

气相色谱-原子发射光谱联用测定磷酸酯类 化合物元素比例式和分子式

梁 冰* 李 辰 欧庆瑜 俞惟乐

(中国科学院兰州化学物理研究所, 甘肃省天然药物重点实验室, 兰州 730000)

摘 要 以 GC-AED 联用法测定了合成的磷酸酯类混合物中各化合物的 C、H、O 和 P 元素比例式, 含 10~ 21 个 C 原子、4 个 O 原子和 23~ 45 个 H 原子的各分子, C 和 O 元素的测量误差分别为 0.2~ 0.7 和 0.02~ 0.3 个原子数, H 元素因未进行线性化校正, 误差最大, 在 0.1~ 3.0 原子数。以瞬时光谱中波长 177.5、178.1、178.5 和 185.9 nm 的特征发射谱线确认了 P 元素的存在。综合该类同系物在非极性色谱柱上的出峰规律和理论产物的分子量, 给出了推测分子式, 经与标准品对照证明推测分子式是正确的。文中还讨论了影响未知化合物元素比例式测定的因素。

关键词 元素比例式, 气相色谱-原子发射光谱联用, 磷酸酯

1 引 言

气相色谱-原子发射光谱联用 (GC-AED) 法是利用将气相色谱分离流出的化合物在微波诱导氦等离子体中原子化, 采集原子谱线信号进行各元素定量分析。微波诱导的氦等离子体的热力学温度为 5000~ 6000 K^[1], 可以使几乎所有有机化合物的化学键断裂而原子化, 所以元素响应值应与化合物结构基本无关。因此用已知元素比例的标准化合物与未知化合物分析比较, 准确测定其元素比例式, 进而利用分子量、色谱出峰规律等因素综合判断确定分子式, 理论上是可行的, 但在实际应用中, 准确测定化合物元素比例式的成功例子较少^[2~ 9]。本研究以辛醇、癸醇与五氧化二磷反应混合产物的甲酯化产物为样品, 用 GC-AED 测定了其比例式, 结合目的产物应有的分子式, 综合推定了各化合物推测分子式, 经与标准品对照证明推测分子式是正确的。文中还讨论了影响测定化合物元素比例式准确性的因素。

2 实验部分

2.1 试剂与仪器条件

He(99.999%)、H₂(99.99%)、O₂(99.99%)、N₂(99.99%)、CH₃+ N₂(19 混合气, 99.99%); 辛醇、癸醇、五氧化二磷、磷酸三丁酯(内标)、磷酸二辛酯、磷酸二癸酯、正十二烷、正二十烷、溶剂等均为分析纯, 重氮甲烷由本实验室合成。

HP5890 II-HP5921A AED 气相色谱仪-原子发射光谱联用仪(HP 公司), 装 HP35920C 软件; HP7673A 自动进样器; HP6890-HP5973MSD 气相色谱仪-质谱联用仪(HP 公司), 自带软件及数据库。色谱柱: HP-1 毛细管柱(25 m × 0.32 mm × 0.17 μm), 柱温 100 °C $\xrightarrow{15\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 300 °C(3 min); 进样器温度 300 °C, 分流 250 mL/min, 柱流量恒流 3 mL/min, 进样量 0.5 μL。

MS 参数: 电离方式 EI, 电子能量 70 eV, 质量扫描范围 m/z 50~ 450, 离子源温度 250 °C, 接口温度 300 °C。AED 参数: GC-AED 接口(GC Block/Xfer Line)温度 300 °C, 谐振腔(Cavity Block)温度 320 °C, 检测元素、波长、反应气、补充气流量: C(495.7 nm, O₂, 50 mL/min); H(486.1 nm, O₂, 50 mL/min); O(777.3 nm, H₂+ CH₃+ N₂, 50 mL/min); P(185.9 nm, H₂, 180 mL/min)。

