

## 赛分科技 BR-C18 填料使用说明书

### 一、产品简介

赛分科技的BR-C18填料以高纯度球形硅胶为基质，采用专有的表面修饰技术，键合具有疏水性能的十八烷基；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，是实现碱性化合物分离的最佳选择。其中粒径10 μm、孔径120 Å为BR-C18，以及粒径8 μm、孔径100 Å为BR-C18(2)。

BR-C18填料具有良好的耐碱性能、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
- 📖 高的选择性和分离效率

### 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 BR-C18 填料结构示意图为图 1，该填料以硅胶为基质，表面键合-C18 官能团。按照其不同粒径和孔径规格，有 2 款产品可供选择，名称分别为 BR-C18 和 BR-C18(2)，表 1 为填料的技术参数。

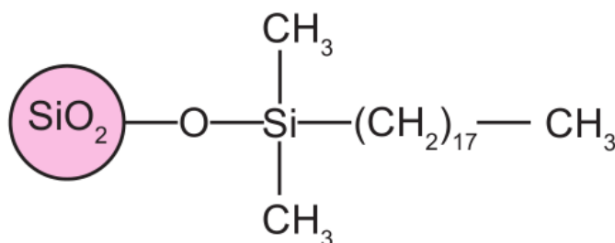


图 1.层析介质化学结构示意图

表 1.BR-C18 填料的种类及技术参数

产品名称	BR-C18	BR-C18(2)
粒径 (μm)	10	8
粒径分布	≤1.35	≤1.35

孔径 (Å)	120	100
装柱密度 (g/mL)	0.64	0.65
比表面积 (m <sup>2</sup> /g)	350	310
孔容 (mL/g)	1.0	1.0
碳载量 (%)	19.5	19.8
pH稳定性	1.5~11	1.5~11

### 3.2 BR-C18(2)高分辨率纯化应用

Column: BR-C18(2) (8 μm, 100 Å, 4.6 × 250 mm)

Mobile Phase: A1: 20mM 乙酸铵      A2: 2% HAc/H<sub>2</sub>O      B: ACN

Flow rate: 0.7 mL/min      Detector: 280 nm      Pressure: 40 bar

Sample: 多肽粗品

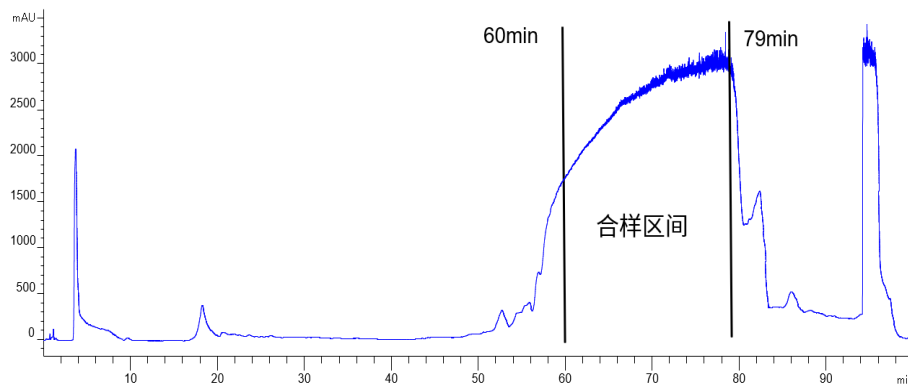


图 2. BR-C18(2)纯化多肽样品纯化图谱

纯化图谱 (图 2) 显示 BR-C18(2) 填料纯化该多肽样品对于主峰前后杂质有较好的分离, 洗脱主峰几乎全收, 保证了很高的回收率。BR-C18(2) 一步纯化上样载量为 35.7 mg/g 填料, 样品纯度由 70.63% 提升至 98.84%, 单杂 < 0.5%, 收率 89.03%, 保证高纯度的同时保持高回收率。

## 四、层析柱装柱

BR-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: BR-C18(2)-8μm-100Å。

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 800-960 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 & 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 $\mu$ 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  $\mu$ 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，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 BR-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
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。



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/>