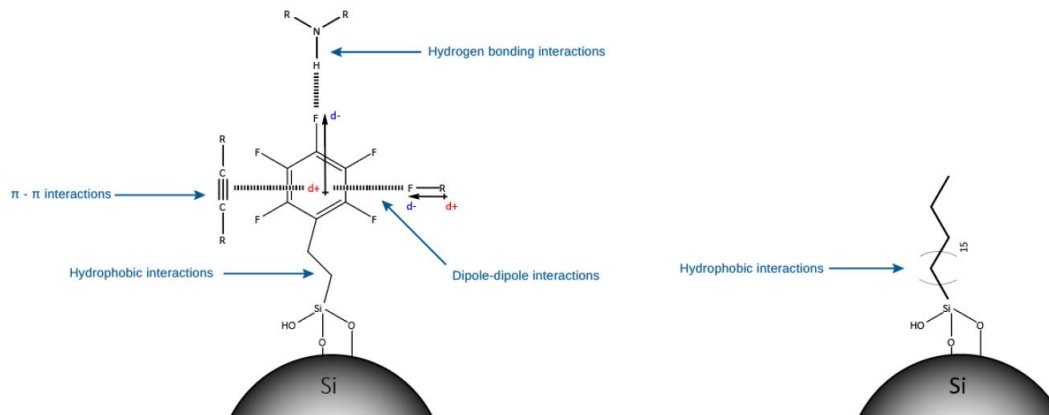


【应用合集】No.9 | 使用 SiliaChrom Plus PFP 相的一些应用场景

SiliaBond Pentafluorophenyl (PFP) 五氟苯基是一种氟化吸附剂，不止可以用于分离含氟原子的分子，还能用于分离非氟化合物。与传统的反相吸附剂(如 C18)相比，PFP 对含芳烃的分子具有更高的选择性。除了包含反相都具有的疏水相互作用外，还可能形成氢键、 π - π 、偶极-偶极相互作用。本篇文章描述了 SiliaChrom Plus PFP 高效液相色谱柱的一些不同场景用途，以及它与传统 C18 的比较。

传统的反相，如 C18 和 C8，通常只通过疏水相互作用使得化合物分离。但 PFP 除了简单的疏水作用外，还可以形成三种其它得相互作用:偶极-偶极、氢键和 π - π 相互作用。这使得 PFP 相对氟化和非氟化的化合物具有不同的亲和力和更广泛的选择性，包括一些极性和共轭的分析物，如卤代酚、紫衫烷、多环芳烃、儿茶酚胺及其前体等。

图 1:与 PFP 和 C18 相可能的作用形式



因此，使用 PFP 相和 C18 相对相同的化合物进行分析时可能会导致不同的色谱图，以及在某些情况下会产生不同的出峰顺序。以下的一些案例说明了 PFP 在一些具体场景上的应用。

应用一：生育酚混合物的分离

维生素 E，也被称为生育酚，会以不同形式的异构体存在， α -、 β -、 γ -和 δ -是最常见的几种异构体(图 2)。位置异构体难分离众所周知，在相同条件下(甲醇:乙腈 25:75，流速 1.5 mL/min，25°C)，使用 SiliaChrom Plus PFP 和 SiliaChrom Plus C18 分离得到的色谱图如图 3 所示。

