

正相色谱柱

TSKgel NH₂-100 3 μm

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。

注意事项：出厂溶剂

急救	吸入	<ul style="list-style-type: none">• 请将患者转移到空气清新的区域，并用清水反复清洗口部。• 请立即就医。
	皮肤接触	<ul style="list-style-type: none">• 请用肥皂水和清水反复冲洗接触位置。
	眼睛接触	<ul style="list-style-type: none">• 请尽量睁大眼睛，并用清水冲洗至少十五分钟。• 请立即就医。
	食入	<ul style="list-style-type: none">• 请立即用清水反复漱口，并立即就医。
操作和保存	通风	<ul style="list-style-type: none">• 请保证充分通风，确保空气中有机溶剂的浓度在规定范围。
	柱子操作	<ul style="list-style-type: none">• 野蛮操作可能会损坏柱子。
	佩戴适当的护具	<ul style="list-style-type: none">• 使用本产品时，请佩戴防溶剂手套和护目镜。操作本产品时，最好能够使用防毒面具、防护服和橡胶靴。
	保存	<ul style="list-style-type: none">• 运输或保存本产品时，如果使用了易燃溶剂，请远离火源和热源。
处理废弃物	处理方法	<ul style="list-style-type: none">• 请根据当地法律法规正确废弃。本产品可以进行焚烧处理。
	一般注意事项	<ul style="list-style-type: none">• 请务必遵守与本产品的操作和保存相关的所有安全注意事项。
	废弃时的注意事项	<ul style="list-style-type: none">• 焚烧含有乙腈的溶剂时，请采取适当的应对措施。焚烧时产生的废气可能含有氮氧化物。

出厂溶剂：CH₃CN/H₂O=85/15

注意事项：填料

急救	吸入	<ul style="list-style-type: none">• 请将患者转移到空气清新的区域，并用清水反复清洗口部。• 请立即就医。
	皮肤接触	<ul style="list-style-type: none">• 请用肥皂水和清水反复冲洗接触位置。
	眼睛接触	<ul style="list-style-type: none">• 请尽量睁大眼睛，并用清水冲洗至少十五分钟。• 请立即就医。
	食入	<ul style="list-style-type: none">• 请立即用清水反复漱口，并立即就医。
操作和保存	通风	<ul style="list-style-type: none">• 请保证充分通风，确保空气中有机溶剂的浓度在规定范围。
	柱子操作	<ul style="list-style-type: none">• 野蛮操作可能会损坏柱子。
	佩戴适当的护具	<ul style="list-style-type: none">• 使用本产品时，请佩戴防溶剂手套和护目镜。操作本产品时，最好能够使用防毒面具、防护服和橡胶靴。
	保存	<ul style="list-style-type: none">• 运输或保存本产品时，如果使用了易燃溶剂，请远离火源和热源。
处理废弃物	处理方法	<ul style="list-style-type: none">• 请根据当地法律法规正确废弃。
	一般注意事项	<ul style="list-style-type: none">• 请务必遵守与本产品的操作和保存相关的所有安全注意事项。
	废弃时的注意事项	<ul style="list-style-type: none">• 焚烧时产生的废气可能含有氮氧化物。

填料：氨烷基硅胶

目 录

1. 简介	1
2. 打开包装	1
3. 色谱柱部件	1
4. 安装色谱柱	2
5. 色谱柱的维护	3
6. 溶剂的选择和准备	3
7. 流速	4
8. 温度	5
9. 准备样品	5
10. 理论塔板数和不对称因子的计算方法	5
11. 保护柱	6
12. 故障排除	8
13. 质量标准和质量保证	8
14. 色谱柱清洗溶液	9

1. 简介

TSKgel NH₂-100 3 μm 系列色谱柱是一款高性能亲水作用液相色谱柱。使用前，请仔细阅读本使用说明书，确保正确使用色谱柱，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

