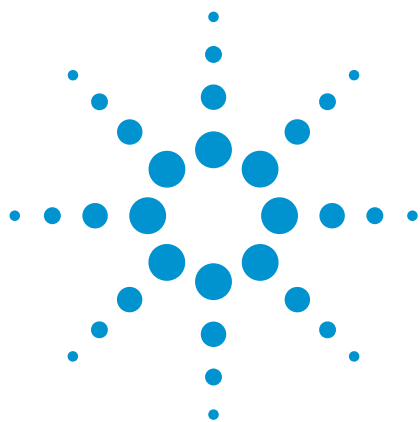




Agilent 1290 Infinity 四元泵的性能特点

技术概述

作者

A.G.Huesgen
安捷伦科技有限公司
德国瓦尔德布隆



摘要

本技术概述为您展示了新型 Agilent 1290 Infinity 四元泵的优异性能。1290 Infinity 四元泵拥有二元高压混合 UHPLC 泵的性能与低压四元泵的灵活性，除了可以进行需要 2.1 mm 内径色谱柱的分析应用外，还可以使用 3 mm 和 4.6 mm 内径色谱柱进行常规或快速运行分析。本文对保留时间精度，及阶梯梯度的精度和准确性进行了评价，并与在 Agilent 1290 Infinity 二元泵和 1260 Infinity 四元泵上获得的结果进行了比较。



Agilent Technologies

前言

Agilent 1290 Infinity 四元泵通过如下创新设计元素实现其优异性能：

- 集成的高效脱气单元内部体积小，在吹扫和启动泵时方便快速切换溶剂
- 新型安捷伦 Inlet Weaver 混合器采用成熟的多层流混合技术，为溶剂到达泵头前的溶剂混合提供最高效率
- 独立控制的高分辨率泵驱动的主动阻尼和固件嵌入式调谐算法，显著减少了脉动及相关的 UV 噪音
- 可选的用于额外混合体积的安捷伦 380 µL Jet Weaver 混合器
- 在线过滤器前置于进样器，可以有效防止色谱柱污染
- 多功能阀具有的自动软件嵌入式功能可以：
 - 在流路内外切换混合器
 - 反吹在线过滤器
 - 自动吹扫

图 1 为 1290 Infinity 四元泵的设计。

本文评价了如下重要的泵参数：

- 根据阶梯梯度洗脱实验，测定了系统延迟体积和混合噪音
- 根据阶段梯度洗脱实验，测定了流动相组成的准确度和精度。评价了不同色谱条件下的保留时间精度

比较了在 Agilent 1290 Infinity 二元和四元泵，以及 1260 Infinity 四元泵上获得的结果。

实验部分

实验所用仪器列于表 1。

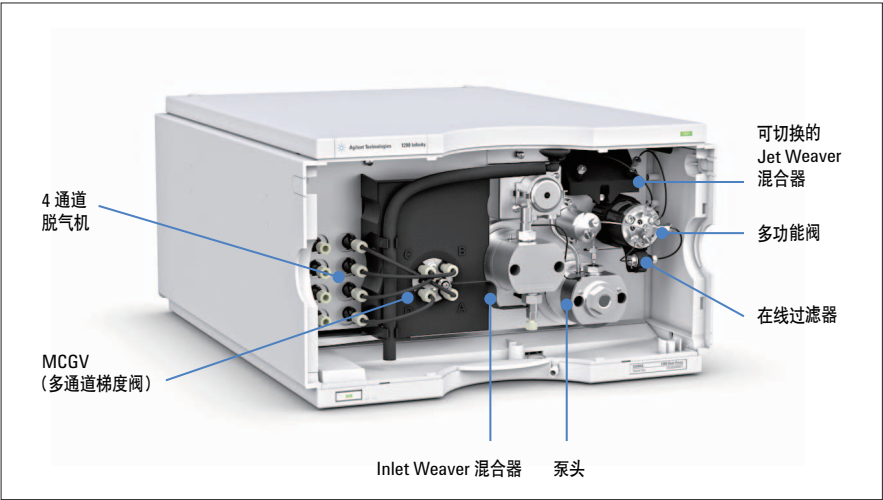


图 1
Agilent 1290 Infinity 四元泵

模块	Agilent 1290 Infinity 液相色谱系统产品号	Agilent 1260 Infinity 液相色谱产品号
二元泵	G4220A	
四元泵	G4204A	G1311B
自动进样器	G4226A	G1329B
自动进样器温控	G1330B	G1330B
柱温箱	G1316C	G1316C
二极管阵列检测器	G4212A	G4212B

表 1
性能实验中使用的仪器

阶梯梯度洗脱的色谱条件

色谱柱替代品：提供大约 170 bar 反压的限流毛细管

流动相：A = 水 + 20% 异丙醇，B = 水 + 20% 异丙醇 + 10 mg/L 咖啡因

流速：1 mL/min

限流器柱温：36 °C

检测：信号 273 nm/4 nm 带宽，参比 380/100 nm，狭缝 4 nm，20 Hz

第 1 阶梯梯度：以 10% 的步长分步从 0% B 升到 100% B，每步保持 5 min

第 2 阶梯梯度：以 1% 的步长分步从 0% B 升到 10% B，每步保持 5 min

采用 4.6 mm 内径色谱柱进行常规梯度洗脱的色谱条件

样品来自 Sigma Aldrich 公司：

- 反相测试混合物，(订货号：47641-U)，1 × 1 mL (尿嘧啶、苯酚、n,n-二乙基-m-甲苯酰胺、甲苯)

