

壬基酚聚氧乙烯醚在反相液相色谱上的保留行为

陈海相¹, 姜瑞妹^{1a}, 宁小玉^{1a}, 吕汪洋^{1a}, 张克和^{1b}, 俞旭霞²

(1. 浙江理工大学, a. 先进纺织材料与制备技术教育部重点实验室, b. 生态染整技术教育部工程研究中心, 杭州 310018; 2. 萧山区质量计量监测中心, 杭州 311202)

摘要:以 C₁₈ 色谱柱为固定相, 80%~100% 甲醇水溶液为流动相, 在 20~50℃ 的温度范围内采用反相液相色谱研究了不同聚合度壬基酚聚氧乙烯醚的色谱保留行为和热力学性质。结果表明: 不同聚合度壬基酚聚氧乙烯醚在结构上的细微差异, 能在反相色谱行为上明显地体现出来。同时还测定了壬基酚聚氧乙烯醚与固定相之间的相互作用焓 ΔH° 和熵 ΔS° 变化情况。这些热力学参数的测定为壬基酚聚氧乙烯醚与疏水界面相互作用机制的研究提供了一种行之有效的方法。

关键词: 壬基酚聚氧乙烯醚; 保留行为; 反相液相色谱; 热力学参数; 聚合度

中图分类号: O657.72 **文献标志码:** A

0 引言

反相高效液相色谱(RP-HPLC)因有分辨能力高、重复性好和样品用量少等优点,得到了极其广泛的应用。反相液相色谱在壬基酚聚氧乙烯醚(NPEO)方面的分离分析已有较多成功应用^[1-4],促进了壬基酚聚氧乙烯醚反相色谱分离机制的研究。壬基酚聚氧乙烯醚分子结构中聚合度 n (即环氧乙烷加成摩尔数)对表面活性剂性质有很大影响。被分离的壬基酚聚氧乙烯醚与固定相的配基是通过疏水作用力而相互结合的,这种疏水作用力的强弱与壬基酚聚氧乙烯醚的聚合度有着密切的关系。壬基酚聚氧乙烯醚在色谱中的保留行为和热力学参数取决于壬基酚聚氧乙烯醚分子结构中的烷基组成和链长,同时将取决于壬基酚聚氧乙烯醚的聚合度。本文以甲醇/水为流动相研究了不同聚合度壬基酚聚氧乙烯醚在 C₁₈ 柱上的反相液相色谱保留行为,并求算了不同聚合度壬基酚聚氧乙烯醚与固定相之间相互作用的热力学参数,为确立合适的色谱分析条件提供基础数据。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪,包括四元泵、柱

温箱、紫外检测器、自动进样器、在线真空脱气机等(美国 Agilent 公司)。甲醇(色谱纯,美国 Tedia 公司);硝酸钠(分析纯,杭州米克化工仪器有限公司提供);壬基酚聚氧乙烯醚(聚合度 $n=6, 10, 15, 21, 40$, 百灵威提供);水为超纯水。

1.2 色谱条件

色谱柱: ZorBax Eclipse XDB C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm);流动相: 80%~100% (体积分数)甲醇水溶液,用前经 0.22 μm 尼龙滤膜过滤;流速: 1.0 mL/min;进样量: 10 μL ;检测波长: 276 nm;柱温: 20~50℃。

1.3 实验方法

配制浓度 100 $\mu\text{g/mL}$ 的壬基酚聚氧乙烯醚(聚合度 $n=6, 10, 15, 21, 40$)甲醇溶液,过滤取样,采用等度洗脱测定保留时间 t_R ;始时间 t_0 采用 5% 的硝酸钠水溶液测定。容量因子 k 按公式 $k=(t_R-t_0)/t_0$ 进行计算。

