

HPLC高效液相色谱柱

UHPLC超高效液相色谱柱

HPLC高效液相色谱柱用保护柱

UHPLC超高效液相色谱柱用保护柱

TSKgel[®]色谱柱使用说明书



东曹株式会社

使用前

- 请务必仔细阅读本使用说明书中所述的“安全注意事项”。
- 使用本产品之前，请仔细阅读并全面理解附带的“使用条件及质量标准”表（**Operating Conditions and Specifications; OCS**）。
- 请将这些使用说明书放在手边，以便在使用本产品时随时查阅。
- 请始终按照最初的意图使用本产品，并严格遵循使用说明书中规定的操作程序，同时遵守相关安全指引。

如有任何疑问，请联系东曹销售代表或相关代理店。

【关于使用说明书】

- 未经授权，禁止转载或复制本使用说明书的全部或部分内容。
- 如果使用说明书丢失，请联系东曹销售代表或相关代理店。
- 如有关于使用说明书内容的任何疑问或发现错误遗漏之处，请通过本文件末尾提供的电话号码与东曹公司联系。

安全注意事项

- 所有与安全相关的事项必须严格遵守。
- “警告”和“注意”具有以下含义。

 警告	表示中等风险的危险，若未加以避免，可能导致死亡或造成严重伤害。
 注意	表示风险水平较低的危险，若未加以避免，可能导致轻微或中度伤害。

使用期间

警告

- **易燃。远离明火。**
 - 在使用易燃溶剂时，切勿使用明火，以免引发火灾或爆炸。

注意

- **通风：**
 - 在通风不足的情况下使用易燃或有毒溶剂可能导致火灾、爆炸或中毒。
- **泄漏和溢出：**
 - 溶剂泄漏或溢出可能导致触电、中毒、化学伤害、火灾以及腐蚀等。如果发生泄漏或溢出，请佩戴适当的防护装备，并进行液体清理。
- **佩戴防护装备：**
 - 在使用含有有机溶剂或酸等样品和流动相时，请务必佩戴合适的防护装备，例如安全眼镜和手套，以防止化学伤害的风险。
- **操作注意事项：**
 - 不当的操作可能会导致色谱柱性能下降。在操作时请采取充分的预防措施。
- **正确使用：**
 - 这些色谱柱专门用于分析和分离，严禁将其用于其他任何目的。



• 压力方面的注意事项:

- 压力的突然增加可能导致色谱柱的性能下降。请确保不要超过最大压降使用，因为柱材料的不同，可能会导致破裂或碎裂。操作时请谨慎，并佩戴适当的防护装备。

• 使用分离纯化物质时的注意事项:

- 当使用经过纯化得到的溶液或分离提纯得到的产品或中间纯化物质作为样品时，在使用前请检查确认其安全性。

• 使用玻璃材质产品时的注意事项:

- 在使用玻璃材质产品时，应当谨慎小心。

• 废弃物处理措施:

- 废弃物处置时，应根据地方和地区政府制定的适当程序进行分类和处理。

操作注意事项

(与运输溶剂和色谱填料相关的注意事项)

急救	眼睛暴露	• 用水冲洗眼睛至少 15 分钟。冲洗眼睛时，请撑开眼睑，确保水能覆盖整个眼球表面。
	皮肤暴露	• 用水冲洗。
	吸入	• 移动到空气新鲜的地方，呼吸新鲜空气。
	摄入	• 用水漱口。
	• 采取上述紧急措施后，应酌情就医。	
操作和储存	消防措施	• 在使用易燃溶剂时，应避免使用明火，并采用无火花工具以防止意外产生火花。
	通风	• 对于封闭排放源或设有局部排气系统的场所，需要进行适当通风。 • 在设施内，通过通风将浓度控制在允许水平以下。
	操作已填充的容器	• 不要以可能导致损坏的方式操作容器。
	操作后清洗身体部位	• 操作后，请用水冲洗面部、手部和口腔等部位。
	操作时要穿防护装备	• 在操作时，应佩戴手套、安全眼镜、有机气体防护面罩、防护服和高筒靴等。
	危险品的储存	• 储存时应注意防火和温度。 • 与其他物品分开，并采取预防措施防止泄漏、破损和溢出。
	空容器的储存	• 将空容器妥善存放在指定的位置，以防止残留物质泄漏。
废弃物处置时注意事项	• 废弃物处置时，应根据地方和地区政府制定的适当程序进行分类和处理。	

