

采用低热容（LTM）柱箱模块独立控制柱温以改善手性化合物的多维分离

应用报告

食品和香料

作者

Frank David
色谱研究所
Pres. Kennedypark 26
B-8500 Kortrijk
比利时

Matthew S. Klee
安捷伦科技公司
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808

摘要

本文报导了采用多维毛细管 GC 系统，配备 Deans switch 中心切割和独立柱温控制改善了芳樟醇异构体的手性分离。香水样品和熏衣草油样品中的芳樟醇先用安装在标准 GC 柱箱中非手性非极性色谱柱 (Agilent J&W HP-5ms) 分离。芳樟醇峰中心切割到手性环糊精色谱柱上，该色谱柱具有低热容(LTM)组件，安装在一个低热容色谱柱模块中，在较低温度下实现了对映异构体的更好的分离。使用具有独立柱温控制的二维 LTM 配置，手性分离效果更好、环糊精固定相流失更少、分析时间更短。此外，避免了可能污染色谱柱、降低方法性能和缩短色谱柱寿命的低挥发样品组分进入手性柱。



Agilent Technologies

前言

芳樟醇是许多精油，包括薰衣草油、天竺葵油和香柠檬油中的重要组分，具有令人愉快的花香气味。天然精油和香水中芳樟醇含量的正确表征包括测定对映异构体的组成，特别是在试图揭示假冒伪劣产品时要测定对映体组成。芳樟醇的(+)和(-)异构体的手性分离可以采用基于环糊精的毛细管 GC 色谱柱，无需衍生化处理[1]。

在基于环糊精的色谱柱上实现对映体的气相色谱分离在很大程度上取决于柱温：柱温越低，分离度越高。当然，还必须考虑过长的分析时间的平衡，保证使低温下可能滞留在色谱柱中的样品组分洗脱色谱柱，以避免影响后续分析。基于环糊精的色谱柱具有有限的最高允许操作温度(MAOT)，流失较高，耐用性(更容易氧化降解)不及标准极性毛细管色谱柱固定相，因此，在高温加热较长时间以洗出高沸点样品组分是不现实的。遗憾的是，与大部分基于硅氧烷的固定相不同，环糊精固定相被污染后，是不能通过溶剂清洗来再生的。

鉴于这些原因，排除低挥发组分、减少色谱柱暴露在高柱箱温度的时间的更好的办法就是采用多维 GC 配置[2, 3]。为此，我们采用非选择性色谱柱进行预分离以使感兴趣的峰与大部分其他样品组分分离。通过将目标峰中心切割到第二维手性色谱柱上，实现对映体的完全分离。为了优化结果，两支色谱柱的温度独立控制。完成这一任务的一个途径是在实验室使用两台串联的 GC。虽然这是有效的，但由于成本和实验室空间的需求，这一途径常常是不宜使用的。另一个选择就是使用集成到 GC 柱箱门上的低热容(LTM)模块，从而最大程度地减小了仪器所占空间，减低了仪器成本，同时仍然能提供完全独立的色谱柱温度区域[4]。

本应用文摘报导了使用配置 Deans switch 中心切割和 LTM 色谱柱独立温度控制组件的二维毛细管气相色谱(CGC)分离香水和薰衣草油样品中的芳樟醇对映体。

实验部分

样品

制备了三个样品：参比样品为含有 0.1% (合成) 芳樟醇的二氯甲烷溶液，用于校准；市售香水样品用二氯甲烷稀释至 5% (50 mg 稀释在 1 mL 溶剂中)；天然薰衣草油样品用二氯甲烷稀释至 2% (20 mg 稀释在 1 mL 溶剂中)。

仪器配置

所有分析在 Agilent 7890A GC 系统与 Agilent 5975C 系列联用 GC/MSD 上进行。GC 配置有分流/不分流进样口、火焰离子化检测器(FID)、气路控制模块、微板流路技术 Deans switching 系统(部件号 G2855B)、Agilent LTM 系统控制器套件(部件号 G6579A)，以及 Agilent J&W LTM 色谱柱模块(为了最快速的冷却，采用标准 5 英寸规格)。

