



Agilent 1290 Infinity II 多方法解决方案

使用自动化的色谱柱和溶剂选择阀在一台液相色谱系统上切换七种应用

应用简报

食品检测与农业

作者

Edgar Naegele
安捷伦科技有限公司

摘要

本应用简报介绍了 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱仪在食品分析中使用不同方法（不同固定相和流动相）的七种不同应用的自动化操作。色谱柱的切换由所用方法控制。所有色谱柱均位于同一个 Agilent 1290 Infinity II 大容量柱温箱中。根据该方法，将 Agilent 1290 Infinity II 全能泵连接至两个外部溶剂选择阀，用于自动切换溶剂。



Agilent Technologies

前言

一个典型的食品质量分析实验室会针对不同应用（例如真菌毒素、对羟基苯甲酸酯等）提供多种测定。这些应用通常是在同一台 UHPLC 仪器上测定，因此需要更换色谱柱和溶剂，使仪器适应要测定的应用。如果要手动进行这些调整，那么分析多种分析物将会十分耗时。如果应用的分析过程在下班之后结束，仪器需要等待几小时甚至几天时间才能进行手动调整和重启。这一难题可以通过配备多种色谱柱和多种溶剂的仪器来解决，例如 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱仪。这套系统可使用最多 8 根色谱柱和 26 种不同的溶剂，从而实现 1000 多种不同的分析条件。针对目标分析物优化过的预定义分析方法选择一种溶剂和色谱柱组合，使其能够在同一序列中根据不同分析自动切换分析条件。

本文所介绍的系统中包含来自 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱仪的两个高度复杂的模块 — Agilent 1290 Infinity II 大容量柱温箱 (MCT) 和 Agilent 1290 Infinity II Multisampler，它们可以将系统性能提升至最佳状态。

1290 Infinity II MCT 可在较宽的温度范围内进行精确的色谱柱恒温控制。通过具有最低死体积和最高效率的热交换器进行热交换，保证了出色的保留时间稳定性，可获得良好的保留时间重现性¹。

1290 Infinity II Multisampler 具有多种先进设计元素，例如样品容器、针头处理程序和减少交叉污染等，能够处理大量不同的样品和分析物类型，同时不会产生相互影响²。这可以保证多方法系统发挥最佳性能。

本文介绍了 1290 Infinity II 液相色谱仪在多方法分析中的应用，其中 1290 Infinity II MCT 配备 8 色谱柱选择阀，1290 Infinity II 全能泵与两个溶剂选择阀相连接。

实验部分

仪器

用于多方法分析的 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱解决方案包括：

- Agilent 1290 Infinity II 全能泵 (G7104A)
- Agilent 1290 Infinity II Multisampler (G7167B)

- Agilent 1290 Infinity II 大容量柱温箱 MCT (G7116B)，配备阀驱动 (G7116B#058)、Agilent Quick-Change 快速更换 8 色谱柱选择阀 (G4239C) 和毛细管工具包 (G4239C#005，部件号 5067-4248)。工具包包括用于安装最多 8 根色谱柱所需的所有 Agilent Quick-Connect 快速连接热交换器 (标准流量) 和毛细管
- Agilent 1290 Infinity II DAD (G7117B)
- 配备 Quick-Change 快速更换溶剂选择阀 (2 × G4235A) 的 Agilent 1290 Infinity 外部阀驱动 (2 × G1170A)

软件

Agilent OpenLAB A.02.02 CDS ChemStation, LC 和 LC/MS 系统版，修订版 C.01.07

仪器设置

所有应用中使用到的色谱柱如 ChemStation 的色谱柱列表所示 (图 1)。在 ChemStation 色谱柱列表中，可以通过单击 **Append** (添加) 插入新的一行，并向其中添加新的色谱柱。此外，还必须给出色谱柱的描述、几何数据、粒径以及 pH、压力和温度等限制。已安装的分析柱在表中以 YES 表示。