图 2: 生育酚的 α 、 β 、 γ 和 δ 异构体

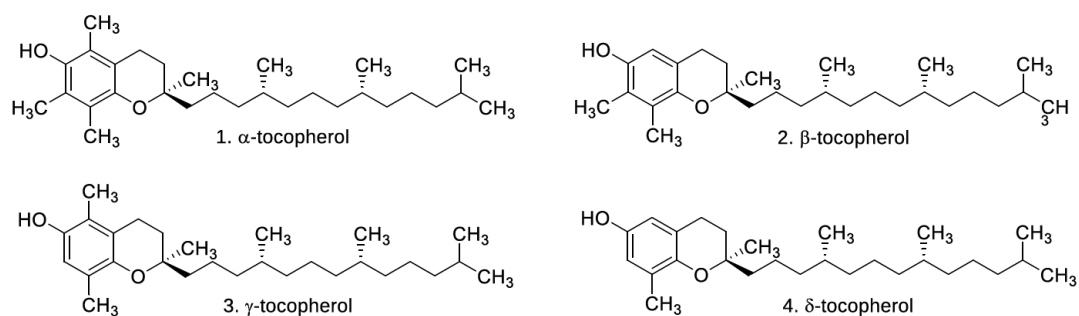
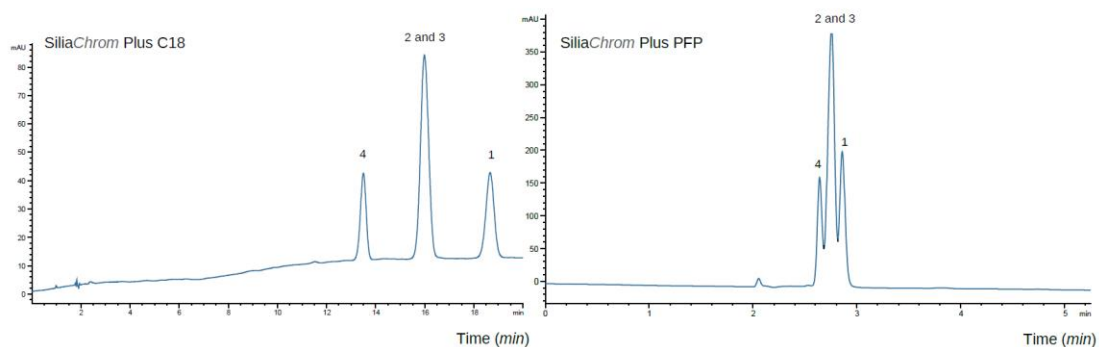
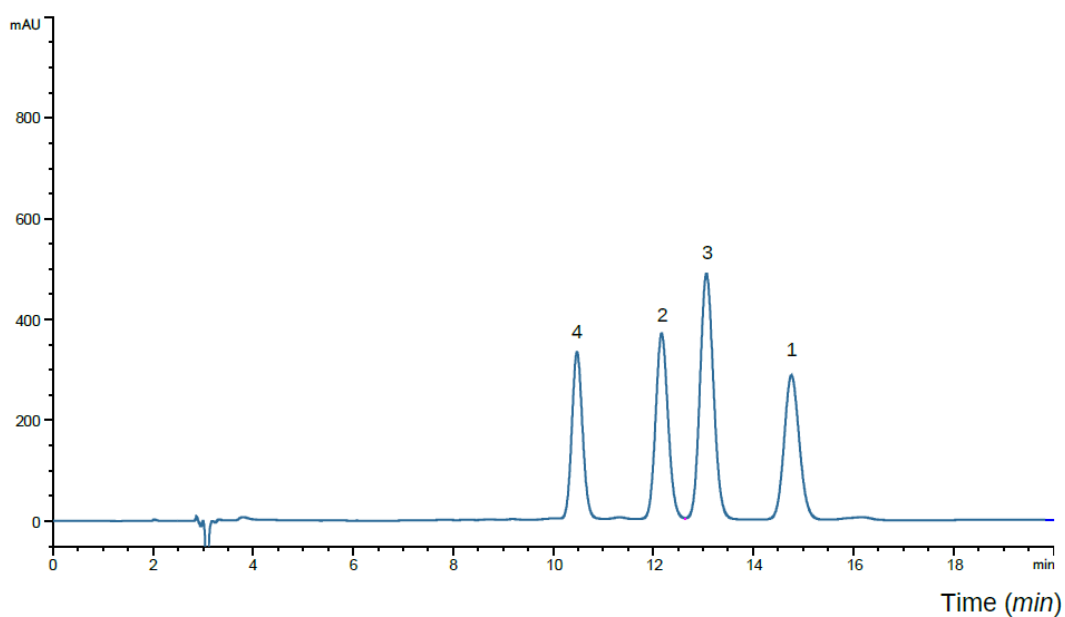


