

赛分科技 C18 填料使用说明书






一、产品简介

赛分科技生产的C18 (10 μm)填料，采用球形、高纯度硅胶为原料，粒径10 μm ，孔径有100 \AA 、120 \AA 、200 \AA 和300 \AA 等规格可供选择，根据不同规格以及键合方式等主要分为四类，其名称分别为GP-C18、HP-C18、Bio-C18以及BR-C18。具有独特的官能团化学键合技术可避免形成复合的C18分子层，均匀的涂层确保了固定相具有高选择性和高分辨率的分离特点。

C18 (10 μm)填料具有耐压性好、反压低及高流速下分辨率良好等特点；并且具有良好的物理及化学稳定性、高度批次间重现性，适用从研发到线性放大再到工业化生产的全过程。

为保证填料的正常使用，请在使用此款填料前仔细阅读使用说明。

层析介质特点

-  以高纯硅胶为原料
-  高载量
-  高机械强度
-  高度批间重现性
-  不同类型 C18 填料适用于不同场景，满足不同场景所需

二、安全

有关本产品安全使用的信息，请参阅安全数据书(SDS)。

三、产品性质及特征参数

3.1 层析介质化学结构与技术参数

C18 填料根据名称、孔径以及封尾形式的不同主要有四个系列的产品，化学结构示意图见图 1。不同系列的产品各具特点，C18 填料的名称分别为 GP-C18，该产品通用性强，应用广泛；HP-C18 高耐水，满足高水相纯化需求；Bio-C18 有两款不同孔径规格，适用于分子量较大样品分离纯化；BR-C18 具有更高耐碱性，可耐受 pH 11。

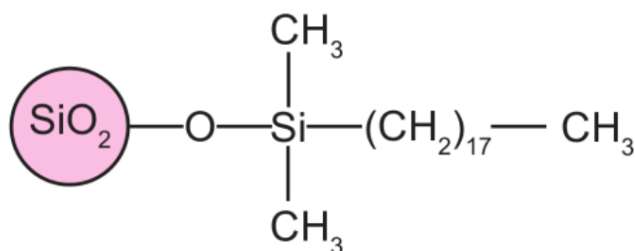


图 1.层析介质化学结构示意图

表 1.GP/HP/Bio-C18 填料的种类及技术参数

填料类型	GP-C18	HP-C18	Bio-C18	
粒径 (μm)	10	10	10	10
粒径分布	≤ 1.35	≤ 1.35	≤ 1.35	≤ 1.35
孔径 (\AA)	120	120	200	300
装柱密度 (g/mL)	0.65	0.61	0.61	0.55
比表面积 (m^2/g)	300	350	200	105
孔容 (mL/g)	1.0	1.0	1.0	0.95
碳载量 (%)	17.0	15.0	10.0	7.0
pH稳定性	2-8.5	2-8.5	2-8.5	2-8.5
键合方式	单层全封尾	单层全封尾	单层全封尾	
特性及应用	通用性最好的反相填料，广泛应用于药物分子、合成多肽、天然产物，酸性、中性和碱性化合物等。	耐受高水相，可用于分离药物分子、维生素、天然产物、多肽及其它极性分子等。	适用于分离过程中需要填料孔径较大，或者需要高含水比例流动相的情形。	

注：BR-C18 产品参见对应填料说明书

四、层析柱装柱

C18填料可与常用的反相色谱柱和设备一起搭配使用。

4.1 DAC 柱常规装柱方法

以50 DAC例：GP-C18-10 μm -120 \AA 。

装柱前请仔细阅读层析柱设备系统说明书，不同厂商的设备不同，柱子装填的方法亦有区别。层析柱设备及相关零件在使用前保持洁净和完整。

- 1) 称量干燥填料约320 g置于烧杯中，缓慢加入异丙醇并同向搅拌，保持总体积约1000 mL，超声30 min。超声时为防止填料沉降和结块，2~3 min搅拌一次。
- 2) 将DAC活塞下降至最低位，通过调节气阀大小，使液压保持在8 MPa（预设的压力值可根据检测的柱效结果进行优化），按下调节阀将压力锁死在当前压力下。再将压缩杆上升至最高，安装好底盘，防止漏液，堵住底部出液口准备装柱。
- 3) 关闭活塞端堵头，打开另一端堵头，控制活塞缓慢压缩移动，当有液体流出时，观察是否有气泡排出，等气泡完全排出后，关闭气源开关，堵上顶板一端的管路。
- 4) 打开活塞端堵头，打开气源开关，继续控制活塞移动，控制气压阀将活塞轴向压力调至8 MPa（预设的压力值可根据检测的柱效结果进行优化）。当柱床高度稳定后，微调气压阀，以8 MPa（预设的压力值可根据检测的柱效结果进行优化）液压保压。
- 5) 保压30 min，装柱完成。
- 6) 请注意在层析柱及相关设备的可承受压力范围进行操作和使用。

