

凯若泰HLE广谱通用型固相萃取小柱产品说明书和应用方案

版本 1.0
2018.04.26

新加坡凯若泰科技有限公司
ChiralTek Pte Ltd
192 Westwood Crescent
Singapore 648559

版权与免责声明

所有版权归新加坡凯若泰科技有限公司（ ChiralTek Pte Ltd ）所有，并受版权法保护。未提前获得书面许可，不得翻印、复制、改写、或翻译本产品手册和应用说明书的全部或部分内容。否则，将面临法律诉讼。

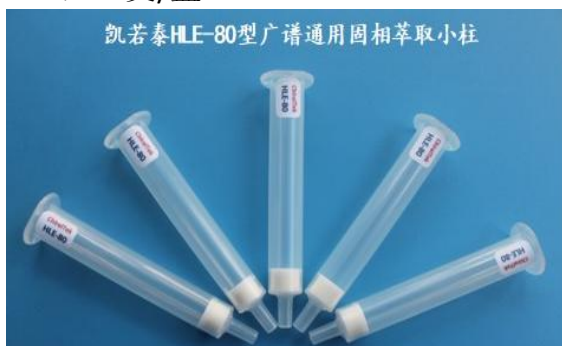
凯若泰科技有限公司坚持采用高标准工艺生产固相萃取小柱，以保证其固相萃取柱的高柱效、高重现性、高质量和高可靠性。但是，凯若泰公司对本手册可能含有的错误或因使用、改造、运输本公司萃取柱或柱部件而导致的附带损坏或间接损坏不负任何责任。

ChiralTek Pte Ltd
192 Westwood Crescent
Singapore 648559

HLE广谱通用型固相萃取小柱产品手册和应用说明书

HLE固相萃取柱简介

新加坡凯若泰科技公司生产一种新型广谱通用型HLE(Hydrophilic and Lipophilic Extraction)系列的固相萃取小柱(SPE)，对各类亲水亲脂型小分子化合物具有优良的萃取和纯化能力。本产品经特殊工艺，将含有C18(ODS)、双羟基(Diol)、乙烯吡咯烷酮和二乙烯基苯(HLB)等多种类型的化学功能团键合到特种复合材料，以制备出HLE填料，并采用凯若泰科技公司特有的装柱技术，装填出HLE系列广谱通用的固相萃取小柱。HLE-80型固相萃取小柱(如下图(A)所示)适用于较小体积(0.5 - 50mL)的样品的萃取与纯化，其规格参数如下：80mg/3mL，80-120Å，50支/盒。



图(A). 凯若泰 HLE-80固相萃取小柱照片

配合使用自动固相萃取仪，HLE系列固相萃取小柱能简便地实现对多类样品进行高效率的自动处理。HLE-300型固相萃取小柱(如下图(B)所示)适用于中等体积(50 - 500mL)的样品的萃取与纯化，其规格参数如下：300mg/6mL，80-120Å，20支/盒。880-HLE-1000型固相萃取小柱适用于较大体积(500mL以上)的样品处理。



图(B). 凯若泰 HLE-300固相萃取小柱照片

不同规格HLE系列固相萃取小柱具有不同的样品柱容量，用户需根据样品的实际体积和所含物质浓度的高低，选用不同规格的固相萃取小柱。所有型号的HLE系列固相萃取小柱均可适用于人工手动萃取和各类自动固相萃取仪。

HLE固相萃取柱产品特色

凯若泰HLE系列固相萃取小柱含多种功能团，同一支萃取小柱可用于正相、反相等多种淋洗模式包括梯度淋洗模式。在正相模式下使用异丙醇活化，或在反相模式用甲醇等极性溶剂活化后，HLE系列固相萃取小柱可方便简易地建立各类萃取与样品纯化方法。因含有HLB功能团，HLE系列广谱通用型的固相萃取小柱也是Waters HLB萃取柱的理想替代柱。

HLE系列固相萃取可用于复杂混合物中多种不同类型的小分子化合物的萃取与纯化，并可按极性、亲水性、或亲脂性的强弱分段淋洗。在亲水和亲脂淋洗溶剂条件下相互切换时，可使用100%的异丙醇作为过渡溶剂。

