEH Shield RP18
  - ◆ 单官能团键合
  - ◆ 内嵌极性基团
- BEH Phenyl
  - ◆ 三官能团键合 C<sub>6</sub> Phenyl
  - ◆ 专利的端基封口技术
- BEH HILIC
  - 未键合的 BEH 颗粒
  - HILIC 用于极性更大的化合物
- HSS T3
  - T3 键合及封端
  - 对极性化合物的优异保留

## 两种 UPLC® 颗粒:

- Ethylene Bridged Hybrid (BEH)
- High Strength Silica (HSS)

不同基质的颗粒  
给出不同的选择性



USP L1

# UPLC® 技术的 HSS 化学品

Waters  
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

## ■ HSS T3

- T3: 极性组分保留
- 全水相兼容的 C<sub>18</sub> 化学品
- 为最大化保留而设计

## ■ HSS C<sub>18</sub>

- 高键合密度, 三官能团键合 C<sub>18</sub> 化学品
- 通用的, 高效 C<sub>18</sub> 化学品
- 为更好的峰形而应用的特定端基封口技术
- 硅胶颗粒性能

## ■ HSS C<sub>18</sub> SB

- SB: Selectivity for Bases
- 无端基封口: 最佳的硅烷基选择性
- 为方法开发者而设计

	HSS Particle		
	C <sub>18</sub>	C <sub>18</sub> SB	T3
<b>Chemistry</b>			
<b>Ligand Type</b>	Trifunctional C <sub>18</sub>	Trifunctional C <sub>18</sub>	Trifunctional C <sub>18</sub>
<b>Ligand Density*</b>	3.2 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$	1.6 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$	1.6 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$
<b>Carbon Load*</b>	15%	8%	11%
<b>Endcap Style</b>	Proprietary	None	Proprietary
<b>pH Range</b>	1-8	2-8	2-8

# UPLC® 颗粒和化学品 总结

**Waters**  
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

	BEH Particle				HSS Particle			
Chemistry	C <sub>18</sub>	C <sub>8</sub>	Shield RP18	Phenyl	HILIC	T3	C <sub>18</sub>	C <sub>18</sub> SB
Ligand Type	Trifunctional C <sub>18</sub>	Trifunctional C <sub>8</sub>	Monofunctional Embedded Polar Group	Trifunctional C <sub>6</sub> Phenyl	—	Trifunctional C <sub>18</sub>	Trifunctional C <sub>18</sub>	Trifunctional C <sub>18</sub>
Ligand Density*	3.1 μmol/m <sup>2</sup>	3.2 μmol/m <sup>2</sup>	3.3 μmol/m <sup>2</sup>	3.0 μmol/m <sup>2</sup>	—	1.6 μmol/m <sup>2</sup>	3.2 μmol/m <sup>2</sup>	1.6 μmol/m <sup>2</sup>
Carbon Load*	18%	13%	17%	15%	—	11%	15%	8%
Endcap Style	Proprietary	Proprietary	TMS	Proprietary	—	Proprietary	Proprietary	None
pH Range	1-12	1-12	2-11	1-12	1-8	2-8	1-8	2-8

\*Expected or Approximate Values

Launch Date	Mar 2004	Mar 2005	Mar 2005	Mar 2005	Dec 2005	Sep 2006	Jun 2007	Jan 2008



- 方法开发常用

# VanGuard™ 预柱 特为 UPLC® 使用而设计

Waters  
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- 第一个也是唯一能在高达 15,000 psi (1,000 bar) 下日常使用的保护柱
- 专利的超低扩散设计
- 有效地防护和保持 UPLC® 色谱柱的效能



# UPLC™ HILIC 用于强极性碱性化合物的分离

Waters  
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

## Conditions

Column: ACQUITY UPLC™ BEH HILIC 2.1 x 50 mm, 1.7 $\mu$ m  
Mobile Phase A: ACN:10 mM NH<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>COOH, pH 5.5 (95:5)  
Mobile Phase B: ACN:10 mM NH<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>COOH, pH 5.5 (50:50)  
Flow Rate: 0.5 mL/min  
Gradient:

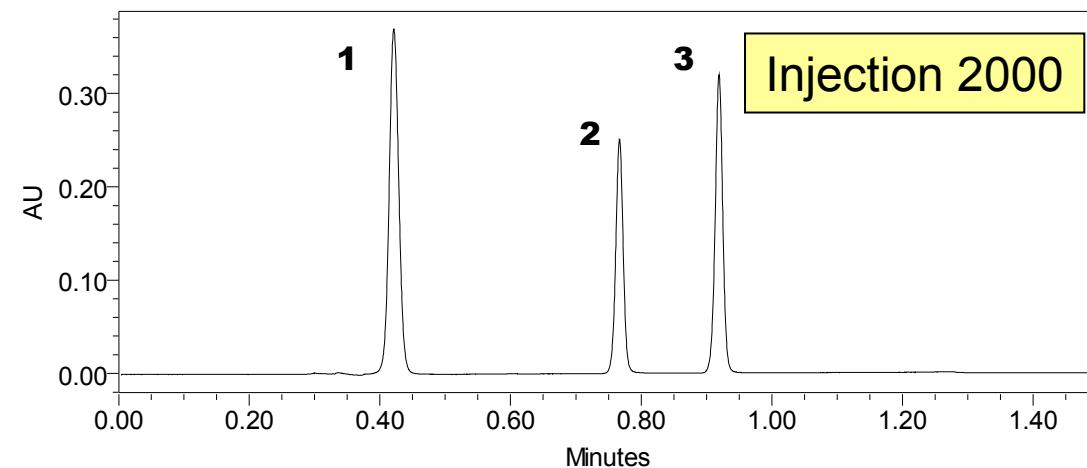
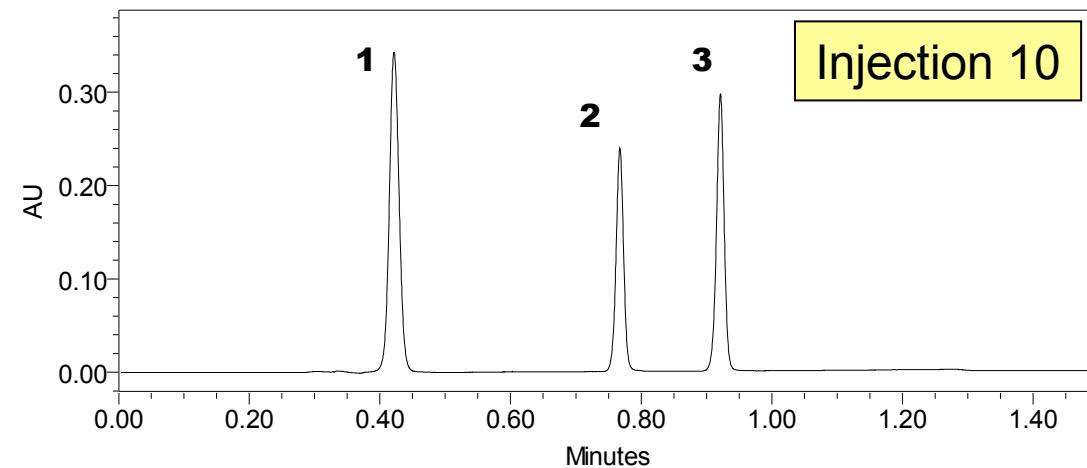
Time (min)	Profile %A	Profile %B
0.0	99	1
2.0	1	99
2.1	99	1
2.5	99	1

Injection Volume: 2  $\mu$ L  
Sample Diluent: ACN:MeOH (75:25)  
Sample Concentration: 25  $\mu$ g/mL  
Temperature: 30°C  
Detection: UV @ 254 nm  
Instrument: ACQUITY UPLC™ System with TUV

## Compounds

1. Uracil
2. 5-Fluorocytosine
3. Cytosine

**No loss in efficiency, peak shape or retention over the course of 2,000 injections.**



# 用户色谱柱寿命试验

## Isocratic Aging Experiment

Waters  
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

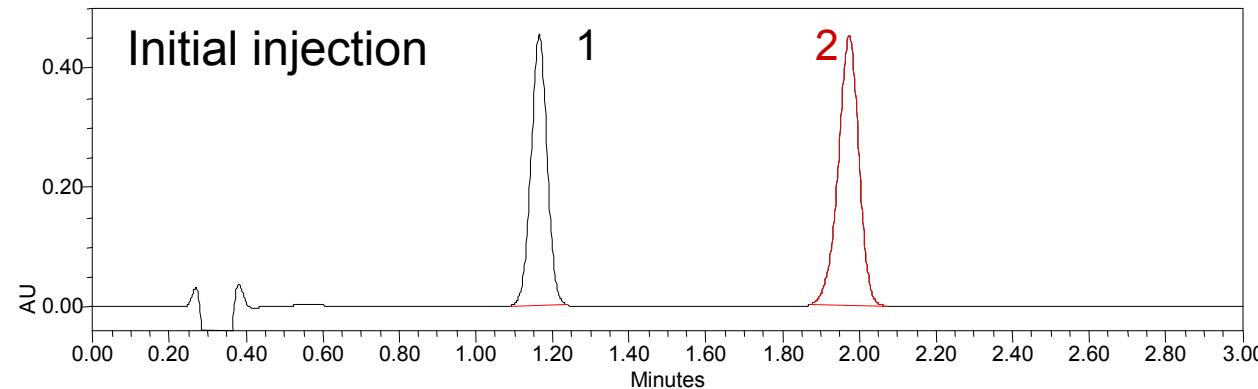
### Compounds

1. Ketorolac (208  $\mu$ g/mL) in MeOH
2. Naproxen (13  $\mu$ g/mL) in MeOH

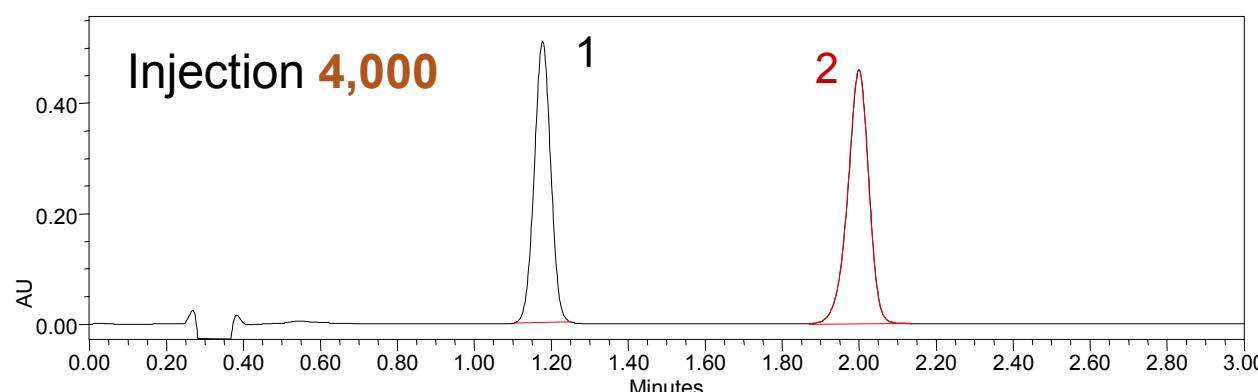
加速色谱柱老化试验:

1. Install and equilibrate column.
2. Set flow rate to **0.5 mL/min (6,000 psi)**, inject and record data.
3. Increase flow rate to **1.25 mL/min** to achieve backpressure of **13,000 psi**.
4. Inject 200 to 400 times.
5. Reduce flow rate to 0.5 mL/min (6,000 psi), inject and record data.
6. Cycle and repeat steps 2 – 5.

