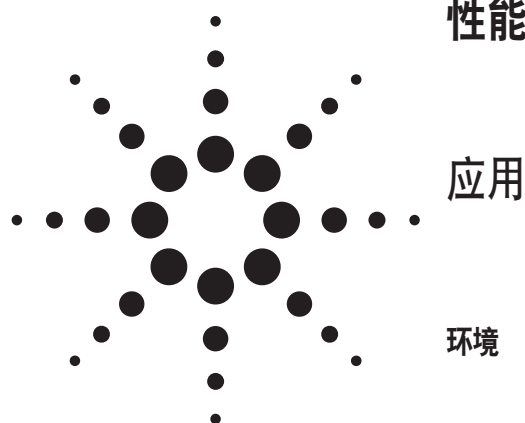


# 合同实验室计划(CLP) 快速农药分析的色谱柱性能直接比较



## 作者

Ken Lynam, John W. Henderson, Jr.  
Agilent Technologies, Inc  
2850 Centerville Road  
Wilmington, DE 19808-1610  
USA

## 摘要

用内径为 0.18 mm 的 Agilent J&W 高效 GC 色谱柱进行合同实验室计划 (CLP) 的农药分析,可以为 CLP 农药初步分析和确证分析提供优异结果。本文对用两组内径为 0.18 mm 的色谱柱分析获得的色谱图的峰形特征、峰分离度和基线稳定性进行了逐一比较。使用氢载气和流量编程,可以在 6 分钟内完成方法协议中 20 种农药完整的初步分析和确证分析。只用 Agilent J&W 高效 GC 色谱柱,就能够成功完成初步分析与确证分析。

## 引言

在充满竞争的合同实验室市场中,环境治理样品中有机氯农药 (OCP) 的测定非常重要,且分析量大。这些分析要用标准的合同实验室计划 (CLP) 农药方法。实验室要分析大量样品,在许多情况下,会超出指定的项目期限,这会增加实验室和客户的成本。使用内径为 0.18 mm 的 Agilent J&W 高效 GC 色谱柱则可以提高实验室的效率 [1-3]。

Wool 和 Decker [3] 报告了他们在美国国家环保局 (Region VI, Houston, TX) 实验室中的发现,并说明了 20 m x 0.18 mm 色谱柱对于 CLP 农药分析的重要价值。他们建议用保留间隙柱来保护分析色谱柱免受有害基质的影响,并且补偿了样品容量 (相对于大口径色谱柱,这些色谱柱的样品容量要小),这些都在色谱柱的比较中得到了体现。在这一系列实验中,所用的每组色谱柱都使用了去活处理的 5 m x 0.25 mm 内径保留间隙柱。

用作 CLP 农药分析的内径为 0.18 mm 的色谱柱,可以从一些主要的色谱柱生产厂家购得。安捷伦推荐的用于 CLP 农药分析的两根内径为 0.18 mm 的色谱柱中,一根是用于初步分析的 DB-17ms 色谱柱,另一根是用于确证分析的 DB-XLB 色谱柱。供应商 R 提供的是一套可同时用于 CLP 农药初步分析和确证分析的专有固定相的 0.18 mm 内径色谱柱。

## 实验

本实验所使用的色谱仪是配有微池电子捕获检测器 ( $\mu$ ECDs) 和 7683B 自动进样器的 Agilent 6890N 气相色谱仪。样品引入则是由位于保留间隙色谱柱前端的单个分流/不分流进样口来完成,而该保留间隙色谱柱的另一端则通过一个 Y 型分流器与两根分析色谱柱连接在一起。初步分析的色谱条件详细信息列于表 1。