- HPLC 梯度系统诊断混标，(订货号：48271) 6 × 1 mL (苯酚、尼泊金甲酯、尼泊金乙酯、尼泊金丙酯、尼泊金丁酯、尼泊金庚酯、尿嘧啶)

样品制备：采用水/乙腈 (1:1) 将上述各样品稀释到 5 mL。1:1 混合两个稀释的样品。

色谱柱：Agilent ZORBAX SB C18, 4.6 × 150 mm, 5 µm (部件号 7995218-595)

流动相：A = 水，B = 乙腈

梯度程序：0 min 时 20% B，10 min 时 95% B

流速：1 mL/min，最大反压 125 bar

停止时间：12 min

后运行时间：5 min

进样量：5 µL，外部进样针清洗 3 s

色谱柱温度：30 °C

DAD：254/4 nm，参比 400/100 nm，流通池：10 mm，峰宽：<0.025 min (10 Hz)

采用 4.6 mm 内径色谱柱进行常规等度洗脱的色谱条件

样品：等度洗脱样品 (部件号 01080-68707)

色谱柱：Agilent ZORBAX SB-C18, 4.6 × 150 mm, 1.8 µm (部件号 829975-902)

流动相：A = 水，B = 乙腈

等度：30/70 = A/B

流速：1.2 mL/min

停止时间：8 min

进样量：1 µL，外部进样针清洗 3 s

色谱柱温度：40 °C

DAD：254/40 nm，参比 380/80 nm，峰宽：<0.025 min，(10 Hz)

采用 3 mm 内径色谱柱进行快速洗脱的色谱条件

样品：RRLC 校验样品 (部件号 5188-6529)

色谱柱：Agilent Poroshell 120 EC-C18, 3 × 50 mm, 2.7 µm (部件号 699975-302)

流动相：A = 水，B = 乙腈

梯度程序：0 min 时 30% B，1 min 时 95% B

流速：3 mL/min，最大压力 550 bar

停止时间：1.5 min

后运行时间：1 min

进样量：1 µL，外部进样针清洗 3 s

色谱柱温度：60 °C

DAD：245/10 nm，参比 400/100 nm，流通池：10 mm，峰宽：<0.00625 min (40 Hz)

采用 2.1 mm 内径色谱柱进行常规洗脱的色谱条件

色谱柱：Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 µm (部件号 959758-902)

样品：

样品来自 Sigma Aldrich 公司：

- 反相测试混标 (订货号：47641-U)，1 × 1 mL (尿嘧啶、苯酚、n,n-二乙基-m-甲苯酰胺、甲苯)

- HPLC 梯度系统诊断混标 (订货号：48271) 6 × 1 mL (苯酚、尼泊金甲酯、尼泊金乙酯、尼泊金丙酯、尼泊金丁酯、尼泊金庚酯、尿嘧啶)

样品制备：采用水/乙腈 (1:1) 将上述各样品稀释到 5 mL。1:1 混合两个稀释的样品

流动相：A = 水，B = 乙腈

梯度程序：0 min 时 10% 乙腈，10 min 时 90% 乙腈

流速：最大压力 830 bar 时 0.3 mL/min

柱温箱温度：50 °C

DAD：254/10 nm，参比 360/100 nm，20 Hz

进样量：1 µL，外部进样针清洗 3 s

采用 2.1 mm 内径色谱柱进行快速洗脱的色谱条件

色谱柱：Agilent ZORBAX RRHD SB C18, 2.1 × 50 mm, 1.8 µm (部件号 857700-902)

样品：

含 9 个化合物，每个 100 ng/µL，溶于水/乙腈 (65/35) 中。

1. 乙酰苯胺，2. 苯乙酮，3. 苯丙酮，4. 苯丁酮 (200 ng/mL)，5. 二苯甲酮，6. 苯戊酮，7. 苯己酮，8. 苯庚酮，9. 苯辛酮

流动相：A = 水，B = 乙腈

梯度程序：0 min 时 10% 乙腈，1 min 时 95% 乙腈

流速：1 mL/min

柱温箱温度：45 °C

DAD：245/10 nm，参比 360/80 nm，80 Hz

进样量：0.5 µL
外部进样针清洗 3 s

软件

Agilent OpenLAB CDS ChemStation 版本,
版本号 C.01.04

结果与讨论

采用阶梯梯度洗脱测定了系统的延迟体积、混合噪音、流动相组成的准确度和精度。在这些实验中，1290 Infinity 四元泵不配备可选的混合器。

实验 1

进行了两个阶梯梯度实验：

- 以 10% 的步长分步从 0% 升到 100%，
每步保持 5 min
- 以 1% 的步长分步从 0% 升到 10%，每
步保持 5 min

相同的阶梯梯度洗脱条件分别应用到 1290 Infinity 四元和二元泵，以及 1260 Infinity 四元泵上。图 2 展示了采用这三种仪器，以 10% 的步长从 0% 升到 100% 的阶梯梯度曲线。

表 2 总结了这三种阶梯梯度洗脱的结果。除了延迟体积和流动相组成准确度，1290 Infinity 四元泵具有与 1290 Infinity 二元泵类似的结果。1260 Infinity 四元泵也展示了优异的结果，但与另外两个液相色谱系统相比，系统延迟明显较大。

