

水相分子尺寸排阻色谱柱

TSKgel SW 系列

使用说明书



TOSOH

东曹株式会社

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

请将本说明书保存在本产品附近，以便日后参阅。

目 录

1. 简介	1
2. 打开包装	1
3. 色谱柱部件	2
4. 安装及安全注意事项	2
5. 保存色谱柱	4
6. 溶剂	5
7. 流速	7
8. 使用和保存温度	9
9. 准备样品溶液	9
10. 柱效	10
11. 保护柱	11
12. 故障排除	12
13. 质量标准和质量保证	14

1. 简介

TSKgel SW 系列色谱柱主要用于水相高效凝胶过滤色谱（GFC）。该类色谱柱的设计适用于各类水溶性物质，如蛋白质、酶以及核酸等的分析或制备。我们同时提供不锈钢色谱柱和玻璃色谱柱。特别是玻璃色谱柱，不但是生物相容型的，而且还配有一个拥有塑料末端接头的高精度玻璃管。本说明书详细记载了有关如何正确保存和使用这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. 色谱柱部件

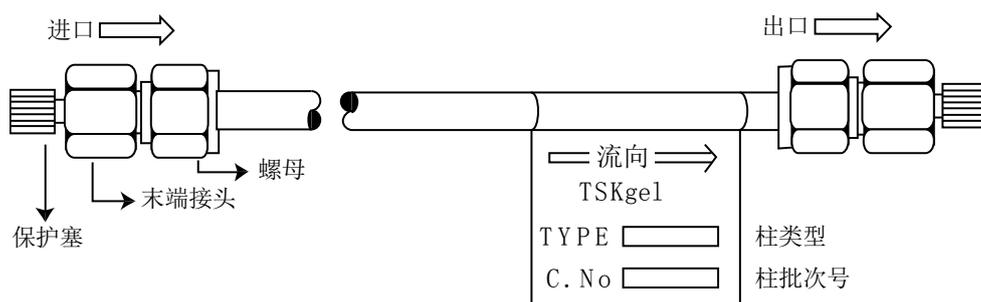


图 2 不锈钢色谱柱

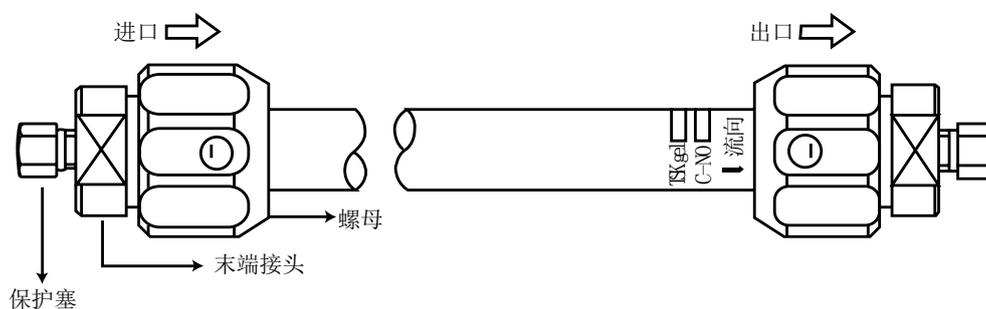


图 3 玻璃色谱柱

4. 安装及安全注意事项

4.1 连接

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。

4.2 进液方向

请按图 2 和 3 上标签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。

4.3 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所有气泡。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 安装

取下色谱柱进口侧的保护塞后，如果末端接头处发生溶剂漏出，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。如果色谱柱的进口侧没有发生溶剂漏出，请将出口侧连接到设备，然后用进样泵向色谱柱中反向注入溶剂，清除空气。此时，请缓慢地（例：低于表 1 中所示的流速）注入溶剂，因为压力上升过快或溶剂的进液速度过快都会降低色谱柱的性能。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。

