用氦载气和 0.18 mm 内径高效气相色谱柱进行合同实验室项目（CLP）的农药分析

应用

环境

作者

Ken Lynam and William Long
安捷伦科技公司
2850 Centerville Road
Wilmington, Delaware 19808
美国

摘要

使用高效气相色谱柱（20 m × 0.18 mm 内径 × 0.18 µm 膜厚）和氦载气对合同实验室项目（CLP）农药分析进行验证。DB-17ms 固定相用于初步分析，DB-XLB 固定相用于确认。在 11 分钟的分析中完成了对协议中 22 个 CLP 农药的初步分析和确认，与 0.32 mm 内径色谱柱比较，分析时间缩短了 35%。

方法转换软件成功地将一组使用氢载气的原始条件转换至使用氦载气的新条件。流出顺序和分离程度说明了方法转换软件将原方法精确地转换到了新方法 [1]。

引言

在竞争的合同实验室市场中，环境治理样品中有机氯农药（OCP）的测定是一项重要且样品数量大的分析。标准合同实验室项目（CLP）的农药分析方法被用于这些分析。在很多情况下，实验室将会在一个约定的项目期间分析大量的样品，这将会增加实验室和客户的成本。本文的研究证明 0.18 mm 内径高效气相色谱柱是提高实验室效率的工具。这些色谱柱完全适用于标准气相色谱仪和在氦载气下运行。这些色谱柱提供的高效率及它们与现有气相色谱仪完全兼容的特性为实验室提高样品分析通量提供了强有力的工具。与 30 m × 0.32 mm 内径和 20 m × 0.18 mm 内径色谱柱相比，分析时间从 17 分钟的分析缩短到 11 分钟，并改善了分离度[2]。

实验中选择氦载气来说明 0.18 mm 内径色谱柱用于 CLP 农药分析的分析能力并证明这些色谱柱与标准气相色谱仪完全兼容。这些 20 m × 0.18 mm 内径色谱柱的操作压力范围是从最初的 33 psi 到程序升温最高点时的 50 psi。使用氦载气和这些 0.18 mm 内径色谱柱的压力范围正好在标准色谱仪的操作压力范围内。

实验

本实验是使用配置双微池电子捕获检测器和 7683B 自动进样器的 Agilent 6890N 气相色谱仪完成的。进样用分流/不分流进样口，它位于保留间隙柱的柱前端，保留间隙柱的另一端通过 Y 型分流器与两个分析柱相连。色谱条件的详细信息见表 1。

表 1. 色谱条件

气相色谱仪	Agilent 6890N
进样器:	Agilent 7683B, 5 µL 注射器 (Agilent 部件号 5181-1273), 0.5 µL 进样
进样口	分流/不分流; 250 °C 脉冲式不分流 (35 psi 保持 0.5 分钟)
进样口衬管	脱活的单细径锥直接连接 (Agilent 部件号 1544-80730)
载气	氦气（恒定流速，120 °C 49.5 cm/sec， 经通用整合式捕集阱纯化，Agilent 部件号 RMSH-2）
保留间隙	5 m × 0.25 mm 内径脱活 (Agilent 部件号 160-2255-5)
Y 型分流器	石英脱活(Agilent 部件号 5181-3398)
色谱柱:	
1	20 m × 0.18 mm × 0.18 µm DB-17ms (Agilent 部件号 121-4722)
2	20 m × 0.18 mm × 0.18 µm DB-XLB (Agilent 部件号 121-1222)
恒温箱	120 °C (0.49 min); 85 °C/min 至 160 °C; 20 °C/min 至 260 °C (0.20 min); 25 °C/min 至 285 °C; 40 °C/min 至 300 °C (3.5 min)
检测器	微池电子捕获检测器 325 °C ；氮气尾吹； 恒定色谱柱 + 尾吹流量 60 (mL/min)

