



BESTCHROM

博 格 隆

BXP10
实验室型高精度层析柱
使用说明书





目 录

1、产品简介	1
2、技术指标	1
3、层析柱结构	2
4、层析柱组装	2
5、层析柱装填	3
6、柱效测定和评价	4
7、注意事项	5
8、故障排除	6
9、订货信息	7

1、产品简介

BXP10 实验室型层析柱是为广大用户精心设计的中低压层析柱，用于重组蛋白、抗体、疫苗、血液制品等生物大分子领域以及抗生素、多肽、合成药物以及天然产物等生物小分子领域的工艺开发，适合装填 Bestdex、Bestarose、Chromdex 等琼脂糖、葡聚糖基架以及以聚合物为基架的中低压层析介质，能与各类国产以及进口的层析系统相连接。该产品由高精度玻璃管和 POM 塑料制成，具有良好的生物相容性和化学耐受性，适合绝大部分水性溶液和部分有机溶液。BXP10 实验室型层析柱具有以下优点：

- 1) 使用方便、操作容易；
- 2) 标配双柱头，使装柱高度有更灵活的空间；
- 3) 喇叭状接口设计以及高弹性密封圈有效防止渗漏；
- 4) 对有机溶剂具有更好的耐受性；
- 5) 柱头液流分布均匀，容易装出高柱效的层析柱。

2、技术指标

产品	BXP10/20	BXP10/30	BXP10/40	BXP10/60
内径(mm)	10	10	10	10
高度(cm)	20	30	40	60
体积(mL)	2.5-13	10.5-21	18.5-29	34-44.5
柱高(cm)	3-17	13-27	23-37	43-57
操作压力 (bar)	20(最大)			
操作温度/°C	2-60			
pH 稳定性	1-14			
网孔尺寸 (μm)	5			
化学稳定性	常见水相溶液			



3、层析柱结构

BXP10 柱主要由三部分组成：柱头两个、玻璃柱管。



- **柱管：**柱管由高精度玻管制成，层析柱管长度有 20cm、30cm、40cm、60cm 等不同规格。
- **柱头：**由软管、M6 连接头、调节旋钮、螺旋杆固定器、螺旋杆、密封圈、柱头内管、堵头组成。

4、层析柱组装

- **柱头组装：**密封圈装入柱头内管→套入螺旋杆中→调节旋钮旋进柱头内管的螺纹上→M6 连接头再接入柱头内管的螺纹上→软管接入 M6 连接头另一端→将连接好的整体从上往下插入调节旋钮。



注：柱头内管包含筛板，如需更换请用针头挑起更换。



5、层析柱装填

吸附性层析一般建议装填高度为 10~15cm，分子筛建议装填高度应在确保压力流速情况下尽可能高。

- 1) 组装层析柱（如有需要连接装柱器¹），并用纯化水或 20%乙醇润洗柱管。
- 2) 取下下端柱头用装柱缓冲液冲洗，排除筛网下面的气泡，将下端柱头安装在层析柱底部，旋紧调节旋钮，拧紧下堵头，并在层析柱底部保留 1cm 左右高度的液体，调整柱子使其垂直于地面。
- 3) 在介质中加入装柱缓冲液，参照介质说明书制备介质悬液。
- 4) 将搅匀后的介质悬液一次性缓慢倒入层析柱内，注意不要带入气泡。
- 5) 如有装柱器，立即往装柱器中缓慢加入适量装柱缓冲液。将上柱头与层析系统相连接，排净柱头内的气泡，将上柱头装入层析柱，下压柱头到液面下，旋紧调节旋钮。
- 6) 设定所需流速²，打开下端柱头下端堵头，启动泵，进行压柱。
- 7) 柱床稳定后保持 15min 以上，关闭泵、拧紧下堵头。
- 8) 上柱头用装柱缓冲液冲洗，排除筛网下面的气泡，移除装柱器（如果有的话）后将上柱头与层析柱柱体相连接。
- 9) 调节上柱头，使其固定在胶面上 0.5~1cm 处，并保证上柱头入口充满液体。
- 10) 打开下堵头，连接泵，继续用设定的流速（注意压力不要超过层析介质的最大耐压和该层析柱的最大耐压 2MPa）继续压柱待胶面高度保持不变，标记此时胶面高度。
- 11) 停泵，关闭下堵头，打开上堵头，适当旋松上柱头调节旋钮，下压柱头至胶面下 3~5mm 处，关闭上堵头，拧紧调节旋钮，装柱完成。

1: 柱管+柱管连接器

2: 不同介质、不同装柱高度所需要的流速不同，可以参考介质说明书或者咨询博格隆技术支持。

6、柱效测定和评价

装填好的层析柱可以通过测柱效的方式来评价装柱效果。流速、上样体积、系统的死体积都会影响测定的效果，由于 BXP10 柱柱体积较小，系统死体积太大对柱效的影响较大，所以需要选择较细的管道（建议采用 0.5mm 内径的管道），并且使上样环到柱头以及柱子出口到检测器之间的管道尽可能短。

