

Dry-Packed Fused-Silica Capillary Columns for HPLC Guan Yafeng, Lu Peichang, Zhou Liangmo Dalian Institute of Chemical Physics, Academia Sinica P. O. Box 1 0116 12 Dalian, P. R. China G. Crescentini, F. Bruner Istituto di Sci. di Chim., Univ. di Urbino, 61 29 Urbino, Italy.

A dry-packing method for the preparation of fused-silica columns packed with 5 μ m and 3 μ m C₁₈ packing materials is described. Ethanol was chosen as the discharge agent and pressurized gases

were used as the packing media. Packing materials of Spherisorb ODS-1, Spherisorb ODS-2 and Hypersil ODS were used in this study. Column performance was evaluated by means of reduced plate height/reduced velocity and separation impedance. The comparison between dry-packed and slurry packed columns showed that the dry-packing method yields columns of better stability and similar or better efficiency, and requires a simpler apparatus and a shorter packing time.

化学键合相硅胶BC₁₈ 预制高效薄层色谱板的板效率和性能探讨

孙仲诒 马立人 左学静 王煜明

(军事医学科学院放射医学研究所, 北京, 100850) (北京西红门中学化工厂) (北京化学试剂研究所)

【摘要】 化学键合相硅胶BC₁₈预制高效薄层色谱板(BC₁₈HPTLC_{F254})是国产的新型薄层板。本文探讨了用该板分离雌激素、萘酚酸类药物, 生物碱和含氮化合物, 染料混合物的板效率及其六项基本色谱性能。

化学键合相硅胶薄层色谱板是近年来薄层色谱领域中的进展之一。其特点有二: 一是用化学方法修饰硅胶, 使其表面色谱性能改变, 并可重复使用; 二是展开剂组成趋于简单化。文中探讨了国产BC₁₈硅胶预制高效薄层色谱(BC₁₈HPTLC)板在雌激素, 萘酚酸类药物, 生物碱和含氮化合物, 染料混合物分离中的板效率及其六项基本色谱性能, 供使用者参考。

实验部分

(一) 试剂和仪器

试剂 雌激素为 3,17-双苄基雌二醇, 戊酸雌二醇和雌二醇(上海制药九厂); 萘酚酸为茜草酸, 五乙酰茜甙和茜草双酯(上海制药二厂); 生物碱和含氮化合物为咖啡因, 尼克酰胺和对硝基苯胺(E. Merck); 染料混合物Ⅰ(瑞士CAMAG 38003)含6种亲脂染料。展开剂均为分析纯。高效薄层色谱(HPTLC)板为BC₁₈HPTLC板, BC₁₈

HPTLC_{F254}板, 100×100mm, 薄层厚 0.2mm (北京西红门中学化工厂) 简称 BC₁₈ 板; RP₁₈HPTLC_{F254}S板, 100×100mm, 薄层厚 0.2mm(E. Merck)简称RP₁₈S板。

仪器 点样器(瑞士CAMAG27750), 双底槽(瑞士CAMAG 25251), CS-910型扫描仪(日本岛津)。

(二) 方法

在薄层板上距边沿 10mm处, 分别点加 (1)雌激素混合物的乙醇液1.5 μ l, 含 3,17-双苄基雌二醇10 μ g, 戊酸雌二醇50 μ g, 雌二醇16.5 μ g, 乙腈-水(85:15V/V)中上行展开 50mm(下同), 280nm处, 反射法线形扫描(下同); (2)萘酚酸类乙醇液1.5 μ l, 含茜草酸8 μ g, 五乙酰基茜甙6 μ g, 茜草双酯25 μ g, 乙腈-水(85:15V/V)中展开, 254nm处扫描; (3)生物碱和含氮化合物乙醇液2 μ l, 含咖啡因10 μ g, 尼克酰胺 25 μ g, 对-硝基苯胺 7 μ g, 甲醇-0.005mol/L 庚磺酸钠溶液(70:30V/V)系统中展开, 254nm处扫描;