ACQUITY UPLC™ BEH Shield RP<sub>18</sub> 2.1 x 50 mm, 1.7  $\mu$ m



**NO** loss in efficiency  
or peak shape after  
4,000 injections at  
13,000 psi and 65°C



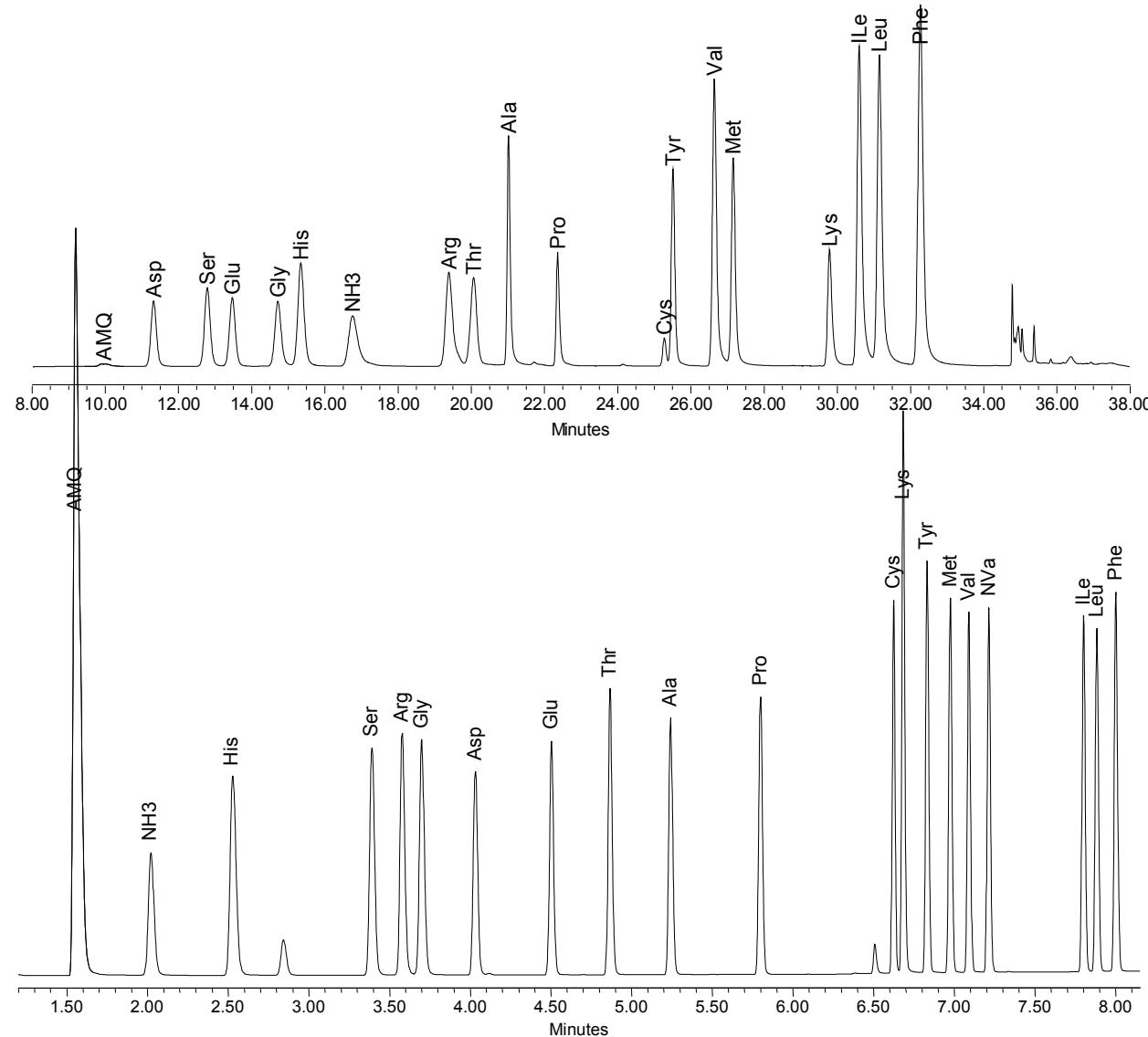
Data courtesy of Dr. Ken Wehmeyer, The Proctor & Gamble Company

# UPLC™ 氨基酸分析应用方案

Waters  
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

AccQ-Tag™ Ultra  
UPLC™ Amino Acid Analysis

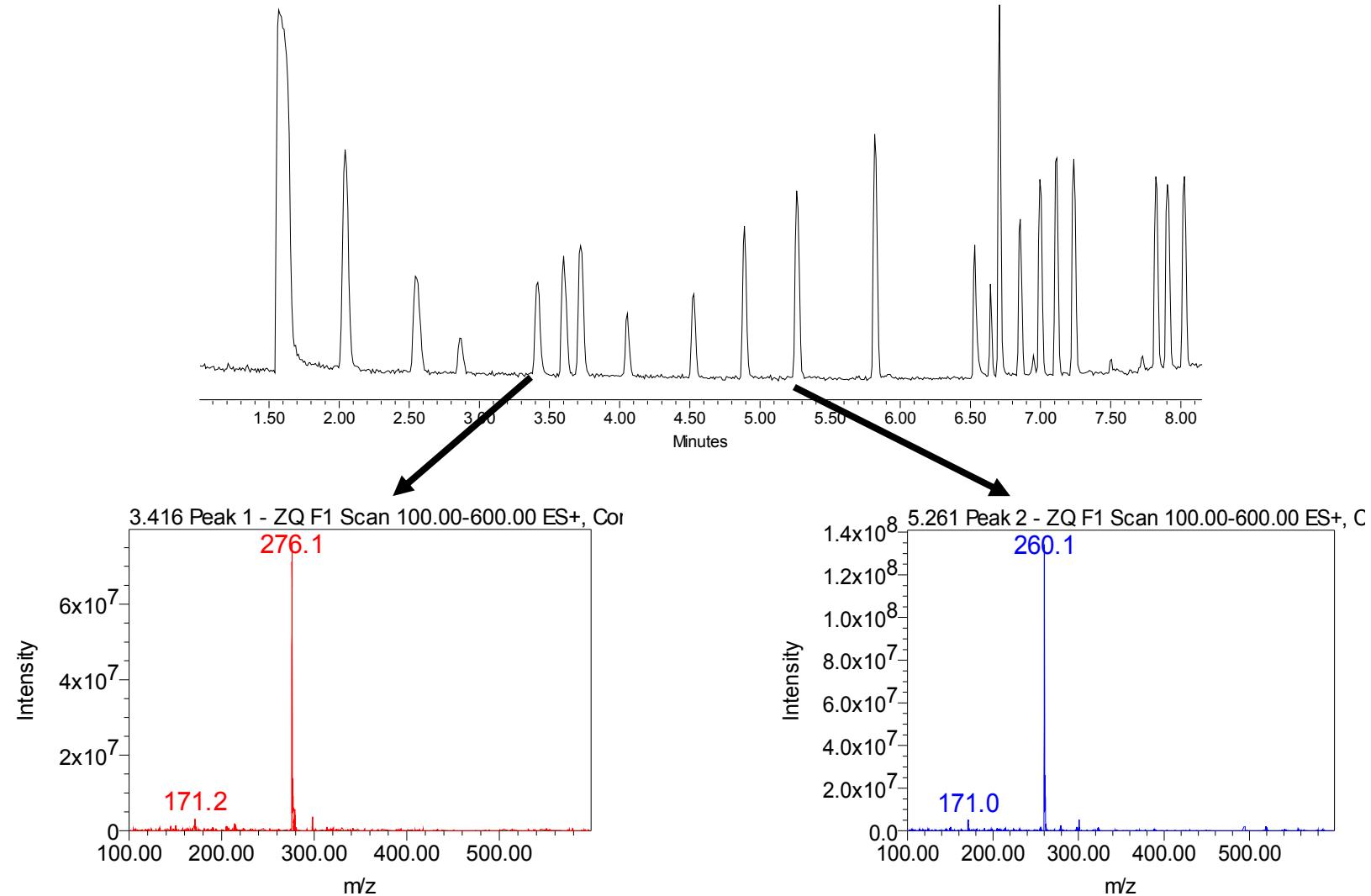




**HPLC**  
50 分钟  
周期时间

**UPLC™**  
10 分钟  
周期时间

直接流速进入离子源 700  $\mu\text{L}/\text{min}$



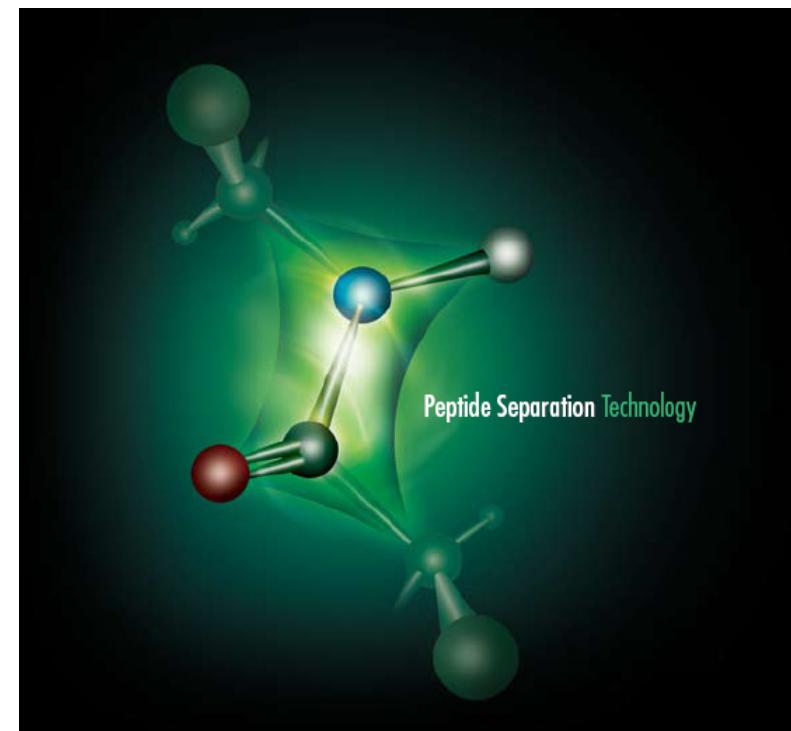
- 肽分离技术

- ACQUITY UPLC 色谱柱经肽谱图QC检测
  - ACQUITY UPLC™ BEH130 C18 1.7μm, 2.1mm x 50/100/150mm
  - ACQUITY UPLC™ BEH300 C18 1.7μm, 2.1mm x 50/100/150mm

