

PrePulite® EGResin D100 产品使用说明书

欢迎使用微纯生物科技（广州）有限公司填料，收到填料时请查验所购物品匹配性和完整性。在使用前请仔细阅读产品使用与说明书，如在使用过程中仍存在疑问，请在微纯官网查阅相关信息或者直接致电本公司。

1、产品介绍

PrePulite® EGResin D100 填料是微纯生物科技采用自主专利研制的用于麦角硫因的专用层析色谱填料，产品具有良好分散性、均匀性以及机械强度。因其操作简单，再生容易，填料寿命长（可反复使用 5000 次以上），可高效的分离纯化麦角硫因产品。具体使用方法见下文。

PrePulite® EGResin D100 填料性能指标

填料名称	EGResin D100	备注
比表面积 m ² /g	800	
孔径	100 Å	
粒径/um	60	可按要求调节

2、产品使用方法

PrePulite® EGResin D100 填料使用流程依次为装柱、平衡、上样、清洗和洗脱五步。

1) 装柱

装柱时通常有即湿法装填和干法装填两种方式，两者各有优劣。层析柱的装填高度根据样品情况而定，通常层析柱高径比不得超过 25。柱长太短或太长均会影响分离效果。

湿法装填：即是先把填料用一定比例溶剂（水/乙醇/异丙醇/甲醇/乙腈，其中一项或水与其中一项混合液）匀浆后再用玻璃棒引流迅速倒入层析柱管。推荐匀浆液与填料体积比 2~5，匀浆时长不得小于 20min，匀浆过程需持续搅拌使填料在匀浆溶剂中均匀分散。填料装填完成后静置 1~2 小时使填料均匀沉降，观察柱外壁，如有气泡或断层现象可轻轻敲打壁外侧，如果不能解决则用细玻璃棒插入气泡或断层部位轻轻搅动后继续沉降。最后加入 2 个柱体积左右匀浆剂层析至与填料表面齐平，至此装填完成。该法装填气泡少，填料紧实，但相对于干法装填，装柱时间长。

干法装填：是指先将填料倒入层析柱管，并在柱侧面进行轻轻敲打使填料均匀分散于柱管内，再倒入一定体积的匀浆溶剂进行层析，后加入匀浆溶剂进行淋洗。匀浆溶剂以及匀浆溶剂的比例与湿法装填相同。为加快装填速度，可采用上端加压，下端用油泵抽吸的方式进行淋洗。该法装填时间短，装填后色谱柱紧实，但是在卸去加压装置后容易产生气泡。

2) 平衡

平衡过程通常与清洗过程流动相保持一致，PrePulite® EGResin D100 填料推荐使用纯水或一定比例的甲醇/乙醇/异丙醇水溶液平衡 2~3 个柱体积即可。

3) 上样

为保护色谱填料寿命,样品在过柱之前请进行过滤或离心沉降等除去不溶物或大分子物质(如蛋白,多糖等)以免堵塞填料。建议采用湿法上样。将麦角硫因前处理溶液浓缩除去有机溶液,以最大溶解度的水溶液进行上样(尽可能增大样品浓度),上样过程采用玻璃棒引流的方式,上样过程需缓慢进行,以防样品溶液的加入破坏了填料上表面平衡,使样品与上表面形成薄的接触面。单次上样体积不得大于3个柱体积。上样完成后开启分流阀,控制流速以每秒3~10滴排除清洗剂,待样品溶液表面比填料上表面高出约1~2mm时关闭分流阀,此时上样完成。

4) 清洗

根据样品杂质分布情况,清洗过程采用水或水与小比例的甲醇/乙醇/异丙醇的混合溶液清洗1~3个柱体积,并分段收集馏分溶液进行检测,收集纯度合适的馏分溶液进入下一段工艺,纯度不达标的馏分溶液可进一步浓缩后反复上样。PrePulite® EGResin D100 填料收率约≥90%。

5) 洗脱

清洗完成后杂质(或目标物质)吸附在填料上,根据吸附的物质极性情况选用一定比例的水和甲醇/乙醇/异丙醇/乙腈混合溶液洗脱并分段收集(一般选择用极性大于吸附物的溶剂),直至馏分溶液中无吸附物,通常洗脱1个柱体积洗脱液。如一次层析产品不达标可反复上样纯化。

3、填料再生

PrePulite® EGResin D100 填料因其特殊的材料性能,再生方法简单,可反复使用5000次以上。再生过程建议采用80°C-100°C纯化水或50%-100%的甲醇/乙腈水溶液清洗2~3个柱体积即可。注意再生后观察层析柱有无气泡或断层现象,如有,则按照装柱步骤进行消除。

4、填料保存

填料使用完成后必须进行清洗和再生,如短期内(20天以内)保存可将溶剂替换成纯甲醇/乙醇/异丙醇密封保存于阴暗处,切记溶剂液面必须高于填料上表面3~5cm。如需长期保存,需将填料清洗干净充分干燥后密封保存于阴凉干燥处。PrePulite® EGResin D100 填料质保期3年。

PrePulite® EGResin D100 层析填料常见问题及解决方案:

常见问题	解决方法
层析柱断层或产生气泡	在柱侧面轻轻敲打,如不能解决,则用较细的玻璃棒轻轻搅动气泡和断层处,使气泡破损或断层消失,后沉降30~60min。
加入洗脱溶剂或样品溶液后分流阀不分流	填料上表面形成了液膜,强大的液膜张力导致新体系溶液无法混合,可用玻璃棒在液膜表面轻轻搅动后再进行分流。
吸附力太强,溶液不分流	可在柱上端添加加压装置。
样品溶液过酸或者过碱	为更好的分离样品,酸性样品的洗脱可在洗脱液中加入0.05%~0.2%甲酸/乙酸/三氟乙酸溶液。碱性样品中可选择加入0.05%~0.2%的三乙胺试剂。实际添加量可根据样品情况调整。
样品在最佳洗脱溶液中的溶解性差	尝试用干法上样。