DAICEL
The Best Solution for You

CHIRALPAK® AGP
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

填料	硅胶表面共价键合 α_1-酸性糖蛋白
粒径	5μm
接口	Waters type
出厂保存溶剂	水/异丙醇 (85/15 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®AGP 具有非常广泛的应用，且适用于所有手性化合物的对映异构体分离，包括：

- 胺类化合物 (一级、二级、三级胺和季铵化合物)
- 强酸或弱酸类化合物
- 非质子化合物 (酰胺、酯、醇、亚砜等)

操作条件

流动相方向	色谱柱标签上的指示
pH 范围	4.0 - 7.0
柱温①	20 - 30 ℃
缓冲溶液浓度	≤ 100mM，通常 10-20mM
有机相比例	0-15% （体积比）
添加剂浓度	≤ 10mM

☞ 说明：HPLC 规格的压力内操作，色谱柱填料稳定。
给定柱温下，柱后压与流速是线性关系。
对于一些难分离的对映体，推荐使用更长的色谱柱。
使用微径柱时，应尽量优化 HPLC 色谱仪，减小死体积。

① 使用比推荐温度更高的柱温，会影响色谱柱使用寿命。

操作过程

A – 流动相起始条件

	酸性 化合物	中性 化合物	碱性 化合物
常规起始条件	**10mM 乙酸铵缓冲液 (pH 5.8)❶ / 异丙醇 = 95 / 5 (v/v)**		

Daicel Chiral Technologies (China) CO.,LTD.

❶ 缓冲溶液的配制请见**"B"部分。**

B – 缓冲溶液配制 – 举例

➢ *10mM 乙酸铵缓冲液配制 (1L)*:

1. 称取 770.8 mg 乙酸铵 (CH_3COONH_4，纯度 ＞99%) 至烧杯中。
2. 加入 800mL 色谱级水来溶解该盐，室温下(20-25℃)放置一段时间。
3. 使用经稀释的乙酸或氨水来调节 pH 值至目标值。
4. 将溶液用 0.22μm 滤膜过滤到有刻度的容量瓶中。
5. 加水至容量瓶满刻度线，盖好瓶塞摇动，使溶液混合均匀。

如果缓冲溶液需要与有机相混合，通常按体积比混合的，最好选择有刻度的容量瓶或移液管来量取。
混合后，将流动相放置在超声仪中超声脱气。

注：如果要在流动相中加添加剂，添加剂需在调节 pH 值前加入。

C – 流动相

微生物在不含或含低比例有机相的流动相中较易滋生。这样的流动相需现配现用。

❖ *缓冲溶液*

通常地，乙酸铵缓冲液的浓度是10-20mM，最高是100mM。也可以使用其他缓冲溶液，比如磷酸钠或磷酸钾溶液，乙酸钠溶液，甲酸盐或柠檬酸盐溶液。注意，用LC-MS检测时，要选择适合的缓冲溶液。

❖ *有机相*

异丙醇是最常用的，除此之外，还有甲醇、乙醇和乙腈。这些有机溶剂的洗脱强度顺序是：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（≤10mM）添加在流动相中以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。

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

流动相中一旦使用了添加剂，该色谱柱就必须专柱专用。

D – 样品

样品进样量应尽量小。建议浓度在0.2mg/mL以下，进样体积5-10 μL。
尽量用流动相来溶解样品。如果不能溶解，可适当增加有机相的比例。样品溶液需经近似0.5μm滤膜过滤以确保使用前无沉淀。

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/维护

- 为延长柱子使用寿命，强烈建议使用保护柱。
- 如果色谱柱被一些疏水性的杂质污染，可将色谱柱反接（不连接检测器），用水/异丙醇 75/25（v/v）低流速冲洗过夜（例如，4mm 内径的色谱柱推荐 0.3mL/min）。
- 色谱柱从液相仪器上取下前，需用不含任何盐或缓冲溶液的流动相（例如水/异丙醇 90:10 (v/v)）冲洗。
- 色谱柱保存溶液，推荐使用水/异丙醇 85/15(v/v)。
  短时间保存，可置于室温 (<30℃)下。
  长时间保存，需放置在冰箱内冷藏。

Daicel Chiral Technologies (China) CO., LTD.

