

共享的部件

- · UltiMate 3000 单元的驱动可共享硬件
 - 柱温箱
 - 双梯度泵 (或两个独立的泵)
 - 自动进样器
- 使实验室可最大限度的利用空间及金钱

11 Proprietary & Confidential

Thermo Fishe

UltiMate 3000 x2 双梯度系统的概念

双梯度泵 ⇨ 两个泵的能力; 仅比一个泵贵一点

占用的台面仅与一个泵相同 ➡ 不需要额外实验台面

⇒ 软件可控制使两系统间共享泵、自动进 变色龙软件容许其模块共享

样器及柱温箱

应用组件中包括各种所需的管路、介 □ 用户不需要特别的经验

绍及样品

变色龙应用向导 ⇨ 方法转移及开发十分方便

变色龙软件对其具有系统监测及认证 ⇨ 对整个过程及认证的完全控制

的功能

⇒ Enables chromatography labs to use advanced chromatographic techniques

UltiMate 3000 双梯度所能解决的问题

- 快速分析; 即在不改变已经经过认证的方法的前提下, 提高分析速度
 - 串联(Tandem)色谱: 节省梯度平衡的冲洗时间,提高梯度方法的
 - 并联(Parallel)色谱,对任何方法,都能通过共享色谱泵、自动进 样器及柱温箱来提高一倍的分析速度
- 不同应用之间的快速切换; 一台仪器同时为两种应用作准备, 连续不间 断运行两个不同应用
- · 多维分离: 通过 2D 或 3D 提高分离度
 - 多用于生化及蛋白质组学领域,目前主要集中在微柱、毛细管柱及纳
 - 包括近年流行的"全自动离线"多维色谱

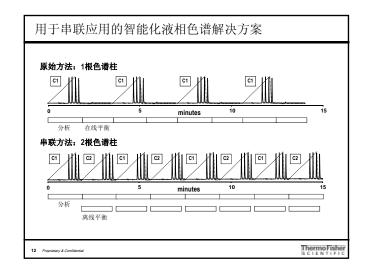
Thermo Fishe Proprietary & Confidentia

UltiMate 3000 双梯度所能解决的问题

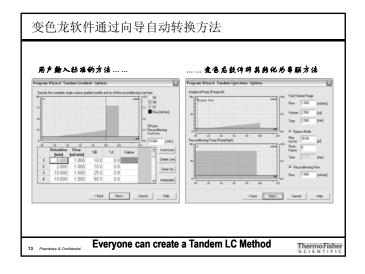
- · 样品的在线 (On-Line) 前处理
 - 集成 SPE 小柱作样品前处理提高自动化
 - 直接进较脏的样品(如: 血样、食品样等)
 - 在线快速脱盐
- 提高质谱的灵敏度
 - 使用左泵作为辅助泵
 - 通过柱后交换流动相增加挥发性有机溶剂比例、调节pH值、或添加 辅助试剂以提高质谱的响应值
- 柱后衍生; 用第二个泵作柱后衍生泵
- 兼容性: 该系统可兼容任何现有的 HPLC 系统

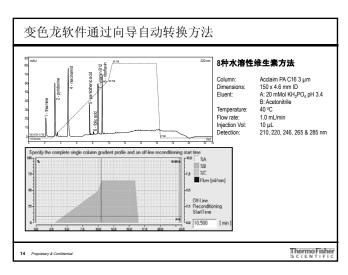
ThermoFishe

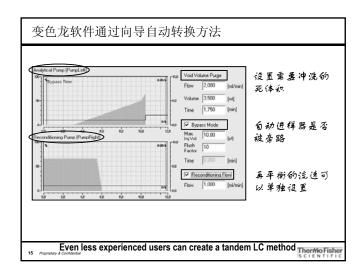
智能化色谱解决方案 - 串联液相色谱 • 两个流路: 一个用于分析(桔红色); 另一个用于离线色谱柱再生(蓝 色) • 色谱柱在两个流路间切换 • 从运行周期中除去冲洗及平衡色谱柱的时间 • 缩短运行时间 20-50%

