

色谱柱的维护

2012.03.09



"Better Surface Chemistry for Better Separation."

www.sepax-tech.com

Sepax色谱柱分类

硅胶基质	反相	GP-C18,C8,C4,Phenyl; BR-C18 HP-C18; Bio-C18, C8, C4; Amethyst-C18; Sapphire-C18
	正相	HP-Cyano, NH ₂ , Silica
	HILIC	Polar-100, Diol, Silica, Pyridine, Imidazole
	SFC	SFC-Cyno,Amino,Pyridine,SCX,Diol,Silica
	混合相	HP-SCX, SAX
	体积排阻	SRT SEC-80,100,150, 300, 500, 1000, 2000 Nanofilm SEC-150, 250, 500, 1000 Zenix SEC-100, 150, 300 CNT SEC-300, 500, 1000, 2000
聚合物基质	凝胶色谱	Mono, HTP GPC
	离子交换	Proteomix SCX, WCX, SAX, WAX Antibodix
	糖分离	Carbomix H-NP, Ca-NP, Pb-NP, K-NP, Na-NP



"Better Surface Chemistry for Better Separation."

www.sepax-tech.com

Reversed-phase chromatography columns

(反相色谱柱)

1

反
相
色
谱
柱

C18反相色谱柱

GP-C18、HP-C18、Bio-C18、BR-C18
Amethyst C18-H AmethystC18-P Sapphire C18

其他反相色谱柱

GP-C8、GP-C4 Bio-C8、Bio-C4
GP-Phenyl PolyRP



"Better Surface Chemistry for Better Separation."

www.sepax-tech.com

Reversed-phase chromatography columns

(反相色谱柱)

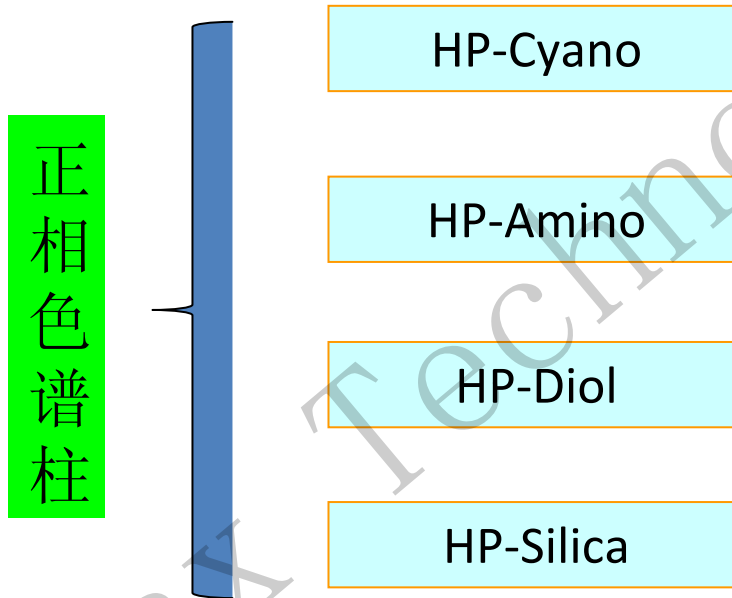
	保存方法	清洗方法	再生方法
反 相 色 谱 柱	<p>纯乙腈或甲醇保存色谱柱</p> <p>注意： 当使用流动相中含有缓冲盐时，注意首先用20倍柱体积的5 %的乙腈-水或5%甲醇—水进行过渡后再更换流动相，保存色谱柱。</p>	<p>1.以乙腈:水（1：9,v/v）→ 乙腈→ 乙腈:水（1：9,v/v）依次冲洗，然后进行使用。</p> <p>2.多次使用后某些样品可能会吸附到入口筛板或填料上，引起柱压升高伴随峰形展宽的现象。此时，可将色谱柱与检测器断开，将色谱柱反接后进行冲洗。</p>	<p>1.一般污染再生：乙腈:水（1：9,v/v）→ 乙腈 → 氯仿（或异丙醇）→ 乙腈 → 乙腈:水（1：9,v/v）→流动相，分别冲洗10~20倍柱体积。</p> <p>2.蛋白污染再生：0.1%的三氟乙酸水溶液:异丙醇(4：1,v/v) → 乙腈：异丙醇（1：2,v/v, 内含0.1% 三氟乙酸）→ 水：异丙醇(1：4, V/V)，分别冲洗10~20倍柱体积。</p>



