

多孔单分散交联聚苯乙烯-二乙烯苯离子对 色谱固定相分离 8 种阴离子

贾磊娜¹ 王富强¹ 龚波林^{*1} 胡文治²

¹ (宁夏大学能源化工重点实验室, 银川 750021)

² (Laboratory of Bio-functional Chemistry, Graduate School of Environmental Earth Science,
Hokkaido University, Sapporo, Japan)

摘 要 以一步种子溶胀聚合法制备的粒径为 8 μm 的多孔单分散交联聚苯乙烯-二乙烯苯 (PSt-DVB) 树脂为离子对色谱固定相, 2 mmol/L 氢氧化四丁基铵 (TBAOH)、10% (V/V) 乙腈和 1.5 mmol/L Na_2CO_3 的混合液为流动相, 在流速为 1.0 mL/min 下, 成功实现了 8 种阴离子 (F^- , Ac^- , Cl^- , NO_2^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} 和 HPO_4^{2-}) 的分离。考察了淋洗液的配比对 8 种无机阴离子分离的影响。在最优条件下, 8 种离子表现出良好的重现性及较好的线性关系, 色谱柱具有良好稳定性及较好的分离能力。将其用于雪水中阴离子的分析, 6 种离子在 15 min 内完全分离, 各离子加标回收率在 93.6% ~ 110.4% 之间。此固定相也可用于 D_3^- , HCOO^- , CD_3^- , BO_3^- , $\text{ClCH}_2\text{COO}^-$ 和 $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 混合样的分离。

关键词 多孔单分散交联聚苯乙烯-二乙烯苯树脂; 离子对色谱; 阴离子; 有机酸; 雪水

1 引言

离子交换色谱和离子排斥色谱并不能满足所有离子型化合物分离的需要, 而离子对色谱 (Ion pair chromatography, IPC) 对于有机离子的分离则具有其独特的优越性^[1]。IPC 的关键在于提供一个含有离子对试剂的流动相, 选择的离子对试剂应能与被测离子形成具有良好色谱性能的离子对化合物。IPC 的保留机理还未完全弄清, 文献 [2, 3] 介绍了计量模型和非计量模型两类主要理论模型。非计量模型的动态离子交换理论认为离子对试剂的疏水性部分吸附到固定相并形成动态的离子交换表面, 被分离的离子像经典的离子交换那样被保留在动态的离子交换表面上。流动相中的有机试剂被用于阻止离子对试剂与固定相的相互作用, 因而改变柱子的“容量”。IPC 的最大优点是不需在树脂上键合官能团, 调节合适的流动相比例就可得到良好的分离效果, 快速方便, 灵敏度高, 选择性好。

目前, 离子对色谱的应用研究多选择不同的淋洗液分离阴阳离子。Bidlemeier 等^[4]以四丁基水杨酸盐为离子对试剂分离了无机阴离子; Spyridaki 等^[5]用 LiChrospher RP-18 反相柱, 离子对试剂为四丁基溴化铵 (TBABr) 分离了唾液酸。于泓等^[6]用 ChromolithSpeed ROD RP-18 色谱柱, 离子对试剂为氢氧化四丁基铵 (TBAOH) 分析高氯酸盐; 艾红晶等^[7]用硅胶整体柱, 离子对试剂为 TBAOH 对铬 (V) 进行测定。这些商品柱均是以硅胶为基质。与硅胶基质填料相比, 有机聚合物填料对酸和碱有很好的稳定性, 可完全溶于有机溶剂, 是目前应用最为广泛的离子交换色谱填料。以大孔高交联度聚苯乙烯-二乙烯苯 (PSt-DVB) 为基质的乳胶附聚型阴离子色谱固定相发展较活跃, 这种填料化学性质稳定, 离子交换速度快, 柱效较高^[8]。苏天升^[9]等用粒径为 0.5 μm 季氨化单分散交联聚苯乙烯乳胶与粒径为 5 ~ 30 μm 磺化交联聚苯乙烯共聚物微球藉库仑力附聚得到阴离子交换树脂微球, 对几种常见阴离子进行了分离, 但该柱对 Br^- 和 NO_3^- 的选择性较低, 并且 SO_4^{2-} 保留时间长。陈洪彬等^[10]以粒径 3 ~ 20 μm 的 PSt-DVB 微球为基质制备的乳胶附聚型阴离子色谱柱, 柱效高, 样品分析时间短, 并且可通过控制交换容量来改变各离子之间的分离度, 但适用于有机酸的分离。

