

简要指南：为超高效合相色谱 (UPC²) 分析选择合适的进样溶剂

Jacob N. Fairchild

目的

使用ACQUITY UPC²™系统进行分离时，根据分析物和固定相性质选择合适的进样溶剂，并提供通用性指导。

背景

在进行UPC²®方法开发时，进样溶剂的影响是一个极其重要的考虑因素。首先，样品必须能够溶解在与流动相相溶的溶剂中。一般而言，如果样品可以溶解在甲醇（最多含有百分之几的水）或其它有任何机溶剂中，就可以用超临界CO₂进行分析，尽管某些溶剂会对色谱柱产生不良影响。此前，我们曾在2-乙基吡啶键合相上研究一些常用的样品溶剂影响¹。研究发现，庚烷和THF等非极性样品溶剂可最大程度降低峰形变差，而且即使在未使用理想的样品溶剂的情况下，使用低扩散仪器也会更具优势。在本研究中，我们就上述方面对ACQUITY UPC² BEH和HSS C₁₈ SB色谱柱进行了考察。

解决方案

选择两种完全不同的固定相进行对比。一种是仅含有极性表面基团（硅醇）极性固定相的ACQUITY UPC² BEH色谱柱，一种是含

选择合适的进样溶剂会对峰形产生巨大的影响，从而在UPC²分离中得到最佳性能。

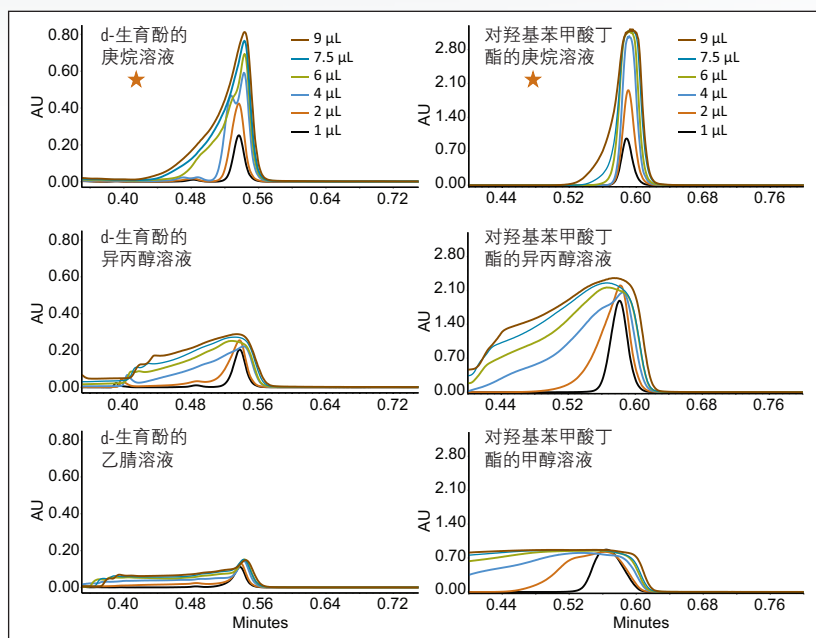


图1. 在ACQUITY UPC² BEH色谱柱上进行分析。(左)：d-生育酚进样体积分别为1、2、4、6、7.5和9 µL，溶于庚烷、异丙醇和乙腈中。(右)：对羟基苯甲酸丁酯进样体积分别为1、2、4、6、7.5和9 µL，溶于庚烷、异丙醇和甲醇中。橙色星号表示能最大程度降低峰形变差的最佳溶剂。

有非极性三官能化 C_{18} 、配体和硅醇混合极性固定相的ACQUITY UPC² HSS C_{18} SB色谱柱。为每个色谱柱选择了三种样品溶剂，从而说明如何根据固定相和分析物选择适当的进样溶剂。选择的两种化合物分别是对羟基苯甲酸丁酯（极性）和d-生育酚（非极性）。两种分析物都易溶于为每个色谱柱选择的三种样品溶剂，并可达本研究所需的浓度（0.4 g/L）。将这两种化合物分别溶于各样品溶剂中，并以1.0到9.0 μ L之间的体积依次进样。请注意对羟基苯甲酸丁酯注入ACQUITY UPC² BEH色谱柱上后峰形的变化，如图1所示。流速设置为1.2 mL/min的95:5 CO_2 /MeOH，温度为40 $^{\circ}C$ ，压力为2175 psi（ABPR）。庚烷溶解样品的峰高呈线性增加至检测器饱和点。d-生育酚进样体积超过2.0 μ L后，开始出现峰形变差，但庚烷明显是所用溶剂中的最佳选择。对于ACQUITY UPC² HSS C_{18} SB色谱柱，使用庚烷也可实现对羟基苯甲酸丁酯的最佳峰形（图2）。但是，d-生育酚的峰形在使用乙腈作为进样溶剂时达到最佳，而不是庚烷。乙腈是此化合物在BEH色谱柱上的最佳进样溶剂。