#	Installed	Description	Col. Serial#	Batch#	Product#	# Injections	Max. p [bar]	Max. T [°C]	Max. pH	Min. pH	Length	Diameter	Size	Void	Unit	Comment
1	YES	EclipsePlus-C8 2	autoID-12		959764-906	0	600	60.0	9.0	2.0	100.0	2.1	1.8	60.00	%	
2	YES	Poroshell 120EC-C	autoID-13		695975-302	0	600	60.0	9.0	2.0	100.0	3.0	2.7	60.00	%	
3	YES	SB-C18 2, 1x50mm	autoID-14		827700-902	0	600	60.0	9.0	2.0	50.0	2.1	1.8	60.00	%	
4	YES	Eclipse Plus C18 2	autoID-15		959758-902	0	600	60.0	9.0	2.0	50.0	2.1	1.8	60.00	%	
5	YES	SB-C8	autoID-16		828700-906	0	600	60.0	9.0	2.0	100.0	2.1	1.8	60.00	%	
6	YES	Extend-C18	autoID-17		728700-902	0	600	60.0	10.0	2.0	100.0	2.1	1.8	60.00	%	
7	YES	Eclipse Plus C18	autoID-18		959741-902	0	600	60.0	9.0	2.0	50.0	2.1	1.8	60.00	%	
8	no	Eclipse XDB-C18	autoID-6		827975-902	0	600	60.0	9.0	2.0	50.0	4.6	1.8	60.00	%	
9	no	SB-C18	autoID-7		827700-902	0	600	90.0	8.0	1.0	50.0	2.1	1.8	60.00	%	
10	no	SB-C18	autoID-8		827975-302	0	600	90.0	8.0	1.0	50.0	3.0	1.8	60.00	%	
11	no	SB-C18	autoID-9		827975-902	0	600	90.0	8.0	1.0	50.0	4.6	1.8	60.00	%	
12	no	Eclipse Plus C18	autoID-10		959941-902	0	600	60.0	9.0	2.0	50.0	4.6	1.8	60.00	%	
13	no	Eclipse XDB-C18	autoID-11		993967-902	0	400	60.0	9.0	2.0	150.0	4.6	5.0	60.00	%	

图 1. Agilent ChemStation 色谱柱列表列出了实验室中所有可用色谱柱的概览

该色谱柱列表直接与 1290 Infinity II MCT 中的 Column Assignment (色谱柱分配) 相关联 (图 2)。在色谱柱分配中, 可以选择位置在左侧或右侧的色谱柱, 并为其关联一个颜色代码。可以在 Column Tag Information (色谱柱标签信息) 下选择色谱柱列表中的色谱柱数据, 并将其与色谱柱位置和颜色代码相关联。

可以在 1290 Infinity II MCT 的 Method (方法) 界面上选择每种方法使用的色谱柱 (图 3)。合适的色谱柱可在显示所有已分配色谱柱的下拉菜单中选择, 也可直接在 1290 Infinity II MCT 的图像中点击对应颜色代码的色谱柱。屏幕会显示阀的当前位置, 然后自动关联至所选色谱柱。阀的位置、所选色谱柱的颜色代码以及产品编号会显示在 ChemStation 用户界面中, 以便快速查看 (图 4)。

