

非水胶束电动色谱分离邻苯二甲酸酯类化合物

黄 锐¹, 穆小静¹, 阴永光², 魏为力¹, 陈志涛³, 夏之宁¹

(1. 重庆大学化学化工学院, 重庆 400044; 2. 中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085;
3. 重庆大学生物工程学院, 重庆 400044)

摘要 非水胶束电动色谱(NAMEKC)兼具非水毛细管电泳的优点和胶束电动色谱的分离机制, 尤其适于对强疏水性化合物进行分离分析。在以甲酰胺为非水溶剂的电泳介质中, 采用十二烷基硫酸钠(SDS)形成胶束相, 开展 NAMEKC 方法的研究。通过添加水溶液、调节水溶液酸度、添加有机溶剂、改变 SDS 浓度等操作条件的考察, 在 15 min 内实现了 3 种美国环保局优先监测的污染物——邻苯二甲酸二甲酯、邻苯二甲酸二乙酯、邻苯二甲酸二丁酯的分离。分离度最小者为 1.5, 检测限优于 3.04 mmol/L (以信噪比为 3 计)。3 种典型的强疏水性物质的成功分离, 显示出 NAMEKC 方法在分离疏水性物质方面的优势, 扩展了 NAMEKC 在电中性有机物分析中的应用。

关键词 非水胶束电动色谱; 非水毛细管电泳; 胶束电动色谱; 邻苯二甲酸酯; 甲酰胺

中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-8713(2006)06-0597-04 栏目类别: 研究论文

Separation of Phthalates in Non-Aqueous Micelle Using Capillary Electrokinetic Chromatography

HUANG Rui¹, MU Xiaojing¹, YIN Yongguang², WEI Weili¹, CHEN Zhitao³, XIA Zhining¹

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Chongqing University, Chongqing 400044, China;
2. Research Center for Eco-Environmental Sciences, the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China;
3. College of Bioengineering, Chongqing University, Chongqing 400044, China)

Abstract : On the basis of non-aqueous capillary electrophoresis (NACE) and micellar electrokinetic chromatography (MEKC), a novel technique, non-aqueous micellar electrokinetic chromatography (NAMEKC), has been established. NAMEKC has the advantages of NACE and uses the separation mechanism of MEKC, showing special advantages for separation of hydrophobic compounds. Separation of three of the priority pollutants by U. S. Environmental Protection Agency (EPA), i. e. dimethyl phthalate (DMP), diethyl phthalate (DEP), and dibutyl phthalate (DBP), were realized in 15 min. Important factors on separation, such as the amount of water added in the electrophoretic running buffer, the acidity of water phase, the organic additive, and the concentration of sodium dodecyl sulfate (SDS), were investigated. The proportion of water in the electrophoretic running buffer could affect the current and the stability of SDS micelle. Organic additives and the acidity of water phase showed no effect on increasing resolution. The concentration of SDS was a dominant factor, affecting the partition of analytes in micelle. DMP, DEP, and DBP were separated in a short time under the optimized operation conditions using 20 mmol/L NaH_2PO_4 and 120 mmol/L SDS in formamide/water (9/1, v/v). The application of NAMEKC leads to successful separation of the three typical hydrophobic compounds, which provides a novel means to separate and analyze hydrophobic compounds.

Key words : non-aqueous micellar electrokinetic chromatography (NAMEKC); non-aqueous capillary electrophoresis (NACE); micellar electrokinetic chromatography (MEKC); phthalates ; formamide

收稿日期 2006-02-27

第一作者: 黄 锐, 女, 硕士研究生, E-mail: huangrui222@yahoo.com.cn.

通讯联系人: 夏之宁, 男, 博士, 教授, 博士生导师, E-mail: Lab_xia@yahoo.com.cn.

基金项目: 国家自然科学基金(No. 20375051)、教育部跨世纪优秀人才培养计划(No. 20013)和重庆大学研究生教育创新基金(No. 2004A007)资助项目。

Terabe 等创立的胶束电动色谱(MEKC)使毛细管电泳(CE)分析的对象得到了很大的扩展^[1-3]。采用 MEKC 方法可以对电中性的分子进行分析。但是对于在胶束溶液中难以溶解的有机化合物试样, MEKC 却无能为力。自 Walbroehl 和 Jorgenson^[4]将非水介质作为毛细管电泳的运行介质后, 非水毛细管电泳所具有的可以提高许多非离子型有机化合物的溶解性, 并能在较宽范围内调整电渗流的优势得到了迅速发展^[5-7]。但是对于某些疏水性极强的有机化合物, 采用该方法仍然不能有效地溶解试样, 并且非水溶剂中疏溶剂作用较弱, 化合物间的分离困难, 分离度往往都不是太高。

