



UniSil[®]反相硅胶色谱填料 产品使用说明书

文件编号：NM-S-DF-0502

UniSil®反相硅胶填料

使用说明

产品简介

UniSil®反相色谱填料是在纳微科技生产的单分散多孔球形硅胶的基础上,利用先进的表面键合和封端技术开发的生物系列产品。UniSil®反相色谱填料由于键合密度高、封端良好、粒径均一和机械强度高,因此具有化学稳定性好(耐碱范围宽)、寿命长、装柱容易、柱效高、分辨率好、反压低等特性。目前已广泛应用于各种有机化合物、天然产物及生物大分子的色谱分析和工业分离纯化。

纳微科技已成为全球大规模生产单分散硅胶色谱填料的行业领导者。UniSil®硅胶色谱制备柱采用品质卓越的 UniSil®单分散填料,确保了半制备与制备规模的良好重现性,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,可确保柱床稳定性。经过测试,10 μm 理论塔板数> 40,000 T.P./M, 5 μm 理论塔板数不低于 80,000 T.P./M。此外,单分散填料还带来洗脱集中和节约洗脱溶剂等好处,大大降低了工业化制备的生产成本,提高相关产品性价比和竞争力。



图 1. UniSil®反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 UniSil®系列反相色谱填料柱，我们推荐采用的流动相为甲醇，将甲苯的柱效、对称因子及保留时间定为色谱性能参考指标，但要注意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. 反相硅胶色谱柱柱效测试参数表

参数	反相硅胶色谱法
样品	2% (v/v) 甲苯的甲醇溶液
上样量	0.1% 柱体积
流动相	甲醇
线性流速	100~250 cm/h
检测	UV@254 nm

关于流动相的选择

纳微科技反相硅胶填料可以使用异丙醇、甲醇、乙醇、乙腈和四氢呋喃等有机溶剂，也可以使用 TFA 等离子对试剂来改善分离效果。

对于非耐水反相填料而言，由于填料表面键合了强疏水性的基团，因此不宜设定流动相为 100% 的水相。且若流动相中有机相比例低于 10%，则不宜长时间运行。注意在使用后务必应用有机相比例大于

50% 的流动相进行清洗保存。

清洗

色谱填料经过长时间的使用后，可能会因为样品中一些强保留物质累积吸附在填料表面难以被洗脱，这会严重影响色谱填料的性能和后期的填料应用效果。为了对色谱填料进行清洗（可在线清洗，也可转移到容器中处理），特此推荐使用极性更低的流动相进行反复洗脱，如可选用纯乙腈、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。

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，一般将一个冲洗流程确定为 10 倍柱体积。

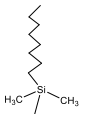
反相硅胶填料可用一系列非极性逐渐增强的溶剂清洗色谱柱，比如乙腈（甲醇）→异丙醇→二氯甲烷，然后再按相反地顺序换回原来的流动相。

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，保质期为 5 年。

填料短期保存：在乙腈或甲醇中保存。

表 2. UniSil®反相硅胶填料属性一览表

产品名称	键合相名称	键合相结构式	粒径(μm)	孔径(Å)	比表面积(m ² /g)	堆积密度(g/cm ³)	碳含量(%)	pH 使用范围	特性和应用
UniSil®C18			8/10	100	~450	~0.60	17%	2-8	常规色谱应用，通适性广，适合绝大多数多肽、抗生素及其天然产物小分子的分离纯化
				120	~350	~0.55	16%		
				200	~200	~0.50	12%		
				300	~100	~0.45	7%		
			15/20/30/50	120	~350	~0.55	16%		
UniSil® C18 AQ	十八烷基		3/5/10	120	~350	~0.55	15%	2-8	可在 100%水相使用，较常规 C18 提高了对极性化合物的保留和选择性
UniHybrid™ C18			10	120	~300	~0.55	17%	1-11	更宽的 pH 使用范围，更长的使用寿命，适合碱性化合物的分离纯化
UniSil® C18 Polar	酰胺基内嵌十八烷基		3/5/10	120	~350	~0.55	16%	2-8	适用 100%水相，内含酰胺功能团，具有与 UniSil® C18 AQ 对极性化合物有不同的选择性
UniSil® C8			8/10	100	~450	~0.55	11%	2-8	较 C18 键合相疏水能力弱，选择性与 C18 相当，适合较大分子量多肽的分离纯化
				120	~350	~0.50	10%		
				200	~200	~0.45	7%		
			15/20/30/50	120	~350	~0.50	10%		
UniHybrid™ C8	辛烷基		8/10	120	~300	~0.50	11%	1-11	耐碱性强，pH 适用范围宽，使用寿命长，具有独特的分离选择性，尤其适合碱性化合物的分离

