

## ACQUITY™ Premier固定定量环与ACQUITY UPLC™ I-Class PLUS固定定量环系统性能比较

---

Norris Wong, Andrew Steere, Jennifer Simeone, Jason Dyke

Waters Corporation

---

### 摘要

ACQUITY Premier固定定量环(FL)系统是一款超高效液相色谱(UPLC)系统，采用了MaxPeak™高性能表面(HPS)技术和FL进样器以提高性能。ACQUITY Premier FL系统的定位是不锈钢ACQUITY UPLC和ACQUITY UPLC I-Class PLUS FL系统的替代品。本研究通过峰拖尾、峰高、峰面积重现性和保留时间精密度等关键性能特征进行评估，对比了使用ACQUITY Premier FL和ACQUITY UPLC I-Class PLUS FL系统分析金属敏感和非金属敏感化合物的色谱性能。与ACQUITY UPLC I-Class PLUS FL系统相比，ACQUITY Premier FL系统对金属敏感分析物表现出更高的性能，而对非金属敏感分析物表现出相当的性能。

### 优势

- 采用MaxPeak高性能表面(HPS)技术的ACQUITY Premier固定定量环(FL)系统可减少LC流路中的金属相互作用
  - ACQUITY Premier FL系统可以改善金属敏感分析物的峰形和峰面积重现性
  - 对于非金属敏感目标分析物，ACQUITY Premier FL系统提供与ACQUITY UPLC I-Class PLUS FL相当的性能
-

---

## 简介

在使用不锈钢液相色谱系统进行分析时，可以与金属表面发生相互作用的化合物是一大难题。金属敏感分析物可能吸附到流路中裸露的金属表面，影响色谱分离，并表现为峰拖尾增加、峰高降低和峰面积重现性变差<sup>1-5</sup>。减少金属相互作用的常用方法包括使用流动相添加剂、化学钝化和系统灌注或老化<sup>2-4,6</sup>。虽然这些方法能够成功获得理想的系统性能，但部署耗时长，并且通常需要定期重复以保持性能，最终导致实验室通量受到影响<sup>3,6</sup>。

ACQUITY Premier固定定量环(FL)是一种超高效液相色谱仪(UPLC)，其FL进样器的流路中采用了MaxPeak高性能表面(HPS)技术，可提高金属敏感分析物的分析性能。固定定量环是一种常见的自动进样器设计，先将样品吸入样品定量环，再进样至色谱柱<sup>7</sup>。FL具有三种进样模式：带针溢出的部分定量环、部分定量环和满定量环，可根据分析需求进行选择。FL设计可实现更短的进样周期、低柱外扩散性能以及低样品消耗量<sup>7</sup>。MaxPeak HPS技术通过形成一道屏障进行了强化，可避免金属表面上可能发生的任何相互作用，无需使用添加剂，也不必进行钝化或老化<sup>4-5,8</sup>。

本研究比较了采用MaxPeak HPS技术的ACQUITY Premier FL与不锈钢ACQUITY UPLC I-Class PLUS FL系统的性能，以评估系统设计对金属敏感和非金属敏感分析物的影响。在MaxPeak HPS和不锈钢系统上运行包含金属敏感和非金属敏感化合物的样品溶液，分析关键峰属性以评估色谱性能，包括USP拖尾因子、绝对峰高、峰面积重现性和保留时间标准偏差。

---

## 实验

### 样品描述

磷酸氢化可的松三乙胺购自美国药典(USP)委员会（马里兰州罗克维尔）。地塞米松磷酸钠、醋酸地塞米松和地塞米松购自Sigma-Aldrich（美国密苏里州圣路易斯）。使用50:50水/乙腈制备每种化合物的单标储备液，浓度为2 mg/mL。

使用50:50水/乙腈配制含有全部四种化合物（磷酸氢化可的松、磷酸地塞米松、醋酸地塞米松和地塞米松）的混合样品溶液，浓度分别为1 µg/mL和25 µg/mL（数据未显示）。

