

使用填料粒径为 2.7 μm 的 Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl 色谱柱分离 11 种有机酸

作者

Anne Mack
安捷伦科技有限公司

摘要

本应用简报使用 Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl (2.1 $\times$ 150 mm, 2.7 μm) 色谱柱，采用磷酸盐缓冲液和乙腈梯度，分析了 11 种有机酸。这 11 种结构相似的化合物在 3 分钟内实现分离，最小分离度为 1.5。

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。与全多孔颗粒填料色谱柱相比，这种色谱柱能够在较低压力下获得更高柱效^[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非常窄^[2]。表面多孔颗粒填料色谱柱最常用的粒径为 2.5–3 µm。更大的 InfinityLab

Poroshell 120 填料颗粒可以轻松用于长色谱柱，以最大程度提高分离能力，实现 UHPLC 效率，同时不超过压力限值。

本研究证明了长型 (150 mm) InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl 色谱柱 (2.7 µm 填料粒径) 的 UHPLC 性能及其对 11 种相似化合物的分离能力。

实验部分

本实验采用 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统。对标准配置的系统进行了改进，以减小系统体积和扩散。表 1 示出了配置详情。本实验中使用了三种安捷伦液相色谱柱，如表 1 中所列。表 2 显示了液相色谱方法参数。

表 1. 系统配置

Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统配置	
Agilent 1290 Infinity II 全能泵 (G7104A)	脱气机
	密封垫清洗泵
	35 µL 溶剂混合器: Agilent Jet Weaver, 35 µL/100 µL (部件号 G4220-60006)
	固件: B.07.23 [0009]
Agilent 1290 Infinity II 样品瓶进样器 (G7129B)	样品恒温器 (部件号 G7167-60101)
	流量计参数: 针座组件 PEEK 0.12 mm, 样品定量环 20 µL, 分析头 20 µL
	自动进样器 → 加热器: 毛细管, 不锈钢, 0.12 × 105 mm, SL/SL (部件号 5500-1238)
	样品瓶, 螺口, 棕色, 带书写签, 经认证, 2 mL, 100/包 (部件号 5182-0716)
	瓶盖, 螺口, 蓝色, PTFE/红色硅橡胶隔垫, 100/包 (部件号 5182-0717)
	样品瓶内插管, 250 µL, 玻璃, 带聚合物支架, 100/包 (部件号 5181-1270)
	固件: D.07.23 [0009]
Agilent InfinityLab 液相色谱系列集成式柱温箱 (G7130A)	集成类型: G7129B
	3.0 µL 热交换器
	加热器 → 色谱柱: A-Line 快速连接组件, 105 mm, 0.075 mm (部件号 5067-5961)
	色谱柱 → 流通池: 毛细管, 不锈钢, 0.075 × 220 mm, SV/SLV (部件号 5067-4784)
	固件: B.07.23 [0009]
Agilent 1290 Infinity II 二极管阵列检测器 (G7117B)	超低扩散最大光强卡套式流通池, 10 mm, 0.60 µL (部件号 G4212-60038)
	UV 灯 (5190-0917)
	固件: D.07.23 [0009]
安捷伦液相色谱柱	Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl, 2.1 × 150 mm, 2.7 µm (部件号 693775-912)
	Agilent InfinityLab Poroshell 120 PFP, 2.1 × 150 mm, 2.7 µm (部件号 693775-408)
	Agilent InfinityLab Poroshell 120 SB-Aq, 2.1 × 150 mm, 2.7 µm (部件号 683775-914)

表 2. 方法参数

色谱柱	流动相	流速 (mL/min)	流动相组成	进样量 (µL)	样品	柱温箱 (°C)	二极管阵列检测器
Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl, 2.1 × 150 mm, 2.7 µm	A) 水 B) 乙腈 C) n/a D) 200 mmol/L 磷酸钠 + 1% 磷酸 (85%), pH 约 2	0.4	梯度 3 分钟内从 0 升至 30% B, 在整个运行中保持 10% D, 4 分钟重新平衡	0.1	各组分浓度为 0.4–3 mg/mL 的水溶液 准确浓度如表 3 所示 结构如图 1 所示	28	210 nm, 80 Hz

本研究中分析的 11 种有机酸购自 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)。图 1 给出了它们的结构，表 3 列出了它们的分析浓度。磷酸钠和磷酸同样购自 Sigma-Aldrich。乙腈购自 Honeywell (Burdick and Jackson, Muskegon, MI, USA)。水经 Milli-Q 系统 (Millipore, Burlington, MA, USA) 0.2 μm 滤膜过滤，分子量为 18。

