

金欧亚色谱  
我选择 我成功  
因为专业 所以出色

色谱网-学术交流、资源共享与技术支持

<http://www.chromatogr.com/>

金欧亚-领先的色谱商务平台

<http://www.jinouya.cn/>

<http://www.sepu.net/Shop/Abouts.asp?id=79641>

<http://www.instrument.com.cn/netshow/SH100305/>

<http://ouyanew.cn.alibaba.com/>

<http://www.chem17.com/St10040/>

购买色谱柱、填料、耗材——就在金欧亚！

## 色谱柱的清洗

### 反相硅胶色谱柱

ODS-100S, ODS-100V, ODS-100Z,  
Super-ODS, Super-Octyl, Super-Phenyl,  
ODS-80T<sub>S</sub> QA, ODS-80T<sub>S</sub>, Octyl-80T<sub>S</sub>,  
CN-80T<sub>S</sub>, ODS-80T<sub>M</sub>, ODS-120T,  
ODS-120A, TMS-250, OligoDNA RP

### 吸附的主要原因

反相硅胶柱填充介质（固定相）与样品间常常会发生下列吸附现象：

- （1） 残存硅醇基与碱性物质间的离子吸附；
- （2） 硅胶表面的金属杂质与金属配位物质间的吸附；
- （3） 疏水性极强的物质在柱中的蓄积。

以上现象，会引起反相色谱柱柱效下降、拖尾、重复性不良等状况的发生。

### 清洗方法

#### 1、疏水性物质的去除

使用有机溶剂（乙腈、甲醇、乙腈与 THF 的混合溶剂）进行清洗。

考虑样品成分对于有机溶剂的溶解性，选用比淋洗液浓度高的有机溶剂、或选用极性较低的有机溶剂进行过柱清洗。这种情况下，有必要注意淋洗液中盐的析出现象。

#### 2、碱性物质（金属配位物质）的去除

使用酸性水溶液与有机溶剂的混合液（0.1%磷酸、0.1%TFA/乙腈、甲醇的混合液）进行过柱清洗。

\*一般来说，清洗时间可选择为过柱 5-10 个柱体积便可。

在吸附成分其吸附力极强时，即使进行过清洗，柱性能也有可能得不到恢复。另外，请充分考虑淋洗液的 pH 值，以避免损坏色谱柱。



# 色谱柱的清洗

亲水性乙烯基树脂基质分子尺寸排阻色谱柱

SuperAW 系列,  $\alpha$  系列,

PW • PW<sub>XL</sub> 系列,

BioAssist G6PW

硅胶基质分子尺寸排阻色谱柱

SW • SW<sub>XL</sub> • SuperSW 系列,

BioAssist SW<sub>XL</sub> 系列

## 吸附的主要原因

用于高分子分子量测定的分子尺寸排阻 (SEC) 色谱柱有 SuperAW 系列、 $\alpha$  系列、PW • PW<sub>XL</sub> 系列等产品。柱中填充介质与样品间常会发生：(1) 离子相互作用；(2) 疏水相互作用等现象。

### (1) 离子性吸附

分子尺寸排阻色谱柱中的树脂填充介质，由于羧基带有负电荷（尽管非常少），样品中带有正电荷的组分将会与其发生离子吸附作用。

### (2) 疏水性吸附

分子尺寸排阻色谱柱中的树脂填充介质，会与一些疏水性较高的样品（如：具苯环物质）发生疏水吸附作用。硅胶基质的填料，常会与一些难溶性膜蛋白等疏水性物质发生疏水性吸附作用。另外，残存的硅醇基会与碱性物质间发生离子吸附。对于硅胶基质的填料，虽然不是发生吸附作用，但必须考虑酸性条件下官能团会发生脱落或碱性条件下硅胶基质会发生溶解的情况。

