

应用纪要

VanGuard™ FIT（完全集成技术）色谱柱 ：一个实用可靠的HPLC色谱柱保护解决方案

Maureen DeLoffi

Waters Corporation

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

摘要

在某些应用中，HPLC色谱柱可能会因颗粒物或强吸附物质滞留而导致柱压升高，性能下降。要解决此问题，比较可靠的方法是使用保护柱来防止颗粒物和强吸附物质到达分析柱。保护柱需定期更换，以恢复色谱柱的分离性能。使用保护柱虽能解决色谱柱污染问题，但可能会因为增加了柱外扩散而降低柱效并增加峰拖尾，带来不良影响。VanGuard FIT色谱柱的设计可大幅减少柱外扩散，使用户能够在不牺牲分离性能的前提下，充分利用保护柱的优势。

优势

- 与传统保护配置相比，VanGuard FIT色谱柱的柱外扩散非常小
- 漏液风险更低，因为无需额外连接
- 利用更一致的连接产生更一致的结果

简介

HPLC色谱柱的使用寿命取决于许多因素，污染程度便是其中之一。这种污染是由颗粒物或强吸附物质积聚而造成的，可能有多个来源，包括流动相（例如微生物和/或缓冲沉淀物）、HPLC系统和样品。由于色谱柱是一种高效过滤器，流路中或注入色谱柱的任何颗粒物都有可能滞留。长此以往可能会导致柱压升高，性能损失。要解决此问题，比较可靠的方法是使用保护柱或柱芯来防止颗粒物和强吸附物质到达分析柱¹。但是，使用保护柱会增加柱外扩散，导致柱效降低，峰拖尾增加。这一问题的严重程度取决于保护柱的设计，特别是它与分析柱的连接方式。在一些非常看重柱效的应用中，用户可能不得不接受更短的色谱柱使用寿命和更高的运行成本，而放弃保护柱带来的好处。

在本文中，我们比较了2.1 mm XP BEH™ C₁₈ 2.5 μm色谱柱上安装XP VanGuard柱芯和柱套（图1a）、2.1 mm ACQUITY BEH C₁₈ 1.7 μm色谱柱上安装ACQUITY™ VanGuard预柱（图1b）以及MaxPeak™ Premier 2.1 mm BEH C₁₈ 1.7 μm FIT色谱柱（图1c）与未使用保护柱的同等色谱柱的性能。

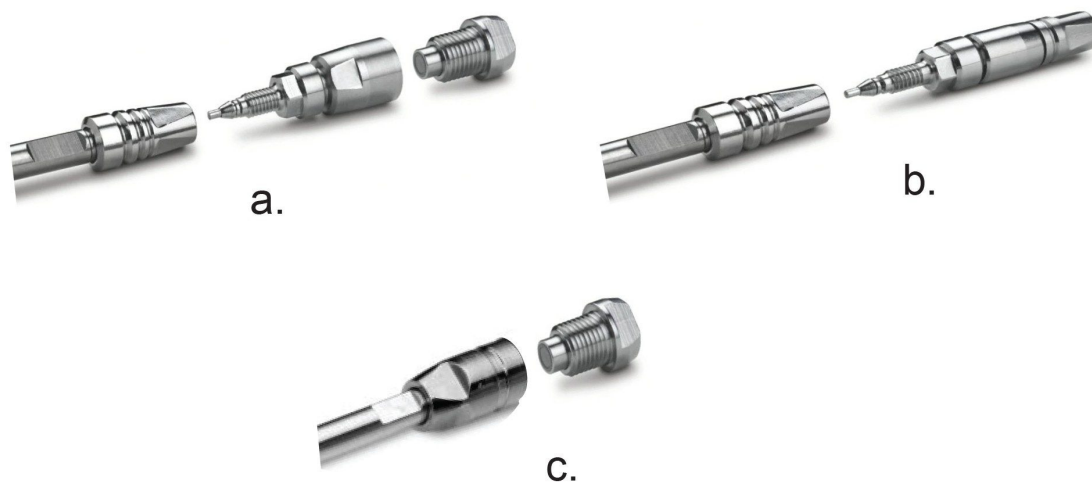


图1.a) XP VanGuard柱芯和柱套, b) ACQUITY VanGuard预柱, c) MaxPeak Premier FIT色谱柱。

结果与讨论

易用性

VanGuard FIT色谱柱首先让用户注意到的就是它的易用性。它的设计中移除了过渡管，柱芯与色谱柱入口直接相连。用户只需将扳手旋转四分之一圈，将柱芯正确密封到色谱柱入口，即可轻松完成备用柱芯的安装。不会出现因锥箍松动而设置不当的问题，漏液可能性微乎其微。

