

## 同时分析 12 种焦油色素

01-00137-CN

周 毅婷

### 对用户的好处

- ◆ 可自动生成不同分析条件的序列
- ◆ 定量评估所得分析结果，自动判别最佳条件
- ◆ 可自动切换多个流动相、色谱柱，有效利用夜间和休息日等时间

### 简介

HPLC 分析中，流动相构成和色谱柱的种类对目标组分的保持和分离影响很大。为确定适合目标组分的分析条件，需要探索大量流动相（pH 值、盐浓度、有机溶剂的比例等）和色谱柱（ODS、C8、Phenyl 等），需要花费大量的时间和精力。

通过在一体型 HPLC i 系列中追加流路切换阀，最多可使用 6 种色谱柱，与 4 种流动相组合探索分析条件（方法探索）。

此外，本系统任意比例自动混合流动相的功能，仅通过事先准备好的多种溶剂即可快速探索出适合目标组分的分析条件。

本文将介绍使用 i 系列方法探索系统探索 12 种焦油色素同时分析条件的工作流程。

### 同时分析条件的探索

图 1 所示为 i 系列方法探索系统的外观，图 2 所示为流路图。切换色谱柱的流路切换阀内置于柱温箱内。

表 1 所示为分析条件，表 2 所示为此次分析对象的 12 种焦油色素的化合物名称。色谱柱采用 6 种不同的固定相。流动相采用水相、有机相，分别设置 2 种，使用流动相混合功能分别制备第 3 种。将其进行组合，共使用了 9 种流动相。使用上述 6 种色谱柱和 9 种流动相，自动探索  $6 \times 9 = 54$  种分析条件。



图 1 i 系列方法探索系统的外观

表 1 分析条件	
系统	: LC-2060C 3D
色谱柱	: (1)Shim-pack Scepter™ C18-120 <sup>*1</sup> (50 mm x 3.0 mm I.D., 1.9 μm) (2)Shim-pack Scepter C8-120 <sup>*2</sup> (50 mm x 3.0 mm I.D., 1.9 μm) (3)Shim-pack Scepter Phenyl-120 <sup>*3</sup> (50 mm x 3.0 mm I.D., 1.9 μm) (4)Shim-pack Scepter C4-300 <sup>*4</sup> (50 mm x 3.0 mm I.D., 1.9 μm) (5)Shim-pack Scepter PFPP-120 <sup>*5</sup> (50 mm x 3.0 mm I.D., 1.9 μm) (6)Shim-pack™ GIST C18-AQ HP <sup>*6</sup> (50 mm x 3.0 mm I.D., 1.9 μm)
样品瓶	: 岛津 1.5 ml 样品瓶 <sup>*7</sup>
流动相 A	
含水流动相:	A1: 10 mmol/L 醋酸水溶液 A2: 10 mmol/L 醋酸铵水溶液 A3: A1/A2=50:50 通过混合功能制备醋酸铵缓冲溶液
流动相 B	
有机流动相:	B1: 乙腈 (ACN) B2: 甲醇 (MeOH) B3: B1/B2=50:50 ACN-MeOH 通过混合功能制备
流速	: 0.7 mL/min
柱温	: 40°C
进样量	: 2 μL
检测	: PDA 254 nm
时间程序	: B 浓度 5% (0 min) → 90% (5 min) → 90% (5.01-7 min) → 5% (7.01-10 min)

\*1. P/N: 227-31013-01, \*2. P/N: 227-31034-01

\*3. P/N: 227-31064-01, \*4. P/N: 227-31176-01

\*5. P/N: 227-31054-01, \*6. P/N: 227-30808-01

\*7. P/N: 227-34001-01

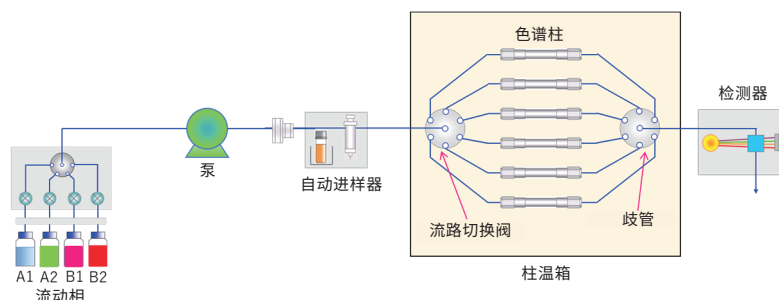


图 2 i 系列方法探索系统的流路图

表 2 12 种焦油色素一览

化合物名称
Y4 (柠檬黄)
R2 (紫红)
B2 (靛蓝胭脂红)
R102 (新胭脂红)
Y5 (日落黄 FCF)
R40 (诱惑红 AC)
G3 (固绿 FCF)
B1 (亮蓝 FCF)
R3 (赤藓红)
R106 (酸性红)
R104 (荧光桃红 B)
R105 (玫瑰红)