## 清洗方法

根据上述发生的吸附现象，结合测定样品的具体信息，请选择下列合适的柱清洗方法。

### ☆树脂基质分子尺寸排阻色谱柱

#### 1、离子性吸附

对于阳离子性吸附物质，通过提高盐浓度进行过柱清洗。（1mol/L 的醋酸缓冲液）

#### 2、疏水性吸附

对于疏水性吸附物质，可通过提高有机溶剂的浓度（PW • PW<sub>XL</sub>：50%、 $\alpha$  及 SuperAW：100%可）进行过柱清洗。

#### 3、复合吸附

对于阳离子性 • 疏水性物质的去除，可提高盐浓度进行过柱，水洗后，提高有机溶剂浓度进行过柱。

\*一般来说，清洗时间可选择为过柱 5-10 个柱体积便可。

在吸附成分其吸附力极强时，即使进行过清洗，柱性能也有可能得不到恢复。另外，请充分考虑淋洗液的 pH 值，以避免损坏色谱柱。

### ☆硅胶基质分子尺寸排阻色谱柱

#### 1、碱性物质的去除（离子性吸附）

通过提高淋洗液的盐浓度（通常 0.5mol/L）进行过柱清洗。

#### 2、疏水性吸附的去除（疏水性吸附）

在淋洗液中添加甲醇、乙腈（10-20%）等水溶性有机溶剂进行过柱清洗。本法请注意缓冲液中盐的析出。

#### 3、在淋洗液中添加尿素、中性界面活性剂

在淋洗液中添加 6-8mol/L 的尿素或 0.2-0.3% 的中性界面活性剂（Triton、Tween、Brij 等）后进行过柱清洗。但需注意尿素及界面活性剂的柱中残留。



## 色谱柱的清洗

亲水性乙烯基树脂基质蛋白分离用色谱柱

● 离子交换色谱柱 (IEC)

SuperQ-5PW, DEAE-5PW, SP-5PW,  
CM-5PW, DEAE-NPR, SP-NPR,  
BioAssist Q, BioAssist S

● 疏水反应色谱柱 (HIC)

Phenyl-5PW, Ether-5PW, Butyl-NPR,  
BioAssist Phenyl

● 亲和色谱柱 (AFC)

Heparin-5PW, Chelate-5PW,  
Boronate-5PW, ABA-5PW, Blue-5PW,  
BioAssist Chelate

### 吸附的主要原因（非特异性吸附）

亲水性乙烯基树脂基质蛋白分离用色谱柱，除了可选用键合了离子交换基团的离子交换柱外，还可选用疏水反应、亲和等其他多种类型的柱子。

这些类型的色谱柱，其充填介质化学稳定性好，不易发生由于官能基脱落而导致样品组分洗脱位置变化的现象。尽管如此，由于柱子的反复使用，在长时间使用后，样品组分的洗脱情况还是会发生改变的。其原因与样品中极微量的附吸物在柱中的蓄积有关。特别由于生物样品组分复杂，这种吸附现象时有发生。（非特异性吸附）当观察到这样的现象后，应使用合适的溶剂将蓄积的吸附物质去除，以恢复柱子的性能。

### 清洗方法

1、0.1-0.2mol/L NaOH 水溶液（ABA-5PW 柱不适用）

测定状态下，用 0.1-0.2mol/L 的 NaOH 水溶液通过样品进样阀清洗数次（3-5 回）。

2、20-40% 醋酸水溶液

与上述 NaOH 水溶液的清洗方法相同。

3、在淋洗液中添加水溶性有机溶剂（疏水性吸附物质的去除）

在淋洗液中添加甲醇、乙腈等水溶性有机溶剂（浓度 < 20%）进行过柱清洗。（注意盐的析出）

4、在淋洗液中添加尿素、中性界面活性剂（难溶性蛋白的去除）

在淋洗液中添加 6-8mol/L 的尿素或 0.2-0.3% 的中性界面活性剂（Triton、Tween、Brij 等）后进行过柱清洗。但需注意尿素及界面活性剂的柱中残留。

通常情况下，使用方法 1 和 2 便可将吸附物质去除。如果方法 1 和 2 不能恢复柱效，则可使用方法 3 和 4。注意，在附吸成分其吸附力极强时，即使进行过清洗，柱性能也有可能得不到恢复。

