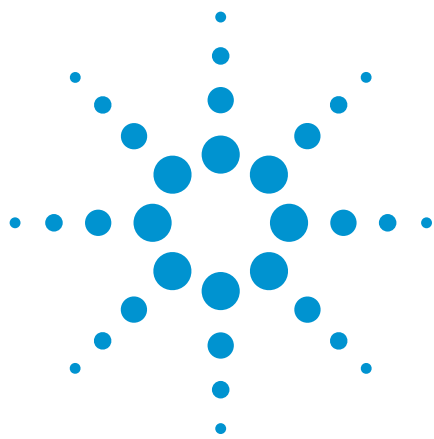




安捷伦正压 48 和 96 孔处理装置 技术指南

技术概述

综述

与传统真空处理装置相比，采用固相萃取 (SPE)、固相支持液相萃取 (SLE) 和过滤（蛋白质沉淀）等技术的过滤柱和 96 孔板正压处理装置具有多项优势。传统真空歧管装置从过滤柱或 96 孔板的底部抽出液体。当高流速过滤柱中的样品流尽时，真空通过空柱移向阻力最小的方向，因而减缓了过滤柱其余部分的样品流速。这可能导致处理时间不一致，结果重现性差。对于这种过滤柱型真空歧管，需要用盖子或堵头堵住未使用的接口。活塞阀是常用的配置，因为阀门的开关动作大大延长了样品处理的时间。真空歧管受最大压力不超过大气压（约 15 psi）的限制，因此无法处理难以流动的粘稠样品。

安捷伦正压 48 和 96 孔处理装置（PPM-48 和 PPM-96）是样品处理的理想选择（图 1 和图 2）。PPM-48 和 PPM-96 具有独特的限流端口，即使通道未使用或样品流尽，也能保证每一通道的气体流速一致。这种特性确保了各柱和各排之间的出色重现性，而无需考虑过滤柱或孔中的内容物。PPM-48 最多可同时运行 48 根样品前处理过滤柱，超越了传统 24 柱真空歧管的通量。柱架有 1、3、6 mL 三种规格，支持多种样品前处理产品和实验室方案。这款装置设计独特，无需活塞阀和盖子/堵头。PPM-96 兼容 Agilent VersaPlate 形式的 96 孔板和 1 mL 无翼边小柱。使用无翼边小柱时，需要 1 mL 无翼边小柱支架（部件号 5191-4119）。此外，PPM-48 和 PPM-96 的适用压力 (50–100 psi) 远高于传统真空歧管，因此能有效处理更粘稠的样品。



Agilent Technologies

PPM-48 和 PPM-96 可轻松整合到所有实验室。模块化柱架使过滤柱和收集架 (PPM-48) 或 96 孔板和收集板 (PPM-96) 实现了简单的堆叠。柱和收集架通过机械按键安装在滑动平台上，彼此间只能按照一个相对方向堆叠。这确保了平台在移动时的稳定性，降低收集架方向混乱的可能性。这两种自调式处理装置无需额外垫片即可适应不同规格的 96 孔板、过滤柱、试管乃至自动进样器样品瓶。这使得安捷伦 PPM 处理装置成为了简单高效的样品处理方案。



图 1. 安捷伦正压 48 孔处理装置



图 2. 安捷伦正压 96 孔处理装置

具体方案说明

注：请在安装前阅读用户手册，了解详细信息、安全隐患和用户警告。

以下章节提供的示例方案用于展示 PPM-48 和 PPM-96 的固相萃取和过滤（蛋白质沉淀）工作流程。有关带标注的 PPM 组件，请参考图 3 和图 4。

注：每一方案应作为操作 PPM 处理装置的通用指南。流速、样品/溶剂的类型和体积、萃取步骤数以及干燥时间可能因分析物、基质和实验方案的不同而有所差异。处理装置的压力设置及调节因使用排数 (PPM-48)、样品/溶剂类型、柱/孔规格、吸附剂类型和柱床质量、所用特定样品前处理产品等而有所不同。

