

自动样品制备改善数据质量

应用报告

作者

Rebecca Veeneman and Dale Snyder
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808
USA

摘要

样品制备是一件十分耗时的任务，而且常常带来误差，导致重复性和准确度下降，许多这类工作，如校准曲线的制作、样品的稀释、内标物的添加、或者样品的衍生化需要一天来完成，还需要相当多的资源等等，Agilent 7696 样品制备工作台可以完成许多一般性样品制备任务，要比许多手动方法更准确和精密，同时只需要使用极少量的试剂和节省操作人员的时间。为了证明这一点，使用 Agilent 7696 样品制备工作台进行三个样品的制备，结果如果不优于手动方法，也会得到相当于手动方法的准确度和精密度。



Agilent Technologies

前言

Agilent 7696 样品准备工作台可以完成许多气相色谱 (GC) 或液相色谱 (LC) 的样品制备任务。Agilent 7696 样品准备工作台包括两个液体分配模块，一个单独的能加热到 80 °C 的样品瓶加热器，一个单独的样品瓶混合器，和一个条形码读取器 (图 1)，这一装置可以进行稀释/整取，液体添加，为衍生化和消解加热，液液萃取，和样品混合。独立的瓶架可以进行加热和/或冷却，这一样品制备仪器能够以 Agilent 7693A 自动液体进样器一样的准确度和精密度完成任务，只是以脱机的样式替代在 GC [1] 的顶部。许多样品制备任务如样品稀释、校准曲线标准样品的产生、和耗时及资源密集方面的样品的衍生化，用 Agilent 7696 样品准备工作台使这些步骤自动化，会获得多方面的益处。



图 1. Agilent 7696 样品准备工作台

平行地用手动和自动方法制备三个普通样品的比较，以证明自动样品制备能获得数据质量的改善，用 Agilent 7696 样品准备工作台可以成功地进行样品稀释、校准曲线标准样品的产生，和样品的衍生化。

实验部分

使用 Agilent 7696 样品准备工作台来完成三个普通样品的制备任务，首先是进行用于 GC 和 LC 分析的样品稀释和内标添加，对 GC 样品，往空的 2-mL 样品瓶中加入 50 μL 的异辛烷和含有四种分析物的标准溶液，再往样品瓶中加入 0.5 μL 含有三种分析物的内标物 (ISTD)，用自带的混合器进行混合后转移至 GC 进行分析。用于

LC 的样品按下述方法进行，往空的 2-mL 自动进样器样品瓶中加入 187.5 μL 乙腈、62.5 μL 农药标准样品和 125 μL 内标物，样品混合后转移至 LC 进行分析。对这两种样品的稀释， $n=10$ 。



图 2. Agilent 7696 样品准备工作台和气相色谱和质谱联用仪

第二，用于 GC 的一般的校准曲线以手动方式在 10-mL 容量瓶中，进行三次线性稀释来制备完成，同时用 Agilent 7696 样品准备工作台来制备。以手动方式制备标准样品时，往 6 个清洁、干燥的 10-mL 容量瓶中加入少量己烷，使用移液管从含有 5 种分析物的储备液 (5 mg/mL) 中吸取 0.1 到 1 mL 溶液到容量瓶中，用己烷把每个容量瓶稀释到刻度处，得到 50, 100, 200, 300, 400, 和 500 ppm 的浓度。用自动方法时，把 100 μL 己烷加如到 6 个空的 2 mL 自动进样器样品瓶中，然后从储备液瓶中取 1-10 μL 的溶液加入到样品瓶中，得到大致相同于上述溶液的浓度。

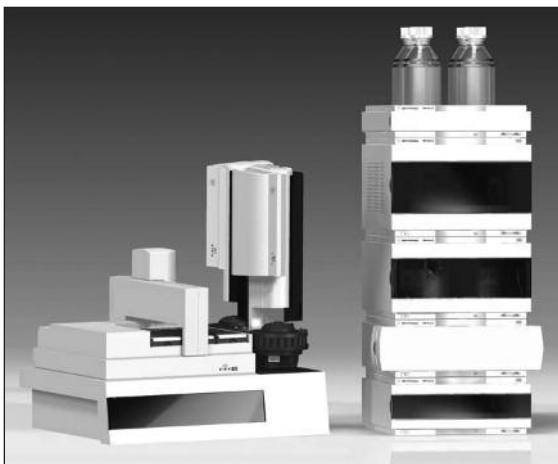


图 3. Agilent 7696 样品准备工作台和液相色谱仪

第三 通过硅烷化反应对脂肪酸进行衍生化，用手动方法时，用自动移液枪把 100 μL 硅烷化试剂加到大约 0.5 mL 游离脂肪酸溶液中，用加热块把溶液加热到 70 $^{\circ}\text{C}$ ；Agilent 7696 样品准备工作台，使用单独的样品瓶加热器，以同样的方法进行衍生化。

