

TSKgel Amide-80 亲水相互作用色谱柱

尽管反相是 HPLC 中最常用的分离模式，但是一些强极性化合物即使在含有少量有机改性剂的流动相或者甚至 100% 的水流动相中也不能被充分保留。这些极性较强的化合物可以通过亲水作用色谱 (HILIC) 法来获得保留。在这种色谱模式中，溶解物分子会与硅醇基、氨酰基、氨基或其他极性基团表面发生相互作用。在 HILIC 中，流动相是混合的有机相和水相，通常含有 60% 以上的有机溶剂。最初的保留通常是极性溶解物与被填料表面的极性基团紧紧抓住的水之间的氢键结合。TSKgel Amide-80 色谱柱属于最常用的 HILIC 色谱柱之一。我们可以提供 3 微米或 5 微米两类粒径的硅胶型 TSKgel Amide-80 亲水相互作用色谱柱，这些硅胶颗粒与氨基甲酰基团是通过共价键结合的。

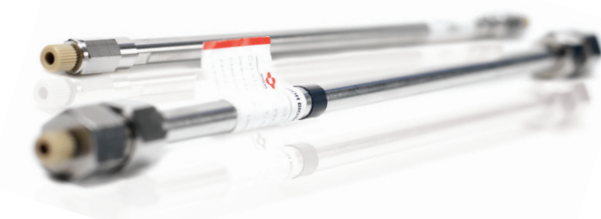
TSKgel Amide-80 色谱柱在水/有机溶剂体系中拥有卓越的稳定性。比起其他亲水固定相，例如传统的氨基键合相色谱柱更有优势。此外，由于流动相中的高含量有机物在电喷射离子化过程中可获得快速蒸发的物点，因此此类色谱柱同时非常适合于对水溶性极性化合物进行灵敏的 LC/MS 分析。

特点小结：

- 与反相色谱柱具有互补的分离选择性
- 二次离子相互作用远低于其他固定相类亲水相互作用色谱柱
- 由于氨基甲酰官能团为非离子型，与氨基柱相比，具有独特的选择性和优异的稳定性
- 在含水有机流动相中更为稳定
- 可提供 3、5 和 10 微米粒径规格的产品，增加了 LC/MS 的检测灵敏度

产品属性与规格：

孔径	100Å
粒径	3, 5 和 10µm
pH 稳定性	2 - 7.5
官能团	氨基甲酰
温度范围	10 - 50°C (3µm) 10 - 80°C (5µm)

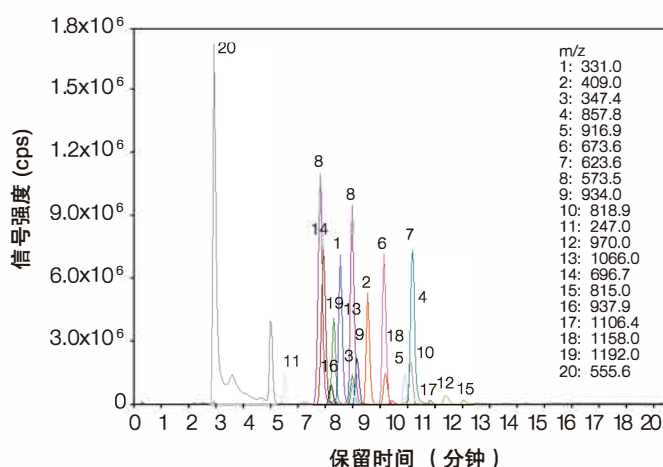


胰蛋白酶降解物的分析

越来越多的科学家们已经开始选择亲水性固定相色谱柱来进行天然提取物、肽降解物和其他极性化合物混合物的分离。通常也会利用质谱分析法结合液相色谱法来分析这些复杂的混合物。由于可以通过向流动相中加入三氟乙酸 (TFA) 来消除残余硅醇基引起的二次离子相互作用, 因此 TSKgel Amide-80 色谱柱对于上述用途极具使用优势。TFA 的使用对于质谱法来说是非常友好的, 可以免去了脱盐或去除非挥发性酸的额外操作步骤 (脱盐或去除非挥发性酸是使用氨基柱时为了消除离子相互作用所必需进行的操作)。

图 29 为使用 5 微米 TSKgel Amide-80 色谱柱对 β -乳球蛋白胰蛋白酶降解物进行分离的谱图, 此分离可以在 12 分钟内完成。

图 29: β -乳球蛋白胰蛋白酶降解物的分离



TSKgel Amide-80, 5 μ m, 2.0mm ID x 15cm

流动相: A: 含 0.1%TFA 的 H₂O
 B: 含 0.1%TFA 的 ACN
 梯度: 0min (95%B), 15min (50%B),
 17min (50%B)
 流速: 0.2mL/min
 进样量: 1 μ L
 样品: β -乳球蛋白胰蛋白酶降解物
 仪器: Q Trap, ESI+

