

TSKgel SuperSW 系列色谱柱

目录

1. 简介	2
2. 特点	2
3. 基本特性	6
4. 应用	11
5. 总结	12



TOSOH BIOSCIENCE

TOSOH

1. 简介

由于分析速度快,易于使用以及灵敏度高,高效液相色谱被广泛用作生物大分子领域的分离/纯化方法。尤其是,基于分子尺寸的分离模式,即大家熟知的尺寸排阻色谱(SEC),由于高效且对蛋白的流动相条件温和,已经用作蛋白质分离/纯化的首选方法。在具有网状结构的软填料(如葡聚糖、琼脂糖等)被用作早期的尺寸排阻色谱的填料之后,刚性更好的硅胶型填料也开始应用于高效液相色谱的尺寸排阻色谱中。

TSKgel SW系列色谱柱是一类硅胶型尺寸排阻色谱填料,孔径分布适合于蛋白质的分离,并且由于出色的分离效果,在全世界范围内均被广泛应用。

在高效液相色谱领域,人们还在不断地追求高速度与高分离度。最近,由于上样量有限和/或浓度更低,对于现在痕量分析中高灵敏度的需求也不断增长。在其它HPLC分离方法中,包括反相色谱(RPC)、正相色谱(NP)以及离子交换色谱(IEX),适用于痕量分析的半微量色谱柱已经商业化。在SEC领域,适用于痕量分析的高灵敏度、高分离度HPLC色谱柱的需求也在不断增长。

本报告阐述了TSKgel SuperSW系列色谱柱的特点、基本特性及其应用。这些色谱柱,填料颗粒比常规的TSKgel SW系列色谱柱更小,色谱柱也缩小了尺寸,可以获得高灵敏度和高分离度。

2. 特点

表1列出了TSKgel SuperSW和TSKgel SuperSW_{XL}系列色谱柱的规格。如表所示,由于TSKgel SuperSW色谱柱粒度变小,其理论塔板数大约是常规高效TSKgel SW_{XL}系列色谱柱的1.5倍。另外,表2表示TSKgel SuperSW系列色谱柱的对PEG、葡聚糖和蛋白质的分离范围。在图1和图2分别表示聚乙二醇(PEG)标准品和蛋白质标准品使用TSKgel SuperSW系列色谱柱制得的校准曲线。由于TSKgel SuperSW系列色谱柱与相应等级的常规TSKgel SW_{XL}系列色谱柱具有相同的校准曲线,因而,具有相同的分子量分离范围。通常,TSKgel SuperSW2000适合分离分子量为70,000Da或更小的蛋白质,而TSKgel SuperSW3000则适合分离分子量为70,000—300,000Da的蛋白质。

图3和图4表示在TSKgel SuperSW系列色谱柱和常规的TSKgel SW_{XL}系列色谱柱上蛋白质标准品的色谱图。分析过程使用带有微流通池的紫外检测器。相对于内径为7.8mm的TSKgel SW_{XL}色谱柱,TSKgel SuperSW色谱柱4.6mm的内径明显提升了峰高。表3表示由这些图谱计算得到的分离度(Rs)。从表中可以清楚地看到,与TSKgel SW_{XL}系列色谱柱相比,TSKgel SuperSW系列色谱柱的分离度大约为1.2倍。

图5和图6表示在分离度几乎相等的条件下TSKgel SW_{XL}系列色谱柱和TSKgel SuperSW系列色谱柱的分析时间比较。TSKgel SuperSW系列色谱柱柱效更高,相对于TSKgel SW_{XL}色谱柱,分离时间减少50%,而未损失分离度。

表1 TSKgel SuperSW系列色谱柱和TSKgel SW_{XL}系列色谱柱的规格

TSKgel 色谱柱	粒度 (μm)	色谱柱尺寸	保证的 理论塔板数
SuperSW2000	4	4.6mm ID \times 30cm	30,000
SuperSW3000	4	4.6mm ID \times 30cm	30,000
G2000SW _{XL}	5	7.8mm ID \times 30cm	20,000
G3000SW _{XL}	5	7.8mm ID \times 30cm	20,000

表2 TSKgel SuperSW系列色谱柱的分子量分离范围

	分子量分离范围	
	SuperSW2000	SuperSW3000
聚乙二醇	500- 15,000	1,000- 35,000
葡聚糖	1,000- 30,000	2,000- 70,000
蛋白质	5,000-100,000	10,000- 500,000

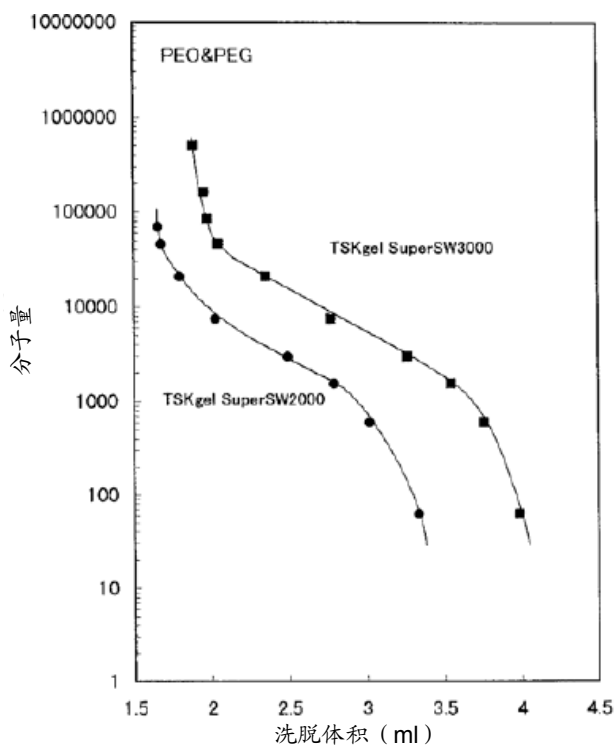


图 1 TSKgel SuperSW 系列色谱柱 PEO 和 PEG 的校准曲线

色谱柱: TSKgel SuperSW 系列色谱柱
(4.6mm ID × 30cm)
流动相: 0.05% 叠氮钠水溶液
流速: 0.35mL/min
柱温: 25°C
检测: RI
样品: PEO, PEG (5μL)

