



在线虚拟柱

入门指南

软件版本 1.0 • 2016 年 11 月

版权所有

仅用于研究目的。不可用于诊断目的。

版权所有 © 2015-2016 Thermo Fisher Scientific Inc. 保留所有权利。

商标

Internet Explorer 和 Microsoft 是 Microsoft Corporation 的注册商标。Chrome 和 Google 是 Google Inc. 的注册商标。Firefox 和 Mozilla 是 Mozilla Foundation 的注册商标。Safari 和 Apple 是 Apple Inc. 的注册商标。Adobe 是 Adobe Systems Inc. 的注册商标。

所有其他商标是 Thermo Fisher Scientific Inc. 及其子公司的资产。

本文档受版权保护；未经 Thermo Fisher Scientific Inc. 的书面授权，严禁复制本文档的全部或任何部分。

本手册按现状提供。在未来的版本中，本手册的内容如有更改，恕不另行通知。

Thermo Fisher Scientific Inc. 并未就本文档的完整性、准确性和无误性作出任何声明。即使在使用过程中正确遵循了本文档中的信息，但对于因使用本文档而引起的任何错误、疏忽、损坏或损失，ThermoFisher Scientific Inc. 概不负责，并且不承担法律责任。

本文档并不是 Thermo Fisher Scientific Inc. 与购买方之间的任何销售合同的一部分。本文档不能以任何形式约束或修改任何销售条款和条件。两份文档之间所有相冲突的信息应以销售条款和条件为准。

文档历史

修订版：1.0. 本手册是原始手册。

目录

目录.....	2
1 简介.....	3
1.1 关于本文档.....	3
1.2 在线虚拟柱.....	3
1.3 兼容性.....	3
2 启动在线虚拟柱.....	3
2.1 登录.....	3
2.2 总体概述.....	5
3 定义分析物设置.....	6
3.1 总览.....	6
3.2 分析物类别.....	6
3.3 响应因子.....	6
3.4 进样量.....	6
3.5 分析物表.....	7
4 方法.....	8
5 色谱柱.....	8
5.1 色谱柱类型.....	8
5.2 色谱柱选择.....	8
6 方法参数.....	9
6.1 温度.....	9
6.2 梯度起点.....	9
6.3 流速、死体积和死时间.....	9
7 结果表.....	10
8 分离度标准.....	11
8.1 优化.....	11
9 分离度响应面.....	14
9.1 一般功能.....	14
9.2 等度分离.....	17
9.3 梯度分离.....	20
10 虚拟色谱图.....	22
10.1 总览.....	22
10.2 缩放/撤消缩放.....	23
10.3 梯度曲线.....	24
11 应用程序图标.....	24
11.1 全部重置.....	24
11.2 淋洗液制备.....	24
11.3 打印 PDF.....	25

1 简介

1.1 关于本文档

欢迎使用在线虚拟柱。本指南为初次使用的用户提供了快速参考。

1.2 在线虚拟柱

在线虚拟柱是一种基于网络的工具，用于模拟离子色谱分析。根据 Thermo Fisher Scientific 采集的已知保留数据以及 IC 特定的保留算法，在线虚拟柱使用户能够模拟等度和线性梯度分离（请参阅第 9 节）的预期行为，实现多种参数和设备组合。从而使分析人员能够回答如以下所列的问题，并为预期用途确定最合适的设置：

- 对于特定分析，使用哪种色谱柱是最佳的？
- 应该使用哪种淋洗液才能获得分析物的最佳分离效果？
- 应该使用哪种淋洗液才能够最快地分离分析物？
- 改变分析温度对分离有何影响？

备注：在线虚拟柱针对所选参数和设备组合计算典型结果。由于没有两个色谱柱或系统是相同的，因此实际操作条件下的结果可能与使用在线虚拟柱得到的结果略有不同。

1.3 兼容性

在线虚拟柱已经过测试，与以下 Internet 浏览器兼容：

1. Microsoft™ Internet Explorer™（版本 11）或更高版本
2. Google™ Chrome™（版本 48）或更高版本
3. Mozilla™ Firefox™（版本 45）或更高版本

2 启动在线虚拟柱

2.1 登录

AppsLab Library 分析应用库的注册用户可以免费访问在线虚拟柱。

要执行此操作，只需使用现有 AppsLab Library 凭据登录到在线虚拟柱：

1. 打开 Internet 浏览器（有关支持的浏览器，请参阅第 1.3 节）。
2. 转到 <https://appslab.thermofisher.com/VirtualColumnOnline>，打开欢迎页面。
3. 在 Sign In（登录）页面中输入 Email（电子邮件）或 Username（用户名）以及 Password（密码）。
4. 单击 Sign In（登录）。

也可以通过 AppsLab Library 登录到在线虚拟柱：

1. 打开 Internet 浏览器（有关支持的浏览器，请参阅第 1.3 节）。
2. 转到 <http://www.thermofisher.com/appslab>，打开欢迎页面。

3. 在 AppsLab Library 页面的右上角单击 **Sign In**（登录）。
4. 在 **Sign In**（登录）页面中输入 **Email**（电子邮件）或 **Username**（用户名）以及 **Password**（密码）。
5. 单击 **Sign In**（登录）。
6. 在 AppsLab Library 页面的右上方单击 **Virtual Column Online**（在线虚拟柱）。

提示：您可以在 Internet 浏览器中同时运行多个在线虚拟柱会话。

2.2 总体概述

① Analyte Selection

Analyte Category: Anions Inj. Volume (μL): 25.00

Response By: Peak Area

Analytes	Results			
2	Analyte	Peak Area	Asymmetry	Efficiency
<input type="checkbox"/>	Void Dip			
<input checked="" type="checkbox"/>	Acetate	1.10	1.58	4370
<input checked="" type="checkbox"/>	Acrylate	1.30	1.27	5230
<input type="checkbox"/>	Arsenate			
<input type="checkbox"/>	Azide			
<input type="checkbox"/>	Benzenesulfonate			
<input type="checkbox"/>	Benzoate			
<input type="checkbox"/>	Bromate			

③ Column Types

Standard Bore (4 mm & 5 mm ID) Carbonate - Isocratic

Microbore (2 mm & 3mm ID) Hydroxide - Gradient

Capillary (<1 mm ID) Hydroxide - Isocratic

④ Column Selection (7 total)

- IonPac AS10 (4 x 250 mm) - Isocratic
- IonPac AS11-HC (4 x 250 mm) - Isocratic
- IonPac AS15 (4 x 250 mm) - Isocratic
- IonPac AS18 (4 x 250 mm) - Isocratic
- IonPac AS19 (4 x 250 mm) - Isocratic

⑤ Method Parameters

Temperature (°C): 25 Void Volume (mL): 2.68

Gradient Start (mM): Void Time (min): 2.68

Flow Rate (mL/min): 1.00

⑥ Resolution Response Surface

Optimize for: Critical Pairs Fast Separation Resolution: 1.500 [0.0...1.844]

⑦ Virtual Chromatogram

Eluent Concentration: 60.000 mM, Resolution: 1.844

序号	说明
①	定义分析物设置
②	选择两种或多种分析物
③	选择方法（可选）
④	选择色谱柱
⑤	定义方法参数
⑥	查看分离度响应面
⑦	查看虚拟色谱图

提示：您随时可以使用屏幕顶部的 **Reset All（全部重置）** 图标（请参阅第 11.1 节）重置所作选择。

提示：在线虚拟柱具有 60 分钟的非活动超时。如果在此时间间隔内未作出任何更改，那么在此时间后，化合物、色谱柱等所有设置都将丢失。

图 1：总体概述

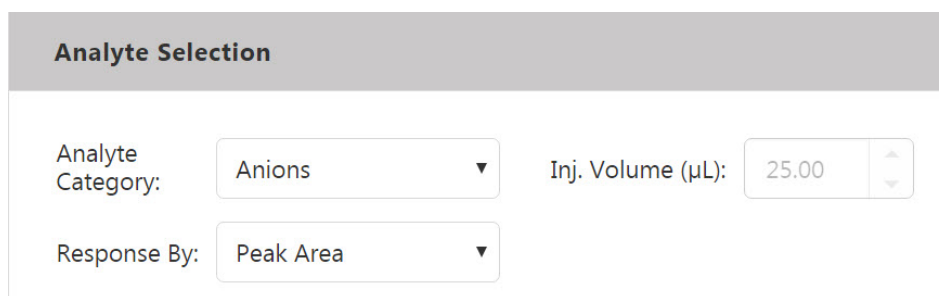
为所需分析进行了适当的设置后，在线虚拟柱将计算相应的保留时间数据。

- 每个淋洗液条件的最小分离度值记录在 **Resolution Response Surface**（分离度响应面）图中（请参阅第 9 节）。
- 分析详情也显示在 **Virtual Chromatogram**（虚拟色谱图）中（请参阅第 10 节）。

3 定义分析物设置

3.1 总览

屏幕顶部的 **Analyte Selection**（分析物选择）部分允许用户选择分析物类别、响应因子和进样量。



The image shows a software interface titled "Analyte Selection". It contains three main input fields: "Analyte Category" with a dropdown menu showing "Anions", "Inj. Volume (µL)" with a numeric input field showing "25.00", and "Response By" with a dropdown menu showing "Peak Area".

