



Anatomia delle colonne LC per PFAS: scegli la fase, le dimensioni e il tipo di particelle migliori!

Se il tuo laboratorio è uno dei tanti che ogni giorno effettuano analisi di sostanze per- e polifluoroalchiliche (PFAS) nei campioni saprai bene che la consapevolezza e l'interesse in questo ambito sono sempre maggiori, così come la comprensione circa la diffusione, la persistenza e i potenziali rischi per la salute connessi a queste sostanze chimiche "eterne". Con l'aumento dell'interesse cresce anche la necessità di metodi analitici veloci, accurati e precisi. Questo fattore è un traino per lo sviluppo di metodi migliori e le scelta della colonna LC rappresenta la base per arrivare a un approccio più adatto, particolarmente importante se si considera l'ampliamento dell'elenco dei PFAS monitorati, che comprendono composti a catena alchilica sempre più corta. In questo articolo analizzeremo le proprietà da tenere assolutamente in considerazione nella scelta di una colonna LC per le analisi dei PFAS.

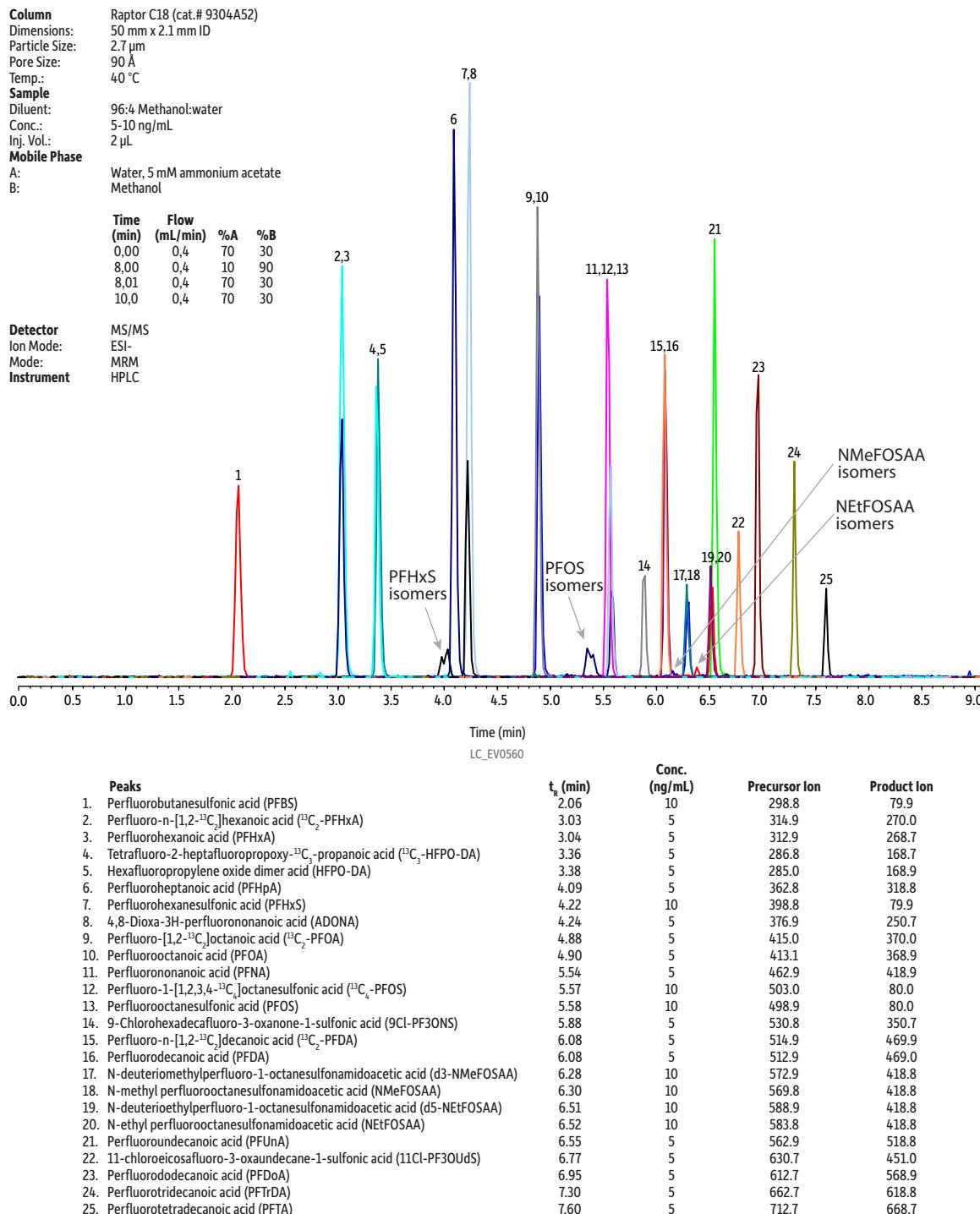
Selezionare la fase e la dimensione della colonna

L'individuazione di una fase stazionaria efficace è il primo passo da compiere per capire quale colonna LC per PFAS utilizzare. Per questa scelta, è fondamentale sapere qual è la gamma di PFAS di interesse.