- 用于ACQUITY UPLC

## 肽谱图的高灵敏度 UV 检测器

- 仪器控制
- 混合器



# 固定相的选择性

Waters  
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

## Conditions

Columns: ACQUITY UPLC® BEH  
2.1 x 50 mm, 1.7 $\mu$ m  
ACQUITY UPLC® HSS T3  
2.1 x 50 mm, 1.8  $\mu$ m

Mobile Phase A: 0.1% HCOOH in H<sub>2</sub>O

Mobile Phase B: 0.1% HCOOH in ACN

Flow Rate: 1.0 mL/min

Gradient:	Time (min)	Profile %A	Profile %B	Curve
Initial		98	2	-
1.50		75	25	5
1.51		98	2	6

Injection Volume: 1  $\mu$ L

Sample Conc: 0.01 - 0.02 mg/mL

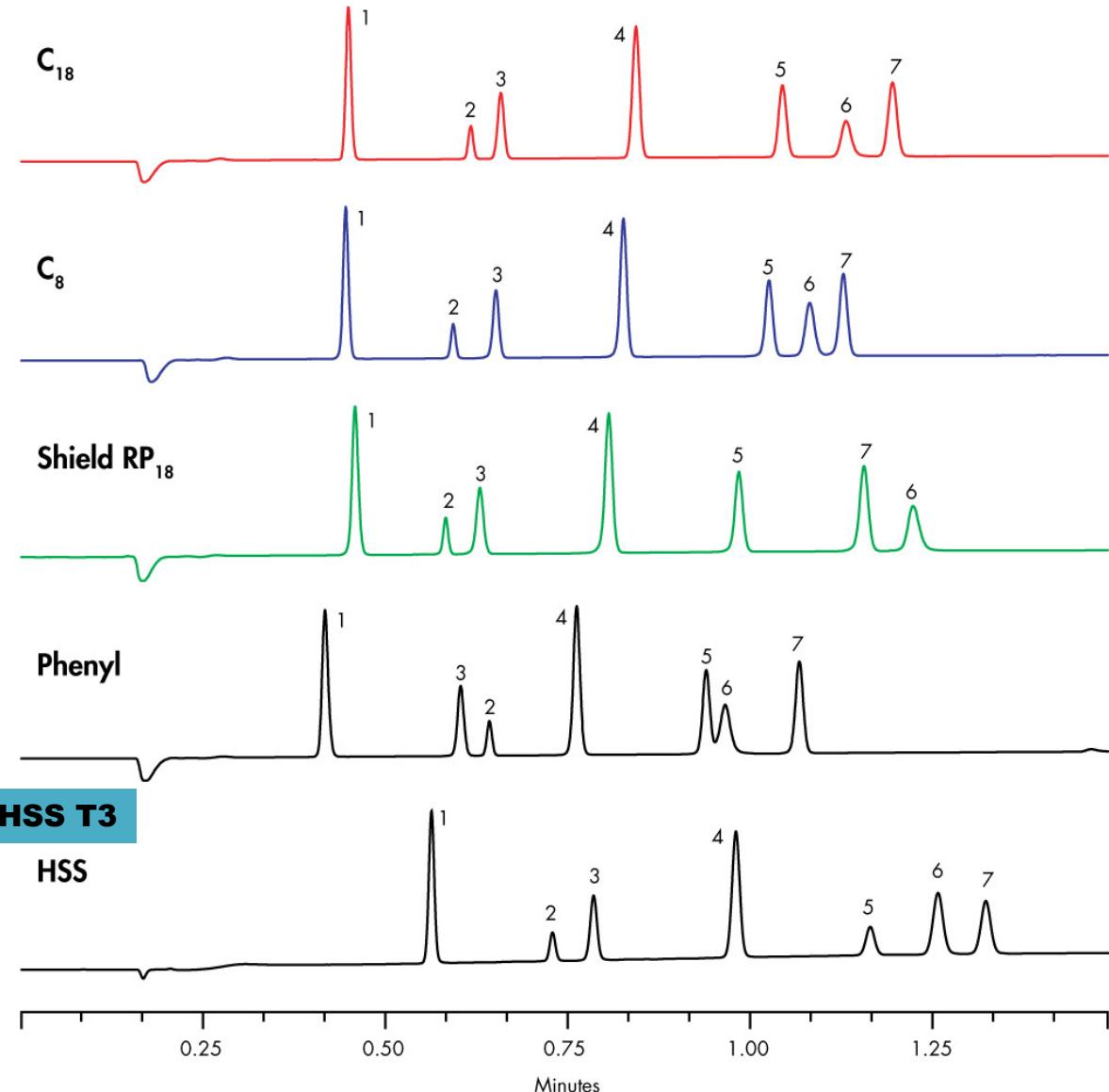
Temperature: 35 °C

Detection: UV @ 240 nm

Instrument: ACQUITY UPLC® System  
with ACQUITY UPLC® PDA

## Compounds

1. Acetaminophen
2. 2-Aacetamidophenol
3. Caffeine
4. Acetanilide
5. Acetylsalicylic Acid
6. Salicylic Acid
7. Phenacetin



# 来自紫海胆的咖啡酸分离： 不同UPLC色谱柱的选择性差异

Waters  
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

## Conditions

Columns: ACQUITY UPLC™ BEH C<sub>18</sub> 2.1 x 50 mm, 1.7  $\mu$ m

Mobile Phase A: 0.1% CF<sub>3</sub>COOH in H<sub>2</sub>O

Mobile Phase B: 0.08% CF<sub>3</sub>COOH in ACN

Flow Rate: 0.5 mL/min

Gradient:

Time (min)	Profile %A	Curve %B
0.0	92	8
0.1	92	8
4.45	50	50
4.86	10	90
5.0	92	8
6.0	92	8

Injection Volume: 1  $\mu$ L

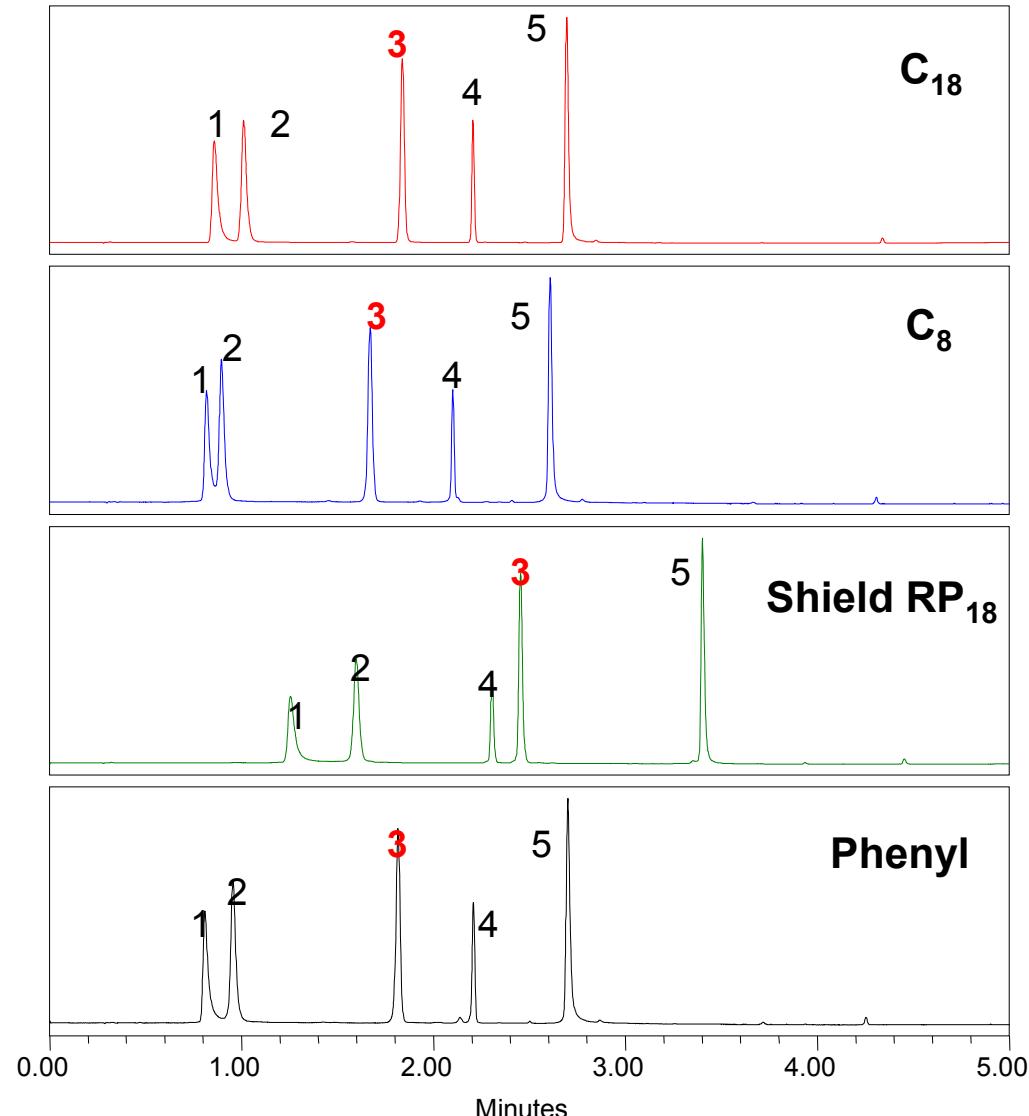
Sample Diluent: 50:50 H<sub>2</sub>O: MeOH with 0.05%

