

ExionLC™ 2.0+超高压液相色谱系统的性能特征

Performance attributes of the ExionLC 2.0+ system ultrahigh pressure liquid chromatography system

流速稳定和进样性能

Adrian M. Taylor

SCIEX, Canada

为满足现代实验室日益增长的需求，找到提高分析通量的方法并扩展实验室的样本检测通量。质谱已成为一种流行的分析工具。在许多实验室，液相色谱法仍然是常见的高质量前端分离样品引入质谱的技术。超高压液相色谱法，使用亚2 μm 级别柱粒径填料，拥有提供快速基线分离化合物的能力，平衡时间更短。与传统的液相色谱法相比，对于节省时间和成本降低都有作用。

质谱仪的灵敏度、速度和选择性不断改进，更快、更强大的液质工作流程，需要利用超高压液相色谱（UHPLC）的全部潜力才可实现。在本篇内容中，研究了SCIEX ExionLC™ 2.0+系统的关键性能属性，特别是快速分离分析时流速精密度和保留时间结果的重现性。与典型情况一样，进行了进样线性和精密密度研究。SCIEX Triple Quad™ 5500+系统与ExionLC™ 2.0+系统联用被选择作为测试的液相色谱质谱质联用（LC-MS/MS）平台。为了直接对液相泵

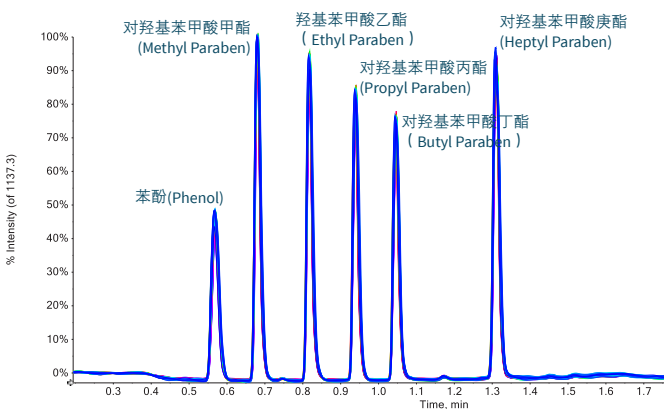


图1. 高压分析时保留时间的精密密度。使用ExionLC™ 2.0+系统在1100 bar (16000 psi) 运行，100次重复进样的相同标准的Supelco 高效液相色谱梯度诊断混合物。本试验的100次进样的保留时间稳定性的相对标准偏差 (RSD)<0.15%

和自动进样器性能研究，集成的（可选配）ExionLC™ 2.0+系统二极阵列检测器HS用于紫外可见（UV-Vis）检测实验。

ExionLC™ 2.0+ 系统的关键特征

- 二元高压串联活塞泵，额定压力为1240 bar(18000 psi)，流速为0.001至5 mL/min，给予快速梯度分离更大灵活性和提升实验室检测通量
- 能够兼容各种类型UHPLC柱，特别是那些亚2 μm 级别柱颗粒填料，使得化合物快速基线分离成为可能，与传统液相色谱方法相比，平衡时间更短
- 新颖的凸轮轴几何结构泵提供精准、耐用的性能，稳定的流动相流速，保留时间变化的相对标准偏差（RSD）小于0.15%，保证结果一致性和延长正常分析运行时间

- 全自动活塞泵，简化的方法设置，自动实时调整的线性运动，降低脉动至非常低的水平，独立流速、反压和洗脱液类型的测量
- 流动相自动线性排空清洗的功能，允许在不同的方法之间实现线性转换
- 准确和精准的定量结果，在从0.5到5 μL 的低进样量时，进样线性相关系数 $r > 0.999$ ，精密标准偏差 $<1\%$ ，以确保化合物定量结果的可信度

方法

材料和解决方案：使用Supelco高效液相色谱梯度系统诊断混合物 (P/N 4-8271)，对SCIEX ExionLC 2.0+系统的流速和进样精密以及进样线性研究。诊断混合物含有尿嘧啶(uracil) (死体积保留标记)，苯酚(phenol)，对羟基苯甲酸甲酯(Methyl Paraben)，羟基苯甲酸乙酯 (Ethyl Paraben)，对羟基苯甲酸丙酯(Propyl Paraben)、对羟基苯甲酸丁酯 (Butyl Paraben) 和对羟基苯甲酸庚酯(Heptyl Paraben)。