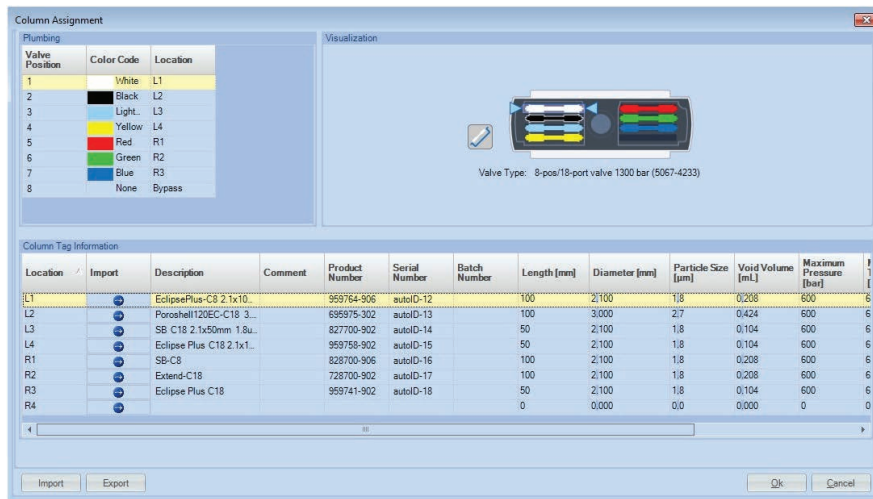


图 2. Agilent 1290 Infinity II MCT 中的色谱柱分配。MCT 中为每根色谱柱都分配了一个明确位置

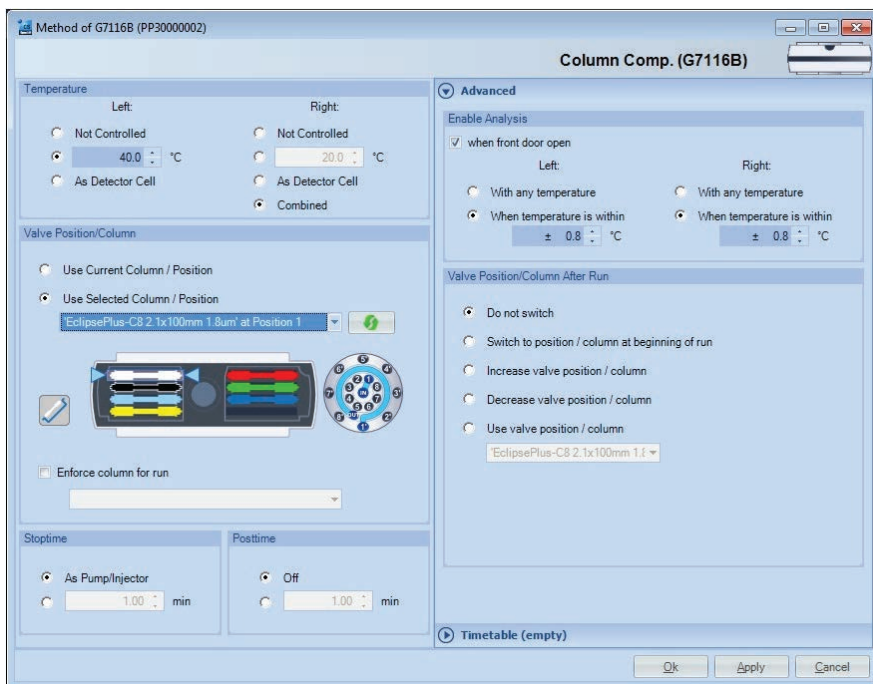


图 3. Agilent 1290 Infinity II MCT Method (方法) 界面中的色谱柱选择

溶剂分配方式与此类似。在仪器配置中将溶剂选择阀分配至泵通道（图中未显示）。在 Pump Valve Cluster Configuration（泵阀簇配置）界面中，溶剂选择阀会使用所关联的溶剂命名（图 5）。压缩系数校准可通过在下拉菜单中选取正确的溶剂或溶剂类型进行选择。可添加摩尔浓度和 pH 值。在 Method of Pump Valve Cluster（泵阀簇方法）界面中为通道 A 和通道 B 选择正确的溶剂，阀会自动切换至正确位置（图 6）。ChemStation 泵的用户界面中会显示可用的多种溶剂（图 4）。