图 2：分析物选择

3.2 分析物类别

Analyte Category（分析物类别）下拉列表允许用户在以下类型的分析物中进行选择：

- 阴离子
- 阳离子
- 糖

3.3 响应因子

使用 **Response By**（响应自）下拉列表选择将在计算分析物保留时间和分离度时应用的响应因子。

- 默认的响应因子为 **Peak Area**（峰面积）。
- 根据需要，可以将其更改为 **Concentration (mg/L)**（浓度 (mg/L)）或 **Concentration (mM)**（浓度 (mM)）。

备注：要确定用于峰分离的最佳淋洗液条件，可以使用 **Optimize for**（优化）下拉列表（请参阅第 8 节）选择具体的分离度标准。

3.4 进样量

用户可以通过在 **Inj. Volume (µL)**（进样量 (µL)）字段中输入不同的值来修改默认进样量。在 **Response By**（响应自）下拉列表（请参阅第 3.3 节）中选择 **Concentration (mg/L)**（浓度 (mg/L)）或 **Concentration (mM)**（浓度 (mM)）时，此选项可用。

备注：在实际操作条件下，进样量的变化会影响峰形。然而，如果在线虚拟柱中的进样量发生变化，则峰面积会相应改变，但 **Virtual Chromatogram（虚拟色谱图）** 不会改变。这可能会影响实际观察到的分离度。

3.5 分析物表

3.5.1 用于分析的分析物

在 **Analytes（分析物）** 表中，可以选择将在分析中考虑的分析物。

Analytes		Results			
2	Analyte	Peak Area	Asymmetry	Efficiency	
<input type="checkbox"/>	Caprylate				^
<input checked="" type="checkbox"/>	Carbonate	1.60	2.10	4138	
<input type="checkbox"/>	Chlorate				
<input checked="" type="checkbox"/>	Chloride	1.40	1.30	13358	
<input type="checkbox"/>	Chlorite				
<input type="checkbox"/>	Chloroacetate				
<input type="checkbox"/>	Chromate				
<input type="checkbox"/>	cis-Aconitate				v

图 3：分析物表

备注：要显示与要求相符的方法和色谱柱，必须选择两种或多种分析物。

3.5.2 保留时间数据

选择所需分析物并选择相关色谱柱和色谱柱类型（请参阅第 4 节）之后，**Analytes（分析物）** 表将显示每种所选分析物的以下信息：

- **峰面积：**在 **Response By（响应自）** 下拉列表（请参阅第 3.3 节）中选择 **Peak Area（峰面积）** 时可用。
- **以 mg/L 或 mM 为单位的浓度：**在 **Response By（响应自）** 下拉列表中选择相应浓度选项时可用。
- **不对称度：**此处显示了使用当前参数时预期的峰不对称度。
- **柱效：**此处显示了基于当前参数的估计峰效率。

所示的值是从 Thermo Fisher Scientific 所采集的保留时间数据得到的默认值。如果您的系统具有特定数据，可以在表中编辑相应的值。在线虚拟柱将使用这些值计算保留时间和分离度。

备注：还可以通过在 **Analytes（分析物）** 表中选择相应复选框来计算 **Void Dip（负峰）** 的保留时间数据。如果未选中 **Void Dip（负峰）** 复选框，则 **Virtual Chromatogram（虚拟色谱图）**（请参阅第 10 节）上会显示负峰，但不会计算其保留时间和分离度数据。

4 方法

根据所选分析物类别（请参阅第 3.2 节），可以从 **Methodologies（方法）** 列表中选择一个或多个方法：

分析物	方法				
	碳酸根 - 等度	氢氧根 - 等度	氢氧根 - 梯度	MSA - 等度	MSA - 梯度
阴离子	✓	✓	✓	--	--
阳离子	--	--	--	✓	✓
糖	--	✓	✓	--	--

表 1：分析物类型和方法

5 色谱柱

5.1 色谱柱类型

在 **Column Types（色谱柱类型）** 列表中，可以为您的应用选择一种或多种具有相应内径的色谱柱类型：

- 标准内径
- 微径
- 毛细管

5.2 色谱柱选择

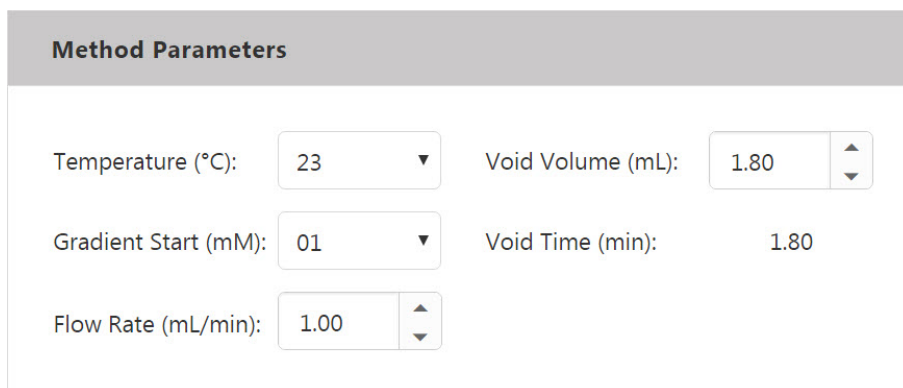
您必须从 **Column Selection（色谱柱选择）** 列表中选择适当的色谱柱。

备注： 仅在选择梯度方法（请参阅第 4 节）时列出用于梯度应用的色谱柱。

在线虚拟柱现在基于目前为止所选的参数来计算保留时间和分离度数据，并显示一个或多个相应的 **Resolution Response Surface（分离度响应面）** 图（请参阅第 9 节）以及 **Virtual Chromatogram（虚拟色谱图）**（请参阅第 10 节）。

6 方法参数

屏幕底部的 **Method Parameters**（方法参数）部分允许用户选择用于分析的相关参数：



Method Parameters			
Temperature (°C):	23	Void Volume (mL):	1.80
Gradient Start (mM):	01	Void Time (min):	1.80
Flow Rate (mL/min):	1.00		

图 4：方法参数

可用参数包括：

- 温度
- 梯度起始（如果适用）
- 流速
- 死体积

6.1 温度

用户可在 **Temperature**（温度）下拉列表中更改所支持的色谱柱的温度。不同温度下的结果可在 **Results**（结果）表（请参阅第 7 节）、**Resolution Response Surface**（分离度响应面）（请参阅第 9 节）和 **Virtual Chromatogram**（虚拟色谱图）（请参阅第 10 节）中查看。

提示： 所示的默认值是用于所选色谱柱的最低适用温度。

6.2 梯度起点

在选择用于梯度方法的色谱柱时，将显示梯度起点处的淋洗液浓度默认值。您可以在 **Gradient Start**（梯度起点）下拉列表中更改此设置，并在 **Resolution Response Surface**（分离度响应面）中查看不同浓度下的结果。**Virtual Chromatogram**（虚拟色谱图）和 **Results**（结果）表也会相应地更新。有关梯度分析的详细信息，请参阅第 9.3 节。

提示： 此选项仅适用于梯度方法。

6.3 流速、死体积和死时间

选择所需分析物并选择色谱柱后，在线虚拟柱将计算所选色谱柱的默认流速、死体积和死时间。

- 您可以在提供的字段中更改流速和/或死体积值，使得特定系统在 **Resolution Response Surface**（分离度响应面）、**Virtual Chromatogram**（虚拟色谱图）和 **Results**（结果）表中更准确地建模。

- 死时间将基于死体积和流速自动进行计算。

备注：在实际操作条件下，流速的变化会影响峰形。然而，如果在线虚拟柱中的流速发生变化，**Virtual Chromatogram（虚拟色谱图）**中的峰形不会改变。这可能会影响实际观察到的分离度。

7 结果表

选择所需分析物并选择色谱柱后，针对每种分析物计算的结果将显示在 **Results（结果）** 表中。

Analytes		Results		
Analyte	Ret. Time	Ret. Factor	Resolution	
Fluoride	3.09	0.19	4.45	
Chloride	5.17	0.99	3.18	
Nitrite	6.65	1.56	2.73	
Carbonate	8.52	2.28	1.59*	
Bromide	10.26	2.95	1.59	
Sulfate	11.25	3.33	1.94	
Nitrate	12.58	3.84		