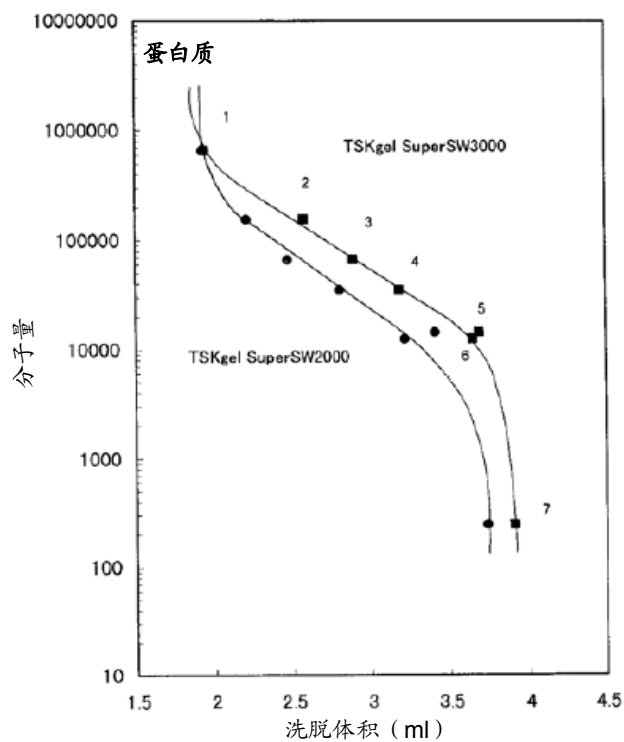


图 2 TSKgel SuperSW 系列色谱柱的蛋白质校准曲线

色谱柱: TSKgel SuperSW 系列色谱柱
(4.6mm ID × 30cm)
流动相: 0.2mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH6.7)
流速: 0.35mL/min
检测: UV@280nm
样品: 蛋白质标准品 (每种 5μL, 0.1g/L)
1. 甲状腺球蛋白
2. γ-球蛋白
3. 牛血清白蛋白
4. β-乳球蛋白 (β-lactoglobulin)
5. 溶菌酶
6. 细胞色素 C
7. 甘氨酸四聚物 (glycine tetramer)

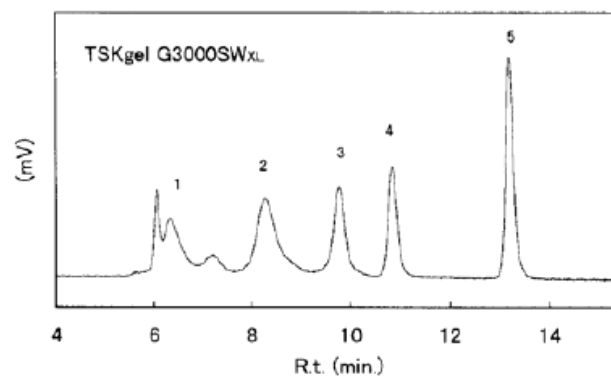
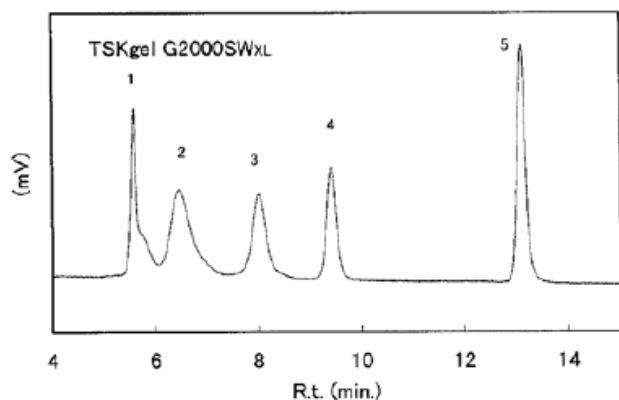
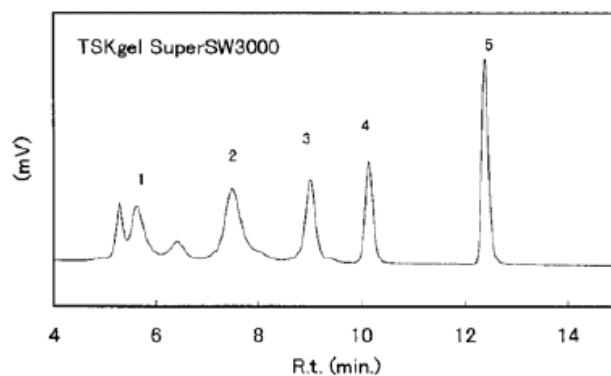
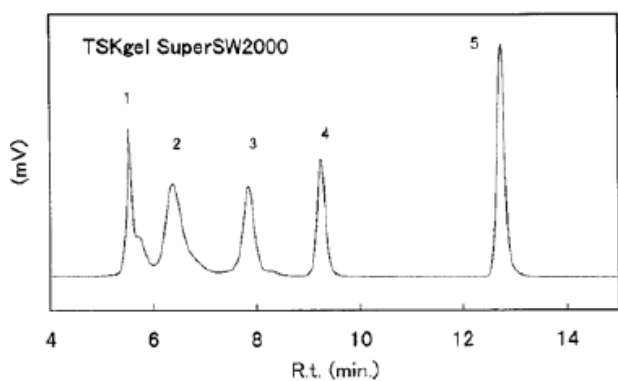


图3 TSKgel SuperSW2000 和 TSKgel G2000SW_{XL} 色谱柱的对比

色谱柱: TSKgel SuperSW2000 (4.6mm ID × 30cm)
TSKgel G2000SW_{XL} (7.8mm ID × 30cm)

流动相: 0.2mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH6.7)

流速: 0.35mL/min (TSKgel SupperSW2000)
1.0mL/min (TSKgel G2000SW_{XL})

检测: UV@280nm, 微流通池

样品: 蛋白质标准溶液 (5μL)
1. 甲状腺球蛋白 (0.5g/L)
2. γ-球蛋白 (1g/L)
3. 卵白蛋白 (1g/L)
4. 核糖核酸酶 A (1g/L)
5. 对氨基苯甲酸 (0.01g/L)

图4 TSKgel SuperSW3000 和 TSKgel G3000SW_{XL} 色谱柱的对比

色谱柱: TSKgel SuperSW3000 (4.6mm ID × 30cm)
TSKgel G3000SW_{XL} (7.8mm ID × 30cm)

分离条件与图3相同。

表3 TSKgel SuperSW 系列色谱柱与 TSKgel SW_{XL} 系列色谱柱的分离度的对比

	分离度 (Rs) *			
	SuperSW2000	G2000SW _{XL}	SuperSW3000	G3000SW _{XL}
甲状腺球蛋白				
γ-球蛋白	2.29	2.24	3.61	—
卵白蛋白	3.15	2.85	3.39	2.79
核糖核酸酶 A	4.15	3.55	3.73	2.94
对氨基苯甲酸	12.48	11.62	8.63	7.67

