

# 阴离子交换色谱柱保留特性的变化规律及应对措施

陈利根<sup>1</sup>, 周静红<sup>2</sup>, 孙伟振<sup>2</sup>, 林群芳<sup>1</sup>, 朱孟钦<sup>1</sup>

(1. 华东理工大学 材料科学与工程学院, 上海 200237; 2. 华东理工大学  
化学工程联合国家重点实验室, 上海 200237)

**摘要:** 选择对二甲苯氧化体系的高效液相色谱分析为研究对象, 详细考察了阴离子交换色谱柱保留特性的变化, 在整个色谱柱寿命期间 (进样超过 1 000 次), 全程采集了保留时间、分离度等数据。在此基础上, 得出色谱柱保留特性的变化规律, 并提出了相应的应对措施, 把整个色谱柱寿命分成 3 个阶段, 分别采用不同条件的流动相。

**关键词:** 阴离子交换色谱柱; 保留特性; 高效液相色谱法; 对二甲苯

**中图分类号:** O657.72 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004 - 4957(2008)02 - 0203 - 03

## The Changing Rules of the Retention Characteristics of Anion Exchange Column and Counter Measures

CHEN Li-gen<sup>1</sup>, ZHOU Jing-hong<sup>2</sup>, SUN Wei-zhen<sup>2</sup>, LIN Qun-fang<sup>1</sup>, ZHU Meng-qin<sup>1</sup>

(1. School of Material Science and Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China; 2. UN LAB, State Key Laboratory of Chemical Engineering, Shanghai 200237, China)

**Abstract:** Focusing on the HPLC analysis of the oxidation system of *p*-xylene, this research has investigated the changes of retention characteristics of anion exchange columns by analysis data such as retention time, resolution through the whole lifecycle of anion exchange column (injecting times are over 1 000). The changing rules of anion exchange column were summarised and the counter measures were proposed. The whole lifecycle were divided as three periods and different mobile phase was used.

**Key words:** anion exchange column; retention characteristics; high performance liquid chromatography; *p*-xylene

对于在水溶液中形成阴离子的化合物, 阴离子交换高效液相色谱是有效的分离方法。阴离子交换色谱柱的稳定性不及反相色谱柱, 随着进样次数的增加, 其保留特性会逐渐发生变化, 并且在色谱柱的整个寿命周期中, 这种变化较大。在查阅有关阴离子交换高效液相色谱方法的文献中, 相同的分析对象、相同的色谱柱, 研究者会采用不同的流动相<sup>[1-4]</sup>, 这可能与研究者使用的色谱柱处于不同的使用阶段有关。

目前, 尚未见文献对阴离子交换色谱柱的保留特性变化规律进行总结。本实验以 Zorbax SAX 阴离子交换色谱柱分析对二甲苯氧化体系为例, 分析了阴离子交换色谱柱的保留特性变化规律, 并提出了应对措施。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

HP1100 高效液相色谱系统 (安捷伦科技有限公司), 配置 Zorbax SAX 阴离子交换色谱柱及 HP ChemStation 化学工作站等; PHS-3 型酸度计。

乙腈、甲醇, HPLC 级; 磷酸二氢铵、氨水、磷酸, 均为分析纯; 标准样品对羧基苯甲醛 (4-CBA)、对羧基苯甲醇 (4-HMBA)、苯甲酸 (BA) 和对甲基苯甲酸 (PTA) 分别为日本和德国进口试剂, 对苯二甲酸 (TA) 为上海试剂一厂产品。

收稿日期: 2006 - 12 - 25; 修回日期: 2007 - 02 - 05

第一作者: 陈利根 (1958 - ), 男, 浙江绍兴人, 高级工程师, Tel: 021 - 64252912, E-mail: chenligen@sohu.com

## 1.2 流动相的配制

根据实验所需的缓冲溶液浓度, 称取相应量的磷酸二氢铵, 加重蒸水溶解后, 再根据实验所需的量加入有机溶剂(乙腈或甲醇), 然后定容。将上述溶液转移至烧杯中, 在搅拌下用氨水调节 pH 值, 用  $0.45 \mu\text{m}$  的滤膜过滤。

## 1.3 标准溶液的配制

准确称取 4-CBA、4-HMBA、BA、PT 酸和 TA 标准品各 0.5 g, 置于 100 mL 烧杯中, 加水约 50 mL, 滴加氨水适量使之溶解, 转移至 250 mL 容量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 作为标准储备液, 质量浓度为  $2\ 000 \text{ mg/L}$ 。使用时稀释至适当浓度。