洗脱顺序的比较

与反相色谱法相比, 亲水相互作用 (HILIC) 模式下的洗脱顺序对大多数物质来说都是相反的。HILIC 模式下, 通过增加流动相中乙腈的含量, 样品中各组分的保留显著比反相模式下增强。TSKgel Amide-80 亲水相互作用色谱柱为反相色谱柱提供了正交互补的选择性, 如下文中表 1 所示。(请参见本目录第 7 页给出的各种样品在 TSKgel ODS-100V 色谱柱下的分析结果。)

表 1: TSKgel ODS-100V 和 TSKgel Amide-80 色谱柱的洗脱顺序比较

	ODS-100V	Amide-80
肽片段	1	20
	2	11
	8	8
	3	14
	4	16
	5	19
	6	1
	7	3
	9	13
	10	9
	11	2
	12	6
	13	18
	14	5
	15	4
	16	7
	17	10
	18	17
	19	12
	20	15

两种色谱柱的条件:

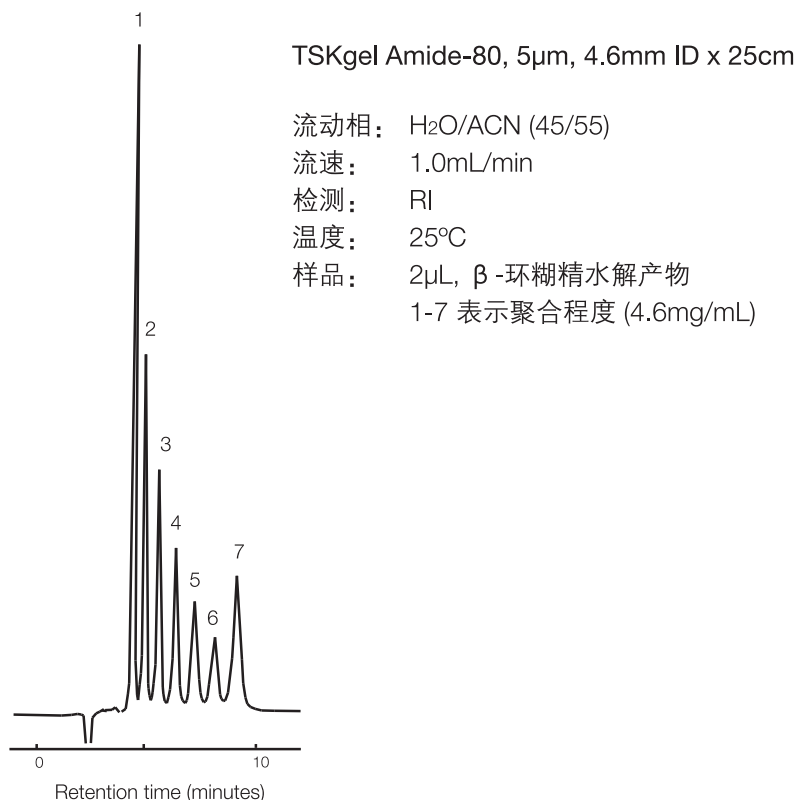
TSKgel Amide-80, 5 μ m, 2.0mm ID x 15cm
 TSKgel ODS-100V, 3 μ m, 2.0mm ID x 15cm

流动相: A: 含 0.1%TFA 的 H₂O
 B: 含 0.1%TFA 的 ACN
 梯度: TSKgel Amide-80:
 0min (95%B), 15min (50%B), 17min (50%B)
 TSKgel ODS-100V:
 0min (10%B), 15min (70%B), 17min (70%B)
 流速: 0.2mL/min
 进样量: 1 μ L (TSKgel Amide-80)
 2 μ L (TSKgel ODS-100V)
 样品: β -乳球蛋白胰蛋白酶降解物
 仪器: Q Trap, ESI+

碳水化合物的分析

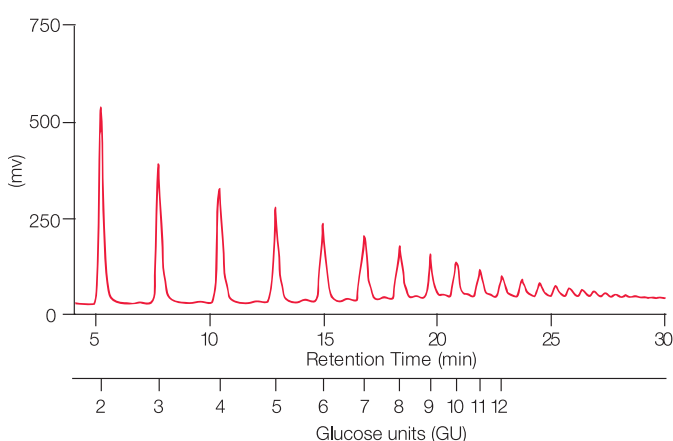
TSKgel Amide-80 色谱柱可以非常迅速并有效地分离寡糖。图 30 给出了 β -环糊精水解产物在不到 10 分钟内的分离情况。色谱峰的数量显示了寡糖中单位糖基的聚合程度，峰 1 代表一个葡萄糖单体，峰 2 为二聚物，依次类推。

