

Torus DEA色谱柱极性农药分离入门指南

注：Torus DEA色谱柱的生产和QC测试都是针对超临界色谱分析进行的，而非极性农药的亲水作用色谱分离。

目录

- I. 简介
- II. 入门指南
- III. 分析方法
 - a. 试剂制备
 - b. LC 条件
 - c. 质谱仪参数
- IV. 故障排除
- V. 其它极性分析物的应用

I. 简介

首先，非常感谢您选择 Torus™ DEA 色谱柱。为确保该色谱柱成功用于极性农药分析，本指南介绍了有关系统清洗、色谱柱启用以及色谱柱清洗的详细步骤。

采用此特定色谱柱、Waters ACQUITY® UPLC® I-Class系统和Xevo® TQ-XS质谱仪并结合下述参数分析草甘膦及其相关化合物(如图1所示)。

如未采用本指南中所指定的分离条件和仪器配置，则色谱分析性能和重现性无法保持。

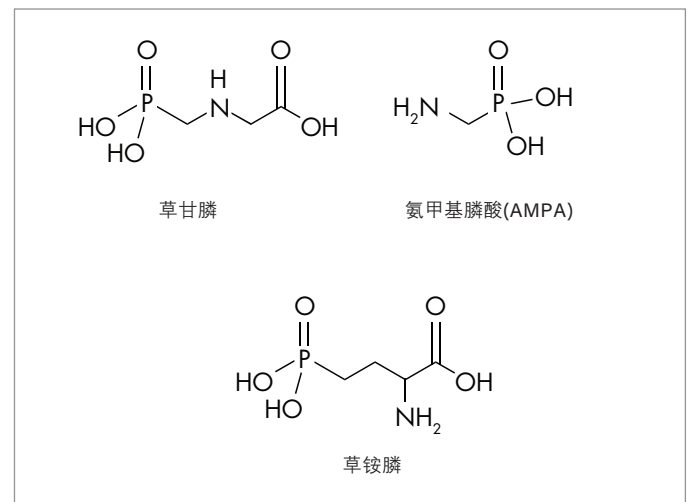


图1.草甘膦、氨基磷酸(AMPA)和草铵膦的化学结构。

色谱柱	固定相	颗粒形状	粒径 (μm)	孔径 (\AA)	孔体积 (cc/g)	表面积 (m^2/g)	封端
Torus DEA	二乙胺	球形	1.7	130	0.7	185	专利

分析草甘膦等极性农药时，需要先用初始流动相冲洗色谱柱并进行平衡，以得到可重现结果。本指南详细介绍了使用 Torus DEA 色谱柱分析极性农药时所需的色谱柱流动相、色谱柱平衡条件和分离条件。这些条件适用于 2.1 mm x 100 mm 色谱柱配置(部件号186007616)。

II. 入门指南

安装色谱柱前，可能需要先用酸清洗液钝化 LC 系统(详见第 IV 节)以去除金属离子和系统中累积的可与极性农药相互作用的其它干扰物质。分析物的峰形可能会随时间推移而变差，具体取决于样品类型或所用试剂的质量，此时可能需要对系统进行再次钝化。请参阅第 IV 节“故障排除”，了解详细说明。

色谱柱清洁方案

为实现性能保留时间和峰形的稳定，需要按下述步骤对色谱柱进行冲洗、平衡。不按该方案执行可能会导致草甘膦和 AMPA 等强极性化合物峰形较宽(请参阅第 IV 节“故障排除”)。

1. 向管路 A1 注入 50 mM 甲酸铵(pH 2.9)，并向 B1 注入 0.9% 甲酸的乙腈溶液，每条管路灌注 2 min。
2. 用 40 倍柱体积(对于 2.1 x 100 mm 色谱柱，约为 13.8 mL) 的 50:50 A1:B1 以 0.5 mL/min 的流速冲洗 30 min。
3. 向管路 A1 和 B1 注入水，每条管路灌注 4 min。
4. 制备色谱柱清洗溶液 (5 mM Na_2EDTA ，用 80:20 的水:乙腈制备)，如第 IIIa 节所述。
5. 将 LC 液流导入废液，因为 Na_2EDTA 可能会抑制质谱仪信号。
6. 向管路 A1 和 B1 注入清洗溶液，每条管路灌注 6 min。
7. 用 50:50 A1:B1 以 0.5 mL/min 的流速冲洗色谱柱 20 min。

