

基于 LC-40 的进样体积可切换系统的搭建与验证

LCMSMS-963

摘要： 本文介绍了基于岛津 LC-40 系列液相色谱搭建的可切换大小进样体积的液相色谱分析系统，该系统通过在进样流路增加二位六通切换阀和大体积定量环，可实现大小进样体积的灵活切换。使用氯霉素分别进行大小进样体积线性和重现性考察，进样体积为 0.1~50 μL 的体积线性相关系数为 0.9995，重复进样 RSD% 为 1.28~1.57%；进样体积为 50~1000 μL 的体积线性相关系数为 0.9991，重复进样 RSD% 为 1.58~1.74%；使用称重法进行大体积进样量准确度考察，线性相关系数为 0.9999。

关键词： 大小进样体积 系统验证

技术特点：

- ❖ 全程可以使用“直接进样”模式，极大减少了交叉污染，适合痕量、MS 分析；
- ❖ 对小体积流路只增加了小于 30 μL 的延迟体积，避免大体积定量环给小体积进样、小流速分析时造成难以接受的延迟体积；
- ❖ 预设方法，无需手动切换，方便用户使用；
- ❖ 适合于需要大体积进样的 SPE-LC-MS 类型分析系统，使之兼容常规体积分析需求：如 LC-40 版 AOE, all in 1, co-sense；

随着现代高效液相色谱技术的发展，越来越多特色机种仪器被开发出来，用于解决特殊色谱分析需求，同时分析测试工作者也希望这类仪器能够实现更灵活的配置，既能够实现特殊分析要求，又能够作为常规仪器使用，因此开发配置灵活，能够适应多种分析需求的全能型仪器也逐渐成为新型液相色谱仪器的一大趋势。

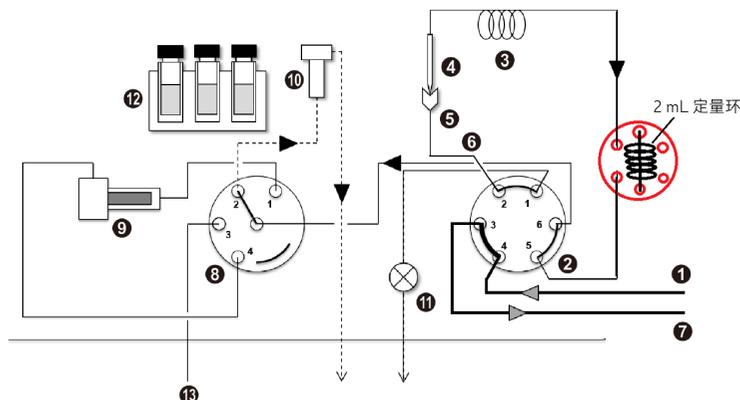
另外，有很多项目所面对的目标物浓度不同，

有时需要吸入的样品体积差异很大。现有液相色谱自动进样器通常只含有一个样品环。因此面对进样体积差异大的两个项目，往往需要两套自动进样器来分别实施痕量进样（进样体积 < 50 μL ）和大体积进样（进样体积 \geq 50 μL ），硬件成本较高。

因此，十分有必要设计出一种液相色谱自动进样器，以便在保证进样效果的同时，既能实现痕量进样，又能实现大体积进样。

系统介绍

在 needle loop 环路中，用六通阀插入一个 2 mL 定量环。通过六通阀的切换，实现了大小进样体积的切换，流程图如下：



①	送液泵	②	高压阀	③	样品环
④	进样针	⑤	进样口	⑥	进样口管路
⑦	色谱柱	⑧	低压阀	⑨	计量泵
⑩	清洗口	⑪	排液阀	⑫	样品瓶
⑬	清洗液				

图 1 仪器流路图

表 1 系统改装增加的部件

高压六通阀	228-65624-58	FCV-0206H3 2 位 6 通阀阀体 (130 MPa)
不锈钢定量环	228-45405-46	Sample Loop, 2000 μ L
不锈钢连接管路	228-36993-98	SUS 1.0 mm ID * 3000 mm

■ 分析条件

液相色谱条件

色 谱 柱 : Shim-pack Scepter C8-120 (100 mm x 2.1 mm I.D., 3 μ m, 岛津 (上海) 实验器材有限公司, PN: 227-31035-05)