图 30: 寡糖的分离



Amide-80 的氨基甲酰官能团非常适合于碳水化合物结构的分离。图 31 为标记了 2-氨基苯甲酰胺 (2AB) 的右旋糖酐于 30 分钟内在 TSKgel Amide-80, 3 μ m 色谱柱中的高分辨率分离结果。该阶梯可以用作糖链 HPLC 和 MS 分析的校准标准。该阶梯含有聚合程度从 dp1 到 dp22 的葡萄糖均聚物不同组分 (即从葡萄糖单体 GU1-2AB 到 GU22-2AB)。

图 31: 2-AB 标记的葡萄糖均聚物 (GHP) 的阶梯分离



TSKgel Amide-80, 3 μ m, 2.0mm ID x15cm

流动相: A) 50mmol/L 的甲酸铵 (pH 4.3)
B) ACN

梯度: 从 75%B 到 35%B (0-35min)

流速: 0.22mL/min

检测: 荧光 Ex@360nm, Em@425nm

温度: 50°C

进样量: 3 μ L

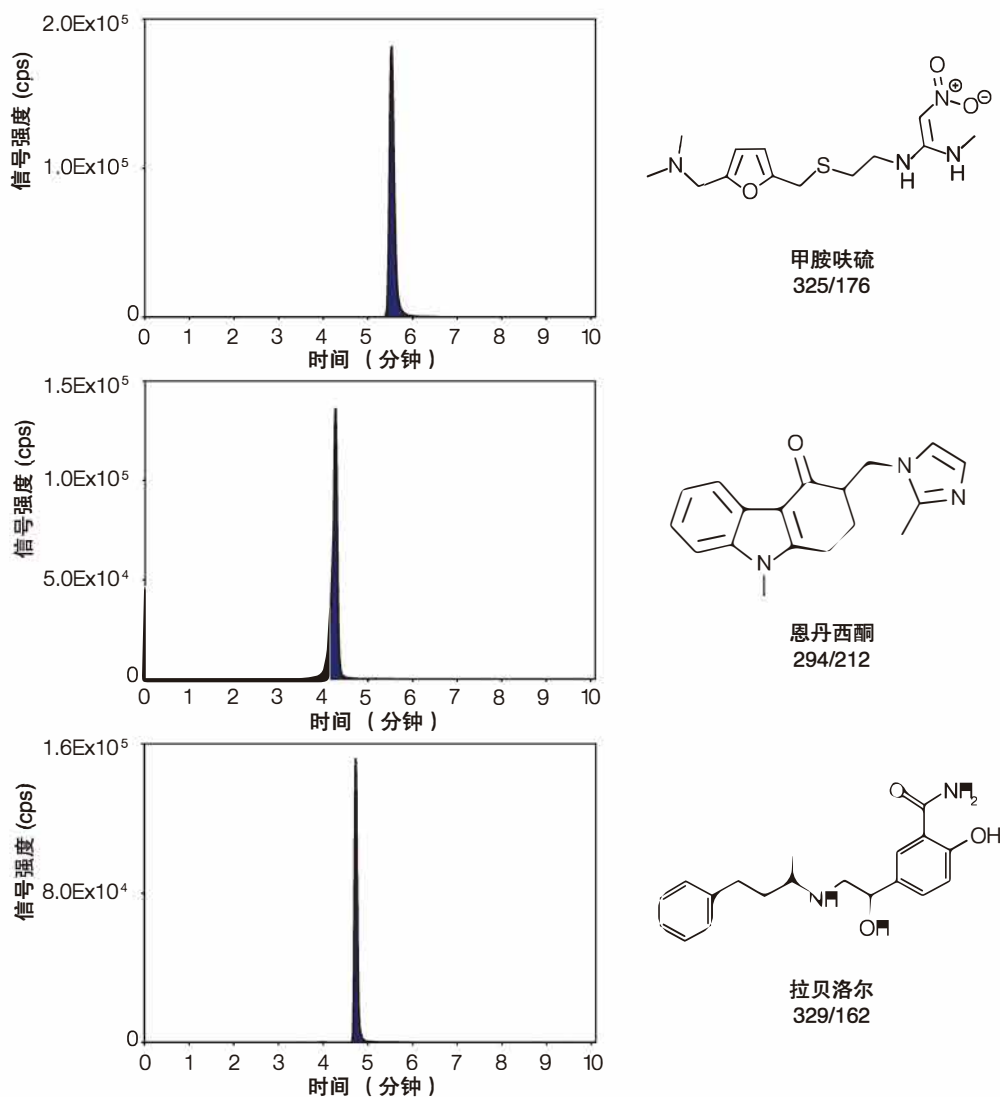
样品: CAB-GHP 右旋糖酐梯状物
(Ludger: ~ 300fmol for GU2)

*本数据由 K. Darsow & H. Lange 提供 (生物工艺学院; 纽伦堡/埃朗根大学)。

极性药物的分析

TSKgel Amide-80 色谱柱也是一种分析低分子量极性药物的有用工具，这些药物往往是不能在反相柱中被充分保留的。图 32 给出了采用粒径为 3 微米的 TSKgel Amide-80 色谱柱配合电喷雾电离质谱 (ESI/MS)，在 HILIC 模式下对极性药物的分离结果。由于流动相中有机物含量较高，HILIC 分析增强了检测灵敏度。