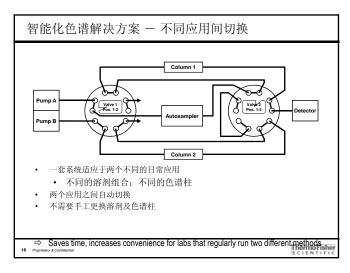


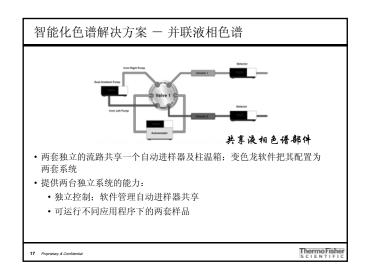
Thermo Fisher

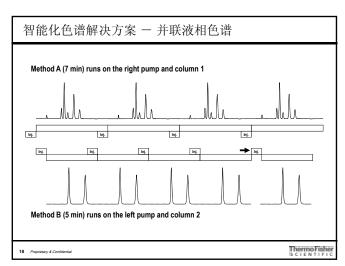








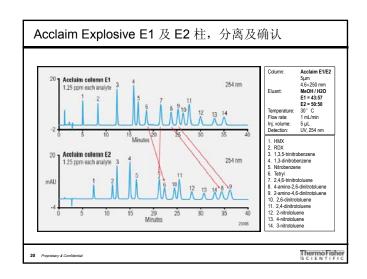


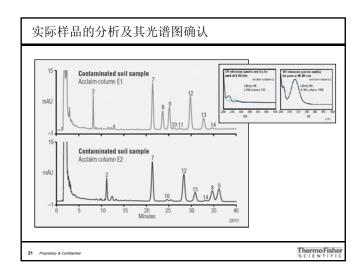


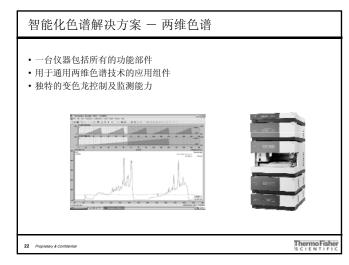
应用实例:环境中爆炸物残留的分析

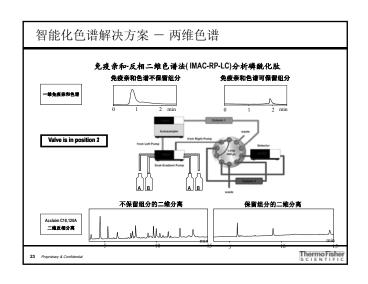
- 背景:
 - 多数爆炸物及其含硝胺基团的杂质均有较强的毒性,其残留物的分析 在军事演习现场及周围环境评价、犯罪及恐怖袭击案件的侦破中都有 重要的意义
 - GC也常被用来检测这些物质,但是其热不稳定性及不易挥发性使液相色谱成为更理想的分析工具
 - EPA Method 8330 是最常用的方法
- EPA Method 8330 的要求:
 - EPA 方法 8330 中规定了 14 种需要监测的爆炸物,建议用一种色谱柱(例如: C18)作为主要的分析柱分离这些化合物;并建议用另外一种选择性有差异的反相柱作为补充确认,例如: CN 柱
 - 14 种化合物都要被分离(而2006年新的8330B需要分析多达17种)
 - 并在分析后尽可能快地确认

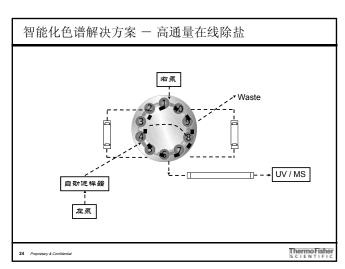
19 Proprietary & Confidential

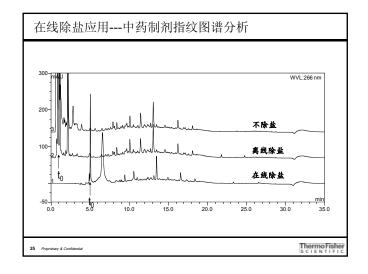


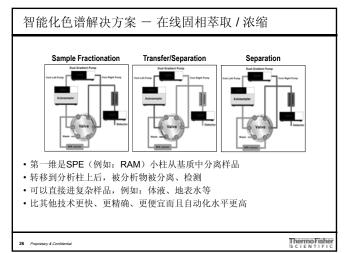












On-Line SPE(在线固相萃取)技术

- 特点:
 - 减低手工操作需求、节约时间; 且重现性高
 - 方便于直接进样; 更快、更经济
 - 可以自动化; 无人照管操作过夜或过周末
 - 减少接触对人体有害物质的机会
- 应用领域:
 - 食品及饮料分析实验室
 - 环保实验室
 - 制药及临床实验室