Agilent Technologies

**表 1. 色谱条件**

|         |                                                                                                                                                                                  |
|---------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 气相色谱仪:  | Agilent 6890N                                                                                                                                                                    |
| 进样器:    | Agilent 7683B, 5 $\mu$ L 注射器<br>(安捷伦部件号 5181-1273), 0.5 $\mu$ L 进样量                                                                                                              |
| 载气:     | 氢气 (流量编程, 120 $^{\circ}$ C 时为 69 cm/s,<br>以 99 mL/min 经 4.4 分钟阶升到 106 cm/s,<br>通过大容量通用捕集阱 (安捷伦部件号 RSMH-2)<br>净化                                                                  |
| 进样口:    | 分流/不分流, 220 $^{\circ}$ C, 脉冲不分流 35 psi .5 min,<br>吹扫流速 40 mL/min 保持 1 分钟, 载气节省流速<br>20 mL/min 保持 3 分钟                                                                            |
| 进样口衬管:  | 脱活单细径锥直接连接衬管<br>(安捷伦部件号 1544-80730)                                                                                                                                              |
| 保留间隙:   | 5 m x 0.25 mm 内径, 脱活<br>(安捷伦部件号 160-2255-5)                                                                                                                                      |
| Y 型分流器: | 石英脱活 (安捷伦部件号 5181-3398)                                                                                                                                                          |
| 色谱柱:    | 1 20 m x 0.18 mm x 0.18 $\mu$ m DB-17ms<br>(安捷伦部件号 121-4722)<br>2 20 m x 0.18 mm x 0.18 $\mu$ m DB-XLB<br>(安捷伦部件号 121-1222)                                                      |
| 柱温箱     | 120 $^{\circ}$ C (0.32 min); 120 $^{\circ}$ C/min 到 160 $^{\circ}$ C;<br>30 $^{\circ}$ C/min 到 258 $^{\circ}$ C(0.18 min);<br>38.81 $^{\circ}$ C/min 到 300 $^{\circ}$ C(1.5 min) |
| 检测器:    | 微池电子捕获检测器 320 $^{\circ}$ C; 尾吹气氮气;<br>色谱柱 + 尾吹气流量 (60 mL/min) 恒流                                                                                                                 |

这些试验中用到使用的流路备件如表 2 所示。

**表 2. 流路备件**

|          | 说明                                | 安捷伦部件号     |
|----------|-----------------------------------|------------|
| 样品瓶:     | 琥珀色螺纹瓶盖                           | 5182-0716  |
| 样品瓶盖:    | 蓝色螺纹瓶盖                            | 5282-0723  |
| 样品瓶内插管:  | 100 $\mu$ L 玻璃/聚合物支脚              | 5181-1270  |
| 进样针:     | 5 $\mu$ L                         | 5181-1273  |
| 隔垫:      | 高级绿色                              | 5183-4759  |
| 进样口衬管:   | 脱活单细径锥直接连接衬管                      | 1544-80730 |
| 密封圈:     | 0.4 mm 内径短垫圈;<br>85/15 Vespel/ 石墨 | 5181-3323  |
| Y 型分流器:  | 石英脱活分流器                           | 5181-3398  |
| 密封树脂:    | 聚酰亚胺密封树脂                          | 500-1200   |
| 20 倍放大镜: | 20 倍放大镜                           | 430-1020   |
| 管线切割器:   | 陶瓷片色谱柱切割器                         | 5181-8836  |

本实验中对比的两组色谱柱是用相同方式装入气相色谱仪。而且它们使用的是相同的保留间隙柱和进样口衬管。使用表 1 和表 2 中的色谱条件 (除色谱柱不同外) 评价供应商 R 推荐的专有色谱柱以及安捷伦的色谱柱。安捷伦的 20 m x 0.18 mm x 0.18  $\mu$ m DB-17ms 用于初步分析。而 供应商 R 的专有固定相 20 m x 0.18 mm x 0.18  $\mu$ m 色谱柱用作初步分析。安捷伦色谱柱为 20 m x 0.18 mm x 0.18  $\mu$ m DB-XLB 用于确证分析。而 供应商 R 的专有固定相 20 m x 0.18 mm x 0.14  $\mu$ m 色谱柱用于确证分析。