Sample Concentration: 100  $\mu$ g/mL

Temperature: 40 °C

Detection: UV @ 330 nm

Instrument: ACQUITY UPLC™ System with  
ACQUITY UPLC™ TUV

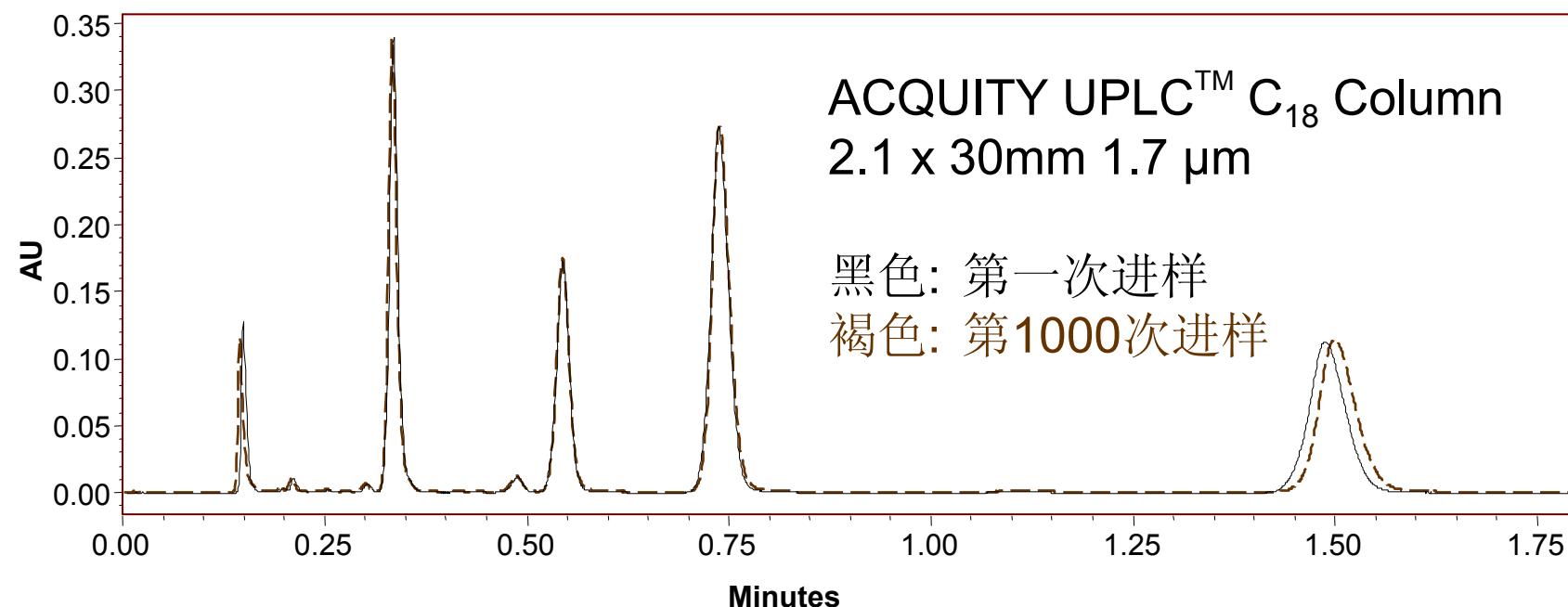


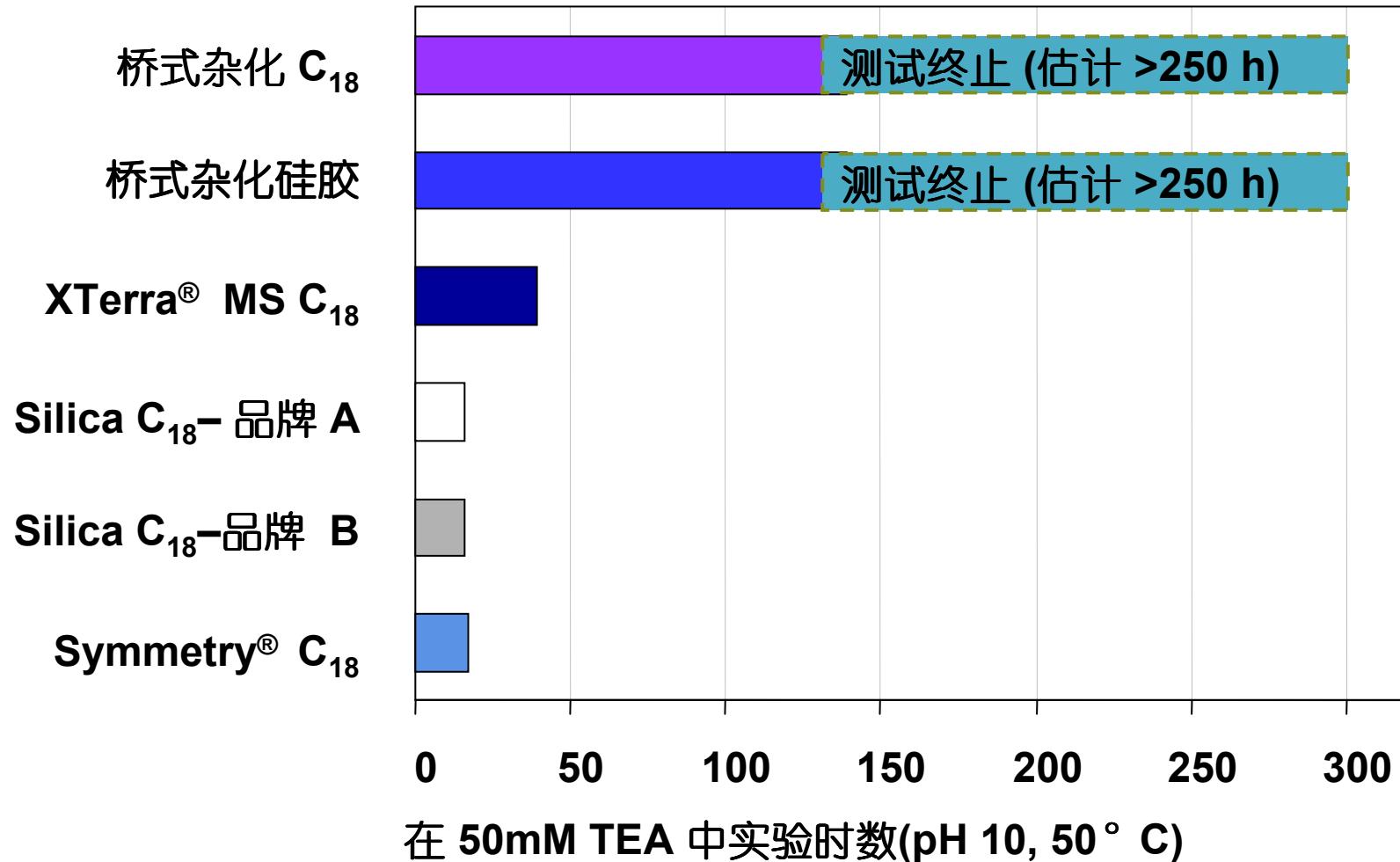
## Compounds

1. Caftaric acid
2. Chlorogenic acid
3. Cynarin
4. Echinacoside
5. Cichoric acid

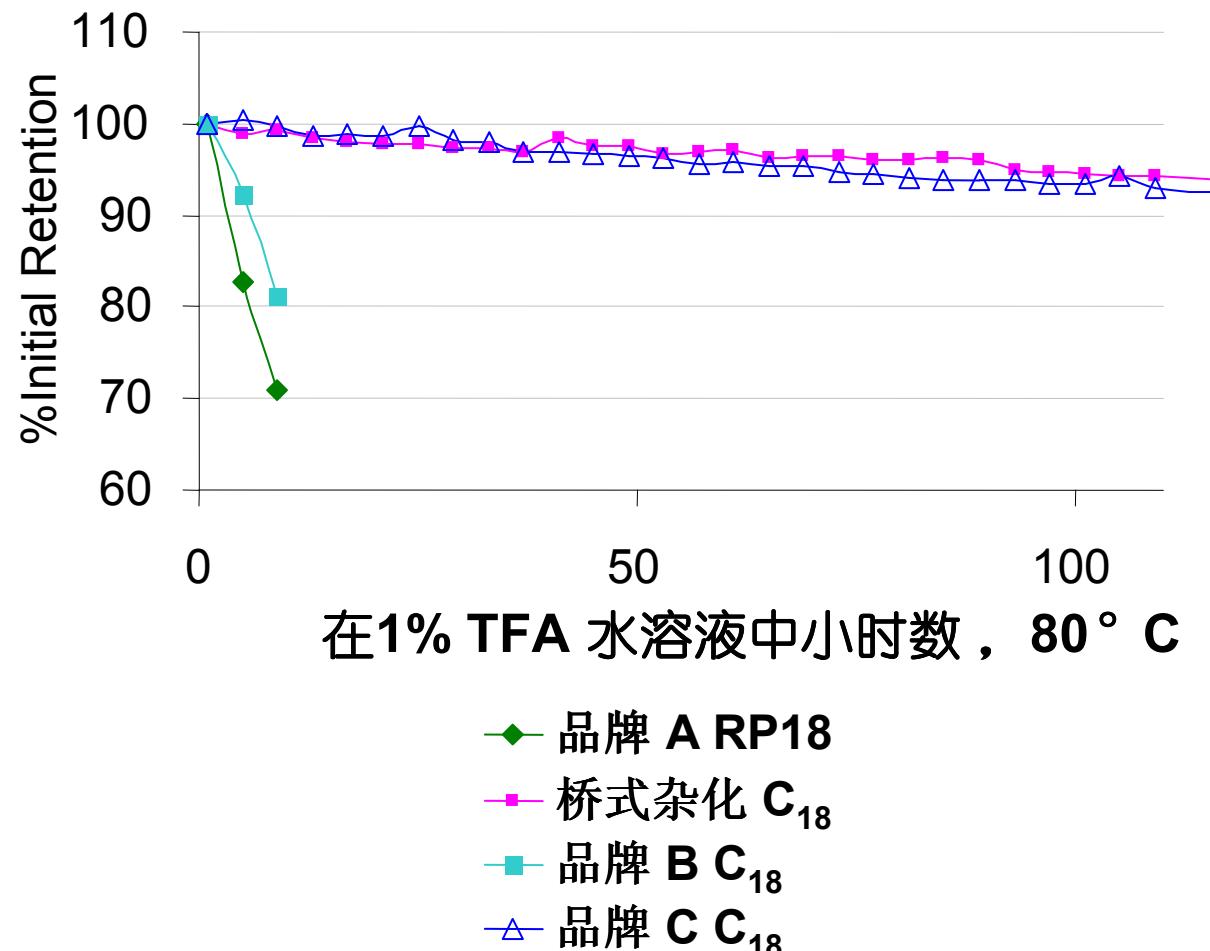
## 耐受性试验的测试条件：

- 从10到90%甲醇的1分钟梯度1000次进样
