

极性有机溶剂凝胶渗透色谱柱

TSKgel α 系列

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

溶剂发生喷洒或泄漏可能会导致火灾、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。

填料操作注意事项

| | | |
|-------|---------|---|
| 急救 | 吸入 | <ul style="list-style-type: none">• 请将患者转移到空气清新的区域，并用清水反复清洗口部。 |
| | 皮肤接触 | <ul style="list-style-type: none">• 用清水反复冲洗接触位置。 |
| | 眼睛接触 | <ul style="list-style-type: none">• 请尽量睁大眼睛，并用清水冲洗至少十五分钟。• 请立即就医。 |
| | 摄食 | <ul style="list-style-type: none">• 请立即用清水反复漱口，并立即就医。 |
| | 一般注意事项 | <ul style="list-style-type: none">• 无特别注意事项。 |
| 操作和保存 | 火灾 | <ul style="list-style-type: none">• 请勿使用明火。请使用接地的防爆工具，防止产生火花。 |
| | 通风 | <ul style="list-style-type: none">• 请使用通风设备进行通风。 |
| | 护具和身体清洗 | <ul style="list-style-type: none">• 请佩戴橡胶手套、护目镜和防尘面罩。• 冲洗身体上粘附的物质。 |
| 处理废弃物 | 处理方法 | <ul style="list-style-type: none">• 请在焚烧室内进行焚烧处理。 |
| | 一般注意事项 | <ul style="list-style-type: none">• 处理废弃物时，请注意物质的易燃性及保存注意事项。 |

填料：易燃性填料（乙烯基共聚物）

出厂溶剂：超纯水（溶剂在接近 0 °C 时会凝固，请注意保存时的温度）

目 录

| | |
|----------------------------|----|
| 1. 简介 | 1 |
| 2. 打开包装 | 1 |
| 3. 色谱柱部件 | 1 |
| 4. 安装 | 2 |
| 5. 保存色谱柱 | 4 |
| 6. 选择溶剂 | 5 |
| 7. 流速 | 6 |
| 8. 使用和保存时的温度 | 7 |
| 9. 准备样品溶液 | 7 |
| 10. 理论塔板数和不对称因子的计算方法 | 8 |
| 11. 保护柱 | 9 |
| 12. 故障排除 | 10 |
| 13. 质量标准和质量保证 | 12 |

1. 简介

TSKgel α 系列色谱柱是具有较高的溶剂抵抗性和替换性的高效、高速 GPC 色谱柱，采用亲水性交联成聚合物作为填料，适用于各种溶剂的水溶液和不同极性的有机溶剂（水和有机溶剂的混合物）。

请仔细阅读本使用说明书，确保正确、高效地使用该类色谱柱。

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. 色谱柱部件

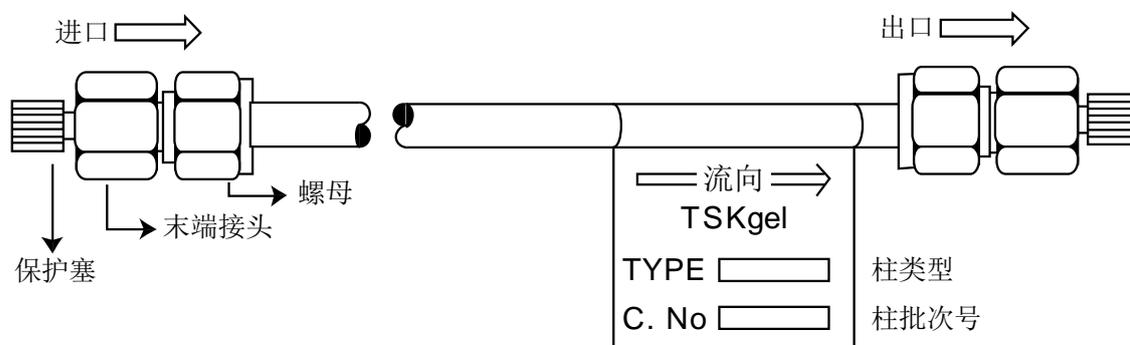


图 2 色谱柱部件

4. 安装

4-1 连接色谱柱部件

所有的连接方式都是内锁型，且采用英寸为单位进行测定。

4-2 进液方向

请按图 2 上标签所示的箭头方向进液。长时间反向进液会降低色谱柱的性能。

4-3 防止气泡进入色谱柱

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。

4-4 色谱柱的连接顺序

系统中需要同时安装样品柱和参比柱时，请先安装参比柱。

4-5 连接样品柱

4-5-1 末端接头有溶剂漏出

安装色谱柱之前，请务必清除所有管路中的气泡。取下色谱柱进口侧的保护塞后，如果末端接头处有溶剂漏出，请按以上方法将色谱柱小心地连接到设备上，确保色谱柱中没有气泡。

4-5-2 末端接头没有溶剂漏出

如果末端接头的进口侧没有溶剂漏出，请将末端接头连接到设备的出口侧，然后反向泵入溶剂，清除末端接头进口附近的气泡（注意缓慢地泵入溶剂，压降或流速发生剧烈变化时会降低色谱柱的性能）。