对羟基苯甲酸丁酯和d-生育酚的进样结果表明极性化合物能被固定相的极性取代基分离。这些数据说明了在UPC²分离中应采用非极性溶剂来溶解/稀释极性化合物。而在非极性固定相上分离非极性化合物（即d-生育酚）时，应使用极性进样溶剂（即乙腈或甲醇）。我们发现，经充分超声处理后，纯乙腈中d-生育酚的最大溶解度约为4.2 g/L。图3显示了2 μ L进样体积的d-生育酚（溶于乙腈中）浓度的峰面积线性响应。使用与溶质极性相反的溶剂可能十分困难，或者完全不可行。如果某个化合物不能以可检测量溶解于非常弱的溶剂中，一个行之有效的方法是将化合物以相对较高的浓度溶于较强的溶剂（例如甲醇或异丙醇）中，然后用较弱的溶剂稀释，例如图1中的庚烷或图2中的乙腈（对于d-生育酚）。

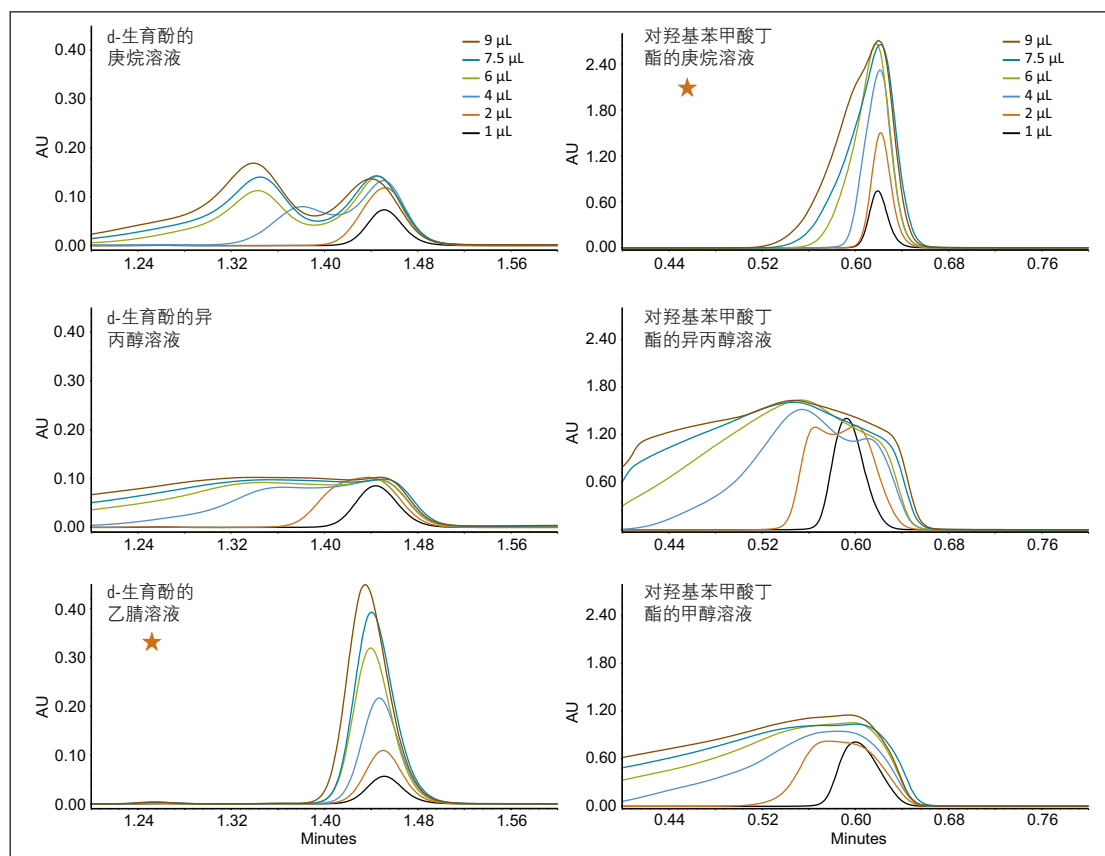


图2. ACQUITY UPC² HSS C_{18} SB色谱柱上得到的d-生育酚乙腈溶液的响应结果（左下）与ACQUITY UPC² BEH色谱柱上得到的结果相反。橙色星号表示能最大程度降低峰畸变的最佳溶剂。