一般认为在非水介质中表面活性剂不能聚集形成胶束, 但 Lin 等^[8-10]发现在内聚能密度相对较高的介质中有的表面活性剂可以形成胶束。例如在甲酰胺溶剂中, 十二烷基硫酸钠(SDS)就能形成稳定的胶束, 其临界胶束浓度约为 20 ~ 30 mmol/L。在这样的甲酰胺介质中, 借用 MEKC 的分离机制, 进行基于分配原理的电泳分离分析, 可以兼顾 MEKC 和 CE 两种电泳方式的优点, 提高分离度。该方法相对于 MEKC 能增加分析物的溶解度, 成为一种新的毛细管电泳方法, 即非水胶束电动色谱(NAMEKC)方法。这种方法创立后, 显示出了提高分离度和扩大 MEKC 分析对象种类的潜力。

邻苯二甲酸酯类化合物是目前大量生产的一类增塑剂, 广泛应用于塑料加工工业中, 是最常见的有机污染物之一; 同时, 它们也是一类生物内干扰素, 可干扰人体激素的分泌, 体内长期积累可诱发癌变; 因此, 美国和其他一些国家都将其归为优先监测的污染物。目前对其分离测定多采用气相色谱和高效液相色谱方法^[11-13]。Baker^[14]在采用高效液相色谱-热喷雾质谱对 6 种常用的邻苯二甲酸酯类增塑剂进行分析研究后指出, 由于邻苯二甲酸酯类化合物疏水性强, 因而在反相高效液相色谱体系中保留时间较长, 导致较长的分析时间。所以, 探索高效方便的邻苯二甲酸酯类化合物的分离方法, 一直是分析工作者的努力方向。

本文以邻苯二甲酸酯类化合物为分析实例, 开展 NAMEKC 方法的研究, 重点考察非水性介质的组成与条件对化合物分离的影响。研究中利用 SDS 胶束相形成假固定相, 采用甲酰胺为非水介质, 对操作条件中的表面活性剂浓度、水溶液离子强度与酸度进行了优化, 使 3 种强疏水组分——邻苯二甲酸二甲酯(DMP)、邻苯二甲酸二乙酯(DEP)、邻苯二甲酸二丁酯(DBP)的分离得以实现。

1 实验部分

1.1 仪器

自组装毛细管电泳仪: 可调高压电源(0 ~ 30 kV, 天津东文高压电源厂); 可变单波长紫外-可见波长检测系统(北京卓立汉光有限公司); 7ID101-CR131 光电倍增管(北京赛凡光学仪器有限公司)。数据采集和处理: HW-2000 色谱工作站(南京千谱软件有限公司)。

石英毛细管(内径 75 μm , 总长 49.5 cm, 有效长度 40 cm, 河北永年锐沓色谱器件有限公司)。

1.2 试剂

甲酰胺(成都科龙化工试剂厂)、甲醇(重庆川东化工有限公司)、乙腈(天津大茂化学试剂厂)、邻苯二甲酸二甲酯(重庆东方试剂厂)、邻苯二甲酸二丁酯(成都金山化工试剂厂), 均为分析纯试剂; 邻苯二甲酸二乙酯(广东汕头新宁化工厂)、十二烷基硫酸钠(天津天泰精细化学品有限公司), 均为化学纯试剂。

1.3 实验条件

用 0.1 mol/L 氢氧化钠水溶液冲洗初次使用的毛细管 20 min, 再用蒸馏水冲洗 10 min, 然后以甲酰胺冲洗 20 min。每次电泳分离前, 用相应的运行介质冲洗毛细管 5 min。

采用电迁移进样方式(20 kV \times 5 s), 阳极端进样, 阴极端检测, 运行电压 20 kV。柱上紫外检测, 检测波长 254 nm。运行缓冲液为含 20 mmol/L NaH_2PO_4 和 120 mmol/L SDS 的甲酰胺-水(体积比为 9:1)混合溶液。室温条件下操作。DMP、DEP 和 DBP 在试液中的浓度均为 20 mmol/L。

