

Рекламная статья / Sponsored article



Аппаратные средства Thermo Scientific для оптимизации трансфера методик ВЭЖХ из системы Agilent 1260 Infinity в систему UltiMate 3000 SD и систему УВЭЖХ Vanquish Flex

Статья предоставлена компанией «АВРОПА»

Цель статьи: демонстрация прямого переноса аналитических методов ВЭЖХ из системы Agilent™ 1260 Infinity на платформу UltiMate 3000 и платформу Vanquish.

В статье показаны преимущества платформ UltiMate 3000 и Vanquish для прямого переноса ВЭЖХ методов, согласно требованиям USP.

- Гибкая регулировка общего объема системы в системах Thermo Scientific™ UltiMate™ 3000 и системах УВЭЖХ Thermo Scientific™ Vanquish™ упрощает перенос аналитических методов ВЭЖХ.
- Расширенные аппаратные функции системы ВЭЖХ Thermo Scientific™ Vanquish™ позволяют гибко регулировать общий объем задержки градиента системы для облегчения точной настройки во время переноса.
- Эквивалентные хроматографические результаты получены с обеими системами, но улучшенное разрешение и повторяемость системы обеспечиваются системой Thermo Scientific™ Vanquish™.
- Если чувствительность обнаружения является критической проблемой, то технология Thermo Scientific™ LightPipe™ является оптимальным решением.

Thermo Scientific Hardware to Optimize the Transfer of HPLC Methods from the Agilent 1260 Infinity System to the UltiMate 3000 SD and the Vanquish Flex UHPLC system

The article is presented by the company "AURORA"

Purpose of the article: To demonstrate the direct transfer of analytical HPLC methods from an Agilent™ 1260 Infinity system to the UltiMate 3000 platform and the Vanquish platform.

This article demonstrates the benefits of the UltiMate 3000 and Vanquish platforms for direct transfer of HPLC methods, as required by the USP.

- Flexible control of total system volume on Thermo Scientific™ UltiMate™ 3000 systems and Thermo Scientific™ Vanquish™ UHPLC systems simplifies the transfer of analytical HPLC methods.
- The advanced hardware features of the Thermo Scientific™ Vanquish™ LC system allow flexible adjustment of the total system gradient hold volume to facilitate fine tuning during transfer.
- Equivalent chromatographic results are obtained with both systems, but improved system resolution and repeatability are provided by the Thermo Scientific™ Vanquish™ System.
- If detection sensitivity is a critical issue, then Thermo Scientific™ LightPipe™ technology is the optimal solution.

ОБЩАЯ ЧАСТЬ

Перенос методов аналитической жидкостной хроматографии (ЖХ) с одного прибора на другой является частой, но сложной задачей в большинстве отраслей промышленности и имеет особое значение в фармацевтическом производстве, регулируемым требованиями надлежащих практик¹. Причины необходимости переноса методов много, процедуры включают перенос между одним и тем же или разными типами инструментов в одной лаборатории, а также переход с устаревших инструментов на новые в связи с заменой. Кроме того, очень распространен переход от исследовательских лабораторий к внедряющим лаборато-

риям с различным расположением и оборудованием.

Правильная передача достигается только в том случае, если на передающей и принимающей системе ВЭЖХ получены эквивалентные результаты². Истинная сложность этой задачи во многом зависит от надежности передаваемого метода, а также от инструментальных различий обеих систем. Чтобы успешно справиться с задачей поддержания времени удерживания, разрешения и других критических факторов, необходимо учитывать особые технические характеристики систем, такие как объем градиентной задержки (GDV), гидродинамическое поведение или режим термостабильности. Кроме того, поскольку повторная валидация занимает много времени и является дорогостоя-

¹ Swartz M. E., Krull I. Analytical Method Transfer. *LCGC North America*. 2006;24(11):1204–1214.

² Ermer J., Limberger M., Lis K., Wdtzig H. The transfer of analytical procedures. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2013;85:262–276.

ящим, следует по возможности избегать изменения параметров метода.

В таблице 1 ниже указаны допустимые корректировки параметров для методов ВЭЖХ по Фармакопее США (USP 37 NF 32 S1 Глава 621).

Как видно из таблицы, трансфер методики, особенно методики, связанной с градиентным элюированием, имеет очень мало степеней свободы в плане корректировки самой методики, поэтому возможность различных аппаратных решений, позволяющих корректировать параметры метода, без изменения критических параметров методики, становится критичной при передаче методов.

