

使用安捷伦 7696 工作台进行顶空系列标样的自动化样品制备

应用简报

法医和药品检测

作者

Jared Bushey
安捷伦科技有限公司
Centerville 路 2850 号
威明顿
特拉华州 19808
美国



摘要

制备系列标样是建立线性关系并定量测定未知样品中分析物的必需操作。人工制备系列标样不仅耗费大量的时间而且容易造成误差。自动化样品制备既可以节约时间又可以避免人工操作引入的误差。之前我们已经报道了安捷伦 7696 工作台进行自动化系列稀释操作的能力[1]。本报告介绍了使用 7696 工作台成功制备血液中乙醇的系列标样，然后使用安捷伦 7697 顶空进样器进行样品分析。系列标样被配制在 2mL 的样品瓶中，可以连同样品瓶一起被放置到 20mL 的顶空瓶中。报告还对工作台制备标样和人工制备标样进行了对比，结果表明，使用自动化方法制备样品，没有造成峰面积精度和系统线性等方面的性能损失。



Agilent Technologies

前言

校准操作在法医检测如血中乙醇(BAC)分析中广泛应用。由于BAC顶空(HS)和气相色谱(GC)分析相对耗时较短,因此必需的校正标准品制备过程会显得很耗时。通过应用自动化样品制备,可显著节约时间,用户可在样品制备的同时进行其他工作。

安捷伦 7696 工作台设计用于实现自动化样品制备,它使用液体自动进样器普遍适用的 2mL 样品瓶。7697 顶空进样器可使用 10、20、22mL 的顶空瓶。即使 1mL 样品产生的有效信号也足够用于顶空 GC 分析,因此,7696 工作台制备的系列标样体积足够用于顶空分析。问题的关键是如何将这两个平台整合为一个分析解决方案。

自动化稀释标样制备不仅得益于采用 2mL 样品瓶代替了更大容量的样品瓶,从而节约了化学试剂的使用量,而且降低了人工操作引入误差的可能性。安捷伦 7697 顶空进样器和 7696 工作台的设计确保了 2mL 的 7696 样品瓶可以完全插入到 7697 顶空进样瓶中。7697 通过采集每个样品瓶中的顶空气进样,而不是将探针直接插入到样品溶液中。将 2mL 的 7696 样品瓶插入到 20mL 7697 顶空瓶中,可确保 7697 的探针不会在采样期间和 2mL 样品瓶碰撞,避免发生损坏。

静态顶空分析是当组分在气液两相间达到热力学平衡时,将不挥发基质中逸出的挥发性组分进行采集分析的方法。将样品瓶中的溶液加热可增加挥发性组分在顶空中的浓度,从而获得更好的信号响应。为了缩短达到指定的响应水平所需的加热时间,通常在加热过程中对顶空瓶进行震摇。对样品瓶加热和震摇的精确控制,以及精确的气动和温度控制能力,使 7697 顶空进样器具备行业领先的精密度和线性响应。

本报告的结果表明,在 7697 20mL 顶空瓶中插入 7696 2mL 样品瓶不会影响 7697 顶空进样器的峰面积精度或者线性性能。此外,还表明 7696 工作台可用于精确制备顶空应用的校正标准品溶液。

实验

仪器

- 安捷伦 7696 工作台 (10 μ L 注射器,后进样塔; 500 μ L 注射器,前进样塔)
- 安捷伦 7697 大容量顶空进样器
- 安捷伦 7890 气相色谱
- 250 \pm 0.12 mL 和 100 \pm 0.08mL 容量瓶
- 法国 Gilson pipetman 加样枪

样品

从含甲醇、乙醇、丙酮、异丙醇(IPA),乙腈、乙酸酯和甲基乙基酮(MEK)各 0.5% (体积百分比)的贮备液中,通过人工制备和自动样品制备两种方法配制含量分别是 (体积百分比) 0.005, 0.01, 0.05, 0.1 和 0.2% 的系列标样,配制方案分别见表 1 和表 2。