图 5：结果表

根据分析物数据（峰面积或浓度、不对称度和柱效）以及所选定的色谱柱、温度、死时间和淋洗液条件计算结果。分析物按照保留时间升序排列。

- **保留时间：**自进样之后的时间（以分钟为单位）。
- **保留因子：**也称作容量因子，这是净保留时间与死时间（也称作死时间）的比值。
- **分离度：****Virtual Chromatogram（虚拟色谱图）**中当前色谱峰与下一个色谱峰之间的分离程度。
- **峰面积：**如果在 **Response By（响应自）** 下拉列表中选择以 **mg/L** 或 **mM** 为单位的浓度，则界面上将显示在 **Analytes（分析物）** 表（请参阅第 3.3 节）中输入的相应浓度的预期峰面积。

备注：临界离子对（请参阅第 8.1.2 节）在 **Results（结果）** 表中以星号和粗体格式表示。星号始终分配给临界离子对中的第一个分析物。

8 分离度标准

8.1 优化

8.1.1 总览

要确定用于峰分离的最佳淋洗液条件，请从交互式 **Resolution Response Surface**（分离度响应面）下方的 **Optimize for**（优化）下拉列表中选择适当的分离度标准。

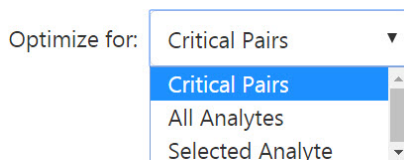


图 6：分离度标准

可使用下列分离度标准：**Critical Pairs**（临界离子对）、**All Analytes**（所有分析物）、**Selected Analyte**（所选分析物）。

在线虚拟柱根据所选分离度标准调整 **Results**（结果）表（请参阅第 10 节）、**Resolution Response Surface**（分离度响应面）（请参阅第 9 节）和 **Virtual Chromatogram**（虚拟色谱图）（请参阅第 10 节）中提供的信息。

备注：就等度建模而言，**色谱柱 QA 条件**（请参阅第 9.1.4 节）也会基于所选分离度标准进行自动计算，并显示在 **Resolution Response Surface**（分离度响应面）图中。

8.1.2 临界离子对

Critical Pairs（临界离子对）为默认分离度标准。当选择此选项时，在线虚拟柱将针对所选淋洗液条件检测分离度最低的峰对，从而优化难以分离的峰对的分离度。这在进行较为困难的分离时十分有用。

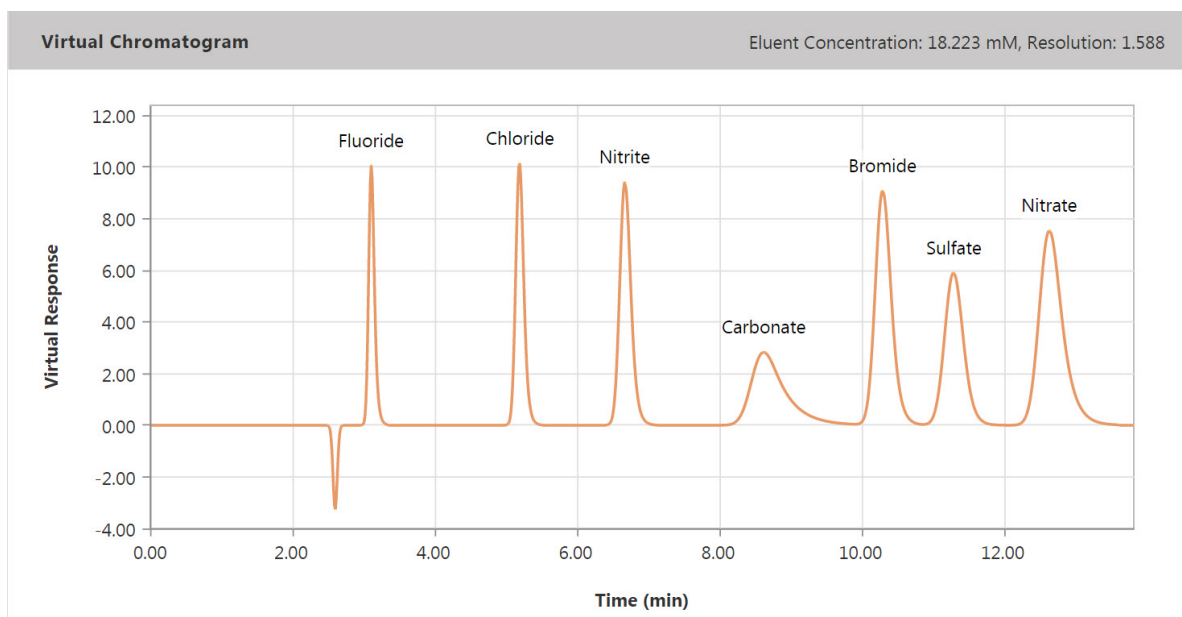


图 7：临界离子对（分离度为 1.588）

一般来说，分离度值至少为 1.5（峰面积重叠小于 0.2%）时，可视为良好的基线分离。对大多数应用而言，分离度值为 1.2（峰面积重叠小于 2%）时，可视为合格的分离。分离度值为 0 表明至少两个峰在同一保留时间洗脱。

Analyte	Ret. Time	Ret. Factor	Resolution
Fluoride	3.09	0.19	4.45
Chloride	5.17	0.99	3.18
Nitrite	6.65	1.56	2.73
Carbonate	8.52	2.28	1.59*
Bromide	10.26	2.95	1.59
Sulfate	11.25	3.33	1.94
Nitrate	12.58	3.84	

图 8：结果表（以粗体显示的临界离子对）

备注：临界离子对在 Results（结果）表中以星号和粗体格式表示。星号始终分配给临界离子对中的第一个分析物。

8.1.3 所有分析物

当选择 All Analytes（所有分析物）时，在线虚拟柱将计算使峰在整个 Virtual Chromatogram（虚拟色谱图）上分离最均匀的淋洗液条件。

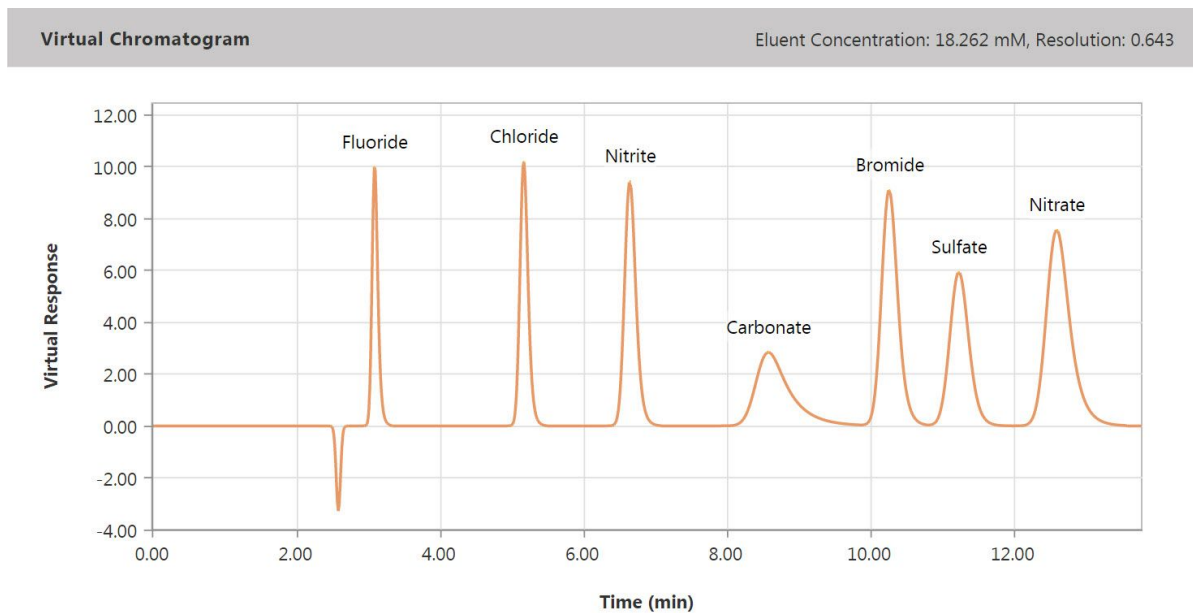


图 9：所有分析物（所有峰的归一化分离度）

归一化的分离度积值为 1 表明所有峰在整个 Virtual Chromatogram（虚拟色谱图）中均匀分离。值为 0 表明至少一个色谱峰对发生共洗脱。

归一化的分离度积 (r) 由以下等式定义：

$$r = \prod_{i=1}^{n-1} \left(\frac{R_{S_{i,i+1}}}{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^{n-1} R_{S_{i,i+1}}} \right)$$