(4) 染料混合物Ⅱ 甲苯液 0.5μl, 甲醇-水 (90:10V/V)中展开, 500nm 处扫描。按文献⁽¹⁾方法计算理论板数 n, 塔板高 H, 分离度 R, R_f 等色谱参数, 其中染料混合物Ⅱ, 只计算了在两种薄层板上分离较好的3、5、6峰的有关参数。

结果与讨论

(一) 在BC₁₈板上四类物质的分离结果都较理想。其中雌激素、萘酚酸、生物碱及含氮化合物类各含三种成分, 扫描图谱上出现三个峰, 染料混合物含6种成分, 得6个扫

表 1 BC₁₈HPTLC板在几类物质分离中的板效率测试结果比较

NO	萘 酚 酸 类			雌 激 素 类			生物碱及含氮化合物		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
X(mm)	26.5	35.0	44.0	15.0	24.0	41.0	24.5	32.5	42.0
Y(mm)	4.0	2.5	2.5	3.0	3.0	3.1	4.0	5.0	5.5
W(mm)	8.0	6.0	5.0	7.0	8.0	8.0	8.5	10.5	12.0
100xR _f	53	70	88	30	48	82	49	65	84
n	998	559	883	214168	548271	299655	864	667	816
H(μm)	51	90	57	0.2	0.1	0.2	57.8	74.9	61.3
R	1.2		1.6	1.2		2.1	0.84		0.84
ZF	50			50			50		

表 2 两种化学键合反相硅胶薄层预制板的板效率测试结果比较

NO	BC ₁₈ HPTLC			RP ₁₈ HPTLC _{F254S}		
	CAMAGTest	Dye	Mixture11	CAMAGTest	Dye	Mixture11
	3	5	9	3	5	6
X(mm)	11.0	20.0	34.9	13.0	20.5	39.0
Y(mm)	2.5	2.5	2.6	2.5	2.5	2.6
W(mm)	6.0	6.5	6.0	6.5	6.0	6.0
100xR _f	22	40	68	26	41	78
n	153291	506749	232049	210119	522500	303037
H(μm)	0.3	0.1	0.2	0.2	0.1	0.2
R	1.4		2.2	1.2		3.1
ZF	50			50		

X=移动距离, Y=半峰高宽, W=峰基宽, n=理论塔板数, H=理论塔板高度, R=分离度, NO=峰号, ZF=溶剂从原点至前沿的距离。

描峰。结果见图1~4图, 表1~表2。

对分离染料, BC₁₈板较RP₁₈S板更有特点。对分离强极性类物质, BC₁₈板的理论塔板数n与文献值 (n<1000) 相近似 (如萘酚酸、生物碱和含氮化合物类)。有意义的是两种薄层板对亲脂类物质的分离 (如雌激素、染料类), 理论塔板数可多达数十万, 此结果未见文献报告, 值得进一步探讨。

(二) 键合相硅胶薄层和正相硅胶薄层的差别之一是用化学方法修饰硅胶使其色谱性能发生改变, 因此, 考察了BC₁₈板的6项

基本色谱性能, 并与RP₁₈HPTLCS板作了对比。1. 在乙腈-水系统中的展开时间; 2. 在甲醇-水系统中的展开时间。这两种溶剂系统是最常用的移动相。结果列于表3, 表明在两类移动相中, BC₁₈板和RP₁₈S板的展开时间均随含水量的增加而延长, 前者更明显。3. 在溶剂系列中的K值, 按H. Halpaap⁽²⁾溶剂系列次序, 用公式 $K = \frac{S}{T} (\text{mm}^2/\text{s})$ (S为溶剂湿润的面积, T为湿润S所需的时间) 计算两种薄层板的K值, 结果列于表4。表