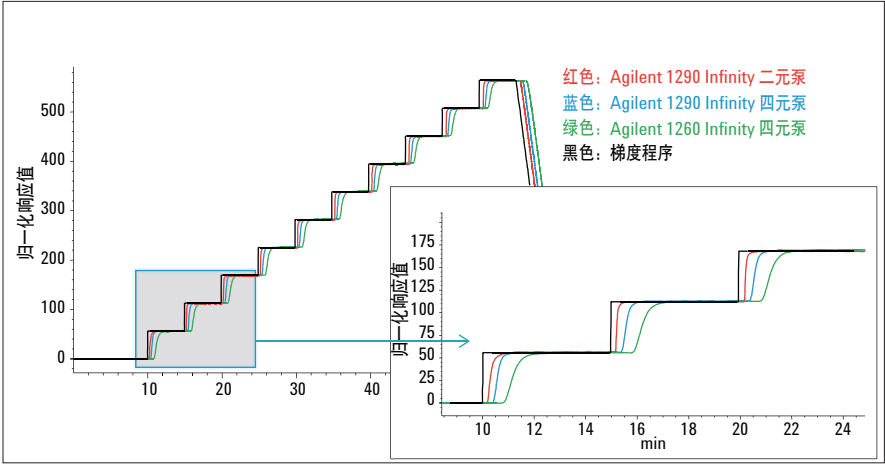


图 2
在 Agilent 1290 Infinity 二元泵、Agilent 1290 Infinity 四元泵和 Agilent 1260 Infinity 四元泵上以 10% 的步长从 0% 升到 100% 的阶梯梯度曲线

	1260 Infinity 四元泵	1290 Infinity 四元泵	1290 Infinity 二元泵
10% 时的脉动（相对于 100% 时）	0.08%	0.1%	0.12%
50% 时的脉动	0.08%	0.1%	0.2%
90% 时的脉动	0.08%	0.06%	0.05%
10% 时的精度（连续 3 次运行）	0.18% RSD	0.1% RSD	0.14% RSD
50% 时的精度（连续 3 次运行）	0.06% RSD	0.02% RSD	0.002% RSD
系统延迟体积	约 900 μ L	约 420 μ L	约 170 μ L
流动相组成准确度（技术参数）	不适用	$\pm$ 0.4%	$\pm$ 0.35%

表 2
阶梯梯度结果

1290 Infinity 四元泵从 0 到 100% 的宽梯度范围提供了优异的阶梯梯度洗脱曲线，即使是以 1% 的步长从 0% 升到 10%。步骤 1、2 和 3 定义明确，参见图 3 对 1290 Infinity 二元泵的描述。以 3% 的步长升高时，1260 Infinity 四元泵可以得到最优结果。对于 1260 Infinity 四元泵，该结果反映在 5% 到 95% 有机相范围内。

阶梯梯度洗脱曲线表明，1290 Infinity 四元泵具有与 1290 Infinity 二元泵相似的曲线，即使是在严苛的 0 - 3% 范围内。1260 Infinity 四元泵的曲线存在差异，尤其是在 0 到 3% 的梯度范围内。

另采用 5 种实验，在所有这三种泵上应用不同的色谱条件，评价其保留时间精度。

实验 2:

常规梯度洗脱，采用 4.6×150 mm 色谱柱，流速 1 mL/min

实验 3:

常规等度洗脱，采用 4.6×150 mm 色谱柱，流速 1.2 mL/min

实验 4:

快速梯度洗脱，采用 3×50 mm 色谱柱，流速 3 mL/min

实验 5:

常规梯度洗脱，采用 2.1×100 mm 色谱柱，流速 0.3 mL/min

实验 6:

快速梯度洗脱，采用 2.1×50 mm 色谱柱，流速 1.2 mL/min

所有实验的精度数据是在 6 次连续运行的基础上获得的。

实验 2

常规梯度洗脱采用 ZORBAX SB-C18, 4.6×150 mm, $5 \mu\text{m}$ 色谱柱，流速 1 mL/min。图 4 展示了采用配备和不配备可选混合器的 1290 Infinity 四元泵、1290 Infinity 二

元泵和 1260 Infinity 四元泵分析得到的叠加色谱图。1290 二元泵实现了最小的延迟体积，不出所料，其次是不配备可选混合器的 1290 Infinity 四元泵。

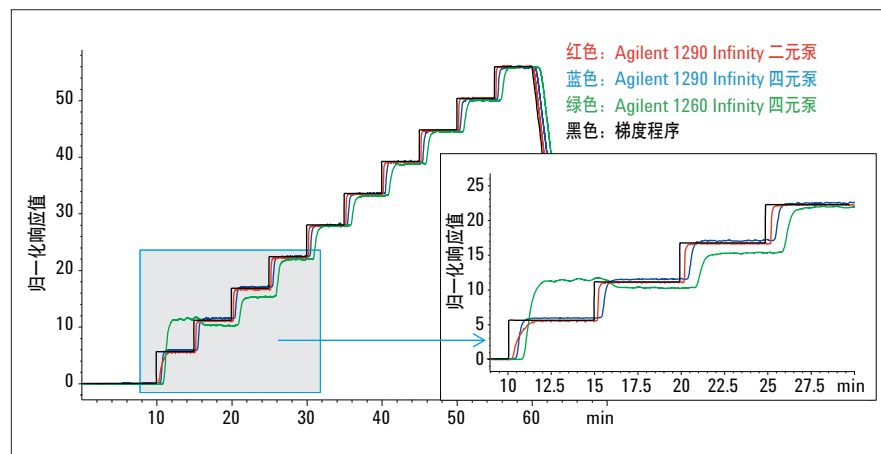


图 3

在 Agilent 1290 Infinity 二元和四元泵，以及 Agilent 1260 Infinity 四元泵上以 1% 的步长从 0% 升到 10% 的阶梯梯度曲线