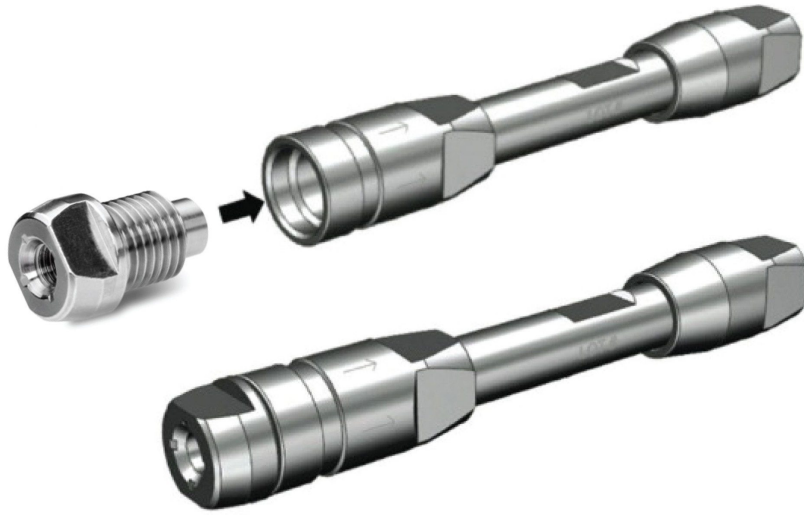


图2.将VanGuard FIT柱芯组装到VanGuard FIT色谱柱中

相比之下，传统VanGuard柱芯和柱套的组装则较为复杂，需要技法娴熟到一定程度才能成功安装到色谱柱上。用户必须使用两个扳手同时向下施加压力，才能确保在安装锥箍时过渡管完全插入色谱柱入口。由于过渡管突出不当而产生的空隙会导致柱外扩散增加。

