

离子交换色谱柱
TSKgel IEC Glass 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。

目 录

1. 简介	1
2. 打开包装	1
3. 安装	2
4. 保存色谱柱.....	3
5. 准备样品和流动相	3
6. 流速	4
7. 温度	5
8. 保护柱.....	5
9. 柱效	6
10. 故障排除	8
11. 质量标准和质量保证	9

1. 简介

TSKgel IEC Glass 色谱柱是一款优化的高性能离子交换色谱柱。TSKgel IEC Glass 系列包括，弱阴离子交换色谱柱 TSKgel DEAE-5PW Glass、弱阳离子交换色谱柱 TSKgel CM-5PW Glass 以及强阳离子交换色谱柱 TSKgel SP-5PW Glass。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。TSKgel IEC Glass 系列色谱柱由高精度玻璃管和塑料末端接头构成，具有良好的生物兼容性。

表 1 TSKgel IEC Glass 系列色谱柱

产品名称	官能团和对离子	色谱柱尺寸 mm (I.D.) × cm (L)	应用领域
TSKgel SP-5PW Glass	$-\text{C}_3\text{H}_6-\text{SO}_3\text{Na}^+$	5.0 × 5.0 8.0 × 7.5 20.0 × 15.0	蛋白质 多肽
TSKgel DEAE-5PW Glass	$-\text{C}_2\text{H}_4\text{N}^+(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{HCl}^-$	5.0 × 5.0 8.0 × 7.5 20.0 × 15.0	酸性蛋白质 中性蛋白质 核酸
TSKgel CM-5PW Glass	$-\text{CH}_2\text{COO}^-\text{Na}^+$	5.0 × 5.0 8.0 × 7.5 20.0 × 15.0	碱性蛋白质 中性蛋白质

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. 安装

3-1 连接部件

色谱柱和色谱柱部件如图 2 所示。所有色谱柱都可以使用 1/4 英寸-28 UNF 固定螺钉连接。

3-2 进液方向

请按图 2 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。

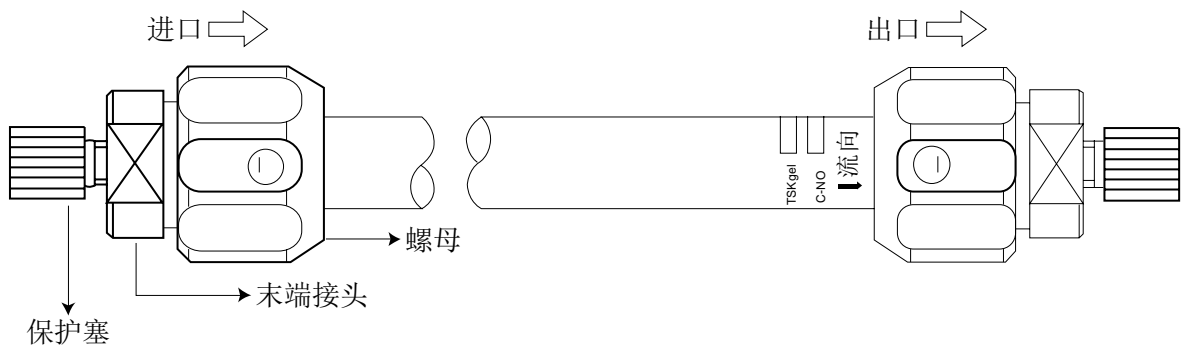


图 2 色谱柱部件

3-3 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。

3-4 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。

4. 保存色谱柱

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。请勿将色谱柱直接暴露在阳光下。色谱柱的保存位置应避免腐蚀性气体。如果需要每天使用色谱柱，则无需从设备上取下色谱柱，而且如果缓冲溶液的溶解性较好，则无需替换缓冲溶液可直接过夜。短期保存色谱柱时，请从设备上取下色谱柱，并使用保护塞封住色谱柱的末端。长期保存时，需要防止色谱柱长菌，需要使用超纯水替换缓冲溶液。

