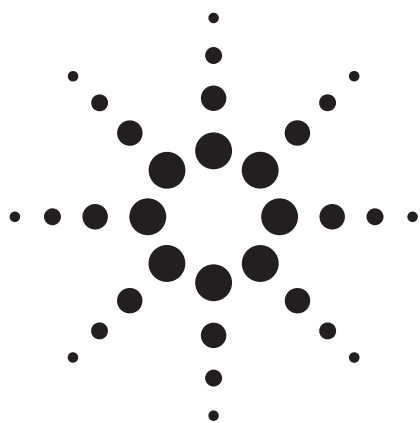


使用高效液相色谱法 Eclipse PAH 色谱柱对多环芳烃进行分析



应用

环境和食品

作者

John W Henderson Jr. and Cliff Woodward

安捷伦科技公司

2850 Centerville Road

Wilmington, DE 19808

美国

摘要

Eclipse PAH (多环芳烃) 色谱柱具有耐用的固定相, 适合于多种 PAH 分析。这些色谱柱被证明拥有较长的寿命, 较好的重现性和可放大性。现在已有的多种色谱柱配置使 Eclipse PAH 色谱柱成为满足色谱工作者进行特定 PAH 分析需求的首选。

引言

一些 HPLC 色谱柱生产厂家也提供用于多环芳烃 (PAH) 分析的专用色谱柱。然而, 由于 PAH 化合物数量多 (超过 100 个化合物) 且 PAH 的基质类型多种多样 (例如空气、水和食物), 因此需要许多特定的 HPLC 方法, 而不是只在一、两个 PAH 色谱柱型上开发方法。因而, 不同色谱柱长和内径的色谱柱越多, 才能开发出更耐用、更优化的方法。

更重要的是, 另一个色谱柱参数——粒径, 极大地扩展了方法的用户化, 这就意味着即使对特殊的 PAH 应用也能建立和优化更多的方法。由于不同粒径填料具有一致的化学性质, 因此可以对方法按预测结果进行放大或缩小。其它色谱柱参数对诸如样品量、样品基质、检测器选择、分析速度、分离度和溶剂的使用等因素是有很用的。

若要一个专用的色谱柱 (键合相) 对多数相似的方法都可用, 就必须证明其不同粒径之间具有重现性。这一点允许直接进行可预测的方法转换, 最大程度上减少方法的重新开发。不同生产批次的色谱柱都应具有重现性, 且具有较长的使用寿命。

在本研究中, 我们证明了 Eclipse PAH 是耐用的: 它们具有长寿命、重现性和可放大性。

实验

Eclipse PAH 的耐用性是在 Agilent 1200 系列高分离度快速液相色谱 (RRLC) 系统中测试的, 该系统包括下列组件:

- G1379 脱气机



Agilent Technologies

- G1312BSL 型二元泵
 - 流动相 A: 水, B: 乙腈。梯度条件见图。
 - 当使用 2.1mm 内径的色谱柱时, 将泵配置为低延迟体积模式, 旁路静态混合器和脉冲减震器。关于使用低体积和标准体积二元泵配置的详细说明见参考资料 1。
- G1367C HiP-ALS SL 型自动进样器
- G1316B TCC SL 型温控柱温箱
 - 温度设定在 25 °C。当使用 2.1 mm 内径的色谱柱时, 使用低容积 (1.6 µL) 的热交换器 (G1316-8002) 代替内置式 3 µL 热交换器。
- G1315C SL 型二极管阵列检测器
 - 设定在 220, 4 nm, 无参比, G1315-60025 流通池 (5 µL 容积), 响应时间设定为 0.5 s

现已提供的 Eclipse PAH 色谱柱

部件号	说明
959764-918	Eclipse PAH, 2.1 mm × 100 mm, 1.8 µm
959793-918	Eclipse PAH, 2.1 mm × 100 mm, 3.5 µm
959763-918	Eclipse PAH, 2.1 mm × 150 mm, 3.5 µm
959701-918	Eclipse PAH, 2.1 mm × 150 mm, 5 µm
959790-918	Eclipse PAH, 2.1 mm × 250 mm, 5 µm
959741-918	Eclipse PAH, 2.1 mm × 50 mm, 1.8 µm
959990-318	Eclipse PAH, 3.0 mm × 250 mm, 5 µm
959964-918	Eclipse PAH, 4.6 mm × 100 mm, 1.8 µm
959961-918	Eclipse PAH, 4.6 mm × 100 mm, 3.5 µm
959996-918	Eclipse PAH, 4.6 mm × 100 mm, 5 µm
959963-918	Eclipse PAH, 4.6 mm × 150 mm, 3.5 µm
959993-918	Eclipse PAH, 4.6 mm × 150 mm, 5 µm
959990-918	Eclipse PAH, 4.6 mm × 250 mm, 5 µm
959931-918	Eclipse PAH, 4.6 mm × 30 mm, 1.8 µm
959941-918	Eclipse PAH, 4.6 mm × 50 mm, 1.8 µm
959943-918	Eclipse PAH, 4.6 mm × 50 mm, 3.5 µm

