

# APPLICATIONS

## 三种独特且互补的微流LC色谱柱及捕集柱在反向LC-MS/MS条件下选择性的对比

Roxana Eggleston-Rangel, Ryan Splitstone, and Jason Anspach  
Phenomenex, Inc., 411 Madrid Ave., Torrance, CA 90501 USA

### 概述

微流 LC 色谱柱的内径 (I.D.) 通常在 0.3 - 0.5 mm 范围内, 并采用与传统分析柱中所使用的相同的色谱填料进行填充。与分析级 LC 分离的情况类似, 色谱填料会影响分离效果和选择性, 并且可以进行优化。在微流 LC 中常见的做法是使用捕集-洗脱进样模式, 这样既可以大幅缩短进样时间, 又可以保护色谱柱不被样品污染。基于不同固定相的选择, 微流 LC 捕集柱会影响样品中分析物的回收率。

在此应用中, 我们研究了不同的微流 LC 柱和捕集柱固定相选择性组合对色谱性能、样品回收率和选择性的影响。我们对填充了三种不同微流 LC 固定相的 50 x 0.3 mm 色谱柱进行了对比: Kinetex<sup>®</sup> XB-C18、Luna<sup>®</sup>Omega PS C18 和 Luna Omega Polar C18。

该对比使用一般的反向流动相条件, 对含有 20 个稳定同位素标记 (SIL) 的多肽样品进行分析, 并使用 SCIEX<sup>®</sup> 5500 QTRAP<sup>®</sup> 进行 MS/MS 检测。它重点突出了不同的微流 LC 色谱柱和捕集柱组合, 在捕集和洗脱模式下所得到的色谱性能和回收率方面的差异。调整色谱柱和捕集柱选择性组合是优化微流 LC 分离的有效方法开发工具。

### 微流 LC 捕集柱固定相和规格

Kinetex 2.6 $\mu$ m XB -C18: 带保护性异丁基侧链修饰的 C18 相, 以改善极性化合物的分析。

MicroTrap C18: 10 x 0.3 mm

MicroTrap Polar: 10 x 0.3 mm

MicroTrap PS: 10 x 0.3 mm

Luna Omega PS C18: 表面有带正电的配体, 用于改善碱性化合物的峰形, 同时 C18 配体可以改善一般反相疏水保留。

Luna Omega Polar C18: C18 配体可以改善一般反相疏水保留, 同时极性修饰颗粒表面提供更好的极性化合物保留。



# APPLICATIONS

## 微流 LC 条件

色谱柱: Luna<sup>®</sup> Omega 3 μm Polar C18

规格: 50 x 0.3 mm

货号: 00B-4496-AC

流动相: A: 0.1% 甲酸水溶液

B: 含 0.1% 甲酸的乙腈溶液

梯度: 时间(min) B%

0 3

10 40

12 80

14 80

15 3

20 3

流速: 10 μL/min

温度: 室温 (25 °C)

