



**BESTCHROM**

博 格 隆

# Bestdex LH- 20 系列葡聚糖凝胶 使用说明书



# 目 录

1、产品简介 .....	1
2、技术参数 .....	1
3、使用方法 .....	2
4、分离效果的影响因素 .....	5
5、在位清洗 .....	6
6、灭菌 .....	6
7、储存 .....	6
8、销毁及回收 .....	6
9、订货信息 .....	6

## 1、产品简介

Bestdex LH-20 是在葡聚糖凝胶 Bestdex G-25 的基础上用羟丙基修饰而成的，引入羟丙基后使得该介质同时具备亲水性和亲脂性，可以使用有机溶剂作为流动相，适合于中药有效成分的分离纯化以及抗生素和化学药物的精细纯化。分离原理结合了凝胶过滤、分配层析、吸附层析的特点，能分离结构非常接近的分子。

## 2、技术参数

外观	白色至灰白色球形粉末
基架	葡聚糖凝胶
颗粒大小（干） <sup>+</sup>	30~120 $\mu$ m
平均颗粒大小（干） <sup>++</sup>	75 $\mu$ m
平均颗粒大小（湿）	在不同溶液中的溶胀比不同，对应颗粒大小也不同
排阻极限球蛋白	4~5KD
最大线性流速	700cm/h
耐压	0.3MPa
化学稳定性	在水和多数有机溶剂体系中稳定 在 pH2 以下不稳定，对强氧化剂也不稳定
pH稳定性	2~13
使用温度	使用温度 2~40 $^{\circ}$ C
推荐线性流速范围	60cm/h

+颗粒大小呈正态分布，在该范围内的颗粒占总数的 85%以上

++不同溶液中会有差异，本数据为在 PBS 中颗粒大小

Bestdex LH-20 在不同溶剂中溶胀比

溶剂	溶胀比	溶剂	溶胀比
二甲基亚砷	4.4~4.6	丙醇	3.7~4.0
吡啶	4.2~4.4	乙醇	3.6~3.9
水	4.0~4.4	异丁醇	3.6~3.9
二甲基甲酰胺	4.0~4.4	甲酰胺	3.6~3.9
甲醇	3.9~4.3	二氯甲烷	3.6~3.9
二氯乙烯	3.8~4.1	丁醇	3.5~3.8
氯仿	3.8~4.1	异丙醇	3.3~3.6
四氢呋喃	3.3~3.6	丙酮	2.4~2.6
乙腈	2.2~2.4	/	/

注：溶胀比为每克干粉溶胀后的体积（mL）。

### 3、使用方法

由于介质是以干粉的方式提供的，所以需要先溶胀，然后装填层析柱后使用。

#### 3.1 溶胀

- 用量计算：根据计划装填的层析柱的柱体积计算需要的 Bestdex LH-20 干粉的量。  
 干粉的量 (g) = (柱体积×1.15) ÷溶胀比。
- 将介质倒入 5 倍干粉重量的相应溶剂中并稍作搅拌，溶胀一般需要 4h 以上（注意在溶胀过程中不要使用磁力搅拌子搅拌，使用磁力搅拌子会导致介质颗粒破裂），常温溶胀后最好在负压下脱气。
- 溶胀完成后（高温溶胀需等到冷却到室温），去掉部分上层清液，使沉降胶的体积占总体积的 50%~75%，搅匀备用。

#### 3.2 装柱

- ★ 注意：由于 Bestdex LH-20 经常在有机溶剂下使用，请确保您所使用的层析柱能耐受相应的有机溶剂。高浓度的有机溶剂会导致实验室型 BXK 柱子外壳破裂，在装柱过程中注意不要让有机溶剂接触到实验室型 BXK 柱子外壳。
- ★ 在使用二氯甲烷或者三氯甲烷装柱时，介质会浮在液体表面，可以采用双柱头从下向上装柱。



- 采用与溶胀液一致的液体作为装柱缓冲液。
- 取清洗干净的 BXK 层析柱 (BXK 系列层析柱的直径从 1 厘米到 30 厘米的不同规格可以满足不同规模大小的层析应用), 利用装柱溶液通过层析柱排液口排净下筛网内气泡, 在柱子底部保留 1cm 高左右的装柱液, 拧紧下堵头, 调整柱子使其垂直于地面。
- 将搅匀后的胶悬液一次性缓慢倒入层析柱内 (必要时使用装柱器), 注意不要带入气泡。

