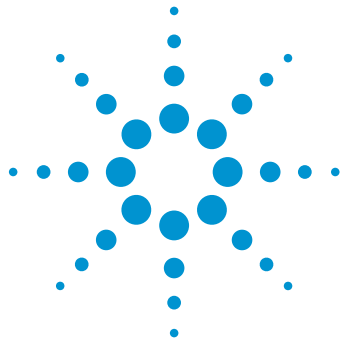




Система ВЭЖХ Agilent 1290 Infinity II для работы по нескольким методикам

Переключайтесь между семью задачами в одной системе ЖХ, используя автоматический выбор колонки и растворителя

Методическая информация

Анализ пищевых продуктов и сельское хозяйство

Автор

Эдгар Негеле (Edgar Naegele)
Agilent Technologies, Inc.

Аннотация

В данной методической информации описано использование ВЭЖХ Agilent 1290 Infinity II для автоматизированной работы семи разных задач, использующих различные методики (различные стационарные и подвижные фазы) для анализа пищевых продуктов. Переключение колонок контролируется используемой методикой. Все колонки расположены в одном термостате Agilent 1290 Infinity II Multicolumn Thermostat. Соответственно, к двум внешним кранам-переключателям выбора растворителя присоединен насос Agilent 1290 Infinity II Flexible Pump, что обеспечивает автоматическое переключение между растворителями, требуемыми для конкретной методики.



Agilent Technologies

Введение

В обычной испытательной лаборатории пищевых продуктов существует большое количество различных методик, например для определения микотоксинов, парабиенов и т. д. Эти методики обычно подразумевают выполнение измерений на одном приборе УВЭЖХ, для чего требуется подбор колонок и растворителей, позволяющий адаптировать прибор к требуемой задаче. Если эти переходы между различными колонками и растворителями выполняются вручную, то эксперимент по анализу большого количества веществ становится времязатратным. Если анализ завершается после окончания рабочего дня, то прибор может простаивать в ожидании ручного обслуживания или перезапуска в течение нескольких часов или даже дней. Таких ситуаций можно избежать путем использования системы, в которой реализуется возможность выбора и переключения между различными колонками и растворителями, такой как ВЭЖХ Agilent 1290 Infinity II. Эта система может одновременно работать с 8 колонками и 26 различными растворителями, позволяя воспроизвести до 1 000 различных условий анализа. Отдельная комбинация растворителя и колонки выбирается на основе предварительно заданной методики, которая оптимизирована для анализа требуемых соединений, что упрощает автоматическую смену условий анализа в пределах последовательности нескольких анализов.

Описываемая система включает два высокотехнологичных модуля ВЭЖХ 1290 Infinity II от компании Agilent: термостат Agilent 1290 Infinity II Multicolumn Thermostat (MCT) и автосамплер Agilent 1290 Infinity II Multisampler, что способствует повышению эффективности системы и достижению высочайшей производительности.

Многоколоночный термостат Agilent 1290 Infinity II MCT обеспечивает точную температуру колонок в широком диапазоне температур. Теплообмен выполняется теплообменниками с минимальным мертвым объемом и высокой эффективностью, что позволяет обеспечить превосходную стабильность времен удерживания и высокую воспроизводимость.

Благодаря богатому функционалу (большая вместимость, процедуры работы с иглами, снижение эффекта памяти и др.) Agilent 1290 Infinity II Multisampler может работать с большим количеством различных типов проб и аналитов без необходимости дополнительного вмешательства². Это позволяет обеспечить оптимальную производительность системы, работающей по нескольким методикам.

Здесь описано использование ВЭЖХ 1290 Infinity II с восьмипозиционным краном выбора колонок, расположенном в термостате Agilent 1290 Infinity II MCT, и двумя кранами-переключателями выбора растворителя, сопряженными с насосом 1290 Infinity II Flexible Pump для работы по нескольким методикам.

Экспериментальная часть

Оборудование

ВЭЖХ 1290 Infinity II от компании Agilent для работы по нескольким методикам включает:

- Насос Agilent 1290 Infinity II Flexible (G7104A)
- Автосамплер Agilent 1290 Infinity II Multisampler (G7167B)

- Термостат Agilent 1290 Infinity II MCT (G7116B) с приводом крана (G7116B № 058), оснащенный восьмипозиционным краном выбора колонок Agilent Quick-Change (G4239C) и набором капилляров (G4239C № 005, кат. № 5067-4248). Этот набор включает все теплообменники Agilent Quick-Connect (стандартные) и капилляры, требуемые для установки до восьми колонок.
- Детектор на диодной матрице Agilent 1290 Infinity II DAD (G7117B)
- Привод внешнего крана Agilent 1290 Infinity (2 x G1170A) с краном-переключателем растворителя Quick-Change (2 x G4235A)

Программное обеспечение

Agilent OpenLAB A.02.02 CDS, ChemStation Edition для систем ЖХ и ЖХ-МС, версия C.01.07

Настройка прибора

Колонки, используемые для всех задач, были приведены в списке колонок ПО ChemStation (рис. 1). В списке колонок ПО ChemStation создайте новую строку: выберите **Append** (Добавить), чтобы добавить новую колонку. Для колонок необходимо задать описание, геометрические данные, размер частиц и ограничения, такие как pH, давление и температура. Установленные аналитические колонки отмечены в таблице меткой YES.