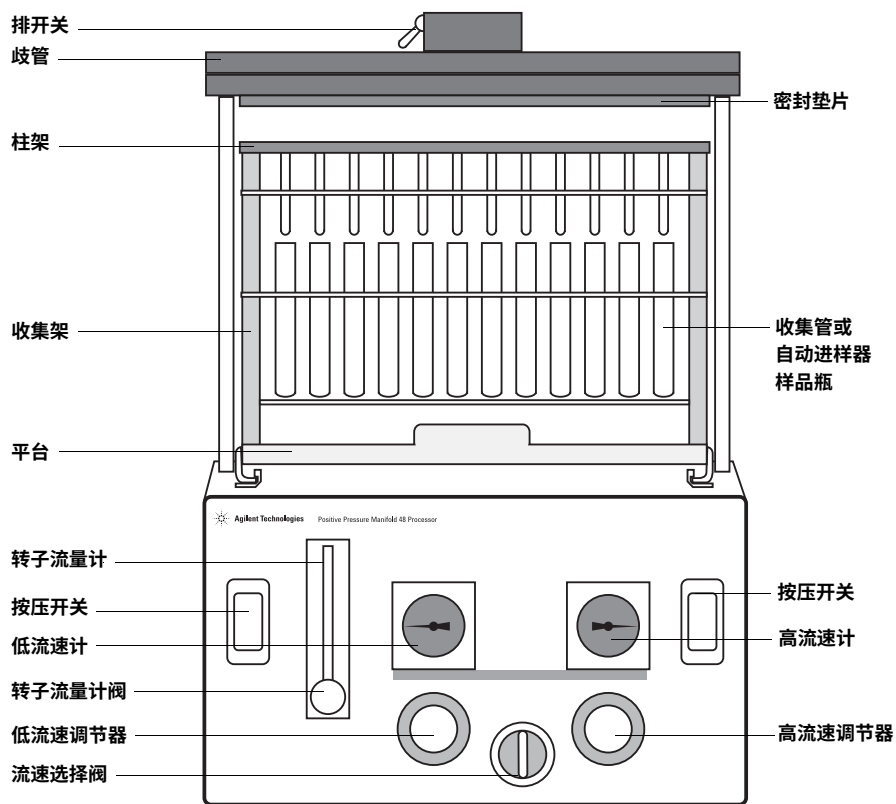


图 3. 安捷伦正压 48 孔处理装置及相关组件

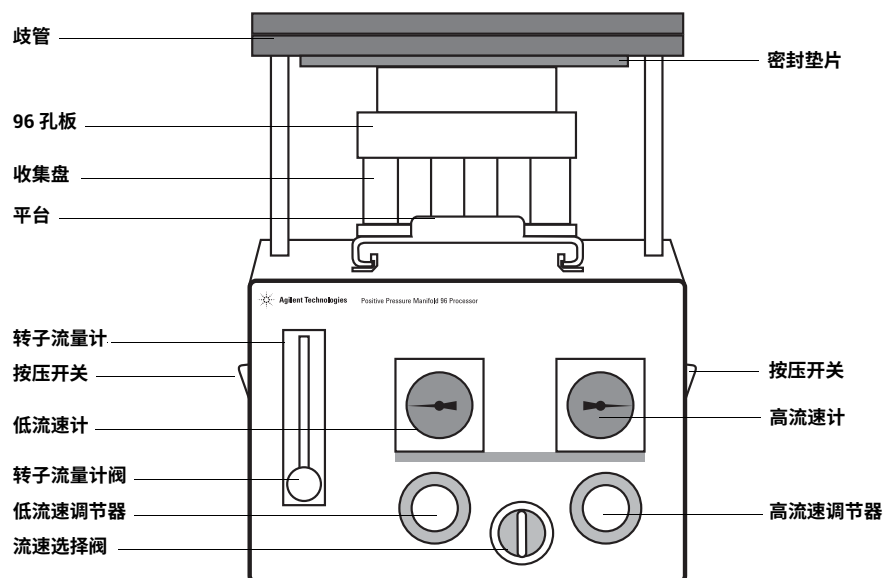


图 4. 安捷伦正压 96 孔处理装置及相关组件

使用的试剂/化学品

HPLC 级甲醇和乙腈购自 Honeywell (Muskegon, MI, USA)。水经由 EMD Millipore Milli-Q Integral 系统 (Darmstadt, Germany) 纯化。甲酸购自 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)。血浆购自 Biological Specialty Corporation (Colmar, PA, USA)。