由于HLE系列固相萃取小柱同时含有C18(ODS)、双羟基(Diol)、乙烯吡咯烷酮和二乙烯基苯(HLB)等多种功能团，高容量HLE-1000型固相萃取小柱可用作多功能Flash色谱柱。配合使用具有梯度淋洗功能的自动萃取仪或纯化仪，可实现复杂样品(如中草药及其他天然产物)中多种目标化合物的提取与纯化。

HLE固相萃取柱操作要求

所有HLE固相萃取柱出厂时，均在氮气保护下密封包装在防静电、不透光的铝箔袋内，未开封的HLE系列固相萃取小柱可在室内室温下保存较长时间。HLE萃取柱开封

后，需避光保存在阴凉通风处，并尽量在半年内用完。凯若泰HLE固相萃取柱外包装塑料盒具有一定的抗挤压能力，强烈建议使用原厂外包装塑料盒储存HLE固相萃取小柱，并尽量减少外力挤压，以免填充柱床因微小变形而影响萃取重复性。

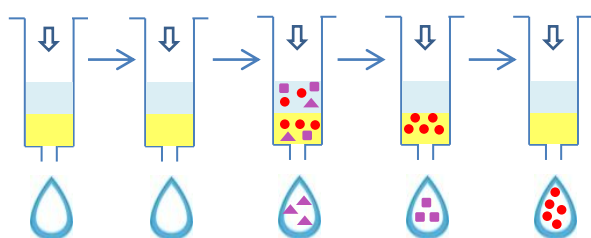
HLE系列固相萃取小柱的柱管由聚丙烯材料制作，筛板是由聚乙烯材料制成。可适用于常见的正相反相淋洗溶剂。如需使用特殊的非典型、非标准的淋洗溶剂，需考虑溶剂与聚丙烯和聚乙烯材料的相容性。不能使用强碱性物质作为淋洗液添加剂或者溶解样品，因为这样会损坏填料中的复合材料成分。

凯若泰HLE系列固相萃取小柱含多种功能团，在用异丙醇或甲醇活化后，HLE萃取柱的柱床呈淡黄色，这是新柱的正常颜色。如采用梯度淋洗，可HLE萃取柱可按极性强弱将萃取保留的复杂混合物分段洗脱。在使用梯度淋洗或快速多种淋洗模式切换时，建议使用正压淋洗方式，以保证高重现性。

HLE固相萃取柱典型方法建立

HLE固相萃取小柱可用于多种淋洗模式，利用这个特点可方便的建立广谱通用的萃取方法。例如，在典型的反相模式下，以3mL萃取小柱HLE-80萃取1~3mL血液样品里雌激素的方法如下图（C）所示：

[1]活化 [2]平衡 [3]上样 [4]洗涤 [5]洗脱



- 目标分析物：雌激素
- ▲ 其他干扰物

图(C).典型的反相模式萃取方法

典型的反相模式萃取的步骤包括活化、平衡、上样、洗涤、和洗脱浓缩。具体操作步骤如下：

[1]活化：用3mL×2甲醇活化HLE-80萃取柱，流速3mL/min左右；

[2]平衡：用3mL生理盐水（或纯水）平衡萃取柱，流速3mL/min左右；

[3]上样：1~3mL的血液样品(全血、血浆或血清均可)过柱，流速 1.5 mL/min；

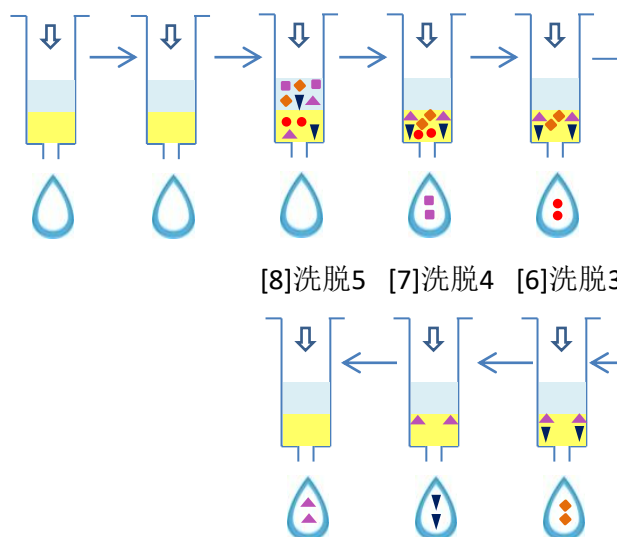
[4]洗涤：3mL去离子水（或纯水）淋洗小柱，约3mL/min左右，然后氮气吹干（使用自动萃取仪）或离心脱水、或真空抽干（人工手动萃取）约3min；