Edit Columns: Infinity II MethDev														
Insert Append Remove Print OK Cancel Help														
#	Installed	Description	Col. Serial#	Batch#	Product#	# Injections	Max. p [Bar]	Max. T [°C]	Max. pH	Max. pH	Length	Diameter	Size	Void Unit Comment
1	YES	EdgePlus C18 2	autoID-12	959764-906	0	600	80.0	9.0	2.8	100.0	2.1	1.8	60.00	%
2	YES	Poroshell 120EC-C	autoID-13	655975-302	0	600	80.0	9.0	2.8	100.0	3.0	2.7	60.00	%
3	YES	SB C18 2, 1x50mm	autoID-14	827750-902	0	600	80.0	9.0	2.8	50.0	2.1	1.8	60.00	%
4	YES	EdgePlus C18 2	autoID-15	959758-902	0	600	80.0	9.0	2.8	50.0	2.1	1.8	60.00	%
5	YES	SB-C18	autoID-16	828750-906	0	600	80.0	9.0	2.8	100.0	2.1	1.8	60.00	%
6	YES	Extend-C18	autoID-17	728750-902	0	600	80.0	30.0	2.8	100.0	2.1	1.8	60.00	%
7	YES	EdgePlus C18	autoID-18	959741-902	0	600	80.0	9.0	2.8	50.0	2.1	1.8	60.00	%
8	NO	Flexible XDB-C18	autoID-6	927675-803	0	600	80.0	9.0	3.8	50.0	4.6	1.8	60.00	%
9	NO	SB-C18	autoID-7	827750-903	0	600	90.0	9.0	1.8	50.0	2.1	1.8	60.00	%
10	NO	SB-C18	autoID-8	827675-303	0	600	90.0	9.0	1.8	50.0	3.0	1.8	60.00	%
11	NO	SB-C18	autoID-9	827675-902	0	600	90.0	9.0	1.8	50.0	4.6	1.8	60.00	%
12	NO	EdgePlus C18	autoID-10	959941-902	0	600	80.0	9.0	3.8	50.0	4.6	1.8	60.00	%
13	NO	EdgePlus XDB-C18	autoID-11	953967-902	0	400	80.0	9.0	3.8	150.0	4.6	9.0	60.00	%

Рис. 1. Список колонок в ПО Agilent ChemStation, который обеспечивает обзор всех имеющихся в лаборатории колонок

Список колонок напрямую связан с процессом назначения колонок в термостате 1290 Infinity II МСТ (рис. 2). В процессе назначения можно выбрать положение колонки (справа или слева), а также цветовую кодировку. В области Column Tag Information (Информация о колонках) можно выбрать колонку с нужными параметрами, а также задать ее расположение и цветовую кодировку.

Используемые для конкретных методик колонки можно выбрать на экране методики термостата 1290 Infinity II МСТ (рис. 3). Соответствующая колонка выбирается либо из раскрывающегося списка, содержащего все назначенные колонки, либо просто нажатием на колонку с нужной цветовой кодировкой на изображении термостата 1290 Infinity II МСТ. Отображается текущее положение крана, который затем автоматически соединяется с выбранной колонкой. Для большей информативности положение крана, цветовая кодировка и номер выбранной колонки отображаются в пользовательском интерфейсе ChemStation (рис. 4).