* 带微流通池的 UV 检测器

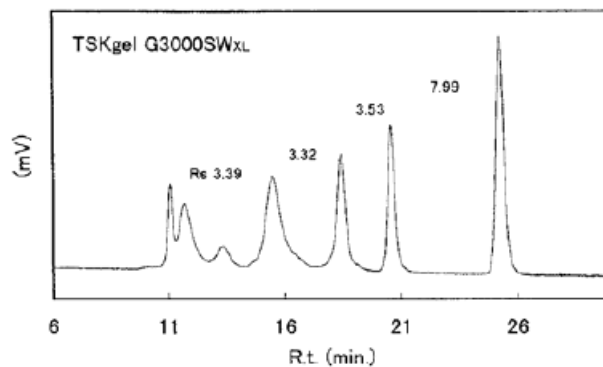
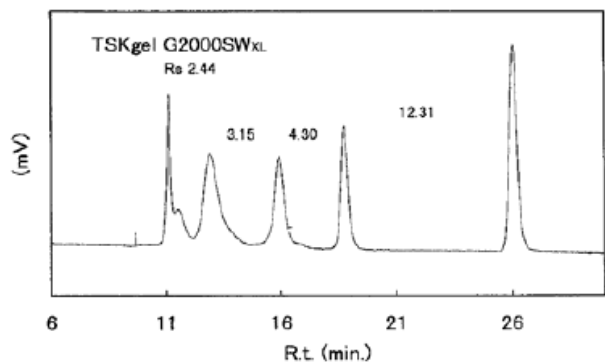
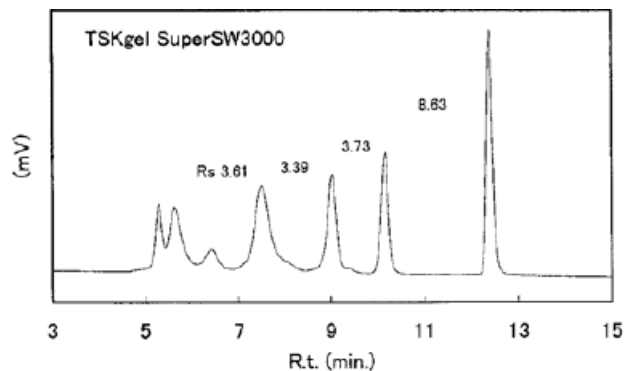
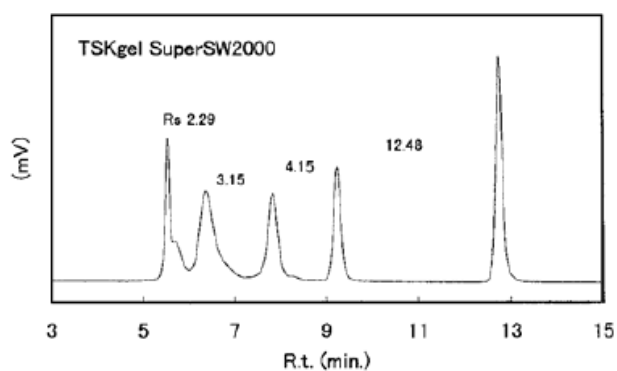


图 5 TSKgel SuperSW2000 和 TSKgel G2000SW_{XL} 色谱柱的对比
 色谱柱: TSKgel SuperSW2000 (4.6mm ID × 30cm)
 TSKgel G2000SW_{XL} (7.8mm ID × 30cm)
 洗脱液: 0.2mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH6.7)
 流速: 0.35mL/min (TSKgel SuperSW2000)
 0.50mL/min (TSKgel G2000SW_{XL})
 检测: UV@280nm, 微流通池
 样品: 蛋白质标准溶液 (5μL)
 1. 甲状腺球蛋白 (0.5g/L)
 2. γ-球蛋白 (1g/L)
 3. 卵白蛋白 (1g/L)
 4. 核糖核酸酶 A (1g/L)
 5. 对氨基苯甲酸 (0.01g/L)

图 6 TSKgel SuperSW3000 和 TSKgel G3000SW_{XL} 色谱柱的对比
 色谱柱: TSKgel SuperSW3000 (4.6mm ID × 30cm)
 TSKgel G3000SW_{XL} (7.8mm ID × 30cm)
 分离条件与图 5 相同。

3. 基本特性

3-1. 仪器的优化

虽然 TSKgel SuperSW 系列色谱柱是具有高分辨率和高灵敏度的高性能 SEC 色谱柱,但是还是有必要优化仪器,尤其是检测池和管路,以实现色谱柱性能最大化。本节阐述了仪器的优化。

在柱容积小的色谱柱中,如 TSKgel SuperSW 系列色谱柱,仪器的空隙体积对柱效具有很大的影响。应当检查下列 3 个部件,确认系统总的空隙体积已经降至最小。

- 连接管路
- 检测器流通池的体积
- 进样单元中的空隙体积

在 TSKgel SuperSW 色谱柱系列中,有必要抑制这些部件中的溶质扩散,以获得最高的柱效。

3-1-1 连接管路

图 7 中显示进样器/色谱柱和色谱柱/检测器之间管路的体积对柱效的影响。管路体积增大时,溶质在管路内的扩散增强,使柱效降低。使用 TSKgel SuperSW 系列色谱柱,当管路体积超过 10 μ L (0.1mm ID \times 150cm) 时,柱效开始降低。因此我们建议,对于 TSKgel SuperSW 系列色谱柱,进样器/色谱柱与色谱柱/检测器之间使用 0.1mm ID \times 100cm 或更短的管路。

3-1-2 检测器流通池的体积

表 4 表示检测器流通池对柱效的影响。对于小死体积型流通池(散热器被移除的标准流通池),柱效稍微降低,相对于设计死体积最小的微流通池,降低比率可以控制在 5% 内。然而,带散热器的标准流通池贡献了约 30 μ L 的空隙体积,相对于微流通池,柱效降低约 30%。

另一方面,灵敏度与光路在流通池中的长度成比例。图 8 表示使用微流通池或小死体积型流通池时的色谱图。使用光路长度为 10mm 的小死体积型流通池,与光路长度为 4mm 的微流通池相比,得到的灵敏度是后者的 2.5 倍。在 TSKgel SuperSW 色谱柱,当要求高分离度时,有必要使用微流通池;而要求高灵敏度时,有必要使用小死体积型流通池。此外,使用普通的标准流通池时,与 TSKgel SW_{XL} 系列色谱柱相比,TSKgel SuperSW 系列色谱柱的灵敏度增加了大约 3 倍。