Normal phase chromatography column

(正相色谱柱)

2



"Better Surface Chemistry for Better Separation."

www.sepax-tech.com

Normal phase chromatography column

(正相色谱柱)

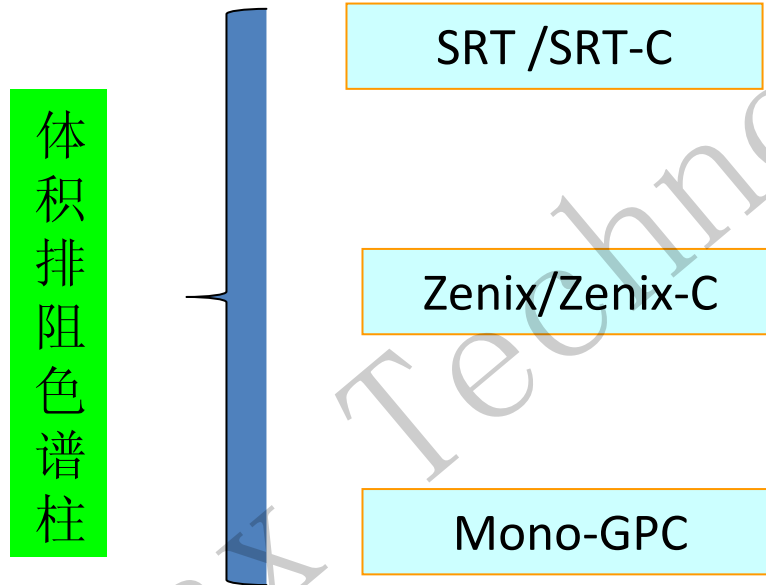
	保存方法	清洗方法	再生方法
正 相 色 谱 柱	<p>1. 正相条件使用直接保存在正相流动相中；</p> <p>2. 反相条件使用保存在甲醇或乙腈中</p> <p>注意：</p> <p>氰基柱与氨基柱在正反相交替使用时，注意用无水乙醇或异丙醇进行过渡，根据柱压控制适当的流速。反相氰基柱保存在有机溶剂的水溶液中（如55 %乙腈水溶液），反相氨基柱保存在纯有机溶剂中（如乙腈）。</p>	<p>1. 正相条件清洗方法，依次用异丙醇（注意流速）→甲醇→异丙醇→正相流动中进行使用。</p> <p>2. 反相条件清洗方法，按以下方法进行清洗：以乙腈:水（1 :9, v/v）→乙腈→乙腈:水（1 : 9, v/v）依次冲洗，然后进行使用。</p>	<p>以甲醇：氯仿(50 : 50, v/v) →乙酸乙酯，分别用10~20倍柱体积反冲色谱柱，然后再按正方向用流动相平衡。</p>



Size exclusion chromatography column

(体积排阻色谱柱)

3



"Better Surface Chemistry for Better Separation."

www.sepax-tech.com

Size exclusion chromatography column

(体积排阻色谱柱)