流动相和清洗溶剂均为每次运行新鲜制备。

### 液相色谱条件

---

液相色谱系统:	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 配备CH-A和BSM的ACQUITY Premier固定定量环系统</li> <li>2. 配备CH-A的ACQUITY UPLC I-Class PLUS固定定量环系统</li> </ol>
检测:	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. ACQUITY UPLC PDA e<math>\lambda</math>检测器</li> <li>2. ACQUITY UPLC PDA e<math>\lambda</math>检测器</li> </ol>
样品:	1 $\mu$ g/mL的混合样品溶液, 其中包含磷酸氢化可的松、磷酸地塞米松、醋酸地塞米松和地塞米松
色谱柱:	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. ACQUITY Premier BEH C<sub>18</sub>色谱柱2.1 x 50 mm, 1.7 <math>\mu</math>m (P/N: 186009452)</li> <li>2. ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub>色谱柱2.1 x 50 mm, 1.7 <math>\mu</math>m (P/N: 186002350)</li> </ol>
柱温:	40 °C
样品温度:	10 °C
进样体积:	10 $\mu$ L (满定量环进样模式)
流速:	0.600 mL/min
流动相A:	10 mM 甲酸铵 (pH 3.0)
流动相B:	乙腈
弱洗针液(WNW):	90:10水/乙腈
强洗针液(SNW):	50:50水/乙腈

密封清洗液:	90:10水/乙腈
波长:	260 nm
采集速率:	20点/秒

## 数据管理

软件: Empower 3.6.1

本研究使用了五套ACQUITY Premier FL系统和三套ACQUITY UPLC I-Class PLUS FL系统。两种系统设置之间的常用模块包括CH-A柱温箱和PDA eλ检测器。ACQUITY Premier FL系统可配备四元或二元溶剂管理器，而ACQUITY UPLC I-Class PLUS FL系统仅支持配备二元溶剂管理器。为达到同等性能，本研究使用ACQUITY Premier二元溶剂管理器和ACQUITY UPLC I-Class二元溶剂管理器。ACQUITY Premier FL系统安装了ACQUITY Premier BEH C<sub>18</sub>色谱柱(P/N: [186009452 <https://www.waters.com/nextgen/global/shop/columns/186009452-acquity-premier-beh-c18-column-17--m-21-x-50-mm-1-pk.html>](https://www.waters.com/nextgen/global/shop/columns/186009452-acquity-premier-beh-c18-column-17--m-21-x-50-mm-1-pk.html)), ACQUITY UPLC I-Class PLUS FL系统安装了不锈钢ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub>色谱柱(P/N: [186002350 <https://www.waters.com/nextgen/global/shop/columns/186002350-acquity-uplc-beh-c18-column-130a-17--m-21-mm-x-50-mm-1-pk.html>](https://www.waters.com/nextgen/global/shop/columns/186002350-acquity-uplc-beh-c18-column-130a-17--m-21-mm-x-50-mm-1-pk.html))。

---

## 结果与讨论

本研究评估了ACQUITY Premier FL和ACQUITY UPLC I-Class PLUS FL系统的色谱性能。如Lauber等人(2021)所述，在不锈钢液相色谱系统（例如ACQUITY UPLC I-Class PLUS FL）中，金属敏感分析物可能通过路易斯酸碱反应吸附到流路中裸露的金属表面上。金属表面通常都覆盖有金属氧化物薄层。由于缺少电子，这个薄层中的金属离子可充当路易斯酸。金属敏感化合物通常携带富电子基团（例如磷酸基团和羧酸基团），可充当路易斯碱。基于这些属性，金属敏感化合物可以与不锈钢LC流路表面的金属离子结合。这种相互作用在色谱分析中表现为峰拖尾增加、绝对峰高降低和峰面积重现性降低。ACQUITY Premier FL系统的MaxPeak HPS技术可减少分析物与金属表面的相互作用，从而大幅减少分析物通过系统时的谱带展宽。

为了比较ACQUITY Premier FL和ACQUITY UPLC I-Class PLUS FL系统的性能，我们使用反相色谱柱C<sub>18</sub>色谱柱分析了混合样品溶液的6个样品组6次重复进样，包括金属敏感化合物和非金属敏感化合物。图1显示了分析样品中四个目标峰的代表性色谱图。金属敏感化合物为磷酸氢化可的松（HCP；标记为峰1）和磷酸地塞米松（DMP；峰2）。这些化合物携带富电子磷酸基团，可与裸露金属表面的金属离子结合。非金属敏感化合物为地塞米松（峰3）和醋酸地塞米松（DAC；峰4）。选择这些化合物用于确认相当的性能。