图 10：归一化分离度等式

其中，n 为峰的数量， $R_{S_{i,i+1}}$ 为峰 i 和峰 i+1 的分离度。

备注： All Analytes（所有分析物）对于简单分离十分有用，因为它优化了所有色谱峰对的分离度（请参阅图 9）。然而，对于更加复杂的分离而言，例如涉及无法良好分离的峰或在峰数量较大的情况下，All Analytes（所有分析物）可生成包含均匀分离的峰的 Virtual Chromatogram（虚拟色谱图），但并非所有峰都必须实现分离。

8.1.4 所选分析物

利用 Selected Analyte（所选分析物），在线虚拟柱可计算用于优化所选分析物分离度的淋洗液条件。其他峰的分离度不考虑在内。如果分离特定分析物的峰比分离所有其他色谱峰对更加关键，则可选用 Selected Analyte（所选分析物）。

备注： 选择 Selected Analyte（所选分析物）选项后将显示另一个下拉列表，可以从该列表中选择目标分析物。

在以下示例中，氯化物是所选分析物（也以蓝色峰标记表示）。

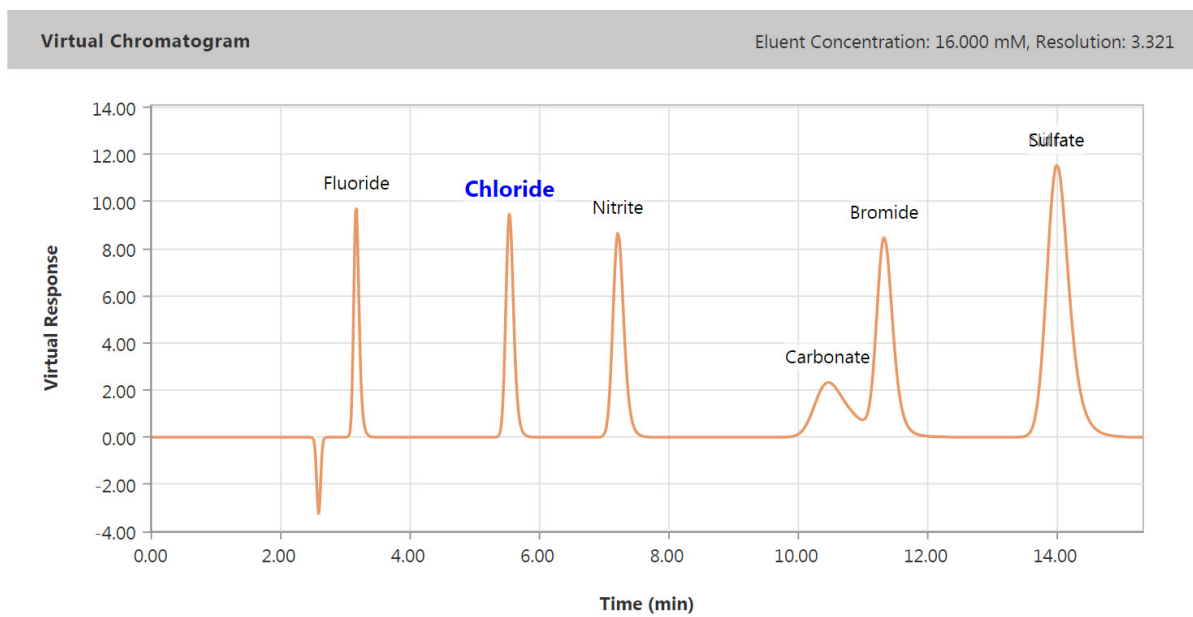


图 11：所选分析物

可以看到当选择该选项时，碳酸根/溴色峰对和硝酸根/硫酸根色峰对未能分离。

9 分离度响应面

9.1 一般功能

9.1.1 总览

Resolution Response Surface (分离度响应面) 可用于等度和梯度分离。其最多由两个动态图构成，显示了在每个可能的淋洗液条件下找到的最小分离度值。根据选择的分离度标准（请参阅第 8 节）、选择的是等度分离还是梯度分离、以及淋洗液是一元淋洗液还是二元淋洗液的不同，这类图的具体特征可能有所变化。

9.1.2 最佳分离度

无论选择何种分离度标准（请参阅第 8 节），在线虚拟柱都将针对相应设置自动计算 **Best Resolution (最佳分离度)**，并使用相应标记将此最佳分离度标示在 **Resolution Response Surface (分离度响应面)** 图上。

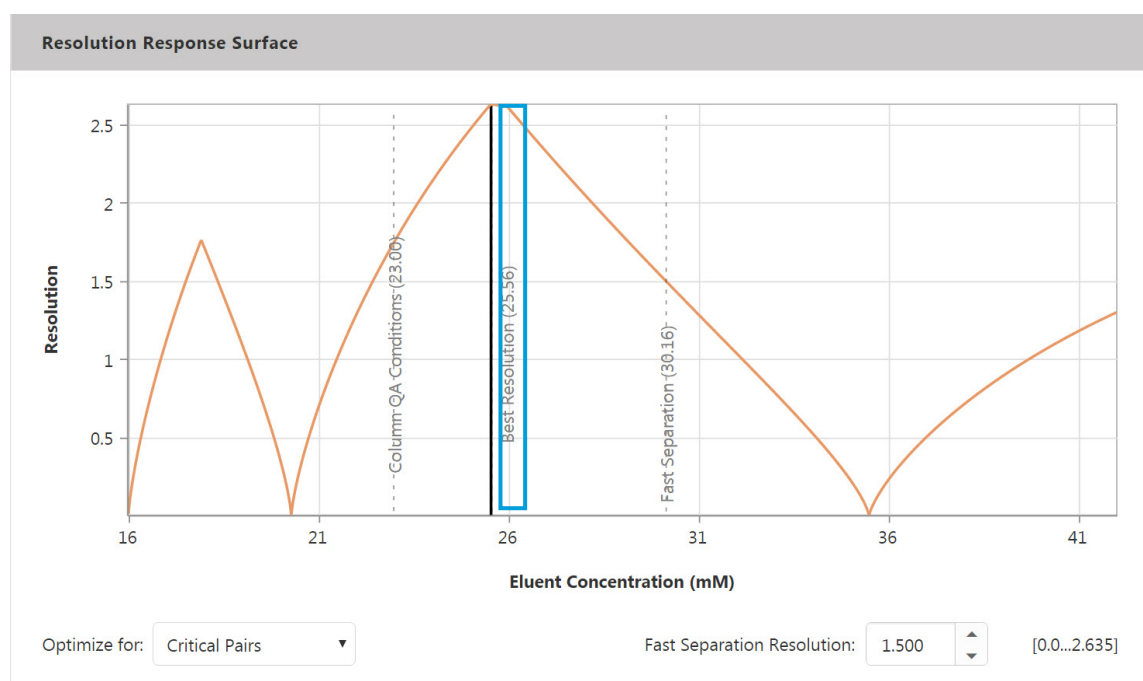


图 12：等度分离（最佳分离度）

最佳分离度标记指示了无论分离速度如何均可提供最佳分离度的淋洗液条件。以上示例显示了当选择 AS18 色谱柱用于等度分离时得到的结果。

9.1.3 快速分离分离度

在线虚拟柱还会自动计算 **Fast Separation Resolution**（快速分离分离度），并使用垂直虚线以及相应标记将其标示在 **Resolution Response Surface**（分离度响应面）图上。

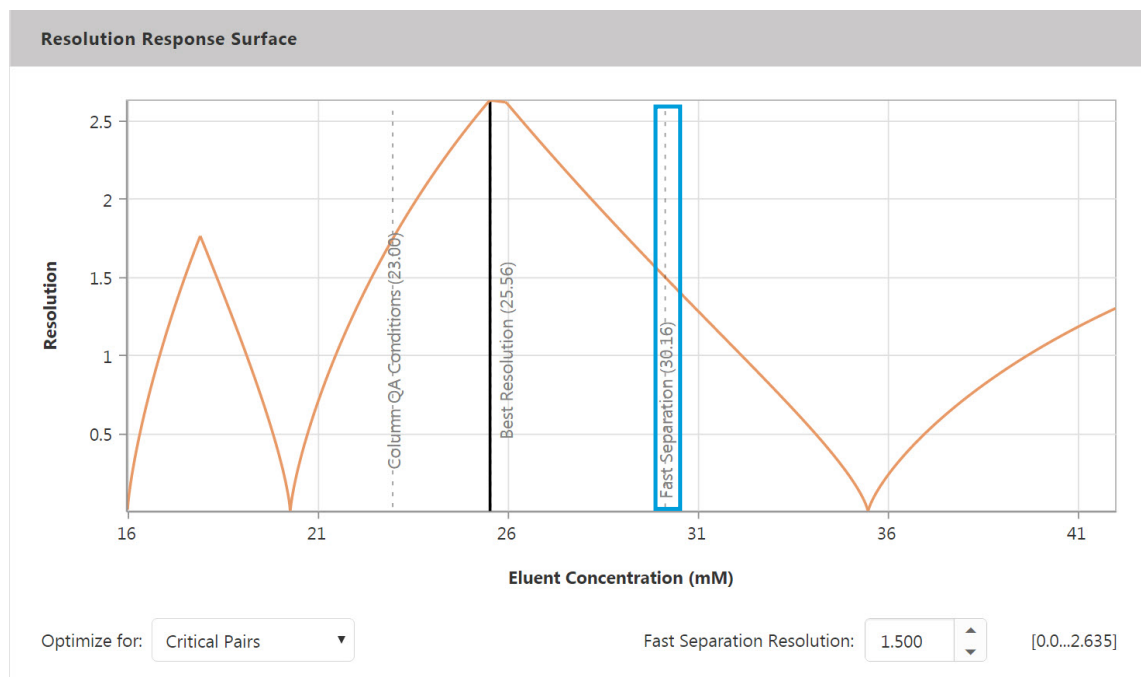


图 13：等度分离（最快分离）

Fast Separation Resolution（快速分离分离度）针对分离速度而非峰分离度进行了优化。换句话说讲，在线虚拟柱将计算可以最低可接受分离度提供最快分离的淋洗液条件。

