

离子交换色谱柱
TSKgel IEC 系列

使用说明书





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

■ 请妥善保管本说明书，以便日后参阅。

目 录

1. 简介	1
2. 应用范围	2
3. 打开包装	3
4. 色谱柱部件	3
5. 安装和安全注意事项	3
6. 保存色谱柱	5
7. 溶剂	6
8. 使用前	8
9. 操作温度	9
10. 准备样品溶液	9
11. 柱效测定	10
12. 保护柱	11
13. 故障排除	12
14. 质量标准和质量保证	13

1. 简介

TSKgel IEC 系列是东曹株式会社设计开发的专门用于离子交换色谱分析的高性能色谱柱。该类色谱柱适用于各类生物大分子，如蛋白质和核酸等的分析或制备。具体规格如表 1 所示。

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。

表 1 TSKgel IEC 系列色谱柱

产品名称	粒径 (μm)	官能团和对离子	色谱柱尺寸 mm (I.D.) \times cm (L)	基质
TSKgel SCX	5	$-\text{SO}_3^- \text{Na}^+$	6.0 \times 15	聚苯乙烯 (TSKgel G2000H)
TSKgel SAX	5	$-\text{SO}_3^- \text{H}^+$	7.8 \times 30	
	5	$-\text{N}(\text{CH}_3)_3^+ \text{Cl}^-$	6.0 \times 15	
TSKgel CM-2SW	5	$-\text{CH}_2\text{COO}^- \text{Na}^+$	4.6 \times 25	硅胶 (TSKgel G2000SW)
TSKgel SP-2SW	10	$-\text{C}_3\text{H}_6-\text{SO}_3^- \text{Na}^+$	7.8 \times 30	
	5		4.6 \times 25	
TSKgel DEAE-2SW	5	$-\text{C}_2\text{H}_4\text{N}^+(\text{C}_2\text{H}_5)_2 \text{HCl}^-$	4.6 \times 25	
TSKgel CM-3SW	10	$-\text{CH}_2\text{COO}^- \text{Na}^+$	7.8 \times 30	硅胶 (TSKgel G3000SW)
	10		$-\text{C}_2\text{H}_4\text{N}^+(\text{C}_2\text{H}_5)_2 \text{HCl}^-$	
TSKgel DEAE-3SW	10	$-\text{C}_2\text{H}_4\text{N}^+(\text{C}_2\text{H}_5)_2 \text{HCl}^-$	7.5 \times 7.5	
TSKgel SP-5PW	10	$-\text{C}_3\text{H}_6-\text{SO}_3^- \text{Na}^+$	7.5 \times 7.5	亲水性聚合物 (TSKgel G5000PW)
TSKgel DEAE-5PW	13	$-\text{C}_2\text{H}_4\text{N}^+(\text{C}_2\text{H}_5)_2 \text{HCl}^-$	21.5 \times 15	
	10		7.5 \times 7.5	
TSKgel CM-5PW	13	$-\text{CH}_2\text{COO}^- \text{Na}^+$	21.5 \times 15	
	10		7.5 \times 7.5	
	13		21.5 \times 15	

2. 应用范围

TSKgel IEC 系列色谱柱的一般应用范围请参见表 2。

TSKgel SCX 和 TSKgel SAX 主要用于小分子离子化合物的分离, TSKgel CM-3SW、DEAE-3SW、SP-5PW、CM-5PW 及 DEAE-5PW 主要用于分离生物大分子, 如蛋白质和核酸。其他硅胶基质的产品同时适用于小分子和大分子化合物。

表 2 应用范围

产品名称	应用样品
TSKgel SCX (6.0×15)	氨基酸、多胺、核苷、多肽
TSKgel SAX	羧酸
TSKgel SCX (7.8×30)	糖类、有机酸
TSKgel CM-2SW	儿茶酚胺、色氨酸代谢物、多肽
TSKgel SP-2SW	儿茶酚胺、色氨酸代谢物、多肽
TSKgel DEAE-2SW	核苷、尿液中的有机酸、胆汁酸
TSKgel CM-3SW	碱性蛋白质、中性蛋白质
TSKgel DEAE-3SW	酸性蛋白质、中性蛋白质、核酸
TSKgel SP-5PW	碱性蛋白质、中性蛋白质
TSKgel DEAE-5PW	酸性蛋白质、中性蛋白质、核酸
TSKgel CM-5PW	碱性蛋白质、中性蛋白质