1) 分析柱

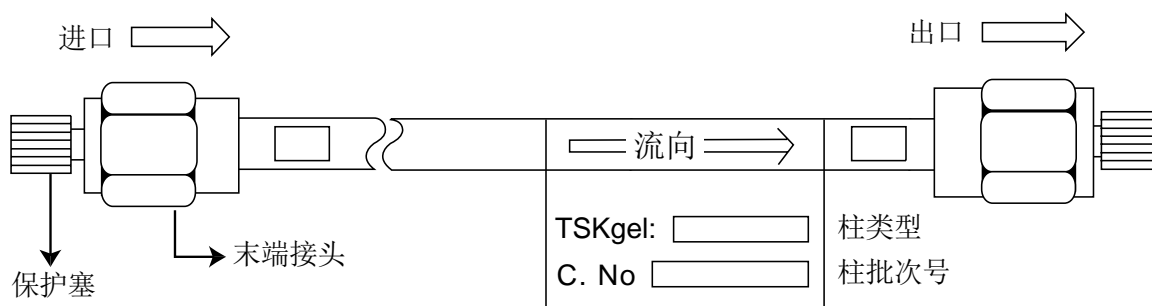
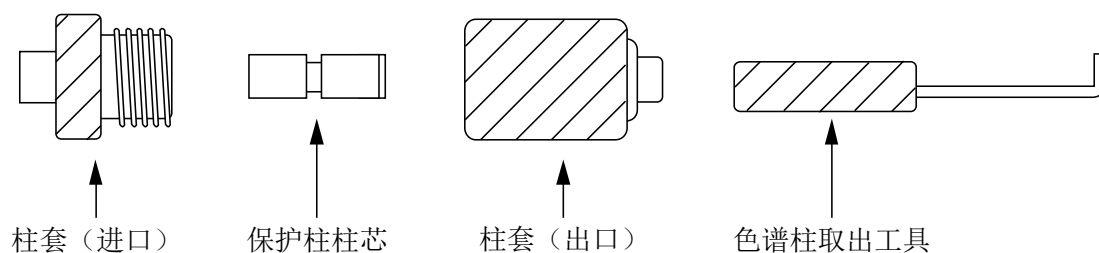


图 2 色谱柱部件（1）

2) 保护柱

3.2 mm (I.D.) × 1.5 cm (L)



2.0 mm (I.D.) × 1 cm (L)

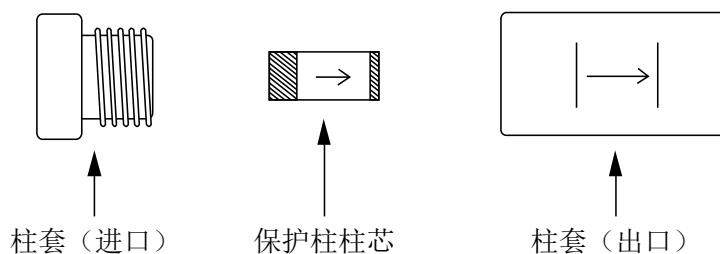


图 3 色谱柱部件 (2)

4. 安装色谱柱

- (1) 确认柱标牌上的产品名称正确无误。
- (2) 每根色谱柱都配有一个连接螺母用于连接 1/16 英寸的毛细管管路。连接螺母以美国标准的压缩接头和金属环方式设计的。
- (3) 根据图 2 中色谱柱柱标牌上的或蚀刻的箭头方向确认色谱柱的进液方向。仅可从进口侧向色谱柱中注入溶剂。只有按色谱柱上标示的进液方向进行进液时，才能获得色谱柱的最佳分辨率。
- (4) 请使用流动相清除管路中的所有空气，这有助于防止空气进入色谱柱。管路中的空气会对柱效造成严重影响。
- (5) 请先将溶剂的流速设置为实际流速的一半。确认系统中的溶剂可以顺畅地从管路末端流出。