2 结果与讨论

2.1 单纯甲酰胺介质中 3 种邻苯二甲酸酯的电泳分离

考察邻苯二甲酸二甲酯、邻苯二甲酸二乙酯、邻苯二甲酸二丁酯在单纯甲酰胺介质中的电泳分离结果(见图 1) 3 种邻苯二甲酸酯未见分离, 其混合组分的迁移时间为 14.7 min, 表观淌度为 $11.2 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 / (\text{s} \cdot \text{V})$ 。混合组分的峰形略有拖尾, 可能与邻苯二甲酸酯在管壁上有一定的吸附有关。在甲酰胺介质中, 邻苯二甲酸酯类化合物分子显电中性, 因而不具有有效淌度。另外, 以丙酮标记电渗流(EOF)大小的水溶液毛细管区带电泳显示, 丙酮的迁移时间为 8 至 9 min, 由此可知, 以纯甲酰胺为运行介质时的电渗流比以水为运行介质时要小。而在甲酰胺介质中, 丙酮作为电渗流标记物, 其迁移时间也在

14 min左右,由此也证实 3 种化合物的有效淌度为零。文献[15]认为,使用甲酰胺作电泳介质可以使某些化合物的电泳分离度提高 1.5 倍;而本文研究的对象,在该溶剂中完全不能分离,说明 3 种化合物的电泳分离具有相当的难度。

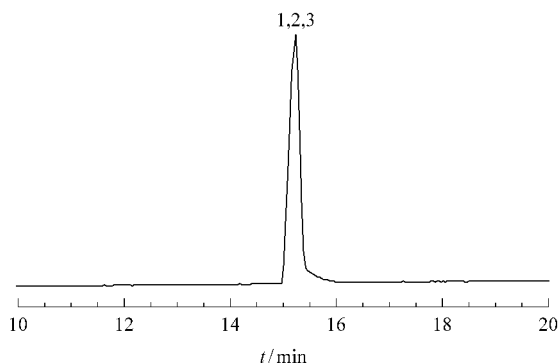


图 1 三种邻苯二甲酸酯类化合物在甲酰胺介质中的电泳图

Fig.1 Electropherogram of phthalates in formamide medium

Conditions :applied voltage , 20 kV ; detection at 254 nm ; electrophoretic injection , 20 kV \times 5 s ; without SDS and aqueous solution.

1. DMP ; 2. DEP ; 3. DBP.

实验还发现,甲酰胺介质在不加入其他电解质的情况下,仍有 4 μ A 的电解电流,这可能源于甲酰胺自离解的缘故。根据这种情况,本文认为甲酰胺在分离体系中与组分的静电相互作用是需要考虑的,而且这种静电相互作用也可以被利用。

2.2 运行介质中水溶液对分离的影响

在甲酰胺介质中,加入水性缓冲溶液对 3 种邻苯二甲酸酯的分离有一定影响。分别试验了 10%、15%、20%(均为体积分数)水性介质加入的情况。电泳介质中水含量的增加均使电流增大,DMP、DEP 和 DBP 的迁移时间减小,且彼此有一定的分离,但水溶液含量的变化范围为 10%~20%时,分离度变化不大。电流的增大是由于相同物种在水中的摩尔电导率较大引起的,这正是源于水的离解产生了一定的 H^+ 和 OH^- 离子。在这样的介质中,静电作用可能是产生分离的基本作用,但此作用的能力有限,使化合物只能出峰而不能达到基线分离,分离度都在 0.8 以下。

另外,在加入 SDS 构成的非水胶束介质中,水分含量为 20%时,电泳电流极不稳定,电泳谱图的基线波动亦较大。这可能是水性介质的加入使电泳介质电导增大,并且使 SDS 有微量析出造成的,因此电泳介质中以加入 10% 的水为宜。由于水的加入增加了毛细管内壁硅羟基的离解,从而也增加了电渗流^[16],因此组分的迁移时间在加入水之后均有不同程度的减小。

2.3 介质中水相的酸度与有机溶剂对分离的影响

完全使用水相的 MEKC 分析结果显示,缓冲液的酸度对于电中性物质的分离亦有重要的影响^[17]。因为酸度会影响电渗流,也会影响表面活性剂的荷电情况,所以可通过调节水相的酸度完成化合物的分离。本文通过变化电泳介质中水相溶液的酸碱比例考察了水溶液的酸度对组分分离的影响。

在考察范围内,水相的酸度对 3 种邻苯二甲酸酯的迁移淌度与分离度影响不大。考虑到采用 20 mmol/L NaH_2PO_4 作为电泳介质水溶液部分的构成具有较小的电流,因此确定在运行缓冲液中加入 20 mmol/L NaH_2PO_4 。

