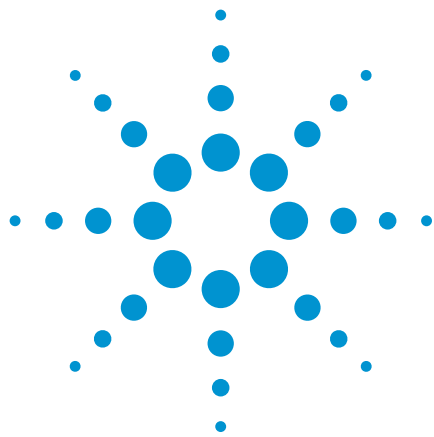




Сверхбыстрое разделение с помощью колонок Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 1,9 мкм

Рекомендации по применению

Сельское хозяйство, анализ пищевых продуктов,
низкомолекулярные лекарственные вещества

Автор

Анна Мак (Anne Mack)
Agilent Technologies, Inc.

Аннотация

Десять соединений разделили на уровне базовой линии за 0,3 минуты на колонке Agilent InfinityLab Poroshell 120 2,1 × 50 мм, 1,9 мкм, с минимальным разрешением 2,2. По сравнению с таким же анализом, выполненным на колонке Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 4,6 × 250 мм, 5 мкм, колонка InfinityLab Poroshell позволила выполнить анализ в 120 раз быстрее с экономией 98% подвижной фазы. Колонки имеют близкую селективность, что обеспечивает простоту переноса метода.



Agilent Technologies

Введение

Колонки для ВЭЖХ с поверхностно-пористыми частицами являются распространенным инструментом жидкостной хроматографии. Колонки с поверхностно-пористыми частицами обеспечивают высокую эффективность при низком давлении по сравнению с колонками с полностью пористыми частицами [1]. Причиной этого в первую очередь служит сокращенное расстояние массопереноса и существенно меньшая дисперсия размеров частиц в колонке [2]. В настоящее время имеет место тенденция по уменьшению размера поверхностно-пористых частиц с целью еще большего повышения эффективности. Более высокая эффективность используется для ускорения анализа или улучшения результатов посредством повышения разрешения и чувствительности.

При разработке семейства колонок для ВЭЖХ Agilent была проделана существенная работа по упрощению переноса метода и масштабируемости. Колонки с полностью пористыми частицами Agilent ZORBAX и колонки с поверхностно-пористыми частицами Agilent InfinityLab Poroshell отличаются существенным сходством частиц неподвижной фазы, что упрощает обновление методов, исключая необходимость в дополнительной разработке методов [3].

В данной работе демонстрируется использование мелких частиц Poroshell для улучшения разделения алкилфенолов по сравнению с традиционным анализом с частицами размером 5 мкм. Показана значительная экономия времени, растворителя, пробы и денег при использовании колонок InfinityLab Poroshell.

Таблица 1. Конфигурация системы ВЭЖХ

Конфигурация системы ВЭЖХ Agilent 1290 Infinity

Бинарный насос Agilent 1290 Infinity (G4220A)	Смеситель растворителей на 35 мкл: смеситель Jet Weaver, 35 мкл/100 мкл (G4220-60006)
Высокоэффективный автосамплер Agilent 1290 Infinity (G4226A)	Седло игл в сборе, сверхнизкая дисперсия, для автосамплера Agilent 1290 Infinity (G4226-87030) От автосамплера к нагревателю: капилляры, нержавеющая сталь, 0,075 × 220 мм SV/SLV (5067-4784) Флакон, навинчивающаяся крышка, темное стекло с местом для надписей, сертифицированный, 2 мл, 100 шт/уп (5182-0716) Крышка, навинчивающаяся, синяя, септа ПТФЭ/красный силикон, 100 шт/уп (5182-0717) Вкладыш для флаконов, 250 мкл, стекло с полимерным основанием, 100 шт/уп (5181-1270)
Термостат отсека для колонок Agilent 1290 Infinity (G1316C)	Теплообменник, низкая дисперсия, 1,6 мкл, двойной (G1316-60005) От теплообменника к колонке: фитинги InfinityLab Quick Connect в сборе, 105 мм, 0,075 мм (5067-5961) От колонки к проточной кювете: капилляры, нержавеющая сталь, 0,075 × 220 мм, SV/SLV (5067-4784)
Диодно-матричный детектор Agilent 1290 Infinity (G4212A)	Проточная кювета сверхнизкой дисперсии Max-Light, 10 мм (G4212-60038)
Agilent OpenLAB CDS ChemStation Edition, версия C.01.05 [35]	G4220A: B.06.53 [0013] G4226A: A.06.50 [003] G1316C: A.06.53 [002] G4212A: B.06.53 [0013]
Колонки Agilent для ВЭЖХ	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 4,6 × 250 мм, 5 мкм (959990-902) Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 2,1 × 50 мм, 1,9 мкм (699675-902)