目录

1. 简介	1
2. 使用前	1
3. 色谱柱类型及配件名称	2
4. 流动相	3
5. 准备样品	4
6. 连接色谱柱	5
7. 流速和温度	6
8. 完成分析后	6
9. 保护柱	7
10. 色谱柱的保存	7
11. 色谱柱性能参数	8
12. 故障排除	10
13. 质量标准	10
14. 质量保证	11

1. 简介

感谢购买东曹的TSKgel（超）高效液相色谱柱或保护柱。我们的产品在生产过程中严格遵循ISO9001和ISO14001标准，以确保其高品质和可靠性。

为了确保能够充分发挥TSKgel产品的性能，请在使用前仔细阅读本使用说明书。

此外，我们强烈建议配合使用保护柱，以有效防止分析柱受到污染和性能退化。需要注意的是，并非所有分析柱都配有保护柱。如果需要更多关于保护柱的信息，欢迎联系东曹的销售代表或相关代理店。

2. 使用前

检查包装情况，确保色谱柱外部无损坏。

确认色谱柱铭牌上的产品名称、产品编号和尺寸。

然后，确认色谱柱配有以下文件：

- Instructions for Use.....1 份
- INSPECTION DATA SHEET (IDS) ^{*1}1 份
- OPERATING CONDITIONS and SPECIFICATIONS (OCS) ^{*2}1 份
- CERTIFICATE OF ANALYSIS ^{*3}1 份

