

逆流色谱溶质出峰顺序的预测

周玉杰¹, 陈福明², 李总成²

(1. 清华大学化工系, 北京 100084; 2. 深圳清华大学研究院, 广东 深圳 518057)

摘要 根据逆流色谱保留方程可知, 溶质的出峰顺序主要取决于其在互不混溶的两液相间分配系数的大小顺序。以饱和及不饱和脂肪酸乙酯、2,4-二硝基苯胺基脂肪醇和对硝基苯基葡萄糖甙等结构较为简单、极性差别较大的溶质系列为研究对象, 应用修正的通用基团活度系数 (UNIFAC) (Dortmund) 模型, 通过相平衡计算, 预测了它们在含水或不含水的溶剂体系中分配系数的变化趋势, 并与前人的工作进行了对比。结果表明, 由该方法预测出的相似结构溶质分配系数的顺序基本上与实验值相同, 其中对饱和脂肪酸乙酯在己烷-乙腈 (体积比为 1:1) 体系中分配系数的预测最好。这种预测方法的建立将对逆流色谱非电解质溶剂体系的选择具有较大的指导意义。

关键词 逆流色谱 通用基团活度系数 (UNIFAC) 模型 分配系数

中图分类号 O658 **文献标识码** A **文章编号** 1000-8713(2002)06-0526-04

Prediction of Eluotropic Sequence of Solutes in Countercurrent Chromatography

ZHOU Yu-jie¹, CHEN Fu-ming², LI Zong-cheng²

(1. Department of Chemical Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China;

2. Research Institute of Tsinghua University in Shenzhen, Shenzhen 518057, China)

Abstract : According to the retention equation of countercurrent chromatography (CCC), the eluotropic sequence of solutes depends mainly on the order of their partition coefficients between the two immiscible liquid phases. The varying tendencies of partition coefficients of some compounds in aqueous or non-aqueous solvent systems by calculating the phase equilibria with universal quasichemical functional group activity coefficient (UNIFAC) (Dortmund) model are predicted. These compounds included saturated and unsaturated fatty acids ethyl esters, *N*-2,4-dinitrophenylamino alcohols, *p*-nitrophenyl glucosides and so on, with simple structures and much differences in polarity. It has been found that the predicted tendencies of partition coefficients of the analogues were consistent with the experimental ones reported in literature, and the best results were obtained for saturated fatty acid ethyl esters in hexane-acetonitrile (1:1 in volume ratio) solvent system. The establishment of a method for prediction will be helpful for the selection of non-electrolyte solvent systems in CCC.

Key words : countercurrent chromatography; universal quasichemical functional group activity coefficient (UNIFAC) model; partition coefficient

逆流色谱 (countercurrent chromatography, CCC) 是基于待分离物质在两个互不混溶的溶剂之间分配的分离技术, 它不用固态载体或支撑体, 从而不仅可避免因吸附作用引起的样品损失、样品组分的化学变性, 而且可根据所需分离物质的要求很容易地改变分离环境, 具有很大的灵活性。由于不同的溶剂以不同的配比组成溶剂体系的性质差别可能很大, 因此这一特点既为各种待分离体系提供了分离的可能性, 同时也为选取分离效果较理想的溶剂体系增加了难度。对于从事 CCC 工作的研究者来

说, 溶剂体系的选择始终是研究工作中的重点和难点, 长期以来在很大程度上依靠经验和大量实验来解决, 没有理论研究的成果可以参考^[1~4]。

本课题组近几年来致力于将热力学理论应用于逆流色谱的溶剂体系选择研究, 在原来的通用基团活度系数 (UNIFAC) 模型^[5,6]基础上, 建立了一个较为实用的逆流色谱溶剂选择方法及相关软件^[7]。对于常用的 20 余种溶剂, 只需给定初始体积比, 就可知道这一混合溶剂体系是否分相以及分相体系的上下相组成、密度、体积、介电常数和界面张力等物

性参数数据。戴德舜等^[8]在‘桂枝汤’A部分高速逆流色谱分离研究中采用了此方法,实现了溶剂体系的快速选择和优化。

根据逆流色谱中溶质的保留体积 V_R 与分配系数 K 的关系 $V_R = V_m + KV_s$ (V_m 和 V_s 是 CCC 柱中两相达到平衡时流动相和固定相的体积)可知,在相同的逆流色谱分离条件下,溶质的出峰顺序主要取决于它们分配系数大小的顺序。通常,关于分配系数的信息只能由实验得到,因此若能在理论上实现溶质分配系数大小顺序预测,则可能只需少量的实验,就能筛选出使溶质以较理想的顺序流出的溶剂体系,从而大大减少实验量。对于价格较为昂贵的样品,还可降低实验费用,所以溶质分配系数顺序的理论预测方法的建立对逆流色谱分离有重要意义。

