

研究报告

多环芳烃的在线毛细管超临界流体 色谱/傅里叶变换红外光谱联用分析方法*

黄威东 王清海 朱道乾 车 迅 宋果男 周良模

(中国科学院大连化学物理研究所, 116012)

[摘要] 建立了一种毛细管柱超临界流体色谱/傅里叶变换红外光谱联用方法。成功地实现了对多环芳烃混合物的分析鉴定。该联用方法是在线分析鉴定复杂有机混合物的有效手段之一。

近年来,超临界流体色谱(SFC)得到迅速的发展。它特别适用于分离那些气相色谱或液相色谱难处理的极性、热不稳定以及高分子量的物质。通常, SFC使用气相或液相色谱常用的检测器,如 FID 和 UV 检测器^[1]。但是,结构信息型检测器如质谱(MS)和傅里叶变换红外光谱(FTIR)也越来越受到人们的重视,发展了 SFC/MS 和 SFC/FTIR 联用技术。SFC/FTIR 的实现是由于大多数的 SFC 均以具有良好溶解能力等优点的 CO₂ 为流动相。而超临界 CO₂ 仅在 3600cm⁻¹ 和 2400cm⁻¹ 附近出现强红外吸收。因而它也是红外光谱的一种良好溶剂。近年来,已有几个实验室相继开展了不同类型的 SFC/FTIR 的研究^[2-6]。这些研究均表明 SFC/FTIR 可作为分析鉴定复杂混合物的一种有效手段。与 SFC/MS 相比, SFC/FTIR 在检测灵敏度方面尚嫌不高,但是由于它可给出整个分析物分子的官能团信息而不是分子碎片信息,因而它一直以一种与 SFC/MS 相互补充的方法而得以发展。到目前为止,所报道的在线和离线 SFC/FTIR 方法距实用尚有一定的距离,改进接口和提高检测灵敏度方面的努力仍在进行中。本文报道了我们发展的一种在线 SFC/FTIR 方法及其在多环芳烃分析中的应用。

实 验 部 分

(一) SFC 单元 自组装的具有压力程升(8—20MPa)和温度程升功能的超临界流体色谱装置。色谱柱为内径 250 μ m 的硅酮交联石英毛细管柱。以纯净 CO₂ 为流动相。进样阀处装有分流器以控制最小进样量。

(二) FTIR 单元 Nicolet 7199B 傅里叶变换红外光谱系统。窄带 MCT 检测器(液氮冷却)。改装了原系

统的检测器光学台以减少光能损失。时间分辨光谱的分辨率为 4cm⁻¹。每秒钟收集一个光谱文件,每个文件为四次扫描的叠加。使用由本实验室在 Nicolet GCS 软件基础上发展的软件来收集和处理实验数据。与原软件相比,其主要不同在于增加了信号平均功能和消除由于流动相密度增加(压力程升时)而引起的重建色谱图基线上升的功能,从而使重建色谱图和在线光谱图的质量得到一定的提高^[7]。

(三) 接口单元 自制的内部抛光的内径为 0.5mm,光程为 5mm 的不锈钢流动池。其有效体积为 1 μ l。池窗为直径 10mm、厚 8mm 的氯化钠晶体。经实验,该池至少可承受 20MPa 的压力。由于流动池采取了斜式进出口方式以及色谱柱直接插入池中,所以该池是无死体积的。联接在池出口处的内径 10 μ m、长 1m 的石英毛细管用来维持流动相在柱内和流动池内的压力平衡和控制流动相的线速度。池体上装有温度控制器,使流动池与色谱柱具有相同的温度。

结 果 和 讨 论

由于 FTIR 的干涉仪在进行时间分辨扫描时对色谱峰响应远快于色谱本身,故扫描一个色谱峰时也即光谱共加时可获得一个合成的干涉光谱。对该光谱(流动相与分析物的叠加光谱)进行傅里叶变换和吸光度减等数学处理后便可得到“纯”分析物的红外光谱。直接从干涉图取样而建立的 Gram-Schmidt 重建色谱图(GSR)用来作为色谱组分流出的示意图,而化学图用作监测分析物中是否会有某些官能团并指示相应的色谱峰的红外数据所存贮的文件地址。

5mm 光程的超临界 CO₂(50 $^{\circ}$ C, 9MPa)的单光束红外光谱如图 1 所示。两组强红外吸收出现在

3750 cm^{-1} —3550 cm^{-1} 和 2500 cm^{-1} 和 2250 cm^{-1} 间。另外还有两对具有一定强度的吸收带。一对位于 2070 cm^{-1} 和 1944 cm^{-1} 。另一对位于 1386 cm^{-1} 和 1282 cm^{-1} 。它们与 CO_2 的压力和温度(也即密度)有密切关系。图 2 为 CO_2 的 1386 cm^{-1} 吸收带在不同温度(1)和不同压力(2)下的吸收情况。这说明较低的压力和较高的温度有利于 CO_2 作为在线的 SFC/FTIR 的流动相。