4-5-3 确认清除气泡后

确认色谱柱进口侧漏出的溶剂中没有气泡后，请按正常进液方向连接色谱柱，然后将进口侧连接到进样器。

4-6 连接多根色谱柱

如上所述，将末端接头连接到色谱柱的出口侧，然后将色谱柱连接到管路的末端，顺次连接多根色谱柱（请使用 1/16 英寸管路连接色谱柱）。为了减少死体积，请使用较短的管路并将其完全插入末端接头后再拧紧金属环。如果管路和末端接头之间有空隙，则会干扰溶剂的进液，降低分辨率。

4-7 色谱柱的连接顺序

为了分离大分子化合物，防止过载效应，并降低其在色谱柱中的浓度，请将色谱柱按孔径由大到小的顺序连接。请将最后一根色谱柱的出口端连接到检测器。

4-8 测定之前

安装色谱柱后即可开始测定。如上所述，请避免柱压发生剧烈变化，否则可能会降低色谱柱的性能。如果使用的泵的压降会剧烈升高的话，请务必小心。

4-9 避免脉动式进液

本款色谱柱很容易受到脉动式进液的影响。请使用没有脉冲的泵。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。

4-10 测定之后

4-10-1 高温条件下测定

不要在测定结束后，立刻停泵。请继续注入流动相，直至色谱柱的温度降至室温。如果在柱温较高时停泵，则可能会由于溶剂收缩，导致空气被吸入色谱柱。

4-10-2 短期保存时

如果管路中没有泄漏，可以不需要取下色谱柱，留待第二天继续使用。如果三天以上（含三天）不使用色谱柱，请按 4-10-4 节的内容保存色谱柱。

4-10-3 使用的溶剂是盐溶液时

请使用超纯水清洗管路系统。清洗系统时，请勿超过表 1 中限定的流速。超纯水的使用量应大于色谱柱和整个管路系统的体积的总和。

表 1 清洗流速

| 产品名称 | 色谱柱尺寸 mm (I.D.) × cm (L) | 推荐流速 |
|------|--------------------------|------------|
| α 系列 | 7.8×30 | 0.3 mL/min |

4-10-4 长期保存时（三天或以上）

如果长时间不使用色谱柱，请使用超纯水替换溶剂。然后请从设备上取下色谱柱，并使用随附的保护塞封住色谱柱的末端。

5. 保存色谱柱

5-1 保存方法

请按 4-10 节的内容保存色谱柱。

5-2 保存温度

请在温度相对稳定的环境下（恒温室）保存色谱柱。

5-3 阳光直射

请勿将色谱柱直接暴露在阳光下。

5-4 腐蚀性气体

色谱柱的保存位置应避免腐蚀性气体。

6. 选择溶剂

6-1 替换溶剂

α 系列色谱柱的出厂溶剂为超纯水。请使用分析用溶剂替换超纯水。请使用表 3 中列举的流速替换溶剂。频繁替换溶剂会降低色谱柱的性能，因此请尽量避免替换溶剂。

6-2 有机溶剂

如表 2 所示，可以使用不同极性的有机溶剂（水和有机溶剂的混合物）替换 α 系列色谱柱中的溶剂。请采用正确的方法替换溶剂。表 3 中列举了使用不同极性的有机溶剂替换超纯水时的流速。使用不同极性的有机溶剂替换溶剂时，请务必注意以下几点。

- (1) 替换时，如果色谱柱的压降超过了最大压降（表 4），请降低流速或提高温度，务必在最大压降之下替换溶剂。
- (2) 100 % 替换为新溶剂后，请继续以低流速泵入溶剂（约为色谱柱体积的 2-3 倍）。
- (3) 替换无法互溶的溶剂时，请使用乙醇作为中间溶剂。
- (4) 切勿在色谱柱中混入气泡。