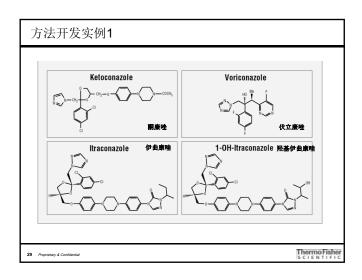
27 Proprietary & Confidential

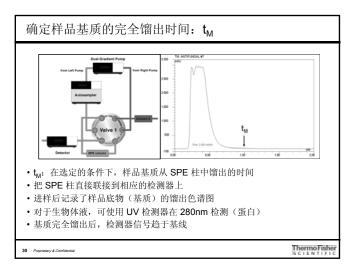
双三元智能化色谱在线固相萃取(一)

样品在线前处理方法开发一柱切换时间设定

- 样品前处理的方法开发与最终色谱分析的方法开发一样重要;需要确定 SPE 富集小柱冲洗溶液及切换阀的切换时间
 - 馏份分级(Fractionation);即:被分析物的富集与基质去除的过程
 - 转移(Transfer);即:被分析物从 SPE 小柱转移到分析柱的过程
- 介绍1个 On-Line SPE 方法开发的过程
 - 血浆(plasma)中四种抗真菌剂(Antimycotics) 分析

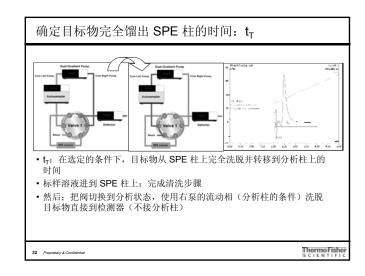
Thermo Fisher S C I E N T I F I C

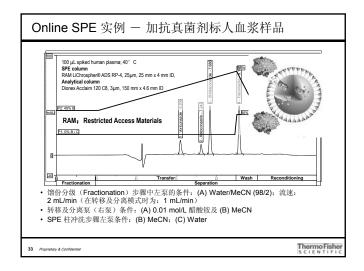


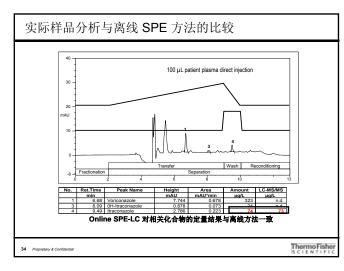


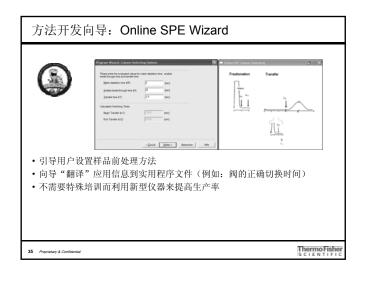
Thermo Fishe

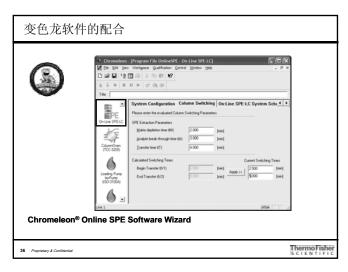
确定被分析物的洗脱时间: t_A - t_A: 在选定的条件下,目标物开始馏出 SPE 柱的时间 - 与刚才相同的配置,得到目标物的馏出色谱图 - 流动相组成与流速应与测定 t_M 时相同(左泵),目标物浓度与实际样品应该接近 - 为了完全萃取且回收率高,t_A 必须大于 t_M











