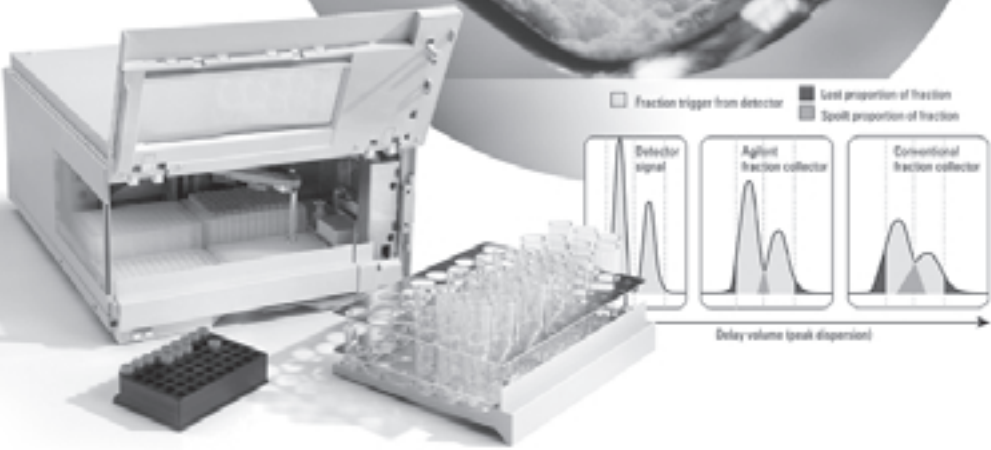


# 制备液相色谱技术及应用

## 应用汇编



## 目录

### 具有广泛应用的纯化系统

#### 相关应用 ..... 2-8

对化合物库按质荷比纯化 ..... 2

天然产物的纯化 ..... 4

反应副产物的制备 ..... 6

蛋白质的纯化与鉴定 ..... 8

#### 相关技术 ..... 10-26

在较高流速下按质量进行馏分收集 ..... 10

按质量馏分收集的优化 ..... 12

常规馏分收集的优化 ..... 14

为获得最高回收率进行系统优化 ..... 16

按荧光检测器信号以色谱峰进行馏分收集 ..... 18

对非安捷伦的检测器信号——以色谱峰进行馏分收集 ..... 20

方法放大 ..... 22

流速从1到100 ml/min制备泵的性能 ..... 24

网络数据检查——提高实验室效率 ..... 26

#### 纯化策略 ..... 28-38

在配备质谱检测器系统上进行化合物纯化 ..... 28

对未达到基线分离的化合物进行纯化 ..... 30

利用收集馏分峰的正负斜率进行峰收集 ..... 32

自动馏分再分析中可能出现的误差 ..... 34

高浓度样品进样 ..... 36

高效率的轻松操作 ..... 38

#### 阀的应用 ..... 40-42

制备液相色谱中的色谱柱交互再生 ..... 40

回收收集和按时间进行馏分收集 ..... 42

#### 索引 ..... 44

## 具有广泛应用的 纯化系统

这本汇编收集了 Agilent 1100 系列纯化系统的性能研究和应用实例。您将从中发现许多其它各种应用的专业经验，包括：馏分收集与再分析、根据色谱峰和质量进行馏分收集，以及纯化系统的优化等。

本汇编提供了目前已有的制备液相色谱的安捷伦应用报告。这些应用报告只是摘要，如要进一步阅读全文请从安捷伦网站上下载，

网址：[www.agilent.com/chem/purification](http://www.agilent.com/chem/purification)。

### 1100 系列纯化系统的性能特点

- 液相泵、自动进样器、馏分收集器、检测器、色谱柱和制备流通池，优化每个应用，以获得最大回收率和纯度。
- 选择适当的规模，使纯化过程与样品量相匹配，范围从  $\mu\text{g}$  到克。
- 馏分收集可按时间、色谱峰和/或质量进行——独具特色的组合。
- Easy Access 软件使非专家用户也能轻松操作。
- 单一厂商的解决方案为您提供设备、消耗品和技术支持。

1100 系列纯化系统为分析型和制备型应用提供了两种基本系统：

- 1100 系列纯化系统 AS (分析型)，流速低于 5 ml/min。
- 1100 系列纯化系统 PS (制备型)，最高流速 100 ml/min。



化合物库包含了要进行生物活性筛选的一系列结构类似物。然而，虽然组合化学与常规合成化学相比简化了合成过程，但仍需要从杂质和反应副产物中纯化出目标化合物。

## 仪器

仪器设置了两个流路。主流路是从二元泵到自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器，及到进入馏分收集器之前的主动分流器。由于质谱检测器是一种破坏性检测器，而主液流的流量过大不能直接进入电喷雾离子源，因此用等梯度泵送入补充液流。补充液流从等梯度泵到MSD前的主动分流器。为了使质量检测更容易，主动分流器将主液流的一部分送入补充液流，再带入MSD。

# 对化合物库按质荷比进行纯化

## 结果与讨论

### 按质荷比进行馏分收集

用纯化/高通量软件分别设置17种混合物中要进行馏分收集的目标质量。通过单电荷阳离子触发馏分收集，见图1。

### 再分析和纯度计算

纯化后对每个组分进行再分析。

用纯化/高通量软件通过所收集化合物的质谱数据测定其色谱纯度。首先对总离子流图(TIC)中的所有色谱峰进行积分。然后根据质谱数据，生成每种选择离子的萃取离子色谱图(EIC)。最后按图2所示的公式计算化合物纯度。本研究的计算中，总离子流(TIC)和噪音阈值的限定线分别设定为最高丰度的90%和5%。纯度计算结果见图3。

符合纯度要求的样品用绿色标码表示，不合格的样品标为红色。

## 结论

馏分收集用预设定的质量触发，与用特异性较低的常规检测器相比，有如下优点：

- 每次运行都使用这种技术时，只收集感兴趣的化合物。
- 在色谱运行过程中从一系列收集到的组分中不需要挑选出目标化合物。
- 安捷伦纯化/高通量软件包不仅控制整个纯化过程，而且还能用于检查纯化产物的纯度。
- 安捷伦的专利-馏分收集延迟校正，确保得到可靠的样品回收率。

总而言之，Agilent 1100系列基于质荷比的馏分收集，是节省时间和资源的纯化平台。

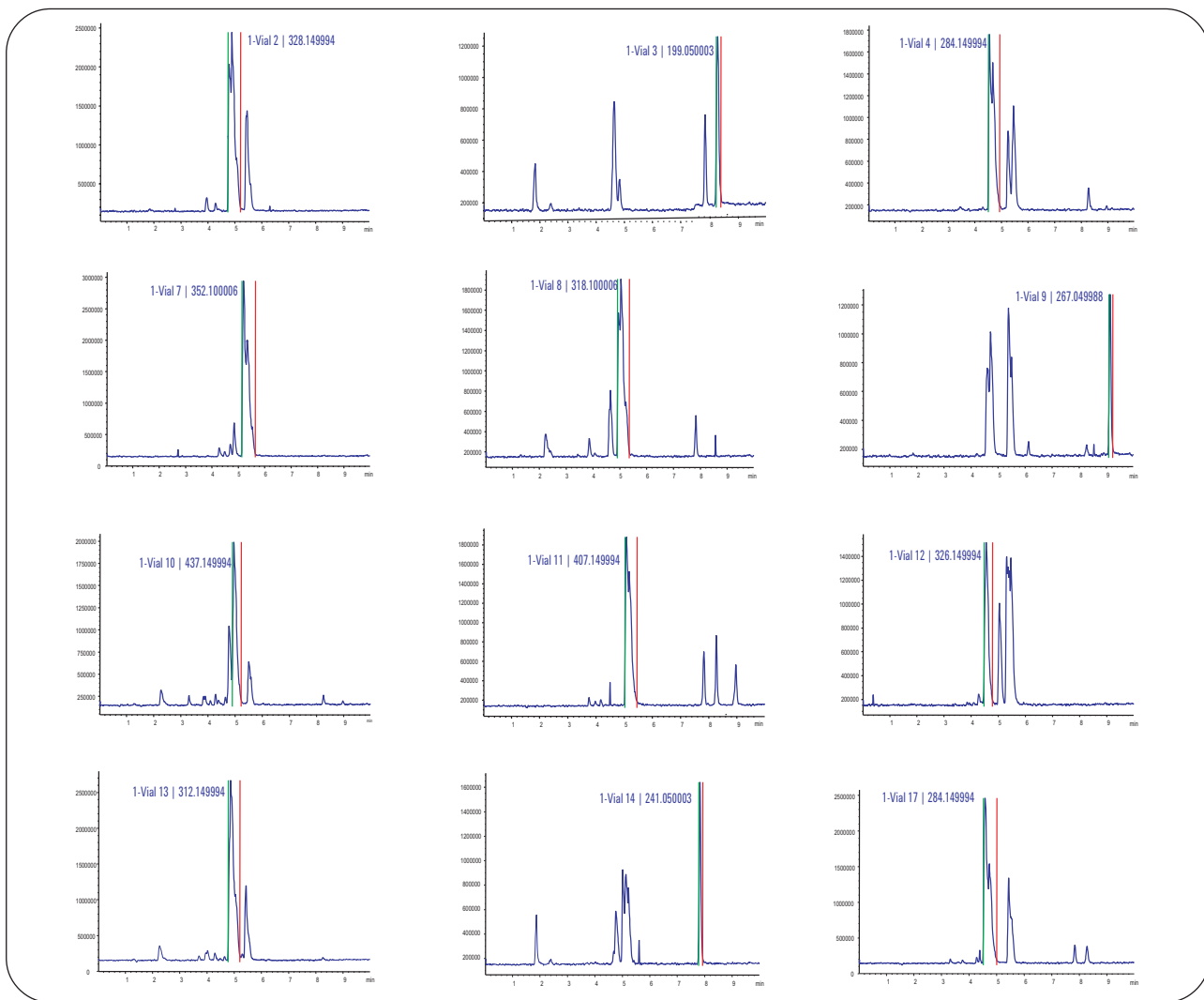


图 1  
12 张选择的总离子流图。标记显示馏分收集的起止点。

$$\text{纯度 \%} = \left[ \frac{\Sigma (\text{EIC 中峰面积})}{\Sigma (\text{TIC 中峰面积}) - \Sigma (\text{本底峰面积})} \right] \times 100$$

图 2  
化合物纯度的计算公式。

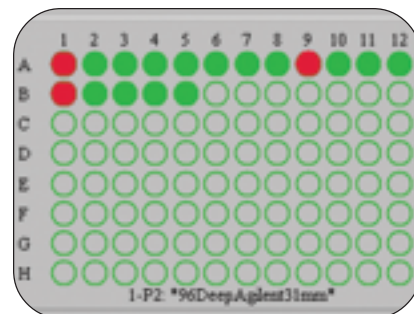


图 3  
纯化/高通量软件的屏幕界面图。彩色标码使纯度计算结果一目了然。

“用 Agilent 1100 系列纯化系统对化合物库按质量进行馏分收集”，  
出版号 5988-7112EN。

从我们的网站 [www.agilent.com/chem/purification](http://www.agilent.com/chem/purification) 上可下载本应用报告的详细资料。

本实例采用 Agilent 1100 系列纯化系统 AS 和 PS, 对红三叶草中的芒柄花黄素及其它植物雌激素进行了分析和制备性分离。

## 结果与讨论

### 体积超载实验

由于红三叶草提取物的浓度已经固定, 所以要进行化合物分离只能体积超载。粗提物样品最多进样 50  $\mu\text{l}$ , 能达到足够分离以进行分析型纯化。

### 用分析型分离植物雌激素

从复杂天然提取物中分离化合物的通用方法是按时间片段进行馏分收集。由于超载实验得到了良好分离, 所以对红三叶草提取物采用了按色谱峰进行馏分收集。

### 更大量的分离

为了得到更多的植物雌激素, 要将几次运行得到的组分进行汇集。这就意味着从一个样品瓶中重复进样, 将馏分收集到同一个馏分管里。汇集功能在用户指南(G2262-90001)中

# 天然产物的纯化

有详细介绍。450  $\mu\text{l}$  样品通过九次 50  $\mu\text{l}$  进样注入系统, 自动汇集得到的组分。对馏分的再分析显示出结果良好 (图 1)。

另一种纯化更多原料的办法是将纯化放大到更大的色谱柱上。根据分析柱超载实验的结果, 按一次进样 450  $\mu\text{l}$  进行放大计算。用一根  $9.4 \times 150$  mm 柱, 流速 7 ml/min。由于安捷伦 1100 系列多孔板进样器 AS 的最高流速仅为 5 mL/min, 所以, 要将纯化转移到纯化系统 PS 上完成。

### 植物雌激素的制备型分离

为了纯化更大量的样品, 将方法进一步放大到  $21.2 \times 150$  mm 的色谱柱上。制备型分离一次可以进样 2300  $\mu\text{l}$ 。色谱图和方法见图 2。对馏分的再分析显示, 放大没有损失与组分纯度相关的任何性能。

## 结论

用 Agilent 1100 系列纯化系统 AS, 可以用分析放大的方法分离复杂的植物粗提物。按照这一方法, 进行了分析型制备分离与基于色谱峰馏分收集的制备型分离。

- 为了获得更多的植物雌激素, 使用了 Agilent 1100 系列纯化系统的汇集功能。
- 所得化合物的纯度通过对馏分再分析测定。
- 根据分析型结果对方法进行放大。
- 在 Agilent 1100 系列纯化系统 PS 上, 要在一次运行中获得更大量的目标化合物, 可用两根不同的色谱柱重复纯化。

在制备型系统上取得的结果与分析型系统上的一致。

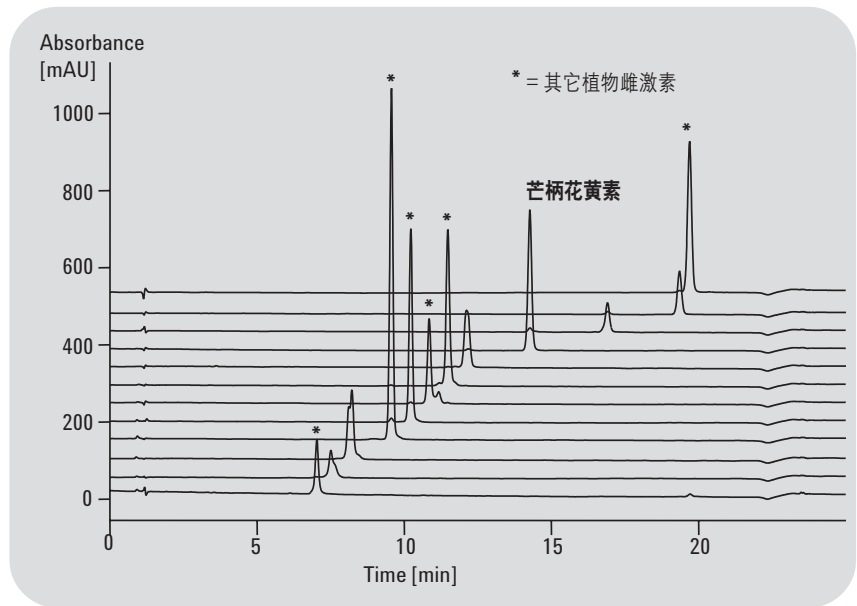


图1  
汇集的馏分进行再分析

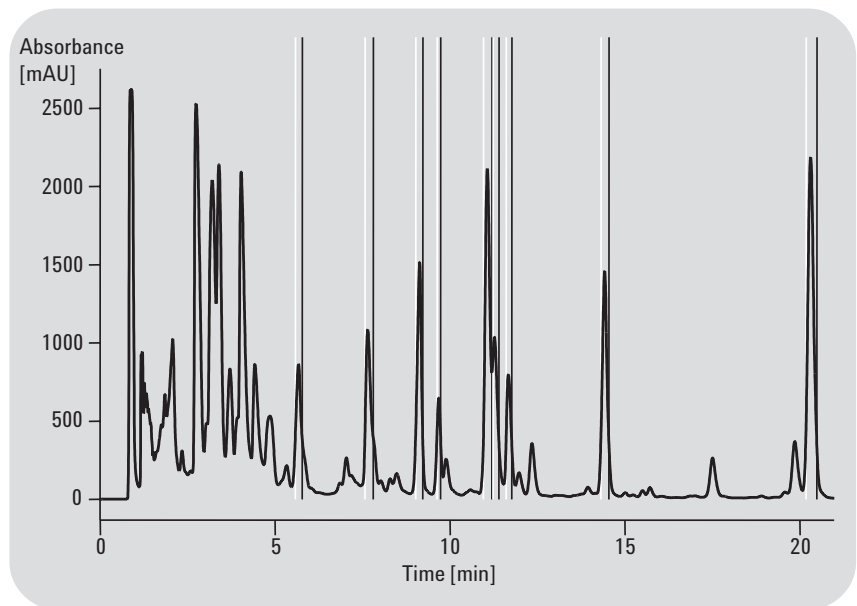


图2  
在 21.2 mm 制备柱上进行分离制备

“用 Agilent 1100 系列纯化系统从红三叶草中分离芒柄花黄素及其它植物雌激素”，  
出版号 5988-5747EN。

从我们的网站 [www.agilent.com/chem/purification](http://www.agilent.com/chem/purification) 上可下载本应用报告的详细资料。

从样品中分离少量杂质是制药行业的一个重要任务。应当把这些化合物鉴定出来，作为生产规模合成的参考标准。由于色谱柱容量受样品中主成分所限，要收集微量组分必须对同一份样品多次进样 - 这个过程通常称为“汇集”。本实验将说明，微量降解产物如何成功地从主产物中分离。

## 结果与讨论

### 分析方法的开发和放大

安捷伦开发了分离主产物和微量产物的分析型方法。

### 制备方法的体积超载和馏分汇集

为了大量分离副产物，将分析型的方法转化成制备型方法。在制备柱超载的情况下，用40次连续运行，收集主产物和降解产物峰。为了收集这么大量的体积，在馏分收集器 AS

## 反应副产物的制备

中连接了一个漏斗盘，代替标准样品瓶。漏斗盘排了10个漏斗，作为馏分收集器出口针头的注射器端口。每个漏斗连接管线，将收集的组分导入相应的容器。

图1表明，40次连续色谱分离具有很高的重复性。系统可靠性是进行较长时间组分汇集的先决条件。如此可靠的条件取决于 Agilent 1100 系列制备泵的卓越性能，以及非常均匀的柱填料和完善的软件包。

### 再分析与重复性

为了确保所收集主产物和微量产物的纯度，分别在运行了10、20、30、40次以后，用前面介绍的方法对每个组分进行了再分析。图2显示了两种组分在纯化过程中的高度一致性，再一次证明了系统的可靠性。

## 结论

Agilent 1100系列纯化系统与漏斗盘一起，为同一样品多次进样后的大体积馏分汇集提供了一流的解决方案。Agilent 1100系列制备泵最高流量100 mL/min,其卓越的性能使分析条件达到了高度重复。