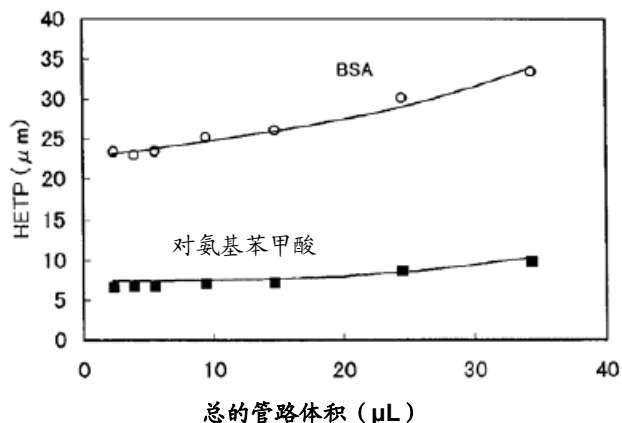


图 7 总的管路体积*对 HETP 的影响

色谱柱: TSKgel SuperSW3000 (4.6mm ID \times 30cm)
洗脱液: 0.1mol/L 磷酸缓冲液 + 0.1mol/L 硫酸钠 + 0.05%叠氮钠 (pH 6.7)
流速: 0.35mL/min
检测: UV@280nm
样品: 牛血清白蛋白、对氨基苯甲酸

* 管路体积为进样器/色谱柱与色谱柱/检测器之间的总体积。

表 4 流通池体积对柱效的影响

流通池体积	色谱柱理论塔板数 (理论塔板数降低比率)	
2 μ L (微流通池)	41,199	(0%)
10 μ L (小死体积型流通池*)	40,189	(2.5%)
30 μ L (标准流通池)	30,855	(25%)

*小死体积型流通池: 拆除散热器的标准流通池(使用内径 1mm 的管路)

色谱柱: TSKgel SuperSW3000
洗脱液: 0.2mol/L 磷酸缓冲液 (pH 6.7)
样品: 对氨基苯甲酸

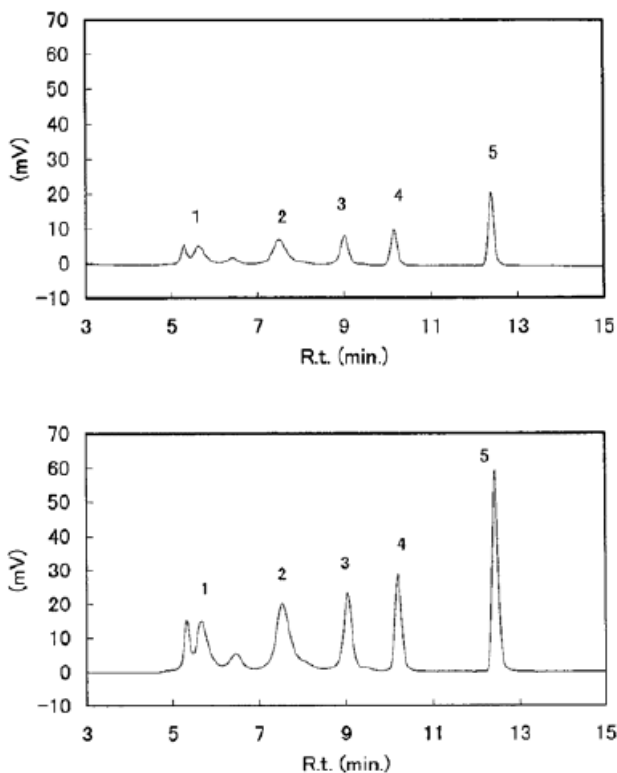


图 8 不同流通池型号得到的峰高的对比
 色谱柱: TSKgel SuperSW3000 (4.6mm ID × 30cm)
 上面的色谱图: 微流通池
 下面的色谱图: 小死体积型流通池
 分离条件与图 3 相同。

3-1-3 进样器

图 9 表示进样器和检测器对柱效的影响 当使用低扩散型进样器 (Rheodyne 8125) 和微流通池时, 该组合引起的峰展宽最小。我们将该组合引起的峰展宽的值设置为 100%。很明显, 对于通用型进样器 (Rheodyne 7125), 进样器内容质的扩散较强。使用微流通池时, 柱效降低约 10%。对于将通用型进样器与标准流通池联合使用的情形, 柱效降低 20% 或更多。

为实现 TSKgel SuperSW 色谱柱性能的最大化, 应当使用低扩散型进样器。此外, 需要自动进样器时, 建议使用适用于痕量分析的自动取样器。

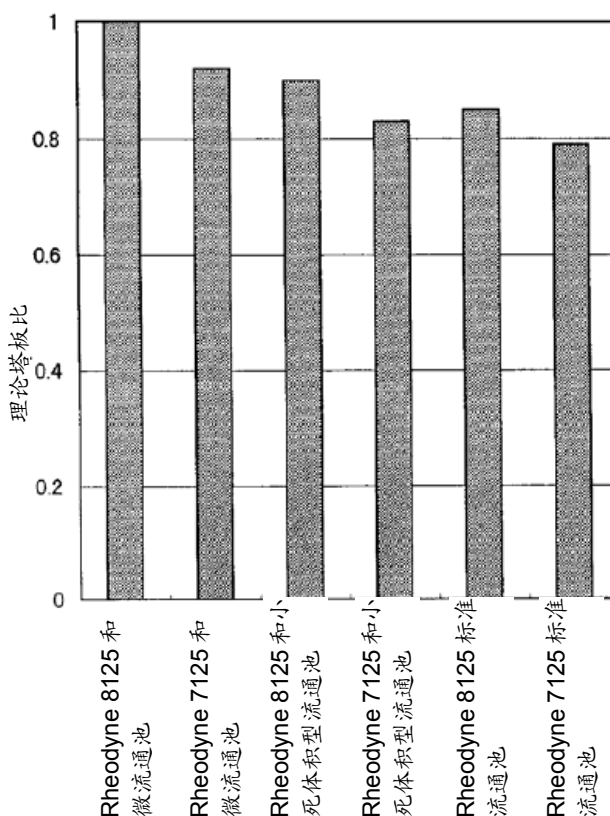


图 9 进样器和检测器流通池对柱效的影响
 色谱柱: TSKgel SuperSW3000 (4.6mm ID × 30cm)
 流动相: 0.1mol/L 磷酸缓冲液 + 0.1mol/L 硫酸钠 + 0.05% 叠氮钠 (pH 6.7)
 流速: 0.35mL/min
 检测: UV@280nm
 样品: 对氨基苯甲酸 (5μL)