2 结果与讨论

2.1 壬基酚聚氧乙烯醚的保留时间与聚合度的关系

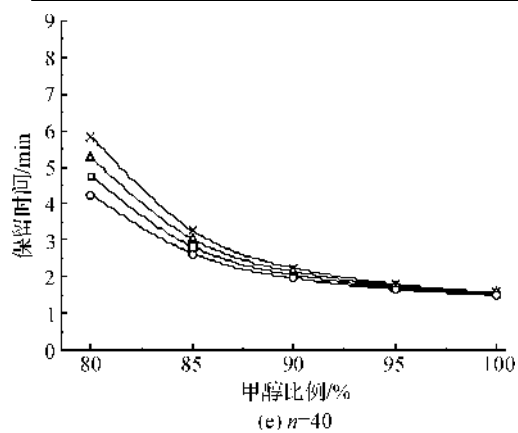
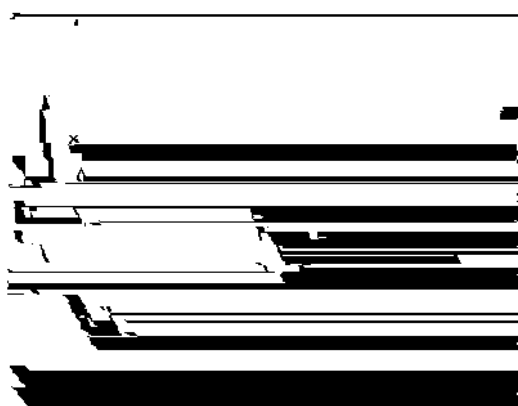
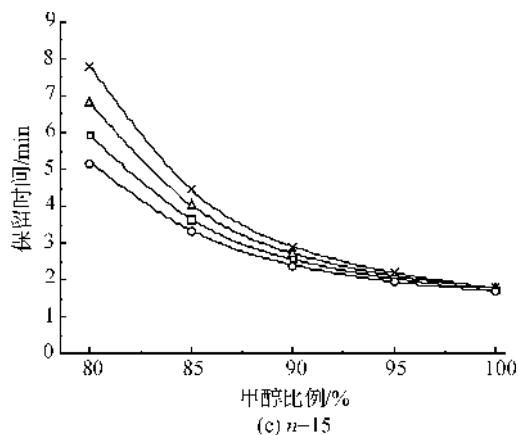
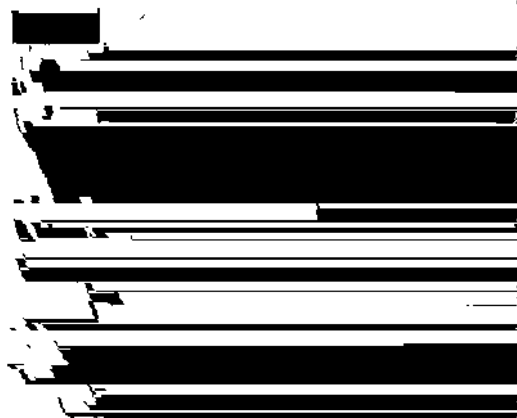
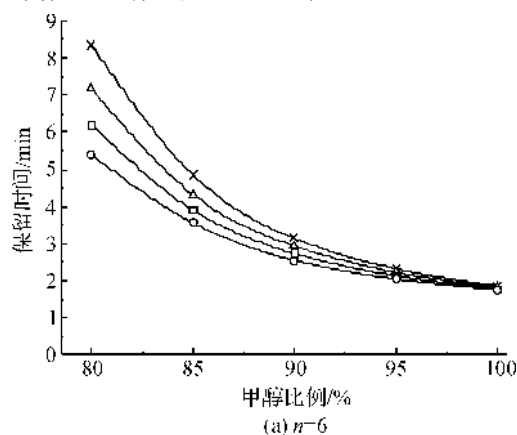
图 1 是在四种温度(20、30、40、50℃)下,不同聚合度($n=6, 10, 15, 21, 40$)壬基酚聚氧乙烯醚采用甲

收稿日期: 2014-08-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(51103133);浙江省公益性技术应用研究项目(2014C37088);浙江省质监系统科研项目(20130245)

作者简介: 陈海相(1966—),男,浙江天台人,教授级高级工程师,主要从事色谱/质谱分析方面的研究。

醇/水为流动相在等度条件洗脱测得的保留时间 t_R 。图1可见,随着流动相中甲醇比例 Ψ (体积百分比) 的增加,壬基酚聚氧乙烯醚的保留时间 t_R 都呈相似的递减趋势。分析图1可知,壬基酚聚氧乙烯醚的保留时间 t_R 都随聚合度 n 的增加而减小。聚合度 n 的增加,即壬基酚聚氧乙烯醚中环氧乙烷加成链节数增加,壬基酚聚氧乙烯醚的亲水性增强而疏水性减弱,使得壬基酚聚氧乙烯醚在 C_{18} 色谱柱中与固定相的相互作用减弱,洗脱加快,保留时间减小。在相同的色谱条件下,壬基酚聚氧乙烯醚的保留时间 t_R 与聚合度 n 有良好的线性关系,线性回归方程 $t_R = a + bn$ 中的 a 、 b 值及相关系数 R^2 见表1,相关系数 R^2 均大于0.99,见表1。