使用的材料

- 安捷伦 PPM-48 处理装置 (部件号 5191-4101)
- 安捷伦 PPM-96 处理装置 (部件号 5191-4116)
- 1 mL SPE 柱架, 用于 PPM-48 (部件号 5191-4102)
- 带三个废液箱的废液架, 用于 PPM-48 (部件号 5191-4112)
- 收集架, 12 × 32 mm 自动进样器样品瓶, 用于 PPM-48 (部件号 5191-4109)
- 板支架, 用于 PPM-96 (部件号 5191-4120)
- 单孔废液板, 用于 PPM-96 (部件号 5191-4121)
- Agilent Bond Elut Plexa 过滤柱, 30 mg, 1 mL (部件号 12109301)
- Agilent Bond Elut Plexa 96 孔圆孔板, 1 mL, 30 mg (部件号 A4969030)
- Agilent Captiva EMR-Lipid, 1 mL 过滤柱 (部件号 5190-1002)
- Agilent Captiva EMR-Lipid, 96 孔板 (部件号 5190-1000)
- Agilent Captiva 96 深孔收集板, 1 mL (部件号 A696001000)
- Agilent Captiva 可刺穿 96 孔收集板盖 (部件号 A8961007)
- 安捷伦棕色螺口玻璃样品瓶, 带书写签, 经过认证, 部件号 5182-0716
- 安捷伦固定螺口盖, PTFE/红色硅橡胶隔垫, 部件号 5190-7024
- Eppendorf 移液器和连续分液器

Bond Elut 固相萃取 (SPE) 示例方案

注：此为通用指南。实际方案可能因分析物、基质和 SPE 吸附剂不同而有所变化。

- **PPM-48：**Agilent Bond Elut Plexa 聚合物 SPE 30 mg，1 mL 过滤柱（部件号 12109301）
- **PPM-96：**Agilent Bond Elut Plexa 聚合物 SPE 30 mg，1 mL 96 孔圆孔板（部件号 A4969030）

PPM-48 和 PPM-96

1. **样品预处理：**将 400 μ L 0.5% 甲酸水溶液加入 100 μ L 血浆中，涡旋混合并离心
2. **PPM-48：**将 1 mL SPE 柱装载至 1 mL 柱架上。将废液架和废液箱置于柱架下
PPM-96：将 1 mL SPE 96 孔板装载至安装了孔板支架的单孔废液盘上
3. 将柱/板叠放在平台上
4. 将低流速压力设定为 3–4 psi
 - a. **仅 PPM-48：**用排开关打开所需的排阀
 - b. 将流速选择阀从 **Off**（关）旋至 **Low Flow**（低速）
注：更容易通过流经系统的气体进行压力调节，包括 **Low Flow**（低流速）或 **High Flow**（高流速）。然而，只有在流速为零，即阀调至 **Off**（关）时，才能升降歧管
 - c. 拔出低速调节旋钮，顺时针旋转，直至达到所需压力
 - d. 按下调节旋钮进行锁定
 - e. 不关闭转子流量计，调节转子流量计阀，直至达到所需流速。建议开始采用低流速，然后根据需要逐渐调高
注意：为避免损坏处理装置，请勿关闭转子流量计。仅使用流速选择阀打开或关闭气流。
 - f. 将流速选择阀旋至 **Off**（关）
5. **活化：**在每个柱/孔内加入 1 mL 0.5% 甲酸的甲醇 (MeOH) 溶液
注意：如果任意步骤中出现泄漏，应立即擦拭干净后，再继续下一步操作。
6. 将平台向后滑，直到柱板叠层位于歧管下方不能滑动为止
7. 确保流速选择阀调至 **Off**（关），同时将两个按压开关向下按，将歧管下探

8. 将流速选择阀旋至 **Low Flow**（低流速）
9. 调节转子流量计阀，直至达到所需液体流速（如 1–2 mL/min）
10. 当所有液体都已从柱/孔中洗脱后，将流速选择阀旋至 **Off**（关）
11. 同时将两个按压开关向上抬起，将歧管升起
12. 将平台向前滑动，直至其停止
13. 重复以下工作流程步骤中的 5–12 步：
 - **平衡**：1 mL 0.5% 甲酸水溶液
 - **上样***：加入经预处理的样品
 - **清洗**：1 mL 30% 甲醇水溶液

* 根据具体方案，可能会以重力或推荐流速（取决于不同方案）在正压下上样，条件为 **Low Flow**（低流速），3–4 psi

14. **抽干**：在清洗溶剂洗脱后（第 10 步），将流速选择阀从 **Low Flow**（低流速）旋至 **High Flow**（高流速），并调至所需压力（50–80 psi）。抽干约 5 分钟。将流速选择阀调至 **Off**（关）。升起歧管，向前滑动平台
15. **收集**：用带试管或自动进样器样品瓶的适当收集盘/架替换废液盘/架。在每个柱/孔内加入洗脱溶剂（250 µL 甲醇）。根据不同方案，用重力或正压 **Low Flow**（低流速）进行洗脱。再用 250 µL 甲醇重复处理，将两次处理得到的样品合并
16. 根据具体的方案要求，对样品萃取物进行稀释、干燥和复溶，或直接分析