6-3 脱气

替换溶剂（尤其是有机溶剂）或测定时，溶剂中可能会产生气泡，流入色谱柱。为了防止产生气泡，请务必对流动相充分脱气。

表 2 TSKgel α 系列可替换的有机溶剂

| 可用（可替换）的有机溶剂 |
|---|
| 甲醇（MeOH）、乙醇（EtOH）、丙酮、四氢呋喃（THF）、乙腈（CH ₃ CN）、二甲基甲酰胺（DMF）、二甲亚砜（DMSO）、异丙醇、六氟异丙醇（HFIP）、水/甲醇、水/DMSO、水/CH ₃ CN、水/THF |

表 3 TSKgel α 系列使用不同极性的有机溶剂替换水时的流速

| 有机溶剂 | 使用推荐溶剂替换时的流速 (mL/min) | 粘度 (CP) | 温度 (°C) |
|--------------------|--------------------------|------------|------------|
| MeOH | 0.8 | 0.54 | 30 |
| EtOH | 0.3 | 1.06 | 25 |
| 丙酮 | 1.0 | 0.32 | 20 |
| THF | 0.5 | 0.55 | 20 |
| CH ₃ CN | 1.0 | 0.33 | 30 |
| DMF | 0.4 | 0.80 | 25 |
| DMSO | 0.2 | 2.00 | 25 |
| 异丙醇 | 0.2 | 2.43 | 20 |
| HFIP | 0.1 | 5.70 | 20 |

6-4 pH 值范围

室温下, 流动相适用的 pH 值范围较大, 为 2.0~12.0。50~80 °C 时适用的 pH 值范围为 6.5~7.5。

7. 流速

α 系列使用的流速如表 4 所示。采用水溶液进行测定时, 流动相不同, 适用的流速和压降也不同。

不论使用的是哪种色谱柱, 使用的流速和压降都不可超过表 4 中的数值。

表 4 TSKgel α 系列的最大流速和压降

| 产品名称 | 色谱柱尺寸 mm (I.D.) × cm (L) | 推荐流速 (mL/min) | 最大流速 (mL/min) | 最大压降/柱 (MPa) |
|-----------------------|-----------------------------|------------------|------------------|-----------------|
| TSKgel α -2500 | 7.8×30 | 0.5~0.8 | 1.0 | 4.0 |
| TSKgel α -3000 | | | | |
| TSKgel α -4000 | | 0.3~0.6 | | 3.0 |
| TSKgel α -5000 | | | | |
| TSKgel α -6000 | | | | |
| TSKgel α -M | | | | 2.0 |

8. 使用和保存时的温度

8-1 使用温度

请在 10 °C~80 °C 之间使用 α 系列色谱柱。

8-2 高温条件下测定

使用前，请进行溶剂脱气。高温条件下的测定结束后，请务必按照第 4-10-1 节的内容进行操作，保护色谱柱。

8-3 高温条件下测定的优点

主要优点如下。

- (1) 溶剂或样品的粘度较高时，高温有利于降低粘度。
- (2) 高温条件下，理论塔板数比室温时高，且分辨率也会提高。
- (3) 高温有利于降低吸附。

8-4 低温条件下的测定

低温条件下的测定有诸多缺点。主要与高温测定时的优点相反。另外，低温测定时溶剂和样品的粘度相较于室温（25 °C）时会更高，所以请降低流速。

8-5 保存温度

请在室温下保存色谱柱（请尽量在 25 °C 下保存）。如果将色谱柱保存在 0 °C 以下，色谱柱可能会凝固，导致性能降低。请勿在 0 °C 以下保存色谱柱。

9. 准备样品溶液

9-1 样品含有不溶物和胶状物时

分析前，请使用微孔过滤器（例如，0.45 μm ）过滤样品。即使在样品溶液中看不到任何杂质，也可能存在不溶物质。推荐使用微孔过滤器过滤样品。

9-2 样品溶液的成分

请将样品溶液的盐浓度、pH 值以及有机溶剂的浓度调整得与流动相一致。当采用梯度洗脱时，请按初始流动相调整样品溶液。如果样品的盐浓度较高，进样前请脱盐。如果样品溶液与流动相混合时会产生不溶物，则不应使用该样品溶液进样分析。

