

疏水性色谱柱
TSKgel HIC 系列
TSKgel Phenyl-5PW, Ether-5PW

使用说明书





东曹株式会社

TOSOH

安全注意事项

为防止财产损失、确保个人安全，请在使用本产品之前，仔细通读本说明书。

[注意标签]

标签	说明
 警告	警告用户可能存在严重受伤或死亡的危险。
 注意	警告用户可能存在设备损坏或受伤的危险。

警告

■ 远离火源

使用易燃溶剂时，请务必小心。否则可能会导致火灾、爆炸或中毒。

注意

■ 使用环境必须通风良好。

如果通风不良，易燃或有毒溶剂可能会导致火灾、爆炸或中毒。

■ 请勿喷洒溶剂。

溶剂发生喷洒或泄露可能会导致火灾、触电、中毒、受伤以及腐蚀。

清除漏出的溶剂时，请佩戴合适的护具。

■ 请佩戴护目镜和防护手套。

有机溶剂和酸属于有害物质，切勿直接接触皮肤。

■ 请小心处理包装。

处理不当可能会导致产品破裂或溶剂飞溅。

■ 请勿将本产品用于其他目的。

本产品仅可用于分离和提纯，请勿用于其他用途。

■ 请确认化合物的安全性。

请确认分离和提纯后的化合物和溶剂安全可靠。

■ 正确废弃。

请根据当地法律法规正确废弃。

注

■ 请妥善保管本说明书，以便日后参阅。

目 录

1. 简介	1
2. 打开包装	1
3. 安装	1
4. 保存色谱柱.....	2
5. 准备样品和流动相	3
6. 流速	4
7. 温度	4
8. 保护柱.....	5
9. 柱效	5
10. 故障排除	6
11. 质量标准和质量保证	7

1. 简介

TSKgel HIC（疏水性）色谱柱通过表面的疏水性分离样品，分离机制与反相类似。该类色谱柱用于蛋白质的分析或制备。我们提供不锈钢色谱柱和玻璃色谱柱。特别是玻璃色谱柱，是一款在高精度玻璃管配有塑料末端接头的生物相容性色谱柱。

