

Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 컬럼을 이용한 유기산 분석

저자

Anne Mack
Agilent Technologies, Inc.

개요

Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 컬럼을 이용한 10개 유기산의 베이스라인 분리가 4분간 진행되었습니다. 컬럼은 $2.1 \times 100\text{mm}$ 이며 $2.7\mu\text{m}$ 표면 다공성 입자로 채워집니다. Agilent 1290 Infinity LC에서의 분리를 위해 인산염 완충용액 및 아세트ونی트릴 이동상을 이용한 등용매 용리가 적용되었습니다.

소개

표면 다공성 입자의 LC 컬럼은 액체 크로마토그래피에서 인기 있는 도구입니다. 이러한 컬럼은 전체 다공성 입자 컬럼과 비교해 더 낮은 압력에서 높은 효율성을 창출합니다. 이는 주로 질량 이동(mass transfer) 거리가 더 짧고 컬럼 내 입자 크기 분포가 더 조밀하기 때문입니다. 효율성이 높아지면 분리능 및 감도가 개선되어 시간을 단축하거나 결과를 향상시킬 수 있습니다.

지금껏 표면 다공성 입자는 주로 역상 분리에서 적용되었습니다. 표면 다공성 입자 기술의 발전과 함께, chemistry 및 크로마토그래피 기술에서의 응용 분야가 넓어져 친수성 상호작용 액체 크로마토그래피(HILIC)의 응용도 가능해지게 되었습니다. HILIC는 역상 모드 분리에서 머무름 및 분리가 어려운 극성 분석물질에 적합합니다. 이 응용 자료는 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z(2.7µm 컬럼)를 이용한 UHPLC 성능과, 이 기법으로 10개의 유기산을 베이스라인할 수 있는 성능에 대해 소개합니다. 그림 1에 이들 화합물이 나타나 있습니다.

실험

이 작업을 위해 Agilent 1290 Infinity LC 는 저분산으로 설정되었습니다. 표 1에 상세한 내용이 나와 있습니다. 표 2는 사용된 크로마토그래피 분석법을 나타냅니다. 모든 화합물을 개별 표준물질로 주입되었으며, 표 3에 농도 및 시료 용매가 기재되어 있습니다.

10개의 유기산은 Sigma-Aldrich에서 구입하였습니다. 인산 나트륨과 인산 역시 Sigma-Aldrich에서 구입하였습니다. 아세토니트릴은 Honeywell(Burdick and Jackson)에서 구입했으며, 물은 Milli-Q 시스템(Millipore)(18MW)에서 0.2µm 필터링 막으로 필터링되었습니다.