4.5 串联色谱柱

串联多个色谱柱时，请按上述方法根据孔径由大到小的顺序进行连接，这样可以首先分离出分子量较大的分子，防止过载。对于玻璃色谱柱，请勿在上端压力超过 3.0 MPa 时使用色谱柱，防止损坏。请将互联的管路完全插入末端接头后再拧紧，确保将死体积降到最小。最后，请将色谱柱的出口端连接到检测器。

4.6 测量之前

安装色谱柱后，即可开始测量。如上所述，必须避免压力上升过快或溶剂的进液速度过快，否则可能会降低色谱柱的性能。如果使用的进样泵压力上升较快，请务必小心。

4.7 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。最好能使用没有波动的泵。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。

4.8 日常使用

如果需要每天使用色谱柱，则无需从设备上取下色谱柱，而且缓冲液也可以留在色谱柱中过夜。

4.9 短期保存（数天）

如果数天内不会使用色谱柱，请从设备上取下色谱柱，并使用保护塞封住色谱柱的末端。

4.10 长期保存

如果短时间内不会使用色谱柱，则以上处理方法无法进行有效保存，因为色谱柱内可能会滋生微生物和 / 或腐蚀性缓冲液可能会导致腐蚀，降低色谱柱的性能。长期保存时，请使用水溶液或含有 0.05 %叠氮化钠的缓冲溶液按表 1 所示的流速替换色谱柱中的溶剂。对于不锈钢色谱柱，请勿使用腐蚀性溶剂。

表 1 替换溶剂时的推荐流速

色谱柱类型	尺寸 mm (ID) × cm (L)	流速 (mL/min)
Steel Column SuperSW	4.6×30, 4.6×3.5	0.2
Steel Column SW _{XL}	7.8×30, 6.0×4.0	0.5
Steel Column SW	7.5×30, 7.5×60, 7.5×7.5	0.5
Steel Column SW	21.5×30, 21.5×60, 21.5×7.5	3.0
Glass Column SW	8.0×30	0.5
Glass Column SW	20.0×30	5.0

5. 保存色谱柱

5.1 保存方法

请参阅 4.9 和 4.10 小节。

5.2 保存温度

建议将色谱柱在 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。

5.3 暴露于阳光直射

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. 溶剂

6.1 替换溶剂

SW 系列色谱柱出厂溶剂为含有 0.05 %叠氮化钠和 0.1 mol/L Na_2SO_4 的 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲溶液 (pH6.7)。请按表 1 中所示的流速用适当的溶剂替换该溶剂。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。

6.2 选择溶剂

选择溶剂时，务必要考虑色谱柱的稳定性、样品的溶解度以及如何消除样品与填料之间的相互反应。

6.2.1 pH 值范围

由于 SW 系列色谱柱是硅胶基质的，因此在高 pH 值下会逐渐溶解。另外，不锈钢材质的柱管以及硅胶基质本身的稳定性，又会限制在低 pH 值条件下使用。因此，建议在 pH 值 2.5-7.5 之间使用。

6.2.2 盐溶液和缓冲溶液

SW 系列色谱柱在盐溶液或缓冲溶液中稳定。理想状态下，在 GFC 中，样品仅会根据分子大小进行分离，不会与填料发生反应。由于大多数样品具有离子性，因此一般都会使用盐溶液或缓冲溶液进行测量，从而抑制样品与填料之间的相互反应。

表 2 典型的缓冲溶液和水溶液

磷酸盐缓冲液，Tris-醋酸缓冲液，柠檬酸盐缓冲液，醋酸盐缓冲液，硫酸钠水溶液，醋酸铵水溶液，磷酸二氢钾水溶液，甲酸铵水溶液。

水溶液的盐浓度一般应该保持在 0.5 mol/L 以下，防止粘度上升（盐增多引起）和沉淀（温度变化引起）。另外，使用不锈钢色谱柱时，为了延长色谱柱的寿命，应尽量避免接触卤离子。