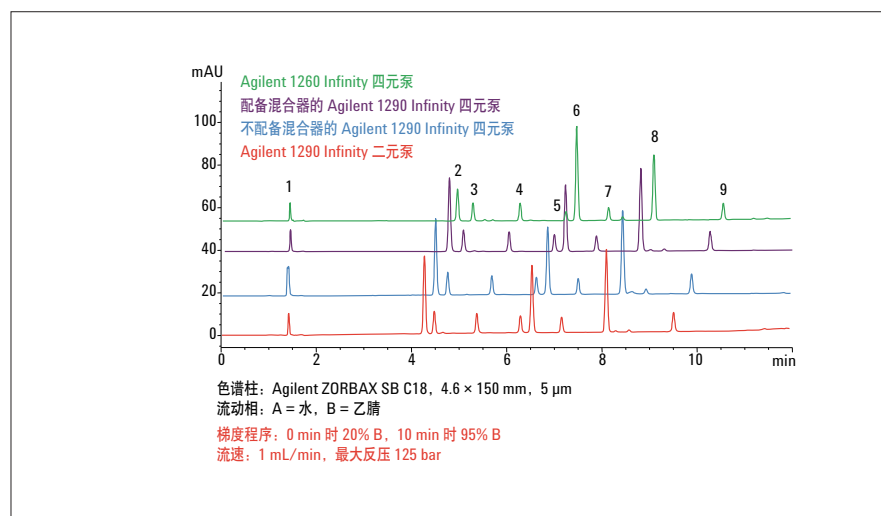


图 4

应用常规梯度洗脱的四张重叠色谱图，1. 尿嘧啶，2. 苯酚，3. 尼泊金甲酯，4. 尼泊金乙酯，5. 尼泊金丙酯，6. n,n-二乙基-m-甲苯酰胺，7. 尼泊金丁酯，8. 甲苯，9. 尼泊金庚酯

至于保留时间精度，配备混合器的 1290 Infinity 四元泵和 1290 Infinity 二元泵具有相似的性能，见图 5。不配备混合器的 1290 Infinity 四元泵也提供了优异的精度数据。1260 Infinity 四元泵展示了非常好的结果，远低于 1290 Infinity 四元泵的参数。

保留时间的相对标准偏差范围，对于配备可选混合器的 1290 Infinity 四元泵是 0.022% - 0.0075% RSD，不配备混合器的是 0.046% - 0.00444% RSD。1290 Infinity 二元泵的是 0.0053% - 0.017% RSD，而 1260 Infinity 四元泵的是 0.0074% - 0.059% RSD。

实验 3

常规等度洗脱采用 Agilent ZORBAX SB-C18, 4.6 × 150 mm, 1.8 μm 色谱柱，流速 1.2 mL/min。将这些常规等度洗脱条件应用到 1260 Infinity 四元泵，以及配备和不配备可选混合器的 1290 Infinity 四元泵上，见图 6。正如预料的，应用等度洗脱条件后，这三种仪器配置的保留没有差异。

