

Shodex 色谱柱使用说明书

GPC KF-800/K-800 系列

<重要>使用上的注意

Shodex GPC KF 系列，K 系列色谱柱在使用中，除了遵守一般色谱柱的使用注意事项外，还请特别注意以下几点。

警告 氯仿等含有氯元素的溶剂含有毒性，使用时请注意通风，避免身体碰触，并废弃在专用地方。

警告 配合色谱柱使用的溶剂以及药品，请遵守溶剂和药品的使用注意事项，避免泄漏事故和损害健康。

注意 请一定要在规定的压力、流量、温度范围内使用。即使是瞬间超出压力、流量范围也有可能造成色谱柱损坏。使用范围请参考下表。

	KF-800, K-800	KF-2000, K-2000
最大使用压力（一支色谱柱）	3.5Mpa	2.0Mpa
最大使用流量	2.0ml/min	4.5ml/min
最大使用温度	60℃	60℃

注意 KF 系列请使用 THF，K 系列请使用氯仿做流动相。请不要使用水，乙醇，己烷等会使聚苯乙烯填料收缩的流动相。1-3-2 的注意事项请认真阅读。

I.Shodex GPC KF 系列、K 系列使用方法

1. 前言

(1)测定对象

Shodex GPC KF 系列、K 系列色谱柱适合进行有机溶剂系的有机物和寡糖的分离，对高分子物质的分子量分布测试也很适用。

(2)色谱柱种类

根据填充剂粒子孔径的不同分为 8 种不同类型的色谱柱。因为每款色谱柱的排阻限都不同，请根据样品的分子量选择合适的色谱柱。另外，还有用混合粒子填充的校正曲线直线范围非常广泛的色谱柱 12 种。

(KF-800L,K-800L,,KF-806M,K-806M)

其中，-800L 系列是从低分子到高分子校正曲线都为直线的线性色谱柱。

2. 色谱柱的使用

表 1 Shodex GPC KF 系列、K 系列的规格

色谱柱型号		尺寸	排阻限	分离范围	理论塔板数
		(内径×长度)	分子量		(TP/column)
KF-801	K-801	8×300mm	1.5×10^3	100~1,500	>16000
KF-802	K-802	8×300mm	5×10^3	150~5,000	>16000
KF-802.5	K-802.5	8×300mm	2×10^4	250~ 2×10^4	>16000
KF-803	K-802.5	8×300mm	7×10^4	400~ 7×10^4	>16000
KF-803L	K-803L	8×300mm	7×10^4	100~ 7×10^4	>16000
KF-804	K-804	8×300mm	4×10^5	500~ 4×10^5	>16000
KF-804L	K-804L	8×300mm	4×10^5	100~ 4×10^5	>16000
KF-805	K-805	8×300mm	4×10^6	5,000~ 5×10^6	>10000
KF-805L	K-805L	8×300mm	4×10^5	100~ 5×10^6	>10000
KF-806	K-806	8×300mm	2×10^7	1×10^4 ~ 2×10^7	>10000
KF-806L	K-806L	8×300mm	2×10^7	100~ 2×10^7	>10000
KF-806M	K-806L	8×300mm	2×10^7	500~ 2×10^7	>12000
KF-807	K-807	8×300mm	2×10^8	3×10^4 ~ 2×10^8	>5000
KF-807L	K-807L	8×300mm	2×10^8	100~ 2×10^8	>5000
KF-G	K-G	4.6×10mm	保护柱	保护柱	保护柱
KF-2001	K-2001	20×300mm	1.5×10^3	100~2,500	>17000
KF-2002	K-2002	20×300mm	5×10^3	150~5000	>17000
KF-2002.5	K-2002.5	20×300mm	2×10^4	250~ 2×10^4	>17000
KF-2003	K-2003	20×300mm	7×10^4	400~ 7×10^4	>17000
KF-LG	K-LG	8×50mm	保护柱	保护柱	保护柱

- 806~807,806L~807L 还有 806M 的排阻限为推定值。
- 分离范围、分离可能分子量范围和校正曲线的直线范围不同。上限是排阻限的分子量，下限是校正曲线直线部分的延长线读取的苯的溶出量所对应的分子量。

填充剂材质：苯乙烯-二乙烯基苯共聚物

填充剂粒径：6 μm (804 为 7 μm, 805~806M 为 10 μm)

出库时封入液：THF(KF 系列)、氯仿 (K 系列)

色谱柱材质：SUS-316

排阻限分子量测定样品：聚苯乙烯

理论塔板数测定条件：

	KF-800	K-800	KF-2000	K-2000
样品	丙基苯	丙基苯	丙基苯	丙基苯
样品浓度	0.2%THF 溶液	0.2%氯仿溶液	0.4%THF 溶液	0.4%氯仿溶液
注入量	20 μl	20 μl	200 μl	200 μl
流动相	THF	氯仿	THF	氯仿
流量	1.0ml/min	1.0ml/min	4.0ml/min	4.0ml/min
检测器	UV-254nm	UV-254nm	UV-254nm	UV-254nm
色谱柱温度	室温	室温	室温	室温