- 温度： 55°C
- 最大压力： 8500psi
- 流速： 1.3ml/min



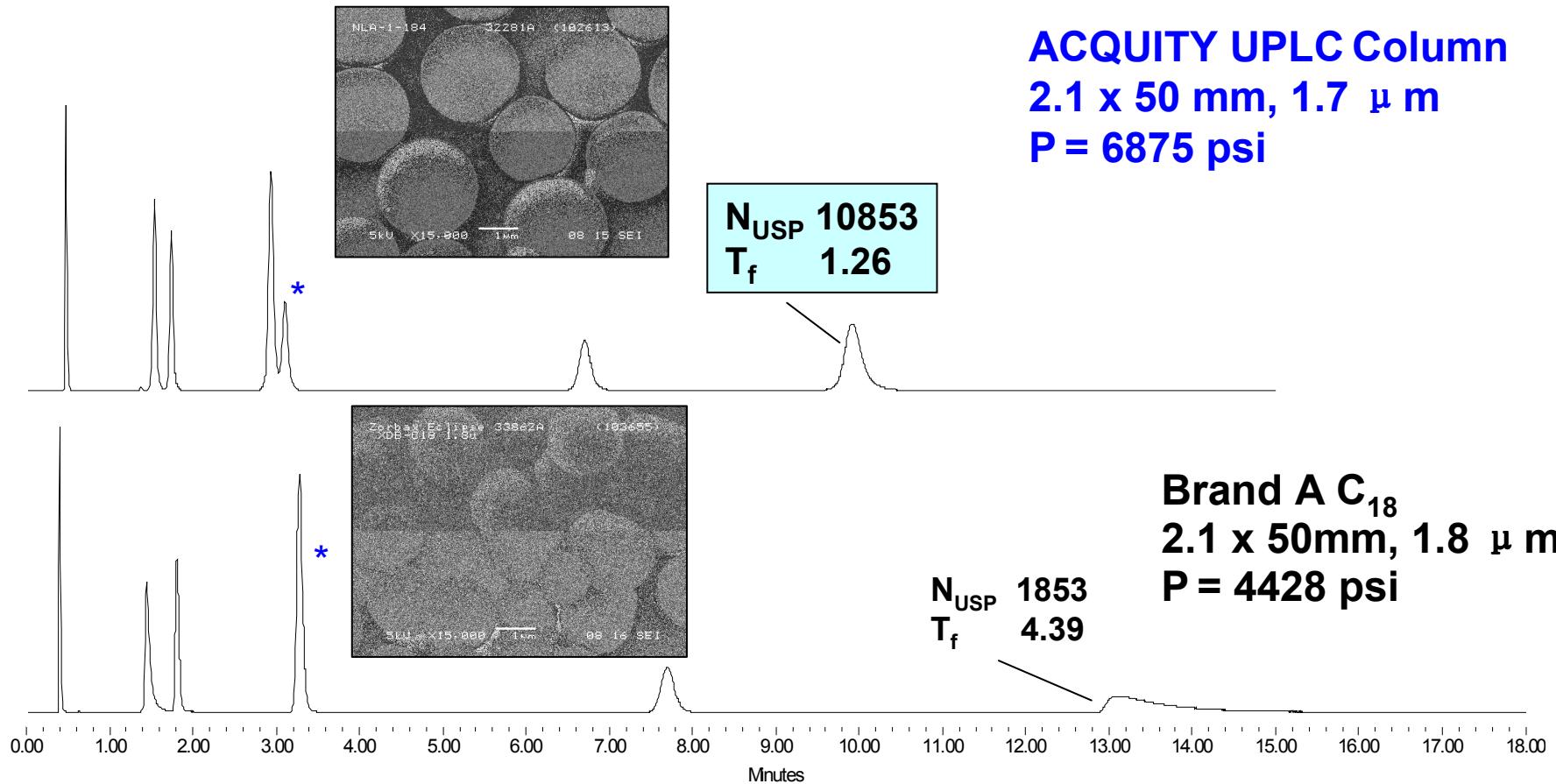


## 加速低 pH 水解实验 – 对羟基苯甲酸甲酯

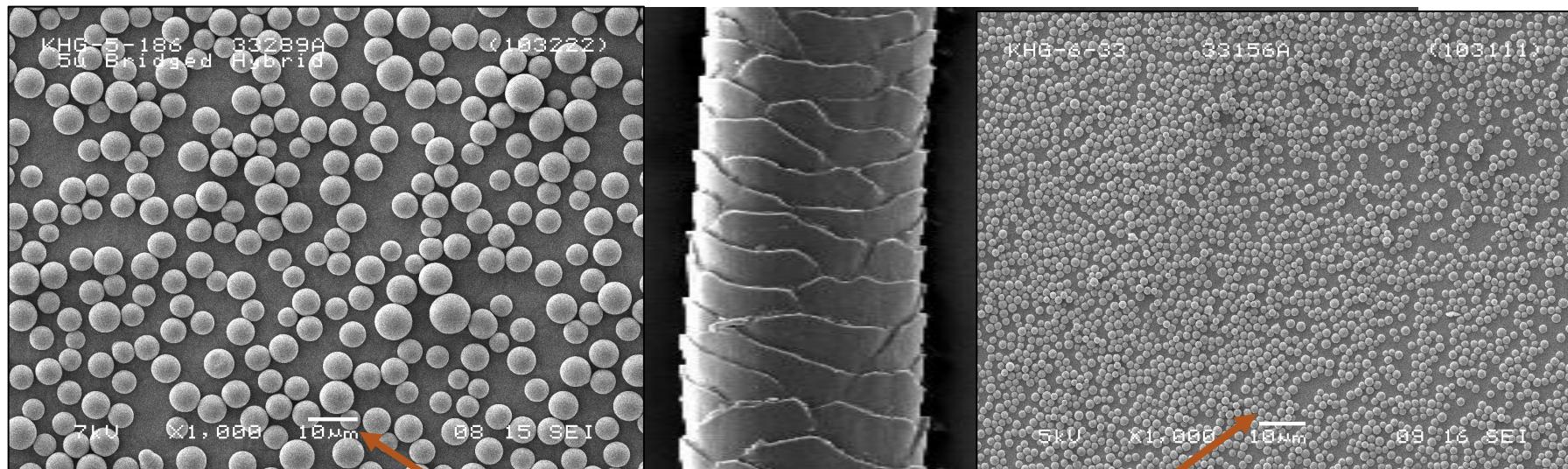


# ACQUITY UPLC 和品牌 A C18 碱性化合物的峰形

Waters  
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



## 60 $\mu\text{m}$ 人发(非常细的头发)



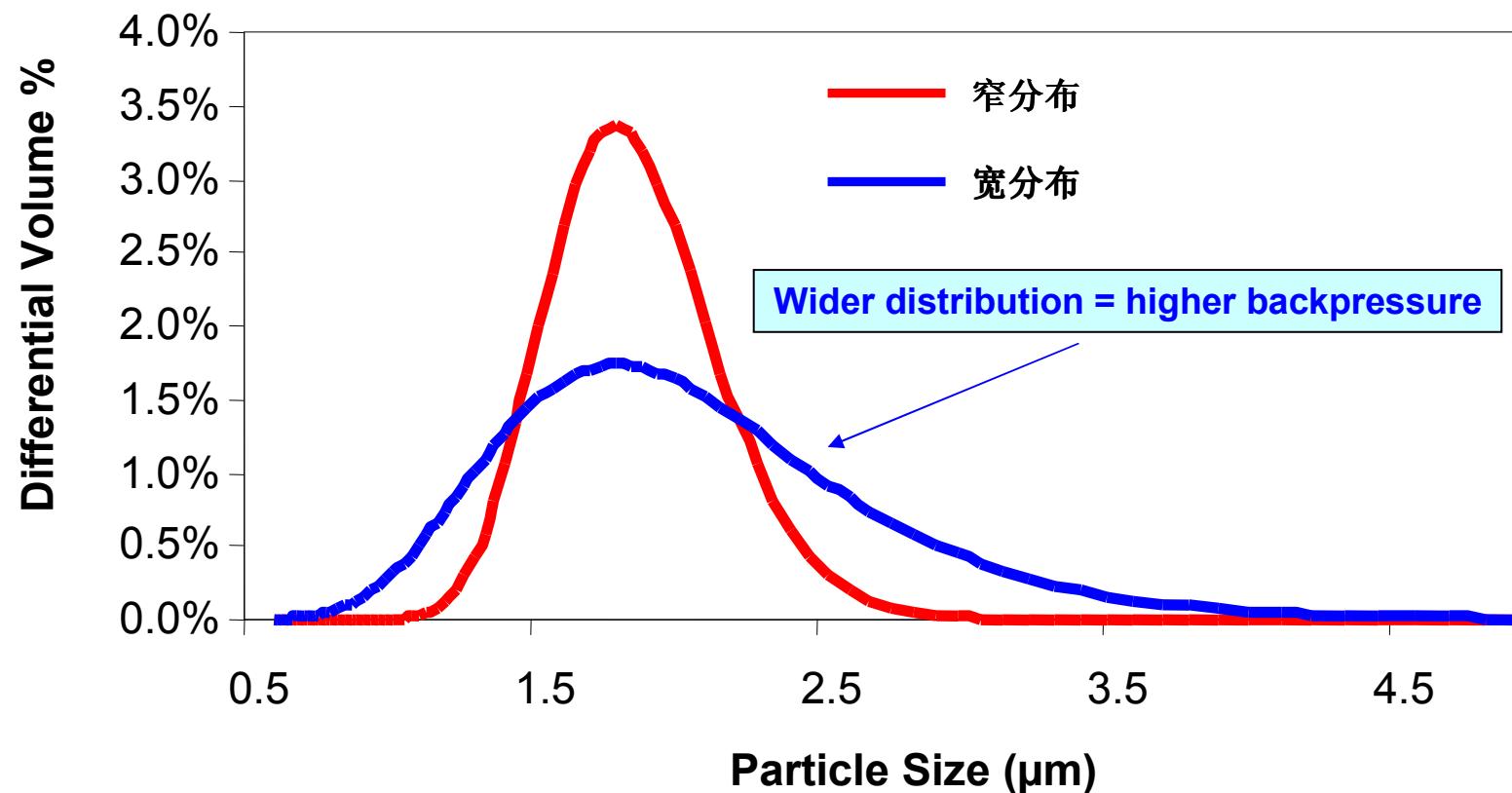
5  $\mu\text{m}$  颗粒  
(可以放置 12 个)

