

使用 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统对环境空气中的醛酮化合物进行高效分析

作者

张婷婷, 杨新磊, 鲁锐
 安捷伦科技(中国)有限公司

摘要

在 Agilent 1290 Infinity II 二元液相色谱系统上, 配置 Agilent Poroshell 120 SB-C18, 3.0 × 150 mm, 2.7 μm 色谱柱对空气中 13 种醛酮化合物的 DNPH 衍生物进行准确定量分析。该方法采用乙腈和水溶液(含四氢呋喃)作为流动相, 在梯度条件下不仅使 13 种醛酮化合物均得到最佳的分离, 还令标准品中的杂质峰也获得了较好的分离。该方法操作方便, 灵敏度高, 具有良好的线性和极佳的精密度, 可准确测定实际空气中的各种醛酮化合物含量。

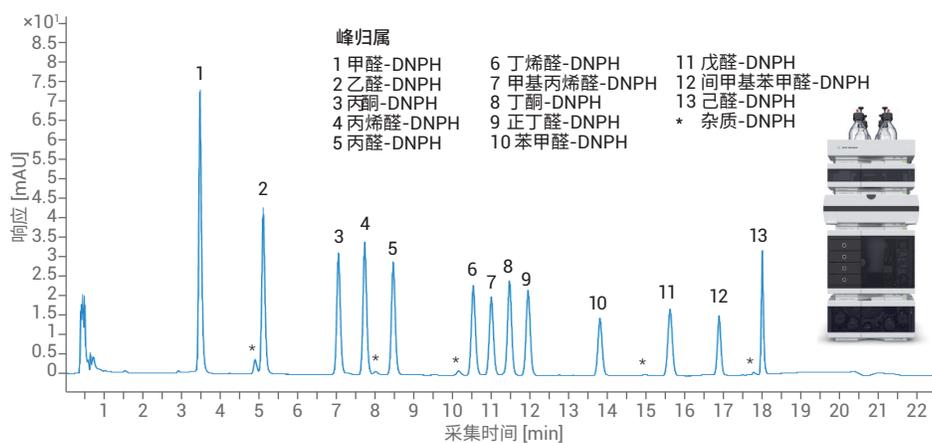


图 1. 利用 HPLC 分析 13 种醛酮化合物的 DNPH 衍生物所得到的色谱图 (色谱柱: Poroshell SB-C18, 3.0 × 150 mm)

前言

随着全世界工业水平的迅猛发展，我们所处的环境深受各种污染物的威胁。醛酮类化合物作为一类空气和土壤污染物，对环境和人体健康具有很大危害。国内外颁布的多项环境法规已将多种醛酮类化合物列入重点控制的有毒有害污染物清单中，要求监测并控制环境中醛酮类化合物的分布和污染情况。

由于醛酮化合物本身的化学结构决定其具有高挥发性和反应活性，因此选择 2,4-二硝基苯肼 (DNPH) 对此类化合物进行衍生以生成稳定的腙类衍生物，然后进样至高效液相色谱系统中进行分析。

本文建立了一种便捷分析 13 种醛酮化合物的 HPLC 方法。该方法在水和乙腈梯度条件下加入四氢呋喃，不仅使所有 13 种醛酮化合物均得到最佳的分离 ($R > 2.0$)，而且能够使标准品中的几种常见干扰杂质得到良好的分离，从而准确定量分析实际样品中的醛酮化合物。

实验部分

试剂和样品

四氢呋喃 (THF, UV-HPLC-GPC 级, 不含抗氧化剂) 购自上海安谱实验科技股份有限公司; 乙腈为 HPLC 级, 购自 J.T. Baker 公司 (美国)。高纯水来自 Milli-Q 纯水系统 (美国), 现用现制。标准品储备液 (13 种醛酮化合物-DNPH) 由环境客户提供; 醛酮样品 1 和 2 由环境客户提供并完成前处理过程。

样品前处理

依据《HJ 683-2014 环境空气 醛、酮类化合物的测定 高效液相色谱法》^[1] 的样品前处理步骤进行前处理。采集环境空气中的醛酮类化合物, 使用涂覆有 2,4-二硝基苯肼 (DNPH) 的采样管采集一定体积的空气样品。样品中的醛酮类化合物在强酸催化下与涂覆在硅胶上的 DNPH 发生反应, 生成稳定的有色腙类衍生物。经乙腈洗脱后, 将定容后的洗脱液用 0.22 μm 有机针头过滤器过滤, 转移到 2 mL 棕色样品瓶中待测。