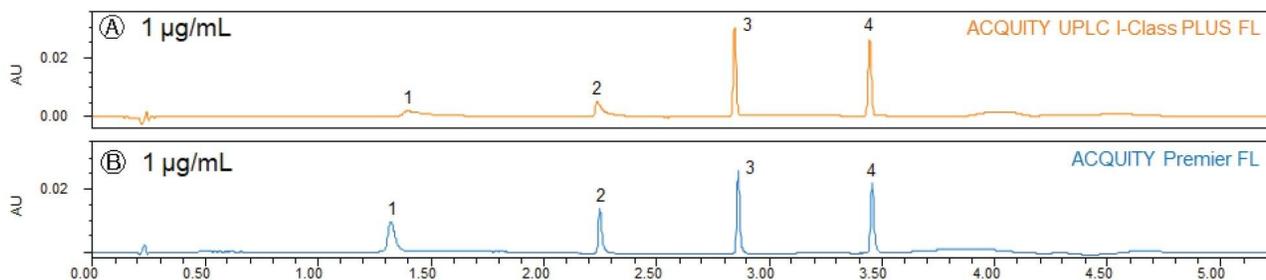


图1.ACQUITY UPLC I-Class PLUS FL（橙色）和ACQUITY Premier FL（蓝色）系统分析混合样品溶液得到的代表性色谱图。对金属敏感和非金属敏感的目标化合物进行了分析，并比较了峰特征。峰标签：1 - 磷酸氢化可的松，2 - 磷酸地塞米松，3 - 地塞米松，4 - 醋酸地塞米松。

最初选择1 µg/mL和25 µg/mL两个浓度水平（数据未显示）来检查老化对系统的影响。传统LC系统通过灌注或老化来阻断流路中暴露的活性位点并恢复系统性能。本研究通过25 µg/mL样品清晰地观察到了这种老化作用，样品中大量的金属敏感分析物竞争可用的活性位点，从而有效地灌注了不锈钢系统，并缩小了不锈钢与MaxPeak HPS系统之间的性能差异。在1 µg/mL样品中，老化不足以恢复系统性能，因为被阻断的活性位点较少，因此金属吸附对色谱的影响更明显。因此，本研究将重点关注无法通过老化有效解决金属吸附问题的低浓度样品。

## 提升金属敏感分析物分析性能

金属敏感分析物由于会在不锈钢流路中产生金属相互作用，因此其峰形会畸变。吸附至裸露金属表面的金属敏感化合物更不对称，长拖尾导致峰延长。随着色谱峰洗脱时间延长，在整个洗脱过程中通过检测器的化合物量会变少，导致峰高降低。

如图2所示，由于与ACQUITY UPLC I-Class PLUS FL系统的金属表面发生相互作用，HCP和DMP洗脱为不对称峰，拖尾长且峰高降低。MaxPeak HPS技术旨在通过消除流路中任何可能与金属结合的活性位点，保持峰尖锐和对称，从而防止这些峰形畸变。在采用MaxPeak HPS技术的ACQUITY Premier FL系统上，金属敏感化合物不再受到金属相互作用的影响，可以获得拖尾更少，峰高更高的峰。使用以下三种峰属性作为评估金属灵敏度的指标：峰拖