在图 13 的示例中，使用 **Critical Pairs**（临界离子对）标准计算分离度，且最低可接受分离度为 1.5。要更改最低可接受分离度，请在 **Fast Separation Resolution**（快速分离分离度）字段中输入一个新值。

9.1.4 色谱柱 QA 条件

当选择等度建模时，在线虚拟柱将基于淋洗液组成（在所选 Thermo Scientific 色谱柱的生产控制测试期间指定）自动计算相关色谱柱 QA 条件。这些条件将使用垂直虚线以及相应标记标示在 **Resolution Response Surface**（分离度响应面）图上。

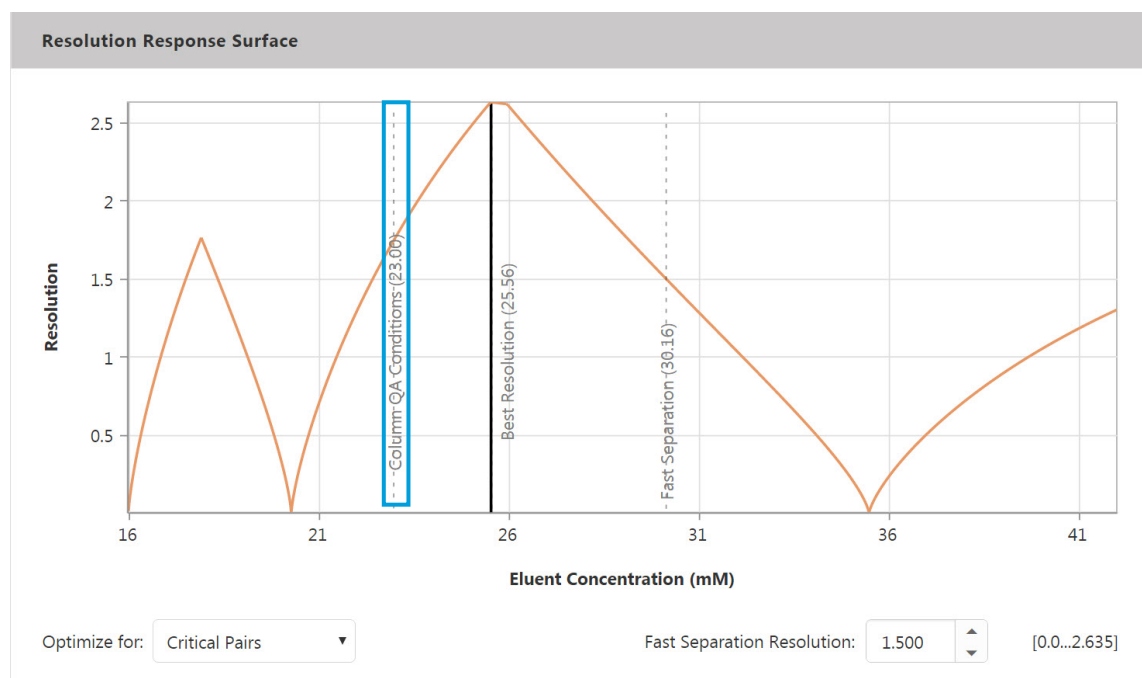


图 14：等度分离（色谱柱 QA 条件）

Column QA Conditions（色谱柱 QA 条件） 表示基于当前的分析物、色谱柱、死时间、温度和分离度标准的最佳淋洗液浓度。

备注： 色谱柱 QA 条件对分析物的选择没有任何影响。换句话说，即使相关色谱柱 QA 条件包含用户未选择的分析物，这些分析物也不会被添加到 **Virtual Chromatogram（虚拟色谱图）** 中。

有关产品控制测试的详细信息，请参阅相关色谱柱手册。

9.2 等度分离

9.2.1 一元淋洗液

当使用一元淋洗液时，将显示一个 **Resolution Response Surface**（分离度响应面）图，其中分离度相对于淋洗液浓度绘制。在以下示例中，选择的分离度标准是 **Critical Pairs**（临界离子对）。

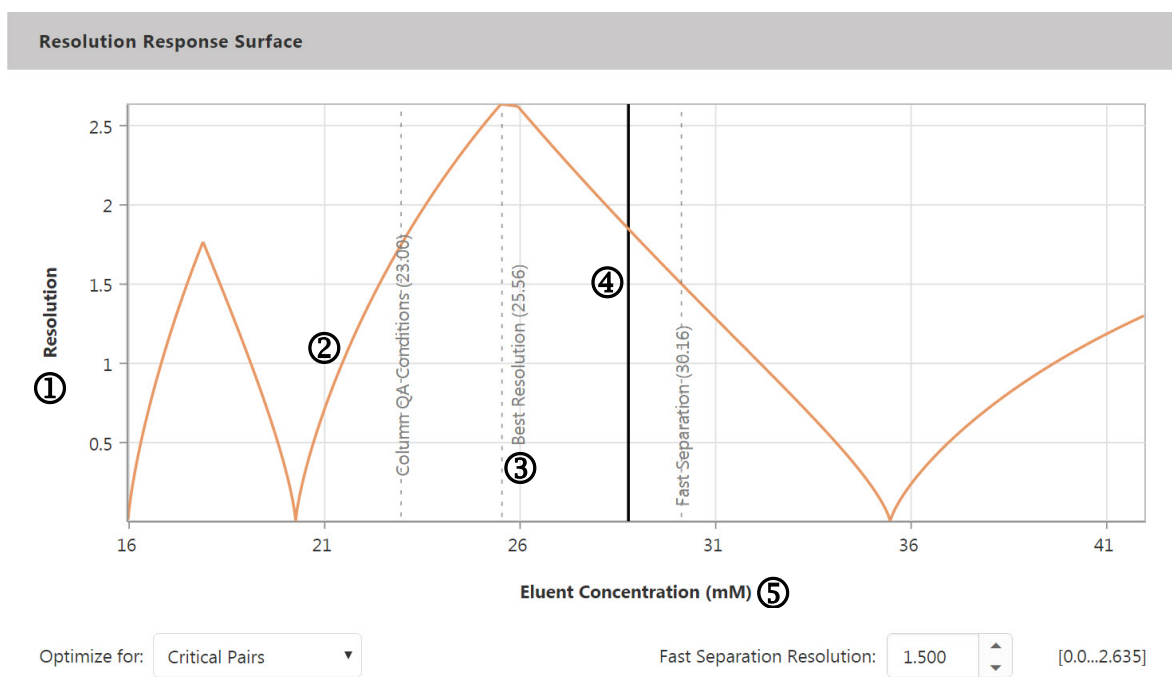


图 15：淋洗液浓度

序号	说明
①	Virtual Chromatogram （虚拟色谱图）中分离度最低的峰对的分离度范围
②	在每个淋洗液浓度下找到的最低分离度值
③	基于当前分析物、色谱柱、死时间、温度和分离度标准选择的最佳淋洗液浓度
④	当前选择的淋洗液浓度（用于进行 Virtual Chromatogram （虚拟色谱图）建模的浓度）
⑤	Resolution Response Surface （分离度响应面）上所用淋洗液的浓度

9.2.2 二元淋洗液

当使用二元淋洗液时，将显示两个 **Resolution Response Surface (分离度响应面)** 图。左侧的图显示了相对于总淋洗液浓度绘制的分离度，而右侧的图显示了相对于淋洗液中碳酸根百分比绘制的分离度。在以下示例中，选择的分离度标准是 **Critical Pairs (临界离子对)**。