8. 完成后，用水分别灌注溶剂管路 A1 和 B1 3 min。
注：由于分离在亲水作用色谱(HILIC)模式下进行，因此在完成溶剂管路灌注后不允许再有水流经色谱柱。
9. 向管路 A1 注入 50 mM 甲酸铵(pH 2.9)，并向 B1 注入 0.9% 甲酸的乙腈溶液，每条管路灌注 5 min。
10. 按 50:50 A1:B1 以 0.5 mL/min 运行 10 min。
11. 将 LC 液流连至 MS。以初始梯度条件平衡色谱柱，并使压力和温度稳定(压力变化 < 30 psi) 至少 15 min。

III. 分析方法

a. 试剂制备

1. 制备色谱柱清洗溶液 5 mM Na_2EDTA
 - a. 称取 1.86 g 乙二胺四乙酸二钠(Na_2EDTA ; CAS 139-33-3)，然后用 80:20 的水:乙腈定容至 1 L。
 - b. 超声处理上述溶液 5 min。
2. 样品制备
 - a. 溶剂标准品:
草甘膦、AMPA 和草铵膦自供应商。各储备液按 1 mg/mL 的水溶液制备。100 ppb (ng/mL) 的三种化合物混合溶液用含有 0.25 mM Na_2EDTA 的 50:50 乙腈:水溶液制备。
注：由于分离在亲水作用色谱(HILIC)模式下进行，因此不推荐使用 100% 水溶液作为样品稀释剂。进样中应至少含有 50% 的有机溶剂，如乙腈。
3. 流动相制备
 - a. 流动相 A，50 mM 甲酸铵，pH 2.9
 - 1) 称取 3.15 g 甲酸铵 (试剂级或更高级别)，然后向容量瓶中加入 500 mL 水。
 - 2) 超声处理溶液，直至所有甲酸铵溶解。
 - 3) 加入 400 mL 水。

4) 使用磁力搅拌器和经校准的pH计，通过少量添加甲酸将pH调节至2.9加水并定容至1 L。

5) 注：定期制备新鲜缓冲液以防止污染并保持pH始终为2.9，这对获得目标色谱分析效果至关重要。

b. 流动相B，0.9%甲酸的乙腈溶液

- 1) 移取9 mL甲酸加入约800 mL乙腈中。充分混合。
- 2) 添加乙腈，将总体积定容至1 L。

b. LC 条件

LC系统: ACQUITY UPLC I-Class
(配备Flow-Through Needle (SM-FTN))
的样品管理器)

色谱柱: Torus DEA, 1.7 μm, 2.1 x 100 mm

流动相A: 50 mM甲酸铵(pH 2.9)

流动相B: 0.9%甲酸乙腈

强清洗液: 10:90乙腈:水

弱清洗液: 90:10乙腈:水

密封清洗液 10%甲醇水溶液

柱温: 50 °C

样品温度: 10 °C

进样体积: 10 μL

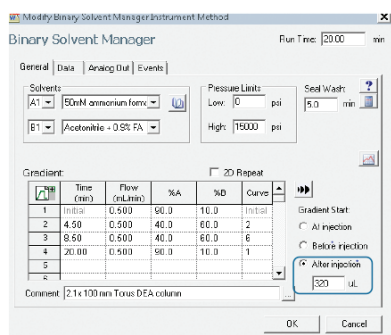
流速: 0.5 mL/min

梯度:*

时间 (min)	流速 (mL/min)	%A	%B	曲线
初始	0.50	10.0	90.0	-
4.50	0.50	60.0	40.0	2
8.50	0.50	60.0	40.0	6
20.0	0.50	10.0	90.0	1

