



## ZIC-HILIC 色谱柱

极性化合物保留很差？ZIC-HILIC 解决您的问题。

从小肽到离子化合物，从复杂糖类化合物到代谢产物，所有极性化合物都可以利用 ZIC-HILIC 色谱柱分离。

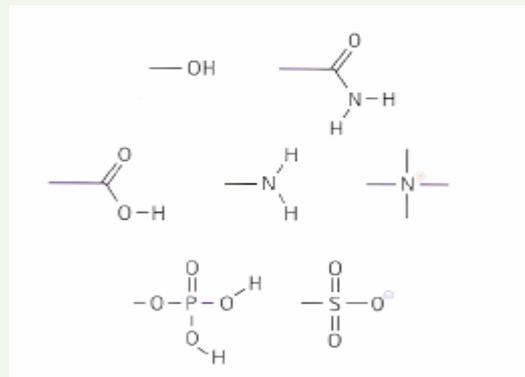
### 什么是 HILIC？

亲水作用液相色谱(HILIC)是分离多种类型极性化合物和亲水性化合物最有效的色谱技术。简单的讲，HILIC 是正相色谱分离的一种，但其使用反相中常使用的流动相。一般而言，HILIC 的洗脱顺序与 RPLC 相反，保留随着分析物的带电性和亲水性增加而增强。这保证了 RPLC 色谱柱上无保留化合物的直接分离。

HILIC 是一款具有亲水固定相的色谱柱。可以使用水，缓冲液和高比例与水混溶的有机相作为流动相。典型的 HILIC 应用可以使用有机溶剂占 50-95%的缓冲液体系，缓冲盐应该在有机溶剂中具有很高的溶解性，如醋酸铵的乙腈溶液。



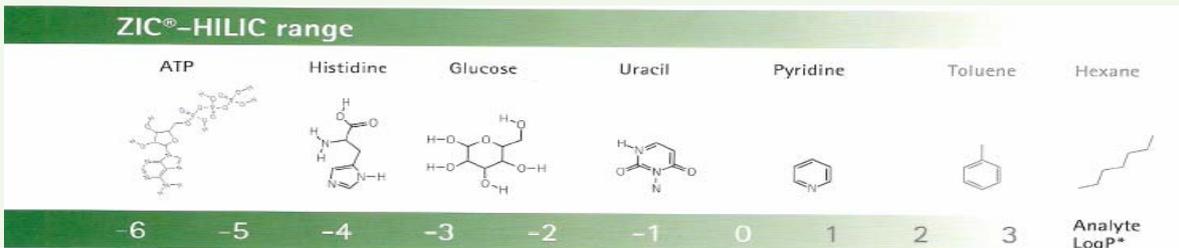
ZIC-HILIC 拓宽您的色谱工具箱



亲水官能团类型

### 极性化合物和亲水化合物类型

HILIC 色谱柱可以分离极性化合物和亲水性化合物。ZIC-HILIC 提供的选择性适用于分离很多种类的分子如：带有亲水性或带电性的官能团。如糖类、代谢物、酸性和碱性化合物、有机或无机离子、金属复合物、氨基酸、肽、蛋白质片段、植物或细胞提取物等等。

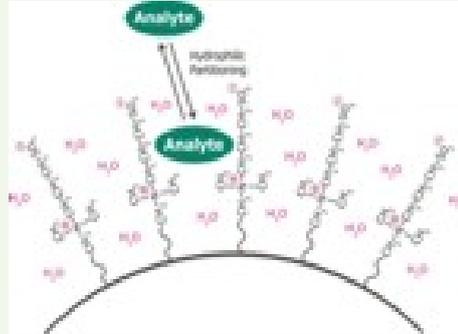


这些物质通常来讲具有很小或负的 LogP 值，在反相柱上保留很弱。ZIC-HILIC 色谱柱就是分离极性和亲水性物质的色谱柱，其选择性与反相色谱柱具有正交性。

2009-6 Volume 25

## HILIC 色谱柱的分离机理

目前，HILIC 色谱柱是通过进样分析溶质在流动相和 HILIC 固定相亲水表面的水层分区而进行保留。分析物亲水性越强，分区平衡越易转向固定相固定的水层，因此分析物的保留也越强。