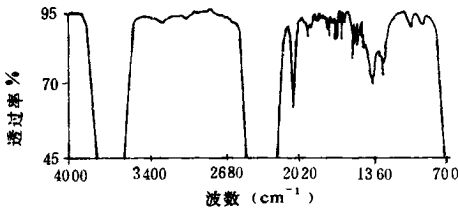


图 1 超临界 CO_2 的红外光谱图

5mm 光程,分辨率:4 cm^{-1} ,50 $^\circ\text{C}$,9MPa。

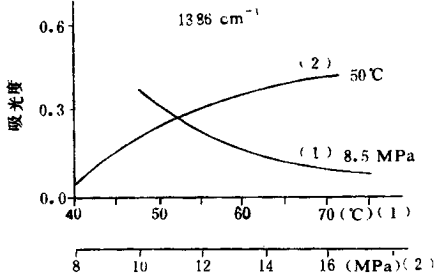


图 2 温度和压力对超临界 CO_2 的影响。

一个五组分的多环芳烃混合物(萘、萘、菲、芘和蒽)的苯溶液,每组分约 3 μg 于 50 $^\circ\text{C}$ 的温度下在大约 40min 的时间内即在所建的联用系统中得到了完全分离(图 3)。压力程序为首先在 8MPa 压力下保持 10min,然后以 0.2MPa/min 的速度升到 13MPa。该色谱图的分辨是相当好的,混合物的每一组分(包括溶剂)均被检出。对应于图 3 中各峰的在线红外光谱如图 4 所示。它们均有着高的信噪比,并含有足够的光谱信息,完全可经与标准谱图的比较进行定性。顺便指出,由于 CO_2 的两组强红外吸收带的存在,谱图在 3600 cm^{-1} 和 2400 cm^{-1} 附近是空白的。这两个区域对应于醇、炔和腈类化合物的主要伸缩振动带,对其它类化合物的鉴定是没有影响的。由图 4 可以看出,色谱峰的流出顺序是直接和化合物所含的环数相关的。

最小检测量是联用的一个重要的评价参数。本研究中以萘的碳氢面外弯曲振动带(γ_{CH} ,780 cm^{-1})来测定最小检测量。按以上实验条件获取不同浓度的萘的化学图(光谱窗口为 750—820 cm^{-1}),然后加合平均萘峰的最高峰值处的干涉图文件和其左右各 2 个文件(共 5 个文件),从而形成在线光谱图以用于

γ_{CH} 带的最小检测量的测定。计算结果表明对于萘的 γ_{CH} 带的最小检测量为 45ng(三倍峰—峰噪音水平)。由于实验中未使用光束会聚装置,因而流动池与入射红外光束(光斑直径约 2mm)的匹配是不好的。光束会聚器的使用,将使最小检测量大为降低。

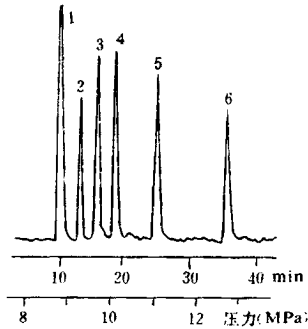


图 3 多环芳烃混合物的 GSR 色谱图

柱:250 μm ×20m 硅酮交联柱,50 $^\circ\text{C}$,1 μl 进样量,其它见正文。

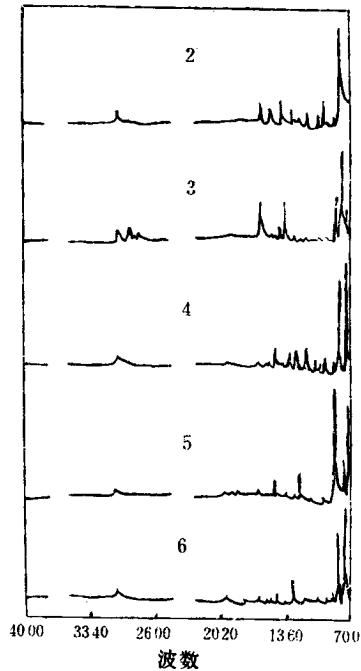


图 4 示于图 3 中的各色谱峰的在线红外光谱图

SFC 的最佳分离效果是在最佳线速度下获得的。但是,实验中发现这对于在线光谱的获得却不是最佳条件。从红外检测来说,较快的线速度是有利的。因为这相当于将分析物在柱内进行了一定程度的“浓缩”。当然,这可能要损失色谱的相对分离度。经过实验,较 SFC 最佳线速度稍快的线速度被认为适于在线 SFC/FTIR 的测量。