检测器: MS/MS SCIEX<sup>®</sup> QTRAP<sup>®</sup> 5500

进样温度: 4 °C

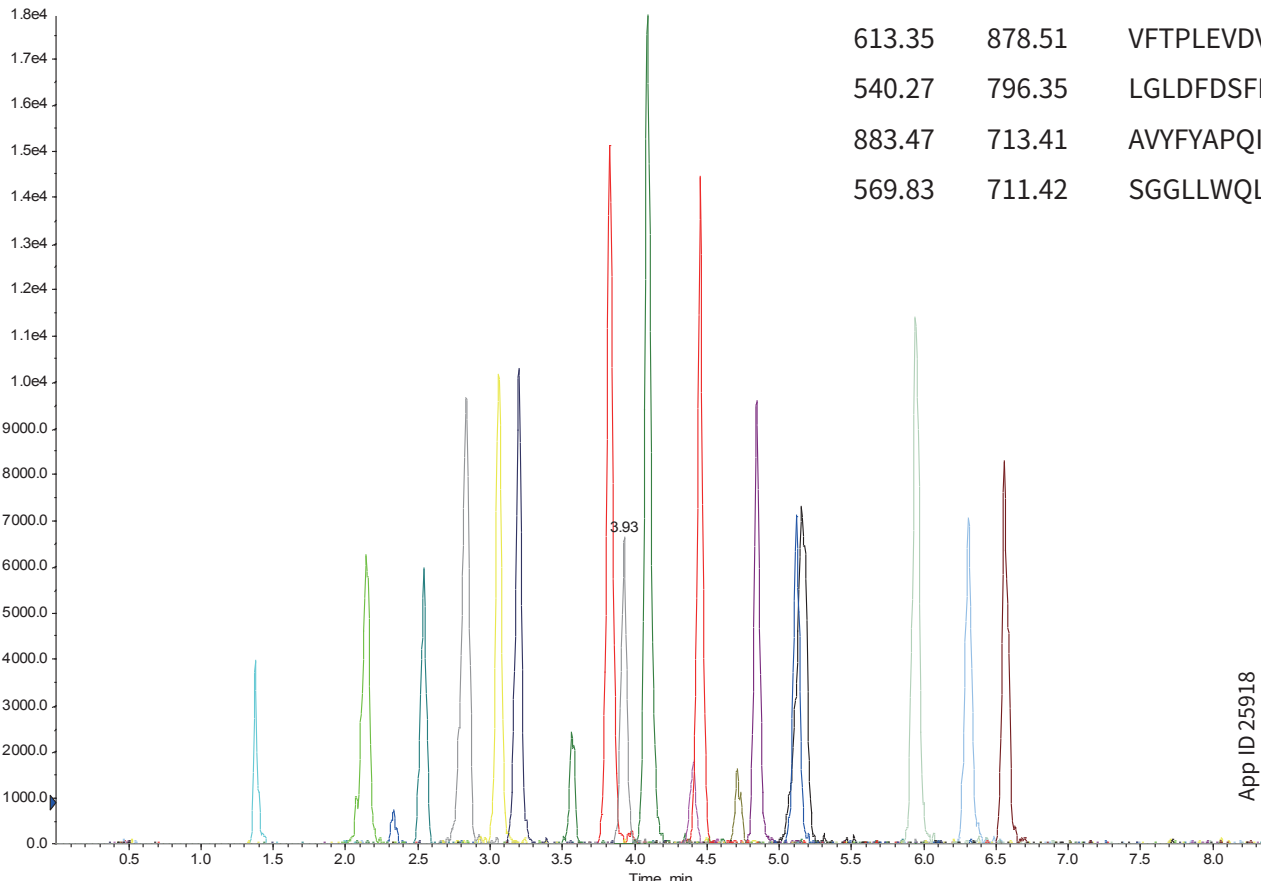
色谱柱温度: 25 °C

进样量: 1 μL

样品: 20种稳定同位素标记 (SIL) 的多肽混合物

没有使用任何微流 LC 捕集柱并且直接在  
Luna Omega 3 μm Polar C18上进样的色谱图

| 前体Mz   | 产品Mz   | 肽序列                |
|--------|--------|--------------------|
| 485.25 | 856.41 | IGNEQGVSR          |
| 491.27 | 769.37 | LVGTPAEER          |
| 408.55 | 593.35 | AETSELHTSLK        |
| 473.26 | 555.32 | GAYVEVTAK          |
| 583.31 | 753.41 | AVGANPEQLTR        |
| 519.8  | 422.29 | LDSTSIPVAK         |
| 593.8  | 729.38 | SAEGLDASASLR       |
| 739.36 | 999.51 | YDSINNTEVSGIR      |
| 533.32 | 711.41 | AGLIVAEGVTK        |
| 657.34 | 724.37 | YIELAPGVDNSK       |
| 768.9  | 725.39 | ALENDIGVPSDATVK    |
| 636.35 | 759.44 | VGNEIQYVALR        |
| 677.86 | 649.41 | DGTFAVDGPVIAK      |
| 758.91 | 957.51 | SPYVITGPGWVEYK     |
| 549.29 | 721.39 | GFTAYYIPR          |
| 964.98 | 596.34 | TVESLFPEEAETPGSAVR |
| 613.35 | 878.51 | VFTPLEVDVAK        |
| 540.27 | 796.35 | LGLDFDSFR          |
| 883.47 | 713.41 | AVYFYAPQIPLYANK    |
| 569.83 | 711.42 | SGLLWQLVR          |