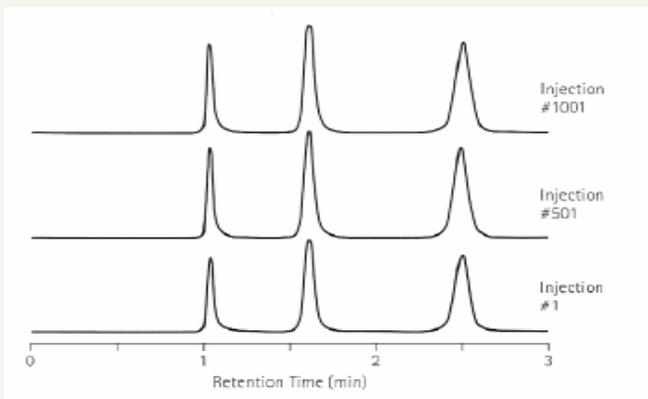


分离机理示意图

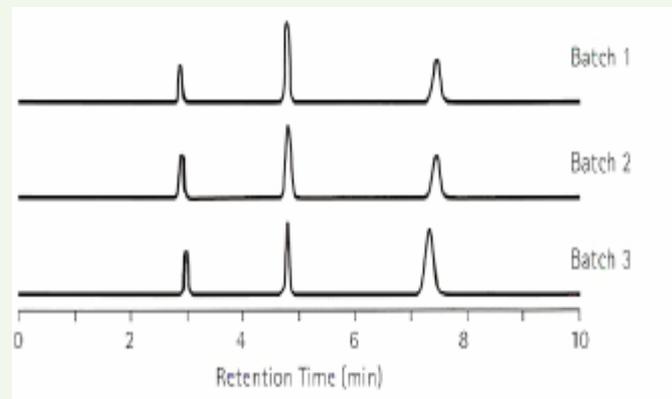
尽管人们已经确认了固定相处于有机溶剂和水混合条件下，亲水表面可以固定水层，但是 HILIC 分区理论也仅仅是依靠间接的证据。有很多研究者也认为这是复合的分离机理，包括氢键作用和偶级-偶级作用等，可能都起到重要的分离作用。有机溶剂的类型及浓度，缓冲盐的类型及浓度，以及 PH 变化都可以影响分析物的保留。

## Merck HILIC 色谱柱特点

ZIC-HILIC	ZIC-pHILIC
分析极性化合物和亲水化合物的首选	可解决极性化合物和亲水化合物分离的挑战性问题
与反相比具有正交的选择性	宽 pH 范围的应用增强其选择性
多孔硅胶上共价键合着永久两性离子官能团	多孔聚合物上共价键合着永久两性离子官能团



