



# 反相聚合物色谱填料

## 产品使用说明书

# 反相聚合物色谱填料

## 使用说明

### 产品简介

反相填料是纳微科技利用其全球领先的专利技术专门为客户在分析及工业化分离有机化合物、天然产物、蛋白、多肽、核酸等所设计的聚合物反相填料。其均采用单分散均一粒径。因在耐碱性、长寿命与避免碱性化合物拖尾上具有显著优势，故与反相硅胶色谱填料在分离性能和溶剂兼容性上互补。纳微科技可提供全球品种规格最多的单分散聚合物色谱填料产品，从亚微米 UPLC 填料、HPLC 填料到中低压 FPLC 填料，此类填料在实验室分析、生物制药、中药、化药、食品饮料等领域均得到广泛应用。按照不同的基质及特性，纳微科技可提供 UniPS®、Uni®PMM、Uni®PSN、Uni®PSA、NM 五种聚合物反相填料，其中前四种为单分散均一粒径填料，最后一种为非单分散粒径填料。

反相聚合物色谱制备柱采用品质卓越的 Uni® 单分散均一填料，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。精湛的装柱技术和优质填料的完美组合，充分确保了柱床的稳定性。全范围耐碱性（pH 1-14），表面疏水苯基，耐压性更佳，允许更高的流速，具有更高的动态载量。此外，单分散填料还带来洗脱集中和节约洗脱溶剂等好处。



图 1. 反相聚合物色谱填料实物图

### 纯化操作步骤

#### 层析柱装填（推荐动态轴向压缩柱装柱法）

匀浆液的浓度是指层析介质沉降于恒定体积时的体积与匀浆液的总体积的比值。为了得到最佳的装柱效果，我们推荐 20% 的乙醇为匀浆溶剂，匀浆液浓度为 50~60 %。具体装柱方法如下：

1) 首先计算所装色谱柱的柱体积  $V_c^*$ ， $V_c = h \times \pi r^2$

\* $V_c$ : 色谱柱柱体积;  $h$ : 色谱柱高度;  $r$ : 色谱柱半径。

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，关掉色谱柱出液口阀门，在色谱柱底部保留 1~2cm 高的液体。

4) 重新搅动匀浆液，确保其分散均匀。

5) 将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 10~20  $\mu\text{m}$  的填料推荐设定 20~40 Bar 的压力，对于 20~40  $\mu\text{m}$  的填料推荐设定 5~20 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。对于反相聚合物色谱填料，我们推荐先采用乙腈以 150 cm/h 的线性流速平衡 3 个柱体积以上，然后进行柱效测试。具体测试参数详见表 3：

表 1.反相聚合物色谱柱的柱效测试

参数	反相聚合物色谱柱
样品	10 % (v/v) 丙酮的乙腈溶液
上样量	0.1 % 柱体积
洗脱液	乙腈
线性流速	150 cm/h
检测	UV @ 254 nm

## 关于流动相的选择

纳微科技生产的反相聚合物填料可进行等度或梯度洗脱。通常以水作为基础溶剂，并加入一定量能与水互溶的极性调整剂，如甲醇、乙腈、四氢呋喃等。一般情况下，甲醇/水体系能满足大多数样品的分离需求，且流动相粘度小、价格低廉，也可采用乙腈/水体系进行初始实验，因为相比甲醇，乙腈的溶剂强度较高且粘度较小，并能够满足紫外 185~205 nm 处的检测要求。此外若要在相同时间内分离同一组样品，不同流动相的洗脱强度存在以下关系：100%甲醇的冲洗强度相当于 89%的乙腈/水或 66%的四氢呋喃/水的冲洗强度。

## 清洗

纳微科技聚合物反相色谱填料可以在线或转移到

容器中清洗再生，对于污染严重的填料，推荐在开放式容器中再生处理。

聚合物反相色谱填料可用一系列非极性逐渐增强的溶剂清洗色谱柱，对于蛋白、色素等污染物，用有机溶剂逐渐增加的乙醇/甲醇/乙腈-水溶液，纯的乙醇/甲醇/乙腈；然后再按相反地顺序换回原来的流动相。必要时可采用碱洗，建议甲醇/0.1-0.5 M NaOH (60%:40%) 溶液冲洗 3-5 BV，然后用甲醇/0.1-0.5 M HCl (60%:40%) 或甲醇/醋酸 (60%:40%) 溶液冲洗 3-5 BV，然后用流动相平衡，蛋白团聚物和其他污染物很容易在酸或碱溶液中被破坏并洗脱。

