



UniSil[®]HILIC 硅胶色谱填料 产品使用说明书

文件编号：NM-S-DF-0503

UniSil®HILIC 硅胶填料

使用说明

产品简介

UniSil®亲水作用(HILIC)硅胶填料运用领先的钝化和键合技术开发的新一代 HILIC 硅胶微球填料，具有亲水分离分配作用力等多重效果，流动相允许使用 60%的水相，采用更独特的强极性固定相，相比普通的 HILIC 色谱填料具有更好的选择性、稳定性和更长的寿命。特别适用于普通反相色谱难以保留的极性或亲水化合物的分离分析，尤其是对强极性碱性化合物的保留能力更强，无需使用己烷和氯仿等有毒溶剂，与反相色谱柱具有互补的分离选择性。由于可使用高比例挥发性的流动相，增加了 LC/MS 分析的灵敏度。

纳微科技可提供多种 HILIC 填料，包括非键合硅胶，氰基、氨基、二醇基、酰胺基、双氨基和咪唑啉类键合相硅胶。也可提供聚合物为基质的 HILIC 色谱填料，以满足强酸碱分离条件的要求。此外，纳微科技还可为客户提供定制化的 HILIC 色谱填料，以满足特殊的应用需求。

纯化操作步骤

层析柱装填（推荐动态轴向压缩柱装柱法）

匀浆液的浓度是指填料沉降至体积恒定后的体积比上匀浆液的总体积。为了取得最佳的装柱效果，我们推荐异丙醇为匀浆溶剂，匀浆液浓度为 50~60 %。



图 1. UniSil® HILIC 硅胶色谱填料产品图

具体装柱方法如下：

1) 首先计算所装色谱柱的柱体积 V_c^* ，然后计算该体积所需填料的质量 m ，按照下列公式计算：

$$V_c = h \times \pi r^2; \quad m = \rho \times V_c$$

* V_c ：色谱柱柱体积； h ：色谱柱高度； r ：色谱柱半径； ρ ：填料堆积密度。为获得紧密的柱床，推荐填料的质量过量，一般为所需填料 m 的 1.05~1.10 倍。

2) 准备好色谱柱，总的柱体积应该足够把匀浆液一次倒入。

3) 使用洗瓶或倒流的方法将色谱柱底部的筛板用匀浆液溶剂润湿，并关掉色谱柱出液口阀门，在色谱柱底部保留 1~2 cm 高的液体。

4) 重新搅动匀浆液，确保其分散均匀。

5) 把匀浆液慢慢的倒入色谱柱中，防止混入气体。

6) 待匀浆液完全转移到色谱柱，用装有匀浆液溶剂的洗瓶冲洗色谱柱内壁。

7) 对于粒径 10 μm 的硅胶填料推荐设定 80~100 Bar 的压力来装填动态轴向压缩柱。

柱子的使用注意事项

纳微科技提供的 HILIC 柱中的液相是含 90 % (v/v) 乙腈的醋酸铵(10 mM, pH=6.8)溶液。在储存和运输过程中，硅胶填料可能会干涸。这时推荐用 10-20 倍柱体

积的纯有机溶剂如甲醇、乙腈等进行冲洗以活化色谱柱。接着可使用用户自己选择的流动相冲洗色谱柱。流速升至所需的操作条件，直至基线稳定为止。溶剂替换时请使用正常操作流速的一半。

HILIC 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。

注：如果使用了含甲酸盐的流动相（如甲酸铵、甲酸等）并把缓冲盐冲洗掉后，在再次安装色谱柱和使用含甲酸盐流动相运行时需要稍长一些的时间进行平衡。注意溶剂组分的剧烈改变和频繁的溶剂替换可能导致色谱柱寿命的缩短。

样品与流动相

为了避免色谱柱的堵塞，所有样品和溶剂，包括缓冲溶液在内，都必须在使用前用 0.45 μm 或 0.2 μm 的滤膜过滤。样品溶剂需要含 60-100 % 有机溶剂或为初始洗脱液组成。水的比例应被最小化，使用弱亲水作用溶剂如乙腈。推荐使用 5 % 的水作为自动进样器的清洗液。用于 HILIC 的相对溶剂强度为：丙酮<乙腈<异丙醇<乙醇<甲醇<水。

