

一种在 Load & Lock 柱上装填 C18 填料的方法

作者

陈丽琴, 许波
安捷伦科技 (中国) 有限公司

摘要

在制备型液相色谱中成功使用大直径色谱柱, 需要将高质量填料与合适的色谱柱硬件结合。本文讨论了如何在 Load & Lock 柱上装填 YMC Prep C18 10 μm 填料, 以获得稳定的柱床, 同时使柱效达到不低于 30000 理论塔板数/米。

介绍

DAC 技术和安捷伦台式 1 英寸、2 英寸和 3 英寸 Load & Lock 柱

动态轴向压缩 (DAC) 是制备和工业色谱柱的特色技术之一, 其通过可移动活塞不断向色谱床施加设定的压力, 可确保理想的装填密度和色谱性能。这种设计之所以可以获得更大的理论塔板数, 是因为它可以避免柱床形成空隙。由于色谱柱是自装填的, 因此可以使用任何类型的填料 (包括小颗粒 (10 μm) 填料), 并且可以通过加入不同数量的填料来调整 DAC 色谱柱的长度。

安捷伦高性能台式 Load & Lock 柱和可移动装柱机提供了有利于高性能应用的理想硬件。它们专为装填各种内径 (1 英寸、2 英寸和 3 英寸) 的色谱柱而设计, 可以在动态或静态“锁定”轴向压缩 (DAC 或 SAC) 模式下运行。在 DAC 模式下, 填充床在使用时在设定的压力下被持续压缩; 在 SAC 模式下, 色谱柱由活塞上的锁扣固定以确保柱床稳定。

实验仪器

实验采用的主要仪器设备如下：Agilent 1260 Infinity II 制备泵（部件号 G7161A）；Agilent 1260 Infinity II 制备型自动进样器（部件号 G7157A）；Agilent 1260 Infinity II VWD（部件号 G7114A），其配备 3 mm 光程的流通池（部件号 G7114A#022）；Agilent 1260 Infinity II 柱架（部件号 G9328A）；Agilent 1260 Infinity II 基于阀的制备型馏分收集器（部件号 G7166A）。

YMC Prep C18 散装填料

YMC Prep C18 10 μm 散装填料的主要指标如下表 1 所示。

表 1. YMC Prep C18 10 μm 散装填料指标

键合相	孔径	pH 范围	碳载量
C18	120 Å	2.0-10.0	20%

一种在安捷伦 2 英寸 Load & Lock 柱上装填 YMC Prep C18 10 μm 填料的方法

将 Load & Lock 柱硬件与 YMC Prep C18 填料相结合，开发出一种在 Load & Lock 柱上装填 YMC Prep C18 10 μm 填料的方法。通常，DAC 柱的安装和卸装过程（如图 1 所示）包括五个步骤：

- 准备匀浆液
- 转移匀浆液
- 压缩和装柱
- 使用过程中保持压力（就 DAC 模式而言；在 SAC 模式下，则在压缩后锁定柱活塞，释放液压）
- 卸装柱子

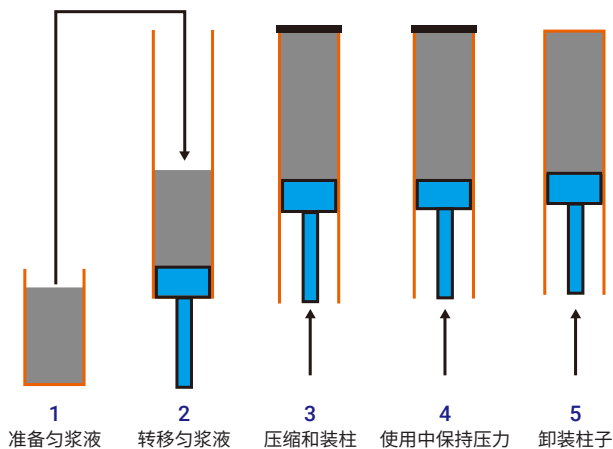


图 1. 装填和卸装 DAC 柱

使用装柱机，在 Load & Lock 2 英寸柱上装填和卸装 YMC Prep C18 填料的详细过程如下所述。

准备匀浆液

计算填料重量

根据要装填的色谱柱直径 (ID) 和长度 (L)，按照以下公式 (1) 计算色谱柱体积 (Vcol, mL)：

$$V_{col} = \left(\frac{ID}{2}\right)^2 \cdot \pi \cdot L \quad (1)$$

本实验计划装填的色谱柱直径为 2 英寸 (5 cm)，且柱长为 25 cm，因此色谱柱体积计算结果如下：

$$V_{col} = \left(\frac{5}{2}\right)^2 \times 3.14 \times 25 = 490 \text{ (mL)}$$