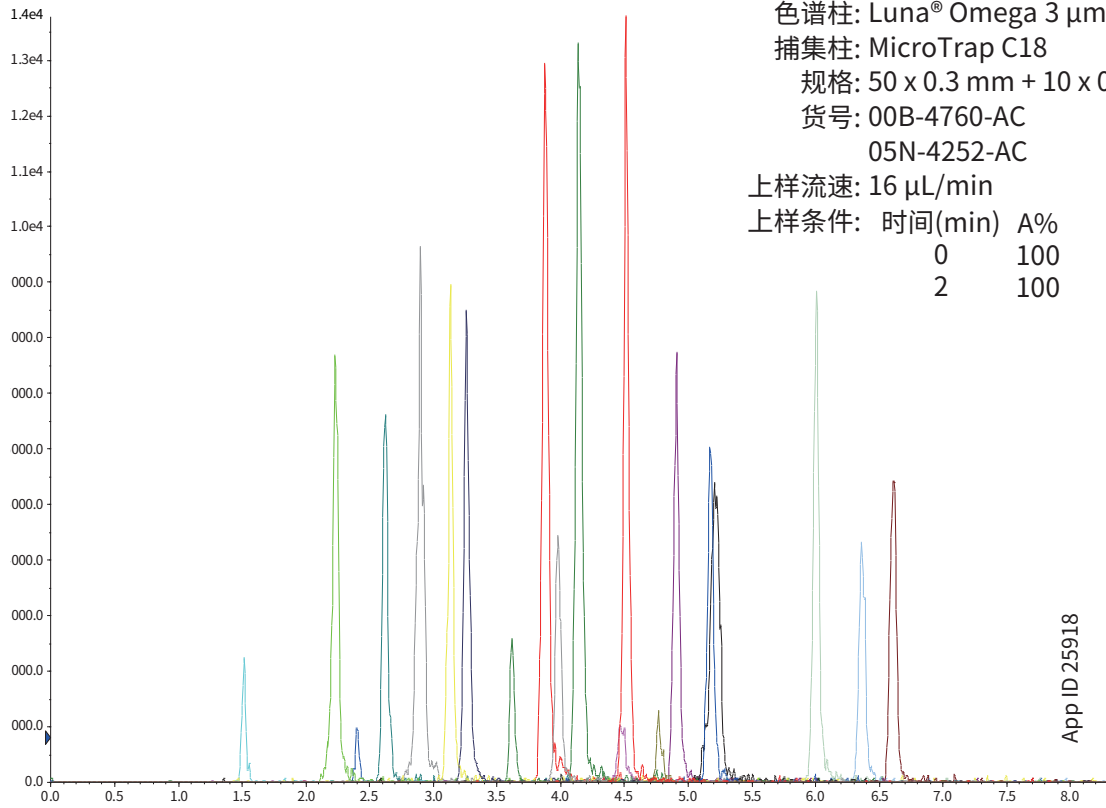


App ID 25918



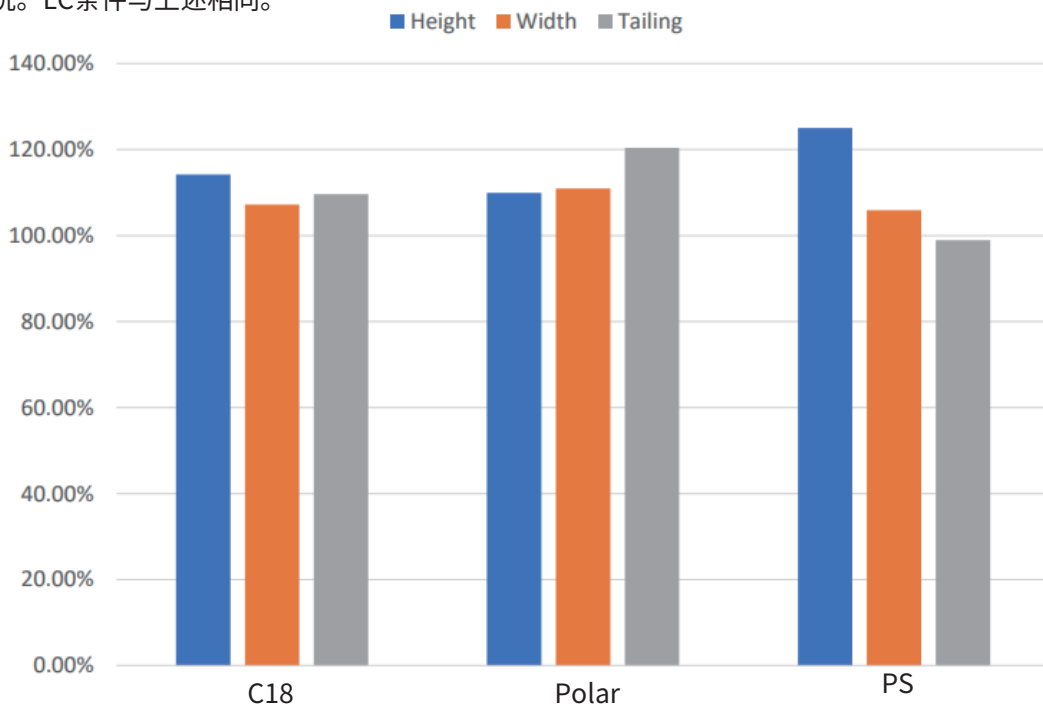
# APPLICATIONS

## 使用MicroTrap C18的Luna Omega 3 μm Polar C18色谱图



## 微流LC柱和捕集柱选择性配置对比小结

图 1 显示了 Luna Omega Polar C18 微流柱搭配 C18、Polar 或 PS MicroTrap 捕集柱的平均峰高(蓝色)、峰宽(橙色)和拖尾(灰色)情况。LC条件与上述相同。



如有疑问或想要进一步了解如何执行此方法? 我们乐于为您提供帮助!

访问[www.phenomenex.com.cn/chatcn](http://www.phenomenex.com.cn/chatcn), 联系我们的技术专家。