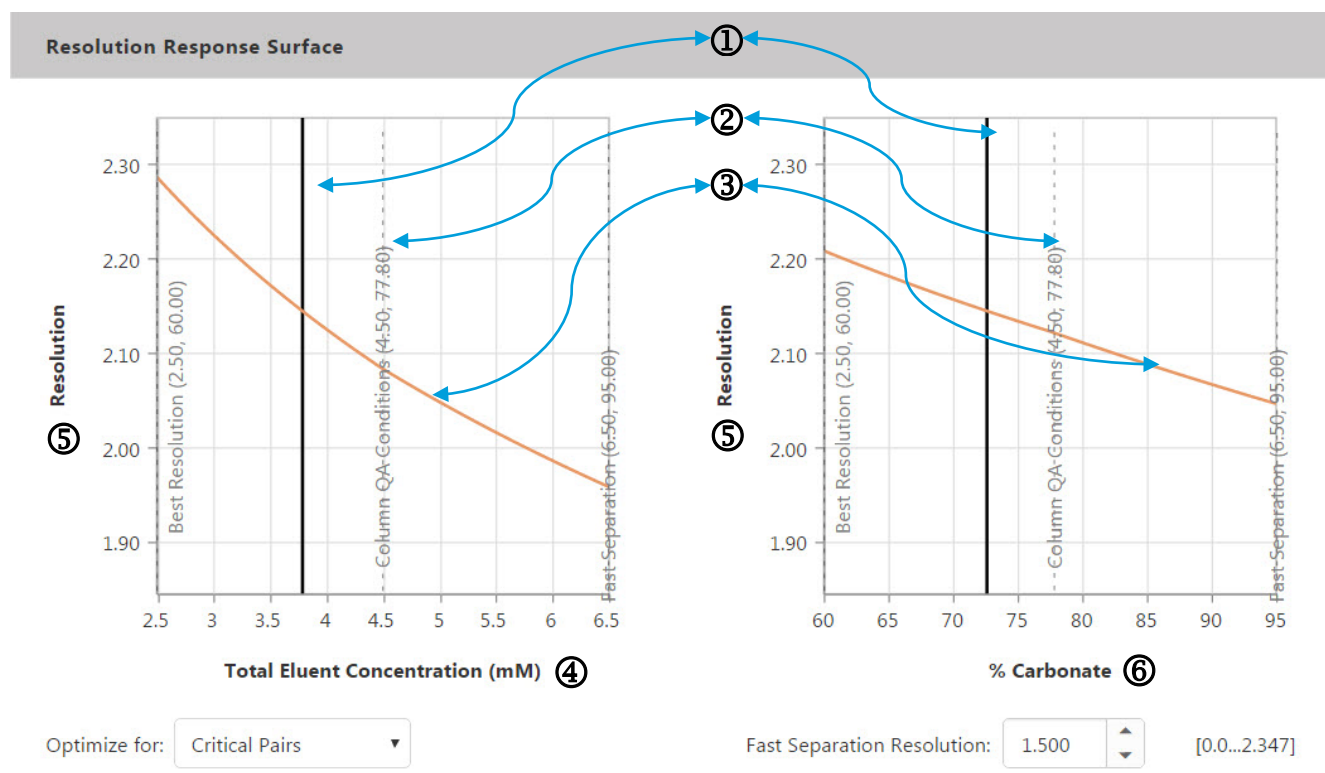


图 16: 二元淋洗液

序号	说明
①	当前选择的淋洗液浓度（用于进行 Virtual Chromatogram (虚拟色谱图) 建模的浓度)
②	基于当前分析物、色谱柱、死时间、温度和分离度标准选择的最佳淋洗液浓度
③	在每个淋洗液浓度下找到的最低分离度值
④	Resolution Response Surface (分离度响应面) 上所用淋洗液的浓度
⑤	Virtual Chromatogram (虚拟色谱图) 中分离度最低的峰对的分离度范围
⑥	淋洗液中的碳酸根百分比

当显示两个 **Resolution Response Surface (分离度响应面)** 图时，在左侧图表中选择 x（总淋洗液浓度）将影响右侧图表（碳酸根%），反之亦然。换句话讲，分离度和虚拟色谱图由两个图表中 x 的选择共同决定。

9.2.3 淋洗液浓度

调节淋洗液浓度

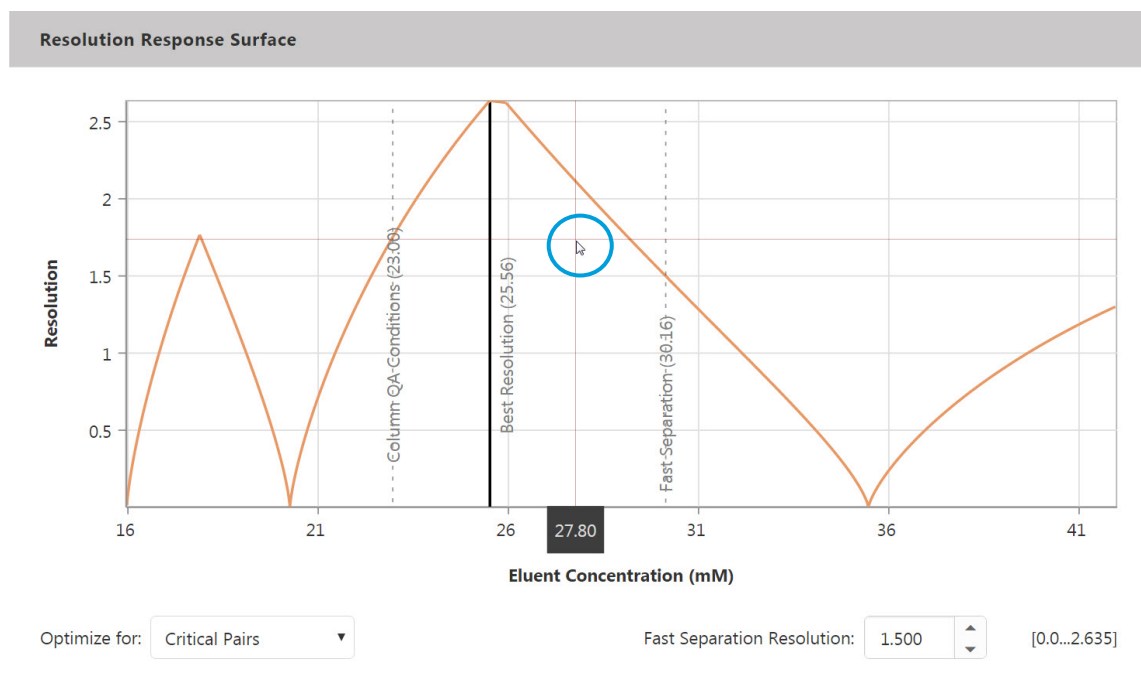


图 17：调节淋洗液浓度

要为等度分离手动选择所需的淋洗液浓度：

- 将鼠标指针移动到 **Resolution Response Surface**（分离度响应面）上方。将显示十字光标，指示鼠标指针在图中的当前位置。
- 单击所需淋洗液浓度处的 **Resolution Response Surface**（分离度响应面）。

指示所选淋洗液浓度的黑色竖线将相应地重新定位，并且 **Virtual Chromatogram**（虚拟色谱图）将随之更新以反映新的浓度。

备注：如果选择梯度方法，则移动该竖线将调整梯度斜率而非淋洗液浓度，请参阅第 9.3 节。

对分离速度的影响

在下面提供的等度分离示例中，如果淋洗液浓度从 25.555 调整至 28.990 mM，则 **Virtual Chromatogram**（虚拟色谱图）的运行时间将从 10.67 缩短至 9.75 分钟。