3. 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

4. 色谱柱部件

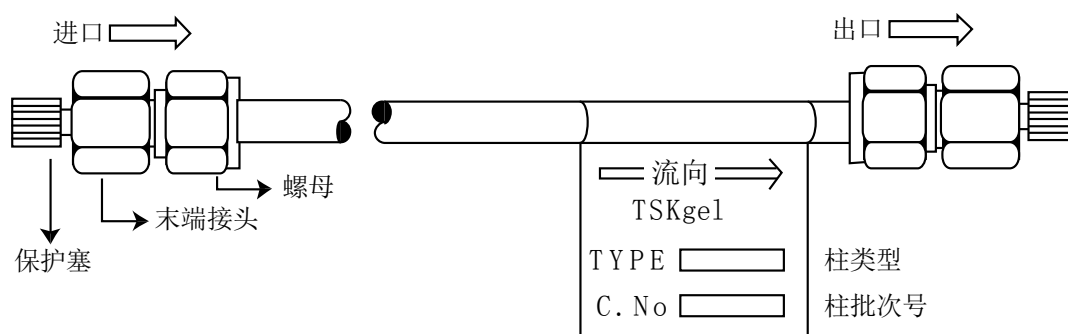


图 2 色谱柱部件

5. 安装和 safety 注意事项

5-1 连接

所有的连接方式都是内锁型，且采用英寸为单位进行测定。

5-2 进液方向

请按图 2 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。

5-3 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。

5-4 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。请使用低于表 3 中的流速缓慢地注入溶剂。

有机溶剂的浓度或溶剂的进液速度发生剧烈变化时，可能会降低色谱柱的柱效。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。

表 3 替换溶剂的推荐流速

色谱柱尺寸 mm (I.D.) × cm (L)	流速 (mL/min)
4.6×25	0.4
6.0×15	0.6
7.5×7.5	0.5
7.8×30	0.6*
7.8×30	1.5**
21.5×15	3.0

*适用于聚苯乙烯基质的填料

**适用于硅胶基质的填料

5-5 测定之前

安装色谱柱后，即可开始测定。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。

5-6 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。

5-7 高温条件下测定

不要在测定结束后，立刻停泵。请继续注入溶剂，直至柱温降至室温为止。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。

5-8 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。

5-9 短期保存

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。

5-10 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，请使用超纯水按表 3 所示的流速替换色谱柱中的溶剂。如果使用的是硅胶基质的产品，请使用甲醇替换超纯水。然后从设备上取下色谱柱，并使用保护塞封住色谱柱的末端。

6. 保存色谱柱

6-1 保存方法

请参阅 5-9 和 5-10 节。

6-2 保存温度

请在室温下保存色谱柱。请勿将色谱柱保存在 4℃ 或 4℃ 以下的冰箱中，以免冷冻色谱柱内的溶剂。

6-3 暴露于阳光直射

请勿将色谱柱直接暴露在阳光下。

6-4 腐蚀性气体

色谱柱的保存位置应避免腐蚀性气体。

7. 溶剂

7-1 替换溶剂

色谱柱的出厂溶剂如表 4 所示。

表 4 出厂溶剂

产品名称	溶剂
TSKgel SCX TSKgel SAX TSKgel DEAE-5PW TSKgel SP-5PW TSKgel CM-5PW	超纯水
TSKgel DEAE-2SW, 3SW TSKgel SP-2SW TSKgel CM-2SW, 3SW	甲醇

