

使用 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 色谱柱分析水溶性维生素

作者

Anne Mack

安捷伦科技公司

摘要

使用 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 色谱柱实现在 4 分钟内对 8 种水溶性维生素的基线分离。色谱柱规格为 2.1×100 mm, $2.7 \mu\text{m}$ 表面多孔颗粒填料。在 Agilent 1290 Infinity 液相色谱仪上使用乙酸铵和乙腈梯度程序完成分离。

前言

表面多孔颗粒填料液相色谱柱是液相色谱领域常用的工具。与对应的全多孔颗粒色谱柱相比，这种色谱柱能够在较低压力下获得较高柱效¹。这主要是由于该色谱柱的传质距离更短并且填料颗粒的粒径分布明显更窄。更高的柱效能够加快分析速度并改善分析结果，分离度和灵敏度均有明显提高。

迄今为止，表面多孔颗粒填料主要用于反相分离。随着表面多孔颗粒填料的成熟，该项技术越来越多地运用于化学键合相和色谱技术应用中，例如亲水相互作用液相色谱 (HILIC)。HILIC 非常适合极性分析物的分析，这种分析物通常很难在反相模式下实现保留和分离。本应用简报证明了 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5, 2.7 μm 色谱柱的 UHPLC 性能及其对 8 种水溶性维生素的基线分离能力。图 1 列出这些化合物。

实验部分

本研究采用低扩散配置的 Agilent 1290 Infinity 液相色谱仪。表 1 列出具体信息。表 2 列出所用的色谱方法信息。将所有化合物的标准品单独进样，浓度及所采用样品溶剂列于表 3。

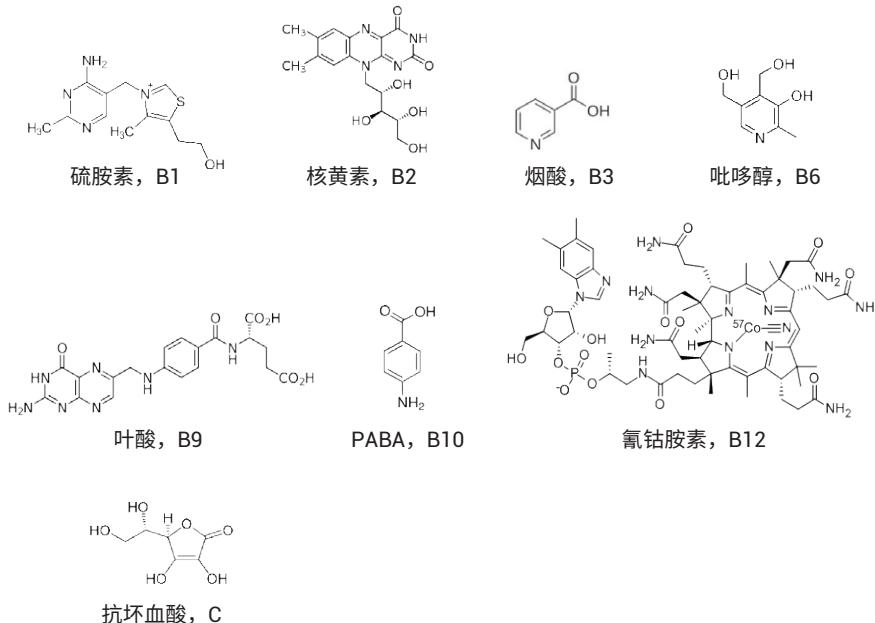


图 1. 水溶性维生素

表 1. Agilent 1290 Infinity 液相色谱系统配置

参数	值
Agilent 1290 Infinity 二元泵 (G4220A)	35 μL 溶剂混合器: Agilent Jet Weaver, 35 $\mu\text{L}/100 \mu\text{L}$ (G4220-60006)
Agilent 1290 Infinity 自动进样器 G4226A	<ul style="list-style-type: none">针座组件，超低扩散，用于 Agilent 1290 Infinity 自动进样器 G4226A (G4226-87030)自动进样器与加热器：不锈钢毛细管，0.075 \times 220 mm, SV/SLV (5067-4784)样品瓶，螺口盖，棕色，带书画签，经认证，2 mL, 100/包 (5182-0716)瓶盖，螺口，蓝色，PTFE/红色硅橡胶隔垫，100/包 (5182-0717)样品瓶内插管，250 μL, 玻璃，带聚合物支架，100/包 (5181-1270)
Agilent 1290 Infinity 柱温箱 G1316C	<ul style="list-style-type: none">双热交换器，低扩散，1.6 μL (G1316-60005)加热器与色谱柱：Agilent InfinityLab Quick Connect 快速连接组件，105 mm, 0.075 mm (5067-5961)色谱柱与流通池：不锈钢毛细管，0.075 \times 220 mm, SV/SLV (5067-4784)
Agilent 1290 Infinity 二极管阵列检测器 (G4212A)	安捷伦超低扩散最大光强卡套式流通池，10 mm (G4212-60038)
Agilent OpenLAB CDS ChemStation 版本 C.01.05 [35]	<ul style="list-style-type: none">G4220A: B.06.53 [0013]G4226A: A.06.50 [003]G1316C: A.06.53 [002]G4212A: B.06.53 [0013]
安捷伦液相色谱柱	Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5, 2.1 \times 100 mm, 2.7 μm (685775-601)