通过移取 1.25mL 各化合物的纯品到 250mL 的容量瓶中,然后以水稀释到刻度来配制体积浓度为 0.5% 的储备液。

表 1. 人工制备系列标样

浓度 %	总体积 (mL)	0.5%储备液	水 (mL)
0.2	100	40	60
0.1	100	20	80
0.05	100	10	90
0.01	100	2.0	98
0.005	100	1.0	99

表 2. 自动化制备系列标样

浓度 %	总体积 (mL)	0.5%储备液	水 (mL)
0.2	1.5	0.60	0.90
0.1	1.5	0.30	1.20
0.05	1.5	0.15	1.35
0.01	1.5	0.030	1.47
0.005	1.5	0.015	1.49

人工系列标样配制，从 100mL 各浓度系列中人工移取 1.5mL 溶液到 20mL 顶空瓶中并立即盖上瓶盖。每个浓度移取 6 个平行样，一共是 36 个顶空瓶。工作台系列标样配制，每个浓度都保留在原始配制所用的 2mL 样品瓶中，将 2mL 样品瓶敞口放置在各自对应的 20mL 顶空瓶中，然后将顶空瓶加盖拧紧。和人工制备一样，每个浓度制备 6 个平行样，需要 36 个顶空瓶（每个内装 1 个 7696 2mL 样品瓶），因此系列标样制备重复进行 6 次，以获得足够的样品。

两种制备方法，每个系列按浓度从小到大的顺序分析（即 0.005% 到 0.5%）完成后，再开始下一个平行系列。在两个平行系列间，运行两个空白水样进行清洗。顶空进样器和气相色谱的参数如表 3 所示。

表 3. HS 和 GC 参数

安捷伦 7697 顶空进样器参数

温度	柱箱 60 °C, 样品环 60 °C, 传输线 100 °C
时间	样品瓶平衡 35 min, GC 循环 6 min, 压力平衡 0.1 min, 进样时间 0.5 min
样品瓶	模式: 流量到压力, 初始压力 15psi, 填充流量 50 mL/min, 样品环填充模式: 自定义, 样品环填充速率 20 psi/min, 样品环终压 10 psi, 样品环平衡时间 0.05 min, 样品瓶 20 mL, 震荡 1 次
载气	GC 控制
高级功能设置	吹扫流量 100 mL/min, 吹扫时间 1 min 样品瓶加压气体 He, 样品环体积 1 mL, 待机流量 20 mL/min

安捷伦 7890 GC 参数

进样口	S/SL, 5183-4647 衬管 (无玻璃棉), 200 °C, 33.505 psi, 3 mL/min 隔垫吹扫, 分流比 5:1
色谱柱	DB-ALC2 (J&W 123-9234), 0.320 mm × 30 m, 1.2 μm, 恒流 12 mL/min 双柱配置用于 7696 样品制备: 一个 16cm 长、530 μm 内径的脱活熔融石英管 (160-2535) 与一个被动式 CFT 分流器的进口相连, 分流器再分别与 DB-ALC2 和 DB-ALC1 色谱柱相连 DB ALC1 (J&W 123-9134), 0.320 mm × 30 m, 1.8 μm, 恒流 12 mL/min DB-ALC2 (J&W 123-9234), 0.320 mm × 30 m, 1.2 μm, 恒流 12 mL/min
柱箱	35 °C, 保持 4 min
检测器	FID, 250 °C
信号	FID, 50 Hz (前/后检测器)

结果和讨论

安捷伦 7696 工作台制备的标样通过 7697 顶空进样器和双柱配置 (DB-ALC1 和 DB-ALC2) 的 7890 GC 进行分析, 人工制备的标样通过一种标准柱配置 (DB-ALC2) 的 7890 GC 进行分析。图 1 为双柱配置分析得到的代表性色谱图。

