

Agilent J&W CP-Wax 52 CB 色谱柱 具有更高的柱间惰性一致性

技术概述

前言

聚乙二醇 (PEG) 也称为 WAX 型气相色谱柱，多年来一直是分析各种具有极性官能团的化合物、香精与香料中的饱和化合物以及进行工业化学品质量控制的行业标准方法。由于这些化合物对于气相色谱柱或气相色谱流路中其他位置处的活性位点具有较强的吸附，因此许多目标活性分析物的痕量分析仍然是个巨大的挑战。这可能导致测量灵敏度显著下降，且重现性较差。安捷伦凭借其在表面去活化学材料开发方面的丰富经验，提高了整个气相色谱流路的惰性，最大程度降低了活性分析物的吸附和分解 [1-4]。因此，痕量分析的灵敏度和重现性得到极大改进。本技术概述介绍了 Agilent J&W CP-Wax 52 CB 色谱柱在惰性方面的出色性能。



改进的 CP-Wax 52 CB 色谱柱经过严格的惰性测试，该测试采用针对目前最复杂应用的活性最高的混标。我们从三个不同的方面对改进的 CP-Wax 52 CB 的性能进行了综合评估：

- **惰性：**使用更严苛的新测试混标对性能进行评估，提高色谱柱活性的评判标准。此外，我们还在色谱柱的温度上限 (250 °C) 条件下通过寿命测试考察了色谱柱的惰性稳定性
- **一致性：**从不同批次中随机挑选 20 根改进的 CP-Wax 52 CB 色谱柱，测试其柱间惰性一致性
- **选择性：**在 QC 测试中监测几种所选化合物的保留指数，验证标准 CP-Wax 52 CB 与改进的 CP-Wax 52 CB 选择性相同。改进后的选择性需要与标准型号等同，从而确保轻松升级到改进型号后，对现有方法进行重新验证或修改的必要性降至最低。我们使用标准 CP-Wax 52 CB 色谱柱多年来采集的化合物保留数据库，确保切换到改进型号后的有效性

我们还进行了基准研究，目的是对比改进的 CP-Wax 52 CB 色谱柱和各种非安捷伦 WAX 色谱柱的惰性。除了色谱柱不同之外，所有实验条件均保持一致，以尽可能公平地进行比较。

凭借安捷伦开发的新型处理技术，我们实现了柱间惰性的总体大幅改进。结果表明，改进的 CP-Wax 52 CB 色谱柱在色谱柱温度上限条件下具有优异的热稳定性，能够以最高的灵敏度和重现性分析更多的活性分析物。

结果与讨论

测试方法和标准品

QC 测试混标在色谱柱惰性和柱间一致性的评估中起关键作用。众所周知，高活性分析物会吸附到色谱柱的活性位点上。因此，我们必须谨慎选择混标的组成和上样量才能充分检测重要的柱活性。简单的 QC 混标所含的标准物质未经严格的测试，无法充分检测色谱柱活性，因而会影响惰性评估结果。WAX 色谱柱使用严格的测试混标进行测试，可确保一致的色谱柱惰性性能。这最终有助于提高柱间一致性和分析结果的可靠性。选择合适且有效的 QC 测试混标用于评估色谱柱惰性性能的详细指南可参见其它安捷伦技术概述 [1]。

根据该指南中的方法，我们开发了两种严格的测试混标，即 WAX 超高惰性测试混标和改性 Grob 测试混标 [5]，如表 1 和表 2 所示。这些混标能够针对改进的 CP-Wax 52 CB 色谱柱的惰性进行重要评估。这些测试混标包含几种复杂的测试混标，如丙酸、2-乙基己酸、乙基麦芽酚、乙二醇、2,3-丁二醇和十二醛，其浓度均为临界水平。这些化合物是香精香料应用的常见几种分析物类别的代表，WAX 色谱柱应用于香精香料领域已经很多年。这些目标活性分析物的峰形能够反映色谱柱的惰性或活性。此外，使用安捷伦超高惰性衬管和超高惰性分流平板最大程度减少了气相色谱流路中其他组分的影响，在色谱柱评估中为进样口的惰性提供了更高的可信度。