这些实验使用的流路备件在下面的表 2 中列出。

表 2. 流路备件

		安捷伦部件号
样品瓶	琥珀色螺纹口瓶盖	5182-0716
样品瓶盖	蓝色螺纹口瓶盖	5282-0723
样品瓶内插管	100 µL 玻璃/聚合物支脚	5181-1270
注射器	5 µL	5181-1273
隔垫	高级绿色	5183-4759
进样口衬管	脱活的单细径锥直接连接	1544-80730
密封垫圈	0.4 mm 内径短垫圈； 85/15 Vespel/石墨	5181-3323
Y 型分流器	石英脱活分流器	5181-3398
密封树脂	聚酰亚胺密封树脂	500-1200
20 倍放大镜	20 倍放大镜环	430-1020
管线切割器	陶瓷片色谱柱切割器	5181-8836

样品制备

CLP 农药标准溶液购自 AccuStandard，New Haven，CT 06513 美国。ULTRA RESI 分析级 2,2,4 三甲基戊烷购自 J. T. Baker，Phillipsburg，NJ 08865 美国。CLP-023 R-160 X 和 CLP-024R-160 X 用 2,2,4-三甲基戊烷分别稀释至两个 100 mL 的容量瓶中，然后进行连续稀释。容量瓶和移液管均为 A 级。协议中低含量目标化合物的标准浓度范围是 1.6 至 40 ng/mL。在两个色谱柱进样 0.5 µL 时，低含量目标化合物的柱上上样范围是从 0.4 至 10 pg。

使用 Y 型分流器的色谱柱安装提示

在切割管线之前，将具有外部涂层的熔融石英管，插入具有聚酰亚胺密封树脂薄膜的 Y 型分流器以完成 Y 型分流器的安装。然后在管线涂层的部分进行切割。然后用 20 倍放大镜检查切割端，确保切割干净且过量的密封剂没有扩散到色谱柱内。一但完成了干净的切割，就将外部具有聚酰亚胺密封剂的熔融石英管插入所需的 Y 型分流器支管中，并保持大约 45 秒钟进行密封。通过观察在连接点周边的密封剂细圈来确定密封是否良好。这个过程首先用分析柱进行，然后将 Y 型分流器的主干重新插入保留间隙管。这种方法使连接紧密可靠，可轻松保持超过 2 个月之久（到目前为止）和数百次的柱温箱程序升温周期。

结果与讨论

这个应用始于 Wool 和 Decker 开发的使用氢载气和 0.18 mm 高效色谱柱对 CLP 农药分析的一组条件。使用氢载气和流速程序, 能够在 7 分钟内完成 CLP 农药的初步分离和确认分析。为了将方法转换为使用氦载气的方法，用氢载气分离方法的色谱参数被作为初始值输入到方法转换软件中。在实验室中选用氦载气而不用氢载气是由于场地安全政策或个人偏好。高效气相色谱柱给色谱工作者使用氦或氢载气提供了选择，而且仍可实现较快的分析。

Wool 和 Decker [3] 在他们的报告中指出如果用于分析高基质的样品，有必要经常修整色谱柱，这主要是因为 0.18 mm 色谱柱的样品容量较低。本实验中，一个 5 m 长 0.25 mm 内径的保留间隙柱和 Y 型接头安装在分析色谱柱的前端，帮助其弥补相对较大孔径毛细管色谱柱而言减少了的样品容量。使用保留间隙柱也将使分析色谱柱避免有害的基质效应，延长色谱柱的有效使用寿命。

安捷伦的方法转换软件简化了从已建立的实验室气相色谱方法到适合于高效气相色谱柱的相应条件的转换。原方法的色谱条件与新色谱柱尺寸一起被输入软件的菜单驱动表中。软件随后为转换后生成的方法包括所有新的色谱设定值的表格。软件生成的转换后方法的新的设定值通常足以满足一个方法的成功转换。

在方法转换软件中可使用三种基本方法转换的模式：仅转换，最高柱效和快速分析。“仅转换”模式根据在 Van Deemter 曲线上的相对位置、分离程度和流出顺序生成一组非常类似原方法的条件。“最高柱效”模式生成一组优化柱效的条件。“快速分析”模式生成一组优化分析速度的条件。经过几次按键和反复运行软件，可快速开发针对某个特定应用的方法。

软件在将方法从使用一种载气转到另一种载气时非常有用。通过输入原方法的设定值、新色谱柱的尺寸和所需的载气，从使用一种载气的原方法到使用另一种载气的方法之间的转换就可完成。软件随后为转换后的方法生成新色谱柱和载气的设定值。关于安捷伦方法转换软件的其它信息，请浏览链接：http://www.chem.agilent.com/cag/servsup/usersoft/files/GCTS.htm。