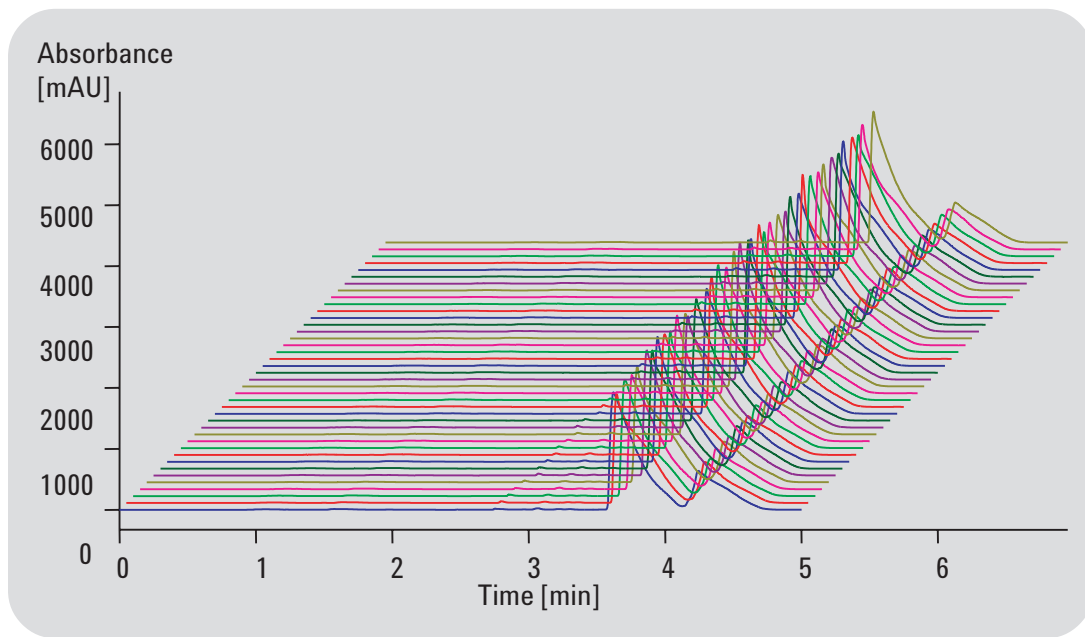


图1  
40次连续制备型运行的色谱图

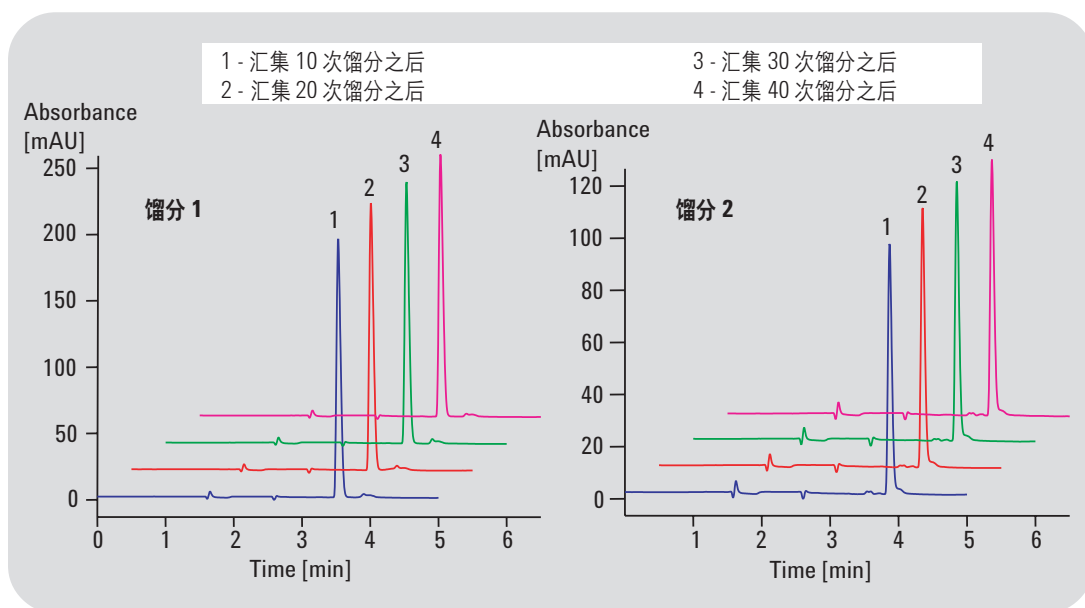


图2  
经过 10 次、20 次、30 次、40 次色谱运行后的馏分 1 和馏分 2

“用 Agilent 1100 系列纯化系统分离纯化反应副产物”，  
出版号 5988-5748EN

从我们的网站 [www.agilent.com/chem/purification](http://www.agilent.com/chem/purification) 上可下载本应用报告的详细资料。

蛋白质的产量和纯度是蛋白质纯化过程是否成功的重要标准。除了有效的色谱条件以外,可靠、完善的仪器设备对纯化成功也有影响。由于反相色谱HPLC具有高分辨能力,所以常常被作为多肽和小分子亲水蛋白纯化流程中的最后纯化步骤。众所周知,反相色谱中所用的溶剂条件会使蛋白质结构发生变性,但通过调节一定条件常常可以恢复,特别是小分子蛋白。Agilent 1100系列纯化系统是一套合适而完善的反相色谱系统。

## 结果与讨论

在 Agilent 2100 芯片生物分析系统上的第一个分析步骤,只需要取 4  $\mu\text{L}$  预纯化的样品,目的是确定是否含有 56 kDa 的目标蛋白,含量是多少。图1显示了分析的电泳图和凝胶样图像。电泳图中 28 秒处的峰即相当于 58.6 kDa 的蛋白,占总蛋白量的 20%,在凝胶图像中也很明显。这清楚地表明,样品中存在目标蛋

## 蛋白质的纯化与鉴定

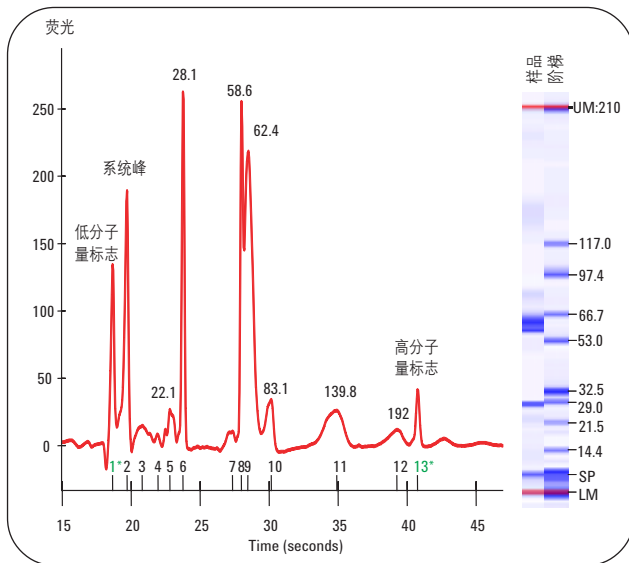
白。剩下的原料进入反相色谱纯化步骤。图2显示了用 Agilent 1100 纯化系统对预纯化样品的反相色谱图。竖线表示馏分收集的起点和终点,水平线表示启动馏分收集的阈值。此外,每个组分上标记了馏分收集器上相应的小瓶。

为了确定含有 56 kDa 目标蛋白的组分,将三个馏分全部冻干,然后溶解在 PBS 缓冲液中,再用 Agilent 2100 芯片生物分析系统进行分析。图 3a 显示了初始原料和三个组分的电泳图。相应的凝胶电泳样图像见图 3b。电泳图和相应的凝胶图像数据清楚地表明,56kDa 目标蛋白收集在组分 2 中。图 4a 显示了对组分 2 的反相色谱再分析结果。由于有精确的延迟体积校正,再分析色谱图显示在约 11.5 分钟处有一个单一、对称的色谱峰。虽然结果表明是纯蛋白,但组分 2 的电泳图(图 4b)仍显示出在 20 kDa 左右有微量杂质。用 2100 芯片生物分析系统软件测定蛋白质纯度

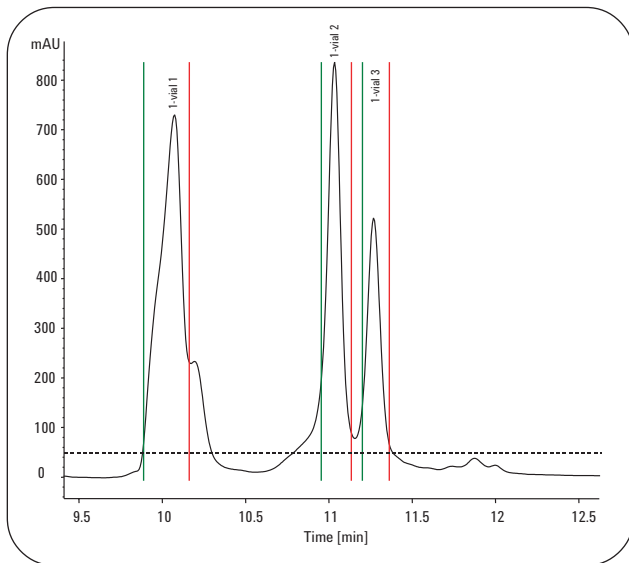
是 76%,蛋白质的相对浓度为 456  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。这个结果很容易理解,Agilent 2100 芯片生物分析系统的蛋白分离方法与反相色谱不同。反相色谱是按疏水性差异进行分离,而 2100 芯片生物分析系统则是根据蛋白质分子的大小不同进行测定。因此,图 4b 中可能会显出杂质。反相色谱图中的色谱峰里包含了两个共洗脱蛋白。要得到纯的蛋白,需要用其它方法进一步纯化,如离子交换色谱或凝胶过滤色谱。

## 结论

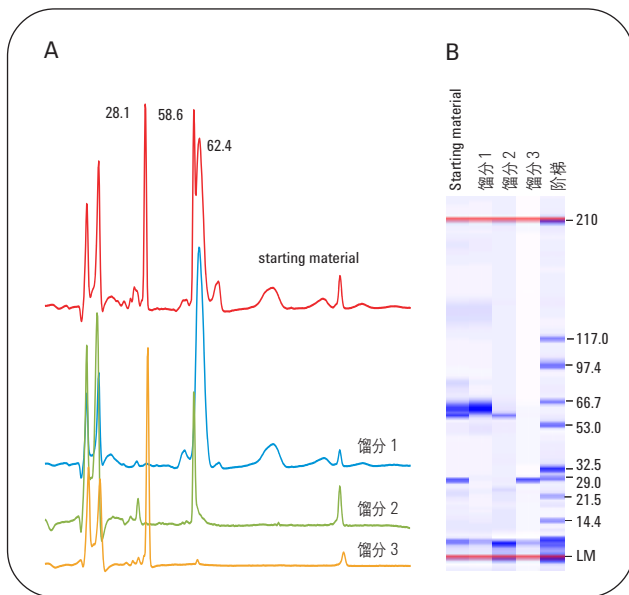
如果样品纯度至关重要,就不能只用一种分析方法测定。为此,安捷伦提供了解决方案——1100 系列纯化系统和 2100 芯片生物分析系统——一起确保有效、可靠的蛋白质纯化与鉴定。



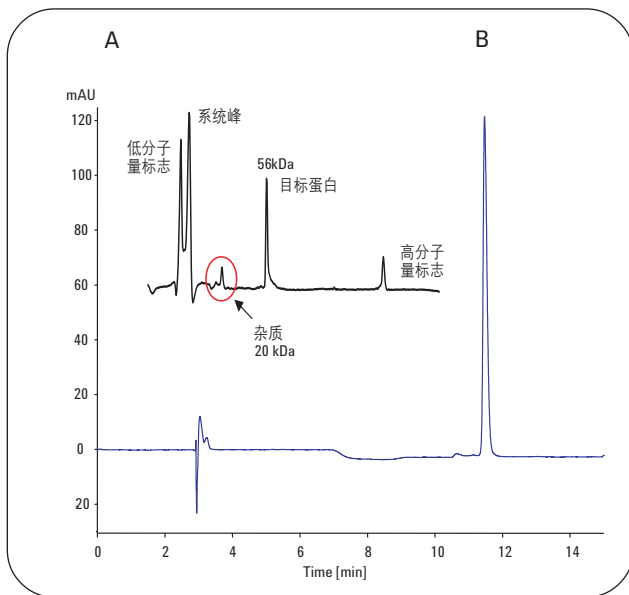
**图 1**  
在 2100 芯片生物分析系统上，用蛋白质 200 Plus 试剂盒，分析预纯化的蛋白质样品。电泳图和凝胶样图像如图所示。数字代表分子量，以 kDa 为单位。56 kDa 目标蛋白的迁移时间为 28 秒，相当于 58.6 kDa。



**图 2**  
预纯化蛋白样品的纯化色谱图。竖线分别代表馏分收集的起止点。水平线代表按 280 nm UV 信号峰启动收集的阈值。此外，数字标志着收集的组分在馏分收集器上的位置。



**图 3a/b**  
在 Agilent 2100 芯片生物分析系统上，用蛋白质 200 Plus 试剂盒，分析纯化系统得到的三个馏分。电泳图 (A) 和凝胶图像 (B)。数字代表分子量，以 kDa 为单位。56 kDa 目标蛋白在馏分 2 中。



**图 4a/b**  
馏分 2 的色谱图 (A) 和电泳图 (B)。虽然反相色谱显示为纯蛋白，但电泳图仍显示有 20 kDa 左右的微量杂质。

“用 1100 系列纯化系统和 2100 芯片生物分析系统进行蛋白质纯化和鉴定”，  
出版号 5988-8630EN。

从我们的网站 [www.agilent.com/chem/purification](http://www.agilent.com/chem/purification) 上可下载本应用报告的详细资料。

心痛定、硝苯吡酯、硝吡丁甲酯都是具有1,4-二羟基嘧啶结构的抗心绞痛药。在出现高渗性心律失常和心绞痛时,用做钙拮抗剂。以从混合物中分离这三种化合物为例,说明纯化在制药中的应用。本应用的目的是在一次运行中各纯化出 20 mg 化合物,三个馏分分别只含单一的目标物质。

## 结果与讨论

### 系统设置和配置

系统按操作一般方法配置,流速 25 mL/min,色谱柱为 21.2 x 50 mm Zorbax SB-C18 柱。从色谱柱出来的液流在进入 UV 检测器后进行分流——主液流进入馏分收集器,分出的液流进入 MSD。由于样品是溶解在 DMSO 中,方法的设置要确保在任何目标化合物洗脱之前让 DMSO 流出。因此,在梯度启动前,用水/乙腈 90:10 的溶剂先冲洗色谱柱 2 分钟。为了防止 DMSO 污染 MSD,在运行前 2 分钟将液流选择阀切换到废液位置。

## 在较高流速下按质量进行馏分收集

### 按质量进行馏分收集

三种化合物的分子质量分别是,心痛定 346.34、硝苯吡酯 418.45、硝吡丁甲酯 388.42。这三种化合物在正离子模式下都有很强的碎片。因此,硝苯吡酯不是用分子量为 418 触发,而是用其主要碎片质量 342 启动收集。图 1 显示了按  $[M+H]^+$  离子质量进行馏分收集的结果。

### 馏分的再分析

为了检查纯化的结果,在分析型 HPLC 系统上对收集的馏分进行再分析,分析方法先用纯的标样校正。各馏分的色谱图见图 2。分析结果见表 1。心痛定、硝苯吡酯、硝吡丁甲酯的进样量分别为 19.43 mg、19.05 mg、18.92 mg。

### 结论

三种药物在 25 mL/min 的流速下按质量进行馏分收集得到了纯品。对所收集馏分的再分析显示,即使色谱柱高度超载,各化合物一次运行也可纯化 20 mg,回收率很高,纯度可达到 90 % 或更高。本结果证明配备 MSD 的 Agilent 1100 系列纯化系统在较高流速下具有卓越性能。

	心痛定 [mg]	硝苯吡酯 [mg]	硝吡丁甲酯 [mg]		
馏分 1	18.90	0.11	0.16	心痛定纯度	98.6 %
馏分 2	0.29	17.66	0.77	硝苯吡酯纯度	94.4 %
馏分 3	0.49	1.66	18.36	硝吡丁甲酯纯度	89.5 %
回收率 [mg]	19.68	19.43	19.29		
回收率 [%]	101.3	102.0	101.9		

表 1  
馏分再分析结果

色谱柱: ZORBAX SB-C18  
 21.2 x50 mm, 5 μm  
 流动相: A=水 + 0.1 % 醋酸  
 B=乙腈 +0.1 % 醋酸  
 梯度: 0分钟 10 % B  
 2分钟 10 % B  
 6分钟 90 % B  
 7分钟 90 % B  
 8分钟 10 % B  
 停止时间: 8 min  
 后运行时间: 3 min  
 流速: 25 mL/min  
 进样: 500 μL  
 柱温: 室温  
 UV 检测器: DAD: 220/16nm  
 (参考波长: 360/60 nm), 制备型  
 流通池(0.06-mm 光程长度)

#### MSD

补充流速: 1 ml/min  
 补充溶剂: 水 / 乙腈 25:75  
 + 0.1 % 醋酸  
 电离模式: API-ES 正离子  
 扫描范围 m/z: 200-500 从 2 分钟开始  
 裂解器: 20 伏特  
 干燥气体流速: 13 l/min  
 雾化器压力: 55 psig  
 干燥气体温度: 350°C  
 Cap. 电压: 3000 V

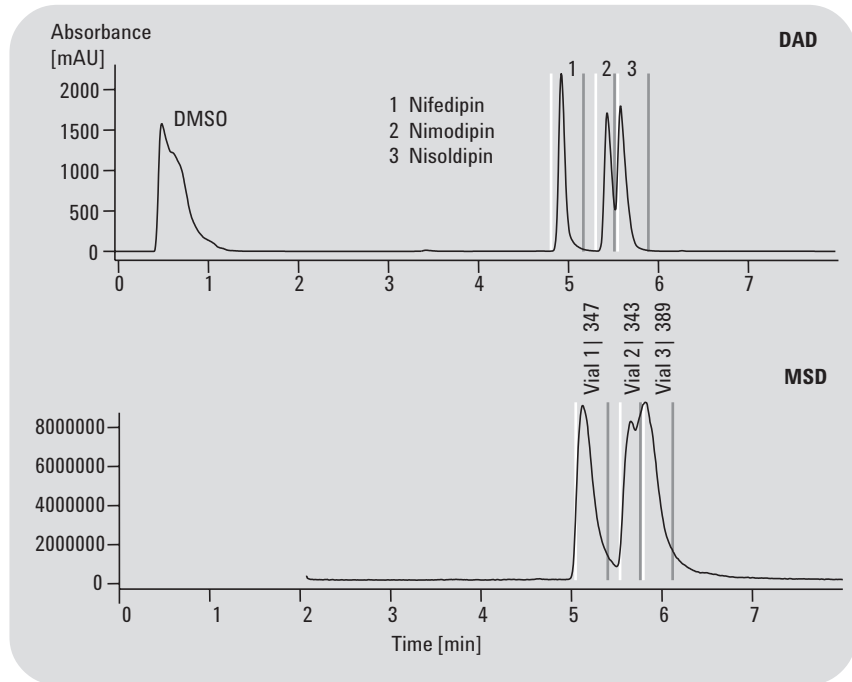


图1  
按质量进行馏分收集的结果

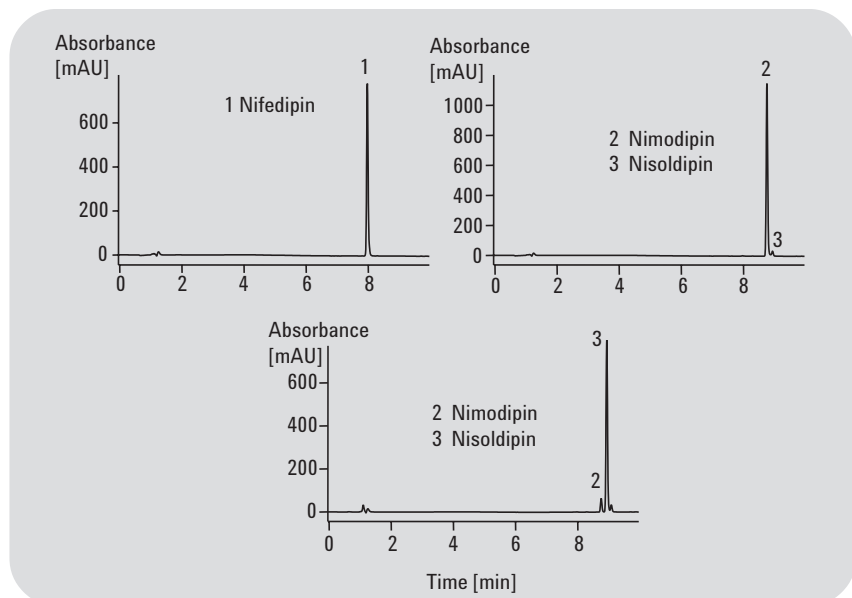


图2  
馏分再分析

“在较高流速下按质量收集馏分进行药物纯化”，  
 出版号 5988-7113EN

随着对更高纯度化合物需求趋势的增长，合成化学家们都想全神贯注地进行有机合成，用更少的时间对合成产物进行分析和纯化。安捷伦主动分流器和延迟传感器与安捷伦纯化/分析平台完美组合，让纯化更有效、更灵活，同时使用更方便。