第一维色谱柱是 30 m × 0.25 mm id × 0.25 μm 的 Agilent J&W HP-5MS，安装在 GC 柱箱中(从分流/不分流进样口到 Deans switch)。一支 30 m × 0.25 mm id × 0.25 μm 的 Agilent J&W CycloDex-B (部件号 112-2532)手性色谱柱带有 LTM 直接加热和传感组件，安装在 LTM 色谱柱模块(部件号 112-2532 LTM 色谱柱)上进行加热。一支 0.5 m × 250 μm id 的脱活熔融石英毛细管用来连接 LTM 色谱柱到 Deans switch，另一支 1 m × 250 μm id 的脱活石英管用作传输管线，连接 LTM 色谱柱到质量选择检测器(MSD)。还有一支 63 cm × 100 μm 的脱活熔融石英毛细管连接 Deans switch 到 FID。

图 1 所示为配置示意图。

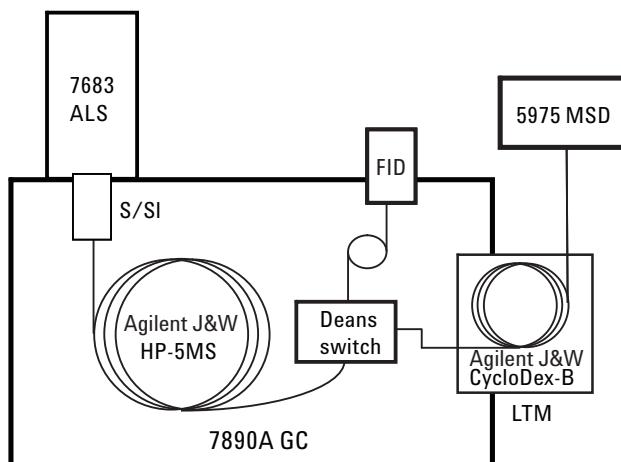


图 1. 二维中心切割带独立色谱柱温度控制的系统配置

分析条件

进样:	1 μ L, 280 $^{\circ}$ C, 1:100 分流比
载气:	氦气, 1 mL/min 恒流模式 (色谱柱入口 = SSL; 出口 = PCM1) (179 kPa, 70 $^{\circ}$ C)
GC 柱箱温度:	70 $^{\circ}$ C (1 min) 以 10 $^{\circ}$ C/min 升温至 250 $^{\circ}$ C (11 min)
PCM 1:	2 mL/min 恒流模式 (128 kPa, 70 $^{\circ}$ C)
LTM 柱箱:	80 $^{\circ}$ C, (9 min = 中心切割终点) 以 1 $^{\circ}$ C/min 程序升温至 100 $^{\circ}$ C (1 min)
总运行时间:	30 min
FID 检测器:	300 $^{\circ}$ C, 氢气 30 mL/min, 空气 400 mL/min
Deans switch 阀:	初始关闭, 8.5 min 开启, 8.9 min 关闭 (8.5min 到 8.9 min 的馏分转移到第二色谱柱)
MS:	扫描模式, 40 amu 到 300 amu, 采样速率 = 2 ¹

结果与讨论

通过分析含有合成芳樟醇（两种异构体之比为 50/50）的参比样品可以说明温度对环糊精柱上芳樟醇对映体分离结果的影响。图 2 所示为环糊精色谱柱上采用程序升温（70 $^{\circ}$ C 恒温 1 min, 然后以 10 $^{\circ}$ C/min 升温至 200 $^{\circ}$ C）所得色谱图。从色谱图可见，芳樟醇对映体在 165 $^{\circ}$ C 的洗脱温度下未能分离，在 190 $^{\circ}$ C 以上有明显的柱流失。