本文采用修正的 UNIFAC (Dortmund) 模型^[9,10],从预测结构相似的溶质的分配系数变化趋势入手,尝试建立溶质出峰顺序的预测方法,并通过与前人工作的对比验证该方法的可靠性。

1 预测方法

1.1 基本方程

含有 n 种组分(包括溶质、溶剂)的平衡两液相溶液体系,满足以下物料平衡和相平衡条件:

(1) 物料平衡方程

$$\chi_{ui}n_u + \chi_{li}n_l = \chi_{ti}n_t \quad (i = 1, 2, \dots, n) \quad (1)$$

式(1)中, $\sum_{i=1}^n \chi_{ui} = 1$, $\sum_{i=1}^n \chi_{li} = 1$, $\sum_{i=1}^n \chi_{ti} = 1$; χ_{ui} 和 χ_{li} 分别为溶液体系平衡时上相、下相中第 i 组分的摩尔分数; χ_{ti} 为体系中第 i 组分的总摩尔分数; n_u 和 n_l 分别为溶液体系平衡时上相、下相的总的物质的量; n_t 为溶液体系的总的物质的量。

(2) 相平衡方程

$$\chi_{ui}\gamma_{ui} = \chi_{li}\gamma_{li} \quad (i = 1, 2, \dots, n) \quad (2)$$

式(2)中, γ_{ui} 和 γ_{li} 分别为溶液体系平衡时上相、下相中第 i 组分的活度系数,它们是溶剂组成和温度 T 的函数。为了提高估算的精度,本文选用修正的 UNIFAC (Dortmund) 模型计算活度系数,该模型与原 UNIFAC 模型相比,不仅在计算方法上有所改进,增加了主基团与子基团的数目,而且还根据大量的汽-液平衡 (VLE)、液-液平衡 (LLE)、超额焓 (h^E) 及无限稀释活度系数 (γ^∞) 等数据回归了模型中的参数,因此其普适性和预测性都有所提高。

式(1)和式(2)中包含 $(2n+3)$ 个方程,共有 $(3n+4)$ 个变量。为了求解,需给定 $(n+1)$ 个变量的数值,然后才能求出剩余的 $(2n+3)$ 个未知数。根据逆流色谱的计算要求,本文给定 T , n_t , χ_{ti} ($i = 1, 2,$

$\dots, n-1$), 采用常用的液-液平衡求解方法^[11] 求解 $n_u, n_l, \chi_{ti}, \chi_{ui}$ ($i = 1, 2, \dots, n$), χ_{li} ($i = 1, 2, \dots, n$)。

1.2 两相平衡时体积与溶质分配系数的估算

根据‘1.1’的求解结果,当忽略溶剂混合时的体积变化时,达到两相平衡时上相和下相的总体积分别为: $V^u = \sum_{i=1}^n \chi_{ui}n_u W_i / D_i$, $V^l = \sum_{i=1}^n \chi_{li}n_l W_i / D_i$ 。其中, V^u, V^l 分别为上相和下相的总体积, W_i, D_i 分别为组分 i 的摩尔质量和体积质量。

逆流色谱中,溶质分配系数 K 的定义为其在固定相中的浓度与在流动相中的浓度之比。由于在逆流色谱溶剂体系中,上、下相都可作为固定相,所以 K 有两个计算公式:

$$K = \frac{\chi_{us}n_u}{V^u} \cdot \frac{V^l}{\chi_{ls}n_l} \quad (3)$$

$$\text{或 } K = \frac{\chi_{ls}n_l}{V^l} \cdot \frac{V^u}{\chi_{us}n_u} \quad (4)$$

式(3), (4)中, χ_{us} 和 χ_{ls} 分别为某溶质在上相和下相中的摩尔分数。

2 预测结果

本文考察了该方法对 3 个系列的溶质的分配系数预测情况。这些溶质的结构虽然并不很复杂,但是极性差别较大。有的分子中含有多个双键,共轭效应较为明显。有的分子与溶剂分子间的氢键作用较强,因此具备一定的代表性。

2.1 脂肪酸乙酯系列

脂肪酸乙酯类溶质的结构比较简单,所需基团参数在 UNIFAC 数据库中均能获得。文献[12]考察了含有 6~20 偶数碳原子饱和脂肪酸乙酯和含有十八碳原子的饱和/不饱和脂肪酸乙酯在几种溶剂体系中的分配系数 K_s , 将其与本文按照式(3)所预测的分配系数 K_{cal} 对比,结果见图 1~图 4。