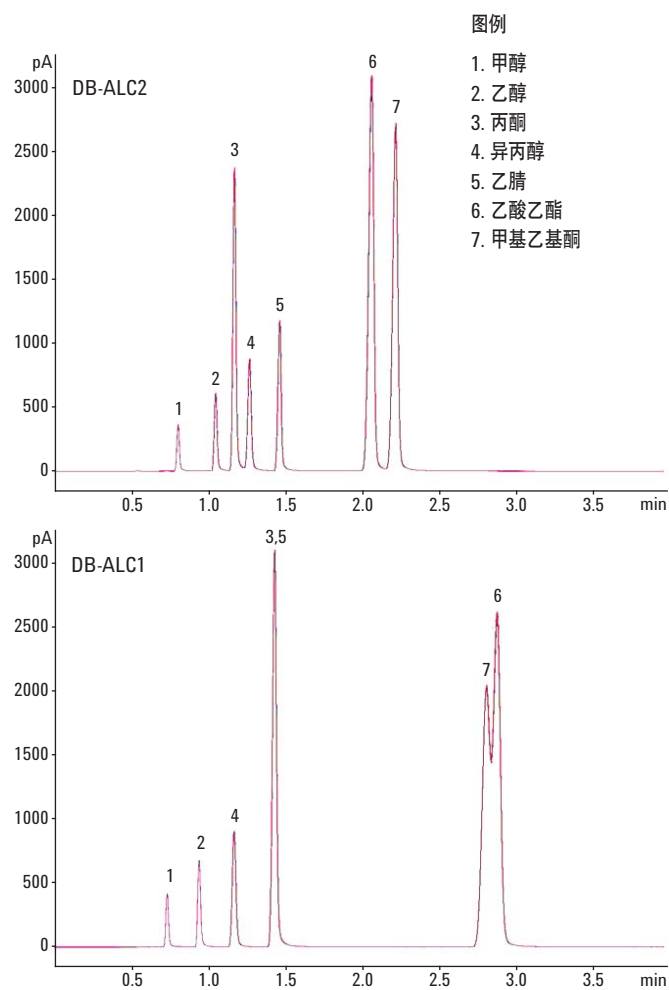


图 1. 安捷伦 7696 自动样品制备配制的 BAC 混标的代表性色谱图

图 1 为 7696 工作台制备的 0.1% 浓度标样的色谱图。每个色谱图都是 6 次平行进样叠加而成, 充分证明了系统优异的精密性。

为确保 HS 样品瓶达到热平衡, 使用了安捷伦 7697HS 进样器的参数增量 (Parameter Increment) 功能, 确定可以使所有分析物都获得稳定的峰面积响应的最佳样品瓶平衡时间。使用 0.05% 浓度的标样确定样品瓶平衡时间, 结果如图 2 所示。