色谱柱的使用见图。

PAH 混合物是安捷伦验证的标准参考物质, 部件号 8500-6035, 用乙腈稀释。所有图的洗脱顺序:

- 1 甲苯
- 2 萘
- 3 芴烯
- 4 芴
- 5 芴
- 6 菲
- 7 蒽
- 8 荧蒽
- 9 芘
- 10 苯并(a)蒽
- 11 蒾
- 12 苯并(b)荧蒽
- 13 苯并(k)荧蒽
- 14 苯并(a)芘
- 15 二苯并(a,h)蒽
- 16 苯并(g,h,i)芘
- 17 茚并(1,2,3-c,d)芘

结果与讨论

使用美国环保署方法 610 中指定的用于分析城市和工业废水中多环芳烃标准混合物来评价 Eclipse PAH 色谱柱的耐用性。美国环保署方法 610 要求使用 2.6 mm × 250 mm, 5 µm ODS 色谱柱和水/乙腈梯度洗脱。如果遇到某些情况[2], 允许选择替代的色谱柱。有趣的是, 参考资料 2 中第 1.3 节表明使用指定的色谱柱, LC 方法无法分离全部 16 个多环芳烃。

即使用 5 µm, 250 mm 的 Eclipse PAH, 也能分离全部 16 个多环芳烃, (图 1)。可以看出两个关键色谱峰 4 和 5 被很好地分离 ($R_s > 2$)。我们选择两个关键色谱峰的最小分离度来定义一个成功耐用的方法。调整流动相, 使所有 Eclipse PAH 色谱柱配置都能获得这个分离度; 因此, 当在不同尺寸的色谱柱开发分离方法时, 低流速和高流速之间很大的梯度延迟时间将忽略不计。图 1 用 250 mm 色谱柱分析, 需要大约 26 分钟。当使用 1.8 µm 颗粒 50 mm 色谱柱时, 分析周期缩短了三倍 (图 2)。两个关键色谱峰的分离度仍旧大于 2, 但是分析时间缩短到 6.8 min。

