

水相分子尺寸排阻色谱柱

TSKgel PW 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

请将本说明书保存在本产品附近，以便日后参阅。

目 录

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

1. 简介

TSKgel PW 系列色谱柱是东曹株式会社开发的高效液相色谱柱，主要用于水相高效凝胶过滤色谱（GFC），适用于各类水溶性物质。该类色谱柱适用于水溶性合成聚合物、低聚物以及生物物质，如多糖、核酸、蛋白质、肽等的分析或制备。

请仔细阅读本使用说明书，确保正确、有效地使用该类色谱柱。

表 1 应用领域

应用领域	适用的色谱柱
水溶性合成聚合物 水溶性生物聚合物 多糖	G4000PW _(XL) , G5000PW _(XL) , G6000PW _(XL) , GMPW _(XL)
水溶性低聚物 肽	G2500PW _(XL) , G3000PW _(XL)
非离子低聚物（低聚糖）	G-Oligo-PW, G2000PW
核酸	G-DNA-PW

注：TSKgel G-Oligo-PW 和 G2000PW 可以在较宽的 pH 值范围内吸附离子型样品。因此，建议用于分析非离子型低聚物。

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

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

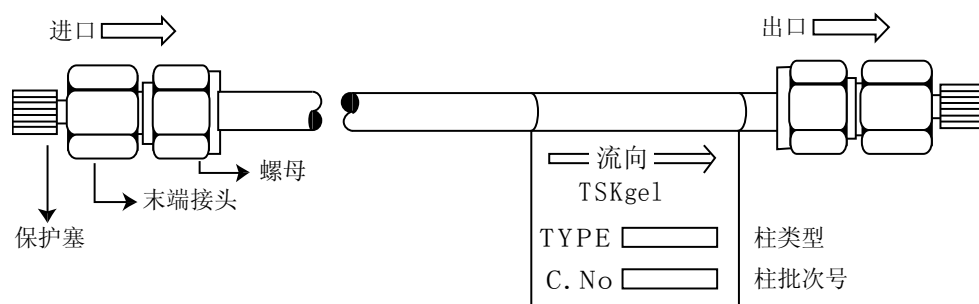


图 2 色谱柱部件

4. 安装

4-1 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量。

4-2 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。

4-3 防止气泡进入色谱柱

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。

4-4 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。（此时，请缓慢地注入溶剂，因为压力上升过快或溶剂的进液速度过快都会降低色谱柱的性能。）确认色谱柱进口侧流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。

4-5 串联色谱柱

串联多根色谱柱时，请按上述方法根据孔径由大到小的顺序进行连接，这样可以首先分离出分子量较大的分子，防止过载。请将互联的管路完全插入压缩接头后再拧紧，确保将死体积降到最小。最后，请将最后一根色谱柱的出口端连接到检测器。

4-6 测量之前

安装色谱柱后，即可开始测量。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。

4-7 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。必须使用没有波动的泵。如果使用了脉动式泵，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. 维护

5-1 高于室温时的测量

不要在测量结束后，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。

5-2 日常使用

如果需要每天使用色谱柱，且所用的缓冲液没有腐蚀性，则缓冲液也可以留在色谱柱中过夜。如果不可避免地使用了卤化物，即使只隔一晚，最好也能够使用纯水替换缓冲液。

5-3 短期保存（数天）

如果数天内不会使用色谱柱，请从设备上取下色谱柱。如果溶剂中不含任何腐蚀性的离子，请使用保护塞封住色谱柱的末端。如果溶剂中含有腐蚀性离子，如卤素，请在保存之前，使用纯水清洗色谱柱。

5-4 长期保存

如果长时间不使用色谱柱，请使用纯水替换溶剂。然后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（例如，超过 3 个月）时，请使用含有 0.05 %叠氮化钠的水溶液保存。