1000 次进样重现性



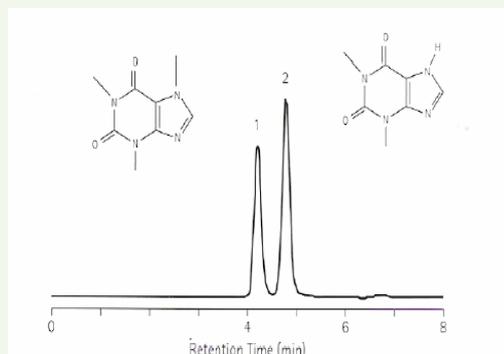
出色的批次间重现性

2009-6 Volume 25

应用文献

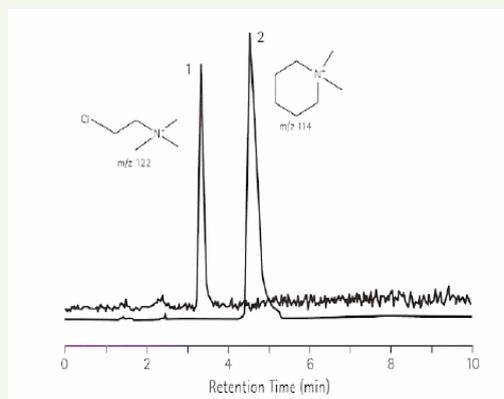
咖啡因和茶碱的分析

Column: ZIC-HILIC PEEK Column 150\*2.1mm,  
3.5um, 200A (1.50448.0001)  
Eluent(v/v): 90%, Acetonitrilc and 10%Ammonium Acetate  
100mM, pH 4.5 (total ionic strength 10mM)  
Flow-rate: 0.1ml/min Detection: UV at 254 nm  
Injection: 5ul (25ug/ml) of each compound in mobile phase

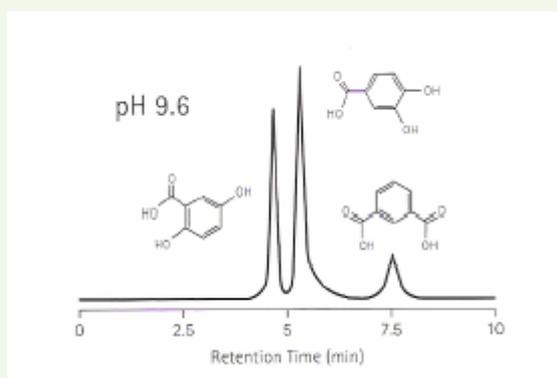
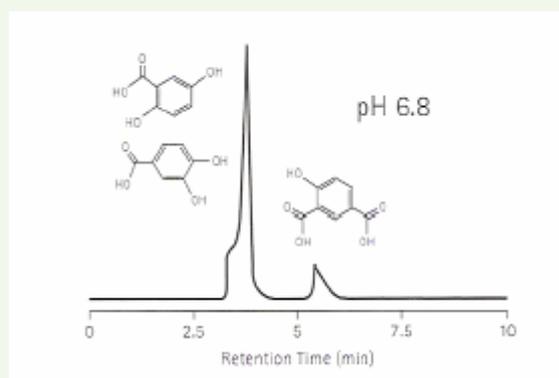


等度分离矮壮素甲哌

Column: ZIC-HILIC PEEK Column 100\*2.1mm,  
3.5um (1.50447.0001)  
Eluent(v/v): 80%,Acctonitrilc and 20% Ammonium  
Acetate 25mM;  
Flow-rate: 0.2ml/min Injection:20ul in mobile phase  
Detection: Electrospray –MS in positive mode (Esi+),  
Single ion monitoring (SIM) at m/z 114 and 122



龙胆酸，原儿茶酸及间苯二甲酸的分析(高 pH 条件增强选择性，改善峰型事例)



Column: ZIC-pHILIC Column  
Eluent: 75: 25 Acetonitrilc /aqueous buffer pumped at 0.5ml/min  
Buffer salt: ammonium acetate (17Mm, Ph6.8) or ammonium carbonate (17mM, pH 9.6)