3-2. 灵敏度

图 10 和图 11 对比了使用 TSKgel SuperSW 系列色谱柱和 TSKgel SW_{XL} 系列色谱柱分离蛋白质标准品时的峰高。从图中可清楚看到, TSKgel SuperSW 系列色谱柱得到的峰高大约是 TSKgel SW_{XL} 系列色谱柱得到的峰高的 4 倍。这可能是由于 TSKgel SuperSW 色谱柱具有更小的内径和更大的塔板数。

表 5 对比了 TSKgel SuperSW3000 和 TSKgel G3000SW_{XL} 色谱柱对主要蛋白质的检测限。虽然检测限随分析的样品、分离条件、检测波长和流通池光路长度而变化, 但是, 当 TSKgel SuperSW3000 与光路长度为 10mm 流通池 (小死体积型) 联合使用时, 检测限约为 TSKgel G3000SW_{XL} 的 1/2—1/3。TSKgel SuperSW3000 灵敏度的增加使其能够分析纳克水平的蛋白质样品。因此, TSKgel SuperSW 系列尺寸排阻色谱柱特别适用于痕量分析。要注意的是, 使用更小内径的色谱柱, 如内径为 1mm 和 2mm 的 TSKgel SuperSW3000 色谱柱, 可进一步提高灵敏度。

表 5 对蛋白质的检测限 (S/N = 3)

	SuperSW3000		G3000SW _{XL}
	标准流通池 (小死体积型)	微流通池	标准流通池 (小死体积型)
光路长度	10mm	4mm	10mm
甲状腺球蛋白	70ng	300ng	200ng
γ-球蛋白	50ng	100ng	100ng
牛血清白蛋白	70ng	300ng	200ng
卵白蛋白	50ng	100ng	100ng
肌红蛋白	15ng	50ng	30ng

色谱柱: TSKgel SuperSW3000 (4.6mm ID × 30cm)
 流动相: 0.2mol/L 磷酸缓冲液 (pH 6.7)
 检测: UV@280nm

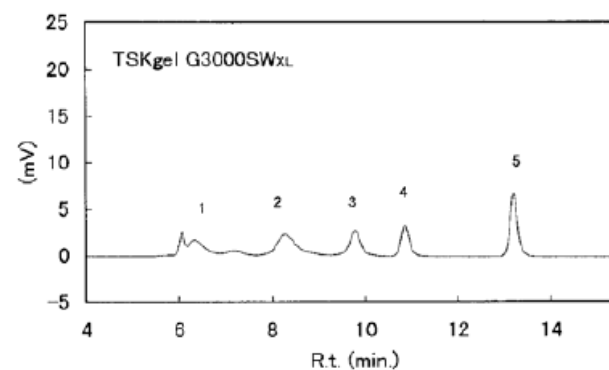
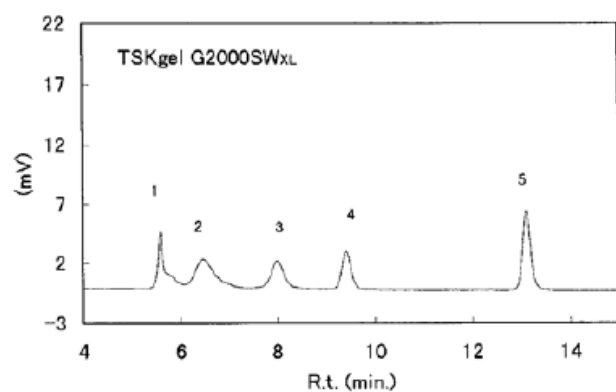
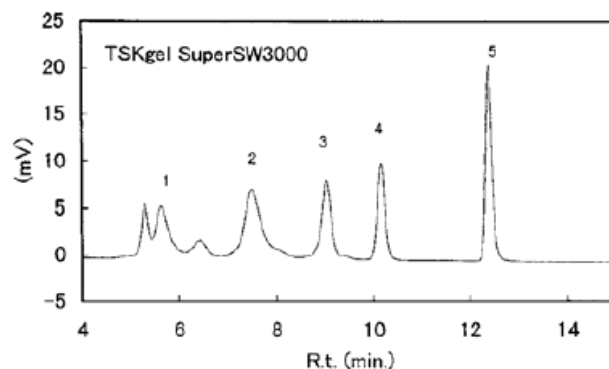
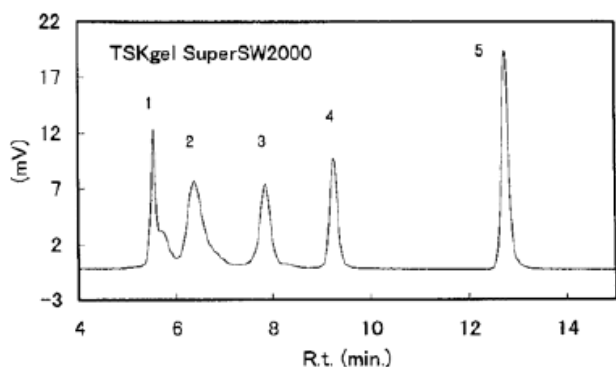


图 10 TSKgel SuperSW2000 和 TSKgel G2000SW_{XL} 色谱柱灵敏度的对比

色谱柱: TSKgel SuperSW2000 (4.6mm ID × 30cm)
 TSKgel G2000SW_{XL} (7.8mm ID × 30cm)

分离条件与图 3 相同。

图 11 TSKgel SuperSW3000 和 TSKgel G3000SW_{XL} 色谱柱灵敏度的对比

色谱柱: TSKgel SuperSW3000 (4.6mm ID × 30cm)
 TSKgel G3000SW_{XL} (7.8mm ID × 30cm)

分离条件与图 3 相同。

3-3. 流速对理论塔板高度 (HETP) 的影响

流速对理论塔板高度 (HETP) 的影响由填料粒度、样品分子大小和流动相粘度等因素决定。在 TSKgel SuperSW 系列色谱柱和 TSKgel SW_{XL} 系列色谱柱上分析牛血清蛋白 (BSA) 和肌红蛋白时, HETP 对流速的依赖性的典型例子示于图 12 中。很明显, 相对于 TSKgel SW_{XL} 系列色谱柱, 由于 TSKgel SuperSW 系列色谱柱填料粒度小, 因此, 在整个流速范围内理论塔板高度小且流速依赖性小。TSKgel SuperSW 系列色谱柱的适合流速为 0.1 – 0.35mL/min。

图 13 显示了市售分子量标记物在各种流速下的色谱图。表 6 表示由这些图谱计算得到的分离度 (Rs)。流速降低时, 大分子量聚合物蛋白质的分离效果提高。在流速为 0.05mL/min 时计算得到的分离度为流速为 0.35mL/min 时计算得到的分离度的 2 倍。虽然 TSKgel SuperSW 系列色谱柱比常规的色谱柱对流速的依赖性比较小, 但是, 如要求较高的分离度时, 应采用较低的流速。