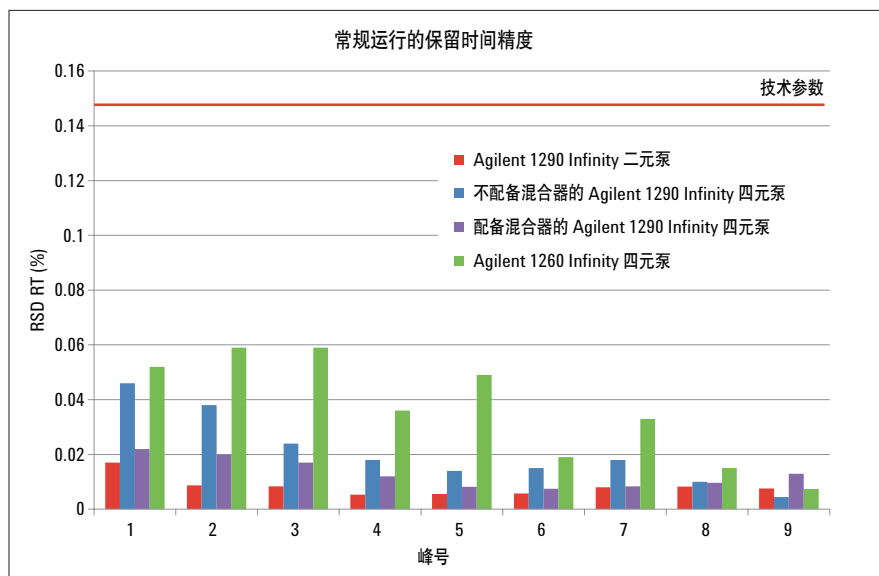


图 5

Agilent 1290 Infinity 二元和四元泵（配备和不配备可选混合器），以及 Agilent 1260 Infinity 四元泵上保留时间的精度

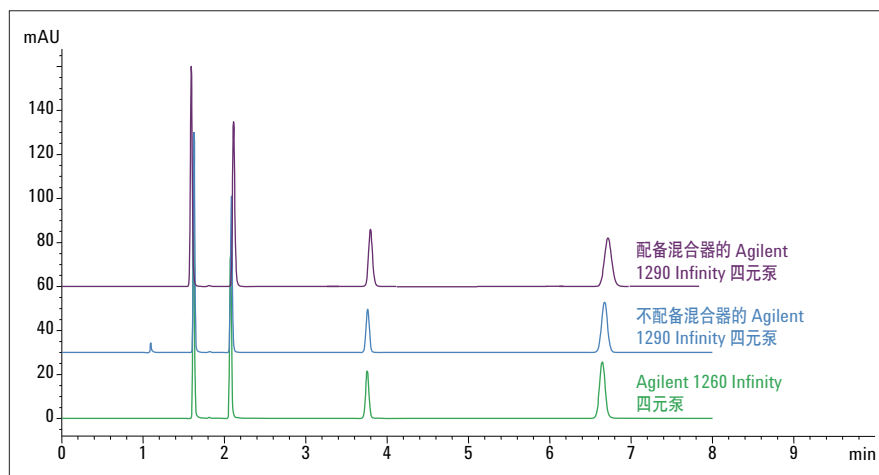


图 6

使用常规等度洗脱条件的叠加色谱图，1. 邻苯二甲酸二甲酯，2. 邻苯二甲酸二乙酯，3. 联二苯，4. 邻三联苯

保留时间最大的相对标准偏差，对于配备混合器的 1290 Infinity 四元泵是 0.01% RSD，不配备混合器而采用动态流动相混合的是 0.051% RSD，如图 7。1260 Infinity 四元泵保留时间的最大相对标准偏差是 0.106% RSD。

实验 4

低于 1.2 min 的快速洗脱采用 Agilent Poroshell 120 EC C18, 3 × 50 mm, 2.7 3 mL/min。所有四种仪器配置均采用这些苛刻的色谱条件进行测试。1290 Infinity 二元液相色谱具有最小的延迟体积，获得了最短的运行时间，见图 8。