续上表。

UniSil® C4	丁烷基		8/10	120	~350	~0.45	6%	2-8	对疏水性和极性化合物具有较强的保留能力，适用于生物样品分离
				300	~100	~0.40	3%		
UniSil® Phenyl	苯丙基		10	120	~350	~0.50	12%	2-8	优异的封端，有π-π作用的选择性，特别适合芳环化合物的分离
Uni® InsulinC8 Type A	辛烷基		8	/	/	/	/	2-12	机械强度高、分辨率好，具有超强的耐碱性，用于胰岛素产品的精纯
Uni® InsulinC8 Type B	辛烷基		8	/	/	/	/	2-12	机械强度高、分辨率好，具有超强的耐碱性，用于胰岛素产品的精纯
UniSil® Lira	/	/	8	/	/	/	/	2-12	机械强度高、分辨率好，具有超强的耐碱性，是利拉鲁肽分离纯化专用硅胶色谱填料

注：对于特殊规格需求，提供专业化客户定制服务。

提供 Uni™Hybrid 超耐酸碱系列 (pH=1-11)、普通系列 (pH=2-8)。

Uni® InsulinC8 Type A、Uni® InsulinC8 Type B 是胰岛素专用硅胶填料，适用于以下胰岛素产品及其类似物：

重组胰岛素、门冬胰岛素、甘精胰岛素、德古胰岛素、地特胰岛素、赖脯胰岛素。

表 3. UniSil®反相硅胶制备柱属性一览表

色谱制备柱名称	柱型规格 (mm×mm)	粒径 (μm)	孔径 (Å)	碳载量 (%)
UniHybrid™ C18 制备柱 (pH 1-11)	10×100	5 8 10	100 120	17~16
	10×150			
	10×250			
	21.2×150			
	21.2×250			
	30×150			
	30×250			
	50×250			
耐碱型制备柱，用于分离纯化小分子药物、氨基酸、PTC-氨基酸、维生素、多肽、碱性药物、中药等。				
UniSil® C18 制备柱 (pH 2-8)	10×100	5 8 10 15 20 30	100 120 200 300	20~14
	10×150			
	10×250			
	21.2×150			
	21.2×250			
	30×150			
	30×250			
	50×250			
制备柱，用于分离纯化小分子药物、氨基酸、PTC-氨基酸、维生素、多肽等。				
UniSil® C18 AQ 制备柱	10×250	5 8 10	100 120	12~11
	21.2×250			
	30×250			
	50×250			
表面键合亲水基团，可用于分离强极性化合物、药物、抗生素、多肽/蛋白核酸。				
UniHybrid™ C8 制备柱 (pH 1-11)	10×150	5 8 10	100 120 200 300	11~10
	10×250			
	21.2×150			
	21.2×250			
	30×150			
	30×250			
50×250				
耐碱型 C8 制备柱，用于分离纯化酸性、碱性和中性化合物，如雌激素、蛋白、多肽、双酮酞嗪、地特胰岛素。				

续上表。

UniSil® C8 制备柱	10×150			
	10×250			
	21.2×150	5	100	11~10
	21.2×250	8	120	
	30×150	10	200	
	30×250		300	
	50×250			
UniSil® C4 制备柱	10×150			
	10×250			
	21.2×150	5	100	7~6
	21.2×250	10	120	
	30×150	30	200	
	30×250		300	
	50×250			
常规经济型 C4 制备柱，用于分离纯化生物样品（大孔径）、蛋白、极性化合物等。				

注：特殊规格，提供专业化客户定制产品；还提供多分散填料填装的NMSil系列制备柱产品。

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 滤膜过滤；任何时候都不要用硝酸来清洗纳微科技的色谱填料产品。

