

使用 LC/MS 检测与亲水相互作用色谱 (HILIC) 快速分离百草枯和敌草快

作者

Andrew Kennedy 和
Adam Bivens
安捷伦科技公司

摘要

本应用简报介绍了使用新一代 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 化学键合相与亲水相互作用色谱 (HILIC) 对特别难分离的百草枯和敌草快化合物对进行分离。百草枯和敌草快上存在的两个季铵基团使这些化合物具有强极性；因此难以在反相色谱上保留或分离。以前通常使用离子对试剂来诱导这些化合物的保留。然而这种技术面临诸多局限性，例如系统污染、高背景和信号抑制，使用 HILIC 色谱柱时则无需考虑这些问题。

前言

反相色谱使用非极性固定相，这种固定相会妨碍许多极性农药的保留和分离。

离子对是保留和分离极性化合物更传统的技术。而这种技术有两项主要的缺点：

- 离子对试剂在使用后的很长时间内都会对 LC/MS 系统造成污染，导致高背景和色谱柱选择性发生变化
- 分析离子对试剂的运行模式会产生显著的背景与分析信号抑制；因此质谱分析仅限于单离子模式

相反，HILIC 技术能够保留并分离极性化合物而不会产生由离子对技术引起的问题，同时也可以采用与反相色谱相同的系统和溶剂。

百草枯和敌草快上的强正电荷使其难以通过 HILIC 得到分析，因为与表面硅醇基的任何相互作用都会导致很多色谱柱上的严重拖尾和保留时间过长。新一代 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 突破了这一限制，采用新型两性离子相，能够获得出色的峰形。

实验部分

试剂与化学品

所有试剂均为 HPLC 级或更高等级。超 LC/MS 级乙腈购自 J.T Baker (Center Valley, PA, U.S.A.)。水经由 EMD Millipore Milli-Q Integral 系统 (Darmstadt, Germany) 纯化。试剂级甲酸 (FA, 部件号 G2453-85060) 来自安捷伦科技公司。甲酰胺、百草枯标准品和敌草快标准品购自 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)。

仪器和材料

- Agilent InfinityLab 接头
 - **色谱柱入口：**Agilent Quick Connect 快速连接接头 (部件号 5067-5965)
 - **色谱柱出口：**Agilent Quick Turn 接头 (部件号 5067-5966)
- 安捷伦样品瓶，螺口，棕色，带书写签，经认证，2 mL，100/包 (部件号 5182-0716)
- 安捷伦固定螺口盖，带 PTFE/红色硅胶隔垫 (部件号 5190-7024)
- 安捷伦样品瓶内插管，250 μ L，去活玻璃，带聚合物支脚 (部件号 5181-8872)
- Eppendorf 移液器和连续分液器
- 超速离心仪 (VWR, Radnor, PA, USA)
- 涡旋器和多管涡旋器 (VWR, Radnor, PA, USA)
- Agilent InfinityLab 溶剂瓶，棕色，1000 mL (部件号 9301-6526)
- Agilent InfinityLab Stay Safe 溶剂瓶安全盖，GL45，3 口，1 个放空阀 (部件号 5043-1219)

仪器

- Agilent 1290 Infinity II 二元泵 (G7120A)
- Agilent 1290 Infinity II 样品瓶进样器 (G7129B)
- Agilent 1290 Infinity II 高容量柱温箱 (G7116B)
- 用于 Agilent 1290 Infinity 液相色谱系列的安捷伦超低扩散工具包 (部件号 5067-5189)
- Agilent MassHunter 工作站软件
- Agilent 6470 三重四极杆液质联用系统
- 安捷伦喷射流电喷雾离子源

样品前处理

将百草枯和敌草快标准品与水混合至 0.25 mM，无需进一步样品前处理即可直接分析。

流动相前处理

用水配制 200 mM 甲酰胺储备液，并用甲酸将 pH 调节至 3。将水与储备液按 9:1 稀释制得流动相 A (水相)，将乙腈与储备液按 9:1 稀释制得流动相 B (两流动相的最终离子强度均为 = 20 mM)。