2.2 样品合成与衍生化

$n\text{-C}_8\text{H}_{17}\text{OH} + n\text{-C}_{10}\text{H}_{21}\text{OH} + \text{P}_2\text{O}_5 \xrightarrow{\text{溶剂二甲苯, 加热}}$ 不同烷基取代数的磷酸酯混合物样品, 取 0.2 g

2004-02-17 收稿; 2004-06-10 接受

(1) 通入重氮甲烷, (2) 加入 10 mg 磷酸三丁酯和 100 mg 正二十烷→甲酯衍生化产物,GC-MS 和 GC-AED 分析。

3 结果与讨论

3.1 样品的甲酯衍生化

醇与五氧化二磷反应,产生不同烷基取代数的磷酸酯,主要产物是单烷基和双烷基取代酯。这些产物上还分别有 2 个和 1 个羟基,极性大,粘度大,沸点高,无法在 GC 上分析。以重氮甲烷甲酯化,可定量反应,衍生物适合 GC 分析,结构式见表 1。

表 1 烷基磷酸酯甲酯化衍生物和内标物的分子式、GC-AED 测定比例式和推测分子式
Table 1 The structure fomulas, empirical fomulas by gas chromatography atomic emission detection (GC AED) and premise fomulas of methyl alkyl phosphate and internal standard

样品衍生物结构式 Structure fomula	峰号 Peak No.	取代基 Substituent			分子量 Molecular weight	分子式 Fomulas	比例式 Empirical fomulas	推测分子式 Premise fomulas
		R	R'	R''				
	1	C ₈ H ₁₇	CH ₃	CH ₃	238	C ₁₀ H ₂₃ PO ₄	C _{9.73} H _{24.5} P ₁ O _{4.25}	C ₁₀ H ₂₃ PO ₄
	2*	C ₄ H ₉	C ₄ H ₉	C ₄ H ₉	266	C ₁₂ H ₂₇ PO ₄	C ₁₂ H ₂₇ P ₁ O ₄	C ₁₂ H ₂₇ PO ₄
	3	C ₁₀ H ₂₁	CH ₃	CH ₃	266	C ₁₂ H ₂₇ PO ₄	C _{11.3} H _{27.1} P ₁ O _{4.02}	C ₁₂ H ₂₇ PO ₄
	4	C ₈ H ₁₇	C ₈ H ₁₇	CH ₃	336	C ₁₇ H ₃₇ PO ₄	C _{16.8} H _{39.7} P ₁ O _{3.92}	C ₁₇ H ₃₇ PO ₄
	5	C ₈ H ₁₇	C ₁₀ H ₂₁	CH ₃	364	C ₁₉ H ₄₁ PO ₄	C _{19.4} H _{45.2} P ₁ O _{3.97}	C ₁₉ H ₄₁ PO ₄
	6	C ₁₀ H ₂₁	C ₁₀ H ₂₁	CH ₃	392	C ₂₁ H ₄₅ PO ₄	C _{21.4} H _{48.6} P ₁ O _{3.70}	C ₂₁ H ₄₅ PO ₄

注 (note): * 内标物磷酸三丁酯(tributyl phosphate as internal standard)

3.2 GC-MS 分析

以 GC-MS 定性,其可靠性很大程度上取决于 MS 数据库中相关谱图的数量,经搜索本工作所使用的 MS 系统谱库数万张谱图中仅有磷酸三丁酯和磷酸三辛酯 2 张相关标准谱,所以各峰检索结果的符合度很低,不能可靠定性。另外,由于磷酸酯的分子结构特性,MS 给不出其甲酯化产物分子离子峰,无法利用分子量结合产物可能的结构来综合判断定性色谱峰。

3.3 GC-AED 分析

图 1 为 GC-AED 分离检测到的多元素(峰高归一化)色谱图。1[#]~6[#] 色谱峰都可以在发射光谱波长 495.7 和 486.1 nm 的 C、H 元素特征谱线处和波长 777.3 nm O 元素特征谱线处观察到强发射光谱信号;在 177.5、178.1、178.5 和 185.9 nm 处观察到 P 元素的一组特征谱线(见图 2),确认这些化合物含有 C、H、O、P 元素。