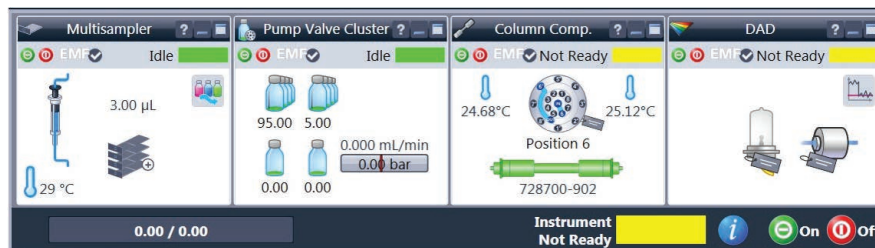


图 4. Agilent ChemStation 的仪器用户界面，当前色谱柱被突出显示

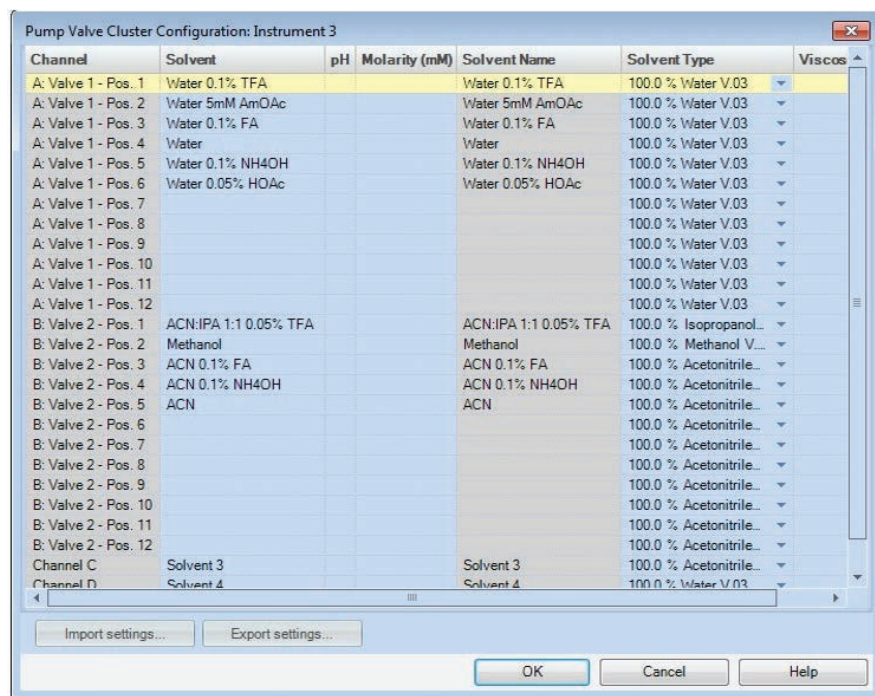


图 5. Pump Valve Cluster Configuration（泵阀簇配置）界面

方法

分析每种化合物所用的详细方法在“结果与讨论”部分进行介绍。每组分析物的主要分析条件见表 1。

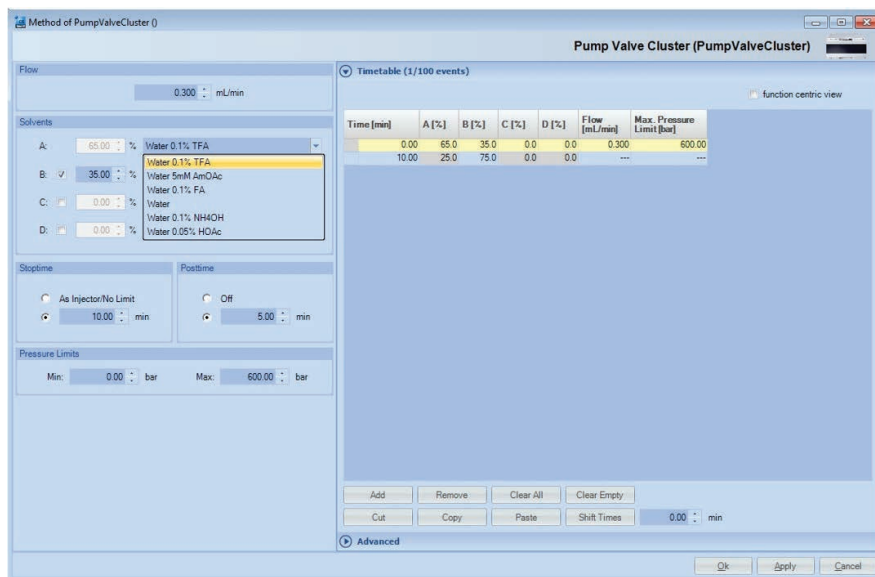


图 6. Method of Pump Valve Cluster (泵阀簇方法) 界面

表 1. 每组分析物的主要分析条件汇总

化合物	色谱柱	流动相 A	流动相 B	温度
防腐剂 苯甲酸 水杨酸 柠檬酸	Agilent ZORBAX RRHD Eclipse C8, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm (部件号 959764-906)	水 + 0.05% TFA pH 2.1	乙腈:异丙醇 (1:1) + 0.05% TFA	40 °C
苯甲酸酯类 对羟基苯甲酸甲酯 对羟基苯甲酸乙酯 对羟基苯甲酸丙酯 对羟基苯甲酸丁酯	Agilent Poroshell 120 C18, 3.0 × 100 mm, 1.8 μm (部件号 695975-302)	水 + 5 mM NH ₄ OAc pH 6.73	甲醇	45 °C
抗寄生虫药物 孔雀石绿	Agilent ZORBAX RRHD SB C18, 2.1 × 50 mm, 1.8 μm (部件号 827700-902)	水 + 0.1% 甲酸 pH 2.7	乙腈 + 0.1% 甲酸	40 °C
色素添加剂 苏丹红 I 苏丹红 II 苏丹红 III 苏丹红 IV	Agilent ZORBAX RRHD Eclipse plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm (部件号 959758-902)	水 + 0.1% 甲酸 pH 2.7	乙腈 + 0.1% 甲酸	30 °C
抗菌药 氯霉素	Agilent ZORBAX RRHD SB C8, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm (部件号 828700-906)	水	甲醇	30 °C
真菌毒素 棒曲霉素	Agilent ZORBAX RRHD Extend C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm (部件号 728700-902)	水 + 0.1% NH ₄ OH pH 10.3	乙腈 + 0.1% NH ₄ OH	40 °C
抗氧化剂 PG TBHQ BHA BHT	Agilent ZORBAX RRHD Eclipse C18, 2.1 × 50 mm, 1.8 μm (部件号 959741-902)	水 + 0.05% 乙酸 pH 3.43	乙腈	40 °C

在样品序列中更换方法（包括更换色谱柱和溶剂）之后，需要用新的溶剂对系统进行冲洗，并在该方法的起始条件下对色谱柱进行平衡。

生成溶剂更换方法

可通过采用目标应用的分析方法更换溶剂。溶剂组成设置为 50:50，色谱柱选择阀切换至旁路位置（位置 8 上安装的是毛细管而非色谱柱）。在这些条件下，让溶剂以 5 mL/min 的速度等度通过该系统，运行 4 分钟，不进样。创建的方法可以单独存储并在序列中使用。

