

在 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 色谱柱上分析有机酸

作者

Anne Mack
安捷伦科技公司

摘要

Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 色谱柱在 4 分钟内分离出 10 种有机酸。色谱柱规格为 2.1×100 mm, $2.7 \mu\text{m}$ 表面多孔颗粒填料。使用磷酸盐缓冲液和乙腈流动相进行等度洗脱，在 Agilent 1290 Infinity 液相色谱仪上完成分离。

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。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。更高的柱效能够明显提高分离度和灵敏度，加快分析速度并改善分析结果。

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其他色谱技术中，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。本应用简报展示了 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z, 2.7 μm 色谱柱的 UHPLC 性能及其对 10 种有机酸的基线分离能力。图 1 列出了这些化合物。

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 列出具体的信息。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，表 3 列出了浓度和样品溶剂。

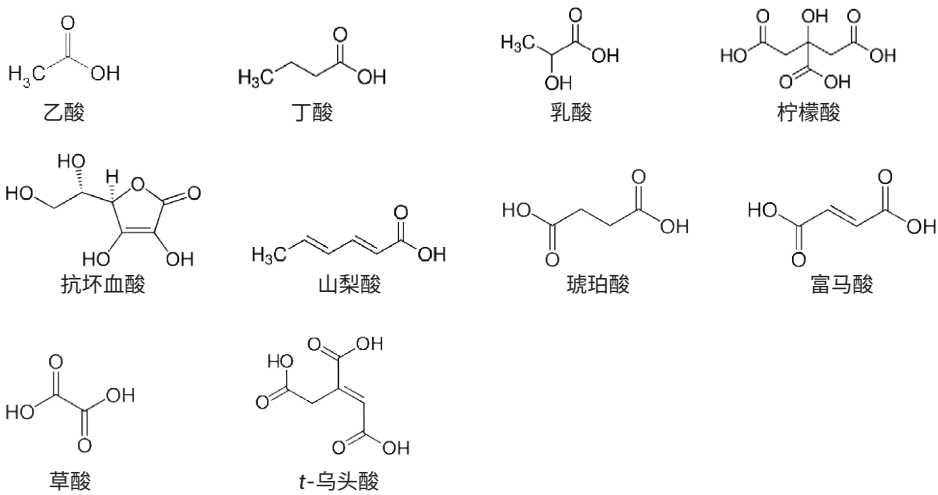


图 1. 目标化合物

表 1. 液相色谱系统配置

Agilent 1290 Infinity 液相色谱配置	
Agilent G4220A 二元泵	35 μL 溶剂混合器：Jet Weaver, 35 μL/100 μL (G4220-60006)
Agilent G4226A 高性能自动进样器	- 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 × 220 mm，SV/SLV (5067-4784) - 样品瓶，螺口盖，棕色，带书写签，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 G1316C 柱温箱	- 双热交换器，低扩散，1.6 μL (G1316-60005) - 加热器与色谱柱：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 × 220 mm，SV/SLV (5067-4784)
Agilent G4212A 二极管阵列检测器	超低扩散最大光强卡套式流通池，10 mm (G4212-60038)
Agilent OpenLAB CDS ChemStation 版修订版 C.01.05 [35]	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-Z, 2.1 × 100 mm, 2.7 μm (685775-924)

表 2. 液相色谱方法参数

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
A) 30 mM 磷酸钠 + 0.075% 磷酸 (pH 6.7 左右)	0.5	等度洗脱	0.1	30	214 nm, 80 Hz
B) 乙腈		预混合物流动相: 700 mL B + 300 mL A	如需了解样品信息，请参见表 3		

所分析的 10 种有机酸购自 Sigma-Aldrich。磷酸钠和磷酸同样来自 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。

重要事项：磷酸盐在乙腈含量高的溶液中溶解度较低，并可能在磷酸盐缓冲液与乙腈混合时发生沉淀。因此，通常不建议将磷酸盐用于 HILIC 分析。然而，为了能用二极管阵列检测器在低波长处对有机酸进行充分检测，磷酸盐必不可少，因为甲酸盐和乙酸盐会产生明显的基线噪音。为防止盐在液相色谱系统中沉淀，强烈建议按表 2 中的详细说明对流动相进行预混合。应检查预混合流动相，并定期监测盐的沉淀情况。配制流动相时，如盐或乙腈的用量超过本应用简报中的规定量，会导致出现盐沉淀。如需流动相选择更灵活，请使用兼容甲酸盐或醋酸盐缓冲液的替代检测器（如 MSD、ELSD 或 RID）。使用这些缓冲液可能会导致选择性发生变化，因此需要额外的方法开发。