5. 准备样品和流动相

5-1 替换溶剂

TSKgel IEC Glass 系列色谱柱的出厂溶剂为超纯水。请按表 2 中所示的一半以下的流速，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。

5-2 pH 值

TSKgel IEC Glass 系列填料为亲水性聚合物材质，使用的 pH 值范围为 2.0~12.0。

5-3 过滤和脱气

请使用 0.5 μm 过滤器过滤后的色谱纯溶剂。使用前，请过滤所有的缓冲溶液。这样可以减少柱头堵塞问题，延长色谱柱寿命。可以使用真空法或超声法清除溶剂中溶解的气体，防止系统进入空气。

5-4 选择对离子

不同的对离子与离子交换填料的亲和性不同，分辨率也会受此影响。阴离子交换填料对一些对离子保留强弱顺序：柠檬酸盐²⁻ > SO₄²⁻ > PO₄³⁻ > Cl⁻ > 甲酸盐⁻ > 醋酸盐⁻ > OH⁻；阳离子交换填料对一些对离子保留强弱顺序：K⁺ ≅ NH₄⁺ > Na⁺ ≅ Tris⁺ > Li⁺ ≅ H⁺。

5-5 离子强度

分析时，通常根据离子强度使用梯度法洗脱样品。分离蛋白质时常用的离子强度范围如下：平衡缓冲溶液为 0.05~0.1 mol/L，洗脱缓冲溶液为 0.2~0.5 mol/L。一般使用氯化盐、硫酸盐或醋酸盐调节离子强度。

5-6 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。有机溶剂水溶液的浓度范围为 20 % 以下。使用有机溶剂时，请注意盐析。

5-7 表面活性剂或变性剂

本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。

5-8 样品

使用流动相溶解样品，请使用微孔过滤器（孔径 0.5 μm ）过滤，防止色谱柱堵塞。

6. 流速

流速的选择应充分考虑分辨率、分析时间以及色谱柱的寿命。流速越高，分析时间越短。相反，流速较低有利于提升柱效，延长色谱柱的寿命。磷酸盐或其他缓冲溶液的推荐流速为 0.5~0.8 mL/min。色谱柱的推荐流速和压降如下所示：

表 2 推荐流速

货号	产品名称	色谱柱尺寸 mm (I.D.) × cm (L)	最大流速 (mL/min)	推荐流速 (mL/min)	最大压降 (MPa)
0013061	TSKgel DEAE-5PW Glass	5.0×5.0	1.0	0.5~0.8	1.5
0008802	TSKgel DEAE-5PW Glass	8.0×7.5	1.2	0.5~1.0	1.0
0014016	TSKgel DEAE-5PW Glass	20.0×15.0	8.0	4.0~6.0	1.5
0013062	TSKgel SP-5PW Glass	5.0×5.0	1.0	0.5~0.8	1.5
0008803	TSKgel SP-5PW Glass	8.0×7.5	1.2	0.5~1.0	1.0
0014017	TSKgel SP-5PW Glass	20.0×15.0	8.0	4.0~6.0	1.5
0014010	TSKgel CM-5PW Glass	5.0×5.0	1.0	0.5~0.8	1.5
0014011	TSKgel CM-5PW Glass	8.0×7.5	1.2	0.5~1.0	1.0
0014012	TSKgel CM-5PW Glass	20.0×15.0	8.0	4.0~6.0	1.5

* 请勿超过表中限定的最大流速和压降。粘度与出厂溶剂相近的缓冲溶液或水溶液可以实现以上流速。

⚠ 注意

使用玻璃色谱柱，柱压应低于 0.3 MPa，避免损坏色谱柱以及填料泄漏。

7. 温度

TSKgel IEC Glass 色谱柱的最佳操作温度为 10 °C~30 °C。不可在高于室温的条件下长时间使用该系列色谱柱。低于 10 °C 时，请使用较低的流速保护色谱柱。

8. 保护柱

分析生物样品时，最好使用在线过滤器和保护柱保护分析柱。保护柱中的填料与分析柱中的填料相似。保护柱套装包括填料和空柱。更多相关信息，请参阅玻璃色谱柱用 TSKgel guardgel 系列保护柱使用说明书。