在以上介质中添加 10% 的甲醇或 10% 的乙腈后,3 种邻苯二甲酸酯的迁移时间相对延长,而分离度基本不变;在含 120 mmol/L SDS 的甲酰胺非水胶束溶液中,也有同样的情况。故本文认为,有机溶剂的加入对各组分的分离没有太大的影响。

2.4 SDS 浓度对分离的影响

在甲酰胺介质中,强疏水性化合物的疏溶剂作用变弱,在 SDS 胶束中的分配减小,其电迁移行为将发生变化,故更有利于分离。而比较含相同浓度 SDS 的甲酰胺介质和水相介质,甲酰胺介质的电导率小得多,SDS 在甲酰胺中还具有较高的溶解度,故可在甲酰胺介质中采用较高浓度的 SDS 作为添加剂以促使其形成胶束。随着 SDS 浓度的增高,电泳电流变大。当 SDS 浓度低于 120 mmol/L 时,电泳电流的增加与 SDS 浓度的增加呈线性关系。SDS 浓度为 160 mmol/L 时,电泳电流的增加偏离线性关系,这是由于毛细管不能有效散热的缘故。

在含水甲酰胺介质中 SDS 的浓度对 3 种邻苯二甲酸酯电泳淌度的影响见图 2。当 SDS 的浓度为 10 mmol/L 时,分离不明显;浓度为 20 mmol/L 时,

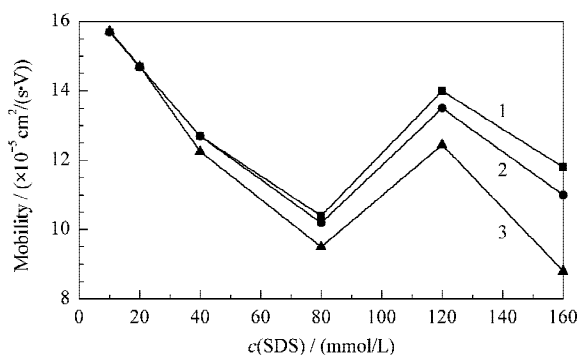


图 2 甲酰胺介质中 SDS 浓度对邻苯二甲酸酯淌度的影响
Fig.2 Effect of SDS concentration in formamide media on apparent mobilities of phthalates

Buffer : 20 mmol/L NaH_2PO_4 in formamide/water (9/1 , v/v). Other conditions as in Fig. 1.

1. DMP ; 2. DEP ; 3. DBP.

DMP、DEP 和 DBP 有一些分离迹象,这说明胶束开始发挥作用,SDS 在甲酰胺中的临界胶束浓度可能低于 20 mmol/L,或者是 SDS 分子单体与分析物之间存在相互作用的缘故。当 SDS 浓度达 120 mmol/L 时,可实现 3 种邻苯二甲酸酯的基线分离。

实验中发现,当 SDS 浓度从 10 mmol/L 变化到 80 mmol/L 时,3 种化合物的电泳表观淌度均是降低的趋势。在 SDS 浓度为 80 mmol/L 时,淌度在 $10 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/(\text{s} \cdot \text{V})$ 左右。这是因为 SDS 胶束的有效淌度为负值,而 DMP、DEP 和 DBP 的有效淌度几乎为零,在 SDS 浓度增大后,受 SDS 胶束的作用增大,其表观淌度越来越趋近于 SDS 胶束的淌度。因此,DMP、DEP 和 DBP 的表观淌度减小,迁移时间延长。但当 SDS 浓度为 120 mmol/L 后,虽然 3 种化合物在 SDS 胶束中的分配进一步增加,但由于 EOF 发生了改变,DMP、DEP 和 DBP 的出峰时间变短。这种 EOF 增大的原因待查。

2.5 三种邻苯二甲酸酯化合物的毛细管电泳分离

在优化的运行缓冲液为含 20 mmol/L NaH_2PO_4 和 120 mmol/L SDS 的甲酰胺-水(体积比为 9:1)混合溶液条件下,3 种邻苯二甲酸酯均达到基线分离,分离度 R_s 最小者为 1.5,结果见图 3。

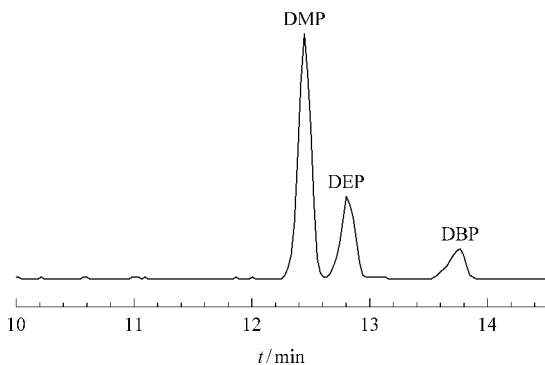


图 3 优化操作条件下 DMP、DEP、DBP 的电泳谱图

Fig.3 Electropherogram of phthalates at optimized operation conditions

Buffer: 20 mmol/L NaH_2PO_4 and 120 mmol/L SDS in formamide/water (9/1, v/v). Other conditions as in Fig. 1.