如果出厂溶剂是甲醇，请先使用超纯水替换甲醇，然后使用分析用溶剂替换超纯水。替换溶剂时使用的流速必须低于表 3 中所示的流速。

TSKgel SCX、SAX、SP-5PW、CM-5PW 及 DEAE-5PW 容易受到有机溶剂的影响而发生膨胀或收缩，请避免频繁替换溶剂。

7-2 pH 值范围

确保 pH 值在以下范围内：

IEC H 系列和 IEC PW 系列 2.0~12.0

IEC SW 系列 2.0~7.5

pH 值的范围由填料和色谱柱自身的稳定性决定。pH 值低于 2.0 时，硅胶基质的键合相会受到侵蚀；高于 7.5 时，硅胶基质会溶解，导致色谱柱发生故障。

另外，低 pH 值条件下，不锈钢色谱柱会发生腐蚀。从腐蚀性的角度看，特别是在低 pH 值条件下使用卤化物是危险的。

7-3 选择对离子

因为对离子与离子交换柱中的填料亲和性不同，所以会对分辨率产生影响。常用对离子的保留顺序如下：阴离子交换时，柠檬酸盐 > SO_4^{2-} > PO_4^{3-} > Cl^- > 甲酸盐 > 醋酸盐 > OH^- ；阳离子交换时， K^+ > NH_4^+ > Na^+ > Li^+ > H^+ 。

虽然 Cl 离子是最常见的离子，但是从保护色谱柱的角度，应尽量避免使用 Cl 离子。

7-4 离子强度

在离子交换分析中，通常使用离子强度梯度法来洗脱样品。IEC SW 系列和 IEC PW 系列色谱柱分离蛋白质时通常使用的离子强度范围如下：平衡缓冲液的离子强度为 0.05~0.1 mol/L，洗脱缓冲液的离子强度为 0.2~0.5 mol/L。通常使用氯化物、硫酸盐或醋酸盐来调节缓冲液的离子强度。

7-5 有机溶剂

有机溶剂的水溶液经常作为变性剂使用，以减少样品分子和填料之间的疏水反应。有机变性剂的浓度范围：

IEC SW 系列：30 % 以下

IEC PW 系列：20 % 以下

IEC H 系列：20 % 以下

有机变性剂应事先溶于缓冲溶液，确保没有盐沉淀。

7-6 表面活性剂或变性剂

IEC SW 系列和 IEC PW 系列色谱柱可以使用含有表面活性剂的溶剂分离生物大分子，如蛋白质和多肽。

7-7 过滤

请使用微孔过滤器（0.5 μm ）过滤溶剂，防止堵塞柱头。

7-8 脱气

请对溶剂进行脱气，确保溶剂可以顺畅地注入到色谱柱中。

8. 流速

8-1 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，柱效越好。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。

推荐流速如表 5 所示。使用色谱柱时，请勿超过表 5 中限定的最大流速和压降。

表 5 推荐流速

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 (MPa)
TSKgel SCX TSKgel SAX	6.0×15	0.5-1.0	1.2	15
TSKgel SCX	7.8×30	0.5-1.0	1.2	7
TSKgel SP-2SW TSKgel CM-2SW TSKgel DEAE-2SW	4.6×25	0.6-0.8	1.0	15
TSKgel CM-3SW TSKgel DEAE-3SW	7.5×7.5	0.5-1.0	1.2	2.5
TSKgel SP-5PW TSKgel DEAE-5PW TSKgel CM-5PW	7.5×7.5	0.5-1.0	1.2	1.5
TSKgel CM-2SW TSKgel DEAE-2SW	7.8×30	1.0-2.0	3.0	6
TSKgel SP-5PW TSKgel DEAE-5PW TSKgel CM-5PW	21.5×15	4.0-6.0	8.0	2.5

9. 操作温度

分析或制备时，色谱柱的最佳使用温度为 10~45 °C。低于 10 °C 时，请使用较低的流速保护色谱柱。

10. 准备样品溶液

10-1 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平衡溶液一致。尤其是样品的进样量较大时，这一步非常重要。如果样品溶液与平衡溶液混合时会产生不溶物，则不应使用该样品溶液。