表 1. WAX 超高惰性测试混标的二氯甲烷溶液

峰编号	化合物	上样量 (ng)	WAX 超高惰性测试混标的分析条件	
1	5-壬酮	3.3	进样器温度:	250 °C
2	癸醛	3.3	分流:	1:75
3	丙酸	3.3	进样量:	1 µL
4	乙二醇	3.3	载气流速:	1.1 mL/min, H ₂
5	十七烷	1.65	柱温:	130 °C 恒温
6	苯胺	3.3	FID 检测器温度:	260 °C
7	月桂酸甲酯	3.3		
8	2-氯酚	3.3		
9	1-十一醇	3.3		
10	十九烷	1.65		
11	2-乙基己酸	6.6		
12	乙基麦芽酚	6.6		

表 2. 改性 Grob 测试混标的二氯甲烷溶液

峰编号	化合物	上样量 (ng)	改性 Grob 测试混标的分析条件	
1	癸烷	2.5	进样器温度:	250 °C
2	十二烷	2.5	分流:	1:100
3	癸醛	2.5	进样量:	1 µL
4	2,3-丁二醇*	5	载气流速:	1.35 mL/min, H ₂
5	1-辛醇	2.5	柱温:	初始温度 60 °C, 升温速率 3 °C/min, 最终温度 200 °C
6	C10 FAME	2.5	FID 检测器温度:	260 °C
7	nC11-FAME	2.5		
8	nC12-FAME	2.5		
9	2,6-二甲基苯胺	2.5		
10	2,6-二甲基苯酚	2.5		
11	2-乙基己酸	5		
12	乙基麦芽酚	5		

* 2,3-丁二醇有两种异构体，分别为 RR/SS 和内消旋异构体。

惰性性能

图 1 显示了标准和改进的 CP-Wax 52 CB 色谱柱在 250 °C 下老化 1 小时后分析改性 Grob 测试混标所得的示例性 FID 色谱图。结果表明，两个色谱柱上的 2-乙基己酸（峰 11）和乙基麦芽酚（峰 12）均具有良好的峰形。然而，标准色谱柱的柱活性通过 2,3-丁二醇（峰 4a 为 RR/SS 异构体，峰 4b 为内消旋异构体）的两种异构体的拖尾峰和响应的显著损失来表示。而使用改进的 CP-Wax 52 CB 色谱柱分析这些关键二醇时获得了良好的峰形，响应信号也大大提高。结果表明，改进的 CP-Wax 52 CB 色谱柱的惰性获得了极大的改进。但该色谱柱的惰性还不足以解决癸醛（峰 3）的挑战。要使醛类获得优异的峰形，推荐使用 Agilent J&W DB-Wax 超高惰性系列色谱柱，它们的惰性性能更为出色 [6]。

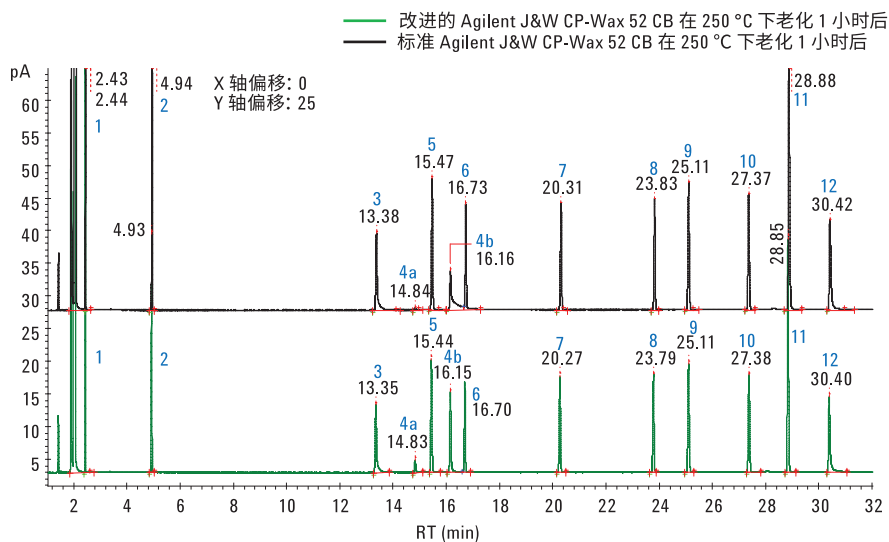


图 1. 标准和改进的 Agilent J&W CP-Wax 52 CB 色谱柱在 250 °C 下老化 1 小时后分析改性 Grob 测试混标所得的 FID 色谱图。气相色谱条件和峰鉴定结果见表 2