生成色谱柱平衡方法

平衡色谱柱时，需按照起始溶剂组成在等度条件下运行分析方法，不进样。运行时间与样品运行之间重新平衡时使用的运行时间相同。创建的方法可以单独存储并在序列中使用。

化学品

所有化学品均购自德国 Sigma-Aldrich 公司。所有溶剂均购自德国 Merck 公司。新制超纯水产自配置 LC-Pak Polisher 和 0.22 μm 膜式终端过滤器 (Millipak) 的 Milli-Q Integral 水纯化系统。

结果与讨论

通过使用此方法更换色谱柱和溶剂，可以在单个序列中进行以下分析。每次更换溶剂后，必须运行溶剂清洗方法。此外，在更换色谱柱之后，必须使用以下起始条件和对应方法平衡所选色谱柱。

防腐剂分析

防腐剂用于防止食品和饮料中真菌和细菌的生长。常用化合物有苯甲酸钠 (E211)、水杨酸和山梨酸 (E200)。

以下分别为防腐剂、苯甲酸酯类、抗寄生虫药物、色素添加剂、抗菌药物、真菌毒素和抗氧化剂的分析方法和结果（图 7-13）。上述化合物可能存在于食品和饮料中。

参数	值
测试样品	山梨酸、苯甲酸、水杨酸各 30 mg 溶于 100 mL 甲醇中，稀释比为 1:10
梯度	10 min 内 B 从 5% 升至 50%
停止时间	10 min
后运行时间	5 min
流速	0.4 mL/min
进样量	1 μL
清洗	使用甲醇清洗 6 s
柱温	45 °C
DAD	205/4 nm, 参比 360/100 nm, 数据采集速率 10 Hz, 光程 10 mm, 狭缝宽度 8 nm

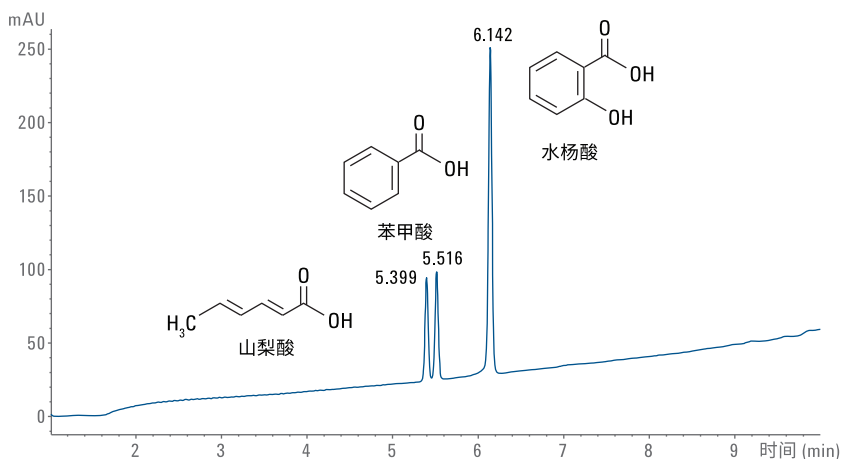


图 7. 食品防腐剂山梨酸、苯甲酸和水杨酸的分离

苯甲酸酯类

苯甲酸酯类通常用作化妆品和药物中的防腐剂。应用较广的苯甲酸酯类有对羟基苯甲酸甲酯 (E218)、对羟基苯甲酸乙酯 (E214)、对羟基苯甲酸丙酯 (E216) 和对羟基苯甲酸丁酯。

参数	值
测试样品	对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯和对羟基苯甲酸丁酯各 10 mg 溶于 100 mL 乙腈中，用乙腈稀释至 1:10
梯度	10 min 内 B 从 40% 升至 55%
停止时间	10 min
后运行时间	5 min
流速	0.5 mL/min
进样量	1 μ L
清洗	使用甲醇清洗 6 s
柱温	45 $^{\circ}$ C
DAD	254/4 nm, 参比 360/100 nm, 数据采集速率 10 Hz, 光程 10 mm, 狭缝宽度 8 nm