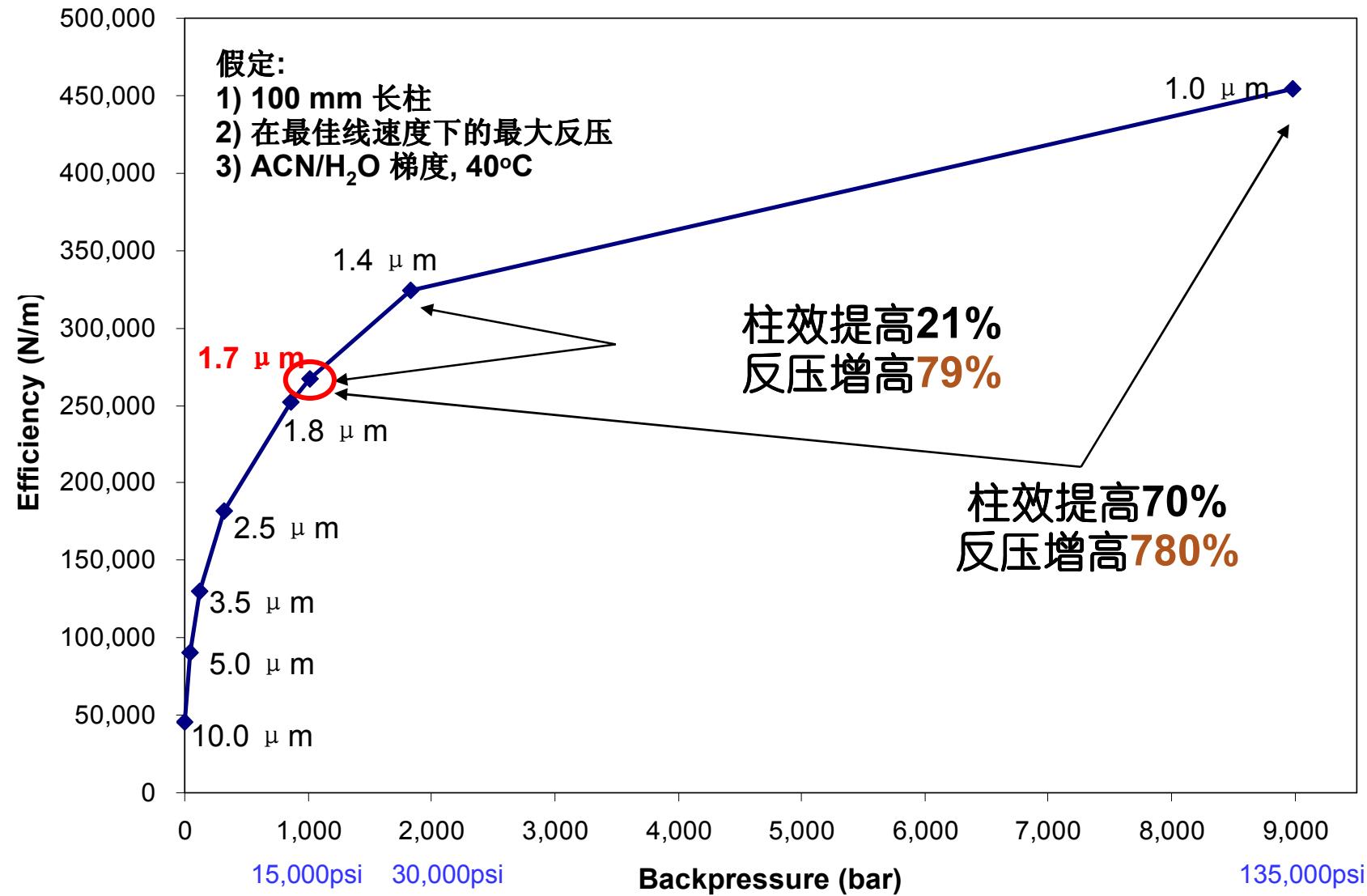
1.7  $\mu\text{m}$   
**ACQUITY UPLC颗粒**  
(可以放置 33 个)  
优化的颗粒度分布  
在给定压力下  
可以得到最高的柱效

图像使用同样的标尺  
(线条长度 = 10  $\mu\text{m}$ )

优化的颗粒度分布：  
使得 N 和反压相匹配

Waters  
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

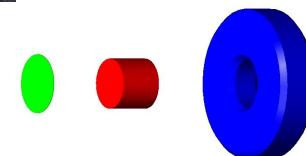




# ACQUITY UPLC色谱柱的设计

Waters  
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- 设计达到标准压力高于 15,000 psi
- 筛板设计为能保留 < 2.0 微米颗粒
- 创新的设计