注：在梯度表中，从8.50 min至20.0 min的长时间色谱柱平衡是必须的，这样才能确保保留时间和峰形等色谱分析性能稳定

*如下图所示，进样后存在320 μL的梯度起始延迟。



c. 质谱仪参数

极性农药的质谱设置和MRM通道如下。如存在系统间差异，则需要优化下列参数才能实现最佳性能和灵敏度。

MS 仪器:	Xevo TQ-XS
电离模式:	ESI-
毛细管电压:	2.4 kV
脱溶剂气温度:	600 °C
脱溶剂气流速:	1000 L/hr
离子源温度:	150 °C
喷雾器压力:	7 bar

化合物	通道	锥孔电压 (V)	碰撞能量(eV)
草甘膦	168.0 > 62.9	30	16
	168.0 > 80.9		18
AMPA	110.0 > 62.9	30	15
	110.0 > 80.0		12
草铵膦	179.5 > 95	30	25
	179.8 > 85		16

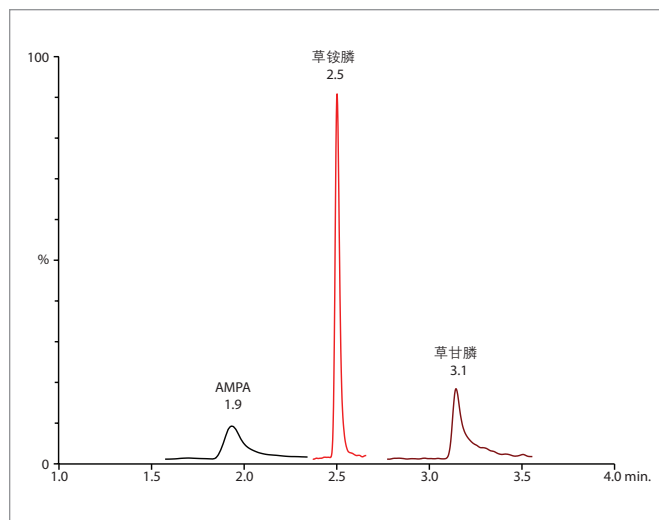


图2.AMPA、草铵膦和草甘膦的色谱分离结果示例，保留时间(min)标于峰顶点。

IV. 故障排除

灵敏度降低或峰形变差

LC系统和色谱柱中的金属离子污染可能会使分析物的峰形在多次进样后受到影响。金属污染会使峰变宽并加重峰拖尾情况，从而导致信号强度下降。

建议按照第II节中的色谱柱入门方案清洁色谱柱。

完成色谱柱清洁步骤后，峰形应得到改善，如图3B所示。如果峰形仍不可接受，则应考虑LC系统中是否存在污染。如需清洁沃特世LC系统，请参阅沃特世文档715001307，[LC-MS系统的污染控制中的“通过清洁消除污染”](#)部分(清洁条件3，使用磷酸清洗液)。