本说明书详细记载了有关如何正确保存和使用该类色谱柱的重要信息，以便充分发挥产品的性能。

2. 打开包装

请先确认包装外观及色谱柱是否完整。



图 1 包装外观

然后确认色谱柱配有以下文件：

使用说明书	1 份
检测报告（Inspection Data）	1 份

3. 安装

3-1 连接部件

不锈钢色谱柱的连接方式为内锁型，而玻璃色谱柱的连接方式为 1/4"-28 UNF 法兰型连接。

3-2 进液方向

请按图 2 和 3 上柱标牌所示的箭头方向使用色谱柱。长时间反向使用色谱柱会降低色谱柱的性能。

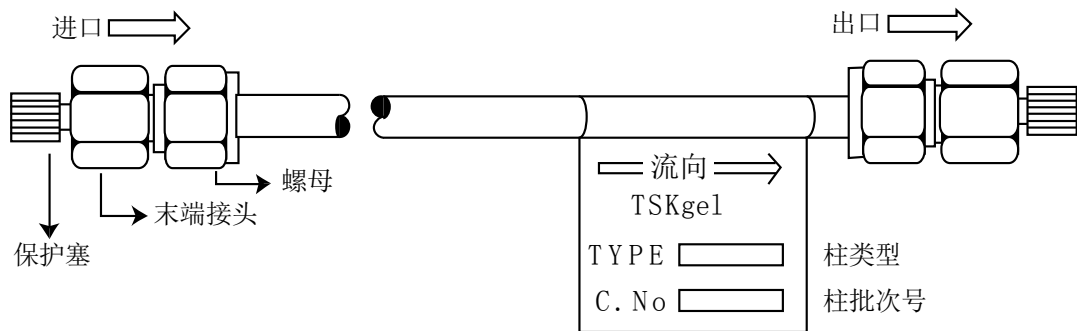


图 2 不锈钢色谱柱

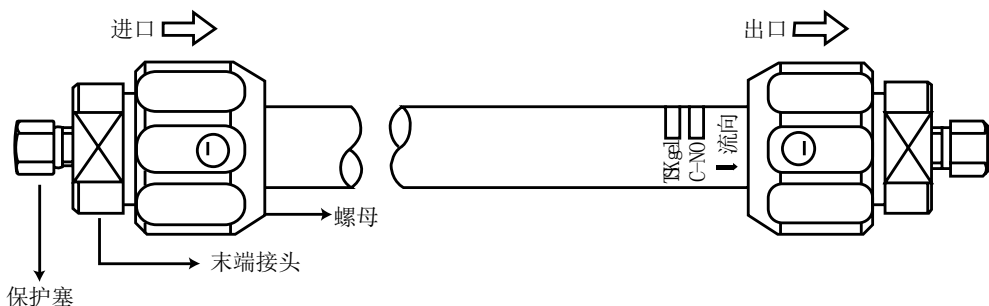


图 3 玻璃色谱柱

3-3 防止气泡

在设备上安装或取下色谱柱时，注意不要在色谱柱内混入气泡。安装色谱柱之前，请务必清除所有管路中的气泡。如果在色谱柱中混入了气泡，则会形成沟槽而降低色谱柱的性能。

3-4 避免脉动式进液

本款色谱柱很容易受到溶剂脉动式进液的影响。最好能使用没有脉冲的泵。如果必须使用脉动式泵，请在泵的出口侧连接脉冲阻尼器（抵抗管），抵消脉动。所用阻尼器必须具有较高的耐腐蚀性。

4. 保存色谱柱

将色谱柱在 4~30 °C 范围内常温保存。请勿将色谱柱保存在 4 °C 或 4 °C 以下冰箱中，以免冷冻色谱柱内的溶剂。请勿将色谱柱直接暴露在阳光下。色谱柱的保存位置应避免腐蚀性气体。

如果需要每天使用色谱柱，则无需从设备上取下色谱柱，而且如果缓冲液的溶解性较好，也可以

留在色谱柱中过夜。短期保存色谱柱时，请从设备上取下色谱柱，并使用保护塞封住色谱柱的末端。长期保存时，需要防止色谱柱长菌。因此，需要使用超纯水替换缓冲溶液。

5. 准备样品和流动相

5-1 替换溶剂

HIC 系列色谱柱的出厂溶剂为超纯水。使用适当的溶剂，按照表 1 中推荐的一半以下的流速替换该溶剂。由于频繁替换溶剂会加速降低色谱柱的性能，所以请尽量使用相同的溶剂。

5-2 pH 值

室温下，HIC 系列色谱柱适用 pH 值的范围较大，为 2.0~12.0。

5-3 过滤

请使用 0.5 μm 过滤器过滤的色谱纯溶剂。使用前，请过滤所有的缓冲液。这样可以减少柱头堵塞问题，延长色谱柱寿命。过滤后的溶剂需要超声清除溶剂中溶解的气体，防止空气进入系统。

5-4 盐浓度的范围

溶剂中的盐浓度没有限制，可以接近饱和状态。

5-5 有机溶剂的浓度范围

有机溶剂的浓度可以达到 50 %。但是，向含有有机溶剂的水溶液中添加盐时，请注意盐析。

5-6 变性剂

可以使用的变性剂有尿素、盐酸胍等。

5-7 样品

请使用流动相溶解样品。样品溶液使用微孔过滤器（孔径 0.5 μm ）过滤，防止色谱柱堵塞。

6. 流速

选择流速时，应充分考虑分辨率、分析时间以及色谱柱的寿命。流速越高，分析时间越短。相反，流速较低有利于提升柱效，延长色谱柱的寿命。

磷酸盐或其他缓冲液的推荐流速为 0.4~0.8 mL/min。

色谱柱的推荐流速和压降如下所示：

表 1 推荐流速

货号	产品名称	尺寸 mm (I.D.) × cm (L)	最大流速 (mL/min)	推荐流速 (mL/min)	最大压降 (MPa)
07573	〈不锈钢色谱柱〉 Phenyl-5PW	7.5 × 7.5	1.2	0.5-1.0	2.0
07656	Phenyl-5PW	21.5 × 15.0	8.0	4.0-6.0	2.0
13063	〈玻璃色谱柱〉 Phenyl-5PW Glass	5.0 × 5.0	1.0	0.5-0.8	2.0
08804	Phenyl-5PW Glass	8.0 × 7.5	1.2	0.5-1.0	2.0
14018	Phenyl-5PW Glass	20.0 × 15.0	8.0	4.0-6.0	2.0
08641	〈不锈钢色谱柱〉 Ether-5PW	7.5 × 7.5	1.2	0.5-1.0	2.0
08642	Ether-5PW	21.5 × 15.0	8.0	4.0-6.0	2.0
14013	〈玻璃色谱柱〉 Ether-5PW Glass	5.0 × 5.0	1.0	0.5-0.8	2.0
14014	Ether-5PW Glass	8.0 × 7.5	1.2	0.5-1.0	2.0
14015	Ether-5PW Glass	20.0 × 15.0	8.0	4.0-6.0	2.0