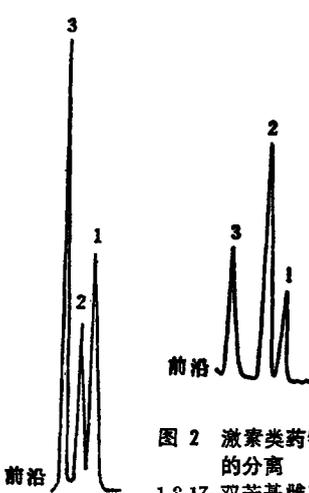


图1 酚酞酸类药物的分离
1. 茜草双酯, 2. 五乙酰基茜甙, 3. 茜草酸。
展开剂: 乙腈-水(85:15V/V)
扫描波长254nm。

图2 激素类药物的分离
1. 3,17-双苄基雌二醇, 2. 戊酸雌二醇, 3. 雌二醇。
展开剂: 乙醇-水(85:15V/V) 扫描波长: 280nm。

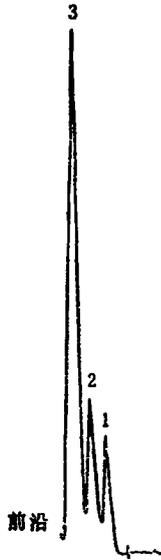


图3 生物碱和含氮化合物的分离
1. 对-硝基苯胺, 2. 咖啡因, 3. 尼克酰胺,
展开剂: 甲醇:0.005 mol/L庚磺酸钠溶液(70:30V/V)。
扫描波长: 254nm。

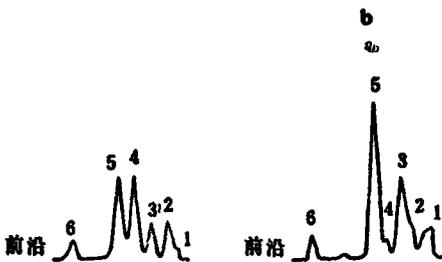


图4 染料类的分离
CAMAG试验染料混合物Ⅰ(38003)
展开剂: 甲醇-水(90:10V/V)
扫描波长: 500nm。
a. BC₁₈HPTLC,
b. E. MERCK, RP₁₈HPTLC_{F254S}。

明BC₁₈板的K值大于RP₁₈S板, 提示两者极性不同。4. R_M值它是评价各种键合材料之间极性关系的指标之一, 供试品为茜草双酯, 在甲醇-水(甲醇95~80%, 水5~20% V/V)系统中展开, 按公式⁽³⁾R_M = Log(1 - R_f)/R_f计算R_M值, 结果如图5。表明BC₁₈板的R_M值高于RP₁₈S板, 显示前者的疏水性强。造成这种差异的原因, 可能是硅胶钝

化的程度不同。前者含碳量为13.5% (Whatman KC₁₈HPTLC的碳含量12%⁽⁴⁾), 残留的硅醇(-Si-OH)基较少, 以及薄层粘合剂不同等因素的影响。5. 点样量的线性此指标用来评价薄层质量的优劣, 供试品为苏丹红, 点样量为100ng/点~800ng/点, 乙腈-水(95:5V/V)展开, 点样量与斑点扫描峰面积积分值呈线性, 两种板近似(Y_{BC18} = 0.9998, Y_{RP18S} = 0.9999)。

表3 两种预制板在两种常用溶剂中展开时间的比较

溶剂(V/V)	BC ₁₈ HPTLC板(min)	RP ₁₈ HPTLC _{F254S} 板(min)
甲醇:水		
10:0	7	6
95:5	11	8
90:10	17	13
85:15	22	18
80:20	31	28
75:25	38	31
70:30	42	39
65:35	55	46
60:40	57	48
乙腈:水		
100:0	16	9
95:5	20	13
90:10	23	17
85:15	28	21
80:20	34	25
75:25	43	31
70:30	72	45
65:35	97	57
60:40	>100	75