*1: IDS: 色谱柱出厂测试结果记录在此表格上。保护柱不提供该表格。

*2: OCS: 色谱柱的使用条件及质量标准在此表格上有所描述。

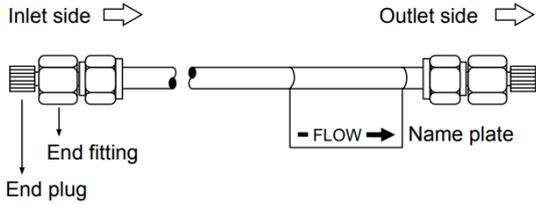
*3: 仅针对特定色谱柱提供。

注：除了色谱柱外，有些产品还包括其他配件。详情请参阅OCS。

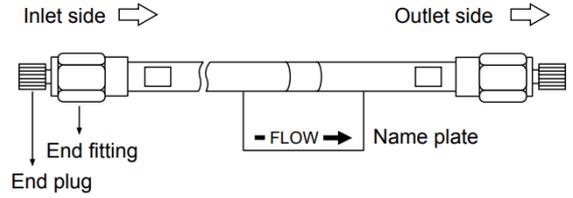
如果缺少任何文件，请联系东曹销售代表或相关代理店。

3. 色谱柱类型及配件名称

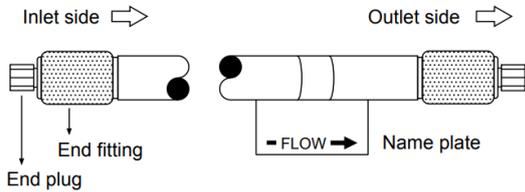
不锈钢色谱柱（套圈式）
 接头：1/16-英寸管路
 （不锈钢管路）



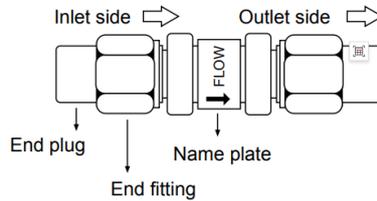
不锈钢色谱柱（螺旋式）
 接头：1/16-英寸管路
 （不锈钢管路）



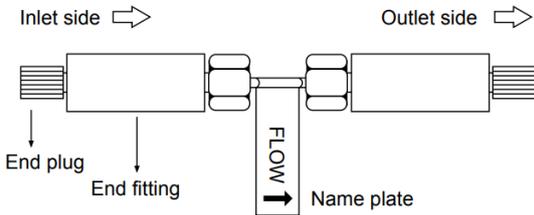
PEEK色谱柱（螺旋式）
 接头：1/16-英寸管路
 （PEEK管路）



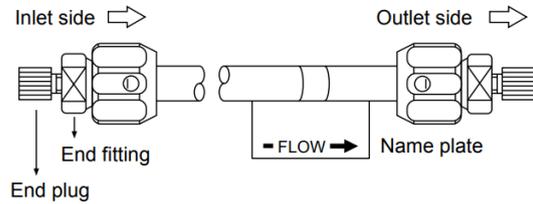
Plastic色谱柱（带翼法兰式）
 接头：1/4-英寸 28UNF



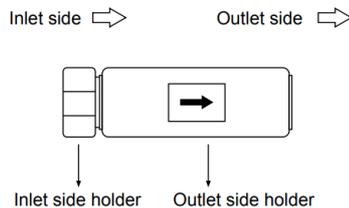
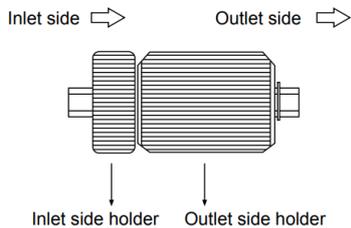
毛细管色谱柱（不锈钢，套圈式）
 接头：1/16-英寸管路
 （不锈钢管路）



玻璃色谱柱（带翼法兰式）
 接头：1/4-英寸 28UNF



卡套式保护柱
 接头：1/16-英寸管路
 （不锈钢管路）



- 注：1. 1/16-英寸管路（不锈钢或PEEK管路）所需的长度将根据色谱柱的类型而变化。如果管路过长或过短，可能会导致色谱峰展宽，从而无法达到足够的性能。
2. 对于PEEK色谱柱，请始终使用PEEK材质的接头，包括保护塞（end plugs）、密封垫圈（ferrules）等部件。
3. 当使用卡套式保护柱时，必须使用指定的卡套。关于卡套，请参阅OCS文件。

4. 流动相

1. IDS上记载了的色谱柱的出厂溶剂。请将其替换为分析中使用的流动相。
2. 选择一个能够完全溶解样品的流动相。如果样品未能完全溶解，可能会导致色谱柱性能下降，例如由于沉淀物堵塞色谱柱。
3. 如果流动相与出厂溶剂不兼容，请首先用一种能够与两种溶剂兼容的溶剂替换出厂溶剂。关于溶剂替换的详细信息，请参阅OCS。

注：频繁更换溶剂或不同成分的溶剂之间切换会加速色谱柱的性能下降。

4. 流动相中使用的溶剂、试剂或水中的杂质可能导致鬼峰、污染色谱柱并加速降低色谱柱的性能。关于流动相中所用溶剂、试剂和水的等级，请参阅OCS。我们建议在使用前通过微孔滤膜（0.22 μm 或 0.45 μm ）过滤流动相以去除其中的杂质。根据试剂的性质和杂质的类型，推荐使用离心法去除杂质。此外，微孔滤膜的溶剂耐受性等问题，请联系滤膜制造商。
5. 在泵和进样阀之间安装一个在线过滤器有助于防止流动相中的小颗粒和杂质进入色谱柱。如果观察到压力增加，也需要更换过滤器。
6. 关于可使用的pH范围以及可用的盐溶液、缓冲溶液和有机溶剂的类型，请参阅OCS。

注：在pH上限和下限附近，可能会加速色谱柱的性能下降，这取决于流动相和分析条件。

7. 当使用高粘度的流动相时，压降会增加，可能会导致色谱柱性能下降和仪器损坏。请调整流速和柱温，以确保适当的压力。此外，在进行有机溶剂的浓度梯度洗脱（例如反相色谱）时，由于分析过程中有机溶剂比例的变化，压降可能会增加。
8. 确认水溶性有机溶剂和盐溶液（如缓冲溶液）组成的混合溶剂是否发生盐析。温度变化也可能导致盐析。此外，如果色谱柱中发生盐析，有可能引起色谱柱的性能下降。关于可添加的有机溶剂，请参阅OCS。
9. 当使用不锈钢色谱柱时，应尽可能避免使用含有卤素离子（如氯化钠、氯化钾等）的盐。
10. 当使用含有1,1,1,3,3,3-六氟-2-丙醇（HFIP）等的溶剂时，请确保使用不锈钢部件（保护塞、管路等）。
11. 为防止气泡产生，使用前对流动相进行彻底脱气，或使用在线脱气装置。
12. 在配制流动相时，请确认所用试剂的性质。关于试剂性质，请联系试剂制造商。