注：

使用玻璃色谱柱时，柱头的压力应低于 3 MPa，防止损坏色谱柱和末端接头发生填料泄漏。

7. 温度

HIC 系列色谱柱的最佳使用温度为 10~30 °C。不可在高于室温的条件下长时间使用该系列色谱柱。10 °C 以下使用时，请使用较低的流速以便保护色谱柱。长时间保存时，应在室温下保存色谱柱。

8. 保护柱

如果样品中含有可能会被填料吸附的杂质，则会吸附在色谱柱的进口侧并逐渐聚集，导致柱效降低。此时，可在色谱柱前面安装保护柱，以更换保护柱的方式保护由于杂质吸附而引起的柱效下降。为了最大限度地应对这类问题，请尽可能地使用保护柱。

TSKgel Phenyl-5PW 和 Ether-5PW 对应的保护柱请见表 2。

另外，请参阅 TSKguardgel 的使用说明书。

表 2 保护柱信息

货号	产品名称	对应的色谱柱
07652	〈TSKguardgel kit〉 TSKguardgel Phenyl-5PW kit	Phenyl-5PW (7.5×7.5)
08643	TSKguardgel Ether-5PW kit	Ether-5PW (7.5×7.5)
08808	TSKguardgel Phenyl-5PW kit Glass	Phenyl-5PW Glass (8.0×7.5)
14025	TSKguardgel Ether-5PW kit Glass	Ether-5PW Glass (8.0×7.5)
14469	〈TSKgel guardcolumn〉 TSKgel guardcolumn Phenyl-5PW Glass	Phenyl-5PW Glass (20×15)
14470	TSKgel guardcolumn Ether-5PW Glass	Ether-5PW Glass (20×15)