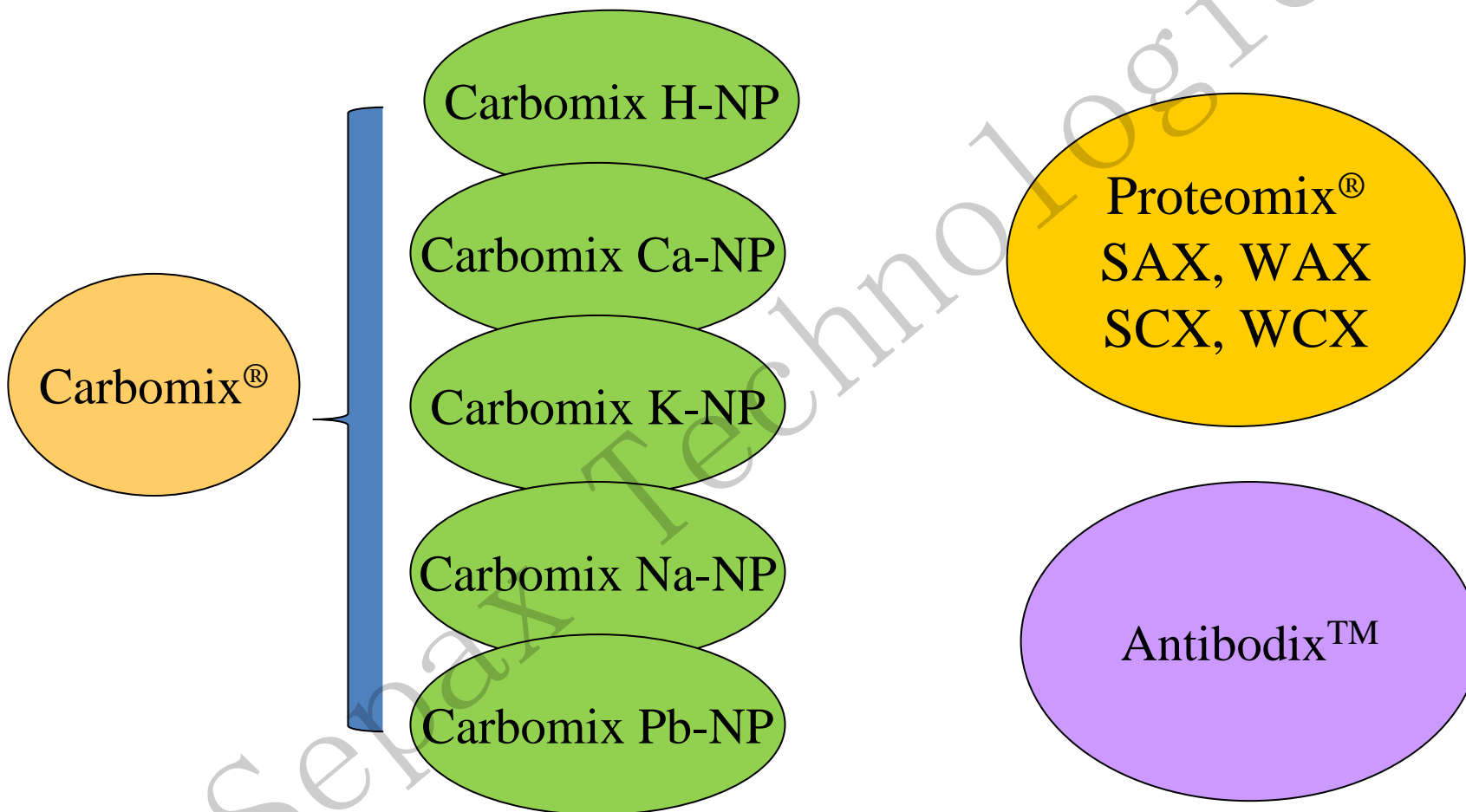
	保存方法	再生方法
水溶性	<p>1. 色谱柱短时间（1-3个月）不使用，可保存在中性磷酸盐缓冲溶液中，建议1个月左右用新流动相进行替换。</p> <p>2. 色谱柱长时间（3个月以上）不使用</p> <p>(1)保存在0.05%叠氮化钠0.1M的磷酸盐缓冲溶液中，但是叠氮化钠属于剧毒物质，使用此方法时一定要注意安全。</p> <p>(2)可以保存在20%乙醇的水溶液中。</p> <p>注意：</p> <p>1.如果采用“方法2”保存，不必用纯水过渡，直接用20%乙醇的水溶液低流速冲洗10-20倍柱体积后保存。</p> <p>2.保存时色谱柱的两端一定要用本公司的色谱柱堵头拧紧，以防柱床干涸。</p>	<p>1. 使用低pH值的高浓度中性盐溶液（如0.5M硫酸钠溶液，pH3.0）有助于清洗吸附的碱性蛋白。</p> <p>2. 使用含有机溶剂（如10~20%的甲醇、乙腈、乙醇等）的缓冲溶液（如50mM磷酸缓冲液，pH7.0）有助于清洗吸附的疏水蛋白。</p> <p>3. 多次使用后某些样品可能会吸附到入口筛板或填料上，引起柱压升高伴随峰形展宽的现象。此时，可将色谱柱与检测器断开，将色谱柱反接后进行冲洗。</p> <p>以上三个步骤分别冲洗10~20倍柱体积。</p>
脂溶性	<p>GPC色谱柱可以使用很多有机溶剂做流动相，如DMAC、DMF、TCB、NMP等，使用完毕后也可保存在相应的溶中。</p> <p>注意：在进行溶剂转换之前请确认要使用的新流动相与柱内流动相互溶性。并用至少2倍柱体积的新流动相低流速冲洗色谱柱。</p>	<p>使用四氢呋喃清洗和再生</p>



