



分離管的保養、清潔與保存

➤ 介紹

正確的保養與使用方式對於延長任何 HPLC 或 UHPLC 分離管的壽命至關重要。總結了一些簡單的日常操作，幫助您降低分離管損壞的風險，並最大化分離效果的表現。此外，亦包含一些再生恢復性能下降分離管的清潔程序。

➤ 一般注意事項

分離管的壽命很大程度取決於使用和操作。惡劣的分析條件和髒樣品的進樣會顯著縮短分離管的壽命。在使用過程中，分離管可能會出現各種性能下降的症狀，包括：

1. 背壓升高，可能是分離管進口端濾片部分阻塞或填充材吸附污染物造成的。
2. 波峰分叉/拖尾。
3. 由於樣品成份吸附導致選擇性改變。
4. 分離管效能降低，導致解析度降低。

最終，任何分離管的壽命都是有限的，但文中概述的執行清潔方案可以幫助最大限度的延長其壽命。其中許多程序也能為液相層析系統帶來益處，有助於降低長期使用成本。

※ 以下是幾項可延長分離管壽命的日常操作：

- 請使用高純度的 HPLC 溶劑與緩衝液。不但能延長分離管壽命，也可避免雜質造成未知的波峰。
- 使用新鮮配製的流動相與緩衝液，特別是在低濃度或 pH 值約為 7 的情況下，以防止細菌滋生。
- 過濾流動相以去除顆粒雜質，或使用線上過濾組。
- 使用合適的樣品淨化程序。這可以防止顆粒物進入分離管，並去除可能與分離管緊密結合的樣品成分。
- 使用保護管或分離管前過濾組保護分離管免受顆粒物和其他有害樣品成份的侵害。
- 設定流速時，應從低流速開始，然後逐漸增加到目標流速。這可以最大限度地減少對分離管的入口端高壓衝擊。
- 維持在分離管的壓力和流速限制範圍內操作。這些限制在分離管隨附的品質控管說明書有說明。



為了獲得最佳分離管壽命，建議流動相的 pH 值為 2-8。為了在高 pH 下延長分離管壽命，可以考慮使用有機緩衝液、高百分比有機溶劑、低緩衝液濃度和低溫。Avantor ACE SuperC18 和 SuperPhenylHexyl 相與 LC-MS 相容許緩衝液一起使用時，pH 範圍擴展至 1.5-11。

雖然 Avantor ACE 分離管可承受最高 100 °C，但低於 60 °C 的操作溫度更有利於延長壽命。

使用後，請用推薦的溶劑清洗分離管內緩衝液，並依據測試譜圖(CoA)上建議的溶劑保存。

使用離子對試劑的分析方法，應專用一支分離管，因為離子對試劑會改變分離選擇性，且極難清除。

進行任何清潔程序前後，使用隨附譜圖(CoA)上的 QC 測試條件檢查分離管的性能。

活化新的反相分離管

Reversed Phase		
C18	SuperC18	Phenyl
C18-AR	SuperPhenylHexyl*	C8
C18-PFP	PhenylHexyl*	C4
C18-Amide	Biphenyl*	AQ
CN-ES	C18-HL	NH ₂

新的反相分離管(RP)在運輸過程中會使用相應的保存溶劑(通常為甲醇/水)，具體要求請參閱隨附的測試譜圖(CoA)。新的 Avantor ACE 反相分離管(RP)應在首次進樣前，或直到達到穩定的基線和壓力之前，使用 10-20 倍分離管體積(參見表 1)的所需流動相進行平衡。

在使用新的流動相沖洗分離管之前，請務必檢查流動相的相容性。若保存溶劑與流動相不混溶，請使用 10 倍分離管體積的中間溶劑(此溶劑應與保存溶劑及所需流動相均混溶)沖洗分離管(表 2)。

表格 1：常見分離管尺寸的體積 (以全多孔矽膠計)

		Column length (mm)					
		50	75	100	125	150	250
Column ID (mm)	1.0	0.025	0.037	0.049	0.062	0.074	0.124
	2.1	0.109	0.164	0.218	0.273	0.327	0.546
	3.0	0.223	0.334	0.445	0.557	0.668	1.113
	4.6	0.523	0.785	1.047	1.309	1.570	2.617



對於緩衝流動相，應使用至少 10 倍分離管體積的水/有機混合相沖洗分離管，此混合相中的有機相含量應等於或低於緩衝流動相的含量。這樣可以消除緩衝液沉澱的風險。然後，分離管即可與所需的流動相進行平衡。