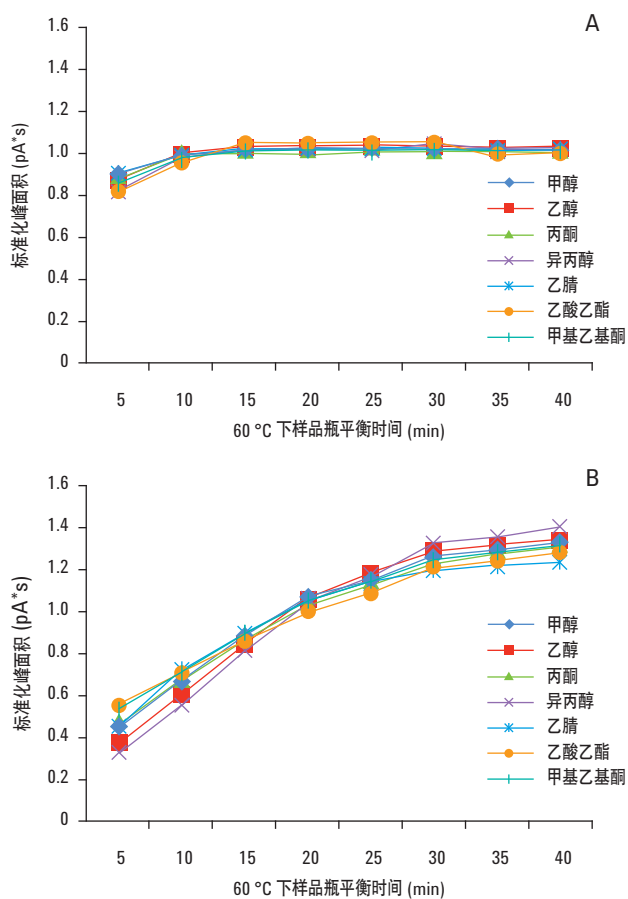


图 2. 样品平衡时间对各化合物峰面积的影响

A 1.5 mL 样品直接放置在 20 mL 的 HS 顶空瓶中, 3 次试验均值

B 1.5 mL 样品放置在 2 mL 样品瓶中, 然后 2 mL 样品瓶放置在 20 mL 的 HS 顶空瓶中, 3 次试验均值

图 2 的数据表明, 内置了 2 mL ALS 样品瓶的顶空瓶在 7697 中平衡 35 min 时, 峰面积精度显示系统已达到了热力学平衡。此外, 图 2 也说明, 35 min 的平衡时间不会对直接装填液体样品的顶空瓶造成不利影响。

人工制备

在 35min 的平衡时间下，使用 7697 顶空进样器对人工制备的系列标样按表 3 所示的条件参数进行分析。图 3 为校准曲线结果。表 4 为人工标准制备获得的线性回归的数据。图 3 的数据为将每个浓度样品直接放入顶空样品瓶中，6 个平行样的平均值。根据图 3，将每个分析物各个浓度的精密度数据以及乙醇对内标物异丙醇的标准化结果列于表 5。

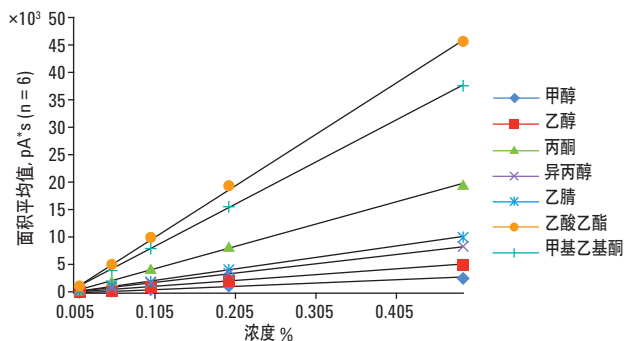


图 3. 安捷伦 7697 顶空进样器分析人工制备的 BAC 系列标样

表 4. 图 3 的数据

化合物	m	b	R ²
甲醇	26.061	4.0250	0.99999
乙醇	49.950	19.203	0.99998
丙酮	196.08	178.07	0.99963
异丙醇	83.103	71.332	0.99984
乙腈	101.05	48.276	0.99995
乙酸乙酯	456.69	524.77	0.99945
甲基乙基酮	373.91	451.77	0.99942

表 5 下方的数据为加入异丙醇为内标物后，乙醇分析的精密度结果。数据表明，在整个校准浓度范围内，任何分析物没有表现出特殊的变化趋势，也就是说，如果某一分析物（如乙醇）的峰面积发生变化，则内标物异丙醇也会发生相同程度的变化。

表 5. 人工制备系列标样中 BAC 分析的精密度

峰面积精密度 n = 6

浓度 %	甲醇	乙醇	丙酮	异丙醇	乙腈	乙酸乙酯	甲基乙基酮
0.005	1.4	1.1	0.54	0.53	0.57	1.8	0.85
0.01	3.3	3.4	1.1	2.2	1.7	1.3	0.89
0.05	1.1	0.93	0.45	0.60	0.53	0.90	0.52
0.1	1.1	0.98	0.46	0.66	0.58	0.89	0.50
0.2	2.4	1.9	0.46	1.1	0.77	0.83	0.54
0.5	1.8	1.8	0.78	1.6	1.2	1.1	0.72