本实验用自制多孔单分散 PSt-DVB 树脂为离子对色谱固定相, 以 2 mmol/L TBAOH、10% (V/V) 乙

2009-09-24 收稿; 2009-11-20 接受

本文系 科技部国际合作重点项目基金 (No. 2006DFA33690) 和宁夏自然科学基金 (No. NZ0838) 资助

* E-mail: gongbl@nxu.edu.cn

腈和 1.5 mmol/L Na_2CO_3 的混合液为淋洗液,对常见阴离子以及有机酸进行分离,并对实际样品进行了分析。实验结果表明,此多孔单分散 PSt-DVB 树脂作为离子对色谱固定相具有良好的分离性、稳定性及有机溶剂兼容性。将此离子对色谱柱用于雪水样品中阴离子的分离与检测,结果令人满意。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

Dionex CS-90 离子色谱仪, Dionex AMMS 微膜 (4 mm) 抑制器 (美国戴安公司), CGY-100 型高压气动泵 (北京福思源机械加工部); 2003 型电动搅拌器; JY-92 超声波细胞破碎仪 (宁波新芝生物科技股份有限公司); KQ-250B 超声波清洗器 (昆山市超生仪器有限公司); 旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂); 生物显微镜 (美国 JEOL 公司); 扫描电子显微镜 (1000B, 美国); LD5-2A 型低速离心机 (北京医用离心机厂)。

苯乙烯 (St, 化学纯, 上海试剂一厂); 二乙烯苯 (DVB, 进口工业级); 聚乙烯吡咯烷酮 (PVP, 分析纯, 相对分子质量为 40000, 美国 Aldrich Chemical 公司); 过氧化苯甲酰 (BPO, 化学纯, 上海润捷化学试剂有限公司); 偶氮二异丁腈 (AIBN, 分析纯, 上海试剂四赫维化工有限公司); 十二烷基磺酸钠 (SDS, 化学纯, 汕头光华化工厂); 聚乙烯醇 (PVA, 化学纯, 醇解度为 88%, 天津天大化工实验厂); 无水乙醇 (天津试剂三厂, 分析纯); 阴离子钠盐或钾盐为基准试剂或优级纯 (上海晶纯试剂有限公司); 其它试剂均为分析纯; 溶液均用 $18.3 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ 的二次蒸馏水配制。

2.2 固定相的制备^[11]

采用分散聚合法制备粒径为 $2.0 \mu\text{m}$ 的线性苯乙烯 (PSt) 种子。采用一步种子溶胀聚合法, 在含有稳定剂和表面活性剂的水相介质中, 将 PSt 种子用被乳化的 St, DVB 和 BPO 溶胀 12 h 后, 升温至 70°C 加热搅拌聚合反应 24 h。产物用水、甲醇和丙酮洗涤, 真空干燥。合成的树脂用甲苯抽提 48 h, 抽提后的微球用乙醇和丙酮洗涤, 真空干燥, 即得 $8.0 \mu\text{m}$ 单分散交联 PSt-DVB 微球。其电镜照片如图 1 所示。

2.3 色谱柱的填装

取 3.0 g 合成的单分散 PSt-DVB 微球, 以乙腈为匀浆液, 超声分散 15 min 后, 在 30 MPa 的压力下将微球装入 $150 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}$ I.D. 的不锈钢柱管中。

2.4 色谱条件

流动相: 2 mmol/L TBAOH, 10% (V/V) 乙腈, 1.5 mmol/L Na_2CO_3 混合溶液, 进样体积为 $10 \mu\text{L}$, 流速为 1.0 mL/min 。

