

利用安捷伦缓冲液顾问软件的电荷异构体分析方法

安捷伦缓冲液顾问软件是一种软件工具，有助于实现重现性和精密度更高的离子交换方法。例如，该软件可使用四元混合方法生成盐梯度和恒定 pH 或 pH 梯度和盐梯度以实施净化。这些方法可直接导入安捷伦液相色谱采集软件中。

推荐的初始条件

盐梯度 (参见应用简报：5991-0656ZHCN)		pH 梯度 (参见应用简报：5990-9629CHCN)	
色谱柱：	Bio WCX, 4.6 × 250 mm, 10 μm Bio WCX, 4.6 × 250 mm, 5 μm	色谱柱：	Bio MAb, 4.6 × 250 mm, 5 μm
流动相：	A: 水 B: 1.6 mol/L NaCl C: 40.0 mmol/L NaH ₂ PO ₄ D: 40.0 mmol/L Na ₂ HPO ₄ 将预先确定的 C 和 D 组分混合，在所要求的 pH 范围内配制 20 mmol/L 缓冲溶液。	流动相：	A: 水 B: 1.6 mol/L NaCl C: 40.0 mmol/L NaH ₂ PO ₄ D: 40.0 mmol/L Na ₂ HPO ₄ 将预先确定的 C 和 D 组分混合，在所要求的 pH 范围内配制选定缓冲强度的缓冲溶液。
梯度：	0–20 min B 由 0% 升至 50% (pH 恒定，例如 pH 6.0)，20–25 min B 保持为 50%，25–35 min B 由 50% 降至 0%	梯度：	0–20 min, pH 6.0–8.0 20–25 min, 0–800 mmol/L NaCl 25–30 min, 800 mmol/L NaCl
柱温：	室温	柱温：	室温
进样量：	10 μL	进样量：	10 μL
检测：	UV, 220 nm	检测：	UV, 220 nm
仪器：	1260 Infinity 生物惰性液相色谱系统	仪器：	1260 Infinity II 生物惰性液相色谱系统
样品：	卵清蛋白、核糖核酸酶 A、细胞色素 C、溶菌酶	样品：	IgG 单克隆抗体
样品浓度：	2 mg/mL (溶于 20 mmol/L 磷酸钠缓冲液, pH 6.0)	样品浓度：	2 mg/mL (溶于 20 mmol/L 磷酸钠缓冲液, pH 6.0)
注：同样，上述方法也可以应用于经过改进的 Agilent WAX 和 SCX 色谱柱。 如需获取关键质量属性应用文集，请访问： www.agilent.com/chem/cqa-applications			

基于色谱柱内径和填料粒径选择流速

2.1 mm 内径色谱柱		4.6 mm 内径色谱柱	
填料粒径, μm	流速, mL/min	填料粒径, μm	流速, mL/min
1.7	0.1–0.3	1.7	0.1–0.3
3	0.1–0.5	3	0.1–0.5
5	0.1–0.8	5	0.1–0.8
10	0.1–1.0	10	0.1–1.0
注：始终从低流速开始，并默认采用建议的色谱柱操作限值。			