表 3. 样品组成

分析物	水溶液浓度 (mg/mL)
乙酸	2.8
t-乌头酸	0.044
柠檬酸	1.3
富马酸	0.046
乳酸	3.2
马来酸	0.043
苹果酸	1.4
丙二酸	1.3
草酸	0.45
琥珀酸	1.8
酒石酸	0.86

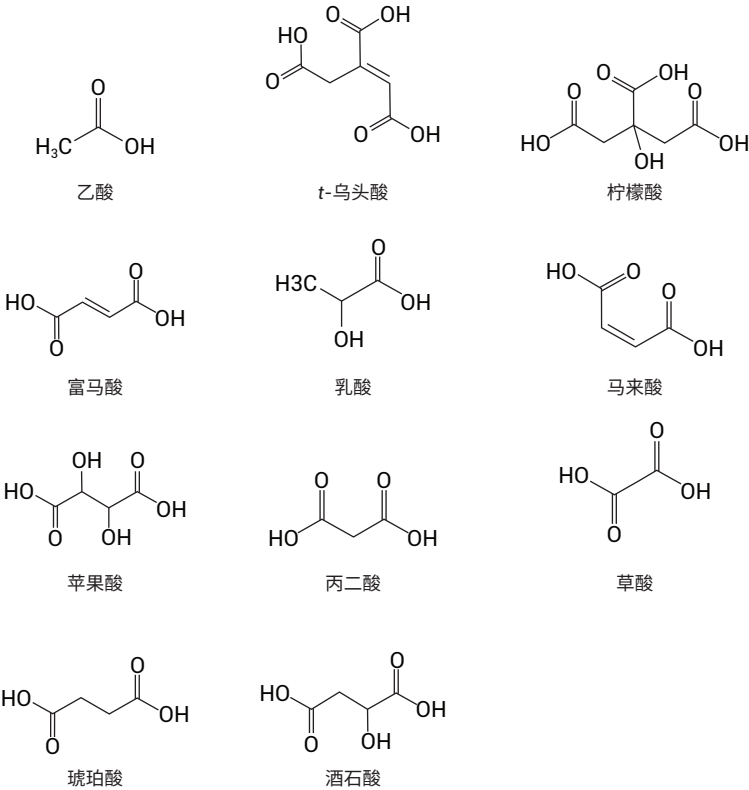


图 1. 目标化合物

结果与讨论

图 2 展示了采用简单的水性等度方法筛选出的用于有机酸分析的三种 InfinityLab Poroshell 120 色谱柱。选择这三种固定相是因为它们能够与 100% 水性流动相一起使用，没有脱湿风险。这一特征有助于在反相液相色谱模式下保留极性化合物，例如上述有机酸。Phenyl-Hexyl 色谱柱对于早洗脱的酸可实现最佳分离，Agilent InfinityLab Poroshell 120 SB-Aq 次之。遗憾的是，SB-Aq 固定相难以分离苹果酸和乳酸。

