

## Monomix MC SEC 色谱柱使用手册

### 色谱柱信息

Monomix MC SEC 分析型色谱柱固定相以亲水性聚甲基丙烯酸酯为基质，粒径均一，具有更好的物理、化学稳定性，能装填更高的柱效，对生物大分子的分离纯化具有更高的分离效率和回收率。

颗粒粒径分为 10  $\mu\text{m}$ ，15  $\mu\text{m}$ ，三种孔径选择 300、500、1000  $\text{\AA}$ 。展现了 SEC 机制在蛋白质、多糖、VLP 和其它生物大分子中的应用。

### 稳定性和性能

Monomix MC SEC 填料在各种操作条件下高度稳定。它们与许多常用的有机溶剂和水性缓冲剂相容。与硅胶介质相比，它们在极端 pH(1-14)条件下更稳定。与琼脂糖介质相比，它们的刚性更强，能抵抗高强度的背压，因此能应用于高流速环境。

Monomix MC SEC 固定相以亲水性聚甲基丙烯酸酯为基架，表面再涂覆致密亲水性涂层以进一步减少样品与基架之间的非特异性吸附。蛋白和其他生物分子与固定相之间的非特异性吸附可忽略。

### 色谱柱特征参数

基球：球形、高纯度

粒径：10  $\mu\text{m}$  / 15  $\mu\text{m}$

孔径：300  $\text{\AA}$ ，适用分子量范围 (Dalton / mol)：PEO or PEG： $\leq 90,000$  Dextran MW：1000~400,000 Globular Protein：600~900,000; 500  $\text{\AA}$ ，适用蛋白分子量范围：PEO or PEG：200~400,000 Dextran MW：1000~800,000 Globular Protein：10,000~1,500,000; 1000  $\text{\AA}$ ，适用蛋白分子量范围：PEO or PEG：4000~1,000,000 Dextran MW：1000~1,000,000 Globular Protein：10,000~10,000,000

### 安全注意事项

Monomix MC SEC 柱通常在 $<60\text{bar}$  压力下运行。如果管路连接不紧，将会导致有机溶剂和注入样品的泄漏，从而对操作人员的健康产生影响。一旦发生泄漏，应佩戴适当的手套进行处理。另外当打开色谱柱时还应采取适当的保护措施，以防止微小的固定相颗粒进入呼吸道。

### 色谱柱安装及操作

色谱柱在运输过程中或在没有使用时，它的两端总是用堵头进行密封。当将色谱柱接入色谱仪器系统时，首先移去两端的堵头。请注意将流动相流动的方向与柱上标记的方向保持一致。除非出于特殊考虑，例如为了清除堵在色谱柱入口端的脏污等而需要将色谱柱反接以进行冲洗时，建议用户在接上色谱柱时一定要遵循柱上标记的方向。由于色谱柱的连接是整个色谱操作过程的一部分，如果密封卡套过紧，或安装不适合，或者密封卡套与色谱柱端口不匹配，都有可能造成溶液的泄漏。请按照下面步骤将色谱柱与密封卡套相连接，从而将色谱柱接入 HPLC 系统：

(a) 第一次使用的管线，请依次将管线接头和密封卡套装在外径 1/16 的管线上。密封卡套的宽口端应朝向管线接头。

(b) 将管线紧紧插入色谱柱的接口，向前滑动密封卡套和管线接头，并使管线接头的螺纹与色谱柱端口的螺纹相互衔接，然后拧紧管线接头。如果管线为高分子材料，请转到步骤 (d)；如果是金属管线，请继续 (c)。

(c) 在用力将管线压入柱端接口之后，用 1/4 扳手将已拧紧的螺帽再进一步紧固。

(d) 对色谱柱的另一端采用上述方法操作。

### 样品与流动相

为了避免色谱柱的堵塞，所有样品和溶剂，包括缓冲溶液在内，都必须在使用前用 0.45  $\mu\text{m}$  或 0.2  $\mu\text{m}$  的滤膜过滤。

Monomix MC SEC 柱可以使用水或有机溶剂的混合物，如甲醇（或乙腈）的水溶液等作为流动相。流动相在使用前需要脱气。一个简单的脱气方法是将流动相在水泵形成的真空下超声 5min。

### 色谱柱的保养

**运输溶剂** 新的 Monomix MC SEC 柱中的液相是含 0.05% Na<sub>3</sub> 的 0.1M 磷酸盐缓冲液 (pH 7.0)。在储存和运输过程中，色谱填料可能会干涸。这时推荐用 10-20 倍柱体积的 0.1M 磷酸盐缓冲液 (pH 7.0) 进行冲洗以活化色谱柱。接着可用用户自己选择的流动相冲洗色谱柱。流速由 0.1mL/min 逐渐升至所需的操作条件，直至基线稳定为止。如果柱压和基线波动较大，这可能是气泡进入了色谱柱中。这时可用较高流速冲洗色谱柱 2-5 分钟，例如对于 7.8\*300 mm 的色谱柱可采用流速 0.5 mL/min。

**pH** 为了获得最佳的分离效果和延长柱的使用寿命，请尽量使用 pH 在 2-12 范围内的流动相。

**压力** Monomix MC SEC 柱通常在低于 60 bar 压力下使用。长时间在高压下运行会损坏色谱柱。由于压力来源于流速，因此最大流速将受制于系统所能承受的压力。一般而言，柱压随着色谱柱使用时间的增加而逐渐增加。压力突然增加预示色谱柱入口端的筛板发生了堵塞。在这种情况下，建议将色谱柱反接后用适宜的溶剂进行冲洗。