PFAS a catena corta e superiori

Quando si parla di analisi di PFAS a catena corta (C4-C6) e lunga, dal confronto che abbiamo effettuato tra le diverse fasi chimiche è emerso che la fase C18 presenta la migliore selettività. Quando la catena alchilica delle molecole di PFAS si allunga, aumentano le interazioni tra le catene e il ligando C18, generando un ottimo meccanismo di ritenzione e risoluzione. La ritenzione è sufficientemente forte da consentire l'utilizzo di una colonna relativamente breve e stretta per risolvere gli analiti target in modo veloce ed efficace. L'esempio nella Figura 1 mostra che una colonna Raptor C18 da 50 x 2,1 mm eluisce e separa facilmente i composti di interesse rispettando tutti i criteri del metodo EPA 537.1 per l'analisi dell'acqua potabile in meno di 8 minuti (tempo di analisi totale: 10 minuti).

Figura 1: La colonna Raptor C18 da 50 x 2,1 mm è una scelta straordinaria: rispetta tutti i criteri del metodo 537.1 in un ciclo rapido con tempo totale di soli 10 minuti.



PFAS a catena ultra-corta

Con la messa al bando dei PFAS C8 è iniziata la commercializzazione di altri composti a catena alchilica più corta, e dal momento che i PFAS di interesse sono di più, i composti con catena da meno di quattro atomi di carbonio, o “ultra-corta” (C2 e C3), stanno riscuotendo un’attenzione sempre maggiore. Una catena di carbonio più corta aumenta l’influenza della testa polare, riducendo così la ritenzione di una colonna C18 che presenta un meccanismo di ritenzione basato principalmente sull’interazione idrofobica.

Per i composti PFAS C3 come l’acido perfluoropropionico (PFPrA) e l’acido perfluoropropansolfonico (PFPrS), scegliendo una colonna di dimensioni adeguate una fase C18 sarà comunque efficace. Nella Figura 2, per esempio, una colonna Raptor C18 da 100 x 3 mm mostra prestazioni eccezionali, incorporando facilmente PFAS C3 in un’analisi rapida di 11 minuti.

Figura 2: La fase stazionaria Raptor C18 separa efficacemente i PFAS a catena corta, ma occorre aumentare le dimensioni della colonna per garantire una ritenzione adeguata.