表4 两种预制板在溶剂系列中的K值比较

溶 剂	BC ₁₈ HPTLC (mm ² /s)	RP ₁₈ HPTLC _{F254S} (mm ² /s)
乙 烷	4.4	7.6
甲 苯	0.9*	10.4*
氯 仿	1.0*	6.0*
乙 腈	10.2	13.9
丙 酮	1.1*	10.4*
乙 醇	2.4	4.2
甲 醇	4.9	7.6
水	—	—

* 两者数字差别显著, 系色谱特性差别所致。

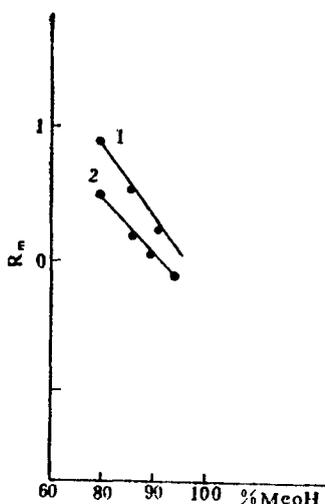


图5 在两种预制板上茜草双酯的R_f值比较
1. RP₁₈HPTLC F₂₅₄S, 2. BC₁₈HPTLC.

6. 两种板在可见光区和紫外光区的吸收相同。文献⁽⁵⁾报道, 各厂商提供的化学键合相材料其色谱性能差别甚大(本试验也证明此点), 这给评价薄层板带来困难, 尚需进行深入的基础研究。然而, 预制板的分离效率仍是评价的重要指标, 其余6项可供参考。

参考文献

- [1] 孙仲诒等, 色谱, 4(3), 129(1986).
- [2] W. Jost and H. E. Hanck In R. E. Kaiser, Proceedings of the Second International Symposium on Instrumental High Performance Thin-Layer Chromatography, 25, Institute for Chromatography, West Germany (1982).
- [3] U. A. Th. Brinkman and G. De. Vries, J. Chromatogr. 192, 331 (1980).
- [4] E. MERCK Reagents: Reversed Phase Pre-coated Plates 4-15, (1984).
- [5] U. A. Th. Brinkman and G. De. Vries, J. Chromatogr. 258, 43(1984).

(收稿日期: 1989年3月26日)

Investigation on the Efficiency and Some Characteristics of Chemically Bonded Phase Pre-Coated BC₁₈HPTLC Plate *Sun Zhong Yi, Ma Liren, Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing, Zuo Xuejing, Chemical Manufactory of Xi Hong Men Middle School, Beijing, Wang Yuming Institute of Chemical Reagents, Beijing*

BC₁₈ pre-coated HPTLC plate is home-made with chemically bonded silica gel. Six fundamental criteria on chromatographic characteristics of the plate have been investigated. Furthermore, the separating efficiency of the plate has been tested using CAMAG test dye mixture III, naphthol acids, steroidal hormones, nitrogen compounds, etc.

反相高效液相色谱流动相组分最优化中 初始条件的迅速选择

徐广通* 侯镜德

(浙江大学分析测试中心, 杭州, 310027)

〔摘要〕 本文从梯度和等浓度两方面讨论了反相色谱流动相组分最优化过程中初始条件的迅速选择。讨论了不同梯度参数对确定初始流动相组分的影响; 对不适于梯度洗脱的情况, 提出了用逐步逼近的等浓度洗脱过程确定初始流动相组分的方法。以多环芳烃和去痛片组分为例验证了方法的可靠性。

色谱最佳分离条件的选择是在色谱技术应用中极需解决的问题之一。在提出的众多优化方法中^[1-3], 初始流动相组分的选择对优化过程实现的快慢及优化的成功与否往

往有很大的影响。Schoenmakers^[4]等人曾从梯度实验的结果对初始流动相组分做了预测, 由于没有考虑耽误时间 t_d 对梯度洗脱中

* 现在山东建材学院应用化学系工作。