

聚甲基丙烯酸树脂基质(PW 系列)的尺寸排阻色谱柱清洗方法 (7.8mmx30cm)

1. 100%纯水以 0.2mL/min 的流速冲洗 1.5 小时.
2. 如果是疏水性吸附, 以 20%乙腈水溶液为流动相(用 0.45um 的有机相滤膜过滤), 采用 0.2mL/min 的流速冲洗 1.5 小时.
3. 如果分析了多肽, 膜蛋白等疏水性比较强的样品可以先用 100%纯水以 0.2mL/min 的流速冲洗 1.5 小时, 再用 20%乙腈水(用 0.45um 的有机相滤膜过滤), 采用 0.2mL/min 的流速冲洗 1.5 小时.再采用 30%乙腈水(用 0.45um 的有机相滤膜过滤), 采用 0.2mL/min 的流速冲洗 1.5 小时, 最后采用 50%乙腈水(用 0.45um 的有机相滤膜过滤), 采用 0.2mL/min 的流速冲洗 1.5 小时
4. 100%纯水以 0.2mL/min 的流速冲洗 1.5 小时.
5. 如果是离子性物质的吸附, 以 0.05mol/LPB(0.05mol/LNaH₂PO₄+0.05mol/LNa₂HPO₄) 缓冲液+0.5mol/LNaCl 溶液为流动相(用 0.45um 的水相滤膜过滤), 采用 0.2 mL/min 的流速冲洗 1.5 小时。
6. 如果是碱性物质的吸附, 以 0.05mol/L 的磷酸二氢钠溶液(用磷酸调整 pH=3)为流动相(用 0.45um 的水相滤膜过滤), 采用 0.2mL/min 的流速冲洗 1.5 小时。
7. 如果是酸性物质的吸附, 以 0.05mol/L 的磷酸二氢钠溶液(用 NaOH 调整 pH=11)为流动相(用 0.45um 的水相滤膜过滤), 采用 0.2mL/min 的流速冲洗 1.5 小时。
8. 如果上述处理后仍未能解决问题可能是氢键的吸附, 在淋洗液中添加 6-8mol/L 的尿素或者 0.2%-0.3%的中性表面活性剂(Triton、Tween)(用 0.45um 的水相滤膜过滤)后以 0.2mL/min 的流速冲洗 1.5 小时。但需要注意尿素和表面活性剂会在柱中残留。一般不建议此项操作。
9. 冲洗完成后, 使用纯水为流动相, 以 2.5g/L 乙二醇为样品, 1mL/min 的流速, 进样量 20uL,在示差检测器下测柱效。 或者是以 0.05%DMSO 水溶液为样品, 1mL/min 的流速, 在 UV210nm 下测柱效。信号采集时间 20 分钟
10. 如果为了确定是什么因素引起的色谱柱柱效下降, 可以在每步清洗步骤后增加第 9 步测柱效的方法。
11. 在系统压力恒定的情况下, 如果色谱柱比刚使用时有所升高, 建议按照上述 1-8 步反接柱子进行清洗

