

## 采用循环馏分收集系统分离苯乙烯低聚物

Yusuke Masuda、Yuki Iijima

### 特点描述

- ◆ 循环馏分收集技术能够对难以分离的化合物进行高纯度制备纯化。
- ◆ GPC 分析与循环馏分收集可在同一台 HPLC 系统中完成。
- ◆ 利用 LabSolutions™ 内置的时间程序功能和批量分析功能，可实现自动化循环馏分收集。

### ■ 引言

制备液相色谱广泛应用于制药、食品和化工行业，用于从混合物中纯化目标化合物、鉴定天然产物中的活性成分，以及对杂质和未知化合物进行结构分析。

将目标化合物与共存化合物分离是获得高纯度样品的重要手段。然而，由于色谱柱选择等分离条件优化的限制，有时难以分离目标化合物。本文以苯乙烯低聚物的分离为应用案例，介绍了采用循环分离法（一种提高分离度的技术）对难以分离的化合物进行制备纯化的原理和工作流程。

### ■ 循环馏分收集系统

当目标化合物在 HPLC 制备纯化过程中分离不充分时，通常需要改变流动相组成等分离条件。但在非水相体积排阻色谱（GPC）中，洗脱液不可更改，除更换色谱柱外几乎无法通过改变条件以提高分离效果。

在不改变填料的条件下，提升色谱柱分离性能的一个简便方法为增加柱长。但该方法存在“柱压升高”和“额外色谱柱成本高昂”的缺点。考虑到昂贵的制备 GPC 色谱柱价格，配置多个色谱柱并不现实。

在这种条件下，可采用“循环分离法”。该方法可使样品反复通过单个色谱柱，以达到与延长柱长相同的效果。本文中采用循环分离法的制备纯化流程称为“循环制备色谱”。

图 1 为循环馏分系统流程图。通过切换循环阀位置，可选择连接馏分收集器的废液 / 收集流路和连接泵入口的循环流路。选择性地含有目标化合物的洗脱带从色谱柱出口重新引入色谱柱入口，可改善目标化合物的分离效果。

此外，由于洗脱液在循环流路中循环使用，减少了洗脱液消耗。

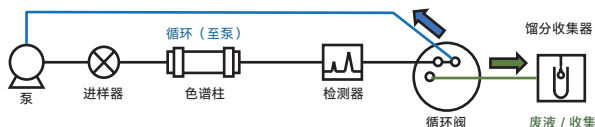


图 1 循环馏分装置典型流程图

### ■ Nexera 系列扩展为循环馏分收集系统

Nexera lite 分析型 HPLC 系统或 Nexera GPC 分析型 GPC 系统可扩展为循环馏分收集系统。以 Nexera GPC 系统为例，在标准配置基础上添加 (1) 循环套件、(2) 循环阀及 (3) 馏分收集器后，既可进行 GPC 分析又可实现循环馏分收集。单台仪器兼具分析与循环馏分收集功能，可最大限度提高设备利用率。图 2 展示了基于 Nexera GPC 的循环馏分收集系统配置示例。



图 2 循环馏分收集系统配置

### ■ 循环馏分收集工作流程

在循环馏分收集过程中，通常采用以下工作流程以获取高纯度目标化合物：

(1) 目标峰组的识别：在非循环条件下进行试验分析，初步识别含目标化合物的峰组。

(2) 循环过程中分离度与峰形的确认：通过循环分析试验，了解目标组分在循环过程中的分离情况与峰形变化。

(3) 手动循环馏分收集：通过手动操作循环阀并监测色谱图，可选择性地仅循环特定峰组。该方法可去除循环流路中目标化合物以外的杂质。

(4) 基于时间程序的自动循环馏分收集：利用 Lab Solutions 内置的时间程序功能，可对复杂样品进行自动循环馏分收集。当单次循环馏分收集不足以回收所需量的目标化合物馏分，或需常规进行循环馏分收集时，这样可以显著减少工作量。

## ■ 苯乙烯低聚物的分离

采用市售聚苯乙烯分子量标准品 (MW=580, 苯乙烯低聚物, 图 3 左) 作为模拟样品。该苯乙烯低聚物包含具有不同重复单元单元数的多种化合物。本文介绍了按照上述工作流程从苯乙烯低聚物中分离特定分子的馏分收集过程。

采用适用于目标组分分子量的 Shodex GPC K-2002 作为制备 GPC 色谱柱。图 3 (右) 显示了在非循环条件下为确认目标化合物获得的色谱图, 分析条件列于表 1。

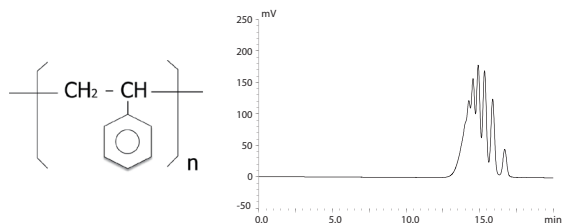


图 3 (左) 聚苯乙烯结构式, (右) 苯乙烯低聚物色谱图

表 1 分析条件

系统	: Nexera GPC + LC-40D 循环套件
色谱柱	: Shodex GPC K-2002 (300 mm×20 mm 内径)
流速	: 3.0 mL/min
流动相	: 氯仿
柱温	: 室温
进样量	: 100 μL
小瓶	: TORAST, LC 1.5 mL, 玻璃瓶
检测	: 紫外检测 (254 nm, 常规样品池)

