

高效液相色谱法测定 2, 6-二甲基吡喃酮和乙酰丙酮的含量

曾红艳 段正康* 陈韩志 曾志一 罗爱文

(湘潭大学化工学院化工过程模拟与优化教育部工程研究中心, 湘潭 411105)

摘 要 2, 6-二甲基吡喃酮是一种重要的有机中间体, 建立了高效液相色谱分离测定合成 2, 6-二甲基吡喃酮反应体系中 2, 6-二甲基吡喃酮和乙酰丙酮含量的方法。采用 Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm), 检测波长 240 nm, 柱温 30 ℃, 流动相为四氢呋喃水(20:80, V/V, 含 0.5% NaH₂PO₄ 和 0.5% Na₂HPO₄, pH 5), 流速 0.6 mL/min。结果表明, 2, 6-二甲基吡喃酮和乙酰丙酮的线性关系良好, 具有较好的精确度和重现性。在 0.01~200.3 mg/L 范围内, 2, 6-二甲基吡喃酮的线性相关系数 $r=0.99996$; 乙酰丙酮在 0.01~50.68 mg/L 范围内, $r=0.99990$; 重复测定 7 次的相对标准偏差小于 0.8%; 平均回收率为 98.3%~102.5%。本方法具有较高的灵敏度, 可简便、快速地同时检测出 2, 6-二甲基吡喃酮和乙酰丙酮的含量, 从而可为反应进程的控制提供参考。

关键词 高效液相色谱; 2, 6-二甲基吡喃酮; 乙酰丙酮

1 引言

2, 6-二甲基吡喃酮是一种重要的起始原料和医药中间体^[1,2], 它的各种衍生物在医药行业中常作为抗菌剂、抗癌药物和抗过敏药物的中间体, 作为香料合成、染料和除草剂等起始原料^[3,4], 还可用于合成重要的具有高带宽和低成本等特点的有机功能材料^[5,6]。乙酰丙酮不仅广泛用于医药、饲料添加剂、催化剂、合成材料助剂和表面活性剂等生产中, 还用作醋酸纤维素的溶剂、有机合成中间体和杀虫剂等, 在杂环化合物的合成中也有重要作用^[7~9]。在用乙酰丙酮合成 2, 6-二甲基吡喃酮的工艺中, 乙酰丙酮是主要的原料, 反应完成后经分离得到含有产品、原料和杂质的混合物。该混合物中乙酰丙酮和 2, 6-二甲基吡喃酮的含量对合成的收率及条件优化有重要影响。因此, 建立快速、简单、准确的 2, 6-二甲基吡喃酮和乙酰丙酮的分析方法很有必要。

目前, 仅见少量对 2, 6-二甲基吡喃酮结构进行的研究^[1,5], 多采用红外光谱(IR)、核磁共振的氢谱(¹H)和碳谱(¹³C)、紫外-可见光谱(UV-VIS)确定其结构。Bandoli 等^[10]对 2, 6-二甲基吡喃酮的固态结构进行了分析, 得到了该晶体的分子量和单斜等晶态结构特征。Arias 等^[11]测定了 2, 6-二甲基吡喃酮的核磁共振谱, 通过同位素¹⁸O 研究了羰基氧和环状结构中氧的位移、羰基上的碳(C-4)和环状结构中碳(C-2)的¹³C NMR 信号, 以及氧交换的动力学。而对其定量分析未见文献报道。目前, 乙酰丙酮的常用检测方法为气相色谱法^[12,13]、紫外吸收光度法^[14]和化学法^[15]。用化学法测定乙酰丙酮含量^[15]过程步骤多, 手续繁杂, 耗时长, 所测定的结果准确度和精密度不佳。有关 2, 6-二甲基吡喃酮和乙酰丙酮混合物中各自含量测定的文献未见报道。

本研究采用高效液相色谱法同时对 2, 6-二甲基吡喃酮和乙酰丙酮进行了定性和定量分析, 建立了一种操作方便、准确快速的分析方法, 为合成条件的优化提供了可靠的分析依据。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

1200 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司), 包括在线脱气装置, 四元泵, 柱温箱, 可变波长紫外检测器, 安捷伦化学工作站; λ 25 紫外可见分光光度计(美国 Beckman Elmer 公司)。

