

MCI GEL 的装填方法

精细分离填料是在大孔吸附树脂的基础上进行设计和改良的，基体是聚苯乙烯基共聚物或聚甲基丙烯酸酯共聚物。精细反相分离填料具有高比表面积，能够耐酸、碱，可以在 pH1-14 范围内使用，而且与传统的大孔吸附树脂相比，粒径分布范围窄，颗粒粒径小，可以装填出具有较高柱效的色谱柱，达到对物质的精细分离。可用于分析和制备纯化产品。常用于反相色谱体系，用于纯化、分离植物提取物单体、小分子药物、多肽、核酸、蛋白质等。以下是精细填料的装填方法。

装填前准备

1. 装填前准备工作：

- 1) 柱子清洗干净检查没有明显的破损。
- 2) 检测密封是否严格。
- 3) 柱子要竖立与地面垂直。
- 4) 在装柱前要用装柱的溶剂冲刷色谱柱、柱筛板、管路等。

所需要的设备有：泵（蠕动泵或恒流泵）、压力表、水平仪、玻璃/或不锈钢层析柱、烧杯或其他容器等。

2. 去除小颗粒

树脂装填前需要去除小颗粒，因为这种小颗粒会堵塞筛板或砂芯，造成整个柱子压降增加，而且填料的粒径分布太广也不利于装填后柱子的柱效，因此在柱子装填前要把小颗粒除去。去除步骤如下：

- 1) 将树脂倒入到适宜的容器中，加入乙醇，玻璃棒搅拌后静止。加入乙醇的体积和静止的时间决定了树脂粒径的大小。
- 2) 将树脂溶液表面的悬浮物轻轻倒走或抽走。
- 3) 加入新的乙醇溶液，重复上述 1)，2) 步骤。直到溶液澄清看不到小颗粒为止。

一、 装填

1. 匀浆

根据所需装填柱子的体积称取适量的填料到容器里，容器的体积至少是匀浆体积的2倍，再根据具体的装填方式和装填的填料的类型按照表一、二、三制成合理的匀浆。为了充分溶胀，建议可提前将填料浸泡在装填溶剂中过夜。

表一 每升柱床体积填料量

填料类型	每升柱床填料量
MCI GEL	0.3-0.4 kg/l Vc

表二 建议使用的装填溶剂

填料类型	选用溶剂
MCI GEL	乙醇
	丙酮、

表三 不同的装填方法选用的匀浆体积

装填技术	匀浆浓度
轴向压缩	55-65% (v/v)
真空装填	40-50% (v/v)

2. 装填

- 1) 将柱底筛板用装填溶剂润湿，并将溶液放空一部分以便赶走所有的气泡。关闭柱底端出口，并在柱底部留出 1-2cm 高的装填溶剂。
- 2) 再次将浆液搅拌均匀，以确保填料的均一。
- 3) 小心将匀浆液倒入层析柱中，并注意避免倒入时产生气泡。
- 4) 将匀浆液倒入后，用装有装填溶剂的喷壶清洗层析柱的内壁。
- 5) 自然沉降或抽真空加速沉降，逐步添加至填料填满色谱柱。
- 6) 将柱顶端密封，与泵连接，打开柱底开关打入装填溶剂，流速逐渐加大到目标流速。
- 7) a. 恒流速装填法：利用蠕动泵或恒流泵缓慢增加至最终流速，这可以避免液

压对于所形成的柱床的冲击，也可以避免柱床形成的不均匀。流速可以阶段性地增大，增加量取决于层析柱的柱尺寸和流速。柱床被压缩后。在柱床上部会有空隙，可以补充填料，重复加压至填料装填满色谱柱。一般来说装填流速是平时常用流速的 2-3 倍。表四中列举了部分例子。

表四 恒流速装填法中流速的增加量举例

柱尺寸	填料粒径	目标流速	操作流速
(I.D.×L)		(mL/min)	(mL/min)
3.0cm×25cm	15-20μm	35-56	12-28
4.0cm×50cm	30-50μm	50-120	25-40
4.0cm×100cm	60-80μm	70-180	35-60
10cm×100cm	100-150μm	1200-2000	400-1000

- 同等内径装填同样粒径的填料，柱长增加时为了降低压力降可以选择适当降低流速。
- 同样粒径填料装填到柱长相同，内径不同的色谱柱中，柱径大的色谱柱选择更大的流速，以减少洗脱时间。

b. 轴向柱装填法 缓慢增加至目标压力，这可以避免液压对于所形成的柱床的冲击，也可以避免柱床形成的不均匀。可以通过手动操作减少流速来获得形成柱床所需要的稳定压力。对于 MCI GEL 填料装填一般的压力 5-15bar。

8) 当柱床最终形成后，关闭泵，并关闭层析柱出口，色谱柱装填完成。

9) 色谱柱装填后，为了清洗色谱柱和使柱床均一稳定，可以用泵在使用流速下利用装填溶剂清洗柱床5-10倍柱体积。

二、色谱柱柱效评价

测试装柱的效果，可以选用低分子量、弱极性的样品（如：尿嘧啶、苯甲酸甲酯、甲苯、萘）（进样量：0.25~1%柱体积）。确定柱子的塔板数及不对称性因子。按上述填装步骤装填的层析柱，在线性流速为 5-25cm/min（取决于填料粒径大小，填料粒径小为降低压力可以降低流速）时，最小的柱塔板数如表五所示、不对称性因子必须在 0.8~1.4 之间。

表五 填料装填最小塔板数

填料粒径(μm)	理论塔板 (N/m)
20	5000
40	2500
70	1000
100	600

三、填料使用的注意事项

1. 使用过程中不要让柱子空干。
2. 使用过的树脂负载量会随使用次数下降，这一般是由于在柱顶端有一些死吸附，可以将顶端部分的填料掏出重新装填。
3. 树脂在不用的溶剂介质中会有溶胀和收缩，因此在使用过程中减少不同溶剂的替换，溶剂替换时要用低流速过渡一下，有助于延长树脂的使用时间。

四、填料的再生及保存

精细填料在使用过程中会有一些污染。我们建议为增加您的填料使用寿命，请选择合适的溶剂进行清洗。

1. 长时间使用柱内有机污染物可以使用 100%乙醇、100%丙酮清洗。
2. 顽固的有机污染物的污染可以采用 100%乙酸乙酯和 100%二氯甲烷，使用溶剂时一定要确保所用溶剂与柱内溶剂能够混溶。
3. 由于精细填料可以耐 pH1-14 的溶液因此可以使用 2~5% 盐酸，2~5% NaOH 清洗。
4. 一般情况下要在正常流速下清洗 10 个柱体积以上。
5. 色谱柱使用后经过清洗后可以保存在 100%乙醇溶剂中，严格密封