然后，利用以下公式 (2) 计算填料重量 (m)：

$$m = V_{col} \cdot \rho \quad (2)$$

根据经验，C18 填料的填充密度约为 0.6 g/mL。因此，装填内径 2 英寸、柱长 25 cm 的色谱柱时所需的预期填料重量为：

$$m = 490 \times 0.6 = 294 \text{ (g)}$$

制备匀浆液

填料匀浆液必须在适当的溶剂中进行制备。针对硅胶基质填料，推荐的首选匀浆溶剂为异丙醇 (IPA)。固定相在溶剂中的浓度一般为 1 g 固定相对应 2 mL 匀浆溶剂。

在本实验中，通过将 300 g YMC Prep C18 10 μm 填料缓慢分散到 600 mL IPA 中，同时手动搅拌（注：为避免填料颗粒破碎，切勿使用磁力搅拌器），制得匀浆液；然后轻轻摇动匀浆液，得到均匀的溶液；使用前，对匀浆液进行大约 5 min 的超声处理。

转移匀浆液

2 英寸 Load & Lock 柱配置如图 2 所示。

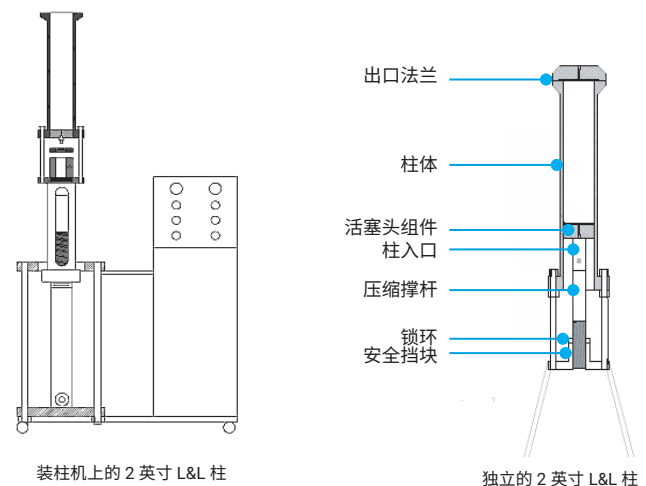


图 2. 2 英寸 Load & Lock 柱配置

在将匀浆液转移到柱中之前，用 IPA 冲洗活塞密封件；然后将活塞头组件装入 Load & Lock 柱的底部，并堵塞柱入口；然后将均匀的匀浆液快速倒入组装好的柱子中，将出口法兰固定在柱顶部，并将柱出口管线放入废液容器中。装柱过程应尽可能快地进行，以免填料沉降。

压缩和装柱

装柱使用的活塞压力约为 1000 psi。对于 2 英寸 Load & Lock 柱，由于液压与活塞（或机械）压力之比为 1.5:1.0，因此为达到 1000 psi 的活塞压力，将液压设置为 1500 psi。

压缩过程包括两个阶段：第一阶段，将空气从柱子中排出；第二阶段，压缩柱中的填料。保持柱床压力恒定，直到没有装柱溶剂流出，此时液压泵完全停止工作。

装柱完成后，锁紧锁环并测量柱床长度。在本实验中，在 2 英寸 Load & Load 柱中，在 1000 psi 下装填 300 g YMC Prep C18 10 μm 填料，获得的柱长为 27 cm。

根据上述公式 (1) 和 (2)，计算出 YMC Prep C18 10 μm 填料的实际装填密度为 0.566 g/L。下表 2 显示了本实验中装填 300 g 填料所获得的柱长结果：

表 2. 在 2 英寸 Load & Lock 柱上装填 YMC Prep C18 10 μm 填料

内径	2 英寸
装柱压力	1000 psi
填料重量	300 g
柱长	27 cm

装填得到的柱子即可投入使用。

在运行实际样品之前，首先对柱效进行测试。在测试时，将装填的柱子连接至制备型 HPLC 系统，并用 80:20 ACN:H₂O (v/v) 以 50 mL/min 的流速冲洗，直到柱子完全平衡。具体测试条件如下 (在 DAC 模式下)：