表 3 保护柱

货号	产品名称	对应分析柱
0008806	TSKgel guardgel DEAE-5PW kit Glass	TSKgel DEAE-5PW Glass (8.0×7.5)
0008807	TSKgel guardgel SP-5PW kit Glass	TSKgel SP-5PW Glass (8.0×7.5)
0014024	TSKgel guardgel CM-5PW kit Glass	TSKgel CM-5PW Glass (8.0×7.5)
0014466	TSKgel guardcolumn DEAE-5PW Glass	TSKgel DEAE-5PW Glass (20×15)
0014467	TSKgel guardcolumn SP-5PW Glass	TSKgel SP-5PW Glass (20×15)
0014468	TSKgel guardcolumn CM-5PW Glass	TSKgel CM-5PW Glass (20×15)

保护柱尺寸：8.0 mm (I.D.) × 1.0 cm (L) (guardgel Kit)

20.0 mm (I.D.) × 2.0 cm (L) (guardcolumn)

9. 柱效

色谱柱出厂前经过了严格的质量测试，确保符合质量规格。根据使用的设备、试验样品以及设备的设置和使用条件的不同，测定结果可能也会存在细微的区别。首次分析之前，请对新色谱柱进行测试，并记录相关的测试结果（理论塔板数等）。其后再使用色谱柱时，可以使用该数据进行比对。请务必记录相关试验结果和设备设置（及其他配置），确保试验的可重复性和可比较性。