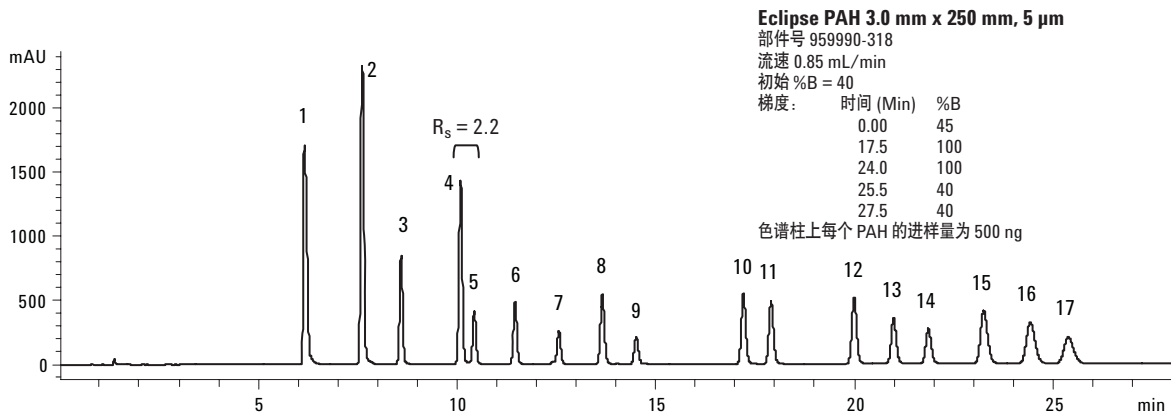
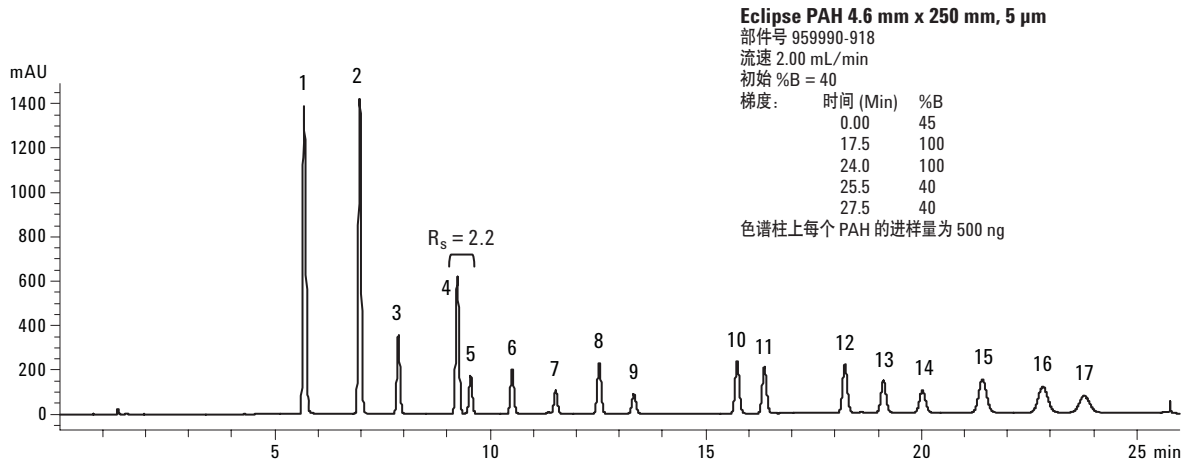