EtOH/IPA

浓度 %	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	均值	标准偏差	RSD %
0.005	0.56	0.56	0.56	0.57	0.57	0.56	0.56	0.0035	0.62
0.01	0.55	0.55	0.56	0.57	0.56	0.56	0.56	0.0076	1.4
0.05	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.0019	0.34
0.1	0.58	0.58	0.58	0.58	0.59	0.58	0.58	0.0020	0.35
0.2	0.58	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.0051	0.87
0.5	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.0019	0.32

工作台制备 – DB-ALC2

在 35min 的平衡时间下，使用 7697 顶空进样器对 7696 工作台制备的系列标样按表 3 所示的条件参数进行分析。图 4 为校准曲线和线性回归结果，表 6 为在色谱柱 DB-ALC2 上分析的数据结果。图 4 中的数据是每个浓度 6 个样品瓶 6 次平行进样的平均值。线性回归数据表明，在整个校准范围内，所有化合物都获得了良好的线性结果。表 7 为使用 DB-ALC2 色谱柱，每个分析物，每个浓度峰面积的精密数据以及乙醇对内标物异丙醇的标准化结果。

表 6. 自动样品制备系列标样在 DB-ALC2 色谱柱上的线性回归结果

化合物	m	b	R ²
甲醇	22.545	-7.2643	0.99992
乙醇	41.948	-3.8325	0.99999
丙酮	172.10	-5.8540	0.99997
异丙醇	66.710	43.059	0.99964
乙腈	91.056	-11.408	0.99999
乙酸乙酯	365.62	-14.323	1.0000
甲基乙基酮	312.30	90.117	0.99991

表 7. 安捷伦 7696 工作台制备的 BAC 系列标样经 7697 顶空进样器分析，在 DB-ALC2 色谱柱上的精密度

峰面积精密度 n = 6								
浓度 %	甲醇	乙醇	丙酮	异丙醇	乙腈	乙酸乙酯	甲基乙基酮	
0.005	1.2	1.1	1.5	1.4	1.5	1.8	1.6	
0.01	0.52	0.76	0.84	0.70	0.59	1.8	1.1	
0.05	0.44	0.50	0.53	0.49	0.37	1.3	0.69	
0.1	0.62	0.59	0.58	0.59	0.59	1.0	0.66	
0.2	2.2	1.8	0.75	1.2	1.3	1.4	0.83	
0.5	0.65	0.56	0.60	0.62	0.48	1.1	0.75	

EtOH/IPA									
浓度 %	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	均值	标准偏差	RSD %
0.005	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.58	0.57	0.0024	0.43
0.01	0.57	0.58	0.58	0.57	0.58	0.58	0.58	0.0018	0.31
0.05	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.58	0.57	0.0014	0.25
0.1	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.0011	0.20
0.2	0.62	0.62	0.62	0.62	0.62	0.61	0.62	0.0048	0.77
0.5	0.63	0.62	0.63	0.62	0.63	0.63	0.63	0.0013	0.20

数据表明，不同浓度下的各化合物都获得了一致的精密度结果。表 7 下方的数据同样表明乙醇和异丙醇的峰面积具有相同的变化趋势。这些结果都表明，自动样品制备并未造成样品处理不当带来的浓度偏差。