6.2.3 有机溶剂

SW 系列色谱柱不仅可以使用水溶液，如上文提到的溶液，而且还可以使用水溶性有机溶剂，如甲醇或乙腈的水溶液。但是，设定流速时，必须将溶剂的粘度作为一个重要的因素进行充分考量。含有机溶剂的水溶液来更换出厂溶剂（磷酸盐缓冲液）时，请先使用纯水替换出厂溶剂，然后再使用含有有机溶剂的水溶液来更换纯水。若要更改溶液中有机溶剂的浓度，请降低流速，最好使用梯度逐渐改变有机溶剂的浓度。有机溶剂的浓度发生剧烈变化时，可能会降低色谱柱的效率。向含有有机溶剂的水溶液中添加盐时，请注意防止盐析。

6.2.4 增溶剂和蛋白质变性剂

SW 系列色谱柱可以使用含有增溶剂或蛋白质变性剂，如 SDS、盐酸胍或尿素的水溶液。这些溶液在分析水溶液中溶解度较差的膜蛋白质等样品时非常有效。但是使用这种溶液时，比常用的水溶液更易降低色谱柱的寿命，所以色谱柱最好专柱专用。另外，蛋白质在变性条件下分子大小比变性前更大，所以要注意选好色谱柱的规格。

6.3 清除不溶物

溶剂中出现不溶物时，会导致压力升高（由色谱柱过滤器发生堵塞引起）或柱头塌陷（色谱柱进口侧出现空隙的现象）等问题。为防止这些问题，应对溶液进行过滤。可以通过微孔过滤膜（例如，0.45 μm 孔径）过滤溶剂，或在泵的吸液侧或出液侧安装在线过滤器进行溶剂的过滤。

6.4 脱气

替换溶剂时可能会产生气泡（尤其是切换至含有有机溶剂的系统时）。使用前，应将溶剂充分脱气，防止形成气泡。

7. 流速

7.1 选择流速

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，流速越低，更有利于提高分辨率，尤其是在分析大分子时，如蛋白质。另外，较低的流速也有利于延长色谱柱的寿命，防止柱头塌陷。

7.2 推荐流速

SW 系列色谱柱的推荐流速见表 3。使用色谱柱时，请勿超过表 3 中限定的最大流速和压降。

注：在串联使用玻璃色谱柱时，柱头的压力应低于 3.0 MPa，防止损坏色谱柱和末端接头发生填料泄漏。

表 3 推荐流速

色谱柱类型	尺寸 mm (ID) × cm (L)	推荐流速 (mL/min)	最大流速 (mL/min)	最大压降/ 单根色谱柱 (MPa)				
				柱长				
				30 cm	60 cm			
〈不锈钢〉 SuperSW2000 SuperSW3000 G2000SW _{XL} G3000SW _{XL} G4000SW _{XL} G2000SW G3000SW G4000SW G2000SW G3000SW G4000SW	4.6×30	0.10~0.35	0.40	12.0				
				7.8×30	0.5~1.0	1.2	7.0	
							7.0	
	3.5							
	7.5×60,60	0.5~1.0	1.2	2.0	4.0			
				2.5	5.0			
				1.5	3.0			
	21.5×30,60	3.0~6.0	8.0	1.0	2.0			
				1.5	3.0			
				1.0	2.0			
〈玻璃〉 G2000SW G3000SW G4000SW G3000SW	8.0×30	0.4~0.8	0.8	2.0				
				2.0				
				2.0				
	20.0×30	4.0~6.0	8.0	0.8				

注：缓冲液或水溶液的粘度与出厂溶剂（含 0.05 %叠氮化钠和 0.1 mol/L Na₂SO₄ 的 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲溶液）的粘度相似时，可以设置这些流速。