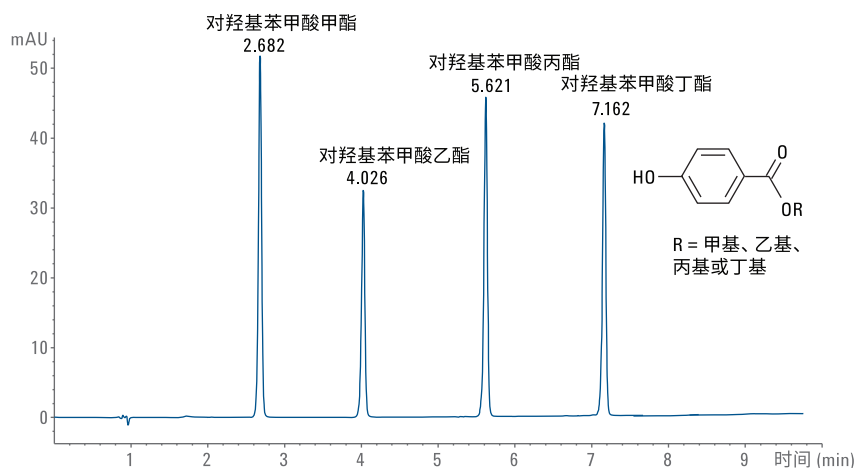


图 8. 广泛应用于化妆品和药物中的防腐剂（对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯和对羟基苯甲酸丁酯）的分离

抗寄生虫药物

孔雀石绿是一种常见抗菌或抗寄生虫药物，用于对抗真菌和细菌感染，在鱼和鱼卵中尤为常见。出于健康方面的考虑，禁止在食用鱼类养殖中使用。

参数	值
测试样品	2 mg 孔雀石绿溶于 10 mL 甲醇中，用甲醇按照 1:10 的比例稀释
梯度	5 min 内 B 从 5% 升至 95%，然后在 95% 的浓度下保持 2 min
停止时间	7 min
后运行时间	3 min
流速	0.5 mL/min
进样量	1 μ L
清洗	使用甲醇清洗 6 s
柱温	40 $^{\circ}$ C
DAD	550 nm/10 nm, 参比波长关闭, 数据采集速率 20 Hz, 光程 10 mm, 狭缝宽度 8 nm

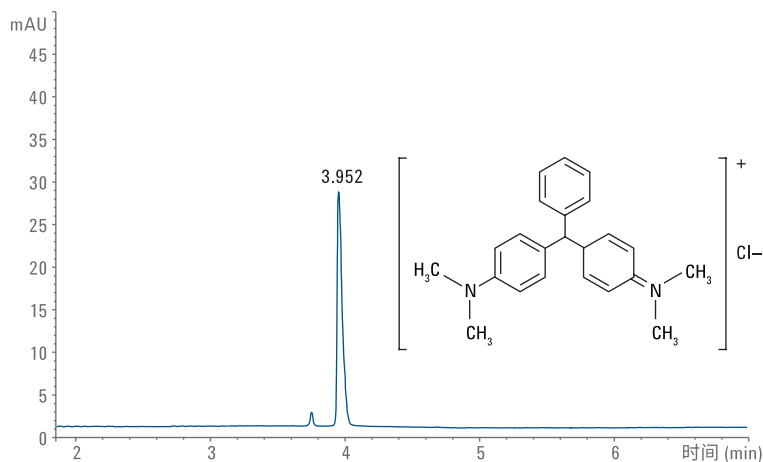


图 9. 禁止用于食用鱼类养殖的抗寄生虫药物孔雀石绿的测定

色素添加剂

苏丹红色素属于偶氮染料，之前曾用于食品着色，如辣椒、咖喱和辣椒粉等。但是，这些苏丹红色素现在已禁止用作食品着色剂。特别是苏丹红 I、苏丹红 II 和苏丹红 IV，这三种色素已被国际癌症研究署归类为致癌物质。

参数	值
测试样品	苏丹红 I、苏丹红 II、苏丹红 III 和 苏丹红 IV 各 2 mg，溶于 20 mL 甲醇中，用甲醇按照 1:10 的比例稀释
梯度	10 min 内 B 从 80% 升至 95%
停止时间	10 min
后运行时间	5 min
流速	0.4 mL/min
进样量	1 μ L
清洗	使用甲醇清洗 6 s
柱温	30 $^{\circ}$ C
DAD	500 nm/10 nm，参比波长关闭，数据采集速率 10 Hz，光程 10 mm，狭缝宽度 8 nm

