

## 在Agilent 1290液相色谱系统上使用CORTECS色谱柱在保持选择性的同时提高峰容量

---

Kenneth D. Berthelette, Jennifer M. Nguyen, Jonathan E. Turner

Waters Corporation

---

### 摘要

许多液相色谱分析都已经使用填充有表面多孔颗粒的色谱柱改善峰形并提高样品通量。只要考虑到适当的粒径和色谱柱尺寸配对，无论使用何种液相色谱系统，均可获得这些益处。本文介绍的研究展示了表面多孔CORTECS C<sub>18</sub>色谱柱相比于采用类似键合技术的全多孔色谱柱在Agilent 1290液相色谱系统上的优势。此外，还测试了竞争厂商的表面多孔色谱柱。峰容量的比较表明，与类似键合的表面多孔和全多孔颗粒技术相比，CORTECS C<sub>18</sub>色谱柱能够在保持选择性的同时提供更高的分离度。

### 优势

- 与全多孔CSH C<sub>18</sub>相比，使用CORTECS C<sub>18</sub>+色谱柱使峰容量提高了10%以上
  - 表面多孔材料与全多孔材料之间的选择性相当，可大幅减少方法的重新开发需求
  - 在Agilent 1290液相色谱系统上，CORTECS C<sub>18</sub>+色谱柱相比竞争厂商的表面多孔C<sub>18</sub>色谱柱峰容量有所提高
- 

### 简介

---

表面多孔颗粒(SPP)已成为液相色谱领域常用的一种技术，由不可渗透的中心与全多孔外层组成。这种颗粒设计最初由Horvath在20世纪60年代中期推出，用于离子色谱<sup>1</sup>。自那时起，这些材料的生产经历了巨大的改进，包括对多孔层厚度的严格控制、将多孔层粘附到实心核的方法以及多孔层和非多孔层的化学性质。与全多孔颗粒对应产品相比，这种颗粒技术改善了van Deemter方程的A项（涡流扩散）和B项（纵向扩散），从而提高了色谱柱效率。与全多孔颗粒相比，A项受到SPP的均匀粒径的直接影响。均匀的粒径导致更紧密的填充床，颗粒周围的流动通道与通过颗粒的流动通道相似。B项受实心核的影响，其限制了颗粒的整体渗透性，并减少了分析物扩散可及的色谱柱体积。

这些材料的效率提升有助于分离棘手分析中的关键分析物<sup>2</sup>。此外，使用填充有表面多孔颗粒的色谱柱对过时的专论方法进行现代化改造，可以在方法转换方面提供更高的通用性。USP专论方法转换受到USP通则<621>的严格控制，其中新色谱柱的 $L/d_p$ （柱长与粒径比）或 $N$ （理论塔板数）必须保持在原始参比色谱柱的一定范围内。这可能会限制方法转换中新色谱柱的柱长和尺寸。然而，对于表面多孔颗粒，通常可以采用 $N$ 转换方法，以通过缩短运行时间来改善分离，从而提高通量并尽量减少溶剂消耗<sup>3-5</sup>。

本研究考察了表面多孔CORTECS C<sub>18</sub>色谱柱对六种磺胺类药物的分离效果。本研究将该色谱柱与竞争厂商的表面多孔颗粒色谱柱和填充有全多孔颗粒的色谱柱进行对比评估，各种色谱柱均使用C<sub>18</sub>键合相进行了官能化。比较使用Agilent 1290液相色谱系统进行，其中CORTECS C<sub>18</sub>色谱柱表现出更高的峰容量，甚至优于竞争厂商的表面多孔色谱柱。此外，CORTECS C<sub>18</sub>色谱柱与测试的替代色谱柱具有相似的选择性，由此可以简化色谱柱之间的方法转换。