—×— $t=20\text{ }^{\circ}\text{C}$, —△— $t=30\text{ }^{\circ}\text{C}$, —□— $t=40\text{ }^{\circ}\text{C}$, —○— $t=50\text{ }^{\circ}\text{C}$

图1 壬基酚聚氧乙烯醚保留时间与甲醇比例和聚合度的关系

表1 线性回归方程 $t_R = a + bn$ 中的 a 、 b 值及相关系数 R^2

甲醇百分比/%	20 $^{\circ}\text{C}$			30 $^{\circ}\text{C}$			40 $^{\circ}\text{C}$			50 $^{\circ}\text{C}$		
	a	$-b \times 10^2$	R^2	a	$-b \times 10^2$	R^2	a	$-b \times 10^2$	R^2	a	$-b \times 10^2$	R^2
80	8.825	7.420	0.995 6	7.569	5.708	0.993 3	6.503	4.321	0.991 5	5.638	3.413	0.992 3
85	5.104	4.558	0.996 8	4.558	3.760	0.996 2	4.096	3.161	0.997 7	3.715	2.682	0.996 6
90	3.281	2.623	0.995 5	3.057	2.299	0.996 3	2.845	1.986	0.997 2	2.653	1.711	0.997 4
95	2.409	1.518	0.996 3	2.306	1.377	0.996 4	2.205	1.105	0.996 6	2.111	1.119	0.996 6
100	1.905	0.834	0.994 9	1.874	0.802	0.994 9	1.833	0.763	0.994 9	1.807	0.747	0.991 8

2.2 壬基酚聚氧乙烯醚的保留行为

容量因子与流动相中有机溶剂含量的关系可由

经验公式 $\ln k = \ln k_w + S\Psi$ 给出 (k 为容量因子, Ψ 为流动相中有机溶剂的体积分数)^[5-8]。斜率 S 是溶剂

强度参数,可表征组分与流动相的相互作用力; k_w 是以纯水为流动相时($\Psi=0$)组分的外推容量因子,用来表征组分与固定相之间的亲和力。利用2.1节实验数据计算得壬基酚聚氧乙烯醚的 $\ln k$,对 $\ln k$ 与 Ψ 进行线性回归得到 $\ln k_w$ 、 S 值及相关系数 R^2 (见表2)。表2可见,相关系数 R^2 均大于0.99,说明控制保留行为的因素在本研究范围内是连续不变的,负的 S 值表明壬基酚聚氧乙烯醚均属疏水洗脱。

表2 线性回归方程 $\ln k = \ln k_w + S\Psi$ 中的 $\ln k_w$ 、 S 值及相关系数 R^2

NPEO (n)	20℃			30℃			40℃			50℃		
	$\ln k_w$	$-S$	R^2	$\ln k_w$	$-S$	R^2	$\ln k_w$	$-S$	R^2	$\ln k_w$	$-S$	R^2
6	12.199 0	0.132 4	0.999 6	11.549 6	0.126 6	0.999 6	10.985 8	0.121 9	0.999 7	10.291 2	0.115 5	0.998 9
10	12.343 8	0.134 9	0.999 3	11.735 4	0.129 5	0.999 2	11.237 6	0.125 5	0.999 4	10.678 8	0.120 8	0.999 0
15	12.376 4	0.135 8	0.999 3	11.796 2	0.130 6	0.999 0	11.303 6	0.126 7	0.999 0	10.727 2	0.121 8	0.998 5
21	12.529 6	0.138 8	0.998 8	12.010 2	0.134 4	0.998 7	11.584 2	0.131 1	0.998 8	10.954 0	0.125 5	0.997 8
40	13.470 6	0.154 2	0.998 8	13.190 2	0.152 5	0.998 9	13.068 8	0.152 6	0.999 1	12.976 0	0.153 2	0.999 5