结果和讨论

GC 和 LC 样品的稀释

用于 GC 和 LC 分析的 10 个样品稀释，稀释溶剂、标准溶液、和内标物用重量法测定其分发的重复性，用 250 μL 进样针分发 50 μL

样品，以重量法测量其 10 个样品的相对标准偏差 (RSD) 为 0.5%，以峰面积评价样品稀释的准确度在 1% 以内，ISTD 显示出较高的 RSD。使用 25 μL 进样针分发 0.5 μL 样品，十个样品的 RSD 为 2%，如果使用较小容积的进样针来分发 ISTD，RSD 就会低一些，就接近于分发溶剂和标准物的 RSD，增加 ISTD 不会影响被稀释样品 (图 4) 的准确性。

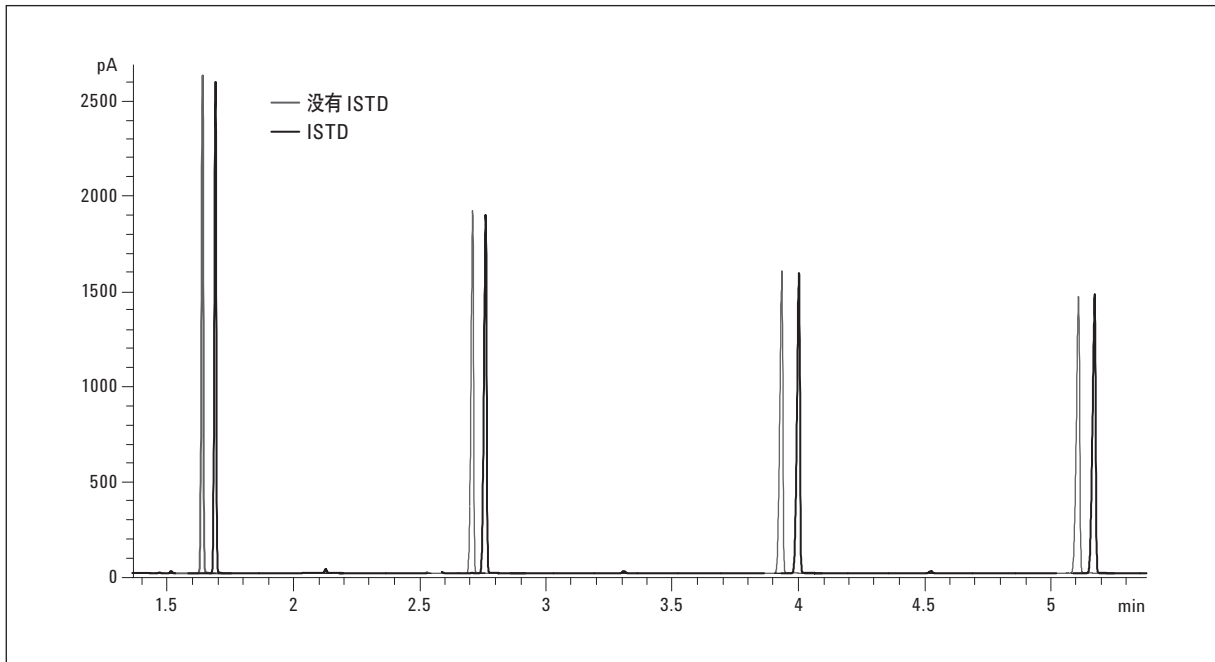


图 4. 分发标准溶液中加或不加 ISTD 的 GC 色谱图，没有发现峰面积有差别

用于 LC 分析的 10 个样品的稀释, 得到类似的结果, 用 250 μ L 进样针分发所有三个体积的溶液, 以重量法测量其 RSD <0.5%, 分析之后检查其峰面积, 发现稀释的准确度在 2% 以内 (图 5)。