由以上实验可以看出,在线 SFC/FTIR 是分析鉴定多环芳烃的一种有效手段,且实验条件温和,分析时间短和分离效率高。所得到的在线红外光谱图质量高,可直接用于定性分析。该联用方法的其它应用和探讨使用改性流动相的研究正在进行中。

参 考 文 献

- [1] P. J. Schoenmakers et al., *J. Chromatogr.*, 395, 91 (1987).
- [2] J. W. Heligeth et al., *J. Chromatogr. Sci.*, 58, 164 (1986).
- [3] P. R. Griffiths et al., *Anal. Chem.*, 58, 1348A (1986).
- [4] C. C. Johnson et al., *J. Chromatogr. Sci.*, 24, 82 (1986).
- [5] P. Carrand et al., *J. Chromatogr. Sci.*, 25, 395 (1987).
- [6] L. T. Taylor et al., *Chem. Rev.*, 89, 321 (1989).
- [7] 黄威东等,光谱学与光谱分析,待发表。

(收稿日期:1991年3月18日)

On-Line Capillary Supercritical Fluid
Chromatography/ Fourier Transform Infrared
Spectroscopy (SFC/FTIR) Method for Polycyclic
Aromatic Hydrocarbons Analysis Huang Weidong, Wang
Qinghai, Zhu Daoqian, Che Xun, Song Guonan and Zhou Liangmo,
Dalian Institute of Chemical Physics, Academia Sinica, 116012

A combined method of on-line SFC-FTIR employing cross-linked silicone capillary column has been developed. Baseline separation of a five-component mixture of polycyclic aromatic hydrocarbons with benzene as the solvent was accomplished at 50°C with 100% CO₂ used as the mobile phase in about 40 minutes. On-line IR spectra obtained are high-quality and readily identifiable. 45ng of detection limit (3 × N_{p-p}) for γ_{CH} band of naphthalene is achieved. On-line SFC/FTIR is a reliable analytical technique for complex mixtures.

尿中可待因及其代谢产物的分析研究

方洪钜 徐妍青 段宏瑾 徐友宣* 吴筠* 池华

(中国医学科学院药物研究所,北京 100050; *国家体委运动医学研究所,北京,100029)

[提要] 本文叙述了用 GC, GC-MSD 建立的检测运动员尿样中可待因的方法。样品用酸水解,乙醚/异丙醇 (9:1) 提取,最后用 MSTFA 和 MBTFA 衍生化,反应液注入 GC 或 GC-MSD 仪器。方法灵敏、快速和准确,也可用于其他有关 26 种麻醉镇痛剂和 β-阻滞剂的检测。本法已经受 IOC 的二次预考和一次正式合格考试的考验,并取得资格证书,确认为第 11 届亚运会兴奋剂检测方法。

在许多国际体育比赛中,一些运动员为获取奖牌,不惜破坏体育竞赛中的增强体质、公平竞争的宗旨和损害自身健康而服用兴奋剂。为此国际奥委会 (IOC) 医学委员会采取了严格的措施,对一些能提高运动成绩的药物实行禁服。目前禁用药物已达五大类共 101 种。麻醉镇痛剂能产生欣快感及心理亢奋,其镇痛作用能掩盖伤痛,使运动员能继续参加比赛。所以这类药物属于五大类禁用药物中的一类。我们过去的工作已对 12 种麻醉镇痛剂的标准品作过 GC 和 GC-MSD 的分析研究^[1]。根据 IOC 的要求,一旦发现运动员服用了可疑药物,则不仅其样品分析数据 (包括 GC, GC-MSD 的谱图) 应与标准品相一致,而且还应与已知阳性尿的母体药物以及代谢物相符,才能被确认。本文将就 IOC 规定的 19 种麻醉镇痛剂之一,

即最常用而成瘾性要比吗啡小的可待因尿样分析予以报道。过去曾有过方法分析生物体液中的吗啡和可待因^[2]以及同时测定豚鼠尿中两者及其代谢物^[3],但同时用毛细管柱 GC 和 GC-MSD 来检测人尿中可待因及其两种代谢产物还未见报道。可待因的代谢途径如图 1 所示。

实 验 部 分

(一) 药品与试剂

可待因 (加拿大 INRS-Sante Lab 提供), 吗啡 (华东人民制药公司), 安眠酮 (内标物) 购自北京友谊医院, MSTFA (Pierce), MBTFA (Sigma), 半胱氨酸 (Merck)。其它如乙醚、异丙醇等为国产分析纯试剂, 乙醚及异丙醇均经处理重蒸后使用, 暗处低温贮存。