注意事项

- ⇨ **本《使用手册》不适用于其他的大赛璐手性柱。**

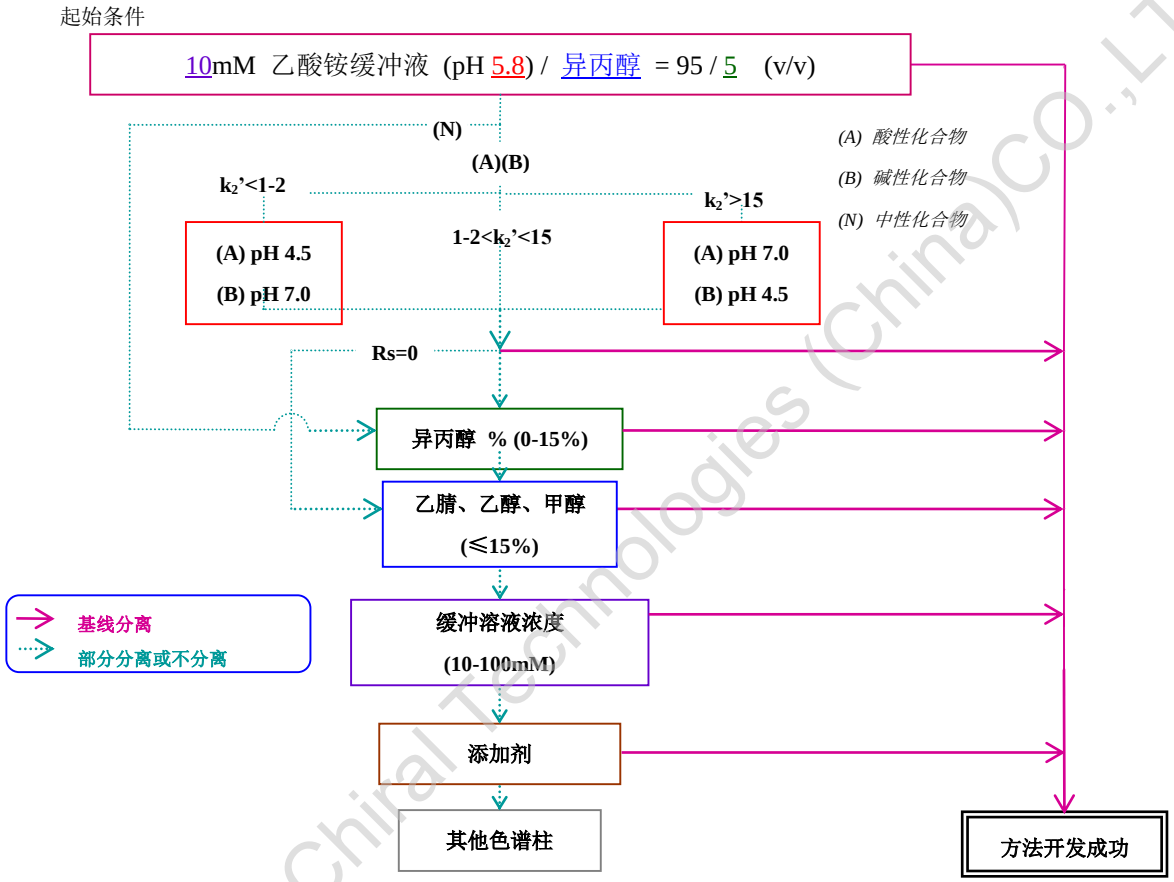
  建议使用 CHIRALPAK® AGP 专用保护柱，可减轻分析柱被一些对固定相有强保留的颗粒或杂质的污染。保护柱需定期更换，尤其是做生物样品分析。