尾、峰高和峰面积重现性。

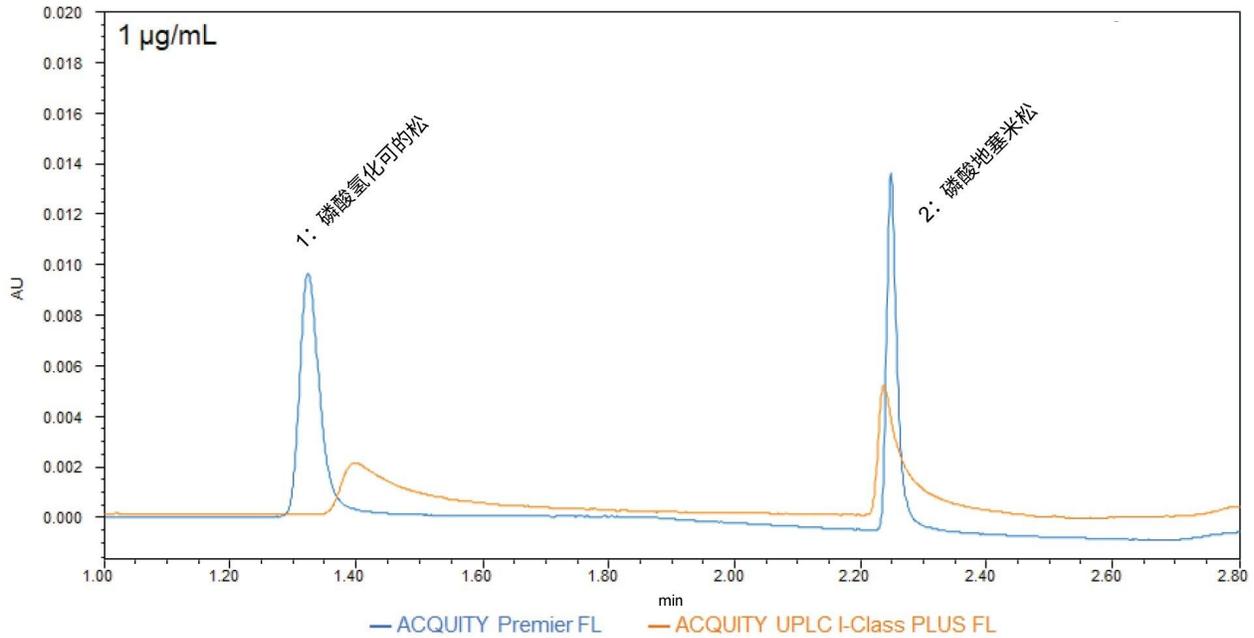


图2.磷酸氢化可的松 (HCP; 峰1) 和磷酸地塞米松 (DMP; 峰2) 在ACQUITY UPLC I-Class PLUS FL和ACQUITY Premier FL上进样得到的叠加图

为分析峰形，我们测定了样品组HCP和DMP的USP拖尾因子以及绝对峰高（分别为图3和图4）。USP拖尾因子反映了峰的不对称性，等于1表示峰完全对称。MaxPeak HPS系统上HCP和DMP的平均USP拖尾因子低于不锈钢系统（图3）。MaxPeak HPS系统上HCP和DMP的平均绝对峰高高于不锈钢系统（图4）。这两个因素都表明，ACQUITY Premier FL系统流路中发生的金属相互作用较少。

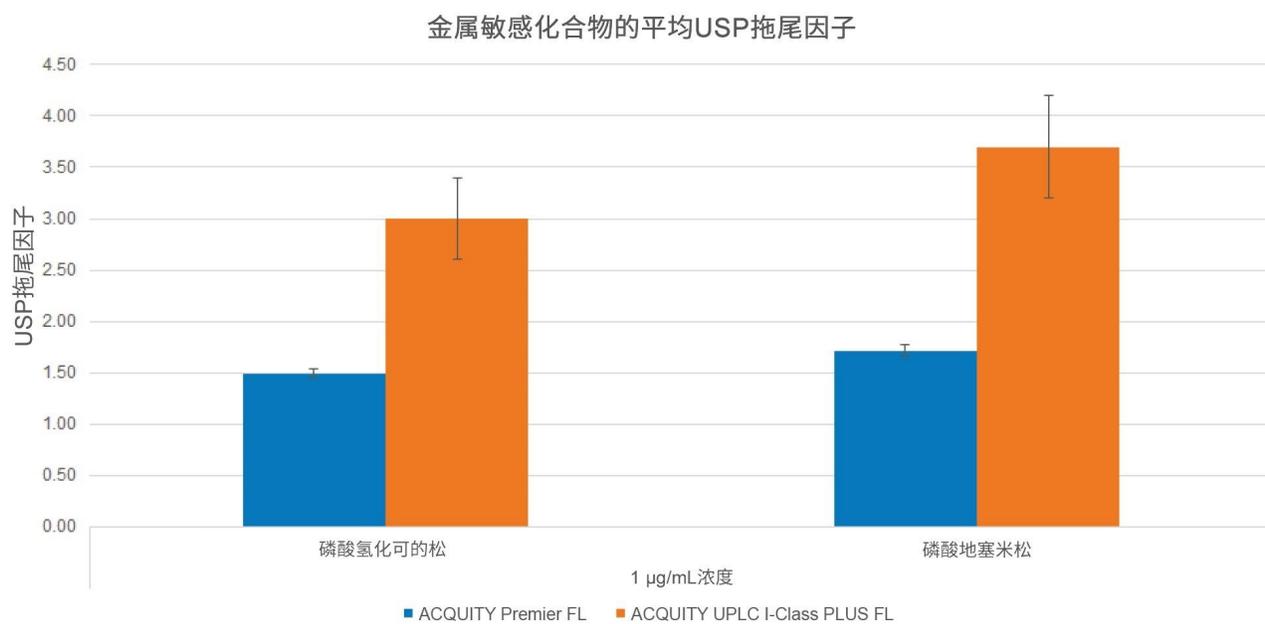


图3.浓度为1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的磷酸氢化可的松和磷酸地塞米松的平均USP拖尾因子。首先计算每个样品组中的平均值（6次进样），然后计算在每个系统上运行的样品组的平均值（ACQUITY Premier FL为5组，ACQUITY UPLC I-Class PLUS FL为3组）。