最初的几个峰是被等度洗脱出还是受到梯度的影响取决于所用液相色谱的延迟体积。

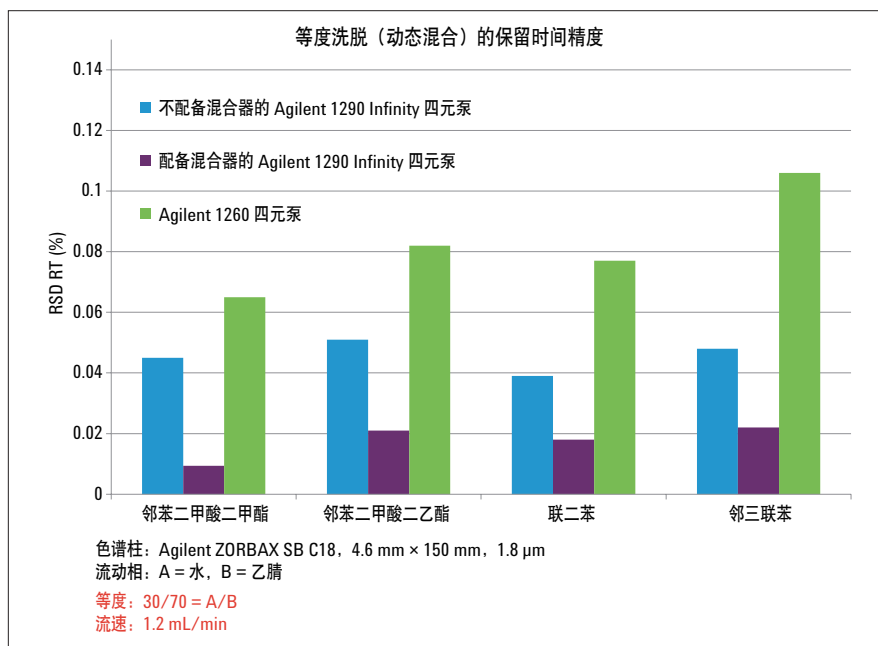


图 7
在等度洗脱条件下，比较 Agilent 1290 Infinity 四元泵和 Agilent 1260 Infinity 四元泵的保留时间精度

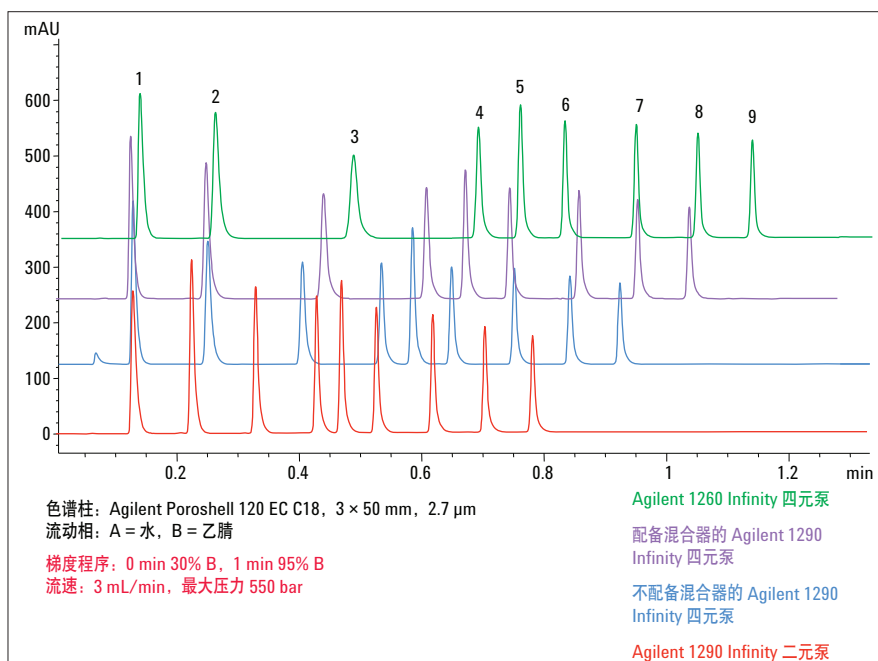


图 8
高流速下获得的叠加色谱图，1. 乙酰苯胺，2. 苯乙酮，3. 苯丙酮，4. 苯丁酮，5. 苯甲酮，6. 苯戊酮，7. 苯己酮，8. 苯庚酮，9. 苯辛酮

采用这些苛刻的色谱条件，所有仪器配置的精度均非常优异。然而，1260 Infinity 四元液相色谱配置没有像 1290 Infinity 二元和四元液相色谱配置那样，展现出整体上非常好的保留时间精度。配备混合器和二元泵的 1290 Infinity 具有相似的结果，如图 9。

保留时间相对标准偏差的范围，对于配备混合器的 1290 Infinity 四元泵是 0.207% - 0.0057% RSD，对于不配备混合器的是 0.132% - 0.022% RSD。1290 Infinity 二元泵的是 0.214% - 0.0076% RSD，而 1260 Infinity 四元泵的是 0.209% - 0.028% RSD。

第一个峰的保留时间短至约 0.130 min，标准偏差低至 0.0103 s，远低于技术参数要求，见图 10。鉴于这些极低的标准偏差值，相对标准偏差的结果更是极其出色。

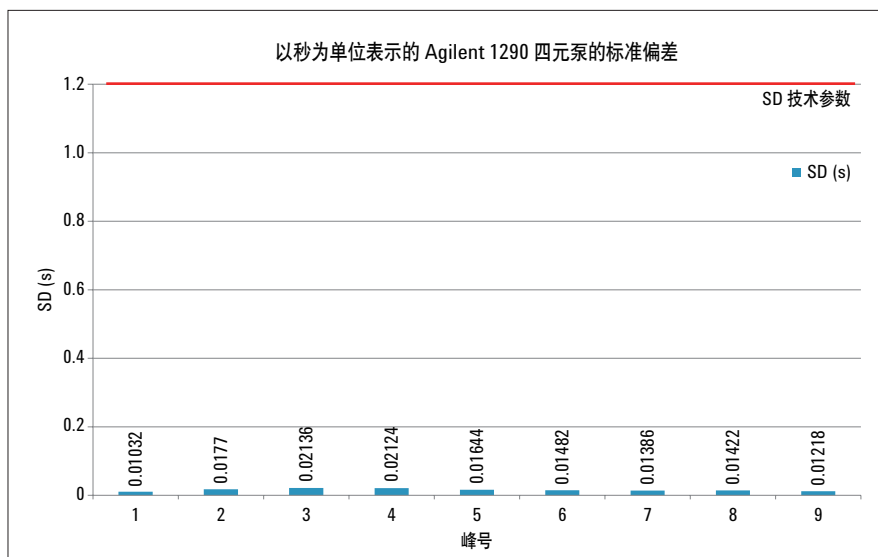


图 9
高流速下保留时间的精度

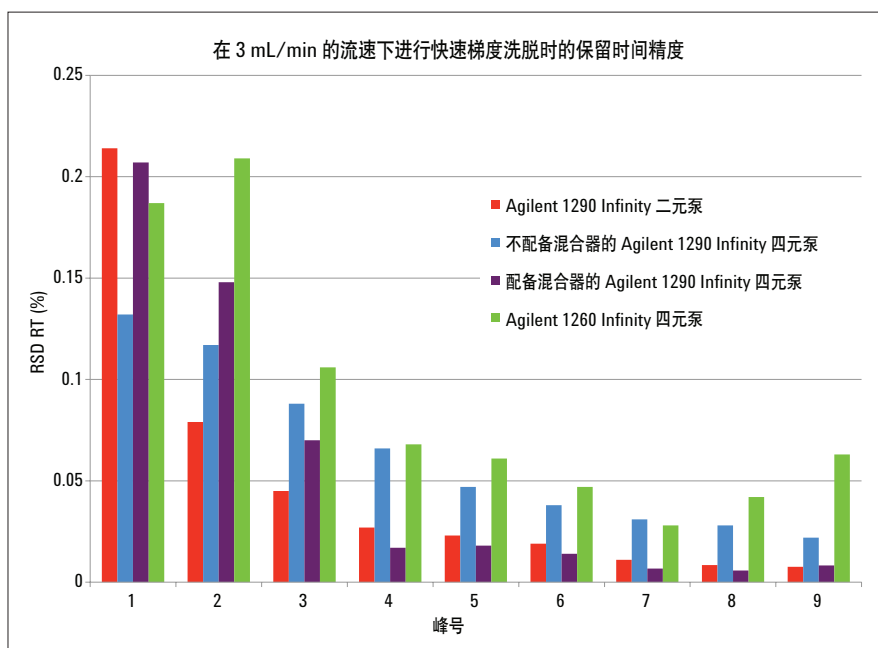


图 10
保留时间的标准偏差

实验 5

采用窄径色谱柱，即 Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1×100 mm, 1.8 常规应用 0.3 mL/min。1290 Infinity 四元泵非常适合在中等流速下采用长的窄径色谱柱。该类应用经常在与质谱联用中使用。图 11 展示了获得的叠加色谱图。虽然延迟体积影响了峰的洗脱时间，但是对于实际应用，分离度是首要标准，而不是速度，所以速度没那么重要。