注意：

- 1.任何进入色谱柱内的溶液都要先用 0.45 μm 滤膜过滤。
- 2.任何情况下都不要用硝酸清洗我们的产品。
- 3.在具体使用过程中，可应用其他的清洗方案来满足可调整的需要。
- 4.再生时尽可能选择倒冲再生，可节省再生所需流动相体积。

## 储存

未使用填料建议在阴凉干燥处密封保存。

色谱柱保存：清洗或再生后，至少用 10 倍柱体积的 20%乙醇或 70%乙腈来平衡色谱柱。注意，用于生物处理应用的柱子只能储存在 20%乙醇中。

色谱填料的保存应在 4~25 °C 之间，定期检查保存溶液是否足够，确认柱子密封良好，避免干涸，建议定期更换新鲜保存液以避免填料长霉。

**表 2. 聚合物反相色谱填料基本属性一览表**

名称	UniPS®系列	Uni®PMM 系列	Uni®PSN 系列	Uni®PSA 系列	NM 系列
主要特点	强度极高, 耐高压、高载量	亲水性好, 中低压制备, 高载量	亲水亲酯性, 中低压制备, 高载量	机械强度高, 高载量, 高效液相	低压液相制备或粗分离, 中高载量
基质	聚苯乙烯二乙烯基苯 PS/DVB	聚甲基丙烯酸酯 PMMA	聚苯乙烯/聚甲基丙烯酸酯 PS/PMMA	聚苯乙烯二乙烯基苯 PS/DVB	聚苯乙烯二乙烯基苯 PS/DVB
表面基团	苯基	酯基	苯基/杂环	苯基	苯基
粒径(μm)	3/5/10/15/20/ 30/40/50	20/40/50	30/40/60	10/15/30/40/50/60	50-150/100-300/ 200-500/300-800
孔径(Å)	100/300/500/750/ 800/100	500/1000	300	100/300/500/1000	300
pH 稳定性	1~14	2~12	2~13	1~14	1~14
操作温度	4~40°C	4~40°C	4~40°C	4~40°C	4~40°C
动态载量* mg/ml Gel	18~26 mg(VA) 26~53 mg(IN)	~6 mg(VA) ~38 mg(IN)	20~21 mg(VA) 27~82 mg(IN)	~22 mg(VA) ~45 mg(IN)	17 mg(VA) 9 mg(IN)
溶胀系数	≦3% (10μm)异丙醇 ≦5% (15μm)异丙醇 ≦15% (30μm)异丙醇	≦15% (40μm)水 ≦20% (50μm)甲醇 ≦20% (50μm)丙醇	≦15% (30μm)甲醇 ≦5% (40μm)甲醇 ≦25% (60μm)甲醇	≦15% (30μm)甲醇 ≦15% (40μm)甲醇	≦40% (100μm)甲醇
典型应用	适用于 UPLC 到 HPLC 和中低压分析和制备, 如万古霉素、奈马菌素、格尔德霉素、糖肽类化合物、肺囊康定 B0、多黏菌素 B1、白僵菌素、丹酚酸 B、达托霉素、阿尼芬净、替考拉宁、非达霉素、雷莫拉宁单组份、非达霉素、他克莫司、木质素类化合物等	灯盏花乙素、替考拉宁、达巴万星、万古霉素、多黏菌素 B1、环孢菌素 A 衍生物等	肺囊康定 B0、棘白菌素类化合物、环孢菌素 A 衍生物等	格尔德霉素、棘白菌素类化合物、环孢菌素 A 衍生物、阿尼芬净、替考拉宁等	棘白菌素 B 母核、棘白菌素类化合物、白果内脂、林可霉素、多黏菌素 E、多黏菌素 E1 组合物、环孢菌素 A 衍生物、阿尼芬净、丹参酮 IIA、丹参酮、银杏内酯 C、银杏内酯 A、帕曲星 B 等