仅限研究使用。不可用于诊断目的。

蛋白质沉淀示例方案

注：此为通用指南。实际方案可能因分析物、基质和吸附剂不同而有所变化。

- Agilent Captiva EMR-Lipid，1 mL 过滤柱（部件号 5190-1002）
- Agilent Captiva EMR-Lipid，96 孔板（部件号 5190-1000）

PPM-48 和 PPM-96

1. **PPM-48**：将 1 mL Captiva EMR-Lipid 柱装载至 1 mL 柱架上。将带试管或自动进样器样品瓶的收集架置于柱架下
PPM-96：将 1 mL Captiva EMR-Lipid 96 孔板装载至 96 孔收集板上
2. 将柱/板叠放在平台上

3. 将低流速压力设定为 3–4 psi
 - a. **PPM-48**: 用排开关打开所需的排阀
 - b. 将流速选择阀从 **Off** (关) 旋至 **Low Flow** (低速)
注: 更容易通过流经系统的气体进行压力调节, 包括 **Low Flow** (低流速) 或 **High Flow** (高流速)。然而, 只有在流速为零, 即阀调至 **Off** (关) 时, 才能升降歧管
 - c. 拔出低速调节旋钮, 顺时针旋转, 直至达到所需压力
 - d. 按压调节旋钮进行锁定
 - e. 不关闭转子流量计, 调节转子流量计阀, 直至达到所需流速。建议开始采用低流速, 然后根据需要逐渐调高
注意: 为避免损坏处理装置, 请勿关闭转子流量计。仅使用流速选择阀打开或关闭气流。
 - f. 将流速选择阀调至 **Off** (关)
4. 在每个柱/孔内加入 400 μL 1% 甲酸的乙腈溶液
注意: 如果任意步骤中出现泄漏, 应立即擦拭干净后, 再继续下一步操作。
5. 在每个柱/孔内加入 100 μL 血浆
6. 用移液吸头进行五次吸取和排出操作
7. 等 1 分钟至蛋白质完全沉淀
8. 将平台向后滑, 直至柱/板叠层位于歧管下方不能滑动为止
9. 确保流速选择阀调至 **Off** (关), 同时将两个按压开关向下按, 将歧管下探
10. 将流速选择阀旋至 **Low Flow** (低流速)
11. 调节转子流量计阀, 直至达到所需液体流速 (Captiva EMR-Lipid 为每 3–5 秒 1 滴)
12. 在洗脱过程中保持适当流速, 当快流速柱/孔洗脱结束时, 开大转子流量计阀
13. 在所有柱/孔洗脱后, 将流速选择阀旋至 **High Flow** (高流速), 并调至所需压力 (50–80 psi)。抽干约 1 分钟
14. 根据具体的方案要求, 对样品萃取物进行稀释、干燥和复溶, 或直接分析
仅限研究使用。不可用于诊断目的。

结论

安捷伦 PPM-48 和 PPM-96 处理装置对于处理 Bond Elut SPE、Chem Elut SLE、Captiva 过滤及相关样品前处理产品而言，是一种简单高效的选择。PPM-48 和 PPM-96 的自调式歧管无需特殊垫片即可适应不同的柱规格（1、3、6 mL）以及 96 孔板（1、2 mL）。限流端口可提供一致的流速，从而缩小处理时间差距，提高结果重现性。处理装置采用强制气源（如氮气），可提供比传统真空歧管更大的压力，使 PPM-48 和 PPM-96 成为高粘稠度样品处理的绝佳选择。PPM-48 一次最多可处理 48 个样品，比传统真空处理装置的通量更高，可同时节省时间与成本。可选自动进样器样品瓶收集架（部件号 5191-4109）省去从试管转移到样品瓶的最后步骤，进一步节约了成本。安捷伦 PPM-48 和 PPM-96 处理装置的通用性、简便性和易用性允许其轻松集成多数现有工作流程，是所有样品前处理实验室的绝佳选择。

更多信息

这些数据仅代表典型的结果。有关我们的产品与服务的详细信息，请访问我们的网站 www.agilent.com。

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

www.agilent.com

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。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2017
2017 年 6 月 26 日，中国出版
5991-8151ZHCN



Agilent Technologies