9. 柱效

色谱柱的理论塔板数 (N)，不对称因子 (As) 及其色谱分析条件如检测报告所示。

9-1 理论塔板数的计算方法

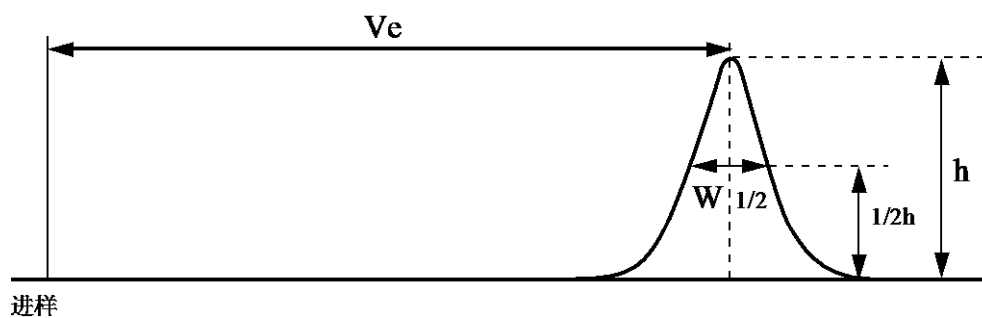


图 4 理论塔板数的计算方法

如图 4 中所示，通过半峰宽法计算色谱柱的理论塔板数。

$$N = 5.54 (V_e/W_{1/2})^2$$

V_e : 洗脱液体积

$W_{1/2}$: 半峰宽

h : 峰高

9-2 不对称因子的计算方法

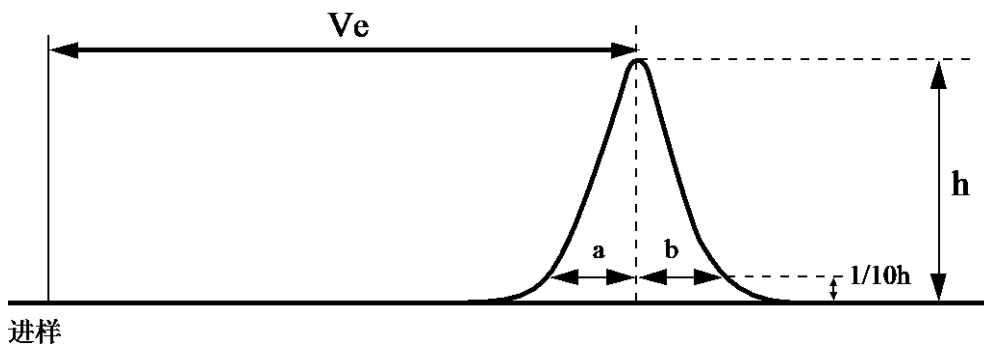


图 5 不对称因子的计算方法

通过 $1/10 h$ 法计算色谱柱的不对称因子 (A_s)。

$$A_s = b/a$$

9-3 死体积

如果仪器的死体积或样品溶液的进样量过大，则理论塔板数可能会降低。

10. 故障排除

使用 TSKgel 色谱柱时，按照以下说明可以避免某些问题的发生。但是，有些问题（如由色谱柱寿命、吸附物质、产生的气泡、填料干燥或溶剂凝固等引发的问题）一旦发生就无法清除，因此使用色谱柱时应非常小心。

10-1 末端接头堵塞

如果压降增加或流速降低，应该从色谱柱逆向进液清洗末端接头。如果无法清除堵塞，请使用新的末端接头替换旧的接头，注意替换时请勿碰到下方的填料。

10-2 色谱柱杂质吸附严重

如果洗脱时间过长，则可能是由于色谱柱吸附的杂质较多引起的。清洗色谱柱可以避免大部分问题的发生。如果清洗后色谱柱没有恢复，则色谱柱已经无法恢复。此时，请使用新的色谱柱进行替换。

11. 质量标准和质量保证

11-1 检测报告

色谱柱包装中的检测报告记录了检测结果。在检测报告中，N 表示色谱柱实际长度算出的理论塔板数。

检测报告的检测条件如下：

洗脱液：超纯水

样品：0.5 % 丙酮

流速和样品体积：

产品	尺寸 mm (I.D.) × cm (L)	流速 (mL/min)	样品体积 (μ L)
不锈钢色谱柱	7.5 × 7.5	1.0	20
不锈钢色谱柱	21.5 × 15.0	6.0	100
玻璃色谱柱	5.0 × 5.0	0.8	20
玻璃色谱柱	8.0 × 7.5	1.0	20
玻璃色谱柱	20.0 × 15.0	6.0	100

检测器：UV 280 nm

11-2 质量标准

货号	产品名称	尺寸 mm(I.D.)×cm(L)	理论塔板数 (N/Column)	不对称因子 (As)
	〈不锈钢色谱柱〉			
07573	TSKgel Phenyl-5PW	7.5× 7.5	≧ 1,000	1.0-2.0
07656	TSKgel Phenyl-5PW	21.5× 15.0	≧ 3,000	0.8-1.6
08641	TSKgel Ether-5PW	7.5× 7.5	≧ 1,000	1.0-2.0
08642	TSKgel Ether-5PW	21.5× 15.0	≧ 3,000	0.8-1.6
	〈玻璃色谱柱〉			
13063	TSKgel Phenyl-5PW Glass	5.0× 5.0	≧ 600	1.0-2.0
08804	TSKgel Phenyl-5PW Glass	8.0× 7.5	≧ 1,000	1.0-2.0
14018	TSKgel Phenyl-5PW Glass	20.0× 15.0	≧ 3,000	0.8-1.6
14013	TSKgel Ether-5PW Glass	5.0× 5.0	≧ 600	1.0-2.0
14014	TSKgel Ether-5PW Glass	8.0× 7.5	≧ 1,000	1.0-2.0
14015	TSKgel Ether-5PW Glass	21.5× 15.0	≧ 3,000	1.0-2.0

11-3 质量保证

收到产品后, 请立即根据第 9 节和第 11 节的内容确认色谱柱的外观并检查其性能。如果产品无法达到上表中所记载的性能, 请在两周内联系东曹销售代表或相关代理店。

注: 色谱柱的寿命不属于保修范围。

东曹（上海）生物科技有限公司
上海市徐汇区虹梅路 1801 号 A 区

凯科国际大厦 1001 室

电话：021-3461-0856

传真：021-3461-0858

E-mail: info@tosoh.com.cn

网址: <http://www.separations.asia.tosohbioscience.com/home-cn>

TSKgel, TSKgel SuperMultipore, TSKgel STAT, BioAssist, Lipopropak, TOYOPEARL, ToyoScreen, TOYOPEARL GigaCap, TOYOPEARL

MegaCap, TOYOPAK 以及 EcoSEC 是东曹株式会社在日本, 中国, 美国, 欧盟等的注册商标。

HLC 是东曹株式会社在日本和中国的注册商标。

未经东曹株式会社的书面许可, 禁止影印或复印本书的全部或部分內容。

本书中的內容如有更改, 恕不另行通知。