Column Raptor C18 (cat.# 9304A1E)
Dimensions: 100 mm x 3 mm ID

Particle Size: 2.7 μ m
Guard Column: 90 \AA

Temp.: 40 °C

Sample
Conc.: 80 ppt
Inj. Vol.: 10 μ L

Mobile Phase
A: Water, 5 mM ammonium acetate
B: Methanol

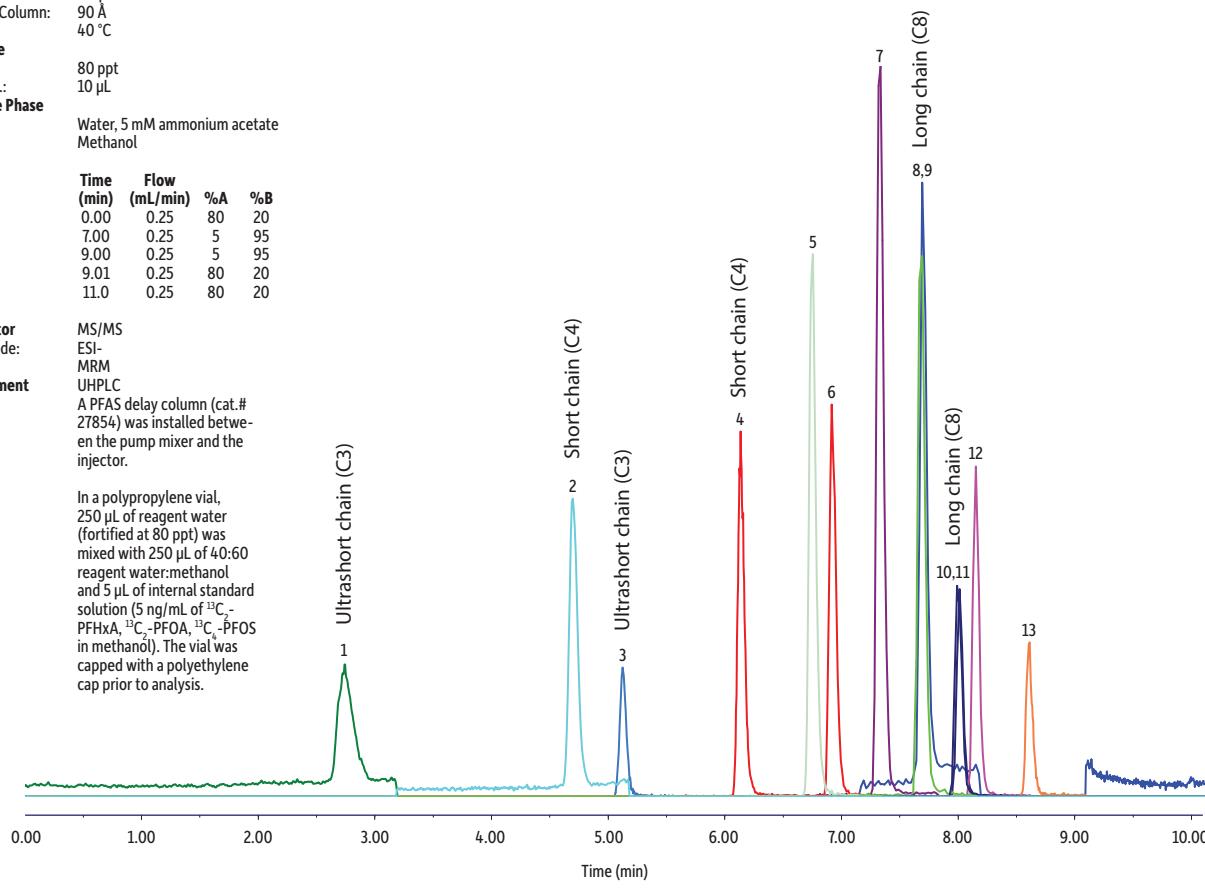
Time (min)	Flow (mL/min)	%A	%B
0.00	0.25	80	20
7.00	0.25	5	95
9.00	0.25	5	95
9.01	0.25	80	20
11.0	0.25	80	20

Detector MS/MS
Ion Mode: ESI-
Mode: MRM

Instrument UHPLC

Notes
A PFAS delay column (cat.# 27854) was installed between the pump mixer and the injector.

In a polypropylene vial, 250 μ L of reagent water (fortified at 80 ppt) was mixed with 250 μ L of 40:60 reagent water:methanol and 5 μ L of internal standard solution (5 ng/mL of $^{13}\text{C}_2$ -PFHxA, $^{13}\text{C}_2$ -PFOA, $^{13}\text{C}_4$ -PFOS in methanol). The vial was capped with a polyethylene cap prior to analysis.



Peaks

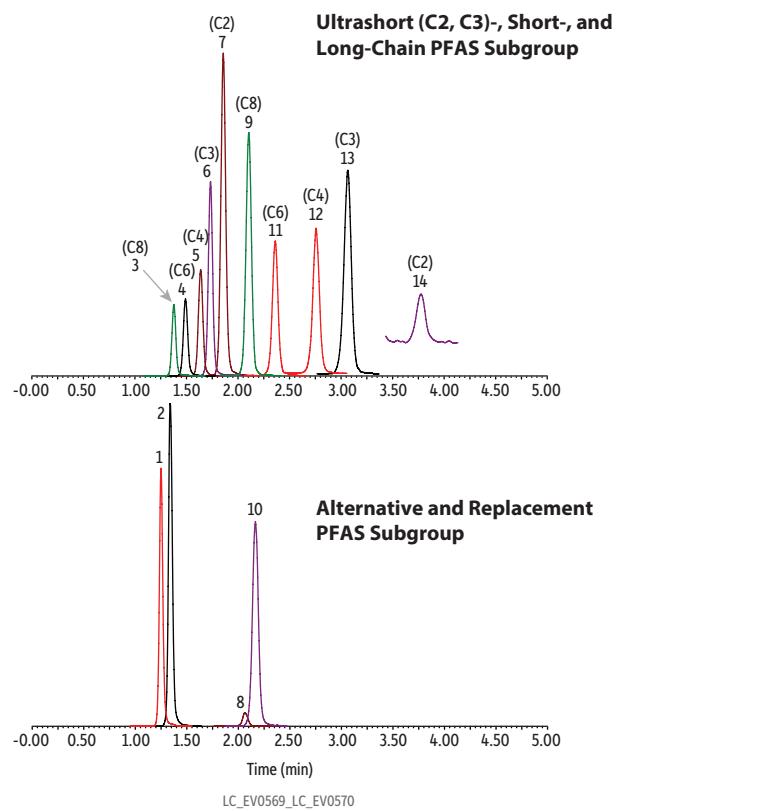
1. Perfluoropropanoic acid (PFPrA)
2. Perfluorobutanoic acid (PFBA)
3. Perfluoropropanesulfonic acid (PFPrS)
4. Perfluorobutanesulfonic acid (PFBS)
5. Perfluoro-*n*-[1,2- $^{13}\text{C}_2$]hexanoic acid ($^{13}\text{C}_2$ -PFHxA)
6. Hexafluoropropylene oxide-dimer acid (HFPO-DA)
7. Ammonium 4,8-dioxa-3H-perfluorononanoate (ADONA)
8. Perfluoroctanoic acid (PFOA)
9. Perfluoro-[1,2- $^{13}\text{C}_2$]octanoic acid ($^{13}\text{C}_2$ -PFOA)
10. Perfluorooctanesulfonic acid (PFOS)
11. Perfluoro-[1,2,3,4- $^{13}\text{C}_4$]octanesulfonic acid ($^{13}\text{C}_4$ -PFOS)
12. 9-Chlorohexadecafluoro-3-oxanonane-1-sulfonate (9Cl-PF3ONS)
13. 11-Chloroeicosfluoro-3-oxanonane-1-sulfonate (11Cl-PF30UDs)