10. 理论塔板数和不对称因子的计算方法

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。

10-1 理论塔板数的计算方法

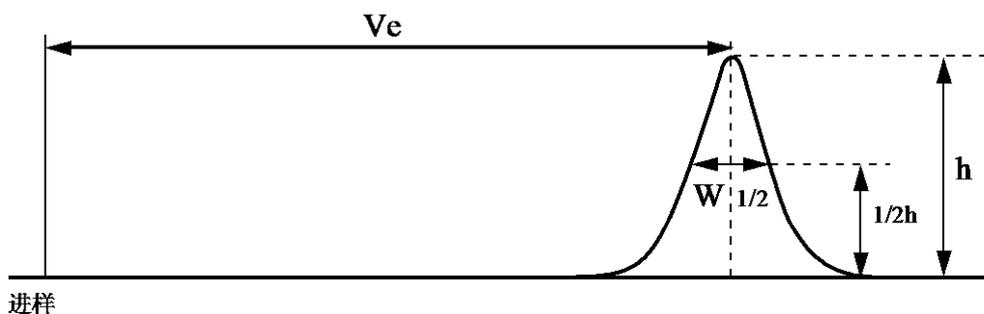


图 3 理论塔板数的计算方法

如图 3 中所示，通过半峰宽法计算色谱柱的理论塔板数。

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

Ve : 洗脱时间 (min)

W_{1/2} : 半峰宽

h : 峰高

N : 理论塔板数/柱

10-2 不对称因子的计算方法

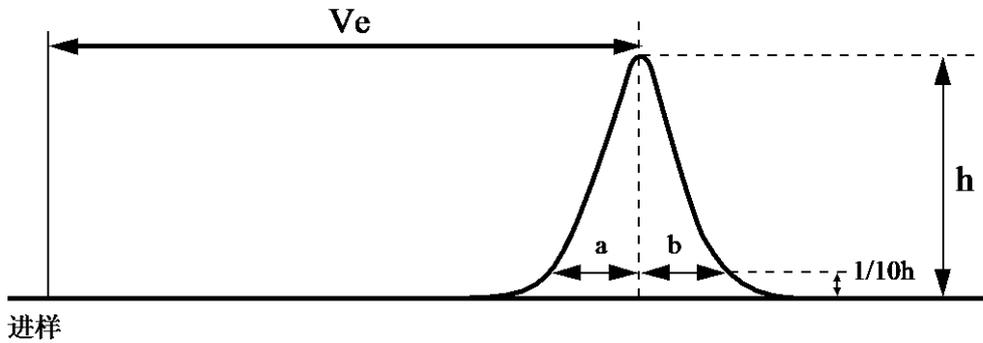


图 4 不对称因子的计算方法

通过 $1/10 h$ 法计算色谱柱的不对称因子 (A_s)。

$$A_s = b/a$$

A_s : 不对称因子

检测色谱柱时，我们使用了死体积较小的 HPLC 设备进行了测定。如果使用的设备死体积较大，或进样量过大，则测得的理论塔板数可能会降低。

11. 保护柱

第 4~9 节概括了主要问题的应对方法。如果样品中出现了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，导致理论塔板数减少，柱效降低。此时，可在分析柱前安装保护柱，修复由于吸附杂质受损的性能，并可通过更换保护柱恢复到初始状态。为了防止此类问题，推荐安装保护柱。保护柱不是分析柱，不会提高分辨率，仅可用于防止上述问题的发生。 α 系列推荐使用的保护柱如表 5 所示。

11-1 安装保护柱的效果

- 1) 防止泵脉动、流速和压降的异常升高引起的柱头塌陷。
- 2) 通过清除吸附物，可以防止污染分析柱。
- 3) 通过清除不溶物，可以保护分析柱。

11-2 替换保护柱

由于保护柱的吸附量有限，其寿命也比较短。请务必在分析柱受到污染之前替换保护柱。由于更换保护柱涉及到多种因素，如使用目的（分析或制备）、样品性质（主要成分的性质、杂质的性质以及含量等）、样品进样量、溶剂、流速等，因此无法将更换保护柱的频率进行标准化规定。操作时压力上升表示保护柱的末端接头发生了堵塞或填料发生了污染，因此在压力升高到一定范围时，最好能够更换保护柱。一般而言，如果测定数据发生异常，应立即更换保护柱。

表 5 保护柱信息

| 货号 | 产品名称 | 色谱柱尺寸 mm (I.D.) × cm (L) | 色谱柱中的溶剂 | 对应的分析色谱柱 |
|-------|----------------------|-----------------------------|------------------|------------|
| 18345 | TSKgel guardcolumn α | 6.0×4 | H ₂ O | α-2500~α-M |

12. 故障排除

如果使用 TSKgel 色谱柱时发生了以下问题，请根据下述步骤采取适当的措施。采取适当的措施可以将分辨率恢复到初始状态。但是，如果问题是由色谱柱寿命、吸附物质、产生的气泡、干燥或溶剂凝固等引起的，则无法恢复。因此，操作色谱柱时，请务必小心。