具体请参考下表：

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	使用高纯度的色谱纯级试剂

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® 1.7-120 C18	100 g	19001-017012-4100
	500 g	19001-017012-4500
	1 Kg	19001-017012-3001
	10 Kg	19001-017012-3010
	20 Kg	19001-017012-3020
UniSil® 3-120 C18	100 g	19001-030012-4100
	500 g	19001-030012-4500
	1 Kg	19001-030012-3001
	10 Kg	19001-030012-3010
	20 Kg	19001-030012-3020
UniSil® 5-120 C18	100 g	19001-050012-4100
	500 g	19001-050012-4500
	1 Kg	19001-050012-3001
	10 Kg	19001-050012-3010
	20 Kg	19001-050012-3020
UniSil® 8-120 C18	100 g	19001-080012-4100
	500 g	19001-080012-4500
	1 Kg	19001-080012-3001
	10 Kg	19001-080012-3010
	20 Kg	19001-080012-3020
UniSil® 8-120 C8	100 g	19002-080012-4100
	500 g	19002-080012-4500
	1 Kg	19002-080012-3001
	10 Kg	19002-080012-3010
	20 Kg	19002-080012-3020

续上表。

UniSil® 10-120 C4	100 g	19003-100012-4100
	500 g	19003-100012-4500
	1 Kg	19003-100012-3001
	10 Kg	19003-100012-3010
	20 Kg	19003-100012-3020
UniSil® 15-120 C18	100 g	19001-150012-4100
	500 g	19001-150012-4500
	1 Kg	19001-150012-3001
	10 Kg	19001-150012-3010
	20 Kg	19001-150012-3020
UniSil® 20-120 C18	100 g	19001-200012-4100
	500 g	19001-200012-4500
	1 Kg	19001-200012-3001
	10 Kg	19001-200012-3010
	20 Kg	19001-200012-3020
UniSil® 30-120 C18	100 g	19001-300012-4100
	500 g	19001-300012-4500
	1 Kg	19001-300012-3001
	10 Kg	19001-300012-3010
	20 Kg	19001-300012-3020
UniSil® 50-120 C18	100 g	19001-500012-4100
	500 g	19001-500012-4500
	1 Kg	19001-500012-3001
	10 Kg	19001-500012-3010
	20 Kg	19001-500012-3020
UniSil® 10-120 C18	100 g	19001-100012-4100
	500 g	19001-100012-4500
	1 Kg	19001-100012-3001
	10 Kg	19001-100012-3010
	20 Kg	19001-100012-3020

UniSil® 10-200 C18	100 g	19001-100020-4100
	500 g	19001-100020-4500
	1 Kg	19001-100020-3001
	10 Kg	19001-100020-3010
	20 Kg	19001-100020-3020
UniSil® 10-300 C18	100 g	19001-100030-4100
	500 g	19001-100030-4500
	1 Kg	19001-100030-3001
	10 Kg	19001-100030-3010
	20 Kg	19001-100030-3020
UniSil® 10-120 C18 AQ	100 g	19006-100012-4100
	500 g	19006-100012-4500
	1 Kg	19006-100012-3001
	10 Kg	19006-100012-3010
	20 Kg	19006-100012-3020
UniSil® 10-120 C18 Polar	100 g	19004-100012-4100
	500 g	19004-100012-4500
	1 Kg	19004-100012-3001
	10 Kg	19004-100012-3010
	20 Kg	19004-100012-3020
UniSil® 10-120 C8	100 g	19002-100012-4100
	500 g	19002-100012-4500
	1 Kg	19002-100012-3001
	10 Kg	19002-100012-3010
	20 Kg	19002-100012-3020
UniHybrid™ 10-120 C18	100 g	19501-100012-4100
	500 g	19501-100012-4500
	1 Kg	19501-100012-3001
	10 Kg	19501-100012-3010
	20 Kg	19501-100012-3020

续上表。

UniHybrid™ 10-120 C4	100 g	19503-100012-4100
	500 g	19503-100012-4500
	1 Kg	19503-100012-3001
	10 Kg	19503-100012-3010
	20 Kg	19503-100012-3020

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