Conc. (ng/L)

t _r (min)	Precursor Ion	Product Ion
2.74	80	162.9 119.0
4.69	80	212.8 169.0
5.13	80	248.8 79.6
6.14	80	298.8 79.9
6.75	50	314.9 270.0
6.92	80	285.0 168.9
7.33	80	376.9 250.7
7.70	80	413.1 368.9
7.70	50	415.0 370.0
8.01	80	498.8 80.0
8.01	50	503.0 80.0
8.15	80	530.8 350.7
8.61	80	630.7 451.0

Se nell'elenco dei composti monitorati compaiono dei PFAS C2 (per esempio, l'acido trifluoroacetico) è necessaria una chimica di fase diversa, che abbia come target il gruppo polare di una molecola PFAS. Il passaggio da una colonna C18 caratterizzata principalmente da interazioni idrofobiche a una Raptor Polar X, contraddistinta da una fase stazionaria che consente sia la modalità di ritenzione HILIC che quella a scambio ionico, permette la ritenzione di PFAS a catena ultra-corta. Oltre ai PFAS a catena ultra-corta, la colonna Raptor Polar X è in grado di trattenere e separare anche composti PFAS a catena corta, tradizionali e alternativi nella stessa analisi, offrendo così il metodo più completo per l'analisi singola dei PFAS, come illustrato nella Figura 3.

Figura 3: Le colonne Raptor Polar X utilizzano svariate modalità di ritenzione e sono quindi la soluzione vincente per analizzare i PFAS a catena ultra-corta, tradizionali e alternativi con un unico metodo.



Peaks	t_r (min)	Conc. (ng/L)	Precursor Ion	Product Ion
1. 11-Chloroecosafluoro-3-oxanonane-1-sulfonate (11CL-PF30UDS)	1.25	400	630.78	450.80
2. 9-Chlorohexadecafluoro-3-oxanonane-1-sulfonate 9Cl-PF30NS	1.34	400	530.78	350.85
3. Perfluorooctanesulfonic acid (PFOS)	1.38	400	498.84	79.97
4. Perfluorohexanesulfonic acid (PFhXS)	1.49	400	398.90	79.97
5. Perfluorobutanesulfonic acid (PFBS)	1.64	400	298.97	79.97
6. Perfluoropropanesulfonic acid (PFPrS)	1.73	400	248.97	79.98
7. Perfluoroethanesulfonic acid (PFEtS)	1.86	400	198.98	79.92
8. Hexafluoropropylene oxide dimer acid (HFPO-DA)	2.06	400	284.97	168.92
9. Perfluorooctanoic acid (PFOA)	2.11	400	412.90	368.91
10. Ammonium 4,8-dioxa-3H-perfluorononanoate (ADONA)	2.15	400	376.90	250.93
11. Perfluorohexanoic acid (PFHxA)	2.36	400	312.97	268.90
12. Perfluorobutanoic acid (PFBA)	2.76	400	212.97	168.97
13. Perfluoropropionic acid (PFPrA)	3.06	400	163.03	119.01
14. Trifluoroacetic acid (TFA)	3.77	400	113.03	69.01

Column	Raptor Polar X (cat.# 9311A52)	Mobile Phase	Water, 10 mM ammonium formate, 0.05% formic acid
Dimensions:	50 mm x 2.1 mm ID	A:	60:40 Acetonitrile:methanol, 0.05% formic acid
Particle Size:	2.7 μ m	B:	
Temp.:	40 °C		
Sample		Time (min)	Flow (mL/min)
Diluent:	50:50 Water:methanol	0.00	0.5
Conc.:	400 ng/L	8.00	0.5
Inj. Vol.:	10 μ L		
		%A	%B
		15	85
		15	85
Detector	MS/MS		
Ion Mode:	ESI-		
Mode:	MRM		
Instrument	UHPLC		