В предлагаемой вашему вниманию статье демонстрируется использование аппаратных функций, предоставляемых платформами Thermo Scientific UltiMate 3000 и Vanquish, таких как настраиваемый объем задержки градиента и переключаемые режи-

мы термостатирования, для передачи метода с прибора другого производителя (здесь система Agilent 1260 Infinity).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты и материалы

- Деионизированная вода с удельным сопротивлением 18,2 МОм · см или выше.
- Метанол Fisher Scientific™ Optima™, класс ЖХ/МС.
- Безводный двухосновный фосфат натрия Fisher Scientific™.
- Дигидрофосфат калия Fisher Scientific™.
- Ацетаминофен, 4-аминофенол, N- (4-гидроксифенил) пропанамид (примесь В), 2-ацетамидофенол (примесь С), ацетанилид (примесь D), 4'-хлорацетанилид (примесь J) были приобретены у поставщиков с хорошей репутацией.

Таблица 1. Допустимые корректировки параметров для методов ВЭЖХ по Фармакопее США

Table 1. Admissible parameter adjustments for HPLC methods according to the US Pharmacopoeia

Параметры пригодности системы System suitability parameters	USP 37 NF 32 S1 Глава 621 USP 37 NF 32 S1 Chapter 621	
	Изократика Isocratic	Градиент Gradient
Размер частиц Particle size	Д/рч: от -25 до +50 % или КТТ: -25 до +50 %	Корректировки недопустимы No adjustments are allowed
Длина колонки Column length	L/ps: from -25 to +50 % or NTP: -25 to +50 %	
Внутренний диаметр колонки Column inner diameter	Можно регулировать, если линейная скорость остается постоянной Can be adjusted if line speed remains constant	Корректировки недопустимы No adjustments are allowed
Скорость потока Flow rate	$F2 = F1 \times [(dc2 \times dp1) / (dc1 \times dp2)]$ Дополнительные корректировки: $\pm 50 \%$, дает уменьшение КТТ $\leq 20 \%$ Additional adjustments: $\pm 50 \%$, gives a reduction in NTP $\leq 20 \%$	Корректировки недопустимы No adjustments are allowed
Объем ввода пробы Sample injection volume	Может регулироваться, насколько это соответствует точности и пределам обнаружения Can be adjusted to match accuracy and detection limits	Может регулироваться, насколько это соответствует точности и пределам обнаружения Can be adjusted to match accuracy and detection limits
Температура колонки Column temperature	$\pm 10^\circ\text{C}$	$\pm 10^\circ\text{C}$
pH подвижной фазы pH of the mobile phase	$\pm 0,2$ ед. ± 0.2 units	$\pm 0,2$ ед. ± 0.2 units
Содержание солей Salt content	В пределах $\pm 10 \%$ при соблюдении допустимого отклонения pH Within $\pm 10 \%$ subject to pH tolerance	В пределах $\pm 10 \%$ при соблюдении допустимого отклонения pH Within $\pm 10 \%$ subject to pH tolerance
Соотношение компонентов в подвижной фазе The ratio of the components in the mobile phase	Второстепенный компонент ($\leq 50 \%$): относительное значение $\pm 30 \%$, но не может превышать $\pm 10 \%$ абсолютного значения; можно регулировать только один второстепенный компонент в тройных смесях Minor component ($\leq 50 \%$): relative value $\pm 30 \%$, but cannot exceed $\pm 10 \%$ of the absolute value; only one minor component can be adjusted in ternary mixtures	Корректировки недопустимы No adjustments are allowed
Длина волны детектора Detector wavelength	Корректировки недопустимы No adjustments are allowed	Корректировки недопустимы No adjustments are allowed

Примечание. Д/рч – отношение длины колонки к размеру частиц сорбента.
КТТ – число теоретических тарелок.

Note. L/ps – the ratio of the column length to the size of the sorbent particles.
NTP – the number of theoretical plates.

