

慧德易电子期刊

H&E Electronic Journal

第 159 期 开工奉上东曹 TSKgel 色谱柱清洗再生方法
及注意事项



2023 年 2 月

第 159 期 开工奉上东曹 TSKgel 色谱柱清洗再生方法及注意事项

又是一年开学季，大部分的高校和研究所的老师们，都开始进入工作状态了。为了保证分析工作的顺畅进行，确保色谱柱的有效运行，是非常重要的。

本期文章，小编将给大家介绍以下 3 种常见东曹色谱柱的清洗再生以及保存方法，助您轻松开工！

※ TSKgel SW 型尺寸排阻色谱柱

一、SWXL 系列色谱柱初次使用注意事项

1. 流动相现配现用，配好后使用 0.45 μ m 的水相滤膜过了后再超声脱气。
2. 样品一定要完全溶解后，再使用 0.45 μ m 的针式滤头过滤后再进样。
3. G2000SWXL/G3000SWXL/G4000SWXL 的耐受压力是 7.0MPa，所以要在仪器上设定限压保护 7.0MPa。
4. 初次拿到柱子后，参照柱盒中的 Inspection data 的方法评估柱效后再使用。
5. 柱子一定要常温保存。不能放在冰箱冷藏。
6. 当柱子峰形变宽了或者是压力升高了，就需要清洗柱子了。
7. 对于使用尿素或者含 SDS 的流动相的柱子，最好专柱专用，表面活性剂对柱床有不可逆的改性作用。
8. 最好使用保护柱，这样可以有效延长分析柱的使用寿命。

二、色谱柱的清洗步骤

随着使用时间或进样次数的增加，出现柱效下降无法达到分离要求，或伴有峰型拖尾、分叉等情况时，就需要清洗色谱柱。建议清洗过程中将色谱柱与检测器断开连接，防止流通池污染。

1. 反向连接色谱，并以最大流速的 1/2 运行色谱柱。
2. 使用 5 倍柱体积 (CV) 的 pH3.0 0.5 mol/LNa₂SO₄ 水溶液冲洗色谱柱。
3. 使用 5 CV Milli-Q 或去离子水冲洗色谱柱。
4. 使用 5 CV 20%乙腈清洗色谱柱。
5. 使用 5 CV Milli-Q 或去离子水冲洗色谱柱。
6. 再正向连接色谱柱，并以样品分析时的流速使用至少 10 CV 的流动相来平衡色谱柱。

★ 请注意：应逐渐提高流速，以免损坏色谱柱。

三、色谱柱的保存

- 短期保存（2-3 天后还要使用）

在使用的流动相条件下，拧好堵头后，常温保存。

- 长期保存（超过 3 天以上不用）

1. 用 0.1 mol/L Na₂SO₄+0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液+0.05% NaN₃ 保存（官方推荐）。
2. 如果不能使用 NaN₃，请用适当的流动相或水来保存色谱柱，建议频繁用新配置的溶液替换色谱柱内的溶剂。
3. 用 0.1 mol/L Na₂SO₄+0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液+0.1% Proclin200 保存。
4. 不要使用含有机溶剂的溶液保存色谱柱。

※ TSKgel PW 型尺寸排阻色谱柱

一、PWXL 系列色谱柱初次使用注意事项

1. 流动相现配现用，配好后使用 0.45μm 的水相滤膜过了后再超声脱气。
2. 样品一定要完全溶解后，再使用 0.45μm 的针式滤头过滤后再进样。
3. G2500PWXL/G3000PWXL 的耐受压力是 4.0MPa，G4000PWXL /G5000PWXL/G6000PWXL 的耐受压力是 2.0MPa，所以要在仪器上设定限压保护。
4. 初次拿到柱子后，参照柱盒中的 Inspection data 的方法评估柱效后再使用。
5. 柱子一定要常温保存。不能放在冰箱冷藏。
6. 当柱子峰形变宽了或者是压力升高了，就需要清洗柱子了。
7. 对于使用尿素或者含 SDS 的流动相的柱子，最好专柱专用，表面活性剂对柱床有不可逆的改性作用。
8. 最好使用保护柱，这样可以有效延长分析柱的使用寿命。

二、色谱柱的清洗步骤

- 1、去除离子性杂质：对于阳离子性吸附物质，可以通过提高盐浓度进行过柱清洗。
- 2、去除疏水性杂质：对于疏水性吸附物质，可以通过提高有机溶剂的浓度进行过柱清洗。
- 3、去除难溶性蛋白质：使用含尿素的溶液清洗。

请根据样品性质，从方法 1 和 2 中选择适当的清洗方法。如果色谱柱性能仍不能恢复，可考虑采用方法 3。但需注意尿素可能会残留在色谱柱上。

★请注意：应逐渐提高流速，以免损坏色谱柱。

三、色谱柱的保存

1、短期保存（2-3 天后还要使用）

如果数天内不会使用色谱柱，请从设备上取下色谱柱。如果溶剂中不含任何腐蚀性的离子，

请使用保护塞封住色谱柱的末端。如果溶剂中含有腐蚀性离子，如卤素，请在保存之前，使用纯水清洗色谱柱。

2、长期保存（超过3天以上不用）

如果长时间不使用色谱柱，请使用纯水替换溶剂。然后请从设备上取下色谱柱，并使用保护塞封住色谱柱的末端。长期保存（例如，超过3个月）时，请使用含有0.05%叠氮化钠的水溶液保存。

※ TSKgel 蛋白分离用色谱柱

TSKgel 亲水性聚合物基质的蛋白分离用色谱柱，包括 SuperQ-5PW，DEAE-5PW，SP-5PW，CM-5PW，DEAE-NPR，SP-NPR，BioAssist Q/S 这几个型号的离子交换色谱柱，还有疏水、亲和等其他多种类型的柱子。

一、色谱柱的清洗

1. 先使用 0.1~0.2 mol/L 氢氧化钠水溶液或 20~40%的醋酸水溶液**进样清洗** (100 μL，3~5 针) 即可冲掉色谱柱上吸附的杂质。
2. 使用 20%~40%乙酸清洗水溶液**进样清洗** (100 μL，3~5 针) 即可冲掉色谱柱上吸附的杂质。

如果采用该方法清洗后，色谱柱性能仍无法恢复，再考虑以下两种方法。

3. 去除疏水性杂质：在清洗液中添加 10-20 %的甲醇、乙腈等有机溶剂后过柱清洗。
4. 去除难溶性蛋白：在清洗液中添加 6-8 mol/L 的尿素或 0.2-0.3 %的中性表面活性剂 (Triton、Tween 等) 后过柱清洗。但需注意尿素及界面活性剂可能在柱中残留。

二、色谱柱的保存

1. 请在色谱柱中注入保存溶液并拧紧保护塞后室温保存，防止填料干燥。
2. 保存溶液：参考出厂检测报告。
3. 色谱柱进口或出口干燥、或者洗脱溶液的盐析，会导致色谱柱堵塞。如果将色谱柱保存在 0℃ 以下，溶剂可能会凝固，导致色谱柱性能降低。

*如需更详细的资料，请联系我们！



北京慧德易科技有限责任公司

咨询电话：010-59812370/1/2/3

公司官网：www.prep-hplc.com

邮 箱：sales@prep-hplc.com

微信公众号：北京慧德易