

采用 Agilent Poroshell 120 PFP 色谱柱分析位置异构体

作者

William Long 和 Jonathan Horton
安捷伦科技有限公司

应用简报

环境

前言

Agilent Poroshell 120 PFP（五氟苯基）固定相可以为卤代化合物的位置异构体提供卓越的保留和选择性。PFP 色谱柱还可以用于非卤代化合物的选择性分析，如含羟基、羧基、硝基和其他极性基团的极性化合物。当官能团处于芳香或其他刚性环状系统上时，色谱柱选择性会增强 [1]。

在本篇应用简报中，我们采用 Agilent Poroshell 120 PFP 柱对三种三甲氧基苯和二硝基苯位置异构体进行了分离。另外，还显示了对 EPA 8330 所列的 14 种爆炸化合物的分离 [2]。该混合物含有几对位置异构体。在许多情况下，只有用 Poroshell 120 PFP 柱才能对这些位置异构体进行完全分离。而在其他情况下，当有机相比例降低时才能在某些其他色谱柱上实现完全分离。



Agilent Technologies

材料与amp;方法

采用 Agilent 1260 Infinity 液相色谱系统，组件包括：

- 安捷伦 SL 型二元泵，最高压力 600 bar (G1312B)
- 安捷伦柱温箱 (G1316C)
- 安捷伦 SL Plus 型高性能自动进样器 (G1376D)
- 安捷伦二极管阵列检测器 (G4212A)，配置 G4212-60008 10 mm 光程的 1 μ L 流通池

使用的色谱柱为：

- Agilent Poroshell 120 PFP 柱，4.6 \times 50 mm，2.7 μ m (部件号 699975-408)
- Agilent Poroshell 120 EC-C18 柱，4.6 \times 50 mm，2.7 μ m (部件号 699975-902)
- Agilent Poroshell 120 Bonus-RP 柱，4.6 \times 50 mm，2.7 μ m (部件号 699968-901)
- Agilent Poroshell 120 Phenyl-Hexyl 柱，4.6 \times 50 mm，2.7 μ m (部件号 699975-912)

采用 Agilent OpenLAB C.1.05. 版软件控制仪器和处理数据。本研究所用的化合物包括：1,2,3-三甲氧基苯、1,2,4-三甲氧基苯、1,2,5-三甲氧基苯、1,2-二硝基苯、1,3-二硝基苯和 1,4-二硝基苯，均购自西格玛奥德里奇公司。这些化合物见图 1。另外，还有使用了购自 Cerilliant 公司的 14 种爆炸物样品 (ERE-021)，各含 200 μ g/mL 1,3,5-三硝基苯、1,3-二硝基苯、2,4,6-三硝基甲苯 (TNT)、2,4-二硝基甲苯、2,6-二硝基甲苯、2-氨基-4,6-二硝基甲苯、2-硝基甲苯、3-硝基甲苯、4-氨基-2,6-二硝基甲苯、4-硝基甲苯、HMX、硝基苯、RDX 和 tetryl (2,4,6-三硝基苯基甲基硝基苯胺)。这些化合物见图 4。甲醇购自 Honeywell (Burdick & Jackson)，水为经 Millipore Q 系统 (Millipore) 0.2 μ m 过滤的 18 M Ω 水。

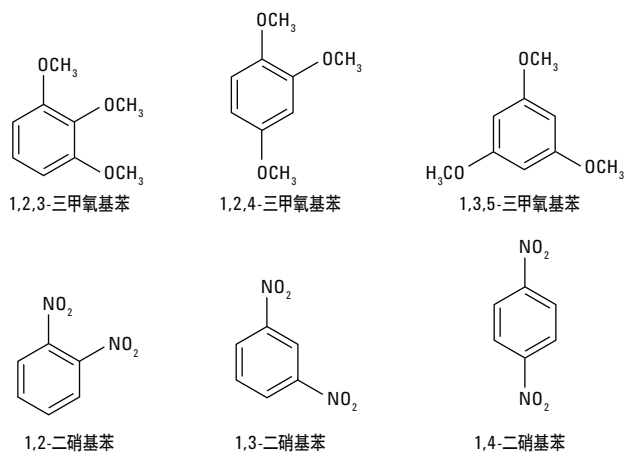


图 1. 三甲氧基苯和二硝基苯位置异构体的结构

结果与amp;讨论

选择性是优化高效液相色谱分离的最强大工具。该参数可以通过使用不同键合相进行改变，包括 C18、极性嵌入、苯基键合和全氟苯基，也可以改变流动相。在这篇应用简报中，我们采用 Poroshell 120，4.6 \times 50 mm 色谱柱对方法开发选择进行快速评价。短柱长和高柱效实现了短分析时间和快速平衡，从而可以快速研究选择性。