流速设定程序没有出现在方法转换软件中，所以为了获得所需结果，可能需要对流速参数进行微调。当要转换需要设定流速程序的方法时，在原参数表中输入初始流速或中间流速，在转换后方法的参数表中显示流速对其它参数输出的影响。然后操作者能够在几个不同的流速下采集数据，选择最好的一组数据进行应用。

在这个 CLP 农药分析的例子中，初始的方法使用氢载气和流速设定程序。初始的流速参数与新色谱柱尺寸和指定的氦载气一起输入到方法转换软件中。软件中选用仅转换模式，在图 1 中显示转换后方法的设定值。

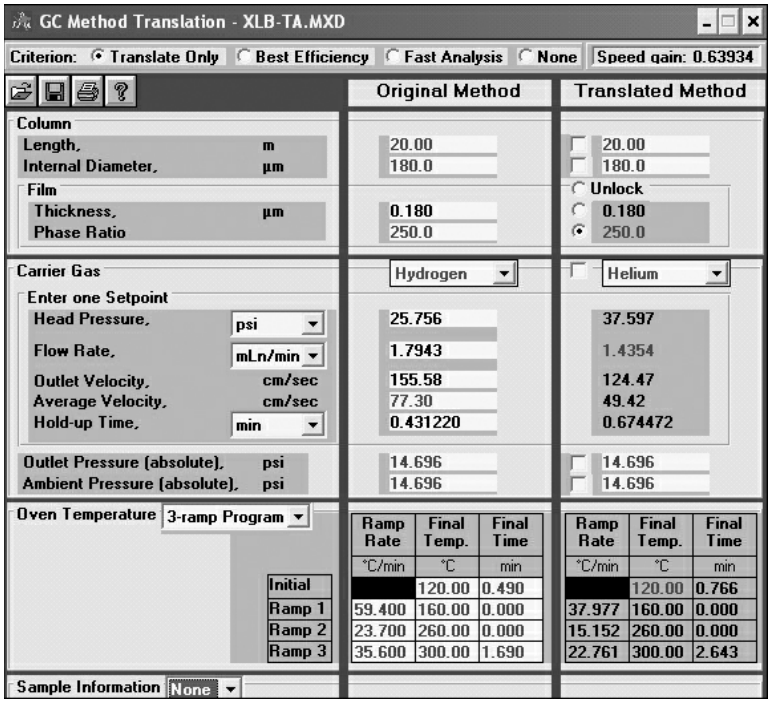

图 1. 使用仅转换模式的方法转换

图 2 显示了在 DB-17ms 色谱柱上使用方法转换软件的仅转换模式中产生的 CLP 农药的分离结果。可以看到在 DB-17ms 色谱柱上所有 22 个化合物都得到基线分离，然而在 DB-XLB 色谱柱上出现由 γ-氯丹，α-氯丹和硫丹 I 组成的部分分离的三重峰（图 3）。这个部分分离的三重峰在使用氢载气和 DB-XLB 柱的原方法中也被观察到。

表 3 是色谱图中众多色谱峰的标准化合物列表。在使用氦载气的新转换方法中，分离程度和流出顺序等分离特性正如它们在原中一样被准确的保持。原被成功的转换，不需要额外的方法开发。

然而，在 DB-XLB 上使用原方法观察到的未分离的三重峰在转换后的方法中仍旧未分离。方法开发要做的其它尝试集中在用 DB-XLB 确认色谱柱分离部分分离的三重峰并缩短分析时间上。虽然取得了一些成功，但是三重峰中拖尾的两个色谱峰在 DB-XLB 的确认色谱柱上仍是部分分离，而分析时间缩短到 11 分钟。DB-17ms 色谱柱通过这些实验分离了协议中所有的组分（图 4）。尽管 DB-XLB 上三重峰的分离度不理想，但是足以用于确认在 DB-17ms 上良好分离的化合物色谱峰。