图 32: 极性药物标准品的分离



TSKgel Amide-80, 3 μ m, 2.0mm ID x 15cm

流动相: A: 10mmol/L 的甲酸铵 (pH 3.75)

B: ACN

梯度: 0min (90%B), 10min (40%B), 13min (40%B)

流速: 0.2mL/min

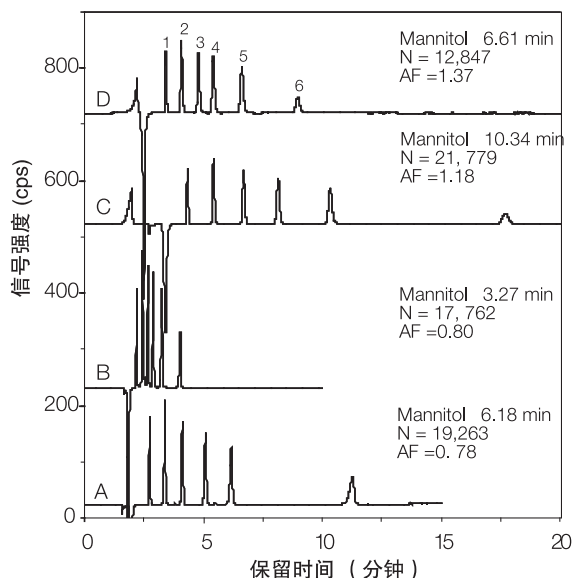
进样量: 5 μ L (50 μ g/L)

仪器: Q Trap LC/MS/MS, ESI+

糖醇的分析

图 33 给出了使用 TSKgel Amide-80 色谱柱和其他品牌的 HILIC 柱对糖醇进行分离的比较图谱。TSKgel Amide-80, 3 μ m 色谱柱对于甘露醇具有较高的柱效。与其他品牌的 HILIC 柱相比, TSKgel Amide-80 色谱柱的糖类选择性至少相同或者更好。

图 33: 糖醇保留时间的比较



A. TSKgel Amide-80, 3 μ m, 4.6mm ID x 15cm

B. Luna NH₂, 3 μ m, 4.6mm ID x 15cm

C. Polyamine, 4.6mm ID x 25cm

D. NH₂P-50 4E, 4.6mm ID x 25cm

流动相: H₂O/ACN (25/75)

流速: 1.0ml/min

检测: RI

温度: 40°C

进样量: 10 μ L

样品: 1. 乙二醇

2. 甘油

3. 赤藻糖醇

4. 木糖醇

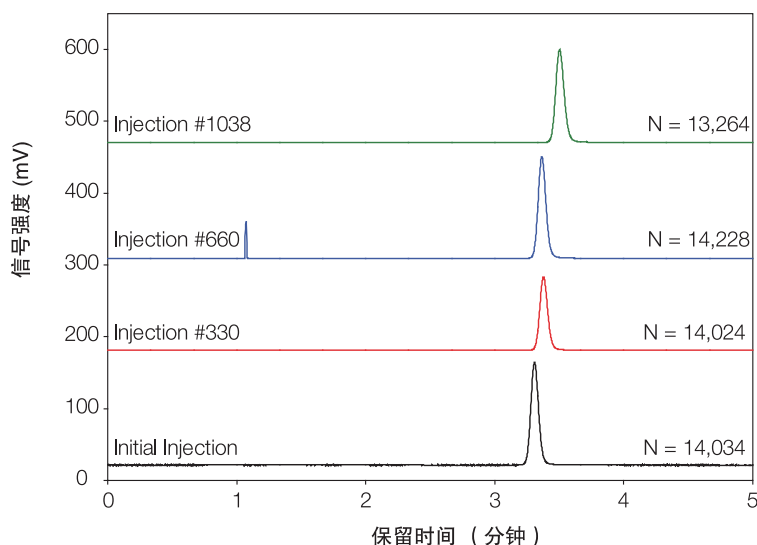
5. 甘露醇

6. 纤维醇

性能数据

图 34 说明了反复进样后 TSKgel Amide-80, 3 μ m 色谱柱的长期使用稳定性。

图 34: TSKgel Amide-80 色谱柱的长期使用稳定性



出货检验条件

TSKgel Amide-80, 3 μ m, 2.0mm ID x 15cm

流动相: H₂O/ACN (15/85)

流速: 0.2mL/min

检测: UV@254nm

温度: 25°C

进样量: 2 μ L

样品: 尿嘧啶 (37mg/L)

进样检测条件

流动相: A: 含 0.1% 甲酸的 H₂O/ACN(10/90)

B: 含 0.1% 甲酸的 H₂O

梯度: 0min (0%B), 12min (100%B)

流速: 0.2mL/min

温度: 40°C

进样量: 5 μ L

样品: 尿嘧啶 (37mg/L)

