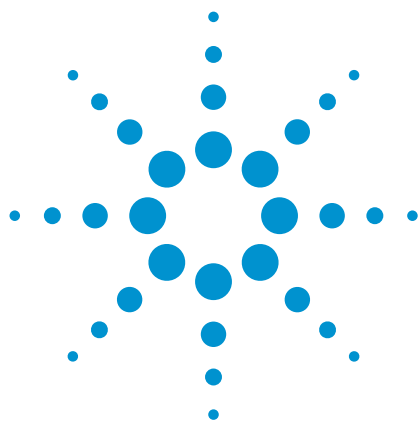




用于 IP391/07 柴油 / 生物柴油芳香烃检测方法的色谱柱预平衡程序

白皮书

作者

Michael Woodman
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Rd.
Wilmington, DE 19808
USA

Judy Berry
Agilent Technologies, Inc.
538 First State Blvd.
Newport, DE 19804

前言

官方的 IP 方法采用配备示差折光检测器的高效液相色谱分析柴油和汽油馏分中沸点 150 °C 到 400 °C 的非芳香烃和芳香烃。使用正相高效液相色谱和仅对芳香烃化合物具有明显选择性（对非芳香烃几乎无亲和力）的色谱柱分离两种化合物（芳香烃和非芳香烃）。近年来生物柴油产量的提高促进了对汽油和汽油 / 生物柴油混合物分析的需求。在修订的 IP391/07 方法中，生物柴油中的脂肪酸甲基酯 (FAME) 必须在四芳香烃标记峰后洗脱，这将使大分子多环芳烃不受 FAME 的干扰，从而有助于提高其分析准确性。上述方法比原来使用反吹的 IP391/95 版方法要求更严格，本白皮书介绍了一种使用 Agilent ZORBAX 色谱柱预平衡的可靠方法，在使用修订版方法进行分析时可获得一致的结果。

特别需要注意的是之前使用过来自不同厂商的色谱柱，并证明对预平衡程序和 IP391/07 分析性能方面产生的响应不可预测。因此该平衡程序仅推荐用于新的、未使用的 Agilent ZORBAX 色谱柱。由于没有使用过该程序测试过其他品牌的色谱柱，因此不能确定该程序对其他色谱柱的平衡是否有效。

样品制备

使用安捷伦 IP391/07 系统校准标样 1 和 2（部件号 5190-0485）制备 SCS1/SCS2 样品混合物。样品混合物 SCS1/SCS2=1:2 (v/v)，将 0.5 mL SCS1（部件号 5190-0485-1）与 1mL SCS2（部件号 5190-0485-2）混合制成。



Agilent Technologies

用于自动干燥序列的色谱柱制备

SB-CN 色谱柱 4.6 × 150 mm, 5 μm (部件号 883952-708) 的储存液是 50% 乙腈 / 50% 水, 在与保护液为正庚烷的 NH2 色谱柱 4.6 × 150 mm, 5 μm (部件号 883975-905) 串联之前, 需要使用异丙醇 (约 20 倍柱体积) 进行冲洗。在使用 IPA 冲洗 SB-CN 后, 就可以串联 NH2 色谱柱。在该顺序中, 首先固定 NH2 色谱柱, 并连接进样器和 SB-CN 色谱柱。然后将 SB-CN 色谱柱作为第二根色谱柱, 连接 NH2 柱和示差折光检测器 (RID) 然后以正庚烷为流动相在 1 mL/min 和 25 °C 的条件下通过两根色谱柱, 直到获得一条稳定的 RID 基线。在得到稳定的 RID 基线后, 接下来可以运行自动干燥序列 可以设置自动干燥序列过夜运行, 以便第二天能运行 IP391/07 方法。干燥序列设定运行三个样品, 列于表 1, 一共六次。需要的分离在不到六次分析循环内就能完成。然而, 运行全序列对蒎/脂肪酸甲酯的分离无不良影响。

化学工作站自动干燥序列

样品瓶中样品信息如下：

1. 使用 2 mL 样品瓶装填正庚烷作为空白正庚烷样品
2. 使用 2 mL 样品瓶装填体积比为 1:2 (v/v) 的 SCS1/SCS2 标样作为 SCS1/2 样品
3. 使用 2 mL 样品瓶装填 1.5 mL 硅胶柱再生液 (CRS) (Sigma-Aldrich, 部件号 33175, Supelco 生产)