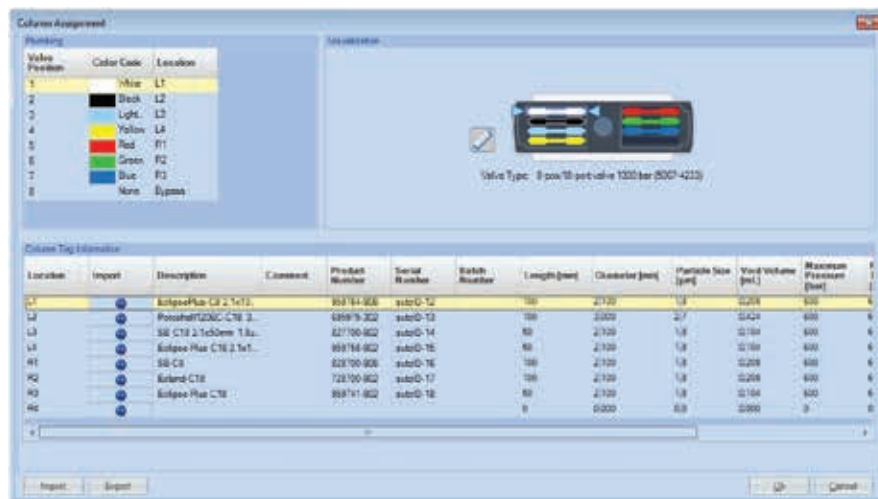


Рис. 2. Назначение колонок в ВЭЖХ Agilent 1290 Infinity II. Каждая колонка назначается для определенного положения в многоколоночном термостате.



Рис. 3. Выбор колонок в ПО на экране методики термостата Agilent 1290 Infinity II МСТ

Назначение растворителей выполняется аналогичным образом. Краны-переключатели растворителя в конфигурации прибора назначаются каналам насоса (не показано). В окне конфигурации крана насоса Pump Valve Cluster Configuration положения крана-переключателя растворителя обозначены в соответствии с наименованиями растворителей (рис. 5). Калибровка сжимаемости выбирается в раскрывающемся списке путем выбора нужного растворителя или типа растворителя. Можно добавить значения молярности и pH. В окне Method of Pump Valve Cluster (Настройка крана насоса) выбираются нужные растворители для каналов А и В, и кран автоматически переключается в нужные положения (рис. 6). Доступные растворители отображаются в пользовательском интерфейсе насоса ПО ChemStation (рис. 4).



Рис. 4. Интерфейс пользователя прибора Agilent ChemStation с подсвеченными активными колонками

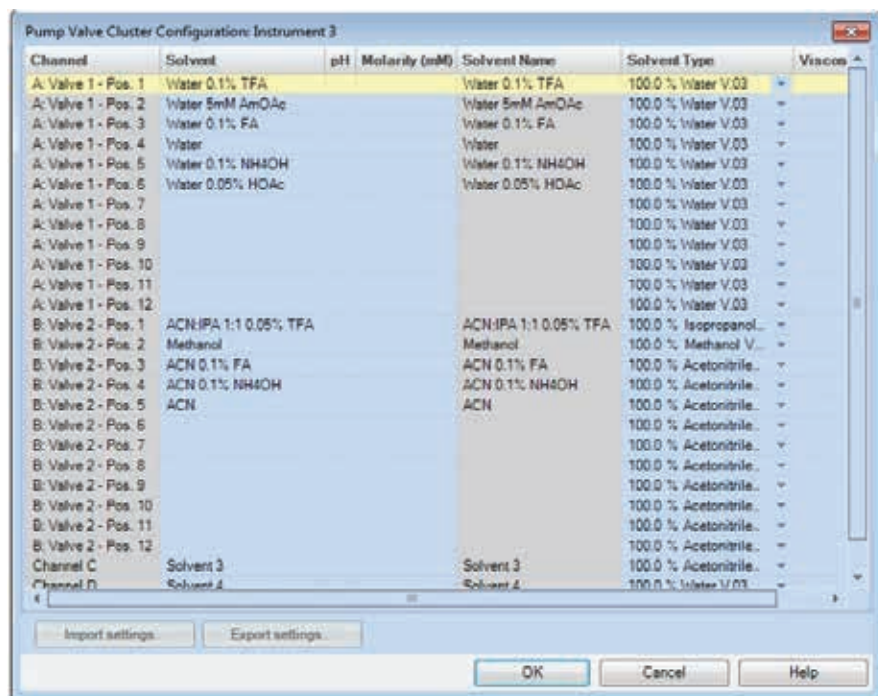


Рис. 5. Окно конфигурации крана Pump Valve Cluster Configuration

Методики

Подробное описание методик анализа отдельных соединений приведено в разделе «Результаты и обсуждение». Основные условия анализа для каждой группы аналитов приведены в табл. 1.