- (6) 从色谱柱上取下保护塞，将进样器前面的管路连接到色谱柱的进口。请将管路完全插入压缩接头后再拧紧，确保将死体积降到最小。请务必将设备中的死体积降到最小。
- (7) 溶剂从色谱柱的出口侧流出后，请将色谱柱连接到检测器。
- (8) 以最终流速一半以下的流速注入溶剂，避免色谱柱受到突然的压力变化。
- (9) 色谱柱对压降的脉动式变化非常敏感。请使用没有脉冲的泵。
- (10) 使用前，请向色谱柱注入至少 10 倍柱体积的溶剂平衡色谱柱。
- (11) 如果含有机溶剂的水溶液或含有机溶剂的醋酸盐水溶液用作流动相，请安装保护柱并定期清洗分析柱，防止聚集杂质。请根据《11-3 更换保护柱》的内容更换保护柱和清洗分析柱。
- (12) 洗脱时间取决于填料上的氨基携带的对阴离子。注意，尤其是在使用 LC/MS 时，确保替换流动相时，已经充分交换了对阴离子。有关交换对阴离子的步骤，请参阅《6. 溶剂的选择和准备》。

5. 色谱柱的维护

- (1) 如果需要每天使用色谱柱，而且流动相不具有腐蚀性，色谱柱可直接流动相中过夜。如果流动相中含有卤素离子，则最好能够使用适当的溶剂（例如，检测报告中列举的出货溶剂）替换流动相。
- (2) 如果数天内不会使用色谱柱，请按以下步骤保存色谱柱：
 - a) 请以表 1 中的推荐流速一半的流速，使用检测报告中列举的出货溶剂保存色谱柱（如果使用了高盐的缓冲液作为流动相，请使用超纯水清洗设备）。
 - b) 请从设备上取下色谱柱，并使用随附的保护塞封住色谱柱的末端。
 - c) 请将色谱柱在温度相对稳定的环境下保存。保存时，请勿让色谱柱冷冻。
- (3) 反复从柱套上取下保护柱柱芯会降低保护柱的性能。推荐将保护柱两端盖上保护塞后保存在柱套中。

6. 溶剂的选择和准备

- (1) 色谱柱的出厂溶剂为 85 % 的乙腈水溶液。使用前，请使用适当的分析用流动相替换该溶剂。

将含有盐的溶液用作流动相时，请使用含 5 % 有机溶剂的盐溶液（如，200 mmol/L 甲酸铵 / 乙腈=95/5, v/v）清洗色谱柱至少 1 小时，以便充分交换填料上的氨基携带的对阴离子。

用于 LC/MS 时，请务必小心，确保充分交换了对阴离子。替换溶剂时，使用的流速应为正常流速的一半，或使用的压降应低于表 1 中的最大压降。注意，溶剂成分剧烈变化或频繁替换溶剂可能会降低色谱柱的寿命。

(2) pH 值范围：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，硅胶基质的官能团结合点受酸性溶液影响容易发生水解。pH 值高于 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，尤其是使用卤素物质时，钢制色谱柱会发生腐蚀。

(3) 应使用微孔过滤器（0.5 μm ）过滤溶剂，防止颗粒杂质进入色谱柱。颗粒杂质的污染会降低半微型色谱柱的性能。因此，强烈建议在泵和进样器之间安装孔径在 0.2~0.5 μm 之间的在线过滤器。

在线过滤器

部件货号 0014594 Filter assembly

部件货号 0006280 Fluoropore filter（0.45 μm ，100 枚/组）

(4) 应对溶剂进行脱气，确保溶剂可以顺畅地注入到色谱柱。

7. 流速

应根据所需分辨率、色谱柱寿命以及分析时间选择适当的流速。虽然 TSKgel NH₂-100 3 μm 色谱柱适用于高速分析，我们还是建议使用相对较低的流速操作色谱柱，这样可以提高分辨率和延长色谱柱的寿命。推荐流速和最大流速主要取决于流动相中的有机溶剂。首次使用 TSKgel NH₂-100 3 μm 色谱柱时，应按 6 cm/min 的线性流速设置体积流速（2.0 mm (I.D.) 为 0.20 mL/min，4.6 mm (I.D.) 为 1.00 mL/min）。如果在最大压降附近操作色谱柱，则会降低色谱柱的寿命。TSKgel NH₂-100 3 μm 色谱柱的最大压降如表 1 所示。选择流速时，也需要考虑溶剂的粘度。