### 样品前处理

CLP 农药标准溶液从 AccuStandard (美国 New Haven, CT 06513) 处购得。ULTRA RESI ANALYZED 纯 2,2,4-异辛烷则从 J.T. Baker (Phillipsburg, NJ 08865 USA) 处购得。

先把 CLP-023R-160X 和 CLP-024R-160X 溶液置于 50 mL 容量瓶中, 用 2,2,4-异辛烷溶解稀释, 然后逐级稀释。使用的容量瓶和移液管均为 A 级。协议中低浓度目标化合物的标称浓度范围是 3.2 到 80 ng/mL。当考虑到两根色谱柱上都需要 0.5  $\mu$ L 的进样量时, 低浓度目标化合物的柱上上样量范围应为 0.8 到 20 pg。

### 使用 Y 型分流器安装色谱柱

Y 型分流器的安装通过以下步骤来完成: 先将要插入 Y 型分流器的熔融石英管线外层涂上聚酰亚胺密封树脂薄膜, 再进行管线切割。该切割是在管线的涂层部分进行。然后用 20 倍放大镜检查切口末端, 以确保切口清洁以及过多的密封剂不会在色谱柱内扩散。确保切口清洁后, 即可以将外层涂有聚酰亚胺密封剂的熔融石英管线插入 Y 型分流器的支管内, 然后保持约 45 秒以进行密封。连接处的一圈薄密封剂说明密封良好。该过程首先在分析色谱柱上进行, 然后在 Y 型分流器主干上重复, 以使其进入保留间隙。该方法提供了紧密、可靠的连接, 可轻松保持 2 个月以上, 经历数百次柱温箱程序升温周期。

## 方法转换软件/获得成功的色谱条件的途径

此次对比分析的第一步，是将 Agilent DB-17ms 和 DB-XLB 0.18 mm 内径色谱柱 [4] 上使用氢载气的一组成功分离条件转化为一组使用氮载气的条件。将氮载气分离的色谱参数输入 Agilent GC 方法转换软件 [5-6] 的转换表中，以将方法转化为使用氮载气的方法。在该软件中，“仅限转换”模式用于将 11 分钟氮载气方法转换为使用相同色谱柱的 7.3 分钟氢载气方法。

在从氮载气转换为氢载气的方法转换中，只有在需要利用对流量编程来提高分析速度作为方法改进的目的时，才需要再进行方法的开发（而不仅是）。流量编程不属于方法转换软件的范围。在这一系列实验中，流量编程有助于提高洗脱强保留峰的出峰速度。进一步修改升温程序也提高了分析速度，而且使安捷伦色谱柱上的分离度损失降到最低。

## 结果与讨论

通过表 1 中显示的条件，在 Agilent DB-17ms 和 DB-XLB 0.18 mm 内径色谱柱上利用氮载气成功实现了 CLP 农药分离。供应商 R 的 0.18 mm 内径色谱柱采用以下条件来进行评估：表 1 中的条件，从供应商 R 网站上得到的条件（通过大量实践），以及用于此次分析的供应商 R 色谱柱上特别优化的一组条件。这些实验的目的都是要保证该对比分析的准确和客观。

为了比较不同色谱图，选取了 CLP 协议中适用于低浓度目标农药的标称浓度为 3.2 ng/mL 的进样。这个浓度可始终提供一个固定的参照点，同时能减少因采用较高浓度而对色谱产生的不良影响等常见问题发生的可能性。在每个色谱图都包的 Y 坐标，可在每个色谱图中提供另一个固定参照点，从而便于进行比较。色谱图示例中需要注意的关键部分包括：峰分离度、拖尾和微池电子捕获检测器上随温度变化引起的基线漂移。