由图 1 可看出,在正己烷-乙腈体系中,含有 6~

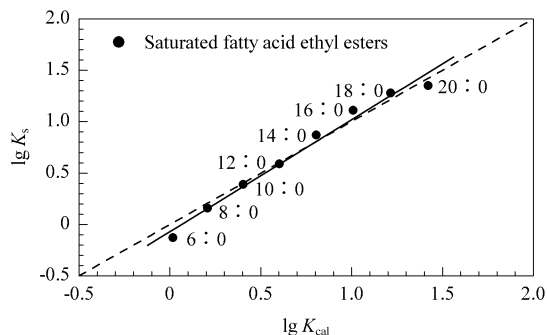


图 1 正己烷-乙腈(体积比为 1:1)体系中饱和脂肪酸乙酯的分配系数

Fig.1 Partition coefficients of saturated fatty acid ethyl esters in hexane-acetonitrile (1:1 in volume ratio) solvent system

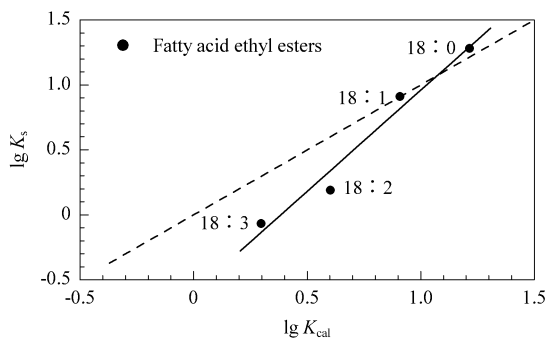


图 2 正己烷-乙腈(体积比为 1:1)体系中脂肪酸乙酯的分配系数

Fig.2 Partition coefficients of fatty acid ethyl esters in hexane-acetonitrile (1:1 in volume ratio) solvent system

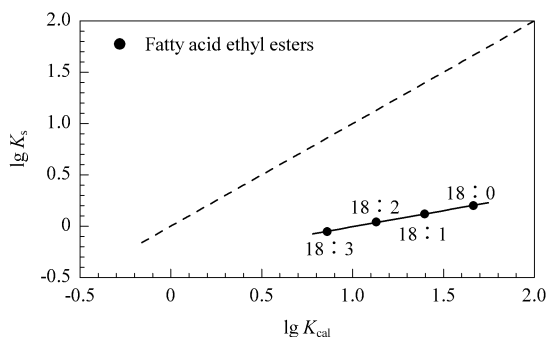


图 3 正己烷-乙醇-水(体积比为 1:0.9:0.1)体系中脂肪酸乙酯分配系数

Fig.3 Partition coefficients of fatty acid ethyl esters in hexane-ethanol-water (1:0.9:0.1 in volume ratio) solvent system

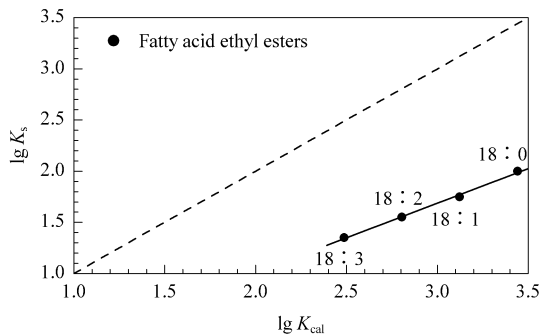


图 4 正己烷-甲醇-水(体积比为 1:0.9:0.1)体系中脂肪酸乙酯分配系数

Fig.4 Partition coefficients of fatty acid ethyl esters in hexane-methanol-water (1:0.9:0.1 in volume ratio) solvent system

20 偶数碳原子饱和脂肪酸乙酯的 $\lg K_s$ 与 $\lg K_{cal}$ 的值十分接近, $\lg K_s$ 与 $\lg K_{cal}$ 的拟合线几乎与 $y=x$ 直线重合;图 2~图 4 中是含有十八碳原子的脂肪酸乙酯在正己烷-乙腈、正己烷-乙醇-水及正己烷-甲醇-水 3 种溶剂体系中分配系数的预测结果,可以看出,虽然 $\lg K_s$ 与 $\lg K_{cal}$ 的拟合线与 $y=x$ 直线有较大的偏差,但 4 种溶质的 K_{cal} 与 K_s 的变化趋势是一致的,也就是说 K_{cal} 的大小顺序与 K_s 的大小顺序是一致的。由图 1~图 4 的对比还可发现,该方法对极性较小的溶质在极性较小的溶剂体系中的分配系

