

环糊精衍生物固定相毛细管气相色谱法分离甲酚位置异构体

陶旦妮 史雪岩 顾峻岭 傅若农*

(北京理工大学化工与材料学院, 北京 100081)

摘 要 采用了环糊精衍生物固定相毛细管气相色谱法对甲酚位置异构体进行分离。着重考察了气相色谱中柱头压、柱温、检测器温度、进样器温度对保留时间和峰面积的精密度的影响,并通过正交实验优化色谱条件使峰面积的相对标准偏差小于 1%,异构体达到基线分离。

关键词 毛细管气相色谱, 正交实验, 环糊精衍生物固定相, 甲酚, 位置异构体

1 引 言

气相色谱法是广泛地用于石油、石油化工、环境科学、医药卫生、化学工业和法庭鉴定等领域的分析方法,它的分析精密度一般为 1.5%,可以满足大多数工业分析的要求。Liller^[1]认为气相色谱在某些工业分析的应用还有一些问题,其精密度有待进一步提高。

酚类是一种重要的有机化工原料,属中度危害毒物,是一种较为普遍的环境污染物,对于复杂的酚类混合物,采用气相色谱方法达到全分离(即定性和定量分析)是困难的。因为酚类物质具有很强的极性,并且在环境温度下具有较低的蒸气压。另外,许多异构烷基的化学和物理性能也颇相似。所以,要求高分辨的气相色谱和有选择性的稳定的固定相,才能完成对这类化合物的分离。文献报道 HP-5 柱和 Ptx-20 柱能很好的分离环境中的酚类,但这两根柱子都不能将间、对甲基酚完全分开^[2]。实验中选用多种环糊精衍生物固定相,发现多数可将甲酚位置异构体达到很好的分离。

环糊精(cyclodextrin,简称 CD)是由 6~8 个吡喃葡萄糖单元以 1,4-苷键相连组成的环状化合物,具有中空圆台筒状构造:筒内成疏水系,筒外成亲水系,因此具有较好的立体选择性。环糊精衍生物固定相用于手性分离方面的报道已有很多,有研究表明^[3]其对苯系位置异构体也是一种选择性很高的固定相。因此选择环糊精衍生物固定相分离甲酚位置异构体,并考察色谱条件对保留时间和峰面积精密度的影响。

2 实验部分

2.1 仪器及试剂

SP-3700 气相色谱仪配以氢火焰离子化检测器(北京分析仪器厂);HP5890 II 气相色谱仪配以氢火焰离子检测器(惠普公司);Varian 3800 气相色谱仪配以氢火焰离子检测器(美国瓦里安公司);TL9800 色谱数据工作站(企业版,北京泰立化电子技术有限公司);GS-2010 色谱数据工作站(北京精瑞计算机技术有限责任公司);0.25 mm I.D. 弹性石英毛细管柱(河北永年光导纤维厂);邻、间、对-甲酚均为色谱纯(北京焦化厂);环糊精衍生物由北京理工大学分析教研室合成,其余试剂均为分析纯。

2.2 制柱

将 0.25 mm I.D. 的弹性石英毛细管柱在 240~260℃用氮气吹 2 h,用氯化钠沉淀粗糙化处理,240℃下重结晶 2 h,以静态法涂渍浓度为 0.5% (W/V)的环糊精衍生物固定相(溶剂为二氯甲烷);用高纯氮气吹干,程序升温到 220~240℃老化 5 h。

2.3 色谱条件

柱温 100~160℃;检测器温度 230~270℃;进样器温度 220~260℃;载气(高纯 N₂)流速 10~65 cm/s;进样量 2.4 μL;分流比 72:1;用甲烷气测定死时间。