表 1. 干燥序列基本上由以下系列样品重复组成

序号	位置	样品名称	方法名称	进样次数
1	样品瓶 1	空白正庚烷	HEPT_40MIN_10UL_25C_COL1	2
2	样品瓶 2	SCS1/2	HEPT_40MIN_10UL_25C_COL1	1
3	样品瓶 3	CRS	HEPT_10MIN_100UL_25C_COL1	5

表 2. 化学工作站干燥序列

序号	位置	样品名称	方法名称	进样次数
1	样品瓶 1	空白正庚烷	HEPT_40MIN_10UL_25C_COL1	2
2	样品瓶 2	SCS1/2	HEPT_40MIN_10UL_25C_COL1	1
3	样品瓶 3	CRS	HEPT_10MIN_100UL_25C_COL1	5
4	样品瓶 1	空白正庚烷	HEPT_40MIN_10UL_25C_COL1	2
5	样品瓶 2	SCS1/2	HEPT_40MIN_10UL_25C_COL1	1
6	样品瓶 3	CRS	HEPT_10MIN_100UL_25C_COL1	5
7	样品瓶 1	空白正庚烷	HEPT_40MIN_10UL_25C_COL1	2
8	样品瓶 2	SCS1/2	HEPT_40MIN_10UL_25C_COL1	1
9	样品瓶 4	CRS	HEPT_10MIN_100UL_25C_COL1	5
10	样品瓶 1	空白正庚烷	HEPT_40MIN_10UL_25C_COL1	2
11	样品瓶 2	SCS1/2	HEPT_40MIN_10UL_25C_COL1	1
12	样品瓶 4	CRS	HEPT_10MIN_100UL_25C_COL1	5
13	样品瓶 1	空白正庚烷	HEPT_40MIN_10UL_25C_COL1	2
14	样品瓶 2	SCS1/2	HEPT_40MIN_10UL_25C_COL1	1
15	样品瓶 5	CRS	HEPT_10MIN_100UL_25C_COL1	5
16	样品瓶 1	空白正庚烷	HEPT_40MIN_10UL_25C_COL1	2
17	样品瓶 2	SCS1/2	HEPT_40MIN_10UL_25C_COL1	1
18	样品瓶 5	CRS	HEPT_10MIN_100UL_25C_COL1	5
19	样品瓶 1	空白正庚烷	HEPT_40MIN_10UL_25C_COL1	5
20	样品瓶 2	SCS1/2	HEPT_40MIN_10UL_25C_COL1	5
21	样品瓶 1	空白正庚烷	MIN_LOWFLOW_25C_COL1	1

用于自动干燥序列的方法实验条件

Method HEPT_40MIN_10UL_25C_COL1

色谱柱流速	1.0 mL/min
流动相	100% HPLC 级正庚烷
运行 / 停止时间	40 min
进样量	10 µL
柱温箱温度	25 °C
示差折光检测器温度	30 °C
可选紫外检测器波长	250 nm (蒽检测波长)

Method HEPT_10MIN_100UL_25C_COL1

色谱柱流速	1.0 mL/min
流动相	100% HPLC 级正庚烷
运行 / 停止时间	10 min
进样量	100 µL
柱温箱温度	25 °C
示差折光检测器温度	30 °C
紫外检测器波长	250 nm (蒽检测波长)

Method MIN_LOWFLOW_25C_COL1

色谱柱流速	0.100 mL/min
流动相	100% HPLC 级正庚烷
运行 / 停止时间	可设置任何时间
进样量	1 µL
柱温箱温度	25 °C
示差折光检测器温度	30 °C
紫外检测器波长	250 nm (蒽检测波长)