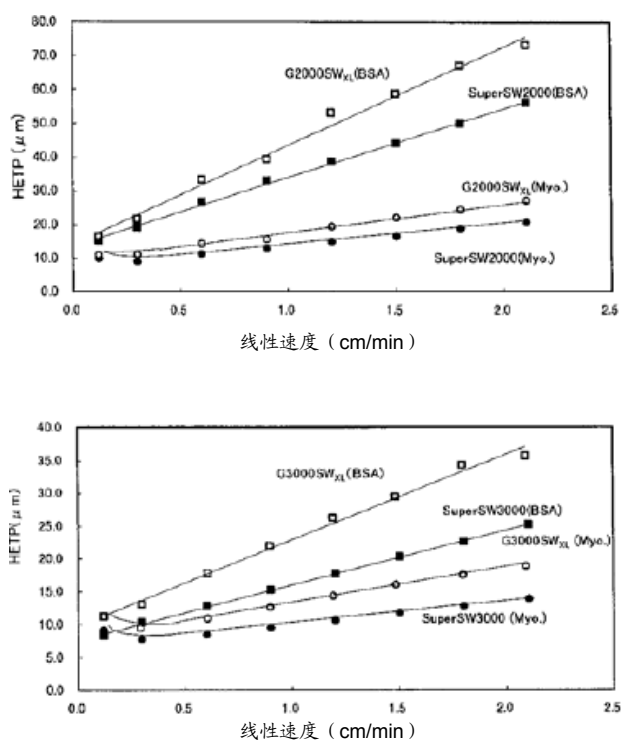


图 12 TSKgel SuperSW 系列色谱柱和 TSKgel SW_{XL} 系列色谱柱中流速与 HETP 的关系

色谱柱: TSKgel SuperSW 系列 (4.6mm ID × 30cm)
TSKgel SW_{XL} 系列 (7.8mm ID × 30cm)
流动相: 0.2mol/L 磷酸缓冲液 (pH 6.7)
检测: UV@280nm, 微流通池
样品: 蛋白质标准品 (5μL)
牛血清蛋白 (1g/L)
肌红蛋白 (1g/L)

表 6 流速与分离度的关系

	分离度 (Rs)		
	0.35mL/min	0.05mL/min	0.01mL/min
谷氨酸脱氢酶	2.91	5.10	6.13
乳酸脱氢酶	2.13	3.78	4.12
烯醇酶	2.97	4.79	4.75
腺苷酸激酶	2.44	3.50	3.18

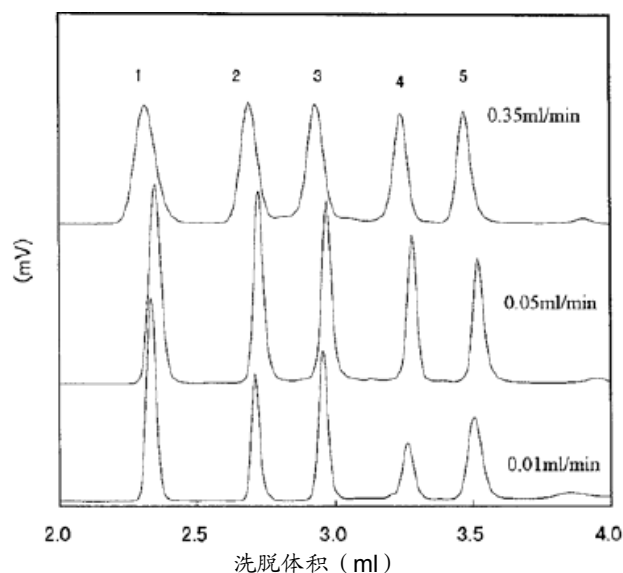


图 13 流速对分离的影响

色谱柱: TSKgel SuperSW3000 (4.6mm ID × 30cm)
流动相: 0.1mol/L 磷酸缓冲液+0.1mol/L 硫酸钠+0.05% 叠氮钠 (pH 6.7)
流速: 0.01、0.05、0.35mL/min
柱温: 25°C
检测: UV@280nm, 微流通池
样品: 1. 谷氨酸脱氢酶
2. 乳酸脱氢酶
3. 烯醇酶
4. 腺苷酸激酶
5. 细胞色素 C

3-4. 上样量

图 14 表示在相同的进样体积的条件下上样量对 HETP 的影响。虽然 TSKgel SuperSW 系列色谱柱中的理论塔板高度 (HETP) 比 TSKgel SW_{XL} 中的理论塔板高度 (HETP) 小, 但很明显, 在上样量为 100 μ g 或更大的情况下, 前者的理论塔板高度显著增大。因此, TSKgel SuperSW 系列色谱柱应在上样量为 100 μ g 或更小的条件下使用。

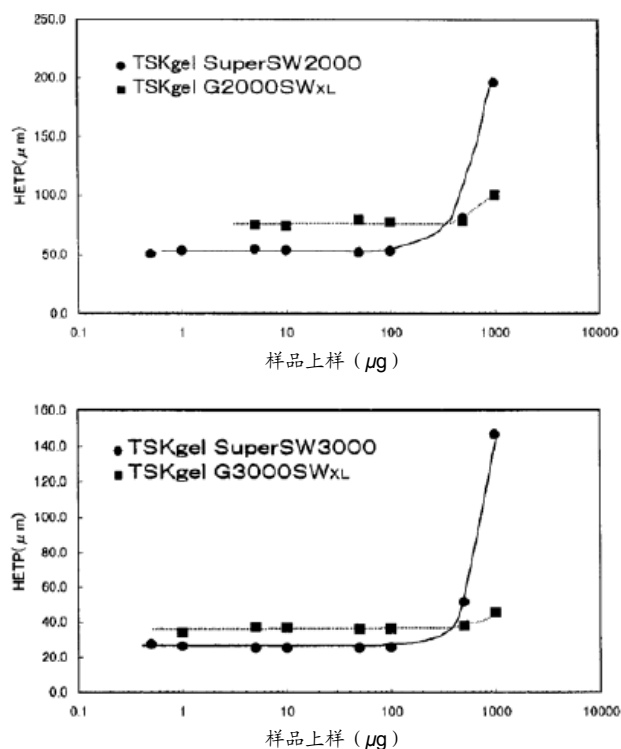


图 14 TSKgel SuperSW 系列色谱柱和 TSKgel SW_{XL} 系列色谱柱中上样量与 HETP 的关系
 色谱柱: TSKgel SuperSW 系列 (4.6mm ID \times 30cm)
 TSKgel SW_{XL} 系列 (7.8mm ID \times 30cm)
 流动相: 0.2mol/L 磷酸缓冲液 (pH 6.7)
 流速: 0.35mL/min (TSKgel SuperSW 系列)
 1.00mL/min (TSKgel SW_{XL} 系列)
 检测: UV@280nm, 微流通池
 样品: 牛血清白蛋白 (5 μ L)

