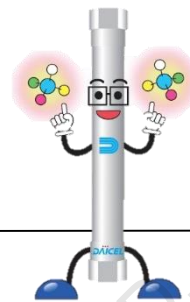




CHIRALPAK® HSA

色谱柱使用手册

请在使用前仔细阅读本使用手册



色谱柱描述

CHIRALPAK® HSA : 5 μ m 硅胶表面共价键合人体血清白蛋白

出厂溶剂: 水/异丙醇 (90:10 v/v)

所有色谱柱在出厂前都经过检测。检测条件、结果及批号请查阅《出厂检测报告》。

应用范围

CHIRALPAK® HSA 对带有羧酸的化合物有很好的立体选择性, 包括:

- 强酸或弱酸性化合物
- 两性离子型化合物
- 非质子化合物 (酰胺, 酯, 醇, 亚砷等)

分离碱性化合物, 请使用 CHIRALPAK® AGP 和 CHIRALPAK® CBH。

操作条件

	50 x 2 mm ^{*1} 100 x 2 mm ^{*1} 150 x 2 mm ^{*1} 分析柱	50 x 3 mm ^{*1} 100 x 3 mm 150 x 3 mm 分析柱	50 x 4 mm ^{*1} 100 x 4 mm 150 x 4 mm 分析柱	100 x 10 mm 150 x 10 mm 半制备柱
流动相方向	色谱柱标签上标示的箭头方向			
典型流速	~0.2 mL/min	~0.5 mL/min	~0.9 mL/min	~4.0 mL/min
pH 范围	5.0 – 7.0			
推荐柱温 ^{*2}	20 – 30°C			
缓冲液浓度	≤100mM, 通常 10-20mM			
有机相比例	0-15% (体积比)			
添加剂浓度	≤10mM			

*1 使用小规格色谱柱时, 很重要的一点, HPLC 系统应尽量减小空隙体积。

*2 如果高于该温度, 色谱柱的使用寿命会缩短。



操作步骤

A- 流动相

	酸性 化合物	中性 化合物
初始条件	10mM 乙酸铵溶液 (pH7.0) ①/异丙醇=85/15 (v/v)	

① 缓冲液的配制请见“B”部分

B- 缓冲液配制-举例

➤ 10mM 乙酸铵溶液 (1L)

1. 称取 770.8mg 乙酸铵 ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$, 纯度大于 99%) 至烧杯中。
2. 用 800ml 纯水 (HPLC 级) 溶解, 置室温下 (20-25℃) 放置。
3. 使用稀释后的乙酸或氨水调节溶液至需要的 pH 值。
4. 溶液经 0.22 μm 滤膜过滤至 1L 容量瓶中。
5. 加水至容量瓶刻度线, 盖好瓶塞摇动, 使溶液混合均匀。

缓冲液与有机相是按照体积比混合的, 可使用合适体积的烧杯或带刻度的移液管。
混合后, 流动相超声脱气。

注: 如需在流动相中加添加剂, 添加剂应在调 pH 值前添加。

C- 流动相

在不含或含低浓度醇的流动相中细菌滋生很快。这样的流动相需新鲜配制。

※ 缓冲液

乙酸铵缓冲液的盐浓度一般选 10-20mM, 最大可至 100mM。也可使用其他种类的缓冲液, 如磷酸钠或磷酸钾缓冲液, 乙酸钠缓冲液, 甲酸盐或柠檬酸盐缓冲液。如用 LC-MS 检测, 选择适用的缓冲液。

※ 有机相

异丙醇最为常用。也可以使用甲醇、乙醇和乙腈。洗脱能力的顺序是: 异丙醇 > 乙醇 > 乙腈 > 甲醇

※ 添加剂

阳离子和阴离子添加剂, 如 N,N-二甲基正辛胺 (DMOA), 三氟乙酸 (TFA), 辛酸 (OA), 七氟丁酸 (HFBA), 可少量 ($\leq 10\text{mM}$) 添加在流动相中改善保留和立体选择性。但是, 有些添加剂会强吸附在填料上, 难以完全洗脱下来, 色谱柱的分离能力会因此受到影响。

注: 辛酸 (OA) 和二甲基正辛胺 (DMOA) 在水中的溶解度很低, 室温下只能达到 2mM 辛酸 (OA) 或 5mM 二甲基正辛胺 (DMOA) 的浓度。高于该浓度会引起溶液分层。

- 一旦流动相中使用了添加剂, 该色谱柱以后一直要使用该添加剂。



D- 样品

- 样品的进样量请保持在较低数值内.推荐样品浓度低于 0.20mg/mL, 进样量在 5-10 μ L 最好。
- 如果可以, 请用流动相溶解样品。如样品在流动相中不溶, 可加入一定比例的有机相溶解。样品溶液经 0.5 μ m 滤膜过滤, 确保在使用前无沉淀。