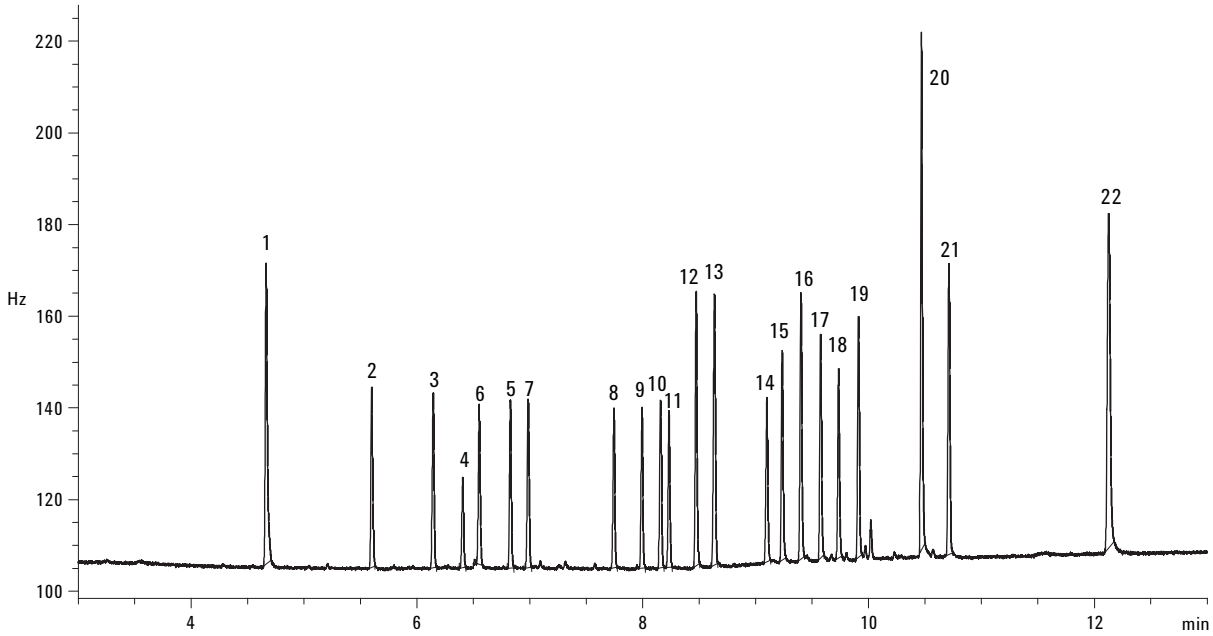

图 2. 在 20 m × 0.18 mm × 0.18 µm 的 DB-17ms（Agilent 部件号 121-4722）上仅转换模式分离（条件如图 1 中），低浓度目标化合物上样 0.4 pg/组分

表 3. CLP 标准化合物检索表

1. 四氯-间-二甲苯
2. α-六六六
3. γ-六六六
4. β-六六六
5. δ-六六六
6. 庚氯
7. 艾氏剂
8. 七氯环氧
9. γ-氯丹
10. α-氯丹
11. 硫丹 I
12. 4,4′ DDE
13. 狄氏剂
14. 异狄氏剂
15. 4,4′ DDD
16. 硫丹 II
17. 4,4′ DDT
18. 异狄氏剂醛
19. 硫丹硫酸酯
20. 甲氧 DDT
21. 异狄氏剂酮
22. 十氯联苯