图 1. 使用 Eclipse PAH-250 色谱柱对多环芳烃进行高分离度分析

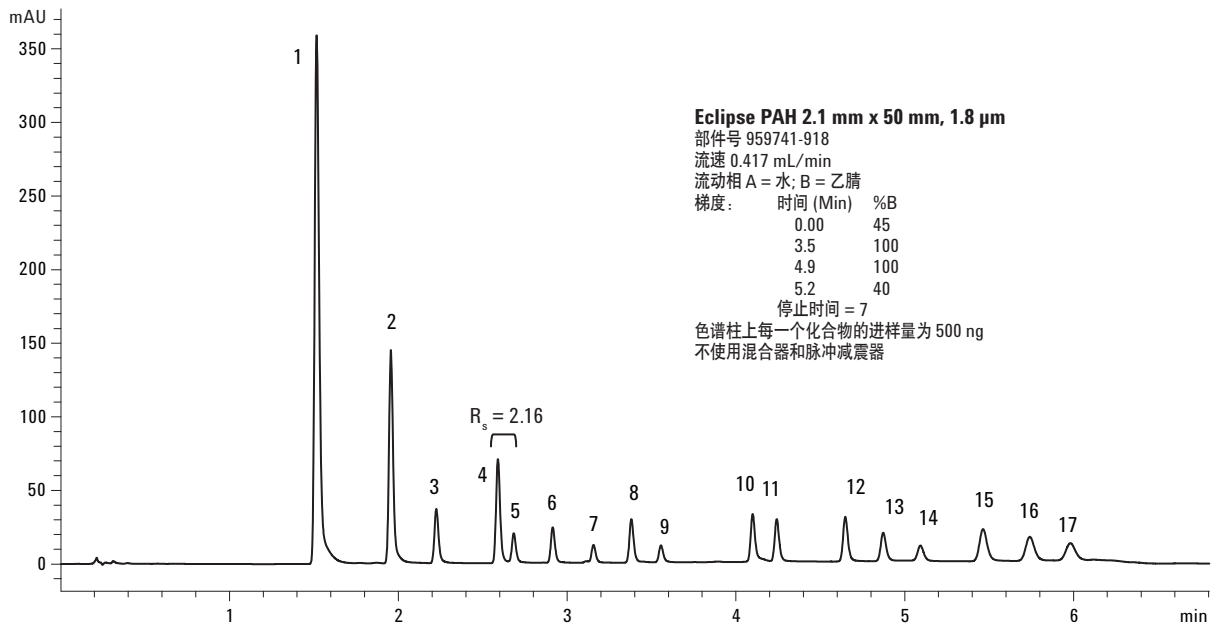


图 2. 使用 RRHT Eclipse PAH 2.1 mm x 50 mm, 1.8 μ m 色谱柱对多环芳烃进行高分离度的快速分析

长寿命和重现性

在图2中, 通过使用如Eclipse PAH 2.1 × 50 mm 这样的快速分离高通量 (RRHT) 色谱柱可以获得高通量并降低溶剂消耗, 使RRHT色谱柱成为柱寿命测试的理想选择。我们使用图2中的方法测试Eclipse PAH 色谱柱的长寿命。在5000次进样后, 测试以色列谱柱性能几乎没有损失而结束。图3叠加了柱寿命测试中开始、中间和结束时的色谱图。选择性、保留和效率及相应的分离度在3000次分析中保持相对的稳定, 在后2000次进样中也保持得十分令人满意。图3的表中列出了两个关键色谱峰和两个更宽的峰间的分离度值, 说明了方法和色谱柱的耐用性。这个测试用了25天进行全天24小时运行, 产生了大约14.6 L的废液。如果使用4.6 × 250 mm 色谱柱, 测试将用122天不间断运行, 需要消耗约350 L溶剂。

批与批的重现性

色谱柱寿命长是Eclipse PAH的一个重要特性; 另外一个重要特性是批与批的重现性。除了5和1.8 μm

填料之外, Eclipse PAH还有3.5 μm的填料。图4比较了不同时间生产的两批3.5 μm Eclipse PAH。可以看出选择性在两批之间是相同的, 从而支持了Eclipse PAH 填料生产是始终如一的说法。从5和1.8 μm 填料也获得了相似的结果 (数据没有显示)。为了在预期的操作条件下得到最大的重现性, 每一批材料都用PAH进行了专门的测试。

粒径之间的可放大性

为了充分评价一个色谱柱的耐用性, 批与批之间的重现性能够被扩展到不同粒径填料之间的重现性或可放大性。图5叠加了3个不同粒径的色谱柱 (也是3个不同批次)。另外, 色谱柱包括三种长度和两种柱内径。然而, 所有三个色谱柱配置的选择性是相同的。这是因为选择性是与颗粒表面的本质特性有关系, 而不是色谱柱长度或内径。不同粒径之间始终如一的选择性或可放大性增加了Eclipse PAH的耐用性。