图 2 显示了标准和改进的 CP-Wax 52 CB 色谱柱分析复杂测试混标（包含 50 二醇/乙二醇的丙酮溶液和醇类的丙酮溶液）的示例性 FID 色谱图。将每个组分以约 3 ng 的进样量进到色谱柱进行有效的惰性评价。与标准色谱柱相比，改进的 CP-Wax 52 CB 色谱柱上得到的关键二醇/乙二醇（如 (A) 1,2-丙二醇、(B) 1,3-丙二醇、(C) 新戊二醇和 (D) 甲基新戊二醇）的峰形和回收率具有显著改善。这些结果表明改进的 CP-Wax 52 CB 色谱柱具有较强的惰性。

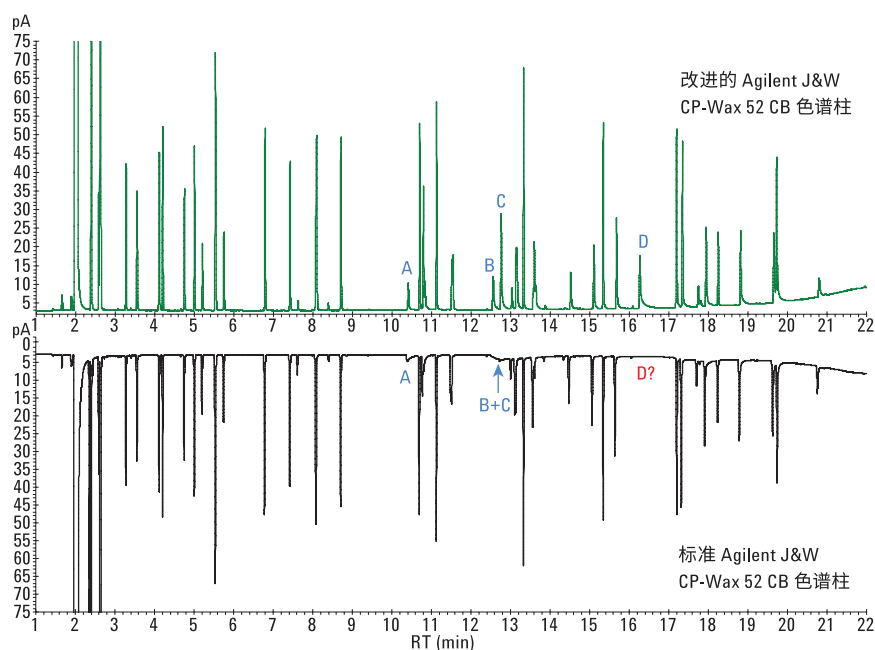


图 2. 标准和改进的 Agilent J&W CP-Wax 52 CB 色谱柱在表 3 所列的条件下分析含有 50 二醇/乙二醇和醇类的测试混标所得的 FID 色谱图

表 3. 图 2 中的色谱条件

参数	值
气相色谱系统:	配备 Agilent 7890A FID
自动进样器:	Agilent G4513A, 10 μ L 进样针 (部件号 5181-1267)
色谱柱:	Agilent J&W CP-Wax 52 CB, 30 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m (部件号 CP8713 和 CP8713i)
进样口:	惰性流路分流/不分流焊接件 (部件号 G3970A)
进样口温度:	250 $^{\circ}$ C
进样量:	1 μ L
分流比:	25:1
载气:	氢气, 恒流模式, 1.35 mL/min
柱温箱升温程序:	40 $^{\circ}$ C, 保持 0.5 min, 10 $^{\circ}$ C/min 升至 250 $^{\circ}$ C, 保持 10 min
检测器温度:	250 $^{\circ}$ C
检测器气体流速:	氢气 (30 mL/min), 空气 (400 mL/min), 氮气尾吹气 (30 mL/min)
流路备件:	超高惰性低压降衬管 (部件号 5190-2295) 超高惰性分流平板 (部件号 5190-6144) 石墨密封垫圈 (部件号 500-2114, 10/包) 长寿命隔垫 (部件号 5183-4761)