在循环馏分收集过程中, 若所有峰 (包括非目标化合物峰) 都进行循环, 目标峰可能与前一循环中重叠的其它峰共洗脱。

因此, 建议在初始洗脱阶段有意识地去目标峰以外的所有峰。确认待分离目标峰的洗脱保留时间后, 必须确定选择“废液/收集”或“循环”的阀切换时机。这样可确保仅循环目标组分峰及其邻近杂质峰, 使循环分离效果在色谱图上直观显现。

循环馏分收集的流程图示意图如图 4 所示。初始洗脱阶段目标峰洗脱时, 将循环阀切换至“循环”端。随后, 当通过循环确认目标峰与邻近杂质峰实现良好分离后, 将循环阀切换至“废液/收集”端以去除杂质峰并收集目标峰。

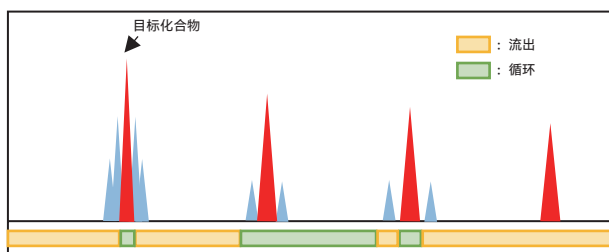


图 4 循环馏分收集示意图

## ■ 采用内置的时间程序实现自动化操作

通过利用 LabSolutions 内置的时间程序功能可执行自动循环馏分收集。在此, 我们通过对包括非目标化合物在内的所有色谱峰进行了全循环分离, 完成了初步试验并获取了色谱图。随后基于该色谱图设定了循环阀的时间程序。图 5 (上) 中红色标记部分代表目标化合物。

在循环馏分收集过程中 (图 5 (下)), 首次洗脱时已初步去除目标化合物两侧的干扰峰。通过第二次和第三次洗脱进一步对与残余干扰峰的分度进行了改善。第四次洗脱时去除已分离的相邻干扰峰, 并对目标化合物峰顶附近适当区间进行了收集。该操作的时间程序如表 2 所示。

结合利用 LabSolutions 内置的分析批处理功能, 可实现包含进样、循环分离及收集的全自动重复操作。

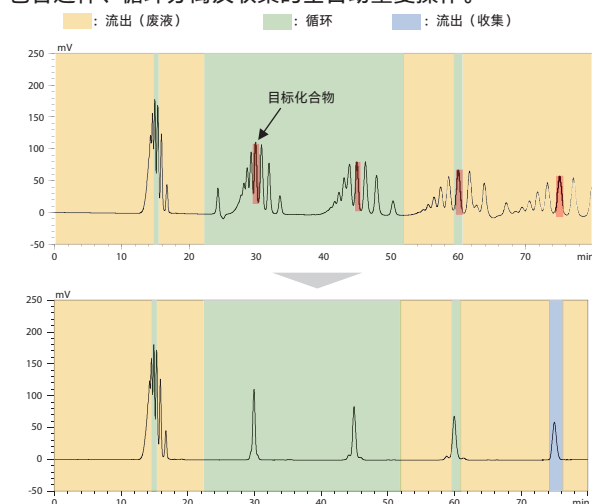


图 5 (上) 全峰循环色谱图, (下) 按阀门切换时间程序执行的循环色谱图

表 2 循环阀时间程序

	时间	单位	指令	值	循环阀位置
1	0.01	控制器	事件	0	废液 / 收集
2	14.70	控制器	事件	1	循环
3	15.10	控制器	事件	0	废液 / 收集
4	20.00	控制器	事件	1	循环
5	52.00	控制器	事件	0	废液 / 收集
6	59.40	控制器	事件	1	循环
7	60.00	控制器	事件	0	废液 / 收集
8	80.00	控制器	结束		

## ■ 结论

本文以苯乙烯低聚物的分离为应用案例, 介绍了循环馏分收集技术的原理与工作流程。采用循环馏分收集技术对单个色谱柱难以分离的化合物的分离效果进行了改善, 可实现高纯度纯化。此外, 通过在常规 HPLC 和 GPC 系统中加装循环馏分收集装置, 可根据需求将 GPC 分析与循环馏分收集在同一台 HPLC 系统中完成, 从而最大限度提高仪器利用率。此外, 通过利用 LabSolutions 内置的时间程序功能和批量分析功能, 可实现循环馏分收集的自动化操作。

岛津应用云



Nexera 和 LabSolutions 是岛津制作所或其附属公司在日本和 / 或其他国家 / 地区的商标。



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:

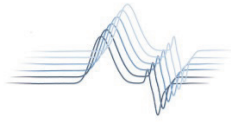
\* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售;  
\* 本资料中的所有信息仅供参考, 不予任何保证。  
如有变动, 恕不另行通知。

第一版发行日: 2025 年 11 月

> 请填写调查问卷

## 相关产品

某些产品可能更新为更新的型号。



> GPC 系统



> Nexera 系列超高效液相色谱仪 ..

超高效液相色谱仪



> Nexera Prep

制备纯化液相色谱仪

## 相关解决方案

> 化学品

> 塑料

> 薄膜

> 染料、颜料、涂料、油墨

> 价格咨询

> 产品咨询

> 技术服务 / 技术支持咨询

> 其他咨询