表 2. 液相色谱方法参数

色谱柱	流动相	流速 (mL/min)	流动相组成	进样量 (μL)	柱温箱 (°C)	二极管阵列检测器
Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5, 2.1 \times 100 mm, 2.7 μm	A) 100 mM 乙酸铵 + 0.5% 乙酸 B) 乙腈	0.5	87% B 保持 0.5 min, 在 3.5 min 内由 87% 降至 50%，再重新平衡 3 min	1.0 如需了解样品信息，请参见表 2	40	260 nm, 80 Hz

本研究中分析的 8 种维生素的单独粉末均购自 Sigma-Aldrich。甲酸铵及乙酸购自 Sigma-Aldrich。乙腈购自 Honeywell (Burdick and Jackson)。水经 Milli-Q 系统 (Millipore) 0.2 μm 滤膜过滤，分子量为 18。

结果与讨论

8 种维生素化合物在 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 色谱柱上实现了基线分离，如图 2 中色谱图所示。分离在 4 分钟内完成，最小分离度在维生素 B2 和 B10 的关键化合物对之间，为 2.7。

采用 2.7 μm InfinityLab Poroshell 120 填料的其他安捷伦 HILIC 固定相包括 HILIC-Z 和 HILIC。这几种固定相也可用于分离这些维生素化合物，而分离性能不如 InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 优异，如图 3 所示。Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 色谱柱为所有 8 种化合物提供了良好的峰形，但在这些方法条件下无法分离维生素 B1 和 B3。Poroshell 120 HILIC 色谱柱的选择性完全不同，但对维生素 B9 和 C 的峰形并不理想。

表 3. 样品前处理

水溶性维生素 (B 和 C)	浓度 (mg/mL)	样品溶剂
硫胺素 (B1)	0.4	CH ₃ CN/H ₂ O (9:1)
核黄素 (B2)	0.1	CH ₃ CN/DMSO (9:1)
烟酸 (B3)	0.4	CH ₃ CN/H ₂ O (9:1)
吡哆醇 (B6)	0.4	CH ₃ CN/H ₂ O (9:1)
叶酸 (B9)	0.4	CH ₃ CN/DMSO (9:1)
4-氨基苯甲酸/PABA (B10)	0.2	CH ₃ CN/H ₂ O (95:5)
氰钴胺素 (B12)	0.4	H ₂ O
抗坏血酸 (C)	0.2	CH ₃ CN/H ₂ O (9:1)

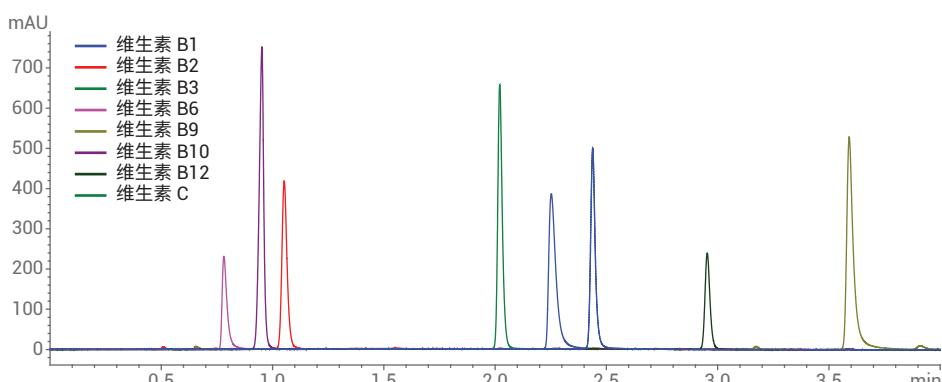


图 2. 水溶性维生素在 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 色谱柱上的分离

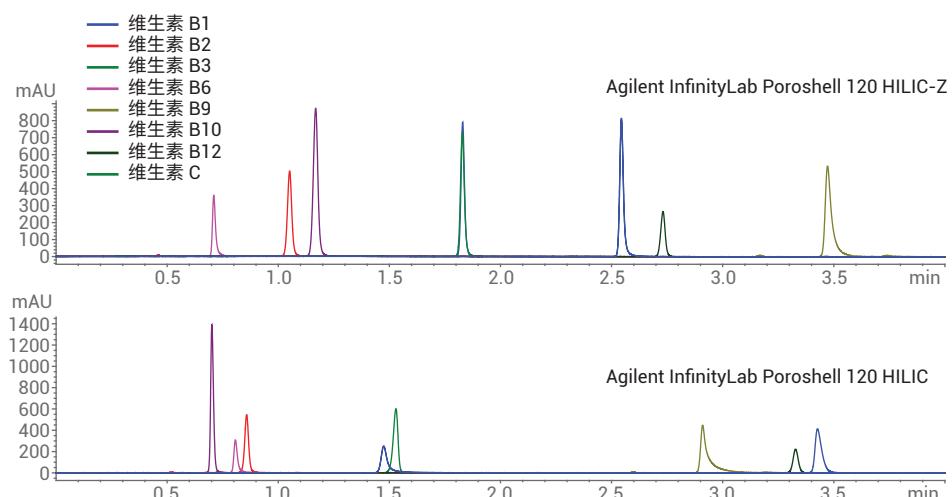


图 3. 水溶性维生素在其他 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC 固定相上的分离

结论

Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 色谱柱非常适合分离水溶性维生素。这款色谱柱为所有化合物均实现良好的分离度和峰形。实验还评估了其他 HILIC 化学键合相在这一分离中的性能。但结果显示其他固定相的分离度不够，需要进一步方法开发来获得适用于分析的最佳条件。

参考文献

1. Gratzfield-Hugsen, A.; Naegele, E. 使
用 Agilent InfinityLab Poroshell 120
色谱柱最大程度提高柱效, 安捷伦
科技公司应用简报, 出版号 5990-
5602CHCN, **2016**

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。