图 15 表示在相同进样浓度条件下进样量对 HETP 的影响。从图中可清楚看到, 对于 TSKgel SuperSW 系列色谱柱, HETP 开始变化时的进样体积大约为 10 μ L。该体积小于 TSKgel SW_{XL} 相应的进样体积。

TSKgel SuperSW 系列色谱柱, 理想的上样量为总进样量的 100 μ g 或更少 (10 μ L 或更少)。

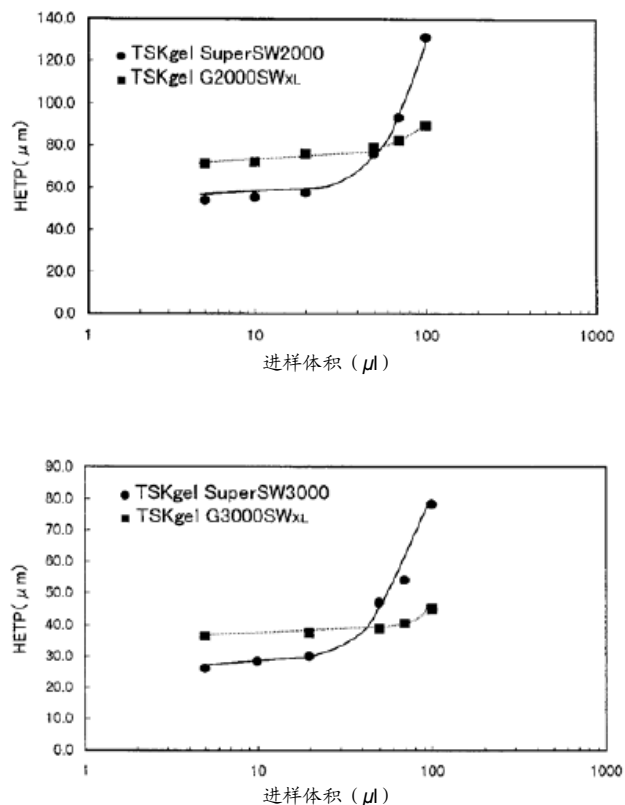


图 15 TSKgel SuperSW 系列色谱柱和 TSKgel SW_{XL} 系列色谱柱中进样体积与 HETP 的关系
 色谱柱: TSKgel SuperSW 系列 (4.6mm ID \times 30cm)
 TSKgel SW_{XL} 系列 (7.8mm ID \times 30cm)
 流动相: 0.2mol/L 磷酸缓冲液 (pH 6.7)
 流速: 0.35mL/min (TSKgel SuperSW 系列)
 1.00mL/min (TSKgel SW_{XL} 系列)
 检测: UV@280nm, 微流通池
 样品: 牛血清白蛋白 (0.2g/L)

3-5. 蛋白质的回收

表 7 对比了样品浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (上样量为 100ng) 的 TSKgel SuperSW2000 和 TSKgel SuperSW3000 色谱柱的蛋白质回收率。即使在 100ng 的低上样量时, 使用 TSKgel SuperSW, 大部分蛋白质都可以定量回收。使用 TSKgel SW_{XL} 系列色谱柱, 甲状腺球蛋白在上样量为 1 μg 时的回收率为 70%。当上样量低于 1 μg 时, 回收率降低得更厉害 (见《分离报告 No.046》的数据)。如表 7 所示, 即使在分析上样量为 1 μg 或更少的痕量蛋白质时, TSKgel SuperSW 系列色谱柱也可以获得较高的蛋白质回收率。

虽然 TSKgel SuperSW 色谱柱, 可以得到较高的蛋白质回收率。即使在样品浓度低的情况下, 样品可能被高效液相色谱系统 (管路等) 吸收, 而不是被色谱柱吸收。进行痕量分析时, 一件重要的事情是在测定前进几针样品, 以便系统内的吸附点首先被钝化。

表 7 蛋白质的回收

	SuperSW2000	SuperSW3000
甲状腺球蛋白	86%	97%
γ -球蛋白	90%	90%
牛血清白蛋白	99%	86%
卵白蛋白	97%	98%
核糖核酸酶 A	86%	87%
肌红蛋白	93%	96%
细胞色素 C	85%	90%
溶菌酶	93%	89%

洗脱液: 0.2mol/L 磷酸缓冲液 (pH 6.7)
 流速: 0.35mL/min
 检测: UV@280nm, 微流通池
 样品: 100ng (20mg/L, 5 μL)

4. TSK-GEL SuperSW 系列色谱柱的应用

图 16 是一个在 TSKgel SuperSW2000 色谱柱上分离多肽混合物的实例。图 17、图 18、图 19 表示在 TSKgel SuperSW3000 色谱柱分离市售谷氨酸-草酰乙酸转氨酶、小鼠腹水单克隆抗体 (IgG1)、人血清。

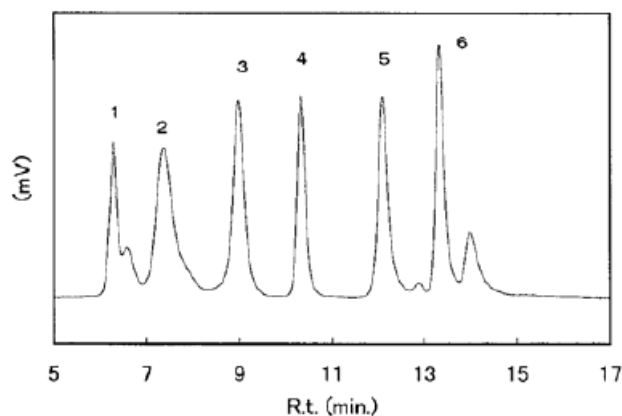


图 16 蛋白质/多肽混合物的分离
 色谱柱: TSKgel SuperSW2000 (4.6mm ID \times 30cm)
 洗脱液: 0.2mol/L 磷酸缓冲液 (pH 6.7)
 流速: 0.35mL/min
 检测: UV@220nm, 微流通池
 样品: 蛋白质/多肽 (5 μL)
 1. 甲状腺球蛋白 (0.1g/L)
 2. γ -球蛋白 (0.2g/L)
 3. 卵白蛋白 (0.2g/L)
 4. 肌红蛋白 (0.1g/L)
 5. 胰岛素 (0.1g/L)
 6. 催产素 (0.1g/L)

