

具有自动切换稀释进样功能的高通量制备 LC

 Kosuke Nakajima^{1,2}, Devadiga Navin³
¹ 岛津制作所、² Shimadzu (Asia Pacific) Pte Ltd.、³ Shimadzu Analytical (India) Pvt Ltd.

特点描述

- ◆ 大体积进样（体积超载）能够提高制备型 LC 的 通量。
- ◆ 稀释进样功能在强洗脱溶剂时将表现出更优异的峰型。
- ◆ 自动切换功能使得系统既适合于典型进样，也适合于强洗脱溶剂时的大体积进样。

简介

制备型 LC 是一种被广泛使用的纯化技术。在各行业中，高通量纯化均是最基本的需求。然而，高通量纯化时的大体积进样会导致峰型变宽。本文介绍了一款具备稀释进样功能、便于大体积进样的高通量制备型 LC。

大量进样对提高纯化通量的重要性

上样量是决定制备型 LC 通量的关键参数之一。在大多数情况下，待纯化的粗品样品量大于常规制备型 LC 的上样容量。因此，纯化目标量的样品需经历多重制备流程。增加上样量将减少该流程的重复次数并提高纯化通量。增加上样量主要通过浓度超载和/或体积超载实现上样（表 1）。由于浓度超载可能导致样品析出，因此实际制备过程中体积超载方式被更广泛的应用。

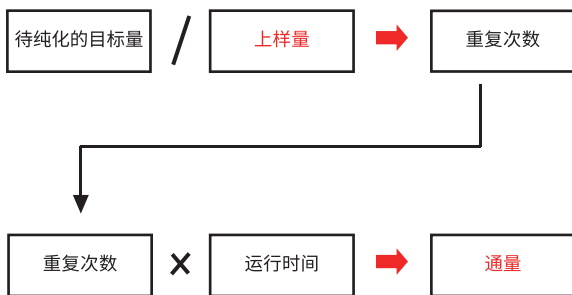


图1 上样量与通量的关系

表1 样品中的上样量

样品浓度	上样量	
	500 μ L 进样方式	2000 μ L 进样方式
1 mg/mL	0.5 mg	2 mg
5 mg/mL	2.5 mg	10 mg
20 mg/mL	10 mg	40 mg

大体积进样的局限性

体积超载能够提高纯化通量。但由于溶解样品的溶剂和流动相之间缺乏充分混合，目标物峰型将会受到影响。尤其，当溶解样品的溶剂具有比制备时的起始流动相有更高的洗脱强度时，体积超载将导致峰变宽（图 2）。表 2 描述了典型进样时的分析条件。高洗脱强度溶剂的大量进样对峰型的影响见图 3。由于溶剂影响，进样量为 2000 μ L 时峰型将变差。

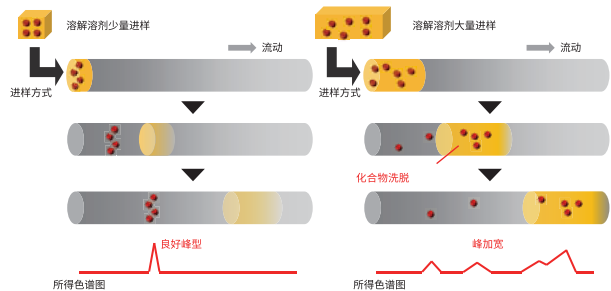


图2 进样量对峰型的影响

表2 典型进样的分析条件

色谱柱	: Shim-pack™ GISS C-18*1 (100 mm×20 mm 内径, 5 μ m)
流动相	: A: 水; B: 乙腈
流速	: 20 mL/min
时间程序	: B 浓度 5% (0 分钟) → 90% (4.5-6.5 分钟) → 5% (6.51-8 分钟)
柱温	: 环境温度
样品溶剂	: 二甲基亚砜 (DMSO)
样品浓度	: 5 mg/mL 咖啡因、50 mg/mL 磺胺二甲嘧啶
小瓶	: 10 mL 螺口小瓶 *2
检测	: PDA 250 nm

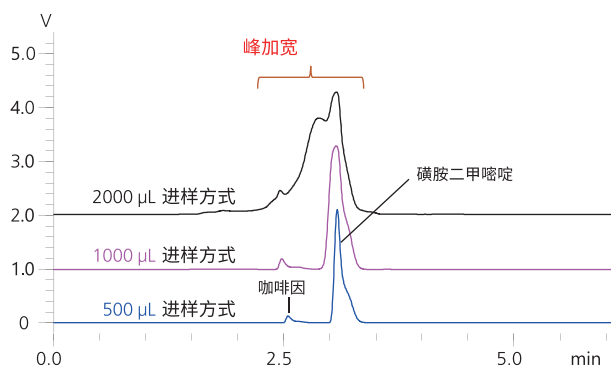
¹P/N: 227-30066-02 ²P/N: 220-97331-09


图3 不同进样量时两种化合物的色谱图

大量进样的稀释进样

稀释进样是一种可改善大量进样时目标峰型的技术。用洗脱强度低于起始流动相的稀释剂稀释样品溶解溶剂，并在色谱柱的顶端（柱头）浓缩目标化合物。图4显示了使用稀释进样功能后改善的峰型。图5显示了典型进样和稀释进样之间的管路系统切换的流程。图5a显示了典型进样时的流路，而图5b显示了稀释进样时的流路。