2009-6 Volume 25

## ZIC-HILIC 订购信息:

### ZIC-HILIC 分析柱

描述	粒径	孔径	内径	长度	货号
ZIC-HILIC PEEK Fitting Guard Column(5-pack)	5um	200	1mm	14mm	1504340001
ZIC-HILIC Guard Column (1-pack)	5um	200	2.1mm	20mm	1504350001
ZIC-HILIC Guard Column incl. column coupler, (3-pack)	5um	200	2.1mm	20mm	1504360001
ZIC-HILIC PEEK HPLC Column	3.5um	100	2.1mm	20mm	1504390001
ZIC-HILIC PEEK HPLC Column	3.5um	100	2.1mm	50mm	1504400001
ZIC-HILIC PEEK HPLC Column	3.5um	100	2.1mm	100mm	1504410001
ZIC-HILIC PEEK HPLC Column	3.5um	100	2.1mm	150mm	1504420001
ZIC-HILIC PEEK HPLC Column	3.5um	100	2.1mm	250mm	1504430001
ZIC-HILIC PEEK HPLC Column	3.5um	100	4.6mm	150mm	1504440001
ZIC-HILIC PEEK HPLC Column	3.5um	200	2.1mm	50mm	1504450001
ZIC-HILIC PEEK HPLC Column	3.5um	200	4.6mm	50mm	1504460001
ZIC-HILIC PEEK HPLC Column	3.5um	200	2.1mm	100mm	1504470001
ZIC-HILIC PEEK HPLC Column	3.5um	200	2.1mm	150mm	1504480001
ZIC-HILIC PEEK HPLC Column	3.5um	200	4.6mm	150mm	1504490001
ZIC-HILIC PEEK HPLC Column	5um	200	2.1mm	50mm	1504500001
ZIC-HILIC PEEK HPLC Column	5um	200	4.6mm	50mm	1504510001
ZIC-HILIC PEEK HPLC Column	5um	200	2.1mm	100mm	1504520001
ZIC-HILIC PEEK HPLC Column	5um	200	4.6mm	100mm	1504530001
ZIC-HILIC PEEK HPLC Column	5um	200	2.1mm	150mm	1504540001
ZIC-HILIC PEEK HPLC Column	5um	200	4.6mm	150mm	1504550001
ZIC-HILIC PEEK HPLC Column	5um	200	2.1mm	250mm	1504570001
ZIC-HILIC PEEK HPLC Column	5um	200	4.6mm	250mm	1504580001

### ZIC-HILIC 纳米, 毛细管, 微孔色谱柱

描述	粒径	孔径	内径	长度	货号
ZIC-HILIC Guard Column, (1-pack)	5um	200	1mm	5mm	1504830001
ZIC-HILIC Guard Column, (5-pack)	5um	200	1mm	5mm	1504900001
ZIC-HILIC Guard Column, (1-pack)	5um	200	300um	5mm	1504840001
ZIC-HILIC Guard Column, (5-pack)	5um	200	300um	5mm	1504920001
ZIC-HILIC Nano - Column	5um	200	75um	150mm	1504650001
ZIC-HILIC Nano - Column	3.5um	200	100um	100mm	1504660001
ZIC-HILIC Microbore Column	3.5um	100	1mm	150mm	1504870001
ZIC-HILIC Capillary Column	3.5um	200	300um	30mm	1504890001
ZIC-HILIC Microbore Column	3.5um	200	1mm	30mm	1504780001
ZIC-HILIC Capillary Column	3.5um	200	300um	150mm	1504790001
ZIC-HILIC Microbore Column	3.5um	200	1mm	150mm	1504800001
ZIC-HILIC Capillary Column	5um	200	300um	30mm	1504910001
ZIC-HILIC Capillary Column	5um	200	300um	150mm	1504810001
ZIC-HILIC Microbore Column	5um	200	1mm	150mm	1504820001

## 2009-6 Volume 25

### 半制备色谱柱

描述	粒径	孔径	内径	长度	货号
ZIC-HILIC PEEK HPLC Column	5um	200	7.5mm	150mm	1504560001
ZIC-HILIC Stainless Steel Column	5um	200	10mm	50mm	1504950001
ZIC-HILIC Stainless Steel Column	5um	200	10mm	150mm	1504930001
ZIC-HILIC Stainless Steel Column	5um	200	10mm	250mm	1504940001
ZIC-HILIC Stainless Steel Column	5um	200	20mm	50mm	1504960001
ZIC-HILIC Stainless Steel Column	5um	200	20mm	150mm	1504970001