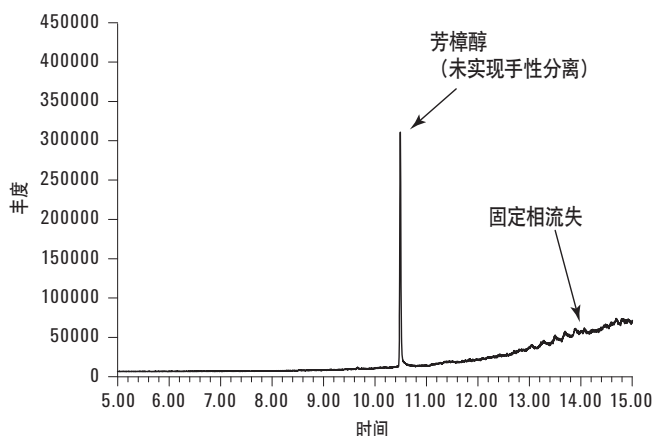


图 2. 参比芳樟醇样品中心切割到 LTM 模块。第二维环糊精色谱柱采用程序升温：70 $^{\circ}$ C (1 min)，以 10 $^{\circ}$ C/min 升温至 250 $^{\circ}$ C (11 min)。在 10.5 min，165 $^{\circ}$ C 的洗脱温度下芳樟醇对映体没有得到分离

使用更慢的温度程序（80 $^{\circ}$ C 恒温 9 min, 然后以 1 $^{\circ}$ C/min 升温至 100 $^{\circ}$ C），可以分离对映体，如图 3 所示（在 23 min 洗脱 = 94 $^{\circ}$ C 洗脱温度）。

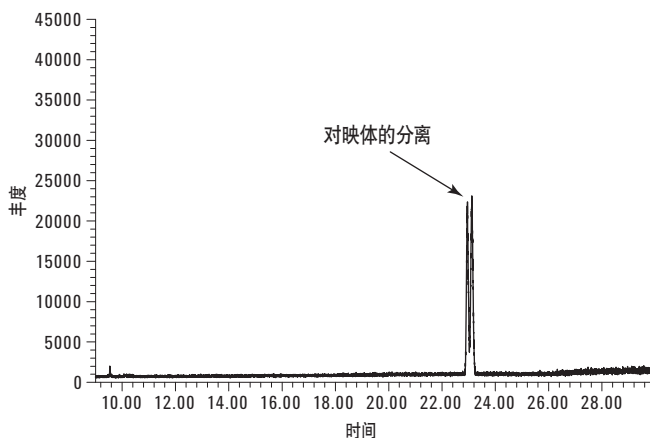


图 3. 参比芳樟醇样品中心切割到 LTM 模块（第二维环糊精色谱柱），采用较慢的温度程序：80 $^{\circ}$ C 恒温 9 min，然后以 1 $^{\circ}$ C/min 升温至 100 $^{\circ}$ C。芳樟醇对映体在 94 $^{\circ}$ C 的洗脱温度下得到了分离

图 4 的色谱图显示为什么这些条件不适合分析实际样品。图中显示了使用原来的温度程序在手性色谱柱上直接分离香水样品。需要在最终温度 200 $^{\circ}$ C 保持 16 min 才能使所有样品组分洗脱。此外，从图中可见很高的柱流失，说明色谱柱受到了热应力。同样可见许多其它样品组分在芳樟醇附近洗脱，这会使定量变得复杂，甚至使得对映体无法分离。如果采用较慢的温度程序，分析时间会很长，而且会增加样品不能完全洗脱的可能性。