\*动态载量: VA 代表万古霉素, IN 代表胰岛素。对于特殊规格需求, 可提供专业化客户定制服务。

**表 3. 聚合物反相色谱制备柱预装柱参数信息**

色谱制备柱名称	柱型规格 (mm×mm)	粒径 (μm)	孔径 (Å)	基质
UniPS® 制备柱	10×150	5	300	PS/DVB
	10×250			
	21.2×150			
	21.2×250			
	30×150			
	30×250			
	50×150			
	50×250			
适用于 HPLC 中高压及中低压制备，如万古霉素、奈马菌素、格尔德霉素、糖肽类化合物、肺囊康定 B0、多黏菌素 B1、白僵菌素、丹酚酸 B、达托霉素、阿尼芬净、替考拉宁、非达霉素、雷莫拉宁单组份、非达霉素、他克莫司、木质素类化合物等。				
Uni®PSN 制备柱	26×310	30	300	PS/PMMA
			500	
			1000	
亲水亲酯性、分析肺囊康定 B0、棘白菌素类化合物、环保菌素 A 衍生物。				
Uni®PMM 制备柱	26×310	30	300	PS/PMMA
			强度极高，耐高压，高载量，可用于制备万古霉素、奈马菌素、格尔德霉素、糖肽类化合物、肺囊康定 B0、多黏菌素 B1、白僵菌素、丹酚酸 B、达托霉素、阿尼芬净、替考拉宁、非达霉素、雷莫拉宁单组份、非达霉素、他克莫司、木质素类化合物等。	

注：特殊规格，提供客户定制服务。

## 故障排除

纳微科技的聚合物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  $\mu\text{m}$  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。

### 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
仪器的在线过滤器堵塞	拆掉过滤器并清洗，或者替换过滤器；在使用前对样品和洗脱液用 0.45 $\mu\text{m}$ 或 0.2 $\mu\text{m}$ 滤膜进行过滤
柱前堵塞	使用 20 BV 流动相反冲色谱柱
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剂量
样品较脏或一些吸附作用较强的物质留在填料上	执行在位清洗操作（参考再生条件）
柱床被压缩	重新填装柱子
色谱柱使用时间较长	更换色谱柱或更换色谱填料

### 2、样品吸附不够充分

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

### 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
色谱柱有残留疏水性较强的杂质	执行在位清洗操作（参考再生条件）

### 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	重新装柱
在柱子顶峰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
粒径较大	更换同种类型粒径更小的填料
选择性差	更换其他类型填料

### 5、进样若干次后对样品的吸附能力降低

原因分析	建议措施
样品中的杂质结合在介质上，干扰了正常的结合	执行在位清洗操作（参考再生条件）

## 6、使用中柱床出现裂痕

原因分析	建议措施
溶胀未充分消除	用 0.5 M NaCl 混合均匀, 充分平衡
溶液中有气泡	提前脱气
外部空气进入系统	加入更多缓冲液, 将气体充分赶出

## 7、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白梯度
洗脱液不纯	使用高纯度的色谱纯级试剂

## 8、出现不明杂峰

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
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

产品型号	包装规格	货号
UniPS® 3-300	30 mL	02000-003030-2030
	100 mL	02000-003030-2100
	1 L	02000-003030-1001
	10 L	02000-003030-1010

UniPS® 3-300	100 L	02000-003030-1100
UniPS® 5-100	30 mL	02000-005010-2030
	100 mL	02000-005010-2100
	1 L	02000-005010-1001
	10 L	02000-005010-1010
	100 L	02000-005010-1100
UniPS® 5-300	30 mL	02000-005030-2030
	100 mL	02000-005030-2100
	1 L	02000-005030-1001
	10 L	02000-005030-1010
	100 L	02000-005030-1100
UniPS® 5-500	30 mL	02000-005050-2030
	100 mL	02000-005050-2100
	1 L	02000-005050-1001
	10 L	02000-005050-1010
	100 L	02000-005050-1100
UniPS® 5-1000	30 mL	02000-005100-2030
	100 mL	02000-005100-2100
	1 L	02000-005100-1001
	10 L	02000-005100-1010
	100 L	02000-005100-1100
UniPS® 10-100	30 mL	02000-010010-2030
	100 mL	02000-010010-2100
	1 L	02000-010010-1001
	10 L	02000-010010-1010
	100 L	02000-010010-1100
UniPS® 10-300	30 mL	02000-010030-2030
	100 mL	02000-010030-2100

续上表。

UniPS® 10-300	1 L	02000-010030-1001
	10 L	02000-010030-1010
	100 L	02000-010030-1100
UniPS® 10-500	30 mL	02000-010050-2030
	100 mL	02000-010050-2100
	1 L	02000-010050-1001
	10 L	02000-010050-1010
	100 L	02000-010050-1100
UniPS® 10-1000	30 mL	02000-010100-2030
	100 mL	02000-010100-2100
	1 L	02000-010100-1001
	10 L	02000-010100-1010
	100 L	02000-010100-1100
UniPS® 15-100	30 mL	02000-015010-2030
	100 mL	02000-015010-2100
	1 L	02000-015010-1001
	10 L	02000-015010-1010
	100 L	02000-015010-1100
UniPS® 15-300	30 mL	02000-015030-2030
	100 mL	02000-015030-2100
	1 L	02000-015030-1001
	10 L	02000-015030-1010
	100 L	02000-015030-1100
UniPS® 15-750	30 mL	02000-015075-2030
	100 mL	02000-015075-2100
	1 L	02000-015075-1001
	10 L	02000-015075-1010
	100 L	02000-015075-1100

