在线多中心切割二维液相色谱仪器配置

解决方案



在线多中心切割二维液相色谱仪器配置解决方案

一.引言

高效液相色谱（HPLC）是药物分析、食品科学、环境科学等科研领域的基础分离分析平台，技术体系成熟、设备普及度高，可满足常规基质样品的定性、定量分析需求。但对天然提取物、复杂环境水体、生物大分子检测等高干扰、多共流峰的复杂体系，一维HPLC分离选择性不足，易出现目标物色谱峰重叠、基质效应显著、痕量组分检出受限等问题，难以支撑前沿科研、方法学开发及高精准度检测研究。

在线多中心切割二维液相色谱（Online Multi-heart-cut 2D-LC）作为正交分离型高端色谱技术，依托多维色谱分离原理、阀组流路精准切换、与在线驻留技术，可实现一维预分离净化-多目标组分精准切割-二维深度分离-同步在线检测的全流程。

本方案针对生物大分子检测、中药分析等领域的复杂样品检测需求，提供在线多中心切割二维液相色谱（2D-LC）的完整仪器配置，适配科研领域复杂基质样品的多次切割分离-定量一体化需求。

二.系统方案设计

■ 设计原理

在线多中心切割2D-LC系统的核心逻辑是通过第一维色谱柱（1D）实现样品初步分离，依据一维色谱保留时间，通过多中心切割阀分时、分段、精准截取单一或多个目标色谱组分，将切割组分导入定量环完成临时驻留，随后切换流路，将定量环中组分转移至第二维色谱柱（2D）进行深度分离。此方案适用于中药成分分析、生物大分子检测等领域，精准分离复杂样品中多个目标组分，有效解决一维液相色谱（1D-LC）分离能力不足、共洗脱峰干扰等问题，最终实现目标组分的精准定性分析与定量。

■ 仪器硬件配置

序号	名称	型号	备注	序号	名称	型号	备注
1	高压恒流泵	P3200L	可选P3220L（二元）、P3230L（四元）、P3260L（超高压直驱二元）或P3270L（超高压直驱四元）	6	色谱柱温箱	O3230L	-
2	高压恒流泵	P3200L	可选P3220L（二元）、P3230L（四元）、P3260L（超高压直驱二元）或P3270L（超高压直驱四元）	7	色谱柱温箱	O3230L	可选O3230L（可加热制冷）或O3220L（只加热）型号
				8	色谱工作站Kromstation	Kromstation	-
3	紫外可见检测器	D3200L	可选D3210L（双波长紫外可见检测器）、D3230L（二极管阵列检测器-512阵列）或D3240L（二极管阵列检测器-1024阵列）	9	SK3260溶剂切换套件	SK3260	选配
				10	DK3220脱气套件	DK3220	选配
4	紫外可见检测器	D3200L	可选D3210L（双波长紫外可见检测器）、D3230L（二极管阵列检测器-512阵列）或D3240L（二极管阵列检测器-1024阵列）	11	柱温箱系统切换套件	OS3230-06S120	二位六通阀，可选二位十通阀
				12	多中心切割阀站	V2000E6002	六位七通阀，可选十位十一通阀
5	自动进样器	S3220L	可选S3240L制冷型进样器				

仪器系统组成：通过专用Kromstation二维液相系统软件将上述仪器整合兼容，可实时在线监测一维色谱图、中心切割阀控表、二维输出图谱等数据，实现切割与二维运行数据的关联分析。

第一维系统：一维泵、自动进样器、一维柱温箱O3220L、检测器①；

第二维系统：二维泵、二维柱温箱O3230L、切换阀、多中心切割阀站、检测器②。



图1 仪器配置连接实物图

流路与阀切换逻辑

具体流程如下：

1）上样/一维分离阶段（V1阀实线位）：一维流动相进入自动进样器将样品注入流路，样品流经一维柱，目标物被一维柱初步分离；

2）切割阶段（V1阀实线位）：将待测目标组分按预设时间程序依次切割进入定量环中，通过多中心切割阀控制定量环的交替运行，避免切割过程中的组分混合，实现多个切割组分的临时驻留；

3）洗脱/二维分离阶段（V1阀实线位）：阀自动切换，二维泵启动洗脱模式，用梯度流动相洗脱定量环中的目标物，目标物随流动相进入二维分析柱进行精细分离，分离后的目标物进入检测器进行定量检测。