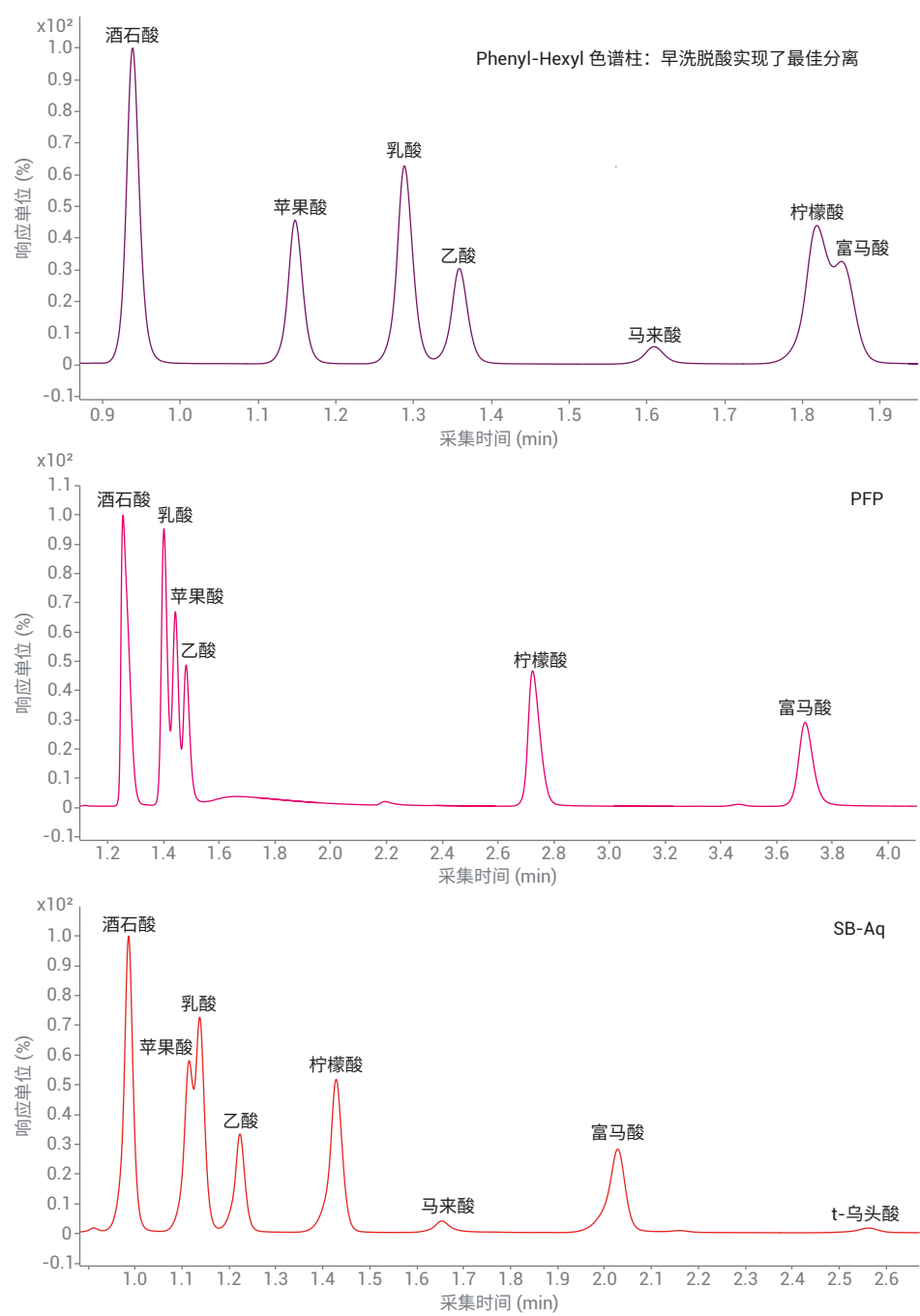


图 2. Agilent InfinityLab Poroshell 120 色谱柱的各种固定相，用于分析有机酸。A: 水；D: 200 mmol/L 磷酸钠 + 1% 磷酸 (85%)，pH 约 2；等度洗脱: 90% A/10% D；0.4 mL/min；20 °C；210 nm；2.1 × 150 mm，2.7 μm Agilent InfinityLab Poroshell 120 色谱柱

柠檬酸和富马酸在 Phenyl-Hexyl 色谱柱上的部分共洗脱可通过提高柱温解决，如图 3 所示。

图 4 显示了使用 2.1 × 150 mm, 2.7 μm InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl 色谱柱获得的 11 种有机酸的最终分离结果。所有化合物均在 3 分钟内得到良好分离，最小分离度为 1.5。有机酸保留性较差，因为它们的极性非常强，而且由于它们结构相似，因而难以分离（图 1）。然而，长型 150 mm, 2.7 μm Phenyl-Hexyl 色谱柱具有出色的柱效和分离能力，可以成功保留并分离这类样品。