5-5 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℃以下冰箱中，以免冷冻色谱柱内的溶剂。

5-6 暴露于阳光直射

请勿将色谱柱直接暴露在阳光下。

5-7 腐蚀性气体

色谱柱的保存位置应避免腐蚀性气体。

6. 溶剂

6-1 替换溶剂

TSKgel PW 系列色谱柱的出厂溶剂为纯水。请使用流动相替换纯水。替换溶剂时采用的流速务必不要超过表 2 中的值。另外，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。

表 2 替换溶剂时的推荐流速

色谱柱	尺寸 mm (ID) × cm (L)	最大流速 (mL/min)
PW	21.5×30, 21.5×60	3.0
PW	7.5×30, 7.5×60	0.5
PW _{xL}	7.8×30	0.3
G-Oligo-PW	7.8×30	0.3
G-DNA-PW	7.8×30	0.3

6-2 选择溶剂

选择溶剂时，务必要考虑色谱柱的稳定性、样品的溶解度以及如何消除样品与填料之间的相互作用。

6-2-1 pH 值范围

室温下，PW 系列色谱柱适用的 pH 值的范围较大，为 2.0~12.0。硅胶基质的 SW 系列色谱柱适用的 pH 值范围为 2.5~7.5，与之相比，PW 系列色谱柱则在高 pH 值范围内具有更好的稳定性。

6-2-2 盐溶液和缓冲溶液

虽然有些非离子型化合物可以使用纯水进行测量，不过考虑到样品中可能存在离子杂质，一般都会使用盐溶液或缓冲溶液进行测量，从而抑制样品与填料之间的相互作用。具有代表性的可用溶液如下所示。

可用的水溶液。

盐溶液：硫酸钠水溶液，乙酸钠水溶液，磷酸二氢钠水溶液，醋酸铵水溶液，甲酸铵水溶液。

缓冲溶液：磷酸盐缓冲液，Tris-HCl 缓冲液，Tris-醋酸盐缓冲液，Tris-磷酸盐缓冲液，柠檬酸盐缓冲液，醋酸盐缓冲液。

水溶液的盐浓度一般应该保持在 0.5 M 以下，防止粘度上升（盐增多引起）和沉淀（温度变化引

起)。另外，使用不锈钢色谱柱时，为了延长色谱柱的寿命，应尽量避免接触卤离子。如果使用了此类盐溶液进行了测量，请在测量后，按照 5-3 项的内容清洗色谱柱。

6-2-3 有机溶剂

PW 系列色谱柱可以使用水溶性有机溶剂的水溶液，如甲醇、乙醇和乙腈。PW 系列凝胶在通常的水溶性有机溶剂中保持稳定的物理性质和化学性质，而且可以在甲醇、乙醇、乙腈、甲酸、二甲基亚砷等的水溶液中进行测量。

关于有机溶剂的浓度，考虑到填料可能会膨胀，最好能够将浓度保持在 20 % 以下。但是，如果能够小心地更换溶剂，也可以使用 50 % 的有机溶剂。更改洗脱液中有机溶剂的浓度时，由于浓度剧烈变化可能会降低柱效，所以请降低流速缓慢改变有机溶剂的浓度（最好能够使用一定的梯度进行更改）。如果需要大幅度更改浓度（例如，0 % → 30 ~ 50 %），请采用梯度法逐渐增加。

6-3 清除不溶物

应使用微孔过滤器（0.5 μm）过滤溶剂，防止堵塞柱头。

6-4 脱气

替换溶剂时可能会产生气泡（尤其是切换至含有有机溶剂的系统时）。使用前，应将溶剂充分脱气，防止形成气泡。

7. 流速

7-1 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，更有利于提高分辨率，尤其是在分析大分子物质。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（在色谱柱进口侧形成空隙的现象）。