1290 Infinity 四元液相色谱展现了与 1290 Infinity 二元液相色谱相似的结果，所用的色谱条件见图 12。

1260 Infinity 四元液相色谱配置展现的结果部分高于 1290 Infinity 四元泵的技术参数。

保留时间相对标准偏差的范围，对于配备混合器的 1290 Infinity 四元泵是 0.116% - 0.014% RSD，对于不配备混合器的是 0.084% - 0.018% RSD。1290 Infinity 二元泵的是 0.091% - 0.011% RSD，而 1260 Infinity 四元泵的是 0.291% - 0.075% RSD。

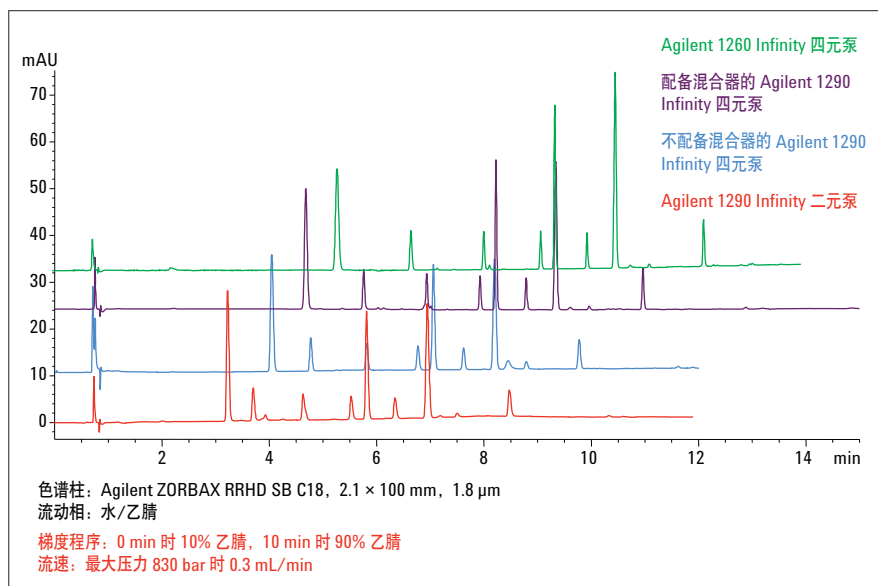


图 11
使用窄径色谱柱并在 0.3 mL/min 流速下获得的叠加色谱图，化合物见图 4

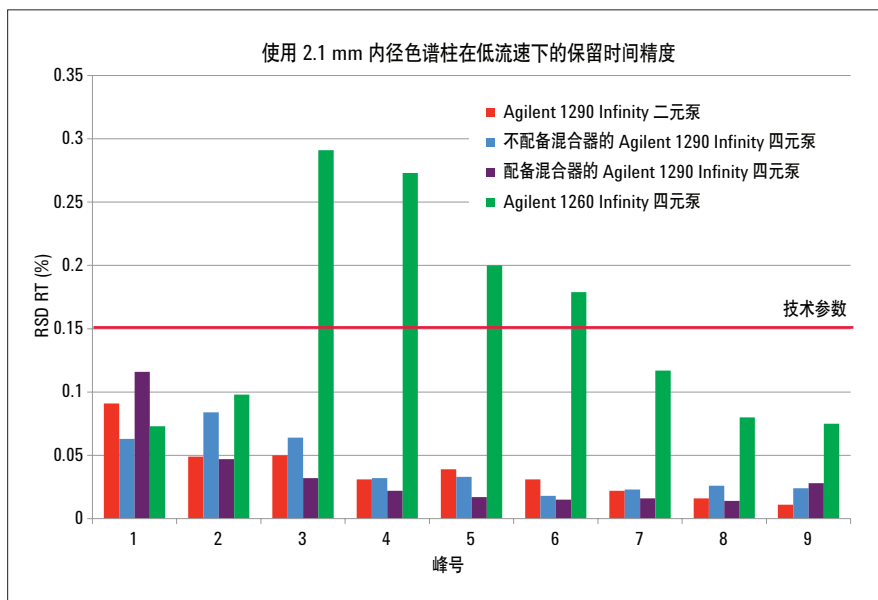


图 12
使用窄径色谱柱时的保留时间精度

实验 6

快速洗脱采用 2.1 × 50 mm 色谱柱，流速 1.2 mL/min，验证了 1290 Infinity 四元泵采用窄径色谱柱进行快速分析的实用性，并经常在与质谱联用进行筛选时使用。延迟体积显著影响了洗脱时间，见图 13。1290 Infinity 二元系统的延迟体积只有 170 μ L，所有峰均可在 1.25 min 内流出。由于延迟体积为 420 μ L，所以相同条件应用到 1290 Infinity 四元系统上时，总运行时间增加了 0.35 min。一般来讲，1290 Infinity 二元泵最适合采用窄径色谱柱在高流速和短运行时间下运行所有梯度或等度分析应用。