图 3：生育酚异构体的分离色谱图



两种色谱柱都不能做到完全分离这四种位置异构体，但 PFP 色谱柱能在较短的保留时间完成分离，为色谱条件的优化留下了更多的空间。因此用 PFP 柱进一步优化流动相条件，得到如图 4 所示的色谱图 (0.1% 甲酸溶于甲醇中:水 = 90:10, 流速 1.0 mL/min, 25°C)。

图 4：使用 PFP 相分离生育酚异构体的色谱图

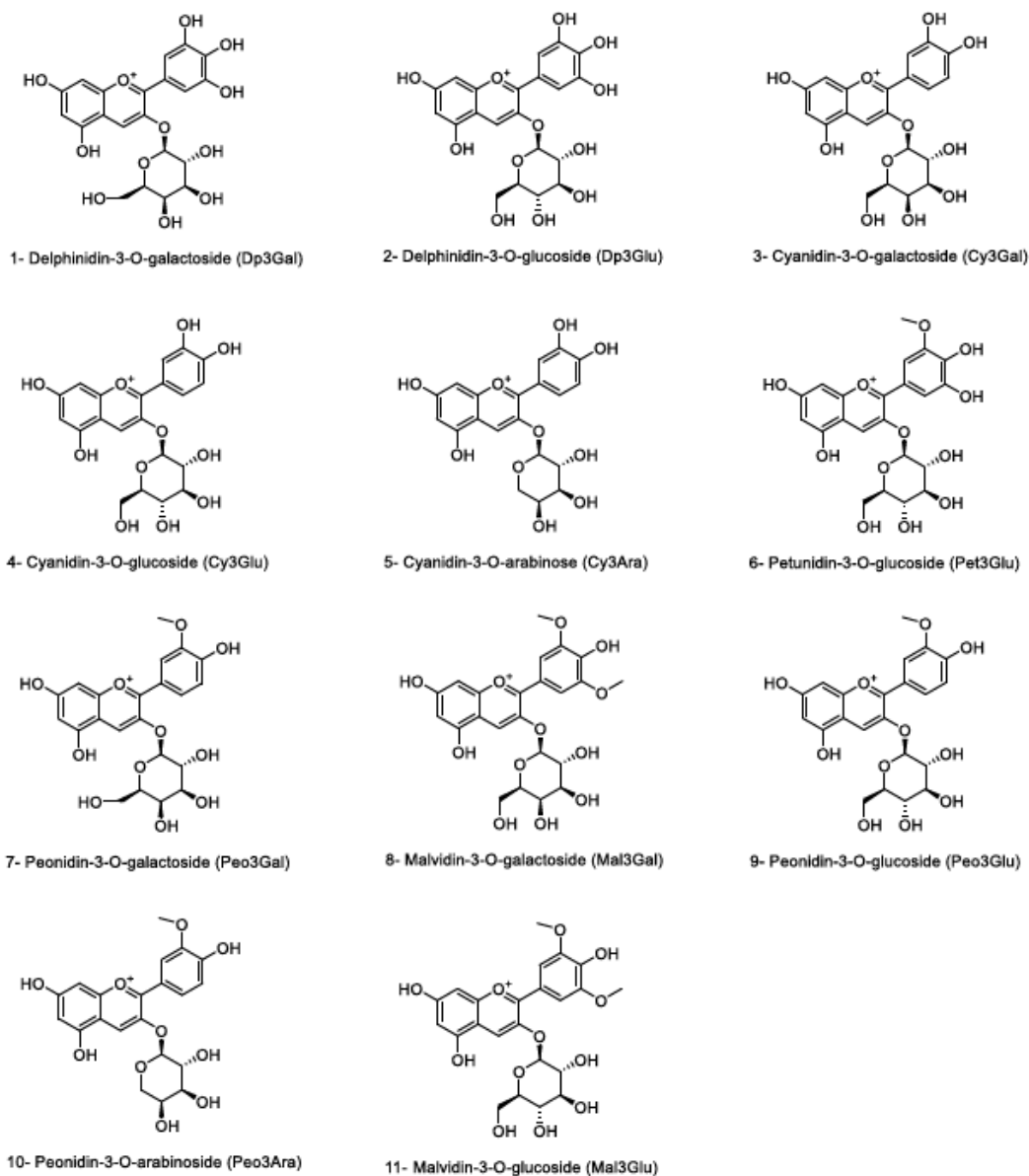


如图所示，使用 PFP 相能够在合理的时间内分离四种异构体。

应用二：蓝莓提取物中花青素的分离

在蓝莓提取物中鉴定 11 种目标花青素，其结构如图 5 所示。花青素是天然色素和抗氧化剂。它们具有抗炎和改善认知功能等特性。

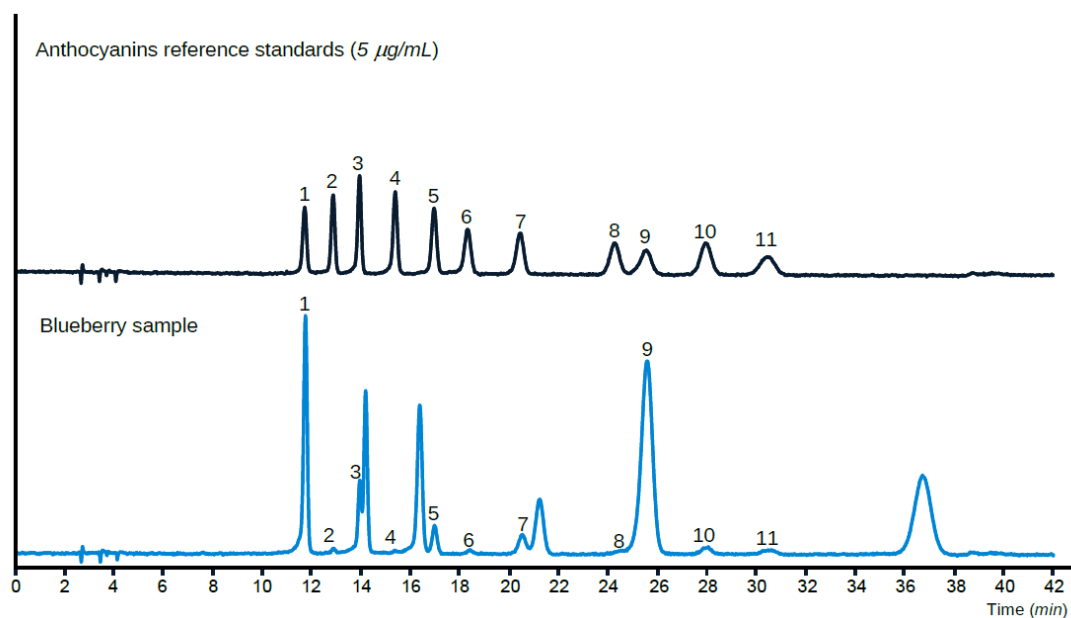
图 5：蓝莓提取物中的花青素



为了分析蓝莓提取物中的花青素，C18 在酸性条件下(乙腈、甲酸、甲醇和水梯度洗脱，1.0 mL/min 流速，25°C)，由于某些峰重叠的情况并不能给出完美的分离。所得到的色谱图如图 6 所示，其中也包含目标花青素的参考标准品。从谱图中看出氰化素-3-半乳糖苷(第 3 峰)和芍药素-3- o -半乳糖苷(第 7 峰)的峰与混合物的其他成分共同洗脱出来了。第 8 峰的 malvidin-3- o -半乳糖苷和第 9 峰的 peonidin-3-O -葡萄糖苷未能得到分离。

图 6：用 SiliaChrom Plus C18, 250 × 4.6 mm, 5 μm 色谱柱，5 μg/mL 浓度下花色苷参考标准品和蓝

莓提取物的色谱图



为了提高分离效果，使用 PFP 对比 C18 进行了测试，结果显示所有目标花青素都被完全分离，如图 7 所示。在这些条件下(乙腈、甲酸、甲醇和水梯度洗脱，1.0 mL/min 流速，25°C)，前面提到的未分离的花青素组分在 PFP 下都与其它花青素组分和其它种类混合物得到了充分分离。

图 7: 用 SiliaChrom Plus PFP, 250 × 4.6 mm, 5 µm 色谱柱, 5 µg/mL 浓度下花色苷参考标准品和蓝莓提取物的色谱图