通过图 3 可以看出,DBP 的峰有一定的前伸变形,可以推断 DBP 已经接近胶束的电泳淌度,表明该体系的迁移时间窗口较小,这对于其他疏水性更强的化合物的分离无疑是不利的。进一步可采用以下手段调节强疏水性物质在胶束相中的分配:一是向缓冲液中加入其他有机溶剂,如甲醇、乙腈、尿素;另外,可向缓冲液中加入 β -环糊精等超分子(β -环糊精在甲酰胺中有较高的溶解度,约为水中的 40 倍)。本文获得的 NAMEKC 出峰顺序符合 3 种化合物的疏水性质,它们的迁移时间随其疏水参数的

增加而增加。

该分离方法对于 DMP、DEP 和 DBP 的检测限分别为 0.36, 1.08, 3.04 mmol/L ($S/N=3$)。

3 结论

在甲酰胺介质中,以 SDS 为胶束相,采用 NAMEKC 方法,在优化的分离条件下可对 3 种邻苯二甲酸酯 DMP、DEP、DBP 进行快速分离。实验结果表明,SDS 不仅在水相 MEKC 研究中被广泛应用于分离化合物,在 NAMEKC 中亦显示了其应用价值。相比于水相 MEKC 而言,NAMEKC 对于分离强疏水性化合物具有一定的优势。

本文所采用的体系,分离时间窗口较小,对于分离疏水性更强的化合物或疏水性分布宽的复杂多组分试样是不利的。可进一步通过向缓冲液中加入甲醇、乙腈、尿素、环糊精等来调节分析物在胶束相中的分配,还可考虑使用其他表面活性剂(如氟碳表面活性剂、高分子表面活性剂)和混合表面活性剂来解决这类问题。

参考文献:

- [1] Terabe S, Otsuka K, Ichikawa K, Tsuchiya A, Ando T. Anal Chem, 1984, 56(1): 111
- [2] Terabe S, Ozaki H, Otsuka K, Ando T. J Chromatogr, 1985, 332: 211
- [3] Terabe S, Miyashita Y, Ishihama Y, Shikata O. J Chromatogr, 1993, 636: 47
- [4] Walbroehl Y, Jorgenson J W. J Chromatogr, 1984, 315: 135
- [5] Okada T. J Chromatogr A, 1997, 771: 275
- [6] Miller J L, Khaledi M G, Shea D. J Microcolumn Sep, 1998, 10(8): 681
- [7] Miller J L, Khaledi M G, Shea D. Anal Chem, 1997, 69: 1223
- [8] Lin J M, Nakagawa M, Uchiyama K, Hobo T. Chromatographia, 1999, 50: 739
- [9] Lin J M, Nakagawa M, Uchiyama K, Hobo T. Electrophoresis, 2002, 23: 421
- [10] Nakagawa M, Lin J M, Nakagawa T, Uchiyama K, Hobo T. Bunseki Kagaku, 1999, 48: 239
- [11] Luks-Betlej K, Popp P, Janoszka B, Paschke H. J Chromatogr A, 2001, 938: 93
- [12] Yang Zuojun, Zhang Weiya, Wang Chengyun, Xu Dezhen, Pan Kunyong, Wu Caiying. Chinese Journal of Chromatography (杨左军, 张伟亚, 王成云, 许德珍, 潘坤永, 吴采樱. 色谱), 2003, 21(6): 617
- [13] Chen Huiming, Wang Chao, Wang Xing. Chinese Journal of Chromatography (陈会明, 王超, 王星. 色谱), 2004, 22(3): 224
- [14] Baker J K. J Pharm Biomed Anal, 1996, 15(1): 145
- [15] Ward V L, Khaledi M G. J Chromatogr A, 1999, 859: 203
- [16] Chen Yi. Study on Capillary Electrophoresis Theory. Beijing: Huawen Press (陈义. 毛细管电泳理论探索. 北京: 华文出版社), 2001: 16
- [17] Oliver B, Ruth F. J Chromatogr A, 1995, 717: 309