5. 准备样品

溶解样品

溶解样品时，请注意以下事项：

1. 尽可能将样品溶解在流动相中。

注：用于离子色谱的样品，由于污染物可能会来自流动相，请使用高纯度的溶剂（如超纯水等）进行溶解。

2. 将样品溶液的成分（如盐浓度、pH 值和有机溶剂浓度）与流动相相匹配。

3. 在进行梯度分析时，使用起始溶液进行溶解。

4. 如果样品不能完全溶解在流动相中，或者在加入流动相后发生沉淀，则无法进行分析。

注：如果注入含有杂质的样品，可能会导致色谱柱堵塞等问题，从而导致色谱柱性能下降和仪器损坏。

5. 在溶解高分子量样品时，确保样品完全溶解，并且搅拌等操作不会破坏分子链。

样品前处理

为防止色谱柱性能下降，在将样品溶液注入色谱柱之前，根据样品成分进行如下预处理。

1) 过滤（去除固体杂质）

样品中可能存在肉眼看不见的杂质。通过市售的微孔滤膜（ $\leq 0.45\mu\text{m}$ ）过滤分析样品。

此外，微孔滤膜的溶剂耐受性等问题，请联系滤膜制造商。

注：离子色谱分析时，请使用指定的过滤器以防止污染。

2) 固相萃取

使用市售的过滤柱进行进样前的预处理，可以有效去除阻碍分析的、目标物质以外的、溶解成分（杂质）。这有助于抑制由于色谱柱中杂质积累而导致的性能下降。请选择合适的过滤柱。

3) 稀释

如果样品浓度过高，可能会超过色谱柱的载量，导致异常的峰形、保留时间不一致和分离效果差（过载）等问题。出于这些原因，此类样品应适当稀释。由于这可能导致分析精度的下降，请使用高纯度的溶剂进行稀释（例如，水使用超纯水，有机溶剂使用 HPLC 级有机溶剂）。

4) 脱盐

在以下情况下，应对样品进行脱盐处理：

在离子交换色谱柱进行分析，样品的盐浓度高于流动相的盐浓度时，应对样品进行脱盐。

在反相色谱柱进行分析，样品在流动相中发生盐析时，应对样品进行脱盐。

5) 除蛋白

在分析生物样品时，为了防止色谱柱受到污染，根据分离模式，进样前通过超滤以及添加有机溶剂或酸进行除蛋白处理。

6. 连接色谱柱

连接方法

参见“3. 色谱柱类型及配件名称”。

关于色谱柱的连接方法，请参阅OCS。

连接到仪器

应在系统压力为零时安装和断开色谱柱。

1. 首先使用流动相进行系统的排气（Purge）。
2. 从色谱柱的两端移除保护塞（请保留保护塞以备卸柱后继续封柱保存）。

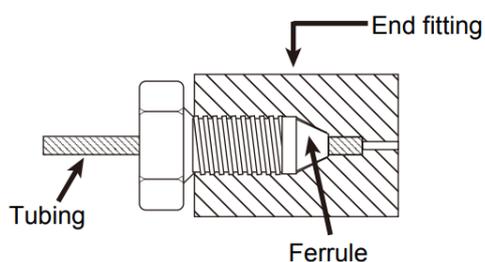
确认溶剂是否逐渐从色谱柱的末端流出。

如果溶剂未能流出，应将色谱柱的出口连接到系统，并启动泵以通过反向进样排除入口侧的气泡（过高压力或过快流速会降低色谱柱柱性能，因此需使用最大压降一半的流速；有关最大压降信息，请参阅OCS）。

注：在将色谱柱连接到仪器或从仪器上断开时，请确保柱内无气泡存在。若气泡进入色谱柱，可能导致沟槽等问题，从而影响色谱柱的性能。

3. 确认色谱柱的连接方向（铭牌上显示的FLOW和箭头），然后依次将保护柱和分析柱连接到进样器出口侧的管路。在拧紧密封垫圈（Ferrule）之前，请确保管路已完全插入末端接头（end fitting）中，以避免柱头处产生死体积。