色谱方法：液相分离使用SCIEX ExionLC™ 2.0+系统运行方法。2.6 μm 飞诺美Kinetex C18柱 (2.1x 50 mm, P/N:00B-4462-AN)，并选择使用含有0.1%甲酸的水和乙腈作为流动相的简单梯度，用于进样线性精密测定。进样针速度设置为低，速度系数设置为0.1。选择Acquity UPLC HSS T3 柱1.8 μm 2.1 μm 50 mm，在特定高压下测定流速的精密。流动相为水/乙腈。液相色谱流速为1.2 mL/min，液相运行时间为3.25 min，最大压力为1100 bar (16000 psi)。1.8 μm 粒径的色谱柱替换为飞诺美 Synergi 4 μm Fusion RP 2 x50 mm色谱柱 (PN 00B-4424-B0) 用于研究低压方法应用于高压系统的性能，低压方法最低压力为110 bar (1600 psi)。SCIEX ExionLC™ 2.0+系统自动进样器通常配置由250 μL 注射针、250 μL 缓冲环和15 μL 针管组成。使用10 μL 样品定量环测试低进样量进样时的半环进样模式。为了优化样品消耗并减少进样循环时间，选择微升增强进样模式进行100次进样的保留时间和峰面积重现性实验，这时需要使用100 μL 的样品定量环。

二极管阵列检测器：采用紫外-可见波长检测，使用带有集成ExionLC 2.0二极管阵列探测器HS的ExionLC™ 2.0+系统实验，配备的流通池规格为：10 mm，10 μL ，300 bar。Supelco 高效液相色谱梯度系统诊断混合物，检测器在254 nm下工作。全二极管阵列检测器数据采集的频率为10 Hz。

质谱方法：数据采集是使用Analyst™软件1.7.1及ExionLC™ 2.0系统。值得提示的是，ExionLC 2.0系统也是可以被SCIEX OS软件完全支持数据采集和操作。

数据处理：二极管阵列检测器的数据处理，采集数据使用SCIEX OS软件2.0.1，同时，进行标准曲线、精密度和准确度统计和数据生成。

流速的精密度

图1显示了100个连续进样样品的叠加色谱图，SCIEX ExionLC 2.0+系统进行快速分离、78秒洗脱梯度运行系统压力为1100 bar时比较保留时间。如图2所示，在实验不同洗脱阶段的100次进样每种分析物的保留时间精密RSD小于0.15%RSD。对于测试的化合物，超过100次进样的保留时间最大差别少于0.3秒。

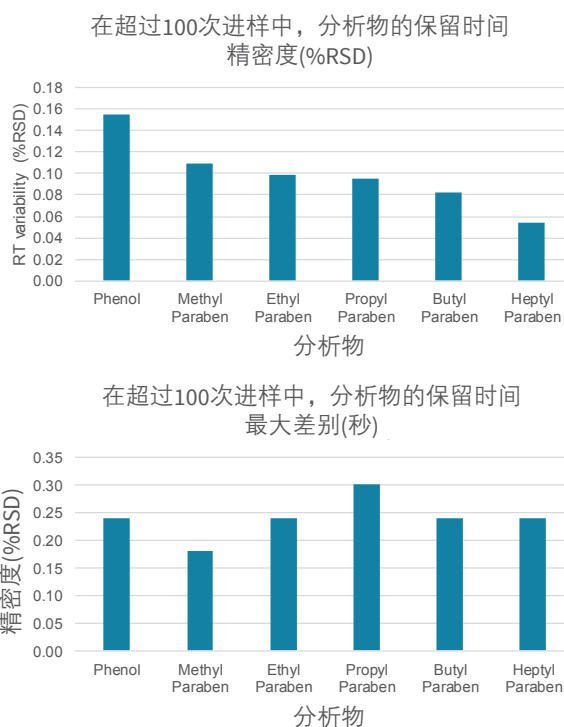


图2. 高压方法的流速精密度。描述了100次进样中每种分析物的保留时间变异性 (%RSD)，所有分析物的RSD均低于0.15% (顶部)。这可解释为应用高压方法 (1100 bar) 分离，100次进样这些分析物 (底部) 的保留时间差别少于0.3秒。

使用相同的梯度洗脱方法，重复进行流速精密度测定，但将1.8 μm 粒径色谱柱替换为飞诺美 Synergi 4 μm Fusion RP 2 x 50 mm 色谱柱，产生较低的压力条件。允许的低压力方法应用于高压系统的性能研究，运行最低压力为110 bar (1600 psi)。