这些实验把 Agilent DB-17ms 色谱柱作为初步分析色谱柱。图 1 上半部分显示了标称浓度为 3.2 ng/mL 样品的色谱图，该浓度适用于低浓度目标化合物的农药。该色谱柱在 6 分钟内分离了所有目标化合物，在微池电子捕获检测器上形成尖锐对称的峰形和最小的背景漂移。表 3 列出了色谱图中标号的色谱峰对应的化合物。

这些实验中用于确证分析的是 Agilent DB-XLB 20 m x 0.18 mm x 0.18  $\mu$ m 色谱柱。图 1 中的下图显示的是适用于标称浓度为 3.2 ng/mL 的低浓度目标农药样品的分析。该色谱柱在 6 分钟内分离了 20 个目标峰，峰 10 和 11 接近基线分离。在微池电子捕获检测器上形成了尖锐对称峰形和随温度变化引起的基线漂移最小。虽然确证色谱柱上 22 个目标峰中只有 20 个实现了完全分离并不理想，但观测到的分离已足以用于峰的确证。

峰对照表应用到图 1 中，仅说明在安捷伦色谱柱上分离的 CLP 农药。这些具有特殊选择性的色谱柱的洗脱顺序已在前期工作中确定。要根据不同选择性建立供应商 R 色谱柱的洗脱顺序，需要用单个标样进样或用质谱进行确证。

表 3. CLP 标准化化合物列表

|                  |              |
|------------------|--------------|
| 1. 四氯间二甲苯        | 12. 4,4' DDE |
| 2. Alpha BHC     | 13. 狄氏剂      |
| 3. Gamma BHC     | 14. 异狄氏剂     |
| 4. Beta BHC      | 15. 4,4' DDD |
| 5. $\delta$ -BHC | 16. 硫丹 II    |
| 6. 七氯            | 17. 4,4' DDT |
| 7. 艾氏剂           | 18. 异狄氏醛     |
| 8. 七氯环氧          | 19. 硫丹硫酸酯    |
| 9. $\gamma$ -氯丹  | 20. 甲氧氯      |
| 10. $\alpha$ -氯丹 | 21. 异狄氏酮     |
| 11. 硫丹 I         | 22. 十氯联苯     |