表 1. 本应用简报中分析的醛酮类化合物-DNPH

| 序号 | 名称 |
|----|-------------|
| 1 | 甲醛-DNPH |
| 2 | 乙醛-DNPH |
| 3 | 丙酮-DNPH |
| 4 | 丙烯醛-DNPH |
| 5 | 丙醛-DNPH |
| 6 | 丁烯醛-DNPH |
| 7 | 甲基丙烯醛-DNPH |
| 8 | 丁酮-DNPH |
| 9 | 正丁醛-DNPH |
| 10 | 苯甲醛-DNPH |
| 11 | 戊醛-DNPH |
| 12 | 间甲基苯甲醛-DNPH |
| 13 | 己醛-DNPH |

仪器和设备

采用最高耐压达 1300 bar 的 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统, 该系统由以下模块组成:

- Agilent 1290 Infinity II High Speed Pump 梯度泵 (部件号 G7120A)
- Agilent 1290 Infinity II Multisampler 自动进样器 (部件号 G7167B)
- Agilent 1290 Infinity MCT 柱温箱 (部件号 G7116B)
- Agilent 1290 Infinity II DAD 二极管阵列检测器 (部件号 G7117B)

利用 Agilent OpenLab CDS 2.4 软件进行仪器控制和数据分析。

分析条件

HPLC 色谱条件如表 2 所示。

表 2. HPLC 色谱条件

| | | | |
|-----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| 色谱柱 | Agilent Poroshell 120 SB-C18, 3.0 × 150 mm, 2.7 μm, 部件号 683975-302 (T) | Agilent Poroshell 120 EC-C18, 2.1 × 50 mm, 2.7 μm, 部件号 699775-902 | Agilent Poroshell 120 SB-C18, 2.1 × 100 mm, 2.7 μm, 部件号 685775-902 |
| 柱温 | 35 °C | | |
| 进样量 | 2 μL | | |
| 流速 | 1.0 mL/min | 0.5 mL/min | 0.5 mL/min |
| 检测器 | DAD, 360 nm | | |
| 流动相 | A: 水溶液 (含 12% THF) B: 乙腈 梯度程序: 时间/min B/% 0 25 1 25 15 45 17 70 19 70 19.1 25 24 25 | A: 水溶液 B: 乙腈 (含 25% THF) 梯度程序: 时间/min B/% 0 33 1 33 17 64 17.1 80 18 80 18.1 33 24 33 | |

校准曲线绘制

利用浓度范围为 0.1–10 μg/mL 的 13 种醛酮化合物-DNPH 的校准标样, 对各浓度下的平均峰面积对分析物浓度作图, 得到校准曲线。

结果与讨论

HPLC 分析醛酮化合物-DNPH 的条件优化

色谱柱选择

目前种类繁多的液相色谱柱为方法开发和优化提供了更多的选择。本研究选择三根色谱柱: Poroshell EC-C18, 2.1 × 50 mm (图 2)、Poroshell SB-C18, 2.1 × 100 mm (图 3) 和 Poroshell SB-C18, 3.0 × 150 mm (图 1)。在前面两种色谱柱 (柱长分别为 5 cm 和 10 cm) 上, 醛酮化合物-DNPH 能够在较短的时间 (分别为 9 min 和 12 min) 内获得基线分离, 结果满足 HJ683-2014 的要求, 且有助于大大提升实验室的分析效率。在第三根色谱柱 (柱长 15 cm) 上, 分析物在 19 min 内完全分离, 且醛酮化合物标准品中自带的一些杂质与目标化合物也获得了较好的分离, 为准确测定实际样品中醛酮化合物的含量提供了保障。

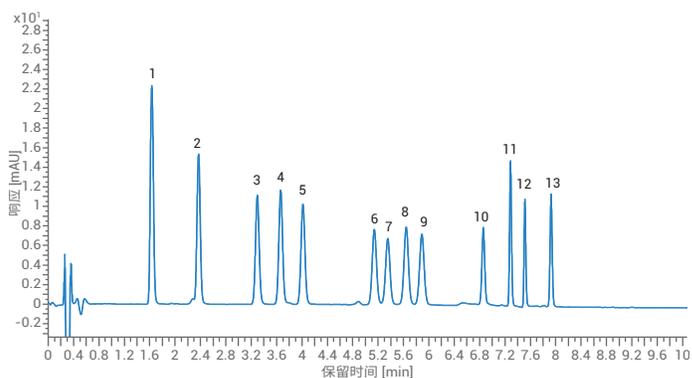


图 2. 醛酮类化合物-DNPH 在 Poroshell EC-C18, 2.1 × 50 mm 色谱柱上的色谱图 (峰归属如图 1 所示)

