

比较采用MaxPeak HPS技术的Premier色谱柱与PEEK内衬色谱柱硬件

Maureen DeLoffi

Waters Corporation

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

摘要

阴离子或富电子分析物在液相色谱(LC)分析中通常峰形不佳且信号强度较低，这是由于分析物吸附在缺电子金属表面（例如不锈钢）而发生损失所致¹。对于这类应用，最近采用了完全由PEEK（聚醚醚酮）制成的替代色谱柱硬件或带有PEEK内衬的不锈钢色谱柱来避免分析物损失。但是，这些利用PEEK材料的色谱柱可能会带来其他不良问题，例如与传统不锈钢硬件相比塔板效率降低、柱间差异性增大。

MaxPeak Premier系列色谱柱采用MaxPeak高性能表面(HPS)硬件，能够让金属敏感分析物的研究更轻松。

MaxPeak高性能表面可提供一层有效屏障，减少金属与分析物之间的相互作用，以及由非特异性吸附引起的任何相关的样品损失。

本应用简报中比较了MaxPeak HPS色谱柱硬件与来自两家不同供应商的PEEK内衬不锈钢硬件。本文重点强调了MaxPeak HPS色谱柱硬件相较于PEEK内衬不锈钢硬件在实现高质量分离方面的优势。

优势

- 提高柱效
- 改善峰形

- 降低柱压
- 实现更一致的柱间重现性
- 获得优异的分析物回收率

简介

长期以来，分析物在金属表面的吸附一直是色谱分析领域的一道难题。之前的缓解策略包括表面钝化、使用流动相添加剂和掺入惰性硬件材料。这些方法虽然在一定程度上取得成功，但它们各有缺点。表面钝化是利用强酸或采用样品和/或基质平衡色谱柱，这个过程非常耗时，由于需要使用强酸，色谱柱使用寿命一般不长²。流动相添加剂（例如螯合剂）有助于防止分析物被金属吸附，但也存在离子抑制、溶解度问题以及必须持续使用才能保持有效等缺点³。

现在市场上有一些采用钛硬件的色谱柱，这类色谱柱的生物惰性更强，可作为传统不锈钢色谱柱的替代品。钛具有耐腐蚀性，并且对某些化合物呈惰性；但是，由于本质仍为金属，因此同样可能引起分析物吸附和样品损失⁴。

市场上还有一些PEEK色谱柱或PEEK内衬不锈钢色谱柱，这类色谱柱以惰性材料取代了所有金属表面。单独使用PEEK无法耐受高压，而使用PEEK内衬不锈钢可以缓解这一局限性。不过，PEEK也有其他局限性；与不锈钢相比，PEEK材料的尺寸差异性更高、筛板渗透性更低，且与某些溶剂不相容。

本研究考察了MaxPeak HPS硬件与来自两家不同供应商的PEEK内衬不锈钢硬件在填充床柱效和柱间重现性方面的差异。这项比较研究所使用的MaxPeak高性能表面是一种有机/无机杂化表面技术，已被证明可用于阻止分析物与金属表面的相互作用⁵。两种硬件均可以有效减少因金属吸附而引起的分析物损失，但MaxPeak HPS硬件由于填充床质量出众而表现出若干明显的优势。

结果与讨论

本研究考察了同一批BEH C₁₈, 2.5 μm固定相在填充到MaxPeak HPS色谱柱硬件与来自两家不同供应商的PEEK内衬不锈钢硬件时不同的填充床柱效。所有色谱柱的填充工艺均在研究期间进行了优化。表1为柱效结果对比。根据表1中报告的平均值可以发现，PEEK内衬硬件的柱效比MaxPeak HPS硬件低20%~25%。尽管所有色谱柱的填充

方式相似，但PEEK内衬硬件的柱压与MaxPeak HPS硬件相比仍高出约25%。此外，采用MaxPeak HPS硬件得到的峰对称性更为出色。

A PEEK内衬色谱柱，供应商A

色谱柱序列号	USP塔板数	RPH	USP拖尾因子	k'	PSI
01912101930J01	9378	2.29	1.229	3.72	1516
01912101930J02	8127	2.64	1.256	3.73	1578
01912101930J03	9453	2.27	1.225	3.77	1597
01912101930J04	8465	2.54	1.286	3.80	1642
01912101930J05	8885	2.42	1.245	3.79	1598
平均值	8862	2.43	1.25	3.76	1586
标准偏差	573	0.16	0.02	0.04	46
%RSD	6.5	6.5	2.0	0.9	2.9