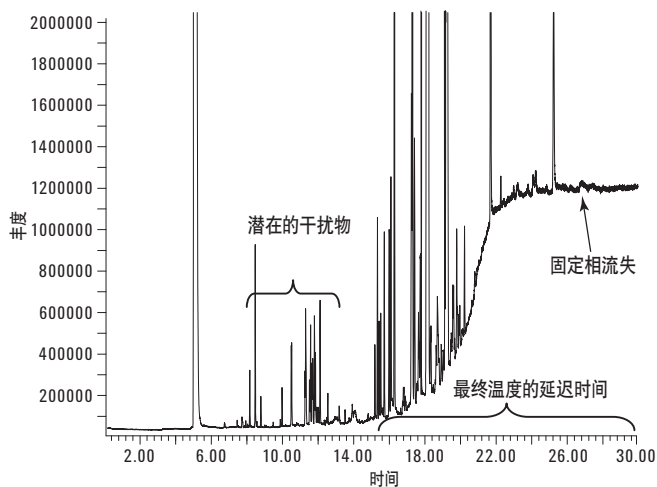


图 4. 香水样品只在手性色谱柱上的一维分离，温度程序：70 $^{\circ}$ C (1 min)，然后以 10 $^{\circ}$ C/min 升温至 200 $^{\circ}$ C (16 min)。芳樟醇对映体未得到分离，且有明显的潜在干扰和较高的固定相流失

为了有效地分析芳樟醇对映体，同时防止污染手性柱和使其受到热应力，我们发展了二维 GC 分离方法。样品先在第一维的非选择性、非极性 Agilent J&W HP-5MS 色谱柱上进行初步分离。这一色谱柱基于挥发性分离样品组分，比手性色谱柱的更耐用，流失较低。然而，在这一固定相上无法实现手性分离。图 5a 所示色谱图是 FID 监测的第一维色谱柱在未经中心切割情况下的洗脱物。芳樟醇的保留时间为 8.7 min。

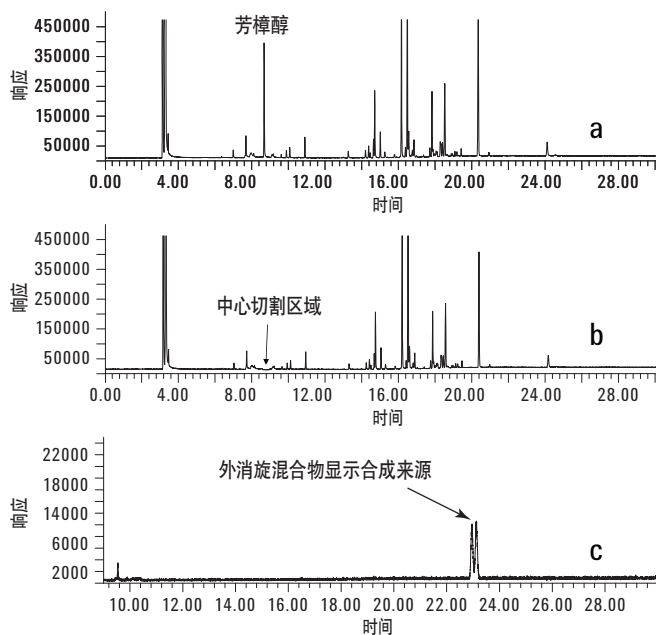


图 5. (a) 香水样品在 Agilent J&W HP-5ms 第一维色谱柱上未经中心切割的分离情况。(b) 香水样品中心切割 (8.5 到 8.9 min) 到第二维色谱柱上的色谱图。(c) 芳樟醇在第二维环糊精色谱柱上的色谱图 (MSD)

然后在 8.5 到 8.9 min 之间(包含芳樟醇峰)中心切割到较低温度的手性色谱柱。可以看到，图 5b 中相应于中心切割区域的 FID 监测色谱图基线稳定。芳樟醇的峰与其它样品组分，包括未被引入第二维手性色谱柱的迟洗脱溶质，得到了分离。

图 5c 所示为手性色谱柱上同时分离芳樟醇馏分的结果。由此图可见，在较低温度下出现了两个对映体的峰，而且没有共洗脱的峰。在此情况下，显然是一个外消旋混合物(两个对映体含量相同)，说明该芳樟醇是合成样品。