注：管路末端与末端接头之间的间隙会导致峰展宽并降低色谱柱性能。



如果管路末端变形或压扁，可能会导致峰展宽，因此需要正确切割管路末端。

可使用预制的连接管路（由东曹公司单独销售）。

有关详细信息，请联系东曹销售代表或相关代理店。

4. 以分析流速的一半的流速进液，并在液体从分析柱出口侧流出时，将检测器连接到分析柱（参见“7. 使用流速和温度”）。

注：开始分析时，突然的压力变化和过快的流速会导致色谱柱性能下降，因此应该避免这种情况。特别是，在启动泵时，不要使用产生压力突变的方式。另外，应选择无脉冲的泵。

如果必须使用有脉冲的泵，请在泵后连接脉冲阻尼器以消除脉动。

5. 确认整个系统没有漏液，逐渐增加到分析流速，并在系统压力和基线稳定后，开始进行分析。

连接多根分析柱

将已连接的分析柱出口侧的末端接头视为仪器管路的色谱柱接口，并以上述相同方式连接下一根分析柱。

7. 流速和温度

有关详细的操作条件，请参阅OCS。

1. 色谱柱的推荐流速和最大流速会根据所用流动相的成分和类型而有所不同。在使用过程中，使用不超过最大压降的流速（工作流速）。有关色谱柱的安全流速和最大流速，请参阅OCS。

注：接近最大压降时，根据所用流动相的类型，色谱柱的性能可能会加速下降。

2. 在OCS描述的温度范围之外使用，可能导致保护柱和分析柱的性能下降或损坏。

注：接近最高温度限制时，根据流动相和分析条件，色谱柱性能可能会加速下降。

3. 注意流动相中使用的溶剂的沸点。

有关溶剂性质，请联系溶剂的制造商。

8. 完成分析后

1. 在高于室温下完成分析后，不要立即停止泵，继续以不超过分析流速一半的流速运行，直到色谱柱温度降至接近室温。如果色谱柱温度较高时停止泵，由于流动相的收缩，空气可能会被吸入柱中，导致色谱柱性能下降。

2. 对于可在室温下存储的色谱柱，只要整个管路系统没有泄漏，并且下次使用将在两天内进行，色谱柱可以连接状态保留在仪器中。然而，如果下次使用将在三天或更长时间后，请按照OCS中的“保存”部分所描述的程序来保存色谱柱。

3. 如果流动相中使用了强酸（特别是盐酸）、强碱或高盐浓度的缓冲溶液，在分析完成后，用纯水冲洗，然后用保存液替换后，再进行保存。

9. 保护柱

使用保护柱的效果

使用保护柱是为了保护分析柱的稳定性和延长其寿命。

保护柱应该用于：

1. 为了防止由于脉动、异常流速或压力波动而导致分析柱入口侧的过滤器与填料之间（顶部）出现空隙。
2. 防止由于不溶性物质或吸附性物质的流入而导致分析柱性能下降。

