

## 赛分——益母草

## 专用柱 (Polar-Propylamide) 使用手册

## 色谱柱信息

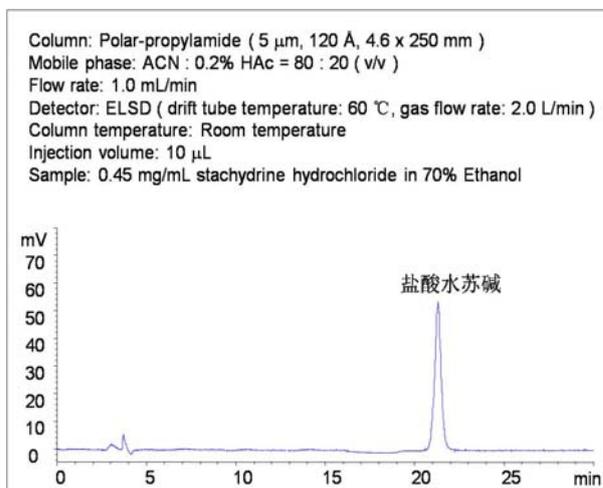
赛分益母草专用柱 Polar-Propylamide 是为解决强极性药物和小生物分子的分离而设计的一款亲水作用色谱(HILIC)柱,以高纯度具有良好机械稳定性的硅胶为基质,采用高纯度的键合试剂,最大限度实现硅胶表面覆盖,确保了固定相的稳定性。该填料为均一的球形颗粒,孔径 120 Å,表面积 300 m<sup>2</sup>/g,由于键合了极性丙基酰胺基团,Polar-Propylamide 柱可为极强性的化合物提供良好的保留。通过运用独有的匀浆装填技术装填得到的 HILIC 柱柱床密度均一稳定,可保证具有最高的柱效。通过严格控制单分子层形成以及封尾的化学反应条件,可确保柱与柱之间有着可靠的重现性。Polar-Propylamide 为丙烯酰胺键合硅胶柱,特别推荐用于 2015 版《中国药典》一部中益母草的检测。

图 1 是按照 2015 版《中国药典》一部——益母草含量测定项下盐酸水苏碱测定色谱条件,使用 Polar-Propylamide 4.6×250 mm 色谱柱对盐酸水苏碱对照品溶液进行测试的图谱。

## 安全注意事项

益母草专用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。

图 1: 盐酸水苏碱对照品测试图谱



## 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,都有可能造成溶液的泄漏。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 色谱柱保存在色谱级纯乙腈中。在储存和运输过程中，硅胶填料可能会干涸。这时推荐用 5~10 倍柱体积的纯乙腈进行冲洗以活化色谱柱。接着可用《中国药典》一部益母草检测项下要求的流动相溶剂平衡色谱柱，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（1.0 mL/min）冲洗色谱柱 2~5 min。

### 样品与流动相

为了避免色谱柱的堵塞，所有样品和溶剂，都必须在使用前用 0.45  $\mu\text{m}$  或 0.2  $\mu\text{m}$  的滤膜过滤。益母草专用柱专为 2015 版《中国药典》一部益母草中盐酸水苏碱的测定而设计，采用药典规定的流动相系统进行检测。流动相在使用前需要脱气，一个简单的脱气方法是将流动相在由水泵形成的真空下超声 5 min。

### 色谱柱的保养

**pH** 避免在 pH 低于 2 或高于 8 的条件下使用色谱柱。较高的 pH 会溶解硅胶，从而使部分或全部的键合相从硅胶表面脱落，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 2~7.5 范围内的流动相。

**压力** 尽管益母草专用柱可在高至 4000 psi 的压力下使用，但正常的操作压力应当低于 2500 psi。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。

**色谱柱清洗** 多次使用后某些样品中的杂质可能会吸附到入口筛板或填料上。当积累到一定程度时会出现压力升高并伴随峰形展宽的现象。出现这种情况时，推荐用 70% 乙腈水溶液低流速活化冲洗色谱柱 5~10 倍柱体积，结束后保存于 100% 纯乙腈中。

**储藏** 长期不用时，请用至少 20~30 倍柱体积的纯乙腈冲洗并保存色谱柱。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。

### 益母草

#### 专用柱（Polar-Propylamide）产品规格

| 内径×长度      | 粒径              | 孔径               | 型号          |
|------------|-----------------|------------------|-------------|
| 4.6×250 mm | 5 $\mu\text{m}$ | 120 $\text{\AA}$ | Z00002-4625 |
| 4.6×50 mm  | 5 $\mu\text{m}$ | 120 $\text{\AA}$ | Z00002-4605 |