

CHIRALPAK® AGP 手性柱使用注意事項

中文補充版

尊敬的用戶：

非常感謝您選用DAICEL公司生產的手性色譜柱。爲了更好地使用該手性柱，延長其使用壽命，以下幾點需要特別注意：

1. CHIRALPAK® AGP 是酸性糖蛋白柱，由於蛋白質容易變性失活，所以請在使用前後將管柱置於冰箱中（0°C-4°C）冷藏保存。
2. CHIRALPAK® AGP 在使用時，對有機相的種類和濃度的選擇都有一定的限制。通常情況下，用甲醇，乙醇，異丙醇和乙腈爲流動相的有機相。其他有機相請不要使用，如有特殊需求，請使用前和本公司確認是否安全，以防使用不當對管柱壽命造成的影響。
3. 流動相中若使用異丙醇爲有機相，則其含量不超過流動相總體積的25%；若使用其他有機相（甲醇，乙醇和乙腈），則有機相的比例最好不超過15%；若使用混合醇（例如甲醇和乙醇混合），則混合醇的總含量不超過15%。
4. 水相的緩衝鹽濃度在10mM-100mM 之間，通常在10mM-20mM 之間。
5. 流動相pH值的範圍爲 4 - 7。
6. 推薦使用溫度20°C-25°C，最高請勿超過30°C。
7. 管柱最高耐受壓力在14Mpa 左右，爲了保護管柱，請在9Mpa以下使用，若要保護管柱並延長使用壽命，DAICEL質檢部長期實驗後得出的最推薦使用的柱壓爲 6Mpa以下
8. AGP 的負載量不大，通常情況下配置樣品濃度0.05-0.5mg/ml，進樣量1µl-20µl 比較合適。不同樣品，可以適度調整。負載過大時將導致分析結果不準確，表現爲分離度顯著下降和柱效降低。
9. 管柱出廠保存溶劑爲15%的異丙醇和85%的水，黏度較大，第一次使用時，請用純水小流速清洗（0.1-0.2ml/min），將保存溶劑中的異丙醇置換出，再開始用流動相平衡管柱，進行實驗。另外，請將流速從0.1ml/min 慢慢升高到合適的流速，而不是突然調節到最大流速。流動相的成分、比例不同，則黏度不同，更換流動相時，需要相應地調流程速，以防止壓力過高。

CHIRALPAK® AGP 使用注意事項

中文補充版

另外，在使用前一定要徹底清洗儀器管路、正確選擇流動相。在使用前本產品請仔細閱讀包裝盒中的英文版使用說明書。如有任何疑問，請直接與本公司聯繫。

1. 使用前（連接該手性柱進行實驗前，請按以下步驟操作）：

1.1 確認儀器各部件狀態：

- 校準各泵的流速看是否準確。

1.2 使用溶劑及配製：

- 使用的有機溶劑（流動相）均為色譜級。
- 配製流動相時，請充分振盪混合均勻，並且超聲排除氣泡。
- 若在流動相中添加了帶電荷的添加劑（例如：DMOA：N,N-Dimethyloctyl amine，HFBA：Heptafluorobutyric acid，OA：Octanoic acid），則這根管柱以後的實驗中也應該一直使用帶電荷的添加劑，否則實驗資料可能不準確。

1.3 樣品的配製：

- 通常使用純水溶解樣品，或者 85% 以上的水和 15% 以內的有機相（有機相為甲醇，乙醇，異丙醇和乙腈，最好和流動相中的有機相成分相同）的混合溶劑。一般不能使用 100% 的甲醇，乙醇，異丙醇和乙腈溶解樣品。若溶解樣品的溶劑與流動相組分差別過大，需要特別注意會出現樣品結晶析出的可能，一般表現為壓力升高，峰型不正常等現象。
- 請在配樣前確認樣品裡有沒有殘留對管柱有損傷性的有機溶劑或其他雜質（如：與蛋白質有強吸附作用力的化學物質）。
- 樣品溶解後，需要用有機相過濾膜（通常為 0.45 μ m）過濾。

CHIRALPAK® AGP 使用注意事項

中文補充版

1.4 溶劑切換：請在連接手性柱前，按下述要點徹底做好溶劑切換

- 根據 HPLC 系統中不同的當前流動相，採用不同的沖洗方法清洗所有管路：包括所有溶劑入口、泵、進樣管路和其他連接管路（用二通代替色譜柱連接流路清洗色譜系統）。
- 如果當前流動相是水相流動相（如水/乙腈、緩衝液/甲醇），要先用純水徹底清洗（約 60 mL）以除去其中存在的有機溶劑或緩衝液，然後連接上手性柱。按照說明書要求，用純水活化管柱。
- 如果當前系統是非水流動相（如烷烴類，異丙醇或乙醇），則先用 100%的異丙醇（約 60 mL）對儀器各個管路進行徹底清洗，然後用純水（約 60 mL）清洗。最後可以接上管柱。
- 如果當前系統的流動相中不是以上兩種情況，請先和我們聯繫。
- 剛接上手性柱時，不要突然升高至最大流速，建議先小流速沖洗管柱，再逐漸升高到實驗所需的最佳流速。
- 注意：對於流動相流路較多的 HPLC 儀器（如：四元泵），建議其餘未用的流路也必須按照此步驟依次過渡，以免誤操作時讓其他溶劑進入系統，造成嚴重後果。
- 如果在連接手性柱至 HPLC 儀器之前，不嚴格按照本說明清洗置換 HPLC 儀器系統的溶劑，色譜柱有可能在第一次進樣之前就被破壞，一般表現為壓力偏高，柱效嚴重下降，樣品甚至沒有保留，不能被分離等等。

2· 使用中：

強烈推薦使用**保護管**。尤其對一些實際樣品，比如生化樣品，血漿樣品，含有輔料的製劑等。因為此類樣品中的一些組分一旦進入色譜柱中，就可能難以被洗脫出來，從而導致壓力升高，柱效下降迅速。

3· 使用後：

實驗結束後，根據使用的流動相體系，確認是否需要採用溶劑清洗管柱，然後按照說明書的保存方法，將管柱密封保存，通常是 85%的水和 15%的異丙醇。