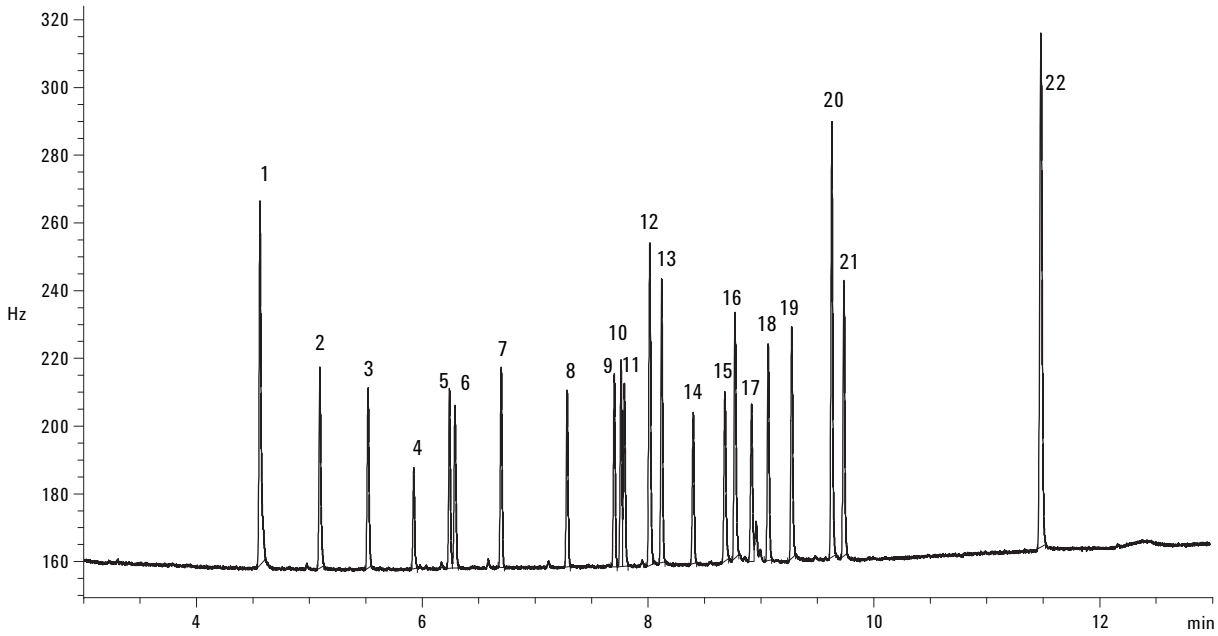

图 3. 在 20 m × 0.18 mm × 0.18 µm 的 DB-XLB（Agilent 部件号 121-1222）上仅转换模式分离（条件如图 1 中），低浓度目标化合物上样 0.4 pg/组分

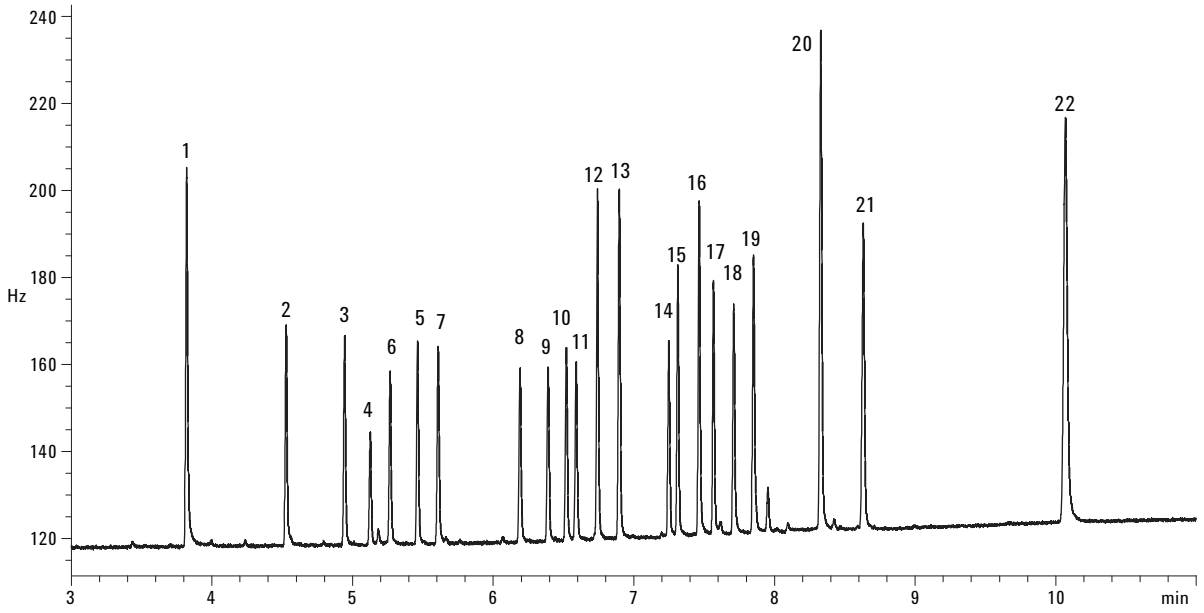

图 4. 在 20 m × 0.18 mm × 0.18 µm 的 DB-17ms（Agilent 部件号 121-4722）上优化分离（条件如表 1 中），低浓度目标化合物上样 0.4 pg/组分