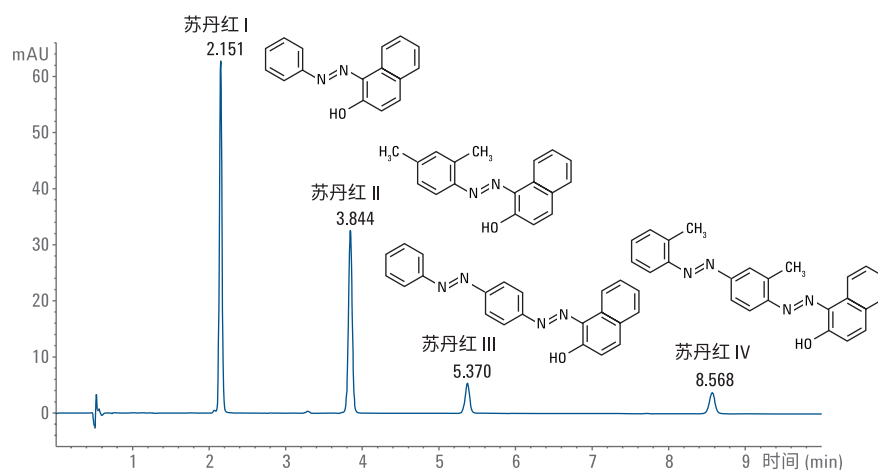


图 10. 苏丹红 I、II、III 和 IV 的分离，苏丹红 I、II、III 和 IV 曾用作辣椒粉和辣椒等香料的色素添加剂，但现已被禁用

抗微生物药物

氯霉素是一种抗菌和抗微生物药物。由于其具有广谱抗菌作用，常被用于保护牲畜，可能在食品中检出。

参数	值
测试样品	2 mg 氯霉素溶于 20 mL 甲醇中，用甲醇按照 1:10 的比例稀释
梯度	10 min 内 B 从 10% 升至 90%
停止时间	10 min
后运行时间	5 min
流速	0.3 mL/min
进样量	1 μ L
清洗	使用甲醇清洗 6 s
柱温	45 $^{\circ}$ C
DAD	254/4 nm，参比 360/100 nm，数据采集速率 10 Hz，光程 10 mm，狭缝宽度 8 nm

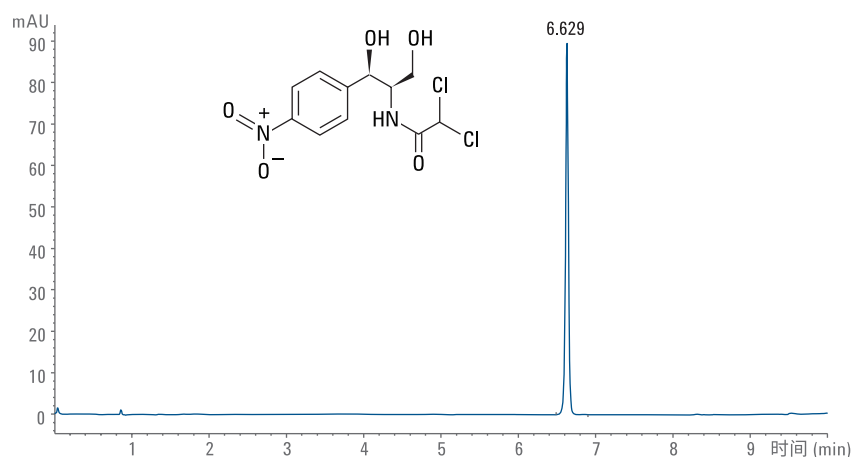


图 11. 广谱抗生素氯霉素的测定

真菌毒素

在腐烂的苹果中发现了疑似有遗传毒性的真菌毒素棒曲霉素。因此，必须对苹果产品进行这种真菌毒素的分析。世界卫生组织建议在苹果汁等产品中将该毒素的浓度限制在 50 ng/L 以下。

参数	值
测试样品	5 mg 棒曲霉素溶于 10 mL 乙腈中，用乙腈按照 1:20 的比例稀释
梯度	B 在 5% 的浓度下保持 3 min，然后在 3 min 时浓度升至 90%
停止时间	6 min
后运行时间	3 min
流速	0.5 mL/min
进样量	1 μ L
清洗	使用甲醇清洗 6 s
柱温	30 $^{\circ}$ C
DAD	276/4 nm，参比 360/100 nm，数据采集速率 10 Hz，光程 10 mm，狭缝宽度 8 nm