2000-11-18 收稿;2001-03-12 接受

3 结果与讨论

3.1 色谱柱的选择

我们研究小组长期进行环糊精衍生物固定相的合成和色谱性能研究,从中选取以下 8 根不同环糊精衍生物固定相的色谱柱:S-CD:单环(2,6-二-O-戊基-3-O-烯丙基)-六环(2,6-二-O-戊基-3-O-甲基)- β -CD,SP-CD:单环(2,6-二-O-戊基-3-O-丙基-3')-六环(2,6-二-O-戊基-3-O-甲基)- β -CD 聚硅氧烷;B1-CD:2,6-二-O-戊基-3-O-苄基- β -CD;CD-PCM:三环(2,6-二-O-戊基-3-O-烯丙基)-六环(2-O-戊基-3-O-烯丙基-6-O-苯氨基甲酸酯)-CD;CD-D1:全甲-乙二胺桥联- β -CD;CD-D2:全戊-乙二硫桥联- β -CD;B2-CD:2,6-二-O-戊基-3-O-苯氨基甲酸酯- β -CD;B3-CD:2,6-二-O-戊基-3-O-烯丙基- β -CD。从这 8 种固定相色谱柱对甲酚的分离可知(见表 1):除了 CD-D2,B2-CD 两个色谱柱不能分离间、对-甲酚,其余 6 根色谱柱均能将其分离,其中以 CD-D1 的分离因子最大,CD-PCM 的分离因子最小,SP-CD 分离效果居中。实验选择 SP-CD(单环(2,6-二-O-戊基-3-O-丙基-3')-六环(2,6-二-O-戊基-3-O-甲基)- β -CD 聚硅氧烷),它可以将甲酚位置异构体达到基线分离,各项性能指标居中,通过正交实验优化色谱条件,考察分析方法的精密度的。

表 1 甲酚异构体在环糊精衍生物固定相上的分离结果

Table 1 The chromatographic separation data of cresol isomer on β -cyclodextrin (β -CD) derivatives stationary phase

固定相 Stationary phase	柱温 Column temp ($^{\circ}$ C)	保留时间 Retention time			$\alpha_{m/o}$	$\alpha_{p/m}$
		<i>o</i> -	<i>m</i> -	<i>p</i> -		
S-CD	160	2.641	3.319	3.525	1.257	1.062
SP-CD	160	1.530	1.987	2.110	1.299	1.063
B1-CD	160	2.687	3.685	3.850	1.285	1.045
CD-PCM	150	4.432	5.978	6.169	1.349	1.032
CD-D1	140	3.924	5.120	5.693	1.305	1.112
CD-D2	160	1.163	1.656	1.656	1.424	1.000
B2-CD	160	1.357	1.904	1.904	1.403	1.000
B3-CD	140	5.016	6.556	7.136	1.307	1.000

注 (note): S-CD: mono(2,6-di-O-pentyl-3-O-allyl)-hexakis(2,6-di-O-pentyl-3-O-methyl)- β -CD; SP-CD: mono(2,6-di-O-pentyl-3-O-propyl-3')-hexakis(2,6-di-O-pentyl-3-O-methyl)- β -CD bonded polysiloxane; B1-CD: 2,6-di-O-pentyl-3-O-benzyl carbamat- β -CD; CD-PCM: tri-(2,6-di-O-pentyl-3-O-allyl)-hexakis(2-O-pentyl-3-O-allyl-6-O-benzylcarbamate)- β -CD; CD-D1: ethylenediamine bridged dimer permethyl- β -CD; CD-D2 Ethylene disulphate bridged dimer perpentyl- β -CD; B2-CD: 2,6-di-O-pentyl-3-O-benzylcarbamate- β -CD; B3-CD: 2,6-di-O-pentyl-3-O-allyl- β -CD

3.2 正交实验及数据分析

根据文献^[4]甲酚位置异构体的分离情况,选择柱温范围在 110~140 $^{\circ}$ C,柱头压在 20~40KPa 内,进样器温度在 220~260 $^{\circ}$ C 之间变化,检测器温度在 230~270 $^{\circ}$ C 内,考察影响保留时间和峰面积的精密度的色谱因素。通过 4 因素 3 水平正交实验,其结果见表 2。

表 2 正交实验结果数据表 ($n=5$)

Table 2 The data of orthogonal experiments ($n=5$)