## ■ 方法探索解决方案的设定

使用专用方法开发软件创建用于探索的分析方法（批量）。设置界面如图 3 所示。批量创建步骤如下所示。

①选择事先已在数据库中注册的流动相和色谱柱。②设定样品相关信息。③设定梯度模式等分析条件。梯度包括线性梯度、逐步回归等，此次使用线性梯度。④点击批量创建按钮，创建批量文件。使用该批量文件进行分析，可自动探索各种分析条件。

## ■ 探索的色谱图和评估

通过探索得到的色谱图如图 4~ 图 9 所示。R3（赤藓红）中含有杂质，最多检测出 13 个谱峰。

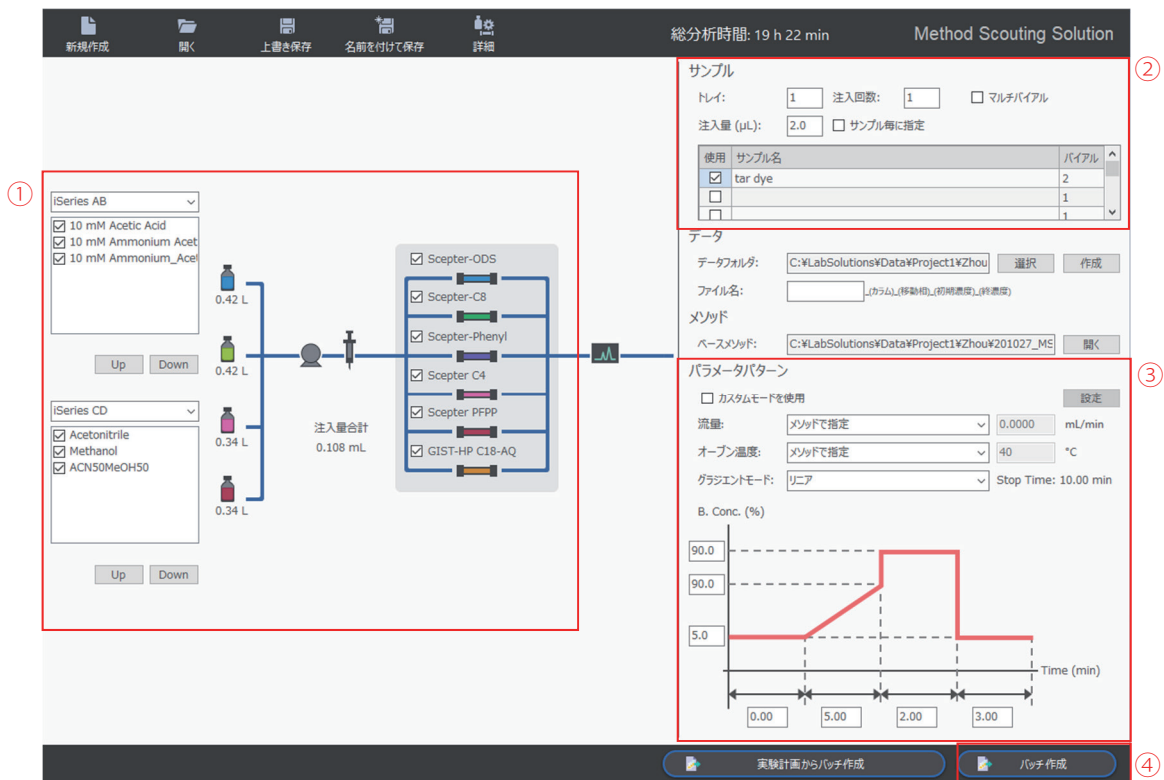


图 3 方法探索解决方案的设置界面

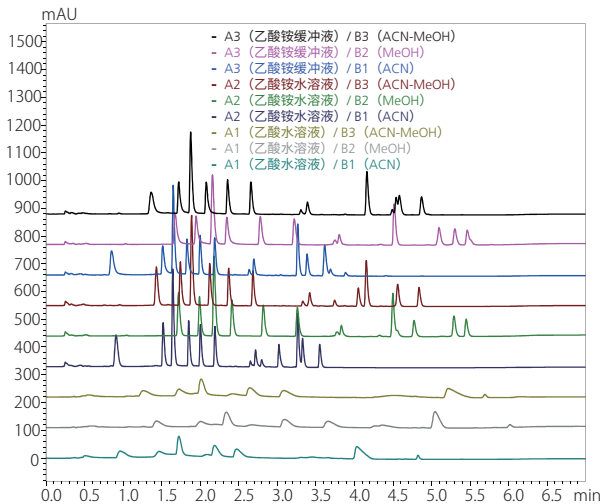


图 4 Shim-pack Scepter C18-120 (1) 的色谱图

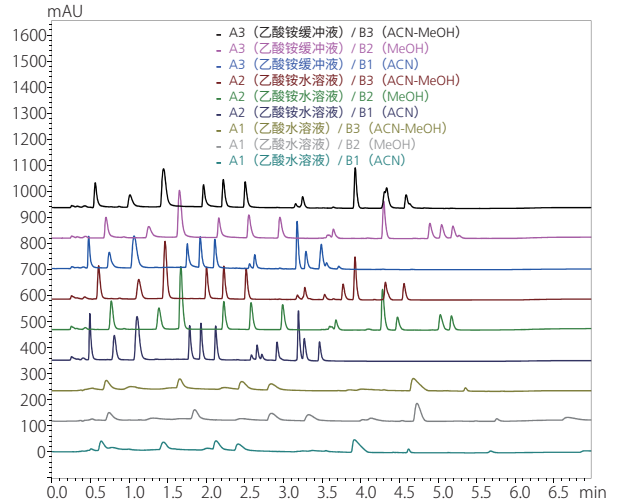


图 5 Shim-pack Scepter C8-120 (2) 的色谱图

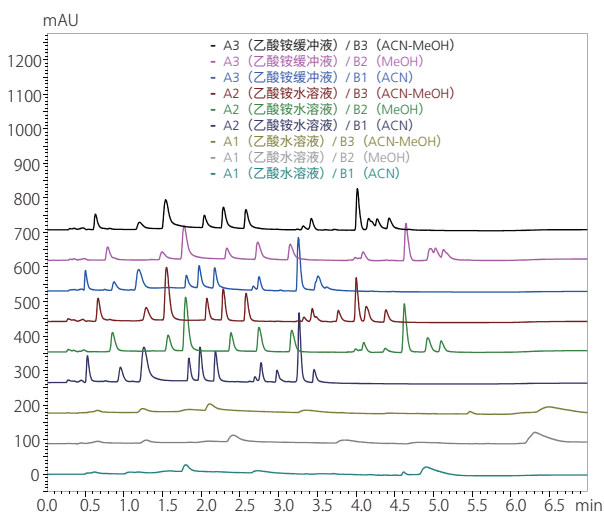


图 6 Shim-pack Scepter 苯基-120 (3) 的色谱图