3. 色谱柱的使用方法

3-1. 标准使用条件

流动相：THF(KF 系列)、氯仿（K 系列）

流量：1.0ml/min

色谱柱温度：40℃左右

色谱柱支数：根据实验目的、样品的不同一般选择 2~4 根色谱柱串联使用。

3-2. 流动相的选择方法

(1)KF 系列

请使用 THF（四氢呋喃）作为流动相。

警告 THF 容易生成过氧化物，浓缩时有爆炸的危险。浓缩制备样品时，需要特别注意。

注意 THF 很容易吸收空气中的水分，请避免使用存放时间过长的 THF。并且请将 THF 密封保存避免其吸收空气中的水分。

参考 如下图所示使用吸湿管非常有效果。

THF 请加入稳定剂（BHT）使用。不推荐使用不含稳定剂的 THF 来进行液相色谱试验。

(2)K 系列

请使用氯仿作为流动相。

警告 氯仿等含有氯元素的溶剂含有毒性，使用时请注意通风，避免身体碰触，并废弃在专用地方

(3)溶剂置换

使用 KF 系列时想用氯仿作为流动相、或者使用 K 系列时想用 THF 作为流动相时，又或者想使用其他的溶剂比如 MSDS、氯甲烷等作为流动的时候，需要把色谱柱中的溶剂置换后再使用。KF 系列、K 系列能够使用的溶剂请见下表。

THF(四氢呋喃)-----A	DMF-----C
氯仿-----A	DMAC-----C
四氯化碳-----B	HFIP-----D
四氯乙烯-----A	M-甲酚-----C
四氯乙烷-----C	o-氯酚-----C
苯-----A	喹啉-----C
MSDS-----A	甲基吡咯烷酮-----C
二甲苯-----B	DMSO-----E
O-二氯苯-----C	30% <i>m</i> -甲酚/氯仿-----B
三氯苯-----C	30% <i>o</i> -氯酚/氯仿-----B
二氧六环-----B	醋酸乙酯-----C
己烷-----F	丙酮-----C
乙醇类-----F	丁酮-----C
水-----F	

A~F 的意思如下

A: 全部能够置换

B: 802,2002 以上的型号可以置换。801,2001 型号不推荐置换。

C: 803 以上型号和 2003 可以置换。802,803L, 2002 以下型号不推荐置换。

D: 804 以上的型号可以置换。803 以下 803L 还有 2003 不推荐置换。

E: 全部的型号不推荐置换。

F: 绝对不可以使用

注意 溶剂置换前, 请先用色谱柱内溶剂和需要置换的溶剂 1:1 的溶剂置换, 然后再置换成所需溶剂。

注意 溶剂置换时请控制流速 0.3ml/min 以下。(—2000 系列 1.3ml/min 以下)

注意 溶剂置换时, 请把色谱柱加温到 40~60℃ 使用。

注意 溶剂置换有可能造成色谱柱性能劣化。建议尽量使用同一种溶剂。

注意 溶剂置换后请使用置换后的溶剂保存色谱柱。

3-3 测定流量

通常情况下, 请使用 1.0ml/min (—2000 系列请使用 3.5ml/min) 或者其以下的流量。一般来说流量越小越能得到良好的分离效果。特别是测定高分子的情况下, 使用 1.5ml/min (—800 系列) 以上流量的话, 可能会切断高分子所使实际测得的分子量变小。

3-4 色谱柱的温度

一般情况下请在 40℃ 左右使用。色谱柱温度的变化会使样品的溶出时间发生改变。请测试时尽量保持温度恒定, 推荐使用色谱柱恒温槽。

注意 请不要超过色谱柱最高使用温度 60℃。

3-5 色谱柱的组合

使用一支色谱柱分离不完全的情况下, 可以使用多支同种色谱柱串联来达到良好的分离效果。GPC 分离模式一般选择 2~4 支色谱柱串联。

测定分子量范围广泛的样品时, 需要使用不同型号的色谱柱串联。这样有可能导致无法得到直线校正曲线, 可以使用混合填料色谱柱 L 型、M 型。

①803L……………相当于 802、802.5、803 组合

②804L……………相当于 802、802.5、803、804 组合

③805L……………相当于 802、802.5、803、804、805 组合

④806L……………相当于 802、802.5、803、804、805、806 组合

⑤807L……………相当于 802、802.5、803、804、805、806、807 组合

⑥806L……………相当于 803、804、805、806 组合

4. 样品的前处理

(1)分子量 1,000,000 以上的样品溶解, 请先将样品置于和流动相一样的溶剂中半天到一天, 确保样品全部浸润。然后再缓慢搅拌使样品完全溶解。

(2)橡胶、柏油等不溶物比较多的样品, 可以尽量调高检测器的灵敏度, 减少样品的注入量。这样能延长色谱柱的寿命。

(3)800 系列的色谱柱的注入量为一支 50~100 μ l。虽然样品的浓度为 0.05~0.5% 比较合适，但是根据样品的分子量和粘度，最适合的浓度可能发生变化。一般来说分子量和最适浓度的关系如下

分子量范围	浓度 (W/V%)
—5,000	$\leq 1.0\%$
5,000—25,000	$\leq 0.5\%$
25,000—200,000	$\leq 0.25\%$
200,000—2,000,000	$\leq 0.10\%$
2,000,000—	$\leq 0.05\%$

测定高分子样品时，样品的浓度过高会导致无法测得正确的分子量分布，所以样品尽量稀浓度为宜。

(4)2000 系列，一般有机物的浓度在 10% 以下一支色谱柱的注入量 3ml 比较合适。高分子物质的样品浓度在 1% 以下，注入量 6ml 比较合适。

(5)含有水、乙醇、己烷等的样品，请在除去这类物质后，再注入色谱柱。

5. 故障处理

(1)请先认真阅读 3、4 的注意事项，确认有无正确使用。

(2)请参考 2 的[理论塔板数的测定条件。如果峰型正常，理论塔板数并没有比色谱柱出库时降低，那么故障产生的原因不在于色谱柱本身。

(3)色谱柱压力上升时，把色谱柱逆接，使用流动相冲洗可能可以恢复。

6. 保存时的色谱柱封入溶剂

请用前次试验使用的流动相来保存色谱柱。然而，那些保存时会固固化的溶剂需要置换成色谱柱出库时的封入液后保存。