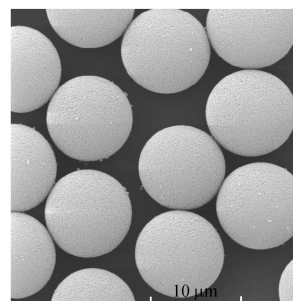


图 1 多孔单分散微球的电镜照片

Fig 1 Scanning electron micrographs of monodisperse porous beads

3 结果与讨论

3.1 色谱柱的评价

以自制的 PSt-DVB 微球为固定相的离子对色谱柱对 8 种常规阴离子 (F^- , Ac^- , Cl^- , NO_2^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} 和 HPO_4^{2-}) 分离效果进行考察。实验表明, 选用 2 mmol/L TBAOH、10% (V/V) 乙腈和 1.5 mmol/L Na_2CO_3 的混合液为淋洗液, 在流速为 1.0 mL/min 的条件下, 8 种无机阴离子能在 25 min 内达到完全分离, 洗脱顺序符合经典的离子交换洗脱顺序, 结果见图 2。在相同的色谱条件下, 对 D_3^- , HCOO^- , CD_3^- , BiO_3^- , $\text{ClCH}_2\text{COO}^-$ 和 $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 混合样进行分离, 在 20 min 内完全被洗脱, 结果见图 3。

3.2 线性关系及检出限

在淋洗液为 2 mmol/L TBAOH, 10% (V/V) 乙腈和 1.5 mmol/L Na_2CO_3 混合溶液, 流速为 1.0 mL/min 的条件下, 进样量 $10 \mu\text{L}$, $S/N = 3$ 时, 对 F^- , Ac^- , Cl^- , NO_2^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} 和 HPO_4^{2-} 进行线性范围和检出限测定, 测定结果见表 1。由表 1 可见, 在一定浓度范围内, 8 种离子均具

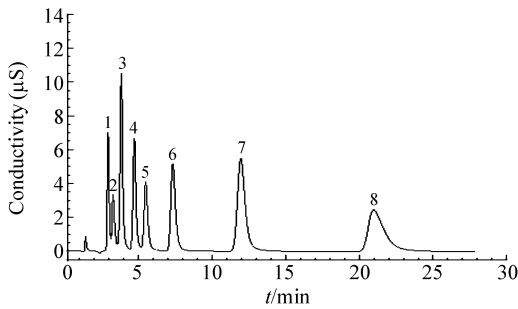


图 2 标准样品分离图

Fig 2 Chromatogram of standard samples

淋洗液 (Elution); 氢氧化四丁基铵 (Tetrabutylammonium hydroxide, TBAOH, 2 mmol/L), 乙腈 (Acetonitrile, 10%), Na_2CO_3 (1.5 mmol/L); 流速 (Flow rate); 1.0 mL/min. 1. F^- (6 mg/L); 2. Ac^- (80 mg/L); 3. Cl^- (2.5 mg/L); 4. NO_2^- (40 mg/L); 5. Br^- (30 mg/L); 6. NO_3^- (40 mg/L); 7. SO_4^{2-} (50 mg/L); 8. HPO_4^{2-} (60 mg/L)。

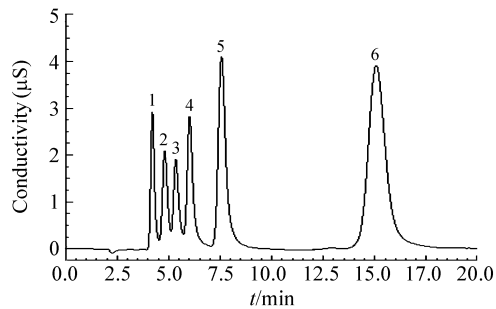


图 3 无机及有机阴离子标准混合样的色谱分离图

Fig 3 Chromatogram of mixture standard sample of organic acids and inorganic anions

淋洗液 (Elution); 氢氧化四丁基铵 TBAOH (2 mmol/L), 乙腈 (Acetonitrile, 10%), Na_2CO_3 (1.5 mmol/L); 流速 (Flow rate); 1.0 mL/min. 1. D_3^- (30 mg/L); 2. HCOO^- (1 mg/L); 3. CD_3^- (30 mg/L); 4. BOD_3^- (30 mg/L); 5. $\text{ClCH}_2\text{COO}^-$ (30 mg/L); 6. $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ (30 mg/L)。