数绝对值的预测有较高精度,而对极性较大的溶质或溶剂,其计算值与实验值的偏差较大,这是模型本身的局限性造成的。

2.2 2,4-二硝基苯胺基脂肪醇类及葡萄糖取代衍生物

文献[3]测定了 2,4-二硝基苯胺基脂肪醇类及几种葡萄糖取代衍生物在不同配比的庚烷-戊醇-水体系中的分配系数 K_s ,这些物质的结构式见图 5 中的图注。实验表明,它们的分配系数的对数与溶剂体系中戊醇在庚烷中体积分数的对数之间存在线性关系。

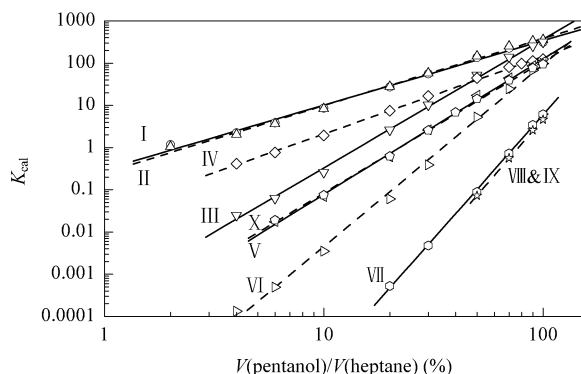


图 5 不同戊醇、庚烷体积比的溶剂体系 (V (庚烷+戊醇): V (水)=1:1)中 10 种溶质的分配系数预测

Fig.5 Prediction of partition coefficients of ten solutes in solvent systems with different volume ratios of heptane to pentanol (V (heptane+pentanol): V (water)=1:1)

I. $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{-NH-DNP}$; II. $\text{CH}_2(\text{OH})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-NH-DNP}$; III. $\text{CH}_3\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_2\text{-NH-DNP}$; IV. $\text{CH}_2(\text{OH})\text{CH}_2\text{-NH-DNP}$; V. $\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})_2\text{-NH-DNP}$; VI. $\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3\text{-NH-DNP}$; VII. Glc-NH-DNP ; VIII, IX. Glc-O-PNP ; X. $\text{CH}_2(\text{OH})\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{-NH-DNP}$. DNP: 2,4-dinitrophenyl; PNP: p -nitrophenyl.

本文按照式(3)估算了 10 种物质的分配系数(见图 5)。在进行基团拆分时,由于会出现数据库中所没有的基团,因此本文根据估算结果合理性的比较确定了两条原则:

a. 对不处于环上且既与芳香碳又与脂肪碳相连的“N”、“O”等原子,都处理成与芳香碳相连的形式,否则或者单独作为一个基团处理,或者与临近的官能团构成与数据库中相同或相似的基团处理;

b. 对数据库中无基团参数的基团,则用数据库中结构与之非常接近的基团代替,或者通过相似基团的参数计算,得到此基团的体积参数和面积参数,再用相似基团的相互作用参数来代替此基团与其他基团之间的相互作用参数。

以上的两个原则使基团拆分比较易于进行,如“NH”以及 VIII 和 IX 中环外的“O”,都分别处理成“AC-NH”和“ACO”的形式(“AC”代表芳环上的碳原子),并分别用“ACNH₂”和“ACOH”的基团参数代替;还有“Glc”中的“ $c\text{-CHOCH}$ ”,则用“ $c\text{-CH}_2\text{OCH}_2$ ”的基

团参数代替。图5即为这10种溶质分配系数趋势的估算结果,其中,VIII和IX的分配系数趋势线是重合的,原因是它们属于构型异构体,而UNIFAC(Dortmund)还不能对这类异构体在结构上予以区分。通过图5与文献[3]中实验结果的对比可以发现,本方法对I~V,X等含有1~2个羟基的化合物的分配系数的预测,在低体积分数戊醇溶剂体系中误差较小,在高体积分数戊醇溶剂体系中误差较大,对VI~IX等含有3~4个羟基的化合物的分配系数的预测则情况正好相反,但是戊醇的体积分数与 K_{cal} 之间的对数的线性关系,以及各条直线间的相对位置与实验结果是一致的。这就表明,当戊醇的体积分数在较大范围内变化时, K_{cal} 能较为准确地反映出各个物质 K_s 的变化趋势,从而使理论上对溶质出峰顺序的预测成为可能。

2.3 赫尼亚林、橙皮素、东莨菪亭及伞形酮

文献[13]采用分析型CCC及氯仿-甲醇-水(体积比为13:7:8)溶剂体系,并以下相为流动相,对赫尼亚林(herniarin)、东莨菪亭(scopoletin)、伞形酮(umbelliferone)、橙皮素(hesperetin)等4种物质进行分离。这4种物质的结构式如图6所示。

