

使用 Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl 色谱柱分析口罩中的荧光增白剂

作者

Rongjie Fu
安捷伦科技（上海）有限公司
Xia Wu
安捷伦科技（中国）有限公司

摘要

使用 Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl (4.6 × 150 mm, 4 μm) 色谱柱，采用梯度 HPLC 法和 FLD 检测，对 9 种荧光增白剂化合物进行了分析。将该方法与使用 Agilent ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl 全多孔颗粒色谱柱的方法进行了比较，并将该方法扩展用于小粒径短色谱柱 (Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl, 3.0 × 100 mm, 1.9 μm)。分析的所有荧光增白剂化合物在所有色谱柱上均得到良好分离。

前言

荧光增白剂（FBAs 或 OBAs）是一种无色或浅色的有机化合物。它们设计用于塑料、清漆、油漆、油墨、光加工溶液和纤维，能够增亮颜色或掩盖泛黄。在食品和化妆品等消费品中禁止添加荧光增白剂，但可以将其添加到用于生产口罩的纺织品中。中国法规^[1] 禁止在儿童口罩中使用这些化合物，并要求证明产品不含流动性荧光增白剂。

在本应用简报中，使用 Agilent ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl (4.6 × 250 mm, 5 µm) 色谱柱和 Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl (4.6 × 150 mm, 4 µm) 色谱柱，采用 LC/FLD 梯度法^[2] 对 9 种荧光增白剂进行了分析。然后将该方法扩展用于 UHPLC 色谱柱（Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl (3.0 × 100 mm, 1.9 µm)）。

实验部分

试剂与化学品

所有试剂均为 HPLC 级或更高等级。HPLC 级甲醇和乙腈购自 Merk (Billerica, MA, USA)。水经由 ELGA PURELAB Chorus 系统 (High Wycombe, UK) 纯化。乙酸铵购自 Sigma-Aldrich。标准品购自安谱实验科技公司（中国上海）。将荧光增白剂化合物溶于乙腈中制得混标溶液。各化合物的浓度如表 1 所示。

设备与材料

- 色谱柱进样口：Agilent InfinityLab Quick Connect 快速连接液相色谱接头（部件号 5067-5965）
- 色谱柱出口：Agilent InfinityLab Quick Turn 液相色谱接头（部件号 5067-5966）
- 安捷伦样品瓶，螺口，棕色，带书写签，经认证，2 mL（部件号 5182-0716）
- 安捷伦固定螺口盖，蓝色，带 PTFE/红色硅胶隔垫（部件号 5190-7024）
- Agilent InfinityLab 溶剂瓶，棕色，1 L（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）
- Agilent Captiva 经济型过滤器，PTFE 膜，直径 13 mm，孔径 0.2 µm（部件号 5190-5265）

仪器

配备超低扩散工具包 (5067-5189) 的 Agilent 1290 Infinity II 高速配置液相色谱系统，由以下模块组成：

- Agilent 1290 Infinity II 高速泵 (G7120A)
- Agilent 1290 Infinity II Multisampler (G7167B)
- Agilent 1290 Infinity II 高容量柱温箱 (G7116B)
- Agilent 1260 Infinity II FLD 光谱 (G1321B)

Agilent 1290 Infinity II 灵活配置液相色谱系统，由以下模块组成：

- Agilent 1290 Infinity II 全能泵 (G7104A)
- Agilent 1290 Infinity II Multisampler (G7167B)
- Agilent 1290 Infinity II 高容量柱温箱 (G7116B)
- Agilent 1260 Infinity II FLD (G7121A)

表 1. 本应用简报中分析的荧光增白剂标准化合物

编号 (洗脱顺序)	名称	CAS	浓度 (µg/mL)
1	荧光增白剂 220	16470-24-9	5.24
2	荧光增白剂 85	12224-06-5	0.912
3	荧光增白剂 113	12768-92-2	5.12
4	荧光增白剂 351	38775-22-3	0.332
5	荧光增白剂 71	16090-02-1	0.945
6	荧光增白剂 162	3271-05-4	0.937
7	荧光增白剂 140	61968-71-6	0.995
8	荧光增白剂 135	1041-00-5	0.0968
9	荧光增白剂 199	13001-40-6	0.931