- **HPLC 接头**
  - 经典的拉伸管路



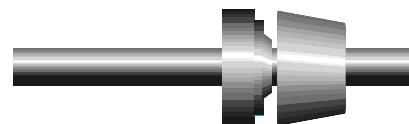
- 经典的 Waters 接头



- **UPLC™ 接头**
  - 无中心研磨的管路



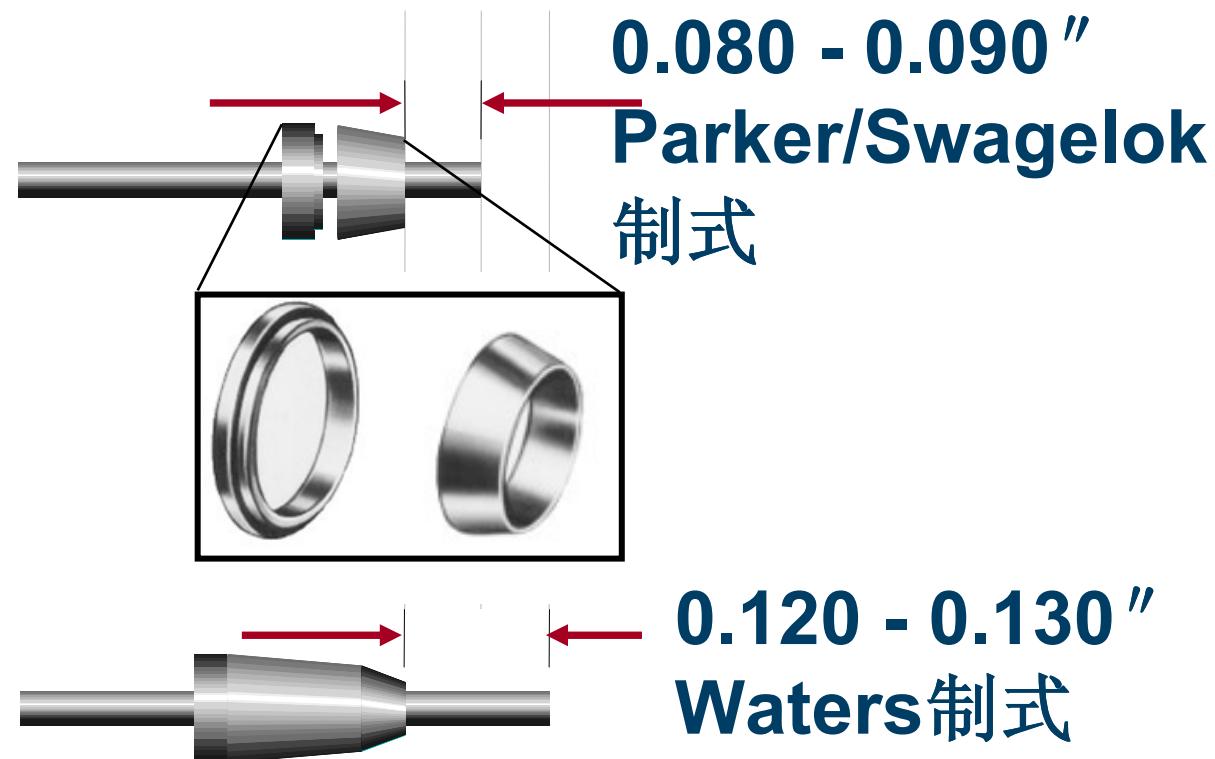
- 更硬的锥箍



管路的外观

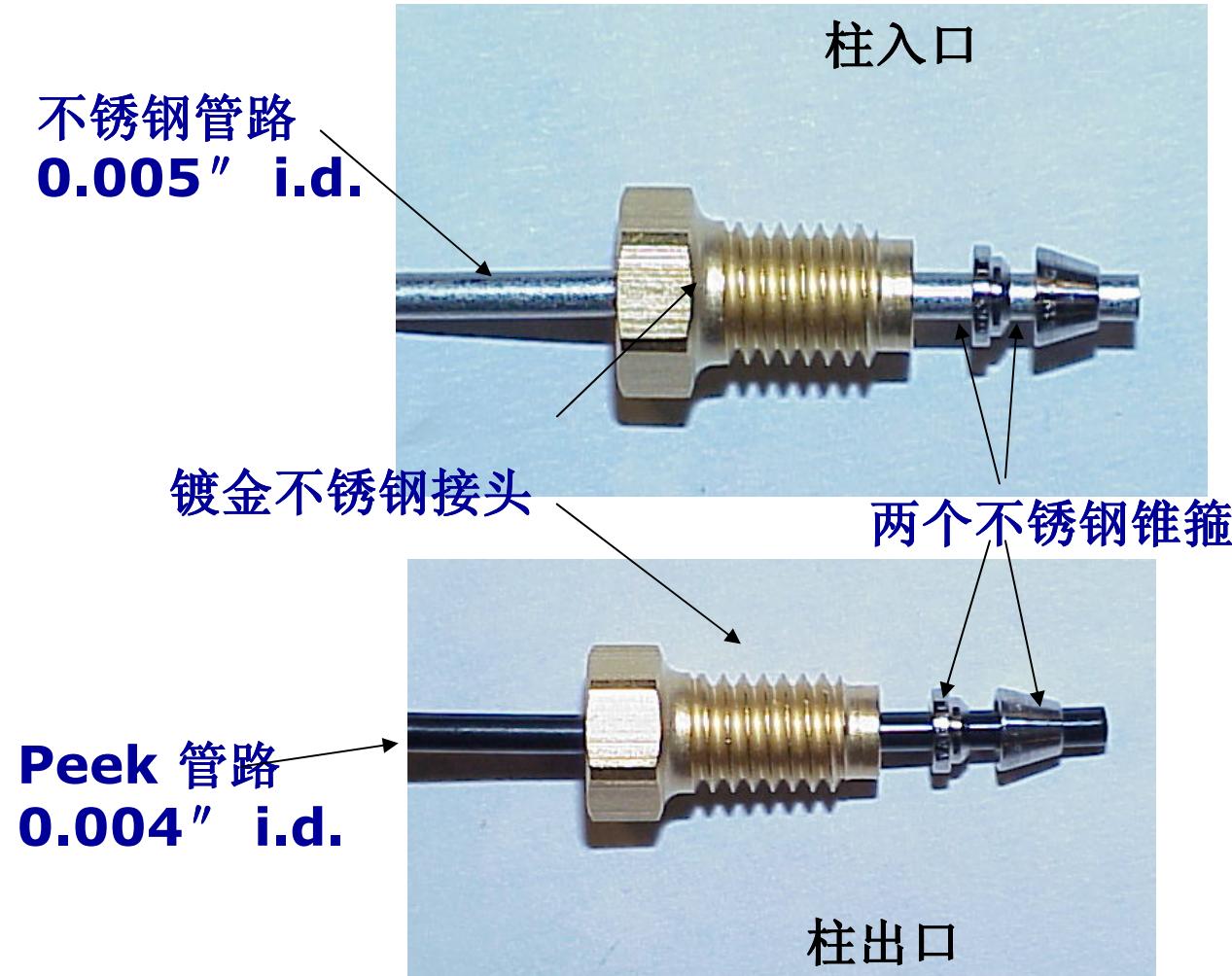
## ACQUITY

## 其它 Waters® 柱



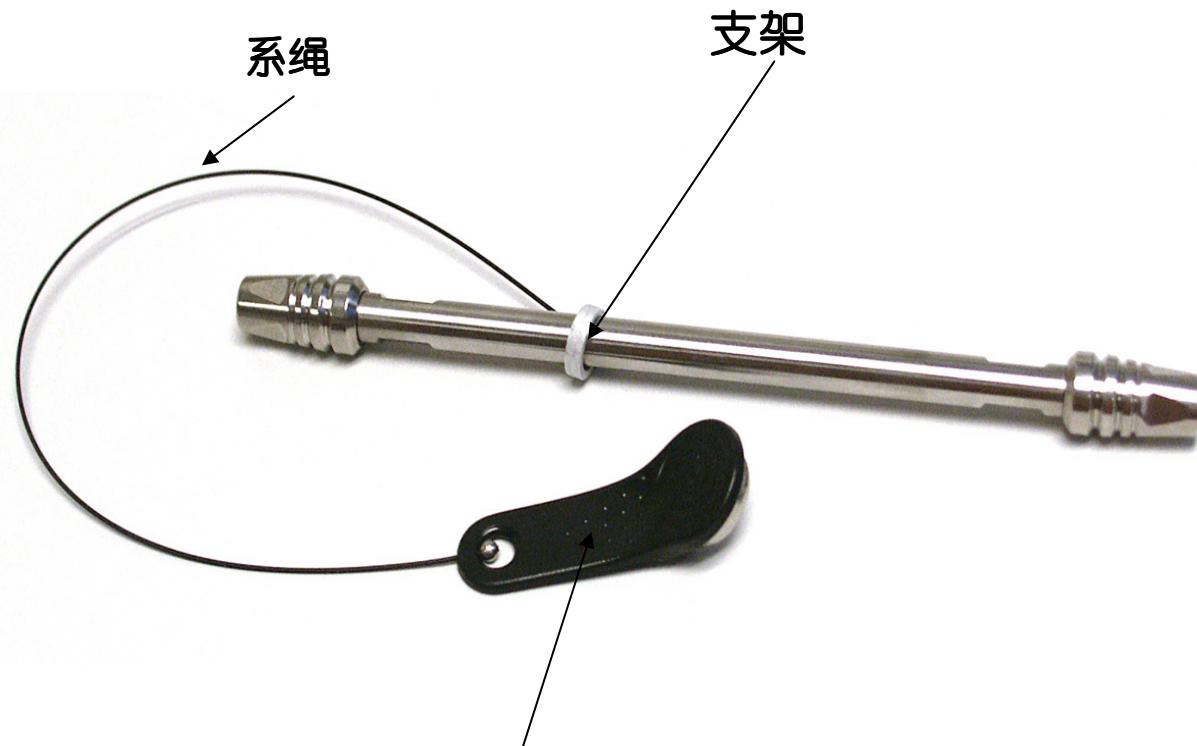
# ACQUITY 色谱柱的接头

Waters  
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



# 新式可追溯性的eCord 技术

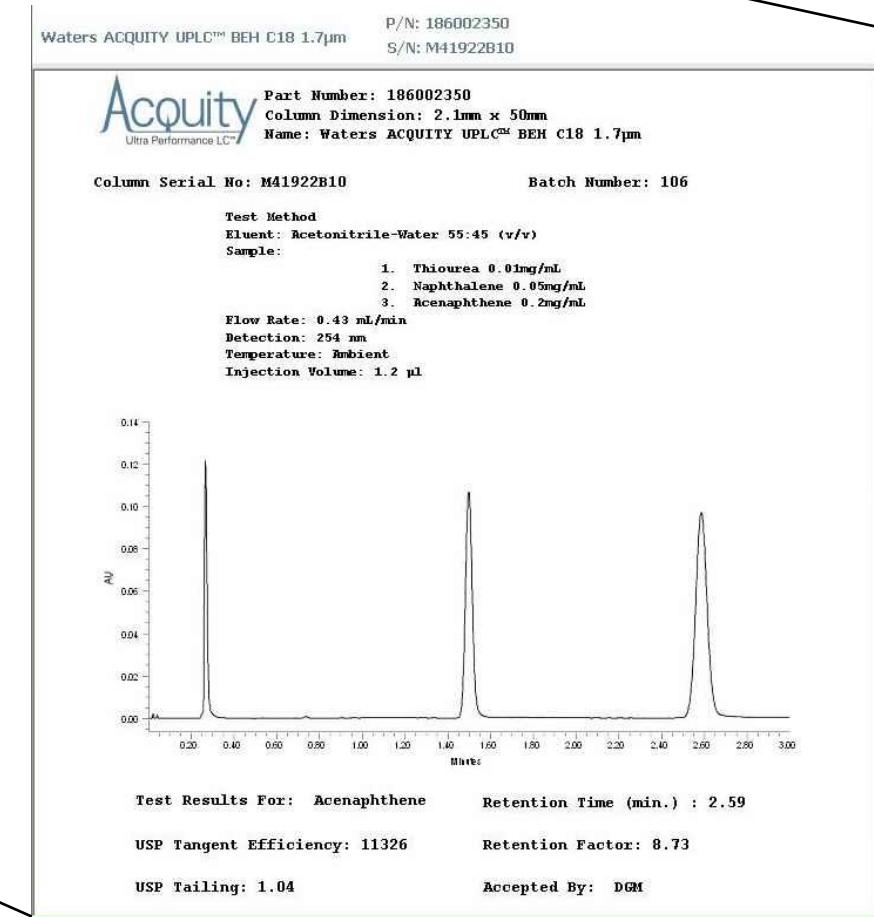
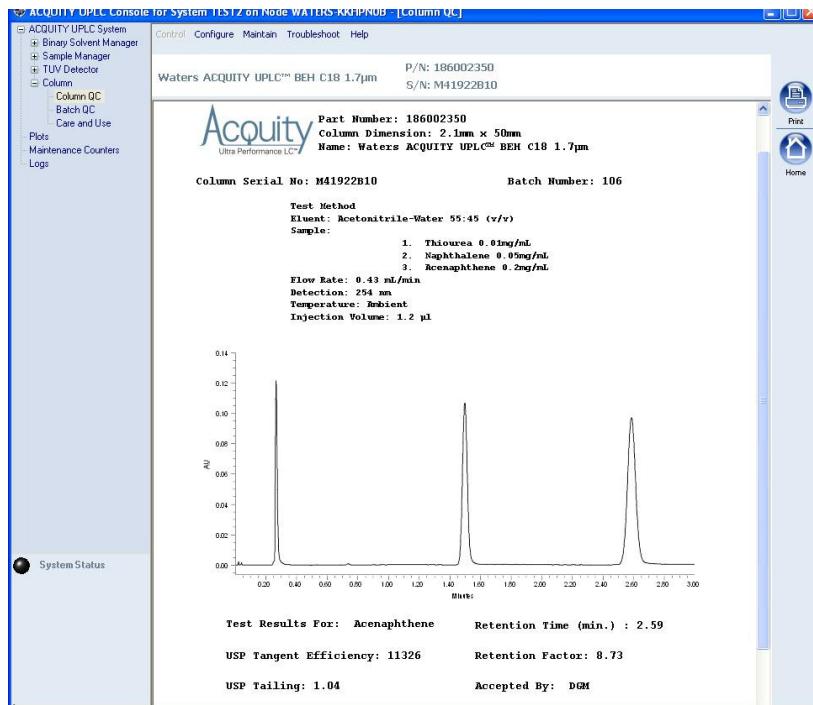
Waters  
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



包嵌式16 mm微芯片

# Waters 质量控制(QC)结果

Waters  
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



# 用户色谱柱使用历史

Waters  
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

ACQUITY UPLC Console for System TEST2 on Node WATERS-KKHPNOB - [eCord]

Control Configure Maintain Troubleshoot Help

column

Part Number, Serial Number:  
186002350, M41922B10

Waters ACQUITY UPLC™ BEH C18 1.7µm

usage counters

Total Injections: 140 injections

Total Samples: 48 samples

Total Sample Sets: 35 sample sets

environment

Maximum Pressure: 09/14/2004 13922 psi  
First Injection: 08/17/2004

Maximum Temperature: 08/23/2004 28.2 °C  
Last Injection: 09/14/2004

Refresh

Print

Home

System Status

column history

#	Date Started	Sample Set Name	User Name	System Name	Injections	Samples	Max psi	Max °C
1	08/17/2004 1	Training.SPL	Administrato	WATERS-KKHP	1	1	7030	24.8
2	08/17/2004 1	Training.SPL	Administrato	WATERS-KKHP	1	1	7089	24.8
3	08/17/2004 1	Training.SPL	Administrato	WATERS-KKHP	1	1	5313	24.9
4	08/19/2004 0	Training.SPL	Administrato	WATERS-KKHP	2	1	6348	23.6
5	08/20/2004 1	Training.SPL	Administrato	WATERS-KKHP	1	1	6418	25.4
6	08/22/2004 2	TestMix_200Inj_Op	Administrato	WATERS-KKHP	60	1	4063	28.2
7	08/23/2004 1	TestMix_200Inj_Op	Administrato	WATERS-KKHP	7	1	8002	28.2
8	08/23/2004 1	TestMix_200Inj_Op	Administrato	WATERS-KKHP	3	2	9049	28.2
9	08/23/2004 1	TestMix_200Inj_Op	Administrato	WATERS-KKHP	6	1	8885	28.2
10	08/23/2004 1	TestMix_200Inj_Op	Administrato	WATERS-KKHP	4	1	8912	28.2
11	08/24/2004 1	timingtest.spl	Administrato	WATERS-KKHP	1	1	3810	24.8
12	08/24/2004 1	timingtest.spl	Administrato	WATERS-KKHP	1	1	3727	24.8
13	08/25/2004 1	timingtest.spl	Administrato	WATERS-KKHP	1	1	5837	26.0
14	08/25/2004 1	timingtest.spl	Administrato	WATERS-KKHP	1	1	5801	0.0
15	08/25/2004 1	timingtest.spl	Administrato	WATERS-KKHP	1	1	5968	26.0
16	08/25/2004 1	timingtest.spl	Administrato	WATERS-KKHP	1	1	5788	26.0
17	08/25/2004 1	timingtest.spl	Administrato	WATERS-KKHP	1	1	5872	26.0
18	08/25/2004 1	timingtest.spl	Administrato	WATERS-KKHP	5	1	5858	26.0
19	08/25/2004 1	timingtest.spl	Administrato	WATERS-KKHP	1	1	5855	0.0
20	08/25/2004 1	timingtest.spl	Administrato	WATERS-KKHP	1	1	7278	26.0
21	08/25/2004 1	timingtest.spl	Administrato	WATERS-KKHP	1	1	5855	26.0
22	08/25/2004 1	timingtest.spl	Administrato	WATERS-KKHP	1	1	5824	0.0
23	08/25/2004 1	timingtest.spl	Administrato	WATERS-KKHP	1	1	5830	26.0