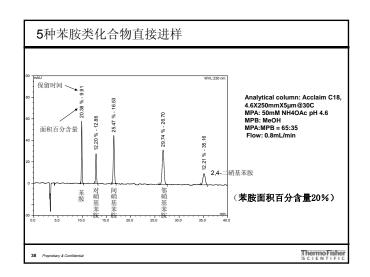
双三元智能化色谱在线固相萃取(二)

样品在线前处理方法开发- online SPE富集小柱选择

- 在线富集小柱的选择非常重要,所选择的小柱不仅要确保分析目标物富 集并保留在小柱上,回收率要高,而同时能把基质尽可能的去除。经这 样的小柱净化并富集的分析目标物再切换转移到分析柱上分离检测。
- 介绍一个online SPE富集小柱的选择过程
- · 苯胺类化合物online SPE富集小柱选择

37 Proprietary & Confidential

Thermo Fisher



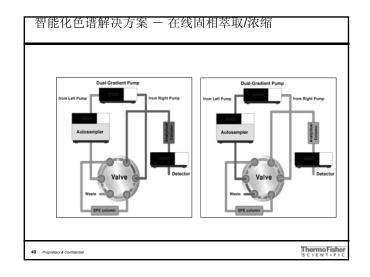
方法开发实例 2

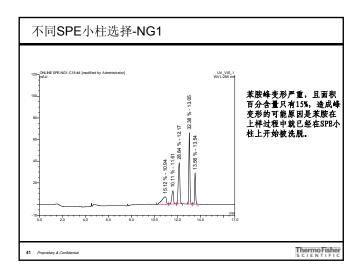
选择Online SPE富集小柱的初始色谱条件:

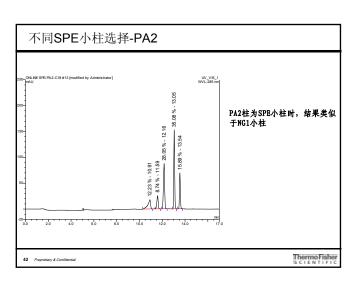
- 上样流动相: 100% H20
- 分析流动相: 10% MeOH为起始走梯度
- 分析柱: acclaim C18, 4.6x150mmx3um
- SPE柱: 选择不同小柱实验
- •上样体积: 2ml 100ppb苯胺类化合物标样