有良好的线性关系和较低的检出限和良好的重现性。

3.3 稳定性实验

用上述 8 种常规阴离子标准样品连续进样 150 次。结果表明,柱效、分离度等没有改变,说明此色谱柱填料具有良好的稳定性。

表 1 8 种阴离子的线性关系及检出限

Table 1 Regression equation and detection limits of 8 anions

离子 Anion	回归方程 * Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	检出限 Detection limit (mg/L)	相对标准偏差 RSD * (% , n = 10)
F^-	$Y_1 = 0.33284 + 0.11922X$	0.9816	0.003	0.30
	$Y_2 = 2.55712 + 0.89189X$	0.9869		
Ac^-	$Y_1 = -1.5073 + 0.00796X$	0.9856	0.025	0.25
	$Y_2 = 4.66086 + 2.32053X$	0.9792		
Cl^-	$Y_1 = 0.40374 + 0.66243X$	0.9977	0.0005	0.21
	$Y_2 = 4.66086 + 2.32053X$	0.9985		
NO_2^-	$Y_1 = -0.36485 + 0.05436X$	0.9951	0.0025	0.18
	$Y_2 = -1.68967 + 0.24537X$	0.9940		
Br^-	$Y_1 = -0.3062 + 0.04693X$	0.9990	0.005	0.20
	$Y_2 = -1.09093 + 0.16131X$	0.9989		
NO_3^-	$Y_1 = -0.07616 + 0.0611X$	0.9989	0.002	0.14
	$Y_2 = -0.23999 + 0.15945X$	0.9990		
SO_4^{2-}	$Y_1 = -0.02987 + 0.07287X$	0.9948	0.0015	0.06
	$Y_2 = -0.1176 + 0.12504X$	0.9943		
HPO_4^{2-}	$Y_1 = 0.242 + 0.05873X$	0.9995	0.0078	0.26
	$Y_2 = 0.9596 + 0.0389X$	0.9994		

* Y_1 : 峰面积 (Peak area); Y_2 : 峰高 (Peak height); X : 浓度 (Concentration)。

3.4 有机溶剂兼容性实验

在流动相中加入有机溶剂时,通常会改变待分离组分的保留时间^[12]。本实验分别采用含 5% (V/V)乙腈, 15% (V/V)乙腈及不含乙腈的标准淋洗液。结果表明,色谱图中只是各阴离子的保留时间发生变化,而未有其它异常现象,说明此色谱柱具有优良的有机溶剂兼容性。

3.5 无机添加剂对阴离子保留的影响

在流动相中加 Na_2CO_3 ,可改进二价阴离子的分离和峰形。其作用机理仍可以用动态离子交换理论解释。随着 Na_2CO_3 浓度的增加,8 种阴离子的保留时间均减少,其中二价离子的变化较明显 (图 4)。

3.6 样品分析及回收实验

取银川市 2009 年 3 月 2 日雪融水样,经过沉降后,用 0.45 μm 滤膜过滤,直接进样分析,样品色谱

分离图见图 5。由图 5 可见,雪融水中 6 种无机阴离子 (F^- , Ac^- , Cl^- , NO_2^- , NO_3^- 和 SO_4^{2-}) 在 15 min 内完全分离。平行进样 10 次,各离子的出峰时间、峰高和峰面积具有良好的重现性。在此色谱条件下,进样量 10 μL ,对样品平行测定 8 次,计算各离子的含量。在过滤后的雪融水原样中加入 6 种离子的标准溶液进行回收率测定,分析结果见表 2。各离子加标回收率在 93.6% ~ 110.4% 之间。