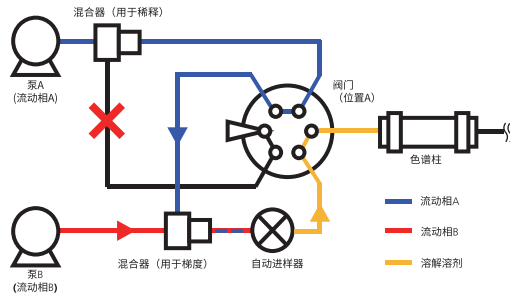
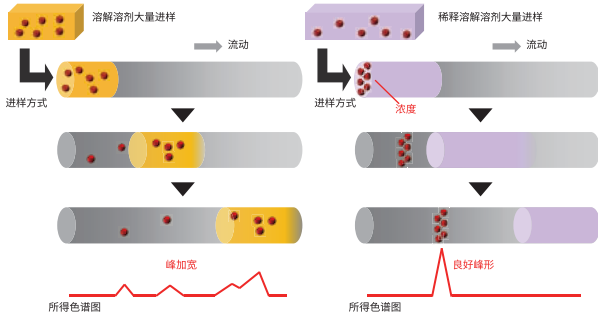


图5a 典型进样的流动路径图

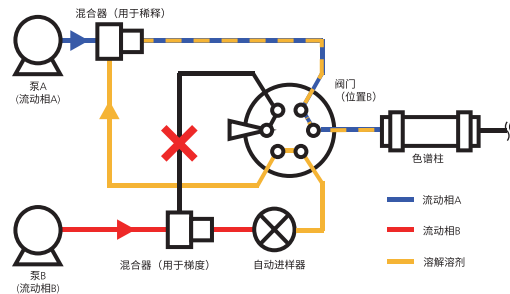


图5b 稀释进样的流动路径图

咖啡因和磺胺二甲嘧啶稀释进样考察

在本研究中，我们使用咖啡因和磺胺二甲嘧啶作为稀释进样的目标化合物。表3显示了稀释进样的分析条件。所得色谱图如图6所示。典型进样显示两种化合物峰型加宽，而稀释进样能获得良好峰型和分离度。

表3 稀释进样的分析条件

色谱柱	: Shim-pack GISS C-18 (100mm×20mm内径, 5μm)
流动相	: A: 水, B: 乙腈
流速	: 20 mL/min
时间程序	: B浓度5% (0-2.2分钟, 稀释剂: 水) B浓度5% (0分钟) → 50% (4.5分钟) → 5% (4.51-6分钟)
柱温	: 环境温度
样品溶剂	: 二甲基亚砜(DMSO)
分析物	: 5mg/mL咖啡因、50mg/mL磺胺二甲嘧啶
小瓶	: 10mL螺口小瓶
检测	: PDA 250 nm

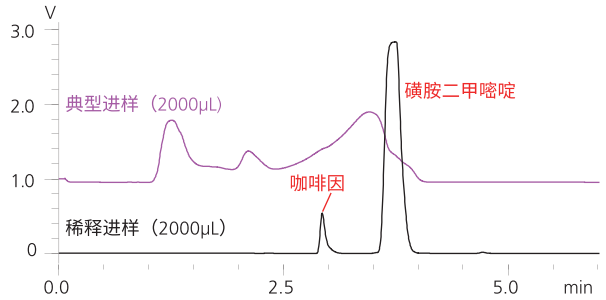


图6 典型进样和稀释进样谱图对比

连续稀释进样

在稀释过程中，系统的另一能力是通过如图7中所述的连续进样实现大上样量。用如表3中所示的相同分析条件进行咖啡因和磺胺二甲嘧啶混合物的连续进样。在该过程中，通过连续五次进样将超过500mg的目标化合物引入分离柱中。所得结果显示实现了具有良好分离和峰型的较高上样量，如图8中所示。

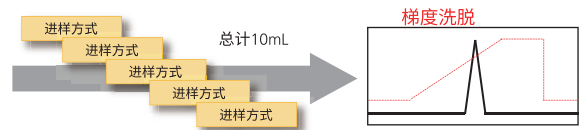


图7 连续稀释进样的示意图

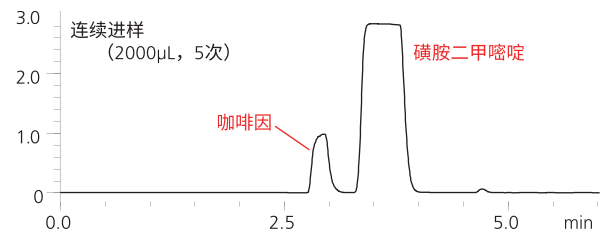


图8 连续稀释进样色谱图

结论

本文是大量进样的一个实例。在大多数情况下，大量进样会影响峰型和分离。具有典型进样和稀释进样切换功能的岛津 Nexera prep 系统将使具有大上样量的样品展现出更好的色谱性能。

岛津应用云



Nexera 和 Shim-pack 是岛津制作所在日本和 / 或其他国家的商标。



岛津企业管理(中国)有限公司
岛津(香港)有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话: 800-810-0439
400-650-0439

免责声明:

* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售;
* 本资料中的所有信息仅供参考, 不予任何保证。
如有变动, 恕不另行通知。

第一版发行日: 2021年9月