

HALO® 90 Å HILIC, 2.7 µm 色谱柱使用指南

色谱柱简介

HALO® 90 Å HILIC 是一种基于 Fused-Core® 技术的快速、高效型液相色谱柱。Fused-Core® 颗粒由薄的高纯多孔硅胶壳层围绕着实心硅胶核组成，传质只发生在壳层内。该核壳颗粒壳层为 0.5 µm，由于扩散路径较浅，而且总粒径也较小，只有 2.7 µm，这种颗粒显示出超高的柱效。HALO 纯硅胶 HILIC 柱既可用于传统的正相分离（使用非极性、纯有机溶剂为流动相，本文不讨论），也可用于亲水作用色谱（HILIC），以常规反相溶剂为流动相，分离碱性、酸性和中性化合物。

色谱柱特征

每支色谱柱都附带检测报告，其中包含色谱柱的出厂检测色谱图以及数据，请妥善保存。

该核壳颗粒的表面积 135 m²/g，平均孔径为 90 Å。由于实心核的密度大，核壳颗粒会比全孔型颗粒重 30%-50%。因此，单支色谱柱的有效表面积与表面积在 225-300 m²/g 的全孔型色谱柱相似。

注意事项

- 流向已标注于柱管标签。
- 反向冲洗可用于尝试去除入口堵塞或污染物。
- 新色谱柱保存于 100% 乙腈，初次使用需注意溶剂互溶及防止盐析。
- HALO® 90 Å HILIC 色谱柱兼容水及常用有机溶剂。
- HALO® 90 Å HILIC 色谱柱建议在 60°C 以下使用，以获得最佳柱寿命。
- HALO® 90 Å HILIC 色谱柱流动相的 pH 保持在 1-8 范围内，可获得最佳柱稳定性。
- HALO® 90 Å HILIC 色谱柱柱压请勿超过 600 bar (9000 psi)。

色谱柱维护

为获得最佳柱寿命，需确保样品及流动相中无颗粒物，推荐使用保护柱或在进样器与色谱柱之间增加 0.5 µm 在线过滤器。HALO® 90 Å HILIC 色谱柱的筛板为 2 µm，比其他小粒径色谱柱 0.5 µm 的筛板较少发生堵塞。当柱压突然高出正常值时，可尝试反冲色谱柱，以去除筛板上的颗粒污染物。

为去除强保留污染物，可使用 50/50 甲醇水等强溶剂反冲色谱柱。某些情况下需要使用极强的溶剂，如流动相中 100% 的极性组分；另外，二氯甲烷和甲醇的混合物 (95/5 v/v)，经常也表现出不错的效果。

色谱柱保存

硅胶基质色谱柱的长时间保存建议使用 100% 乙腈，短期 (3-4 天) 也可保存于常规流动相。然而，当用到缓冲盐的时候，为保护色谱柱和仪器，一定要用等比例不含盐流动相冲洗色谱柱 (比如流动相为 90/10 的乙腈/缓冲盐，则用 90/10 的乙腈/水冲洗)，以防止盐析出或腐蚀，最后再用 100% 乙腈冲洗色谱柱，保存。

保存色谱柱之前，需用原厂柱堵头拧紧密封。

安全提示

- 色谱柱仅供实验室使用，不可用于药物、家庭或其他。
- 色谱柱使用者应了解流动相的毒性和可燃性，并采取预防措施，避免接触和泄漏。
- 色谱柱应在通风良好的环境中使用，以降低空气中的挥发溶剂。

色谱柱应用

HILIC 是一种非常有用而且与反相色谱 (RPC) 互补的方法，尤其适用于在 RPC 下化合物保留差、需要高水流动相的样品。HILIC 的保留机理尚不完全清楚，主要是亲水、离子交换和反相作用的结合。HILIC 颗粒表面的亲水层促进了与极性溶质的相互作用，流动相在 HILIC 柱上的保留与 RPC 正好相反，水为强洗脱相，有机溶剂为弱洗脱相。因此，梯度方法中，初始流动相的有机相较高，然后逐渐增加水相的比例。在酸性流动相中使用超过 70% 有机相 (如