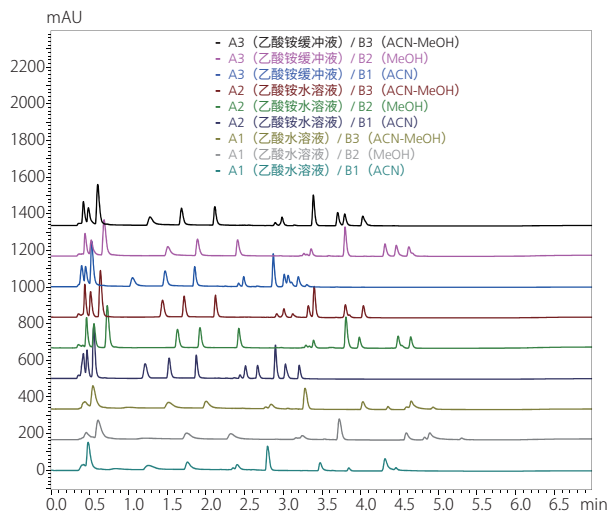


图 7 Shim-pack Scepter C4-300 (4) 的色谱图

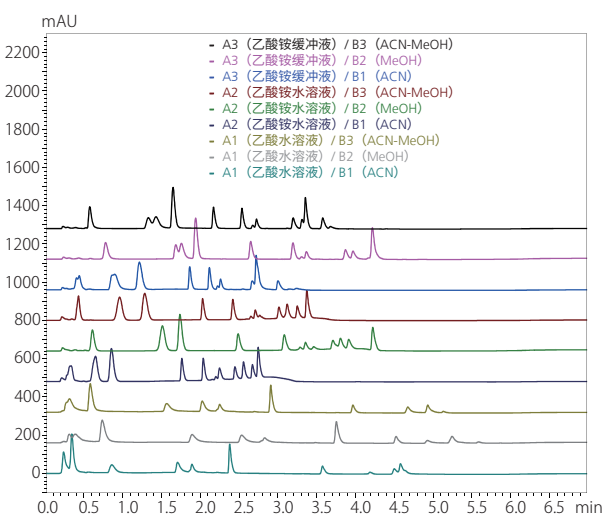


图 8 Shim-pack Scepter PFPP-120 (5) 的色谱图

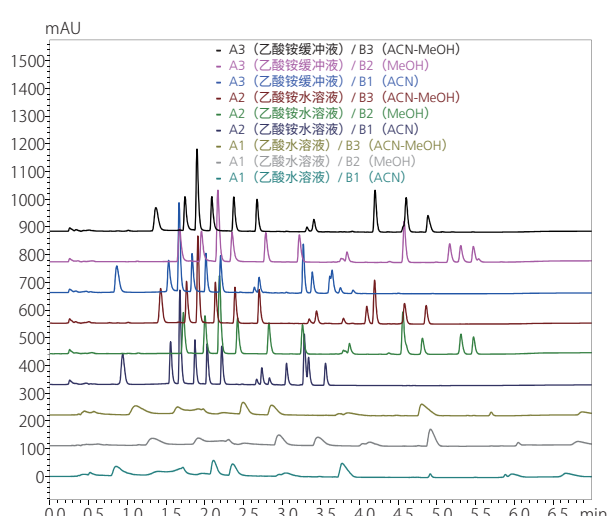


图 9 Shim-pack GIST C18-AQ HP (6) 的色谱图

由于目测难以判定色谱图是否良好，因此使用多数数据报告功能 \* 定量评估目标组分的分离状态。

使用以下公式计算评估值。

$$E = P \times (Rs1 + Rs2 + \dots + RsP)$$

使用谱峰检测数 (P) 和分离度 (Rs, 上限值: 3.0) 之和计算评估值 (E)。

\* LabSolutions™ DB/CS 配备的功能。

图 10 所示为以柱形图表示各条件评估值的结果。评估值越大，柱形图越高，意味着分离越良好。此外，图 11 所示为此次探索的 54 个条件中，评估排名前 10 位的条件。通过这种方式，可定量评估轻松发现最佳的流动相、色谱柱组合。