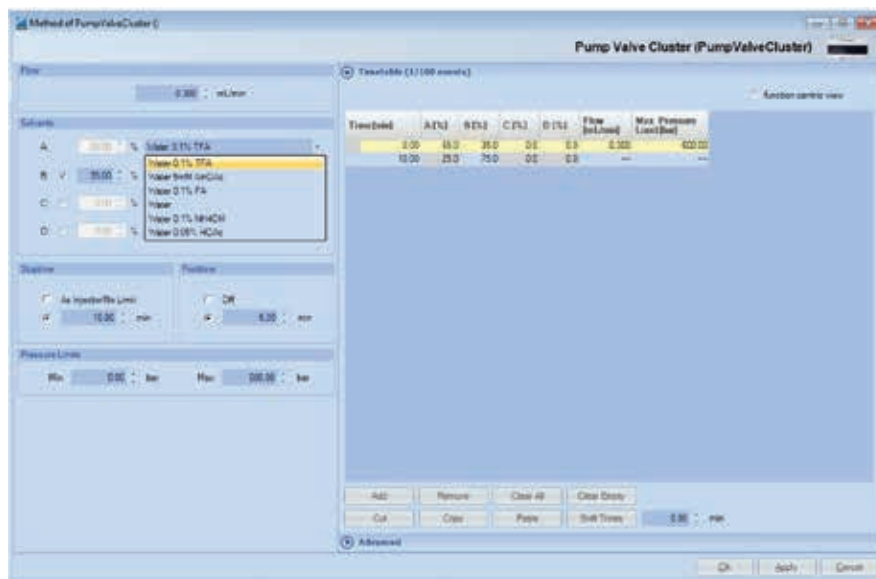


Рис. 6. Окно настройки крана Method of Pump Valve Cluster

Таблица 1. Сводная информация по условиям анализа для каждой группы аналитов

Соединение	Колонка	Подвижная фаза А	Подвижная фаза В	Температура
Консерванты Бензойная кислота Салициловая кислота Лимонная кислота	Agilent ZORBAX RRHD Eclipse C8, 2,1 × 100 мм, 1,8 мкм (кат. № 959764-906)	Вода + 0,05% ТФУК pH 2,1	Ацетонитрил: изопропанол (1:1) + 0,05% ТФУК	40 °С
Парабены Метилпарабен Этилпарабен Пропилпарабен Бутилпарабен	Agilent Poroshell 120 C18, 3,0 × 100 мм, 1,8 мкм (кат. № 695975-302)	Вода + 5 ммоль NH ₄ OAc pH 6,73	Метанол	45 °С
Антипаразитарные препараты Малахитовый зеленый	Agilent ZORBAX RRHD SB C18, 2,1 × 50 мм, 1,8 мкм (кат. № 827700-902)	Вода + 0,1% муравьиная кислота pH 2,7	Ацетонитрил + 0,1% муравьиная кислота	40 °С
Красители Судан I Судан II Судан III Судан IV	Agilent ZORBAX RRHD Eclipse plus C18, 2,1 × 100 мм, 1,8 мкм (кат. № 959758-902)	Вода + 0,1% муравьиная кислота pH 2,7	Ацетонитрил + 0,1% муравьиная кислота	30 °С
Антимикробные препараты Хлорамфеникол	Agilent ZORBAX RRHD SB C8, 2,1 × 100 мм, 1,8 мкм (кат. № 828700-906)	Вода	Метанол	30 °С
Микотоксин Патулин	Agilent ZORBAX RRHD Extend C18, 2,1 × 100 мм, 1,8 мкм (кат. № 728700-902)	Вода + 0,1% NH ₄ OH pH 10,3	Ацетонитрил + 0,1% NH ₄ OH	40 °С
Антиоксиданты ПГ ТБДХ БГА БГТ	Agilent ZORBAX RRHD Eclipse C18, 2,1 × 50 мм, 1,8 мкм (кат. № 959741-902)	Вода + 0,05% уксусная кислота pH 3,43	Ацетонитрил	40 °С

После смены методики в последовательности проб, которая включает смену колонки и растворителей, необходимо промыть систему новыми растворителями и уравновесить колонку в начальных условиях для методики.

Генерирование методик смены растворителя

Смену растворителя можно выполнить, выбрав аналитический метод для требуемой задачи. Состав растворителей был задан в пропорции 50:50, после чего кран выбора колонки был переключен в положение обхода (капилляр был установлен в положение «8», а не на конкретную колонку). В этих условиях растворители изократично и без ввода пропускались через систему со скоростью 5 мл/мин в течение 4 минут. Созданная методика может храниться отдельно и в дальнейшем использоваться в последовательности.

Генерирование методик уравнивания колонок

Для уравнивания колонки выбранный аналитический метод был выполнен без ввода в изократических условиях с начальным составом растворителя. Время анализа было таким же, как при повторном уравнивании между анализами проб. Созданная методика может храниться отдельно и в дальнейшем использоваться в последовательности.

Химические реактивы

Все химические реактивы были приобретены в Sigma-Aldrich, Corp., Германия. Все растворители были приобретены в Merck, Германия. Свежая вода высшей степени очистки была получена с применением системы Milli-Q, оборудованной фильтром тонкой очистки LC-Pak и мембранным картриджем с размером пор 0,22 мкм (Millipak).

