Cellufine Sulfate

装柱升级

用 Pall 80 厘米 Resolute 色谱柱动态轴向装柱

JNC CORPORATION

生命化学事业部

作者：Ivars Bemberis

Cellufine Sulfate 装柱升级

概要

本报告总结了用 Cellufine Sulfate 填装 Pall 80 厘米 Resolute 色谱柱。研究装柱是为了使用生产规模色谱柱提供装柱数据。通过三次填装实验，确定一种采用 50-60%（重力沉降）悬浮液在位装填和 DAP(动态轴向充填)液压辅助表面修饰相结合的充填方法，该方法适合装填 Cellufine Sulfate。该方法适用于对一定床高范围内大型柱进行一致填充

目标

使用大型色谱柱，确定 Cellufine Sulfate 的填装方案。本案例中使用一个直径 80 厘米的 Euroflow Resolute 色谱柱与液压辅助使用。

本例中所提出的装柱方法采用了在位填装 50-60%(重力沉降)悬浮液(从最终充填层高度上方的调节器开始)和 DAP 液压辅助装置，以达到预期的最终层高度。

目标压缩因子(C_f=重力沉降体积/填充床体积)约为 1.15 - 1.20×，最终目标床高度约为 22 cm。

装柱方案

1. 在最终填充床高度以上启动调整器，将树脂在位向下充填，以便在调整器与填充床接触之前允许管口缩回。

2. 在压力控制模式下，利用液压动力单元(HPU)，通过液压辅助调整器的运动，实现对床的最终压缩（即，恒压至 2.0 bar）。

3.首先要在 0.1 M NaCl 中进行装柱，以限制高盐浓度的使用。在 1m NaCl 中进行装填，以表明不需要使用高盐浓度。最终用户的首选将始终是减少盐的消耗，以节省费用和腐蚀潜力。

在 Pall Euroflow 技术中心（Portsmouth, NH）进行装柱研究, Euroflow 80 cm SS Resolute Column

可供装填的介质为 160 升。这是放置在悬浮液容器中大约 50%的悬浮液。为了研究泵的磨损，取了一个约 20 L 的样品。【沉降后发现容器中含有 11 L 的 Cellufine Sulfate】。磨损研究是通过在填料泵中循环一定体积的介质来进行的，并定期取样进行检测。检查粒度分

布，以确定是否存在颗粒损伤。如果发现损伤，它可以与泵送的时间有关，从而指导尽可能减少潜在的剪切损伤。

将上部调整器设置在沉降床高度以上~ 5cm 处，色谱柱在装填介质前充分准备好，利用上部的阀以 750 cm/hr 的速度将悬浮液添加到色谱柱。一旦添加了适当的介质体积，上部的悬浮液阀在接通上部的悬浮液阀的液压前关闭，使其向下移动，直到调整器与床顶接触为止。

装填 1

实际使用的柱子设置是将起始高度设置为 27.1 cm，目标是完成的床层高度为 22 cm。对于这个列条件，所需的介质体积是(27.1 cm x 5 L/cm = 135.5 L)

由于悬浮液浓度高于预期，未达到目标层高度。随着 53%的悬浮液浓度，填料停止在 23.4 厘米与目标 22 厘米。填充床的压缩因子为 1.12。在充填结束时，出口流量最小，有人担心可能存在局部压实过度的情况。

用 100 mM NaCI 以 200cm /hr 平衡，在 100cm /hr 下注入 2% 床体积的 1 NaCl 盐溶液 (2.3L)，进行 HETP 试验。检验结果显示不对称性= 0.91(正面);HETP = 0.037 mm;N = 2702 p/m。结果很有希望。

操作	床高 厘米	床体积 升	压缩因子 Cf	等板高度 mm	塔板/m	不对称性
装填 1	23.4	117	1.12	0.037	2702	0.91
装填 1b	22.9	115	1.15	0.037	2677	0.94

装填 2

打开色谱柱后，悬浮液重新悬浮，再次充填。

预装计算：

22 厘米的体积[22(5)1.2]/0.54 = 243.9 L @ 54%.