## 结果与讨论

### 提高纯化生产率

主动分流器和延迟传感器最有效的应用领域，是制药行业的早期药物开发。随着需要制备大量纯化化合物的压力增加，有机合成和药物化学家一直在寻找提高生产率的工具。其主要的目标是：

- 收集已知分子式或分子量的合成产物的纯样品
- 收集微克到毫克级的组分
- 使花在新化合物分析和纯化上的时间最少
- 减少收集样品所需要的经费、时间、工作量、信息、技能等
- 提高化学家和实验室的效率

图 1 是达到以上目所用的系统流程图。

## 按质量进行馏分收集的优化

### 操作灵活的主动分流器

这个系统非常关键的部件就是安捷伦主动分流器。分流器的功能是从 HPLC 液流中取出一小部分，再将其送入质谱仪的液流中，过程见图 2。

主动分流器的主要特点如下：

- 液流大小和切换速度都可以根据不同方法进行改变，以调整分流比。此外，主动分流器软件根据每个方法自动指挥阀的开启和关闭。
- 不同的方法可以有不同的分流，而不需要再调整流路
- 不会增加固有的延迟，简化了色谱
- 降低了反压，延长了系统组件的使用寿命
- 软件控制主动分流器参数和早期维修反馈(EMF)，帮助确定更换密封垫的时间

### 延迟传感器改进了系统准确性，而且可以轻松设置

使这个系统更轻松、更可靠的另一个主要特点是，测定延迟体积的程序。为了避免宝贵组分的可能损失，对按质量收集的系统来说，重要的是目标峰要在达到馏分收集器前进

入检测器。这要求管线从每个检测器检测到峰，到其进入馏分收集器的时间具有重复的延迟。馏分收集器内置延迟传感器(FDS)可以更容易地做到这一点。分配臂指向传感器上，固件将精确地计算出检测器和馏分收集器之间的延迟体积。

延迟传感器的主要优点如下：

- 准确计算色谱峰检测和馏分收集之间的时间延迟
- 在方法和馏分收集器配置中自动保存正确的延迟值

对于 LC/MSD，延迟传感器将计算色谱峰的 LC/MSD 检测与色谱峰达到馏分收集器之间的时间。与 UV 检测器不同的是，这个后运行时间受补充泵液流及 HPLC 泵流量的影响。因此，需要根据每个方法的流量重新校正后运行时间。在没有色谱柱的情况下，将含染料和咖啡因的样品一起注入。用 UV 检测器和 FDS 检测染料的响应，用 LC/MSD 于 m/z 195 监测咖啡因离子。延迟传感器数据的监测和保存与其它 2D 检测器相同。

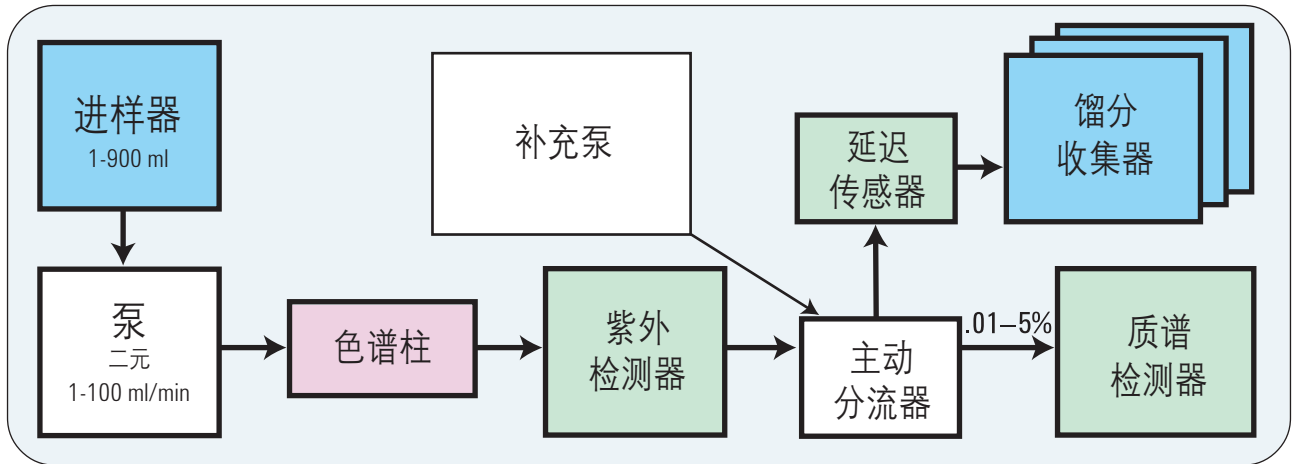


图1  
纯化流程图

## 结论

安捷伦主动分流器和延迟传感器能大大提高化合物分析纯化时的实验室效率。主动分流具有更大的灵活性，能够优化分析、收集不同基质中的各类化合物。延迟传感器简化了系统设置，确保宝贵的组分全部被收集。

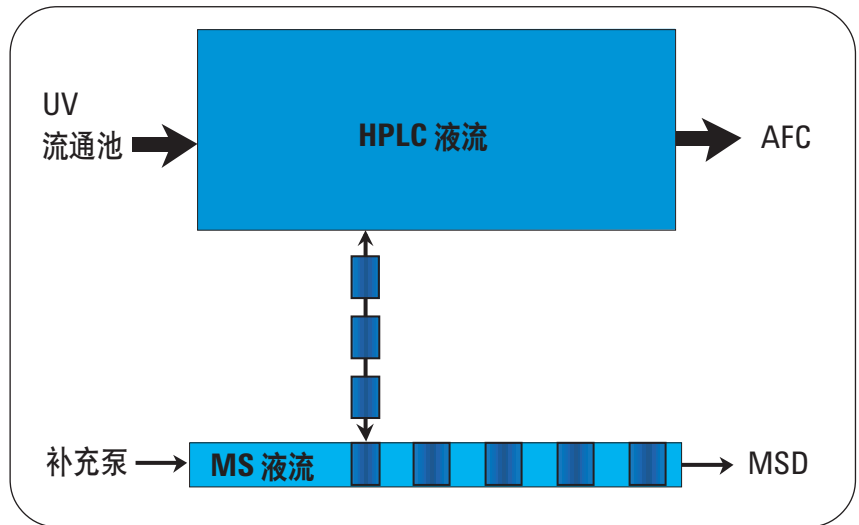


图2  
主动分流器的工作流程

“用主动分流器和延迟传感器优化带 LC/MSD 的馏分收集”，  
出版号 5988-7610EN

从我们的网站 [www.agilent.com/chem/purification](http://www.agilent.com/chem/purification) 上可下载本应用报告的详细资料。

在理想的情况下，从馏分收集器流出的分析物成分应当与检测器信号完全一致，也就是说，如果在馏分收集器针尖处记录色谱图的话，它应当与柱后检测器测得的色谱图相同。然而，要符合这个要求，必须考虑影响化合物回收率和收集可靠性的以下因素：延迟体积、扩散和系统响应。本文将阐述，创新性的 Agilent 1100 系列纯化平台在设计上如何考虑这些对色谱结果的影响因素。

## 结果与讨论

### 延迟体积校正

后运行时间是指分析物分子从检测池迁移到馏分收集器所用的时间。为了精确地触发馏分收集器的启动和停止，必须测定后运行时间。之后，该后运行时间很容易转换成与流速无关的延迟体积。按照惯例，后运行时间的测定是通过注射一种染料，直到染料出现在馏分收集器针尖时为止。这样测定后运行时间不仅费力，而且也不精确。因此，Agilent 1100 系列纯化系统采用了一种创新

## 常规馏分收集的优化

性的延迟体积校正方法。这是一种全自动、精确测定延迟体积的专利技术。

除 UV 检测器外，将第二个检测器，称为延迟传感器，装入馏分收集器内。只要延迟校正物质注入流路，两个检测器就都记录信号。两个信号之间的时间延迟（减去分流阀和馏分延迟传感器之间的迁移时间）就是后运行时间。根据校正时所用的流速，系统将自动计算出准确的延迟体积，并保存在馏分收集器的存储器里。现在系统就可以计算出每个流速下精确的后运行时间。不需要再校正。

### 扩散

扩散影响化合物在检测器向馏分收集器迁移过程的分布，但经常被忽视。扩散使峰变宽，严重削弱了色谱分辨能力。根据 Aris-Taylor 方程，谱带变宽与流速和管线长度成正比，与管线内径的四次方成正比。这种

影响见图 1。所以，连接检测器与馏分收集器之间的管线内径如果选择不当，将导致纯化结果差，如回收率低，甚至化合物重新混合。因此，为较宽流量范围设计的非特异性馏分收集器，可能在高流速下（柱内径大于 25 mm）能得到合格的结果，但在靠近低流速时（柱内径小于 9 mm）就会不断损失回收率和纯度。而安捷伦的馏分收集器却能适合各种纯化规模。每种类型的馏分收集器都能保证在其特定流速范围和柱内径条件下具有最佳性能，获得最高的纯度和回收率。

### 系统集成智能化

系统集成智能化不仅能够让用户能够从各种 Agilent 1100 组件中按需要进行设置，而且能够实时进行数据处理。实时数据处理对即时馏分收集、安全可靠的系统操作都特别重要，尤其是在 PC 断电或网络中断的时候。

Agilent 1100系列所有组件通过控制器局域网(CAN)进行通讯连接,以确保如此灵活而安全的系统操作。系统操作完全不受PC限制。即使因为网络堵塞、CPU被临时占用或完全失灵,馏分收集依然可以实时进行。因为馏分是按照相应的色谱图进行精确收集的。除CAN连接外,Agilent 1100系列的每个组件都是智能化的,只要系统接到来自PC的任务,就可以开始主动工作。PC充当的仅仅是用户与仪器之间的接口。从而使实验结果的监测和处理得到了简化。

## 结论

色谱纯化系统是影响目标化合物纯度和回收率的关键。为了确证这些化合物的纯度,通常要对已纯化的样品进行再分析。用户的经验已经证明,纯化样品的组成与相应的色谱图常常不一样。洗脱出的液流在检测器与馏分收集器之间的迁移很容易受干扰,可以严重影响收集的

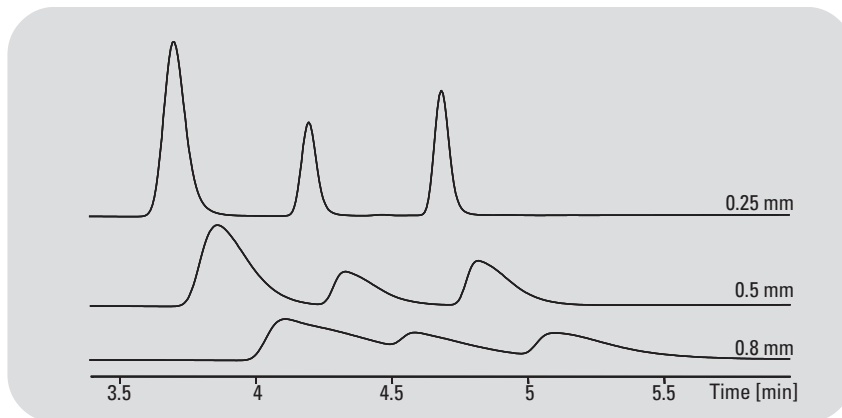


图1  
管内径对色谱分辨率的影响。实验中样品量、管的长度和流速保持不变。

馏分。1100系列纯化系统的创新之处在于:

- 基本不受分析物向馏分收集器输送的干扰
- 专利的延迟体积校正可以保证,方便而精确地测定检测器和馏分收集器之间的延迟体积,这对于获得高纯度和回收率至关重要
- 完善的流路设计保证低扩散,不会使已经分开的色谱峰再混合,从而保障了高的色谱分辨率。

- 安捷伦的集成智能化为快速、可靠、精确的馏分收集提供了实时数据处理。

总而言之,安捷伦高性能的纯化系统,在广泛的应用中都能得到近100%的回收率。

“用 Agilent 1100 系列纯化平台进行创新性的馏分收集”,  
出版号 5988-9250EN

Agilent 1100系列馏分收集器具有最小延迟体积和最高馏分收集功能，这对低流速下的纯化尤为重要。图1是有两个延迟体积 $V_{D1}$ 和 $V_{D2}$ 的馏分收集器的示意图。

当色谱峰被检测到时，馏分收集器必须等待该峰从检测器流通池流到分流器阀后，再开始收集馏分。因此，峰的起始时间 $t_0$ 上要加上后运行时间 $t_{D1}$ 。为确保峰全部被收集，馏分收集器的切换是将色谱峰终止时间 $t_E$ 加上后运行时间 $t_{D1}$ 和 $t_{D2}$ 。然后峰尾到达馏分收集器的针尖。

## 结果与讨论

### 延迟体积 $V_{D1}$ 对回收率的影响

色谱峰在毛细管中移动时，由于流动相在毛细管截面上的速度不同，会出现扩散。这是由流动相与毛细管壁的相互作用引起的。因此，扩散与毛细管长度和内径有关。图2显示随着延迟体积 $V_{D1}$ 的增加，色谱峰从检测器移动到馏分收集器时的扩散。

## 为获得最高回收率进行系统优化

$V_{D1}$ 通过延长相同内径馏分收集器标准毛细管(0.25 mm内径)的长度而增加。

馏分收集根据检测器信号启动，即馏分的宽度用半峰宽测定。峰达到馏分收集器时因扩散而变宽，但分流阀只在根据检测器测定峰宽的时间窗口内切换到收集位置。这可能导致在峰的起止点上丢失化合物。延迟体积 $V_{D1}$ 越大，化合物丢失得越多。Agilent 1100系列将这种影响减到了最小，因为在设计上其延迟体积 $V_{D1}$ 最小，而且在1100系列叠放后最大限度地缩短了馏分收集器的入口毛细管。

### 延迟体积 $V_{D1}$ 对分辨率的影响

在柱上已经分离的峰因扩散而重新混合也是另一个重要问题。分辨率是测量两个峰之间分离的参数，用 $5\sigma$ 法计算。选择这个方法是因为在 $5\sigma$ 峰高(峰高的4.4%)处计算峰宽，接近于峰的基线。

为了说明增加延迟体积 $V_{D1}$ 对分辨率的影响，测定了两个在检测器和馏分收集器中的分辨率。增加不同内径(0.25 mm和0.8 mm)的管线，以增加延迟体积。然后比较馏分收集器和检测器中峰的分辨率，得到相对分辨率。

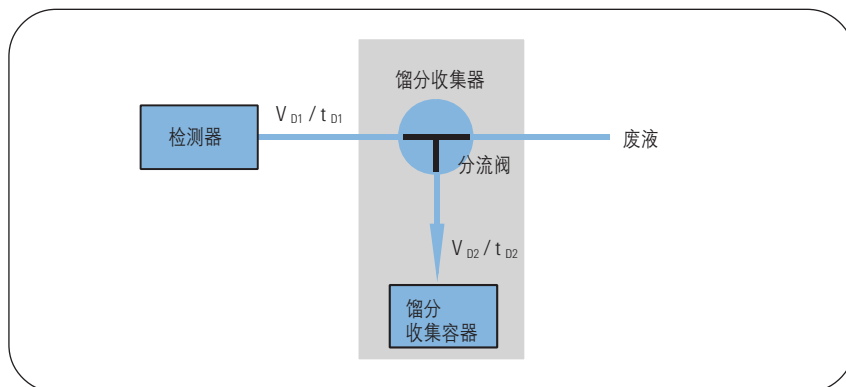


图1  
基于UV纯化系统的馏分收集器示意图

图 2 显示，相对分辨率随延迟体积  $V_{D1}$  的增大而降低。还表明，在延迟体积相同的情况下，相对分辨率随毛细管内径的增加而大大降低。这是因为毛细管截面对分辨率的影响是半径的平方。

## 结论

显示了不同延迟体积和检测器信号延迟的影响，以及如何自动测定延迟体积。用不同延迟体积触发色谱峰以获得最高回收率。最大限度地减小延迟体积  $V_{D1}$ ，可以避免低回收率或因扩散使分开的峰重新混合。

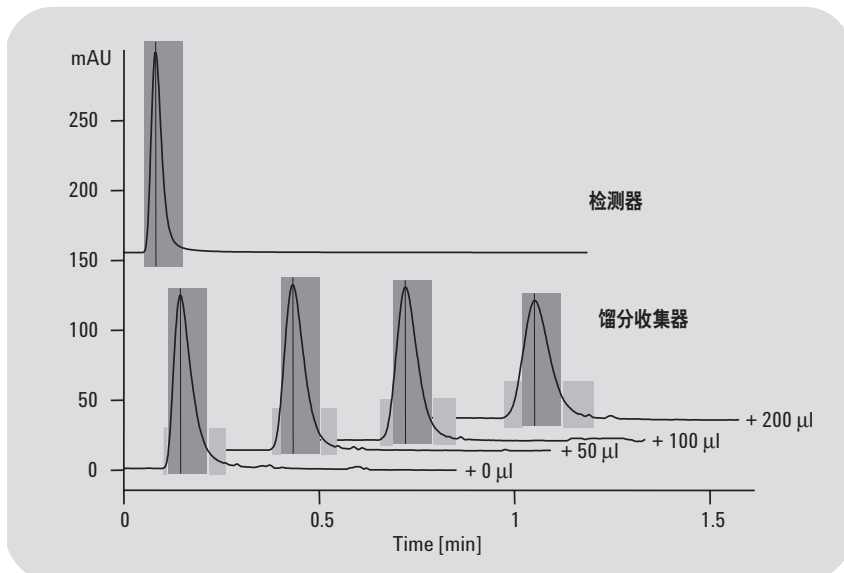


图 2  
扩散随毛细管体积的增大而增加

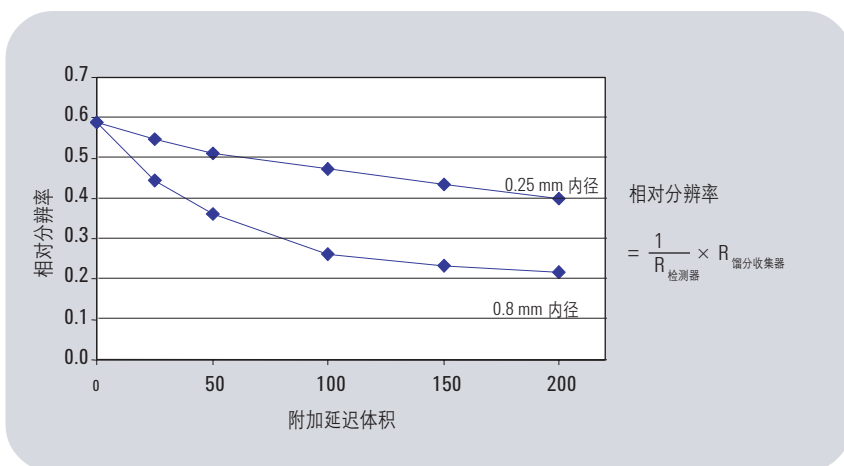


图 3  
两个不同内径毛细管的相对分辨率

“用 Agilent 1100 系列纯化系统 AS 按色谱峰进行馏分收集——延迟体积对回收率的影响”，  
出版号 5988-5746EN

从我们的网站 [www.agilent.com/chem/purification](http://www.agilent.com/chem/purification) 上可下载本应用报告的详细资料。

