



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

Carbomix H-NP 柱 使用手册

色谱柱信息

Carbomix H-NP 柱专为糖类、醇类和有机酸的高效分离而设计。该新型填料是在低交联度聚苯乙烯/二乙烯苯 (PS/DVB) 颗粒的表面修饰磺酸基团(-SO₃H)得到的。极窄的粒径分布确保了高的分离效率,而较低的交联度则保证其可以在流动相中发生溶胀,从而具有合适的比表面积和柱容量。图 1 是使用 Carbomix H-NP10 柱分离糖、醇及有机酸得到的一张色谱图。

分离机理

Carbomix H-NP 固定相的分离机理包括离子交换作用以及对待测物,如糖、有机酸等的亲水相互作用。此外还涉及了体积排阻、离子排斥、配体交换等机理。多种相互作用模式使 Carbomix H-NP 柱具备分离多种水溶性化合物的独特能力。在分离中树脂交联度是一个重要参数。PS/DVB 树脂是一种相对坚硬的凝胶介质。交联度越低,孔结构就越容易溶胀,也就越利于大分子化合物的渗透。因此,交联度 5% 的 Carbomix 树脂比 10% 交联度的树脂更适合于分离大分子量的低聚糖。小分子量的化合物可用 8% 交联度的 Carbomix 树脂进行分离。

色谱柱参数

我们可提供多种规格的 Carbomix 柱,内径从 75 μm 到 21.2 mm,长度从 5 cm 到 30 cm 不等。此外还可根据客户的要求定制色谱柱。色谱柱的长度和内径会影响分离的效果以及分析所需的时间。因此,在选择 Carbomix 柱的规格时,一定要保证选用的色谱柱内的树脂量恰好能够达到所需要的分离效果。如果化合物在树脂上保留过强,例如,在 7.8×300 mm 柱子上保留时间太长时,可选用短的柱子如 150 mm 色谱柱来缩短分析的时间。

色谱柱操作

样品制备 Carbomix H-NP 柱适合分离酸性和中性样品,如有机酸和各种糖、醇类物质。建议将样品溶液通过 0.45 μm 的滤膜过滤后进样。

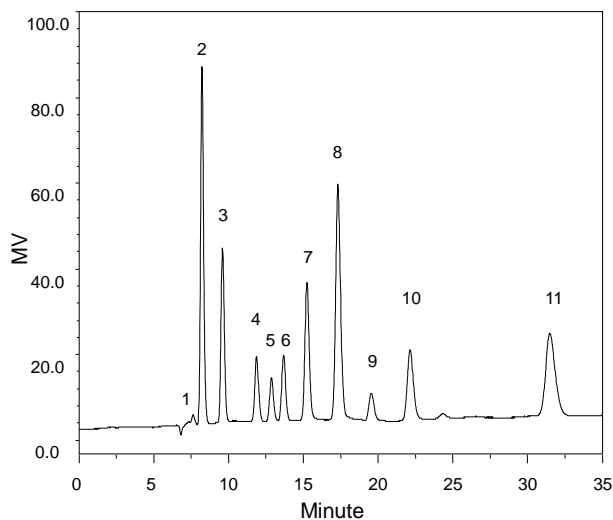


图 1 在 Carbomix H-NP10 (10 μm, 8% 交联度, 7.8×300 mm) 柱上进行糖、醇及有机酸混合物的分离

流动相: 2.5 mM H₂SO₄

流速: 0.6 mL/min

柱温: 55 °C

进样量: 10 μL

检测器: 示差折光检测器

样品:

- | | |
|-----------------------|-----------------------------------|
| 1. 麦芽三糖 (Maltotriose) | 2. 麦芽糖 (Maltose) |
| 3. 葡萄糖 (Glucose) | 4. 琥珀酸 (Succinic acid) |
| 5. 乳酸 (Lactic acid) | 6. 丙三醇 (Glycerol) |
| 7. 乙酸 (Acetic acid) | 8. 1,2-丙二醇 (1,2-Propylene glycol) |
| 9. 甲醇 (Methanol) | 10. 乙醇 (Ethanol) |
| 11. 仲丁醇 (Sec-Butanol) | |

溶剂 简单的溶剂选择和等度洗脱方式是使用 Carbomix 柱的一个主要特色。Carbomix H-NP 色谱柱建议流动相为稀酸溶液 (如 2.5 mM H₂SO₄ 或 0.1% H₃PO₄), 其适用的 pH 范围为 1-3。在某些特殊情况下,流动相中添加有机溶剂如乙腈等能够改善糖醇等化合物的分离度。另一方面,流动相中加入有机溶剂也可作为改性剂减少有机化合物在固定相上的保留。建议流动相中有机改性剂的含量应不高于 30% 乙腈或 5% 叔丁醇 (或异丙醇)。加入改性剂在芳香酸类化合物的分离中特别有效。有机改性剂可以用于减少分析的时间,但也可能因渗入 PS/DVB 使其溶胀从而改变树脂的容积。乙醇和异丙醇与乙腈的性质相似。不推荐使用甲醇、四氢呋喃、