流 动 相 : A- 水, B- 乙腈

流 速 : 0.4 mL/min

柱 温 : 40°C

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 初始 10%, 见表 5

表 2 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value (B%)
2.0	Pumps	Pump B Conc.	95
3.0	Pumps	Pump B Conc.	95
3.1	Pumps	Pump B Conc.	10
5.0	Pumps	Pump B Conc.	10

质谱条件

离 子 源 : ESI- D L 温 度 : 250°C

雾化气流速 : 3.0 L/min 加热模块温度 : 400°C

加热气流速 : 10.0 L/min 接 口 温 度 : 300°C

干燥气流速 : 10.0 L/min 接 口 电 压 : 3 kV

扫 描 模 式 : 多反应监测 (MRM)

表 3 MRM 参数

序号	化合物名称	CAS 号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
1	氯霉素	56-75-7	320.80	152.10	15	17	15

■ 原系统与改装后统小体积进样对比

使用浓度为 0.1 ng/mL 氯霉素（溶剂为纯水）进行上柱分析，进样体积为 0.1~50 μL ，考察线性；对进样体积分别为 1、5、20 μL 重复进样 6 次，考察改装前后重现性差异；进样 50 μL 后分别使用 -1 位和空白溶剂进样，考察对比改装前后交叉污染程度差异，结果见表 1。经计算改装只增加了小于 30 μL 的延迟体积。

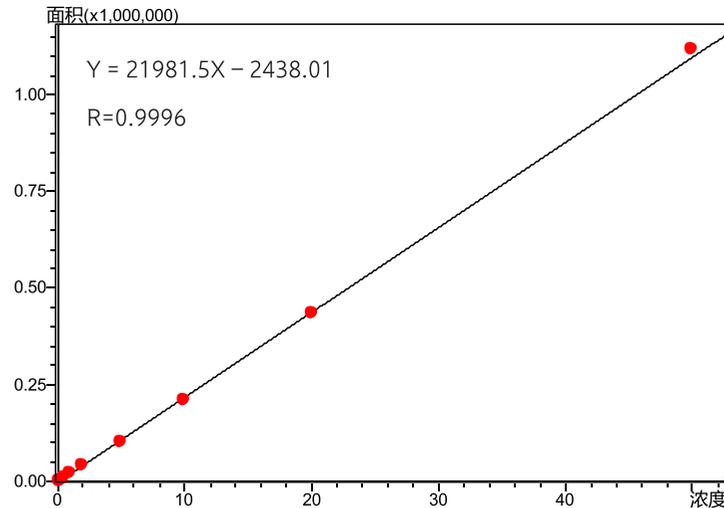


图 2 改装系统小体积进样进样体积 - 峰面积线性拟合标准曲线 (0.1~50 μL)

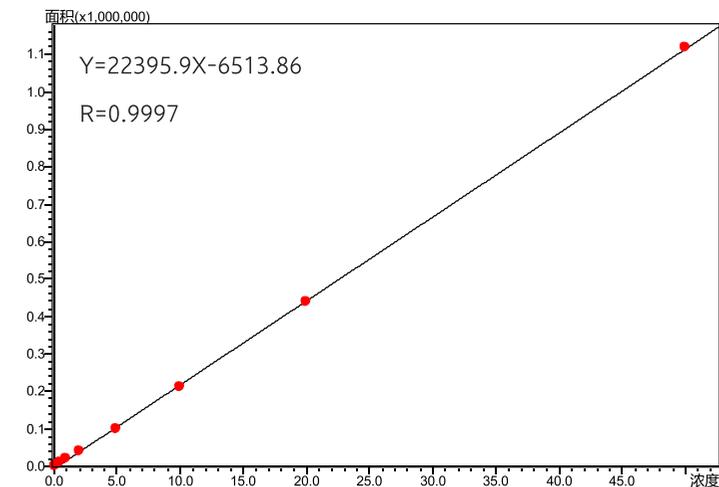


图 3 原系统小体积进样进样体积 - 峰面积线性拟合标准曲线 (0.1~50 μL)