保护柱不是分析柱，连接保护柱的目的不是为了提高性能。仅用于预防问题的发生。

保护柱的类型和选择

有关保护柱的信息，请参阅OCS。并非所有分析柱都有适用的保护柱。

如需详细信息，请联系东曹销售代表或相关代理店。

连接保护柱

将保护柱连接在进样器和分析柱之间。

卡套式保护柱

卡套式保护柱，请参阅OCS。

关于TSKgel保护柱套件

请参阅TSKgel保护柱套件的使用说明书。

更换保护柱

当观察到压力显著增加或色谱柱性能下降时，应更换保护柱。

注：更换保护柱的时间会根据分析的样品而有所不同，但应尽快更换保护柱。建议定期更换保护柱。

10. 色谱柱的保存

请参阅OCS中的保存程序、保存溶剂和保存温度。

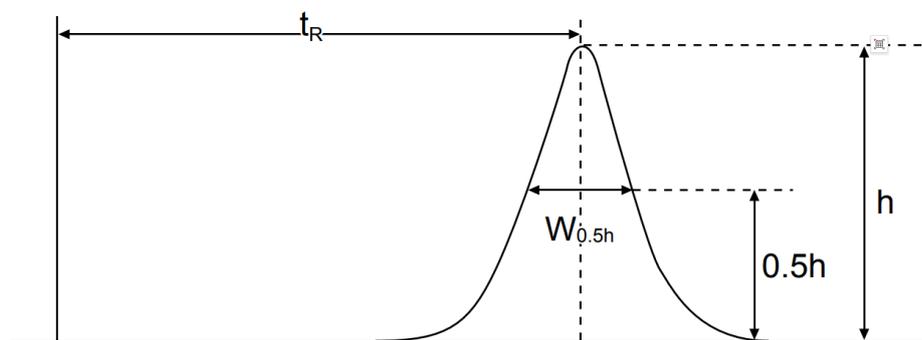
保存时的注意事项

1. 在保存色谱柱时，应始终使用保护塞进行密封，并确保柱内部不会干燥。
2. 将色谱柱存放在远离直射阳光的地方、温度波动小且无腐蚀性气体排放的环境中。

11. 色谱柱性能参数

表示色谱柱性能的分析条件在IDS中有描述。这些参数的计算方法如下所示。

N（理论塔板数）



$$N = 5.54 (t_R/W_{0.5h})^2$$

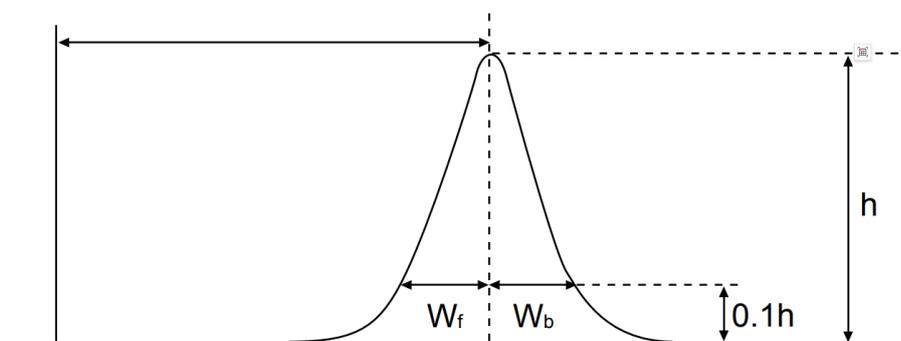
t_R : 洗脱时间（分钟）

$W_{0.5h}$: 半峰宽（分钟）

h : 峰高

N : 每根柱子的理论塔板数

A_s （不对称因子）



进样

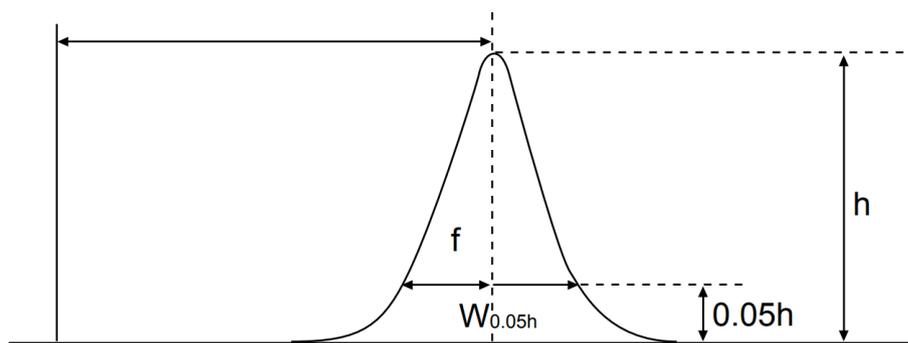
$$A_s = W_b/W_f$$

W_f : 从顶点垂直分割色谱峰为两部分的直线与前半峰峰高1/10处之间的距离（分钟）

W_b : 从顶点垂直分割色谱峰为两部分的直线与后半峰峰高1/10处之间的距离（分钟）

A_s : 不对称因子

S (对称因子)