示例 A

示例 B

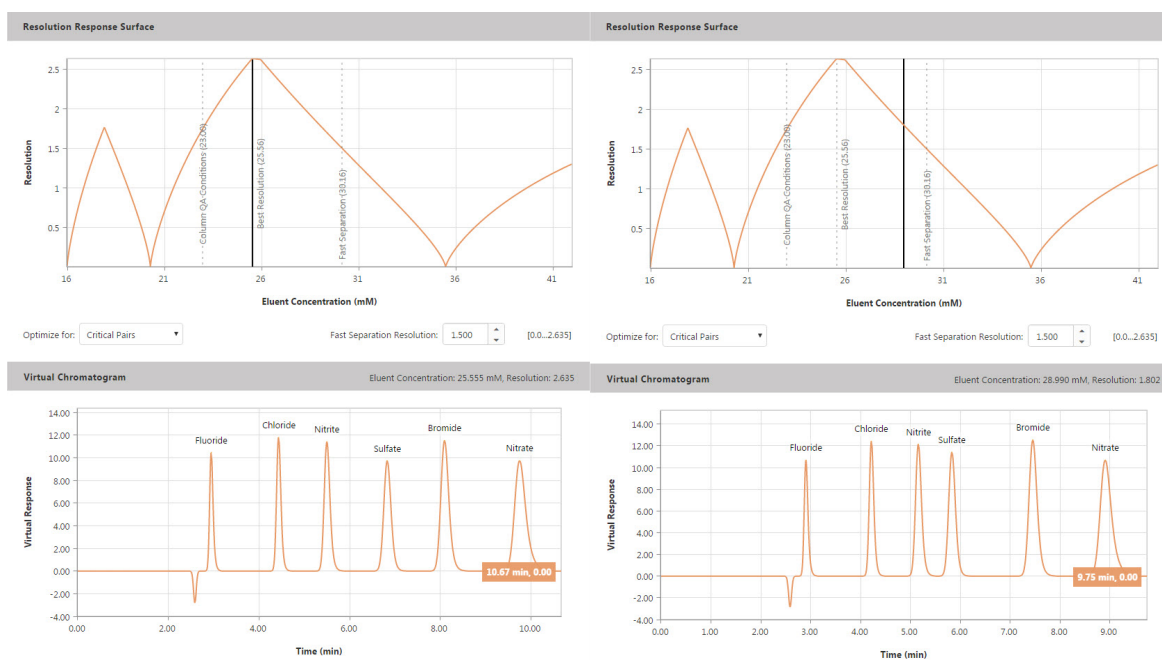


图 18：分离度响应面（分离速度对比）

9.3 梯度分离

9.3.1 总览

在线虚拟柱提供的梯度预测基于在相当于零延迟时间的条件下采集的梯度数据。因此，流动相的组成保持恒定，直至样品进入色谱柱为止，因此可以在梯度斜率开始之前消除样品等度洗脱产生的任何影响。

9.3.2 分离度响应面

当选择梯度分离时，将显示一个 **Resolution Response Surface**（分离度响应面）图，其中分离度相对于梯度斜率绘制。在以下示例中，选择的分离度标准是 **Critical Pairs**（临界离子对）。

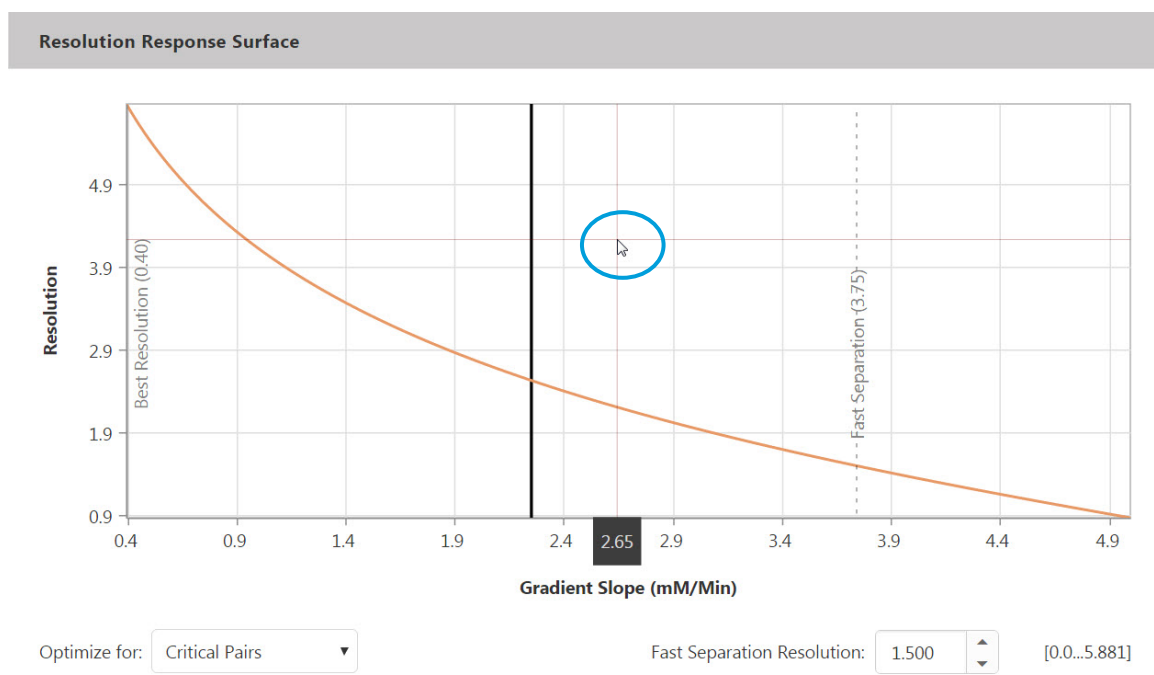


图 19：梯度分离（临界离子对）

要手动调整梯度分离的梯度斜率：

- 将鼠标指针移动到 **Resolution Response Surface**（分离度响应面）上方。将显示十字光标，指示鼠标指针在图中的当前位置。
- 单击所需梯度值处的 **Resolution Response Surface**（分离度响应面）。指示所选梯度值的黑色竖线将相应地定位，并且 **Virtual Chromatogram**（虚拟色谱图）将随之更新以反映新的梯度斜率。

备注：如果选择等度方法，则移动该竖线将调整淋洗液浓度而非梯度斜率，请参阅第 9.2.3 节。

备注：如果尝试在实际操作条件下重现在线虚拟柱中获得的梯度分离结果，请记住实际结果可能包括在线虚拟柱中未考虑的延迟时间。这只有在将高起始浓度与低梯度斜率结合使用时才有可能相关的。在这种情况下，运行时间短的单价物质可能会表现出与其他物质相当的保留时间漂移。

10 虚拟色谱图

10.1 总览

Virtual Chromatogram (虚拟色谱图) 使用当前选择的分析物、色谱柱、死时间、温度、分离度标准和淋洗液条件模拟实际分析。一旦改变所选分析物或其他参数，便会更新 **Virtual Chromatogram (虚拟色谱图)**。在以下示例中，选择了 **Critical Pairs (临界离子对)** 分离度标准 (请参阅第 8 节)。

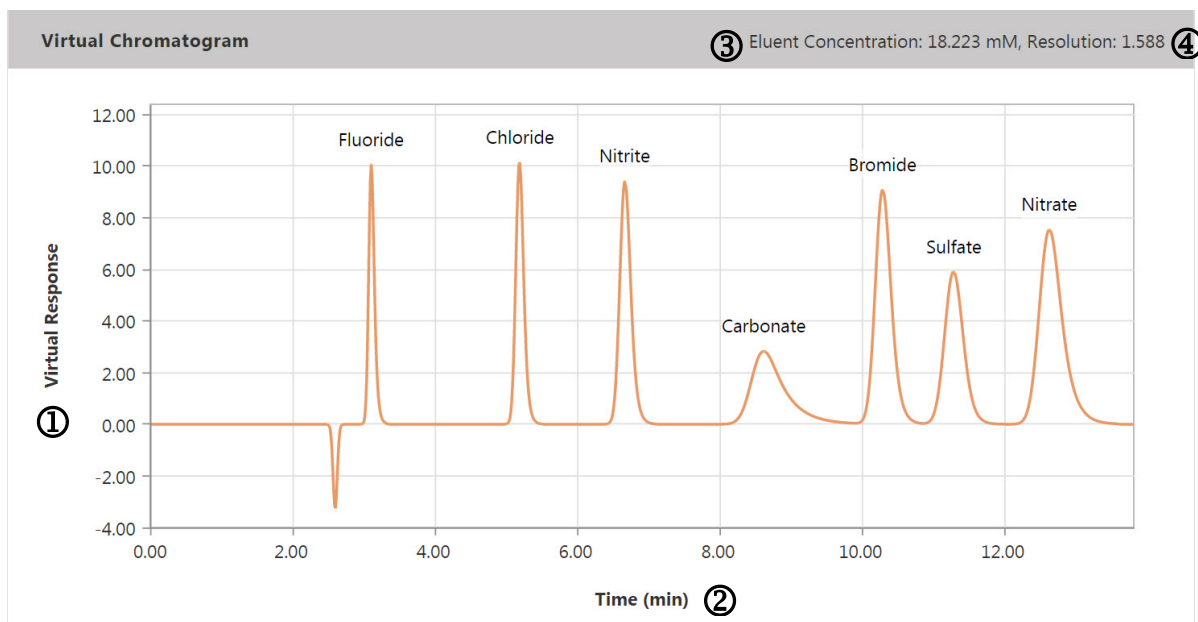


图 20: 虚拟色谱图 (临界离子对)

序号	说明
①	当前 Virtual Chromatogram (虚拟色谱图) 中的响应值范围
②	当前 Virtual Chromatogram (虚拟色谱图) 的保留时间范围
③	当前所选淋洗液的浓度
④	当前 Virtual Chromatogram (虚拟色谱图) 中分离度最低的峰对的分离度