五氟苯基的环状结构为缺电子结构，为路易斯酸。该路易斯酸与电子供体路易斯碱发生电子相互作用。这种电子供体/受体之间的相互作用可以增加 PFP 固定相与富电子化合物的相互作用。甲氧基和硝基取代的苯就是两种可以与 PFP 固定相发生电子相互作用的路易斯碱实例。此外，甲氧基和硝基取代苯的芳香族性质，提高了与固定相之间通过 π - π 堆积产生的相互作用，充分利用了 PFP 固定相的分子结构。PFP 柱是电子受体，路易斯碱类化合物与该固定相会发生强烈的相互作用。路易斯碱是一类可以提供一对非束缚电子的物质，如 OH⁻ 离子。因此，路易斯碱是电子对供体。这类碱性化合物有时被称为亲核剂，或阳性核寻找者。路易斯碱包括甲氧基苯和硝基苯等化合物 [3]。

如图 2 所示, 只有 Poroshell 120 PFP 柱可以分离所有三种三甲氧基苯异构体 (见图 1)。C18、Phenyl-Hexyl 和 Bonus-RP 固定相只能分离 123/124 和 135 化合物。Poroshell 120 Bonus-RP 和 Phenyl-Hexyl 柱在该条件下, 对三甲氧基苯的保留几乎一样。在所有情况下, 1,3,5-三甲氧基苯都是最晚被洗脱的。

图 3 中, 四种色谱柱都能够分离二硝基苯, 利用图 1 中的实例, Poroshell 120 PFP 柱实现了最好的分离。在这个例子中, Poroshell 120 Bonus-RP 和 Poroshell 120 PFP 对三个化合物的洗脱顺序相同, 即 $1,4 < 1,3 < 1,2$, 不过 PFP 因相互作用更强对三个化合物的保留更强。在 C18 柱上的洗脱顺序为 $1,2 < 1,4 < 1,3$, Phenyl-Hexyl 柱的顺序则为 $1,4 < 1,2 < 1,3$ 。

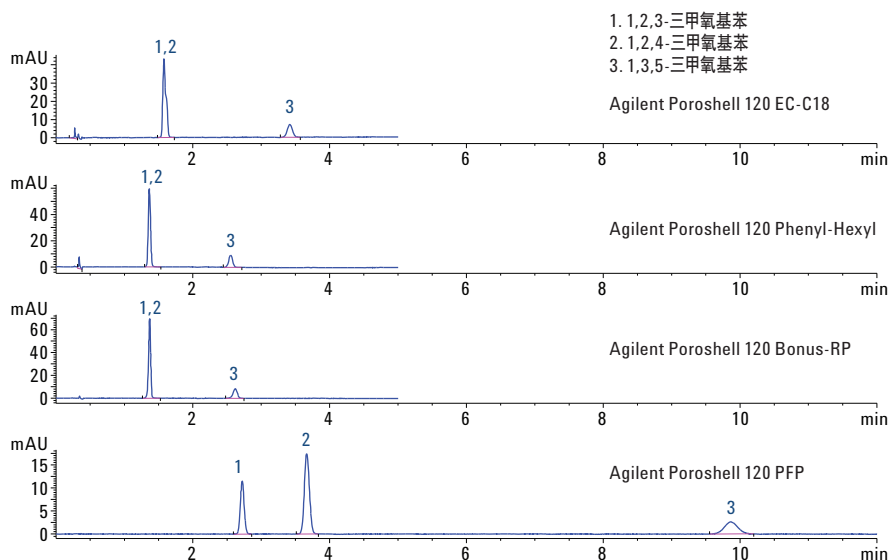


图 2. 用不同的 Agilent Poroshell 120 固定相分离三甲氧基苯位置异构体 (用 Agilent Poroshell 120, 4.6×50 mm 柱分离三甲氧基苯混合物, 70:30 水:甲醇, 1.5 mL/min, 40°C , 254 nm)