Результаты и обсуждение

В пределах одной последовательности можно выполнить описанные ниже анализы путем смены колонки и растворителей для методики. После смены растворителя должна быть выполнена методика промывки. Кроме того, после смены колонки необходимо выполнить ее кондиционирование с применением описанных ниже начальных условий для соответствующей методики.

Анализ консервантов

Консерванты используются для предотвращения роста грибов и бактерий в пище и напитках. Обычно это бензоат натрия (E211), салициловая кислота и сорбиновая кислота (E200).

Методы анализа и результаты описаны для консервантов, парабенов, антипаразитарных препаратов, красителей, антимикробных препаратов, микотоксинов и антиоксидантов (рис. 7–13). Все эти соединения могут присутствовать в пищевых продуктах и напитках.

Параметр	Значение
Пробный образец	Сорбиновая кислота, бензойная кислота, салициловая кислота, 30 мг/100 мл метанола каждая, разведение 1:10.
Градиент	От 5 до 50% В в течение 10 минут
Время окончания	10 мин
Время промывки колонки после анализа	5 мин
Скорость потока	0,4 мл/мин
Объем ввода	1 мкл
Промывка	6 секунд в метаноле
Температура колонки	45 °C
Диодно-матричный детектор	205/4 нм, опор. 360/100 нм, скорость передачи данных — 10 Гц, длина оптического пути — 10 мм, щель — 8 нм

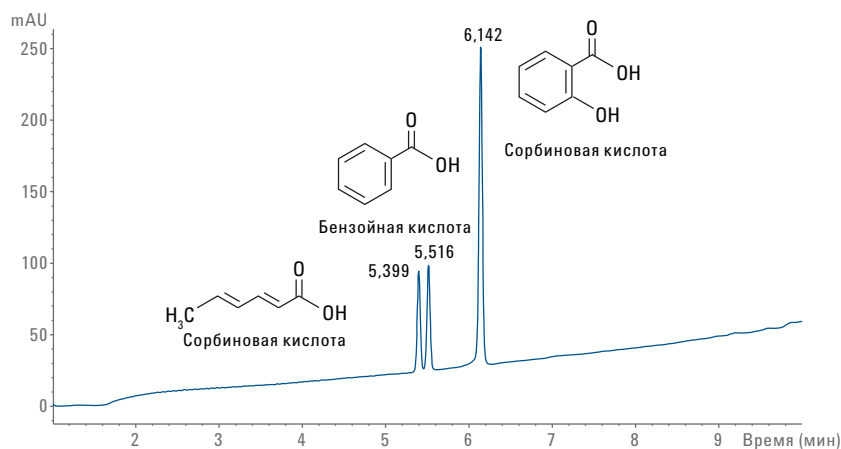


Рис. 7. Разделение пищевых консервантов сорбиновой кислоты, бензойной кислоты и салициловой кислоты

Парабены

Парабены обычно используются в качестве консервантов в косметологической и фармацевтической промышленности. Широко используемые парабены: метилпарабен (E218), этилпарабен (E214), пропилпарабен (E216) и бутилпарабен.

Параметр	Значение
Пробный образец	Метил-, этил-, пропил-, бутилпарабен, 10 мг каждого, растворены в 100 мл ацетонитрила, разведены ацетонитрилом в пропорции 1:10
Градиент	От 40 до 55% В в течение 10 минут
Время окончания	10 мин
Время промывки колонки после анализа	5 мин
Скорость потока	0,5 мл/мин
Объем ввода	1 мкл
Промывка	6 секунд в метаноле
Температура колонки	45 °С
Диодно-матричный детектор	254/4 нм, опор. 360/100 нм, скорость передачи данных — 10 Гц, длина оптического пути — 10 мм, щель — 8 нм

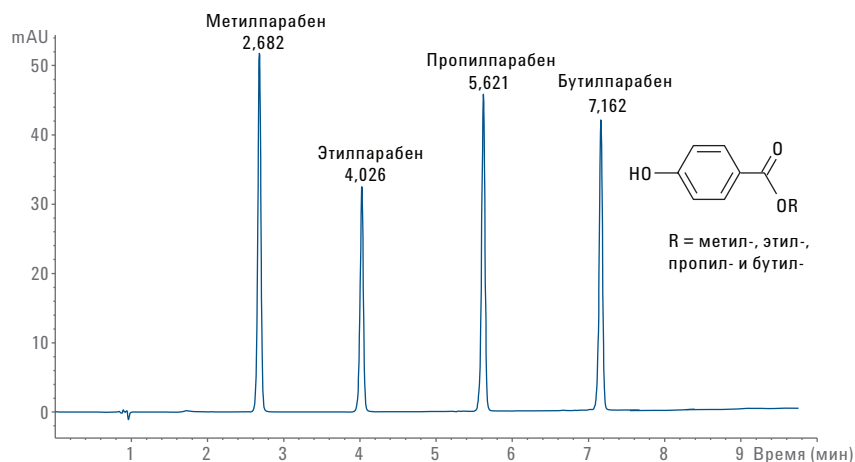


Рис. 8. Разделение консервантов метил-, этил-, пропил- и бутилпарабена широко используемых в косметической и фармацевтической промышленности.