12-1 末端接头堵塞

如果进样后流速忽然下降、相同流速下柱压高于原始色谱柱、或末端接头的锁紧螺母发生了损坏，请按照 12-1-1~12-1-3 节的内容进行操作。

12-1-1 清除堵塞物或替换末端接头

从设备上取下色谱柱，然后将出口侧的末端接头连接到泵端的管路上。然后，以正常流速泵入溶剂，推出末端接头进口侧的堵塞物。如果按照该步骤无法清除堵塞物或末端接头已经损坏，请按照 12-1-2 节的内容替换末端接头。

12-1-2 替换末端接头

准备一个新的末端接头，并从色谱柱上取下堵塞的末端接头。注意防止填料泄漏。将旧接头中的填料转移到新接头中，然后将其安装到色谱柱。

12-1-3 替换末端接头后

请参照 4-5-2 节的内容清除新接头中的气泡。然后，检测理论塔板数是否正常。

12-2 如果分辨率剧烈下降

请测定色谱柱的理论塔板数。如果没有出现吸附物，而且理论塔板数正常，则问题可能是由样品引起的。请准备新的样品。如果理论塔板数异常，则可能是由色谱柱的性能降低引起的。请测定每根色谱柱的理论塔板数。请在末端接头上使用保护塞，防止气泡进入色谱柱。如果色谱柱的性能降低，请按照 12-2-2 节的内容进行操作。如果色谱柱的分辨率剧烈下降，可能是由 12-1-1~12-2-2 节列出的原因引起的。

12-2-1 末端接头堵塞引起流路问题时

请根据 12-1 节的内容清洗或替换末端接头，然后测定理论塔板数。

12-2-2 吸附物聚集

请参阅 12-3 节。强烈建议使用保护柱，防止吸附杂质。

12-3 样品无法洗脱或洗脱严重延迟时

反复使用后，洗脱行为会发生剧烈变化。这是吸附杂质后造成填料表面变化引起的。此时，可以使用不同性质的溶剂进行清洗，恢复初始分辨率。典型的清洗溶剂如下所示。

吸附现象和清洗方法：

(1) 离子吸附（清除离子性杂质）

增加盐浓度，达到适当的离子强度。

(2) 疏水性吸附（清除疏水性杂质）

使用含有有机溶剂的水溶液清洗。

(3) 氢键吸附（清除蛋白质等低溶解度的杂质）

使用含有尿素的清洗液。

(4) 碱性杂质的吸附

使用酸性水溶液（如乙酸缓冲液）。

如果采用以上所有方法，则可能会由于频繁替换溶剂降低色谱柱的性能。请考虑杂质性质选择最佳的清洗方法。

13. 质量标准和质量保证

13-1 检测报告

有关检测条件和检测结果的内容，请参见检测报告。其中，理论塔板数是指单根色谱柱的柱效，压降为检测流速下的测定值。

13-2 质量标准

TSKgel α 系列色谱柱的出厂规格如下。

表 6 TSKgel α 系列

| 货号 | 产品名称 | 色谱柱尺寸 mm(I.D.) \times cm(L) | 理论塔板数 (N/30 cm) | 不对称因子 | 色谱柱中的 溶剂 |
|-------|-----------------------------|----------------------------------|--------------------|--------------------|------------------|
| 18339 | TSKgel α -2500 | 7.5 \times 30 | 16,000 | 0.70 \times 1.60 | H ₂ O |
| 18340 | TSKgel α -3000 | | 16,000 | | |
| 18341 | TSKgel α -4000 | | 10,000 | | |
| 18342 | TSKgel α -5000 | | 10,000 | | |
| 18343 | TSKgel α -6000 | | 7,000 | | |
| 18344 | TSKgel α -M | | 7,000 | | |
| 18345 | TSKgel guardcolumn α | 6.0 \times 4 | - | - | H ₂ O |

13-3 质量保证

- (1) 收到本产品后，请按照检测报告和本书中说明的条件确认理论塔板数和不对称因子。如果产品没有达到相应规格，我们将会免费进行更换。
- (2) 如果色谱柱在运输过程中发生了损坏，我们也将进行更换。
- (3) 请在收到产品的两周内提出更换要求，两周后我们会认为客户收到的产品完好。
- (4) 色谱柱的寿命不属于保修范围。
- (5) 为了不断改善产品，规格如有变更，恕不另行通知。

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。