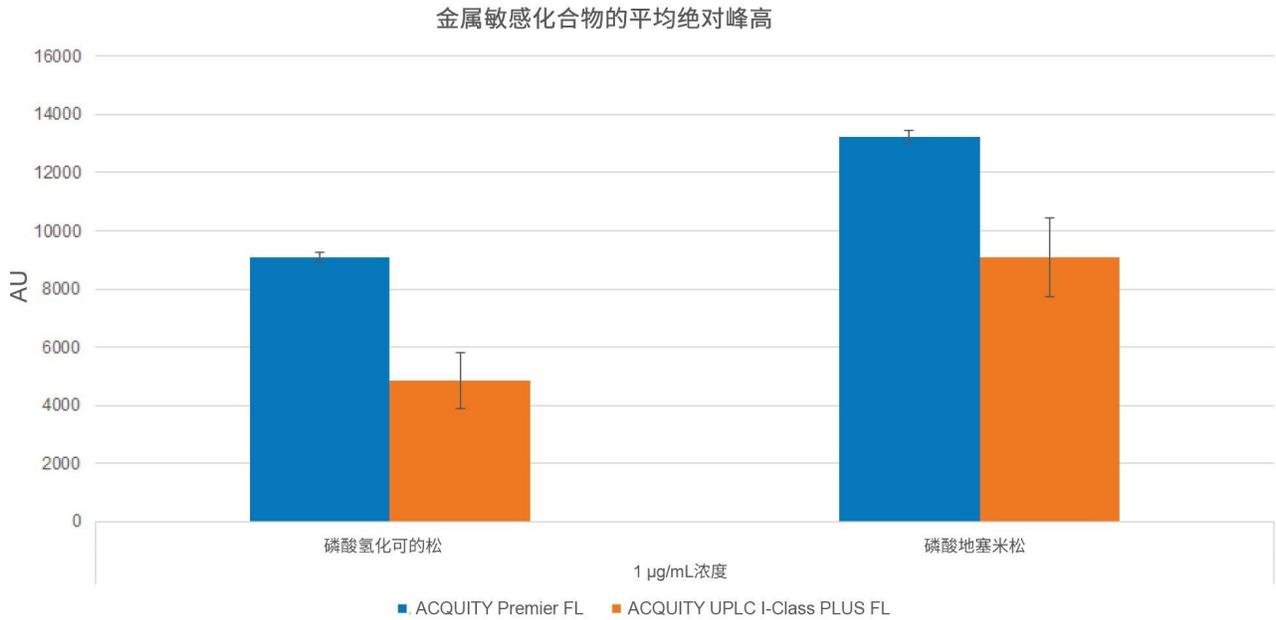


图4. 浓度为1  $\mu\text{g/mL}$ 的磷酸氢化可的松和磷酸地塞米松的平均绝对峰高。首先计算每个样品组中的平均值（6次进样），然后计算在每个系统上运行的样品组的平均值（ACQUITY Premier FL为5组，ACQUITY UPLC I-Class PLUS FL为3组）。

除峰形外，峰面积重现性也是评估金属灵敏度的指标。在系统完全老化之前，金属敏感化合物的进样间重现性通常较差，峰高和峰面积差异很大。峰面积重现性较差的分析物的峰面积%相对标准偏差(RSD)较大。这也体现在图5的HCP和DMP的平均峰面积%RSD中。在ACQUITY Premier FL系统上分析化合物得到的平均峰面积%RSD值低于0.5%，但在ACQUITY UPLC I-Class PLUS FL系统上得到的结果超过2.9%。ACQUITY Premier FL系统上良好的峰重现性表明发生的金属相互作用较少。