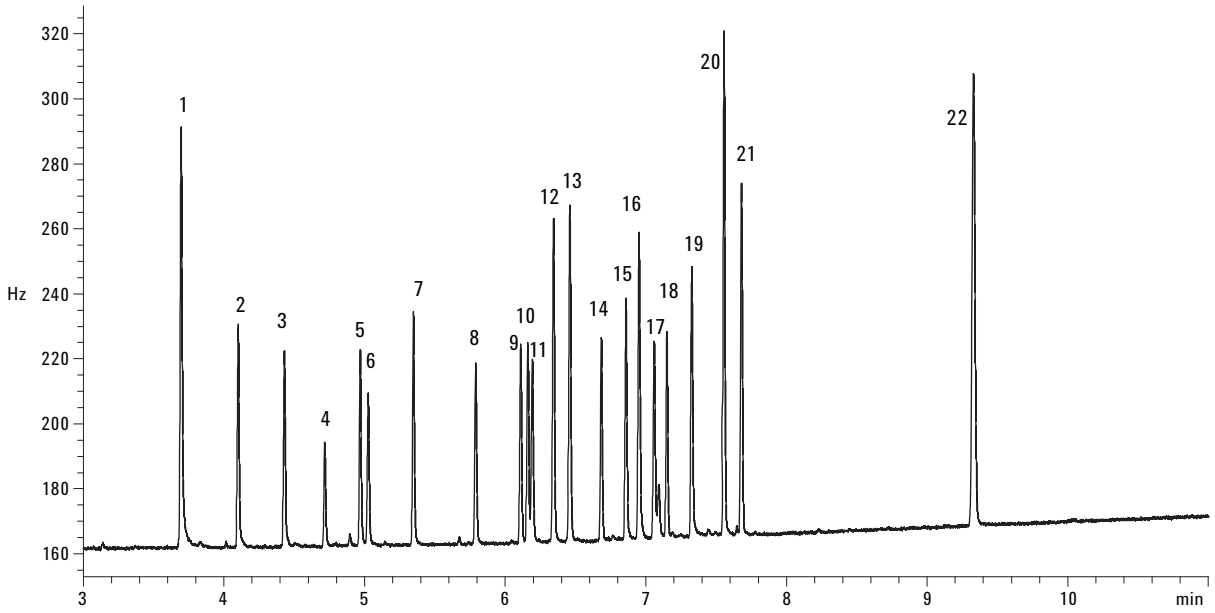

图 5. 在 20 m × 0.18 mm × 0.18 µm 的 DB-XLB（Agilent 部件号 121-1222）上优化分离（条件如表 1 中），低浓度目标化合物上样 0.4 pg/组分

检测器灵敏度和线性

为使低含量目标化合物每个组分的柱上进样量达到 0.4 pg，将进样 0.5 µL 的样品分流到两个色谱柱上。这些数据意味着检测限至少低一个数量级是可能的。使用微池电子捕获检测器对这些化学组分进行的灵敏度和线性测定支持了这个论断。这里研究的分析浓度范围是从 1.6 至 40 ng/mL。这个范围满足协议中 16 倍低到高校验标准的要求，并且只是检测器动态范围的中间部分。表 3 显示了 DB-17ms 的分离，低含量组分的上样量是 0.4 pg。表 6 显示相同的分离，只是每个相同组分进样 10 pg。