### ZIC-pHILIC 订购信息:

描述	粒径	内径	长度	货号
ZIC-pHILIC Guard Column, (1-pack)	5um	2.1mm	20mm	1504370001
ZIC-pHILIC Guard Column, (1-pack), incl.column coupler	5um	2.1mm	20mm	1504380001
ZIC-HILIC PEEK HPLC Column	5um	2.1mm	50mm	1504590001
ZIC-HILIC PEEK HPLC Column	5um	2.1mm	100mm	1504620001
ZIC-HILIC PEEK HPLC Column	5um	2.1mm	150mm	1504600001
ZIC-HILIC PEEK HPLC Column	5um	4.6mm	50mm	1504630001
ZIC-HILIC PEEK HPLC Column	5um	4.6mm	100mm	1504640001
ZIC-HILIC PEEK HPLC Column	5um	4.6mm	150mm	1504610001

## 学 习 园 地

**问：选择何种 HILIC 色谱柱型号开始实验？**

**答：**内径 4.6mm 的色谱柱适合流速为 0.5-3ml/min 的分析，而内径 2.1mm 的色谱柱更适合用于 HILIC-MS 分析。色谱柱的长度取决于具体的应用。如不确定自己的需要，粒径 5um，长度 150mm(P/N2712-155) 的色谱柱是不错的选择。快速简单样品的分离可以选择短柱分析(如 50mm， P/N2712-055)的色谱柱，而更复杂的分离需选择更长些的柱子 (如 250mm， P/N2712-255)。

**问：内径为 4.6mm，2.1mm 或 1.0mm ZIC-HILIC 色谱柱的推荐流速为多少？**

**答：**对于内径为 4.6mm，2.1mm 和 1.0mm 所有规格的色谱柱而言，推荐使用的流速分别为 0.5ml/min，0.1ml/min，或 0.02ml/min，或比推荐流速稍大、稍小些。举例来说，2.1mm 的色谱柱流速为 0.1ml/min 时可达最大效率。流速达 0.5ml/min 时，分离效率下降为最大效率的 20%，如果分辨率能达到要求，它可以节省时间。这个规律也适合于其他内径的 HILIC 色谱柱。

**问：ZIC-HILIC 色谱柱带什么功能团？**

**答：**被称为“硫代甜菜碱”官能团。

2009-6 Volume 25

**问：HILIC 分离中孔径的作用？通过 ZIC-HILIC 色谱柱从小分子化合物中分离丙氨酸，使用粒径 3.5um，柱尺寸为 150×2.1mm 的分析柱，20×2.1 的保护柱，对于这个应用，选择孔径 100A 还是 200A 的色谱柱，那款更适合一些？**

**答：**在这个应用中，这类产品都会起作用，但是我们推荐粒径 3.5um，孔径 200A (p/n 2702-152)的色谱柱，小孔径提供更高的容量因子。

**问：我们使用 ZIC-HILIC 与 ICP-MS 相连，但是关心流动相中有机相的含量，与乙腈有什么不同？**

**答：**通过使用二氧六环或者其他的，或更高沸点的溶剂可以减少碳消耗的问题，但是最终取决与样品和应用的本质。

**问：ZIC-HILIC 和硅胶 HILIC 色谱柱有什么区别？**

**答：**ZIC-HILIC 色谱柱装填的是键合有两性离子官能团的固定相，而硅胶 HILIC 色谱柱是纯硅胶。ZIC-HILIC 色谱柱固定相创建了一个稳定的水层，把水稳固在固定相表面。这使得等度和梯度模式下色谱柱更稳定。也允许进样水样(如果不是使用太大的体积)。该色谱柱也有很好的使用寿命。硅胶 HILIC 色谱柱有着连续色谱相关的一些问题，如：吸附因素，对某些化合物峰拓宽，平衡慢。此外，它对改变流动相中水的比例也十分敏感，由于其动力学慢使其很难进行梯度洗脱。据报道，纯硅胶色谱柱使用寿命也短些。

**问：对 ZIC-HILIC 色谱柱和硅胶 HILIC 色谱柱而言，有效的 PH 范围是多少？**

**答：**ZIC-HILIC 色谱柱带有带电的两性离子官能团，但其整体而言表现中性亲水型。由于流动相的 pH 用于中度离解和样品的保留，其会产生独一无二的选择性。硅胶基材的 ZIC-HILIC 色谱柱可以使用的 pH 范围是 2-8，聚合物基材的 ZIC-pHILIC 色谱柱可以使用的 pH 范围为 2-10，相反，一个纯硅胶色谱柱在 pH 大于 4 时，其表现为阳离子交换，硅胶表面会产生官能团(-OH)，碱性化合物将结合的更强，需要更多的缓冲液洗脱，这对 MS 是不利的。