表 1. 低压力测试时，研究保留时间精密度。

	Phenol	Methyl Paraben	Ethyl Paraben	Propyl Paraben	Butyl Paraben	Heptyl Paraben
平均保留时间	0.62	0.77	0.90	1.02	1.12	1.35
保留时间的标准偏差	0.0008	0.0007	0.0007	0.0006	0.0006	0.0006
保留时间的标准偏差%	0.1236	0.0959	0.0730	0.0632	0.0544	0.0462
最大偏差 (秒)	0.22	0.22	0.19	0.24	0.18	0.24

图3显示了100个连续进样的样品的叠加色谱图，在常规、较低的压力条件下运行[110 bar (1600 psi)]，SCIEX ExionLC 2.0+系统保留时间稳定性测试。

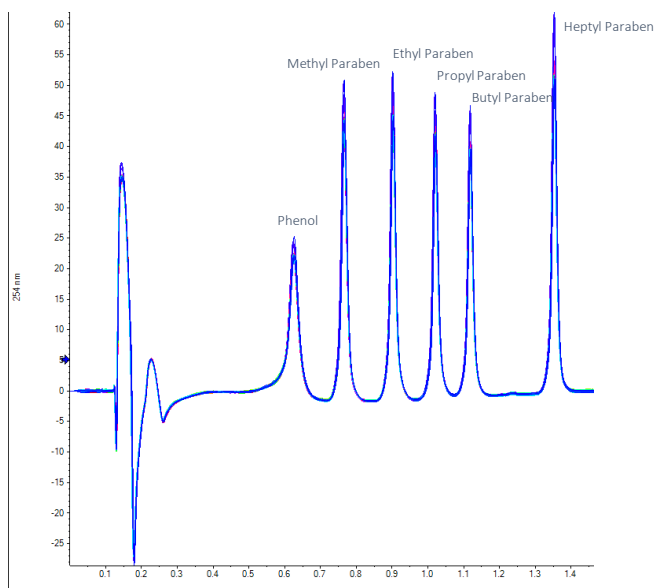


图3. 低压条件下保留时间的精密度。在 110 bar (1,600 psi)条件下使用 ExionLC™ 2.0+系统检测，重复注射100次Supelco 高效液相色谱梯度诊断混合物，重叠紫外可见信号图。保留时间精密度良好，100次进样保留时间重现性RSD小于0.12%。

表1 显示了SCIEX ExionLC 2.0+系统在 110 bar (1,600 psi)下运行时，100次进样的保留时间变化结果注射和流速精密度。在实验梯度的不同洗脱阶段的每种分析物保留时间的精密度相对标准偏差RSD均小于0.12%。对于每个化合物来说，100次进样中保留时间最大差别少于0.3秒。

结果表明，SCIEX ExionLC 2.0+系统在压力低至110 bar条件下使用，对相泵的保留时间稳定性没有不利影响。这可以证明，

SCIEX ExionLC 2.0+系统在采用亚2 μ m柱颗粒填料时，可以用于超高压液相色谱工作流程，采用较大粒径的色谱柱时，可以用于常规低压方法检测。

在这些实验中，使用微升增强进样模式，确保系统样品不会超载。进样顺序经过优化，因此进样时间不会超过其他进样模式，可在17秒内完成进样。

进样的线性和精密度

使用一体化的ExionLC 2.0二极管阵列检测器HS分析化合物混合物。实现了很好成分分离（图4）。0.5和5 μ L之间小体积重复进样（n=5），以研究10 μ L样品环和半环进样模式。根据峰面积对应的Supelco 高效液相色谱梯度诊断混合物中各成分的进样体积，进行测量和绘图。