校准曲线标准样品的制备

以手动和使用 Agilent 7696 样品准备工作台制备 3 组标准样品, 比较这 3 组标准样品的图谱, 说明 Agilent 7696 样品准备工作台提高了重复性 (图 6), 同时每个曲线其 R^2 值分别为 0.999, 当组合在一起做图时手动制备样品的 R^2 降低到 0.934, 相反, 用 Agilent

7696 样品准备工作台产生的三条曲线, 单个曲线的 R^2 值为 0.999, 当组合在一起做图时 R^2 只降低到 0.997。

另外, 计算每一组标准样品的相对响应因子 (RRF), 计算 RRF 的 RSD 可用于线性和重复性的评价, 校准曲线分别得到好的 RSD (<5%), 证明具有线性关系。但是, 当一起比较三条校准曲线时, 明显地显示出 Agilent 7696 样品准备工作台在制备标准样品时具有优越性。手动方式制备的 RRFs 三条曲线其平均 RSD 是 16%, 而 Agilent 7696 样品准备工作台制备的 RSD 是 4%。

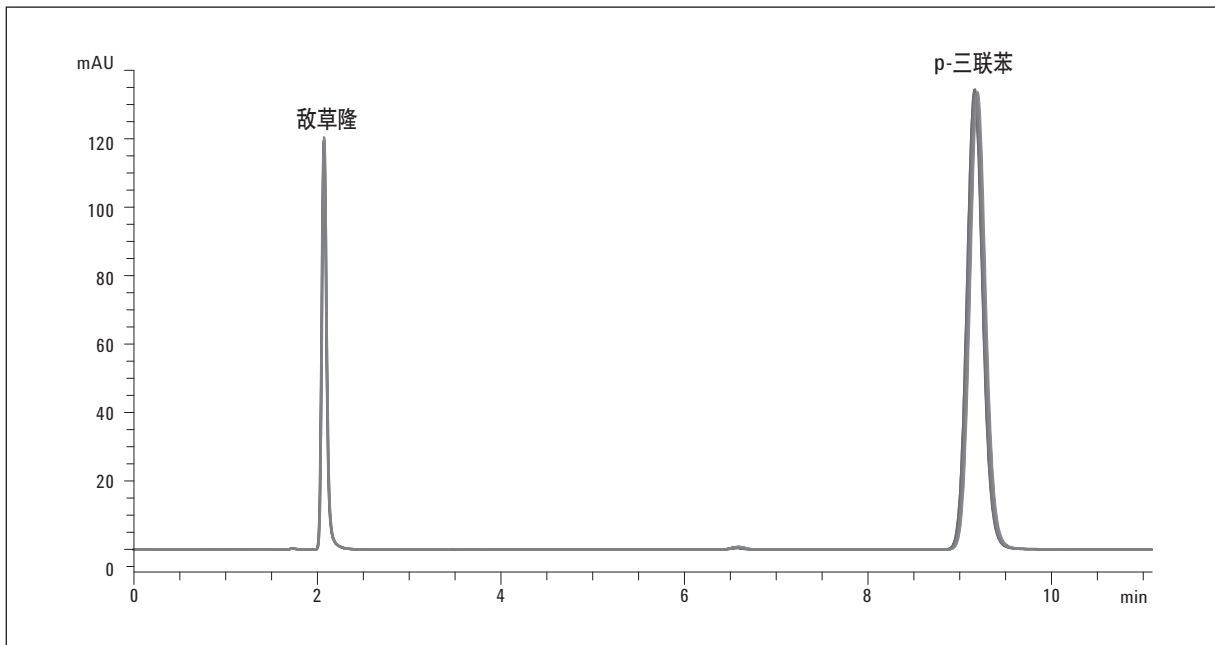


图 5. 添加 ISTD 稀释农药标准样品的 LC 色谱图, 图中显示 5 个样品有极好的重复性

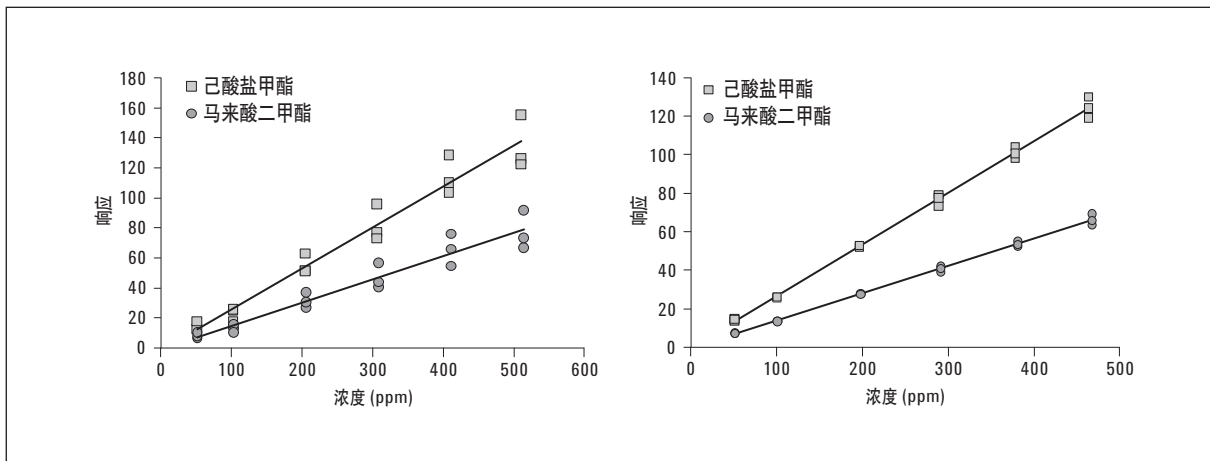


图 6. 两个有代表性分析物的两条校准曲线图，右面的曲线是用 Agilent 7696 样品准备工作台完成的，重复性明显地优于左图中以手动方式制作的曲线

脂肪酸衍生化

对样品的衍生化无论是手动方式还是用 Agilent 7696 样品准备工作台进行衍生化，都得到相同的结果，对一组 4 个脂肪酸使用硅烷化试剂进行衍生化，两种方法没有差别（表 1），但是正如你所看到，在制备其他样品的任务，Agilent 7696 样品准备工作台对液体递送的重复性要更好一些，三个手动制备样品的 RSD 为 0.9%，用 Agilent 7696 样品准备工作台制备的三个样品的 RSD 为 0.7%。

表 1. 归一化脂肪酸峰面积为肉豆蔻酸以后，与自动化进行衍生化脂肪酸的结果没有差别

