

## NH2 MB 100-40-75UM 填料装柱方法

填料装柱一般分为干法和湿法装填,大粒径填料一般柱效要求不太高,客户干法装填比较多,如果对柱效有高要求的话,可以尝试湿法装填。

### 1. 干法装填

#### 1.1 装柱前准备

1.1.1 准备好合适的层析柱,内壁干净,光滑,干燥,封口中压柱,或者敞口常压柱。

1.1.2 填料一般要均一,如果不均一需要过筛,一般富士填料粒径比较均一。

1.1.3 一台真空泵,带缓冲瓶。

#### 1.2 装柱步骤

1.2.1 将层析柱垂直放置,封闭下端出口。

1.2.2 向层析柱内加入 3~5cm 柱床高度填料,然后轻轻敲打柱子两侧,或在桌面上垂直轻轻磕几十下,直至填料界面不再下降为止。

1.2.3 重复 1.2.2 步骤,直到填料高度达到装高度要求为止。须要注意,干法装填不要过分剧烈敲打或磕碰,会使填料因自身粒径的差别而产生整体上装填的柱子不均一性,即较大填料粒子靠近柱壁,而较小粒径集中倾向柱中心。

1.2.4 如果想要更好的装柱效果,可以采用外界施加压力,比如采用真空泵,下端低压抽气,一般不建议抽气时间太长,太长会导致装填的过实,使用时流速太慢。

#### 1.3 柱平衡

将平衡用溶剂缓慢加入层析柱,注意不要扰动柱床上层的填料。

#### 1.4 保存

使用后的填料,如需要长久保存,请按层析柱清洗方法对层析柱进行清洗,如计划干燥保存,请使用甲醇、异丙醇等有机溶剂置换后,再将填料从层析柱内取出,在90°以下干燥后保存,请避免在高温潮湿环境下保存。如打算在匀浆中保存的话,请使用匀浆溶剂对色谱柱内溶液进行置换后,再取出保存。

短时间保存到层析柱内,根据使用的体系,反相,从水性流动相到非水性流动相的置换时,或者相反的置换时,请先用异丙醇进行10个柱体积以上的通液后再进行置换 [例如:乙腈/水 (75 / 25) → 异丙醇 → 正己烷/异丙醇 (90 / 10) ]。另外使用正相,非水性溶剂时需要注意PEEK 管材的耐溶剂性,使用非水性流动相进行正相分离后,当推测极性物质出现柱内吸附时,请用乙醇或异丙醇进行通夜清洗,之后置换成正己烷/异丙醇 (90 / 10) 来保存。

流动相中含有缓冲液或盐类的情况下,功能团会形成离子对,随后在使用乙腈/水混合溶剂时会发生与缓冲液使用前不同的分离模式。因此在使用缓冲液或盐类时,我们建议色谱柱最好能被专用化。

### 2 湿法装填

#### 2.1 装柱前准备

2.1.1 装柱压力：40-75um 粒径填料可以敞口柱内常压使用，也可加压使用，为了避免装柱压力过大造成层析柱破裂伤人，需要在层析柱承受压力范围内进行装柱操作。普通玻璃柱装柱压力不超过7bar。不锈钢柱除外，填料装柱压力可达20-30bar。

2.1.2 匀浆液组成：甘油：甲醇1：2.2，匀浆浓度20%~40%，保持填料悬浮状态。

2.1.3 均浆过程：匀浆过程要缓慢搅拌至匀浆。

#### 2.2 装填步骤

2.2.1 将柱下端筛板安装好，确保柱容积足够将匀浆液一次注入，切勿分几次注入，影响柱效。（可考虑使用装柱器等层析柱的延长件）

2.2.2 将柱底板上的筛板用匀浆液润湿，将匀浆液放空一部分以便赶走所有气泡，关闭柱出口并在柱底部留出少许匀浆液即可。（此过程如可以排气泡同时一次性倒入匀浆液最好。）

2.2.3 将搅拌均匀的匀浆液贴柱内壁一次性倒入柱内，过程中防止产生倒入性气泡。

2.2.4 可以常压自然沉降，为了节省时间，也可以从底部抽液，或者小流速冲柱使柱床稳定。

2.2.5 中压封口柱，待填料压实后，抹平上端多余的填料即可封口。