Таблица 2. Приборы

Table 2. Devices

Стандартные конфигурации Standard configurations			
	Agilent 1269 Infinity	UltiMate 3000	Vanquish Flex
Насос Pump	Градиентный, четыре растворителя Gradient, four solvents	Стандартный градиентный четыре растворителя Standard Gradient Four Solvents	Градиентный, четыре растворителя Gradient, four solvents
Автосамплер Autosampler	Высокоэффективный самплер с модулем термостатирования High efficiency sampler with thermostat module	Микропланшетный автосамплер WPS3000TSL Microplate Autosampler WPS3000TSL	Сплит самплер FT Split sampler FT
Отделение для колонок Column compartment	Термостатируемое, с теплообменником 6 мкл Thermostatted, with 6 µl heat exchanger	Термостатируемое с теплообменником Thermostatted with heat exchanger	Термостатируемое с настраиваемым теплообменником Thermostatted with adjustable heat exchanger
Детектор Detector	Диодно-матричный детектор Diode Array Detector	Диодно-матричный детектор Diode Array Detector	Диодно-матричный детектор Diode Array Detector
Ячейка Cell	Стандартная 10 мм, 13 мкл Standard 10 mm, 13 µl	Аналитическая 10 мм, 13 мкл Analytical 10 mm, 13 µl	Стандартная био 10 мм, 13 мкл Standard bio 10 mm, 13 µl
Аппаратные модификации, примененные для передачи метода Hardware modifications applied to method transfer			
		- Добавление 7 мкл преподогревателя элюента. - Замена штатного статического смесителя 350 мкл на статический смеситель 750 мкл - Addition of 7 µl eluent preheater. - Replacing a standard 350 µl static mixer with a 750 µl static mixer	- Замена штатной петли на 25 мкл петель на 100 мкл. - Замена объема задержки градиента с 25 мкл по умолчанию - Replacement of a standard loop for 25 µL with a loop for 100 µL. - Replacing the delayed gradient volume from the default 25 µL
Модификации для повышения чувствительности Sensitivity modifications			
			- Замена DAD FG на DAD HL со стандартной проточной кюветой LightPipe (10 мм) или установка проточной кюветы высокой чувствительности LightPipe (60 мм) - Replace DAD FG with DAD HL with standard LightPipe (10 mm) flow cell or install LightPipe (60 mm) high sensitivity flow cell

Таблица 3. Условия хроматографирования

Table 3. Chromatographic conditions

Колонка Column	Hypersil GOLD C8, 4.6 × 100 mm, 3 µm, 175 A
Подвижная фаза Mobile phase	A: 1,7 г/л KH ₂ PO ₄ и 1,8 г/л Na ₂ HPO ₄ в воде. B: метанол A: 1.7 g/l KH ₂ PO ₄ and 1.8 g/l Na ₂ HPO ₄ in water. B: methanol
Скорость потока Flow rate	1 мл/мин 1 ml/min
Градиент Gradient	0 мин 1% B 3 мин 1% B 7 мин 81% B 7,1 мин 1% B 12 мин 1% B* 0 min 1% B 3 min 1% B 7 min 81% B 7.1 min 1% B 12 min 1% B*

Температура колонки Temperature columns	35 °C с использованием предварительного нагрева элюента 35 °C using eluent preheating
Температура проб Temperature samples	8 °C
Детектирование Detection	230 нм, частота сбора данных 10 Гц, время отклика 0,5 с 230 nm, acquisition rate 10 Hz, response time 0.5 s
Объем ввода пробы Sample injection volume	1 мкл 1 µl
Промывка иглы Needle flush	Отключена Disabled

Примечание. * При использовании системы UltiMate 3000 SD со статическим миксером на 750 мкл время уравнивания было увеличено до 13 минут.

Note. * Equilibration time increased to 13 minutes when using the UltiMate 3000 SD system with a 750 µL static mixer.

Пробоподготовка

Исходные растворы ацетаминофена (20 мг/мл), 4-аминофенола и примесей В, С, D и J (по 1 мг/мл каждый) готовили в метаноле. Путем разбавления метанолом и смешивания исходных растворов был подготовлен образец, содержащий 1 мг/мл ацетаминофена и 10 мкг/мл каждого из других соединений (что соответствует 1 % API).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Все эксперименты по переносу метода проводились с одной и той же колонкой и образцом, с согласованными параметрами метода и семью повторными вводами. Хроматограммы на рисунке 1 отображают начальную ситуацию для переноса из системы Agilent 1260 Infinity к системе UltiMate 3000 SD и к системе Thermo Scientific™ Vanquish™.

Соответствующие времена удерживания приведены в таблице 4.