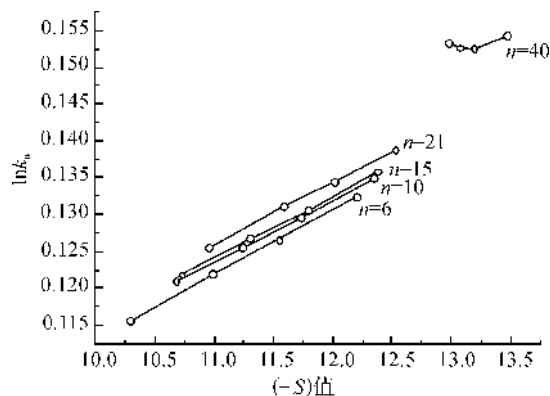
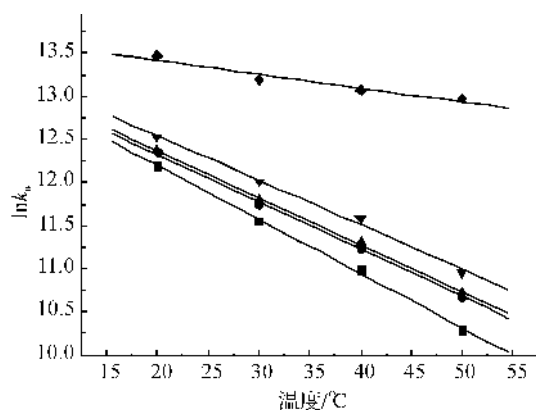


图2 $\ln k_w$ 与 $(-S)$ 值之间的关系

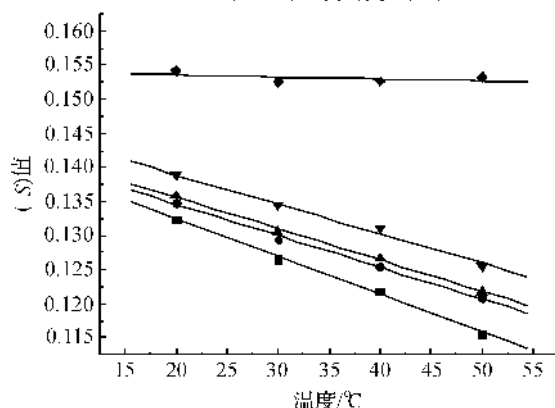
2.3 k_w 和 S 参数与温度

k_w 和 S 这两个参数可以很好地表征色谱保留行为^[6,9],一般情况下随着温度的升高,若组分的结构不发生变化,分子热运动加剧, k_w 应该逐渐减小。图3(a)显示的 $\ln k_w$ 与温度的变化关系符合这一推理,而且5种壬基酚聚氧乙烯醚的 $\ln k_w$ 与温度之间均呈现出良好的线性关系,说明控制色谱保留行为的柱温因素在本研究范围内也是连续不变的。若以 $\ln k'$ 对 Ψ 作图,图中直线的斜率 S 值可用来表征组分与流动相间的相互作用力。将5种不同聚合度的壬基酚聚氧乙烯醚的 $(-S)$ 值对温度作图,见图3(b),可见 $(-S)$ 值与温度间也有良好的线性关系,不同的斜率和截距反映了5种壬基酚聚氧乙烯醚与流动相之间的相互作用力受温度的影响程度不同。从图3(b)中的直线斜率分析, $n=6$ 、10、15、21的壬基酚聚氧乙烯醚与流动相之间的相互作用力受温度的影响较大且相似,而 $n=40$ 壬基酚聚氧乙烯醚与流动相之间的相互作用力受温度的影响相对较小。

以 $\ln k_w$ 为纵坐标, $(-S)$ 为横坐标进一步作图(见图2),分析发现聚合度 $n=6$ 、10、15、21的壬基酚聚氧乙烯醚,其 $\ln k_w$ 与 $(-S)$ 有近似的线性关系,表明不同聚合度壬基酚聚氧乙烯醚的极性和氢键作用能相似,不同的斜率和截距表征了极性作用和氢键作用的相对大小;而聚合度 $n=40$ 壬基酚聚氧乙烯醚的 $\ln k_w$ 与 $(-S)$ 不具有线性关系,且曲线远离前四条线,表明其极性和氢键作用存在较大差异。



(a) $\ln k_w$ 与温度的变化关系



(b) $(-S)$ 值与温度的变化关系

■ $n=6$; ● $n=10$; ▲ $n=15$; ▼ $n=21$; ◆ $n=40$

图3 $\ln k_w$ 和 $(-S)$ 值与柱温的关系

图3(a)(b)中均未出现两线相交点,表明在本研究温度范围内不同聚合度壬基酚聚氧乙烯醚与流动相之间的相互作用力不同,彼此之间能得到有效分离。提高温度可有效地调控容量因子 k ,从而达到更有效分离不同聚合度的壬基酚聚氧乙烯醚。从