色谱柱无纸使用记录

- eCord 永久附在色谱柱上
- 智能芯片自动下载关键参数到色谱柱历史文件
- 提供色谱柱全程使用历史
- 信息不可删除
- 存在芯片上的信息可减少记录纸张

- 每一根色谱柱都有各自的性能检测色谱图而且还包括以下信息:硅胶批号、柱序列号、USP理论塔板数、USP拖尾因子、容量因子以及色谱条件
- 这些数据保存在eCord 智能芯片中,可以作为以后的参考
- eCord™ 安装
  - 将eCord™ 智能芯片扣在柱温箱侧面的读码器上

- 使用ACQUITY专用管路
- ACQUITY UPLCTM系统配备了严格控制公差范围的管路和镀金螺丝,以保证最小化柱外体积
- 冲洗输送过任何缓冲液流动相的泵系统, 然后将色谱柱入口连接到在线过滤器出口
- 设置泵流速为0.1ml/min,用100%的有机相(甲醇或乙腈)冲洗色谱柱,在5分钟之内将流速升至0.5ml/min
- 当流动相通畅地从柱出口端流出时, 停止流速并且将柱出口端连接到检测器。这样可以避免空气进入到检测器系统, 从而很快使基线平衡

- 新色谱柱在使用之前需进行柱效测定, Waters推荐使用“性能测试色谱图”中所用的合适的混合物分析您所收到的色谱柱
- 测定理论塔板数,并用这个值来定期地比较
- 随着时间的推移,要每间隔一段时间就重新测定一下,以此追踪色谱柱性能. 由于不同的UPLC色谱系统中连接质量、操作环境、系统电子学、试剂质量以及柱条件和操作技术的不同, 因此方法有时需要稍作改变

- 在改变不同的流动相系统之前保证流动相的互溶是非常重要的
- 新的ACQUITY UPLC™ BEH柱是保存在100%乙腈中的.为避免流动相中缓冲盐在色谱柱或系统中沉淀,先用5倍柱体积的水/有机相混合溶剂来冲洗
- 可用与所用缓冲盐相同或是更低的有机溶剂组成冲洗(比如在用60%甲醇40%缓冲液之前,先用60%的甲醇水溶液冲洗色谱柱和系统)

- 平衡色谱柱需要用10倍柱体积的流动相
- 常用的2.1mm × 50mm柱柱体积约为0.2ml
- 注意
  - 如果流动相中有低浓度的添加剂(比如离子对试剂),则需要用100到200倍柱体积的流动相来完全平衡.另外,流动相中如果含有甲酸盐(比如甲酸铵,甲酸等)也需要长时间的初始柱平衡

## ■ 样品制备

- 样品中的杂质常常是色谱柱污染的原因, 避免这种情况的一种选择就是使用合适的Waters Oasis固相提取小柱或是Sep-pak小柱在样品分析前进行净化
- 最好用流动相或是弱于流动相(更少的有机相)来配制样品, 这样能够得到好的峰形和灵敏度
- 如果样品不溶于流动相, 要确保溶样溶剂与流动相是互溶的, 从而避免样品或是缓冲液的沉淀
- 用0.2um的膜过滤样品以去除颗粒. 如果样品溶于包含有机相的溶剂中, 那么要确保膜材料不会在有机相中溶解. 联系膜生产商咨询关于膜的溶剂兼容性问题. 或是应该考虑在10000rmp转速以上的离心机上离心20分钟, 然后将上层清液转移到合适的进样瓶中

- pH范围
  - ACQUITY UPLC™ BEH柱推荐使用的pH范围是1到12。(参见下页的缓冲液表)
  - 另外,不同的操作温度和缓冲盐种类,柱寿命会有所不同。例如,在加热的情况下使用pH=8的磷酸盐缓冲液会降低柱寿命

# 推荐使用的缓冲盐

Waters  
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

表 2 ACQUITY UPLC™ BEH 柱推荐使用的缓冲盐

添加物/缓冲盐	pKa	缓冲范围 ±pH 单位	挥发性	可否用 于质谱	备注
三氟醋酸	0.3		有	是	离子对添加物,会引起质谱信号的离子抑制,在0.02%-0.1%的范围内使用.
醋酸	4.76		有	是	当与醋酸铵一起使用时,能达到最大的缓冲能力.用在0.1%-1.0%范围内.
甲酸	3.75		有	是	当与甲酸铵一起使用时,能达到最大的缓冲能力. 用在0.1%-1.0%范围内.
醋酸/醋酸铵	4.76	3.76-5.76	有	是	用 1-10mM 的范围, 注意钠盐和钾盐是不挥发的.
甲酸/甲酸铵	3.75	2.75-4.75	有	是	用 1-10mM 的范围, 注意钠盐和钾盐是不挥发的.
磷酸盐 1	2.15	1.15-3.15	无	否	传统的低 pH 缓冲盐,具有很好的紫外透明度.
磷酸盐 2	7.2	6.20-8.20	无	否	pH7 以上,最好降低温度和浓度且用保护柱,以此最大程度延长柱寿命.
氨水	9.2	8.2-10.2	有	是	浓度要保持在 10mM 以下,温度要保持在 30°C 以下.
碳酸氢铵	10.3(HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ) 9.2(NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) 6.3(H <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )	6.8-11.3	有	是	5-10mM 范围(用于质谱时,源温度要大于 150°C.用氢氧化铵或醋酸调节 pH,在 pH10 有很好的缓冲能力. 注意:使用 NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> 而不是(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>

## ■ 试剂

- 为保持最好的柱性能,请使用高质量的色谱级溶剂。用前过滤所有的缓冲盐水溶液, 推荐使用Pall Gelman Laboratory Acrodisc滤膜。溶剂中包含的悬浮颗粒会在柱入口端的筛板处形成堵塞, 这将会导致高反压和低柱效
- 为防止气泡在泵和检测器中形成, 所有溶剂在使用前要完全脱气
- 推荐使用在线过滤装置。这对于低压梯度尤其重要, 因为有机相和水相在梯度混和时会产生气泡

- 压力
  - ACQUITY UPLC™ BEH柱能够耐15000psi(1034bar或103Mpa)的反压
- 温度
  - ACQUITY UPLC™ BEH柱的温度范围为20°C-90°C
  - 为确保ACQUITY UPLC™ BEH柱的选择性、降低溶剂粘度和提高质量迁移速率, 推荐在20°C-55°C柱温下使用
  - 在极端的pH条件、温度或是反压下工作会缩短柱寿命

- 峰形改变、峰分岔、肩峰、保留时间漂移、分离度变化或是反压增加表明色谱柱可能被污染
- 用纯有机溶剂冲洗(注意不要有缓冲盐沉淀)通常足够去除这些污染
- 用20倍柱体积的HPLC级溶剂清洗,增加柱温到35-55°C会增加清洗效率
- 如果以上冲洗不能解决问题,可用以下清洗和再生程序来冲洗色谱柱。选用清洗程序应适合样品的性质或是任何你确认的柱内污染物(参看下表)

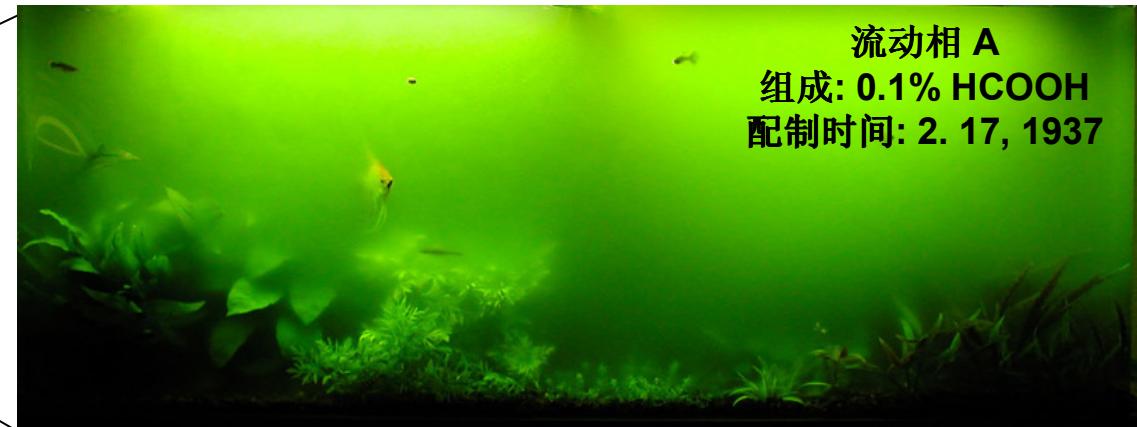
## ACQUITY BEH 柱清洗程序

极性样品	非极性样品	蛋白样品
1.水	1.异丙醇(或合适的异丙醇/水混和溶液)	1.重复进样少量二甲基亚砜
2.甲醇	2.四氢呋喃	2.梯度洗脱从 10% 到 90% 的 B; A=0.1% 三氟醋酸水液;
3.四氢呋喃	3.二氯甲烷	 B=0.1% 三氟醋酸乙腈溶液
4.甲醇	4.正己烷	
5.水	5.异丙醇(接着用合适比例的异丙醇/水混和溶液)	3.用 7mM 的盐酸胍或是 7mM 的尿素冲洗
6.流动相	6.流动相	

- 色谱柱在室温下停用四天以上,应用**100%**乙腈保存
- 对于在高温下的应用, 为保证最好的柱寿命应在使用后立即保存在**100%**的乙腈中
- 不要将色谱柱保存在缓冲盐洗脱液中。如果流动相包括缓冲盐, 用**10倍**柱体积的**HPLC**级水冲洗色谱柱,然后用**100%**的乙腈替换保存。如果不用水过渡, 当**100%**的乙腈充满柱时, 就会导致缓冲盐在柱中沉淀
- 色谱柱应完全密封以避免溶剂挥发柱床变干

- 为了最大限度地延长 UPLC™ 柱寿命, 请密切关注以下几点:
  - 水的质量 (包括水的纯化系统)
  - 溶剂质量
  - 流动相制备, 储存和放置时间
  - 样品质量和制备
- 控制水相流动相长菌是关键因素

## 您的流动相看起来是这个样子吗？



这种吃藻类的细枝鲶鱼  
似乎是下一个产品？



- 请正确回答以下问题

- 我能用 100% 水相流动相吗？我能加少量的有机溶剂到我的水相流动相中吗？
- 我必须要用 0.2  $\mu\text{m}$  滤膜过滤水相流动相吗？
- 我的流动相能用多久？我要在标签上注明配制日期吗？
- 我应当“用光”还是每 24 – 48 小时制备新鲜的流动相？
- 对水的质量有何要求？现行的水质要求有什么改变吗？我的水纯化系统的工作状况如何？何时需要做维修？
- 我能用 pH 7 的磷酸盐缓冲液吗(它是非常容易生长细菌的)？