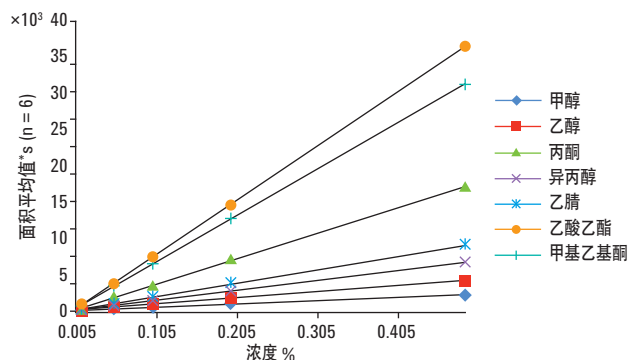


图 4. 安捷伦 7696 工作台制备的 BAC 系列标样经 7697 顶空进样器分析，在 DB-ALC2 色谱柱上的线性

工作台制备 – DB ALC1

图 5 为使用 7697 顶空进样器对 7696 工作台制备的系列标样按表 3 所示的条件参数在 DB-ALC1 色谱柱上进行分析的结果。因为色谱柱的自身问题，未能如图 1 所示将乙腈和丙酮色谱峰彻底分离，甲基乙基酮和乙酸乙酯的色谱峰也不能实现基线分离。校准曲线中的数据为每个浓度 6 个样品瓶 6 次平行进样的平均值。线性回归结果见表 8，同样表明，在整个浓度范围内每个化合物的响应均呈线性关系。表 9 为使用 DB-ALC1 色谱柱，每个分析物，每个浓度峰面积的精密数据以及乙醇对内标物异丙醇的标准化结果。

表 8. 自动样品制备系列标样在 DB-ALC1 色谱柱上的线性回归结果

化合物	m	b	R ²
甲醇	30.515	-13.550	0.99980
乙醇	52.707	-12.505	0.99996
异丙醇	86.119	-0.42683	1.00000
丙酮/乙腈	316.62	-27.949	1.00000
甲基乙基酮	442.02	-656.60	0.99807
乙酸乙酯	431.50	555.17	0.99813

表 9. 安捷伦 7696 工作台制备的 BAC 系列标样经 7697 顶空进样器分析，在 DB-ALC1 色谱柱上的精密度

峰面积精密度 n = 6									
浓度 %	甲醇	乙醇	异丙醇	丙酮/乙腈	甲基乙基酮	乙酸乙酯			
0.005	1.2	1.3	1.1	1.4	1.5	1.8			
0.01	0.40	0.72	0.73	0.72	1.0	1.8			
0.05	0.53	0.42	0.46	0.44	0.69	1.3			
0.1	0.52	0.55	0.55	0.53	0.64	1.1			
0.2	2.3	1.8	1.2	0.83	0.95	1.5			
0.5	0.52	0.54	0.59	0.54	1.0	0.96			
EtOH/IPA									
浓度 %	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	均值	标准偏差	RSD %
0.005	0.59	0.60	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.0024	0.41
0.01	0.60	0.59	0.59	0.59	0.59	0.60	0.60	0.0016	0.27
0.05	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.0015	0.26
0.1	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.0014	0.23
0.2	0.60	0.60	0.60	0.61	0.60	0.59	0.60	0.0047	0.78
0.5	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61	0.0013	0.20

如前面数据所示，表 9 表明每个化合物的精密度都在可接受的范围内。乙醇对异丙醇的标准化数据的精密度与 DB-ALC2 色谱柱和人工制备样品的结果一致。

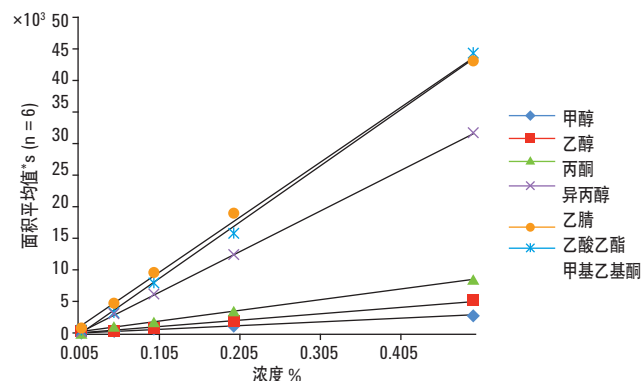


图 5. 安捷伦 7696 工作台制备的 BAC 系列标样经 7697 顶空进样器分析，在 DB-ALC1 色谱柱上的线性

总结

图 4 和图 5 的结果分别为同一个 GC 运行通过被动式 CFT 分流器，按表 3 所示的设计分流到两根色谱柱后得到的分析结果。双色谱柱设计获得了精准的数据，充分证明了使用安捷伦 7696 工作台制备系列标样在常规医药分析应用（如血醇分析）中的优越性。