Selezionare il tipo e la dimensione delle particelle della colonna

Oltre alla chimica della fase e alle dimensioni della colonna, occorre fare delle scelte anche circa la dimensione e il tipo di particelle. In sostanza, la scelta più versatile è quella che ricade su particelle superficialmente porose (SPP) da 2,7 µm, come quelle presenti nelle colonne Raptor. Le colonne LC per PFAS realizzate con queste particelle permettono una cromatografia efficiente tanto quanto le colonne con particelle totalmente porose (FPP) da meno di 2 µm, ma senza la pressione ultra-elevata che le caratterizza e che consente al laboratorio di utilizzare strumenti UHPLC o HPLC e ottenere analisi rapide e affidabili.

Tuttavia, la scelta della dimensione e del tipo di particelle avrà un effetto maggiore o minore a seconda della configurazione dello strumento. Per esempio, i laboratori che utilizzano strumenti HPLC tradizionali e impiegano regolarmente colonne FPP da 5 µm probabilmente noteranno un miglioramento sorprendente con il passaggio a una colonna SPP, a prescindere dalla dimensione delle particelle. Le colonne SPP permettono di ottenere facilmente una maggiore efficienza cromatografica e migliori forme del picco pur operando sempre nella regione di pressione della maggior parte degli strumenti HPLC. Corse più rapide con gli stessi strumenti: niente di meglio per i tanti laboratori che puntano ad aumentare la produttività dei campioni senza dover sostenere i costi ingenti di uno strumento UHPLC.

Per i laboratori che già utilizzano strumenti UHPLC, la dimensione delle particelle, soprattutto per le colonne impaccate SPP, non fa molta differenza in termini di efficienza e velocità di analisi. La Figura 4 illustra l'effetto della dimensione delle particelle utilizzando tre colonne SPP Raptor e una serie di PFAS su un sistema UHPLC.

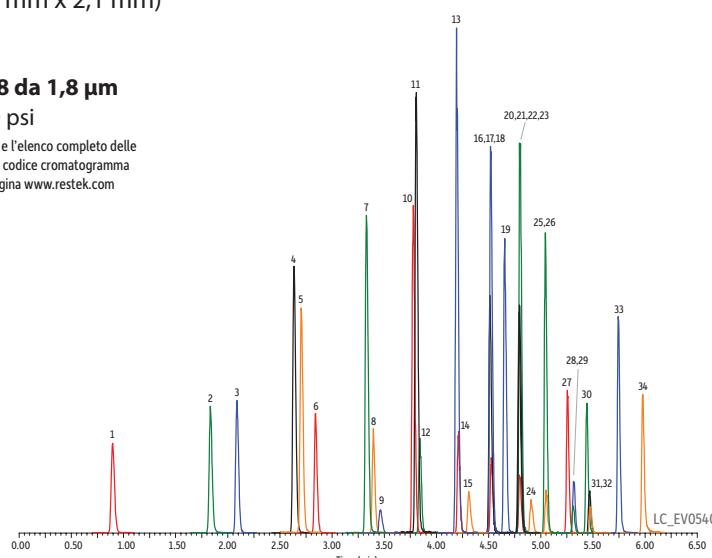
Sebbene i picchi più stretti siano quelli ottenuti sulla colonna con particelle da 1,8 µm, come previsto dai principi cromatografici generali, non si osserva uno scostamento significativo tra l'efficienza della colonna da 5 e 1,8 µm. È invece di rilievo la differenza a livello di contropressione generata nell'ottenere questi risultati molto simili, utilizzando per le colonne con particelle da 5 e 2,7 µm delle pressioni che rientrano nel range degli strumenti HPLC tradizionali. Con una colonna LC per PFAS impaccata con queste particelle è possibile ottenere le prestazioni tipiche dell'UHPLC senza la pressione che caratterizza questo sistema.

Figura 4: Le colonne SPP offrono prestazioni cromatografiche simili con particelle di dimensioni diverse, ma scegliendo colonne con particelle da 2,7 o 5 µm è possibile mantenere la contropressione entro i limiti dei sistemi HPLC tradizionali. (Tutte le colonne misurano 50 mm x 2,1 mm)