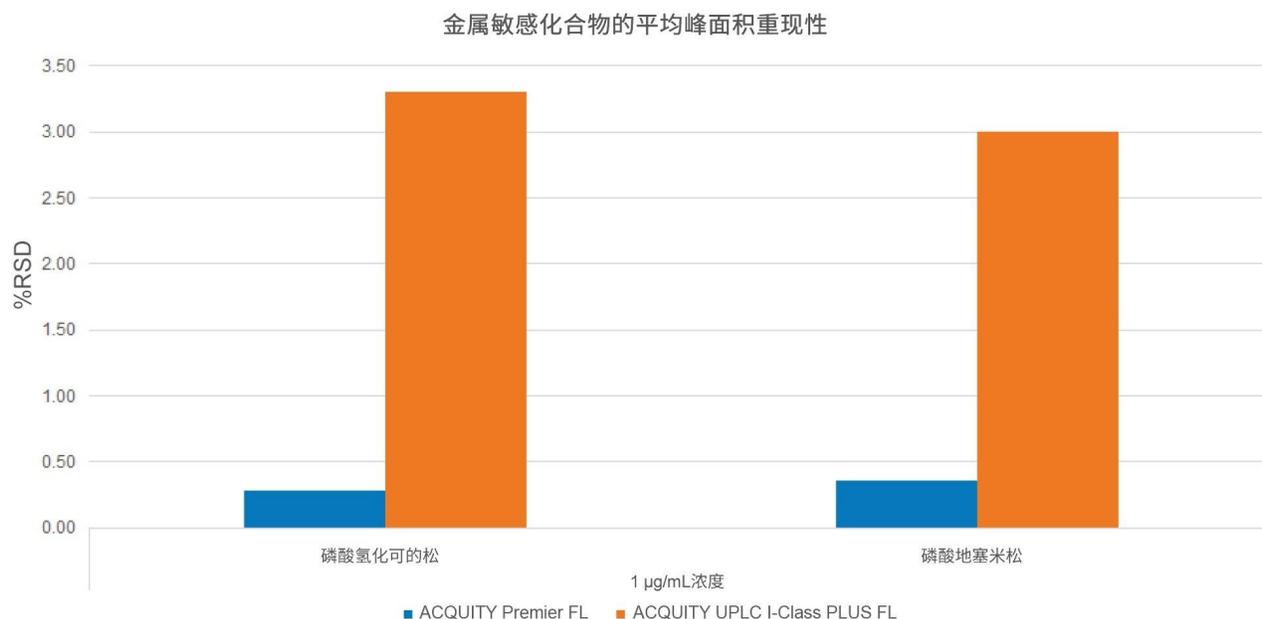


图5.浓度为1  $\mu\text{g/mL}$ 的磷酸氢化可的松和磷酸地塞米松的平均峰面积重现性。首先计算每个样品组中的平均值（6次进样），然后计算在每个系统上运行的样品组的平均值（ACQUITY Premier FL为5组，ACQUITY UPLC I-Class PLUS FL为3组）。

## 对非金属敏感分析物具有相当的分析性能

相比之下，非金属敏感分析物极少与流路中的金属表面发生相互作用。因此，这些化合物可用于评估ACQUITY Premier FL与ACQUITY UPLC I-Class PLUS FL系统之间相当的性能，因为MaxPeak HPS强化并不是区分因素。作为对比，将峰面积重现性和保留时间标准偏差作为指标，用于衡量针对非金属敏感化合物（地塞米松和醋酸地塞米松）的性能一致性。

如前所述，峰面积重现性差表明存在金属相互作用。非金属敏感化合物不受这些相互作用的影响。在这一点上，如图6所示，非金属敏感化合物在所有系统上表现出良好的峰面积重现性，峰面积%RSD值较低(%RSD < 0.5%)。MaxPeak HPS与不锈钢系统之间未观察到明显的性能差异。

本研究评估的另一项指标是保留时间重现性，这是衡量性能一致性的指标。随着不锈钢系统的老化，金属敏感分析物的保留时间通常会随时间而变化。相反，与金属表面相互作用极少的非金属敏感分析物不会表现出这种保留时间偏移。如图7所示，地塞米松和DAC的平均保留时间标准偏差(SD)在不同系统上相当，均为0.040 s，表明MaxPeak HPS系统与不锈钢系统之间无明显性能差异。