**装柱器: 与 BXK 柱相同直径的空柱管。**

- ◇ 用装柱液将装柱器加满, 将装柱器与层析系统连接, 开启流速, 排空软管中气泡, 关闭流速, 再拧紧装柱器上盖。

**注: 此操作仅用于 BXK 50 及以下层析柱。**

- ◇ 倒入后用搅胶棒再次搅匀, 然后用装柱液沿内壁从上而下冲洗柱子上的介质颗粒, 让介质自然沉降, 直至悬液上有大约 1cm 澄清液。安装上柱头, 将上柱头与层析系统或者蠕动泵连接。调节适配器使其下降到与澄清液接触, 待密封圈全部浸入澄清液后拧紧密封圈。确保层析柱顶部阀门打开情况下, 慢慢下移适配器至所有气泡排净。

**注: 此操作仅用于 BXK 100 及以上层析柱。冲洗内壁可减少介质颗粒粘在密封圈和柱壁之间, 避免泄漏风险。**

- 设定装柱流速, 由于 Bestdex LH-20 凝胶硬度比较大, 流速和压力几乎成正比, 在 3Bar 以内的压力下不会对介质造成破坏, 应以尽可能大的流速完成装柱。
- 打开柱子下端封头, 按照上面设定的流速启动蠕动泵或者层析系统。设定柱内压力小于层析柱最大耐压, 若在装柱过程中超压, 需要适当降低流速。
- 待胶悬液沉降完成需要再保持 30min 以上, 标记胶面的位置, 然后停泵。
- 去掉装柱器 (如有), 装上上柱头, 将柱头下降至胶面上约 0.5cm 的位置, 按照上面的流速继续压柱至胶面清晰稳定, 标记胶面稳定时的柱高。
- 停泵, 打开柱头上的阀门/堵头, 关闭柱底的阀门/堵头, 稍微放松柱头密封圈, 下压柱头至标记位置下面约 0.3cm, 旋紧柱头密封圈, 关闭柱头阀门/堵头, 装柱完成。

### 3.3 柱效测定和评价

- 通过柱效测定和评价可以确认层析柱装填质量。装柱完成后、层析柱使用期间以及分离纯化效果不理想时都需要进行柱效测定和评价。柱效通常用理论塔板高度（HETP）和非对称因子（As）来评价。
- 柱效测定可以采用丙酮或者NaCl作为样品进行测定，按照下表配制样品溶液和流动相。

	丙酮法测柱效	NaCl法测柱效
样品	1.0% (v/v) 丙酮水溶液	0.8M NaCl (溶于水)
样品体积	1.0%柱体积	1.0%柱体积
流动相	纯化水	0.4M NaCl水溶液
流速	30 cm/h	30cm/h
检测器	UV 280 nm	电导率

