



NeoSilica C18 10-100 反相硅胶填料

目录

1. 产品介绍.....	1
2. 纯化流程.....	1
3. 清洗和再生.....	2
4. 产品储存.....	2
5. 问题及解决方案.....	2
6. 订购信息及相关产品.....	3

1. 产品介绍

NeoSilica C18 10-100 反相色谱填料是在天地人和生产的单分散多孔球形硅胶的基础上, 采用专有的表面修饰和封端技术开发的硅胶系列产品。该款填料为键合十八烷基 (C18) 的反相硅胶填料, 产品的粒径为 10 μ m、孔径 100Å; 具有寿命长、柱效高、分辨率好、反压低等特性; 并拥有优秀的批次间可重复性, 可以适用于研发到工业化生产的全过程, 确保纯化过程中使用的每公斤吸附剂都能获得最大的投资回报。

表 1. NeoSilica C18 10-100 产品信息

产品名称	NeoSilica C18 10-100
键合相名称	十八烷基
粒径 (μ m)	8-10
孔径 (Å)	100-120
比表面积 (m^2/g)	280-320
孔容 (mL/g)	0.7-0.9
碳载量 (%)	17.5-19.5
pH 稳定性	2-8.5
堆积密度 (g/ml)	0.54-0.60
保存条件	具体见产品储存内容
典型应用方向	小分子化药、胰岛素、GLP-1 类似物

2. 纯化流程

不同层析柱和设备有不同的装柱方法, 请在装柱前仔细阅读相关的装柱指导和使用说明

2.1 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, 匀浆液匀浆比例建议使用 1:1.5~1:2.5 (填料 Kg: 试剂 L)。匀浆液的浓度可以按照如下方法配制:

2.1.1 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。

2.1.2 以 DAC50 装柱为例:

1) 称取约 300 克干燥填料于烧杯中, 缓缓倒入异丙醇并同步搅拌, 确保总体积维持在约 850 mL, 随后超声处理 30 分钟。为避免填料沉降和结块, 每 2 至 3 分钟需搅拌一次。

2) 将 DAC 活塞降至最低位置, 通过调节气阀, 将液压稳定在 8.5 MPa (对于粒径为 10 μ m 的硅胶填料, 推荐设定压力为 85~95 Bar; 对于粒径为 20~40 μ m 的硅胶填料, 则推荐设定压力为 40~70 Bar)。随后, 将压缩杆提升至最高位置, 安装好底盘以防止漏液, 并封闭底部出口。

3) 使用洗瓶将色谱柱底部的筛板用匀浆液溶剂润湿, 并关掉色谱柱出口阀门, 在柱底部保留 1~2 cm 高的液体, 将匀浆液慢慢的倒入色谱柱中, 防止混入气体。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。

4) 关闭下出口口的堵头, 打开 DAC 活塞堵头, 缓慢控制活塞压缩移动。当观察到液体流出时, 检查是否有气泡排出。待气泡完全排出后, 关闭气源开关, 并封闭活塞一端的管路。





- 5) 重新打开下端出液口堵头, 打开气源开关, 继续控制活塞向下移动。待柱床高度稳定后, 微调气压阀, 保持 8.5 MPa (此预设压力值可根据柱效检测结果进行调整优化) 的液压保压状态。
- 6) 保压 30 分钟后, 装柱过程完成。
- 7) 请务必在层析柱及相关设备的可承受压力范围内进行操作和使用。

2.2 柱效评价

层析柱柱效测试以常用的理论塔板数及拖尾因子为考察

参考条件:

流动相: 甲醇

流速: 100~250 cm/h

检测波长: 254 nm

样品: 2% (V/V) 甲苯/2mg/ml 萘的甲醇溶液, 上样量: 0.1%柱体积

3. 清洗和再生

- 1) 填料正常使用后一般用低浓度有机相去除盐 (若有), 然后用高浓度有机相清洗;
- 2) 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, 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、异丙醇或 95% : 5% 的二氯甲烷与甲醇的混合溶液。
- 3) 色谱柱在经过长期使用之后, 会出现柱效下降的情况, 可对色谱填料柱进行再生操作, 可按照以下再生流程清洗 8-10 倍柱体积。
10%乙腈 (甲醇) → 乙腈 (甲醇) → 异丙醇 → 乙腈 (甲醇)

极端情况下, 可用乙腈/0.1 M NaOH (60: 40)清洗 10-20 倍柱体积去除一些顽固残留样品, 清洗后快速替换至乙腈水体系。

4. 产品储存

NeoSilica C18 10-100 使用密封瓶或桶进行运输。收到填料后请按以下条件进行保存:

4.1 未开封填料: 阴凉干燥处密封保存, 有效期 60 个月;

4.2 使用后填料:

4.2.1 填料短期保存: 在乙腈或甲醇中保存。

4.2.2 填料长期不用时, 可使用“清洗和再生”项下再生方法, 再生后取出, 干燥, 用密封的袋子或桶装好, 置阴凉干燥处保存。

5. 问题及解决方案

问题	原因分析	推荐解决方案
柱压升高	流速过高	降低流速
	泵和收集器之间的阀门未打开	打开出口
	仪器的在线过滤器堵塞	去除杂质并清洗, 或者替换, 在使用前对样品和缓冲液用 0.45 μm 或 0.2 μm 进行过滤
	样品在柱子上发生沉淀	执行在位清洗操作 (参考再生条件), 调节洗脱液来维持样品溶解度
	样品较脏或有吸附作用较强的物质残留在填料上	执行在位清洗操作 (参考再生条件)
	柱床被压缩	重新填充柱子
	色谱柱使用时间较长	更换色谱柱或更换色谱填料
样品在洗脱过程中不被洗脱	洗脱液的洗脱能力过低	更换洗脱能力更强的洗脱液
	有机相比比例过低	调整流动相比比例
	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)
分辨率降低	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

(续表)

问题	原因分析	推荐解决方案
----	------	--------



分辨率降低	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	执行在位清洗操作 (参考再生条件)
进样若干次后对样品的吸附能力降低	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)
基线漂移	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
出现不明杂峰	前一个样品的不完全洗脱	对柱子进行再生
	洗脱液不纯	运行空白梯度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

6. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
NeoSilica C18 10-100	SH058025	25g
	SH058100	100g
	SH058500	500g
	SH05801KG	1kg
Inox NeoSilica C18 10-100	SH058HP-N250	4.6*250mm
	SH058HP-Q250	10*250mm
	SH058HP-T250	20*250mm

以上填料均可提供 4.6mm\10mm\20mm 直径下其他柱长的预装柱