7.3 溶剂的粘度

溶剂的粘度越低，可以使用的流速越高。如果使用的溶剂粘度较高，请降低流速。使用水-醇混合溶剂、盐酸胍或尿素水溶液时，请选择较低的流速。

8. 使用和保存温度

8.1 使用温度

SW 系列色谱柱的最佳使用温度为 10~30 °C。低于 10 °C 时，请使用较低的流速保护色谱柱。

8.2 保存温度

请在室温下保存色谱柱。由于色谱柱内的溶剂在 4 °C 以下可能会凝固，因此请勿在 4 °C 以下保存色谱柱。

9. 准备样品溶液

9.1 样品溶液

请用流动相稀释或溶解样品。

9.2 清除不溶物

不论是使用离心过滤法，还是使用推荐的微孔过滤法（例如，0.45 μm 孔径），请务必对样品溶液进行过滤。即使在样品溶液中看不到任何杂质，也可能存在不溶物。

9.3 样品溶液的成分

请将样品溶液的 pH 值以及盐和有机溶剂的浓度尽可能配制得与洗脱液一致。尤其是样品的进样量较大时，这一步非常重要。如果样品溶液与洗脱液混合时会产生不溶物，则不应使用该样品溶液去进样分析。

10. 柱效

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

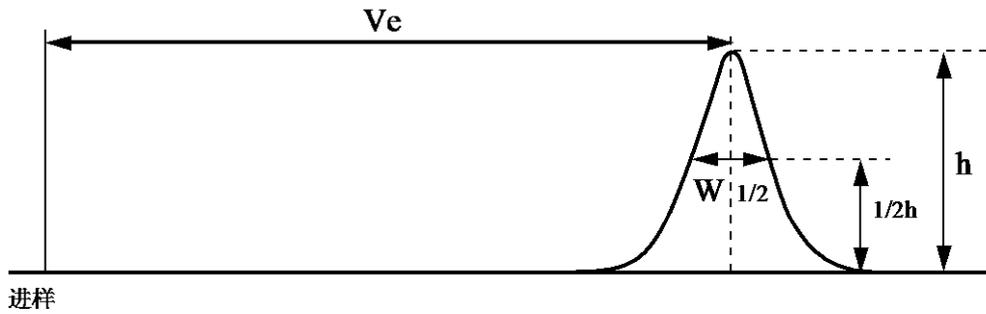


图 4 理论塔板数的计算方法

如图 4 中所示，通过半峰宽法计算色谱柱的理论塔板数。

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

Ve : 洗脱液体积 (分钟)

W_{1/2} : 半峰宽 (分钟)

H : 峰高

10.2 不对称因子的计算方法

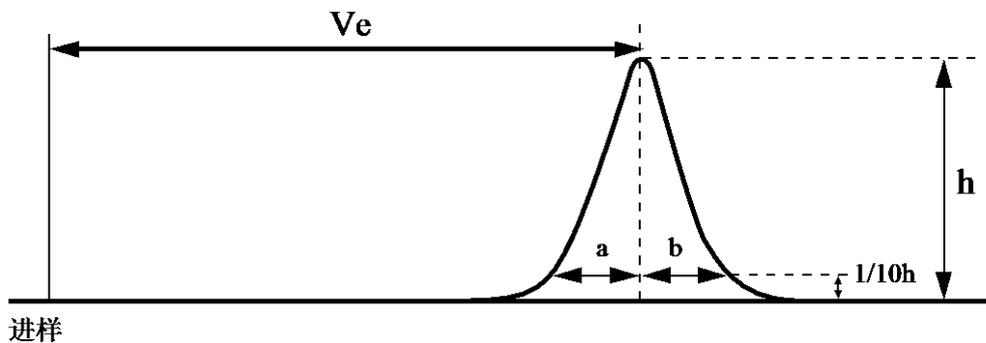


图 5 不对称因子的计算方法

通过峰高 10 %处计算色谱柱的不对称因子 (As)。

$$As=b/a$$

10.3 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。

11. 保护柱

第 4~9 节概括了主要问题的应对方法。但是，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。但是，不可将保护柱用于分析。安装保护柱后，不会增加分辨率。使用保护柱只是为了防止问题的发生。