两个系统的保留时间精度均非常好，见图 14。例如，1290 Infinity 四元泵第一个峰的标准偏差低至 0.000877 min (0.053 s)，远低于其技术参数要求。图 14 展示了其优异的相对标准偏差值。

保留时间相对标准偏差的范围，对于配备混合器的 1290 Infinity 四元泵是 0.102% - 0.02% RSD，对于不配备混合器的是 0.156% - 0.017% RSD。1290 Infinity 二元泵的范围是 0.024% - 0.01% RSD，显示出 1290 Infinity 二元泵出色的性能。

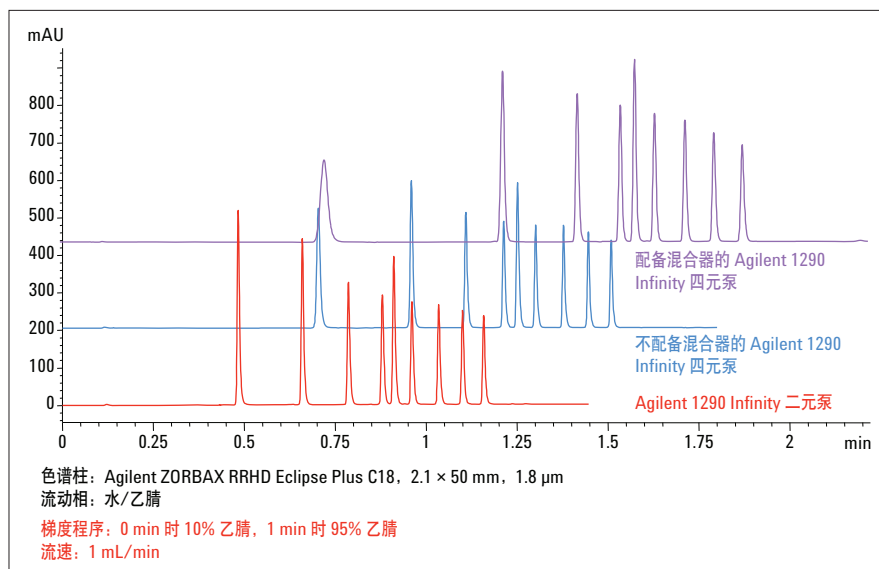


图 13

使用短 2.1 mm 内径色谱柱，应用快速色谱条件，比较在 Agilent 1290 Infinity 二元和四元液相色谱系统上获得的色谱图，化合物见图 8

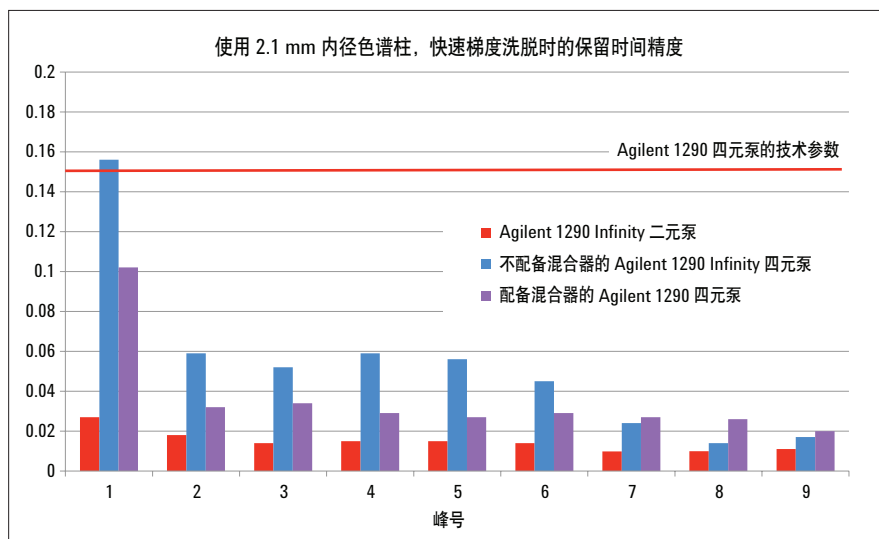


图 14

使用 2.1 mm 内径色谱柱，快速洗脱时的保留时间精度

结论

Agilent 1290 Infinity 四元泵提供了优异的保留时间精度性能。在采用常规梯度和等度洗脱色谱条件下，在使用 3 mm 内径色谱柱和 3 mL/min 流速的快速梯度条件下，以及使用窄径色谱柱的常规条件下，该四元泵均获得了优异的结果。对于这些应用，1290 Infinity 四元泵与 1290 Infinity 二元泵性能相当。

对于快速色谱条件，应用高流速和短 2.1 mm 内径色谱柱，1290 Infinity 四元泵得到了优异的保留时间精度结果，而 1290 Infinity 二元泵则在洗脱时间和保留时间精度方面获得了极佳的结果。

所用的阶梯梯度洗脱在整个 0 - 100% 曲线范围内展现了优异的准确度和精度。

**[www.agilent.com/chem/
1290quatpump](http://www.agilent.com/chem/1290quatpump)**

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2012
2012 年 10 月 1 日，中国印刷
5991-1193CHCN



Agilent Technologies