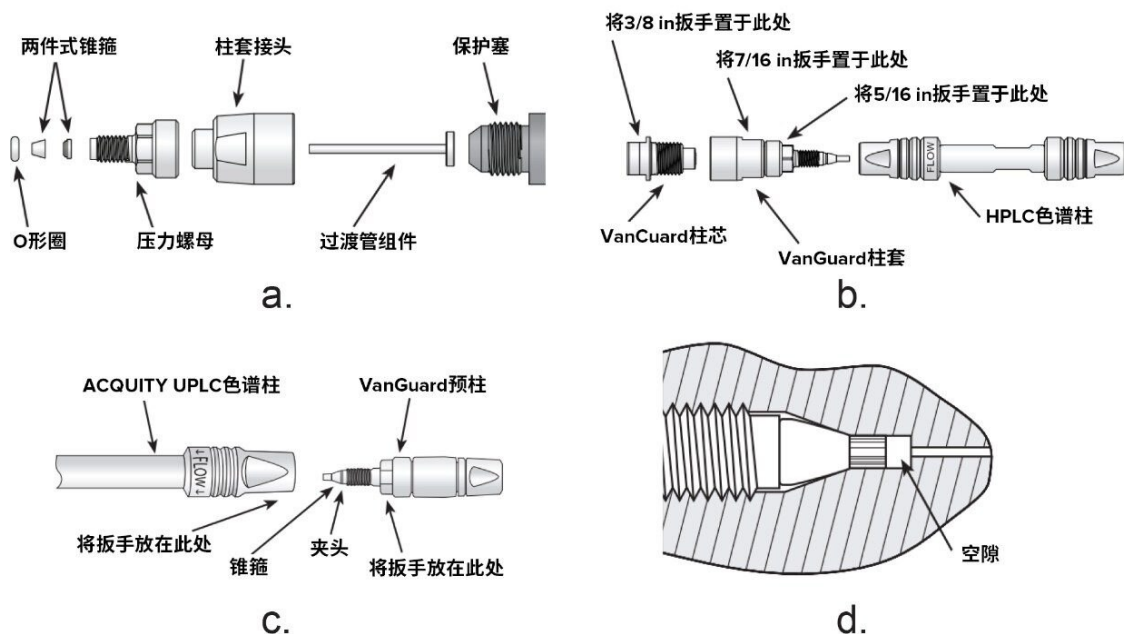


图3.a) VanGuard柱套分解图, b) VanGuard柱芯、VanGuard柱套和分析柱的连接, c) 将VanGuard预柱组装到ACQUITY UPLC™色谱柱, d) 由于VanGuard预柱锥箍安装不当造成的过渡管末端空隙。

为说明组装过程复杂性对色谱柱性能的影响, 我们安排了三名人员来将XP VanGuard柱芯和柱套组装到2.1 x 100 mm XP BEH C₁₈色谱柱上。表1显示了对USP柱效和USP拖尾因子响应的影响百分比, 计算方法如下:

$$\frac{\text{使用保护柱时的响应} - \text{未使用保护柱时的响应}}{\text{未使用保护柱时的响应}} \times 100$$

组装人 (平均2根色谱柱)	USP柱效 影响百分比	USP拖尾因子 影响百分比
人员A	-7.5	5.2
人员B	-17.7	11.2
人员C	-6.6	11.7

表1.三名不同人员将XP VanGuard柱芯和柱套连接到2.1 x 100 mm XP BEH C₁₈色谱柱的USP柱效和USP拖尾因子影响百分比。根据组装过程中操作顺序的差异，观察到结果变异性。使用保留因子约为2.1的中性分析物在等度反相条件下对色谱柱进行测试。

并非所有用户在组装前都参考了安装说明^{2,3}。人员A和C是先将柱套正确地组装到色谱柱上，再安装柱芯。人员B是先将柱芯安装到柱套中，再将组装好的单元安装到色谱柱上。安装技术的变化可能会导致用户之间出现不可接受的色谱柱性能差异。

对分析柱性能的影响

VanGuard FIT保护柱柱芯的主要优点是它对柱效的影响非常小。与典型的保护柱相比，因为在设计中移除了过渡管，柱外扩散显著降低。柱芯直接密封到色谱柱入口，从而实现一致、可靠的性能，且无漏液问题。

为研究ACQUITY VanGuard预柱和XP VanGuard柱芯和柱套的影响，我们在两组18色谱柱中填充了1.7 μm BEH C₁₈填料或2.5 μm BEH C₁₈填料。研究中的每种配置/粒径组合共使用了六根色谱柱。

我们首先测量了每根色谱柱的USP柱效和USP拖尾因子，然后安装VanGuard预柱(1.7 μm)或VanGuard柱芯和柱套(2.5 μm)，再重新测试，计算影响百分比。使用保留因子约为2.1的中性小分子分析物在等度反相条件下测量柱效。请注意，安装的所有预柱或柱芯和柱套都是全新的，并不是将相同的保护柱从一根色谱柱移动到另一根。从图4中的数据可以看出，BEH C₁₈ 1.7 μm VanGuard FIT色谱柱的柱效与未使用保护柱的色谱柱相当，而传统保护柱配置会导致约10%的柱效损失。