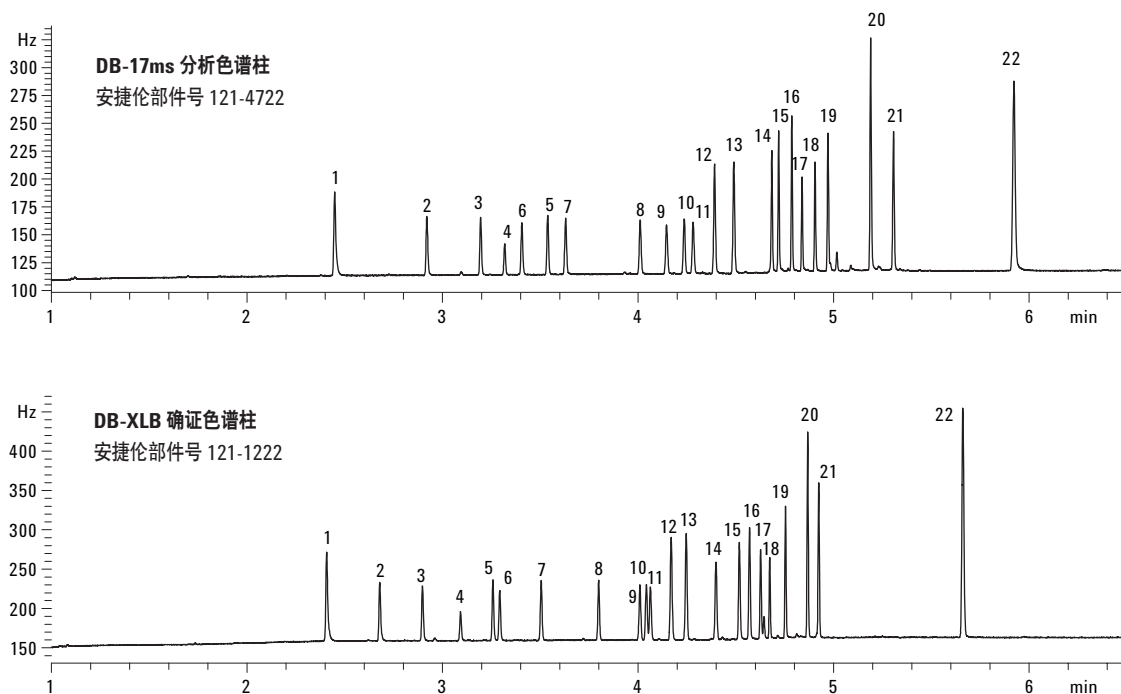


图 1. 通过 Y-分流器向 DB-17ms (安捷伦部件号 121-4722) 初步分析柱和 DB-XLB (安捷伦部件号 121-1222) 确证分析色谱柱进样 0.5  $\mu$ L, 标称浓度 3.2 ng/mL 低浓度目标农药的色谱图, 溶液色谱条件见表 1

供应商 R 的初步分析色谱柱是专有固相 20 m  $\times$  0.18 mm  $\times$  0.18  $\mu$ m。图 2 显示标称浓度为 3.2 ng/mL 的低浓度目标农药的样品的色谱图。该色谱柱分离了 22 个目标峰中的 20 个, 某些色谱峰拖尾, 并在微池电子捕获检测器上温度变化产生的基线漂移最小。图中的箭头指向共流出峰和拖尾峰。

供应商 R 的确证分析色谱柱是专有固相 20 m  $\times$  0.18 mm  $\times$  0.14  $\mu$ m。标称浓度为 3.2 ng/mL 的低浓度目标农药的样品的色谱图如图 2。该色谱柱使所有 22 个目标峰都得到分离, 部分峰拖尾, 在微池电子捕获检测器上随温度变化引起的基线漂移显著。图中的箭头指向拖尾峰和明显的基线漂移 (在此大于 100 Hz)。

供应商 R 为他们的这对色谱柱建议的分离条件并没有成功实现与在他们网站上所显示一致的实验结果。这可能是由于忽略了他们的部件。从网站上的图说明中找到的建议条件要求比最高温度高 10  $^{\circ}$ C, 并保持 2 分钟。要求的温度为 330  $^{\circ}$ C; 但是, 色谱柱盒的标签上注明了用于确证色谱柱的温度上限为 320  $^{\circ}$ C。供应商 R 的确证色谱柱存在明显的流失现象, 即使升温程序最高温度仅达到 300  $^{\circ}$ C (比上限低整整 20  $^{\circ}$ C)。