Экспериментальная часть

В данном эксперименте использовалась система ВЭЖХ Agilent 1290 Infinity. Была выполнена модификация системы по отношению к ее стандартной конфигурации для обеспечения низкого объема и дисперсии системы. В табл. 1 представлена подробная информация о конфигурации и приведены две колонки для ВЭЖХ, использовавшиеся в данном эксперименте.

В табл. 2 представлены параметры методов ВЭЖХ для всех анализов. За исключением быстрого анализа с применением частиц размером 1,9 мкм, все методы геометрически масштабировали в соответствии с объемом колонки для поддержания хроматографического разрешения от колонки к колонке.

В данной работе анализировали десять соединений. Девять алкилфенолов были приобретены в виде раствора эталонного вещества у компании Agilent. Тиомочевина, приобретенная у компании Sigma-Aldrich, добавлялась к стандарту в качестве маркера мертвого объема. Ацетонитрил был приобретен у компании Honeywell (Burdick and Jackson). Фильтрация воды было проведено с помощью системы Milli-Q (Millipore) с фильтрами с размером пор 0,2 мкм и удельным сопротивлением воды на выходе 18 МОм·см.

Таблица 2. Параметры метода УВЭЖХ

Колонка	Подвижная фаза	Скорость потока (мл/мин)	Градиент	Вводимый объем (мкл)	Проба	Термостат колоночного отделения (°C)	Диодно-матричный детектор
Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 4,6 × 250 мм, 5 мкм	А) вода В) ацетонитрил	1,0	35–95% В в течение 36 минут	20	кат. № 5188-6529 (~1 мл) + 0,1 мл тиомочевины	25	254 нм, 80 Гц
Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 2,1 × 50 мм, 1,9 мкм		0,5	35–95% В в течение 3 минут	1	1 мг/мл		254 нм, 80 Гц
Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 2,1 × 50 мм, 1,9 мкм (быстрый)		2,3	50–100% В в течение 0,3 минуты	1		60	254 нм, 160 Гц

Результаты и обсуждение

Исходное разделение 10 соединений демонстрировали на колонке с полностью пористыми частицами Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 4,6 × 250 мм, 5 мкм. Разделение было выполнено за 36 минут с минимальным разрешением 6,1, что показано на рис. 1. На нем, кроме того, представлен тот же метод ВЭЖХ, перенесенный на колонку Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 2,1 × 50 мм, 1,9 мкм. Колонки ZORBAX Eclipse Plus C18 и InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 имеют очень схожие привитые фазы, что обеспечивает высокую степень корреляции

общей селективности, поэтому внесение изменений в метод не требуется. Однако из-за различий в размерах колонок, разных значений градиента, скорости потока и объема ввода потребовалось выполнить геометрическое масштабирование меньшего объема колонки. Была повышена скорость потока колонки InfinityLab Poroshell 1,9 мкм для выполнения анализа с применением сорбента с меньшими частицами при оптимальной скорости потока. Это позволило добиться ускорения хроматографического анализа в 12 раз, уменьшения использования подвижной фазы на 96% и снижения объема пробы на 95% при сохранении минимального разрешения на уровне 5,5.