图3(a)(b)的趋势分析,降低柱温将使线段彼此靠拢,可能出现相交现象,不同聚合度的壬基酚聚氧乙烯醚与流动相之间的相互作用力将更靠近,甚至相同,从而影响分离或无法分离。

以上分析结果表明,壬基酚聚氧乙烯醚的聚合度(即环氧乙烷加成摩尔数)不同能在反相液相色谱保留行为上明显地体现出来。

2.4 与C₁₈固定相结合的热力学参数

容量因子 k 可以被另一众所周知的表达式来表示^[10],即 $k=k'\beta$ (k' 为组分与柱固定相结合平衡常数, β 为色谱柱的相比,即固定相与流动相的体积比),两边取对数得:

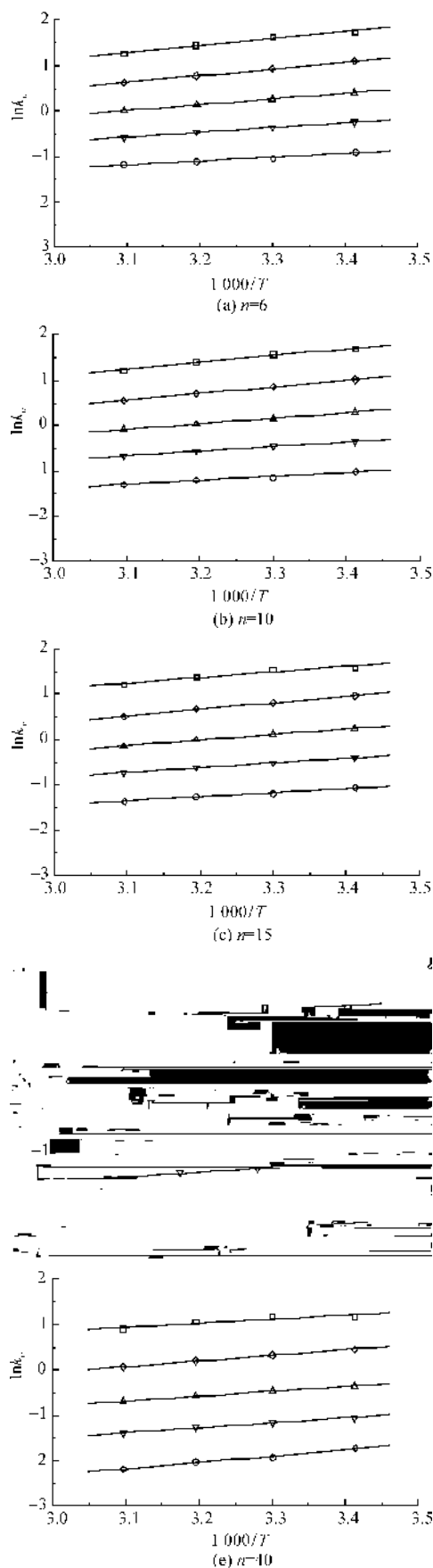
$$\ln k = \ln k' + \ln \beta.$$

根据平衡常数 $\ln k' = -\Delta G^\circ/RT$ 和热力学第二定律 $\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ$,可得:

$$\ln k = -\Delta H^\circ/RT + \Delta S^\circ/R + \ln \beta.$$

其中: ΔG° 为标准自由能变化, ΔH° 为标准焓变, T 为绝对温度, ΔS° 为标准熵变, R 为气体常数(即 $8.314 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$)。用 $\ln k$ 对 $1/T$ 作图则得到Van't Hoff曲线,它表征了组分与固定相结合机制。图4是5种不同聚合度壬基酚聚氧乙烯醚的Van't Hoff曲线,良好的线性关系说明不同聚合度壬基酚聚氧乙烯醚在C₁₈色谱柱上的保留机制没有变化,或者说,不同聚合度壬基酚聚氧乙烯醚在本试验条件下与C₁₈固定相结合机制没有变化。