**温度** 最高操作温度为 80°C。为了获得最长的使用时间，最佳操作温度为 10-60°C。长时间在高温 (>80°C) 下操作也会损坏色谱柱，尽量避免在过高或过低的 pH 值下高温使用色谱柱。

**流速范围** 内径 7.8 mm 的色谱柱，其正常操作流速为 0.1-0.8 mL/min。色谱柱最高使用流速：1.0 mL/min。

**储藏** 长期不用时，需要将色谱柱贮存在 0.05%Na<sub>3</sub>N 或 20% 乙醇的流动相中。每根色谱柱在运输过程中均会附有两个可拆卸的堵头。为了防止柱床干涸，请用堵头塞紧色谱柱的两端。

**清洗** 多次使用后某些样品可能会吸附到入口筛板或填料上。当积累至一定程度时会出现压力升高并伴随峰形展宽的现象。出现这种情况需要清洗色谱柱，一般清洗流程如下：

1. 将色谱柱与检测器断开；
2. 将色谱柱反接后进行冲洗；
3. 低于 50%最大推荐流速的条件下冲洗色谱柱。注意柱压的变化。如果柱压超出正常水平许多，可降低流速或更换低粘度的缓冲液作为冲洗溶剂；
4. 一般用清洗溶液冲洗 10-15 倍柱体积即可。更换溶液时请用 3-5 倍柱体积的经过蒸馏的去离子水将色谱柱冲洗干净。

**清洗溶液** 这里介绍清洗溶液选择的基本原则。低 pH 的清洗溶液有助于移除碱性蛋白。高 pH 的碱清洗溶液可以除去大部分的蛋白。有机溶剂有助于移除疏水蛋白。助溶剂有助于去除在固定相上强吸附的物质（如通过氢键作用等）。应注意只有在其他清洗溶液或有机溶剂没有明显改善效果的情况下使用助溶剂。这里推荐常用的清洗溶液：

1. 低 pH 值清洗液：0.01 M HCl, 1 M 醋酸。
2. 碱洗溶液：0.1-1.0 M NaOH
3. 含有机溶剂（如 10-50%的甲醇、乙腈、乙醇等）的缓冲溶液（如 50 mM 磷酸盐缓冲液，pH 7.0）。

**Monomix MC SEC 产品规格**

产品	内径×长度 mm×mm	粒径 μm	孔径 Å	货号
Monomix MC SEC	4.6×300	10	300	280110300-4630
Monomix MC SEC	7.8×300	10	300	280110300-7830
Monomix MC SEC	10.0×300	10	300	280110300-10030
Monomix MC SEC	21.2×300	10	300	280110300-21230
Monomix MC SEC	4.6×50(Guard)	10	300	280110300-4605
Monomix MC SEC	7.8×50(Guard)	10	300	280110300-7805
Monomix MC SEC	10.0×50(Guard)	10	300	280110300-10005
Monomix MC SEC	4.6×300	10	500	280110500-4630
Monomix MC SEC	7.8×300	10	500	280110500-7830
Monomix MC SEC	10.0×300	10	500	280110500-10030
Monomix MC SEC	21.2×300	10	500	280110500-21230
Monomix MC SEC	4.6×50(Guard)	10	500	280110500-4605
Monomix MC SEC	7.8×50(Guard)	10	500	280110500-7805
Monomix MC SEC	10.0×50(Guard)	10	500	280110500-7805
Monomix MC SEC	4.6×300	10	1000	280110950-4630
Monomix MC SEC	7.8×300	10	1000	280110950-7830
Monomix MC SEC	10.0×300	10	1000	280110950-10030
Monomix MC SEC	21.2×300	10	1000	280110950-21230
Monomix MC SEC	4.6×50(Guard)	10	1000	280110950-4605
Monomix MC SEC	7.8×50(Guard)	10	1000	280110950-7805
Monomix MC SEC	10.0×50(Guard)	10	1000	280110950-10005
Monomix MC SEC	4.6×300	15	500	280115500-4630
Monomix MC SEC	7.8×300	15	500	280115500-7830
Monomix MC SEC	10.0×300	15	500	280115500-10030
Monomix MC SEC	21.2×300	15	500	280115500-21230
Monomix MC SEC	4.6×50(Guard)	15	500	280115500-4605
Monomix MC SEC	7.8×50(Guard)	15	500	280115500-7805
Monomix MC SEC	10.0×50(Guard)	15	500	280115500-10005
Monomix MC SEC	4.6×300	15	1000	280115950-4630
Monomix MC SEC	7.8×300	15	1000	280115950-7830
Monomix MC SEC	10.0×300	15	1000	280115950-10030
Monomix MC SEC	21.2×300	15	1000	280115950-21230
Monomix MC SEC	4.6×50(Guard)	15	1000	280115950-4605
Monomix MC SEC	7.8×50(Guard)	15	1000	280115950-7805
Monomix MC SEC	10.0×50(Guard)	15	1000	280115950-10005

\*其他规格色谱柱产品及任何问题可致电：400-636-8880

或联系 [marketing@sepax-tech.com.cn](mailto:marketing@sepax-tech.com.cn)。