На рисунке 1а данные системы Agilent 1260 Infinity сравниваются с данными, полученными на системе UltiMate 3000 стандартной конфигурации без предварительного нагревателя элюента, а также с данными, полученными на системе UltiMate 3000, оснащенной дополнительным предварительным нагревателем объемом 7 мкл. Отчетливые различия обеих хроматограмм системы UltiMate 3000 наглядно демонстрируют заметное влияние термостатиро-

вания элюента даже при умеренных температурах разделения. Таким образом, успешный перенос метода должен осуществляться при отрегулированных условиях термостатирования и установленном подогревателе в системе UltiMate 3000. Это особенно подчеркивается поведением первого пика (4-аминофенол), который элюируется в изократических условиях и не подвержен эффектам градиента. Без предварительного нагрева элюента он элюируется позже, чем в системе Agilent 1260 Infinity, и приближается, когда применяется предварительный нагрев. В системе Vanquish Flex активный подогреватель включен в стандартную конфигурацию и для переноса этого метода он был активирован, давая аналогичное удержание аминафенола (рисунок 1b). Напротив, все пики, которые элюируются во время градиента, элюируются раньше на обоих приборах Thermo Scientific, чем на системе Agilent 1260 Infinity с включенным предварительным нагревом элюента для трех систем. В основном это происходит из-за большего (и, кроме того, зависящего от обратного давления) объема задержки градиента прибора Agilent 1260. По этой причине физическая регулировка объема задержки градиента с помощью нескольких функций, предоставляемых UltiMate 3000 и Vanquish, является многообещающим способом минимизировать системные различия для успешного переноса метода.

Для переноса анализа ацетаминофена из системы Agilent 1260 Infinity в систему UltiMate 3000 SD статический смеситель по умолчанию (350 мкл) был

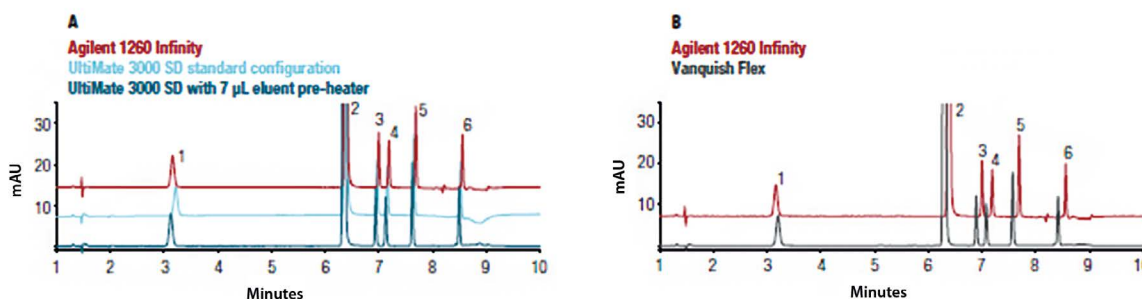


Рисунок 1. Начальная ситуация передачи метода.

А – Хроматограмма системы Agilent 1260 Infinity по сравнению с системой UltiMate 3000 SD в стандартной конфигурации и с дополнительным предварительным нагревателем элюента; В – Хроматограмма системы Agilent 1260 Infinity по сравнению с системой Vanquish Flex

Figure 1. Initial situation of method transfer.

A – Chromatogram of the Agilent 1260 Infinity system compared to the UltiMate 3000 SD system in standard configuration and with optional eluent preheater; B – Chromatogram of the Agilent 1260 Infinity System compared to the Vanquish Flex System

Таблица 4. Времена удерживания

Table 4. Retention times

№ пика Peak no.	Компонент Component	1260	UM 3000 без пре-хитера UM 3000 without pre-heather	UM 2000 с пре-хитером UM 2000 with pre-hitter	Vanquish Flex
1	4-аминофенол	3.16	3.21	3.13 (Δ 0.9 %)	3.20 (Δ – 1.3 %)
2	Ацетаминофен (АФИ)	6.38	6.39	6.34 (Δ 0.5 %)	6.29 (Δ 1.3 %)
3	Примесь В	7.00	6.97	6.94 (Δ 0.8 %)	6.89 (Δ 1.6 %)
4	Примесь С	7.19	7.16	7.13 (Δ 0.8 %)	7.08 (Δ 1.5 %)
5	Примесь D	7.69	7.66	7.63 (Δ 0.8 %)	7.57 (Δ 1.6 %)
6	Примесь J	8.56	8.52	8.50 (Δ 0.7 %)	8.41 (Δ 1.7 %)