---

## 实验

### 样品描述

使用水作为样品稀释剂，制得浓度为13 µg/mL的磺胺嘧啶、磺胺噻唑、磺胺二甲嘧啶、磺胺甲氧吡嗪、磺胺氯吡嗪和磺胺异恶唑纯标样。

### 液相色谱条件

液相色谱系统： Agilent 1290 Infinity II

检测： UV检测（波长254 nm），使用DAD

样品瓶:	TruView LCMS认证样品瓶透明玻璃样品瓶 (P/N: 186005668CV)
色谱柱:	CORTECS C <sub>18</sub> +, 2.1 × 50 mm, 2.7 μm (P/N: 186007395) XSelect CSH C <sub>18</sub> , 2.1 × 50 mm, 2.5 μm (P/N: 186006101) 竞争厂商表面多孔C <sub>18</sub> , 2.1 × 50 mm, 2.7 μm
柱温:	30 °C
样品温度:	室温
进样体积:	1 μL
流速:	0.33 mL/min
流动相A:	0.1%甲酸水溶液
流动相B:	0.1%甲酸的乙腈溶液
梯度:	参见下表

## 梯度

时间 (min)	流速 (mL/min)	%A	%B	曲线
0.00	0.33	95	5	6
6.30	0.33	40	60	6
6.90	0.33	40	60	6
7.05	0.33	95	5	6
9.00	0.33	95	5	6

## 数据管理

色谱软件：

Empower 3 Feature Release 5

信息学软件：

Empower 3 Feature Release 5

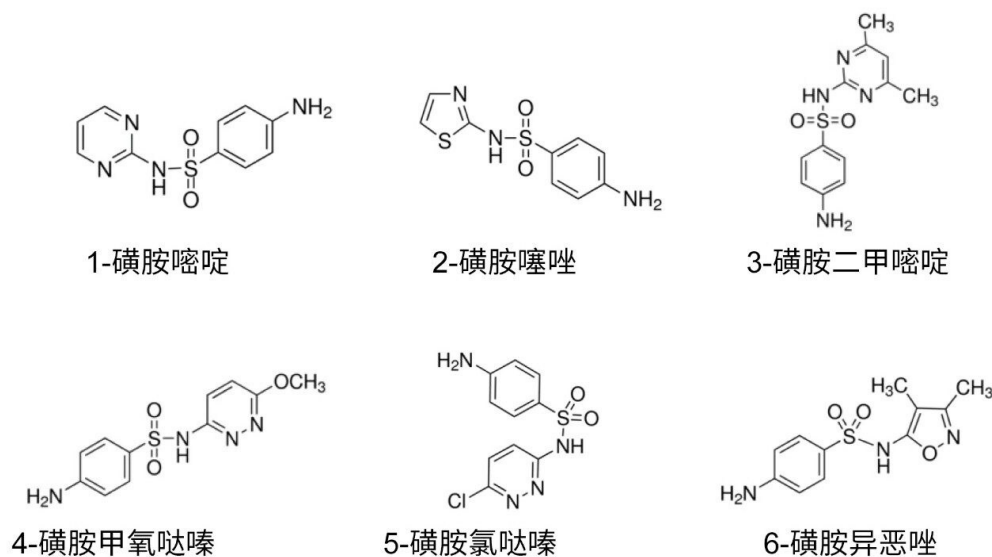


图1.六种磺胺类药物的化学结构

## 结果与讨论

表面多孔颗粒为UHPLC分离提供了许多优势，与同等尺寸的全多孔颗粒相比，其在系统反压相当的情况下获得了更高的效率。表面多孔颗粒的一项优势在于，其生产方式得到的颗粒尺寸更均匀，因此可以更高效地填充到色谱柱中<sup>1</sup>。优化的填料对柱效具有显著影响，如表面多孔与全多孔颗粒的van Deemter方程和曲线图所述<sup>6-8</sup>。这是由于表面多孔颗粒填充床的均匀性提高，直接影响柱效。

van Deemter方程用于衡量色谱柱中扩散的经验附加来源，该方程包含三项因素，A：涡流扩散，B：纵向扩散，C：传质。通过在色谱柱内创建均匀的流动通道，填充表面多孔颗粒的进步减小了与A项相关的对扩散的影响。在