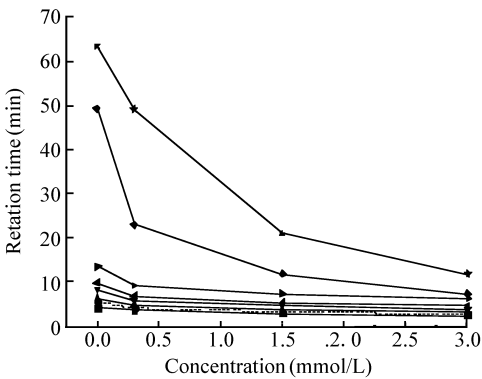


图 4 Na_2CO_3 浓度对阴离子保留时间的影响
Fig 4 Effect of concentration of sodium carbonate on anions retention
1. F^- ; 2. Ac^- ; 3. Cl^- ; 4. NO_2^- ; 5. Br^- ; 6. NO_3^- ; 7. SO_4^{2-} ; 8. HPO_4^{2-} 。其它条件同图 2 (Other conditions are the same as in Fig 2)。

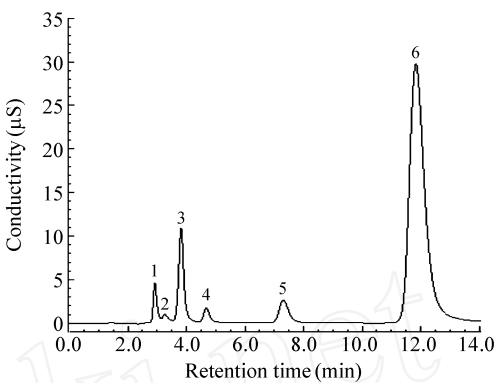


图 5 雪水中阴离子色谱分离图
Fig 5 Chromatogram of anions in snow falls
流动相 (Elution): 2 mmol/L 氢氧化四丁基铵 (TBAOH), 10% 乙腈 (Acetonitrile, V/V), 1.5 mmol/L Na_2CO_3 。1. F^- ; 2. Ac^- ; 3. Cl^- ; 4. NO_2^- ; 5. NO_3^- ; 6. SO_4^{2-} 。

表 2 雪水中阴离子质量浓度及回收率
Table 2 Analytical results and recovery data of anions in snow fall samples^{*}

待测离子 Analyte	质量浓度 Mass concentration (mg/L)	加入标样量 Standard added (mg/L)	加标后质量浓度 Mass concentration after sample added (mg/L)	回收率 Recovery (%, n = 3)
F^-	4.29	5.0	8.97	93.6
Ac^-	26.20	80.0	110.9	105.9
Cl^-	2.67	2.5	5.43	110.4
NO_2^-	10.16	40.0	50.7	101.3
NO_3^-	15.40	25.0	41.8	105.6
SO_4^{2-}	268.0	25.0	291.9	95.6

References

1 D N G Ming-Yu (丁明玉), TIAN Song-Bai (田松柏). *Principle and Application of Ion Chromatography* (离子色谱原理与应用), Beijing (北京): Tsinghua University Press (清华大学出版社), 1986: 117 ~ 145
2 ZOU Han-Fa (邹汉法), ZHANG Yu-Kui (张玉奎), LU Pei-Zhang (卢佩章). *Ion-pair High-performance Liquid Chromatography* (离子对高效液相色谱法). Zhengzhou (郑州): Henan Science and Technology Publishing House (河南科学技术出版社), 1994: 5
3 Weiss J. *Ion Chromatography*, Second Edition Weinheim: VCH, 1995: 239 ~ 289
4 Bidlingmeyer B A, Santasassia C T, Warren Jr F V. *Anal Chem.*, 1987, 59: 1843 ~ 1846
5 Spyridaki M H E, Siskos P A. *J. Chromatogr. A*, 1999, 831 (2): 179 ~ 189
6 YU Hong (于泓), LI Rui-Shu (李睿殊). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), 2008, 36 (6): 835 ~ 838
7 AI Hong-Jing (艾红晶), YU Hong (于泓), ZHOU Shuang (周爽), LI Rui-Shu (李睿殊). *Journal of Instrumental Analysis* (分析测试学报), 2008, 27: 991 ~ 993
8 Small H. *Ion chromatography*. New York: Plenum Press, 1989: 49
9 SU Tian-Sheng (苏天升), YUAN Zhong-Li (袁中利), HU Xi-Zhang (胡喜章), MENG Qing-Cheng (孟庆成), HAO Jing-Hui (郝晶慧), DENG Li-Ru (邓澧儒). *Chinese Chemical Letters* (化学通报), 1985, 9: 12 ~ 13