10.2 缩放/撤消缩放



图 21：虚拟色谱图（缩放）

- 要放大 **Virtual Chromatogram（虚拟色谱图）** 中的某一区域，请使用鼠标指针围绕目标区域形成方框，从而选中该区域。

备注：也可以通过在图区域中移动鼠标指针并使用鼠标滚轮来进行缩放。

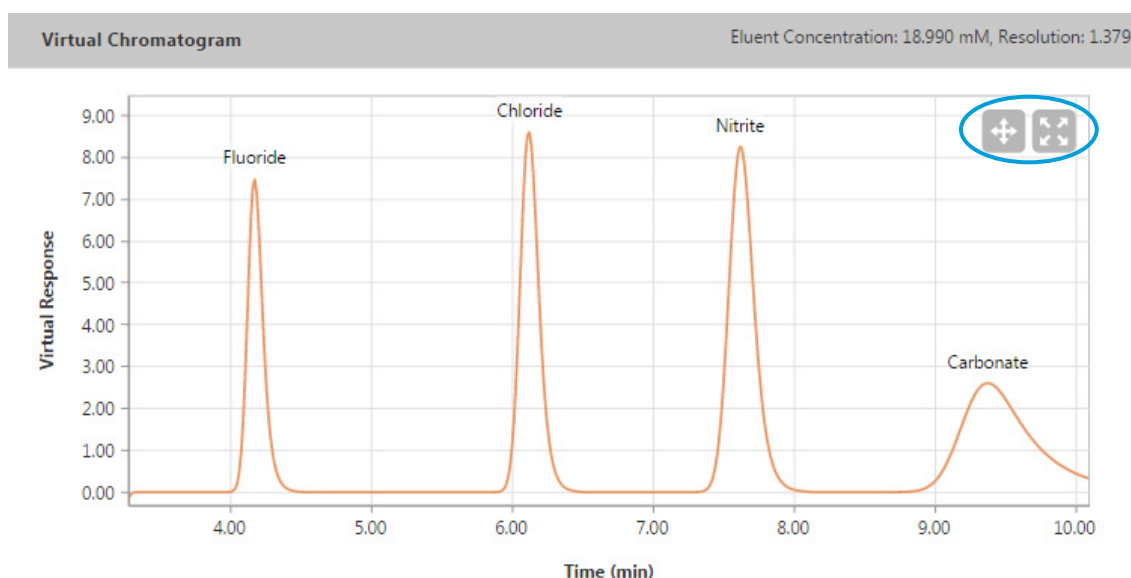



图 22：虚拟色谱图（平移和重置图标）

- 要在目标区域上平移，请单击当前显示的 （**Pan（平移）**）按钮并使用鼠标指针拖动 **Virtual Chromatogram（虚拟色谱图）**，直至显示相关区域。
- 要再次显示完整的 **Virtual Chromatogram（虚拟色谱图）**，请单击 （**Reset（重置）**）按钮。

10.3 梯度曲线

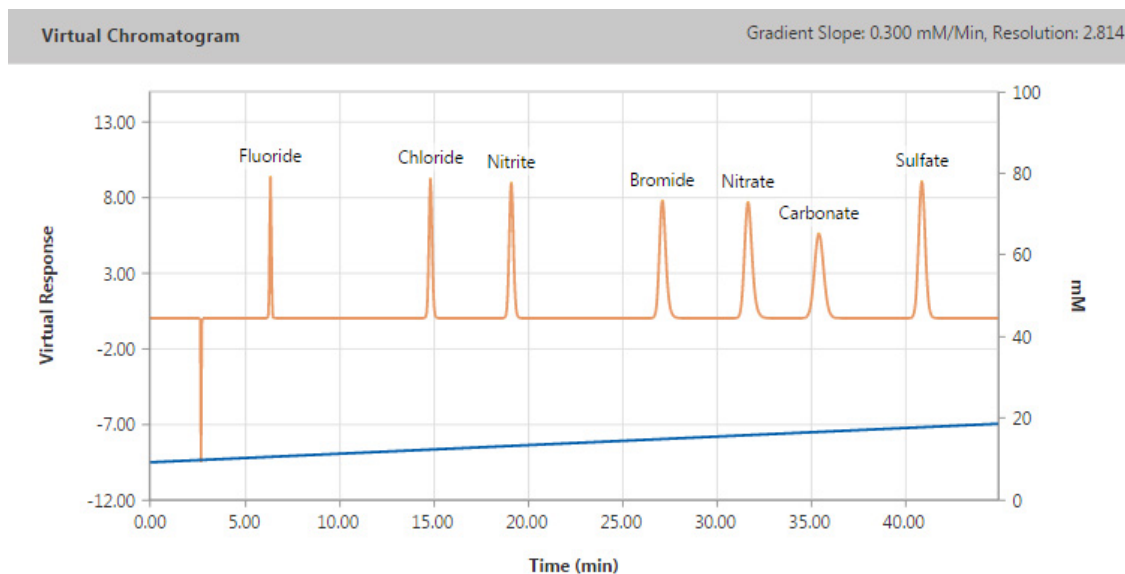


图 23：梯度曲线

当选择梯度建模时，梯度曲线（以蓝色显示）将自动叠加到 **Virtual Chromatogram**（虚拟色谱图）中的峰（以红色显示）上方。

11 应用程序图标

屏幕左上方提供有应用程序图标，这些图标可提供额外的功能。

11.1 全部重置

您随时可以使用 **Reset All**（全部重置）图标重置所作选择。



图 24：全部重置图标

11.2 淋洗液制备

当选择等度建模时，在线虚拟柱可以提供详细说明，以便制备符合当前选定条件的淋洗液。

1. 单击 **Eluent Preparation**（淋洗液制备）图标。



图 25：淋洗液制备图标

2. 在 **Eluent Preparation**（淋洗液制备）页面中，单击所选 **Eluent Species**（淋洗液种类）以显示相应的淋洗液浓度以及每种情况下的最佳分离度。还可提供额外的信息。
3. 单击 **Print**（打印），打印 **Eluent Preparation**（淋洗液制备）页面的内容。
4. 单击 **Close**（关闭）退出该页面。

11.3 打印 PDF

使用 **Print PDF**（打印 PDF）图标，可以生成导出的 PDF，其中包含模拟分析的详细信息。



图 26: 打印图标

这些详细信息包括：

- 分析物和分析物选择设置
- 方法参数
- 分析结果
- 分离度响应面
- 虚拟色谱图

索引

- AppsLab Library, 3, 4
- 保留时间, 3, 6, 7, 8, 10, 12, 21
- 保留因子, 10
- 不对称度, 7, 10
- 打印
 - PDF, 25
- 登录, 3, 4
- 等度分离, 3, 8, 11, 14, 16, 17, 20, 21, 24
- 方法, 7, 8, 9
- 分离度, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22, 24
- 分离度响应面, 8, 9, 10, 11, 14, 16, 18, 19, 21
- 分离度响应面, 15
- 分离度响应面, 17
- 分析物, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 13, 16, 22
- 分析物表, 7, 10
- 峰面积, 6, 7, 10
- 负峰, 7
- 结果, 9, 10, 11
- 进样量, 6
- 快速分离分离度, 15
- 临界离子对, 10, 11, 12, 15, 17, 18, 21, 22
- 淋洗液, 3, 6, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22, 24
 - 二元, 18
 - 一元, 17
 - 制备, 24
- 流动相, 20
- 流速, 9, 10
- 浓度, 6, 7, 9, 10, 17, 19, 21, 24
- 平移, 23
- 全部重置, 5, 24
- 容量因子, 10
- 色谱峰, 6, 7, 10, 11, 12, 13, 15
- 色谱柱, 3, 7, 8, 9, 10, 14, 16, 20, 22
 - QA 条件, 11, 16
 - 标准内径, 8
 - 毛细管, 8
 - 内径, 8
 - 微径, 8
- 死时间, 9, 10, 22
- 死体积, 9, 10
- 缩放, 23
- 所选分析物, 11, 13
- 所有分析物, 11, 12, 13
- 糖, 6, 8
- 梯度, 19, 21
- 梯度分离, 3, 8, 9, 19, 20, 24
- 温度, 3, 9, 10, 22
- 响应因子, 6
- 响应自, 6, 7, 10
- 斜率, 19, 21
- 虚拟色谱图, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 16, 19, 20, 21, 22, 23, 24
- 阳离子, 6, 8
- 阴离子, 6, 8
- 优化, 6, 11
- 柱效, 7, 10
- 最佳分离度, 14

www.thermoscientific.com

© 2015-2016 Thermo Fisher Scientific Inc. 保留所有权利。

Thermo Fisher Scientific Inc.
168 Third Avenue
Waltham, MA 02451
USA

ThermoFisher
SCIENTIFIC