**问：ZIC-HILIC 和 ZIC-pHILIC 色谱柱相关参数(PH 范围、最大压力、最大温度、孔径、表面积、碳含量)各是多少？**

**答：**碳含量与 HILIC 色谱柱无关，而是反相柱参数。相关参数如下表：

	ZIC-HILIC	ZIC-pHILIC
PH 范围	3-8	2-10
最大压力 bar	400	200
最大温度℃	70	60
孔径 A	200	N/A
表面积m <sup>2</sup> /g	140	N/A

**2009-6 Volume 25****问: ZIC-HILIC 色谱柱是否只能分离高极性和水溶性化合物?**

**答:**HILIC 是一种复合型分离技术,其可以分离反相中保留很弱,根本没有保留的化合物,或反相分析时需要离子对试剂的溶质。也就是说,HILIC 色谱柱不光可以分离高极性和水溶性的化合物。

这个理论简单的法则就是依据 Log P 值。如果溶质的 Log P 值低于-0.5,其就可作为 HILIC 色谱柱分析的化合物。流动相的 PH 变化可以促成化合物的电离,继而改变化合物的 Log P 值。一般而言,带电化合物比其中性状态时 Log P 值低。许多使用者制成了使用的极性索引表。以咖啡因为标准决定分析物是极性还是非极性化合物。HILIC 色谱柱保留很强或者反相不保留的物质,与咖啡因相比,被认为极性物质。

**问: HILIC 在酸性或碱性化合物分析时,有那些注意事项?**

**答:**有大量的酸性和碱性化合物的应用实例。通常使用乙腈/水(缓冲盐)混合体系进行等度和梯度的洗脱。在 HILIC 模式下,乙腈是很弱的条件。但是也可以使用甲醇、乙醇、异丙醇、丙酮、二氧六环等溶剂。也可以使用在有机溶剂中有很好溶解性的有机缓冲盐体系如:醋酸铵等。因无机缓冲盐体系易沉淀,避免使用无机缓冲盐体系。当流动相中有机溶剂的含量在 70%或比这个含量更低时,也可以容忍无机缓冲盐的这种离子作用。

**问: 生物分析时,可否使用 TFA 作为流动相?**

**答:**通常而言,TFA因其表现为离子对试剂,不适于HILIC分析。使溶质亲水性更弱。通常,TFA被用作蛋白质的酸性沉淀,但是可以用高比例的乙腈稀释样品代替。建议蛋白质(血浆)样品添加到 1:4 的甲酸乙腈溶液中,通过定轨摇床混合蛋白质沉淀,高速离心(>5000rpm)分层。其次,ZIC-HILIC色谱柱(及其他HILIC色谱柱)可以保留所有类型的离子,ZIC-HILIC一个特殊的性质是可以分离NaCl, Na<sup>+</sup>和Cl<sup>-</sup>在不同的时间被洗脱。这意味着Na<sup>+</sup>会和样品一起洗脱出来,这会抑制MS信号。如果样品基质中仅含有盐,建议把流动相轻微的做下改动。约 1-2%的乙腈。Na<sup>+</sup>会在另外的保留时间洗脱,问题也就解决了。

**北京总公司:**

地址:北京回龙观西大街龙冠大厦 719 室

邮编:102208

热线:(10)-51528296, 51528297, 51528298

传真:(10)-51528299

邮箱:sales@prep-hplc.com

网站:www.prep-hplc.com

**上海办事处:**

地址:上海张江益丰路 55 弄春港丽园 67 号 201 室

邮编:201203

电话:021-58950178

传真:021-58950178

**更多产品信息欢迎来电咨询!!!**