# APPLICATIONS

图2 Kinetex<sup>®</sup> XB-C18 的峰面积回收率

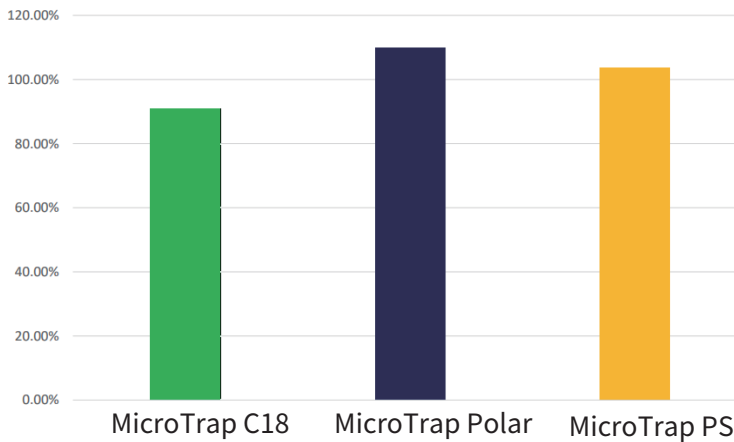


图3 Luna<sup>®</sup>Omega PS C18 的峰面积回收率

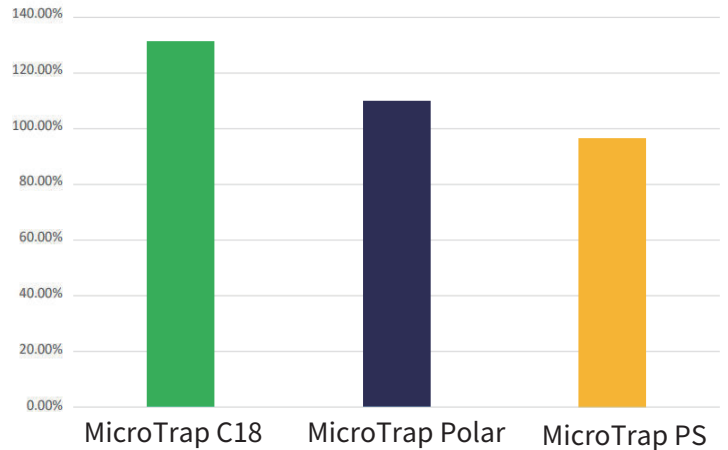


图4 Luna Omega Polar C18峰面积回收率

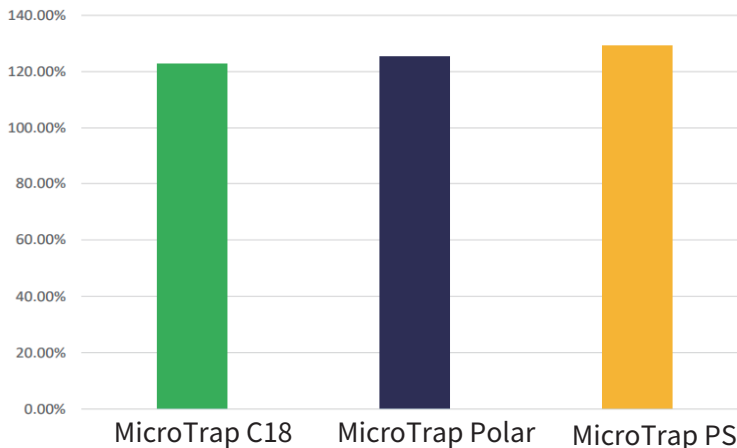


图 2-4 显示了在 Kinetex XB-C18、Luna Omega PS C18 或 Luna Omega Polar C18 微流柱分析中，分别使用 C18、Polar 或 PS MicroTrap 捕集柱之后得到的平均多肽峰面积回收率。

## 微流 LC 条件

色谱柱: Kinetex 2.6  $\mu$ m XB-C18 (00B-4496-AC)  
Luna Omega 3  $\mu$ m PS C18 (00B-4758-AC)  
Luna Omega 3  $\mu$ m Polar C18 (00B-4760-AC)  
捕集柱: MicroTrapC18 (05N-4252-AC)  
MicroTrapPolar (05N-4754-AC)  
MicroTrapPS (05N-4753-AC)  
规格: 50 x 0.3 mm + 10 x 0.3 mm  
流动相: A: 0.1 %甲酸水溶液  
B: 含0.1%甲酸的乙腈溶液

| 梯度: 时间(min) | B% |
|-------------|----|
| 0           | 3  |
| 10          | 40 |
| 12          | 80 |
| 14          | 80 |
| 15          | 3  |
| 20          | 3  |

流速: 10  $\mu$ L/min  
温度: 室温 (25  $^{\circ}$ C)  
检测器: MS/MS SCIEX<sup>®</sup> QTRAP<sup>®</sup> 5500  
进样温度: 4  $^{\circ}$ C  
色谱柱温度: 25  $^{\circ}$ C  
进样量: 1  $\mu$ L  
样品: 20种稳定同位素标记 (SIL) 多肽混合物

在图 2 中，MicroTrap Polar 捕集柱与 Kinetex XB-C18 微流柱一同使用之后得到了本例中最高峰面积回收率。如图 3-4 所示，微流柱和捕集柱填料种类的特定组合和差异会导致相对回收率的差异。回收率的相对差异说明了优化微流 LC 柱和捕集柱选择性组合的重要性，同时也展示了根据不同目标化合物的化学特性，使用不同的选择性组合提高回收率的可行性。图3说明了通过改变微流柱和捕集柱之间的选择性提高了回收率。与保护柱不同的是，两种分离装置(微流柱与捕集柱)之间的填料种类差异通常是有利的。



# APPLICATIONS

图 5-7 比较了相同色谱条件下 MicroTrap C18、MicroTrap Polar 和 MicroTrap PS 结合 Kinetex<sup>®</sup> 2.6 $\mu$ m XB-C18 之后的捕集性能。