我们还在 250 °C 条件下对改进的 CP-Wax 52 CB 色谱柱进行了使用寿命测试，评估该色谱柱在其温度上限条件下的惰性稳定性。我们在 250 °C 下对色谱柱进行了长达 50 小时的老化。在 250 °C 下，每老化 5 小时进行一次 QC 测试。图 3 显示了改进的 CP-Wax 52 CB 色谱柱在 250 °C 下老化 1 小时和 50 小时后分析改性 Grob 测试混标的 FID 色谱图。即使在色谱柱温度上限 (250 °C) 条件下进行长时间的热暴露，该色谱柱对 2,3-丁二醇（峰 4a 和 4b）、2-乙基己酸（峰 11）和乙基麦芽酚（峰 12）也获得了良好的峰形和响应。这表明，改进的 CP-Wax 52 CB 色谱柱在 250 °C 下具有优异的惰性稳定性，这有助于提供一致的分析结果，并延长色谱柱使用寿命。

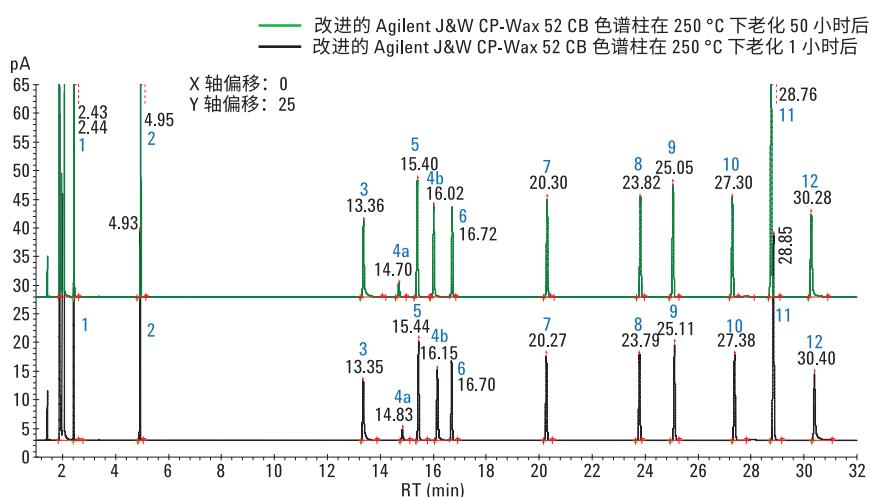


图 3. 改进的 Agilent J&W CP-Wax 52 CB 色谱柱在 250 °C 下老化 1 小时和 50 小时后分析改性 Grob 测试混标所得的 FID 色谱图。气相色谱条件和峰鉴定结果见表 2

柱间一致性是实现可重现的定性和定量分析的重要因素。我们随机从不同批次的色谱柱中抽取了 20 根改进的 CP-Wax 52 CB 色谱柱来评估色谱柱的惰性一致性。利用 10% 峰高处的峰不对称性来评估活性化合物（如 2,3-丁二醇（内消旋异构体，峰 4b）、2-乙基己酸（峰 11）和乙基麦芽酚（峰 12））的峰形。如图 4 所示，使用 20 根随机抽取的改进 CP-Wax 52 CB 色谱柱分析活性化合物，化合物 10% 峰高处的峰不对称性变化极小，表明色谱柱之间的惰性一致性良好。

