



UniSil[®]两相硅胶色谱填料 产品使用说明书

文件编号：NM-S-DF-0505

UniSil®两相硅胶填料

使用说明

产品简介

纳微科技采用超高纯单分散均一粒径的硅胶微球（纯度>99.999%，CV值<5%）和专利键合技术研发的 UniSil®两相硅胶色谱填料具有更高的官能团覆盖率，应用范围很广，是非常理想经济的选择。该系列填料通常是指 NH₂ 氨基填料和 CN 氰基填料这两种，该填料多数情况下即可用于正相模式，也可用于反相模式或弱阴离子交换模式。

由于采用品质卓越的 UniSil®单分散均一填料，纳微科技制备柱能够确保半制备与制备规模的良好重现性，并且线性放大更容易，更灵活；优质的填料配合精湛的装柱技术，充分确保了柱床的稳定性。经测试，10 μm 理论塔板数>40,000/m，5 μm 理论塔板数>100,000/m，峰对称性介于 0.97~1.15。此外，单分散填料还具有洗脱集中和节约洗脱溶剂等好处。

产品优势

- (a) 线性放大更容易和更灵活；
- (b) 柱床稳定，柱效更高；
- (c) 洗脱更集中，减少洗脱溶剂的用量；
- (d) 允许更高的流速和压力，使用寿命更长。



图 1. UniSil®两相硅胶色谱填料产品图

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%。匀浆液的浓度可以按照如下方法配制：

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，对于 20~40 μm 的硅胶填料推荐设定 40~70 Bar 的压力，来装填动态轴向压缩柱。

柱效评价

通常在使用色谱填料之前，均会进行色谱柱性能测试，并保存测试结果，以作为评价今后色谱性能变化的重要参考。对于两相硅胶填料，我们推荐采用的流动相配比为正己烷/乙酸乙酯=90/10，测试前用流动相平衡硅胶色谱柱 4~5 倍柱体积。具体测试参数详见下表：

表 1. 两相硅胶色谱柱柱效测试参数表

参数	两相硅胶色谱法
样品	2% (v/v) 苯甲酸甲酯的正己烷溶液
上样量	0.1% 柱体积
流动相	正己烷/乙酸乙酯=90/10
线性流速	100~250 cm/h
检测	254 nm

关于流动相的选择

纳微科技生产的两相硅胶填料可在正相条件下使用正己烷、乙酸乙酯、二氯甲烷、氯仿等有机溶剂，反相条件下可采用甲醇、异丙醇。两相填料在进行两相体系流动相转换时，应先用原流动相（如正己烷/乙酸乙酯体系、异丙醇）以 0.5 mL/min 低流速冲洗柱子约 30 BV 进行过渡，然后再进行流动相洗脱。此外，若使用的流动相体系中含有缓冲盐，则应在两相

体系更换前采用含水 80 % 的混合溶液以 0.5 mL/min 低流速进行流动相过渡操作，借以避免缓冲盐在分析柱中析出。切记：对于两相硅胶填料采用异丙醇等进行过渡是非常重要的环节，务必保证柱保存溶剂与流动相可以互溶。

清洗

纳微科技的两相硅胶色谱填料在正相条件下使用完毕后，可采用异丙醇以 0.5 mL/min 流速冲洗色谱柱约 30 BV，再用甲醇以 1 mL/min 流速冲洗色谱柱约 10 BV，再用异丙醇以 0.5 mL/min 流速冲洗色谱柱约 10 BV。若使用的分析用流动相中含有缓冲盐类，分析完毕需先用不含缓冲盐的同比例流动相冲洗约 30 BV，再按上述方法进行清洗。其在反相条件下使用完毕后，可使用极性低的流动相进行反复洗脱，如可选纯乙腈、甲醇或 95% : 5% 的二氯甲烷与甲醇的混合溶液（若上述清洗方法效果不佳，可采用极端方法即二甲亚砜或二甲基甲酰胺在低流速下洗脱，注意在切换使用不同极性溶剂清洗时，应使用与上次清洗溶剂互溶的溶剂冲洗置换一下填料的液体环境，如异丙醇），但需注意，冲洗溶剂中有机相不能低于 10%。