2, 6-二甲基吡喃酮(纯度 99%, 阿法埃莎化学有限公司); 乙酰丙酮(分析纯, 汕头市西陇化工厂有

2010-07-08 收稿; 2010-09-18 接受

本文系化工过程模拟与优化教育部工程研究中心开放课题(No. 2008HGZX03)资助

* E-mail: dzk0607@163.com

限公司); KH_2PO_4 (分析纯, 天津市化学试剂六厂); NaH_2PO_4 , Na_2HPO_4 (分析纯, 汕头市西陇化工厂); 四氢呋喃(分析纯, 天津市恒兴化学试剂制造有限公司); 实验用水为超纯水。

2.2 色谱条件

Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 mm, 美国 Agilent 公司); 流动相: 四氢呋喃-水(20:80, V/V, 含 0.5% NaH_2PO_4 和 0.5% NaH_2PO_4 , pH 5); 流速: 0.6 mL/min; 检测波长: 240 nm; 柱温: 30 °C; 进样量: 3 μL。

2.3 实验方法

在紫外可见光下对标样进行全波长扫描, 确定物质的检测波长。准确称取 0.0900 g 2, 6-二甲基吡喃酮和 0.0400 g 乙酰丙酮, 用流动相定容至 100 mL 配成混合标样溶液。用同样的操作方法分别配制一系列不同浓度梯度的 2, 6-二甲基吡喃酮和乙酰丙酮溶液, 用 0.45 μm 微孔过滤膜过滤后, 用于标准曲线的制作。

3 结果与讨论

3.1 色谱条件的确定

3.1.1 检测波长的选择 2, 6-二甲基吡喃酮含有 $\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O}$ 共轭结构, 在 210~250 nm 内有 $\pi\rightarrow\pi^*$ 跃迁产生的吸收带。以水作溶剂, 在紫外可见分光光度计下分别对 2, 6-二甲基吡喃酮和乙酰丙酮进行扫描, 以确定它们对紫外光的最大吸收波长, 其紫外扫描图分别如图 1a 和图 1b 所示。检测得到 2, 6-二甲基吡喃酮的最大吸收波长为 249 nm, 乙酰丙酮的最大吸收波长为 275 nm。在初步确定各自的最大吸收波长后, 对这两种物质的混合物进行分析。波长小于 240 nm 时, 2, 6-二甲基吡喃酮的响应不灵敏; 波长大于 250 nm 时, 乙酰丙酮的响应太大, 不利于同时分析这两种物质。综合考虑基线、峰形、信号响应强弱等情况, 本实验选择 240 nm 作为分析波长。

3.1.2 流动相的选择 对于液相色谱而言, 流动相的组成和对比对物质分离的影响显著。考察了以甲醇-水、乙腈-水、四氢呋喃-水和甲醇-四氢呋喃-水为流动相时的分离效果。在各种流动相下, 2, 6-二甲基吡喃酮的分析图谱如图 2 所示。由图 2 可见, 四氢呋喃-水为流动相的分析效果最好, 其它流动相下存在肩峰、峰形太宽或拖尾等现象。

考察了不同比例的流动相 $V(\text{四氢呋喃}):V(\text{水})=5:95, 10:90, 20:80, 30:70, 40:60, 50:50$ 及 $60:40$ 对分离效果的影响。2, 6-二甲基吡喃酮与乙酰丙酮的分离图谱如图 3 所示, 流动相中四氢呋喃的比例越小, 2, 6-二甲基吡喃酮和乙酰丙酮分离得越好; 但四氢呋喃比例过小时, 乙酰丙酮的峰变得很宽。当 $V(\text{四氢呋喃}):V(\text{水})=20:80$ 时, 2, 6-二甲基吡

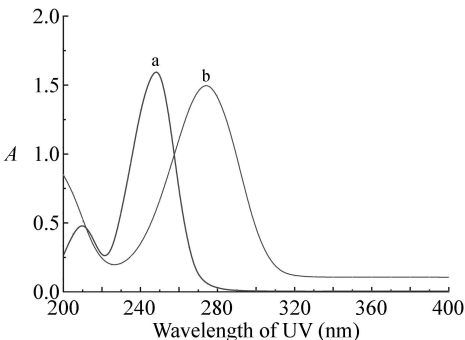


图 1 2, 6-二甲基吡喃酮(a)和乙酰丙酮(b)的紫外扫描图

Fig. 1 UV Scanning image of 2, 6 dimethyl gamma pyrone(a) and acetylacetone(b)