7-2 推荐流速

在通常的水溶液中进行测量时，一般流速和压降都会比较正常。使用色谱柱时，请勿超过表 3 中限定的最大流速和压降。

表 3 流速

色谱柱	尺寸 mm(ID)×cm(L)	推荐流速 (mL/min)	最大流速 (mL/min)	最大压降 (MPa)
TSKgel G2000PW TSKgel G2500PW TSKgel G3000PW	7.5×30 7.5×60	0.5~1.0	1.2	2.0 (30 cm 色谱柱) 4.0 (60 cm 色谱柱)
TSKgel G4000PW TSKgel G5000PW TSKgel G6000PW TSKgel GMPW	7.5×30 7.5×60	0.5~1.0	1.2	1.0 (30 cm 色谱柱) 2.0 (60 cm 色谱柱)
TSKgel G2500PW _{XL} TSKgel G3000PW _{XL}	7.8×30	0.5~0.8	1.0	4.0
TSKgel G4000PW _{XL} TSKgel G5000PW _{XL} TSKgel G6000PW _{XL} TSKgel GMPW _{XL}	7.8×30	0.3~0.6	1.0	2.0
TSKgel G2000PW TSKgel G2500PW TSKgel G3000PW TSKgel G4000PW TSKgel G5000PW TSKgel G6000PW	21.5×60	1.0~6.0	8.0	2.0
TSKgel G-Oligo-PW	7.8×30	0.5~0.8	1.0	4.0
TSKgel G-DNA-PW	7.8×30	0.2~0.5	1.0	2.0

注：以上流速仅适用于纯水或粘度与纯水相近的水溶性溶剂。

如果使用的溶剂粘度较高，请降低流速。

8. 温度

8-1 温度范围

PW 系列色谱柱的最佳使用温度为 10~80 °C（中性水溶液）。

8-2 高温条件下测量

使用前，请将溶剂充分脱气。高温条件下的测量结束后，请根据 5-1 项中的方法进行操作。

8-3 高温条件下测量的优点

高温测量的优点包含以下几点：

- i) 提高溶剂的温度可以降低粘度。
- ii) 与室温测量相比，提高了理论塔板数和分辨率。
- iii) 可以降低吸附。

8-4 低温条件下测量

此时，将会出现与以上说明的优点相反的缺点。另外，由于溶剂或样品的粘度变大，因此需要将流速调整到室温操作时的流速以下。

9. 准备样品

9-1 准备样品溶液

请用流动相溶解样品。如果流动相无法溶解样品，请将样品溶液的 pH 值以及盐的浓度等尽可能调整得与流动相一致。

9-2 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

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。

10-1 理论塔板数的计算方法

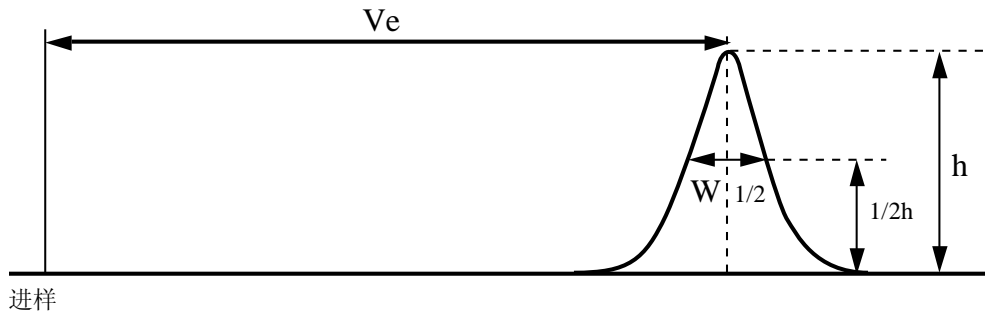


图 3 理论塔板数的计算方法

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 : 洗脱液体积 (分钟)

