

高速逆流色谱使用规范

高速逆流色谱(HSCCC)是近年来产生的一种现代色谱分离制备技术,对样品的损失少,在天然产物及发酵代谢产物的分离中有广泛的应用。它是建立在一种特殊的流体动力学平衡基础上,利用螺旋管的高速行星式运动产生的不对称离心力场,实现两相溶剂体系的充分保留和有效混合及分配,从而实现物质在两相中高效分离。HSCCC的分离效果与所选择的溶剂体系、固定相和流动相的选择、洗脱方式、仪器的转向和转速、样品浓度和进样方式以及柱温有着密切关系。下面是HSCCC的一般工作方法和需要注意的事项:

一. 高速逆流色谱仪对所使用溶剂体系的要求

- 1.1 不造成样品的分解与变性;
- 1.2 溶剂对样品有足够高的溶解度;
- 1.3 样品在系统中有合适的分配系数值;
- 1.4 固定相在实验前后有足够高的保留率,一般要求大于40%,保留率小,不利于体系的稳定运行与物质分离。

二. 高速逆流色谱的溶剂体系选择常用的方法

- 2.1 参比已知的溶剂体系 查阅文献,从所要分离的物质类别出发找分离实例,再根据具体情况做调整和试验,选定符合试验的溶剂分离系统。
- 2.2 分配系数测定法 HSCCC最适合的分离溶剂系统,物质的分配系数K值在0.5~2的范围内。分配系数的测定通常使用HPLC法和薄层色谱法来测定。
- 2.3 HPLC扫描法 对于未知的样品,可通过HPLC扫描法,对样品的复杂程度及其组分的极性程度作初步了解,从而筛选出所要用的溶剂体系的极性,进行深入调试获取用于分离的溶剂体系。

三. 高速逆流色谱仪使用注意事项

- 3.1 按比例配制好固定相和流动相,超声脱气半小时,超声完后将流动相和固定相冷却放置室温。
- 3.2 主机运转之前必须启动循环水浴,温度25℃(30min左右),以免主机齿轮受热膨胀变形。
- 3.3 进行平衡时,进样六通阀应在Inject位置。进样的体积应该尽量小,防止由于大量的溶剂参入而破坏平衡体系。进样量严格控制在仪器的分离范围内,避免过载。
- 3.4 运行过程中检查接口是否漏液。
- 3.5 工作压力不超过2MPa
- 3.6 泵的流速不超过50ml/min。
- 3.7 每次使用完后,先用氮气把柱内的液体吹出,再泵入甲醇清洗色谱柱空腔,清洗之后必须用氮气吹干。(回收吹出溶剂中的样品)
- 3.8 在实验过程中应该严格控制温度,温度的变化对于体系有较大的影响,如:检测信号的不稳定,洗脱液混浊等。

四. 仪器的日常保养

- 4.1 每次做完实验都要按照日常清洗要求清洗设备,最后要将主机内清洗液吹尽吹干;吹完设备后不宜立即泵液进行实验,因为此时柱内存在一定的气压,泵入溶剂容易产生气泡,

影响实验，放置一段时间后方可继续实验。

- 4.2 设备正常操作运行半年后，应时常检查主机内连接管及进出口管路易损部位的情况，如有磨损应立即更换。
- 4.3 建议在正常应用设备时，主机内进出口管子易损部位应每半年维护保养一次，主机内连接管一年内应更换一次。

修改于二零二零年三月