Raptor C18 da 1,8 µm

6500–8000 psi

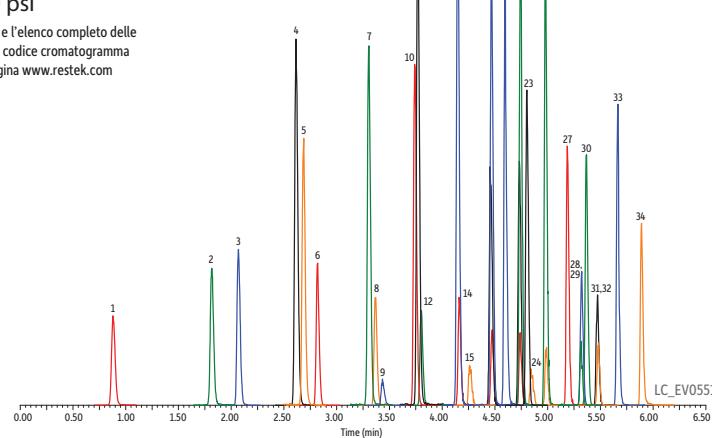
Per la lista dei picchi e l'elenco completo delle condizioni inserisci il codice cromatogramma LC_EV0540 nella pagina www.restek.com



Raptor C18 da 2,7 µm

4000–5500 psi

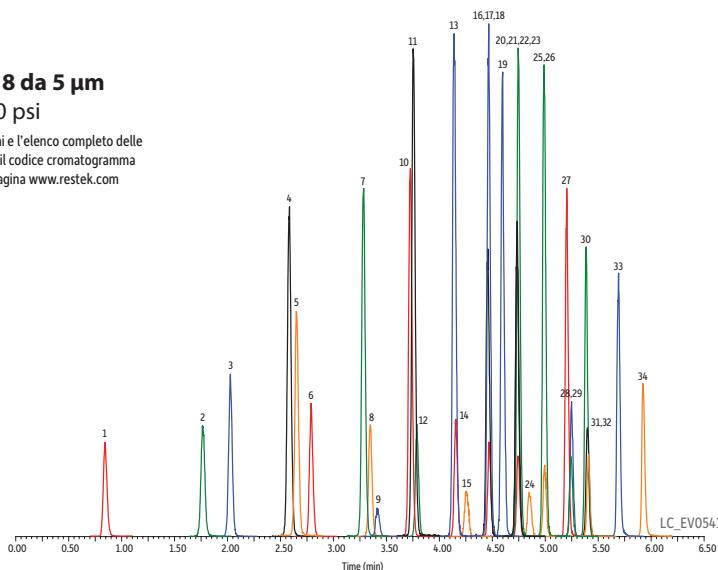
Per la lista dei picchi e l'elenco completo delle condizioni inserisci il codice cromatogramma LC_EV0551 nella pagina www.restek.com



Raptor C18 da 5 µm

2000–3500 psi

Per la lista dei picchi e l'elenco completo delle condizioni inserisci il codice cromatogramma LC_EV0541 nella pagina www.restek.com



Una colonna LC per PFAS con particelle SPP è l'asso nella manica per massimizzare l'efficienza, che spesso si traduce in tempi di analisi rapidi, pur mantenendo più bassa possibile la contropressione degli strumenti. Tuttavia, molti laboratori che da tempo utilizzano le colonne FPP potrebbero essere restii ad abbandonarle. La buona notizia è che una FPP può essere utilizzata anche per analizzare con successo i PFAS. L'area superficiale e la carica di carbonio più elevate, tipiche di una colonna FPP come la Force C18, consentono una maggiore ritenzione cromatografica rispetto a una colonna SPP (Raptor C18) con particelle di dimensioni simili (Figura 5).

Conclusioni

Nella scelta di una colonna LC per PFAS, una SPP Raptor da 2,7 µm offrirà una ritenzione eccellente, tempi di analisi ridotti e compatibilità con gli strumenti UHPLC e HPLC. La scelta della fase stazionaria dipende dalla gamma di PFAS oggetto di monitoraggio, e una colonna Raptor C18 è un'alternativa eccellente per i PFAS con lunghezza di catena fino a C3. Tuttavia, una colonna Raptor Polar X rappresenta la scelta più indicata per ottenere l'analisi singola più completa dei PFAS, che comprende quelli a catena ultra-corta (C2-C3) e superiori, come pure i PFAS alternativi.

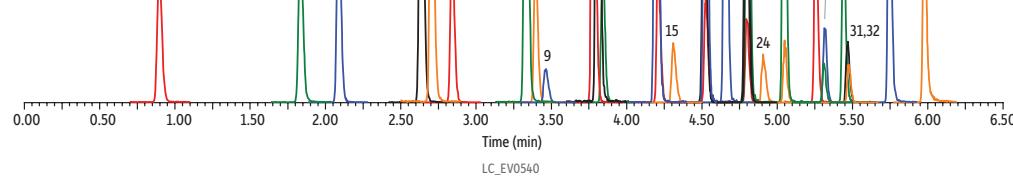
Ricordiamo che per un'analisi in tracce con una colonna Raptor C18 è possibile ridurre i falsi positivi o risposte elevate aggiungendo una PFAS delay column. L'impiego di una PFAS delay column consentirà di eliminare contaminanti PFAS di fondo connessi agli strumenti, che possono coeluire con gli analiti campione. Per maggiori informazioni su questo prodotto complementare e sulle modalità di utilizzo leggi l'articolo EVAR3001-UNV alla pagina www.restek.com.