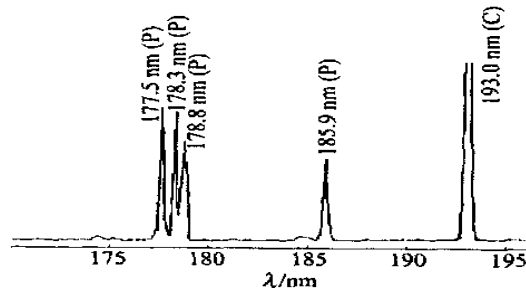


图 1 烷基磷酸酯甲酯衍生化产物和内标物磷酸三丁酯的 AED 检测多元素色谱图
Fig. 1 Chromatograms of multi element determination of methyl alkyl phosphate and tributyl phosphate(internal standard) by AED

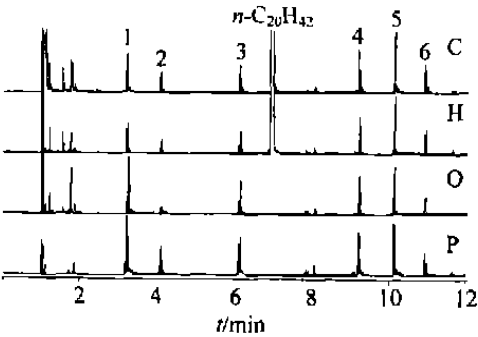


图 2 图 1 中 3[#] 色谱峰在波长 170~195 nm 范围内的瞬时光谱 (Snapshot) 图
Fig.2 The snapshot of peak 3 in Fig. 1 at the wavelength range from 170 to 195nm

表 1 中的比例式根据各峰 C、H、O、P 元素的响应值(峰面积)与内标物响应值按下式计算所得

$$n_x'/n_p' = \frac{n_x/n_p \times A_x'/A_p'}{A_x/A_p}$$

式中 n_p 为内标物分子中基准元素原子数, 可任选一种线性响应元素, 实验中选 P 元素, n'_x/n'_p 为待测化合物分子中其它元素原子数与基准元素原子数之比, n_x/n_p 为内标物分子中其它元素原子数与基准元素原子数之比, A'_x/A'_p 为待测化合物中其它元素色谱峰面积与 P 元素色谱峰面积比, A_x/A_p 为内标物中其它元素色谱峰面积与 P 元素色谱峰面积比。将式中各元素原子数化整并综合同系物在非极性色谱柱上按分子量大小出峰的规律, 以及与合成样品的甲酯化产物目标分子式和分子量比较, 给出了推测分子式。将标样磷酸二辛酯和磷酸二癸酯用重氮甲烷甲酯化, GG AED 分析, 色谱保留时间及比例式与 4[#] 和 6[#] 峰完全一致, 证明表 1 中推测分子式是正确的。

3.4 影响准确测定比例式的因素

3.4.1 各元素的线性响应范围和 H 元素的非线性响应 在 AED 上, 每种元素的线性响应范围不同, 准确的定量分析必须使进入 AED 的各待测元素均处在它们各自的线性范围内。文中以溶剂适当稀释的方法, 使进入 AED 的各元素量均在线性范围之内。C、O、P 各元素的线性响应范围测定结果见表 2。H 元素在很大范围内是非线性响应, 特别是低信号时尤为明显(见图 3)。而当对 H 的非线性响应不进行校正时, 待测物峰高高于内标物, 计算得到的比例式中 H 原子数会偏高; 峰高低于内标物, 测得的 H 原子数就会偏低。表 1 中各待测化合物比例式中 H 原子数偏大系上述原因所致。文中目标产物的取代基为饱和烷基, 当比例式中 C 原子数正确时, H 原子数可正确推断得到分子式, 因此未对 H 元素作线性化校正。对 H 元素响应特性的认识有助于 H 原子的准确测定。一个元素的响应特性测量可以通过与另一个响应特性明确、且范围宽的元素进行信号比较来表征。在 AED 上 C 元素 495.7 nm 发射波长有非常宽且稳定的线性范围, 可达 1.5×10^4 , 取正十二烷超量注入色谱柱, 恒温下在 H\、C 两通道上得到严重超载且峰高超过任何待测峰的前伸色谱峰, 以同一时间每一对 H、C 元素信号比值对 H 元素信号作图, 得 H 元素的非线性响应曲线(见图 3), 以图 3 曲线可以建立校正曲线。