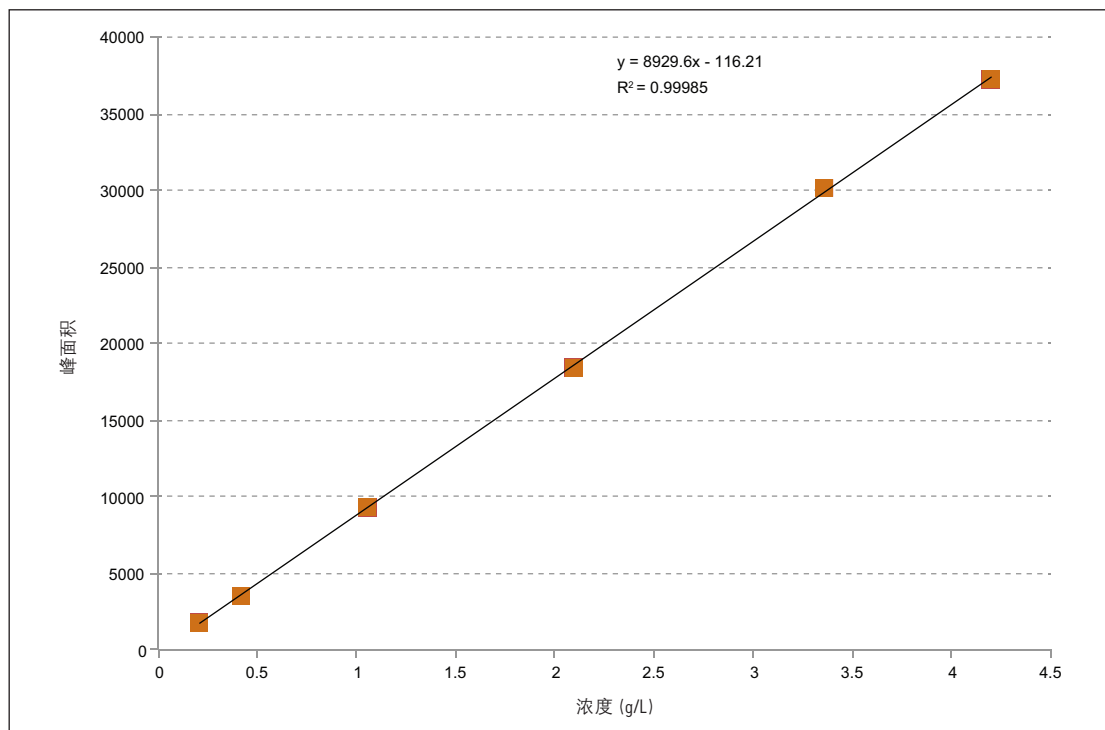


图3. d-生育酚乙腈溶液以4.2 g/L的最高浓度在ACQUITY UPC² HSS C₁₈ SB色谱柱上的浓度线性(进样体积为2 μL)。1、4、6、7.5和9 μL进样体积的结果相似。

总结

样品最佳溶剂的选择极具挑战性，最终的选择往往都要从实际角度出发。然而，使用合适的溶剂可以获得更好的色谱结果。样品溶剂选择不当可能导致峰形严重失真，从而作出不合理的色谱分析结果相关决策。对于UPC²分离，有两条实用的基本原则：1) 无论使用何种固定相，都应尽可能使用非极性溶剂溶解极性分析物。2) 应使用与固定相极性相反的溶剂溶解非极性分析物。极性固定相应使用非极性溶剂，而非极性（或混合）固定相应使用极性溶剂。

参考文献

1. Fairchild JN, Hill JF, Iraneta PC. Influence of Sample Solvent Composition for SFC Separations. LC GC North America, 31:4 (2013), 326-333.

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Waters, UPC²和The Science of What's Possible是沃特世公司的注册商标。ACQUITY UPC²是沃特世公司的商标。其他所有商标均归各自的拥有者所有。

沃特世中国有限公司
沃特世科技（上海）有限公司

北京：010 - 5209 3866
上海：021 - 6156 2666
广州：020 - 2829 6555
成都：028 - 6578 4990
香港：852 - 2964 1800

免费售后服务热线：800 (400) 820 2676
www.waters.com