$W_{1/2}$: 半峰宽 (分钟)

h : 峰高

N : 理论塔板数 / 柱

10-2 不对称因子的计算方法

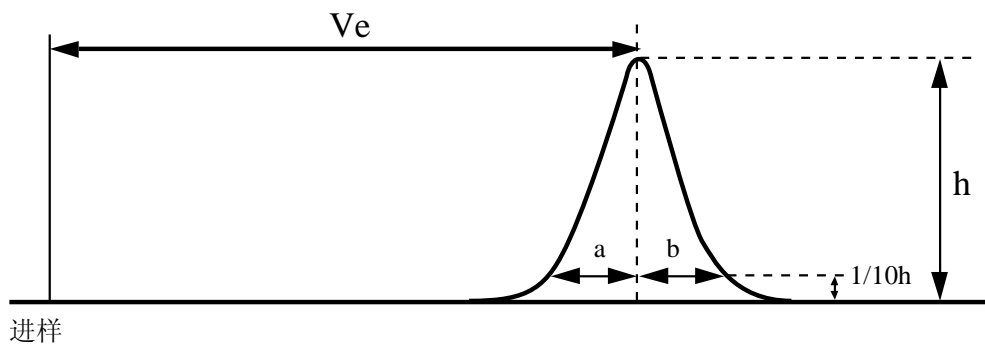


图 4 不对称因子的计算方法

通过峰高 10 %处计算色谱柱的不对称因子 (A_s)。

$$A_s = b/a$$

10-3 死体积

测量 N 和 A_s 时，仪器中的死体积应尽可能的小。如果死体积或进样量过大，则理论塔板数可能会低于标准值。

11. 保护柱

第 4~9 节概括了主要问题的应对方法。但是，如果样品溶液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，可在色谱柱前面安装保护柱，并在由于吸附杂质而造成柱效降低时更换保护柱，进而可以恢复色谱柱的原始柱效。为了最大限度地应对这类问题，请尽可能地使用保护柱。但是，不可将保护柱用于分析。安装保护柱后，不会增加分辨率。使用保护柱只是为了防止问题的发生。

11-1 安装保护柱的效果

- 1) 防止泵脉动、流速和压降的异常升高引起的柱头塌陷。
- 2) 通过清除吸附物，可以防止污染分析柱。
- 3) 通过清除不溶物，可以保护分析柱。

11-2 保护柱的种类和选择

保护柱的具体规格如表 4 所示。PW 系列色谱柱的尺寸和型号不同，保护柱的规格也不同。请根据表 4 所示的规格选择正确的保护柱，确保可以获得最佳的性能。

表 4 保护柱

货号	产品名称	尺寸 mm (ID) × cm (L)	流动相	对应的色谱柱
06763	TSK guardcolumn PWL	7.5×7.5	H ₂ O	G2000PW (分析)
06762	TSK guardcolumn PWH	7.5×7.5		G2500PW~G6000PW, GMPW (分析)
06757	TSK guardcolumn PWL	21.5×7.5		G2000PW (制备)
06758	TSK guardcolumn PWH	21.5×7.5		G2500PW~G6000PW (制备)
08033	TSK guardcolumn PW _{XL}	6.0×4.0		G2500PW _{XL} ~G6000PW _{XL} , GMPW _{XL}
08034	TSK guardcolumn Oligo	6.0×4.0		G-Oligo-PW

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（分析或初步分离）、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，如果测量数据发生异常，应立即更换保护柱。

11-4 再生保护柱

使用至少以下一种溶剂冲洗吸附的杂质，可以再生保护柱。

- 1) 高盐浓度的缓冲液（0.5 mol/L~1.0 mol/L）；
- 2) 低 pH 值（2~3）或高 pH 值（9~12）的缓冲液；
- 3) 含有有机溶剂如甲醇、乙腈的缓冲液；
- 4) 含有增溶剂如尿素、SDS 或其他表面活性剂的缓冲液。