图5 Kinetex XB-C18的峰面积回收率

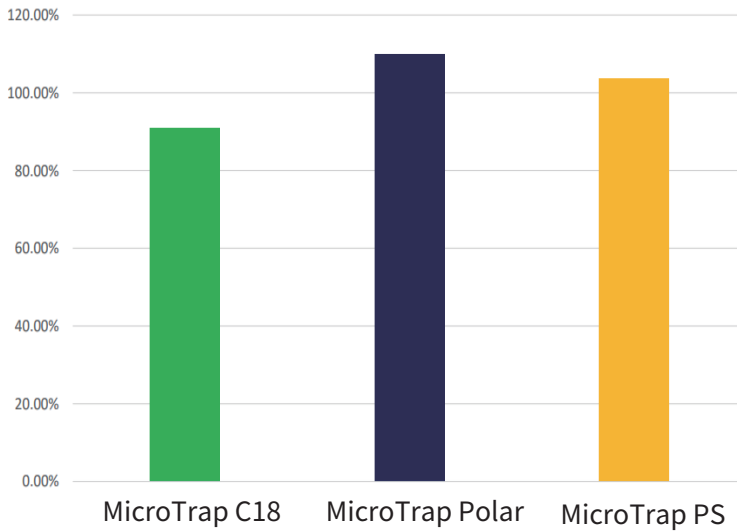


图6 Kinetex XB-C18的峰高回收率

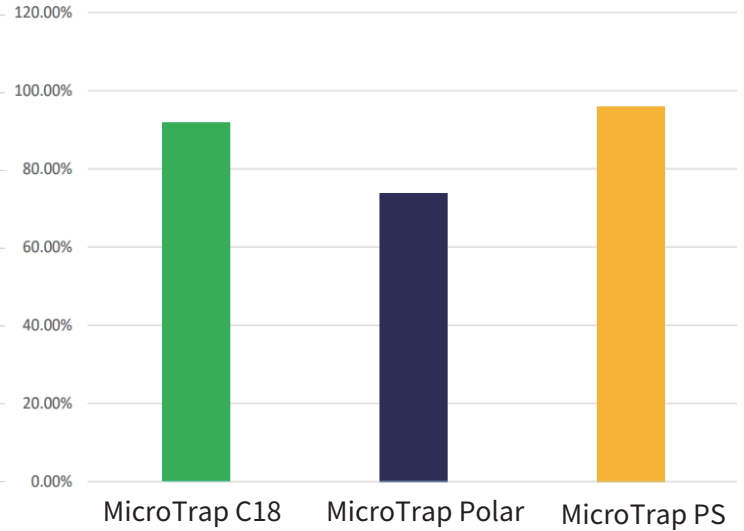
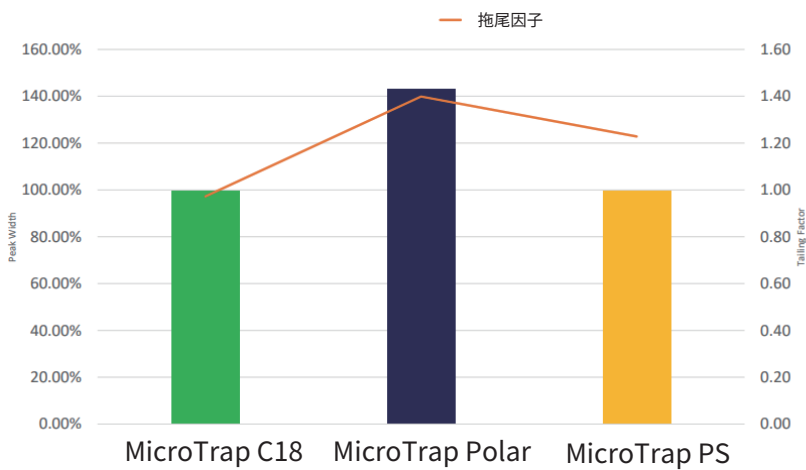


图7 Kinetex XB-C18的峰宽和拖尾



## 结论

综上所述，与分析级 LC 相似，微流柱的分离性能及优化也受到固定相的影响。如图 5-6 所示，特定的微流柱和捕集柱填料组合会导致相对回收率和分离性能的差异。根据图5可以看出 MicroTrap Polar 与 Kinetex XB-C18 组合的总体平均峰面积最高。但是，从图7可以看出 MicroTrap PS 和 Kinetex XB-C18 的组合在此特定分离应用中的峰形和回收率最好。本应用显示了不同微流 LC 柱和捕集柱选择性配置所带来的性能差异，以及其对优化微流 LC 分离性能所产生的影响。



# APPLICATIONS

## 您是否需要不同的色谱柱尺寸或样品准备形式?

没问题! 我们在 [www.phenomenex.com.cn](http://www.phenomenex.com.cn) 上提供各种尺寸的色谱柱, 但如果您无法在上面找到所需的尺寸, 您可以访问我们的在线咨询网站 [www.phenomenex.com/ChatNow](http://www.phenomenex.com/ChatNow) 向我们的技术专家寻求帮助。

**Australia 澳大利亚**  
电话: +61 (0)2-9428-6444  
[auinfo@phenomenex.com](mailto:auinfo@phenomenex.com)

**Austria 奥地利**  
电话: +43 (0)1-319-1301  
[anfrage@phenomenex.com](mailto:anfrage@phenomenex.com)

**Belgium 比利时**  
电话: +32 (0)2 503 4015 (法语)  
电话: +32 (0)2 511 8666 (荷兰语)  
[beinfo@phenomenex.com](mailto:beinfo@phenomenex.com)