Антипаразитарные препараты

Малахитовый зеленый является стандартным антисептическим и антипаразитарным препаратом, предотвращающим распространение грибковых и бактериальных инфекций, особенно в рыбе и икре. Он запрещен к использованию в искусственно разводимой для употребления в пищу человеком рыбе из-за негативного влияния на здоровье.

Параметр	Значение
Пробный образец	Малахитовый зеленый, 2 мг, растворенный в метаноле, 10 мл, разведенный в метаноле в пропорции 1:10.
Градиент	От 5 до 95% В в течение 5 минут, 2 минуты до 95% В
Время окончания	7 мин
Время промывки колонки после анализа	3 мин
Скорость потока	0,5 мл/мин
Объем ввода	1 мкл
Промывка	6 секунд в метаноле
Температура колонки	40 °С
Диодно-матричный детектор	550/10 нм, опор. выкл., скорость передачи данных — 20 Гц, длина оптического пути — 10 мм, щель — 8 нм

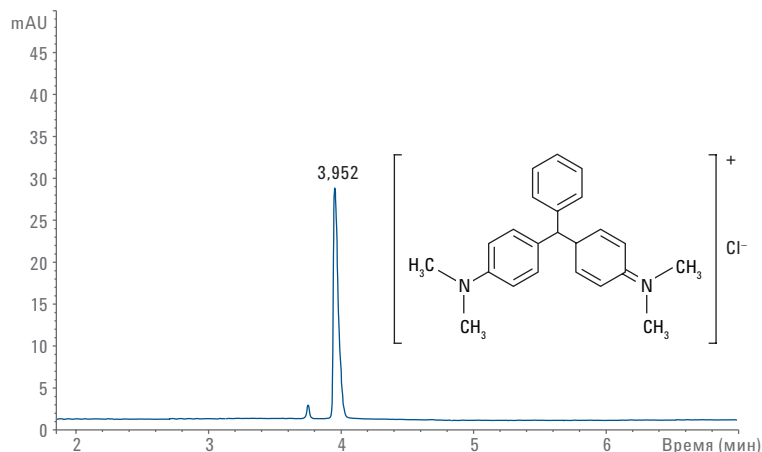


Рис. 9. Определение антипаразитарного препарата малахитового зеленого, запрещенного к использованию на рыбных фермах

Красители

Азокраситель судановый красный используется для окраски паприки, карри и порошка чили. В настоящее время использование судановых красителей в пищевых продуктах запрещено. В особенности это касается красителей Судан I, Судан II и Судан IV, которые признаны Международным агентством исследования рака канцерогенными веществами.

Параметр	Значение
Пробный образец	Судан I, Судан II, Судан III, Судан IV, по 2 мг каждый, растворены в 20 мл метанола, разведены в метаноле в пропорции 1:10
Градиент	От 80 до 95% В в течение 10 минут
Время окончания	10 мин
Время промывки колонки после анализа	5 мин
Скорость потока	0,4 мл/мин
Объем ввода	1 мкл
Промывка	6 секунд в метаноле
Температура колонки	30 °С
Диодно-матричный детектор	500/10 нм, опор. выкл., скорость передачи данных — 10 Гц, длина оптического пути — 10 мм, щель — 8 нм

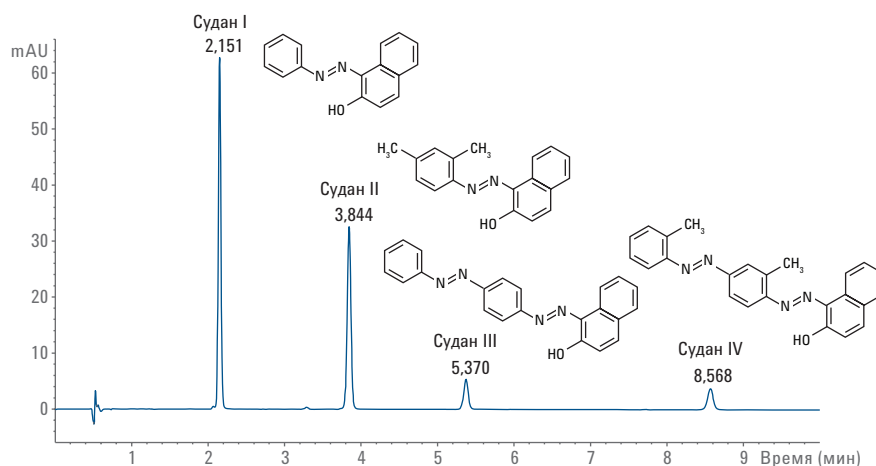


Рис. 10. Разделение красителей Судан I, II, III и IV, которые раньше использовались для окрашивания специй, таких как чили и паприка, а сейчас запрещены