  严格按照《使用手册》使用色谱柱，可延长色谱柱使用寿命。

- ⇨ 如您在手性柱使用中有任何疑问，请联系我们(chiral@dctc.daicel.com)。

方法开发

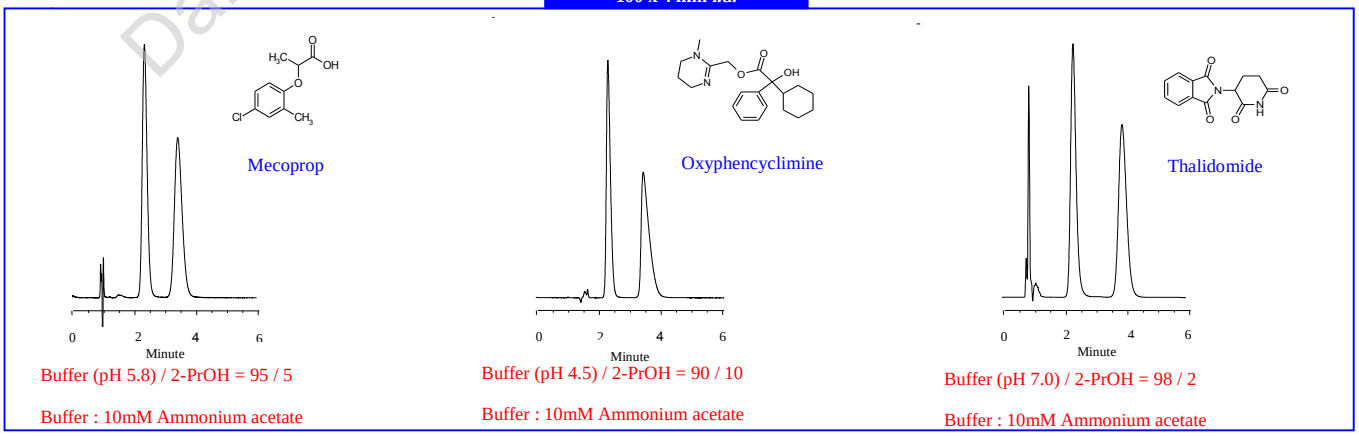
以下是方法开发与优化的流程图。



CHIRALPAK®HSA， CHIRALPAK®CBH， 或其他大赛璐手性柱

CHIRALPAK® AGP

100 x 4 mm i.d.



Daicel Chiral Technologies (China) CO.,LTD.

产品列表

Column Name	Ref.	Product Type	Internal Diameter (mm)	Column Length (mm)
CHIRALPAK®AGP	30791	Guard cartridge (x2)	2.0	10
	30781		3.0	10
	30711		4.0	10
	30792	Analytical	2.0	50
	30793		2.0	100
	30794		2.0	150
	30782		3.0	50
	30783		3.0	100
	30784		3.0	150
	30712		4.0	50
	30713		4.0	100
	30714		4.0	150
	30733	Semi-Prep	10	100
	30734		10	150

换算表

- 色谱柱内径/流速

柱内径(mm)	2.0	3.0	4.0	10
流速(ml/min)	0.23	0.51	0.9	5.6

- 压力

MPa	bar	kg/cm^2	psi
1	10	10.197	145.038
0.1	1	1.020	14.504
9.807×10^{-2}	0.981	1	14.223
6.895×10^{-3}	6.895×10^{-2}	7.031×10^{-2}	1

严格按照《使用手册》使用色谱柱，可延长色谱柱使用寿命。

本《使用手册》不适用于其他的大赛璐手性柱

若您在手性柱使用中有任何疑问，
请联系大赛璐药物手性技术（上海）有限公司（chiral@dctc.daicel.com）。

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

Daicel Chiral Technologies (China) CO., LTD.

地址：中国上海市自由贸易试验区荷香路 32 号　邮编：200131
电话：+86-21-5046-0086　传真：+86-21-5046-2321
网址：www.daicelchiraltech.cn