如果您在故障排除或液相色谱系统清洁方面需要更多指导和建议，请联系当地的沃特世代表。对于非沃特世LC系统，请联系相应供应商获取有关液相色谱系统清洁的具体信息。

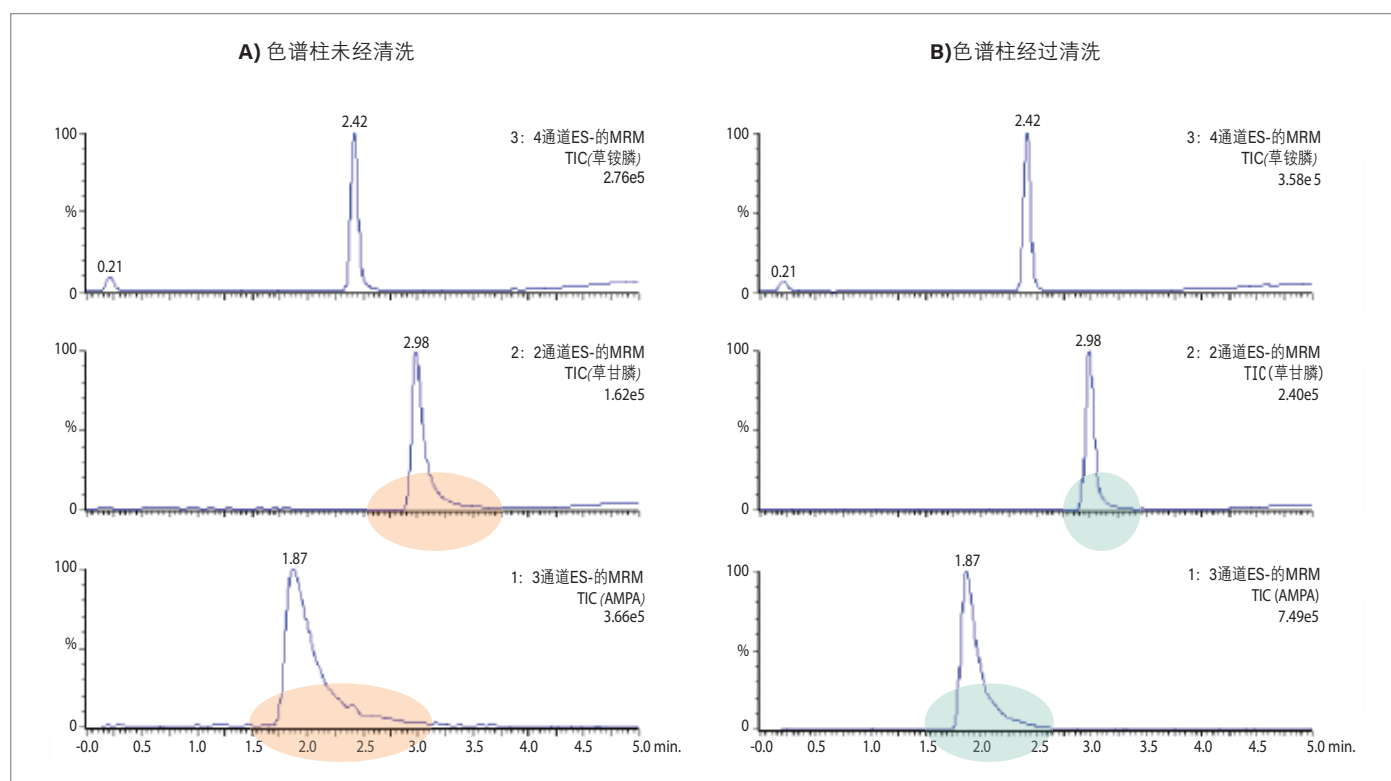


图3.使用EDTA二钠溶液清洗色谱柱的作用。通过使用EDTA二钠冲洗色谱柱，峰拖尾情况得到了改善，如圆形区域所示。(A)色谱柱未经EDTA二钠溶液清洗；(B)色谱柱经过EDTA二钠溶液清洗。