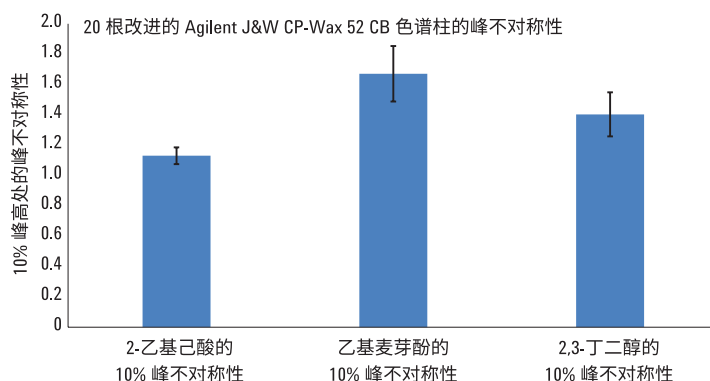


图 4. 随机从不同批次中挑选 20 根改进的 Agilent J&W CP-Wax 52 CB 色谱柱分析 2-乙基己酸、乙基麦芽酚和 2,3-丁二醇内消旋异构体在 10% 峰高处的峰不对称性。在 250 °C 下老化 1 小时后使用改性 Grob 测试混标进行 QC 测试

相同的选择性

由于标准 CP-Wax 52 CB 色谱柱已经在许多日常应用中使用多年，因此标准型和改进型色谱柱之间的相同选择性对于当前用户而言是一个意料之外的重要优势。这种优势可确保用户只需进行很少的方法重新验证工作就能快速、简便地升级色谱柱，从而避免了必须重建或更改基于标准 CP-Wax 52 CB 的现有化合物数据库或分析方法可能带来的风险。通常通过 QC 测试混标中某些目标化合物的保留指数来确定色谱柱的选择性。我们测试并比较了现有规格的标准色谱柱和改进的 CP-Wax 52 CB 色谱柱的保留指数（数据未示出）。结果表明，这两种色谱柱的保留指数没有显著差异，说明它们具有相同的选择性。图 5 所示的脂肪酸甲酯 (FAME) 的分析结果也验证了这两种色谱柱具有相同的选择性。本文将使用标准 CP-Wax 52 CB 色谱柱分析 FAME 时建立的保留时间锁定 (RTL) 方法所用的参数应用于改进的 CP-Wax 52 CB 色谱柱，获得了与标准 CP-Wax 52 CB 色谱柱相同的结果 [7]。

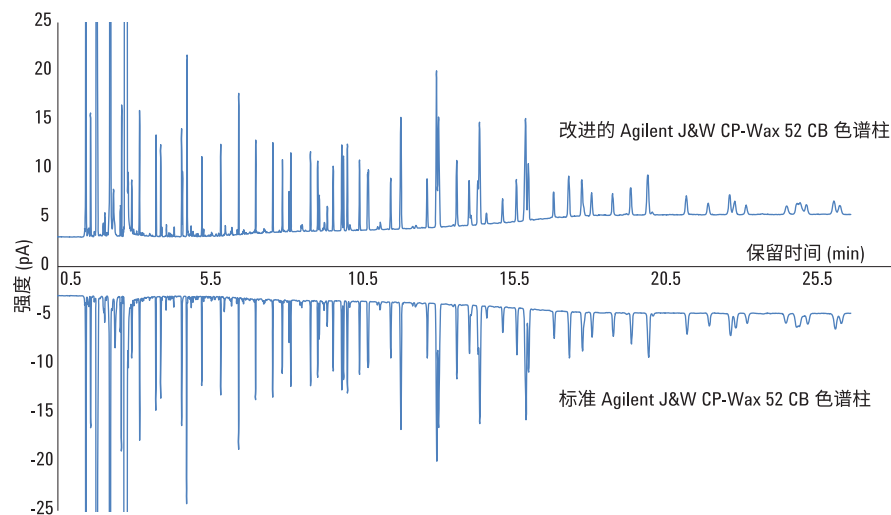


图 5. 扩展 FAME 混合物中 72 种化合物的 FID 色谱图。使用改进的和标准的 Agilent J&W CP-Wax 52 CB 色谱柱的硬脂酸甲酯来锁定保留时间

表 4. 图 5 中的色谱条件

测试条件:

气相色谱系统:	配备 Agilent 7890A FID
自动进样器:	Agilent G4513A, 10 μ L 进样针 (部件号 5181-1267)
色谱柱:	Agilent J&W CP-Wax 52 CB, 30 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m (部件号 CP8713 和 CP8713i)
进样口:	惰性流路分流/不分流焊接件 (部件号 G3970A)
进样口温度:	250 $^{\circ}$ C
进样量:	1 μ L
分流比:	25:1
载气:	氢气
恒压模式:	大约 53 kPa
柱温箱升温程序:	50 $^{\circ}$ C, 保持 1 min, 以 25 $^{\circ}$ C/min 升至 200 $^{\circ}$ C, 以 3 $^{\circ}$ C/min 升至 230 $^{\circ}$ C, 保持 18 min
检测器温度:	250 $^{\circ}$ C
检测器气体流速:	氢气 (30 mL/min) 空气 (400 mL/min) 氮气尾吹气 (25 mL/min)
流路备件:	超高惰性低压降衬管 (部件号 5190-2295) 超高惰性分流平板 (部件号 5190-6144) 石墨密封垫圈 (部件号 500-2114, 10/包) 长寿命隔垫 (部件号 5183-4761)

基准研究

使用改进的 CP-Wax 52 CB 色谱柱和选自供应商 X、Y 和 Z 的 WAX 色谱柱进行了基准研究，比较它们的惰性和热稳定性。测试来自供应商 Z 的两种不同类型的 WAX 色谱柱。除了测试色谱柱不同之外，所有其他分析条件均一致，确保公平对比。将色谱柱在 250 °C 下老化 1 小时之后，使用 WAX 超高惰性测试混标进行惰性测试。我们还进行了使用寿命测试，色谱柱在 250 °C 下老化 50 小时，然后在每根色谱柱的温度上限条件下测试其惰性与热应力。在 250 °C 下每老化 5 小时进行一次 QC 测试。

图 6 显示了改进的 CP-Wax 52 CB 色谱柱与来自三个不同供应商的几种 WAX 色谱柱在 250 °C 下老化 1 小时，然后使用 WAX 超高惰性测试混标分析得到的 FID 示例性色谱图。改进的 CP-Wax 52 CB 对于该测试混标中的关键组分（如丙酸（峰 3）、乙二醇（峰 4）、2-乙基己酸（峰 11）和乙基麦芽酚（峰 12））显示出良好的峰形。在 250 °C 下老化 50 小时后，改进的 CP-Wax 52 CB 可保持良好的惰性性能，如图 7 所示。然而，来自供应商 Y 和 Z 的 WAX 色谱柱都出现了丙酸（峰 3）、2-乙基己酸（峰 11）和乙基麦芽酚（峰 12）的拖尾峰形（图 6）。此外，如图 7 所示，在 250 °C 下老化 50 小时后，这些色谱柱的惰性在使用寿命测试中快速下降。来自供应商 X 的 WAX 色谱柱在 250 °C 下老化 1 小时后对活性化合物的惰性尚可接受。然而，在 250 °C 下进行使用寿命测试过程中，惰性显著降低。

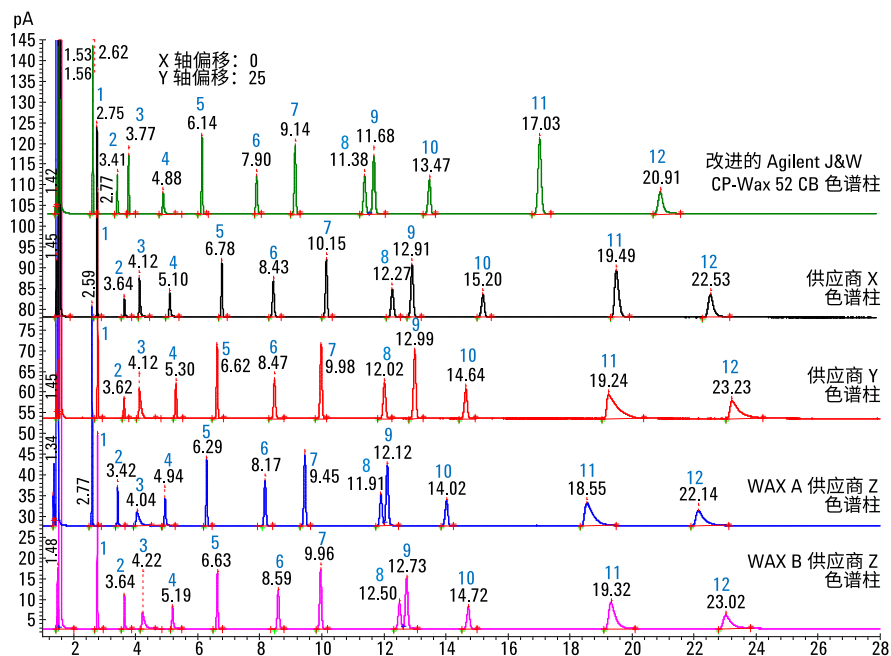


图 6. 改进的 Agilent J&W CP-Wax 52 CB 色谱柱和来自不同供应商的各种 WAX 色谱柱在 250 °C 下老化 1 小时后分析 WAX 超高惰性测试混标所得的 FID 色谱图。气相色谱条件和峰鉴定结果见表 1