9-1 计算方法

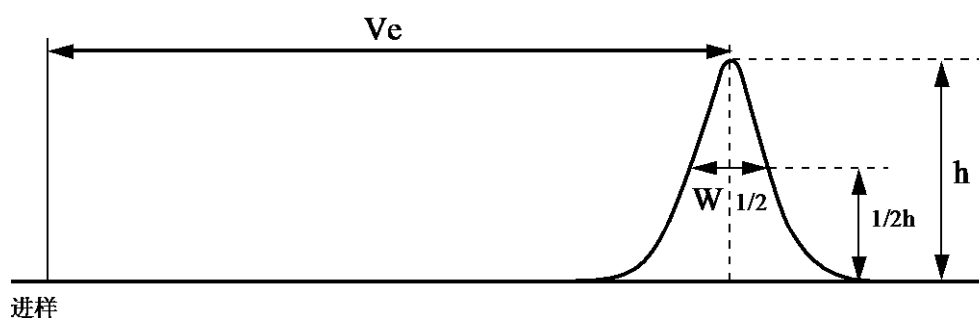


图 3 理论塔板数的计算方法

如图 3 中所示，通过半峰宽法计算色谱柱的理论塔板数。

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

其中：

V_e : 洗脱时间

$W_{1/2}$: 半峰宽

h : 峰高

N : 理论塔板数/柱

通过 $1/10 h$ 法计算色谱柱的不对称因子 (A_s)。

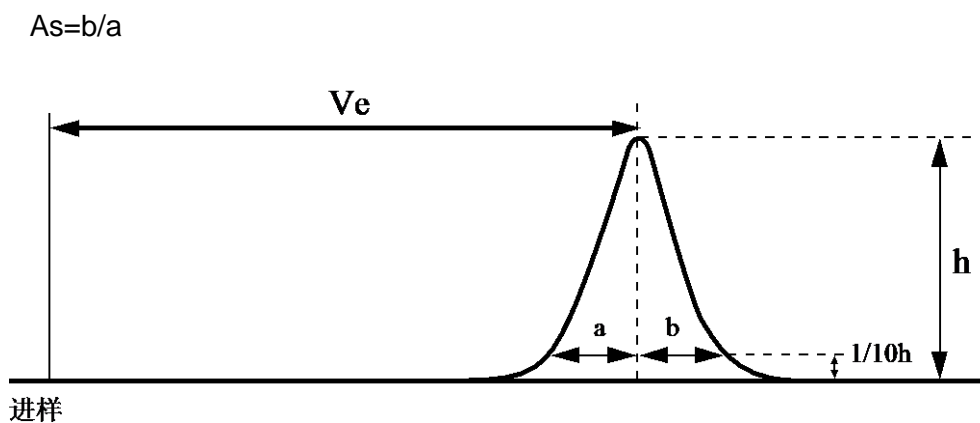


图 4 不对称因子的计算方法

9-2 测试条件

(1) 测试用流动相

产品名称	测试用流动相
TSKgel DEAE-5PW Glass	0.02 mol/L Tris-HCl 缓冲溶液 + 0.035 mol/L NaCl (pH 8.0)
TSKgel SP-5PW Glass	0.08 mol/L 磷酸缓冲溶液 (pH 3.5)
TSKgel CM-5PW Glass	10 mmol/L 醋酸缓冲溶液 (pH 4.5)

(2) 流速和色谱柱尺寸

流速 (mL/min)	色谱柱尺寸
	mm (I.D.) × cm (L)
0.8	5.0 × 5.0
1.0	8.0 × 7.5
6.0	20.0 × 15.0, 21.5 × 15.0

(3) 样品及其浓度

产品名称	样品	浓度 (mg/mL)
TSKgel DEAE-5PW Glass	5'-单磷酸胞苷 (Cytidine-5-monophosphate)	0.1
TSKgel SP-5PW Glass	胞苷 (Cytidine)	0.1
TSKgel CN-5PW Glass	胞苷 (Cytidine)	5.0

(4) 进样量和色谱柱尺寸

进样量 (μL)	色谱柱尺寸 mm (I.D.) × cm (L)
20	5.0 × 5.0
20	8.0 × 7.5
100	20.0 × 15.0, 21.5 × 15.0

(5) 检测器

检测器：UV-8000 (东曹)

波长：254 nm

(6) 测定温度：室温

10. 故障排除

表 4 常见问题和解决方案

问题	原因	解决方案
溶剂泄漏	末端接头和螺母的松脱	以 3 N·m 以下的扭矩拧紧末端接头。
压力过大	筛板堵塞	替换筛板或使用超声波清洗筛板。 请务必过滤缓冲溶液和样品。
	样品在色谱柱上沉淀	使用清洗溶剂缓慢清洗色谱柱。 (请参阅色谱柱的清洗步骤。)
分辨率下降 峰变宽 理论塔板数降低	色谱柱受到污染	使用清洗溶剂缓慢清洗色谱柱。 (请参阅色谱柱的清洗步骤。)
	柱头塌陷 柱头形成空隙	很难恢复其性能。

色谱柱的清洗步骤

请使用 0.1~0.2 N NaOH 清洗色谱柱。通常，采用进样的方式多次注入 1~2 mL 的 0.1~0.2 N NaOH 清洗色谱柱。如果该步骤无效，请使用 1~2 mL 的 20~40 % 的乙酸多次清洗色谱柱。

11. 质量标准和质量保证

货号	产品名称	色谱柱尺寸 mm (I.D.) × cm (L)	理论塔板数 (TP/柱)	不对称因子 (As)
0013061	TSKgel DEAE-5PW Glass	5.0×5.0	≧700	0.8~1.6
0008802	TSKgel DEAE-5PW Glass	8.0×7.5	≧1,300	0.8~1.6
0014016	TSKgel DEAE-5PW Glass	20.0×15.0	≧3,000	0.8~1.6
0013062	TSKgel SP-5PW Glass	5.0×5.0	≧700	0.8~1.6
0008803	TSKgel SP-5PW Glass	8.0×7.5	≧1,300	0.8~1.6
0014017	TSKgel SP-5PW Glass	20.0×15.0	≧3,000	0.8~1.6
0014010	TSKgel CM-5PW Glass	5.0×5.0	≧700	0.8~1.6
0014011	TSKgel CM-5PW Glass	8.0×7.5	≧1,300	0.8~1.6
0014012	TSKgel CM-5PW Glass	20.0×15.0	≧2,500	0.8~1.6

11-1 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。如果产品无法达到上表中所记载的性能，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。

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。