Figura 5: Se si predilige la colonna FPP, le colonne Force C18 offrono separazioni efficaci per l'analisi dei PFAS. (Tutte le colonne misurano 50 mm x 2,1 mm)

Raptor C18 da 1,8 µm

6500–8000 psi

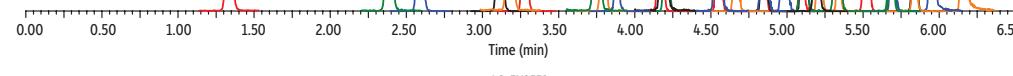
Per la lista dei picchi e l'elenco completo delle condizioni inserisci il codice cromatogramma LC_EV0540 nella pagina www.restek.com



Force C18 da 1,8 µm

7550–9250 psi

Per la lista dei picchi e l'elenco completo delle condizioni inserisci il codice cromatogramma LC_EV0552 nella pagina www.restek.com



Colonne LC Raptor C18 (USP L1)

- Una colonna C18 end-capped tradizionale ideale per l'uso generico nella cromatografia a fase inversa.
- Utilizzabile in un ampio range di pH (2-8) a garanzia di risultati affidabili per applicazioni, matrici e composti di vario genere.
- Tra tutte le fasi Raptor disponibili, Raptor C18 è quella che offre la più alta ritenzione idrofobica.
- Fanno parte della Linea Restek di colonne LC Raptor, con silice core-shell SPP da 1,8 - 2,7 - 5 μm .

ID	Lunghezza	qtà	cat.#
Particelle da 1,8 μm			
2,1 mm	30 mm	cad.	9304232
	50 mm	cad.	9304252
	100 mm	cad.	9304212
	150 mm	cad.	9304262
3,0 mm	50 mm	cad.	930425E
	100 mm	cad.	930421E
Particelle da 2,7 μm			
2,1 mm	30 mm	cad.	9304A32
	50 mm	cad.	9304A52
	100 mm	cad.	9304A12
	150 mm	cad.	9304A62
	30 mm	cad.	9304A3E
3,0 mm	50 mm	cad.	9304A5E
	100 mm	cad.	9304A1E
	150 mm	cad.	9304A6E
	30 mm	cad.	9304A35
4,6 mm	50 mm	cad.	9304A55
	100 mm	cad.	9304A15
	150 mm	cad.	9304A65
	250 mm	cad.	9304575
Particelle da 5 μm			
2,1 mm	50 mm	cad.	9304552
	100 mm	cad.	9304512
	150 mm	cad.	9304562
	30 mm	cad.	930453E
3,0 mm	50 mm	cad.	930455E
	100 mm	cad.	930451E
	150 mm	cad.	930456E
	50 mm	cad.	9304555
4,6 mm	100 mm	cad.	9304515
	150 mm	cad.	9304565
	250 mm	cad.	9304575

PFAS Delay Column

- Intrappa i PFAS legati al sistema, evitando interferenze e garantendo un'analisi accurata delle tracce di PFAS nei campioni.
- Compatibilità universale; adatta per:
 - Qualsiasi HPLC o UHPLC fino a 15.000 psi (1034 bar);
 - Colonne analitiche sia FPP che SPP;
 - Tutte le fasi stazionarie.
- Elevata ritenzione dei PFAS legati al sistema, senza perdite per saturazione (breakthrough) anche con tempi di equilibratura prolungati.
- Installazione semplice con raccordi standard.

ID	Lunghezza	qtà	cat.#
Particelle da 5 μm			
2,1 mm	50 mm	cad.	27854



Categoria fase stazionaria: C18, octadecilsilossano (L1)

Tipo di ligando: C18 end-capped

Particelle: Silice superficialmente porosa (SPP o "core-shell") da 1,8 μm , 2,7 μm o 5 μm

Porosità: 90 Å

Carica di carbonio: 9% (1,8 μm), 7% (2,7 μm), 5% (5 μm)

End-Cap: sì

Area superficiale: 125 m^2/g (1,8 μm), 130 m^2/g (2,7 μm) o 100 m^2/g (5 μm)

Uso raccomandato: Range di pH: da 2,0 a 8,0

Temperatura massima: 80 °C

Pressione massima: 1034 bar/15.000 psi* (1,8 μm),

600 bar/8700 psi (2,7 μm); 400 bar/5800 psi (5 μm)

* Per ottimizzare la durata della colonna, si raccomanda di utilizzare una pressione massima di 830 bar/12.000 psi con particelle da 1,8 μm .