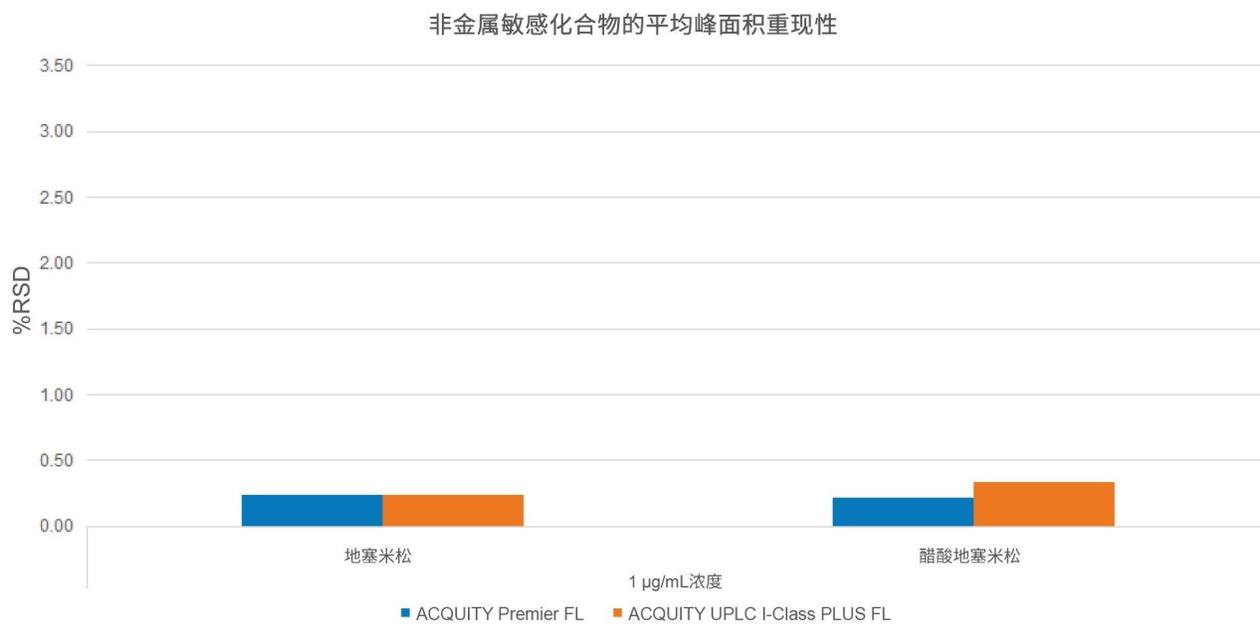


图6.浓度为1 µg/mL的地塞米松和醋酸地塞米松的平均峰面积重现性。首先计算每个样品组中的平均值（6次进样），然后计算在每个系统上运行的样品组的平均值（ACQUITY Premier FL为5组，ACQUITY UPLC I-Class PLUS FL为3组）。

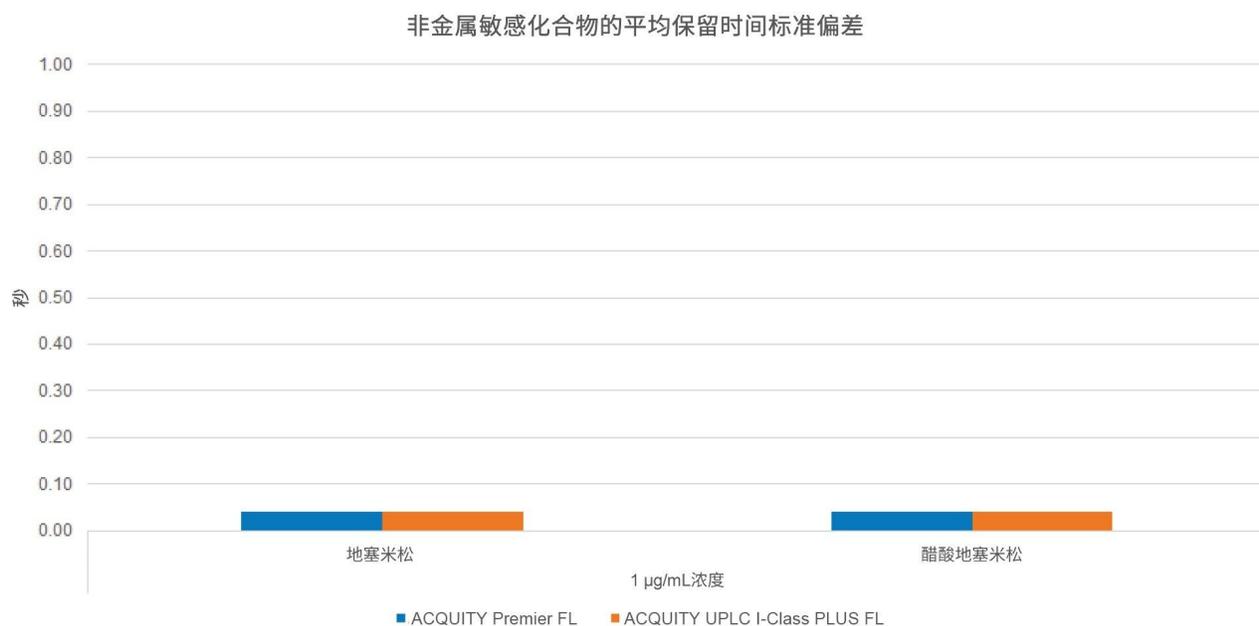


图7.浓度为1  $\mu\text{g/mL}$ 的地塞米松和醋酸地塞米松的平均保留时间标准偏差。首先计算每个样品组中的平均值（6次进样），然后计算在每个系统上运行的样品组的平均值（ACQUITY Premier FL为5组，ACQUITY UPLC I-Class PLUS FL为3组）。

## 性能总结

总体而言，ACQUITY Premier FL对金属敏感分析物表现出更出色的色谱性能，对非金属敏感分析物表现出相当的性能。金属敏感分析物HCP和DMP在MaxPeak HPS系统上的峰形和峰面积重现性均有改善。对于非金属敏感分析物地塞米松和DAC，两套系统在峰面积重现性和保留时间SD方面无明显性能差异。综上所述，这些结果表明ACQUITY Premier FL在分析金属敏感目标化合物方面的性能优于ACQUITY UPLC I-Class PLUS FL，在分析非金属敏感目标化合物方面表现出相当的色谱性能。