在 供应商 R 初步分析色谱柱上对共流出的两个化合物的分离做了一系列尝试, 虽然给出的分离结果有所改进, 但仍不完全。要获得图 3 中显示的结果, 则需

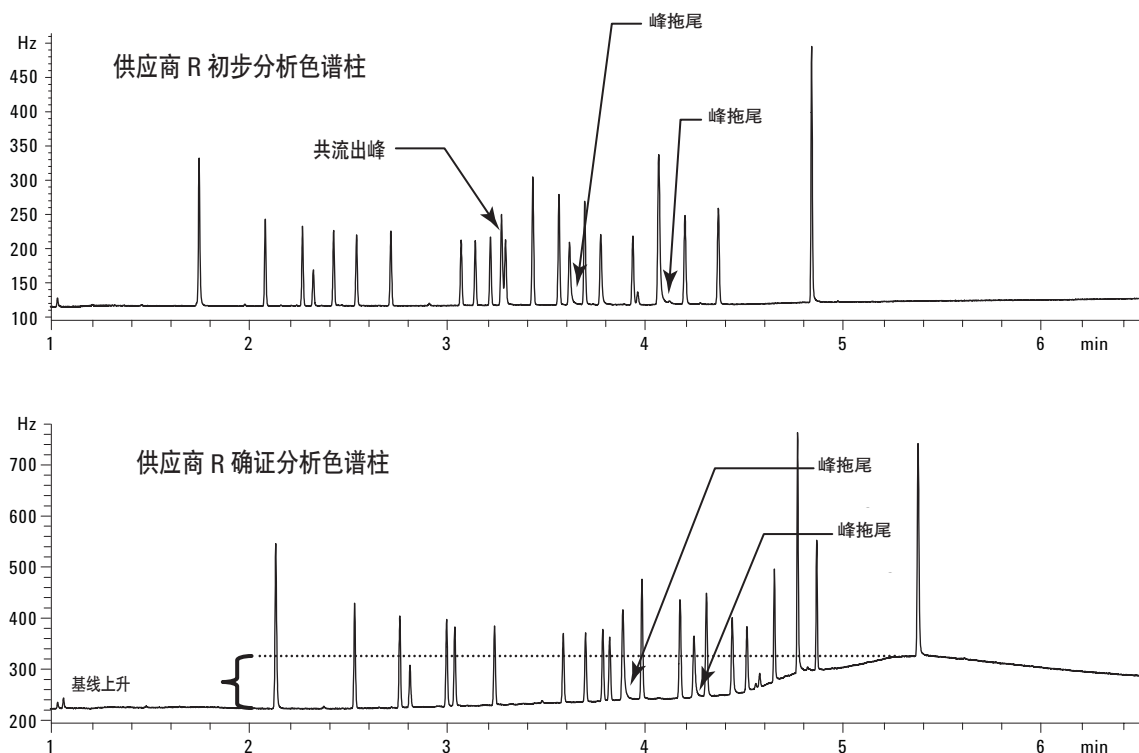


图 2. 用 Y-分流器向供应商 R 初步分析色谱柱和确证分析色谱柱上进样 0.5  $\mu\text{L}$ ，标称浓度为 3.2 ng/mL 的低浓度目标农药的色谱图，色谱条件见表 1

要充分地降低流速，并修改温度和流量编程参数。表 4 显示了用于这些进样分析的色谱条件；流路备件与表 2 中列出的备件相同。

供应商 R 的初步分析色谱柱是专有固相 20 m  $\times$  0.18 mm  $\times$  0.18  $\mu\text{m}$ 。标称浓度为 3.2 ng/mL 的低浓度目标农药的样品色谱图如图 3 所示。该色谱柱分离了 22 个目标峰中的 20 个，部分峰拖尾，在微池电子捕获检测器上随温度变化引起的基线漂移最小。图中的箭头指向共流出峰和拖尾峰。

供应商 R 的确证分析色谱柱是专有固相 20 m  $\times$  0.18 mm  $\times$  0.14  $\mu\text{m}$ 。标称浓度为 3.2 ng/mL 的低浓度目标农药的样品色谱图如图 3 所示。该色谱柱分离了所有 22 个目标峰，部分峰拖尾，但在微池电子捕获检测器上随温度变化引起的基线漂移显著。图中的箭头指向拖尾峰和明显的基线漂移。