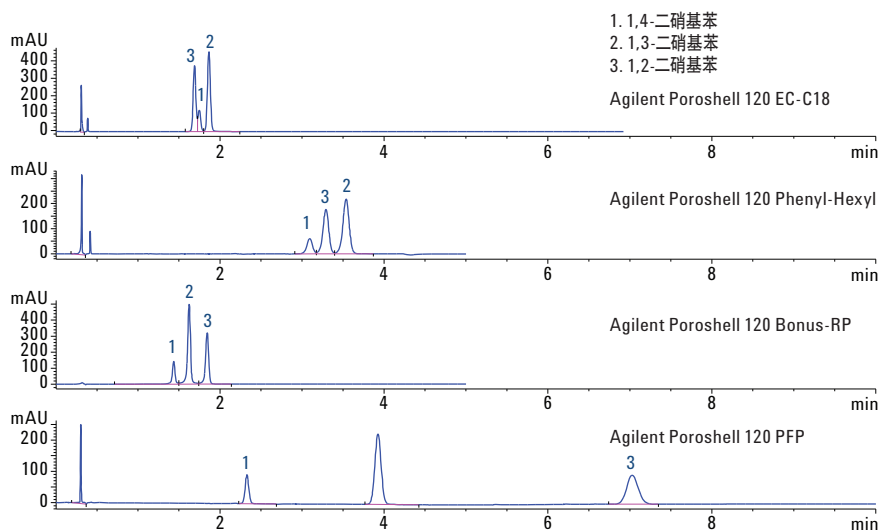
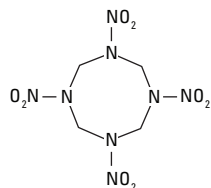
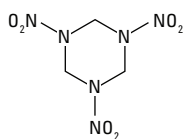


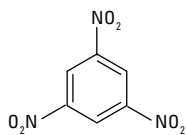
图 3. 用不同的 Agilent Poroshell 120 固定相分离二硝基苯位置异构体 (用 Agilent Poroshell 120, 4.6×50 mm 柱分离二硝基混合物, 35:65 甲醇:水, 1.5 mL/min, 40°C , 215 nm)



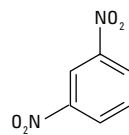
1. HMX
环四亚甲基四硝基胺



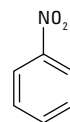
2. RDX
1,3,5-三硝基-1,3,5-三嗪



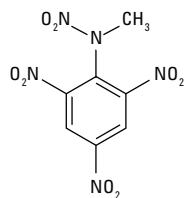
3. 1,3,5-TNB
1,3,5-三硝基甲苯



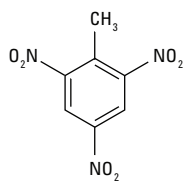
4. 1,3-DNB
1,3-二硝基苯



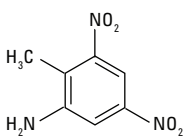
5. NB
硝基苯



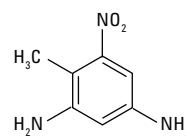
6. Tetryl
N-甲基-N-(2,4,6-三硝基苯基)硝基苯胺



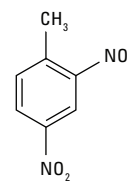
7. TNT
2,4,6-三硝基甲苯



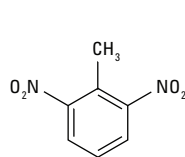
8. 2A-2,6-DNT
2-氨基-4,6-二硝基甲苯



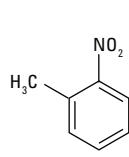
9. 4A-2,6-DNT
4-氨基-2,6-二硝基甲苯



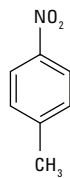
10. 2,4-DNT
2,4-二硝基甲苯



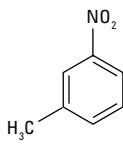
11. 2,6-DNT
2,6-二硝基甲苯



12. 2-NT
2-硝基甲苯



13. 4-NT
4-硝基甲苯



14. 3-NT
3-硝基甲苯

图 4. 爆炸混合物中各化合物的结构 (含几对位置异构体)