## 2 结果与讨论

### 2.1 各组分保留时间变化规律

新柱对各组分的保留较强, 故选用的流动相的洗脱能力也应较大。随着进样次数的增加, 柱上的离子交换基团逐渐失活, 对组分的保留逐渐减弱, 各组分的保留时间会减小, 致使相关组分的分离度过小。这时, 便需要减小流动相的洗脱强度, 增加保留时间, 以保证足够的分离度。

对于阴离子交换色谱可以通过调节缓冲溶液的浓度和流动相 pH 值来调节流动相的洗脱强度。缓冲溶液浓度越大、流动相的 pH 值越高, 洗脱强度就越大。色谱柱从启用到报废, 流动相的调整往往不止 1 次。就对二甲苯氧化体系的分析而言, 随着进样次数 (injecting times) 的增加, 先后需采用 3 种洗脱强度的流动相, 见表 1。

表 1 色谱柱不同使用阶段所采用的流动相

Table 1 The condition of mobile phase in each period of lifecycle of the column

Period	Injecting times <i>n</i>	Concentration of buffer <i>c</i> / ( $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	pH of mobile phase	Concentration of organic solvent /%
	1 ~ 206	0.20	5.8	10
	207 ~ 489	0.20	4.3	10
	490 ~ 1 195	0.15	4.0	10

表 1 的数据描述的是一支色谱柱的使用状况。对于不同序列号 (serial number) 的色谱柱和不同的使用过程, 流动相的调整时间及其组成、色谱柱的寿命等会稍有不同, 但变化规律是一致的。

各阶段、各组分的保留时间随进样次数的变化见图 1。

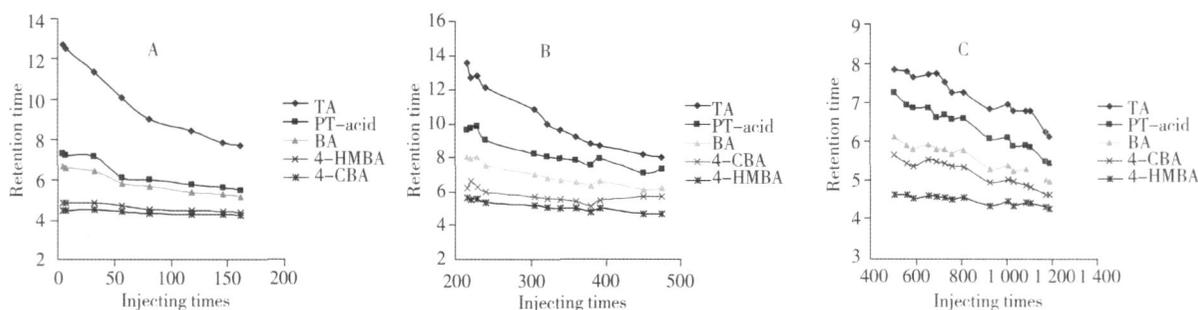


图 1 阶段 (A)、阶段 (B) 及阶段 (C) 各组分保留时间的变化

Fig. 1 Changes of retention times in period (A), period (B) and period (C)

实验表明, 随着进样次数的增加, 色谱柱的保留特性持续发生变化, 各组分的保留时间总的趋势都在减小。TA 作为二元酸对离子交换色谱柱的保留特性变化最敏感, 其保留时间变化最大。随着进样次数的增加, 色谱柱的稳定性增加。进样约 500 次以后, 各组分保留时间的变化明显减缓。

### 2.2 分离度变化

在色谱柱工作的各个阶段, 组分间分离度的变化较为复杂, 影响色谱分离的控制因素 (关键组分对) 也会发生变化。这主要是由于离子交换色谱体系中存在着多种电离平衡, 它们共同影响着体系的色谱行为。

在离子交换色谱中,存在着 3 种电离平衡,分别是样品组分的电离平衡、流动相中缓冲溶液的电离平衡、柱上离子交换基团的电离平衡。色谱柱保留行为的变化、流动相组成的调整,会综合影响到上述的电离平衡,这种影响较为复杂,并不是一致的。如提高流动相的 pH 值,会促进流动相的电离,增加流动相的洗脱强度,减小样品组分的保留; pH 值的增加同时又会促进样品的电离,增加样品组分的保留,同时还会抑制色谱柱上硅烷铵盐的电离,减小样品组分的保留。样品组分在柱上的保留时间,取决于上述 3 种电离平衡的综合作用。所以组分的保留时间和组分之间分离度的变化,并不是单调的。

在阶段 I,虽然色谱柱对各组分保留较强,但 4-CBA 和 4-HMBA 的分离度却不太令人满意,开始只有 1.38,并且逐渐减小,直至无法分离(见图 2)。该阶段 4-CBA 和 4-HMBA 的分离是色谱分离的控制因素。