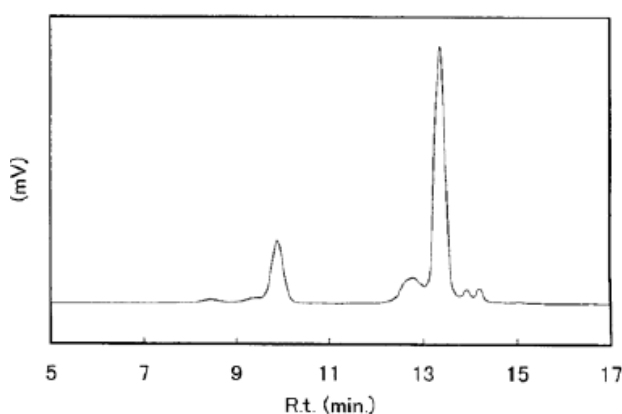


图 17 市售谷氨酸-草酰乙酸转氨酶的分离
 色谱柱: TSKgel SuperSW3000 (4.6mm ID \times 30cm)
 洗脱液: 0.2mol/L 磷酸缓冲液 (pH 6.7)
 流速: 0.35mL/min
 检测: UV@280nm, 微流通池
 样品: 谷氨酸-草酰乙酸转氨酶 (1g/L, 5 μL)

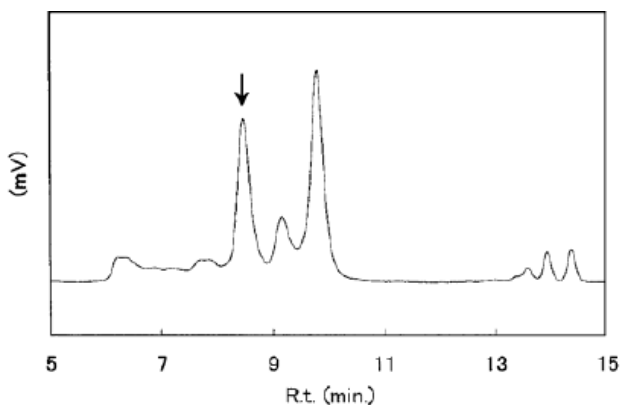


图 18 小鼠腹水单克隆抗体 (IgG1) 的分离
 色谱柱: TSKgel SuperSW3000 (4.6mm ID × 30cm)
 流动相: 0.2mol/L 磷酸缓冲液 (pH 6.7)
 流速: 0.35mL/min
 检测: UV@280nm, 微流通池
 样品: 小鼠腹水 (5 μ L)

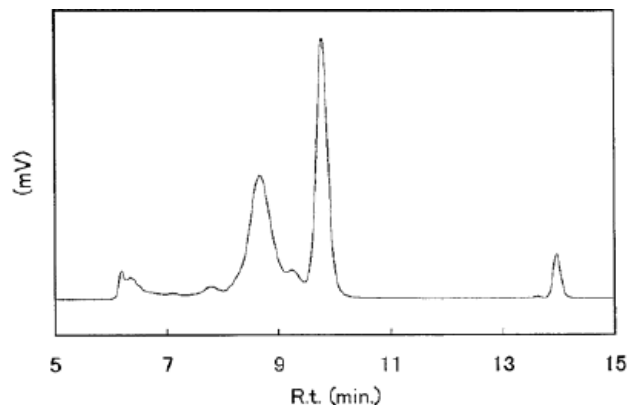


图 19 人血清的分离
 色谱柱: TSKgel SuperSW3000 (4.6mm ID × 30cm)
 流动相: 0.2mol/L 磷酸缓冲液 (pH 6.7)
 流速: 0.35mL/min
 检测: UV@280nm, 微流通池
 样品: 人血清 (5 μ L)

5. 总结

TSKgel SuperSW 系列色谱柱是将 TSKgel SW_{XL} 系列色谱柱的常规粒度和色谱柱尺寸减小后的一类产品, 实现了分离和灵敏度的提高。与常规的 TSKgel SW_{XL} 系列色谱柱相比, 使用 TSKgel SuperSW 色谱柱可以将分离度提高为 1.2~1.5 倍, 灵敏度提高为 2~3 倍。此外, 即使在进样样品浓度低的情况下, TSKgel SuperSW 系列仍保持高回收率。这使得 TSKgel SuperSW 系列色谱柱特别适合于生物聚合物的痕量分析。

为保证 TSKgel SuperSW 系列色谱柱的最佳性能, 我们推荐使用死体积最小的仪器。柱外的峰展宽是分离性能降低的主要原因。表 8 详细列出了关于 TSKgel SuperSW 色谱柱使用的建议。

表 8 使用 TSKgel SuperSW 系列色谱柱时的操作指南

通常:

- 通过改进在进样器、保护柱、分析柱和检测器之间的管路抑制峰展宽。
- 防止由于样品体积过载造成柱外谱带展宽。您可以通过进样量减半并测定峰值柱效来检测一下这个现象。

管路:

- 如可以的话, 使用内径为 0.004 英寸或 0.005 英寸 (0.100mm 或 0.125mm) 的管路。理想的长度是 100cm 或更短。
- 需要内径为 0.004 英寸 0.005 英寸管路的部分
 - 进样阀和保护柱之间以及保护柱出口与色谱柱之间的部分
 - 色谱柱出口与检测器入口之间的部分

色谱泵系统:

- 色谱泵系统应当可以用于半微量高效液相色谱。流速应当处在 0.1–0.35mL/min 的范围内。

进样器:

- 推荐使用低扩散进样器 (如 Rheodyne 8125)

保护柱:

- 我们建议您安装保护柱 (部件号: 18762), 以保护 TSKgel SuperSW 色谱柱。

检测器:

- 使用紫外 (UV) 检测器时, 请安装微量流通池或小死体积型流通池。小死体积流通池在高灵敏度分析中颇为有效。(也可以使用标准流通池。但是, 理论塔板数将变为由使用微量流通池得到的理论塔板数的 80%。)

样品:

- 样品进样量应为 1–10 μ L。上样量应为 100 μ g 或更小。



TOSOH

TOSOH BIOSCIENCE

东曹（上海）生物科技有限公司

地址：上海市徐汇区宜山路 1289 号 B 座 3F, 301 室
电话：+86-21-34610856 传真：+86-21-34610858
电子邮件：info@tosoh.com.cn
网址：www.separations.asia.tosohbioscience.com