保护柱可以再生并重复使用。

12. 故障排除

按照第 4~9 和 11 节的说明仔细操作，大部分问题都可以避免。另外，正确使用保护柱也非常有效。但是，如果发生了故障，请按照以下步骤进行操作。

12-1 末端接头堵塞

如果压降增加和流速降低，则表示发生了堵塞。此时，请向色谱柱中反向进液，清洗接头（流速必须低于表 2 中的值）。如果无法清除堵塞，请按照以下步骤替换新的接头。

- a) 准备一个新的末端接头，并从色谱柱上取下堵塞的末端接头。
- b) 注意不要碰到填料。将旧接头里的填料转移到新的接头中。
- c) 将新的末端接头安装到色谱柱上。
- d) 将色谱柱反向连接到泵上，清除进口侧的空气（请参照 4-4 节）。
- e) 将色谱柱按正常流向连接，并通过测量理论塔板数和不对称因子测试柱效。

12-2 污染

长时间使用色谱柱分析复杂的样品，可能会逐渐聚集大量的强离子化合物或疏水性化合物，这主要表现在色谱分析行为的变化以及分辨率的降低。使用 11-4 节说明的溶剂进行冲洗，可以清除色谱柱上吸附的杂质。

12-3 色谱柱柱头塌陷

压力上升过快、使用的流速超过最大流速、脉动式进液、频繁替换溶剂等都可能使色谱柱柱头塌陷。此时，理论塔板数（N）会剧烈降低（正常塔板数的 30 % 或以下），而且单分散性样品也更容易形成拖尾峰。

请取下色谱柱并检查是否有空隙，如果发现空隙，请用 TSK top-off gel 填充。这样就可以恢复色谱柱的性能。如果该方法无效，则该色谱柱已经无法还原，请替换为新的色谱柱。如表 5 所示，TSK top-off gel 共有两种型号，TSK topoffgel PW_{XL} 和 TSK topoffgel PW。前者用于 PW_{XL} 系列色谱柱，后者用于 PW 系列色谱柱。

表 5 Top off gel

货号	产品名称	包装
08035	TSK topoffgel PW	1 mL
08036	TSK topoffgel PW _{XL}	1 mL

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。理论塔板数是指单根色谱柱的结果。

13.2 质量标准

PW 系列色谱柱的出厂标准如下所示。（请参见表 6）

13-3 质量保证

收到产品后，请立即根据第 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 6 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。

表 6 TSKgel PW 色谱柱

货号	产品名称	尺寸 mm(ID)×cm(L)	理论塔板数	不对称因子	流动相
05761	TSKgel G2000PW	7.5×30	5,000	0.7~1.6	H ₂ O
08028	TSKgel G2500PW		5,000		
05762	TSKgel G3000PW		5,000		
05763	TSKgel G4000PW		3,000		
05764	TSKgel G5000PW		3,000		
05765	TSKgel G6000PW		3,000		
08026	TSKgel GMPW		3,000		
05105	TSKgel G2000PW	7.5×60	10,000	0.7~1.6	H ₂ O
08029	TSKgel G2500PW		10,000		
05106	TSKgel G3000PW		10,000		
05107	TSKgel G4000PW		6,000		
05108	TSKgel G5000PW		6,000		
05109	TSKgel G6000PW		6,000		
08027	TSKgel GMPW		6,000		
05150	TSKgel G2000PW	21.5×60	10,000	0.7~1.6	H ₂ O
08030	TSKgel G2500PW		10,000		
05151	TSKgel G3000PW		10,000		
05152	TSKgel G4000PW		6,000		
05153	TSKgel G5000PW		6,000		
05154	TSKgel G6000PW		6,000		
08020	TSKgel G2500PW _{XL}	7.8×30	16,000	0.7~1.6	H ₂ O
08021	TSKgel G3000PW _{XL}		16,000		
08022	TSKgel G4000PW _{XL}		10,000		
08023	TSKgel G5000PW _{XL}		10,000		
08024	TSKgel G6000PW _{XL}		7,000		
08025	TSKgel GMPW _{XL}		7,000		
08031	TSKgel G-Oligo-PW	7.8×30	16,000	0.7~1.6	H ₂ O
08032	TSKgel G-DNA-PW	7.8×30	10,000	0.7~1.6	H ₂ O

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。