4.2 DAC 层析柱检测方法及评价标准

层析柱柱效测试以常用的理论塔板数及拖尾因子为考察指标，表 2 为柱效测试参考条件：

表 2.ID 50mm DAC 柱效测试方案及参考标准

流动相	乙腈
流速	50 mL/min
检测波长	254 nm
样品	15 mg/mL 萘乙腈溶液
进样体积	100 μ L
参考标准	理论塔板数: >25000 /m 不对称因子 (As): 0.8-1.8

4.3 注意事项

- 1) 装柱前确认管道清洁, 密封圈及连接线完
- 2) 实际装柱中, 由于各个厂家 DAC 设备会有一些差异, 请严格遵守设备厂家的使用说明。

五、清洗和再生

所有需要纯化的样品需经过孔隙小于 2 μ m 的过滤装置滤过, 确保没有不溶性颗粒。原则上每次使用填料后需进行清洗处理, 以避免填料被污染, 最大程度地延长填料使用寿命。实际使用过程中可根据样品的污染程度选择清洗的频率, 常用的清洗溶剂为水、甲醇、乙腈、异丙醇等。

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; 若长时间使用发现柱效明显降低, 分离达不到效果, 可使用以下的再生程序依次进行洗脱, 洗脱剂的使用和用量可根据实际情况调整, 一般情况下建议清洗 8-10 倍柱体积。

- 1) 10%乙腈
- 2) 乙腈
- 3) 异丙醇
- 4) 乙腈
- 5) 50%乙腈

六、储存条件

未开封的填料储存条件: 密封, 阴凉干燥处保存, 保存期限为 5 年。

填料长期不用时, 可使用“五、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, 保存期限为 5 年。

七、方法开发和优化

围绕填料进行的方法开发和优化, 以优选出最佳的分离纯化条件和参数, 保证最好的纯度、最大的载量及最高的回收率, 同时适宜放大, 达到工业生产的目。建议在实验室小规模试验进行方法开发和优化, 降低填料、试剂及时间成本。

7.1 分离度、载量及回收率

对于分离度、载量及回收率, 以下参数至关重要:

- 有机溶剂的种类和浓度

乙腈通常在反相色谱中对样品有较好的分离度, 同时粘度较低, 紫外末端吸收较小, 但由于其毒性较高, 在工业应用上经常被甲醇或乙醇替代。甲醇和乙醇价格便宜, 毒性较小, 但乙醇溶剂粘度较高导致反压较大, 对于分离效果来说, 用梯度洗脱往往能提高分辨率, 具体可结合分离效果以及实际的设备条件来

选择。

- 离子对试剂及缓冲液的种类及浓度

根据样品的性质，可添加一些酸或缓冲盐来改善分离度如：甲酸、乙酸、磷酸以及三氟乙酸；磷酸盐缓冲液、醋酸盐缓冲液，碳酸氢铵缓冲液。

- 温度

温度会影响反相色谱填料的分离效果，然而在实际工艺开发中，温度的优化经常会受到限制。故在方法开发时，最好保证在特定的温度范围内优化出最佳的分离纯化工艺。

7.2 分离度和生产效率

除了以上一些提高分离度的方法，实际工艺开发中还会通过减少上样量、降低梯度、改变流速或者增加柱床高度来提高分离效果，但这些参数的优化会导致产能或生产效率的降低，所以在工艺开发时需要综合考虑该类因素和生产效率之间的关系。

八、比例放大

工艺开发在经过实验室小试阶段后，可通过线性放大扩大规模，一般通过增大层析柱的直径来实现。放大过程中需要保持以下参数的稳定：层析柱高度、线性流速、样品浓度和上样体积（与柱体积相关）以及流动相的比例；而层析柱的直径和体积流速是相应放大的。

在放大过程中，由于设备的差异，可能会与实验室小试结果存在一定偏差。出现此问题时，需要仔细检查流量泵的输液管路及检测器的管路，尽量减少试剂延迟及流量变化的影响。另外，随着出口管道长度和直径的增加也会导致整个系统死体积的增加。

九、销毁及回收

由于 C18 填料在自然界很难降解，为了保护环境建议采用焚烧处理或者第三方委外处理。

十、订购信息

产品名称	粒径(μm)	孔径 (Å)	货号
GP-C18	10	120	110110121
HP-C18	10	120	110410121
Bio-C18	10	200	110510201
Bio-C18	10	300	110510301
BR-C18	10	120	110810121
BR-C18(2)	8	100	111308101

预装柱规格可根据客户需求定制，包装规格可根据客户需求提供。

该类型填料其他的粒径和孔径亦可定制。



扫码关注公众号

公司信息：

苏州赛分科技股份有限公司

联系电话：400-636-8880

官网网站：<http://www.sepax-tech.com.cn/>