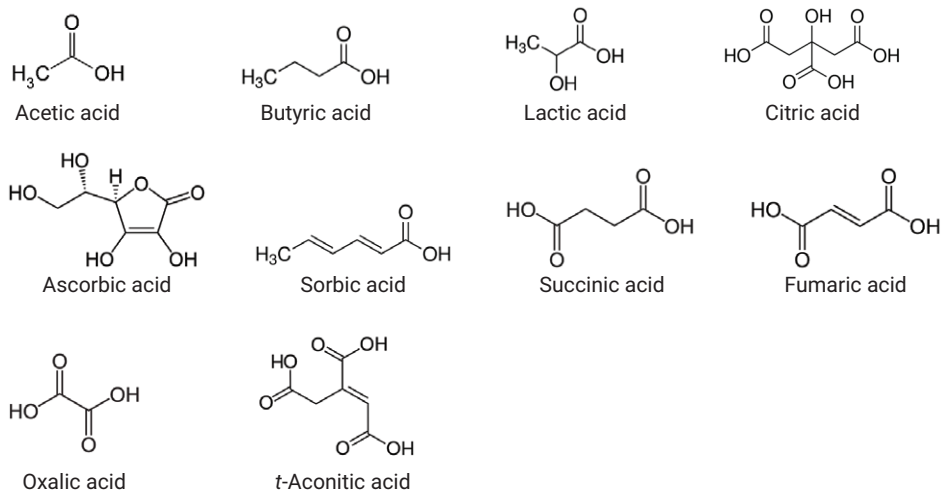


그림 1. 대상 화합물

표 1. LC 시스템 설정

Agilent 1290 Infinity LC 설정	
Agilent G4220A binary pump	35 µL solvent mixer: Jet Weaver, 35 µL/100 µL (G4220-60006)
Agilent G4226A high performance autosampler	<ul style="list-style-type: none"> Seat assembly, ultralow dispersion, for Agilent 1290 Infinity autosampler G4226A (G4226-87030) Autosampler → Heater: Capillary, stainless steel, 0.075 × 220 mm, SV/SLV (5067-4784) Vial, screw top, amber with write-on spot, certified, 2 mL, 100/pk (5182-0716) Cap, screw, blue, PTFE/red silicone septa, 100/pk (5182-0717) Vial insert, 250 µL, glass with polymer feet, 100/pk (5181-1270)
Agilent G1316C thermostated column compartment	<ul style="list-style-type: none"> Heat exchanger, low dispersion, 1.6 µL, double (G1316-60005) Heater → Column: InfinityLab Quick Connect assembly, 105 mm, 0.075 mm (5067-5961) Column → Flow Cell: Capillary, stainless steel, 0.075 × 220 mm, SV/SLV (5067-4784)
Agilent G4212A diode array detector	Ultralow dispersion Max-Light Cartridge flow cell, 10 mm (G4212-60038)
Agilent OpenLAB CDS ChemStation Edition Revision C.01.05 [35]	G4220A: B.06.53 [0013] G4226A: A.06.50 [003] G1316C: A.06.53 [002] G4212A: B.06.53 [0013]
Agilent LC column	Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z, 2.1 × 100 mm, 2.7 µm (685775-924)

표 2. LC 분석법 파라미터

이동상	유속 (mL/분)	이동상 조성	주입 부피(µL)	항온 컬럼 장치(°C)	다이오드 어레이 검출기
A) 30 mM Sodium phosphate + 0.075 % phosphoric acid (pH ~6.7)	0.5	Isocratic elution	0.1	30	214 nm, 80 Hz
B) Acetonitrile		Premix mobile phase: 700 mL B + 300 mL A	시료 정보는 표 3을 참고하십시오.		

중요 사항: 인산염은 아세트니트릴이 많이 포함된 용액에서 낮은 용해도를 가지며, 인산 수용액 완충액이 아세트니트릴과 혼합되면 침전 현상이 나타날 수 있습니다. 그러므로 인산의 사용은 보통 HILIC 분석에 권장하지 않습니다. 그러나 포름산염과 아세트산염은 상당한 수준의 베이스라인 잡음을 생성하는 관계로 유기산을 낮은 파장에서 다이오드 어레이 검출기로 적절히 검출하려면 인산이 필요합니다. LC 시스템에서 염이 침전되는 현상을 막기 위해 표 2에 설명된 대로 이동상을 사전 혼합하는 것을 강력히 권장합니다. 사전 혼합된 이동상은 염 침전 여부를 주기적으로 검사 및 모니터링해야 합니다. 이동상 준비 시 이 응용 자료에 명시된 것보다 더 많은 양의 염 또는 아세트니트릴을 사용하는 것은 염 침전으로 이어집니다. 만약 보다 다양한 이동상이 필요하다면, 다른 검출기(MSD, ELSD, RID)를 포름산염 또는 아세트산염 완충물질과 함께 사용하십시오. 이 완충물질을 이용하는 것은 선택성을 달라지게 만들 수 있으므로, 추가적인 분석법 개발이 필요할 수 있습니다.