表 2. 液相色谱条件

色谱柱	流动相组成	优化梯度	流速 (mL/min)	进样量 (μL)	柱温箱 (°C)	FLD
Agilent ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl, 4.6 × 250 mm, 5 μm	A) 20 mmol/L 乙酸铵水溶液 B) 乙腈:甲醇 (4:1)	时间 (min) A% B% 0 95 5 1 95 5 5 70 30 15 50 50 16.7 10 90 21.7 20 90 21.8 95 5 26.7 90 5	1.0	8	25	激发波长 365 nm, 发射波长 430 nm, 4.63 Hz
Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl, 4.6 × 150 mm, 4 μm		时间 (min) A% B% 0 95 5 0.6 95 5 3 70 30 9 50 50 10 10 90 13 10 90 13.1 95 5 16 95 5	1.0	5	25	激发波长 365 nm, 发射波长 430 nm, 4.63 Hz
Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl, 3.0 × 100 mm, 1.9 μm		时间 (min) A% B% 0 95 5 0.2 95 5 1 70 30 3 50 50 4 10 90 5 10 90 5.01 95 5 6.0 95 5	0.8	1.4	25	激发波长 365 nm, 发射波长 430 nm, 74 Hz

结果与讨论

基于 Agilent ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl, 4.6 × 250 mm, 5 μm 色谱柱开发的方法结果表明，所有荧光增白剂均实现基线分离。为提高效率、减少溶剂消耗并缩短运行时间，将该方法转移到具有相同固定相的表面多孔颗粒填料 (SPP) 色谱柱，如图 1 所示。较短的 150 mm InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl 色谱柱实现了与 250 mm ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl 色谱柱几乎相同的分离度，同时将分析时间缩短了 40%。之所以能够节省时间，是因为 4 μm 表面多孔颗粒填料色谱柱可提供两倍于 5 μm 全多孔颗粒 (TPP) 色谱柱的柱效。较高的分离度还有不同的利用方式：4 μm SPP 色谱

柱可以替代 5 μm TPP 色谱柱，在关键峰对未充分分离等情况下提高现有方法的效率和分离度。在这种情况下，无需更改现有方法或色谱柱尺寸。

我们还将该方法扩展用于小粒径 SPP 色谱柱 (Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl, 3.0 × 100 mm, 1.9 μm)。与 InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl, 4.6 × 150 mm, 4 μm 色谱柱相比，使用 InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl, 3.0 × 100 mm, 1.9 μm 色谱柱节省了 56% 的分析时间。由于该色谱柱的柱长与粒径之比更大，分离度也得到了提高 (图 2)。

1.9 μm 表面多孔颗粒填料色谱柱的柱效比 1.8 表面多孔颗粒填料色谱柱的柱效高 20%。然而，仪器应配置小体积的毛细管和流通池，以确保充分发挥分离能力^[3]。

如图 3 所示，通过 InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl, 4.6 × 150 mm, 4 μm 色谱柱，采用改进的梯度法进行 6 次重复进样得到的叠加色谱图表现出良好的重现性。实际样品的前处理步骤如下：称取 1.0 g 剪碎的口罩小块 (5 × 5 mm)，置于装有 20 mL 70% DMF 的 50 mL 容量瓶中；在 50 °C 下使用超声仪萃取 40 分钟。冷却后，取上层液体，并使用 Agilent Captiva 经济型过滤器 PTFE 膜将其滤至样品瓶中，并通过 HPLC 进行分析 (图 4)。在样品中未检测到目标化合物。