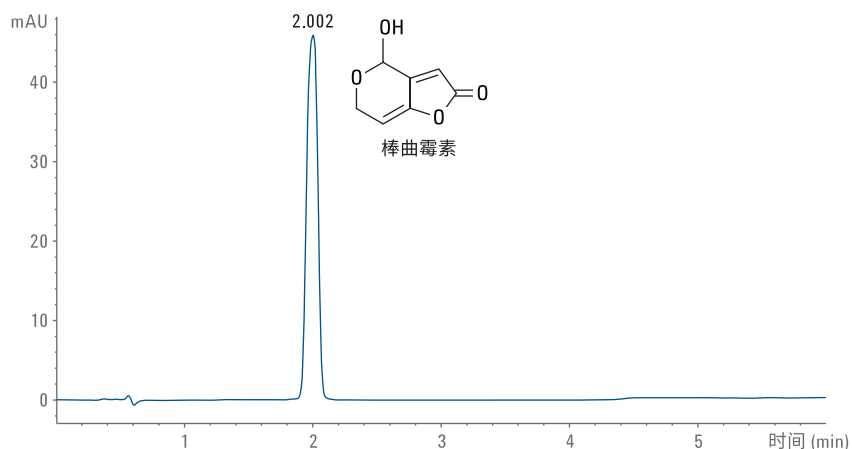


图 12. 真菌毒素棒曲霉素的测定

抗氧化剂

丁基羟基苯甲醚 (BHA, E320) 和丁羟甲苯 (BHT) 等抗氧化剂主要用作食品添加剂。它们可以起到清除剂的作用，防止自由基反应。没食子酸丙酯 (PG, E310) 用作油性和脂肪性食品中的添加剂，以减少氧化。对于不饱和植物油，叔丁基对苯二酚 (TBHQ, E319) 是非常有效的抗氧化剂，可以延长储存时间。

参数	值
测试样品	PG、BHT、BHA、TBHQ 各 10 mg，溶于 100 mL 乙腈中
梯度	10 min 内 B 从 10% 升至 95%
停止时间	10 min
后运行时间	5 min
流速	0.5 mL/min
进样量	1 μ L
清洗	使用甲醇清洗 6 s
柱温	40 $^{\circ}$ C
DAD	240/4 nm，参比 360/100 nm，数据采集速率 10 Hz，光程 10 mm，狭缝宽度 8 nm

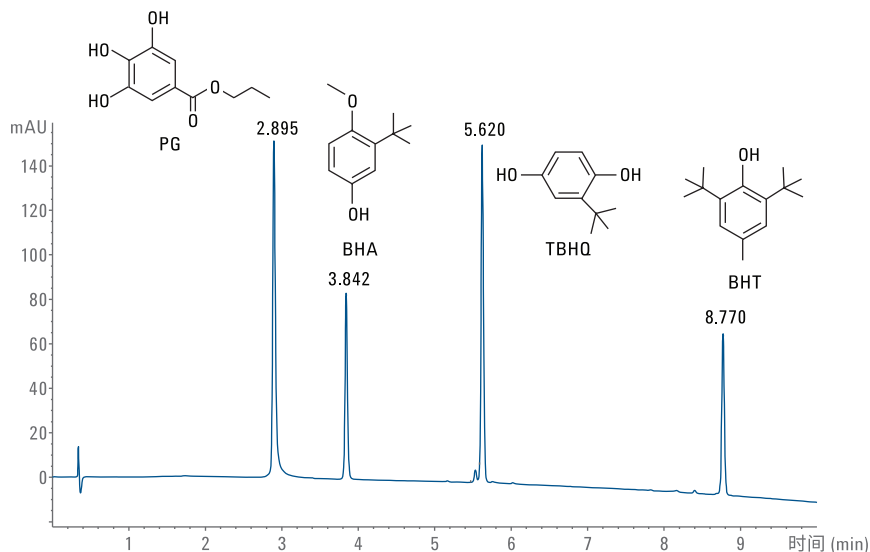


图 13. 在食品和化妆品中用作抗氧化剂的 PG、BHT、BHA 和 TBHQ 的分离

结论

本应用简报演示了 Agilent 1290 Infinity II 多方法解决方案根据需要（如食品分析实验室）在一个系统上支持多种液相色谱方法（多方法分析）的能力。该配置配备了 Agilent 1290 Infinity II 大容量柱温箱，可使用最多 8 根不同的色谱柱。此外，通过将两个溶剂选择阀与 Agilent 1290 Infinity II 全能泵相连接，该配置最多可运行 26 种不同溶剂作为流动相。因此，可以创建超过 1000 种不同分离方法。通过自动切换色谱柱和溶剂，可以在一个序列中自动运行所有液相色谱方法。Agilent 1290 Infinity II Multisampler 可处理大量样品。

参考文献

1. Anon. Performance Characteristics of the Agilent 1290 Infinity II Multicolumn Thermostat (Agilent 1290 Infinity II 大容量柱温箱的性能特点)；技术概述，安捷伦科技有限公司，出版号 5991-5533EN，**2015**
2. Anon. Performance Characteristics of the Agilent 1290 Infinity II Multisampler (Agilent 1290 Infinity II Multisampler 的性能特点)；技术概述，安捷伦科技有限公司，出版号 5991-5348EN，**2014**

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2015

2015年4月1日，中国出版

5991-5679CHCN



Agilent Technologies