- HETP 和 As 计算方法

根据UV或者电导率曲线计算理论塔板高度（HETP）、理论塔板数（N）和非对称因子（As），公式如下：

$$HETP=L/N$$

$$N=5.54(V_R/W_h)^2$$

其中：V<sub>R</sub>=保留体积

W<sub>h</sub>=半高峰宽

L=柱高

N=理论塔板数

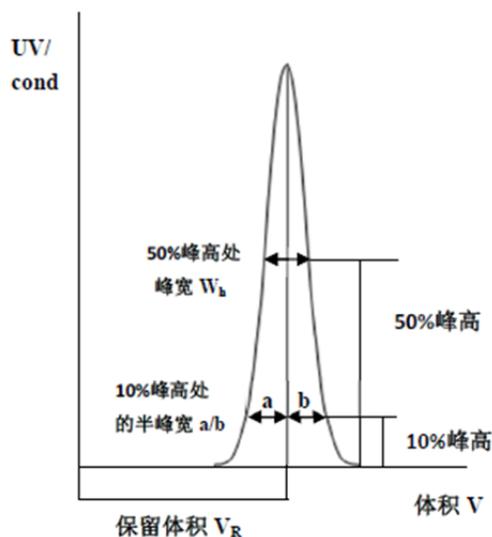
V<sub>R</sub>和W<sub>h</sub>的单位应一致；

$$As=b/a$$

其中：

a= 在10%峰高处的第一个半峰宽

b= 在10%峰高处的第二个半峰宽



- 结果评价

一般来说，HETP 的数值若大于三倍溶胀后的介质平均颗粒大小且非对称因子在 0.8~1.8 之间，说明柱效良好。对于不理想的柱效结果需分析原因并重新装柱。

### 3.4 层析方法

- 缓冲液选择: Bestdex LH-20 可以在各种水相或者有机相中运行, 根据被分离物质的性质和分配层析的原理选择流动相, 常选用乙酸乙酯、甲醇、水三种物质的混合溶液, 根据目的物的出峰时间调整流动相中各物质的比例。
- 流速: 以柱高 80cm 为例, 一般推荐的流速约为 30~90cm/h, 柱高越大流速越慢。
- 样品准备: 为防止样品堵塞柱子, 在上样前样品需要用 0.45 $\mu$ m 的微孔滤膜过滤。
- 平衡: 用平衡缓冲液冲洗层析柱, 待出口的缓冲液的 pH 和电导与进入层析柱之前的缓冲液一致即表示层析柱平衡完成, 一般需要 2~5 个柱体积。如果更换溶剂, 应注意介质在新溶剂中的溶胀特性, 并相应地调整适配器的位置。
- 上样: 通过层析系统的上样环等装置将样品加载到层析柱上, 上样的体积根据目的物和杂质的分子大小不同或者分离方式不同有所不同, 上样体积通常按照柱体积的 1~2%进行上样。
- 洗脱: 根据样品组成情况设定洗脱流速 (建议 1~10cm/h) 进行洗脱, 流速越小分离效果越好。
- 再生: 用平衡缓冲液清洗层析柱 2~3 个柱体积。
- 再平衡: 用平衡缓冲液清洗, 待 pH 和电导率与平衡缓冲液基本一致, 就可以进行第二次上样, 如此重复。

## 4、分离效果的影响因素

Bestdex LH-20 凝胶介质分离效果受多种原理影响。

- 凝胶过滤: 若目的物和介质没有相互作用则依据分子筛的原理进行分离, 缓冲液的选择主要考虑目的物的可溶性, 影响因素参考凝胶过滤的影响因素。着重考虑柱效、流速、上样量等因素。
- 分配色谱: 根据相似相容的原理, 通过调整流动相的极性, 使目的物在流动相和固定相中合理分配。
- 吸附作用: 交联剂中含有的少量醚氧基以及羟丙基可以通过疏水作用结合生物分子, 羟丙基的羟基可以通过氢键作用结合生物分子, 如果发生了结合可以从以上两个方面考虑, 并采取相应的措施。

## 5、在位清洗

Bestdex LH-20 介质使用一段时间后有可能柱效下降、反压增加、分离效果变差、层析介质颜色变化等，可采用下面的流程进行在位清洗(CIP)。

- 用蒸馏水冲洗 2 个柱体积
- 用 1M NaCl 冲洗 1 个柱体积
- 用 0.2M NaOH 冲洗 1 个柱体积
- 用蒸馏水冲洗 4 个柱体积

## 6、灭菌

溶胀后的 Bestdex LH-20 可以使用 121℃ 高压灭菌 20min，也可用 0.5M NaOH 处理装填好的层析柱 30~60min 以减少微生物污染风险。

## 7、储存

干粉 Bestdex LH-20 在阴凉干燥处密闭存放，防止吸潮；溶胀后的 Bestdex LH-20 储存于 20%乙醇中、2~30℃ 密闭保存，为了防止乙醇挥发以及微生物生长，建议 3 个月更换一次新鲜的 20%乙醇，保存在 2~8℃ 环境中效果更好。

## 8、销毁及回收

由于 Bestdex LH-20 系列介质在自然界很难降解，为了保护环境建议采用焚烧处理

## 9、订货信息

产品名称	货号	包装
Bestdex LH-20	AG121305	25g
	AG121307	100g
	AG121311	500g
	AG121312	1kg
	AG121313	5kg
	AG121316	10kg
	AG121314	25kg
	AG121712	1L