11.1 安装保护柱的效果

- 1) 通过清除吸附物，可以防止污染分析柱。
- 2) 通过清除不溶物，可以保护分析柱。
- 3) 防止泵脉动引起的色谱柱柱头塌陷。

11.2 保护柱的种类和选择

保护柱的具体规格如表 4 所示。

表 4 保护柱

货号	产品名称	尺寸 mm (ID) × cm (L)	对应的色谱柱 mm (ID) × cm (L)
08543	TSKguardcolumn SW _{XL}	6.0×4.0	SW _{XL} 系列不锈钢柱 (7.8×30)
05371	TSKguardcolumn SW	7.5×7.5	SW 系列不锈钢柱 (7.5×30, 7.5×60)
05758	TSKguardcolumn SW	21.5×7.5	SW 系列不锈钢柱 (21.5×30, 21.5×60)
18762	TSKguardcolumn SuperSW	4.6×3.5	SuperSW 系列不锈钢柱 (4.6×30)
08805	TSKguardcolumn SW Glass	8.0×4.0	SW 系列玻璃柱 (8.0×30)
14465	TSKguardcolumn SW Glass	20.0×4.0	SW 系列玻璃柱 (20.0×30)

11.3 更换保护柱

由于保护柱的吸附量有限，其寿命也比较短。必须在分析柱受到污染之前，更换保护柱。由于更换保护柱涉及到多种因素，如使用目的（分析或初步分离）、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，如果测量数据发生异常，应立即更换保护柱。

12. 故障排除

使用 TSKgel 色谱柱时，按照以下说明可以避免大部分问题的发生。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。

12.1 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，则必须替换新的接头。

12.2 替换末端接头

准备一个新的末端接头，并从色谱柱上取下旧的末端接头。注意不要碰到填料表面。如果发现柱头发生塌陷，该处空间应按照 12.3 节的说明使用 TSKtop-off gel 填充。然后，请参照 4.4 节清除进口侧的空气。

12.3 柱头塌陷

压力上升过快、使用的流速大于设定的限值、脉动式进液、频繁替换溶剂等都会引发柱头塌陷。柱头塌陷会剧烈降低理论塔板数（N）（这类色谱柱的塔板数一般只有普通色谱柱的 70 % 以下），而且比较容易导致拖尾峰。发生此类现象时，请从色谱柱的进口侧取下末端接头，如果发现空隙，请用 TSKtop-off gel 填充。此时，特别是玻璃色谱柱，必须使用扭矩扳手以 2.9 N·m 的力道拧紧末端接头。这样，应该可以恢复到更高的分离度。如果由于某些特殊原因，使用该方法无法恢复分离度，请替换为新的色谱柱。

表 5 TSKtop-off gel

货号	产品名称	包装
08544	TSKtop-off gel SW _{XL}	1 mL
06819	TSKtop-off gel SW	1 mL

注：出厂时使用的溶剂为 0.05 % 的叠氮化钠水溶液。

12.4 色谱柱杂质吸附严重

长时间重复使用色谱柱后，洗脱时间有时会发生剧烈变化。此时，选择其他溶剂清洗色谱柱比较有效。

以下为几种典型的清洗方法。

1) 离子性吸附（清除离子性杂质）

通过提高清洗液的盐浓度（通常 0.5 mol/L）进行过柱清洗。

使用酸性水溶液，如磷酸盐缓冲液（pH 2.5）过柱清洗。

2) 疏水性吸附（清除疏水性杂质）

在清洗液中添加甲醇、乙腈（10-20 %）等水溶性有机溶剂进行过柱清洗。

本法请注意缓冲液中盐的析出。

3) 氢键吸附（清除难溶的蛋白质或其他物质）

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、Brij 等）后进行过柱清洗。但需要注意尿素及表面活性剂的柱中残留。

注：色谱柱的清洗方法非常重要，而且经常替换溶剂可能会老化色谱柱。因此，应仅在必要的情况下清洗柱子。一般来说，清洗时间可选择为过柱 5-10 个柱体积便可。在吸附成分其吸附力极强时，即使进行过清洗，柱性能也有可能得不到恢复。另外，请充分考虑清洗液的 pH 值，以避免损坏色谱柱。