进样

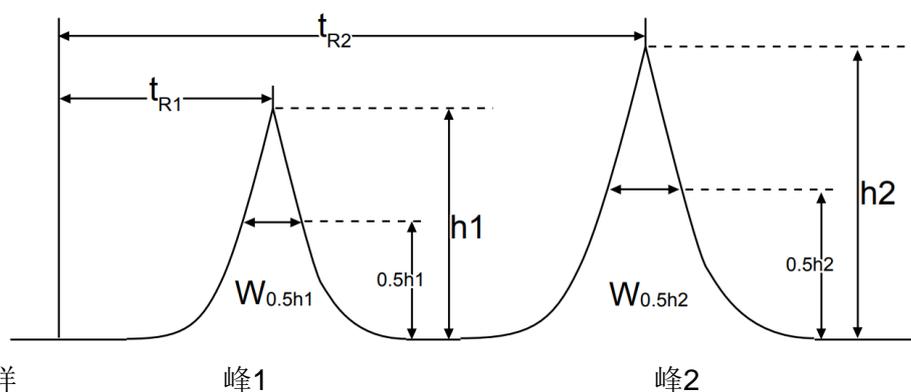
$$S = W_{0.05h} / 2f$$

$W_{0.05h}$: 峰高1/20处的峰宽 (分钟)

f : 从顶点垂直分割色谱峰为两部分的直线与前半峰峰高1/20处之间的距离 (分钟)

S : 对称因子

R_s (分离度)



$$R_s = 1.18 (t_{R2} - t_{R1}) / (W_{0.5h1} + W_{0.5h2})$$

t_{R1} : 峰1的洗脱时间 (分钟)

t_{R2} : 峰2的洗脱时间 (分钟)

$W_{0.5h1}$: 峰1在半峰高处的峰宽 (分钟)

$W_{0.5h2}$: 峰2在半峰高处的峰宽 (分钟)

R_s : 分离度

如果分析是在与IDS中描述的分析条件不同的情况下进行的, 测量值可能会与IDS值有显著差异。

此外, 柱性能的确证是使用低死体积的仪器进行测量的。

如果使用具有大死体积的仪器, 或者进样体积较大, 理论塔板数可能低于IDS值。

12. 故障排除

在使用过程中，可能会出现色谱柱的异常情况，包括分离效果或压力等问题。在这种情况下，通过调查问题的原因并采取必要的行动，可以恢复色谱柱的性能。

当使用保护柱时

请先排查保护柱是否异常。

1. 分别在连接和不连接保护柱的情况下进行分析。
2. 如果异常仅在使用保护柱时发生，请更换保护柱，因为它很可能是问题的根源。

如果问题在断开保护柱或没有保护柱的情况下仍然存在，请参考下表采取适当的措施。

问题	原因	措施
柱压升高	异物等导致柱头堵塞	更换在线过滤器 更换柱头配件 • 确认填料是否干燥、泄露等。
分离谱图异常	色谱柱污染	清洗色谱柱 • 清洗条件请参阅OCS。
峰展宽	柱头出现空隙	采取措施抵消泵的脉动。 • 如果空隙 ≤ 5 mm，使用Top-off gel ^{*4} 填充色谱柱顶端空隙。 • 如果空隙 ≥ 5 mm，请更换色谱柱。
峰分裂	柱内形成沟槽	使用Top-off gel ^{*4} 填充色谱柱顶端空隙或者更换色谱柱。

*4: Top-off gel与色谱柱分开销售。详细信息，请联系东曹销售代表或相关代理店。

13. 质量标准

请参阅IDS的质量标准。

14. 质量保证

1. 产品到货后两周内，若未收到与以下问题相关的联系，将默认产品已按良好状态接收。如您收到的产品存在任何缺陷，我们将立即进行更换。

- 损坏

如果收到的产品损坏，请保留产品、配件材料和包装材料，并立即联系东曹销售代表或相关代理店。

- 质量缺陷

产品到货后，根据IDS和OCS中所描述的条件对其性能进行检测。若发现存在任何缺陷，请立即联系东曹销售代表或相关代理店，并提供测试失败的结果。

2. 色谱柱的使用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.tbs@tosoh.com.cn

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

TSKgel, TSKgel SuperMultipore, TSKgel STAT, BioAssist, NPR, TOYOPEARL, TOYOPEARL GigaCap, TOYOPEARL MegaCap, EcoSEC, EcoSEC Elite 以及 HLC 是东曹株式会社在日本, 美国, 欧盟, 中国等的注册商标。

TOYOPAK 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, 禁止转载或复制本使用说明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。