V. 其它极性农药的应用

相同的方法已应用于其它极性农药的分析。

选定分析物的保留时间示例如图4所示。

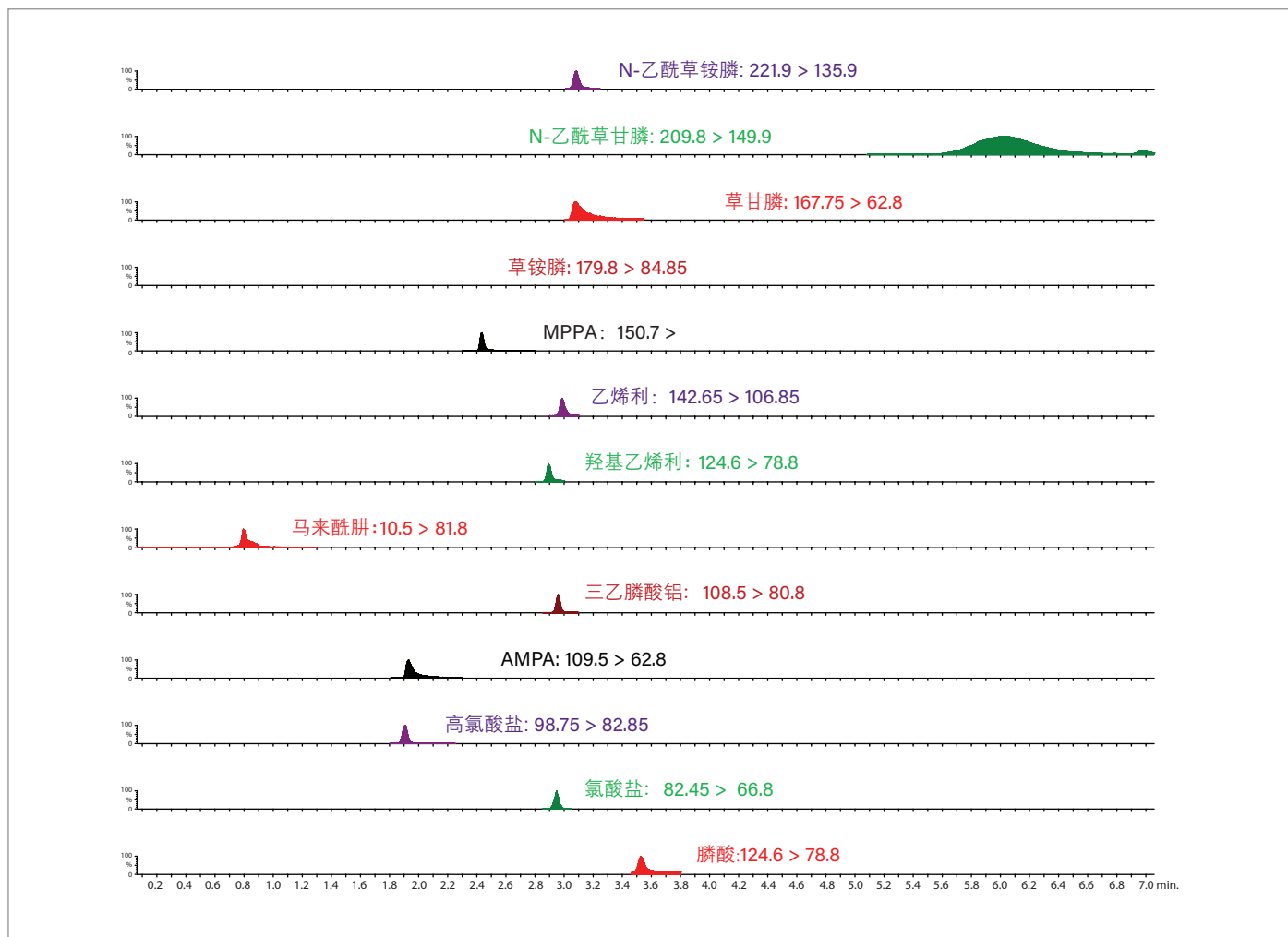


图4.使用Torus DEA色谱柱分析含13种阴离子型极性农药的扩增分析物组所得到的色谱分析结果示例。



扫一扫，关注沃特世微信

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Waters, The Science of What's Possible, UNIFI, Rapi Fluor-MS、ACQUITY和UPLC是沃特世公司的注册商标。其它所有商标均归各自的拥有者所有。

©2018年 沃特世公司。中国印刷。 2018年1月 720006156ZH LM-PDF

沃特世中国有限公司
沃特世科技(上海)有限公司

北京: 010 - 5209 3866
上海: 021 - 6156 2666
广州: 020 - 2829 5999
成都: 028 - 6765 3588
香港: 852 - 2964 1800

免费售后服务热线: 800 (400) 820 2676
www.waters.com