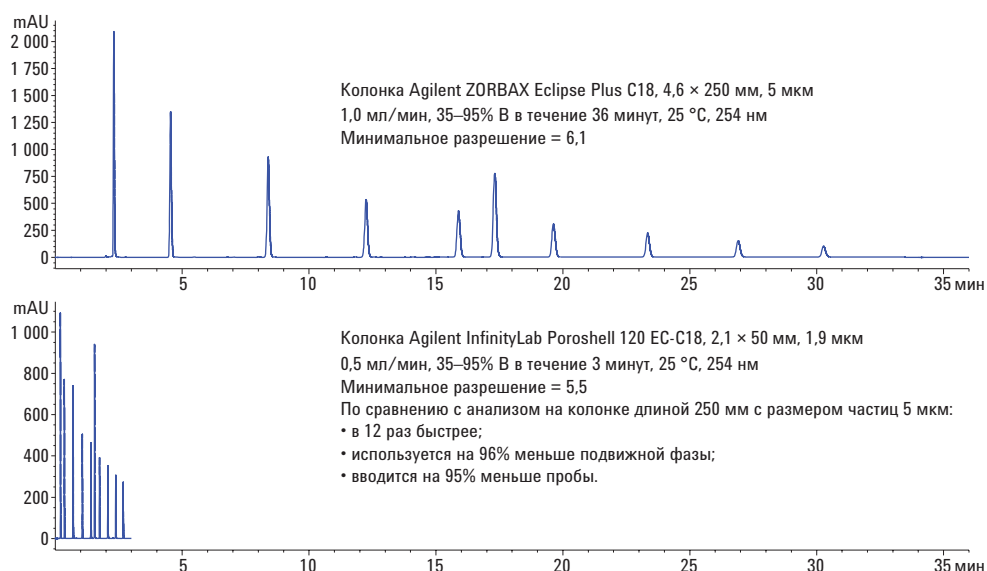


Рис. 1. Анализ алкилфенолов на колонке Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 4,6 × 250 мм, 5 мкм, усовершенствованный посредством переноса на высокопроизводительную колонку Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 2,1 × 50 мм, 1,9 мкм, со значительной экономией времени, пробы, растворителя и денег

Преимущество использования малых поверхностно-пористых частиц состоит в обеспечении очень высоких эффективности и разрешения. Эта высокая производительность может использоваться для выполнения сверхбыстрых анализов, если это позволяет предельное давление системы ВЭЖХ. На рис. 2 показана работа колонки InfinityLab Poroshell 1,9 мкм на пределе возможностей. Для снижения вязкости подвижной фазы использовали высокую температуру, что позволило повысить скорость потока до 2,3 мл/мин при создании давления 1 150 бар. Градиент незначительно изменен

относительно предыдущих методов для обеспечения максимально быстрого для этой колонки и этой 10-компонентной пробы разделения. Результатом стало разделение 10 соединений за 0,3 минуты с минимальным разрешением 2,2. По сравнению с применением колонки Eclipse Plus 250 мм, 5 мкм, этот метод был в 120 раз быстрее и использовалось на 98% меньше подвижной фазы при сохранении минимального разрешения.

На табл. 3 представлены сводные данные и сравнение всех хроматографических результатов.