13. 质量标准和质量保证

13.1 检测报告

色谱柱包装中的检测报告记录了每根色谱柱的出厂检测结果。

在检测报告中，N 表示色谱柱实际长度算出的理论塔板数。

检测条件如下：

13.1.1 检测和运输时使用的溶剂

0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液 (0.05 mol/L Na₂HPO₄ + 0.05 mol/L NaH₂PO₄) + 0.1 mol/L Na₂SO₄ + 0.05 % NaN₃ (pH 6.7)

13.1.2 流速和色谱柱内径

材质	流速 (mL/min)	内径 (mm)
不锈钢色谱柱	0.35	4.6
	1.0	7.5 & 7.8
	6.0	21.5
玻璃色谱柱	0.8	8.0
	6.0	20.0

13.1.3 样品以及样品配制浓度

表 6 检测用样品

色谱柱		浓度
TSKgel G2000SW (XL), SuperSW2000	甲状腺球蛋白 (Bovine type I)	0.2 g/L
	白蛋白 (Bovine Serum)	1.0
	核糖核酸酶 A (Bovine Pancreas)	1.0
	对氨基苯甲酸	0.01
TSKgel G3000SW (XL), SuperSW3000	甲状腺球蛋白 (Bovine type I)	0.5 g/L
	γ-球蛋白 (Bovine Cohn Fraction II)	1.0
	卵白蛋白	1.0
	核糖核酸酶 A (Bovine Pancreas)	1.5
	对氨基苯甲酸	0.01
TSKgel G4000SW (XL)	甲状腺球蛋白 (Bovine type I)	1.0 g/L
	铁蛋白 (Horse Spleen)	2.0
	卵白蛋白	1.0
	对氨基苯甲酸	0.01

13.1.4 样品进样量和色谱柱内径

材质	进样量 (μL)	内径 (mm)
不锈钢色谱柱	5	4.6
	20	7.5&7.8
	200	21.5
玻璃色谱柱	20	8.0
	200	20.0

13.1.5 检测器: UV-8000, UV-8020 (SuperSW 用) (东曹株式会社制造)

波长 (280 nm)

13.1.6 测量温度: 室温

13.2 质量标准

SW 系列色谱柱的出厂标准见表 7。

表 7

产品名称	货号	尺寸 mm (ID) × cm (L)	理论 塔板数	不对称 因子
〈不锈钢〉				
TSKgel SuperSW2000	18674	4.6×30	30,000	0.7~1.6
TSKgel SuperSW3000	18675		30,000	
TSKgel G2000SW _{XL}	08540	7.8×30	≧ 20,000	0.7~1.6
TSKgel G3000SW _{XL}	08541		≧ 20,000	
TSKgel G4000SW _{XL}	08542		≧ 16,000	
TSKgel G2000SW	05788	7.5×30	≧ 10,000	0.7~1.6
TSKgel G3000SW	05789		≧ 10,000	
TSKgel G4000SW	05790		≧ 8,000	
TSKgel G2000SW	05102	7.5×60	≧ 20,000	0.7~1.6
TSKgel G3000SW	05103		≧ 20,000	
TSKgel G4000SW	05104		≧ 16,000	
TSKgel G2000SW	06727	21.5×30	≧ 10,000	0.7~1.6
TSKgel G3000SW	06728		≧ 10,000	
TSKgel G4000SW	06729		≧ 8,000	
TSKgel G2000SW	05146	21.5×60	≧ 20,000	0.7~1.6
TSKgel G3000SW	05147		≧ 20,000	
TSKgel G4000SW	05148		≧ 16,000	
〈玻璃〉				
TSKgel G2000SW Glass	08799	8.0×30	≧ 10,000	0.7~1.6
TSKgel G3000SW Glass	08800		≧ 10,000	
TSKgel G4000SW Glass	08801		≧ 8,000	
TSKgel G3000SW Glass	14464	20.0×30	≧ 6,000	0.7~1.6

13.3 质量保证

收到产品后，请立即根据 13.1 节的内容确认色谱柱的外观并检查其性能。如果产品无法达到表 7 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。