二甲基甲酰胺以及其它非极性溶剂,因为它们可能会使柱床发生收缩或溶胀。在色谱柱的使用过程中,强烈建议采用在线脱气的方法。

温度 温度对 Carbomix H-NP 柱的分离性能有着显著影响。柱温会影响保留时间和分离效率。对于某一特定分析而言,温度所产生的影响取决于该分析所涉及的化学特性、填料类型、流动相等。但对大多数应用而言,随着柱温的升高保留时间将会缩短,柱效将会提高,同时柱压会随之降低。升高温度可减少固定相中慢传质过程所引起的谱带展宽效应,从而可提高分离的效率。此外,升高温度还能减小流动相的粘度,使溶质分子更容易地渗入树脂内部,从而可以获得高的分辨率。因此,控制温度对于精确的定性及定量分析都非常重要。**注意: Carbomix H-NP 柱的建议柱温为 55 °C。用户可根据分离情况对柱温进行优化,但需保证在 Carbomix H-NP 柱的工作温度范围内,超出温度上限(85 °C)或低于下限(35 °C)都将可能对色谱柱造成损伤。**

流速 由于合成的 Carbomix 介质交联度较低, Carbomix 树脂更像软凝胶,在高流速下会产生高柱压(Carbomix 柱工作柱压上限请参见技术参数表)。 Carbomix H-NP 通常在低流速下使用。尽管低流速会增加分析的时间,但这将有助于提高色谱柱的柱效。在某些应用中, 低的操作流速还允许将 2-3 根色谱柱串联起来,可用于分离和检测复杂样品中的组分。在常规分析中, 对规格为 7.8×300 mm 和 4.6×300 mm 的 Carbomix 色谱柱而言,其建议使用流速分别为 0.4-0.8 mL/min 和 0.1-0.3 mL/min 流速(取决于交联度),以获得最佳的分离效果和保留时间。

pH 为了获得最佳的分离效果和延长柱的使用寿命, Carbomix H-NP 柱的 pH 适用范围是 1-3。如使用了超出上述 pH 范围的流动相,将可能对色谱柱造成不可修复的损伤。

安全注意事项

Carbomix 柱通常在中等压力下运行。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,以防止微小的填料颗粒进入呼吸道。

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:

(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。由于 Carbomix 色谱柱的使用温度通常较高,因此色谱柱前的连接管线推荐使用 50 cm 以上长度的金属管线,以保证流动相在进入色谱柱前被充分预热。

(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。

(e) 连接好管线后,先设定流速为 0.1 mL/min,待柱温升至设定温度后再逐渐升高流速至设定值。

(f) 使用结束后,先将流速设定为 0.1 mL/min,再降低柱温至 40 °C 以下后,方可取下色谱柱。

色谱柱保养

运输溶剂 新的 Carbomix H-NP 柱保存在 2.5 mM 的硫酸中。在储存和运输过程中,柱填料可能会干涸。这时推荐用 10-20 倍柱体积的保存溶剂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 0.1 mL/min 逐渐升至所需的操作条件,直至基线稳定为止。(建议整个操作过程均待温度升至 50 °C 以上、压力稳定时进行)。

储存 长期不用时, Carbomix H-NP 柱保存在 2.5-5.0 mM 的硫酸中。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。


典型应用

Carbomix 树脂和色谱柱为食品和饮料中糖类、醇类、有机酸等的分离,以及生物化学、生物医药、生物技术等方面的应用提供了许多便利。

有机酸和醇类分析涉及糖类与有机酸、乙醇、乙二醇和发酵产品等的分离。

糖类分析样品包括甜菜糖、糖蜜、玉米糖浆、戊糖、纤维水解物、寡糖、葡萄糖、半乳糖、蔗糖、果糖等。

Table1. Specification Parameters for Carbomix H-NP Columns dimension 7.8 x 300mm.

Matrix		Sulfonated Poly-Styrene Divinyl Benzene Copolymer				
Ionic Form		Hydrogen				
Particle Size (µm)		10			5	
Cross Linking		10%	8%	5%	10%	8%
Max. Pressure (psi, 55°C)		1200	1000	800	1100	900
Max Temperature (°C)		85				
Typical Mobile Phase		2.5 mM H ₂ SO ₄ or 0.1% H ₃ PO ₄				
pH Range		1 - 3				
Organic Modifiers (Max)		5% ethanol, or isopropyl alcohol, or 30% acetonitrile				
Avoid 		Methanol, bases, metal ions, amines, etc.				
Cleaning	Solvent	5% acetonitrile in 5 mM H ₂ SO ₄				
	Flow Rate (mL/min)	0.2 mL/min				
	Temperature (°C)	55				
	Duration (hrs)	12				
Regeneration	Mobile Phase	2.5 mM H ₂ SO ₄				
	Flow Rate (mL/min)	0.2 mL/min				
	Temperature (°C)	55				
	Duration (hrs)	16				
Ship/Storage Solvent		2.5 mM H ₂ SO ₄				

产品规格

Carbomix H-NP

内径×长度 (mm×mm)	交联度	粒径	孔径	型号
4.6×250	5%	5 µm	NP	260505-4625
7.8×300	5%	5 µm	NP	260505-7830
4.6×250	8%	5 µm	NP	260508-4625
7.8×300	8%	5 µm	NP	260508-7830
4.6×250	10%	5 µm	NP	260510-4625
7.8×300	10%	5 µm	NP	260510-7830
4.6×250	5%	10 µm	NP	261005-4625
7.8×300	5%	10 µm	NP	261005-7830
4.6×250	8%	10 µm	NP	261008-4625
7.8×300	8%	10 µm	NP	261008-7830
4.6×250	10%	10 µm	NP	261010-4625
7.8×300	10%	10 µm	NP	261010-7830