表 1 流速和压降

货号	产品名称	色谱柱尺寸 mm (I.D.) × cm (L)	推荐流速 (mL/min)	最大压降 (MPa)
0021967	TSKgel NH ₂ -100 3 μm	2.0×5	0.2	15
0021968	"	2.0×15	0.2	20
0021969	"	4.6×5	1.0	5
0021970	"	4.6×15	1.0	15

8. 温度

色谱柱的最佳操作温度范围为 10~50 °C。

9. 准备样品

(1) 准备样品溶液

请用流动相稀释或溶解样品。请调整流动相的 pH 值、盐浓度等，使样品完全溶解，防止样品在色谱柱上沉淀，降低色谱柱的寿命。

(2) 清除不溶物

请使用微孔过滤器（0.5 μm）过滤样品溶液。即使在样品溶液中看不到任何杂质，也可能存在不溶物质。

10. 理论塔板数和不对称因子的计算方法

(1) 理论塔板数 (N) 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。

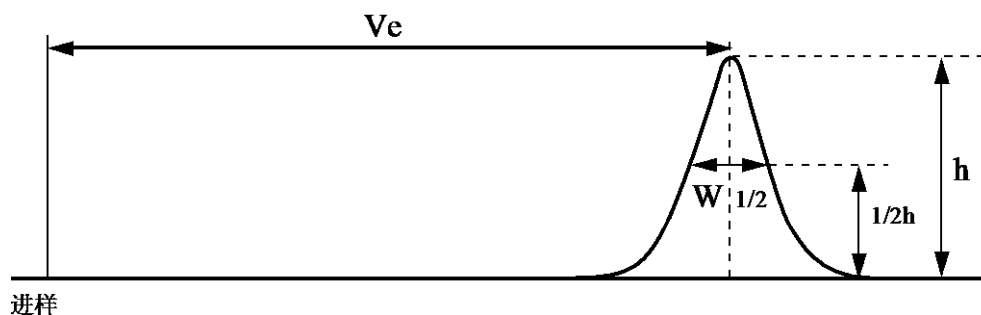


图 3 理论塔板数的计算方法

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

其中：

V_e : 洗脱时间

$W_{1/2}$: 半峰宽

h : 峰高

N : 理论塔板数/柱

(2) 不对称因子 (A_s) 的计算方法

通过 $1/10 h$ 法计算色谱柱的不对称因子 (A_s)。

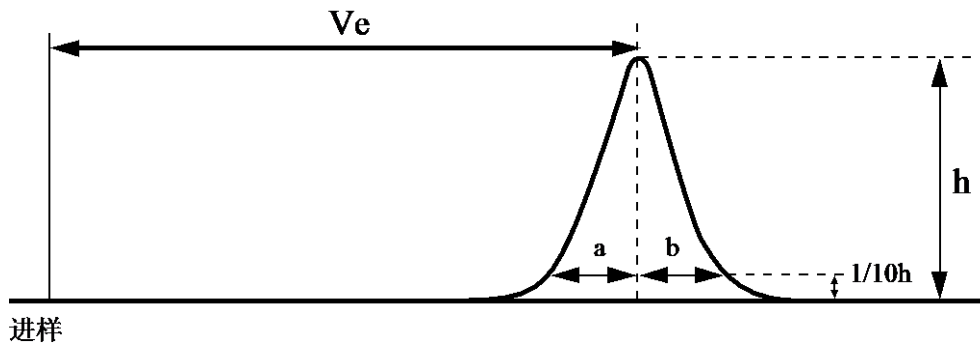


图 4 不对称因子的计算方法

$$A_s = b/a$$

(3) 测定 N 和 A_s 时，仪器的死体积应尽可能的小。

(4) N 和 A_s 及其测定条件如检测报告所示。

11. 保护柱

第 4~9 节概括了主要问题的应对方法。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，在进样阀和分析柱之间安装保护柱，可以保护色谱柱的性能。如果保护柱上吸附了大量的杂质导致柱效降低，请更换保护柱。但是，

