

葡聚糖凝胶LH-20

葡聚糖凝胶LH系列是将葡聚糖凝胶羟丙基化,并且专门适合用于有机溶剂分离嗜脂性分子,天然产物在有机溶剂中的纯化,例如类固醇,萜类化合物,脂质和低分子量肽。

流动相的常用溶剂为:水、甲醇、丙酮、乙酸乙酯、二氯甲烷。

上述溶剂的极性依次降低,对带有极性的被分离物而言,保留值和分离度依次递增;同理选用的凝胶柱高可依次降低,流速可以增大(或上样量可以增加,树脂体积在低极性溶剂中明显收缩)。

溶剂的溶解性,极性,沸点,毒性都是要考虑到的,二氯甲烷通常对被分离物质间的极性和碱性差异比较小时采用。甲醇通常对带环状(包括苯环)物质分离采用,葡聚糖凝胶LH-20对环状物质有强烈吸附,同时具备亲水和亲脂双重性质,且被分离物质的极性在分离过程中起着重要作用。

项目	指标
排阻极限(与所用溶剂有关)	4-5KD
形状	球形,多孔
球蛋白分离范围	100-4000
粒径(干粉)	100-200目
最高流速	150 cm/h
工作温度	4~40°C
耐压	0.3MPa
pH值稳定性	2~13(短时间,在位清洗)
pH工作范围	2-13
化学稳定性	在大多数含水和有机洗脱液系统中稳定。在pH2以下不稳定,对强氧化剂也不稳定。

1填料的准备:

(1)葡聚糖凝胶LH-20以干粉形式存在,使用前必须溶胀,在膨胀期间应避免过度搅拌,不要使用磁力搅拌器,溶胀的程度将取决于所使用的溶剂体系,在室温条件下至少溶胀24个小时。

(2)将溶胀好的填料,所有的缓冲液等材料平衡至实验操作温度。

2装柱

(1)检查层析柱所有部件。特别是过滤网,密封圈,螺旋塞是否素密,玻璃管是否干净和完整。

(2)将柱内及柱子底端用水或缓冲液润湿并保持一小段液位,务必使底端无气泡。

(3)用玻璃棒引导匀浆沿着柱内壁一次性倒入柱内,注意勿使产生气泡。打开柱子出液口,使凝胶在柱内自由沉降,连结好柱子顶端柱头。

(4)打开蠕动泵,让缓冲液用使用时流速的1.33倍的流速流过,使柱床稳定(注意压力不要超过填料最大耐压)

注意:上述装柱方法可用于葡聚糖凝胶LH-20在大多数溶剂中的填充。

在一些溶剂中,例如氯仿,葡聚糖凝胶LH-20比溶剂密度小,并在其中漂浮,则需用其他方法。

3平衡

上样前平衡层析柱至少5-10个柱体积直到记录仪基线变得平稳为止。

4上样

样品一定要离心或过滤后(0.45um滤膜)上样。

样品体积应在总柱床体积的1-2%的范围内,视分离情况可以调整.柱高的选择也与分离要求相关,柱长越高,分离效果相应越好,但是,柱高过高的凝胶层会引起较大的反压,应当尽可能避免。难分离物质要有一定柱高和流速控制。

5洗脱

一般来说,流速越低,分辨率越好。

6再生

通常通过用5-10倍柱体积的洗脱液洗涤柱,如果改变条件,需要用新的洗脱液重新进行平衡操作。

7保存

未使用的填料,室温密闭保存。使用完的填料。用纯水将盐分彻底冲洗,最后保存在20%乙醇中,4℃保存。

8注意事项:

(1).上样之前,样品必须经过膜过滤及去除色素,否则杂质及色素会被吸附到填料上,影响填料的

正常使用。所有的缓冲液均需要用0.45um的过滤器过滤。

(2)在使用过程中,避免使用高浓度的强酸强碱,酸和碱的浓度应低于0.1摩尔。碱会使流速变慢。

(3)不同的样品,吸附和洗脱方法不相同,可以根据相关的文献进行。