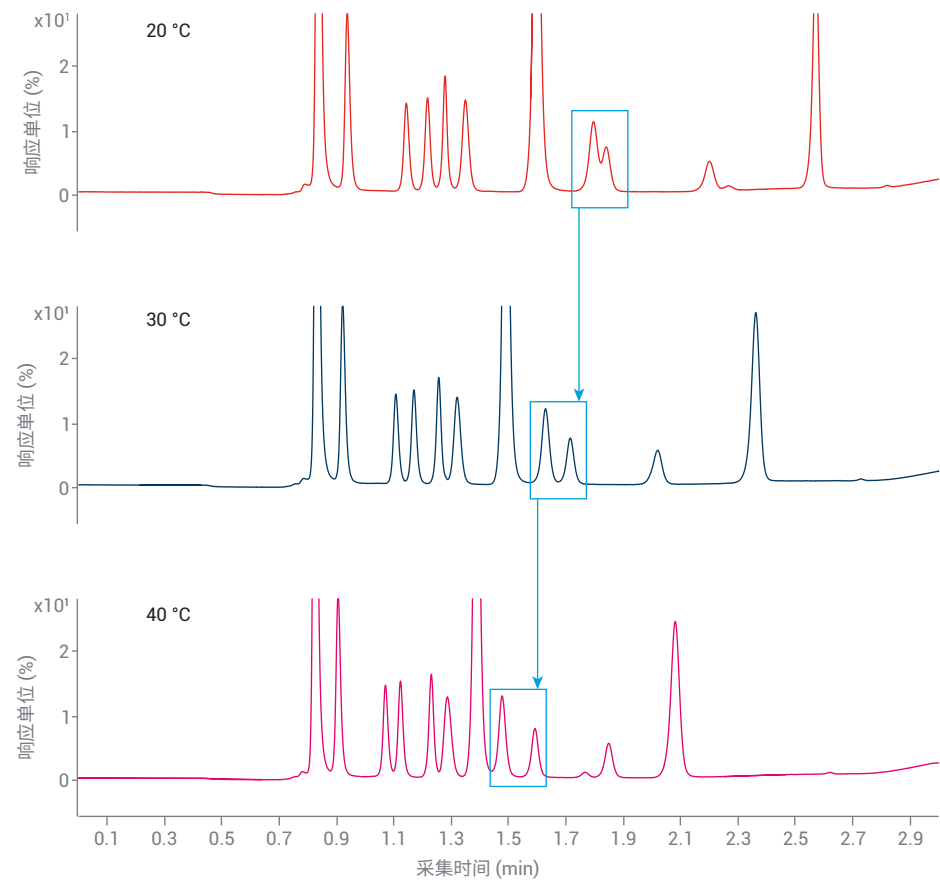


图 3. 筛选用于在 Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl 色谱柱上进行有机酸分离的色谱柱温度

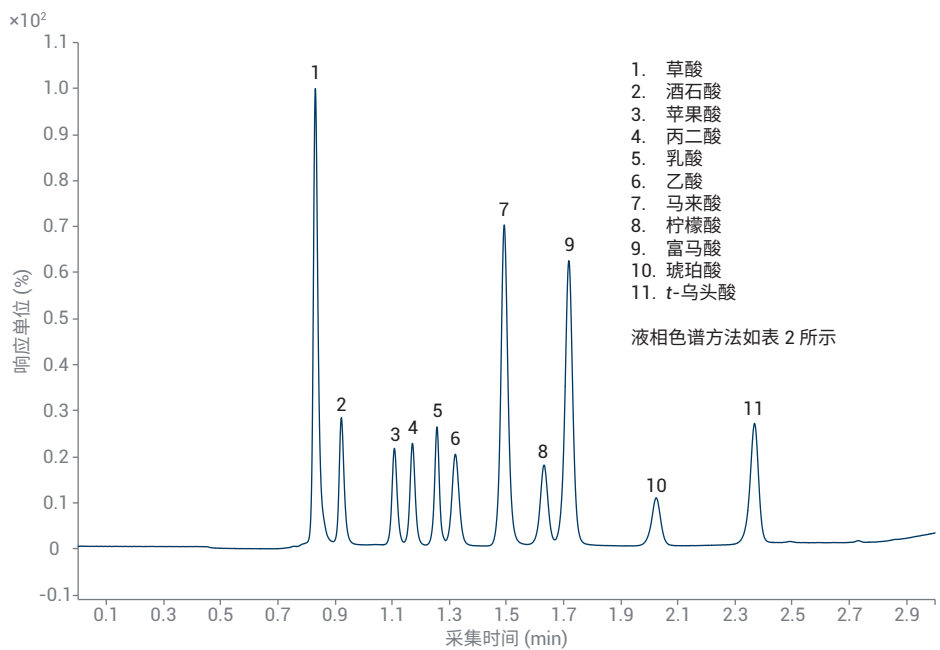


图 4. 11 种有机酸在 Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl 色谱柱上的分离结果

结论

Agilent InfinityLab Poroshell 120, 2.7 μm 色谱柱可用于实现 11 种有机酸极具挑战性的分离。这种表面多孔颗粒填料色谱柱具有高柱效，可在 $2.1 \times 150 \text{ mm}$ 色谱柱上实现结构相似化合物的出色分离度。

参考文献

1. Gratzfield-Hugsen, A.; Naegel, E.
使用 Agilent InfinityLab Poroshell
120 色谱柱最大限度提高柱效，
安捷伦科技公司应用简报，出版号
5990-5602CHCN，**2016**
2. Meyer, V. R. Practical
High-Performance Liquid
Chromatography，第 4 版，
第 34 页，Wiley，**2004**

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。