不可将保护柱用于分析。安装保护柱后，不会增加分析柱的分辨率。

11-1 保护柱的作用

- (1) 通过清除样品中的吸附物和不溶物，可以防止污染分析柱。
- (2) 可以避免泵脉动引起的压降破坏分析柱。

11-2 保护柱的种类和选择

保护柱的具体规格如表 2 所示。

表 2 保护柱信息

货号	产品名称	保护柱尺寸 mm (I.D.) × cm (L)	适用的分析柱
0021971	TSKgel guardgel NH ₂ -100 3 μm	2.0×1	TSKgel NH ₂ -100 3 μm (2.0×5, 2.0×15)
0021972	TSKgel guardgel NH ₂ -100 3 μm	3.2×1.5	TSKgel NH ₂ -100 3 μm (4.6×5, 4.6×15)

注：每个包装盒中含有三根 TSKguardgel 保护柱柱芯。

柱套的具体规格如表 3 所示。

表 3 柱套信息

货号	产品名称	尺寸 mm (I.D.) × cm (L)
0019308	Cartridge holder (2.0×1)	2.0×1
0019018	Cartridge holder (3.2×1.5)	3.2×1.5

注：柱套还配有以下配件：两个螺母、两个金属环和两个短管。

另外，色谱柱取出工具的货号为 0019018。

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、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，如果测定数据发生异常，应立即更换保护柱。

如果含有机溶剂的水溶液或含有机溶剂的醋酸盐水溶液用作流动相，请在使用 70 小时（4.6 mm (I.D.) 色谱柱）或 40 小时（2.0 mm (I.D.) 色谱柱）后更换保护柱。另外，更换保护柱时，请清洗分析柱（4.6 mm (I.D.) 色谱柱），或每使用 20 小时清洗一次（2.0 mm (I.D.) 色谱柱）。请使用含 5% 有机溶剂的溶液（如，5% 乙腈水溶液）清洗色谱柱半小时，注意清洗时使用的流速应为正常流速的一半，或使用的压降应低于表 1 中的最大压降。

12. 故障排除

（1）进口过滤器堵塞

压降升高或流速降低表示进口过滤器发生了堵塞。此时，请向色谱柱中反向进液，清洗接头（流速必须低于表 1 中的流速的一半）。

（2）污染

长时间使用色谱柱，可能会逐渐聚集大量的强离子化合物或疏水性化合物。这会导致分析行为异常、分辨率降低。注入与流动相极性不同的溶剂可以清除色谱柱上吸附的杂质。

（3）柱头塌陷

如果没有正确清洗色谱柱，则会由于柱床压缩导致柱头塌陷。可以取下柱头确认柱床是否塌陷。

13. 质量标准和质量保证

13-1 检测报告

有关检测条件和检测结果的内容，请参见检测报告。其中，理论塔板数是指单根色谱柱的值。每

根色谱柱的检测结果是不同的。

13-2 质量标准

TSKgel NH₂-100 3 μm 的出厂标准见表 4。

13-3 质量保证

收到产品后, 请根据 10 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 4 中所记载的性能, 请在两周内联系当地东曹销售代表或东曹当地代理。

注: 色谱柱的寿命不属于保修范围。

表 4 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
0021967	TSKgel NH ₂ -100 3 μm	2.0×5	4,000	0.90~1.35
0021968	"	2.0×15	15,000	0.90~1.35
0021969	"	4.6×5	6,000	0.90~1.30
0021970	"	4.6×15	18,000	0.90~1.30

14. 色谱柱清洗溶液

(1) 疏水性杂质的清洗

水溶性有机溶剂, 如含 70~95 %乙腈或甲醇的溶液。

(2) 亲水性杂质的清洗

水溶性有机溶剂, 如含 5~10 %乙腈或甲醇的溶液。

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。