

QuikSep LH-20 系列葡聚糖凝胶

一、 产品简介

QuikSep LH-20是在葡聚糖凝胶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。

二、 QuikSep LH-20 技术参数

颗粒大小（干）	40~120 μm
平均颗粒大小（干）+	80 μm
平均颗粒大小（湿）	在不同溶液中的差别大
最大流速（cm/h）	和压力成正比
排阻极限++	4kd（线性分子），5kd（球状分子）
外观	白色或者灰白色粉状固体
耐压	0.3MPa
pH 稳定性	2~13

注：+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

QuikSep LH-20 在不同溶剂中溶胀比列表

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	建酰胺	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）。

三、 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

- 根据层析柱的体积计算需要的 QuikSep LH-20 干粉的量

干粉的量（g）=（柱体积 \times 1.15） \div 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QuikSep 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柱子外壳。在使用二氯甲烷或者三氯甲烷装柱的时候，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。
- 取清洗干净的层析柱，排净柱底膜气泡，并在柱子底部保留1cm高左右的液柱，调整柱子使其垂直于地面。
- 将搅匀后的胶悬液一次缓慢倒入层析柱内，注意不要带入气泡，倒入后用塑料棒再次搅匀。
- 将上柱头连接到层析系统或者蠕动泵，排净上柱头筛网下面的气泡，将柱头放入层析柱内，旋紧密封旋钮。
- 设定装柱流速，由于QuikSep 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（如果有的话），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胶一次，标记胶面的位置。
- 停泵，稍微放松柱头密封圈，确保柱头上的阀门是关闭的，柱底的阀门是打开的，下压胶面至标记位置下面5mm，旋紧柱头密封圈，关闭底部阀门，装柱完成。

3.3 柱效评价

柱效测定可以采用丙酮作为指示剂或者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	2M NaCl (溶于水)

样品体积	1.0%柱体积	1.0%柱体积
流动相	水	0.4M NaCl
流速	30cm/h	30cm/h
检测器	UV 280nm	电导率

计算柱效:

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:

$$HETP=L/N$$

$$N=5.54(VR/Wh)^2$$

其中: VR=保留体积

Wh=半高峰宽

L=柱高

N=理论塔板数

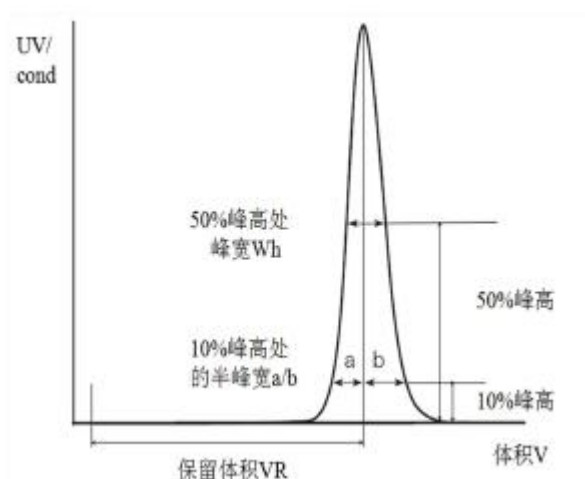
VR和Wh的单位应一致;

$$As=b/a$$

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 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。

3.4 层析方法

● 缓冲液选择: QuikSep LH-20 可以在各种水相或者有机相中运行, 根据被分离物种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。

● 样品及上样量: 为防止样品堵塞柱子, 在上样前样品需要用0.45μm 的微孔滤膜过滤, 若目的物和杂质差别比较小, 上样体积通常按照柱体积的1%~5%上样。

四、分离效果的影响因素

QuikSep 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的作用结合生物分子，羟丙基的羟基可以通过氢键的作用结合生物分子，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。

五、清洗与再生

QuikSep LH-20凝胶介质在使用一段时间后有可能柱效下降，分离效果变差，可采用下面的流程进行清洗和再生。

- 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

六、灭菌

溶胀后的QuikSep LH-20 可以使用121℃高压灭菌30min，或者采用0.5M NaOH 处理30min 达到灭菌的目的。

七、储存

干粉QuikSep LH-20 在阴凉干燥处密闭存放，防止吸潮；溶胀后的QuikSep LH-20 储存于20%乙醇中，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4~8℃环境中的效果更好。

八、销毁与回收

由于 QuikSep 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。

九、订货信息

产品名称	货号	包装
QuikSep LH-20	QS121305	25g
	QS121307	100g
	QS121311	500g
	QS121312	1kg

	QS121313	5kg
--	----------	-----