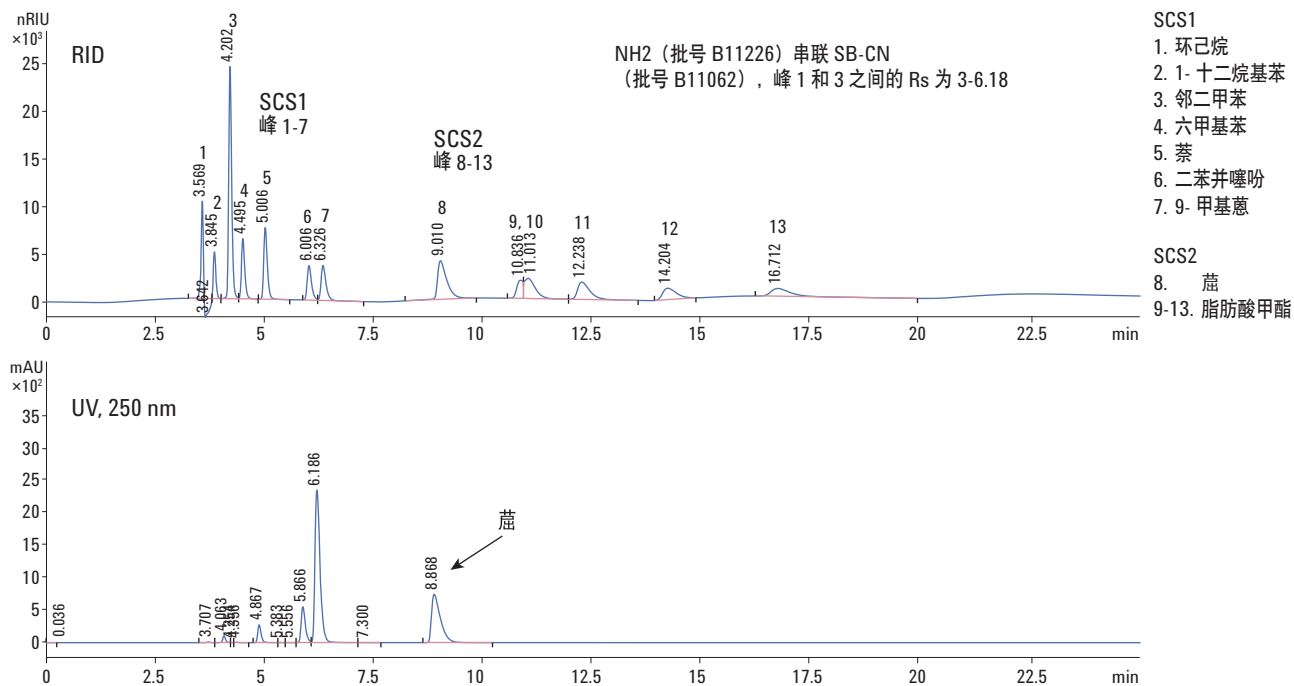


图 1. 干燥序列后脂肪酸甲酯与胆固醇的分离 获得了峰 1 和 3 之间的需要的分离度使用紫外检测器确定胆固醇

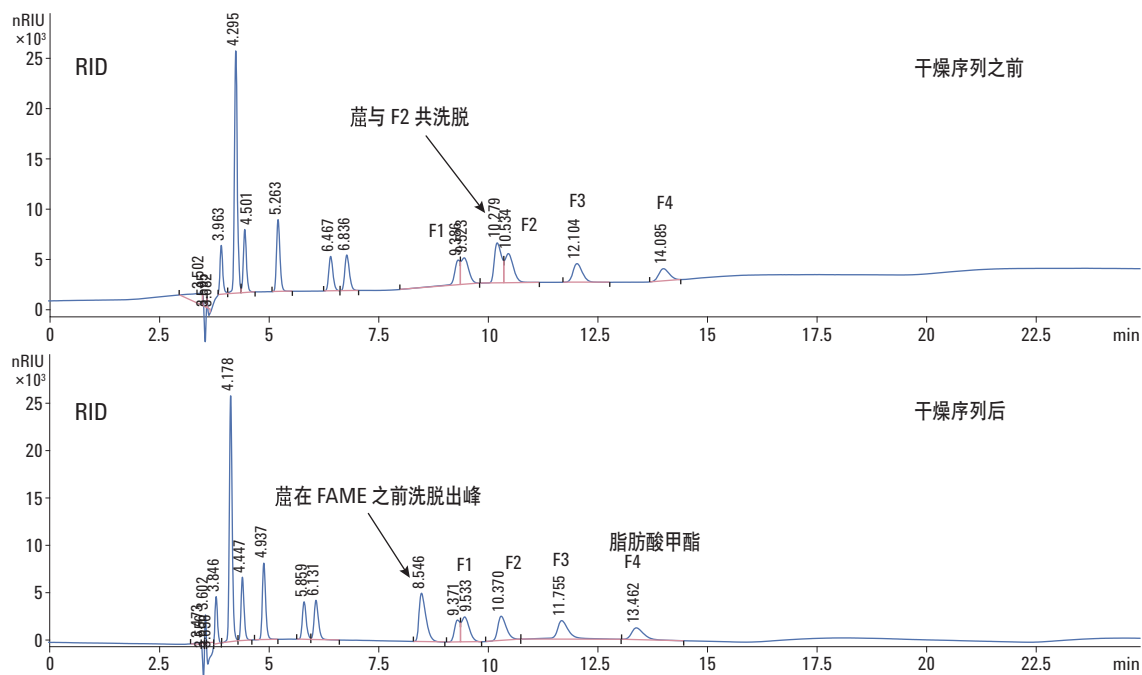


图 2. 干燥序列对使用安捷伦 ZORBAX NH2 (批号 B10285 序列号 USU0005655) 串联 SB-CN (批号 B11062 序列号 USSJ015730) 进行胆固醇/FAME 分离的影响

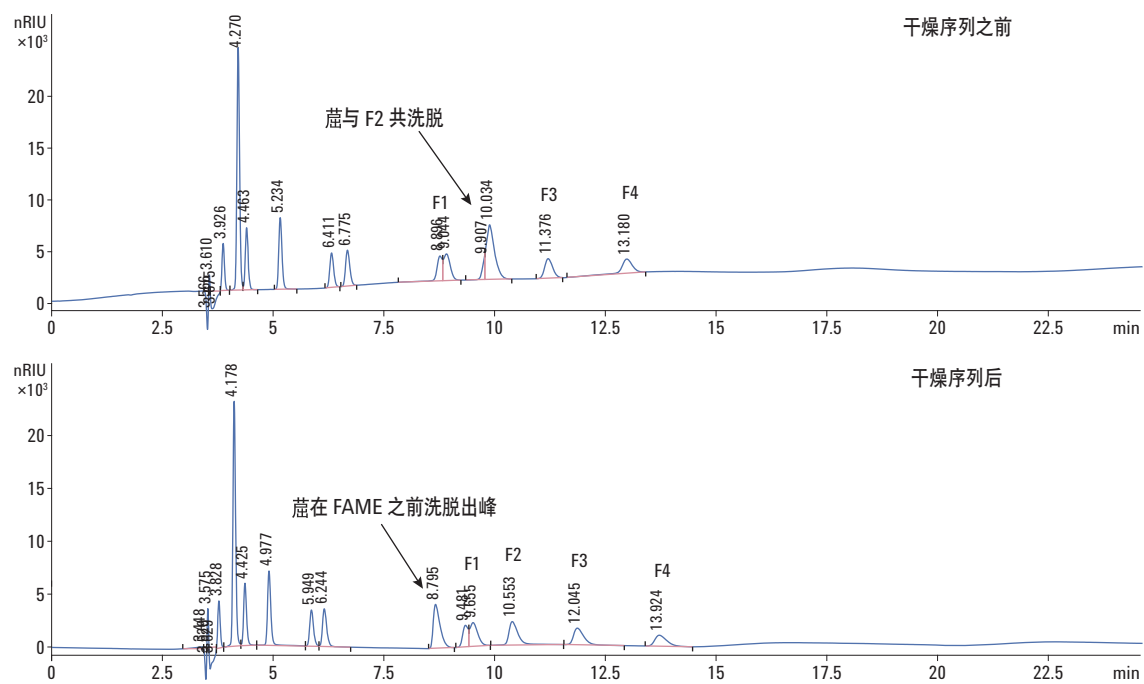


图 3. 干燥序列对使用安捷伦 ZORBAX NH2 (批号 B11069 序列号 USU0005657) 串联 SB-CN (批号 B11062 序列号 USSJ015714) 进行胆固醇/FAME 分离的影响

www.agilent.com/chem/cn

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2011
2011 年 11 月 10 日 中国出版
出版号 5990-9202CHCN



Agilent Technologies