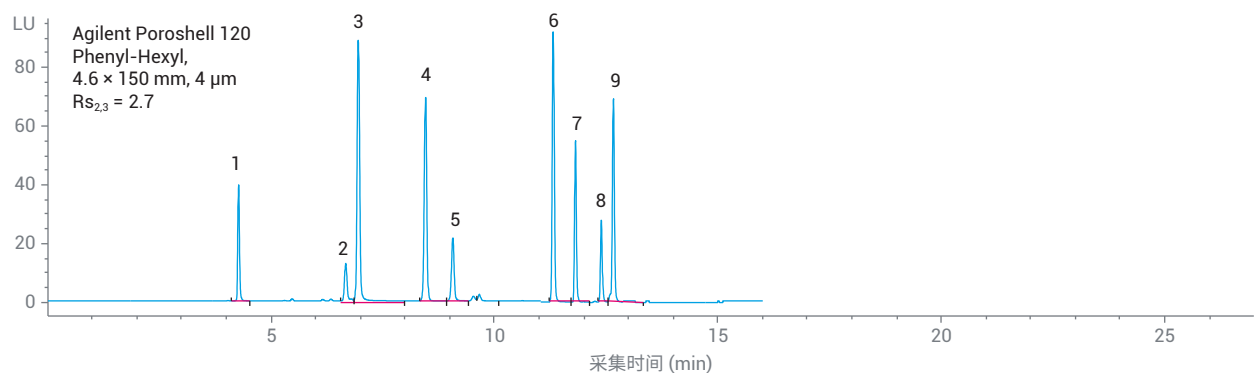
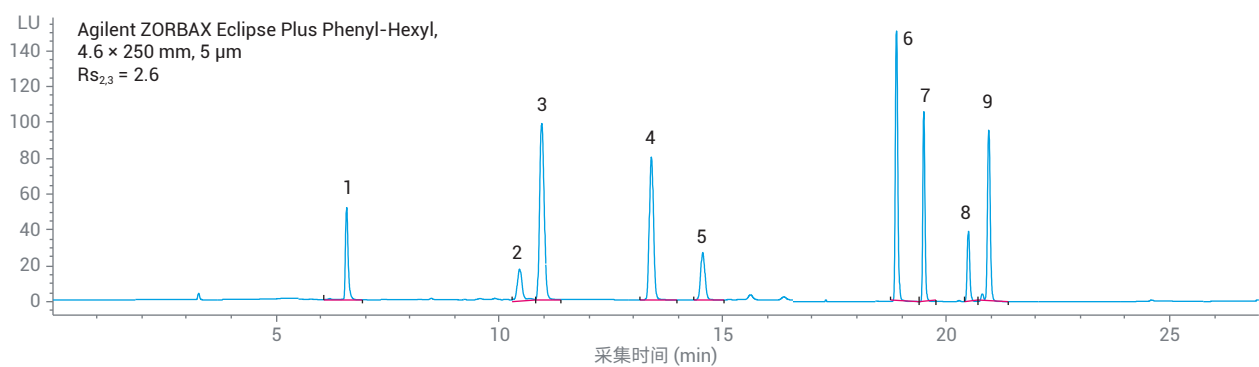


图 1. 使用 Agilent ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl, 4.6 × 250 mm, 5 μm 色谱柱与 Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl, 4.6 × 150 mm, 4 μm 色谱柱获得的标准品色谱图比较

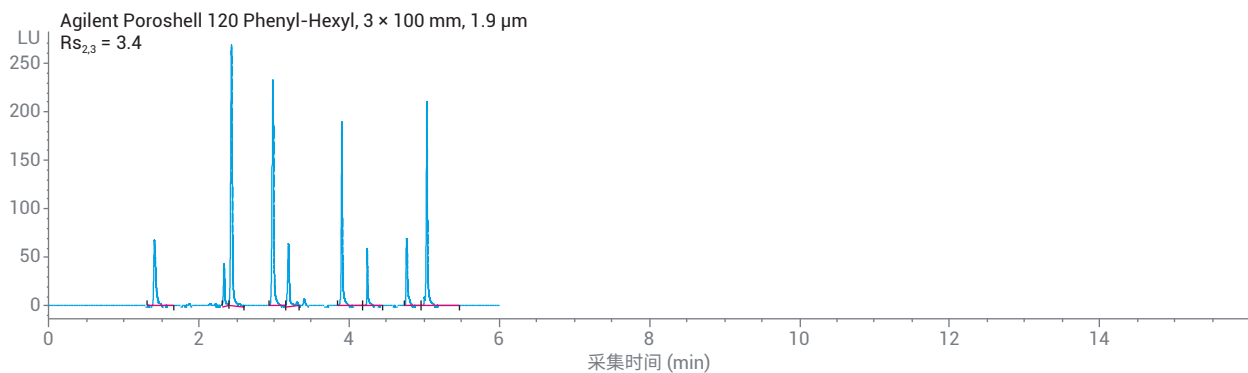
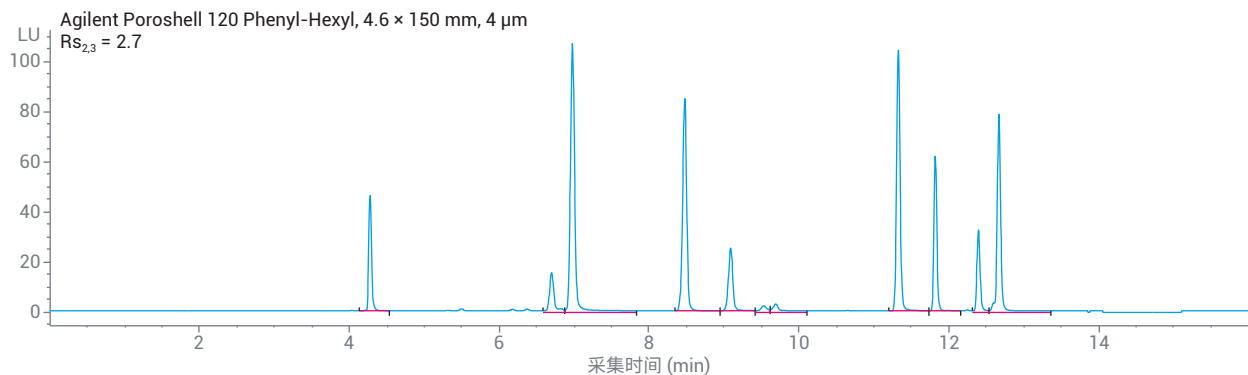


