



Sepax Technologies, Inc.

Delaware Technology Park

5 Innovation Way, Suite 100 Newark DE 19711 USA

Phone: (302) 366-1101; Fax: (302) 366-1151

Toll Free: (877) SEPAX-US; www.sepax-tech.com

Polar-Propylamide 使用手册

色谱柱信息

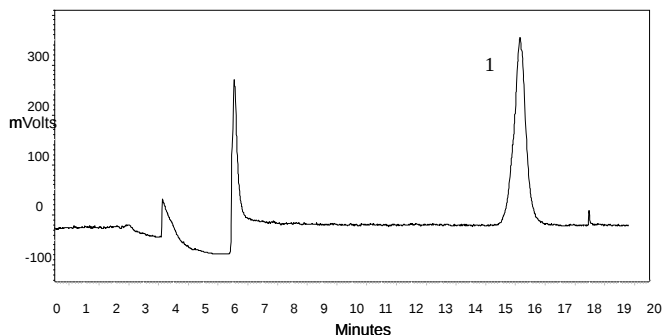
Polar-Propylamide 是为解决强极性药物和小生物分子的分离而设计的一款亲水作用色谱(HILIC)柱, 以高纯度具有良好机械稳定性的硅胶为基质, 采用高纯度的键合试剂, 最大限度实现硅胶表面覆盖, 确保了固定相的稳定性。该填料为均一的球形颗粒, 孔径 120Å, 表面积 300m²/g, 由于键合了极性丙基酰胺基团, Polar-Propylamide 柱可为极强性的化合物提供良好的保留。通过运用独有的匀浆装填技术装填得到的 HILIC 柱柱床密度均一稳定, 可保证具有最高的柱效。通过严格控制单分子层形成以及封尾的化学反应条件, 可确保柱与柱之间有着可靠的重现性。

测试条件与分析图谱

参照 2010 版中国药典益母草检测色谱条件:

以丙基酰胺键合硅胶为填充剂; 以乙腈-0.2%冰醋酸溶液 (1.5: 98.5) 为流动相; 用蒸发光散射检测器检测。理论塔板数按盐酸水苏碱峰计算应不低于 6000。

如下为一张 4.6×150 mm, Polar-Propylamide 色谱柱的典型 QC 测试图, 理论塔板数按盐酸水苏碱峰计算为 8000 以上。



色谱柱: Polar-Propylamide (5 μm, 120 Å, 4.6×150 mm)

订货号 (PN): 136335-4615

流动相: ACN: 0.2%HAcl= 80:20 (v/v)

流速: 0.5 mL/min

柱温: RT

检测: ELSD

样品: 盐酸水苏碱 (0.5mg/mL)

进样量: 10 μL

安全注意事项

Polar-Propylamide 柱通常在高压下运行, 如果管路连接不紧, 将会导致有机溶剂和注入样品的泄漏, 从而对操作人员的健康产生影响。一旦发生泄漏, 应佩戴适当的手套进行处理。另外当打开色谱柱时还应采取适当的保护措施, 以防止微小的硅胶颗粒进入呼吸道。

色谱柱安装与操作

色谱柱在运输过程中或在没有使用时, 它的两端总是用堵头进行密封。当将色谱柱接入色谱仪器系统时, 首先移去两端的堵头。请注意将流动相流动的方向与柱上标记的方向保持一致。除非出于特殊考虑, 例如为了清除堵在色谱柱入口端的脏污等而需要将色谱柱反接以进行冲洗时, 建议用户在接上色谱柱时一定要遵循柱上标记的方向。由于色谱柱的连接是整个色谱操作过程的一部分, 如果密封卡套过紧, 或安装不合适, 或者密封卡套与色谱柱端口不匹配, 都有可能导致溶液的泄漏。请按照下面步骤将色谱柱与密封卡套相连接, 从而将色谱柱接入 HPLC 系统中:

(a) 第一次使用的管线, 请依次将管线接头和密封卡套装在外径 1/16" 的管线上。密封卡套的宽口端应朝向管线接头。

(b) 将管线紧紧插入色谱柱的接口, 向前滑动密封卡套和管线接头, 并使管线接头的螺纹与色谱柱端口的螺纹相互衔接, 然后拧紧管线接头。如果管线为高分子材料, 请转到步骤 (d); 如果是金属管线, 请继续 (c)。

(c) 在用力将管线压入柱端接口之后, 用 1/4" 扳手将已拧紧的螺帽再进一步紧固。

(d) 对色谱柱的另一端采用上述方法进行操作。

新的 Polar-Propylamide 柱中的液相是乙腈与水的混合溶液。在储存和运输过程中，硅胶填料可能会干涸。这时推荐用 10-20 倍柱体积的纯有机溶剂如甲醇、乙腈等进行冲洗以活化色谱柱。接着可用用户自己选择的流动相冲洗色谱柱。流速由 0.1mL/min 逐渐升至所需的操作条件，直至基线稳定为止。如果柱压和基线波动较大，这可能是气泡进入了色谱柱中。这时可用较高流速冲洗色谱柱 2-5 分钟，例如 4.6×150mm 的色谱柱可采用流速 2mL/min。

样品与流动相

为了避免堵塞色谱柱的堵塞，所有样品和溶剂，包括缓冲溶液在内，都必须在使用前用 0.45μm 或 0.2μm 的滤膜过滤。样品的水溶液不宜直接进样，而应该保证有机溶剂至少 50% 的比例。

HILIC 柱的固定相是亲水的，而且在一定 pH 值范围内是带电荷的。和大多数其他液相色谱技术不同的是 HILIC 的部分流动相是作为固定相的一部分来起作用的，因此关键是要在流动相中保持一定量的水。比例保持在 3-60% 的水平。

提高流动相中有机溶剂的比例，会提高溶质的保留。典型的 HILIC 流动相是由水和挥发性缓冲盐溶液以及 40-97% 的乙腈组成的，这决定了 HILIC 和适合与质谱检测器 (MS) 或蒸发光散射检测器 (ELSD) 联用。其他几种与水能混溶的极性有机溶剂也可以用于 HILIC 的分析。这些溶剂的洗脱强度与 RPLC 分析中的洗脱强度顺序大体相反。乙腈是最佳溶剂。

小心避免使用在高有机溶剂溶解度不好的磷酸盐或其他缓冲盐，以免产生沉淀损坏色谱柱。避免三氟乙酸和其他离子对试剂。

色谱柱的保养

pH 避免在 pH 低于 2 或高于 8 的条件下使用 Polar-Propylamide 柱。较高的 pH 会溶解硅胶，从而使部分或全部的 Propylamide 链从硅胶表面脱落，引起分离效率的降低和保留时间的改变。为了获得最佳的分离效果和延长柱的使用寿命，请尽量使用 pH 在 2-8 范围内的流动相。

压力 尽管 Polar-Propylamide 柱可在高至 5000psi 的压力下使用，但正常的操作压力应当低于 3000psi。长时间在高压下运行会损坏色谱柱和输液泵。由于压力来源于流速，因此最大流速将受制于

系统所能承受的压力。一般而言，柱压会随着色谱柱使用时间的增加而逐渐增加。压力突然增加预示色谱柱入口端的筛板发生了堵塞。在这种情况下，建议将色谱柱反接后用适宜的溶剂进行冲洗。

温度 最高操作温度为 60°C。长时间在高温 (>75°C) 下操作也会损坏色谱柱，这种情形在高的 pH (>8.5) 条件下特别突出。

储藏 HILIC 柱建议保存在有机溶剂和水或低浓度缓冲液的混合溶液中，如：90/10 (v/v) 乙腈/10mM 乙酸铵溶液，pH6.8。每根色谱柱在运输过程中均会附有两个可拆卸的堵头。为了防止柱床干涸，请用堵头塞紧色谱柱的两端。