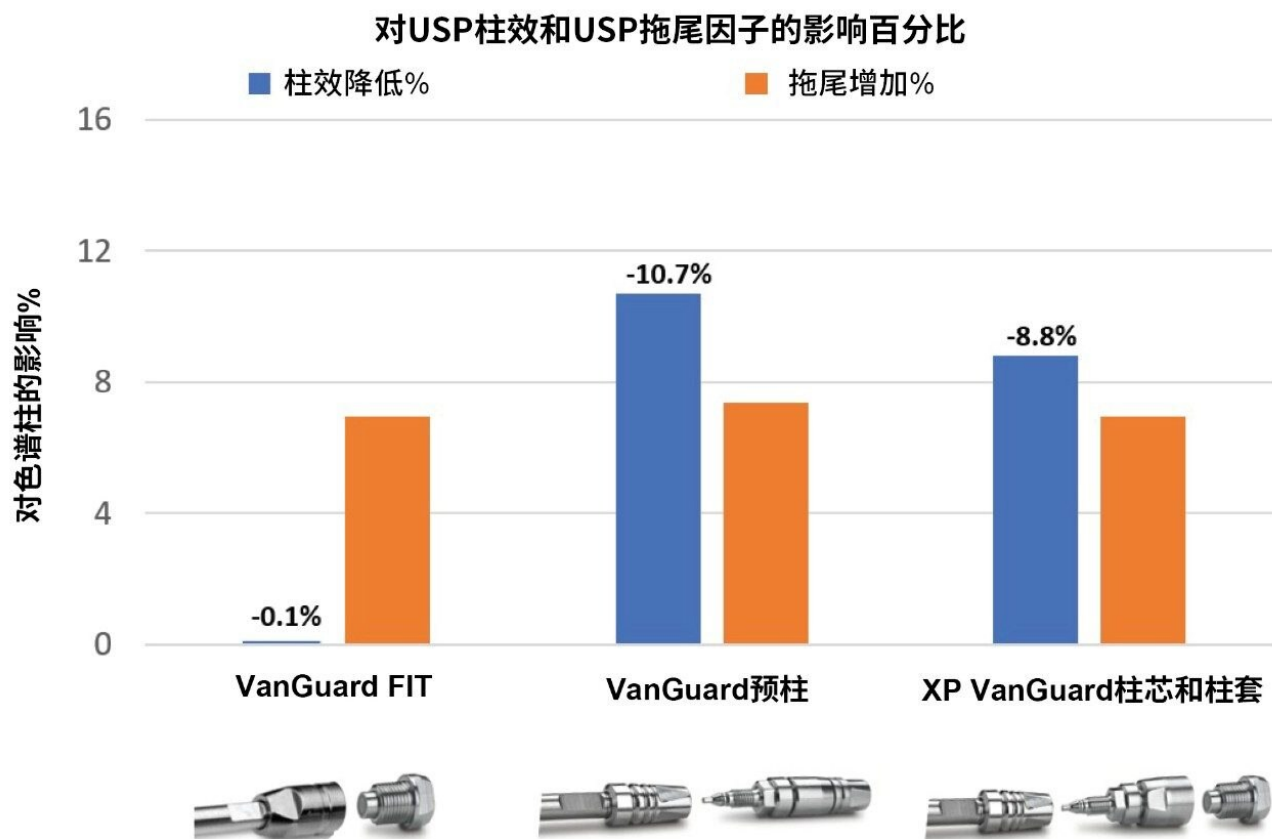


图4. VanGuard FIT、VanGuard预柱、XP VanGuard柱芯和柱套与多个2.1 mm配置中未使用保护柱的BEH C₁₈色谱柱相比，对柱效和拖尾因子的平均影响百分比。

VanGuard FIT色谱柱由Waters™运营团队组装和测试，可以直接与未使用保护柱的同等色谱柱比较柱效。审查BEH/CSH™/HSS亚2 μm填料的数千个数据点后发现，与未使用保护柱的同等尺寸色谱柱相比，2.1 mm VanGuard FIT色谱柱的平均柱效仅低3.2%（见图5）。而在ACQUITY UPLC色谱柱上安装VanGuard预柱时，测得的平均柱效低10.5%，是FIT色谱柱的三倍以上（每种填料n=3）。