最佳线速度下，当使用表面多孔颗粒时，B项也显著减小，因为不可渗透的实心核减小了扩散可及的体积。对于小分子，C项或传质并非一个重要影响因素，但是在高分子分析中，C项确实具有更显著的影响<sup>9</sup>。

使用两种不同的表面多孔颗粒色谱柱和一种全多孔颗粒色谱柱分析六种磺胺类药物时，可以观察到这些优势的示例。测试的所有色谱柱尺寸均为2.1 × 50 mm（粒径2.x μm）。表面多孔颗粒为2.7 μm，全多孔颗粒为2.5 μm。所用的流动相为各自包含0.1%甲酸的水和乙腈溶液。所用的流速为0.33 mL/min，柱温为30 °C。梯度详细信息如方法部分所述。

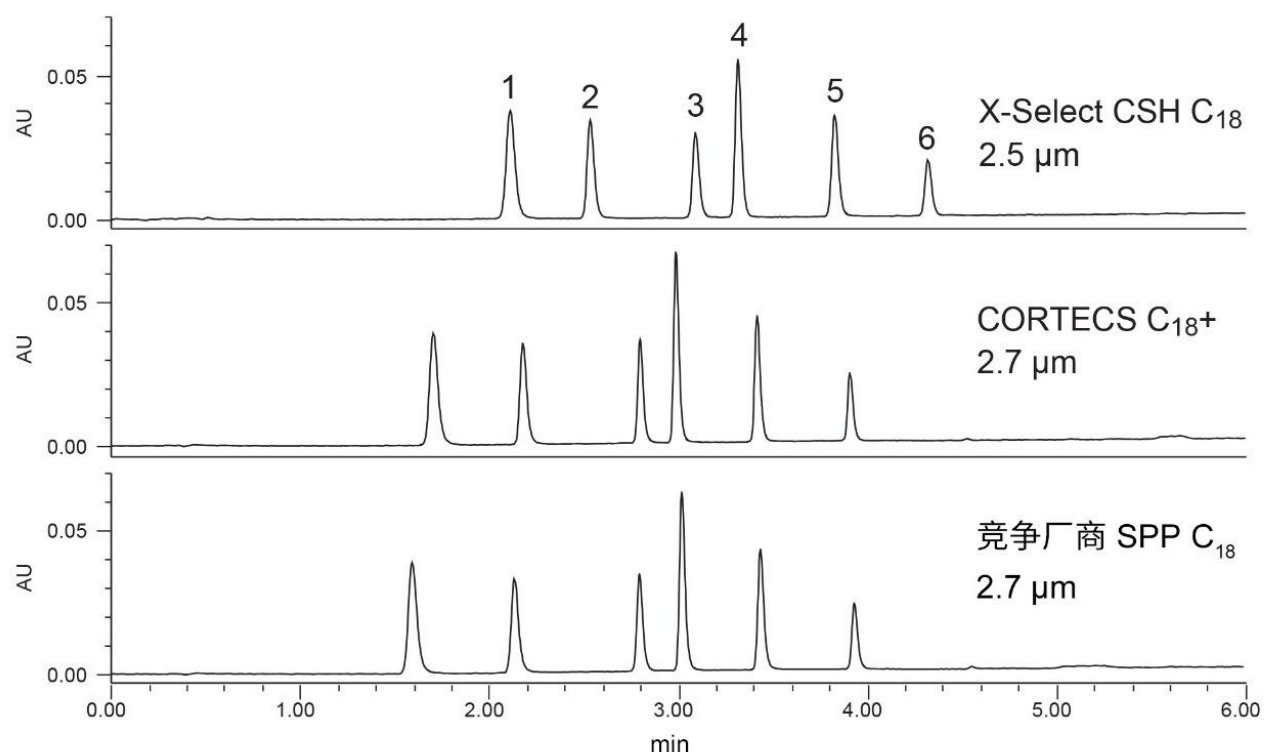


图2.六种磺胺类药物在三种色谱柱上的分离：XSelect CSH C<sub>18</sub>、CORTECS C<sub>18</sub>+和竞争厂商表面多孔(SPP) C<sub>18</sub>色谱柱。峰鉴定结果：1)磺胺嘧啶、2)磺胺噻唑、3)磺胺二甲嘧啶、4)磺胺甲氧哒嗪、5)磺胺氯哒嗪和6)磺胺异恶唑。