表 4 改装系统与原系统对比

测试指标		原系统	改装系统
线性相关系数		0.9997	0.9996
重复进样峰面积 RSD%(n=6)	进样 1 μL	1.48	1.57
	进样 5 μL	1.32	1.43
	进样 10 μL	1.24	1.28
交叉污染 (%)	-1 位进样	0.0003%	0.0002%
	空白溶剂进样	0.0012%	0.0014%

■ 大体积进样测试结果

4.1 不同吸样速度吸样量准确性考察

分别使用 5 $\mu\text{L/s}$ 和 3 $\mu\text{L/s}$ 吸样速度吸样，进样体积分别为 50、100、200、500、1000、1500、2000 μL ，使用称重法考察不同吸样速度下的吸样量准确性，结果见表 5，当吸样速度吸样量为 3 $\mu\text{L/s}$ 时，吸样量具有较好准确性，体积 - 重量称重线性拟合曲线相关系数为 0.9999；吸样速度吸样量为 5 $\mu\text{L/s}$ 时，当吸样量为 1500 μL 和 2000 μL 时，实际吸样量出现较大偏差，可能原因是改装后增加了不锈钢管路和定量环，增加了实际计量流路长度，吸样阻力变大，计量泵柱塞杆吸力无法保证吸样准确性，两种吸样速度线性拟合曲线见图 4-5。

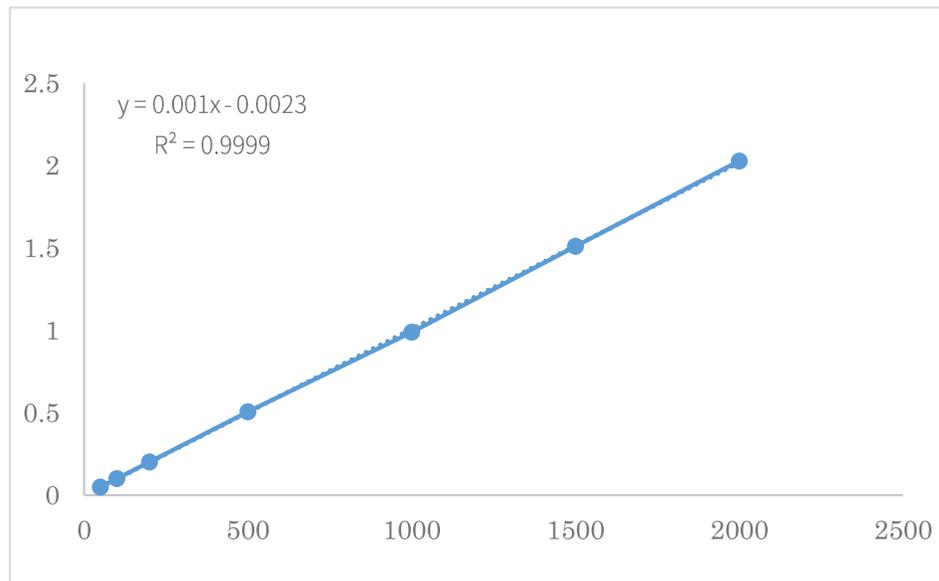


图 4 大进样体积 - 称量重量线性拟合曲线
(吸样速度 3 $\mu\text{L/s}$; 蓝色实线: 数据点连线; 蓝色虚线: 数据线性拟合曲线)