沉降体积：131.8 升，装柱体积：110.6

C_f = 131.8/110.6 = 1.19

装柱进行顺利。色谱柱检测结果表明，当每米塔板数较高时，色谱图仍处于前倾。分装后 HETP: A_s = 0.87; HETP = 0.032 mm; N = 3130 p/m

为了纠正前倾问题，尝试了采用逆流调节柱的方法。简单的调节包括 2 柱体积上行流速，1 柱体积下行流速，平衡和 HETP 测试。正面朝上的增加表明，水流调节确实重新安排了床上的某些东西。即使对称性恶化，效率(塔板/米)也略有提高。

床进一步压缩到 21.7 厘米。HETP 重测结果为:As = 0.84;HETP = 0.034 mm;N = 2966 p / m。对称性的改善令人鼓舞。流量调节和水力填料的结合有效地创造了一个更好的床。

当重新检查填装材料余量时，发现柱子上多了 4l 的介质。重新计算的压缩因子使压缩率提高到 21%和 23%。人们认为这种压缩程度对 Cellufine 介质来说是过高的。

操作	床高	床体积 升	床体积 升	等板高	塔板/m	不对称性
装填-2	22.0	110	1.21	0.032	3150	0.87
装填-2a	22.0	110	1.21	0.031	3193	0.75
装填-2b	21.7	109	1.23	0.034	2966	0.84

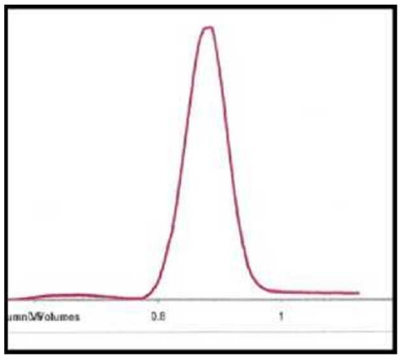

图 1.
左边的曲线显示了充填体-2 盐注入峰值。这是大多数注射剂的色谱特征。显示出轻微的前倾(As = 0.87)，但效率非常好(3150 p/m)。

装填 3

目标：

根据 Pack 1 和 Pack 2 的结果，计划压缩到 10%，看看是否可以诱导柱尾矿。理想情况下，在较低的压缩下，注盐应该显示尾迹。如果是这样的话，包装后的 DAP 将进一步压缩到 17-20%之间。

该填料首先被制成 24.3 厘米，以实现 10.9%的压缩。注盐结果为:As = 1.04;HETP = 0.036 mm;N = 2762 p/m。盐峰显示出轻微的尾迹，从而证实在 Pack 1 和 Pack 2 中观察到的前倾与过压缩有关。在 10.9%的压缩下，没有前倾。结果表明，压实层的流量/压力曲线略高于 20%压实层的流量/压力曲线。

采用 DAP 压缩降低上调节器，降低到 22.2 cm，达到 20%的床层压缩。HETP 数据显示:：As = 0.94; HETP = 0.034 mm; N = 2945 p/m. 更大的压缩提高了效率(板/米)，但对称性恢复到只有轻微的前倾。

操作	床高	床体积 升	床体积 升	等板高	塔板/m	不对称性
装填-3	24.3	121	1.11	0.036	2762	1.04
装填-3a	22.2	111	1.21	0.034	2945	0.94

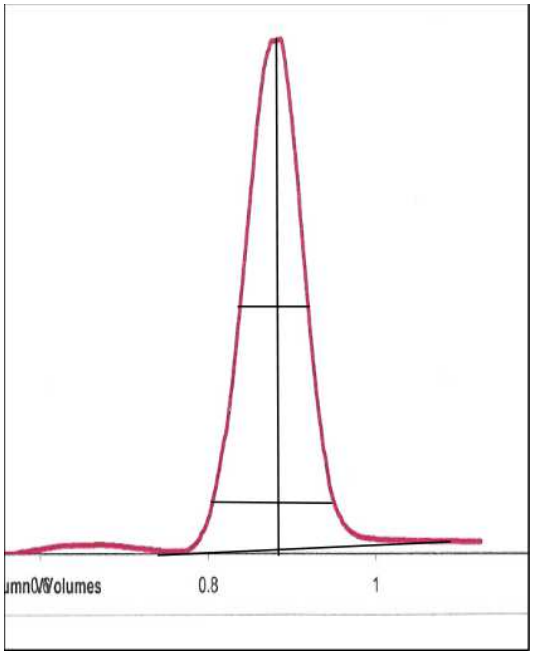

图 2.
传统的 HETP 数据为 Cellufine Sulfate 填充在 80 厘米的柱中，并通过 1 M NaCl 注射液进行测试。
HETP = 0.034 mm
N = 2900　塔板/m
As = 1.1