初看三种色谱柱之间的分离似乎相当。与磺胺嘧啶相比的相对保留时间如表1所示，证实这三种材料具有非常相似的选择性。与全多孔颗粒色谱柱相比，两种表面多孔颗粒色谱柱均具有更高的相对保留时间，但与竞争厂商的SPP色谱柱相比，CORTECS C<sub>18</sub>和XSelect CSH C<sub>18</sub>色谱柱的值彼此更接近。这可能是由于三种固定相之间的色谱柱填料差异所致。然而，尽管观察到相对保留存在差异，在色谱图中仍然观察到相似的总体选择性。

	CORTECS C <sub>18</sub> +	竞争厂商 SPP	CSH C <sub>18</sub>
磺胺嘧啶	-	-	-
磺胺噻唑	1.28	1.34	1.20
磺胺二甲嘧啶	1.64	1.76	1.46
磺胺甲氧哒嗪	1.75	1.90	1.57
磺胺氯达嗪	2.01	2.16	1.81
磺胺异恶唑	2.29	2.47	2.05

表1.使用磺胺嘧啶作为参比峰得到的相对保留时间（α值）

通过检查六种分析物在4.4%峰高处的峰宽并使用这些值来确定峰容量，可以观察到该分离中最显著的差异。峰容量的计算方法如公式1所述。峰容量结果如表2所示。

$$P_C = 1 + \left( \frac{t_g}{W_{avg}} \right)$$

公式1.峰容量计算，其中 $P_C$ 为峰容量， $W_{avg}$ 为4.4%峰高处的平均峰宽， $t_g$ 为梯度时间。

	4.4%峰高处平均峰宽(min)		
	CORTECS C <sub>18</sub> +	竞争厂商 SPP	CSH C <sub>18</sub>
磺胺嘧啶	0.111	0.114	0.114
磺胺噻唑	0.088	0.097	0.091
磺胺二甲嘧啶	0.072	0.078	0.084
磺胺甲氧哒嗪	0.068	0.074	0.079
磺胺氯达嗪	0.073	0.078	0.086
磺胺异恶唑	0.071	0.076	0.084
平均峰宽	0.0805	0.0862	0.0897
峰容量	79	74	71

表2. 每种色谱柱上各分析物的平均峰宽( $n=3$ ), 以及使用梯度时间6.30 min 计算出的峰容量。

与全多孔颗粒色谱柱相比, 表面多孔颗粒色谱柱可实现更高的峰容量。竞争厂商SPP色谱柱的峰容量比XSelect CSH C<sub>18</sub>色谱柱高3%, 而CORTECS C<sub>18</sub>色谱柱的峰容量则高约11%。需要注意的是, 与其他表面多孔颗粒色谱柱相比, CORTECS色谱柱能够将分离峰容量提高近7%。这些色谱柱之间的差异可归因于两种色谱柱的装填程序不同或颗粒填料不同。虽然不代表所有分析, 但磺胺类药物的分析可作为分析人员使用CORTECS色谱柱能够获得的益处的一个示例。