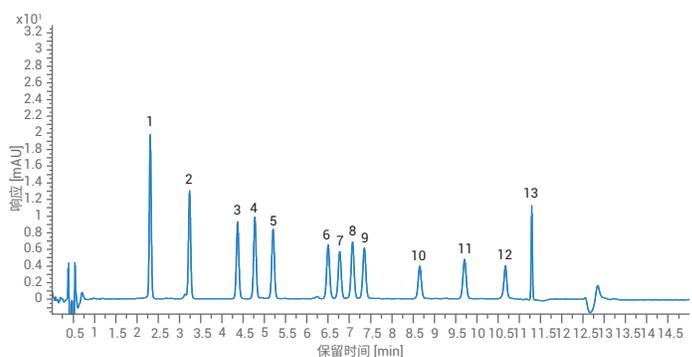


图 3. 醛酮类化合物-DNPH 在 Poroshell SB-C18, 2.1 × 100 mm 色谱柱上的色谱图 (峰归属如图 1 所示)

流动相条件

关于醛酮类化合物-DNPH 的分析, 已有较多的 HPLC 和 UHPLC 文献和标准方法。选择水和乙腈为流动相进行梯度分析^[2], 难以实现全部化合物的基线分离。采用水和丙酮作为流动相进行梯度洗脱, 能够获得非常出色的分离结果^[3, 4], 但是丙酮对环境不友好, 且不利于操作人员的身体健康, 国内的采购流程也是非常麻烦。因此, 本研究参考现有文献, 在流动相中加入 THF 以提高分离度。

为了使针对醛酮化合物-DNPH 的分析方案具有普适性, 选择两相系统, 分别考察在水相或者乙腈中加入 THF 对分离结果的影响。在水相中加入 12% THF 与乙腈进行梯度洗脱时, 醛酮化合物获得了出色的分离 (如表 3 所示)。在乙腈中加入 25% THF 与水进行梯度洗脱时, 中间四种化合物分离度没有在水相中加 THF 高。最后选择 THF 加水相的流动相条件。

表 3. 比较 THF 分别加到水相或者乙腈中对分离结果的影响

| 分离度 R | THF 加水相 | THF 加乙腈 |
|--------|---------|---------|
| 甲醛 | - | - |
| 杂质 | 12.2 | 11.6 |
| 乙醛 | 1.4 | 1.3 |
| 丙酮 | 15.1 | 14.3 |
| 丙烯醛 | 4.2 | 4.2 |
| 丙醛 | 5.0 | 4.6 |
| 丁烯醛 | 12.7 | 11.6 |
| 甲基丙烯醛 | 3.0 | 2.5 |
| 丁酮 | 2.3 | 2.3 |
| 正丁醛 | 2.8 | 2.6 |
| 苯甲醛 | 10.6 | 9.0 |
| 戊醛 | 9.1 | 9.1 |
| 间甲基苯甲醛 | 6.2 | 5.6 |
| 己醛 | 9.0 | 10.8 |

优化后的色谱条件

综合以上 HPLC 分析条件的优化结果，确定的最佳色谱条件为：色谱柱 Poroshell SB-C18, 3.0 × 150 mm，流动相为水（含 12% THF）与乙腈梯度，柱温 35 °C。

保留时间和峰面积的精密度

表 4 显示了醛酮化合物重复进样 6 次所得到的平均保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD) 值。保留时间 RSD ≤ 0.03%，峰面积 RSD ≤ 1%，表明该方法具有出色的重现性和系统精密度。

表 4. 保留时间和峰面积的精密度 (n = 6)

| 化合物 | 保留时间 RSD (%) | 峰面积 RSD (%) |
|--------|--------------|-------------|
| 甲醛 | 0.029 | 0.602 |
| 乙醛 | 0.024 | 0.263 |
| 丙酮 | 0.024 | 0.696 |
| 丙烯醛 | 0.024 | 0.604 |
| 丙醛 | 0.021 | 0.528 |
| 丁烯醛 | 0.016 | 0.494 |
| 甲基丙烯醛 | 0.014 | 0.269 |
| 丁酮 | 0.016 | 0.804 |
| 正丁醛 | 0.015 | 0.734 |
| 苯甲醛 | 0.015 | 0.631 |
| 戊醛 | 0.006 | 0.599 |
| 间甲基苯甲醛 | 0.004 | 0.438 |
| 己醛 | 0.003 | 0.460 |

检测限和定量限

将信噪比 (S/N) > 3 时的最低浓度定义为检测限 (LOD)，将 S/N > 10 时的浓度定义为定量限 (LOQ)。醛酮化合物的 LOD 和 LOQ 的结果如下表 5 所示。

表 5. 醛酮化合物-DNPH 的 LOD 和 LOQ

| 化合物 | LOD (pg) | LOQ (pg) |
|--------|----------|----------|
| 甲醛 | 4 | 15 |
| 乙醛 | 8 | 26 |
| 丙酮 | 12 | 39 |
| 丙烯醛 | 11 | 35 |
| 丙醛 | 14 | 45 |
| 丁烯醛 | 22 | 80 |
| 甲基丙烯醛 | 20 | 75 |
| 丁酮 | 18 | 69 |
| 正丁醛 | 19 | 72 |
| 苯甲醛 | 35 | 102 |
| 戊醛 | 24 | 85 |
| 间甲基苯甲醛 | 28 | 96 |
| 己醛 | 16 | 53 |