## 结论

对传统不锈钢液相色谱系统而言，金属敏感化合物的分析颇为棘手，通常需要大量耗时的流动相添加剂制备、系统钝化或老化才能获得理想性能，然而这些做法会影响通量。此类化合物由于会与流路中的金属相互作用，因此色谱分析结果通常较差，可能包括峰形畸变（例如峰拖尾增加和峰高降低），并导致检测器响应较低和峰面积重

现性差。本研究比较了采用MaxPeak HPS技术的ACQUITY Premier FL与不锈钢材质的ACQUITY UPLC I-Class PLUS FL的色谱性能。对于金属敏感分析物，ACQUITY Premier FL始终提供峰拖尾减少、峰高更高且峰面积重现性更出色的结果，无需进行系统老化。此外，对于非金属敏感分析物，ACQUITY Premier FL在峰面积重现性和保留时间标准偏差方面的性能与ACQUITY UPLC I-Class PLUS FL相当。采用MaxPeak HPS技术的ACQUITY Premier FL是一种通用且便捷的解决方案，可解决金属敏感化合物的问题，并且无需在非金属敏感化合物分析性能方面做出妥协。

---

## 参考资料

1. Gilar, M.; DeLano, M.; Gritti, F. Mitigation of analyte loss on metal surfaces in liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, Volume 1650, August 2021, 462247. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462247> <<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462247>>
2. Lauber, M.; Walter, T.; Gilar, M.; DeLano, M.; Boissel, C.; Smith, K.; Birdsall, R.; Rainville, P.; Belanger, J.; Wyndham, K. 基于MaxPeak高性能表面(HPS)的低吸附HPLC色谱柱.沃特世白皮书, [720006930ZH](https://www.waters.com/waters/library.htm?lid=135074404) <<https://www.waters.com/waters/library.htm?lid=135074404>> , 2021.
3. Martin W, Shah D, Grzonka C, Dovell A, Li Z, Hong P, Turyan I, Dyke J. 利用Arc Premier解决方案提高金属敏感分析物的回收率: 系统间重现性以及和常规液相色谱的多系统比较.沃特世应用纪要, [720007330ZH](https://www.waters.com/waters/library.htm?lid=135074404), 2021年8月.
4. Li, Z.; Shah, D.; Dovell, A.; Martin, W., Grzonka, C.; Dyke, J. 直面挑战: Arc Premier系统提高难检化合物的灵敏度和重现性沃特世应用纪要, [720007267ZH](https://www.waters.com/waters/library.htm?lid=135074404), 2021年6月.
5. Patel, A.; Simeone, J.; Delano, M.; Dyke, J.; Rzewuski, S.; Jung, M.; Shiner, S. 使用Waters Premier标准品研究色谱表面的惰性.沃特世应用纪要: [720007105ZH](https://www.waters.com/waters/library.htm?lid=135074404), 2021年3月.
6. Koshel, B.; Simeone, J.; Dao, D.; Nguyen, J.; Rzewuski, S.; Lauber, M.; Birdsall, R.; Yu, Y. 使用结合MaxPeak HPS技术的ACQUITY Premier在无需钝化液相色谱系统的情况下回收磷酸化肽.沃特世应用纪要 [720006921ZH](https://www.waters.com/waters/library.htm?lid=135074404), 2020年5月.
7. McConville, P. 专为实现超低扩散和残留设计的性能增强型样品管理器.沃特世应用纪要, [720003443ZH](https://www.waters.com/waters/library.htm?lid=135074404), 2018年4月.

8. Tanna, N.; Plumb, R.; Mullin, L. 使用ACQUITY Premier系统和ACQUITY Premier色谱柱改善磷酸类固醇药物定量分析的灵敏度. 沃特世应用纪要, [720007095ZH](#), 2021年2月.

---

## 特色产品

[ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统 <https://www.waters.com/134613317>](https://www.waters.com/134613317)

[ACQUITY UPLC PDA检测器 <https://www.waters.com/514225>](https://www.waters.com/514225)

[Empower色谱数据系统 <https://www.waters.com/10190669>](https://www.waters.com/10190669)

720007899ZH, 2023年5月



© 2023 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [招聘](#) [危险化学品生产经营许可证](#) [Cookie](#) [Cookie设置](#)

[沪ICP备06003546号-2](#) [京公网安备 31011502007476号](#)