按紫外信号从复杂混合物中进行化合物纯化，可能因紫外检测相对低的选择性而比较困难。如果已知目标化合物的质量，这个问题就可以解决。可以按质量进行馏分收集对该化合物进行纯化。万一不知道目标质量数但化合物却有荧光，可以将 Agilent 1100 系列荧光检测器组合到纯化系统 AS 或 PS 中。

## 仪器

### 系统设置和配置

Agilent 1100 系列荧光检测器 (FLD) 的设置参见随组件带来的手册。将它接入 Agilent 1100 系列二极管阵列检测器 (DAD) 与 Agilent 1100 系列馏分收集器 AS 之间的流路。由于荧光检测器的固件不能触发色谱峰，可以将检测器的模拟输出信号送入按峰进行馏分收集的 UIB。UIB 通过 CAN 电缆与其它组件连接 (图 1)。要正确进行色谱峰触发，UIB 连接荧光检测器模拟输出很重要，标记为模拟信号 1 (ANALOG 1)。

在化学工作站中配置荧光检测器时，将输出 1 的模拟输出范围设置为 1 伏。在荧光检测器控制窗口中能找到模拟输出范围的设定。

## 按荧光检测器信号色谱峰进行馏分收集

### FLD 延迟体积的校正

要正确进行馏分收集，必须测定荧光检测器和分流器阀之间的延迟体积。UV 检测器是用馏分收集器内置的安捷伦馏分延迟传感器测定延迟体积。Agilent 1100 系列纯化系统用户指南中介绍了用标准延迟校正物 (G1946-85020) 进行延迟体积校正的方法。化学工作站的标准延迟体积校正方法必须增加荧光检测器设置 (可以用荧光检测器缺省设置)，并用另外的名称保存。用与纯化过程荧光检测器所用设置相同的峰宽 (响应时间) 进行延迟校正很重要。此外，强烈推荐将峰宽 (响应时间) 设置在  $> 0.005 \text{ min}$  ( $0.12 \text{ s}$ ) 或更低。

### 结果与讨论

#### 用荧光检测器信号触发馏分收集

要按荧光检测器信号触发馏分收集，在化学工作站 Setup Fraction Collector (设置馏分收集器) 窗口中，UIB 必须选择为 *Peak Detector* (峰检测器)。Up Slope (正斜率)，Down Slope (负斜率) 和 Threshold (阈值) 等参数的选择同紫外检测器。分离芒柄花黄素时，将正斜率和负斜率的数值从表中删去，只用阈值触发。阈值设置为 50 mV，在时间表的 12 到 17 分钟之间按色谱峰进行馏分收集。图 2 显示了红三叶草提取物的二极管阵列检测器、荧光检测器和 UIB 信号——收集的馏分用竖线标记。用荧光检测器和二极管阵列检测器检测对收集的馏分进行

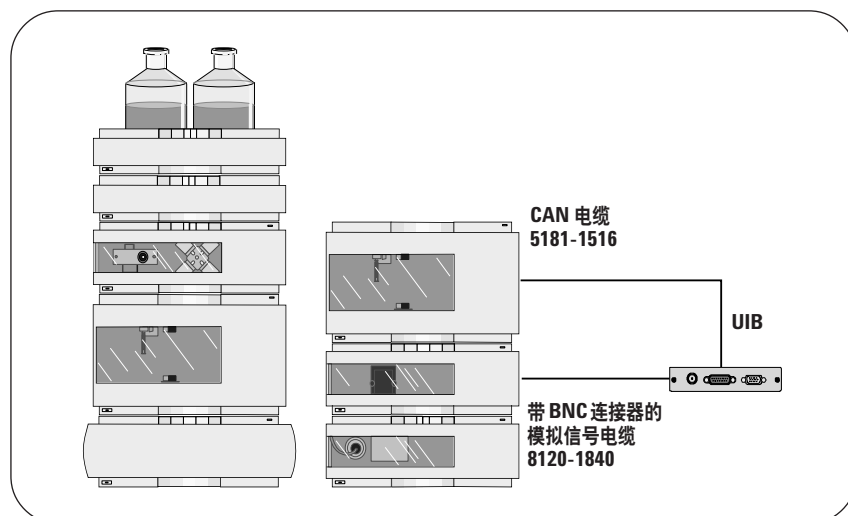


图 1  
将荧光检测器与按色谱峰进行馏分收集相结合

色谱柱:	Zorbax SB-C18 3 x 150 mm, 5 μm
流动相:	A=水 + 0.1 % AcOH B=乙腈 + 0.1 % AcOH%
梯度:	0 分钟 20 % B 20 分钟 45 % B 21 分钟 100 % B
色谱柱冲洗:	24.5 分钟时用 100 % B 冲洗 25 分钟时用 20 % B 冲洗
停止时间:	25 分钟
延后时间:	5 分钟
流速:	0.7 mL/min
进样:	20 μl
柱温:	35 °C
UV 检测器:	DAD: 260 nm/16 (参比 800 nm/100), 标准流通池(10 nm)
FLD:	激发 250 nm, 发射 450 nm, 标准流通池

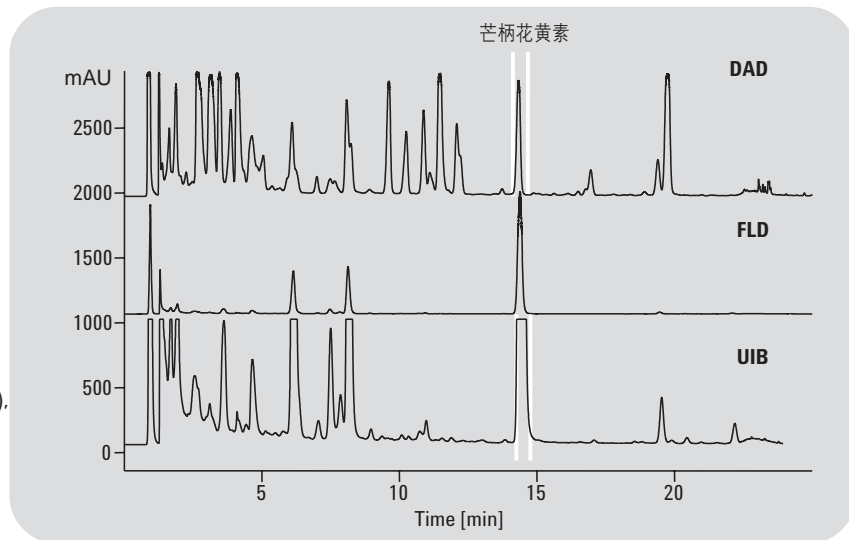


图2  
UIB 信号触发进行馏分收集

再分析，确保能够检测出任何杂质，即使它们没有荧光。图3显示了馏分再分析的色谱图。FLD以及DAD信号都确证，收集的馏分具有很高的纯度。

## 结论

1100 系列馏分收集器可以用 1100 系列荧光检测器触发。本文介绍了该检测器：

- 如何与 1100 系列纯化系统 AS 连接
- 如何设置和配置
- 如何通过 UIB 用于馏分收集

本文还介绍了对这种系统如何进行延迟体积校正。

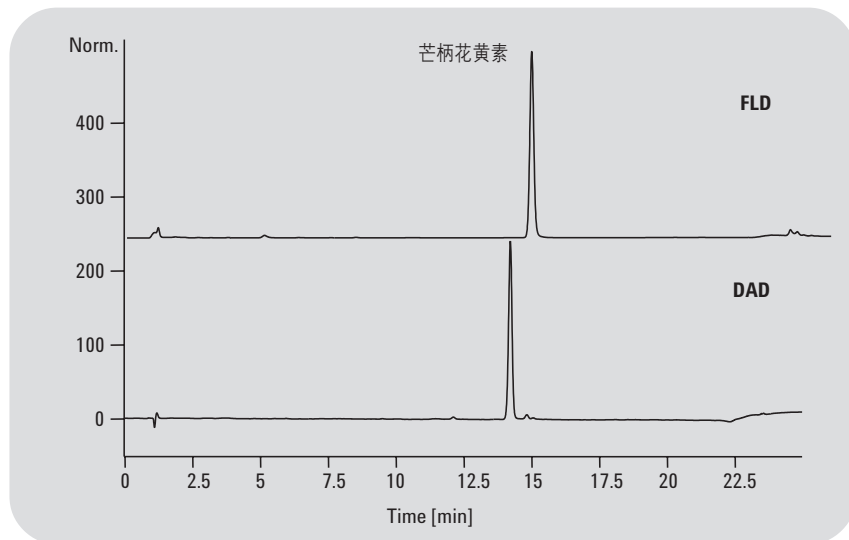


图3  
所收集馏分的再分析

“用 Agilent 1100 系列纯化系统，按荧光信号从红三叶草提取物中分离芒柄花黄素”，  
出版号 5988-5749EN

蒸发光散射检测器(ELSD)是制药行业通用的一种检测器。它能够检测不带发色团的化合物,且检测器响应只与洗脱化合物的量有关。因此,适用于纯度检查。

所介绍的系统设置允许 ELSD 以及其它非安捷伦检测器与 1100 系列纯化系统连接。以四种肾上腺皮质激素的分离为例。对所收集馏分进行再分析,以检验系统的纯化性能。

## 仪器

### 系统设置与配置

由于 ELSD 是一种破坏性的检测器,所以流路设置要采用一个分流器(安捷伦 1:10/1:20 分流器)。主液流进入馏分收集器,分流液进入 ELSD (图 1)。

将检测器的模拟输出连接到一个通用接线盒(UIB)上,以通过 ELSD 信号触发馏分收集。UIB 通过 CAN 电缆与 1100 系列组件连接(图 2)。任何其它带模拟输出信号的非安捷伦检测器要连在 Agilent 1100 系列纯化系统上,按色谱峰进行馏分收集,都可以按照这种方式进行设置。

## 对于非安捷伦的检测器信号—— 以色谱峰进行馏分收集

### ELSD 延迟体积的校正

要正确进行馏分收集,必须测定 ELSD 和分流器阀之间的延迟体积。可以用馏分收集器内置的安捷伦馏分延迟传感器进行。Agilent 1100 系列纯化系统用户指南中介绍了延迟校正方法。可以使用标准延迟校正物(G1946-85020)和化学工作站的标准延迟校正方法。因为绝对需要分液流中的目标化合物在主液流到达馏分收集器之前进入 ELSD,所以延迟校正必须得到一个正的延迟体积值。如果延迟体积的实测值是负的,那么化合物将会在达到 ELSD 之前进入馏分收集器,在触发馏分收集前流入废液。为了避免出现负的延迟体积,分流器和 ELSD 之间的连接必须尽可能短,还应使用小内径的毛细管。如果不能进一步缩短进入 ELSD 的毛细管,只能加长从分流器到馏分收集器的毛细管。但这会增加扩散,从而导致馏分收集效果降低,也应当避免。

### 结果与讨论

#### ELSD 信号触发馏分收集

要用 ELSD 信号触发馏分收集,化学工作站 Setup Fraction Collector (馏分收集器设置)窗口中,UIB 必须选为 *Peak Detector* (峰检测器)。*Up Slope* (正斜率), *Down Slope* (负斜率) 和 *Threshold* (阈值) 等参数的选择同紫外检测器。分离肾上腺皮质激素时,将正斜率和负斜率的数值从表中删去,只用 70 mV 阈值触发。图 3 显示了肾上腺皮质激素标准品的 DAD、双通道 A/D 接口和 UIB 信号——收集的馏分用竖线标记。

在同一个系统上,不用分流器,对馏分进行再分析以确证纯化结果。结果清楚地表明,四种化合物能够分离,不带任何杂质。证明了带非安捷伦 ELS 检测器的 Agilent 1100 系列纯化系统具有卓越的性能。

## 结论

本例中用于峰收集馏分的是 Sedere Sedex 75 型 ELS 检测器。其它任何非安捷伦检测器，只要有模拟信号输出，也可以按同样方式设置。我们举的例子是用分析型制备 HPLC 分离四种肾上腺皮质激素标准品。

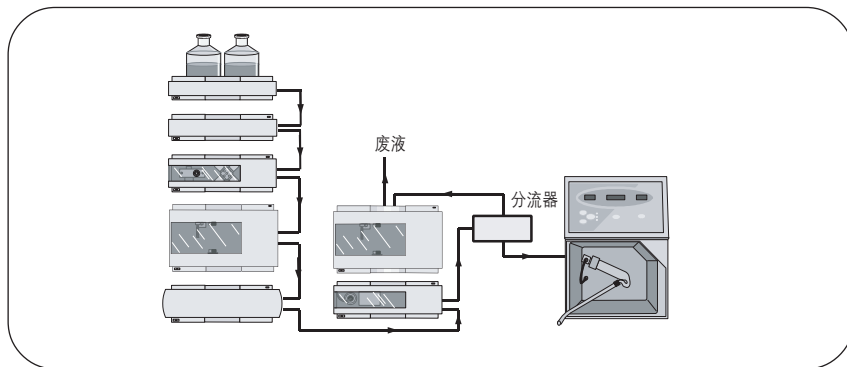


图1  
流路中使用分流器的 ELSD 设置

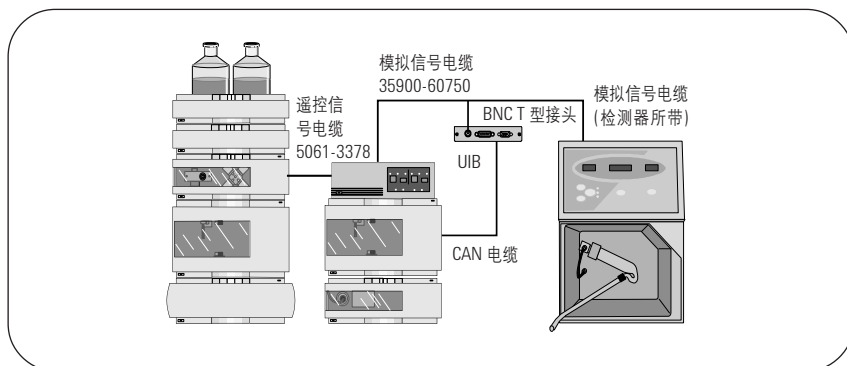


图2  
用 UIB 和双通道 A/D 接口盒进行电路连接

色谱柱:	Hypersil ODS 4 x 125 mm, 5.0 μm
流动相:	A= 水 B= 乙腈
梯度:	0 分钟 20 % B 10 分钟 80 % B
色谱柱冲洗:	11 分钟时用 20 % B 冲洗
停止时间:	11 分钟
后运行时间:	5 分钟
流速:	1.0 mL/min
进样:	20 μL
柱温:	25 °C
UV 检测器:	DAD: 254/16nm (参比 360/100 nm), 标准流通池 (10 mm 光程)
ELSD:	45 °C, 氮气压力 2 bar, 增益 8

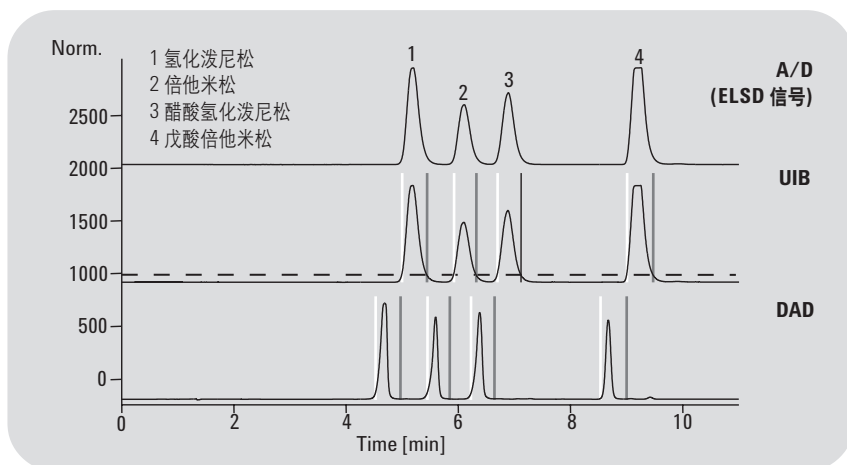


图3  
按 ELSD 信号峰进行馏分收集

“用蒸发光散射检测器与 Agilent 1100 系列纯化系统一起按色谱峰进行馏分收集”，  
出版号 5988-5816EN

药物研发过程中，要对化合物进行纯化以便测试活性。由于高通量合成和高通量筛选的发展，传统的低通量纯化技术，如制备 TLC 或重结晶，已形成了合成实验室的瓶颈。化合物纯化的现代化、全自动化技术是制备型 HPLC。在药物研制的初级阶段，通常要大量合成化合物，而每种化合物的量很少。因此，纯化可能是在 5 mm 或内径更小的柱子上进行，称为分析型制备 HPLC。药物研发的以后阶段中，大量化合物需要纯化，柱子的内径也随着增加。

Agilent 1100 系列纯化系统制备泵，其最大流速为 100 mL/min，最大反压 400 bar。该系统与泵是为高流速开发的，但因为 Agilent 1100 系列制备泵具有卓越的性能，这个系统也可以在低于 5 mL/min 流速下使用。

在本应用报告中，我们报道了一个模拟样品的梯度分析，用 3 mm 内径柱，0.35 mL/min 流速，以及用 50 mm 内径柱，100 mL/min 流速，而不改变 Agilent 1100 系列纯化系统 PS 的配置。

## 方法放大

### 结果与讨论

#### 分析型方法的开发

在 Agilent 1100 系列系统上建立了三种模拟化合物的分析方法，系统包括两台能形成梯度的 Agilent 1100 系列制备泵。使用 3.0 mm 内径 ZORBAX SB-C18 柱，流速 0.35 mL/min。图 1 中的色谱峰显示分辨率和峰形良好，说明 Agilent 1100 系列制备泵在低流速下仍具有良好性能。

#### 放大计算

根据图 2 的公式计算全部放大过程。将 3.0 mm 内径色谱柱，0.35 mL/min 流速选作起点，用上面的公式计算流速。下面的公式用于计算进样的样品量。由于要使用更高的流速，有更大量的样品进样，需要将光程 3 mm 的不锈钢制备流通池改为适合更大柱子的 0.3 mm 光程石英池。这可以使进样量增加 10 倍。为所有柱子和流通池计算的流速和进样量见表 1。

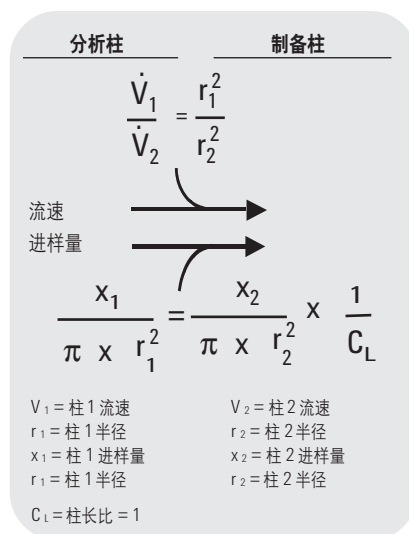


图 2  
放大计算所用的公式

#### 分析和制备型纯化

用表 1 所列的流速和进样量，在四种不同柱子（4.6 mm 内径、9.4 mm 内径、21.2 mm 内径、50 mm 内径）上进行分析和制备型纯化。图 3 的结果色谱图说明两个问题——首先，Agilent 1100 系列制备泵在广泛的流速范围内都具有良好性能，第二，在 ZORBAX 柱上有可以进行放大，而不会损失分辨率，这种快速放大非常重要，可以不必进行方法再开发。