Антимикробные препараты

Хлорамфеникол является антибактериальным и антимикробным препаратом. Из-за широкого спектра антибактериального действия он используется в домашнем скотоводстве и может быть обнаружен в пищевых продуктах.

Параметр	Значение
Пробный образец	Хлорамфеникол, 2 мг, растворенный в 20 мл метанола, разведенный метанолом в пропорции 1:10
Градиент	От 10 до 90% В в течение 10 минут
Время окончания	10 мин
Время промывки колонки после анализа	5 мин
Скорость потока	0,3 мл/мин
Объем ввода	1 мкл
Промывка	6 секунд в метаноле
Температура колонки	45 °С
Диодно-матричный детектор	254/4 нм, опор. 360/100 нм, скорость передачи данных — 10 Гц, длина оптического пути — 10 мм, щель — 8 нм

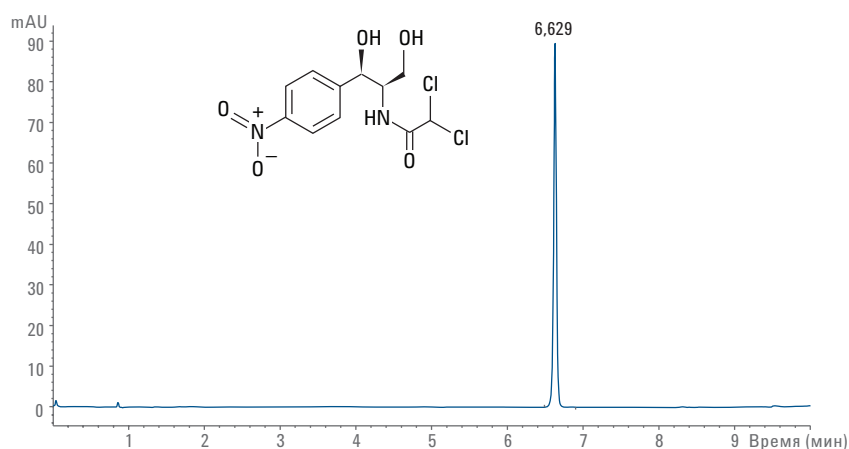


Рис. 11. Определение антибиотика широкого спектра действия хлорамфеникола

Микотоксины

Микотоксин патулин, который предположительно обладает генетической токсичностью, может присутствовать в гниющих яблоках. Поэтому изготавливаемые из яблок продукты должны проверяться на предмет наличия этого микотоксина. Например, для яблочного сока В03 рекомендует считать нормой концентрации ниже предельно допустимой, которая составляет 50 нг/л.

Параметр	Значение
Пробный образец	Патулин, 5 мг, растворенный в 10 мл ацетонитрила, разведенный ацетонитрилом в пропорции 1:20
Градиент	5% В в течение 3 минут, 3 минуты до 90% В
Время окончания	6 мин
Время промывки колонки после анализа	3 мин
Скорость потока	0,5 мл/мин
Объем ввода	1 мкл
Промывка	6 секунд в метаноле
Температура колонки	30 °С
Диодно-матричный детектор	276/4 нм, опор. 360/100 нм, скорость передачи данных — 10 Гц, длина оптического пути — 10 мм, щель — 8 нм