	色谱条件 GC conditions				保留时间的相对标准偏差 Retention SD			保留时间的标准偏差 Retention RSD (%)			峰面积的相对标准偏差 Peak area RSD (%)		
	P(KPa)	T_c ($^{\circ}$ C)	T_i ($^{\circ}$ C)	T_d ($^{\circ}$ C)	<i>o</i> -	<i>m</i> -	<i>p</i> -	<i>o</i> -	<i>m</i> -	<i>p</i> -	<i>o</i> -	<i>m</i> -	<i>p</i> -
1	20	140	220	230	1.501	1.522	1.640	0.283	0.219	0.293	2.483	1.451	0.501
2	20	125	240	250	2.127	2.661	2.899	0.437	0.351	0.310	1.087	0.621	0.200
3	20	110	260	270	5.143	1.165	7.717	0.315	0.250	0.225	0.881	0.441	0.303
4	40	140	240	270	4.706	5.447	6.111	0.508	0.457	0.487	1.456	0.713	0.397
5	40	125	260	230	2.841	3.450	3.856	0.785	0.768	0.782	2.137	0.770	0.723
6	40	110	220	250	3.553	4.074	4.857	0.543	0.409	0.416	1.637	0.748	0.469
7	60	140	260	250	0.394	0.388	0.378	0.321	0.253	0.339	5.185	3.340	1.928
8	60	125	220	270	0.997	1.008	0.976	0.257	0.255	0.254	3.832	1.676	2.975
9	60	110	240	230	1.313	1.280	1.916	0.324	0.265	0.264	2.547	3.640	3.101

表 2 中 P 代表柱头压, T_c , T_i , T_d 分别代表柱温,进样器温度,检测器温度。对实验数据进行分析可知,这 4 个因素保留时间的标准偏差 SD,保留时间的相对标准偏差 RSD,及峰面积的相对标准偏差

RSD%的影响的主次顺序为:柱头压,柱温,检测器温度,进样器温度。其中保留时间 SD 的最佳色谱条件为实验 7,保留时间 RSD 的最佳色谱条件为实验 8 或 1,峰面积 RSD 的最佳色谱条件为实验 3。比较而言,相对较高的柱温及柱头压对保留时间的 SD 有利,降低柱头压对保留时间和峰面积的 RSD 有利,较高的柱温对保留时间的 RSD 有利;降低柱温对峰面积的 RSD 有利。进样器温度和检测器温度对 3 个指标的影响也不太相同。总体而言,保留时间的 RSD 小于峰面积的 RSD,也就是说,保留时间的精密度要优于峰面积的精密度。

3.3 单因素影响实验

在正交实验优化的最佳色谱条件基础上,经过单因素实验进一步优化色谱条件,分别依次考察柱头压,柱温,检测器温度和进样器温度对峰面积精密度的影响。得到单因素优化后的最佳色谱条件为:柱头压 20KPa,柱温 110℃,检测器温度 260℃,进样器温度 240℃,在此优化条件下的 *o*、*m*、*p*-甲酚的峰面积的 RSD 分别为:0.6%、0.4%、0.2%。

3.4 分离因子对精密度的影响

8 根色谱柱中选取前 5 根能将 *o*、*m*、*p*-甲酚完全分离的环糊精衍生物固定相的色谱柱(见图 1),考察在相同的色谱条件下在各个色谱柱上峰面积的精密度。比较而言,分离因子最大的 CD-D1 的 RSD 较小,分别为 1.4%、0.4%、0.6%;而分离因子较大的 B1-CD 的 RSD 分别为 1.6%、1.5%、1.1%。可见较大的分离因子对于峰面积的 RSD 有利。

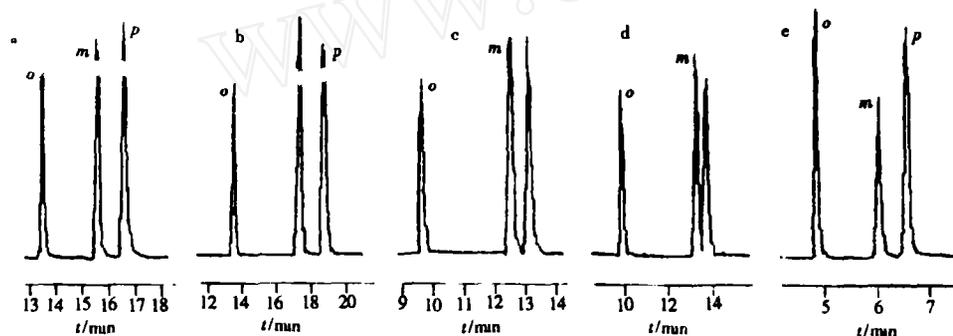


图 1 甲酚异构体在环糊精衍生物固定相上的分离效果图

Fig.1 Chromatograms of cresol isomers on β -CD derivatives

a. SP-CD 的色谱图(chromatogram of SP-CD); b. S-CD 的色谱图(chromatogram of S-CD); c. B1-CD 的色谱图(chromatogram of B1-CD); d. CD-PCM 的色谱图(chromatogram of CD-PCM); e. CD-D1 的色谱图(chromatogram of CD-D1)。