图 2. 使用由 Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl, 4.6 × 150 mm, 4 μm 色谱柱转换至 Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl, 3.0 × 100 mm, 1.9 μm 色谱柱的方法获得的色谱图

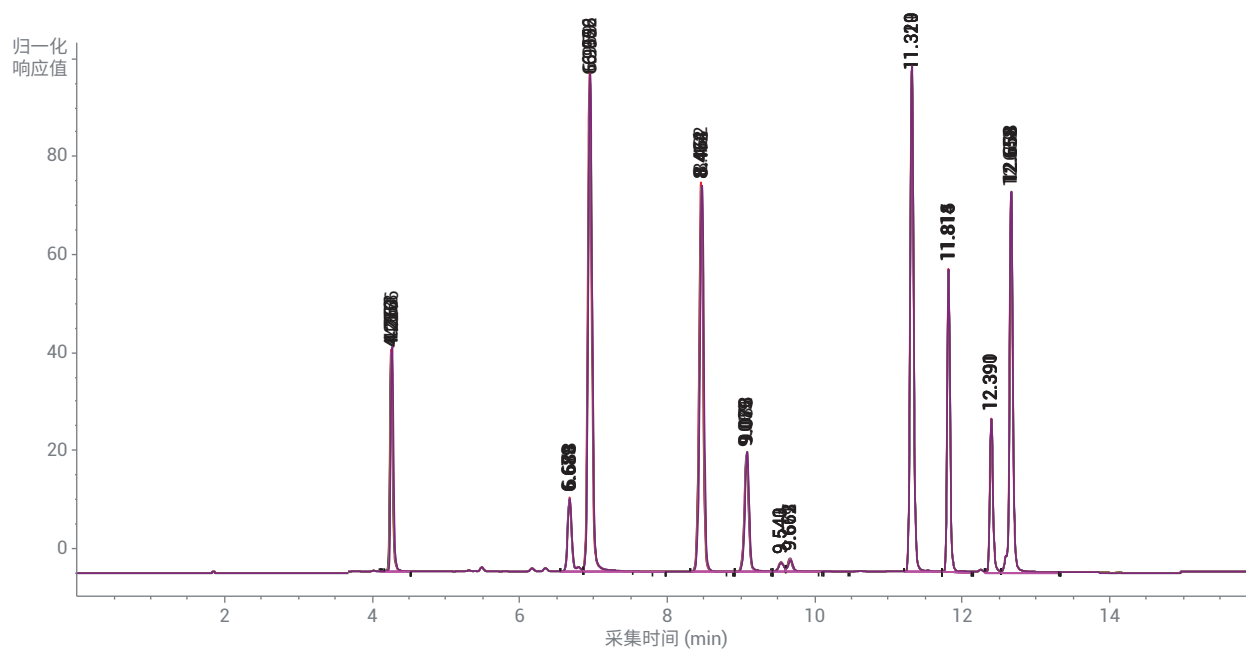


图 3. 使用 Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl, 4.6 × 150 mm, 4 μm 色谱柱对荧光增白剂标准品进行 6 次连续进样得到的叠加色谱图