UniPS® 20-100	30 mL	02000-020010-2030
	100 mL	02000-020010-2100
	1 L	02000-020010-1001
UniPS® 20-300	10 L	02000-020010-1010
	100 L	02000-020010-1100
	30 mL	02000-020030-2030
UniPS® 20-1000	100 mL	02000-020030-2100
	1 L	02000-020030-1001
	10 L	02000-020030-1010
UniPS® 30-100	100 L	02000-020030-1100
	30 mL	02000-030010-2030
	100 mL	02000-030010-2100
UniPS® 30-300	1 L	02000-030010-1001
	10 L	02000-030010-1010
	100 L	02000-030010-1100
UniPS® 30-500	30 mL	02000-030030-2030
	100 mL	02000-030030-2100
	1 L	02000-030030-1001
UniPS® 30-1000	10 L	02000-030030-1010
	100 L	02000-030030-1100
	30 mL	02000-030050-2030
UniPS® 30-300	100 mL	02000-030050-2100
	1 L	02000-030050-1001
	10 L	02000-030050-1010
UniPS® 30-500	100 L	02000-030050-1100
	30 mL	02000-030100-2030
	100 mL	02000-030100-2100
UniPS® 30-1000	1 L	02000-030100-1001



续上表。

UniPS® 30-1000	10 L	02000-030100-1010
	100 L	02000-030100-1100

产品型号	包装	货号
UniPS® 50-300	30 mL	02000-050030-2030
	100 mL	02000-050030-2100
	1 L	02000-050030-1001
	10 L	02000-050030-1010
	100 L	02000-050030-1100
UniPS® 40-300	30 mL	02000-040030-2030
	100 mL	02000-040030-2100
	1 L	02000-040030-1001
	10 L	02000-040030-1010
	100 L	02000-040030-1100
UniPS® 40-500	30 mL	02000-040050-2030
	100 mL	02000-040050-2100
	1 L	02000-040050-1001
	10 L	02000-040050-1010
	100 L	02000-040050-1100
UniPS® 40-1000	30 mL	02000-040100-2030
	100 mL	02000-040100-2100
	1 L	02000-040100-1001
	10 L	02000-040100-1010
	100 L	02000-040100-1100
Uni®PMM 40-500	30 mL	02000-440050-2030
	100 mL	02000-440050-2100
	1 L	02000-440050-1001
	10 L	02000-440050-1010
	100 L	02000-440050-1100

Uni®PMM 20-500	30 mL	02000-220050-2030
	100 mL	02000-220050-2100
	1 L	02000-220050-1001
	10 L	02000-220050-1010
	100 L	02000-220050-1100
Uni®PSN 30-300	30 mL	02000-330030-2030
	100 mL	02000-330030-2100
	1 L	02000-330030-1001
	10 L	02000-330030-1010
	100 L	02000-330030-1100
Uni®PSN 40-300	30 mL	02000-340030-2030
	100 mL	02000-340030-2100
	1 L	02000-340030-1001
	10 L	02000-340030-1010
	100 L	02000-340030-1100
Uni®PSN 60-300	30 mL	02000-360030-2030
	100 mL	02000-360030-2100
	1 L	02000-360030-1001
	10 L	02000-360030-1010
	100 L	02000-360030-1100
NM 100	30 mL	02000-095030-2030
	100 mL	02000-095030-2100
	1 L	02000-095030-1001
	10 L	02000-095030-1010
	100 L	02000-095030-1100
NM 200	30 mL	02000-200030-2030
	100 mL	02000-200030-2100
	1 L	02000-200030-1001

续上表。

NM 200	10 L	02000-200030-1010
	100 L	02000-200030-1100
NM 400	30 mL	02000-400030-2030
	100 mL	02000-400030-2100
	1 L	02000-400030-1001
	10 L	02000-400030-1010
	100 L	02000-400030-1100
NM 600	30 mL	02000-600030-2030
	100 mL	02000-600030-2100
	1 L	02000-600030-1001
	10 L	02000-600030-1010
	100 L	02000-600030-1100
NM 200-100	30 mL	02000-200010-2030
	100 mL	02000-200010-2100
	1 L	02000-200010-1001
	10 L	02000-200010-1010
	100 L	02000-200010-1100

注：纳微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

