

# HALO® 400 Å C4, 3.4 µm 色谱柱使用指南

## 色谱柱简介

HALO® 400 Å C4 是一种基于大孔径 (400 Å) Fused-Core® 技术的快速、高效型液相色谱柱。Fused-Core® 颗粒由薄的高纯多孔硅胶壳层围绕着实心硅胶核组成, 传质只发生在壳层内。该核壳颗粒壳层为 0.2 µm, 由于扩散路径较浅, 而且总粒径也较小, 只有 3.4 µm, 这种颗粒显示出超高的柱效。HALO® 400 Å C4 紧密键合了二甲基丁基, 完全封端, 是一种非常稳定的反相柱, 可用于分离蛋白等大分子化合物。

## 色谱柱特征

每支色谱柱都附带检测报告, 其中包含色谱柱的出厂检测色谱图以及数据, 还包含了每支柱子特定批次的 QA 测试报告, 请妥善保存。  
该核壳颗粒的表面积 15 m<sup>2</sup>/g, 平均孔径为 400 Å。

## 注意事项

- 流向已标注于柱管标签。
- 反向冲洗可用于尝试去除入口堵塞或污染物。
- 新色谱柱保存在 100% 乙腈中, 初次使用需注意溶剂互溶及防止盐析。
- HALO® 400 Å C4 色谱柱兼容水及常用有机溶剂
- HALO® 400 Å C4 色谱柱经过低 pH (2-2.5) 程序测试, 柱温高达 90°C; 同时在 60°C、中等 pH (达到 6) 的条件下, 也表现出良好的柱寿命。当 pH 在 6-9 时, 建议柱温不超过 40°C, 以获得最长柱寿命。不推荐 pH 高于 9。
- HALO® 400 Å C4 色谱柱柱压请勿超过 600 bar (9000 psi)。

## 色谱柱维护

为获得最佳柱寿命, 需确保样品及流动相中无颗粒物, 推荐使用保护柱或在进样器与色谱柱之间增加 0.5 µm 在线过滤器。HALO® 400 Å C4 色谱柱的筛板为 2 µm, 比其他小粒径色谱柱 0.5 µm 的筛板较少发生堵塞。当柱压突然高出正常值时, 可尝试反冲色谱柱, 以去除筛板上的颗粒污染物。  
为去除强保留污染物, 可以用强溶剂反冲色谱柱, 如 100% 流动相中的有机相。另外, 95/5 二氯甲烷/甲醇非常有效。特殊情况下, 需要用到二甲基酰胺 (DMF) 或二甲基亚砷 (DMSO) 等极强的溶剂。

## 色谱柱保存

长时间保存硅胶基质的色谱柱建议使用 100% 乙腈, 短期 (最多 3-4 天) 内也可以将色谱柱保存在大部分常规流动相。然而, 当用到缓冲盐时, 为保护色谱柱和仪器, 一定要用等比例不含盐的流动相冲洗色谱柱除盐 (比如, 当用到 60/40 乙腈/缓冲盐, 用 60/40 乙腈/水冲洗色谱柱)。  
保存色谱柱之前, 需用原厂柱堵头拧紧密封。

## 安全提示

- 色谱柱仅供实验室使用, 不可用于药物、家庭或其他。
- 色谱柱使用者应了解流动相的毒性和可燃性, 并采取预防措施, 避免接触和泄漏。
- 色谱柱应在通风良好的环境中使用, 以降低空气中的挥发溶剂。

## 色谱柱应用

HALO® 400 Å C4 是一种非极性固定相, 建议用甲醇/水或乙腈/水作为流动相, 随着有机相的增加, 样品保留时间会明显缩短。高温 (如 40-60°C) 下流动相粘度降低, 柱压下降, 可以通过提高流速来实现高通量。对于复杂样品, 使用 5-10% 的有机相为初始梯度, 然后直线上升到 100% 有机相, 一般可以在最短时间内获得有效分离。

HALO® 400 Å C4 非常适合于分子量为 400 至 500 kDa 的蛋白质等高分子量化合物的反相分离, 对于离子型化合物, 一般会加入 20-50 mM 缓冲盐, 这是为了得到最佳结果, 并保持方法的长期稳定性。更多溶剂选择和方法优化的技巧, 大家可以查看: Chapters Six, Seven, and Eight, *Practical HPLC Method*

*Development*, Second Edition, L.R. Snyder, J.L. Glajch, and J.J. Kirkland, (John Wiley & Sons, 1997).

HALO® 400 Å C4 紧密键合了二甲基丁基, 完全封端, 能够承受用于蛋白质分离的低 pH 和高温流动相。对于无需质谱 (MS) 检测的蛋白质分离, 建议使用低 pH 值的流动相添加剂, 如浓度为 0.01-0.1% 的三氟乙酸 (TFA); 质谱 (MS) 条件时, 建议在相同浓度的甲酸中加入 10-20 mM 甲酸铵。

## 小体积色谱柱 (快速柱) 使用指南

小体积色谱柱 (柱长更短, 内径 < 3 mm) 越来越多用于快速分离, 尤其针对一些特殊检测器, 如质谱。小体积色谱柱色谱峰的体积肯定比普通 HPLC 色谱柱 (如 4.6 mm x 150 mm) 要小很多, 所以小体积色谱柱的分离效果更依赖于 HPLC 仪器是否具有最小的谱带展宽。按以下条件优化仪器, 小体积色谱柱即可获得最佳效果:

- 检测器 — 使用小体积流通池 (最好 < 2 µl)。
- 检测器 — 为准确显示从小体积色谱柱快速洗脱出来的色谱峰, 检测器响应时间应设置到最快水平 (~ 0.1 秒), 以允许软件在最窄峰上采集到至少 20 个点。
- 进样器 — 进样系统应采用小体积设计 (如 Rheodyne 8125)。普通液相的自动进样器经常会导致小体积色谱柱谱带展宽、柱效降低, 但可能为了通用性和使用方便。
- 管路 — 应使用尽可能短的窄径管路 (最粗 0.005 英寸, 0.12 mm ID), 将色谱柱连接到进样器和检测器。管路必须切割平整, 必要时使用零死体积连接件。
- 保留时间 — 随着保留时间的增加, 峰体积也增加, 仪器对谱带展宽的影响降低。
- 样品溶剂 — 等度条件下, 样品应溶解在流动相或比流动相更弱 (极性更强) 的溶剂中; 梯度条件下, 则应溶解在初始流动相或明显弱于梯度最高点的溶剂中。
- 进样体积 — 等度条件下, 进样体积应尽可能小 (< 2 µl), 样品溶剂比流动相更弱。梯度条件下, 进样体积不是很关键, 特别是样品溶解于弱溶剂的时候。

HALO® and Fused-Core® are registered trademarks of  
Advanced Materials Technology, Inc.



更多产品和技术支持, 请联系:

北京谱之道科技有限公司  
[www.GoToChrom.com](http://www.GoToChrom.com)  
电话: 010-86461964  
邮箱: [info@GoToChrom.com](mailto:info@GoToChrom.com)