表 2 本实验操作条件下 C、O、P 各元素的线性响应范围
Table 2 The linear range of C, O, P under the conditions in this article

元素 Element	波长 λ (nm)	线性响应范围 Linear range
C	495.7	1.5×10^4
O	777.3	3×10^3
P	185.9	1×10^3

注(note): 各元素的线性响应范围以系列磷酸三丁酯/苯溶液测定(the linear range of each element was determined in the solution of tributyl phosphat e/ benzene)

3.4.2 元素的选择性 有机化合物中大量的 C、H 元素; 在 AED 多元素检测时, 如果其它元素没有较高选择性, 则必然使其信号受到干扰, 数据失真。图 1

中含量为内标物磷酸三丁酯 10 倍量, 在 C、H 通道上有很高峰的正二十烷在 O、P 元素通道上没有响应, 表明 O、P 元素相对于 C、H 元素有很高的选择性, 磷酸酯化合物中 C、H 元素没有干扰 O、P 的检测。

3.4.3 多次进样测定各元素时样品量的重复性 在 AED 中, 许多元素由于发射波长与 C、H 元素发射波长相差较大, 不能同时落在二极管阵列(PDI)的检测范围内, 同时它们的反应气种类和补充气流量也有所不同, 因此就需要多次进样, 分别在各自的分析参数下采集信号。C、H、O 以及 P 元素测定, 必须重复 3 次进样。使用自动进样器可以将误差降到最低。

3.4.4 不同峰高和峰形色谱峰的准确积分 待测化合物中各元素含量不同, 灵敏度不同, 检测到的各元素色谱信号有较大差异, 磷酸酯中 P 和 O 的信号较 C 低 1~2 个数量级(见图 1), 以同一套积分参数对信号相差如此之大的色谱峰进行数据处理, 由于不能同时适合大小峰, 必然造成积分面积的误差, 另外 P 元素通道上的色谱峰较其它元素有严重的拖尾, 对称峰和拖尾峰的积分参数也应不同, 以同一套积分参数进行积分也必然造成积分面积的误差。本实验对每一通道色谱峰以不同的积分参数分别进行处理, 得到较为合理的峰面积值, 使计算得到的比例式中各元素原子数接近理论值。

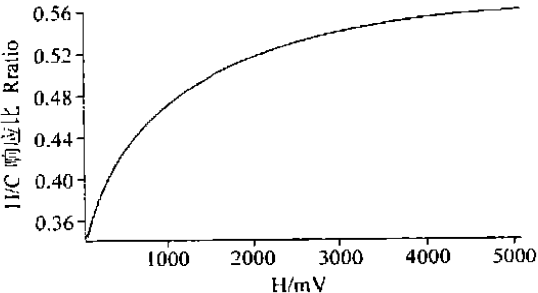


图 3 H 元素 486.1 nm 波长的非线性响应图

Fig. 3 Nonr linear response of hydrogen at 486.1 nm
 π -C₁₂H₂₆样品量 (sample size): 2.5 μ L; GC 柱温 (GC oven temperature): 80 $^{\circ}$ C; 元素波长 (element wavelength): C. 495.7 nm, H. 486.1 nm.