仪器条件

HPLC 条件													
色谱柱	Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z, 2.1 × 100 mm, 2.7 μm (部件号 685775-924)												
流动相 A	20 mM 甲酸铵水溶液, pH = 3												
流动相 B	20 mM 甲酸铵, pH = 3, 溶于 90% 乙腈溶液												
流速	0.80 mL/min												
柱温	30 °C												
进样量	0.25 μL												
总运行时间	8 分钟												
梯度	<table> <tr> <th>时间 (min)</th><th>%B</th></tr> <tr> <td>0</td><td>80</td></tr> <tr> <td>1</td><td>80</td></tr> <tr> <td>5</td><td>73</td></tr> <tr> <td>6</td><td>80</td></tr> <tr> <td>8</td><td>80</td></tr> </table>	时间 (min)	%B	0	80	1	80	5	73	6	80	8	80
时间 (min)	%B												
0	80												
1	80												
5	73												
6	80												
8	80												
质谱条件													
电离模式	ESI 正离子模式												
干燥气温度	300 °C												
气体流速	7.0 L/min												
雾化器	45 psi												
鞘气温度	400 °C												
鞘气流速	11 L/min												
毛细管电压	3500 V												
喷嘴电压	0 V												

结果

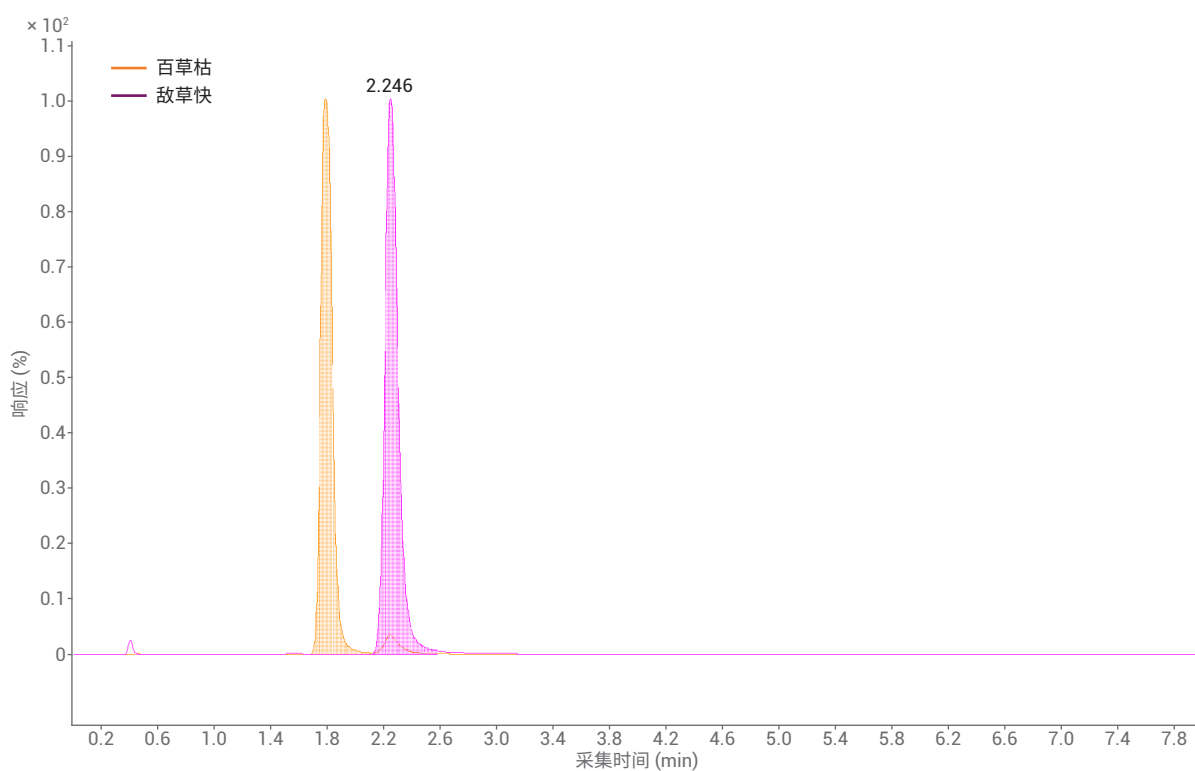


图 1. 百草枯和敌草快在配备 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 色谱柱的 Agilent 6470 三重四极杆液质联用系统中的分离

结论

Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 柱成功分离了难分离的百草枯-敌草快化合物对，所用条件与溶剂不会引起离子抑制或污染，提供了一种兼容质谱的工作流程。

峰能够实现基线分离，拖尾极小，表明了电中性表面的重要性以及 InfinityLab Poroshell HILIC-Z 色谱柱的优异分离性能。

与传统的离子对方法相比，配备 InfinityLab Poroshell HILIC-Z 柱的 HILIC 工作流程可获得高质量的极性化合物色谱图，而不存在系统污染或质谱可用性的限制。

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。