Ion exchange chromatography column

(离子交换色谱)

4



"Better Surface Chemistry for Better Separation."

www.sepax-tech.com

Ion exchange chromatography column

(离子交换色谱柱)

1. Carbomix系列色谱柱

	保存方法	清洗方法	再生方法
Carbomix	<p>Carbomix-H柱保存：建议保存在1.0-5.0 mM硫酸水溶液或0.05%-0.2%的磷酸水溶液中。</p> <p>Carbomix-Ca和Carbomix-Pb柱保存在超纯水中即可。</p>	<p>Carbomix-H柱清洗方法：用含5-10%乙腈的5 mM硫酸水溶液，流速为0.2 mL/min，柱温：65-80 °C，运行4-12 h，保存在2.5 mM的硫酸水溶液中。</p> <p>Carbomix-Ca和Carbomix-Pb柱清洗方法：用含20%乙腈的水溶液流速：0.2 mL/min，柱温：65-85 °C，运行4-12 h保存在超纯水中。</p> <p>注意：长期使用出现色谱柱柱压升高时，可对色谱柱进行低流（0.1-0.2 mL/min）反冲，但需注意，频繁反冲会不可避免的降低柱效。</p>	<p>Carbomix-H柱用25 mM 硫酸为流动相以0.2 mL/min的流速在柱温68-85 °C冲4-16 h。</p> <p>Carbomix-Ca柱用100 mM 硝酸钙为流动相以0.2 mL/min的流速在柱温65 -85°C冲4-16 h。</p> <p>Carbomix-Pb柱用100 mM 硝酸铅为流动相以0.2 mL/min的流速在柱温65 -85°C冲4-16 h。</p>
使用方法	<ol style="list-style-type: none"> 1.用超纯水将整个系统冲洗干净，色谱柱接到仪器上； 2.调整流速为0.1 mL/min，将温度升至所需温度（Ca柱一般为85 °C，H柱一般为55 °C），然后将流速慢慢升高； 3.试验结束后，关闭柱温箱的加热系统；调整流速为0.1 mL/min，柱温降低为40 °C以下，将流速调为0； 4.取下色谱柱，两端装上堵头，放入盒内。 		



Ion exchange chromatography column

(离子交换色谱柱)