표 3. 시료 분리

유기산	농도(mg/mL)	시료 용매
Acetic acid	8.7	CH ₃ CN/H ₂ O (2:1)
Butyric acid	7.9	CH ₃ CN/H ₂ O (2:1)
Lactic acid	6.6	CH ₃ CN/H ₂ O (2:1)
Citric acid	7.5	CH ₃ CN/H ₂ O (2:1)
Ascorbic acid	8.3	CH ₃ CN/H ₂ O (2:1)
Sorbic acid	7.1	CH ₃ CN/H ₂ O (2:1)
Succinic acid	8.2	CH ₃ CN/H ₂ O (2:1)
Fumaric acid	7.4	CH ₃ CN/H ₂ O (8:5)
Oxalic acid	7.9	CH ₃ CN/H ₂ O (2:1)
t-Aconitic acid	7.8	CH ₃ CN/H ₂ O (2:1)

결과 및 토의

그림 2의 크로마토그램에는 10개의 유기산을 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 컬럼을 이용해 베이스라인으로 분리한 결과가 나와 있습니다. 4분만에 모든 화합물에 대한 베이스라인 분리가 완료되었습니다.

InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z는 견고한 하이브리드 입자에 결합된 새로운 양쪽성 이온 고정상을 사용합니다. 이 고정상은 최대 80°C 및 pH 12까지 안정적입니다. 이 고정상은 하전된 화합물에 대해 우수한 피크 모양을 생성했으며, 다양한 수준의 극성을 가진 분석물질을 모두 분리할 수 있었습니다. 위에 언급된 HILIC-Z 고정상의 특징 덕분에 이 제품은 유기산에 대한 까다로운 중간 pH 분리에 적합합니다.

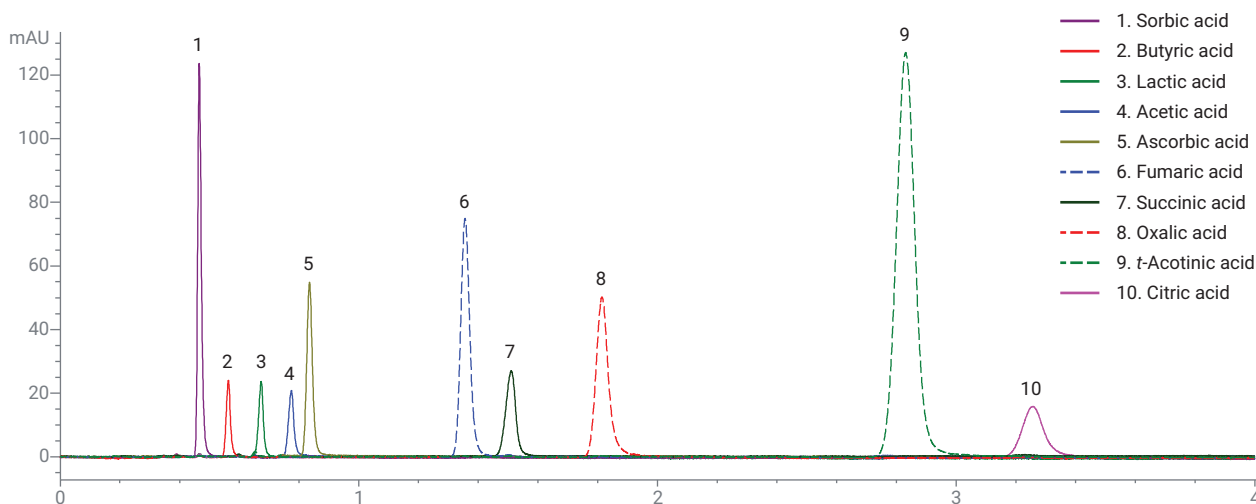


그림 2. Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 컬럼을 이용한 유기산 분리

결론

Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 컬럼은 유기산 분리에 견고한 분석법을 제공합니다. 이 컬럼은 모든 화합물에 대해 우수한 피크 모양 및 분리 성능을 나타냈습니다.

www.agilent.com/chem

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2018
2018년 1월 30일 한국에서 인쇄
5991-8985KO

서울시 용산구 한남대로 98, 일신빌딩 4층 우)04418
한국애질런트테크놀로지스(주) 생명과학/화학분석 사업부
고객지원센터 080-004-5090 www.agilent.co.kr