附件一: 色谱柱柱效评估方法样本

聚甲基丙烯酸树脂基质的尺寸排阻色谱柱清洗方法（7.5mmx60cm）

12. 100%纯水以 0.2mL/min 的流速冲洗 3 小时.
13. 如果是疏水性吸附，以 20%乙腈水溶液为流动相（用 0.45um 的有机相滤膜过滤），采用 0.2mL/min 的流速冲洗 3 小时.
14. 如果分析了多肽，膜蛋白等疏水性比较强的样品可以先用 100%纯水以 0.2mL/min 的流速冲洗 3 小时，再用 20%乙腈水（用 0.45um 的有机相滤膜过滤），采用 0.2mL/min 的流速冲洗 3 小时.再采用 30%乙腈水（用 0.45um 的有机相滤膜过滤），采用 0.2mL/min 的流速冲洗 3 小时，最后采用 50%乙腈水（用 0.45um 的有机相滤膜过滤），采用 0.2mL/min 的流速冲洗 3 小时
15. 100%纯水以 0.2mL/min 的流速冲洗 3 小时.
16. 如果是离子性物质的吸附，以 0.05mol/LPB（0.05mol/LNaH₂PO₄+0.05mol/LNa₂HPO₄）缓冲液+0.5mol/LNaCl 溶液为流动相（用 0.45um 的水相滤膜过滤），采用 0.2 mL/min 的流速冲洗 3 小时。
17. 如果是碱性物质的吸附，以 0.05mol/L 的磷酸二氢钠溶液（用磷酸调整 pH=3）为流动相（用 0.45um 的水相滤膜过滤），采用 0.2mL/min 的流速冲洗 3 小时。
18. 如果是酸性物质的吸附，以 0.05mol/L 的磷酸二氢钠溶液（用 NaOH 调整 pH=11）为流动相（用 0.45um 的水相滤膜过滤），采用 0.2mL/min 的流速冲洗 3 小时。
19. 如果上述处理后仍未能解决问题可能是氢键的吸附，在淋洗液中添加 6-8mol/L 的尿素或者 0.2%-0.3%的中性表面活性剂（Triton、Tween）（用 0.45um 的水相滤膜过滤）后以 0.2mL/min 的流速冲洗 3 小时。但需要注意尿素和表面活性剂会在柱中残留。一般不建议此项操作。
20. 冲洗完成后，使用纯水为流动相，以 2.5g/L 乙二醇为样品，1mL/min 的流速，进样量 20uL,在示差检测器下测柱效。或者是以 0.05%DMSO 水溶液为样品，1mL/min 的流速，在 UV210nm 下测柱效。信号采集时间 40 分钟。
21. 如果为了确定是什么因素引起的色谱柱柱效下降，可以在每步清洗步骤后增加第 20 步测柱效的方法。
22. 在系统压力恒定的情况下，如果色谱柱比刚使用时有所升高，建议按照上述 12-19 步反接柱子进行清洗

聚甲基丙烯酸树脂基质的尺寸排阻色谱柱清洗方法 (4.6mmx15cm)

23. 100%纯水以 0.2mL/min 的流速冲洗 1 小时.
24. 如果是疏水性吸附, 以 20%乙腈水溶液为流动相 (用 0.45um 的有机相滤膜过滤), 采用 0.2mL/min 的流速冲洗 1 小时.
25. 如果分析了多肽, 膜蛋白等疏水性比较强的样品可以先用 100%纯水以 0.2mL/min 的流速冲洗 1 小时, 再用 20%乙腈水 (用 0.45um 的有机相滤膜过滤), 采用 0.2mL/min 的流速冲洗 1 小时.再采用 30%乙腈水 (用 0.45um 的有机相滤膜过滤), 采用 0.2mL/min 的流速冲洗 1 小时, 最后采用 50%乙腈水 (用 0.45um 的有机相滤膜过滤), 采用 0.2mL/min 的流速冲洗 1 小时
26. 100%纯水以 0.2mL/min 的流速冲洗 1 小时.
27. 如果是离子性物质的吸附, 以 0.05mol/LPB (0.05mol/LNaH₂PO₄+0.05mol/LNa₂HPO₄) 缓冲液+0.5mol/LNaCl 溶液为流动相 (用 0.45um 的水相滤膜过滤), 采用 0.2 mL/min 的流速冲洗 1 小时。
28. 如果是碱性物质的吸附, 以 0.05mol/L 的磷酸二氢钠溶液 (用磷酸调整 pH=3) 为流动相 (用 0.45um 的水相滤膜过滤), 采用 0.2mL/min 的流速冲洗 1 小时。
29. 如果是酸性物质的吸附, 以 0.05mol/L 的磷酸二氢钠溶液 (用 NaOH 调整 pH=11) 为流动相 (用 0.45um 的水相滤膜过滤), 采用 0.2mL/min 的流速冲洗 1 小时。
30. 如果上述处理后仍未能解决问题可能是氢键的吸附, 在淋洗液中添加 6-8mol/L 的尿素或者 0.2%-0.3%的中性界面活性剂 (Triton、Tween) (用 0.45um 的水相滤膜过滤) 后以 0.2mL/min 的流速冲洗 1 小时。但需要注意尿素和表面活性剂会在柱中残留。一般不建议此项操作。
31. 冲洗完成后, 使用纯水为流动相, 以 5g/L 乙二醇为样品, 0.6mL/min 的流速, 进样量 2uL, 在示差检测器下测柱效。或者是以 0.05%DMSO 水溶液为样品, 0.6mL/min 的流速, 在 UV210nm 下测柱效。信号采集时间 10 分钟
32. 如果为了确定是什么因素引起的色谱柱柱效下降, 可以在每步清洗步骤后增加第 9 步测柱效的方法。
33. 在系统压力恒定的情况下, 如果色谱柱比刚使用时有所升高, 建议按照上述 23-30 步反接柱子进行清洗

有 RI 检测器

TSKgel® INSPECTION DATA

(1 / 1)