线性

醛酮化合物-DNPH 的校准曲线（浓度范围 0.1–10 µg/mL）的线性回归分析结果如表 6 所示。从表中可以看出，各种化合物的相关系数 (r) 均高于 0.999，表明该方法在考察的浓度范围内具有良好的线性。

表 6. 浓度范围为 0.1–10 µg/mL 的醛酮化合物-DNPH 的线性关系

| 化合物 | 线性方程 | 相关系数 r |
|--------|-------------------|--------|
| 甲醛 | Y = 85.54X - 8.93 | 0.9991 |
| 乙醛 | Y = 57.95X - 3.20 | 0.9993 |
| 丙酮 | Y = 47.24X - 2.40 | 0.9993 |
| 丙烯醛 | Y = 51.44X - 2.71 | 0.9993 |
| 丙醛 | Y = 46.24X - 2.60 | 0.9993 |
| 丁烯醛 | Y = 39.85X - 2.31 | 0.9993 |
| 甲基丙烯醛 | Y = 34.31X - 1.71 | 0.9993 |
| 丁酮 | Y = 41.79X - 2.23 | 0.9993 |
| 正丁醛 | Y = 38.15X - 2.01 | 0.9993 |
| 苯甲醛 | Y = 26.47X - 1.72 | 0.9992 |
| 戊醛 | Y = 32.66X - 1.87 | 0.9993 |
| 间甲基苯甲醛 | Y = 22.51X - 1.47 | 0.9992 |
| 己醛 | Y = 28.05X - 1.75 | 0.9992 |

实际样品分析

按照 HJ683-2014 对环境空气中的醛酮化合物进行采集，经乙腈洗脱后，使用 1290 Infinity II 二极管阵列检测器进行检测。利用保留时间进行定性，并用峰面积进行定量。结果发现，实际样品中最后一个峰与乙醛色谱峰保留时间接近，但存在微小差异，进一步通过全波长扫描发现该化合物并非己醛。

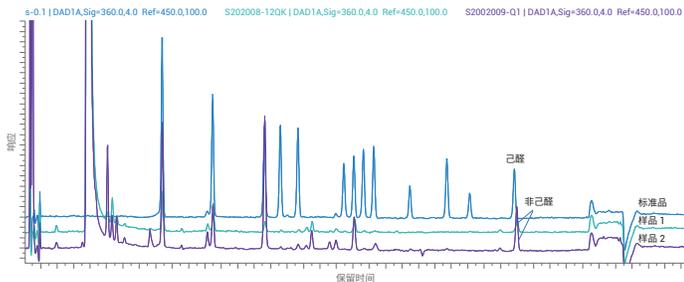


图 4. 实际环境空气样品的色谱图

结论

本文参考针对 13 种醛酮化合物的现有分析方法和 HJ683-2014 标准方法，优化了流动相梯度条件，并考察了不同规格的色谱柱对分离的影响。以 Poroshell 120 SB-C18 色谱柱为例，采用水 (12% THF) 和乙腈作为梯度洗脱液，可以使醛酮化合物-DNPH 获得出色的分离 ($R > 2.0$)，并使标准品中自带的杂质得到较好的分离。该方法具有较高的检测灵敏度和良好的精密度。在实际样品检测中，借助保留时间的微小差异，可有效避免产生假阳性结果。

参考文献

1. HJ 683-2014 环境空气 醛、酮类化合物的测定 高效液相色谱法
2. Rong-jie Fu. 应用 Agilent InfinityLab Poroshell 120 色谱柱实现现代化 HPLC 方法. 使用 Poroshell 120 SB-C18 色谱柱分析羰基-DNPH 衍生物，样品通量提高三倍. 安捷伦科技公司应用简报，出版号 5994-1809ZHCN, 2020
3. Steffen Wiese; Thorsten Teutenberg. 使用 Agilent 1290 Infinity 液相色谱系统和 Agilent ZORBAX StableBond HD 色谱柱开发针对醛和酮的高通量方法. 安捷伦科技公司应用简报，出版号 5990-5793CHCN, 2011
4. Sonja Schneider. Analysis of DNPH-derivatized Aldehydes and Ketones using the Agilent 1220 Infinity LC System with Diode Array Detector (使用配备二极管阵列检测器的 Agilent 1220 Infinity 液相色谱系统分析 DNPH 衍生的醛类和酮类). 安捷伦科技公司应用简报 5991-1545EN, 2016

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



微信搜一搜

安捷伦视界

www.agilent.com

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更,恕不另行通知。

© 安捷伦科技(中国)有限公司, 2021
2021年1月8日, 中国出版
5994-2963ZHCN