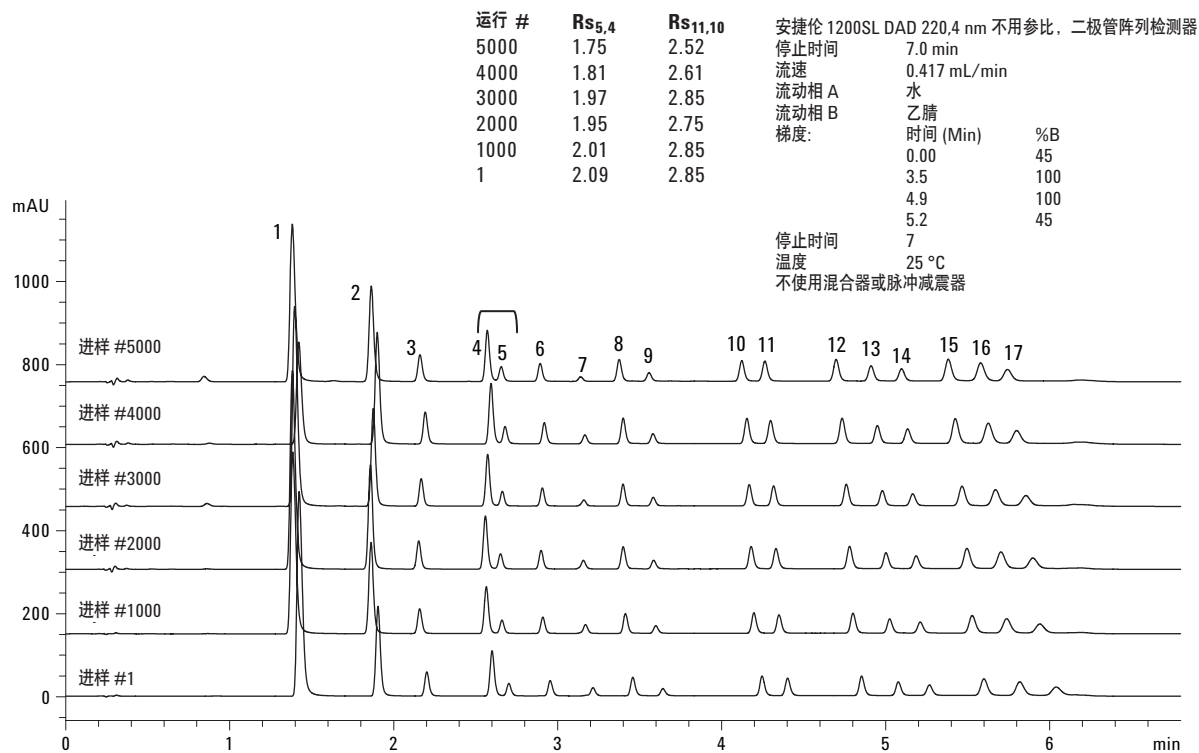


图3. Eclipse PAH 2.1 mm × 50 mm, 1.8 μm 色谱柱柱寿命测试。参见实验部分特征峰的化合物

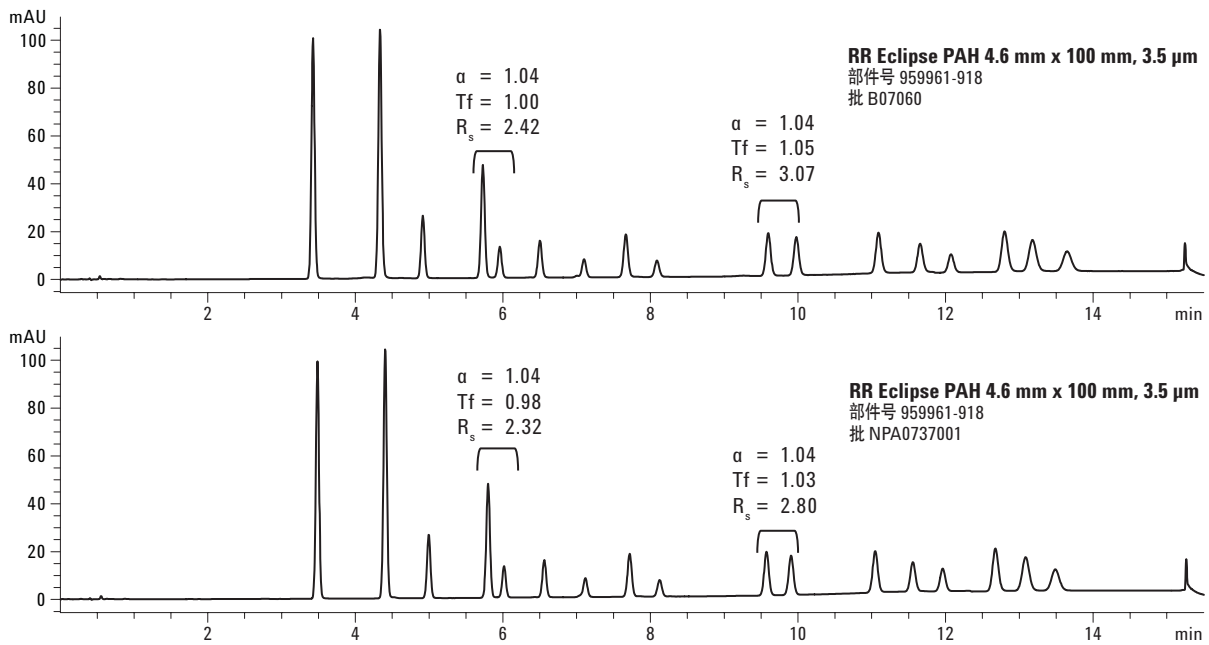


图 4. Eclipse PAH 3.5 μ m 填料色谱柱批与批之间的重现性

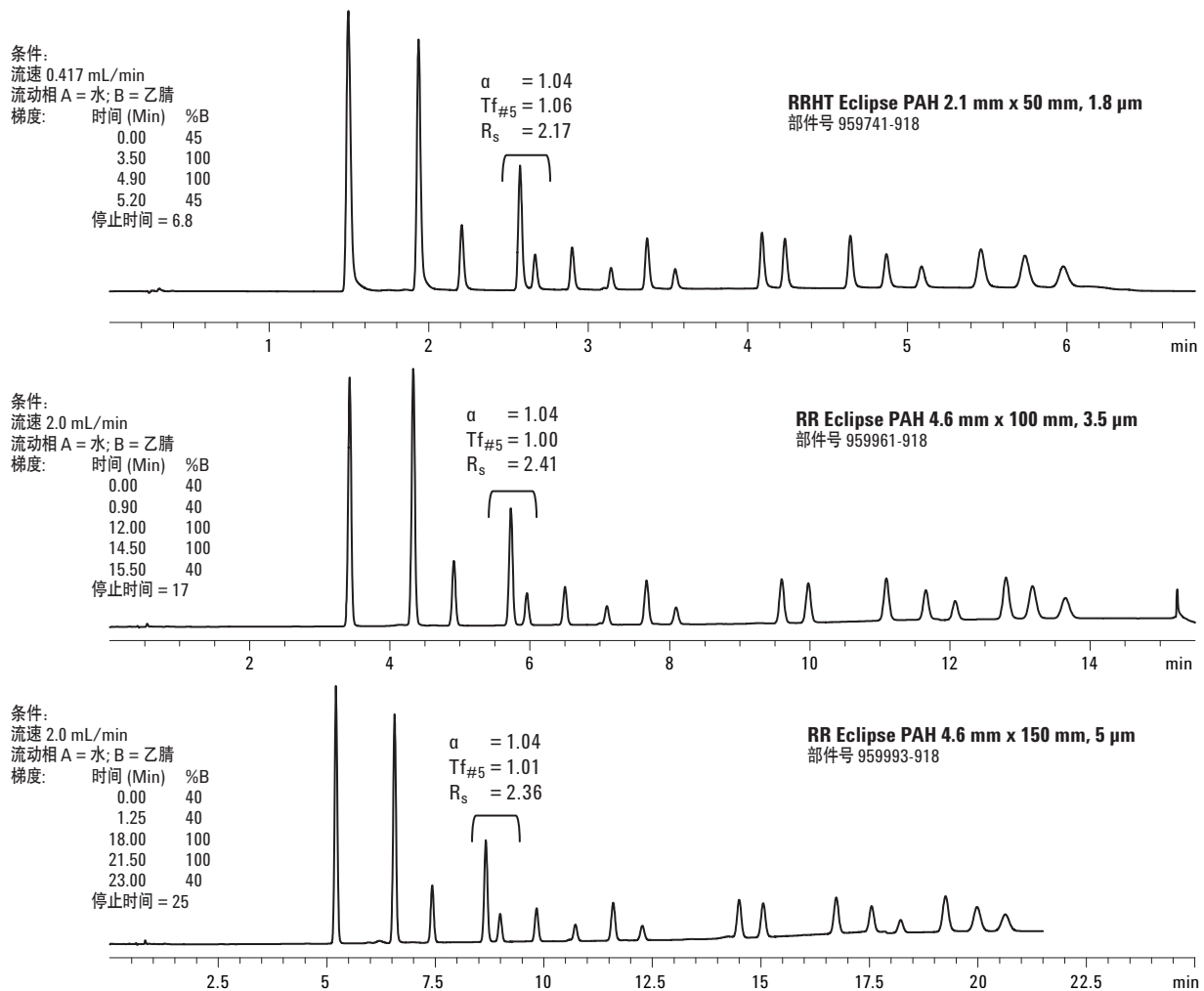


图 5. 用各种填料粒径和柱规格的 Eclipse PAH 柱进行放大分析

结论

Eclipse PAH 是一种具有耐用固定相的色谱柱，适用于各种 PAH 分析。色谱柱被证明拥有较长的使用寿命，较好的重现性和可放大性。多种色谱柱配置使 Eclipse PAH 成为方法优化的首选。现有各种规格 Eclipse PAH 色谱柱允许方法针对样品量、基质、检测器类型、分析速度、分离度要求及溶剂消耗等方面进行用户化设计和选择。

参考资料

1. “轻松使延迟体积最小化的高通量梯度优化”，安捷伦出版 5989-6665EN (2007)
2. 第 136 部份附录 A，有机化学分析城市和工业废水的方法，方法 610 多环芳烃，美国环保署

更多资讯

关于我们的产品和服务的更多资讯，浏览我们的网站 www.agilent.com/chem/cn。

安捷伦对本资料中出现的错误，以及由于提供或使用本资料所造成的相关损失不承担责任。

本应用中的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技公司 2008

中国印刷
2008 年 1 月 18 日
5989-7828CHCN