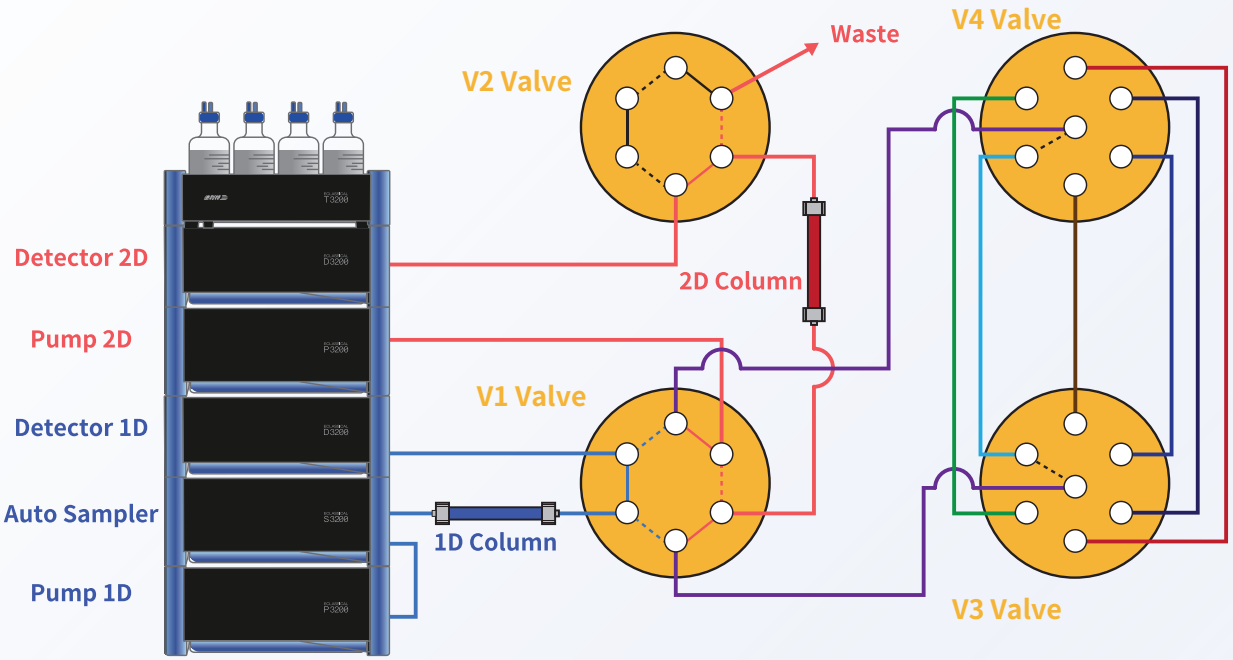


图2 仪器流路连接示意图

■ 技术优势

本配置针对复杂基质样品检测设计，结合多中心切割阀组、定量环驻留技术、全流程自动化控制，实现在线切割驻留、多次分离及数据溯源于一体的科研级分析平台。系统中核心部件为多中心切割阀，从技术理念上看，上述设计流路最大限度减少了切割阀工作时的瞬间压力波动，确保系统的稳定运行，并延长色谱柱使用寿命。