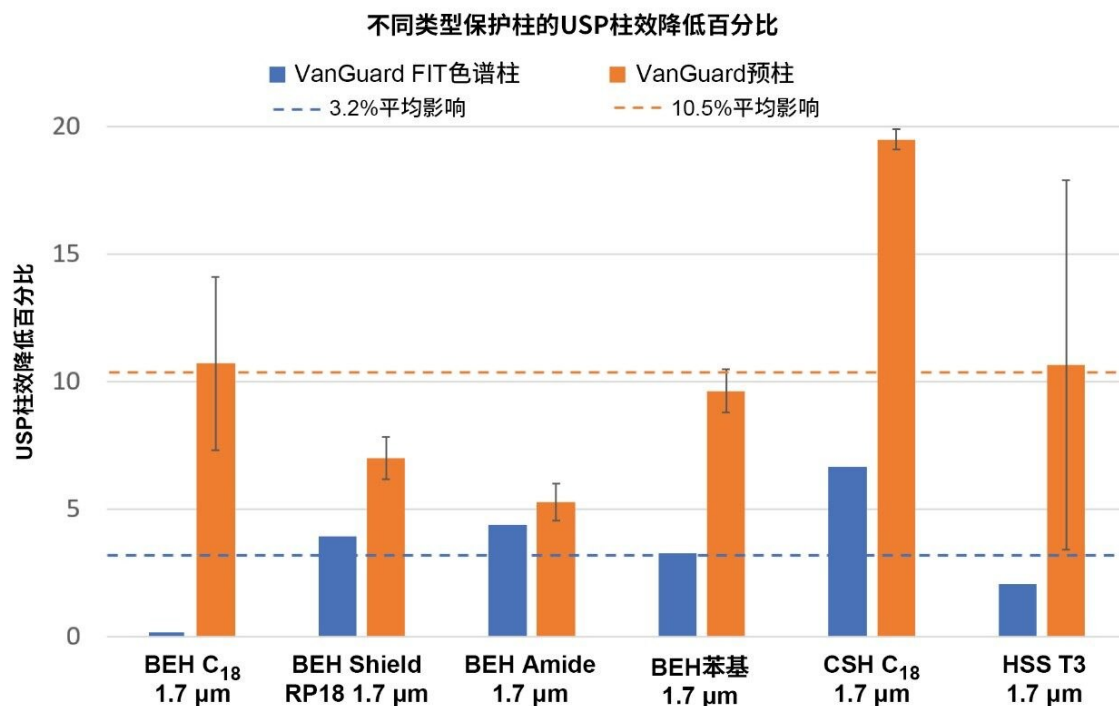


图5. 不同类型保护柱对柱效的影响百分比。比较FIT色谱柱与同等尺寸MaxPeak Premier色谱柱的制造数据。图中显示了在ACQUITY UPLC色谱柱上安装VanGuard预柱的实验数据（每种填料N=3）以供比较。误差条柱表示实验数据平均值的一倍标准偏差。

保护柱类型	对USP柱效的影响	对USP拖尾因子的影响	易用性
VanGuard FIT	✓	✓	✓
VanGuard预柱	✓	✓	✗
VanGuard柱芯和柱套	✓	✓	✗

表2. 三种类型的保护柱对USP柱效的影响、对USP拖尾因子的影响以及易用性总结

结论

由于VanGuard FIT色谱柱更易于组装并且对柱效几乎没有不良影响，因此非常适合任何需要使用保护柱的应用。VanGuard FIT色谱柱可有效保护分析柱免受因颗粒物滞留在柱床而导致的性能下降⁴，而与未使用保护柱的同等色谱柱相比，对色谱柱性能的影响又显著降低。VanGuard FIT色谱柱还通过消除传统保护柱可能出现的变异源，提高了不同用户之间的结果一致性。

参考资料

1. Berthelette KD, Alden BA等. 使用VanGuard™完全集成技术(FIT)保护柱延长色谱柱使用寿命.沃特世应用纪要 [720007713ZH](#).2022年.
2. VanGuard保护柱维护和使用手册.[720005317ZH](#) <<https://www.waters.com/webassets/cms/support/docs/720005317en.pdf>> .
3. ACQUITY UPLC和ACQUITY Premier BEH色谱柱维护和使用手册.[715001371ZH](#) <<https://www.waters.com/webassets/cms/support/docs/715001371.pdf>> 修订版K. 2021年.
4. Shiner S, DeLano M等. VanGuard FIT: A Breakthrough in Guard Column Performance for Challenging Chromatographic Separations.Waters Application Note [720006500](#).2019.

特色产品

ACQUITY UPLC可变波长紫外检测器 <<https://www.waters.com/514228>>

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

720007832ZH, 2022年12月

© 2023 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