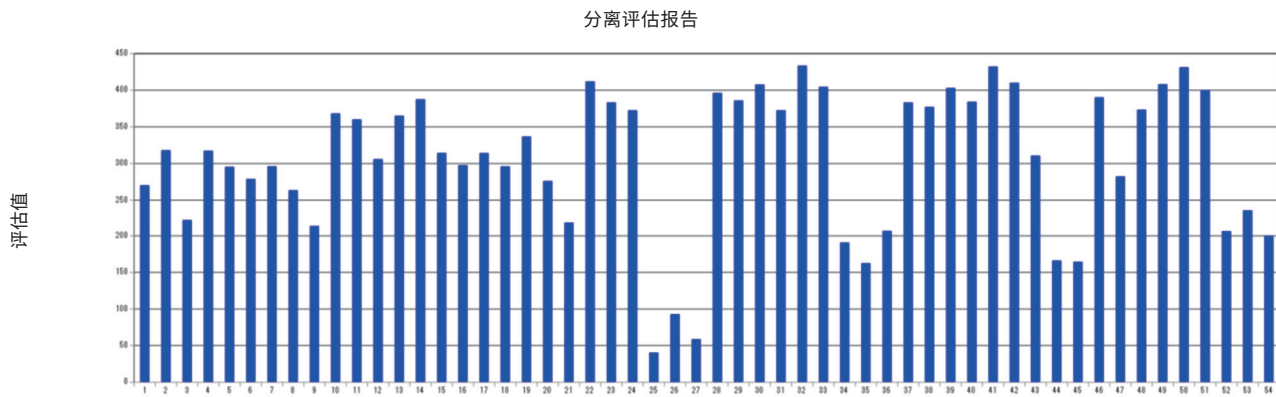


图 10 使用多数数据报告功能评估的各条件评估值图表

## 探索报告总结

排序	数据文件名	评估值	峰数	分离峰数
1	210121_Scepter-ODS_10 mM Ammonium Acetate_ACN50MeOH50_5_90_93.lcd	433.164	13	13
2	210121_Scepter-C8_10 mM Ammonium Acetate_ACN50MeOH50_5_90_96.lcd	431.869	13	12
3	210121_GST-HP C18-AQ_10 mM Ammonium Acetate_ACN50MeOH50_5_90_108.lcd	430.948	13	13
4	210121_Scepter-Phenyl_10 mM Ammonium Acetate_Methanol_5_90_81.lcd	411.636	13	8
5	210121_Scepter-C8_10 mM Ammonium Acetate_Acetonitrile_5_90_60.lcd	409.751	13	13
6	210121_GST-HP C18-AQ_10 mM Ammonium Acetate_Methanol_5_90_90.lcd	407.888	13	9
7	210121_Scepter-ODS_10 mM Ammonium Acetate Buffer_Acetonitrile_5_90_111.lcd	407.288	13	13
8	210121_Scepter-ODS_10 mM Ammonium Acetate_Acetonitrile_5_90_57.lcd	404.318	13	13
9	210121_Scepter-C8_10 mM Ammonium Acetate Buffer_Acetonitrile_5_90_114.lcd	402.741	13	13
10	210121_GST-HP C18-AQ_10 mM Ammonium Acetate_Acetonitrile_5_90_72.lcd	399.946	13	13

图 11 使用多数据报告功能评估的评估值排序 (前 10 个条件)

## 12 种焦油色素同时分析的最佳条件

通过多数据报告获得最高评估值的分析条件如表 3 所示, 所得色谱图如图 12 所示。各组分的保留时间、面积、高度、分离度如表 4 所示。分离度结果均在 1.5 以上, 获得了最佳分析条件。

表 3 最佳的分析条件

色谱柱	: Shim-pack Scepter C18-120 (50 mm x 3.0 mm I.D., 1.9 μm)
流动相	: A: 10 mmol/L 醋酸铵水溶液 B: 乙腈 / 甲醇 = 50:50
流速	: 0.7 mL/min
