

DreamHsil C-H-L 色谱柱方法开发建议

为了让广大客户最大程度的用好 DreamHsil C-H-L 色谱柱，以解决各种超大极性酸、碱化合物保留问题，峰拖尾问题，极性与疏水化合物共保留等众多问题。以下方法开发建议请了解并参照。

DreamHsil 色谱柱虽然可以在正相 (NP)，反相 (RP)，超临界 (SFC) 以及水性正相 (ANP) 四种模式中随时切换使用，但是 ANP 分离模式，是此色谱柱的最核心应用焦点。该模式下的方法也极适合 LC-MS 下分析各类普通 C18 所保留不了的大极性化合物，并且极大提升灵敏度。因此，当启用 DreamHsil C-H-L 色谱柱时，采用以下的 ANP 模式的开发方法十分有必要。也是它区别于任何其它色谱柱的一个典型特征与效果。

一、对于要采用 UV 检测器并且使用 195nm-210nm 之间的末端吸收波长的客户

流动相设置建议

A 相：水（含 0.1%磷酸或 0.1%TFA） B 相：乙腈

梯度设置（100mm 长色谱柱为例）建议

| 时间（分） | A 相（%） | B 相（%） |
|-------|--------|--------|
| 0 | 5 | 95 |
| 1 | 5 | 95 |
| 5 | 50 | 50 |
| 7 | 80 | 20 |
| 8 | 5 | 95 |

二、对于要采用 MS, ELSD, CAD, UV（非末端吸收波长）检测器的用户

流动相设置建议

(1) 酸性体系 A 相：水（含 0.1%甲酸） B 相：乙腈（含 0.1%甲酸）

(2) 近中性体系 A 相：10mM 甲酸铵 B 相：95%乙腈+5% 10mM 甲酸铵

梯度设置（100mm 长色谱柱为例）建议

| 时间（分） | A 相（%） | B 相（%） |
|-------|--------|--------|
| 0 | 5 | 95 |
| 1 | 5 | 95 |
| 5 | 50 | 50 |
| 7 | 80 | 20 |
| 8 | 5 | 95 |

说明：

1. B 相从高比例变化到 50% 时，一般是个重要的窗口，大部份方法中，如果在 50% 的 B 相时，样品都已洗脱，那么后续方法调整中，50% 的 B 相后，可直接 1 分钟切回 95%。

2. 柱长 50mm，时间一般设置 5 分钟内；柱长 150mm，时间一般设置 12 分钟内；柱长 250mm，时间一般设置 20 分钟内。根据峰形与分离度，调整梯度速度与总时间。

3. 以上方法同时适合 DreamHsil Amide 与 DreamHsil C11-WCX 色谱柱。在使用 C11-WCX 分析核苷酸类样品时，更建议采用上述第二条中的第（2）种流动相。