3.5 不同时间测定的影响

在单因素实验考察进样器温度的峰面积精密度的影响时,发现有两处不规则的起伏,故设计此实验考察 Varian3800 气相色谱仪在一天的不同时间段,相同的色谱条件下所测的峰面积的 RSD 的变化。实验结果表明,在晚间所得的峰面积的精密度最好;相反,下午精密度最差。考虑可能是由于环境温度的变化所致。所以,保持环境的稳定性对提高定量的精密度很重要。

3.6 不同色谱仪的比较

此实验分别用 Varian-3800, HP-5890 II, SP-3700 色谱仪,在相同的色谱条件下,考察不同色谱仪对精密度的影响。SP-3700D 的峰面积的 RSD 为 0.61%、0.42%、0.23%;HP-5890 II 的 RSD 为 0.11%、0.07%、0.03%;Varian-3800 的 RSD 为 0.02%、0.01%、0.01%。SP-3700, HP-5890 II, Varian-3800 分别代表 80 年代、90 年代初、90 年代末的气相色谱的总体水平,Varian-3800 的精密度最好(新型号,新仪器,配有电子压力控制 EPC),HP-5890 II 的次之(已经使用 8 年),SP-3700 相对较差(已经使用 10 年以上)对于相同的色谱条件而言,不同的色谱仪对同一样品测定的定量精密度不尽相同,这与色谱仪的性能有关,相对性能好,稳定性高的色谱仪测定的精密度更好。

3.7 影响气相色谱精密度的因素

分析影响定量精密度的因素可知,要提高色谱的精密度须从以下几方面考虑:(1)选择分离度大,柱效高的色谱柱,使被测组分达到基线分离;(2)柱温的选择直接影响分离效果,较低的柱温有利于提高精密度,峰形要对称。(3)过高或过低的柱流速都会使峰面积减小,对提高精密度不利;(4)选择合适的检测器温度,使其灵敏度较高;(5)选择适宜的进样器温度,以略高于被测样品沸点为好;(6)进样量的大小和重复性对精密度的影响很大。一般说来,在保证基线分离的前提下,较大的进样量对应较大的峰面积,有利于提高精密度,选择自动进样系统可提高进样的重现性;(7)数据的采集与处理对精密度也有影响,要保证数据采集速度大于出峰速度;(8)保持环境温度的稳定性,最好在恒温的实验室进行实验;(9)使用压力,温度控制精度高的色谱仪。

4 结 论

环糊精衍生物固定相由于其良好的立体选择性,对于难分离的甲酚异构体达到基线分离。要使得峰面积的 RSD 为 1%,首先选择分离因子大、柱效高的色谱柱,其次选择适宜的色谱条件及色谱仪,重要的是保证色谱条件及环境的稳定性。

References

- 1 Liller R J. *J. HRC*, 1995, 18(4): 213 ~ 216
- 2 Fan Bangtang(樊邦棠). *Environmental Chemistry*(环境化学). Hangzhou(杭州): Zhejiang University Press(浙江大学出版社), 1991
- 3 Zhang Yueqin(张月琴), Shu Xueyan(史雪岩), Fu Ruonong(傅若农). *Journal of Beijing Institute of Technology*(北京理工大学学报), 2000, 20(3): 380 ~ 384
- 4 Shen Bangxing(沈邦兴). *Engineering experiment Design*(工程实验设计). Beijing(北京): Mapping Press(测绘出版社), 1990

Separation of Cresol Isomer by Capillary Gas Chromatography with β -Cyclodextrin Derivatives as Stationary Phase

Tao Danni, Shu Xueyan, Gu Junling, Fu Ruonong*

(College of Chemical Engineering & Material Science, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081)

Abstract The positional isomers of cresol were resolved by capillary gas chromatography with β -cyclodextrin derivatives as stationary phase. The affecting factors including column temperature, inner pressure, temperature of injector and detector etc. on the RSD of retention time and peak area were investigated. Through the orthogonal experiments, the gas chromatographic conditions were systematically optimized, resulting in less than 1% RSD and baseline separation of cresol isomers.

Keywords Capillary gas chromatography, orthogonal experiments, β -cyclodextrin derivatives, cresol, positional isomer

(Received 18 November 2000; accepted 12 March 2001)