3.4.5 光路的清洁 在 AED 的放电管内, P 原子在通过高温等离子中心向低温区移动时, 会与样品或气体中的 O 元素反应形成不挥发物^[10], 这不仅会造成色谱峰拖尾, 严重时甚至会污染与谐振腔相连的光窗。本工作中发现连续进样磷酸酯样品 40 次后, 可在光窗及周围粘附形成一层黑色磷化物粉末, 严重阻挡光源发出的谱线光强, 使检测灵敏度下降, 因此分析含 P 元素样品 10~ 15 次后, 就需要清洁光路。

3.4.6 气流和等离子体的稳定性 AED 系统中, 反应和补充气流量对元素响应值有较大影响。因此, 分析过程中气流的稳定性是保证定量准确度的另一重要因素, 通常 HP5921A AED 系统气流的稳定性是有保障的, 但当气源气路有灰尘污染堵塞气阻, 以及温度剧烈变化时, 气流的稳定性受到破坏导致定量准确度下降。等离子体的稳定性也是对元素响应值有较大影响的因素, 当等离子体能量不稳定时, 原子化过程不稳定, 响应值波动较大, 维持此仪器开机后需稳定 1~ 2 h。

3.5 结论

GC-AED 在解决或排除元素的选择性、多次进样各元素测定值的重复性、不同峰高和峰形色谱峰的准确积分等问题后, 在严格测试条件的情况下完全可以进行比例式测定, 进而推测确定分子式, 进行未知物定性研究, 若与 GC-MS、GC-FTIR 等其他技术联用可大大增强未知物定性分析的可靠性。

References

- 1 Beenakker C I M. *Spectrochim.*, **1977**, 32B: 173~ 187
- 2 Wylie P L, Quimby B D. *J. High Resolut. Chromatogr.*, **1989**, 12: 813~ 817
- 3 Sullivan J J, Quimby B D. *J. High Resolut. Chromatogr.*, **1989**, 12: 282~ 286
- 4 Quimby B D, Sullivan J J. *Anal. Chem.*, **1990**, 62: 1027~ 1034
- 5 Wylie P L, Sullivan J J, Quimby B D. *J. High Resolut. Chromatogr.*, **1990**, 13: 499~ 506
- 6 Stevens N A, Borgeding M F. *Anal. Chem.*, **1998**, 70: 4223~ 4227
- 7 You J Zh, Dempster M A, Marcus R K. *Anal. Chem.*, **1997**, 69: 3419~ 3426
- 8 Gonzalez A M, Uden P C. *J. Chromatogr. A*, **2000**, 898: 201~ 210
- 9 Laniewski K, Vågerö M, Forsberg E, Forngren T, Hagman G. *J. Chromatogr. A*, **2004**, 1027: 93~ 102
- 10 Estes S A, Uden P C, Barnes R M. *Anal. Chem.*, **1981**, 53: 1829~ 1837

Determination of Empirical Formulas and Molecular Formulas of Phosphate Ester Compounds by Gas Chromatography-Atomic Emission Detection

Liang Bing*, Li Chen, Ou Qingyu, Yu Weile

(Key Laboratory for Natural Medicine of Gansu Province, Lanzhou Institute of Chemical Physics,
Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000)

Abstract The empirical formulas of phosphate compounds in synthetic matrix were determined by gas chromatography-atomic emission detection(GC-AED), the existence of element C, H, O, P was affirmed by snapshot spectrum. These phosphate compounds which contain 10~ 21 atom of C, 4 atom of O and 23~ 45 atom of H were detected. The detection error of C and O was 0.2~ 0.7 and 0.02~ 0.3 atom, respectively. Without the linearization revise to the atom of H, the error of H was 0.1~ 3.0 atom, which was relatively bigger than C and O. The wavelength of 177.5, 178.1, 178.5 and 185.9 nm in snapshot confirmed the existence of element P. The empirical formulas were educed from the elute rules of the homologue on the non polar column and the molecular weight of the academic products. Compare with the determination of the empirical formulas of the unknown compounds were also discussed.

Keywords Empirical formulas, gas chromatography-atomic emission detection, phosphate esters

(Received 17 February 2004; accepted 10 June 2004)