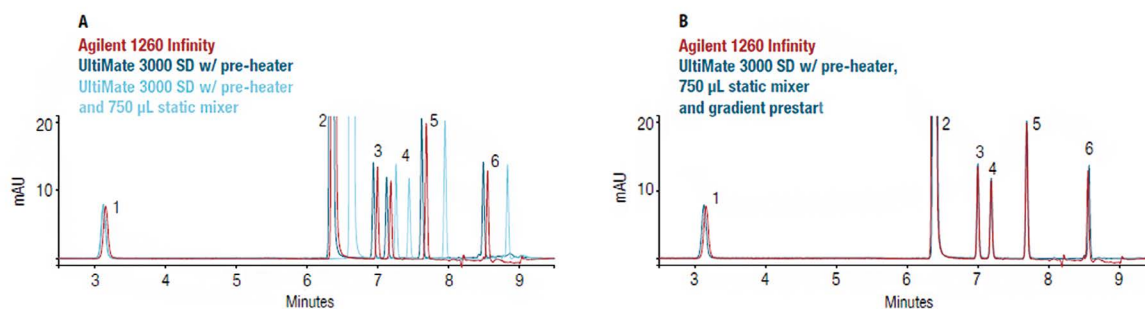


Рисунок 2. Передача метода из системы Agilent 1260 Infinity в систему UltiMate 3000 SD.

A – Сравнение системы Agilent 1260 Infinity и системы UltiMate 3000 SD с предварительным нагревателем элюента и статическим смесителем стандартного или большего размера; **B** – окончательный перенос: сравнение системы Agilent 1260 Infinity и системы UltiMate 3000 SD с подогревателем элюента, статическим смесителем большего размера и предварительным запуском градиента

Figure 2. Method transfer from an Agilent 1260 Infinity system to an UltiMate 3000 SD system.

A – Comparison of the Agilent 1260 Infinity System and the UltiMate 3000 SD System with standard or larger eluent preheater and static mixer; **B** – Final Transfer: Comparison of the Agilent 1260 Infinity System and the UltiMate 3000 SD System with Eluent Warmer, Larger Static Mixer, and Gradient Pre-Run

заменен на более крупный смеситель на 750 мкл. Поскольку эта разница в объеме чрезмерно компенсировала разницу ОЗГ между передающей и принимающим приборами (см. рисунок 2а), для согласования времен удерживания был применен престарт градиента.

С помощью техники предварительного запуска можно смоделировать меньший объем задержки градиента путем смещения времени инъекции относительно начала метода. Поскольку инъекция по определению выполняется в 0,0 мин, для начала метода устанавливается отрицательное значение времени и все остальные шаги метода сдвигаются на то же значение. Таким образом, ни один сегмент метода не изменяется, и таблица градиентов в целом не изменяется. Для текущего переноса степень сдвига по времени составила –0,27 мин и была получена из средней разницы во времени удерживания пиков, элюированных градиентом системы UltiMate 3000 со статическим смесителем на 750 мкл и системой Agilent 1260 Infinity. На рисунке 2b показано очень хорошее совпадение времени удерживания, которое было получено с помощью этого метода, что дает отклонения относительного времени удерживания < 1 % для аминокислот и < 0,2 % для пиков, которые элюируются в градиенте по отношению к исходному методу. Хотя пики, элюированные градиентом, сдвигаются в соответствии с истинными или смоделированными корректировками ОЗГ, пики, элюированные в изократических условиях, не затрагиваются. Незначительная разница в удерживании аминокислот, таким образом, может быть результатом немного различных температурных условий или пропорции изократических условий с 1% подвижной фазы В.

Напротив, предварительный запуск градиента не был необходим для системы Vanquish Flex для достижения согласованности времени удерживания из-за более гибких возможностей настройки GDV. Сначала разница ГРВ.

Системы Agilent 1260 Infinity и Vanquish Flex стандартной конфигурации, представленные на рисунке 1b, были частично компенсированы заменой стандартной петли для отбора проб Vanquish петлей для отбора проб 100 мкл (фактический вклад ОЗГ 130 мкл). Полученное время удерживания было ближе к исходному прибору (см. рисунок 3а), а оставшиеся различия находились в диапазоне, который можно было компенсировать, регулируя объем задержки градиента дозирующего устройства автосэмплера, проводящего ввод пробы. Эта функция уникальна для платформы Vanquish и может помочь в тонкой настройке ОЗГ, поскольку она является частью пути потока петли образца. Настройка объема холостого хода по умолчанию, равная 25 мкл, была увеличена на 43 мкл до 68 мкл, что привело к хорошему согласованию времен удерживания, показанному на рисунке 3b, с относительными отклонениями времени удерживания 1,2 % для аминокислот и < 0,4 % для пиков градиента.

