

十二烷基糖苷的反相高效液相色谱分析

陈敬德, 鲁波, 尹红

(浙江大学化学工程系, 浙江 杭州 310027)

关键词: 高效液相色谱法(high performance liquid chromatography); 烷基多苷(alkyl polyglycosides); 聚合度(degree of polymerization)

中图分类号: O658 文献标识码: B 文章编号: 1000-8713(2005)05-0562-01

烷基多苷(APG)是一类环保型非离子表面活性剂, 由脂肪醇与糖制备, 为单糖苷和多糖苷的混合物。受分离方法的限制, 难以得到其中各组分的纯品, 因此 APG 的组成测定一直未得到很好的解决。本文采用制备色谱对其进行分离, 经核磁共振氢谱($^1\text{H NMR}$)确定各组分结构, 用高效液相色谱(HPLC)分析测定了相对质量校正因子(f), 为完善 APG 的结构分析及质量控制奠定了基础。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与标样

SSI PC2000 型二元高效液相色谱仪, 配示差折光检测器; Avance DMX500 型核磁共振仪。正戊醇(分析纯); 十二烷基糖苷(自制); 十二烷基单糖苷和十二烷基二糖苷(由制备色谱分离十二烷基糖苷制得)。

准确称取正戊醇 100.0 mg, 加入流动相配成 100 mL 的内标溶液。准确称取样品 0.2 ~ 0.5 g, 加入标准溶液 1 mL, 再加入流动相配成 100 mL 的样品溶液。

1.2 分析条件

(1)制备色谱: Kromasil C_{18} 柱(250 mm \times 40 mm i. d., 20 μm), 柱温 35 $^\circ\text{C}$; 流动相为 $\text{CH}_3\text{OH}-\text{H}_2\text{O}$ (体积比为 3:1), 流速 8 mL/min, 进样量 5 mL。

(2)分析色谱: Kromasil C_{18} 柱(150 mm \times 4.6 mm i. d., 5 μm), 柱温 35 $^\circ\text{C}$; 流动相为 $\text{CH}_3\text{OH}-\text{H}_2\text{O}$ (体积比为 3:1), 流速 0.7 mL/min, 进样量 15 μL 。

(3) $^1\text{H NMR}$: 内标物为四甲基硅烷; 溶剂为氘代二甲亚砜。

2 结果与讨论

2.1 标样的制备及其聚合度的确定

将十二烷基糖苷的样品溶液进行 HPLC 分析(见图 1)。图 1 中峰 2 和 3 组分因量少而难分离, 故不予制备。对峰 4 ~ 9 组分进行分离制备, 通过 $^1\text{H NMR}$ 谱图数据计算出相应的聚合度。方法如下: 由 n (APG 中的糖单元数) 和 δ_1 (3.30 ~ 5.20, 糖单元氢的化学位移) 与 δ_2 (0.87 ~ 1.64, 烷基氢的化学位移) 内的积分面积计算出聚合度 DP_1 。理论上十二烷基糖苷 δ_1 范围内的氢个数与 δ_2 范围内的氢个数比应为 $(11n + 2) : 23$ 。

由峰 4 ~ 9 组分的 $^1\text{H NMR}$ 谱图数据计算可得 DP_1 , 分别为 2.02, 2.00, 2.03, 2.01, 1.01 和 1.02, 因此可认为峰 4 ~ 7 组分均为二糖苷, 组分 8 和 9 为单糖苷。由于在 APG 的合成过程中还有三糖苷、四糖苷、五糖苷生成, 因此据其极性大小不同和流出色谱柱的先后顺序不同, 判断峰 2 和 3 可能是三糖苷、四糖苷、五糖苷的混合物。

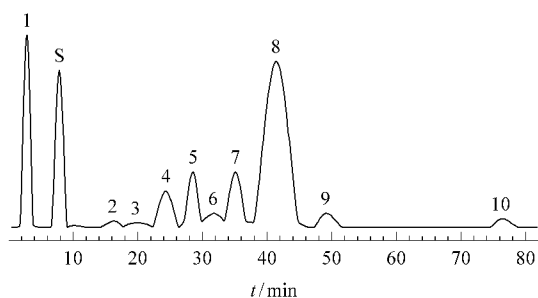


图 1 APG 的 HPLC 分析色谱图

1. 单糖和多糖; 2, 3. 三糖苷、四糖苷、五糖苷的混合物; 4 ~ 7. 二糖苷; 8, 9. 单糖苷; 10. 十二醇; S. 内标物正戊醇。

2.2 校正因子的测定

用单糖苷、二糖苷、十二醇、葡萄糖、麦芽糖作标样, 分别加入准确量的内标物, 经 HPLC 分析测得 f (结果略)。

2.3 HPLC 定量分析方法的准确度与精密度

为便于分析, 将图 1 中峰 2 和 3 的三糖苷、四糖苷、五糖苷的混合物均按四糖苷进行计算, 其 f 取单糖苷的 f 。峰 1 组分以葡萄糖进行计算。准确称取葡萄糖、十二醇、十二烷基单糖苷、十二烷基二糖苷模拟配样(样品中组分的质量分数分别为 0.98%, 2.38%, 57.34%, 21.09%); 通过 HPLC 测定, 测得上述样品中各组分的质量分数分别为 0.94%, 2.44%, 58.47%, 20.51%; 计算得到相对误差和标准偏差分别为 4.29%, 2.35%, 1.97%, 2.75% 和 0.048%, 0.064%, 1.281%, 0.657%。

2.4 聚合度的计算

通过 $^1\text{H NMR}$ 测得 $DP_1 = 1.61$ 。根据 HPLC 分析数据得到各组分的质量分数, 分别计算相应组分的物质的量: n_1 (葡萄糖), n_2 (三糖苷、四糖苷、五糖苷的混合物), n_3 (二糖苷), n_4 (单糖苷), n_5 (十二醇)。HPLC 分析聚合度 DP_2 按下式计算 $DP_2 = (n_1 + 4n_2 + 2n_3 + n_4) / (n_2 + n_3 + n_4 + n_5)$ 。得平均聚合度 = 1.58, 相对误差为 1.74%, 标准偏差为 0.036。

3 结论

(1)结合制备型 HPLC 分离获得了 APG 中的各组分, 并用 $^1\text{H NMR}$ 确定了其结构。(2)HPLC 分析测定得到了烷基单糖苷和二糖苷的校正因子, 以用于 APG 的 HPLC 分析。(3)本法操作简便、快捷、精密度高, 能很好地分析出 APG 的分布及组成, 从而对其合成工艺的跟踪分析有很大帮助。