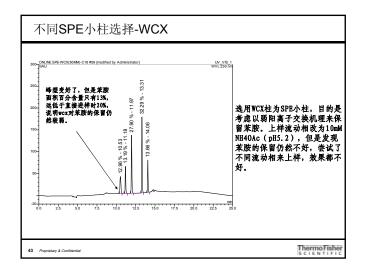
39 Proprietary & Confidential

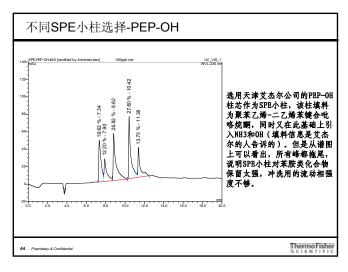
Thermo Fishe

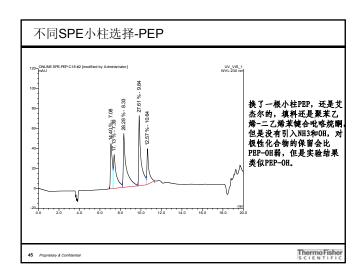


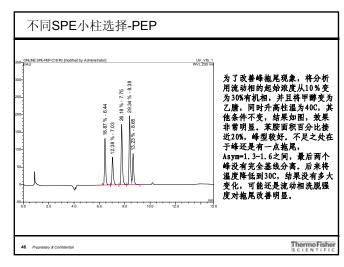


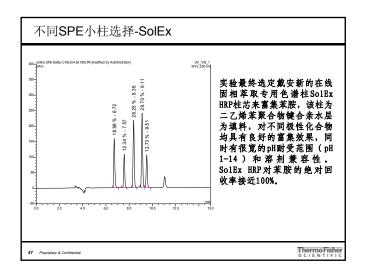










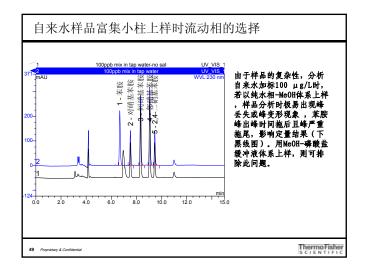


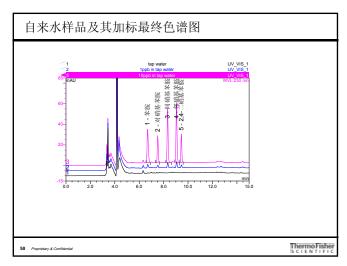
5种苯胺类化合物-online SPE富集小柱选择结果

实验分析的5种苯胺类化合物中,其中苯胺与另外4种化合物性质相差较大,在固相萃取小柱上的保留最弱。使用PA2、NG1和WCX-1填料做在线固相小柱富集苯胺时,均发现苯胺有较大流失,回收率只有50%左右。文献报道采用离线固相萃取时,苯胺也存在回收率低的现象。实验最终选定戴安在线固相萃取专用色谱柱So1Ex HRP柱芯来富集苯胺,该柱为二乙烯苯聚合物键合亲水层为填料,对不同极性化合物均具有良好的富集效果,同时有很宽的pH耐受范围(pH 1-14)和溶剂兼容性。So1Ex HRP对苯胺的绝对回收率接近100%。

48 Proprietary & Confidential

Thermo Fisher

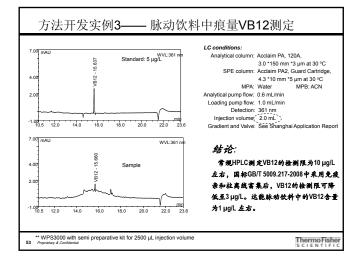




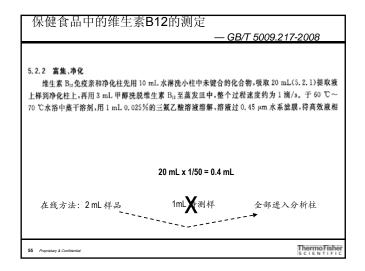
在线固相萃取-高效液相色谱联用方法优点

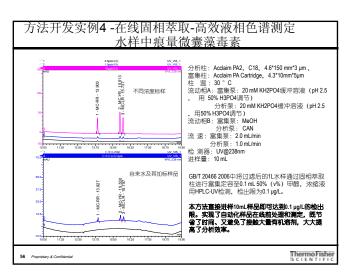
- 苯胺类化合物是致癌物质。它对环境造成的污染随着它的广泛应用而日趋严重。因此,对这类化合物的监测已越来越受到重视。美国、日本及我国已先后把苯胺类化合物列为主要或优先监测的污染物。
- •本方法采用在线固相萃取-高效液相色谱联用方法自动分析了自来水和池塘水中的5种痕量苯胺类化合物。方法直接进样5 mL,检测限可达0.1 $0.2~\mu$ g/L。

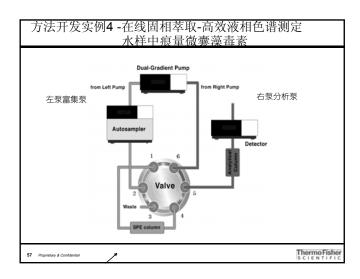
Confidential Thermo Fisher S C I E N T I F I C

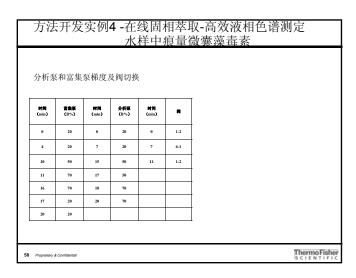


方法开发实例3 — 脉动饮料中痕量VB12测定 梯度 Time (min) Time (min) 1-2 10 12 19.8 13 90 20 90 18 90 18.1 25 3 说明: 0-10min: 宮集泵宮集. 分析泵平衡: 10-13: 将宮集柱VB12切到 分析柱; 13-25min: 富集泵冲洗平衡, 分析泵分析VB12。 Thermo Fisher