Еще одна уникальная особенность приборов Vanquish – переключаемый режим термостатирования отсека колонки, дающий возможность выбора между статическим или принудительным нагревом колонны воздуха. Предыдущие хроматограммы были записаны в режиме неподвижного воздуха, так как он лучше всего отражает режим термостатирования отделения колонки Agilent. Рисунок 4 показывает, что для текущего применения режим термостатирования оказывает незначительное влияние на время удерживания и здесь им можно пренебречь. Однако в приложениях с более высокими диапазонами давления (сверхвысокопроизводительная ЖХ, УВЭЖХ, > 600 бар), где становится актуальным нагрев колонки трением, режим отделения колонки имеет определенное значение.

В результате, времена удерживания были успешно перенесены с прибора Agilent 1260 Infinity на прибор UltiMate 3000 SD и прибор Vanquish Flex с помощью физической или моделируемой адаптации ОЗГ.

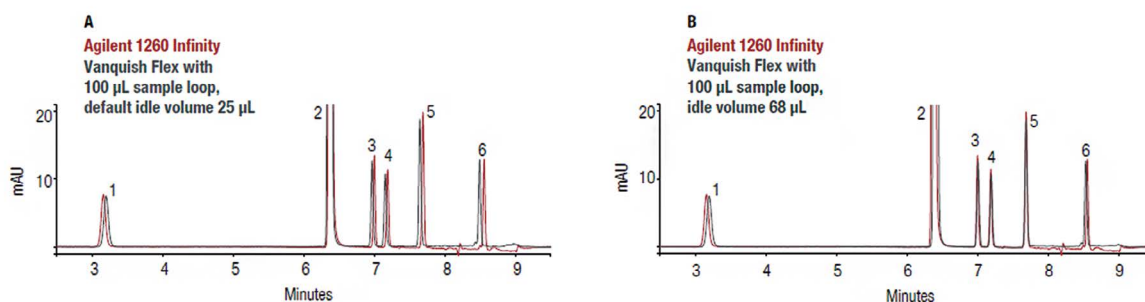


Рисунок 3. Перенос метода из системы Agilent 1260 Infinity в систему Vanquish Flex.

A – Сравнение системы Agilent 1260 Infinity и системы Vanquish Flex с петлей для образцов на 100 мкл; **B** – окончательный перенос: сравнение системы Agilent 1260 Infinity и системы Vanquish Flex с петлей для образцов 100 мкл и адаптированным свободным объемом до 68 мкл

Figure 3. Method transfer from an Agilent 1260 Infinity system to a Vanquish Flex system.

A – Comparison of the Agilent 1260 Infinity System and the Vanquish Flex System with a 100 µL sample loop; **B** – Final Transfer: Comparison of the Agilent 1260 Infinity System and the Vanquish Flex System with a 100 µL sample loop and an adapted free volume up to 68 µL

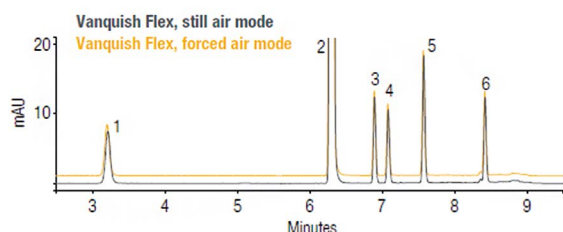


Рисунок 4. Незначительное влияние режима термостатирования колонки для системы Vanquish Flex в режиме статического и принудительного воздухообмена

Figure 4. Minor effect of column incubation mode for Vanquish Flex system in static and forced air exchange mode

Это полностью согласуется с допустимыми корректировками в соответствии с Общей главой USP <621>, в которой говорится: «Если корректировки необходимы, изменение [...] продолжительности первоначальной изократической задержки (если предписано) и/или допустимый объем выдержки»^{1,2}. Кроме того, важные хроматографические результаты легко сохранялись во время переноса. Разрешение критической пары примесей В и С всего³ или лучше тестируемых сценариев, а коэффициенты задержки пиков варьировались от 0,99 до 1,12. Относительное стандартное отклонение высот пиков всегда было намного ниже

¹ United States Pharmacopeia USP40-NF35 S2, Acetaminophen method, The United States Pharmacopeial Convention. 2017.