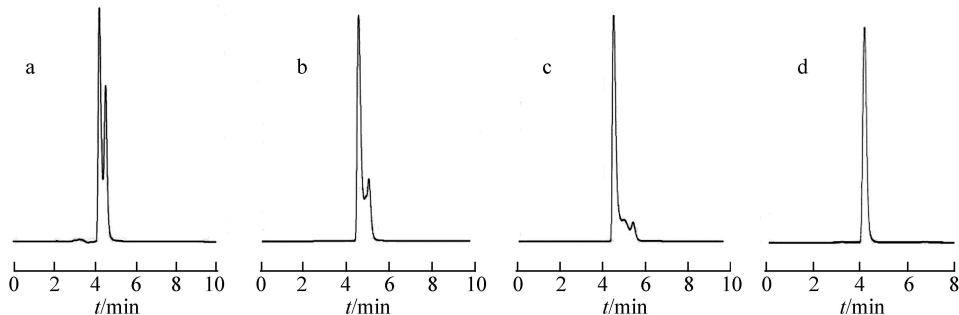


图 2 不同流动相下 2, 6-二甲基吡喃酮的分析图谱

Fig. 2 Chromatograms of 2, 6 dimethyl gamma pyrone in different mobile phases

(a) 甲醇-水(Methanol-Water); (b) 乙腈-水(Acetonitrile-Water); (c) 甲醇-四氢呋喃-水(Methanol-Tetrahydrofuran-Water); (d) 四氢呋喃-水(Tetrahydrofuran-Water)。

喃酮与乙酰丙酮的峰形最好,能达到分析要求。因此本实验选择 $V(\text{四氢呋喃}):V(\text{水})=20:80$ 作为流动相。

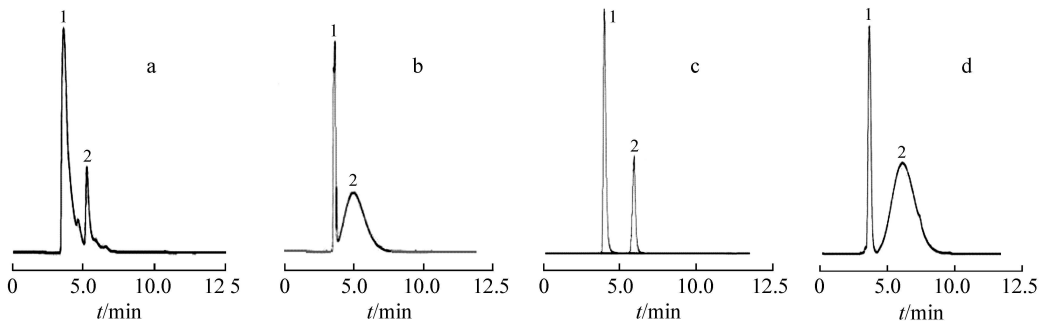


图 3 不同流动相下 2,6 二甲基吡喃酮和乙酰丙酮的分离图谱

Fig. 3 Chromatograms of 2,6 dimethyl gamma pyrone and acetylacetone in different mobile phases

$V(\text{tetrahydrofuran}):V(\text{water})=(\text{a})\ 60:40;(\text{b})\ 40:60;(\text{c})\ 20:80;(\text{d})\ 5:95$. 1. 2,6 二甲基吡喃酮(2,6 Dimethyl gamma pyrone); 2. 乙酰丙酮(Acetylacetone)。