10-2 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。

11. 柱效测定

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。

11-1 理论塔板数的计算方法

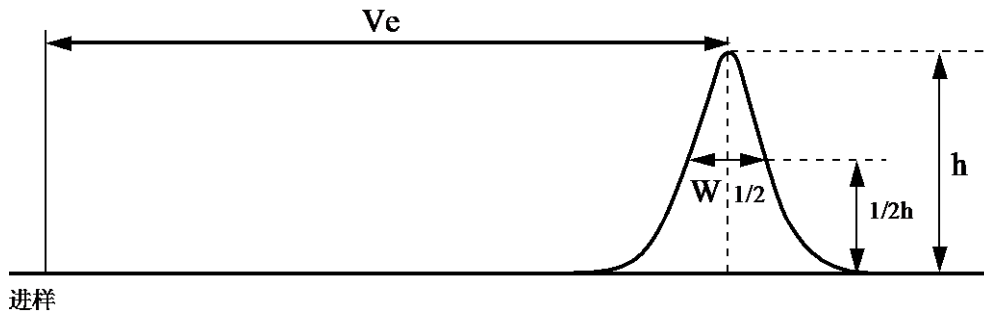


图 3 理论塔板数的计算方法

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

$W_{1/2}$: 半峰宽

h : 峰高

11-2 不对称因子的计算方法

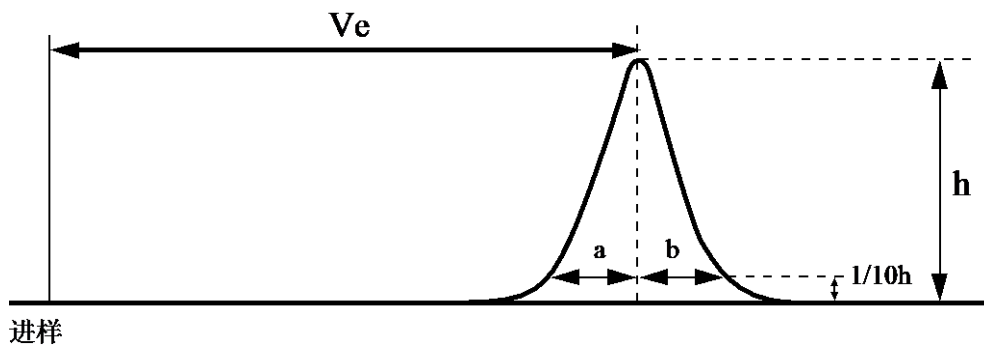


图 4 不对称因子的计算方法

通过 1/10 h 法计算色谱柱的不对称因子 (As)。

$$As=b/a$$

11-3 死体积

如果仪器的死体积或样品的进样量过大，则理论塔板数可能会降低。

12. 保护柱

第 5~10 节概括了主要问题的应对方法。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 IEC 系列色谱柱对应的保护柱请见表 6。

请参阅 TSKguardgel HPLC 的《使用说明书》。

表 6 保护柱信息

货号	产品名称	对应的色谱柱 mm (I.D.) × cm (L)
07210	TSKguardgel DEAE-5PW Kit	TSKgel DEAE-5PW (7.5×7.5)
07211	TSKguardgel SP-5PW Kit	TSKgel SP-5PW (7.5×7.5)
13069	TSKguardgel CM-5PW Kit	TSKgel CM-5PW (7.5×7.5)
07644	TSKguardgel SP-SW Kit	TSKgel SP-2SW (4.6×25)
07646	TSKguardgel QAE-SW Kit	TSKgel QAE-2SW (4.6×25)
07648	TSKguardgel DEAE-SW Kit	TSKgel DEAE-2SW (4.6×25) TSKgel DEAE-3SW (7.8×30) TSKgel DEAE-3SW (7.5×7.5)
07650	TSKguardgel CM-SW Kit	TSKgel CM-2SW (4.6×25) TSKgel CM-3SW (7.8×30) TSKgel CM-3SW (7.5×7.5)

13. 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。

13-1 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。

13-2 污染

长时间使用复杂的样品操作色谱柱，可能会逐渐聚集大量的强离子化合物或疏水性化合物。这会导致色谱分析行为出现异常。使用至少以下一种溶剂进行冲洗，可以清除色谱柱上吸附的杂质。此时，使用的流速必须低于表 5 中所示的流速。

1) 对于 IEC-SW 系列

- a) 高盐浓度的缓冲液（0.5 mol/L~1.0 mol/L）；
- b) 低 pH 值的缓冲溶液（pH 2~3）；
- c) 含有有机溶剂如甲醇、乙腈的缓冲液；
- d) 含有增溶剂如尿素和非离子性表面活性剂的缓冲液。

2) 对于 IEC-PW 系列（TSKgel SP-5PW、CM-5PW 和 DEAE-5PW）

- a) 0.1~0.2 mol/L NaOH（进样清洗；100 uL，3-5 针）；
- b) 20~40 vol. % 乙酸（进样清洗；100 uL，3-5 针）；
- c) 含有有机溶剂如甲醇、乙腈的缓冲液；
- d) 含有增溶剂如尿素和非离子性表面活性剂的缓冲液。