色谱柱: ZORBAX SB-C18 150 x 3 mm, 5  $\mu$ m  
 流动相: A= 水  
           B= 乙腈  
 梯度: 10 分钟内 5 % B 到 25 % B  
       25 % B 保持 9.9 分钟  
       0.1 分钟内 25 % B 到 5 % B  
 停止时间: 20 分钟  
 后运行时间: 5 分钟  
 流速: 0.35 mL/min  
 进样: 0.8  $\mu$ L  
 柱温: 室温  
 UV 检测器: DAD: 220/16nm (参比360/60 nm),  
           制备型流通池  
           (3 mm 光程)

## 结论

Agilent 1100系列制备泵在0.35–100 mL/min 的宽流量范围内都显示了卓越的性能。

- 该泵与化学工作站的操作验证 / 性能认证 (OQ/PV) 和 EMF (早期维修反馈) 等性能完全兼容。
- 应用可以从 3 mm 内径 ZORBAX 柱放大到 50 mm 内径柱上, 而不会损失分辨率。节省了重新建立或调整方法需要的时间, 从而提高了效率。

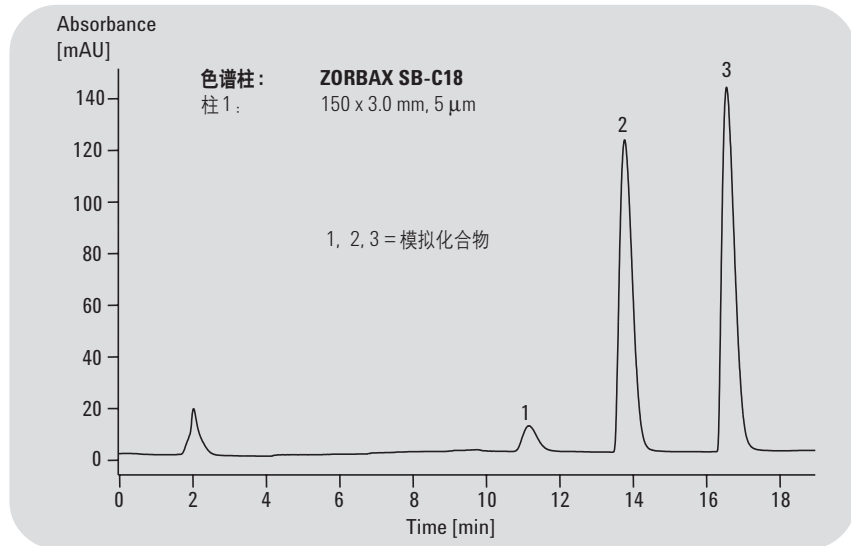


图1  
0.35 mL/min 流速下的色谱图

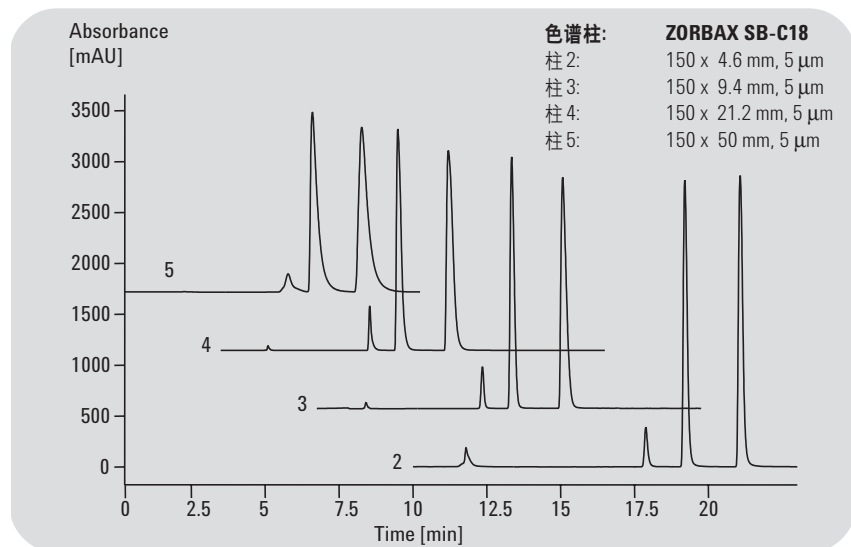


图3  
放大计算的结果

色谱柱	尺寸	流速	进样量	检测池
1 (图 1)	150 x 3.0 mm	0.35 mL/min	0.8 $\mu$ l	3 mm 不锈钢
2 (图 3)	150 x 4.6 mm	0.85 mL/min	2.0 $\mu$ l	3 mm 不锈钢
3 (图 3)	150 x 9.4 mm	3.5 mL/min	80 $\mu$ l (8 $\mu$ l x 10)	0.3 mm 石英
4 (图 3)	150 x 21.2 mm	18 mL/min	400 $\mu$ l (40 $\mu$ l x 10)	0.3 mm 石英
5 (图 3)	150 x 50 mm 1	00 mL/min	2200 $\mu$ l (220 $\mu$ l x 10)	0.3 mm 石英

表1  
不同柱尺寸的流速、进样量和检测池

“用 Agilent 1100 系列纯化系统 PS 型从分析型到制备型的方法放大”,  
 出版号 5988-6979EN

从我们的网站 [www.agilent.com/chem/purification](http://www.agilent.com/chem/purification) 上可下载本应用报告的详细资料。

Agilent 1100系列制备泵是带两个并列活塞的等梯度高效泵。不需要更换泵头,压力在400 bar时流速最高可达100 mL/min。通过一个低体积混合装置将两个泵连接在一起,组成一个内延迟体积只有0.7 mL左右的高压梯度混合系统。泵的其它特点包括,用蠕动泵的自动电磁清洗阀自动冲洗密封垫。虽然泵系统设计的最高流速是100 mL/min,但在较低流速下也有非常好的性能。

注:

所有实验都是在一个安捷伦实验室日常使用的系统上进行的。如果系统的使用时间不同,测试结果可能略有差异。

## 流量从 1 到 100 ml/min 的制备泵性能

### 结果

#### 1. 流量精确度 - 等梯度操作条件

流量精确度对每次运行之间的保留时间的精确度非常重要。由于泵流速是通过制备泵固件的补偿计算控制,所以流量精确度与反压有关。

##### 流量精确度测试的设置

- 流量精确度通过收集溶剂(水)进行5分钟以上测定。对收集的馏分称重,再除以密度,计算出收集体积。
- 测试在 25 mL/min 流速下进行。
- 在三种不同反压下测定精确度(< 100 bar, >100和<200 bar, >200 bar)。
- 每个压力下运行 5 次,以计算精确度。
- 在所有实验中,用限流毛细管代替色谱柱。

##### 流量精确度测试结果

图 1 显示了等梯度流量精确度的测定结果。标记出了流量精确度的相对标准差。不同反压下,相对标准差都低于0.3 %。

#### 2. 流量精确度 - 梯度操作条件

##### 流量精确度测试的设置

- 流量精确度通过收集溶剂(水、甲醇)进行7分钟以上测定。测量收集的体积。
- 测试在 10 mL/min 流速下进行。
- 梯度:100 % 水保持 1 分钟,100 % 水到100 % 甲醇用5分钟,100 % 甲醇保持 1 分钟
- 精确度在不同反压下测定。
- 每个压力下运行 5 次以计算精确度。
- 在所有实验中,用限流毛细管代替色谱柱。

##### 流量精确度测试结果

图 2 显示了梯度流量精确度测试结果。流量精确度的相对标准差用黑色竖线表示,不同反压下均低于 0.4 %。

## 结论

- 1100 系列制备泵的流量范围从 0.35 到 100 ml/min。
- 流速低于 5 ml/min 时，性能与分析泵（如，1100 系列四元泵）一样良好。
- 毛细管，特别是较高流速下需要的大内径毛细管，将降低整个系统的性能。

因此，安捷伦科技公司提供了从毛细管级到制备级的各种专用泵，而不是用一个泵就覆盖了所有流量范围。从而确保了使每个特定应用都有最佳性能。

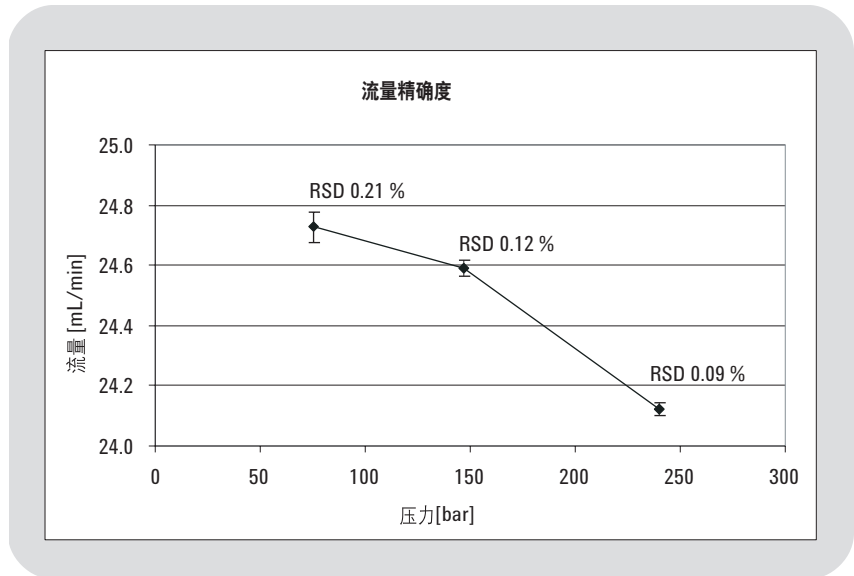


图1  
不同反压下(等梯度)流量精确度的相对标准差。

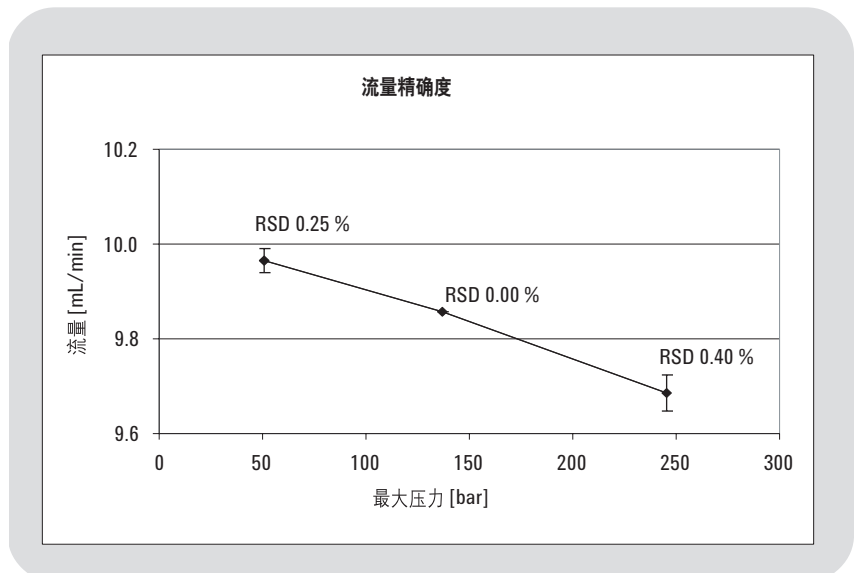


图2  
不同反压下(梯度洗脱)流量精确度的相对标准差。

“Agilent 1100 系列制备泵的性能特点”，  
出版号 5988-7110EN

从我们的网站 [www.agilent.com/chem/purification](http://www.agilent.com/chem/purification) 上可下载本应用报告的详细资料。

现代药物研发实验室中，要进行分析 and 纯化的新药化合物数量激增。通常，有机药物合成化学家要“走到”中心LC/MS系统旁，提交样品，然后回到自己的实验室继续进行合成。化学家们非常需要能够在自己实验室的PC上检查数据，而不必回到LC/MS中心实验室去。

## 网络数据检查—— 提高实验室效率

新的安捷伦化学工作站数据浏览器使遥控数据浏览轻松而有效。在系统中建立一个中间文件(称为.AEV文件)，采集原始数据，然后通过服务器或电子邮件将这个.AEV文件传到远处的PC上。尽管是为药物研发设计的，但任何实验室必须都可以用浏览器浏览在LC或LC/MS化学工作站数据系统上得到的数据文件。

### 数据浏览器的主要功能

数据浏览器在药物研发实验室的主要用途是，尽可能迅速地解答有关大量样品分析的下列问题：

我是否得到了期望的化合物，如果得到了，大致纯度如何？

主屏幕包含了一系列内容。显示什么内容取决于应用，可由用户定制。

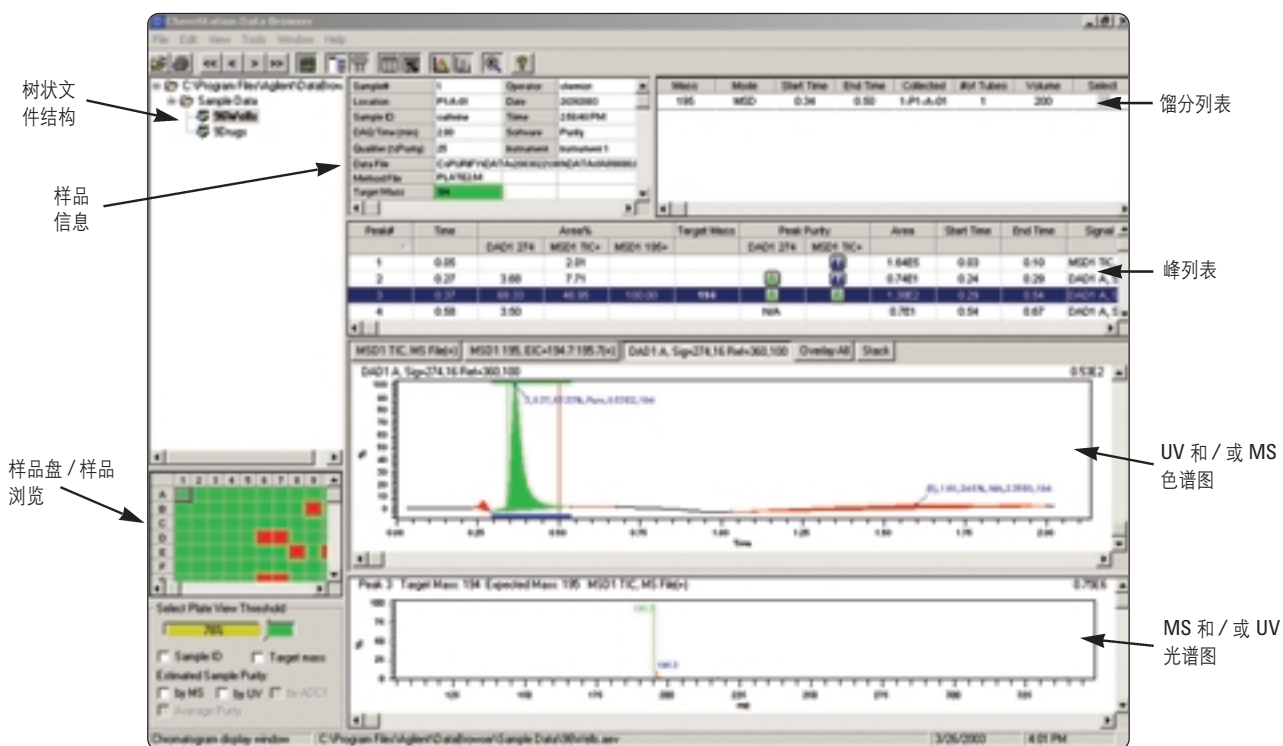


图1  
化学工作站数据浏览器主屏幕

图1显示的典型配置,是药物研发实验室检查装有反应混合物的微量测定盘(混合物中含目标化合物的)。在屏幕左下角的测定盘显示中,用户可以观察以图形表示的微量测定盘中的样品,或其它1100系列自动进样器样品盘(如100位样品盘)中样品瓶的位置。

在图1中,绿色的孔表示找到了目标质量,红色的孔表示在特定的阈值之上没有找到目标质量。用户要了解更具体的样品信息,如UV和MS色谱图,可以单击相应的孔。如果样品已进行了纯化,馏分列表中将列出馏分信息。

数据浏览器可以迅速回答下列关键问题,有助于确保效率,并正确做出药物研发的下一步决策。

另外,浏览器还有以下用途:

- 提供色谱峰的纯度信息(共洗脱组分的数量)
- 同时浏览样品盘上的所有数据
- 在屏幕上以各个独立的窗口同时比较多个样品。
- 提供用户定制的各种报告。

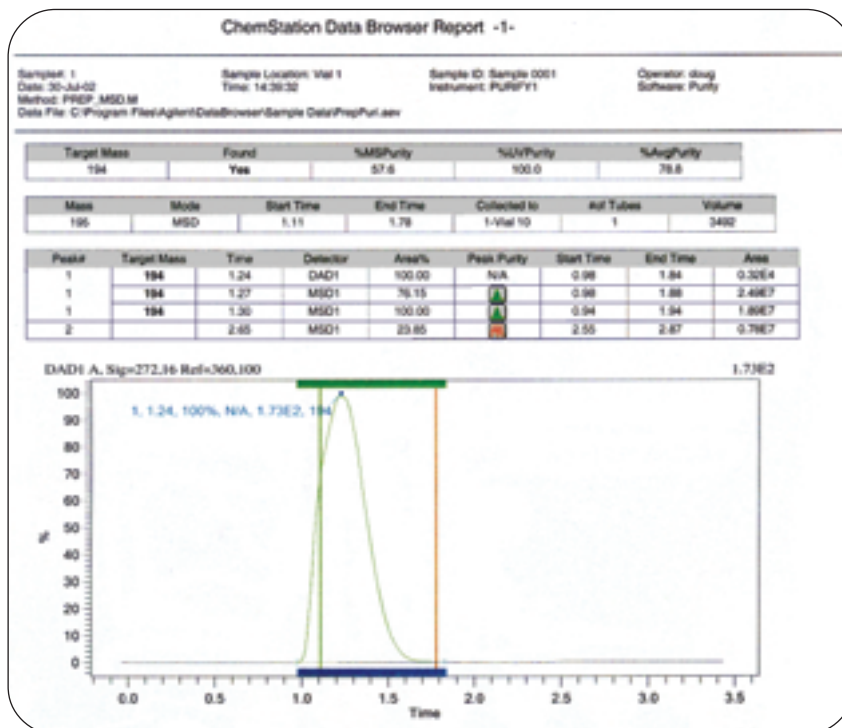


图2  
用数据浏览器软件定制用户报告的实例

## 报告

数据报告是药物研发的另一项重要内容。使用灵活的化学工作站数据浏览器,用户可以优化这项功能,选择报告中需要包含哪些项目。图2显示了一个报告实例,报告中包含了药物研发中确证是否存在目标混合物的主要项目。

“用安捷伦化学工作站数据浏览器软件提高实验室生产率”,  
出版号 5988-8490EN

从我们的网站 [www.agilent.com/chem/purification](http://www.agilent.com/chem/purification) 上可下载本应用报告的详细资料。

用下列三种馏分收集策略，进行全部或低收率地收集样品中的多种或一种馏分。但三种情况下都不需要对馏分进行再分析，以鉴定想得到的目标化合物。这是因为 Agilent 1100 系列纯化系统上连接了 1100 系列质量选择检测器。

## 结果与讨论

在这篇应用报告中，我们介绍了下列三种纯化策略：

1. 按时间进行馏分收集，用 MSD 监测
2. 按色谱峰进行馏分收集，用 MSD 监测
3. 按质量进行馏分收集

### 1. 按时间进行馏分收集，用 MSD 监测

按时间进行馏分收集，保证注入的样品几乎不会有任何丢失。

馏分按时间收集，在 2 到 7.5 分钟内收集 80 个馏分，得到的色谱图见图 1。竖线标记了所收集组分的起点。

## 在配备质谱检测器的系统上进行化合物纯化

把质量 242 ( $[M+H]^+$ ) 的萃取离子色谱图 (EIC) 叠加到总离子色谱图 (TIC) 上，鉴定出含想要得到的化合物 (目标质量是 241 amu) 的馏分。图 2 显示含目标质量的馏分在微孔板 B-02 到 B-06 的位置。