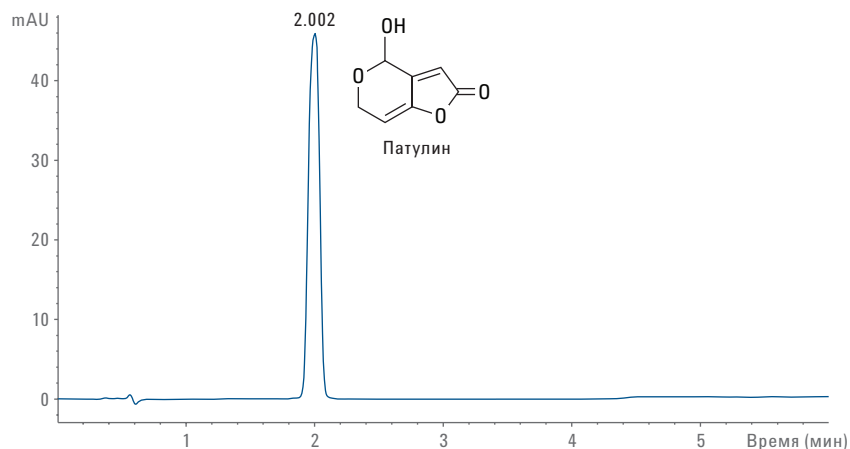


Рис. 12. Определение микотоксина патулина

Антиоксиданты

Антиоксиданты, такие как бутилированный гидроксианизол (БГА, Е320) и бутилированный гидрокситолуол (БГТ) обычно используются в качестве пищевых добавок. Они выполняют функции поглотителей и предотвращают реакции свободных радикалов. Пропилгаллат (ПГ, Е310) добавляется в пищу с растительными и животными жирами для снижения окисления. Для ненасыщенных растительных жиров очень эффективным антиоксидантом является третичный бутилгидрохинон (ТБДХ, Е319), который повышает срок годности продуктов.

Параметр	Значение
Пробный образец	ПГ, БГТ, БГА, ТБДХ, по 10 мг каждый, растворены в 100 мл ацетонитрила
Градиент	От 10 до 95% В в течение 10 минут
Время окончания	10 мин
Время промывки колонки после анализа	5 мин
Скорость потока	0,5 мл/мин
Объем ввода	1 мкл
Промывка	6 секунд в метаноле
Температура колонки	40 °С
Диодно-матричный детектор	240/4 нм, опор. 360/100 нм, скорость передачи данных — 10 Гц, длина оптического пути — 10 мм, щель — 8 нм

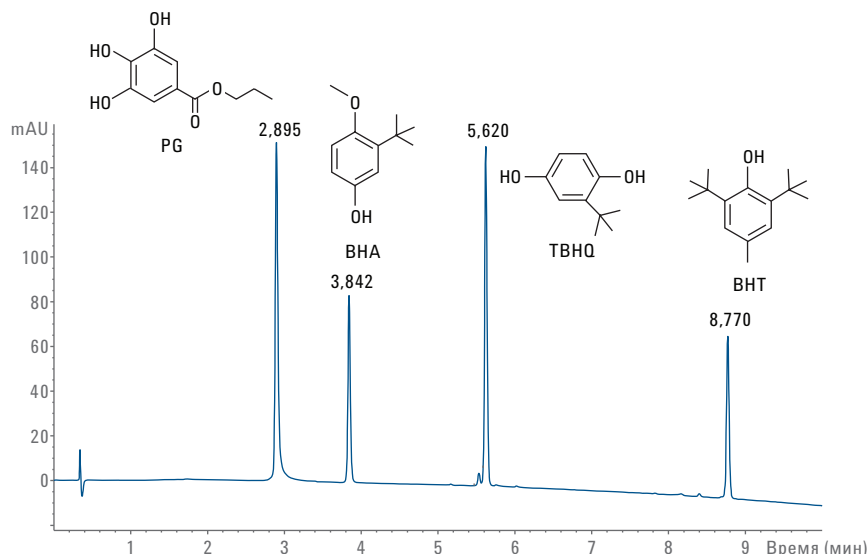


Рис. 13. Разделение ПГ, БГТ, БГА и ТБДХ, используемых в качестве антиоксидантов в пищевых продуктах и косметике

Выводы

Данная методическая информация описывает возможности Agilent 1290 Infinity II при работе по нескольким методикам ЖХ в одной системе (анализ по нескольким методикам), например в испытательных лабораториях пищевых продуктов. Благодаря использованию многоколоночного термостата Agilent 1290 Infinity II система обеспечивает работу с восемью различными колонками. Кроме того, благодаря двум кранам-переключателям выбора растворителя, которые сопряжены с насосом Agilent 1290 Infinity II Flexible Pump, в качестве подвижной фазы системы можно использовать до 26 различных растворителей. Таким образом, можно создать более 1 000 различных методик разделения. Все методики ЖХ могут выполняться автоматически в одной последовательности путем автоматического переключения колонок и растворителей. Автосамплер Agilent 1290 Infinity II Multisampler вмещает большое количество проб.

Литература

1. Anon. Performance Characteristics of the Agilent 1290 Infinity II Multicolumn Thermostat; Technical overview, Agilent Technologies, Inc. Publication number 5991-5533EN, **2015**.
2. Anon. Performance Characteristics of the Agilent 1290 Infinity II Multisampler; Technical overview, Agilent Technologies, Inc. Publication number 5991-5348EN, **2014**.

www.agilent.com/chem

Информация в этом документе может быть изменена
без предупреждения.

© Agilent Technologies, Inc., 2015
Напечатано в США 1 апреля 2015 г.
5991-5679RU



Agilent Technologies