14. 质量标准和质量保证

14-1 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：

①流动相：	SCX	-	H ₂ O
	SAX	-	H ₂ O
	SP-2SW	-	0.05 mol/L 磷酸缓冲液 (pH 3.0) + 8.6 % CH ₃ CN
	CM-2SW	-	0.2 mol/L 醋酸缓冲液 (pH 5.0) + 15 % CH ₃ CN
	CM-3SW	-	0.2 mol/L 醋酸缓冲液 (pH 5.0) + 15 % CH ₃ CN
	QAE-2SW	-	1 / 15 mol/L 磷酸缓冲液 (pH 6.4)
	DEAE-2SW	-	1 / 15 mol/L 磷酸缓冲液 (pH 6.4)
	DEAE-3SW	-	1 / 15 mol/L 磷酸缓冲液 (pH 6.4)
	DEAE-5PW	-	0.02 mol/L Tris-HCl 缓冲液 + 0.035 mol/L NaCl (pH 8.0)
	SP-5PW	-	0.08 mol/L 磷酸缓冲液 (pH 3.5)
	CM-5PW	-	0.01 mol/L 醋酸缓冲液 (pH 4.5)

②上样体积：20 μL (21.5 mm I.D.色谱柱除外)

100 μL (21.5 mm I.D.色谱柱)

③其他条件

产品名称	色谱柱尺寸 mm (I.D.) × cm (L)	样品 (mg/mL)	流速 (mL/min)	检测器
TSKgel SCX	6.0×15	乙二醇 2.0	1.0	RI
	7.8×30	同上 10.0	1.0	RI
TSKgel SAX	6.0×15	乙二醇 2.0	1.0	RI
TSKgel SP-2SW	4.6×25	多巴胺 0.1	0.9	UV280 nm
TSKgel CM-2SW	4.6×25	色胺盐酸盐 0.1	0.9	UV280 nm
	7.8×30	同上 0.2	2.0	UV280 nm
TSKgel DEAE-2SW	4.6×25	尿酸 0.1	0.9	UV254 nm
	7.8×30	同上 0.2	2.0	UV254 nm
TSKgel CM-3SW	7.5×7.5	色胺盐酸盐 0.1	1.0	UV280 nm
TSKgel DEAE-3SW	7.5×7.5	尿酸 0.1	1.0	UV254 nm
TSKgel SP-5PW	7.5×7.5	胞苷 0.1	1.0	UV254 nm
	21.5×15	同上	6.0	UV254 nm
TSKgel CM-5PW	7.5×7.5	胞苷 0.1	1.0	UV254 nm
	21.5×15	同上	6.0	UV254 nm
TSKgel DEAE-5PW	7.5×7.5	5'-单磷酸胞苷 0.1	1.0	UV254 nm
	21.5×15	同上	6.0	UV254 nm

14-2 质量标准

表 7 质量标准

货号	产品名称	色谱柱尺寸 mm (I.D.) × cm (L)	理论塔板数 (TP/Column)	不对称因子 (As)
07156 07157	TSKgel SCX TSKgel SAX	6.0×15	2,000	0.8-1.6
07158	TSKgel SCX	7.8×30	6,000	
07165 07167 07168	TSKgel SP-2SW TSKgel CM-2SW TSKgel DEAE-2SW	4.6×25	5,000	
07162 07163	TSKgel CM-3SW TSKgel DEAE-3SW	7.5×7.5	1,300	
07161 07164 13068	TSKgel SP-5PW TSKgel DEAE-5PW TSKgel CM-5PW	7.5×7.5	1,300	
07169 07170	TSKgel CM-2SW TSKgel DEAE-2SW	7.8×30	5,000	
07575 07574	TSKgel SP-5PW TSKgel DEAE-5PW	21.5×15	3,000	
14021	TSKgel CM-5PW	21.5×15	2,500	

14-3 质量保证

收到产品后，请立即确认色谱柱的外观并检查其性能。如果产品无法达到表 7 中所记载的性能或产品在运输途中出现了损坏，请在两周内联系东曹销售代表。东曹将会免费更换产品。未经许可，禁止将任何色谱柱寄回东曹（上海）生物科技有限公司。

本书中的内容如有更改，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内容。

本书中的内容如有更改, 恕不另行通知。