

慧德易电子期刊

H&E Electronic Journal

第 113 期

浅谈低压、中压、高压液相色谱



2018 年 11 月

第 113 期 浅谈低压、中压、高压液相色谱

制备型液相色谱，按照色谱柱和样品量的大小，可以分为：低压液相色谱、中压液相色谱和高压液相色谱。

低压、中压与高压液相色谱的压力范围之间会存在一定交叠，没有统一、明确的标准。下面我们来简单介绍。

	粒径	压力	用途	常用基材	对应设备
低压	40~130 μm	<5bar	初期捕获	软质的葡聚糖、琼脂糖、聚合物等	
中压	20~60 μm	5~20bar	提取纯化	交联改性的糖基凝胶，聚合物微球，复合材料	
高压	5~30 μm	>20bar	精细分离	硅胶，聚合物	

1. 低压色谱 (LPLC)



柱压一般低于 5bar（或者 75psi）。

低压色谱一般是由蠕动泵、进样阀和检测器组成，可以连续化，实现自行的梯度淋洗和馏分收集等操作。色谱柱管一般是玻璃的，长度一般为 200-1000mm，内径为 20-50mm（生产型层析柱，内径可

达到 100cm!)。填料一般使用软质的葡聚糖、琼脂糖、纤维素、聚合物等，粒径一般为 40-130 μm 。

2. 中压液相色谱 (MPLC)



柱压在 5-20bar (或 75-300psi) 之间, 广泛用于实验室和工业规模的生物制品 (如动物脏器提取液、浓缩液、体液、植物提取液、生物技术发酵液等—往往需要经过滤膜作初级净化) 的处理, 以提取或纯化所需的产品。

中压液相色谱的主要部件为输液泵、进样阀、检测器、馏分收集器等。慧德易公司自主研发的 **QuikSep AutoBio** 全自动层析系统是为实验室级别生物制品纯化工艺开发及制备专门设计而成。采用堆叠式管路设计, 实现最小的管路死体积, 所有阀门、柱塞泵、检测器均采用模块化方式, 可进行密集的程序化方法探索, 实现仪器最大智能化。

对于一般中压制备色谱, 当色谱柱直径较大时, 柱头往往设计成锥形或有类似于伞状的液流导向结构, 使得当大量样品进入到柱头上时, 能迅速地分散到整个柱横截面上, 及时被流动相冲走, 避免了因样品的局部过浓而引起柱超负荷和谱带加宽。柱子填料则采用比较耐压的交联改性的多糖凝胶 (如 Sepharose CL, Superose 等), 聚合物微球, 复合材料介质或硬质 SiO_2 基体的化学键合相等, 粒径一般在 20-60 μm (最常用的填料尺寸是 15-25 μm , 25-40 μm 或 40-60 μm), 可采用湿法或者干法装柱。

3. 高压液相色谱 (HPLC)



是指柱压一般大于 20bar (或 300psi) 的“高压 (高效) 液相色谱”, 通常指所用色谱柱的塔板数大于 2000, 一般是在 2000-20000 的范围之间。

当需要从大量的物质中分离纯化不足 1% 的所需成分时, 分离工作将会十分困难, 往往在纯化的最后阶段需要使用 10 μ m 或更小颗粒的高效填料。为获得所需微量组分, 可采用如下分离手段: 制备型分离-半制备型分离-分析型分离-产物。为提高每次分离获得纯品的数量, 制备型高效液相色谱分离通常在超载情况下运行。

高压液相色谱, 即目前常用的高效液相色谱。色谱柱内装填的是粒度范围较窄的微小颗粒固定相 (5-30 μ m), 为使流动相流出, 需采用较高的压力, 同时系统的复杂性及成本亦增大, 但分辨率可得到较大的提高。而装填较大颗粒的固定相时, 如中压液相色谱系统, 装柱较容易, 色谱柱的通透性较高 (只需较低的泵压力), 可采用更大的色谱柱和更经济的仪器, 由此分辨率也较低。

4. 用分析型高压液相色谱进行制备型分离



当所需纯化化合物的量很少时（微克级至几微克），可用分析型色谱柱进行多次分离。效果和利用大直径色谱柱进行一次性分离相同。采用小直径色谱柱时，可利用已有的分析型仪器，而无需在色谱柱、填料及附件方面投入更大资金；另外，还可在很大程度上避免由于放大所产生的问题，使分离速度加快。

小直径色谱柱的尺寸一般为 4.6×250mm，通常装有反相填料，每次可进样 5-100μg，通常多次进样分离，可获得足够的纯品。

通常需用分析型色谱柱进行分离的一个领域是对多肽类化合物的纯化。生物活性肽的含量通常很低，用分析型高效液相色谱作为最后的纯化手段时，不会使色谱柱超载。为了提高分离效率，可将分析型高效液相色谱柱串联起来使用。此时可采用颗粒度在 20-30μm 的填料，以保持适当的通透性，尤其是当使用含水溶剂时。当使用正己烷等有机溶剂时，由于流动相的粘度较低，可使用颗粒度为 10μm 的填料。然而由于分析型色谱系统无法提供大规模制备型分离所需的流速，其应用受到一定限制。

北京慧德易科技有限责任公司致力于为天然产物、化学合成药物以及生物制药等相关企业及科研院所提供专业和高品质的分离树脂、纯化介质、高效液相色谱柱，以及全套的分析液相、中高压制备液相、DAC、工业层析操作系统和层析柱，为客户提供从小试、中试及生产全套设备及工艺开发和整体解决方案。



北京慧德易科技有限责任公司

咨询电话：010-59812370/1/2/3

公司官网：www.prep-hplc.com

邮 箱：sales@prep-hplc.com

微信公众号：北京慧德易