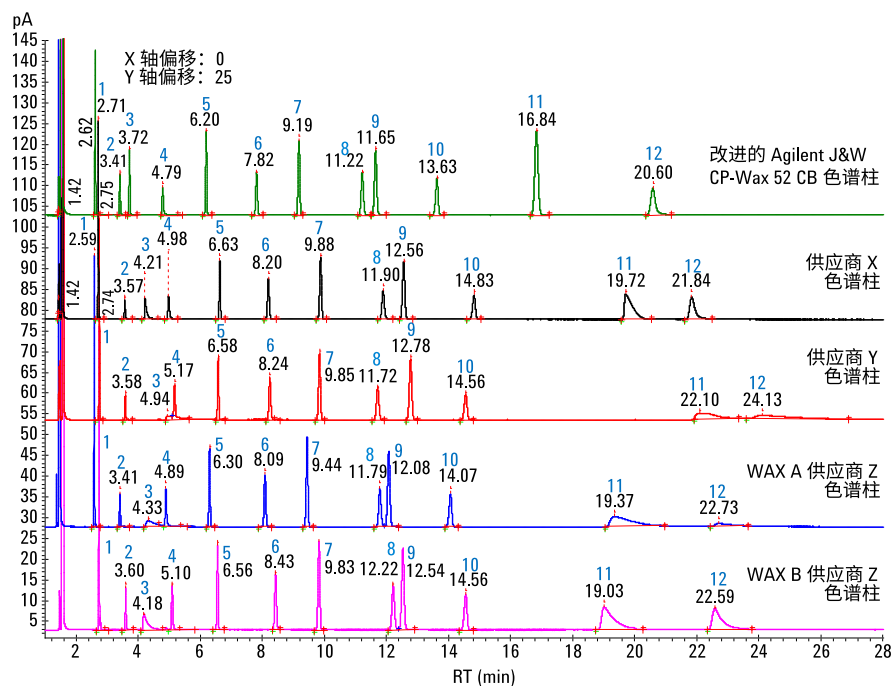


图 7. 改进的 Agilent J&W CP-Wax 52 CB 色谱柱和来自不同供应商的各种 WAX 色谱柱在 250 °C 下老化 50 小时后分析 WAX 超高惰性测试混标所得的 FID 色谱图。气相色谱条件和峰鉴定结果见表 1

结论

总体而言，在本次基准研究中，我们使用严苛的新型 QC 测试混标检测了色谱柱活性，对几种不同 WAX 色谱柱的惰性能进行了更好的分类。与标准 CP-Wax 52 CB 色谱柱和其他供应商的 WAX 色谱柱相比，改进的 CP-Wax 52 CB 色谱柱测试各种目标活性分析物的总体惰性明显更好，并且在色谱柱温度上限条件下具有一致的热稳定性。这些特性非常有助于提高痕量分析的灵敏度和重现性，并且延长色谱柱使用寿命。

改进的 CP-Wax 52 CB 总体而言具有更好的惰性、热稳定性和一致的柱间惰性。此外，它与标准的 Agilent J&W CP-Wax 52 CB 色谱柱具有相同的选择性，只需进行少量的方法重新验证就能轻松切换到改进型色谱柱。