缓冲盐的作用一般是改善峰形、抑制拖尾等现象。本研究考察了三氟乙酸、三乙胺和磷酸盐 3 种缓冲盐对分离效果的影响。结果表明,在流动相中加入少量磷酸盐可消除拖尾影响,提高谱峰的对称性,实验结果如表 1 所示。缓冲盐对 2,6 二甲基吡喃酮的峰形影响不大,但对乙酰丙酮有很大的影响。单独加 NaH_2PO_4 时乙酰丙酮的峰比较宽,而加入 Na_2HPO_4 时乙酰丙酮的峰宽明显变窄,同时加入 NaH_2PO_4 和 Na_2HPO_4 (或 KH_2PO_4) 时峰宽变得更窄,其中用 $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4(\text{pH}\ 5)$ 做缓冲盐时峰谱最好。在同样的浓度下,随着缓冲盐中金属离子的增加,峰宽减小,可能是由于金属离子和溶液极性对峰形有改善作用。

3.1.3 流动相流速的选择 分别考察了流速为 1.0,0.8,0.6 和 0.4 mL/min 的分离情况。不同流速下 2,6 二甲基吡喃酮和乙酰丙酮的分离情况如表 2 所示。结果表明,随着流速增加,柱压增高,保留时间缩短,但分离度降低,且不能很好地将 2,6 二甲基吡喃酮与反应体系中过量的原料乙酰丙酮分离开。降低流速,可以使两物质的保留时间显著延长,两物质的分离度也有一定的提高。但是,由于保留时间变长,所有纵向扩散会明显增加,表现为色谱峰变宽。分离度增加可以减少干扰峰对样品的干扰;流速慢会使峰变宽,使柱效明显下降,延长分析时间。

综合考虑分离度、保留时间和峰形等因素,流动相的流速定为 0.6 mL/min,此时保留时间合理,峰形美观对称。因此,实验采用 $V(\text{四氢呋喃}):V(\text{水})=20:80$ (含 0.5% $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4,\text{pH}\ 5$) 作流动相,流速为 0.6 mL/min。

3.2 线性范围、回收率和相对标准偏差

用流动相分别配制 2,6 二甲基吡喃酮和乙酰丙酮的 5 个浓度梯度的标准溶液。每个浓度平行进样测定 3 次,采用峰面积对其浓度作标准曲线,2,6 二甲基吡喃酮线性回归方程为 $y=49273.19x+0.60$ (y 为峰面积, x 为样品浓度),相关系数 $r=0.99996$,线性区间为 0.01~200.3

表 1 不同流动相下的 2,6 二甲基吡喃酮和乙酰丙酮的分离参数

Table 1 Separation parameter of 2,6 dimethyl gamma pyrone and acetylacetone in different kinds of buffer salt solution

缓冲盐种类 Kinds of buffer salt solution	2,6 二甲基吡喃酮 2,6 Dimethyl gamma pyrone		乙酰丙酮 Acetylacetone	
	保留时间 Retention time	峰宽 Peak width	保留时间 Retention time	峰宽 Peak width
	(min)	(min)	(min)	(min)
NaH_2PO_4	4.010	0.151	6.537	3.128
Na_2HPO_4	4.081	0.144	6.583	1.346
$\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-KH}_2\text{PO}_4$	4.059	0.139	6.552	1.255
$\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$	4.008	0.126	6.512	0.384

表 2 不同流速下的分离参数

Table 2 Separation parameter at different flow rates

流速 Flow rate (mL/min)	保留时间 Retention time (min)		分离度 Resolution
	2,6 二甲基吡喃酮 2,6 Dimethyl gamma pyrone	乙酰丙酮 Acetylacetone	
0.4	6.543	9.816	3.153
0.6	4.108	6.532	2.604
0.8	3.010	4.875	1.240
1.0	2.364	3.819	0.832

综合上述分析,流动相的流速定为 0.6 mL/min,此时保留时间合理,峰形美观对称。因此,实验采用 $V(\text{四氢呋喃}):V(\text{水})=20:80$ (含 0.5% $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4,\text{pH}\ 5$) 作流动相,流速为 0.6 mL/min。

mg/L; 乙酰丙酮的线性方程为 $y = 179968.39x + 54.64$, 相关系数 $r = 0.99990$, 线性区间为 0.01~ 50.68 mg/L。在各自的浓度范围内, 2, 6-二甲基吡喃酮和乙酰丙酮的线性关系良好, 而且线性范围较宽。逐级稀释溶液测定检出限, 当信噪比(S/N) 为 3 时, 2, 6-二甲基吡喃酮和乙酰丙酮的检出限均可达到 1.0 ng/L。