订购信息

TSKgel Amide-80, 3µm HILIC 色谱柱产品

货号	产品描述	基质	柱身材质	内径 (mm)	长度 (cm)
21864	TSKgel Amide-80, 3µm, 100Å	硅胶	不锈钢	2	5
21865	TSKgel Amide-80, 3µm, 100Å	硅胶	不锈钢	2	15
21862	用于内径 2mm, 3µm 柱的保护柱芯, 3µm, 3pk	硅胶	不锈钢	2	1
19308	用于内径 2mm 柱芯的保护柱套	--	不锈钢	2	1
21866	TSKgel Amide-80, 3µm, 100Å	硅胶	不锈钢	4.6	5
21867	TSKgel Amide-80, 3µm, 100Å	硅胶	不锈钢	4.6	15
21863	用于内径 4.6mm, 3µm 柱的保护柱芯, 3µm, 3pk	硅胶	不锈钢	3.2	1.5
19018	用于内径 3.2mm 柱芯的保护柱套	--	不锈钢	3.2	1.5

TSKgel Amide-80, 5µm HILIC 色谱柱产品

货号	产品描述	基质	柱身材质	内径 (mm)	长度 (cm)
21982	TSKgel Amide-80 HR, 5µm, 100Å	硅胶	不锈钢	4.6	25
20009	TSKgel Amide-80, 5µm, 100Å	硅胶	不锈钢	1	5
20010	TSKgel Amide-80, 5µm, 100Å	硅胶	不锈钢	1	10
21486	TSKgel Amide-80, 5µm, 100Å	硅胶	不锈钢	1	15
21487	TSKgel Amide-80, 5µm, 100Å	硅胶	不锈钢	1	25
19694	TSKgel Amide-80, 5µm, 100Å	硅胶	不锈钢	2	5
19695	TSKgel Amide-80, 5µm, 100Å	硅胶	不锈钢	2	10
19696	TSKgel Amide-80, 5µm, 100Å	硅胶	不锈钢	2	15
19697	TSKgel Amide-80, 5µm, 100Å	硅胶	不锈钢	2	25
21941	用于内径 2mm, 5µm 柱的保护柱芯, 5µm, 3pk	硅胶	不锈钢	2	1
19308	用于内径 2mm 柱芯的保护柱套	--	不锈钢	2	1
19532	TSKgel Amide-80, 5µm, 100Å	硅胶	不锈钢	4.6	5
19533	TSKgel Amide-80, 5µm, 100Å	硅胶	不锈钢	4.6	10
13071	TSKgel Amide-80, 5µm, 100Å	硅胶	不锈钢	4.6	25
19021	用于内径 4.6mm, 5µm 柱的保护柱, 5µm	硅胶	不锈钢	4.6	1
19010	用于内径 4.6mm, 5µm 柱的保护柱芯, 5µm, 3pk	硅胶	不锈钢	3.2	1.5
19018	用于内径 3.2mm 柱芯的保护柱套	--	不锈钢	3.2	1.5

TSKgel Amide-80, 10µm HILIC 色谱柱产品

货号	产品描述	基质	柱身材质	内径 (mm)	长度 (cm)
14459	TSKgel Amide-80, 10µm, 100Å	硅胶	不锈钢	7.8	30
14460	TSKgel Amide-80, 10µm, 100Å	硅胶	不锈钢	21.5	30
14461	用于内径 21.5mm 的保护柱, 5µm	硅胶	不锈钢	21.5	7.5

TSKgel NH₂-100 亲水相互作用色谱柱

TSKgel NH₂-100 氨基色谱柱扩展了 TSKgel HILIC 色谱柱的应用范围。它与知名度较高的 TSKgel Amide-80 色谱柱有着不同的分离选择性。这种新型氨基色谱柱的化学稳定性被大大改善。这是实现该类色谱柱可以获得良好的使用重复性和可靠性结果的先决条件。

TSKgel NH₂-100 色谱柱采用了孔径为 100Å、粒径为 3μm 的硅胶填料，并利用新型键合技术改进了键合相的化学稳定性。首先，硅胶在较低的化学计量比下与三甲基硅烷封端试剂发生反应，然后残余的硅醇基再与三官能键的烷氨基硅烷试剂发生反应。这样获得的键合相可以更好地防止硅胶表面层发生水解。

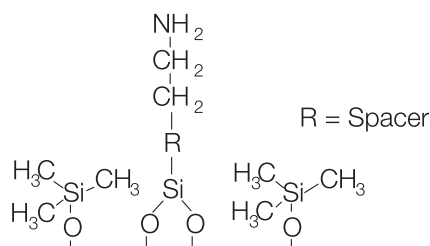
TSKgel NH₂-100 色谱柱的独特之处不仅在于键合相配体具有末端氨基，连固定化手臂也同时包含了第二和第三氨基。阴离子化合物还可以通过离子交换作用得到保留。这样，除了采用乙腈的梯度进行洗脱外，还可以使用盐浓度梯度进行洗脱。由于 TSKgel NH₂-100 柱具有阳离子性反应位点，在某些条件下，可以将这种色谱柱作为混合模式的色谱柱使用。