阶段 II 切换了有机溶剂后,4-CBA 和 4-HMBA 能保持良好的分离(关于通过切换有机溶剂改善 4-CBA 和 4-HMBA 分离的讨论详见“2.3”),由于 4-CBA 的保留时间略有增大(见图 1B),使得 4-CBA 和 4-HMBA 的分离度亦有所增加,达到了 3.8。然而 4-CBA 和 BA、PTA 和 TA 的分离度逐渐减小,直至无法分离(见图 3)。到了阶段 III,4-CBA 和 BA、PTA 和 TA 的分离成为色谱分离的控制因素。

在阶段 III,再一次调整流动相,降低其洗脱强度后,各组分能良好分离,并且 TA 的保留时间在 7 min 左右,分析周期较短。在该阶段,色谱柱的性能逐渐稳定,各组分的保留时间和分离度变化都较为缓慢,故这种分离良好的状态能维持较长的时间,可进行 500~600 次,在色谱柱使用后期,TA 的保留时间小于 6 min 时,PTA 和 TA、4-CBA 和 BA 将无法分离,这时的进样次数已超过 1 000 次,应更换新色谱柱。阶段 III 的色谱图见图 4。

### 2.3 4-CBA 和 4-HMBA 的特殊选择性及应对方法

在对二甲苯氧化体系的分析中,4-CBA 和 4-HMBA 的分离较为特殊。不同阶段的色谱柱,对这两种物质有不同的选择性。新柱对 4-HMBA 保留较强,4-CBA 先出峰;但是随着进样次数的增加,4-HMBA 保留减弱的速度较 4-CBA 快,到色谱柱使用一定阶段时,它的色谱峰会跑到 4-CBA 的前面。这使得在色谱柱使用的某一阶段(一般在进样 200 次左右),这两种物质很难分离。实验表明,通过调整缓冲溶液的浓度和流动相的 pH 值仍无法实现该物质对的分离。

考虑到 4-HMBA 的分子中含有羟基,根据相似相溶原理,采用含有羟基的甲醇代替乙腈作为流动相中的有机溶剂,并辅以缓冲溶液的调整,成功地改变了保留的选择性,4-CBA 和 4-HMBA 达到了基线分离。采用的流动相条件:有机溶剂为甲醇 10% (体积分数),磷酸二氢铵浓度为 0.20 mol/L, pH 4.3。

#### 参考文献:

- [1] 许红兵,刘炜,畅延青,等. 高效液相色谱法测定精对苯二甲酸中微量杂质[J]. 分析测试技术与仪器, 2003, 9(3): 10-13.
- [2] 平德来. 高效液相色谱法测定对苯二甲酸中的 4-羧基苯甲醛和对甲基苯甲酸[J]. 石油化工, 1995, 24(7): 493-497.
- [3] 冯钰安,庄海青,周辉,等. 高效液相色谱法分析对苯二甲酸中的微量杂质[J]. 色谱, 1996, 14(3): 199-201.
- [4] 陈利根,周静红. 对苯二甲酸中微量杂质 HPLC 分析条件的优化[J]. 华东理工大学学报, 2004, 30(4): 719-722.

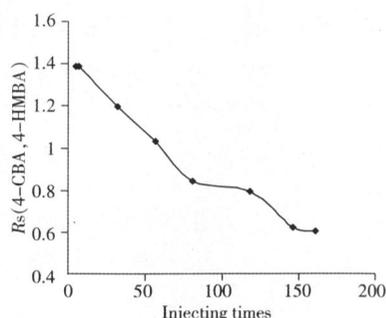


图 2 4-CBA 和 4-HMBA 的分离度变化(阶段 I)

Fig. 2 Changes of resolution between 4-CBA and 4-HMBA in period I

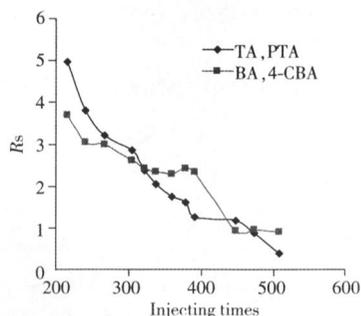


图 3 分离度变化(阶段 II)

Fig. 3 Changes of resolution in period II

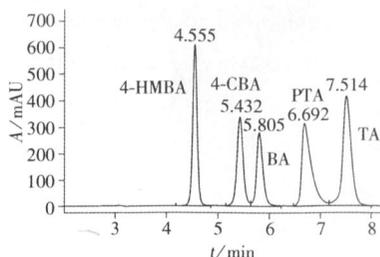


图 4 阶段 III 的标样色谱图

Fig. 4 Chromatogram of mixed standard solution in period III