



Gli effetti della scelta delle particelle LC sulle prestazioni della colonna: le particelle superficialmente porose da 1,8 μm (SPP) della linea Raptor per le analisi UHPLC

di Scott Grossman, Susan Steinike, Dan Li e Justin Steimling

È stato dimostrato che le particelle superficialmente porose (comunemente definite SPP o particelle “core-shell”) permettono di ottenere separazioni LC rapide ed efficienti. Queste particelle sono dotate di un nucleo solido e impermeabile avvolto da uno strato sottile e poroso di silice, che offre un'efficienza e una sensibilità significativamente maggiori rispetto alle particelle totalmente porose (FPP) tradizionali.

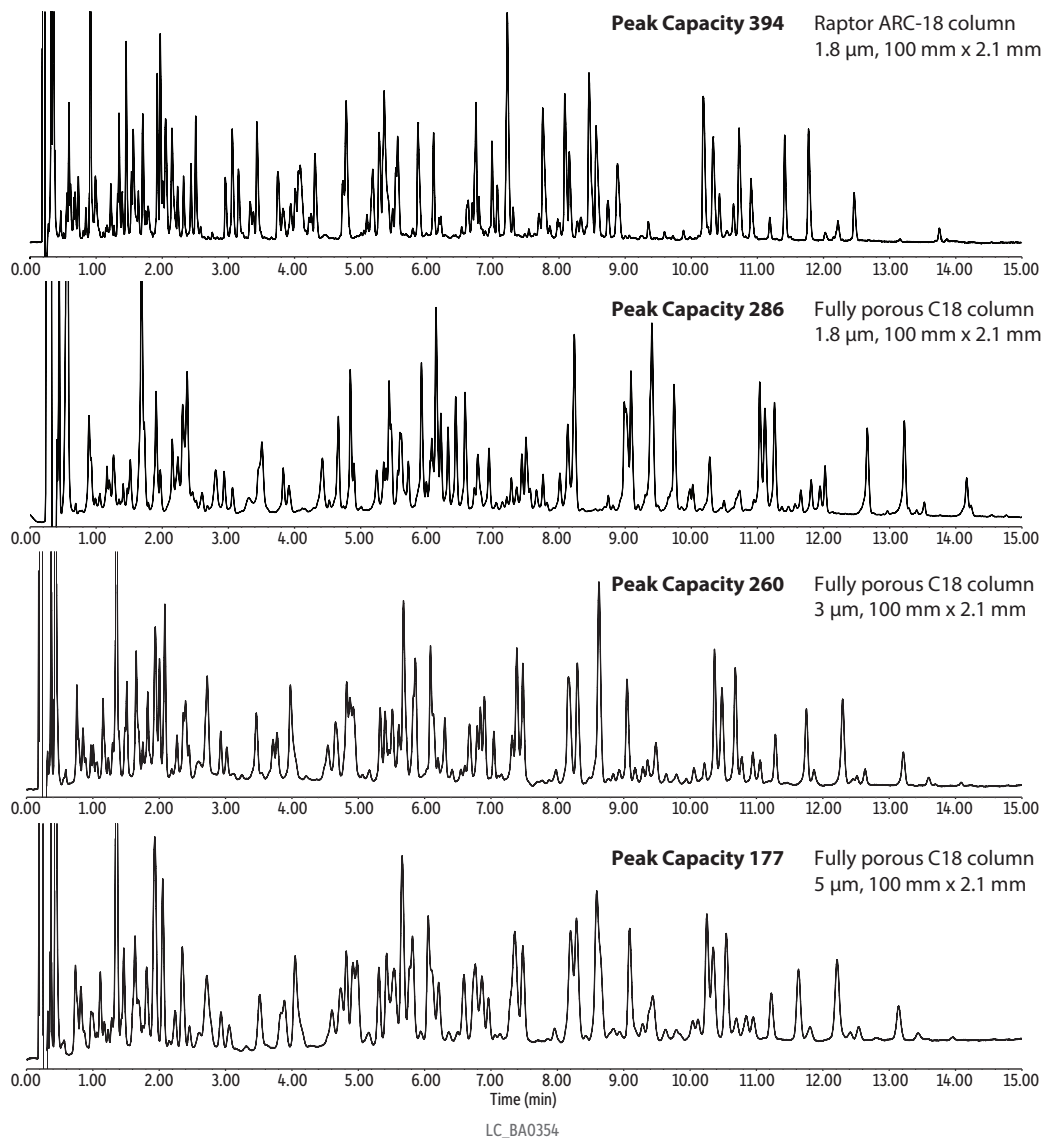
Al loro arrivo sul mercato, le colonne LC Raptor SPP hanno avuto successo per la loro selettività e capacità di aiutare i clienti a ottenere separazioni più rapide utilizzando gli strumenti HPLC esistenti. Con l'uscita delle colonne Raptor da 1,8 μm è ora possibile sfruttare le straordinarie prestazioni Raptor anche nelle analisi UHPLC. Questo cosa significa esattamente? In questa nota tecnica illustreremo i vantaggi dell'utilizzo delle colonne LC Raptor da 1,8 μm con gli strumenti UHPLC, soffermandoci sulla capacità di picco, la durata e la selettività della colonna.