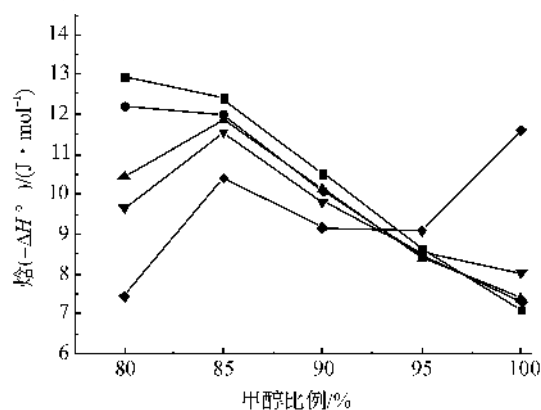
图4中直线的斜率即为 $-\Delta H^\circ/R$,在纵坐标上的截距即为 $\Delta S^\circ/R + \ln \beta$ 。一般无法获得相比 β 确切数据,对特定的色谱柱其相比 β 是常数,并可取 β 其值为1以便简化计算^[11]。图5是在不同甲醇比例 Ψ 下测定求算的5种壬基酚聚氧乙烯醚与C₁₈固定相疏水配基结合时的($-\Delta H^\circ$)和($-\Delta S^\circ$)数值。热力学参数 ΔH° 值的变化说明结合过程的热量变化。 ΔH° 负值越大表明与固定相结合释放的能量越多,结合越牢固,亲和力越强;若是疏水结合,则说明疏水能力越强。因此 ΔH° 的计算可以定量表示不同聚合度壬基酚聚氧乙烯醚的疏水能力。图5(a)显示所测得的 ΔH° 值均为负值,随着流动相 Ψ 的变化, ΔH° 值有明显的波动现象,而且 ΔH° 值随壬基酚聚氧乙烯醚聚合度的不同变化显著。 $\Psi=80\%$ 时, ΔH° 值随聚合度的增大呈递增趋势,当 $\Psi=100\%$, ΔH° 值随聚合度的增大则呈递减趋势,而在 $\Psi=92\% \sim 95\%$ 左右, ΔH° 值趋近。



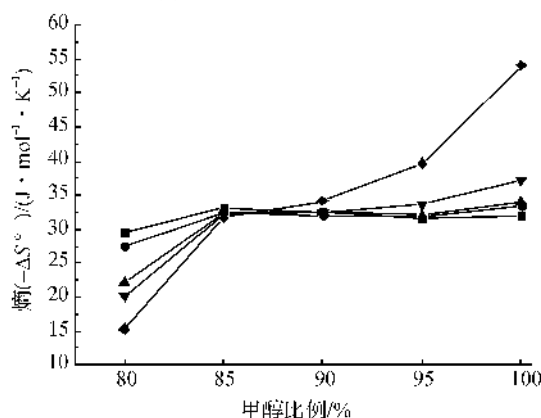
□80%甲醇;◇85%甲醇;△90%甲醇;▽95%甲醇;○100%甲醇

图4 Van't Hoff曲线

熵 ΔS° 值的变化说明结合过程中的混乱度变化。 ΔS° 为负值时,自由度减小, ΔS° 为正值时,混乱度增加。壬基酚聚氧乙烯醚与 C_{18} 固定相疏水配基结合是一个被束缚的自由度减小的过程,因此 ΔS° 值均为负值,见图 5(b)。 ΔS° 值也随壬基酚聚氧乙烯醚聚合度的不同变化明显。 $\Psi=80\%$ 时, ΔS° 值随聚合度的增大呈递增趋势,当 $\Psi=100\%$, ΔS° 值随聚合度的增大呈递减趋势,而在 $\Psi=87.5\%$ 左右, ΔS° 值趋近。



(a) 不同甲醇比例下焓的变化



(b) 不同甲醇比例下熵的变化

■ $n=6$; ● $n=10$; ▲ $n=15$; ▼ $n=21$; ◆ $n=40$

图 5 热力学参数($-\Delta H^\circ$)和($-\Delta S^\circ$)值

3 结 论

壬基酚聚氧乙烯醚聚合度的不同能在反相液相色谱保留行为上明显地体现出来。在反相液相色谱中以 C_{18} 色谱柱为固定相,用 $80\% \sim 100\%$ 甲醇水溶液为流动相,在 $20 \sim 50^\circ\text{C}$ 的温度范围内,壬基酚聚氧乙烯醚的保留时间 t_R 与聚合度 n 有关,近似成线性关系;而 $\ln k$ 与 Ψ 之间均呈现良好的线性关系,5