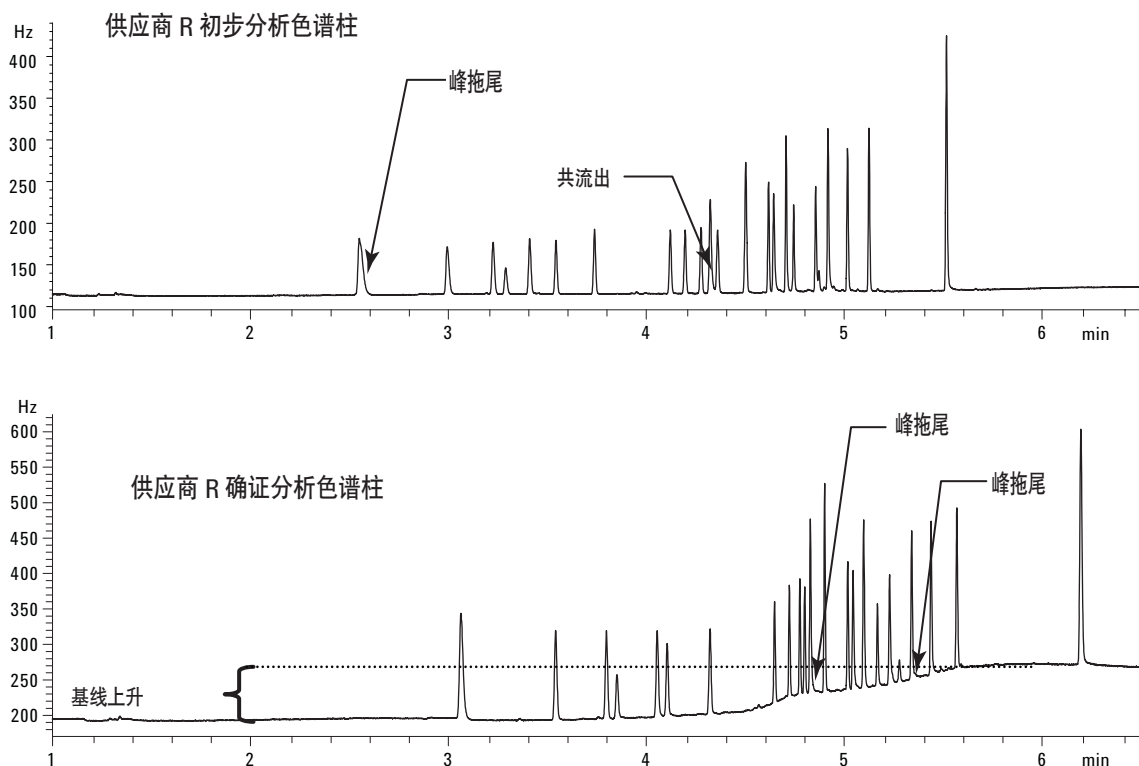


图 3. 用 Y-分流器向供应商 R 初步分析色谱柱和确证分析色谱柱上进样 0.5  $\mu$ L, 标称浓度为 3.2 ng/mL 的低浓度目标农药样品的色谱图, 色谱条件见表 4

表 4. 色谱条件

|         |                                                                                                                                                                     |
|---------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 气相色谱仪:  | Agilent 6890N                                                                                                                                                       |
| 进样器:    | Agilent 7683B, 5 $\mu$ L 注射器<br>(安捷伦部件号 5181-1273), 0.5 $\mu$ L 进样量                                                                                                 |
| 载气:     | 氢气 (流量编程, 120 $^{\circ}$ C 时为 45 cm/s,<br>以 99 mL/min 阶升到 72 cm/s, 保持 4.4 分钟,<br>通过大容量通用捕集阱 (安捷伦部件号 RSMH-2)<br>净化                                                   |
| 进样口:    | 分流/不分流; 220 $^{\circ}$ C 脉冲不分流 (35 psi<br>0.5 min, 吹扫流速 40 mL/min 保持 1 分钟,<br>载气节省流速 20 mL/min 保持 3 分钟)                                                             |
| 进样口衬管:  | 脱活单细径锥直接连接衬管<br>(安捷伦部件号 1544-80730)                                                                                                                                 |
| 保留间隙柱:  | 5 m $\times$ 0.25 mm 内径脱活<br>(安捷伦部件号 160-2255-5)                                                                                                                    |
| Y 型分流器: | 石英脱活 (安捷伦部件号 5181-3398)                                                                                                                                             |
| 色谱柱:    | 1 20 m $\times$ 0.18 mm $\times$ 0.18 $\mu$ m 初步分析色谱柱<br>2 20 m $\times$ 0.18 mm $\times$ 0.14 $\mu$ m 确证分析色谱柱                                                      |
| 柱温箱:    | 120 $^{\circ}$ C (0.50 min); 60 $^{\circ}$ C/min 至 160 $^{\circ}$ C;<br>30 $^{\circ}$ C/min 至 260 $^{\circ}$ C; 40 $^{\circ}$ C/min 至<br>300 $^{\circ}$ C (2.0 min) |
| 检测:     | 微池电子捕获检测器 320 $^{\circ}$ C; 尾吹气氮气;<br>色谱柱 + 尾吹气流量 60 (mL/min) 恒流                                                                                                    |