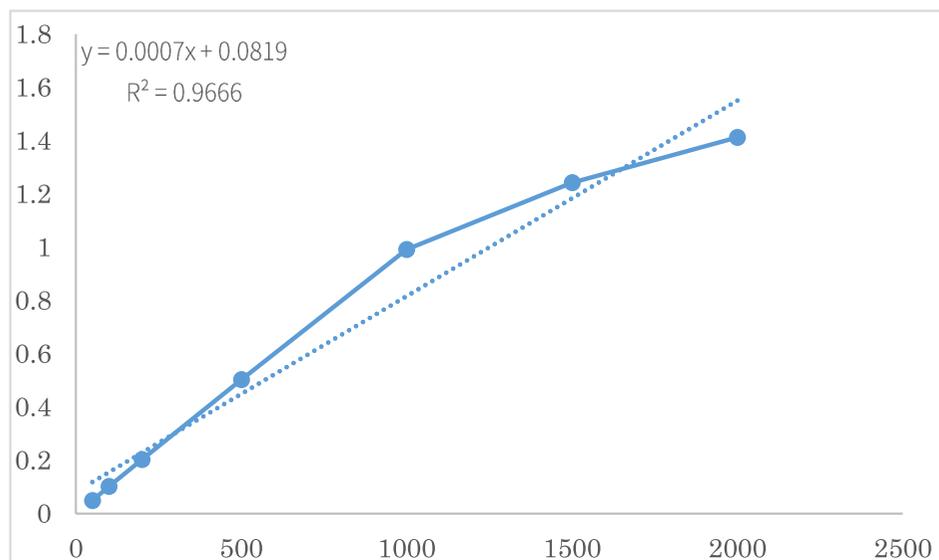


图 5 大进样体积 - 称量重量线性拟合曲线
(吸样速度 5 $\mu\text{L/s}$; 蓝色实线: 数据点连线; 蓝色虚线: 数据线性拟合曲线)

表 5 不同吸样速度实际吸样量对比

进样量 / μL	称重重量 /g	
	吸样速度 3 $\mu\text{L/s}$	吸样速度 5 $\mu\text{L/s}$
50	0.05053	0.04943
100	0.10192	0.10147
200	0.2019	0.20237
500	0.5067	0.50252
1000	0.98921	0.99121
1500	1.51137	1.24252
2000	2.02848	1.41236

4.2 大体积进样线性和精密度实验

进样体积分别为 50、100、200、500、1000 μL 对应峰面积的线性拟合曲线如图 6 所示, 线性相关系数为 0.9991, 对 50、200、1000 μL 进样体积重复进样 6 针, 峰面积相对标准偏差在 1.58~1.74%, 结果见表 6。

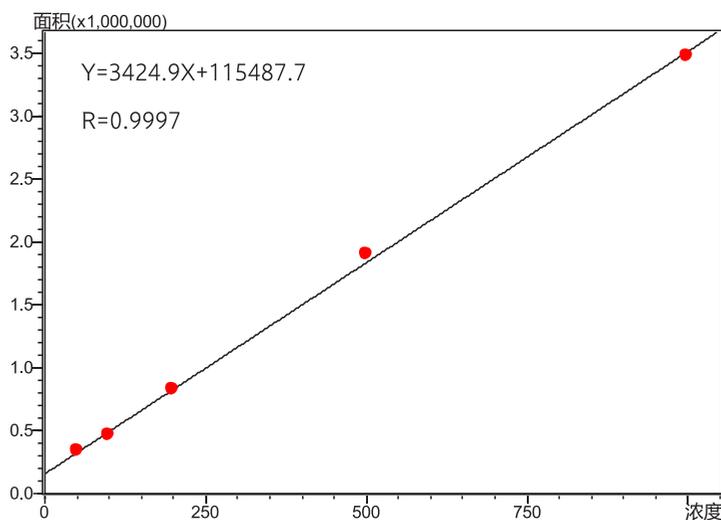


图 6 大体积进样进样体积 - 峰面积线性拟合标准曲线 (50~1000 μL)

4.3 进样残留考察

进样 1000 μL 后分别使用 -1 位和空白溶剂进样, 考察大体积进样交叉污染指标, 结果见表 5。

表 6 大体积进样线性、重复性和交叉污染测试结果

线性相关系数		0.9997
重复进样峰面积 RSD%(n=6)	50 μL	1.58
	200 μL	1.74
	1000 μL	1.63
交叉污染 (%)	-1 位进样	0.0005%
	空白溶剂进样	0.001%

■ 结论

本文介绍了基于岛津 LC-40 系列液相色谱搭建了可切换大小进样体积的液相色谱分析系统，该系统可实现 0.1~ 50 μL 和 50 μL ~2 mL 两个进样体积区间的自由切换；而且因采用直接进样模式，极大的减少了系统的交叉污染；另外，因只增加了少量延迟体积，几乎没有增加小体积进样和小流速分析模式下的延迟时间。对大进样体积和小进样体积的线性、重复性和交叉污染进行考察，结果显示本系统在 0.1~ 50 μL 和 50 μL ~2 mL 两个进样体积区间内，与普通标配系统在进样准确性、线性、精密度、进样残留等性能指标上无显著差异。

岛津应用云