适用于 HILIC 分离的缓冲盐体系为甲酸盐和醋酸盐，因为它们在很高比例的有机溶剂中也有很好的溶解性。避免使用磷酸盐以及其它低溶解性缓冲盐，以防止在柱床产生沉淀。对于大多数分析样品，推荐的缓冲盐浓度为 5-20 mM，根据在洗脱液中溶解度的不同，上限为 200-300 mM。避免使用 TFA 和其它离子对试剂，因为它们会干扰 HILIC 分离机理，并抑制 MS 信号。

在通常的 HILIC 应用中，一般使用含 50-95 % 浓

度乙腈的水溶性缓冲盐（如甲酸铵、醋酸铵或它们的酸，在有机相中具有很高的溶解性）。HILIC 色谱柱可在 pH=1.5 ~ 8 范围内操作，避免使用强碱和氢氧化钠进行清洗。为了获得更佳的分选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。

如果对柱子并不熟悉，推荐的起始和平衡程序为从 90 % (v/v) 乙腈/10 % (v/v) 缓冲液（如 10 mM 醋酸铵）到 40 % (v/v) 乙腈的梯度。一开始请使用相对较低的流速以确保获得更好的分离效率。

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。

再生

如果压力突然增加，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。如果柱压升高或选择性发生变化，请使用乙腈/水（50:50, v/v）来清洗去除极性污染物。如果该冲洗程序并不能解决问题，则使用乙腈/水（95:5, v/v）进行清洗。

储存

色谱填料长期不使用时，应清洗干净并干燥好，使用密封性能好的袋子或者桶装好，置于通风干燥的常温环境中保存，保质期为 5 年。色谱柱储藏长期不用时，请将色谱柱保存在乙腈/水（95:5, v/v）中，为了防止柱床干涸，请用堵头塞紧色谱柱的两端。

表 1. UniSil®HILIC 硅胶填料基本属性一览表

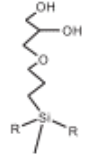
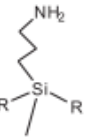
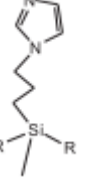
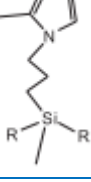
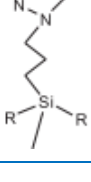
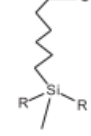
产品类别	功能基团	键合相结构式	粒径 (μm)	孔径 (Å)	比表面积 (m ² /g)	堆积密度 (g/mL)	碳含量 (%)	pH 使用范围	特性和应用
UniSil®	硅羟基							2-8	详细请参见 UniSil®正相硅胶填料中的介绍
UniSil® Diol	二醇基		3/5/10	120	~350	~0.50	7	2-8	可以替代正相硅胶，相比裸硅胶选择性有着互补性和快速平衡能力，适用于极性化合物的分离
UniSil® NH2	氨丙基		3/5/10	120	~350	~0.50	5	2-8	可用于正相、反相及弱阴离子交换，主要应用于糖、核苷酸酶、水溶性维生素的分离分析
UniSil® HILIC	咪唑基		3/5/10	120	~350	~0.50	5	2-8	极性成分选择性较好，保留能力较强，适合低聚糖、甘氨酸等分离
UniSil® HILIC-2M	2-甲基咪唑基		3/5/10	120	~350	~0.50	6	2-8	极性成分选择性好，保留能力强，适合三聚氰胺、链霉素等分离
UniSil® HILIC-T	三氮唑基		3/5/10	120	~350	~0.50	5	2-8	极性成分选择性较好，保留能力较强，适合低聚糖、甘氨酸等分离
UniSil® Amide	酰胺基		3/5/10	120	~350	~0.50	5	2-8	极性成分选择性好，相比氨基填料，键合相更加稳定，适合甜菊糖的分离