乙腈)，碱性和酸性分析物均可获得最佳保留。HILIC 柱是以高浓度有机溶剂作为流动相，因此，特别适用于质谱 (MS) 分析。

乙腈在流动相中通常作为弱溶剂，95% 是上限，60-65% 是下限，流动相至少含有 5% 的强极性溶剂，如水或甲醇。由于溶解问题加入缓冲液，水则是极性溶剂。和反相一样，有机溶剂的种类亦可改变保留和选择性，HILIC 常用溶剂按洗脱强度排序 (由弱到强)，依次为：四氢呋喃 < 丙酮 < 乙腈 < 异丙醇 < 乙醇 < 甲醇 < 水，水是最强的洗脱溶剂。为进一步增加 HILIC 保留，用另一种极性溶剂 (如甲醇、异丙醇) 替代流动相中的水，有时也会有效。

为获得最佳的柱效和重现性，流动相一般选用 10-20mM 的缓冲液或 0.5% 以内的添加剂。不推荐磷酸盐缓冲液，因为其在高有机相中溶解度差，且不能与质谱兼容。某些添加剂，如甲酸、三氟乙酸、磷酸，浓度可上升到 1%。使用液质时，挥发性甲酸铵/甲酸缓冲盐浓度可上升到最高 20mM，并选用 pH=3 的条件，对分离碱性和酸性化合物特别有效 (不管针对酸性还是碱性化合物，乙腈/甲酸铵盐流动相体系都是方法开发的最佳起点)。也可以使用 5-20mM 的 pH=5 的乙酸铵，但在分离强碱和强酸性化合物时效果较差。通常不推荐 pH 在 6 以上的缓冲液或添加剂，因为会慢慢溶解硅胶基质。

小体积色谱柱 (快速柱) 使用指南

小体积色谱柱 (柱长更短，内径 < 3 mm) 越来越多用于快速分离，尤其针对一些特殊检测器，如质谱。小体积色谱柱色谱峰的体积肯定比普通 HPLC 色谱柱 (如 4.6 mm x 150 mm) 要小很多，所以小体积色谱柱的分离效果更依赖于 HPLC 仪器是否具有最小的谱带展宽。按以下条件优化仪器，小体积色谱柱即可获得最佳效果：

- 检测器 — 使用小体积流通池 (最好 < 2 µl)。
- 检测器 — 为准确显示从小体积色谱柱快速洗脱出来的色谱峰，检测器响应时间应设置到最快水平 (~ 0.1 秒)，以允许软件在最窄峰上采集到至少 20 个点。
- 进样器 — 进样系统应采用小体积设计 (如 Rheodyne 8125)。普通液相的自动进样器经常会导致小体积色谱柱谱带展宽、柱效降低，但可能为了通用性和使用方便。
- 管路 — 应使用尽可能短的窄径管路 (最粗 0.005 英寸，0.12 mm ID)，将色谱柱连接到进样器和检测器。管路必须切割平整，必要时使用零死体积连接件。
- 保留时间 — 随着保留时间的增加，峰体积也增加，仪器对谱带展宽的影响降低。
- 样品溶剂 — 等度条件下，样品应溶解在流动相或比流动相更弱 (极性更弱) 的溶剂中；梯度条件下，则应溶解在初始流动相或明显弱于梯度最高点的溶剂中。
- 进样体积 — 等度条件下，进样体积应尽可能小 (≤ 2 µl)，样品溶剂比流动相更弱。梯度条件下，进样体积不是很关键，特别是样品溶解于弱溶剂的时候。

HALO® and Fused-Core® are registered trademarks of
Advanced Materials Technology, Inc.



更多产品和技术支持，请联系：

北京谱之道科技有限公司

www.GoToChrom.com

电话：010-86461964

邮箱：info@GoToChrom.com