Column

Description : TSKgel G4000PW_{XL}
 Column Size : 7.8 mm I.D. × 30 cm
 Particle Size : 10 μm
 Shipping Solvent : Distilled Water

Part No. : 0008022
 Column No. : T00034
 Gel Lot No. : 01N

Conditions

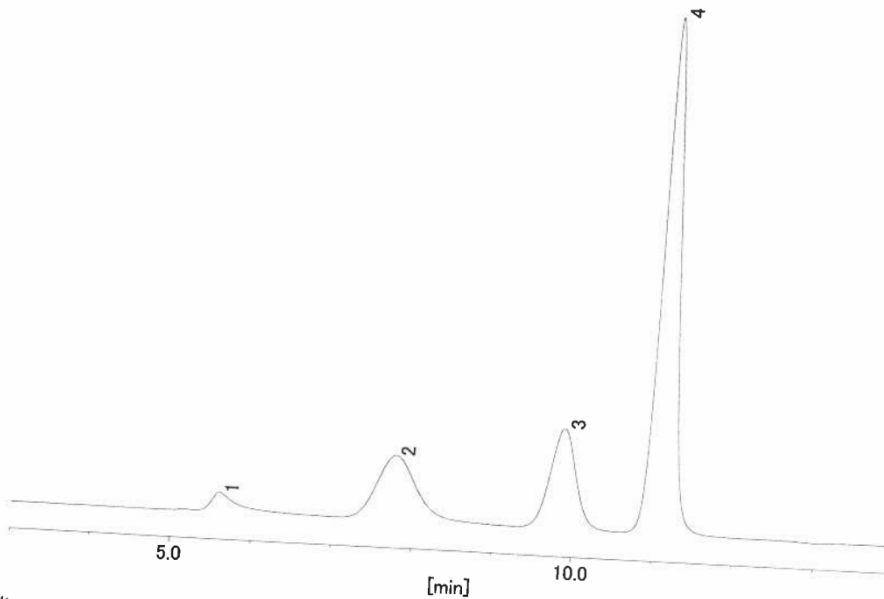
Flow Rate : 1.0 mL/min
 Detection : RI
 Sample Volume : 20 μL
 Eluent : Distilled Water

Pressure : 0.8MPa
 Temperature : 25 °C
 Inspector : Tanaka Kazunori

Samples

1. P.E.O.	MW: 540,000	0.13 g/L
2. P.E.O.	MW: 44,900	0.5 g/L
3. P.E.G.	MW: 3,000	0.5 g/L
4. E.G.		2.5 g/L

Inspection Chromatogram



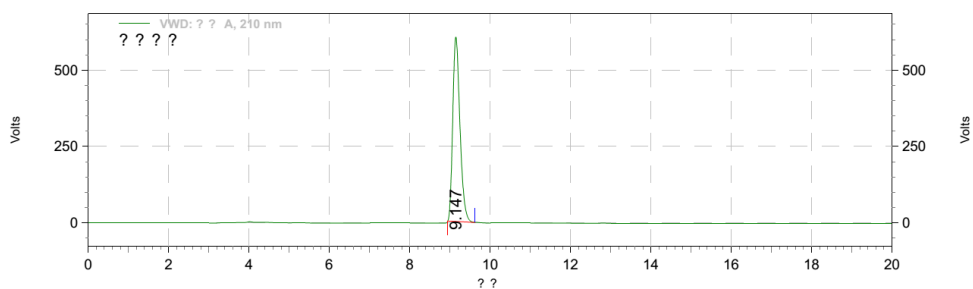
Result

N(Number of Theoretical Plates)	: 13,565	Calculated Peak No.	4	Specifications	≥10000
As(Asymmetry Factor)	: 1.14		4		0.7 - 1.6

无 RI 检测器

G2500PWXL 柱效的测定

柱号:P4464
 分析时:2010.04.01
 分析样品:0.05%DMSO
 柱压:33 Bar
 流动相:H₂O
 进样量: 20uL
 检测波长: 210nm
 流速:1.0mL/min
 柱长:30cm
 内径:7.8mm
 数据文件: D:\data\shi\柱效测定\G2500PWXL\p4464-1_2010-4-1 11-21-25.dat
 方法文件: C:\EZChrom
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Ming\DEAE-5PW.met
 获取时间: 2010-4-1 11:22:47
 打印时间: 2010-4-1 11:52:04



保留时间	峰面积	峰面积 %	峰高	理论塔板数 (USP)	分离度 (USP)	不对称	每米塔板数 (USP)
9.147	125917409	100.0	10131307	12260	0.00000	1.30864	40866.79
总数	125917409	100.0	10131307				