### 2. 按色谱峰进行馏分收集，用 MSD 监测

用第二种策略，按 UV 信号峰进行馏分收集，阈值设定在 50 mAU。确保能收集到样品的主要色谱峰，但与按时间进行馏分收集相比，所收集的馏分数显著减少。同样将质量

242 ( $[M+H]^+$ ) 的 EIC 叠加到 TIC 上，鉴定出含目标化合物的馏分。

### 3. 按质量进行馏分收集

当使用按质量进行馏分收集时，只有当 MSD 检测到色谱峰含目标质量数，且该目标质量数的 EIC 超出特定的阈值时，馏分收集才被触发。这就确保了在每次进样中只收集含目标化合物的馏分，大部分情况下，只有一个馏分。缺点是注入的样品大部分不能回收。按质量进行馏分收集的结果见图 3。

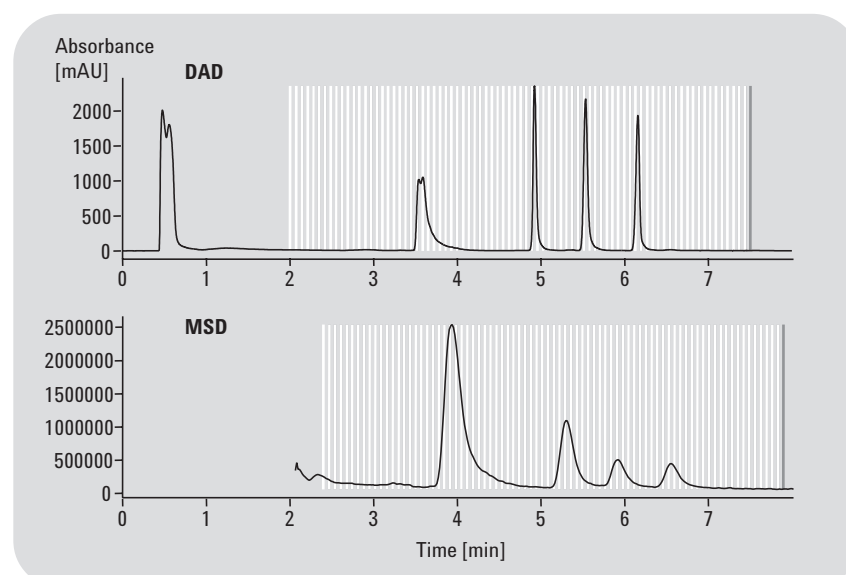


图 1  
按时间收集馏分的结果

如图3所示, 只有一个含目标质量数的馏分被收集在1号瓶内。

## 结论

虽然按时间或峰进行馏分收集不需要MSD, 但它可以代替繁琐的馏分再分析, 不必测定含目标化合物的馏分。想得到的馏分可以通过将TIC与目标质量数的EIC叠加轻松地鉴定出来。

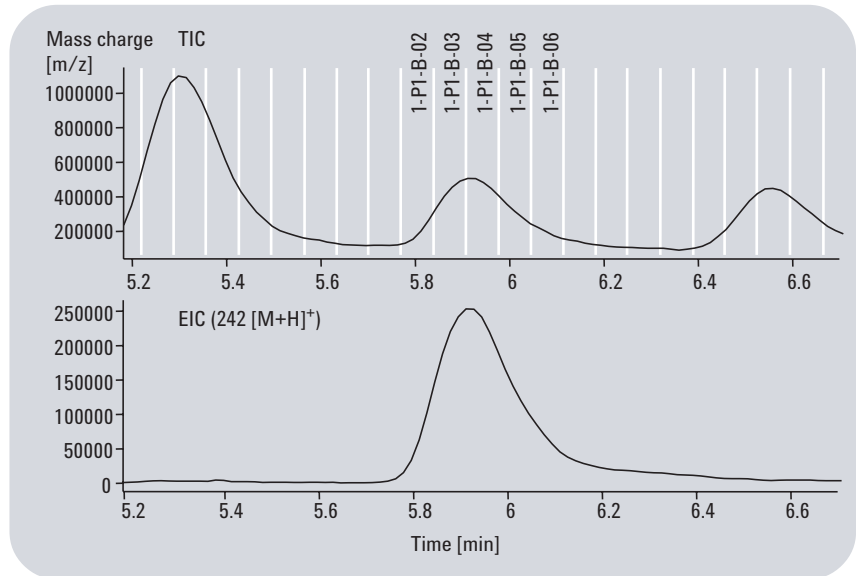


图2  
叠加 TIC 和 EIC, 鉴定需要的馏分

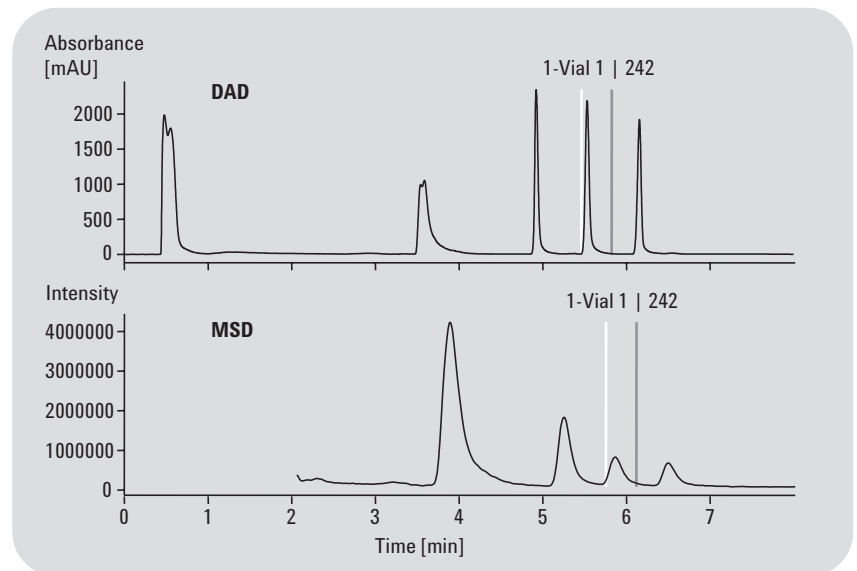


图3  
按质量数进行馏分收集的结果

“用配备质量选择检测器系统进行化合物纯化”,  
出版号 5988-7830EN

从我们的网站 [www.agilent.com/chem/purification](http://www.agilent.com/chem/purification) 上可下载本应用报告的详细资料。

下面将介绍四种分离策略：

1. 设置高阈值，按峰进行馏分收集
2. 利用正、负斜率按峰进行馏分收集
3. 用峰的时间分割按峰进行馏分收集
4. 按质量数进行馏分收集

## 结果与讨论

### 1. 通过设置高阈值按峰进行馏分收集

按峰收集馏分的最简单办法是只按阈值收集。在安捷伦化学工作站和纯化/高通量软件中，可以通过从峰检测器设置中删除正、负斜率参数的办法进行。也就是说，检测器信号一超过预设值就开始收集，信号低于特定的阈值时，收集就停止。这种按峰收集馏分的方法能够满足大多数纯化应用的要求。未达到基线分离的峰也可以制备，但阈值必须设置得很高。这会切掉峰起止处的部分化合物，使回收率降低。

### 2. 利用正、负斜率按峰进行馏分收集

为了避免在峰起止处的化合物损失，安捷伦化学工作站和纯化/高通量软件为按峰收集馏分提供了两种附

## 对未达到基线分离的峰进行化合物纯化

加参数——正、负斜率。设置了这些参数后，如果正斜率和阈值两个参数都超出，将触发峰收集。当信号符合一个标准，即，低于阈值，或低于特定的下斜率值时，将触发停止收集。因此，阈值可以设一个很低的值，将未达到基线分离的两个峰分成两个馏分，又不损失峰起止处的化合物。

### 3. 用峰的时间分割，按峰收集馏分

如上所述，利用正、负斜率按峰收集馏分得到了很好的回收率和纯度。但如果重叠峰很宽，重叠面积又很大，收集到的两个馏分将明显不纯。在这种情况下，更好的策略是根据

信号启动馏分收集，然后将两个峰分割成几段，按时间进行馏分收集。要实现这一点，可以使用安捷伦化学工作站软件 *Setup fraction collector* (馏分收集器设置) 窗口中的补充部分的 *Max. fill volume per location* (每个收集位置的最大填充体积) 功能。用这一功能，可以在方法中改动馏分收集容器的预设填充体积。

在图2的例子中，用深孔盘作为馏分收集容器，充满体积定为 2 mL。所用流速为 20 mL/min 时，每 6 秒钟将填满一个孔。两个峰的总峰宽约为 45 秒，将覆盖 8 个孔。

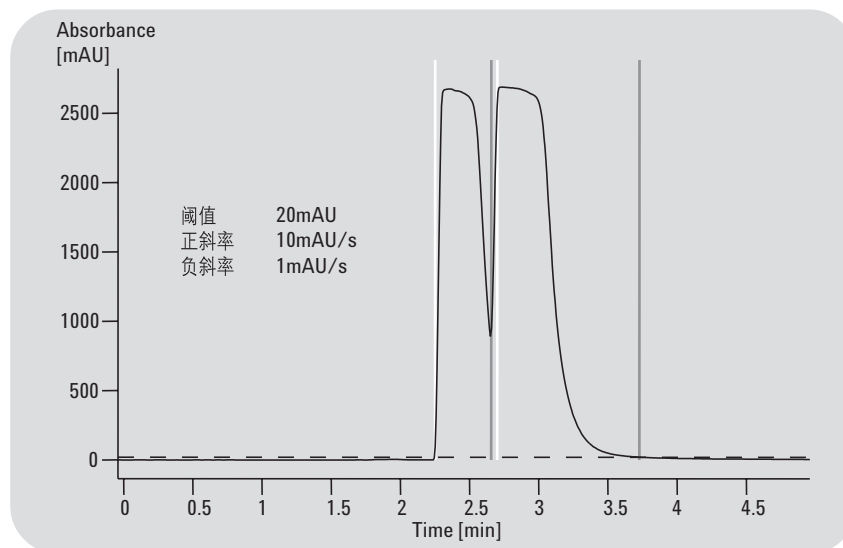


图1  
利用正、负斜率按峰收集馏分

在馏分收集针头移到下一个收集位置时，为避免化合物损失，将 *Continuous flow* (连续液流) 配置成 *Collection Mode* (收集模式)。只有孔板作为馏分收集器时可以配置这种模式，在这种模式中，当收集针头移到下一个位置时，分流器阀不转向废液位置。馏分收集结果如图2所示。

#### 4. 按质量进行馏分收集

从未达到基线分离的峰中纯化化合物的另一种方法是按质量进行馏分收集。收集是通过具有最高丰度的目标质量触发，当MS图中第二个峰的目标质量变成主要离子时，第二个馏分的收集就会立即启动。馏分收集结果见图3。对收集馏分进行再分析表明，结果与利用正、负斜率按峰收集馏分所得的回收率和纯度相似。

#### 结论

只根据阈值按峰收集馏分是分开两个化合物最容易的办法，但阈值必须设得很高，这可能会导致在峰的起止处使化合物丢失。用化学工作站正、负斜率功能可以避免这一点。如果峰很宽，并在较宽的面积上有叠加，可以采用带时间分割的按峰收集馏分的方法。这需要手动计算准确的馏分填充体积，而且所收集的馏分数量较多。如果纯化系统配备了MSD，可按质量进行馏分收集，只得到两个馏分。

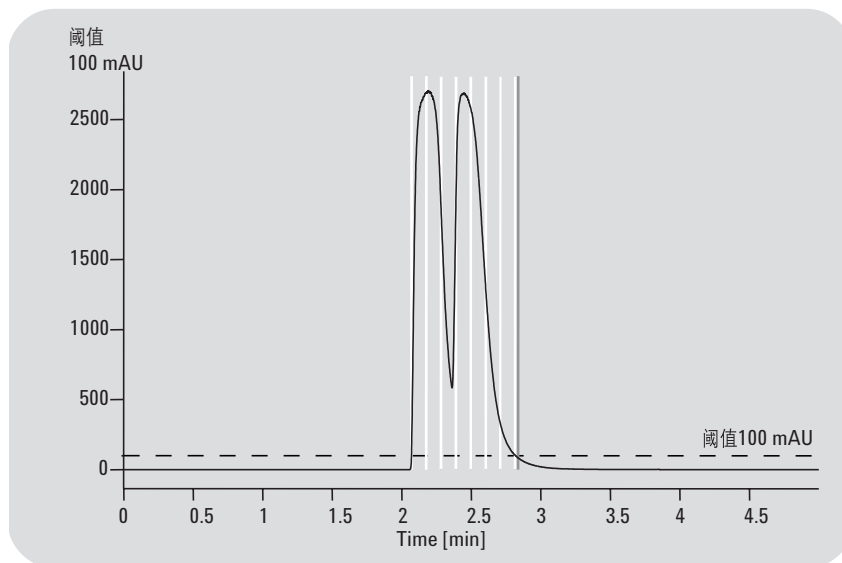


图2  
用峰的时间分割按峰进行馏分收集

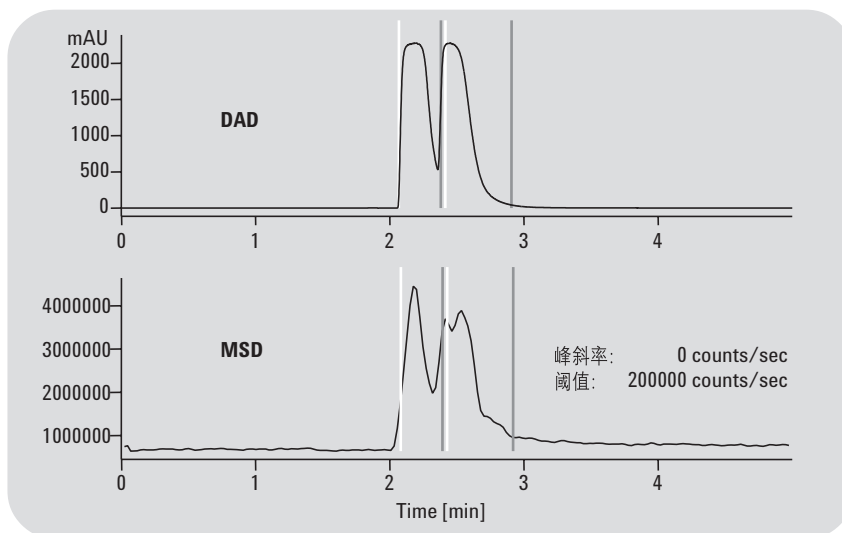


图3  
按质量进行馏分收集

“对未达到基线分离的峰进行的纯化策略”，  
出版号 5988-7460EN

什么是峰的正、负斜率？如何利用其启动馏分收集？什么样的应用需要正、负斜率？

## 利用收集馏分峰的正负斜率进行峰收集

### 结果与讨论

#### 1. 根据“正、负斜率”触发馏分收集

##### 什么是“正、负斜率”？

斜率是信号一阶导数，如图1所示。在基线上，斜率值为零，在第一个拐点升到最大值，在峰顶点处变成零，在第二个拐点处降为负的最大值，峰结束后的基线处又变为零。

##### 利用正、负斜率触发馏分收集

图2显示的色谱图标记了馏分收集的起点和终点。当阈值和正斜率都超过设定值时（标记1），开始启动馏分收集。当信号下降到阈值以下或达到负斜率标准时，触发停止收集。在标记2处，停止收集馏分，因为达到负斜率标准，斜率最小等于零。在这一点上阈值仍高于设定值。在标记3处，正斜率又超出，而阈值仍然高于设定值。最后，在标记4处，信号降到阈值以下，因此，不论负斜率值是否达到标准，收集都终止。

#### 2. 应用

##### 尖锐峰与小峰的分

使用正、负斜率，可以将尖锐的色谱

峰与小峰分开。图3显示很容易将较尖锐的色谱峰与小峰分开。在启动馏分收集之前，要先知道正、负斜率值。只有先进行预试，才可以了解。

##### 未达到基线分离的峰的分

假如两个峰没有从基线分开，有几种策略可以分别收集这两个馏分，并得到良好的回收率和纯度。其一就是利用正、负斜率按峰进行馏分收集。

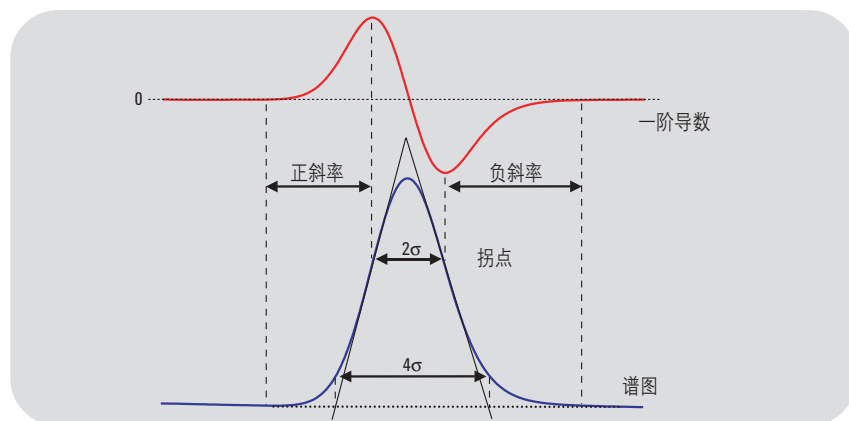


图1  
斜率是峰的一阶导数

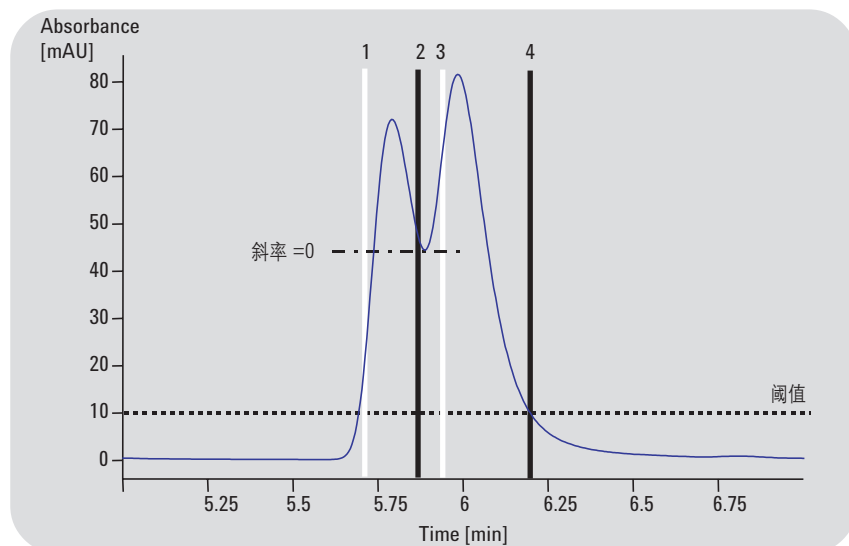


图2  
馏分收集的触发

因为两峰之间的峰谷处斜率等于零，所以可以将峰分成两个馏分，即使信号没有下降到阈值以下。

### 基线漂移色谱图中化合物的纯化

对于基线漂移的色谱图，不适合仅根据阈值进行馏分收集。如果基线向上漂移，高于阈值的所有部分都会被收集成馏分。如果基线向下漂移，只有峰的一小部分能被收集到。所以，要加上正、负斜率值。先进行空白分析，测定基线漂移的斜率值，然后用以前介绍的宏工具包进行计算。图4显示了对基线向上漂移的色谱图按峰收集馏分的结果。

### 结论

正、负斜率可用于触发按峰收集馏分。指定两个参数显然比只有一个斜率参数具有优势。对许多应用来说，仅仅根据阈值按峰收集馏分是不够的，我们还列举了一些需要正、负斜率的应用实例。