在样品溶液中分别添加 5 个水平的 2, 6-二甲基吡喃酮和乙酰丙酮进行回收实验, 每个水平平行进样 7 次, 计算得到的平均回收率和相对标准偏差(表 3)。由表 3 可见, 这两种物质的平均回收率为 98.3%~ 102.5%; 相应的 RSD 值均小于 0.8%。

取样品溶液连续进样 5 次, 考察仪器的精密性; 平行制备 3 份样品, 考察方法的重复性。实验表明, 各色谱峰峰面积的 RSD 在 0.4%~ 1.7% 之间, 保留时间的 RSD 在 0.5%~ 0.9% 之间, 说明仪器的精密度高、重复性好, 符合 HPLC 定量分析的要求。

表 3 2, 6-二甲基吡喃酮与乙酰丙酮的回收率
Table 3 Recoveries of 2, 6 dimethyl gamma pyrone and acetylacetone

分析物 Analyte	加入量 Added (mg/L)	测量值 Found (mg/L)	回收率 Recovery (%)	RSD (%, n = 7)	分析物 Analyte	加入量 Added (mg/L)	测量值 Found (mg/L)	回收率 Recovery (%)	RSD (%, n = 7)
2, 6-二甲基吡喃酮 2, 6-Dimethyl gamma pyrone	5.62	5.61	99.7	0.29	乙酰丙酮 acetylacetone	2.52	2.49	99.1	0.45
	11.25	11.15	99.1	0.42		5.03	5.04	100.2	0.29
	22.5	45.8	100.6	0.31		10.1	10.2	101.5	0.55
	45.0	91.4	101.8	0.56		20.1	19.8	98.3	0.67
	90.0	91.4	101.6	0.50		40.2	41.2	102.5	0.72

3.3 2, 6-二甲基吡喃酮合成反应体系的检测

在以上色谱分析的基础上, 在不同时间下对反应体系中的混合物质进行分离检测。跟踪不同反应时间内反应进行的程度, 检测反应物在不同时间内的转化率; 对合成的产物进行检测以确定反应收率。2, 6-二甲基吡喃酮和乙酰丙酮混合标样的图谱及 2, 6-二甲基吡喃酮合成体系的分析图谱见图 4。从图 4b 可见, 合成体系中因存在一些副产物或杂质等, 在建立的分析条件下得到的图谱中有一些杂峰, 但不影响 2, 6-二甲基吡喃酮和乙酰丙酮的定量分析。因此本方法能用于 2, 6-二甲基吡喃酮合成反应体系的检测。

本实验通过乙酰丙酮在不同分析方法下的结果验证本方法的精确度。采用高效液相色谱法和化学法分别对体系中未反应完的乙酰丙酮进行检测($n = 7$), 结果分别为 14.06 mg/L (RSD= 0.6%) 和 13.48 mg/L (RSD= 3.2%)。两种方法测得的含量基本一致, 但用高效液相色谱法的重现性高于化学法。另外, 化学法分析至少 3 h 才能完成, 而高效液相色谱法在 15 min 内就可以同时分析出乙酰丙酮和 2, 6-二甲基吡喃酮的含量。由此可见, 本方法具有快速精确的特点, 可用于乙酰丙酮制取 2, 6-二甲基吡喃酮反应过程中反应物和各中间物的跟踪检测。

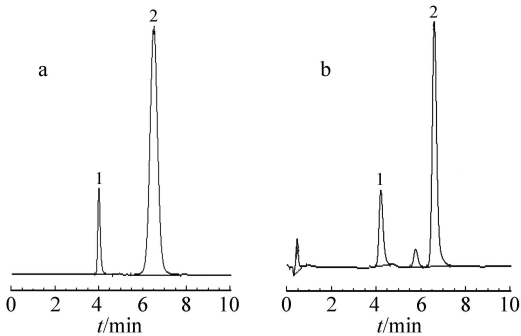


图 4 2, 6-二甲基吡喃酮和乙酰丙酮的图谱
Fig. 4 Chromatograms of 2, 6 dimethyl gamma pyrone and acetylacetone
a. 混合标样 (Mixed sample); b. 合成体系 (Synthetic sample). 1. 2, 6-二甲基吡喃酮 (2, 6-Dimethyl gamma pyrone); 2. 乙酰丙酮 (Acetylacetone)。