总结上述数据，将 4 项主要指标汇总如表 10 所示。

表 10. 人工制备标样和 7696 工作台制备标样的结果比较汇总

EtOH 峰面积精密度	浓度 %						
	0.005	0.01	0.05	0.1	0.2	0.5	
人工制备 (DB-ALC2)	1.1	3.4	0.93	0.98	1.9	1.8	
自动制备 (DB-ALC2)	1.1	0.76	0.50	0.59	1.8	0.56	
自动制备 (DB-ALC1)	1.3	0.72	0.42	0.55	1.8	0.54	
IPA 峰面积精密度	浓度 %						
	0.005	0.01	0.05	0.1	0.2	0.5	
人工制备 (DB-ALC2)	0.53	2.2	0.6	0.66	1.1	1.6	
自动制备 (DB-ALC2)	1.42	0.70	0.49	0.59	1.2	0.62	
自动制备 (DB-ALC1)	1.1	0.73	0.46	0.55	1.2	0.59	
EtOH/IPA 精密度	浓度 %						
	0.005	0.01	0.05	0.1	0.2	0.5	
人工制备 (DB-ALC2)	0.62	1.4	0.34	0.35	0.87	0.32	
自动制备 (DB-ALC2)	0.43	0.31	0.25	0.20	0.77	0.20	
自动制备 (DB-ALC1)	0.41	0.27	0.26	0.23	0.78	0.20	
线性 (R ²)	甲醇	乙醇	丙酮	异丙醇	乙腈	乙酸乙酯	甲基乙基酮
人工制备 (DB-ALC2)	0.99999	0.99980	0.99963	0.99984	0.99995	0.99945	0.99942
自动制备 (DB-ALC2)	0.99992	0.99999	0.99997	0.99964	0.99999	1.00000	0.99991
自动制备 (DB-ALC1)	0.99980	0.99996	未分离	1.00000	未分离	0.99813	0.99807

表 10 中的数据表明，除了最低浓度点 0.005% 外，7696 自动化制备测定的乙醇和异丙醇的峰面积以及它们的峰面积比值比人工制备更准确，然而在 0.005% 下，7696 工作台自动化制备乙醇和异丙醇的精密度仍小于 1.5%。表 10 中的线性回归结果同样说明，线性结果不受样品制备方式或色谱柱配置方式的影响。

结论

1. 安捷伦工作台自动化制备标样的校准结果与人工制备的校准结果在 7697 顶空进样器上具有相同的线性
2. 工作台自动化制备标样和人工制备标样具有相同的峰面积精密密度
3. 可将工作台制备样品所用的 2mL 样品瓶放置在 20mL 的顶空瓶中使用 7697 顶空进样器进行分析
4. 将 2mL 样品瓶放置在 20mL 的顶空瓶中，会延长样品瓶的平衡时间或增加样品瓶摇动的必要性，以使其中的液体和顶空瓶中的顶空气间尽快达到热力学平衡。平衡时间和振摇强度取决于方法所用的顶空温度、玻璃样品瓶的性能和所分析的化学试剂及溶剂的性质

参考文献

1. W. Dale Snyder, “安捷伦 7696A 样品准备工作台：如何通过连续稀释自动制备样品序列，进行火焰离子化检测器性能评价”，安捷伦应用简报，出版号 5990-6850CHCN，2010

更多信息

有关我们产品和服务的更多信息，请访问
www.agilent.com/chem/cn。

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦科技公司对本资料中所包含的错误，以及由于使用本资料所引起的相关损失不承担责任。

本资料中的信息、说明和性能指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2011

2011年9月28日，中国印刷

5990-9025CHCN



Agilent Technologies