柱温	: 40°C
进样量	: 2 μL
检测	: PDA 254 nm
时间程序	: B 浓度 5% (0 min) → 90% (5 min) → 80% (5.01-7 min) → 5% (7.01-10 min)

## 结论

使用一体型 HPLC i 系列方法探索系统, 可高效地开发 12 种焦油色素的同时分析条件。

使用本文介绍的方法开发系统工作流程时, 可大幅减轻流动相、色谱柱更换、流动相制备、条件设定、实施分析、结果分析所需的时间和精力, 无论经验如何, 任何人都可以轻松地开发分析条件。此外, 不需要人工操作, 因此可有效利用夜间等时间, 开发分析条件。

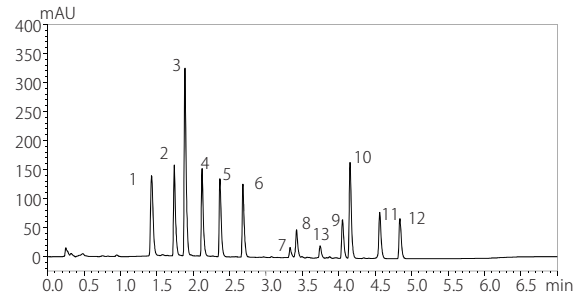


图 12 最佳分析条件的色谱图 (各 50 mg/L) 谱峰编号参照表 4、13: R3 (赤藓红) 的杂质

表 4 最佳分析条件下的分析结果

序号	化合物名称	保留时间 (min)	面积	高度 (USP)	分离度 (USP)
1	Y4 (柠檬黄)	1.429	330507	137921	-
2	R2 (紫红)	1.741	289011	156399	5.33
3	B2 (靛蓝胭脂红)	1.888	596078	322442	2.83
4	R102 (新胭脂红)	2.123	273436	150807	4.57
5	Y5 (日落黄 FCF)	2.368	249399	134121	4.76
6	R40 (诱惑红 AC)	2.683	235599	125620	5.96
7	G3 (固绿 FCF)	3.331	30969	17154	12.27
8	B1 (亮蓝 FCF)	3.419	90527	47121	1.64
9	R3 (赤藓红)	4.051	133815	66398	5.57
10	R106 (酸性红)	4.155	330115	165064	1.85
11	R104 (荧光桃红 B)	4.560	172510	78862	6.99
12	R105 (玫瑰红)	4.837	145987	68801	4.66

岛津应用云



Shim-pack、Shim-pack Scepter、SHIMADZU LabTotal 及 LabSolutions 是岛津制作株式会社在日本与其他国家的商标。



岛津企业管理 (中国) 有限公司  
岛津 (香港) 有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话: 800-810-0439  
400-650-0439

免责声明:

\* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售;  
\* 本资料中的所有信息仅供参考, 不予任何保证。  
如有变动, 恕不另行通知。

第一版发行日: 2021 年 3 月