References

1 Zawacki F J, Michael T. Crimmins. *Tetrahedron Letters*, **1996**, 37(36): 6499~ 6502
2 YANG Jir Zong(杨锦宗). *The Six-member Heterocyclic Compounds Containing a Heteroatom*(含一个杂原子的六元杂环). Beijing(北京): China Petrochemical Press(中国石化出版社), **1998**: 1068~ 1069
3 Asami T, Yoshida S, Takahashi N. *Agris. Biol. Chem.*, **1986**, 50(2): 469~ 474
4 Belsky I, Dodiuk H, Shvo Y. *J. Org. Chem.*, **1974**, 7(39): 989~ 995

- 5 Yoon C B, Jung B J, Shim H K. *Synthetic Metals*, **2001**, 117(15): 233~ 235
- 6 Yamamoto M, Sugiyama N. *Bulletin of the chemical society of Japan*, **1975**, 48(2): 508~ 511
- 7 SHEN Li Ying, SHI Rong(沈利英, 施嵘). *Anhui Chemical Industry*(安徽化工), **2001**, (3): 18~ 20
- 8 CAO Lai Zhang(操来章). *Chemical Production and Technology*(化工生产与技术), **1994**, (2): 14~ 17
- 9 CUI Xiao Ming(崔小明). *Chemical Production and Technology*(化工生产与技术), **1994**, (2): 45
- 10 Bandoli G, Dolmella A. *Journal of Crystallographic and Spectroscopic Research*, **1993**, 23(9): 759~ 761
- 11 Arias W, Risley J M. *J. Org. Chem.*, **1991**, 56: 3741~ 3744
- 12 DA Wei, JIN Mei Rong(笪威, 金美荣). *Shandong Chemical Industry*(山东化工), **1993**, (4): 46~ 49
- 13 Kissa E. *Anal. Chim. Acta*, **1993**, 281(2): 385~ 389
- 14 ZHAO Shu Lan, WU Feng Shan, CHE Guang Bo(赵树岚, 吴凤山, 车广波). *Songliao Journal-Natural Science Edition*(松辽学刊自然科学版), **2001**, (4): 56~ 57
- 15 XU Shui Ping(徐水平). *Zhejiang Chemical Industry*(浙江化工), **1997**, 28(4): 44~ 45

Determination of 2, 6-Dimethyl- γ pyrone and Acetylacetone by High Performance Liquid Chromatography

ZENG Hong Yan, DUAN Zheng Kang*, CHEN Han Zhi, ZENG Zhi Ding, LUO Ai Wen

(Engineering Research Center of Chemical Process Simulation and Optimization of Ministry of Education,
College of Chemical Engineering, Xiangtan University, Xiangtan 411105)

Abstract A method was developed for the separation and determination of 2, 6-dimethyl- γ pyrone and acetylacetone in the 2, 6-dimethyl- γ pyrone synthesised system by high performance liquid chromatography. 2, 6-dimethyl- γ pyrone and acetylacetone were successfully detected and separated by Eclipse XDB-C18 column(150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 mm) at wavelength of 240 nm and column temperature of 30 $^{\circ}$ C, with tetrahydrofuran-water (20: 80, V/V, including 0.5% Monosodium phosphate and 0.5% disodium hydrogen phosphate, pH= 5) as mobile phase, flow rate was 0.6 mL/min. The results showed that it had good linear relationship between the concentration of each component and chromatographic peak area, the method was precision and repeatability. The linear correlation coefficient of 2, 6-dimethyl- γ pyrone was 0.9999 in 0.01– 200.3 mg/L, and that of acetylacetone was 0.9999 in 0.01– 50.68 mg/L. The relative standard deviation of seven parallel injections was less than 1.0%. The average recoveries were from 98.3% to 102.5%. This method has the advantages of high sensitivity simple and rapid.

Keywords High performance liquid chromatography; 2, 6-Dimethyl- γ pyrone; Acetylacetone

(Received 8 July 2010; accepted 18 September 2010)