柱子： 27 cm 长 YMC Prep C18 10 μm L&L 柱
 流动相： 80:20 ACN:H₂O (v/v)
 流速： 118 mL/min
 样品： 约 1% 甲苯
 进样体积： 约 500 μL
 检测波长： 254 nm

柱效测试所得到的色谱图如下图 3 所示。在 27 cm 长的柱上获得的理论塔板数为 10663。因此，使用上述装填程序，可获得不低于 30000 理论塔板数/米的柱效。

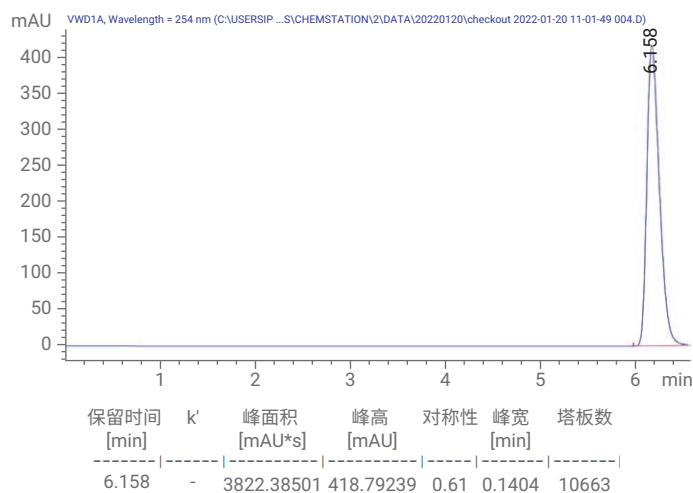


图 3. YMC Prep C18 L&L 柱 (27 cm 长) 的柱效测试结果

柱效测试也可以通过使用其他方式来确定。

使用过程中保持压力

柱子装填好以后，可在动态轴向压缩 (DAC) 模式或静态轴向压缩 (SAC) 模式下使用。

在 DAC 模式下，在使用过程中装柱机持续提供液压，期间泵通常工作一到两次，表明柱床正在缓慢重组和稳定，活塞相应地向上移动一小段距离以消除柱空隙。

在 SAC 模式下，液压被释放，色谱柱由锁环固定以保持色谱床的稳定性，可以从装柱机上取下柱子以独立使用。

卸装柱子

当柱压力过高或柱效降低时，需要卸装柱子。在卸装柱子之前，首先用装柱溶剂（本实验中使用 IPA）冲洗柱床，使填料为下一次装填做好准备。卸装柱子时，必须再次将其固定在装柱机上，然后拆下柱顶部的法兰，向上移动活塞，以将填料从柱中推出。

如果柱头的部分填料受到污染，则用新填料替换。如果使用干净的筛板重新装柱后，柱压力仍然很高，则表明部分填料已破碎，需要通过特殊溶剂混合以使填料沉降，并吸出上清液部分来去除细颗粒。如果该操作不起作用，则需使用新填料。

结论

本应用指南介绍了一种在 Load & Lock 2 英寸柱上装填 YMC Prep C18 10 μm 填料的方法。YMC Prep C18 10 μm 填料表现出足够的机械强度，可以在装柱操作压力下使用。通过该方法可获得不低于 30000 理论塔板数/米的柱效。

参考文献

1. Laboratory Scale Load & Lock Columns and Mobile Packing Station 1 in., 2 in., and 3 in.ID (实验室级 Load & Lock 柱和移动式装填工作站 1 英寸、2 英寸和 3 英寸内径), 安捷伦科技公司用户手册, 2010
2. Agilent PLRP-S Media and Load & Lock Columns (Agilent PLRP-S 填料和 Load & Lock 柱), 安捷伦科技公司产品样本, 出版号 5990-8201EN, 2011
3. PLRP-S 聚合物反相填料, PLRP-S 填料用户指南

查找当地的安捷伦客户中心:

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线:

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们:

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价:

www.agilent.com/chem/erfq-cn



微信搜一搜

安捷伦视界

www.agilent.com

DE.44531973

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更,恕不另行通知。

© 安捷伦科技(中国)有限公司, 2022
2022年4月24日, 中国出版
5994-4858ZH-CN