活化新正相分離管

**** 使用反相溶劑保存輸出**



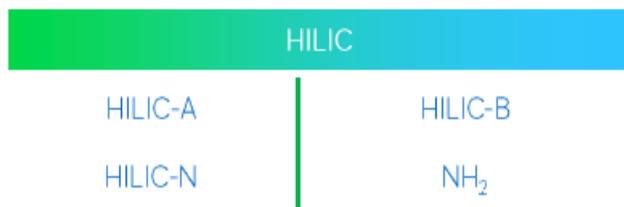
Avantor ACE 矽膠柱以庚烷：乙酸乙酯（如測試層析圖所示）的混合溶劑輸出，可直接與所需的正相溶劑進行平衡。

Avantor ACE CN、NH₂ 和 CN-ES 分離管與正相分離管相容，但如果以反相溶劑保存輸出，如其隨附的測試層析圖所示。要在正相層析管柱中使用這些分離管，應先以可與保存溶劑和所需正相流相（例如異丙醇，請參閱表 2）混溶的溶劑以測試層析圖所示或更低的流速沖洗 15 分鐘。此時，分離管即可與所需的正相溶劑平衡。

正相分離管應在首次進樣前以所需流動相平衡，直到達到穩定的基線和壓力。請注意，正相分離管所需的平衡時間可能比反相分離管的典型平衡時間更長。在使用新的流動相沖洗分離管之前，請務必檢查流動相的相容性。若保存溶劑與流動相不混溶，請使用 10 倍分離管體積的可與兩者混溶的中間溶劑沖洗分離管（表 2）。

對於緩衝流動相，應使用至少 10 倍分離管體積的相同正相比例（不含緩衝液）的流動相沖洗分離管。這將消除緩衝液沉澱的風險。然後，分離管即可使用緩衝流動相平衡。

活化新的 HILIC 分離管



Avantor ACE HILIC 分離管採用典型的 HILIC 溶劑或異丙醇進行保存運送。首次進樣前，應使用所需的流動相平衡 HILIC 分離管，直至達到穩定的基線和壓力。對於新分離管，平衡可能需要 60-80 倍分離管體積的流動相（表 1）。

對於先前使用過的分離管，平衡量通常可減少至 20 倍分離管體積。在使用新的流動相沖洗分離管之前，請務必檢查流動相的相容性。若保存溶劑與流動相不混溶，請使用 10 倍分離管體積的、可與兩者混溶的中間溶劑沖洗分離管（表 2）。

對於緩衝流動相，應使用至少 10 倍分離管體積的相同流動相比例（不含緩衝液）的流動相沖洗分離管。這將消除緩衝液沉澱的風險。之後，分離管即可使用緩衝流動相平衡。對於緩衝流動相，HILIC 分離管可能需要更長的平衡。

如果要使用 Avantor ACE NH₂ 分離管分析還原糖，則可能需要額外的平衡步驟，以確保固定相表面的正確電離狀態。詳情請參閱 AKN0022。



➤ 分離管污染和清潔流洗

分離管污染通常源自於樣品基質。一些基質成份（例如鹽）會在孔隙附近洗脫，因為它們不會被分離管固定相吸附滯留。然而，有些成份的吸附滯留可能更強，並被吸附到固定相上。樣品中的任何顆粒物質也可能積聚在分離管入口部，導致背壓升高。

為了去除強保留的樣品成分，應將分離管與偵測器斷開，並使用適當的管路將分離管出口導向廢液管。應使用水/有機相混合去除所有緩衝液組分，然後用 100% 的強流動相溶劑沖洗分離管。

※ 以下列出了用於清洗不同層析模式分離管的溶劑。應按所示順序使用 20 倍分離管體積的每種溶劑沖洗分離管。然後，將分離管雜質沖洗出來。

- 反相分離管（例如 C18、C8）

- 1) 水/甲醇 95:5 v/v
- 2) 甲醇或乙腈
- 3) 不含緩衝液的流動相

- HILIC 分離管（例如 HILIC-N）

- 1) 水/乙腈 50:50 v/v
- 2) 水
- 3) 不含緩衝液的流動相

- 正相分離管（如 SIL、NH2）

- 1) 異丙醇
- 2) 甲醇或乙腈
- 3) 乙酸乙酯

➤ 分離管保存

使用後，應使用沒有緩衝液的流動相去除分離管中的緩衝液和鹽。然後，可以使用保存溶劑沖洗分離管，具體方法請參閱隨附的測試分離管背面。最後，分離管端塞應牢固地固定在分離管上，以防止分離管乾燥。

務必避免在 100% 水性條件下沖洗或保存分離管（除非另有說明）。

烷基配體的固定相（例如 C18）通常與 100% 水性條件不相容。此外，在 100% 水性條件下長時間保存可能會促進細菌生長。

➤ 結論

本文說明概述了日常應採取的措施，以最大程度延長分離管的使用壽命，以及可嘗試恢復分離管性能的流程。本文通常適用於大多數分離管，但特別針對 Avantor ACE 分離管。其他分離管，請參閱對應製造商的使用手冊。