分析	比率-手动	比率-自动
辛酸	0.92	0.92
辛酸	1.2	1.2
肉豆蔻酸	1.0	1.0
棕榈酸	1.1	1.1

结论

在这一应用报告中呈现的三个样品制备任务，明显地展示了使用 Agilent 7696 样品准备工作台自动制备样品可以提高重复性，稀释样品准确而有重复性，制作校准曲线标准样品其线性更好而误差很小，而且样品的衍生化不会导致分析物的歧视，并且使用 Agilent 7696 样品准备工作台的自动化样品制备还会具有另外的优点。

通过自动化地校准曲线标准的制备，可以大大减少溶剂和试剂的使用，手动制备在 10 mL 瓶中要使用要 >60 mL 的溶剂，代之以自动化制备只要使用 600 μ L 溶剂，这样可为实验室节省大量费用，另外，使用 Agilent 7696 样品准备工作台制作校准曲线标准样品，只需要手动制作的一半的时间，而其他自动样品制备任务需要像手动方法同样多的时间，Agilent 7696 样品准备工作台可以解放操作人员去进行其他的任务，如实验设计或数据分析。

总之，用 Agilent 7696 样品准备工作台进行自动化的样品制备有许多优点，在解放操作人员去进行其他的任务和可减少溶剂的使用的同时，最大的好处还是使用这一系统可以提高准确度和重复性。自动方法显示了更好的重复性和准确度，及更小的误差，因此改善了数据的质量。

参考文献

1. Susanne Moyer, Dale Synder, Rebecca Veeneman, and Bill Wilson, "Agilent 7693 自动进样器典型的进样性能", 安捷伦科技有限公司出版物编号 5990-4606EN.

要了解更多的信息

要了解更多的有关我们产品和服务的信息，请访问我们的网站 www.agilent.com/chem。

www.agilent.com/chem

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。

© 安捷伦科技公司，2010
2010年12月2日美国印刷
发行号 5990-6874CHCN