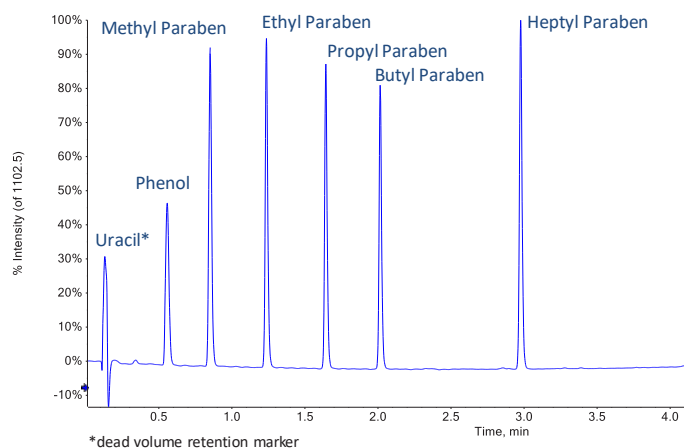


图4. 高效液相色谱诊断混合物组分的高质量分离。显示了本进样实验（5 μ L注射量）中的七个化合物，在254 nm处的紫外可见吸收。

* 尿嘧啶,死体积保留标记物

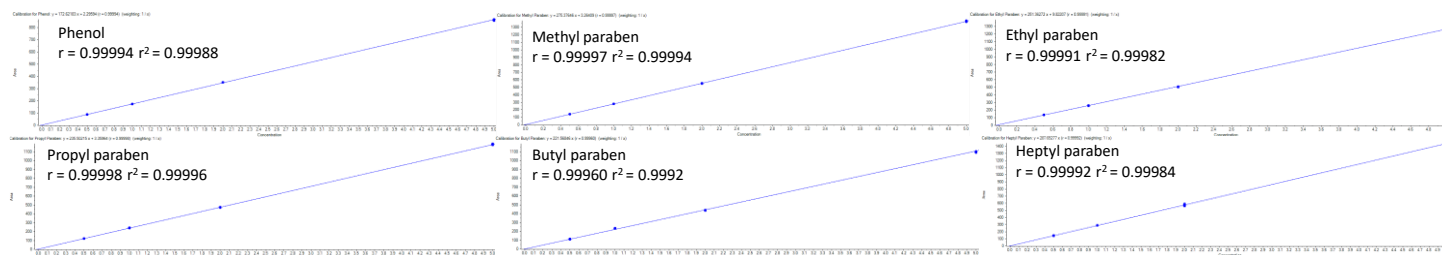


图5. 进样线性。展示了高效液相色谱梯度系统诊断混合物在0.5和5 μL 之间进行重复进样（ $n=5$ ）。使用回归分析线性相关系数（ r ）大于0.999。

图5显示了所有化合物的回归分析线性相关系数（ r ）均大于0.999。

还根据这些重复数据计算了所有不同进样量的进样重现性。可以观察到即使进样量非常低，方差也非常低。图6显示所有进样体积的标准偏差都低于1%。

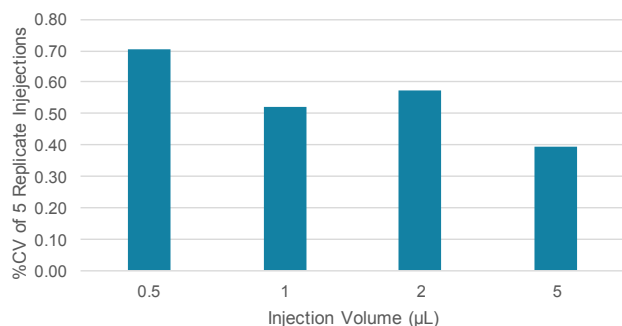


图6. 进样精密性。梯度洗脱系统诊断混合物在一系列小体积进样条件进行重复进样，计算进样重现性。所有进样体积标准偏差CV均小于1%。

结论

ExionLC™ 2.0+系统是一个灵活而稳健的超高效液相色谱（UHPLC）系统，适用于当今具有挑战性的液相色谱质谱联用分析工作流程。

- 在运用多种分析物和基于时间Scheduled MRM™方法进行分析时，保留时间精密性是至关重要的。使用快速梯度分离（小于90秒），ExionLC 2.0+系统可以对测试中的分析物，提供高流速精密性相对标准偏差RSD小于0.15%。
- 采用高压ExionLC 2.0+系统，高性能液质分析工作流程可以通过高压和低压应用实现。
- 自动进样器的高精密度和高准确度也是定量实验中必不可少的。如本文所示，该系统应用10 μL 样品定量环和半环进样模式时，在不同进样体积（0.5–5 μL ）测试范围内，可实现进样精密度的标准偏差CV小于1%。进样器进样良好的线性也得到了验证（经回归分析所有分析物线性相关系数（ r ）均大于0.999）。

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在英国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2021 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-12671-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话：010-5808-1388
传真：010-5808-1390
全国咨询电话：800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话：021-2419-7200
传真：021-2419-7333
官网：sciex.com.cn

广州分公司
广州市天河区珠江西路15号
珠江城1907室
电话：020-8510-0200
传真：020-3876-0835
官方微信：SCIEX-China