Gestire la pressione: la capacità di picco

La capacità di picco è un importante indice dell'efficienza del sistema ed è definita dal numero di picchi che possono essere separati in un dato sistema e in determinate condizioni cromatografiche. Le colonne SPP Raptor da 1,8 μm offrono una capacità di picco eccezionale in condizioni UHPLC, superando di gran lunga le prestazioni delle particelle totalmente porose o superficialmente porose di diametro maggiore. Le colonne Raptor da 1,8 μm sono state progettate e approfonditamente testate per dimostrare di poter offrire capacità e risoluzione di picco di massimo livello, e quindi sono particolarmente adatte per le analisi complesse con strumenti UHPLC.

I campioni estremamente complessi analizzati per l'identificazione di proteine sconosciute, per esempio, richiedono un'efficienza molto elevata e, di conseguenza, una capacità di picco elevata. Come mostrato nella Figura 1, con l'analisi delle proteine digerite tramite tripsina, la selettività e la robustezza delle colonne Raptor, insieme a queste piccole particelle superficialmente porose da 1,8 μm progettate per un utilizzo ad alta pressione, permettono di adattare le condizioni cromatografiche al fine di produrre capacità di picco incredibilmente elevate con la strumentazione UHPLC.

Figura 1: Massimizzare l'efficienza e la capacità di picco, anche per campioni complessi, adottando le colonne Raptor da 1,8 µm con la strumentazione UHPLC.



Column Raptor ARC-18 (cat.# 9314212)
Dimensions: 100 mm x 2.1 mm ID
Particle Size: 1.8 µm
Pore Size: 90 Å
Temp.: 60 °C
Sample
Diluent: 0.1% TFA in water
Conc.: 1,750 µg/mL total BSA concentration before digestion
Inj. Vol.: 10 µL

Mobile Phase
A: 0.1% Trifluoroacetic acid in water
B: 0.1% Trifluoroacetic acid in acetonitrile