B PEEK内衬色谱柱，供应商B

色谱柱序列号	USP塔板数	RPH	USP拖尾因子	k'	PSI
01912102050K06	9527	2.25	1.168	3.72	1583
01912102050K07	9308	2.31	1.144	3.62	1498
01912102050K08	9713	2.21	1.152	3.68	1561
01912102050K09	8594	2.50	1.238	3.68	1589
01912102050K10	9375	2.29	1.196	3.69	1613
平均值	9303	2.31	1.18	3.68	1569
标准偏差	426	0.11	0.04	0.04	44
%RSD	4.6	4.8	3.2	1.0	2.8

C MaxPeak HPS色谱柱

色谱柱序列号	USP塔板数	RPH	USP拖尾因子	k'	PSI
01912102050K01	11607	1.85	1.115	3.57	1261
01912102050K02	12215	1.76	1.066	3.59	1281
01912102050K03	12301	1.74	1.059	3.59	1268
01912102050K04	11794	1.82	1.064	3.61	1287
01912102050K05	11782	1.82	1.066	3.60	1284
平均值	11940	1.80	1.07	3.59	1276
标准偏差	301	0.05	0.02	0.01	11
%RSD	2.5	2.2	2.5	0.4	0.9

表1.使用BEH C₁₈, 2.5 μm填料填充(A)来自供应商A的PEEK内衬色谱柱、(B)来自供应商B的PEEK内衬色谱柱以及(C)

MaxPeak HPS色谱柱硬件，在75%乙腈、30 °C、0.30 mL/min、254 nm UV检测条件下进行辛基酰苯的等度分离得到的柱效结果。在配备固定定量环样品管理器的ACQUITY UPLC色谱仪上使用2.1 × 50 mm色谱柱进行分析。

此外，我们还考察了MaxPeak HPS色谱柱与来自供应商A和B的PEEK内衬硬件的柱间重现性。每种硬件分别填充五根色谱柱。十五根色谱柱全部采用相同的填充工艺填充，并在相同的条件下测试。图1显示了每种硬件所获得的色谱图。三种色谱柱之间的保留时间存在显著差异。采用PEEK内衬硬件得到的保留时间差异性较高，可能是由于PEEK材料与不锈钢相比尺寸偏差较大，并且两种硬件在填充过程中所能承受的压力也存在差异。

填充前，使用一组精密校准的针规测量每个色谱柱硬件的内径，精确至万分之一英寸。测量色谱柱管的每一端，取平均值来表示每根色谱柱的内径。然后假定精确长度为50 mm，计算每个色谱柱硬件的色谱柱体积。图2显示了每种硬件的色谱柱体积计算值与 V_0 保留时间的关系图。从图中可以看出，MaxPeak HPS硬件的色谱柱体积与 V_0 保留时间具有良好的线性拟合关系，而在任一家供应商的PEEK内衬硬件中均未观察到这一趋势。由此可以推测，PEEK内衬硬件的内径在色谱柱的整个长度上不一致，导致液流在色谱柱内的线性流速存在差异。