三.在线多中心切割二维液相色谱系统检测中药药物紫草素成分的应用案例

■ 色谱条件

⑴一维条件

流动相：A：乙腈；B：0.1%三氟乙酸；A/B=70/30

一维柱：C18 1.8μm，ID2.1×100 mm

流速：0.4 mL/min

⑵二维（分析/定量）条件

二维流动相：A：乙腈； B：0.1%甲酸；A/B=60/40

分析柱：CHIRALPAK IH 5μm，ID 4.6×250mm

流速：1.0 mL/min

检测波长：275/220 nm

进样体积：10μL

柱温：40℃

分析时间：25min/针

■ 典型谱图

将紫草素标准液（1.0μg/mL）按照上述二维实验条件测试，其色谱图如下：

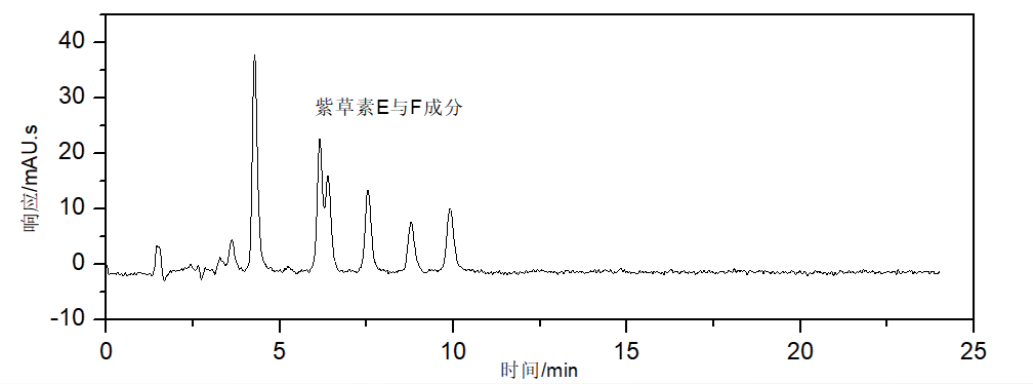


图3 样品第一维色谱图

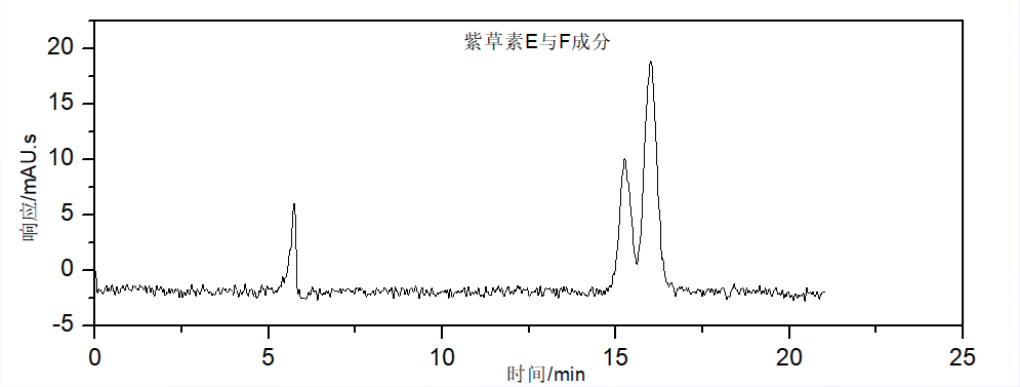


图4 样品中心切割后第二维色谱图

第一维色谱条件下难以完全分离，可在合适时间段对所需要的目标物质（E与F）进行中心切割至定量环中，转移至第二维进行细分离，E与F的分离度得到显著提升。

多中心自动切割程序设置

在第一维色谱图完成后基于时间模式，采样可通过设定目标峰的时间事件来触发切割阀工作。软件根据【恒温器】与【阀控板】的中心切割时间协同控制阀组的运行，分别将预设时间段内目标物转移至多组定量环中驻留，完成多组分切割后设置【触发采集】将目标物依次洗脱至第二维色谱系统进行分离、检测。

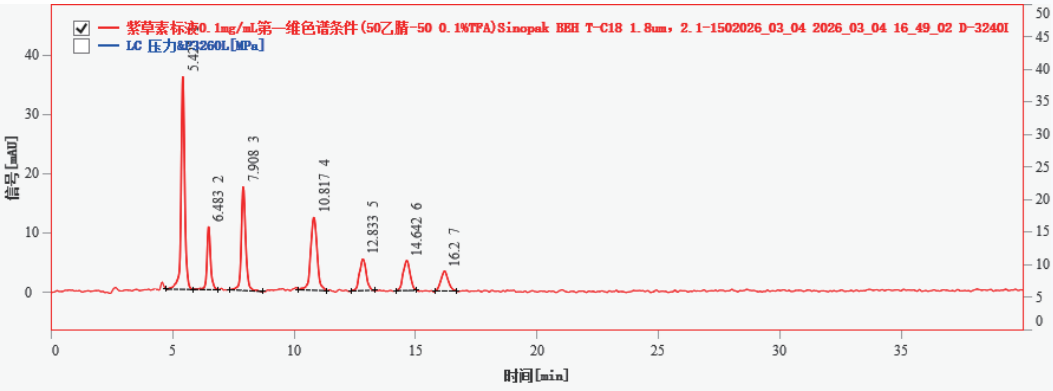


图5 样品第一维色谱图

PDA　LC 梯度(EClassical 3200L)(P3270L)　恒温器　阀控板

时间参数

#	时间[min.]	触发采集	1#阀位置	2#阀位置
1	初始	☐	1	1
2	5.4	☐	2	2
3	6.5	☐	3	3
4	7.9	☐	4	4
5	10.8	☐	5	5
6	12.8	☐	6	6
7	14.5	☑	1	1
8	18.5	☐	2	2
9	22.5	☐	3	3
10	26.5	☐	4	4
11	30.5	☐	5	5
12	34.5	☐	6	6
13		☐		