表 2. UniSil®HILIC 硅胶色谱柱一览表

色谱柱名称	柱形规格 (mm×mm)	pH 范围 (NaOH)	粒径 (μm)	孔径 (\AA)	碳载量 (%)	USP 分类号
UniSil®HILIC 色谱柱	4.6×100, 4.6×150, 4.6×200, 4.6×250 分析多肽, 氨基酸等	2-8	6	100	NA	L3
UniSil®HILIC T 型色谱柱	4.6×100, 4.6×150, 4.6×200, 4.6×250 分析低聚糖、甘氨酸、可卡因、甘氨酸等	2-8	10	100	10	NA
UniSil®HILIC 2M 型色谱柱	4.6×100, 4.6×150, 4.6×200, 4.6×250 分析聚氰胺、三聚氰胺、链霉素、百草枯等	2-8	10	100	10	NA

故障排除

纳微科技的硅胶色谱填料可以耐受多次装柱和拆卸。拆卸时，将一个足够大的容器放在柱底部，打开柱底塞，放出浆液，用容器收集浆液；或移走柱顶部的液体分配器，向层析柱中加入足够量的流动相，轻轻搅拌使得柱内填料成浆液，悬浮的浆液可以用虹吸管抽至合适的容器中。另有两个事项需要注意：任何进入色谱柱的溶液均要经过 0.45 μm 滤膜；任何时候都不要用硝酸来清洗纳微科技的色谱填料产品。

1、柱压升高

原因分析	建议措施
流速过高	降低流速
泵和收集器之间的阀门未打开	打开阀门
仪器在线过滤器堵塞	拆掉过滤器并清洗，可能的话替换过滤器；在使用前过滤样品和洗脱液
柱前堵塞	使用 20 BV 流动相反冲色谱柱
部分样品或杂质未清洗干净	执行清洗操作
样品在柱子上发生沉淀	遵循清洗步骤，调节洗脱液来维持样品溶解度
柱床被压缩	重新装填柱子
色谱柱使用时间过长	更换色谱柱或更换色谱填料
使用 pH 超出正常范围	清洗后若柱压无法恢复则建议更换色谱柱或色谱填料

2、样品在梯度洗脱前被洗脱

原因分析	建议措施
样品溶液中离子强度太高	降低样品溶液的离子强度，如可采用稀释或脱盐等手段
样品的 pH 不合适	调节 pH 增加结合强度
随着上样次数增加，部分样品或杂质未清洗干净	执行清洗操作

3、样品在洗脱过程中不被洗脱

原因分析	建议措施
洗脱液的离子强度过低	增加洗脱液的浓度
洗脱液的洗脱能力过低	更换洗脱能力更强的洗脱液
洗脱液的 pH 不合适	调整洗脱液的 pH

4、分辨率降低

原因分析	建议措施
不合适的洗脱条件，如梯度过陡或流速过高	改变洗脱条件，采用较缓的梯度洗脱或等度洗脱，降低流速
柱子未装填好	检查柱效，重新装柱
在柱子顶端或柱后有大部分的混合空间	加高填料的上表面或减少柱子后体积
柱子过载	清洗并重新平衡色谱柱，降低上样量
部分样品或杂质未清洗干净	执行清洗操作
粒径较大	更换同种类型粒径更小的填料
选择性差	增加或调解离子对试剂或更换其他类型填料
由于表面的硅烷醇导致混合模式滞留	降低 pH 抑制硅烷醇或更换柱子

5、柱床中有气泡

原因分析	建议措施
洗脱液没有脱气	将缓冲液充分脱气
流动相在混合后产生气泡	如果可能的话，线下将流动相混合后脱气，然后等度洗脱
柱子未装填好	重新装柱

6、基线漂移

原因分析	建议措施
色谱柱未平衡好	增加平衡时间
洗脱液 A, B 在同一紫外波长下吸收系数不同	使用不同的波长或走空白梯度
洗脱液不纯	使用高纯度色谱纯级试剂

7、出现鬼峰

原因分析	建议措施
前一个样品的不完全洗脱	再生
洗脱液不纯	运行空白对照或使用高纯度的色谱纯级试剂
洗脱液本身的吸收	运行空白对照，或更换没有紫外吸收的洗脱液
痕量离子性杂质结合在色谱柱上，在平衡和上样过程中被浓缩，洗脱时出峰	清洗色谱柱