## 结论

Agilent 0.18 mm 内径初步分析色谱柱优于 供应商 R 提供的色谱柱。DB-17ms 初步分析色谱柱在 6 分钟内分离了所有 22 个目标峰, 形成了尖锐对称峰形和最小的基线漂移。供应商 R 的初步分析色谱柱分离了 22 个目标峰中的 20 个, 有些目标峰拖尾。

Agilent 0.18 mm 内径确证分析色谱柱优于 供应商 R 提供的色谱柱。DB-XLB 色谱柱在 6 分钟内分离了所关注的 22 个目标峰中的 20 个, 而另外两条色谱峰也几乎基线解析。在微池电子捕获检测器上形成了尖锐对称峰形和随温度变化引起的基线漂移最小。虽然没有实现完美分离, 但观测到的分离结果已足以用于峰确证。供应商 R 的确证分析色谱柱分离了所有 22 个所关注的目标峰, 但结果中却显示有拖尾峰和随温度变化引起的基线漂移明显, 不可以接受。

在微池电子捕获检测器上, 这些实验中使用的 DB - 17ms 和 DB-XLB 色谱柱的柱流失非常小。这些色谱柱的基线稳定, 可以使检测限更低, 更易积分, 随着时间的推移结果也更加可靠。除 CLP 农药分析外, 这些色谱柱还能灵活用于其它的分析。

使用 Agilent J&W 高效 GC 色谱柱与标准气相色谱仪，可在 6 分钟内实现可靠的 CLP 农药初步分析与确证分析。

## 参考文献

1. I. L. Chang, M. S. Klee, and J. Murphy, "Validation Analysis of EPA CLP Target Organochlorine Pesticides with the Agilent 6890 Series GC and Micro-ECD," Agilent publication 5966-3742E, February 1998
2. C. George, "Rapid Analysis of CLP Pesticides Using High-Temperature DB-35ms and DB-XLB Columns," Agilent publication 5988-4973EN, December 18, 2001
3. L. Wool and D. Decker, "Practical Fast Gas Chromatography for Contract Laboratory Program Pesticide Analysis," *Journal of Chromatographic Science*, Vol. 40, September 2002
4. K. Lynam and W. Long, "Contract Laboratory Program (CLP) Pesticide Analysis with 0.18 mm ID High Efficiency GC Columns Utilizing Helium Carrier Gas," Agilent publication 5989-7818EN, January 7, 2008
5. To download Agilent Method Translation software please visit the link below:  
<http://www.chem.agilent.com/cag/servsup/usersoft/files/GCTS.htm>
6. K. Lynam, "Agilent J&W High-Efficiency Capillary Columns: Productivity-Enhancing Tools for Fast GC Applications," Agilent publication 5989-7499-EN, November 7, 2007

## 更多信息

要了解有关我们产品和服务的更多信息，请访问我们的网站 [www.agilent.com/chem/cn](http://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。

本资料中涉及的信息、说明和性能指标，如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技，2008

中国印刷  
2008 年 2 月 26 日  
5989-8031CHCN



**Agilent Technologies**