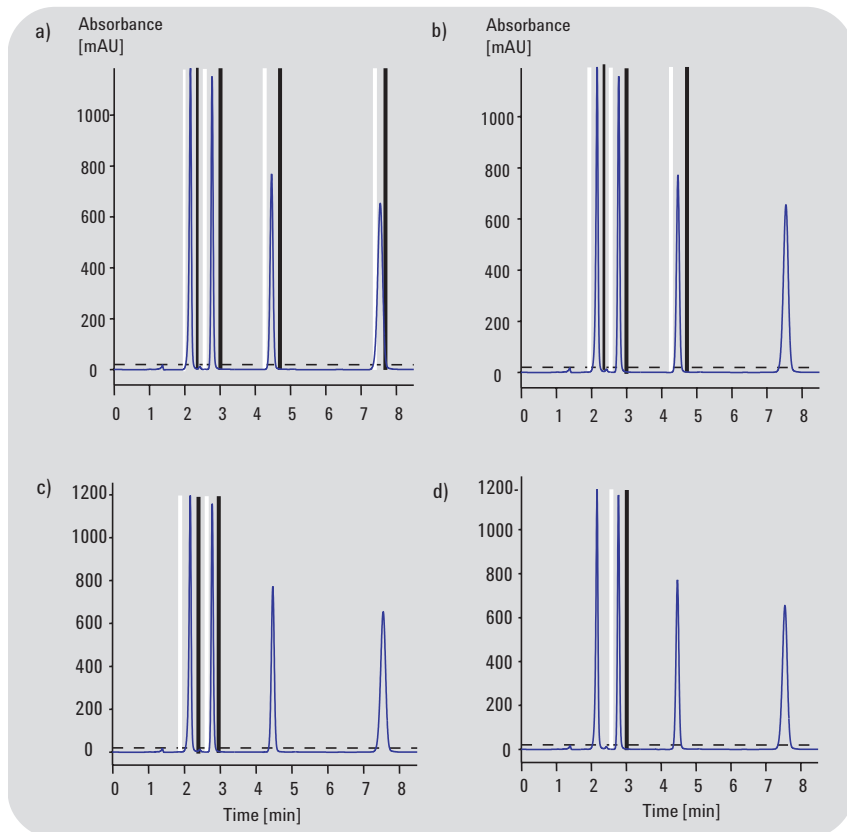


图3  
a) 正、负斜率: 30 mAU/s, b) 正、负斜率: 120 mAU/s  
c) 正、负斜率: 250 mAU/s, d) 正、负斜率: 400 mAU/s

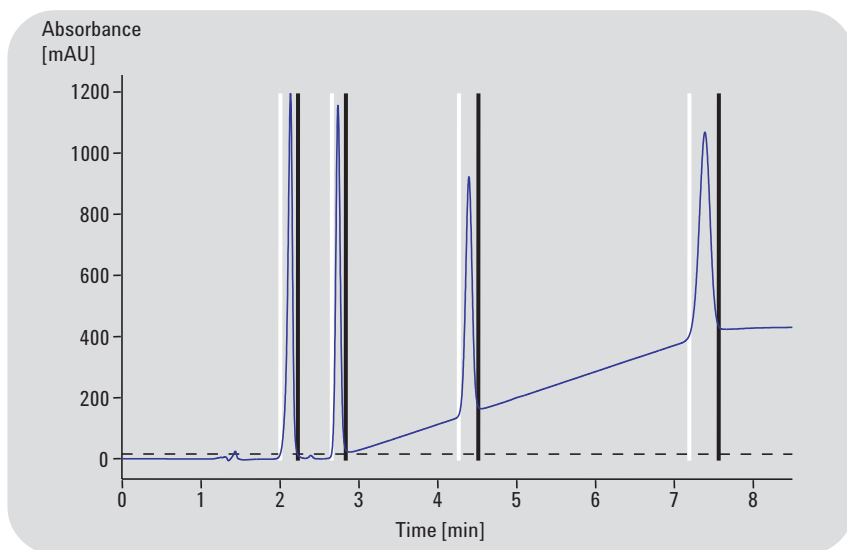


图4  
阈值设定: 15 mAU, 正、负斜率: 15 mAU/s

“完善的按峰收集馏分——正、负斜率的使用”，  
出版号 5988-7895EN

从我们的网站 [www.agilent.com/chem/purification](http://www.agilent.com/chem/purification) 上可下载本应用报告的详细资料。

为什么再分析进行纯度检查最好不要在馏分收集后直接进行，而要在样品工作流程的稍后阶段使用专用的HPLC系统？本报告以用户在1100系列纯化系统上的经验为基础。

## 结果与讨论

### 一般工作流程

药物研发或其它寻找活性化合物行业（如农业科学）的一般工作流程可以分为以下六步：

1. 由化学家提交不纯的样品。
2. 在制备 HPLC 系统上进行纯化。
3. 馏分收集。
4. 蒸干溶剂，化合物称重。
5. 将纯化合物重新溶解成一定浓度。
6. 提交一小部分溶液进行活性检测。

在这个流程中还有一点，应当检查提交活性检测（第6步）的化合物是否具有必需的纯度，通常必须高于90–95 %。

## 自动馏分再分析时可能出现的误差

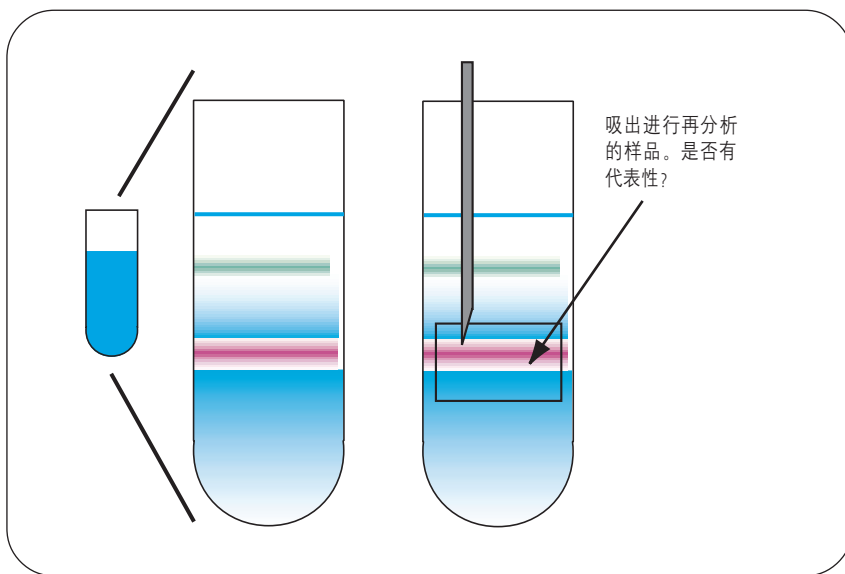


图1  
浓度梯度造成的误差

### 1. 浓度梯度

从色谱柱洗出的目标化合物放置一段时间后会在馏分中形成浓度梯度。馏分容器中可以看见浓度梯度（图1）。如果直接从管子里抽出很少量进行再分析，这个样品肯定不能代表提交活性检测的样品。

### 2. 结晶

为了充分溶解，提交纯化的样品通常不是溶解在流动相中，而是用DMSO或DMF这样的强溶剂。而反相色谱所用的流动相通常是水和乙腈或甲醇。受进样量和溶解度的影响，目标化合物开始从流动相中析出结晶。从母液中抽出进行纯度检查的样品，同样也不能代表要进行活性测定的样品。

### 3. 蒸发过程中的分解

纯化后，必须蒸干含目标化合物馏分中的流动相。可以真空干燥或加热，并用氮气吹干。残渣称重后，必须用一定溶剂（如DSMO或DMF）再溶解到一定浓度。如果从馏分容器中直接取样进行目标化合物的纯度检查，那么，蒸发过程中目标化合物可能出现的分解将无法测定。最坏的情况是，发生了分解，高活性化合物可能被丢失。

#### 哪一步才是进行纯度再分析的正确步骤？

不是馏分收集后就直接进行再分析，而是在后面的工作流程中再做，前面描述的三个问题就都不会发生。因为重新溶解的化合物送去做活性检测（第6步），同样溶液的另一部分可用于分析和纯度检测。这绝对保证了再分析的是进行活性检测的代表性样品。

### 结论

自动馏分再分析是实现全自动纯化解决方案的另一个步骤。但是：

- 自动化可能会影响了测定结果的可靠性
- 测出的纯度可能是错误结果，因为馏分容器中会出现浓度梯度，可能析出结晶，蒸发过程中的分解可能使活性化合物完全被丢失。

如果分析在样品纯化和活性检测的后面步骤完成，使用专用的分析型HPLC系统，所有这些缺点都能够克服。

“自动馏分再分析—真的有意义吗？”  
出版号 5988-8653EN

下面将介绍两种提高色谱柱负载的方法——夹层进样和有机相进样。

## 高浓度样品进样

### 结果与讨论

#### 夹层进样

夹层进样是把样品夹在两个样品溶剂夹层中间进样。例如，如果样品溶解在 DMSO 中，就在样品的前后加两段 DMSO（图 1）。当夹层开始与流动相混合时，前面和后面的夹层混合，而这里的样品浓度为零，不会出现沉淀。用安捷伦化学工作站夹层进样，可以轻松使用进样程序。

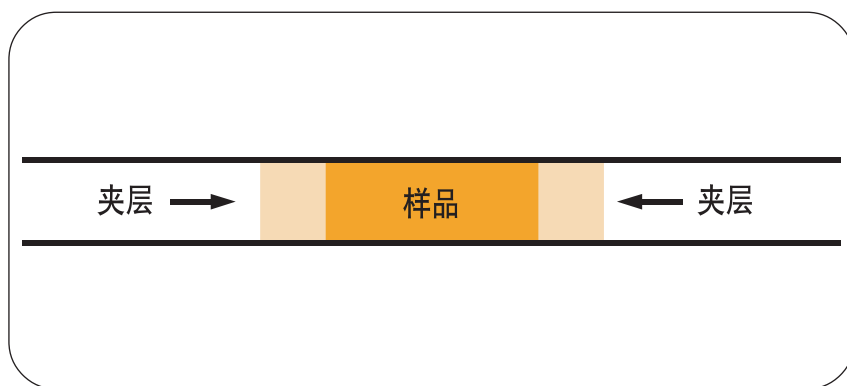


图 1  
夹层进样

#### 夹层进样的优势

- 样品在达到柱子之前不会与流动相接触。因此，在流路的主要部位不会出现沉淀。
- 不必重新配置硬件。在标准系统上用进样器程序就可以进行夹层进样。

#### 夹层进样的缺点

- 样品在柱子上必须保持相当窄的带。浓的样品和夹层会在柱头发生明显的样品谱带变宽。
- 如果夹层和样品量相对柱体积的比例过大，某些化合物可能会随溶剂前沿从柱子里流出。
- 夹层和样品溶剂可能会打破固定相的平衡。

#### 有机相进样

进样器。思路是将进样器连接在泵输送的有机溶剂之后、但在水相与有机流动相混合点之前的管路上（图 2）。即，样品在到达混合三通管和预柱之前只接触有机溶剂。因此，在自动进样器切换阀的流路关键部位不会出现沉淀。混合三通必须和预柱紧密连接，使样品在发生沉淀前就已经进入了预柱柱头。

### 有机相进样的优势

- 不需要强的样品溶剂，那种溶剂可能导致峰变宽或色谱柱断开
- 由于 Agilent 1100 系列梯度制备泵包括两个泵，所以梯度编程非常容易。标准配置也可以按同样方法设置，不需要流速梯度编程。

### 有机相进样的缺点

- 虽然自动进样器阀是流路中出现样品沉淀的关键部位，但混合三通或预柱柱头也仍有可能发生堵塞。在柱头上沉淀通常只会使柱压增加，三通堵塞更危险。
- 在纯化系统上设置有机相进样需要对系统进行改造。即，如果不作硬件改动，就不可能在同一个系统上进行有机相进样和标准进样。

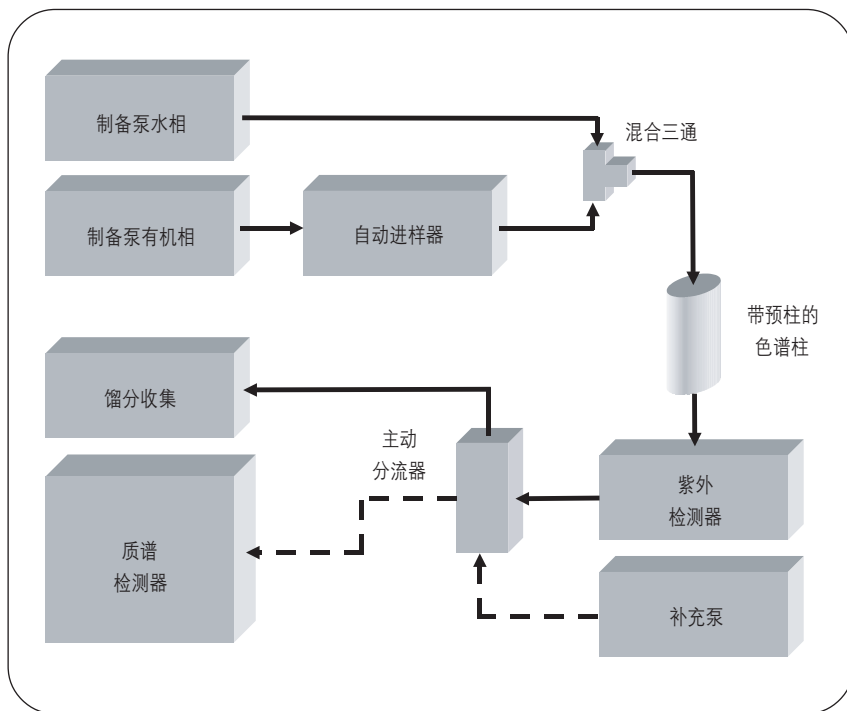


图2  
有机相进样

### 结论

- 使用夹层进样就是将样品置于两个纯溶剂“夹层”之间，避免样品与梯度起始条件下的流动相混合。这可以通过安捷伦化学工作站进样器程序轻松实现。

- 进行有机相进样时，将自动进样器连接在与水相流动相混合前的有机相流路中。混合与沉淀不会在自动进样器阀上发生，而是更靠近预柱柱头，但在那不会构成问题。

“用 Agilent 1100 系列纯化系统进样高浓度样品”，  
出版号 5988-8654EN

近年来合成有机化学迅猛发展，随之而来的是需要有使用方便、耐用、能快速转换的系统，对大量新化合物进行分析和分子量确认。合成化学家们都想把精力集中在有机合成方面，只想花最少的时间分析他们的化合物。这里介绍了Agilent LC/MS Easy Access软件，可以使用户轻松地处理他们的样品，输入简要的样品信息、从方法列表中进行选择、由系统指定样品的位置，然后就可以回到自己的实验室，等待电子邮件告之结果了。

## 高效率的轻松操作

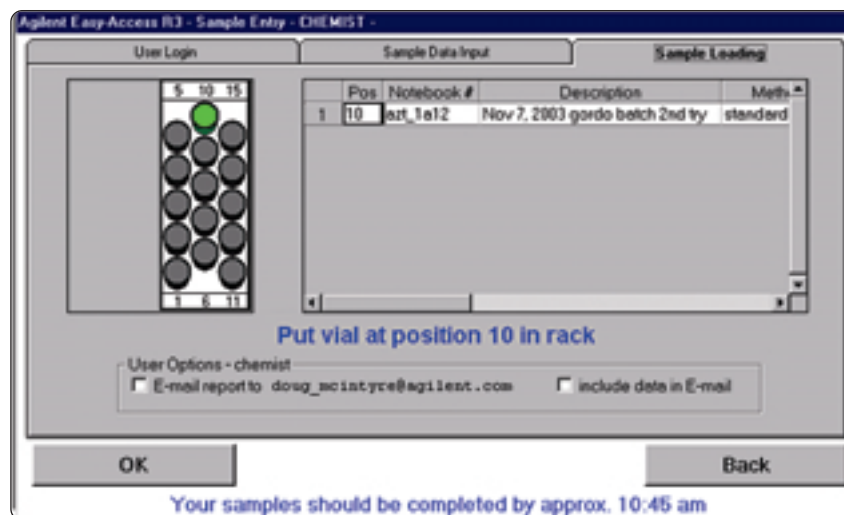


图1  
系统指导用户放置样品，并提供完成的大致时间

### LC/MS Easy Access 的主要特点

- 用化学工作站数据浏览器浏览电子传递的数据
- 系统运行过程中不需要重新设置馏分收集器，因为馏分可以连续移动。
- 样品提交和状态检查非常简便
- 快速确认分子量和目标离子是否存在
- 支持 Agilent 1100 系列微量多孔板进样器和自动液体进样器
- 方法变更后可自动预平衡
- 支持数据和报告的自动电子传递
- 灵活的管理员工具，可设定用户访问、排序跟踪和项目管理
- 多台仪器联网

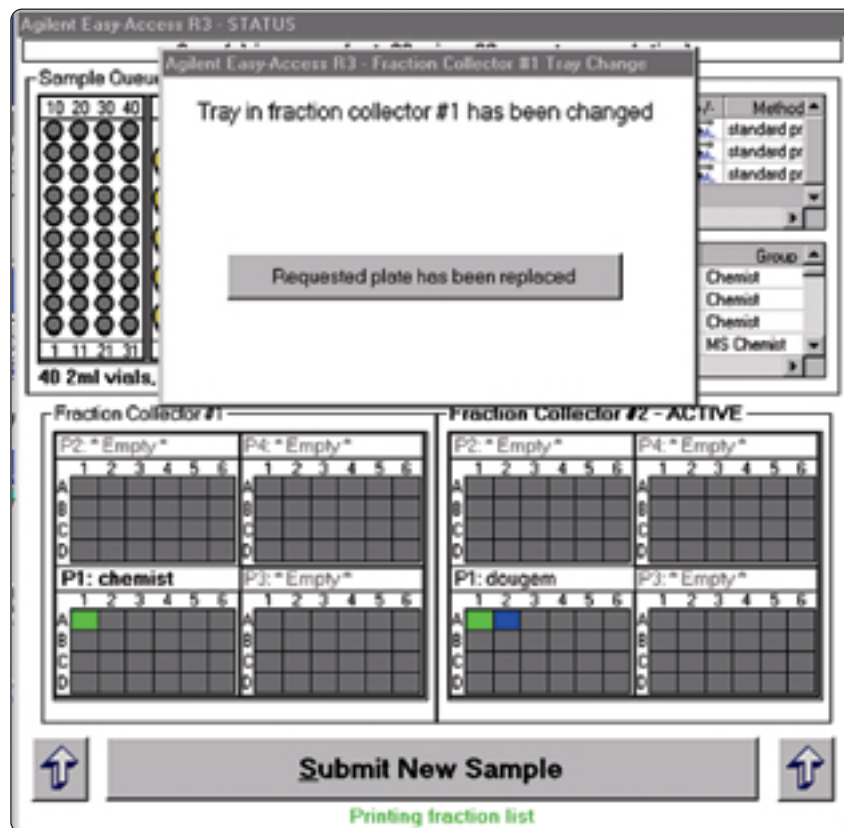


图2  
在馏分被取走后系统提示用户换盘，为下一个用户提供空间

使各仪器间可以分享数据库，不需要对每台仪器都管理多余的配置，降低了管理的工作量。

## 结果与讨论

用户输入密码登录（可选的安全性设置）后，描述样品、从列表中指定方法，系统显示进样器上样品应放置的位置（图1）。图2是显示整个系统状态的状态屏，包含以下主要信息：

- 当前样品，及在排列中剩余的大概时间
- 当前运行的方法及下一个提交样品的名称
- 化学工作站、自动进样器和紫外/可见灯的状态

## 系统管理

系统管理员对整个 Easy Access 系统的管理负责。主要权限如下：

- 管理用户和小组，包括选择密码、使用方法、使用化学工作站等
- 样品排序管理，包括将优先样品放在排列的前面
- 方法管理，定义用户可用的方法

## 电子邮件输送结果

系统可以将分析结果直接用电子邮件送交选定的用户。以下是一个接收信息的例子。另外，电子邮件还附有报告，说明找到了哪个目标质量数，以及色谱图和光谱图。

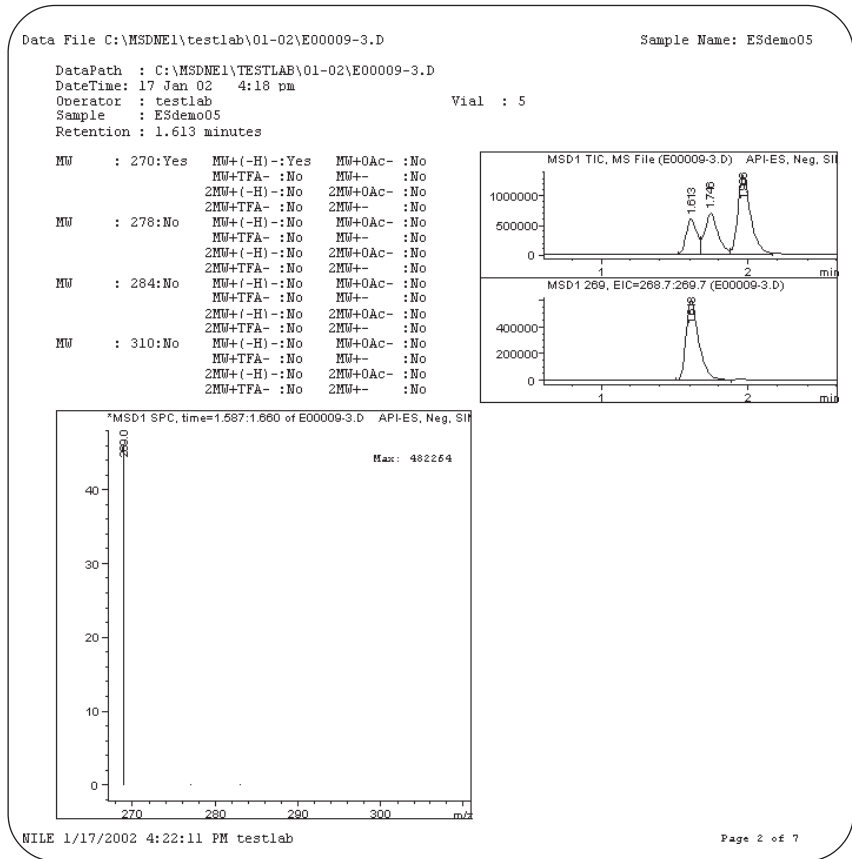


图3 多页报告中的一页，确认存在目标质量  $m/z$  270

Your sample run has been completed.