订货信息

产品名称	包装规格	存货编码
UniSil®10-100	100 g	19000-100010-4100
	500 g	19000-100010-4500
	1 Kg	19000-100010-3001
	10 Kg	19000-100010-3010
	20 Kg	19000-100010-3020
UniSil®8-120	100 g	19000-080012-4100
	500 g	19000-080012-4500
	1 Kg	19000-080012-3001
	10 Kg	19000-080012-3010
	20 Kg	19000-080012-3020
UniSil®10-120	100 g	19000-100012-4100
	500 g	19000-100012-4500
	1 Kg	19000-100012-3001
	10 Kg	19000-100012-3010
	20 Kg	19000-100012-3020
UniSil®20-120	100 g	19000-200012-4100
	500 g	19000-200012-4500
	1 Kg	19000-200012-3001
	10 Kg	19000-200012-3010
	20 Kg	19000-200012-3020
UniSil®30-120	100 g	19000-300012-4100
	500 g	19000-300012-4500
	1 Kg	19000-300012-3001
	10 Kg	19000-300012-3010
	20 Kg	19000-300012-3020

续上表。

UniSil®50-120	100 g	19000-500012-4100
	500 g	19000-500012-4500
	1 Kg	19000-500012-3001
	10 Kg	19000-500012-3010
	20 Kg	19000-500012-3020
UniSil®10-1000	100 g	19000-100100-4100
	500 g	19000-100100-4500
	1 Kg	19000-100100-3001
	10 Kg	19000-100100-3010
	20 Kg	19000-100100-3020
UniSil®10-1500	100 g	19000-100150-4100
	500 g	19000-100150-4500
	1 Kg	19000-100150-3001
	10 Kg	19000-100150-3010
	20 Kg	19000-100150-3020
UniSil®10-120 Diol	100 g	19009-100012-4100
	500 g	19009-100012-4500
	1 Kg	19009-100012-3001
	10 Kg	19009-100012-3010
	20 Kg	19009-100012-3020
UniSil®10-120 CN	100 g	19008-100012-4100
	500 g	19008-100012-4500
	1 Kg	19008-100012-3001
	10 Kg	19008-100012-3010
	20 Kg	19008-100012-3020
UniSil®10-120 NH ₂	100 g	19005-100012-4100
	500 g	19005-100012-4500
	1 Kg	19005-100012-3001
	10 Kg	19005-100012-3010
	20 Kg	19005-100012-3020

UniSil®10-120 HILIC-T	100 g	19012-100012-4100
	500 g	19012-100012-4500
	1 Kg	19012-100012-3001
	10 Kg	19012-100012-3010
	20 Kg	19012-100012-3020
UniSil®10-120 HILIC-2M	100 g	19011-100012-4100
	500 g	19011-100012-4500
	1 Kg	19011-100012-3001
	10 Kg	19011-100012-3010
	20 Kg	19011-100012-3020
UniSil®10-120 Amide	100 g	19017-100012-4100
	500 g	19017-100012-4500
	1 Kg	19017-100012-3001
	10 Kg	19017-100012-3010
	20 Kg	19017-100012-3020

注：纳微科技还可为您提供内径为 10/21.2/30/50 mm，长度为 100/150/250 mm 的制备柱。更多规格型号或定制，请联系我们。

苏州纳微科技股份有限公司

全国咨询热线：400-828-1622

中文网站：www.nanomicrotech.com

英文网站：www.nanomicro-technology.com

邮箱：info@nanomicrotech.com

总部地址：苏州工业园区百川街 2 号 215123