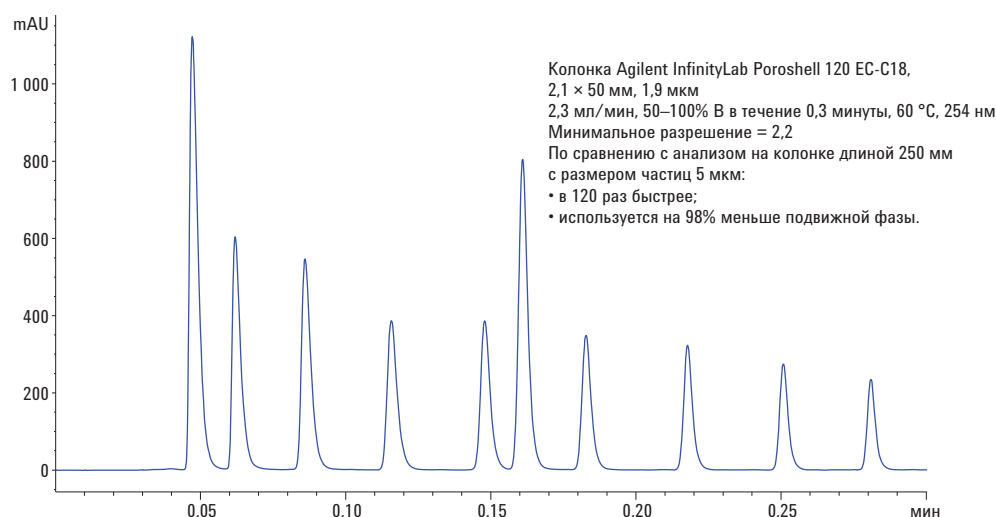


Рис. 2. Работа на колонке Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 2,1 × 50 мм, 1,9 мкм, при значении давления, близком к предельному, позволяет сэкономить дополнительное время, растворитель и деньги без ухудшения производительности метода

Таблица 3. Сравнение анализов алкилфенонов с применением различных колонок для ВЭЖХ

Колонка	Давление (бар)	Минимальное разрешение	Условное количество пиков (пС)	Время анализа (мин)	Расход подвижной фазы (мл)
Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 4,6 × 250 мм, 5,0 мкм	181	6,1	134	36 Исходный анализ с размером частиц 5 мкм	36 Исходный анализ с размером частиц 5 мкм
Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 2,1 × 50 мм, 1,9 мкм	420	5,5	91	3,0 В 12 раз быстрее, чем исходный анализ с размером частиц 5 мкм	1,5 Использует на 96% меньше подвижной фазы, чем исходный анализ с размером частиц 5 мкм
Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 1 150 2,1 × 50 мм, 1,9 мкм (сверхбыстрый)		2,2	43	0,3 В 120 раз быстрее, чем исходный анализ с размером частиц 5 мкм	0,69 Использует на 98% меньше подвижной фазы, чем исходный анализ с размером частиц 5 мкм

Выводы

Высокоэффективную колонку Agilent InfinityLab Poroshell 120, 1,9 мкм, можно использовать для усовершенствования существующих методов с применением традиционных колонок, например колонки Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 5 мкм. Семейства колонок InfinityLab Poroshell и ZORBAX отличаются сходными привитыми фазами, что облегчает перенос методов, зачастую не требуя дополнительной разработки методов. Если это позволяют пределы давления, колонка InfinityLab Poroshell с частицами размером 1,9 мкм может использоваться для выполнения сверхбыстрого разделения, что позволяет значительно сэкономить время, растворитель, пробу и деньги по сравнению с традиционными колонками для ВЭЖХ.

Литература

1. A. Gratzfield-Hugsen, E. Naegele. Maximizing efficiency using Agilent Poroshell 120 Columns. *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5990-5602EN, **2016**.
2. V. R. Meyer. Practical High Performance Liquid Chromatography. Fourth Edition, p. 34. Wiley (2004).
3. Transfer of Methods between Poroshell 120 EC-C18 and ZORBAX Eclipse Plus C18 Columns. *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5990-6588EN, **2011**.

Дополнительная информация

Представленные данные отражают характерные результаты. Дополнительную информацию о продуктах и услугах нашей компании см. на веб-сайте www.agilent.com/chem.

www.agilent.com/chem

Компания Agilent не несет ответственности за возможные ошибки в настоящем документе, а также за убытки, связанные или являющиеся следствием получения настоящего документа, ознакомления с ним и его использования.

Информация, описания и спецификации в настоящем документе могут быть изменены без предупреждения.

© Agilent Technologies, Inc., 2016
Напечатано в США
2 ноября 2016 г.
5991-7540RU



Agilent Technologies