[5]洗脱浓缩：3mL甲醇洗脱雌激素，流速 1.5 mL/min，收集洗脱液至进样瓶中，氮气直接浓缩至0.5mL（使用自动萃取仪）或氮气吹干后定容至0.5mL（人工手动萃取），进样LC-MS或GC-MS分析测定。

以上方法是基于正常女性血液中内源性雌激素水平建立的，如需测定额外给药后血液雌激素，需进一步优化该萃取方法，尤其需优化最后一步甲醇的洗脱体积。

利用多模式分段淋洗方法，使用高容量HLE-1000或HLE-2000型萃取柱作为多功能Flash色谱柱，可实现中草药及其他天然产物中多种化合物的提取与纯化。例如，使用HLE-1000提纯淫羊藿50%乙醇粗提物的方法如下图（D）所示：

[1]活化 [2]平衡 [3]上样 [4]洗脱1 [5]洗脱2



- 无极盐、重金属等
- 淫羊藿苷（Icariin）等
- ◆ Breviflavone A等
- ▼ Dimethylcaritin等
- ▲ 多环芳烃及类似物等

图(D). 典型的多模式分段淋洗纯化方法

典型的多模式分段淋洗纯化淫羊藿50%乙醇粗提物的方法包括活化、平衡、上样、分段洗脱1、分段洗脱2、分段洗脱3、分段洗脱4、和分段洗脱5。具体的操作步骤如下：

[1]活化：用6mL×3异丙醇活化HLE-1000萃取柱，流速6mL/min左右；

[2]平衡：用6mL×2的50%乙醇平衡萃取柱，流速约6mL/min左右；

[3]上样：500mL左右的淫羊藿的50%乙醇粗提物溶液过柱上样，流速3mL/min左右（对于HLE-1000型萃取柱，每支萃取柱的总上样量为≤0.2g淫羊藿粗提物干重）；

[4]洗脱1：6mL×2超纯水淋洗萃取柱，流速约3mL/min左右，洗脱无机盐及重金属等水溶性离子，然后氮气直接浓缩至0.5mL（使用自动萃取仪）或氮气吹干后定容至0.5mL（人工手动萃取），进样ICP-MS分析。

[5]洗脱2：6mL×3甲醇淋洗小柱，流速约3mL/min左右，洗脱淫羊藿苷（Icariin）、淫羊藿定A（Epimedin A）、淫羊藿定B（Epimedin B）、淫羊藿定C（Epimedin C）等极性较大的化合物，然后氮气直接浓缩至0.5mL（使用自动萃取仪）或氮气吹干后定容至0.5mL（人工手动萃取），进样HPLC或LC-MS分析。

[6]洗脱3：6mL×3异丙醇淋洗小柱，流速约3mL/min左右，洗脱Breviflavone A、Breviflavone B等中等极性的化合物，然后氮气直接浓缩至0.5mL（使用自动萃取仪）或氮气吹干后定容至0.5mL（人工手动萃取），进样HPLC或LC-MS分析。

[7]洗脱4：6mL×2乙酸乙酯淋洗小柱，流速约3mL/min左右，洗脱Icaritin、DimethylIcaritin等弱极性的化合物，然后氮气直接浓缩至0.5mL（使用自动萃取仪）或氮气吹干后定容至0.5mL（手动萃取），进样HPLC（正相条件）或GC-MS分析。

[8]洗脱5：6mL×2正己烷淋洗小柱，流速约3mL/min左右，洗脱多环芳烃及类似物等非极性的化合物，然后氮气直接浓缩至0.5mL（使用自动萃取仪）或氮气吹干后定容至0.5mL（人工手动萃取），进样HPLC（正相条件）或GC-MS分析。