在图 5 中，用所有 4 种色谱柱对 EPA 8330A 所列的 14 种化合物进行了分离。Poroshell 120 PFP 柱和 Phenyl-Hexyl 柱使该混合物得到了最好的分离。虽然在 C18 和 Phenyl Hexyl 柱上也可以进行这一分离，但 Poroshell 120 PFP 柱上的溶剂强度更大。

Poroshell 120 PFP 柱呈现了新的选择性——这与 C18 的疏水机制，以及 phenyl-hexyl 的 π - π 疏水机制不同。PFP 的选择性是基于 π - π 、电荷转移、偶极、氢键和静电相互作用。

这些化合物的分离通过 C18 和 phenyl-hexyl 固定相完成，也极有可能可以用 Bonus-RP 柱完成。但可以看出，用这个流动相在 Poroshell 120 PFP 柱上比其他色谱柱保留更强。在这个例子中，由于有机相含量比其他可能的选择（C18 和 Phenyl-Hexyl）更强，所以该色谱柱是涉及到前处理（如固相萃取）的方法的明智选择。可以进样更大样品量，或者样品可以进样到比 C18 或 Phenyl-Hexyl 柱所用的更强流动相（更多有机相）中。

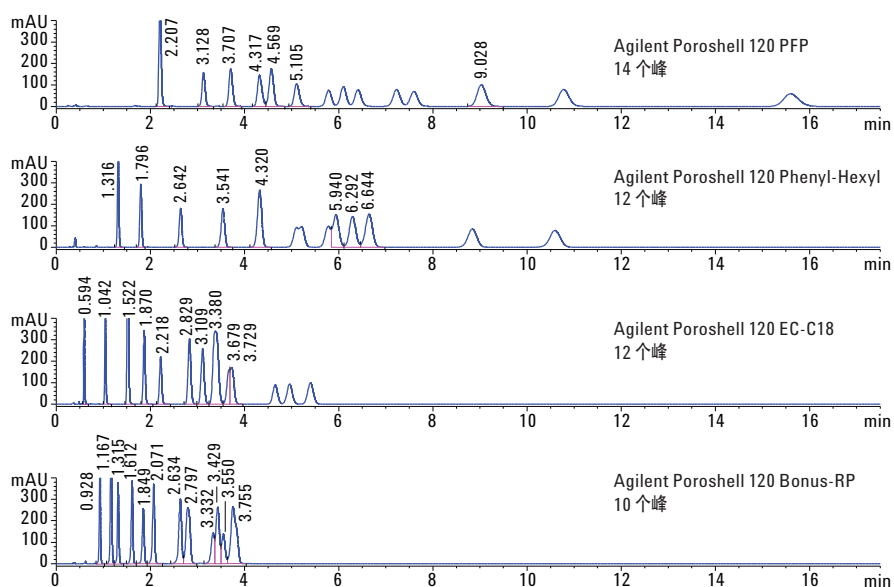


图 5. 用不同的 Agilent Poroshell 120 固定相分离爆炸混合物 (Agilent Poroshell 120, 4.6 × 50 mm 柱, 35:65 甲醇:水, 1.5 mL/min, 40 °C)

结论

在这篇应用简报中，我们用 Agilent Poroshell 120 PFP 柱，以及其他几种色谱柱对几个位置异构体进行了分离。对于三甲氧基苯的分离，只有 Poroshell 120 PFP 柱成功地分离了这三个化合物。而对于二硝基位置异构体，所有色谱柱都可以进行分离，但用 Poroshell 120 PFP 柱明显得到了最好的分离。最后我们用 Poroshell 120 PFP 对含有几对位置异构体的 EPA 8330A 样品进行了复杂的分离。对于含有位置异构体的样品，Poroshell 120 PFP 柱是方法开发的明智选择。

参考文献

1. M. Przybyciel. *LC.GC Europe*, 19, 19 (2006)
2. <http://www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/8330a.pdf>
3. Anon. 硝基化合物和爆炸物的分离、纯化和色谱分析，*安捷伦技术概览*，出版号 5990-5552CHCN (2010)

更多信息

这些数据仅代表典型的结果。如需了解有关我们产品和服务的更多信息，请访问我们的网站 www.agilent.com/chem/cn

www.agilent.com/chem/cn

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。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

©安捷伦科技（中国）有限公司，2014
2014年4月3日，中国印刷
5991-4373CHCN



Agilent Technologies