**Canada 加拿大**  
电话: +1 (800) 543-3681  
[info@phenomenex.com](mailto:info@phenomenex.com)

**China 中国**  
电话: +86 400-606-8099  
[cninfo@phenomenex.com](mailto:cninfo@phenomenex.com)

**Czech Republic 捷克共和国**  
电话: +420 272 017 077  
[cz-info@phenomenex.com](mailto:cz-info@phenomenex.com)

**Denmark 丹麦**  
电话: +45 4824 8048  
[nordicinfo@phenomenex.com](mailto:nordicinfo@phenomenex.com)

**Slovakia 斯洛伐克**  
电话: +420 272 017 077  
[sk-info@phenomenex.com](mailto:sk-info@phenomenex.com)

**Finland 芬兰**  
电话: +358 (0)9 4789 0063  
[nordicinfo@phenomenex.com](mailto:nordicinfo@phenomenex.com)

**France 法国**  
电话: +33 (0)1 30 09 21 10  
[franceinfo@phenomenex.com](mailto:franceinfo@phenomenex.com)

**Germany 德国**  
电话: +49 (0)6021-58830-0  
[anfrage@phenomenex.com](mailto:anfrage@phenomenex.com)

**India 印度**  
电话: +91 (0)40-3012 2400  
[indiainfo@phenomenex.com](mailto:indiainfo@phenomenex.com)

**Ireland 爱尔兰**  
电话: +353 (0)1 247 5405  
[eireinfo@phenomenex.com](mailto:eireinfo@phenomenex.com)

**Italy 意大利**  
电话: +39 051 6327511  
[italiainfo@phenomenex.com](mailto:italiainfo@phenomenex.com)

**Luxembourg 卢森堡**  
电话: +31 (0)30-2418700  
[nlinfo@phenomenex.com](mailto:nlinfo@phenomenex.com)

**Mexico 墨西哥**  
电话: 01-800-844-5226  
[tecnicomx@phenomenex.com](mailto:tecnicomx@phenomenex.com)

**The Netherlands 荷兰**  
电话: +31 (0)30-2418700  
[nlinfo@phenomenex.com](mailto:nlinfo@phenomenex.com)

**New Zealand 新西兰**  
电话: +64 (0)9-4780951  
[nzinfo@phenomenex.com](mailto:nzinfo@phenomenex.com)

**Norway 挪威**  
电话: +47 810 02 005  
[nordicinfo@phenomenex.com](mailto:nordicinfo@phenomenex.com)

**Poland 波兰**  
电话: +48 22 104 21 72  
[pl-info@phenomenex.com](mailto:pl-info@phenomenex.com)

**Portugal 葡萄牙**  
电话: +351 221 450 488  
[ptinfo@phenomenex.com](mailto:ptinfo@phenomenex.com)

**Singapore 新加坡**  
电话: +65 800-852-3944  
[sginfo@phenomenex.com](mailto:sginfo@phenomenex.com)

**Spain 西班牙**  
电话: +34 91-413-8613  
[espinfo@phenomenex.com](mailto:espinfo@phenomenex.com)

**Sweden 瑞典**  
电话: +46 (0)8 611 6950  
[nordicinfo@phenomenex.com](mailto:nordicinfo@phenomenex.com)

**Switzerland 瑞士**  
电话: +41 (0)61 692 20 20  
[swissinfo@phenomenex.com](mailto:swissinfo@phenomenex.com)

**United Kingdom 英国**  
电话: +44 (0)1625-501367  
[ukinfo@phenomenex.com](mailto:ukinfo@phenomenex.com)

**USA 美国**  
电话: +1 (310) 212-0555  
[info@phenomenex.com](mailto:info@phenomenex.com)

☎ 所有其他国家/地区  
请联系美国总部  
电话: +1 (310) 212-0555  
[info@phenomenex.com](mailto:info@phenomenex.com)

## [www.phenomenex.com.cn](http://www.phenomenex.com.cn)

Phenomenex 产品在全世界范围内销售。欲查询您所在国家/地区的经销商, 请联系 Phenomenex 美国总部: [international@phenomenex.com](mailto:international@phenomenex.com)

条款和条件  
本文档受 Phenomenex 标准条款与条件的约束, 具体详情请浏览 [www.phenomenex.com.cn/TermsAndConditions](http://www.phenomenex.com.cn/TermsAndConditions)。

商标  
Luna 和 Kinetex 是 Phenomenex 的注册商标。

仅用于研究目的。并非用于临床诊断流程。  
© 2020 Phenomenex, Inc. 保留所有权利。