表 3. 样品前处理

有机酸	浓度 (mg/mL)	样品溶剂
乙酸	8.7	CH ₃ CN/H ₂ O (2:1)
丁酸	7.9	CH ₃ CN/H ₂ O (2:1)
乳酸	6.6	CH ₃ CN/H ₂ O (2:1)
柠檬酸	7.5	CH ₃ CN/H ₂ O (2:1)
抗坏血酸	8.3	CH ₃ CN/H ₂ O (2:1)
山梨酸	7.1	CH ₃ CN/H ₂ O (2:1)
琥珀酸	8.2	CH ₃ CN/H ₂ O (2:1)
富马酸	7.4	CH ₃ CN/H ₂ O (8:5)
草酸	7.9	CH ₃ CN/H ₂ O (2:1)
t-乌头酸	7.8	CH ₃ CN/H ₂ O (2:1)

结果与讨论

图 2 中的色谱图显示，10 种有机酸在 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 色谱柱上得到了基线分离。分离在 4 分钟内完成，所有化合物均达到了基线分离。

在 InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 键合相中，采用一种新型两性离子固定相与稳定的杂化颗粒发生键合，可在高达 80 °C 和 pH 12 的条件下保持稳定。这种键合相为带电化合物提供了出色的峰形，并能在较大的极性范围内分离分析物。HILIC-Z 键合相的上述特征使其非常适合在具有挑战性的中等 pH 条件下分离有机酸。

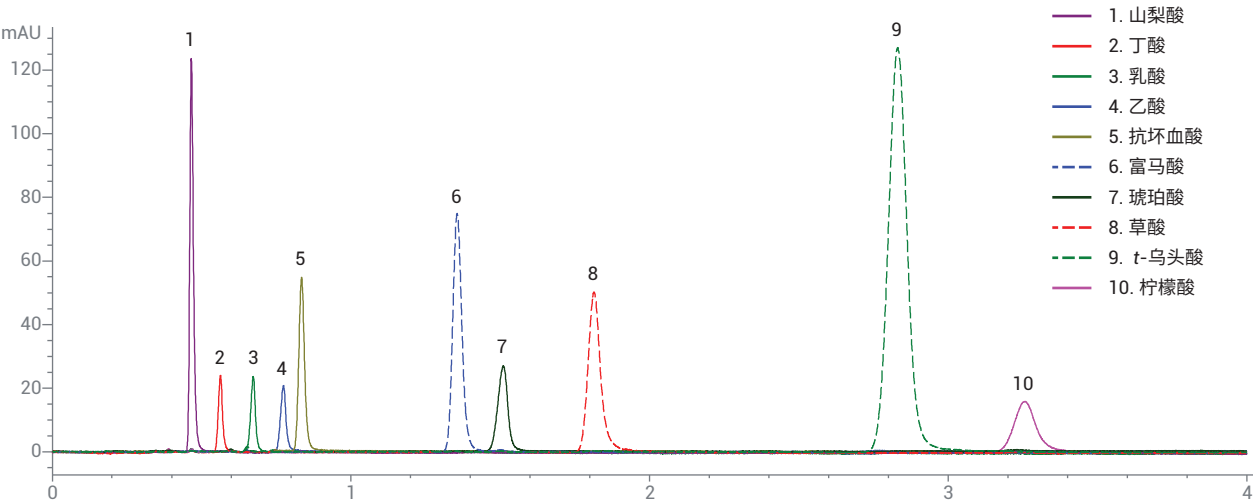


图 2. 有机酸在 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 色谱柱上的分离

结论

Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 色谱柱提供了一种稳定的有机酸分离方法。这款色谱柱为所有化合物均实现良好的分离度和峰形。

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。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2018
2018 年 1 月 30 日，中国出版
5991-8985ZHCN