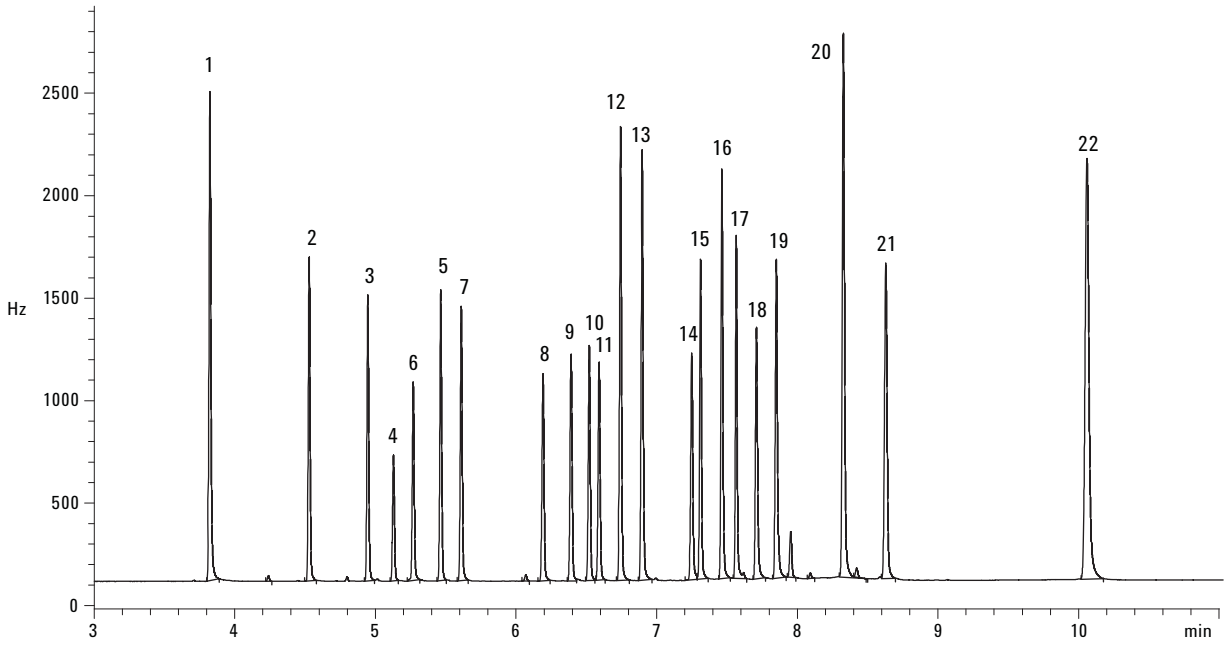

图 6. 在 20 m × 0.18 mm × 0.18 µm 的 DB-17ms（Agilent 部件号 121-4722）上优化分离（条件如表 1 中），低浓度目标化合物每组分上样 10 pg

结论

使用氦载气在 11 分钟内完成了分离和确认 GLP 农药协议中全部 22 个组分。这些结果证明了 0.18 mm 内径高效气相色谱柱用于 CLP 农药分析的能力。在 1.6 - 40 ng/mL 浓度范围内使用 0.5 µL 农药标准溶液进样可以获得很好的结果。这些结果轻松符合协议中 16 倍高/低动态范围的要求，而且表明使用这些 0.18 mm 色谱柱可以将这个范围扩展到更低和更高的浓度。

这些色谱柱与标准气相色谱仪完全兼容，使用氦载气建立了成功的分离。使用这些色谱柱在程序升温高温（300 °C）的操作压力是 50 psi，完全在标准气相色谱仪的操作压力范围内。

方法转换软件成功地将使用氢载气的原方法转换至使用氦载气的新方法。原方法的分离特性，例如流出顺序和分离程度等，在转换后的方法中准确匹配。这个实验再次用于验证使用软件进行方法转换的简捷性。除非希望在原方法的分离性能基础上改进转换后的新方法，否则不需要再对新方法做进一步方法开发。

参考资料

1. 下载安捷伦方法转换软件，请访问以下链接：http://www.chem.agilent.com/cag/servsup/usersoft /files/GCTS.htm.
2. C. George，“使用高温 DB-35ms 和 DB-XLB 色谱柱快速分析 CLP 农药”，应用记录 5988-4973EN，2001 年 12 月 18 日
3. L. Wool 和 D. Decker，“实用的快速气相色谱法用于合同实验室项目的农药分析”，*色谱科学*，第 40 卷，2002 年 9 月
4. L. Chang, M. S. Klee 和 J. Murphy，“使用安捷伦 6890 系列气相色谱仪和微电子捕获检测器确认分析美国环保署 CLP 靶向有机氯农药”应用记录 5966-3742E，1998 年 2 月

更多信息

有关安捷伦产品和服务的更多信息，浏览网站 www.agilent.com/chem/cn。

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦对本资料中出现的错误，以及由于提供或使用本资料所造成的相关损失不承担责任。

本应用中的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技公司，2008

中国印刷
2008 年 1 月 16 日
5989-7818CHCN



Agilent Technologies