2. Proteomix系列色谱柱

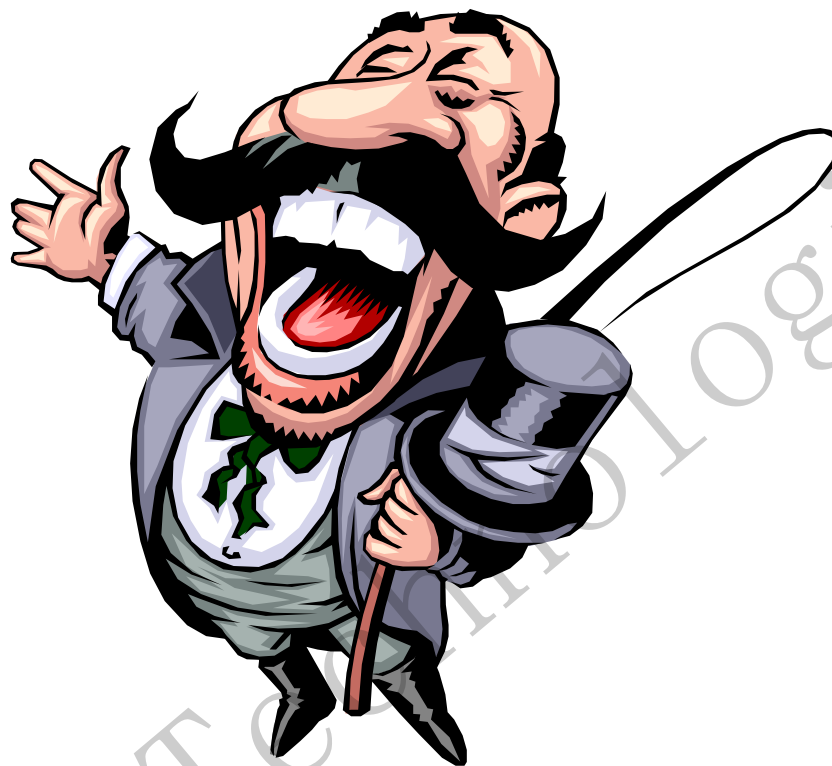
	保存方法	清洗方法	再生方法
P r o t e o m i x	<p>阴离子交换柱保存在pH 8.0左右的低浓度缓冲盐，如 20 mM Tris ,pH 8.0 。</p> <p>阳离子交换柱保存在pH 6.0左右的低浓度缓冲液，如20 mM 磷酸盐缓冲液， pH 6.0。</p> <p>注意： 该型色谱柱禁止采用纯水冲洗。 流动相内至少含有一定浓度的盐（如20 mM NaCL）</p>	<p>1、对于一般亲水性较好的蛋白样品，建议采用1 M NaCl溶液清洗10倍柱体积。</p> <p>2、对疏水性较强的蛋白样品，建议采用20%乙腈清洗10倍柱体积。</p>	<p>对于阴离子色谱柱（WAX、SAX），建议采用0.1 M 的硫酸溶液清洗10倍柱体积，然后保持到20 mM Tris ，pH 8.0中。</p> <p>对于阳离子色谱柱（SCX、WCX），建议采用0.1 M 的硫酸溶液或20 mM NaOH清洗10倍柱体积,然后保存到20 mM 磷酸盐缓冲液，pH 6.0 中。</p>



总 结

- 1、使用前仔细阅读色谱柱附带的说明书，注意适用范围，如pH值范围、流动相类型、最高允许的压力等；
- 2、建议使用保护柱；
- 3、做完样品后一定要用相应的溶剂清洗色谱柱和仪器系统；
- 4、色谱柱在不使用时，应取下后将两端用堵头拧紧后保存；
- 5、不要高压冲洗柱子；
- 6、不要在高温下长时间使用硅胶键合相色谱柱；
- 7、使用过程中注意轻拿轻放。





谢谢大家！



"Better Surface Chemistry for Better Separation."

www.sepax-tech.com