Sample: Sdemo05

Info: Sulfa Drugs

Target masses: 270 278 284 310

Method: Loop2

Info: Loop SIM ES, multi signal

Data file: E00009-3.D

=====  
以上信息由安捷伦 Easy-Access 系统产生

## 结论

LC/MS Easy Access是一种有效的工具，通过在较短的时间内进行化合物确认，帮助有机化学家提高生产率，同时也不要要求他们的分析经验很丰富。

“用 LC/MS Easy Access 软件提高生产率”，  
出版号 5988-5525EN

从我们的网站 [www.agilent.com/chem/purification](http://www.agilent.com/chem/purification) 上可下载本应用报告的详细资料。

分析型 HPLC 中色谱柱的交互再生可以用 2 位 /10 通阀实现。

## 制备液相色谱中的色谱柱交互再生

对于内阀和外阀，阀的配置、毛细管连接和泵的一般方法设置要相同。因此只在以下介绍的软件上有所区别。

### 结果与讨论

#### 阀的设置

外部 2 位 /10 通阀由 *Setup Valve* (阀设置) 窗口控制, 如图 1 所示。要自动进行柱再生, 必须检查 *Next position after run* (运行后的位置) 框。 *Position* (位置) 自动设为 *Use current* (当前使用的位置)。这种设置是使阀在运行完成后自动切换到下一个柱子, 并在运行开始时保持这个位置。如需详细说明, 例如, 毛细管连接的配置, 可通过选择 *Help* (帮助) 查找。

#### 依次运行

在不进行再生时, “吸样与进样”、“梯度运行”、“柱冲洗”、“柱平衡”等纯化步骤将顺序进行, 如图 2 所示。本应用报告所用方法的整个周期是 13 分钟。

#### 用等梯度再生泵进行交互柱再生

如果用一个等梯度泵进行交互柱再生, 那么在“柱平衡”步骤进行的同

时, 在第二根柱子上进行下一个纯化(图 3)。为了确保泵与阀之间的体积(V1)被梯度起始比例的流动相填满, 柱冲洗后还要增加附加冲洗时间。这段冲洗时间的长短, 取决于系统设置, 例如, 根据自动进样器的延迟体积。在图 3 的例子中, 循环时间可以减少到 10.5 分钟。

下列等梯度泵可用于纯化系统的柱再生:

- Agilent 1100 系列等梯度泵 (最大流速 10 mL/min, 200bar), 以及
- Agilent 1100 系列制备泵 (最大流速 100 mL/min, 400 bar)。

#### 用梯度再生泵进行交互柱再生

将梯度泵作为再生泵时, “柱冲洗”和“柱平衡”这两步进行的同时下一个纯化已经在第二根柱上开始(图 4)。梯度完成后, 必须直接加上冲洗时间。

下列梯度泵可用于纯化系统的柱再生:

- Agilent 1100 系列等梯度泵 (最大流速 10 mL/min, 200 bar), 带 Agilent 1100 系列 12 位 /13 通溶剂选择阀, 以及
- Agilent 1100 系列四元梯度泵 (最大流速 10 mL/min, 200 bar)。

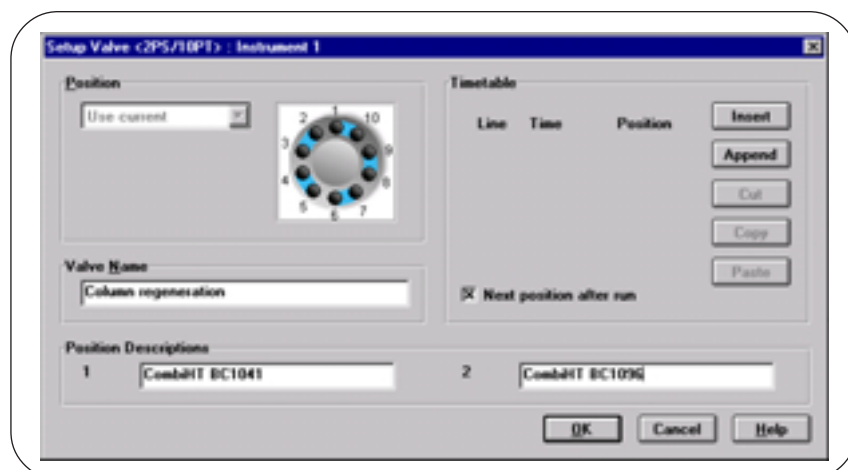


图 1  
设置阀窗口

### 带梯度再生泵和重叠进样的交互柱再生

使用具有重叠进样功能的 Agilent 1100 系列制备自动进样器，可以在前一次纯化仍在进行时，就吸取下一个样品。特别是对于在制备型 HPLC 中，进样量大的情况下，可能需要多次吸样，大大节省了时间（图 5）。

### 结论

使用外部 Agilent 1100 系列 2 位/10 通阀可以进行高通量的纯化制备。根据再生泵的类型不同，柱冲洗，或柱冲洗和柱平衡，可以在第二根柱上进行下一次纯化的时间同时执行。此外，用自动进样器重叠进样减少了循环时间，特别是进样量大、进样时间长的制备 HPLC。

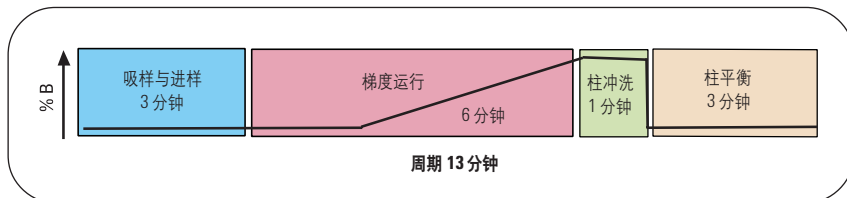


图2  
依次运行

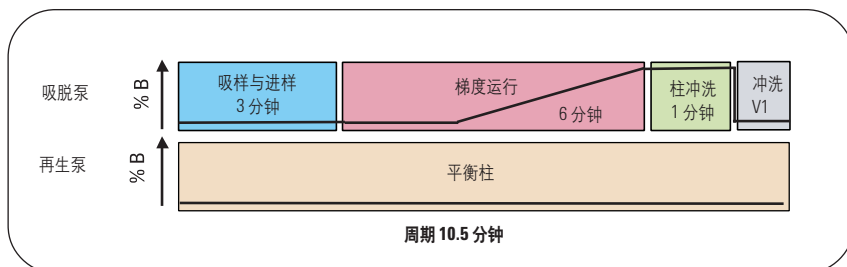


图3  
用等梯度再生泵进行交互柱再生

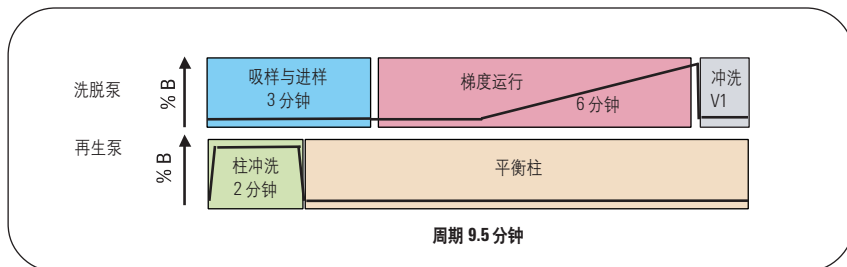


图4  
用梯度再生泵进行交互柱再生

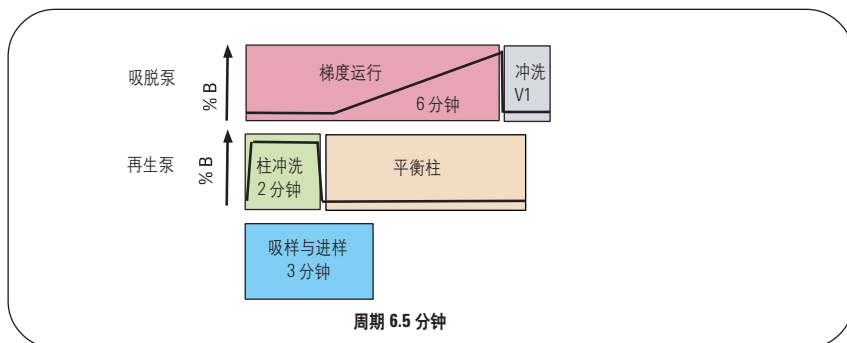


图5  
用梯度再生泵和重叠进样进行交互柱再生

“制备型高通量 HPLC - 用 Agilent 1100 系列阀解决方案进行交互柱再生”，  
出版号 5988-8085EN

用两个应用实例介绍了Agilent 1100系列纯化系统中12位/13通阀的使用。首先是回收收集,即样品中没有作为馏分收集的剩余部分也被收集到一个指定的容器中。如果纯化过程出现了差错,如,参数设置错误,样品并没有流入废液,而是被收集在某处,很容易回收。其次,这种阀还可以用于按时间收集的简单纯化系统。

## 结果与讨论

### 回收收集

纯化/高通量软件具有回收收集的功能。即,没有作为馏分收集的所有样品都流入一个专门的容器,很容易被收集(图1)。要进行回收收集,需要使用带漏斗盘的Agilent 1100系列馏分收集器AS(G1364-84502)。1100系列馏分收集器PS的针头太短,不能使用漏斗。

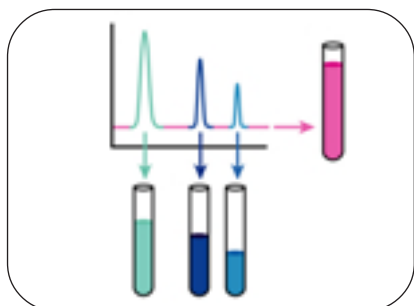


图1  
回收收集

## 回收收集和按时间进行馏分收集

AS或PS馏分收集器都可以通过将12位/13通阀设置在馏分收集器的废液管线上进行回收收集,如封面插图所示。有关阀的方法设置见图2的Setup Valve(阀设置)窗口。

要进行回收收集,必须检查Next position after run(运行后下一个位置)框。自动设置为Position to Use current(当前使用位置)。这样设置后,阀将在运行后自动切换到下一个回收位置,并一直保持到下次运行开始。即,样品1回收到1号位置,样品2到2号位置,并以此类推。首先要做的是在第一次运行开始前将阀手动切换到位置1。使用12位/13通阀最多可以回收收集12个样品。如果需要更多的回收位置,就需要在第一个阀的出口再接更多的12位/13通阀。唯一的限制是,可连接到系统上阀的最多数量,以及为每个连接阀的方法设置更复杂。因为,阀切换到下一个位置是在运行结束后和后运行开始之前,建议包含后运行时间,如,将柱平衡包含在运行时间内。所以,在柱冲洗和平衡过程中,流动相仍被收集到样品回收位置,而不是收集到下一个样品回收位置。方法实例见表1a和1b。

### 按时间收集馏分

Agilent 1100系列12位/13通阀也可以作为简单的馏分收集器使用,代替Agilent 1100系列馏分收集器与检测器连接。馏分可以只通过阀的切换按时间表分时间段进行收集(图3)。最后一位可以作为废液位,在没有进行分析时收集流动相。因为将一个固定的位置作为方法的起始位,运行结束后还要将阀切换回这个位置。所以,平衡、进样周期等过程中从柱子流出的流动相,都将流入废液位置,不会稀释或污染任何馏分。当在一个序列中使用带这些阀设置的方法时,可以进行汇集,甚至用源自不同样品瓶的样品进样。用Agilent 1100系列12位/13通阀按时间收集馏分,只能使用化学工作站软件——不能使用也不支持纯化/高通量软件。

## 结论

1100 系列 12 位 / 13 通阀与 1100 系列纯化系统一起可用于：

- 回收收集，将其与馏分收集器的废液管线连接。
- 按收集收集馏分，在简单的纯化系统中代替馏分收集器。

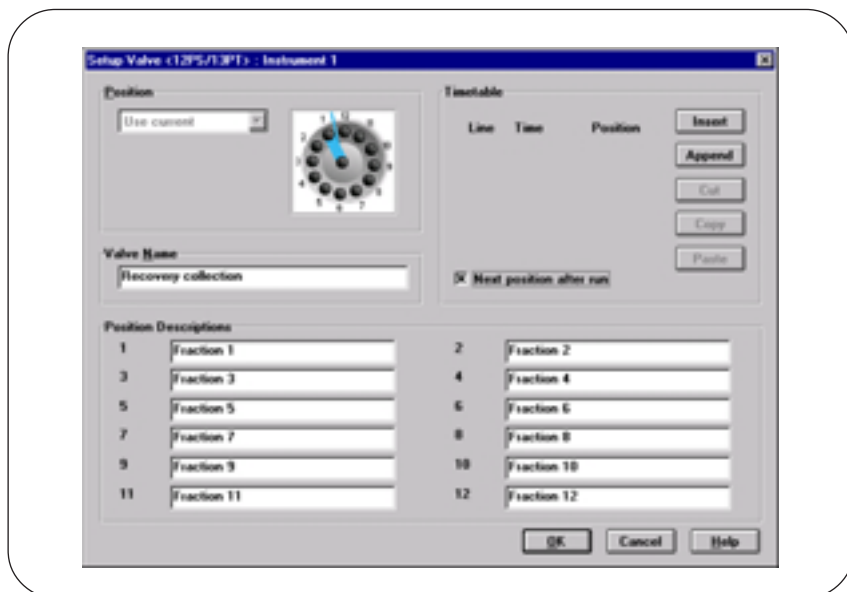


图 2  
阀设置窗口

### 带后运行时间

梯度:	0 分钟 10 % B 9 分钟 90 % B 10 分钟 90 % B
停止时间:	10 分钟
后运行时间:	3 分钟

表 1a

带平衡后运行时间的梯度运行

### 不带后运行时间

梯度:	0 分钟 10 % B 9 分钟 90 % B 10 分钟 90 % B 10.1 分钟 10 % B 13 分钟 10 % B
停止时间:	13 分钟
后运行时间:	无

表 1b

平衡包含在运行时间内

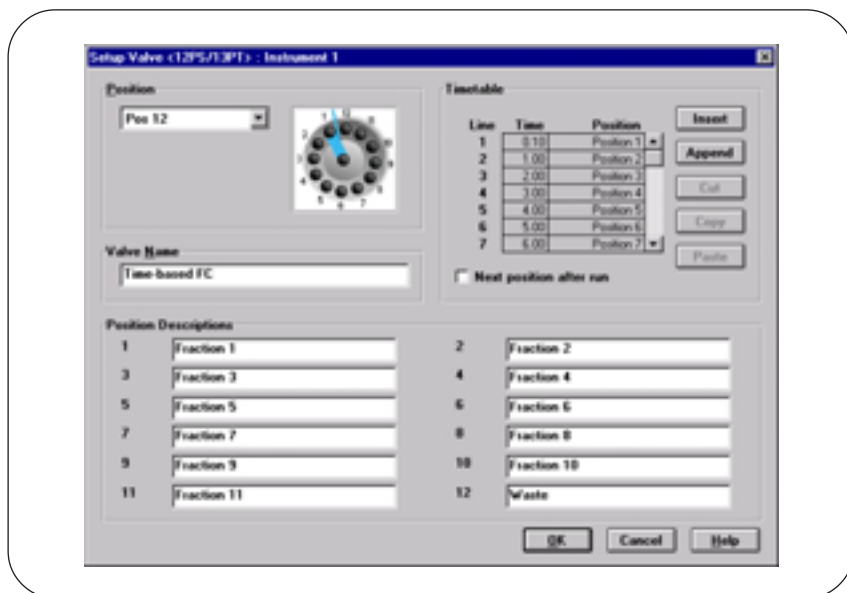


图 3  
用 12 位 / 13 通阀按时间进行馏分收集

“回收收集和按时间收集馏分 — 带 Agilent 1100 系列阀解决方案的制备 HPLC”，  
出版号 5988-8225EN

## 索引

主动分流器.....	12	按峰进行馏分收集.....	4
交互柱再生.....	40	汇集.....	4
自动馏分再分析.....	34	制备泵性能.....	22
浏览器.....	26	纯化回收率.....	10
柱超载.....	4	纯度计算.....	2
延迟校正.....	12	回收收集.....	42
检测器延迟.....	16	夹层进样.....	36
扩散.....	14, 16	放大.....	4
Easy Access Plus软件.....	39	系统集成智能化.....	14
漏斗盘.....	6	阈值.....	32
样品·馏分跟踪图.....	2	按时间进行馏分收集.....	28
高通量纯化.....	40	通用接口盒(UIB).....	18
按质量进行馏分收集.....	2	正、负斜率.....	30
有机相进样.....	36	便于操作的系统.....	38

备注

[www.agilent.com/chem/purification](http://www.agilent.com/chem/purification)

化学分析部用户服务中心免费专线:

**800-820-3278**

安捷伦科技公司版权所有<sup>®</sup>, 2003

版权所有, 未经书面许可, 不得擅自复制、引用和翻译, 符合版权法者除外。

2003年6月1日印刷

出版号: 5988-9646CHCN



**Agilent Technologies**