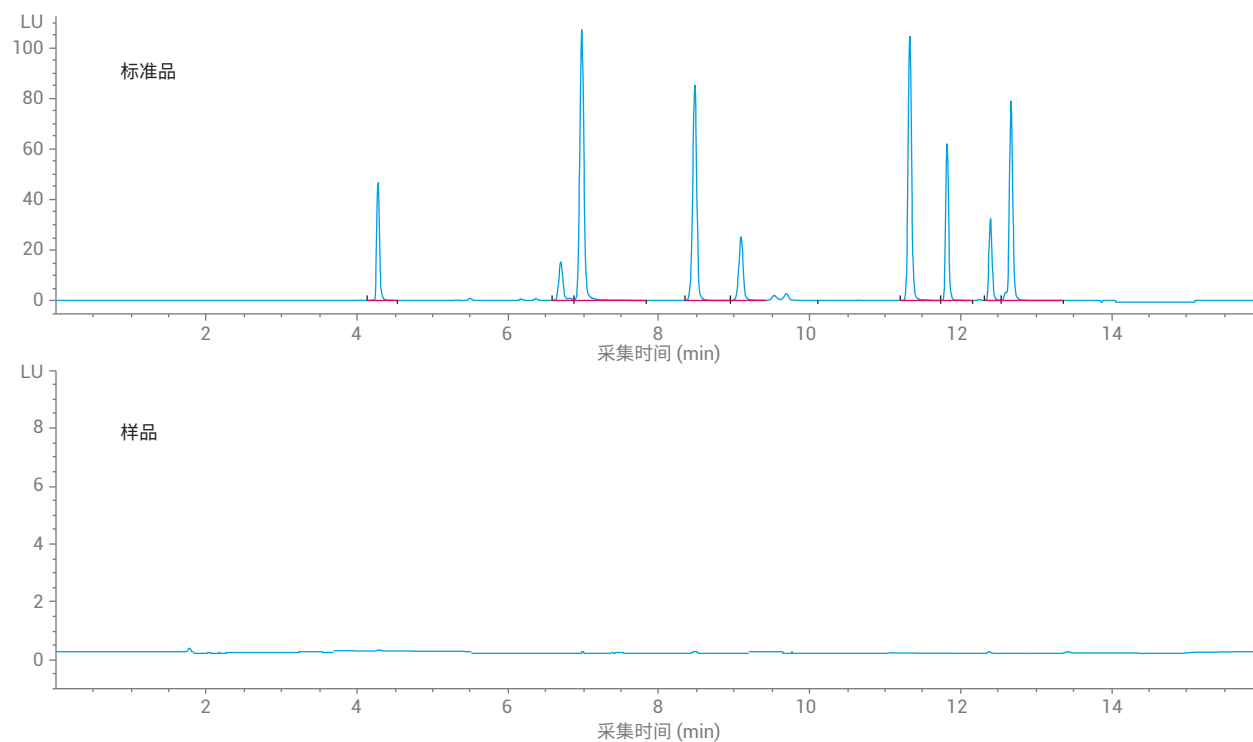


图 4. 使用 Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl, 4.6 × 150 mm, 4 μm 色谱柱进行的口罩样品分析结果

结论

Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl 4 μm 色谱柱可轻松替代全多孔 Agilent ZORBAX 色谱柱，在保持分离度的同时节省分析时间。通过 4 μm 色谱柱优化的方法可用于口罩中荧光增白剂的常规分析。高效 Agilent InfinityLab Poroshell 120 1.9 μm 色谱柱是一种强大的色谱分离工具，可在较短的分析时间内提供更高的分离度。

参考文献

1. Technical Specification of Children Mask, China Standard, GB-T 38880-2020
2. Hu Yiguang; Zhang Xianchen; and Wang Jingli. Detection of Several Common Fluorescent Whitening Agent in Cotton Textiles. Cotton Textile Technology, 44(4), 39
3. Anne Mack. 通过优化仪器、方法和样品发挥 Agilent InfinityLab Poroshell 120 1.9 μm 色谱柱的最大潜能 安捷伦科技公司应用简报，出版号 5991-7560CHCN (2017)

www.agilent.com

DE44147.0440509259

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，2020
2020 年 12 月 4 日，中国出版
5994-2872ZHCN

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