Vantaggi:

- Compatibilità con un'ampia gamma di fasi mobili, da moderatamente acide a neutre (pH da 2 a 8).
- Analisi rapide e affidabili per le applicazioni più diverse (bioanalisi, sicurezza alimentare, settore ambientale, ecc.)

La C18 è la scelta ideale:

- Per tutte le principali analisi in fase inversa.
- Quando si ricerca una maggiore ritenzione di composti idrofobici.



27854



Colonne LC Force C18 (USP L1)

La colonna Restek C18 per uso generico è una colonna tradizionale monomerica octadecilsilano adatta alle analisi di un'ampia gamma di composti da acidi a leggermente basici.

ID	Lunghezza	qtà	cat.#
Particelle da 1,8 µm			
2,1 mm	30 mm	cad.	9634232
	50 mm	cad.	9634252
	100 mm	cad.	9634212
3,0 mm	50 mm	cad.	963425E
	100 mm	cad.	963421E



23242

Vial da 2,0 mL a volume limitato, in propilene con filettatura di 9 mm

- Adatto a tutti gli autocampionatori vial da 2,0 mL, 12 x 32 mm.
- Compatibile con tutti i tappi con filettatura di 9 mm.
- Senza PTFE—ideale per l'analisi dei PFAS (per es., EPA 537) e altri metodi sensibili ai PFAS.

Nota: I vial e i tappi in propilene impediscono la contaminazione del campione da setti rivestiti in PTFE. Tuttavia, poiché i tappi in propilene non risigillano, dopo l'iniezione si verifica l'evaporazione. Non sono pertanto possibili iniezioni multiple dallo stesso vial.

Descrizione	Tipo	Volume	Colore	Dimensione	qtà	cat.#
Vial da 2,0 mL a volume limitato in propilene con filettatura di 9 mm	Filettatura di 9 mm	1,5 mL	Trasparente	12 x 32 mm	100 pz.	23242
	Filettatura di 9 mm	1,5 mL	Trasparente	12 x 32 mm	1000 pz.	23245
	Filettatura di 9 mm	700 µL	Trasparente	12 x 32 mm	100 pz.	23243
	Filettatura di 9 mm	700 µL	Trasparente	12 x 32 mm	1000 pz.	23246



23244

Tappi in polietilene da 2,0 mL con top solido da 9 mm

- Compatibili con tutti i vial con filettatura di 9 mm.
- Tappo perforabile solido e modellato da 10 mil.
- Senza PTFE—ideale per l'analisi dei PFAS (per es., EPA 537) e altri metodi sensibili ai PFAS.

Nota: I vial e i tappi in propilene impediscono la contaminazione del campione da setti rivestiti in PTFE. Tuttavia, poiché i tappi in propilene non risigillano, dopo l'iniezione si verifica l'evaporazione. Non sono pertanto possibili iniezioni multiple dallo stesso vial.

Descrizione	Tipo	Dimensione Tappi	Colore	qtà	cat.#
Tappi in polietilene da 2,0 mL con top solido di 9 mm	Filettatura	9 mm	Trasparente	100 pz.	23244
	Filettatura	9 mm	Trasparente	1000 pz.	23247



Cartucce SPE Resprep polimeriche e piastre da 96 pozzetti (fase inversa)

- Materiale polimerico composito, privo di silice, per dire addio alle interazioni secondarie indesiderate della silice, anche in presenza di composti basici.
- Alta area superficiale: maggiore capacità di carico rispetto ai sorbenti a base di silice.
- Stabilità in un ampio range di pH (0-14): non idrolizzano in condizioni estreme.

Descrizione	Impaccamento	Analiti raccomandati	Volume	qtà	cat.#
Cartuccia SPE Resprep polimerica	WAX (modalità mista, scambio anionico debole)	Acidi forti	1 mL, 30 mg	100 pz.	28467
	WAX (modalità mista, scambio anionico debole)	Acidi forti	3 mL, 60 mg	50 pz.	28468
	WAX (modalità mista, scambio anionico debole)	Acidi forti	6 mL, 150 mg	30 pz.	28469
	WAX (modalità mista, scambio anionico debole)	Acidi forti	6 mL, 500 mg	30 pz.	28470

Per domande sui prodotti Restek contattaci al numero 02/7610037 oppure via email all'indirizzo restek.italia@restek.com.

I brevetti e i marchi di fabbrica Restek sono di proprietà di Restek Corporation. (Per l'elenco completo, consulta www.restek.com/Patents-Trademarks.) Gli altri marchi di fabbrica citati nella letteratura Restek o sul relativo sito web sono di proprietà dei rispettivi titolari. I marchi registrati di Restek sono registrati negli Stati Uniti e possono essere registrati anche in altri Paesi. Se non desideri più ricevere le nostre pubblicazioni, puoi comunicarlo all'indirizzo restek.italia@restek.com.

© 2022 Restek Corporation. Tutti i diritti riservati.