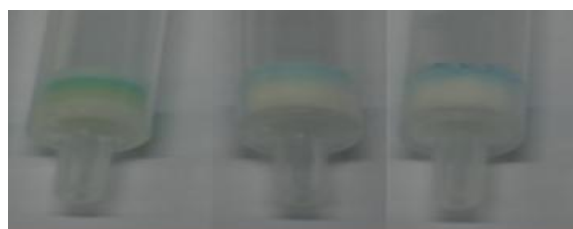
以上方法是基于淫羊藿的一个亚种 *Epimedium Brevicornum* 建立的。因不同的亚种的淫羊藿50%乙醇粗提物的化合物的

组成与含量均不相同，对不同亚种的淫羊藿的粗提物的提纯方法需进一步优化，尤其需优化不同淋洗溶剂的淋洗体积。

HLE萃取柱与其他厂商萃取柱的比较

与其他厂商的萃取柱相比，HLE萃取柱具有较好的萃取回收率。以相同反相条件下，对3mL浓度为1ppm的亚甲基蓝（Methylene Blue）水溶液萃取为例。当用3mL×2甲醇活化萃取柱后，上样相同体积（3mL）浓度为1ppm的亚甲基蓝水溶液后，HLE-80萃取柱、厂商A的C18萃取柱、和厂商P的ODS萃取柱（同样3mL规格）的柱床颜色如下图(E)所示：

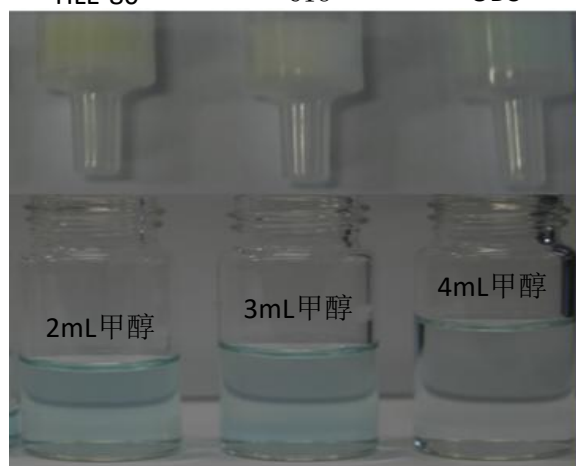
凯若泰	厂商A	厂商P
HLE-80	C18	ODS



图(E). 上样相同亚甲基蓝水溶液后不同厂商萃取柱柱床颜色对比

分别使用2mL、3mL、4mL甲醇洗脱后，萃取柱柱床和收集液的颜色如下：

凯若泰	厂商A	厂商P
HLE-80	C18	ODS



图(F). 不同体积甲醇洗脱后的萃取柱柱床和收集液的颜色对比

使用最少体积2mL甲醇可完全洗脱HLE柱（空白柱在甲醇里为浅黄色），即使加倍到4mL甲醇也不可完全洗脱厂商P的ODS柱。可见，HLE萃取柱具有较好的回收率。

HLE系列广谱通用型固相萃取小柱产品信息

凯若泰HLE系列固相萃取小柱一览表

产品型号	类别	规格	备注
880-HLE-80	HLE-80	80mg/3mL, 80-120Å, 50支/盒	适用于较小体积 (0.5 - 50mL) 的样品
880-HLE-150	HLE-150	150mg/3mL, 80-120Å, 50支/盒	适用于较小体积 (0.5 - 50mL) 的样品
880-HLE-300	HLE-300	300mg/6mL, 80-120Å, 20支/盒	适用于中等体积 (50 - 500mL) 的样品
880-HLE-1000	HLE-1000	1000mg/6mL, 80-120Å, 20支/盒	适用于较大体积 (500mL以上) 的样品
880-HLE-2000	HLE-2000	2000mg/12mL, 80-120Å, 10支/盒	适用于大体积 (1000mL以上) 的样品

本说明书和应用方案可能未及时更新，请访问英文网站 <http://chiraltek-column.com/Downloads.php> 可下载最新的中文版凯若泰HLE固相萃取柱详细完整的产品手册和应用说明书。

请拨打中国大陆本地市话号码95040358310可直接联系我们在新加坡的凯若泰技术团队。

新加坡凯若泰科技公司通讯地址：

ChiralTek Pte Ltd
192 Westwood Crescent
Singapore 648559

中国大陆地区本地市话号码：95040358310

电子邮件：

销售部： sales@chiraltek-column.com;

技术部： support@chiraltek-column.com;