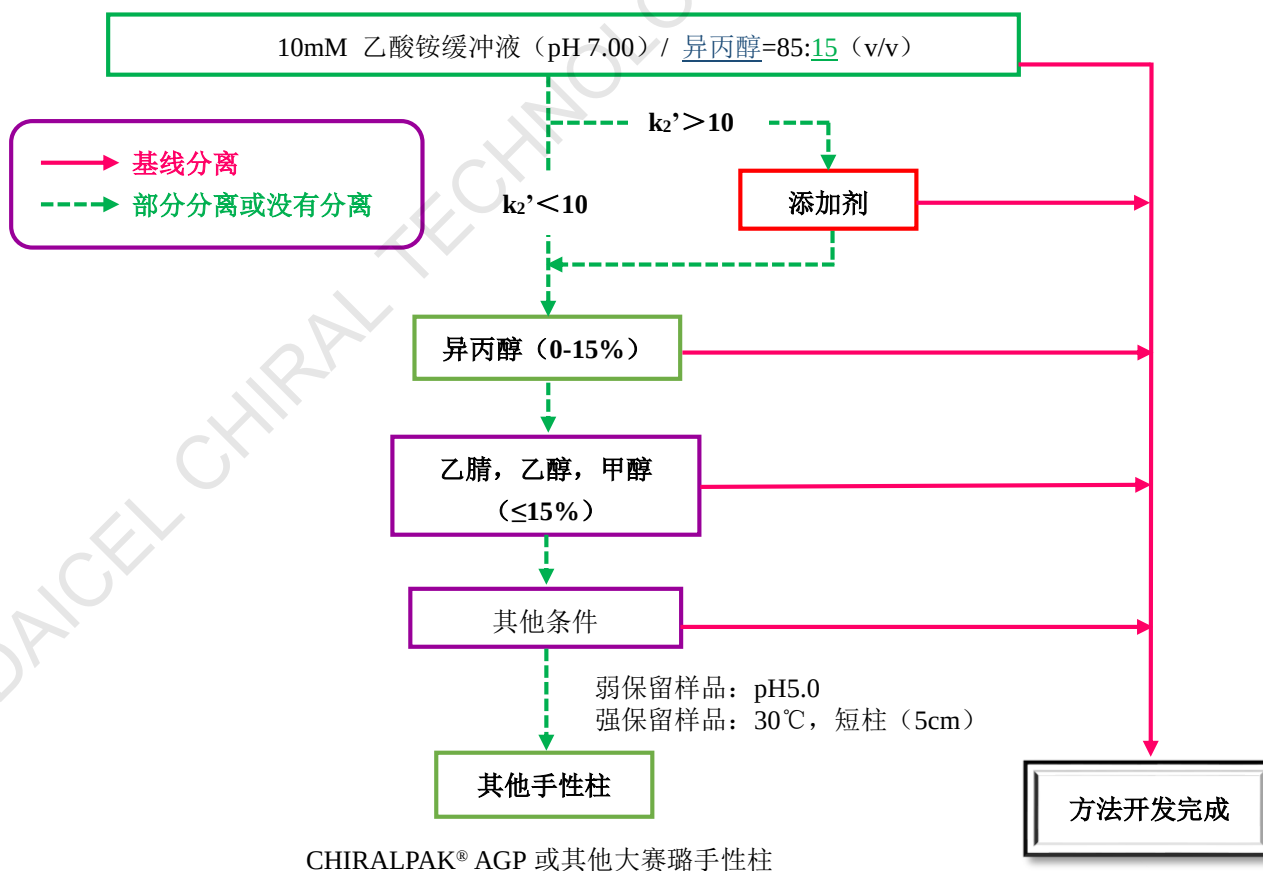
注意: 样品用 100%或高比例的有机相溶解可能会导致在线析出。
化合物没有完全溶解不能进样。

色谱柱保养和维护

- 为延长柱子使用寿命, 强烈建议使用保护柱。
- 如果色谱柱被一些亲水性的杂质污染, 可将色谱柱反接(不连接检测器), 用水/异丙醇 75/25 (v/v) 低流速冲洗(例如, 4mm 直径的色谱柱推荐 0.3mL/min)。
- 在色谱柱接到 HPLC 仪器前, 先用不含盐溶液或缓冲溶液的流动相冲洗色谱柱, 比如水/异丙醇 90/10 (v/v)。
- 保存色谱柱, 建议使用水/异丙醇 90/10 (v/v)。
短期保存, 色谱柱可置于室温下 (<30 $^{\circ}$ C)。
长期保存, 建议将色谱柱置于冰箱冷藏。

方法开发

以下是方法开发与优化的流程示意图。





E- 产品列表

手性柱名称	货号	类型	内径 (mm)	长度 (mm)
CHIRALPAK® HSA	34791	保护柱柱芯(×2)	2.0	10
	34781		3.0	10
	34711		4.0	10
	34792	分析柱	2.0	50
	34793		2.0	100
	34794		2.0	150
	34782		3.0	50
	34783		3.0	100
	34784		3.0	150
	34712		4.0	50
	34713		4.0	100
	34714		4.0	150
	34733	半制备柱	10	100
	34744		10	150

注意事项

⇒ 本《使用手册》不适用于其他的大賽璐手性柱。

我们建议使用 **CHIRALPAK® HSA 保护柱**，使分析柱免于一些对固定相有强保留的颗粒或杂质的污染。定期更换保护柱，尤其是分析生物样品时。

严格按照《使用手册》使用色谱柱，可延长色谱柱使用寿命。

若您在手性柱使用中有任何疑问，
请联系大賽璐藥物手性技術（上海）有限公司（chiral@dctc.daicel.com）。

CHIRALCEL®，CHIRALPAK®，CROWNPAK®和 DAICEL DCpak®是
大賽璐公司（DAICEL CORPORATION）的注册商标。

大賽璐公司提供 20μm 填料的制备手性柱用于大规模的制备生产。

CHIRALPAK® HSA 的生产商为大賽璐欧洲分公司（Chiral Technology Europe）
大賽璐欧洲分公司是大賽璐化学集团的子公司，在 2009 年 1 月已成功收购 ChromTech 公司。