## 结论

采用表面多孔硅胶基质颗粒制成的CORTECS液相色谱柱是任何液相色谱系统的理想色谱柱选择。通过减少van Deemter方程中A项和B项引起的附加扩散来源, 可以提高表面多孔颗粒色谱柱的分离性能和柱效。值得注意的是, 表面多孔颗粒可以更均匀地填充在色谱柱中, 从而为减小谱带展宽和提高柱效创造理想的条件。通过查看表面多孔颗粒与全多孔颗粒的van Deemter图, 可以更全面地检查所有这些益处。从磺胺类药物的梯度分离中, 可以看出表面多孔颗粒改善分离效率的一个示例。与全多孔颗粒色谱柱相比, CORTECS C<sub>18</sub>色谱柱改善了分离的峰容量, 同时保留了分离的选择性。即使与竞争厂商SPP色谱柱相比, CORTECS C<sub>18</sub>色谱柱也表现出更高的峰容量。

---

## 参考资料

1. Horvath CG, Preiss BA, Lipsky SR. Fast Liquid Chromatography: An Investigation of Operating Parameters and the Separation of Nucleotides on Pellicular Ion Exchangers. *Analytical Chemistry*. (39) 1967, 1422.
2. Manns D, Mansfield AK. A Core-Shell Column Approach to a Comprehensive High-Performance Liquid Chromatography Phenolic Analysis of *Vitis vinifera* L. and Interspecies Hybrid Grape Juices, Wines, and Other Matrices Following either Solid Phase Extraction or Direct Injection. *Journal of Chromatography A* .(1251) 2012.111–121.
3. Nguyen J, Swann T. USP Method Modernization Using “Equivalent  $L/dp$ ” and “Equivalent  $N$ ” Allowed Changes with CORTECS  $C_8$  and CORTECS UPLC  $C_8$  Columns. Waters Application Note. 720005666EN <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2016/usp-method-modernization-using-equivalent-l-dp-and-equivalent-n-allowed-changes.html>> , 2016.
4. Berthelette K, Swann T. 使用CORTECS  $C_8$  色谱柱根据USP方法分析氯雷他定中的杂质. 沃特世应用纪要. 720005579EN <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2016/usp-method-for-the-impurity-analysis-of-loratidine-using-cortecs-c8-columns.html>> , 2016.
5. Nguyen J, Swann T. Examples of USP Method Modernizations Using “Equivalent  $L/dp$ ” and “Equivalent  $N$ ” Allowed Changes with CORTECS  $C_8$  Columns. Waters Application Note. 720005988EN <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2017/usp-using-equivalent-l-dp-and-equivalent-n-allowed-changes-with-cortecs-c8-columns.html>> , 2017.
6. Cabooter D, Fanigliulo A, Bellazzi G, Allieri B, Rottigni A, Desmet G. Relationship Between the Particle Size Distribution of Commercial Fully Porous and Superficially Porous High-Performance Liquid Chromatography Column Packings and Their Chromatographic Performance. *Journal of Chromatography A*.(1217) 2010.7074-7081.
7. DeStefano J, Langlois T, Kirkland J. Characteristics of Superficially Porous Silica Particles for Fast HPLC: Some Performance Comparisons with Sub-2- $\mu\text{m}$  Particles. *Journal of Chromatographic Science* (46) 2008.254-260.
8. Waters T, Wyndham K, Shiner S, Walsh D, Okandeji O, Savaria M, Iraneta P, Turner J, Boissel C, McCall



S. [Advances in Particle and Packing Technology for Higher Efficiency Ultraperformance LC Columns <https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/2013hplc\\_walter\\_packing\\_technology.pdf>](https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/2013hplc_walter_packing_technology.pdf)  
.Waters Scientific Poster HPLC Conference 2013.

9. Hayes R, Ahmed A, Edge T, Zhang H. Core-Shell Particles: Preparation, Fundamentals, and Applications in High Performance Liquid Chromatography. *Journal of Chromatography A*.(1357) 2014.36-52.

## 致谢

Jennifer Simeone, Pat McConville, Mark Trahan

---

## 特色产品

[Empower色谱数据系统 <https://www.waters.com/10190669>](https://www.waters.com/10190669)

720007250ZH, 2021年10月修订



© 2024 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [网站地图](#) [招聘](#) [Cookie](#) [Cookie设置](#)  
[沪ICP备06003546号-2](#) [京公网安备 31011502007476号](#)