特点小结：

- 非常适合分析各种类型的亲水化合物，包括碳水化合物和多肽
- 由于较高的键合密度和较大的比表面积，该色谱柱显示出比 TSKgel Amide-80 色谱柱更强的对极性化合物的保留
- 亲水化合物在反相中使用较低的乙腈浓度来保留，而在 HILIC 模式下使用较高的乙腈浓度来保留
- 由于采用了优异的封端处理技术并充分抑制了残存硅醇基的作用，从而使得 TSKgel NH₂-100 3μm 亲水相互作用色谱柱的使用寿命比 TSKgel NH₂-60 色谱柱提高了 3 倍

产品属性与规格：

基材	硅胶
孔径	100Å
平均粒径	3μm
表面积	450m ² /g
官能团	烷基胺
封端	三甲基硅烷官能团



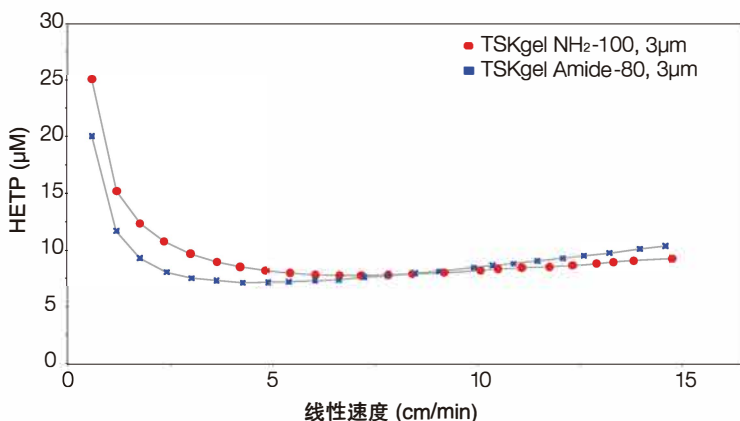
* 说明：

- 氨基配体是通过烷基手臂与硅胶表面键合的。
- NH₂-100 新型 HILIC 色谱柱的氮含量约为 2%，比 NH₂-60 色谱柱的氮含量大约高 20%，但比 TSKgel Amide-80 色谱柱的氮含量大约低 20%。

性能数据

图 35 对 TSKgel Amide-80 和 TSKgel NH₂-100 两种亲水相互作用色谱柱的范第姆特曲线进行了比较。TSKgel NH₂-100, 3μm 色谱柱的最佳流速略高于 TSKgel Amide-80, 3μm 色谱柱。我们推测其原因在于 TSKgel Amide-80 色谱柱固定相的多交联键合方式会妨碍样品组分扩散进出填料孔隙。

图 35: 范第姆特曲线的比较

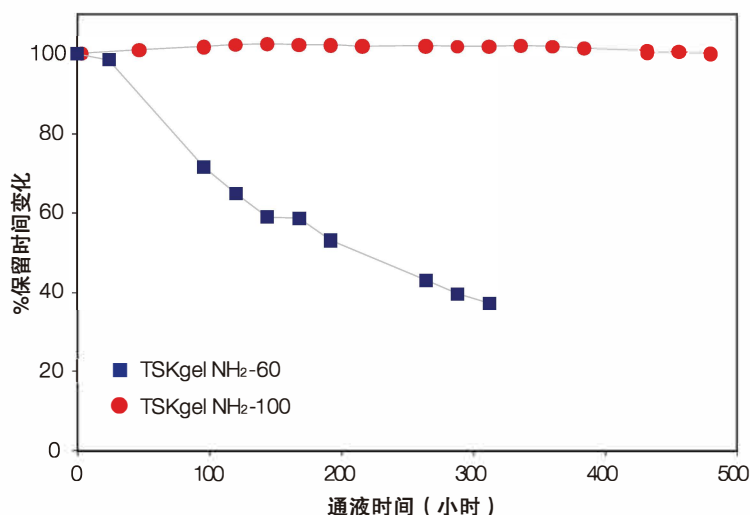


TSKgel NH₂-100, 3μm, 4.6mm ID x 15cm
 TSKgel Amide-80, 3μm, 4.6mm ID x 15cm

流动相: H₂O/ACN (10/90)
 流速: 0.1 ~ 2.4mL/min
 检测: UV@254nm
 温度: 40°C
 进样量: 10μL
 样品: 尿嘧啶

图 36 给出了新款 TSKgel NH₂-100 色谱柱和旧款 TSKgel NH₂-60 色谱柱之间的长期使用稳定性比较的结果。这两款色谱柱均使用了 25% H₂O 和 75% ACN 的流动相并连续进样了 300 小时。纤维醇样品在 TSKgel NH₂-60 色谱柱中的保留时间降低了 60% 以上，而在 NH₂-100 新型亲水色谱柱中的保留时间几乎没有变化。