V_0 保留时间与色谱柱体积

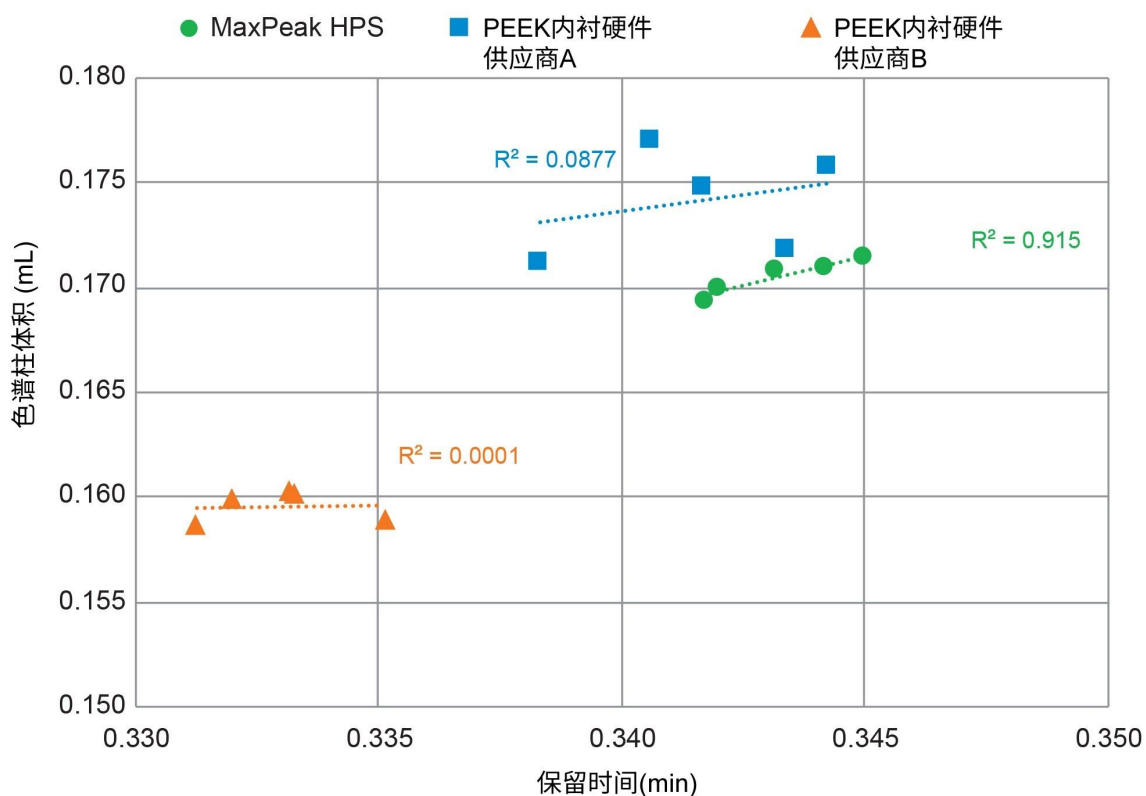


图2. MaxPeak HPS色谱柱硬件、供应商A的PEEK内衬色谱柱硬件和供应商B的PEEK内衬色谱柱硬件在填充 $2.5 \mu\text{m}$, C_{18} 固定相的 $2.1 \times 50 \text{ mm}$ 色谱柱上获得的 V_0 保留时间（硫脲）与色谱柱体积计算值。色谱柱体积根据每根色谱柱管的内径测量结果来计算。分析采用ACQUITY UPLC色谱仪。等度分离条件为：流速 0.30 mL/min ，柱温 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ，75%乙腈流动相， 254 nm UV检测和进样体积 $1 \mu\text{L}$ 。

结论

MaxPeak Premier色谱柱采用MaxPeak高性能表面(HPS)技术，能够显著改善金属敏感分析物的回收率、分离度和峰形。MaxPeak HPS的有机/无机杂化技术可提供一层屏障来防止分析物被金属吸附，改善阴离子或富电子分析物的回收率。PEEK内衬不锈钢色谱柱硬件虽然也可能有此作用，但与MaxPeak HPS硬件相比，它的柱效和峰形较差、柱压较高且柱间差异性较大。

MaxPeak Premier色谱柱采用MaxPeak HPS技术的优势在于，使金属敏感分析物能够获得优异的回收率，并且柱效和柱间差异性在市售惰性色谱柱产品中属于前沿水平。

参考资料

1. Lauber, M.; *et al.* Low Adsorption HPLC Columns Based on MaxPeak High Performance Surfaces. Waters White Paper, 720006930EN <<https://www.waters.com/waters/library.htm?cid=511436&lid=135074404&lcid=135074403>> , 2020.
2. Gjerde, D. T.; Hanna, C. P.; Hoang, L.; Hornby, D. DNA Chromatography. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.: 2002.
3. Lough, J.; Mills, M. J.; Maltas, J. Analyte Adsorption in Liquid Chromatography Valve Injectors for Samples in Non-eluting Solvents. *J. Chromatogr. A.* 1996, 726, 67–75.
4. DeLoffi, M.; Nguyen, J. M.; Izzo, G. ACQUITY Premier C₁₈肽分析专用柱与钛内衬C₁₈色谱柱相比具有更高的色谱性能. 沃特世应用纪要, 720007022ZH <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2020/improved-chromatographic-performance-with-a-premier-peptide-c18-column-versus-a-titanium-lined-c18-column-technology.html>> , 2020.
5. Birdsall, R.等人. 采用MaxPeak HPS技术的ACQUITY Premier可提高RPLC-MS方法分析酸性肽的色谱性能. 沃特世应用纪要, 720007003ZH <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2020/increasing-chromatographic-performance-of-acidic-peptides-in-rplc-ms-based-assays-with-acquity-premier-featuring-maxpeak-hps-technology.html>> , 2020.

特色产品

ACQUITY Premier系统 <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135077739>>

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>>

[MaxPeak Premier色谱柱 <https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135074078>](https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135074078)

720007210ZH, 2021年3月

© 2022 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