图6 多中心切割阀控板程序

#	时间[min.]	1#阀位置	2#阀位置
1	初始	B	A
2	5.2	A	A
3	5.4	B	A
4	6.3	A	A
5	6.5	B	A
6	7.7	A	A
7	7.9	B	A
8	10.5	A	A
9	10.8	B	A
10	12.5	A	A
11	12.8	B	A
12	14.3	A	A

图7 多中心切割恒温器阀组时间程序

在线多中心切割二维液相色谱仪器配置解决方案

通过上述恒温器切换阀与多中心切割阀时间程序的协调运行，将6组紫草素分析物质分别在5.2min、6.3min、7.7min、10.5min、12.5min及14.3min切入定量环驻留，再依次将6组定量环中物质洗脱至第二维色谱柱中分离、检测，得到多中心切割后的第二维色谱图如下：

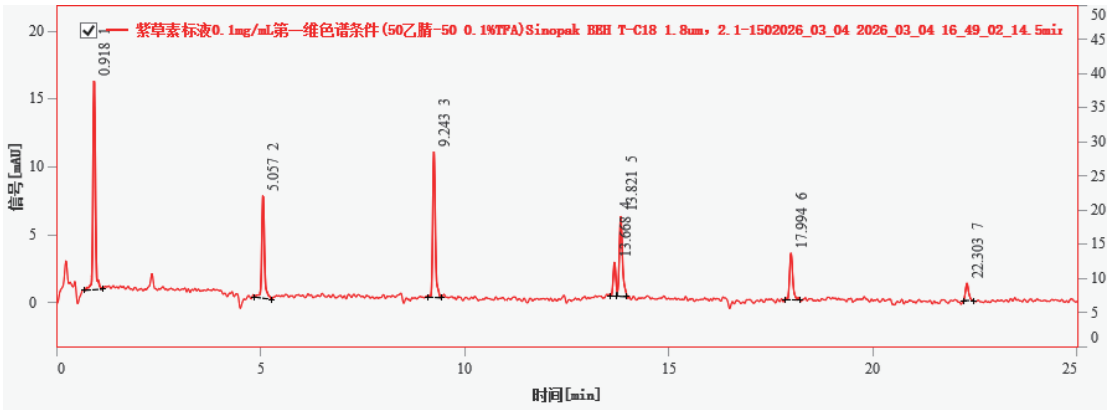


图8 样品多中心切割后第二维色谱图

结论

上述仪器配置方案适用于分析多个目标组分或单个特殊组分的深入分离，大大改善了分离性能，为复杂样品的分析提供解决方案。

四.总结

本解决方案提供了在线多中心切割二维液相色谱的完整仪器配置、阀切换方案及应用参数、案例，具备可行性和扩展性。方案可用于科研项目实施，有效解决复杂的天然药物成分、生物医药类样品的检测难题，为项目顺利开展提供坚实的技术支撑，助力项目验收与成果转化。

走进依利特

www.eliteHPLC.com

来到依利特

苏州公司

中国·江苏·苏州姑苏区朱家湾街179号联东U谷10幢701

大连公司

中国·辽宁·大连高新技术产业园区七贤岭学子街2-2号

了解依利特

销售服务免费热线:400-66-35483

尊享依利特

售后服务免费专线:400-66-35483 转1(仪器)/ 转2(耗材)

分享依利特

依利特服务号　依利特订阅号　售后故障报修(一)　售后故障报修(二)

(非工作时间,请扫描售后故障报修二维码联系我们解决售后问题)

版本号：CN_202607

本宣传册中信息仅供参考，订购时请详细咨询，如有变动恕不另行通知。
本宣传册中提供数据除注明外为本公司特定条件下的试验数据。版权所有。