再生

色谱柱在经过长期使用之后，往往会出现柱效下降（柱子的理论塔板数降低）的情况，此时可对色谱填料柱进行再生操作，对于两相硅胶填料可用一系列极性逐渐增强的溶剂清洗色谱柱，比如正己烷→二氯甲烷→异丙醇→甲醇，然后再按相反地顺序换回原来的流动相。为保证填料的使用寿命，我们建议流动相中水溶液的体积比例小于 50%。

表 2. UniSil®两相硅胶填料属性一览表

产品名称	粒径 (μm)	孔径 (Å)	pH 值范围	主要特点	典型应用
UniSil® NH ₂ 氨基填料	1.7/2.7/3/5/6/8 /10/15/20/30	100	2-8	可用于正相、反相，普适性强	反相模式下： 分离各种单糖，不宜分析含醛基、羰基的化合物、还原糖。 正相模式下： 分析极性化合物、生育酚和一些可溶解在烷烃、烯烃和芳香烃中的有机物。
UniSil® Amide 酰胺填料		120			
		300			
UniSil® CN 氰基填料	5/6/8/10/15	100	2-8	可用于反相、正相，普适性强	反相模式下： 疏水性分子洗脱快，对极性化合物具有独特选择性；对强碱性化合物（如铵盐）分离峰形良好。 正相模式下： 可替代常规正相硅胶填料，平衡较快，比非衍生硅胶表面活性更佳。
		120			
		300			

UniSil®两相硅胶填料的应用范围非常广泛，应用如下：

	UniSil®-NH ₂ 氨基填料	UniSil®-CN 氰基填料
典型应用	非还原糖（如 D-半乳糖、D-乙酰葡萄糖糖、D-核糖，寡糖等）、核苷酸酶、水溶性维生素、丙二烯磷酸、门冬氨酸和鸟氨酸及其原料、精氨酸、富马酸、门冬氨酸钾、左卡尼汀、尿囊素铝等。	蛋白类固醇、儿茶酚、极性天然物、易福酰胺片、盐酸艾司洛尔、奥氮平、奥拉西坦、硫酸双/盐酸胍屈嗪、曲格列汀、偶氮甲酰胺、氢溴酸、红谷豆碱、奥格列汀、甲氧苄啶与杂质 B、新利司他等。

表 3. UniSil®两相硅胶制备柱属性一览表

色谱柱名称	柱型规格 (mm×mm)	粒径 (μm)	孔径 (Å)	碳含量 (%)
UniSil® Amide 制备柱	10×250	10 μm 以上	100	4
	21.2×250		120	
	30×250		200	
	50×250		300	
	反相模式下分离各种单糖，不宜分析含醛基、羰基的化合物、还原糖； 正相模式分离极性化合物 Amide 型更适合分离纯化乳糖类物质。			

注：特殊规格，提供客户定制服务；还提供非单分散均一粒径填装的系列制备柱产品。

储存

填料长期保存：填料应清洗干净并进行充分干燥，使用密封性能好的袋子或者桶装好，在阴凉干燥处密封保存。或可将干净填料保存在正己烷或异丙醇中，保质期为3年。

故障排除

如果您在使用两相硅胶产品遇到任何问题，请参考下表进行解决或联系我们。

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，或者替换过滤器；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
起始洗脱液中洗脱剂浓度比例过高	降低洗脱剂浓度比例
pH 不合适	调节 pH 增加结合
随着上样次数的增加，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
洗脱液的离子浓度过低	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 导致沉淀	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

续上表。

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没有样品的空白梯度
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®10-120 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 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