Time (min)	%A	%B
0.00	97	3
15	65	35
18	65	35

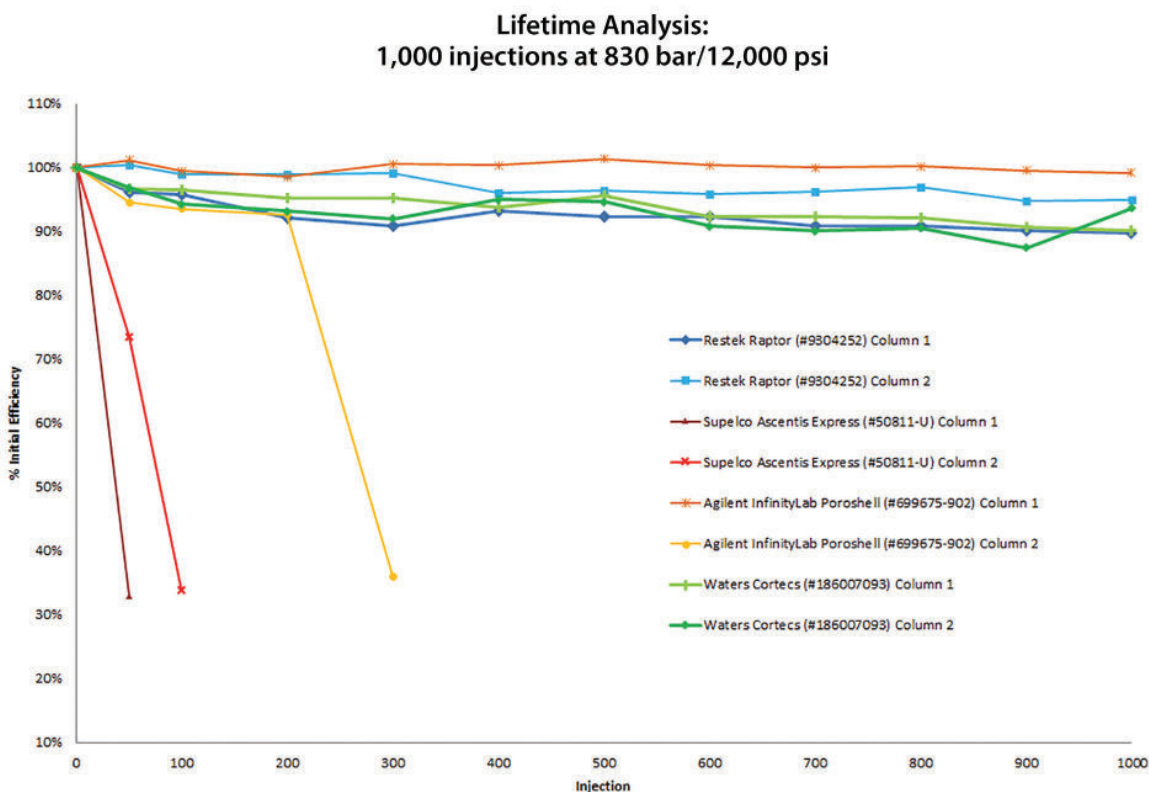
Detector PDA @ 207 nm
Instrument UHPLC

Notes A flow rate of 1.1 mL/min was used for all columns, except for the 1.8 µm fully porous column. The flow rate used for that column was 0.8 min/mL, in order to prevent excessive backpressure.

Gestire la pressione: la durata della colonna

I laboratori a elevata produttività richiedono prestazioni affidabili per ogni corsa. In breve tempo, le robuste colonne Raptor da 2,7 e 5 μm si sono affermate per la loro lunga durata, offrendo agli analisti l'affidabilità necessaria per impostare lunghe sequenze di campioni con gli strumenti HPLC senza temere di perdere produttività o dover effettuare rielaborazioni. Prima di essere lanciate con il marchio Raptor, queste nuove colonne da 1,8 μm sono state ampiamente testate (Figura 2) per dimostrare che tanto la loro chimica di fase quanto le tecniche di impaccamento e l'hardware riuscissero a sopportare le rigide condizioni UHPLC, corsa dopo corsa, colonna dopo colonna.

Figura 2: Confrontando le varie colonne C18 da 50 mm x 2,1 mm < 2 μm , le Raptor da 1,8 μm spiccano per prestazioni UHPLC sempre affidabili oltre le 1000 iniezioni a 12.000 psi, ogni volta eguagliando o superando le prestazioni dei competitor.