图 36: 化学稳定性的比较研究



TSKgel NH₂-100, 3μm, 4.6mm ID x 15cm
 TSKgel NH₂-60, 4.6mm ID x 25cm

流动相: H₂O/ACN (25/75)
 流速: 1.0mL/min
 检测: RI
 温度: 40°C
 进样量: 10μL
 样品: 纤维醇

我们通常会使用 TSKgel NH₂-100 色谱柱来进行糖的分析，这是食品工业中典型的一种分析方法。下面的实验使用了两种不同的洗脱液来比较各自的保留时间和峰形情况。如图 37 所示，水和丙酮的混合物在 6 分钟内提供了卓越的分辨率；而 TEA-FA 和丙酮的洗脱液混合物所获得的色谱峰形不如前者尖锐，保留时间也比前者长了 4 分钟。

图 37: 常见糖的分析

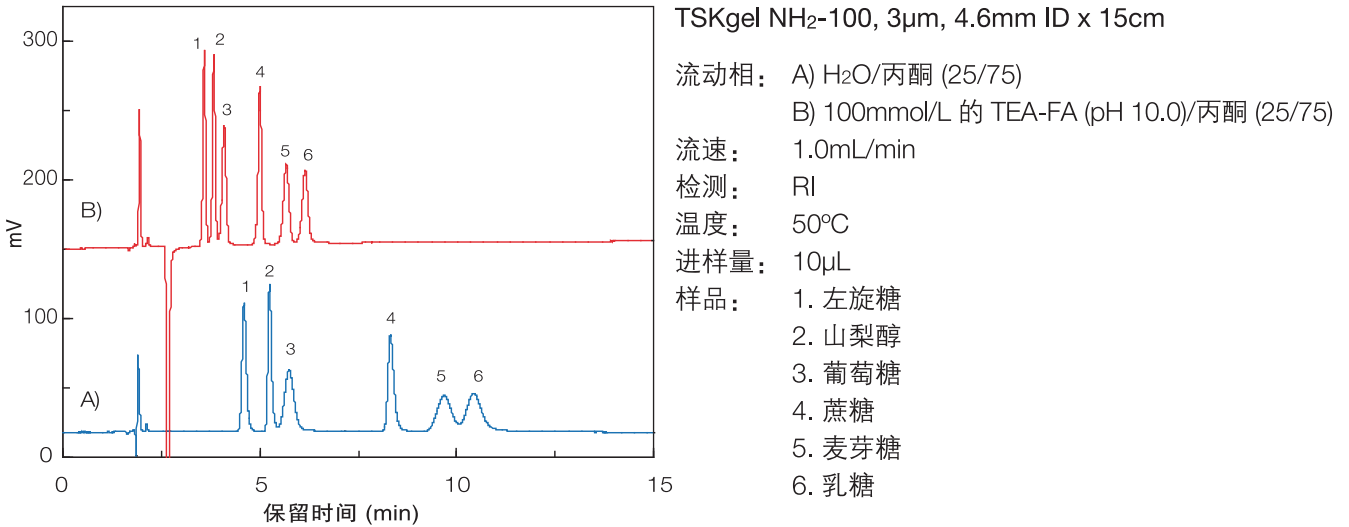
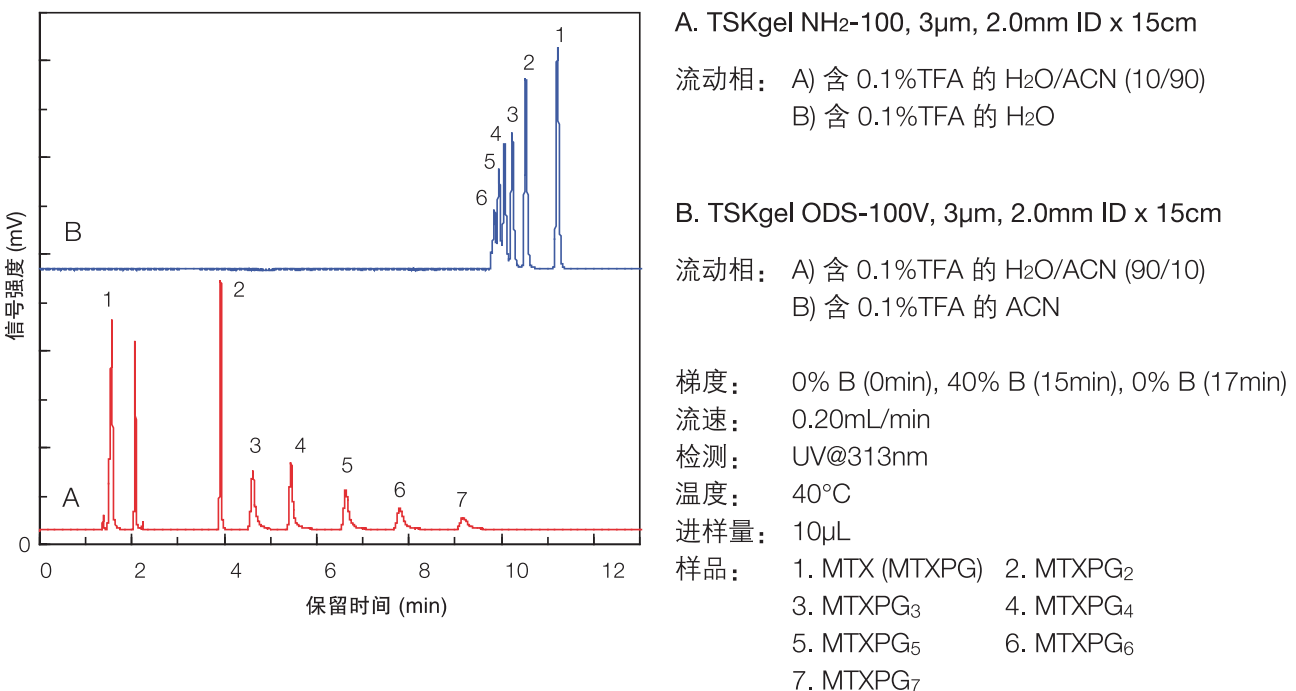