- 柱效测定可以采用丙酮作为指示剂也可以采用NaCl作为指示剂，按照下表配制指示剂溶液和流动相。

	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_R=保留体积

W_h=半高峰宽

L=柱高

N=理论塔板数

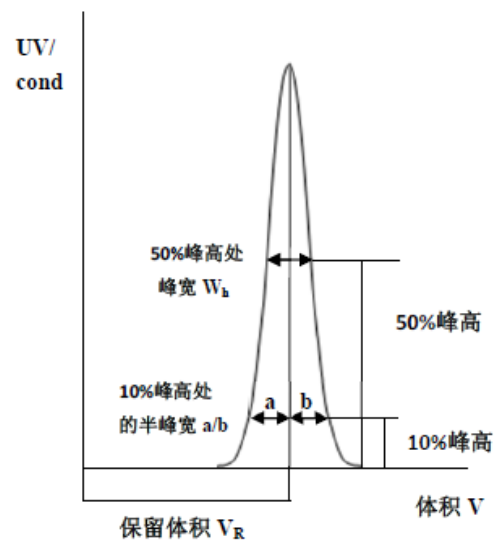
V_R和W_h的单位应一致；

$$As=b/a$$

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

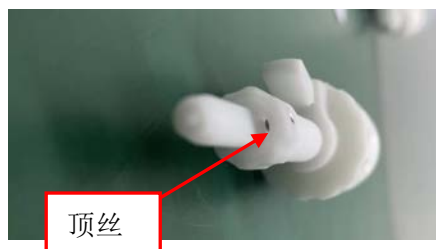
由以上公式计算出的 HETP 的数值若小于三倍介质平均颗粒大小且非对称因子在合适范围内则判定为合格。对于不理想的柱效需要分析原因并重新装柱。

下表列出了常见层析介质的柱效和对称因子的标准：

颗粒大小 (μm)	介质基架	N/m	As
34	Bestarose HP	>8000	0.8-1.5
34	Chromdex	>10000	0.7-1.3
90	Bestarose FF	>3000	0.8-1.5
90	Bestarose XL	>3000	0.8-1.5
75~90	Diamond	>3500	0.8-1.5
200	Bestarose BB	>2000	0.8-1.5

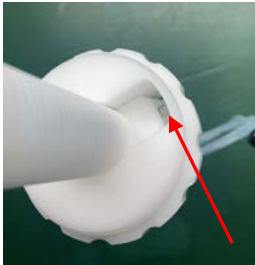
7、注意事项

- ◆ 装填好的层析柱堵塞严重的时候可以使用反向清洗的方法，但是反向冲洗需要降低流速至正常流速的一半以下。
- ◆ 使用层析柱时将保护软管置于柱头内，防止连接软管被折影响流速或使软管破裂。
- ◆ 柱头螺旋杆处顶丝需保证随时拧紧、到位，若松动会磕坏丝杆，导致无法拧紧密封圈。



- ◆ 安装/移出上柱头时，须在密封圈松开情况下垂直缓慢向下/向上，如密封圈卡顿，可轻轻左右转动柱头，禁止强行推/拉，也不可左右晃动柱头，避免玻管破裂。

8、故障排除

故障	原因及处理方式
层析柱从密封圈处漏液	<ol style="list-style-type: none"> 1. 密封圈损坏，需要更换密封圈； 2. 硬物卡在密封圈与玻璃管之间，导致漏液。 需要清洗密封圈与柱管；在装柱时待胶面上层沉降出清液层后再装上柱头。
使用时从柱头与管道接触部位漏液	M6 转接头与柱头软管处未拧紧。
正常使用过程中（压力小于 0.5MPa） 上柱头密封圈拧紧时上柱头向上滑动	上柱头弹簧坏，需更换弹簧。 
反压高于正常反压	<ol style="list-style-type: none"> 1. 装柱流速大于介质最大耐受流速； 2. 介质碎胶多导致； 3. 样品前处理不好、使用后的层析柱有蛋白沉淀导致层析柱柱头筛网堵塞，根据不同污染物，将筛网放在无水乙醇或 1M NaOH 中超声 30min，必要时可以更换筛网； 4. 软管折住、管道内有异物。
流速低于设定流速	<ol style="list-style-type: none"> 1. 检查管路内是否存在空气； 2. 检查是否有漏液； 3. 检查设备是否正常运行。
柱子下端出口有介质漏出	<ol style="list-style-type: none"> 1. 检查下端柱头是否安装正确； 2. 筛网的规格和介质的颗粒大小是否匹配。

9、订货信息

产品名称	货号	包装/个
BXP10/20	B-1020	1
BXP10/30	BC125121	1
BXP10/40	BC126121	1
BXP10/60	BC127121	1
筛板（1cm 柱）	BS120015	5
密封圈（1cm 柱柱头）	BS130015	5
密封圈（1cm 柱接头）	BS130025	5
完整柱头（10 柱）	BS150011	1
10 玻璃管-20cm	BS114011	1
10 玻璃管-30cm	BS115011	1
10 玻璃管-40cm	BS116011	1
10 玻璃管-60cm	BS117011	1