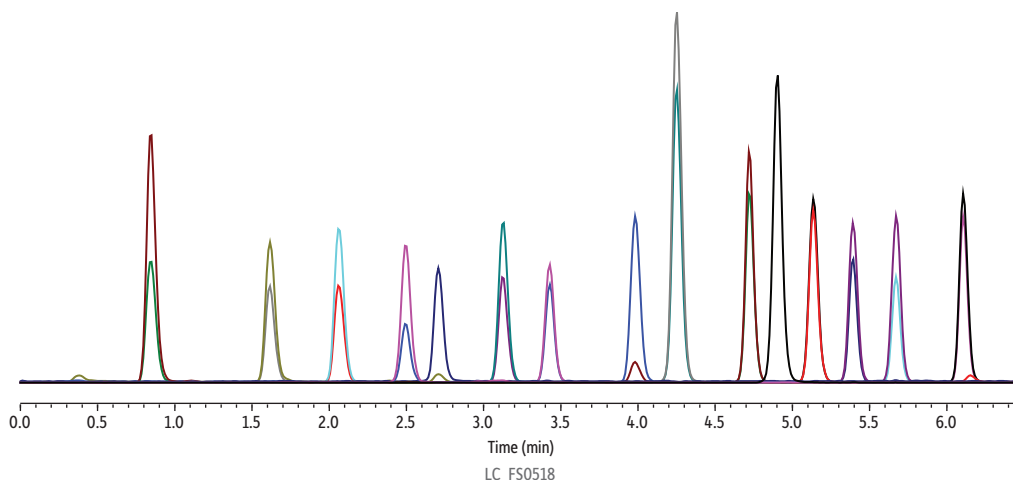


Gestire la pressione: la selettività

La maggiore pressione dell'UHPLC non incide necessariamente sulla selettività, ma ciò non garantisce che tutte le colonne UHPLC siano in grado di gestire i tuoi elenchi di composti con risultati accettabili. Le colonne LC Raptor coniugano la velocità SPP con la selettività della tecnologia USLC, offrendo così il potere di separazione delle fasi stazionarie Restek associato alla velocità, la capacità di picco e l'affidabilità delle colonne Raptor, il tutto in una particella più piccola che fornisce un'efficienza maggiore in ambiente UHPLC.

Per esempio, grazie all'innovativa fase bifenilica Restek testata nel tempo, applicata a particelle Raptor da 1,8 μm e utilizzata in condizioni UHPLC (Figura 3), è possibile ottenere separazioni complesse in tempi di analisi più rapidi per una maggiore produttività di campioni. Molte delle analisi che conduciamo influiscono sulla salute e la sicurezza delle persone; nel caso in esame, il bisfenolo A e i suoi numerosi analoghi rappresentano un rischio elevato per la salute. È fondamentale ottenere risultati accurati il più velocemente possibile: utilizzando la colonna LC Raptor altamente selettiva con particelle da 1,8 μm sarà semplicissimo, anche senza formulazioni di fasi mobili complicate.

Figura 3: La velocità, la capacità di picco e l'affidabilità delle colonne SPP Raptor si prestano alla UHPLC con tutta la selettività delle fasi USLC di Restek. In questo esempio la colonna Raptor bifenilica da 1,8 µm risolve quindici composti bisfenolici alla linea di base utilizzando fasi mobili semplici in 8 minuti!



Peaks	Conc.				
	tr (min)	(ng/mL)	Precursor Ion	Product Ion	Product Ion
1. Bisphenol S	0.84	5.00	249.2	108.1	92.1
2. Bisphenol F	1.62	350	199.3	93.1	105.1
3. Bisphenol E	2.06	100	213.3	198.3	197.4
4. Bisphenol A	2.50	100	227.3	212.3	133.1
5. Bisphenol AF	2.71	2.00	335.2	265.3	177.3
6. Bisphenol B	3.13	100	241.3	212.4	211.3
7. Bisphenol C	3.43	350	255.3	240.4	147.3
8. Bisphenol AP	3.98	25.0	289.3	274.3	273.3
9. Bisphenol Z	4.25	250	267.2	173.4	145.2
10. Bisphenol G	4.72	250	311.2	295.4	296.4
11. Bisphenol FL	4.90	50.0	348.8	256.2	-
12. Bisphenol BP	5.14	50.0	351.2	273.3	274.3
13. Bisphenol M	5.39	15.0	345.2	330.3	251.4
14. Bisphenol P	5.67	50.0	345.2	330.4	315.3
15. Bisphenol PH	6.11	350	379.2	209.4	364.4

Column Raptor Biphenyl (cat.# 9309252)
Dimensions: 50 mm x 2.1 mm ID
Particle Size: 1.8 µm
Pore Size: 90 Å
Temp.: 25 °C
Sample
Diluent: 75:25 Water:methanol
Conc.: 2.00-350 ng/mL
Inj. Vol.: 2 µL
Mobile Phase
A: Water
B: Methanol

Time (min)	Flow (mL/min)	%A	%B
0.00	0.45	50	50
6.50	0.45	10	90
6.51	0.45	50	50
8.00	0.45	50	50

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

Conclusioni

Da anni le colonne Raptor offrono agli utenti HPLC un'efficienza più elevata, analisi più rapide e un'affidabilità eccezionale. Ora le particelle superficialmente porose, le chimiche selettive di fase e la qualità imbattibile di queste colonne sbarca nel mondo UHPLC. La prima domanda che molti analisti si pongono quando pensano agli strumenti UHPLC riguarda la pressione. Nello specifico: le particelle Raptor da 1,8 µm sono in grado di gestire l'elevata contropressione della UHPLC? La risposta è sì: le colonne Raptor da 1,8 µm offrono capacità di picco, durata e selettività della colonna straordinarie per le analisi UHPLC.