

赛分科技 Bio-C8(2)填料使用说明书

一、产品简介

赛分科技的Bio-C8(2)填料以高纯度球形硅胶为基质，采用专有的表面修饰技术，键合具有适中疏水性能的辛基；优化的孔径结构实现了高稳定性以及高载量。再结合专有的全封尾化学键合技术，提高产品的耐酸、耐碱性；拥有高分辨率、高重现性等特点，是实现疏水性和亲水性化合物分离的最佳选择。该款填料有以下规格：分别为粒径8 μm /10 μm 、孔径100 Å以及粒径10 μm 、孔径200 Å。

Bio-C8(2)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、批次间重现性，可以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

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

赛分科技的 Bio-C8(2)填料，图 1 为其结构示意图，以硅胶为基质，表面键合辛基（-C8）官能团，按照其不同粒径和孔径，有 2 款可供选择，表 1 为 Bio-C8(2)填料的技术参数。

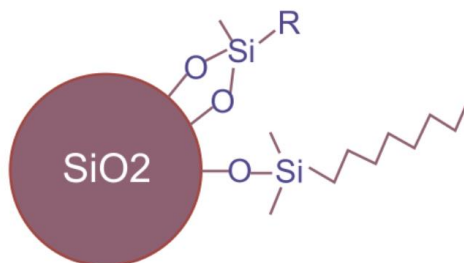


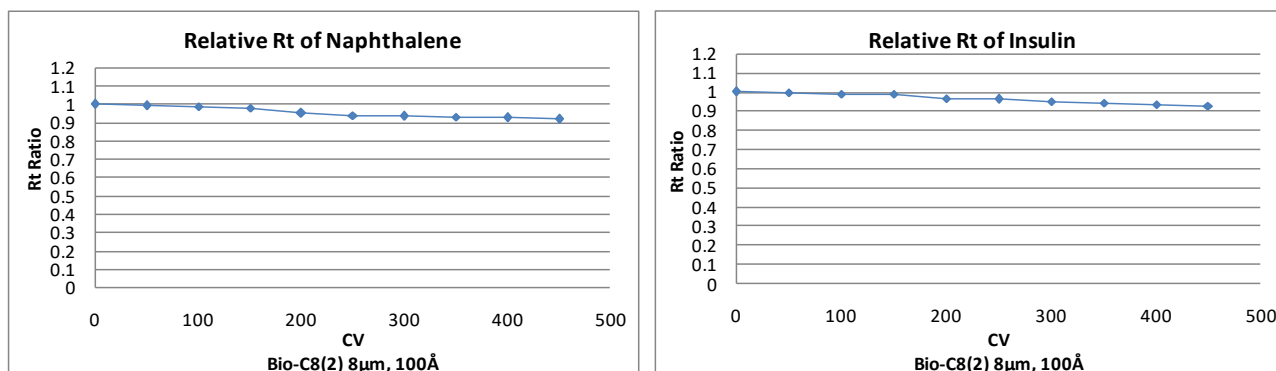
图 1.层析介质化学结构示意图

表 1.Bio-C8(2)填料的种类及技术参数

产品名称	Bio-C8(2)	
粒径 (μm)	8/10	10
粒径分布	≤ 1.35	≤ 1.35
装柱密度 (g/mL)	0.62	0.55

孔径 (Å)	100	200
比表面积 (m ² /g)	310	200
孔容 (mL/g)	1.0	1.05
碳载量 (%)	12	8
pH稳定性	1.5-9.5	1.5-9.5

赛分科技的 Bio-C8(2) 填料相较于普通硅胶反相填料具有更好的耐碱性, 数据表明通过 450 CV 的 0.1 M NaOH (pH=13) 在位清洗 (实验数据见图 2), 发现萘以及胰岛素相对于其初始保留时间的比值为 92%, 这说明 Bio-C8(2) 填料只发生了轻微的退化。考虑到不同项目的不同应用场景, 推荐最佳 pH 使用范围 2-8.5, 对于特定的样品可以考虑在 pH: 2-12 范围内使用; 建议十分必要的情况下选择碱洗再生, 特定样品的碱清洗的浓度以及循环次数需要通过实验进行验证。



(Mobile phase: 0.1M NaOH/甲醇, pH≈13; Naphthalene, 萘; Insulin, 胰岛素保留时间变化)

图 2. Bio-C8(2) 硅胶反相填料耐碱性测试

3.2 Bio C8(2) 高分辨率纯化应用

Sample: 多肽粗品 (纯度 82.46%, 载量 15 mg/mL)

Column: Bio-C8(2) (10 µm-200 Å, 4.6×250 mm); Pressure: 24 bar

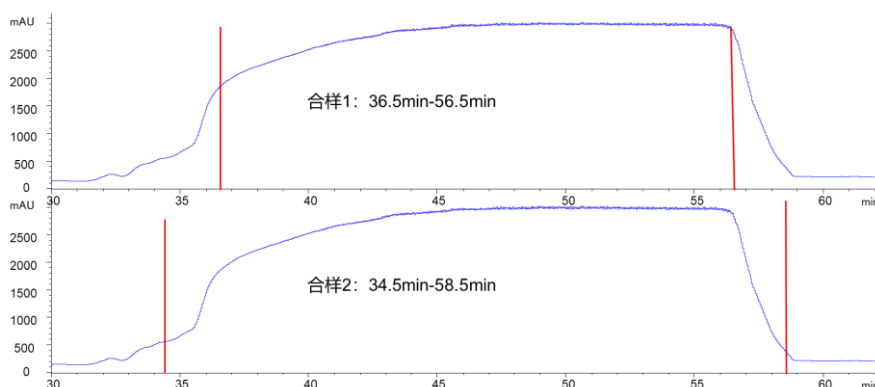


图 3. Bio-C8(2) 纯化司美格鲁肽粗品图谱

纯化后根据不同质量要求分别收集不同时间段样品(合样 1 与合样 2)进行分析检测, 样品纯度从 82.46% 提升至 99.63%, 已知单杂 0.11%, 未知单杂均小于 0.1%, 同时回收率在 88% 以上 (合样 1)。合样 2 增加收样范围, 纯度可达 98.47%, 回收率显著提高至 99.4%。

四、层析柱装柱

Bio-C8(2) 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：Bio-C8(2)-10 μm -200 Å。

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270 g置于烧杯中，缓慢加入异丙醇并同向搅拌，保持总体积约670-730 mL，超声15-20 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8-10 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8-10 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8-10 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 μL
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 μm 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

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。

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，达到工业生产的目的。我们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 Bio-C8(2)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
Bio-C8(2)	8	100	111208101
Bio-C8(2)	10	100	111210101
Bio-C8(2)	10	200	111210201

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。



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/>