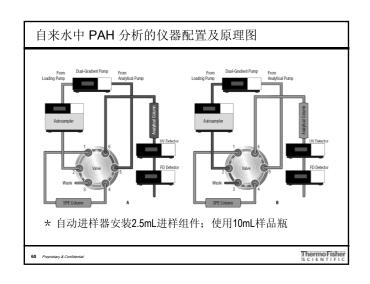


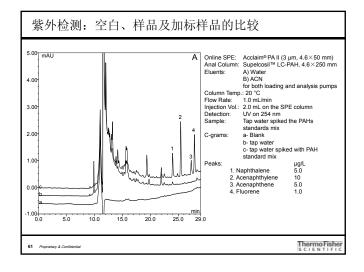


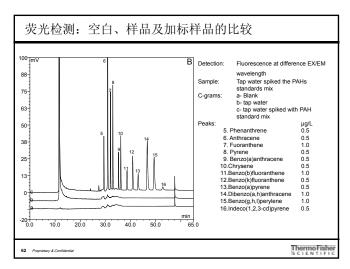
方法开发实例5:环境水样品中多环芳烃(PAH)的分析

- 背景:
 - 多环芳烃(PAH)于其毒性及致癌作用,是各国环境监测部门必检的 项目之一
 - EPA Method 550.1 是一种液相色谱的方法,它规定了水中 16 种要被监测的 PAH
 - 由于环境中样品含量低;通常都需要进行用 SPE 小柱进行富集、浓缩
- 含多环芳烃的环境中水样品浓缩、富集方法:
 - EPA 方法 550.1 中使用 SPE 固相萃取小柱,处理 1 升水样品;用二 氯甲烷洗提浓缩;再用3mL乙腈置换最后再浓缩,最后用乙腈定容至 0.5 mL
 - 按 EPA 方法 550.1 的规定,前四个峰用紫外检测而后面的峰用荧光 检测

59 Proprietary & Confidential Thermo Fisher S CIENTIFIC







Online SPE-LC Applications---环境应用-8个

- · AN191 饮用水和瓶装矿泉水中酚类的分析(HPLC-UV)
- · AN213 自来水中多环芳烃类化合物的分析(HPLC-UV-FD)
- AN219 处理后的废水中LAS(线性烷基苯磺酸)表面活性剂的分析(HPLC-UV-FD)
- · 水样中13种抗生素的测定(HPLC-MS)
- ·环境水样中邻苯二甲酸酯的测定(HPLC-UV)
- •环境水样中痕量微囊藻毒素的测定(HPLC-UV)
- ·环境水样中痕量莠去津的测定(HPLC-UV)
- 水样中痕量2,4-D & 2,4,5-T herbicide acids 的测定

63 Proprietary & Confidential S C | E N T | F | |

Online SPE-LC Applications---食品和饮料应用-6个

- AN196 食用油中多环芳烃类化合物的分析(HPLC-FD)
- · 白兰地酒中多环芳烃类化合物的分析(HPLC-FD)
- · 牛奶中盘尼西林G的分析(HPLC-UV)
- 达能脉动饮料中痕量VB12的测定(HPLC-UV)
- 鱼和鸡肉中喹诺酮的测定(Taiwan)(HPLC-UV)
- 奶制品中痕量 三聚氰胺的测定

Thermo Fisher
S C 1 E N T 1 F 1 C

Online SPE-LC Applications---工业应用-2个

- 纺织品中线性十二烷基苯磺酸盐(LAS)的分析(HPLC-UV)
- 聚合物中偶氮二异丁腈(AIBN)的分析(HPLC-UV)

ThermoFisher
5 Papintary & Confidential Scientific

Online SPE-LC Applications---代谢应用-5个

- 人血浆中抗真菌药的分析(HPLC-UV)
- · 人血浆中非索非那定的分析(HPLC-MS/MS)
- 人血浆中苯芴醇的分析(HPLC-UV)
- 老鼠血浆中杀菌灵的分析(HPLC-MS/MS)(Singapore)
- · 老鼠血浆中氢氯噻嗪和尼群地平的分析(HPLC-UV)

Proprietary & Confidential Thermo Fisher
S C I E N T I F I C