² United States Pharmacopeia USP40-NF35 S2, General chapter <621> Chromatography, The United States Pharmacopeial Convention. 2017.

³ Paul C., Grubner M. et al. Thermo Scientific White Paper 72711: An instrument parameter guide for successful (U)HPLC method transfer. 2018. Available at: <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Reference-Materials/wp-72711-lc-methodtransfer-guide-wp72711-en.pdf>.

1 % (рисунок 5a). Таким образом, соответствие системы USP было достигнуто всеми тремя системами, как с адаптацией ОЗГ, так и без нее. Относительные площади всех пиков примесей были постоянными на всех трех приборах (рисунок 5b).

На рисунке 6 приведены отношения сигнал/шум (S/N) переданного метода, демонстрирующие явное улучшение характеристик S/N от исходной системы к системе Ultimate 3000 SD и системе Vanquish Flex в представленной конфигурации. В качестве альтернативы Thermo Scientific™ Vanquish™ DAD FG предлагается Thermo Scientific™ Vanquish™ DAD HL, которая обеспечивает превосходное отношение сигнал/шум, основанное на технологии Thermo Scientific™ LightPipe™, (дополнительный серый столбик на графике). Эти результаты были получены с той же системой Vanquish, что и раньше, но с замененной стандартной проточной кюветой с такой же длиной оптического пути, что и в трех предыдущих системах 10 мм на высокочувствительную проточную кювету с световым путем 60 мм. Повышение отношения сигнал/шум проточной кюветы LightPipe в основном вызвано снижением шума, а преимущество от применения высокочувствительной проточной кюветы, в частности, обусловлено увеличением чувствительности из-за длинного светового пути. Эта ячейка особенно подходит для анализа с колонками с внутренним диаметром 4,6 мм⁴. Таким образом, DAD HL оптимален для анализа примесей с низким содержанием, и настоятельно рекомендуется если характеристики отношения сигнал/шум или чувствительность имеют решающее значение.

⁴ Manka A., Franz, H. Thermo Scientific Technical Note 165: Boosting Trace Detection Performance with the Vanquish Diode Array Detector and High-Sensitivity LightPipe Flow Cell. 2016. <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Application-Notes/TN-165-LC-Vanquish-DAD-Trace-Detection-TN71674-EN.pdf>. Accessed: 26.04.2021.