图 38 给出了 TSKgel NH₂-100, 3μm HILIC 色谱柱和 TSKgel ODS-100V, 3μm 反相色谱柱对甲氨喋呤及其衍生物 (MTXPG₂₋₇) 进行分析的结果。MTX 和聚谷氨酸盐衍生物在 TSKgel NH₂-100 亲水相互作用色谱柱中被洗脱时按照谷氨酸基团的数目顺序出峰，在 TSKgel ODS-100V 反相色谱柱中则以相反的顺序被洗脱。尽管 MTX 和 MTXPG₂ 在 TSKgel NH₂-100 亲水相互作用色谱柱中出峰较早，但整个分离效果仍然要好于 C18 反相色谱柱中能够达到的分离效果

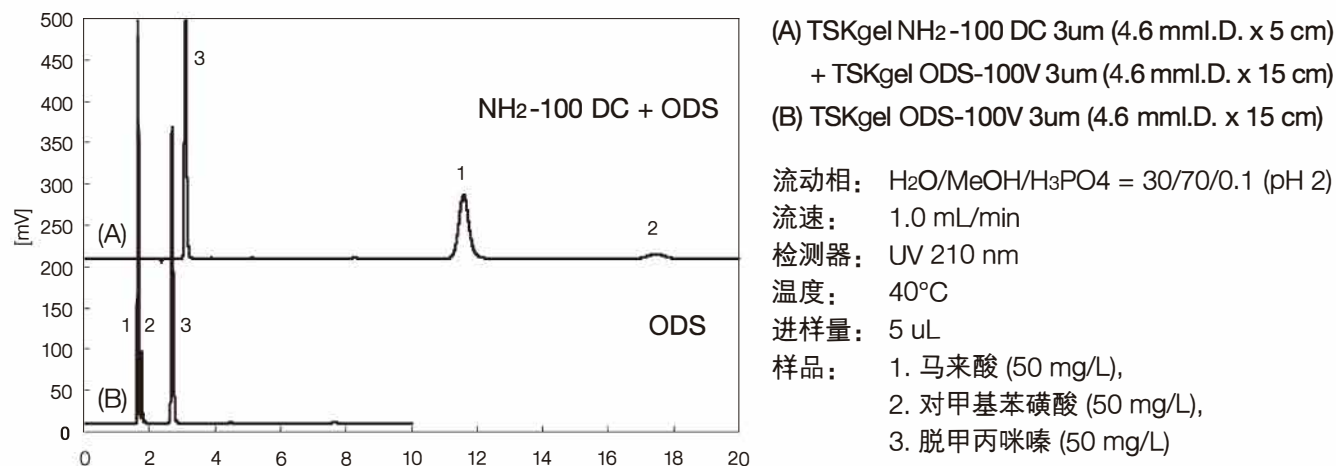
图 38: 甲氨喋呤及其衍生物的分离



TSKgel NH₂-100 DC, 3μm

特点：无需管线，可以直接将NH₂-100 DC色谱柱与其他色谱柱连接。将NH₂-100 DC色谱柱连接于反相色谱柱之前，可以实现在同一流动相条件下，同时分析亲水性样品和疏水性样品。

图 39：使用ODS色谱柱分离药物和作为抗衡离子出现的有机酸时是否使用NH₂-100DC的效果对比



订购信息

货号	产品描述	基质	柱身材质	内径 (mm)	长度 (cm)
21967	TSKgel NH ₂ -100, 3μm, 100Å	硅胶	不锈钢	2	5
21968	TSKgel NH ₂ -100, 3μm, 100Å	硅胶	不锈钢	2	15
21971	用于内径 2mm 色谱柱的保护柱芯, 3pk	硅胶	不锈钢	2	1
19308	用于内径 2mm 柱芯的保护柱套	--	不锈钢	2	1
21969	TSKgel NH ₂ -100, 3μm, 100Å	硅胶	不锈钢	4.6	5
21970	TSKgel NH ₂ -100, 3μm, 100Å	硅胶	不锈钢	4.6	15
21972	用于内径 4.6mm 色谱柱的保护柱芯, 3pk	硅胶	不锈钢	3.2	1.5
19018	用于内径 3.2mm 柱芯的保护柱套	--	不锈钢	3.2	1.5
21999	TSKgel NH ₂ -100 DC, 3μm, 100Å	硅胶	不锈钢	4.6	5