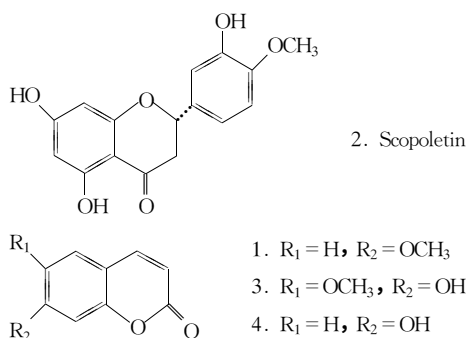


图6 4种化合物结构式

Fig.6 Structures of four compounds

1. herniarin; 2. scopoletin; 3. umbelliferone; 4. hesperetin.

参照“2.2”中的两个基团拆分原则,橙皮素中“O”的体积参数和表面积参数来源于“ CH_3O ”和“ CH_3 ”;“ $C=O$ ”的两个参数来源于“ $CH_3C=O$ ”和“ CH_3 ”;“O”和“ $C=O$ ”与其他基团相互作用参数分别用“ CH_3O ”和“ $CH_3C=O$ ”的基团相互作用参数来代替,其余3种物质中的“O”与临近的“ $C=O$ ”一起作为“COO”处理。在这种基团划分情况下,本文按照式(3)估算4种物质的分配系数由小到大顺序是赫尼亚林、东莨菪亭、伞形酮、橙皮素,而文献[13]中4种物质的出峰顺序是赫尼亚林、橙皮素、东莨菪亭、伞形酮。由此可知橙皮素的预测误差较大,这可能是由于橙皮素中两个处于间位的酚羟基与水之间具有较强的氢键作用,这种作用在计算结果中由于模型本身的原因不能有所体现。

3 结语

(1) 通过与文献中的实验结果对比,可知本文的预测方法是可行的,但也存在较大的估算误差。误差的来源主要有两点:其一是基团替代,其二就是溶质分子内部,或溶质与溶剂分子之间较强的相互作用,如共轭效应、氢键作用等等,因此该方法适用于逆流色谱溶剂体系的初步筛选。

(2) 由于该预测方法是建立在热力学模型基础上的,所以其预测范围和预测精度的提高在很大程度上依赖于热力学模型及其数据库的发展与更新。相信随着该模型的不断充实^[14],关于逆流色谱溶剂选择的理论研究也将进一步深入,从而使逆流色谱技术更容易为研究者所掌握。

参考文献:

- [1] Abbott T P, Kleiman R. J Chromatogr, 1991, 538:109
- [2] Oka F, Oka H, Ito Y. J Chromatogr, 1991, 538:99
- [3] Conway W D, Hammond R L, Sarlo A M. J Liq Chromatogr, 1988, 11(1):107
- [4] Conway W D. J Liq Chromatogr, 1990, 13(12):2409
- [5] Fredenslund Aa, Jones R L, Prausnitz J M. AIChE J, 1975, 21(6):1086
- [6] Magnussen T, Rasmussen P, Fredenslund Aa. Ind Eng Chem Process Des Dev, 1981, 20:331
- [7] ZHANG Li, LI Zong-cheng, CHEN Jian, BAO Tie-Zhu. Journal of Tsinghua University (Sci & Tech), 1997, 37(12):25
张莉,李总成,陈健,包铁竹.清华大学学报(自然科学版),1997,37(12):25
- [8] DAI De-shun, WANG Yi-ming, LUO Guo-an. Chinese Traditional Patent Medicine. 2001, 23(9):625
戴德舜,王义明,罗国安.中草药,2001,23(9):625
- [9] Weidlich U, Gmehling J. Ind Eng Chem Res, 1987, 26:1372
- [10] Gmehling J, Li J, Schiller M. Ind Eng Chem Res, 1993, 32:178
- [11] GUO Tian-min. Multicomponent Vapor/Liquid Equilibrium and Distillation. Beijing: Chemical Industry Press, 1983. 436
郭天民.多元汽液平衡与精馏.北京:化学工业出版社,1983. 436
- [12] Murayama W, Kosuge Y, Nakaya N, Nunogaki Y, Nunogaki K, Cazes J, Nunogaki H. J Liq Chromatogr, 1988, 11(1):283
- [13] Mccloud T G, Schaufelberger D E. J Chromatogr, 1991, 538:87
- [14] Gmehling J, Lohmann J, Lakob A, Li J, Joh R. Ind Eng Chem Res, 1998, 37:4876