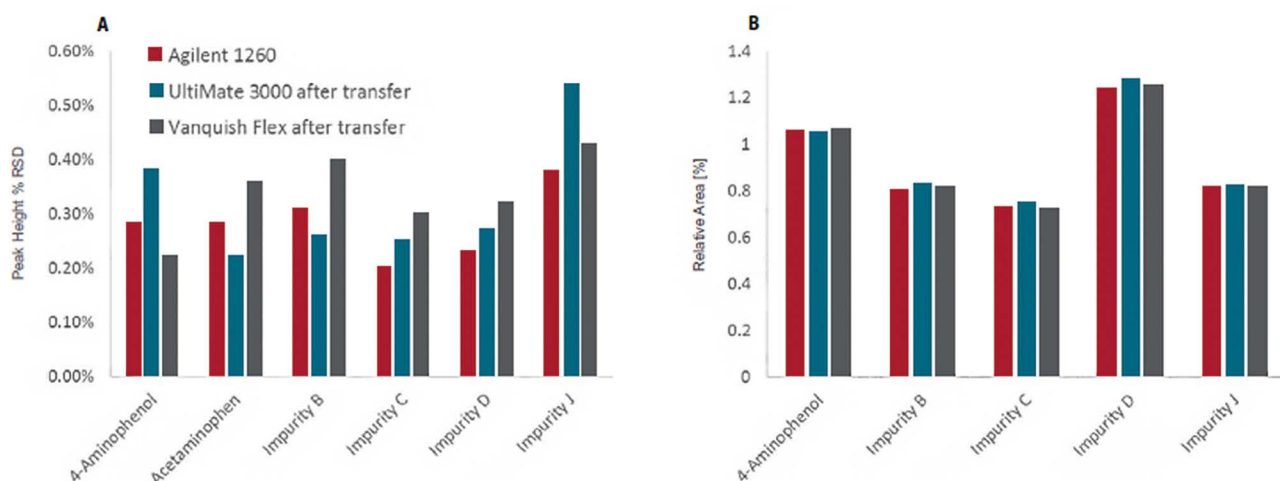


Рисунок 5. Усредненная точность высоты пика (A) и относительные площади пиков примесей (B) для исходной системы Agilent 1260 Infinity, системы UltiMate 3000 SD после оптимизации переноса метода (статический смеситель 750 мкл и предварительный запуск градиента) и системы Vanquish Flex после оптимизация переноса метода (петля для образцов 100 мкл и свободный объем 68 мкл)

Figure 5. Average Accuracy of Peak Height (A) and Relative Peak Areas for Impurities (B) for the original Agilent 1260 Infinity System, UltiMate 3000 SD System after Method Transfer Optimization (750 μ L Static Mixer and Gradient Pre-Run), and Vanquish Flex System after Transfer Optimization method (sample loop 100 μ L and free volume 68 μ L)

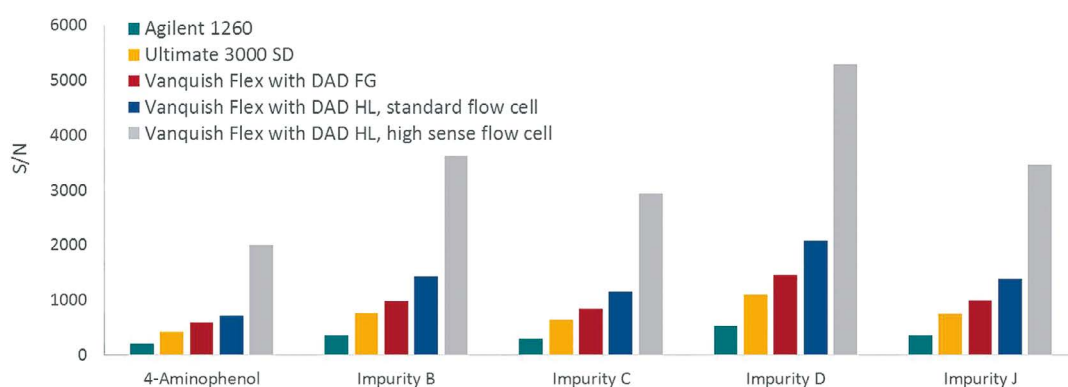


Рисунок 6. Отношения сигнал/шум (S/N), полученные с помощью системы Agilent 1260 Infinity, системы Ultimate 3000 SD после оптимизации переноса метода (статический смеситель 750 мкл и предварительный запуск градиента), системы Vanquish Flex после оптимизации переноса метода (образец 100 мкл петля и объем холостого хода 68 мкл) с DAD FG, DAD HL с проточной кюветой 10 мм и DAD HL с проточной кюветой с высокой чувствительностью 60 мм. Шум рассчитывается по текущей хроматограмме 4,1–4,6 мин

Figure 6. Signal-to-noise (S/N) ratios obtained with the Agilent 1260 Infinity System, the Ultimate 3000 SD System after method transfer optimization (750 μ L static mixer and gradient pre-run), Vanquish Flex System after method transfer optimization (sample 100 μ L loop and 68 μ L idle volume) with DAD FG, DAD HL with 10 mm flow cell, and DAD HL with 60 mm high sensitivity flow cell. Noise is calculated from the current chromatogram 4.1–4.6 min

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Во время переноса метода анализа на ацетаминофен из системы Agilent 1260 Infinity в систему UltiMate 3000 SD, а также в систему Vanquish Flex (все с четверным градиентом), прямое совпадение времени удерживания было достигнуто за счет истинных и имитированных корректировок ГРВ с помощью различных инструментов, предоставляемых платформы Thermo Scientific, такие как сменные подогреватели элюента, насосные смесители, кон-

туры проб и регулируемый объем холостого хода автосэмплера.

Другие важные хроматографические результаты, такие как разрешение пары критических пиков, асимметрия пиков, точность высоты пика и относительные площади пиков, легко сохранялись во время переноса. Соотношение сигнал/шум заметно улучшилось во время передачи.

Если чувствительность метода к обнаружению вызывает особую озабоченность, рекомендуется использовать технологию DAD LightPipe для приложений LC-UV.