种壬基酚聚氧乙烯醚的 Van't Hoff 曲线均呈现出线性。 ΔH° 均为负值说明壬基酚聚氧乙烯醚与 C_{18} 固定相结合释放出能量, ΔS° 均为负值说明壬基酚聚氧乙烯醚与 C_{18} 固定相结合是自由度减小被束缚的过程。 ΔH° 和 ΔS° 值都随壬基酚聚氧乙烯醚聚合度的不同变化明显, ΔH° 和 ΔS° 值在 $\Psi=80\%$ 时随聚合度的增大而递增,但在 $\Psi=100\%$ 时则随聚合度的增大而递减。

参考文献:

- [1] 陈 曦,郝瑞霞,姚 宁,等. 反相高效液相色谱法测定污水中壬基酚聚氧乙烯醚总量[J]. 环境工程学报, 2008, 2(4): 455-460.
- [2] 胡小键. 环境中烷基酚聚氧乙烯醚检测技术研究进展[J]. 国外医学:卫生学分册, 2009, 36(2): 83-88.
- [3] 鲁 平,孔黎明,吴 俊. 超高效液相色谱-液相荧光法测定果蔬中壬基酚聚氧乙烯醚及其降解产物[J]. 热带作物学报, 2011, 32(3): 571-574.
- [4] 杨丽峰,张利萍. 高效液相色谱法测定空气清新剂中的壬基酚聚氧乙烯醚[J]. 日用化学工业, 2013, 43(5): 386-388.
- [5] 陈海相,王炳辉,陈文兴. 苯酚和苯二酚异构体在反相色谱上的保留行为和热力学性质[J]. 浙江理工大学学报, 2010, 27(1): 159-163, 168.
- [6] Purcell A W, Aguilar M I, Hearn M T W. High performance liquid chromatography of amino acids, peptides and proteins CXV: thermodynamic behavior of peptides in reversed phase chromatography [J]. J Chromatogr A, 1992, 593(1/2): 103-117.
- [7] Tan L C, Carr P W. Extra-thermodynamic relationships in chromatography[J]. J Chromatogr A, 1993, 656(1/2): 521-535.
- [8] 卢佩章,戴朝政,张祥民. 色谱理论基础[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 265-273.
- [9] Purcell A W, Aguilar M I, Hearn M T W. Conformational effects in reversed phase high performance liquid chromatography of polypeptides I. resolution of insulin variants[J]. J Chromatogr A, 1995, 711(1): 61-70.
- [10] Vailaya A, Horvath C. Exothermodynamic relationships in liquid chromatography[J]. J Phys Chem B, 1998, 102(4): 701-718.
- [11] 赵建国,卫引茂,耿信笃. 蛋白质在疏水色谱中保留的热力学参数的测定[J]. 分析科学学报, 2004, 20(6): 583-585.

Retention Behaviors of Nonylphenol Ethoxylates on Reversed-phase Liquid Chromatography

CHEN Hai-xiang, JIANG Rui-mei^{1a}, NING Xiao-yu^{1a}, LÜ Wang-yang^{1a}, ZHANG Ke-he^{1b}, YU Xu-xia²

(1a. Key Laboratory for Advanced Textile Materials and Manufacturing Technology, Ministry of Education;

1b. Engineering Research Center for Eco-Dyeing & Finishing of Textiles, Ministry of Education,

Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China; 2. Xiaoshan District

Quality & Metrology Monitoring Center, Hangzhou 311202, China)

Abstract: In this paper, the retention behaviors and thermodynamic properties of nonylphenol ethoxylates with different polymerization degrees were studied with reversed-phase liquid chromatography under the temperature range of 20~50°C, with C₁₈ chromatographic column as stationary phase and 80%~100% methyl alcohol aqueous solution as mobile phase. The results demonstrate that subtle differences in the structure of nonylphenol ethoxylates with different polymerization degrees can be obviously reflected on reversed-phase liquid chromatography. Meanwhile, values for the relative changes in enthalpy(ΔH°) and entropy(ΔS°) associated with the interaction between nonylphenol ethoxylates and stationary phase were also determined. The determination of thermodynamic parameters would provide a feasible approach for the investigation of the interaction mechanism between nonylphenol ethoxylates and hydrophobic surface.

Key words: nonylphenol ethoxylates; retention behavior; reversed-phase liquid chromatography; thermodynamic parameter; polymerization degree

(责任编辑: 许惠儿)