对薰衣草油样品重复了上述多维分析。图 6a 到图 6c 显示了整个样品在第一维色谱柱和第二维色谱柱上中心切割手性分离的色谱图。在此情况下，芳樟醇的峰几乎含有单一的光学异构体，说明该芳樟醇样品是天然来源。

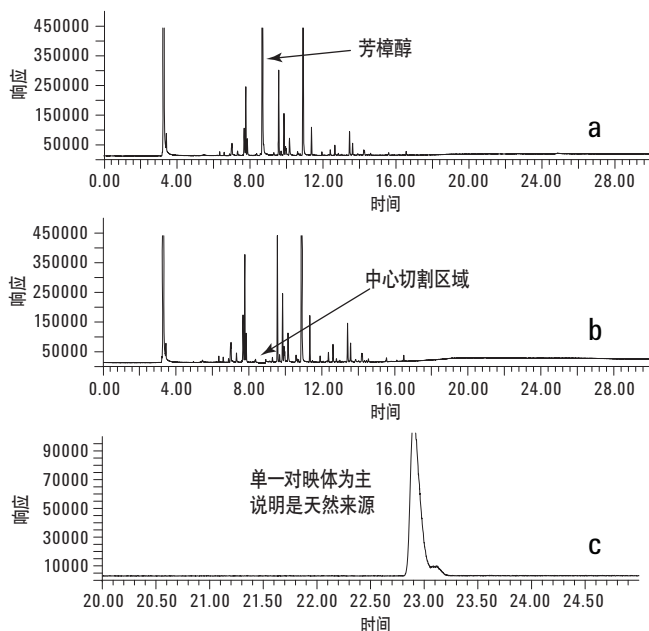


图 6. (a) 薰衣草样品在 Agilent J&W HP-5ms 第一维色谱柱上未经中心切割的色谱图。(b) 薰衣草样品中心切割 (8.5 min 到 8.9 min) 到第二维色谱柱上的色谱图。(c) 芳樟醇在第二维环糊精色谱柱上的色谱图 (MSD)，显示主要成分是一个对映异构体

结论

这一应用说明独立柱温控制对于二维 GC 分离的好处。对于像环糊精这样的手性固定相，柱温的控制尤为关键。使用 LTM 色谱柱模块控制第二温度区为 Agilent 7890A GC 系统提供了一种增加独立温度区的低成本方法，同时几乎不占用实验室空间。

研究证明，采用较低的温度和较慢的升温程序(恒温分析也许是可行的)改善了芳樟醇光学异构体的分离度。对于 GC 能够分析的其它手性化合物有望获得类似的分离度改善。

采用多维系统，配置 Deans switch 从非选择性第一维色谱柱中心切割到第二维手性色谱柱，分析市售香水和天然薰衣草油样品。该方法的好处包括成本更低、数据质量更高 (芳樟醇峰的更好分离和与潜在干扰物的分离)、对耐用性较差的手性色谱柱的热应力和化学应力更小。

参考文献

1. W.A. König, Gas Chromatographic Enantiomer Separation with Modified Cyclodextrins, Hüthig, Heidelberg, 1992, VIII + 168 pp., ISBN 3-7785-2026-1
2. C. Bicchi, A. D'Amato, P. Rubiolo, *J. Chromatogr. A*, 843 (1999) 99
3. V. Schurig, Trends in analytical chemistry, 21 (2002) 647
4. E.A. Pfannkoch, J.A. Whitecavage, V.R. Kinton, J. Christenson, Gerstel application note, May 2004 (www.gerstel.com/p-gc-an-2004-05.pdf)

更多信息

有关我们的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

安捷伦对本资料中出现的错误，以及由于提供或使用本资料所造成的相关损失不承担责任。

本出版物所含信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技版权所有，2009 年
中国印刷
2009 年 1 月 5 日
5990-3428CHCN



Agilent Technologies