- 10 CHEN Hong-Bin(陈洪彬), ZHANG Yu-Ge(张玉格), WANG Bu-Sen(王补森), HE Bing-Lin(何炳林), NING Jun(宁君). *Chin. J. Chinese Universities*(高等学校化学学报), **1992**, 13(11): 1488 ~ 1490
- 11 Gong B L, Li L, Zhu J X, Qiang K J, Ren L. *J. Sep. Sci.*, **2005**, 28(18): 2546 ~ 2560
- 12 MOU Shi-Fen(牟世芬), LIU Kai-Lu(刘开录). *Ion Chromatography*(离子色谱). Beijing(北京): Science Press(科学出版社), **2005**: 121 ~ 123

Separation of 8 Anions by Porous Monodisperse Poly(styrene-co-divinyl benzene) Ion-pair Chromatographic Stationary Phase

JIA Lei-Na¹, WANG Fu-Qiang¹, GONG Bo-Lin^{*1}, HU Wen-Zhi²

¹ (Key Laboratory of Energy & Chemical Engineering, Ningxia University, Yinchuan 750021)

² (Laboratory of Bio-functional Chemistry, Graduate School of Environmental Earth Science, Hokkaido University, Sapporo 060-0810, Japan)

Abstract The monodisperse 8 μm porous styrene-co-divinylbenzene (PSt-DVB) resins as the ion pair chromatographic stationary phase was prepared by one-step swelling and polymerization method. The mixture of 2 mmol/L tetrabutylammonium hydroxide (TBAOH), 10% (V/V) acetonitrile and 1.5 mmol/L sodium carbonate was used as the mobile phase and the flow rate was 1.0 mL/min. The column has superior separation ability for the inorganic anions (F^- , Ac^- , Cl^- , NO_2^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , HPO_4^{2-}). The effect for the separation of the eight anions was investigated by the ratio of the eluent. The results showed that the method for the determination of eight anions had good reproducibility, stability and linear relationship under the optimized conditions. The column was used for the separation of inorganic anions from snow water sample, and six anions could be separated in 15 min. The recovery of six anions was 93.6% - 110.4%. This stationary phase can also be used to separate D_3^- , HCOO^- , CD_3^- , BiO_3^- , $\text{ClCH}_2\text{COO}^-$ and $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$.

Keywords Porous monodisperse poly(styrene-co-divinylbenzene) resin; Ion pair chromatography; Anions; Organic acids; Snow water

(Received 24 September 2009; accepted 20 November 2009)

《重要有机污染物痕量与超痕量检测技术》

全书分为：第一篇 重要技术进展概论，第二篇 持久性有机污染物，第三篇 食品中致癌物，第四篇 食品中有机金属化合物的检测技术，第五篇 其它重要有机污染物（共二十三章）。该书全面总结了我国科技部“九五食品安全关键技术”课题、“十五”的“食品安全关键技术研究”等国家攻关计划的重大项目的研究成果。重点介绍了色谱联用中的选择性离子监测、高分辨质谱、液相色谱串联质谱、离子阱串联质谱和等离子体诱导发射质谱等新技术进展，所涉及的重要有机污染物不仅包括持久性有机污染物公约规定的二噁英、多氯联苯、有机氯农药等，也包括氯丙醇、丙烯酰胺、多环芳烃、杂环胺和亚硝胺等重要致癌物和有机锡、有机汞、有机砷和有机硒等元素有机形态，还包括了溴代二噁英、多氯联苯醚、多氯萘、全氟有机化合物、烷基酚、酞酸酯等可能列入持久性有机污染物公约的“新二噁英”环境内分泌干扰物。从其健康效应风险评估与控制标准入手，在重点介绍前样品处理和仪器检测金属进展的基础上，以应用实例对检测技术予以详细介绍。

该书内容全面，综合性强，是从事食品安全监督检验人员的重要参考书，对于环境和农业领域的研究人员也有重要参考价值，可供高等院校与相关专业师生作参考。

该书由吴永宁（中国疾病预防控制中心营养与食品安全所）和江桂斌（中国科学院生态环境研究中心）主编，化学工业出版社出版，定价 85.00 元。