订购信息

内径 (mm)	长度 (m)	膜厚 (μm)	温度限 ($^{\circ}\text{C}$)	7 英寸 柱架	5 英寸 柱架
0.10	10	0.10	20 至 250/265	CP7334i	
		0.20	20 至 250/265	CP7335i	
	20	0.20	20 至 250/265	CP7345i	
0.15	15	0.12	20 至 250/265	CP7791i	
	25	0.25	20 至 250/265	CP7792i	
0.20	30	0.20	20 至 250/265	CP7775i	
	50	0.20	20 至 250/265	CP7785i	
0.25	10	0.20	20 至 250/265	CP7703i	
	15	0.25	20 至 250/265	CP8513i	
	25	0.20	20 至 250/265	CP7713i	CP7713ii5
		1.20	20 至 250/265	CP7673i	CP7673ii5
	30	0.15	20 至 250/265	CP8745i	
		0.25	20 至 250/265	CP8713i	CP8713ii5
		0.50	20 至 250/265	CP8746i	
	50	0.20	20 至 250/265	CP7723i	CP7723ii5
	60	0.25	20 至 250/265	CP8723i	
		0.50	20 至 250/265	CP8748i	
0.32	15	0.25	20 至 250/265	CP8543i	
		0.50	20 至 250/265	CP8553i	
	25	0.20	20 至 250/265	CP7743i	
		0.40	20 至 250/265	CP7879i	
		1.20	20 至 250/265	CP7763i	
	30	0.15	20 至 250/265	CP8757i	
		0.25	20 至 250/265	CP8843i	
		0.50	20 至 250/265	CP8763i	
	50	0.20	20 至 250/265	CP7753i	
		0.40	20 至 250/265	CP7889i	
		1.20	20 至 250/265	CP7773i	CP7773ii5
	60	0.25	20 至 250/265	CP8853i	
0.50		20 至 250/265	CP8773i		
1.20		20 至 250/265	CP8073i	CP8073ii5	
0.53	10	1.00	20 至 250/265	CP7628i	
		2.00	20 至 250/265	CP7648i	
	15	1.00	20 至 250/265	CP8718i	
	30	1.00	20 至 250/265	CP8738i	
	25	1.00	20 至 250/265	CP7638i	
		2.00	20 至 250/265	CP7658i	CP7658ii5
	50	1.00	20 至 250/265	CP7698i	
		2.00	20 至 250/265	CP7668i	
	60	1.00	20 至 250/265	CP8798i	
	100	2.00	20 至 250/265	CP7678i	

参考文献

1. Anon. *Agilent J&W Ultra 超高惰性气相色谱柱：一种新的应对活性化合物分析挑战的强大工具*；技术概览，安捷伦科技公司，出版号 5989-8665CHCN，**2008**
2. Lynam, K.; Smith, D. *采用 Agilent J&W DB-35ms 超高惰性 (UI) 色谱柱和超高惰性玻璃棉衬管在使用/不使用分析保护剂两种情况下测定有机磷农药 (OP)*，应用简报，安捷伦科技公司，出版号 5990-8235CHCN，**2012**
3. L. Zhao, A. Broske, D. Mao, A. Vickers. *采用气相色谱和活性化合物评估超高惰性衬管去活技术*，技术概述，安捷伦科技公司，出版号 5990-7380CHCN，**2011**
4. Anon. *Agilent Ultimate Plus 熔融石英管*，技术概述，安捷伦科技公司，出版号 5991-5142CHCN，**2014**
5. Grob Jr., K.; Grob, G.; Grob, K. Comprehensive, Standardized Quality Test for Glass Capillary Columns, *Journal of Chromatography A*. August **1978**, 156, Issue 1, 21, p. 120
6. Dang, N. A.; Vickers, A. K. 竞争产品比较，安捷伦科技公司，出版号 5991-6683CHCN，**2016**
7. David, F.; Sandra, P.; Wylie, P. L. *Improving the Analysis of Fatty Acid Methyl Esters Using Retention Time Locked Methods and Retention Time Databases (使用保留时间锁定方法和保留时间数据库改进脂肪酸甲酯的分析)*，安捷伦科技公司，应用简报，出版号 5988-5871EN，**2003**

致谢

衷心感谢 Johan Kuipers、Laura Provoost 和 Bruce Richter 对这项工作的贡献。

更多信息

这些数据仅代表典型的结果。有关我们的产品与服务的详细信息，请访问我们的网站 www.agilent.com。

www.agilent.com

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2016
2016 年 11 月 4 日，中国出版
5991-7525CHCN



Agilent Technologies