

抗氧剂 168 的质量控制分析及杂质鉴定

李丹妮^a 刘雯雯^a 练鸿振^{a*} 朱劲松^b

(^a教育部生命分析化学重点实验室,南京大学现代分析中心,南京大学化学系 南京 210093;

^b南京扬子石化精细化工有限责任公司 南京)

摘 要 建立了测定抗氧剂 168 及其中有害杂质 2,4-二叔丁基苯酚含量的高效液相色谱-紫外检测分析方法,确定了 0~5 min, $V(\text{甲醇}):V(\text{水})$ 为 95:5~100:0, 5~25 min, $V(\text{甲醇}):V(\text{水})=100:0$ 的流动相条件进行梯度洗脱的方法,色谱柱为 Kromasil C₁₈, 5 μm , 150 mm $\times$ 4.6 mm (i. d.), 流动相流速为 1.0 mL/min, 柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$, 检测波长为 275 nm。抗氧剂 168 与 2,4-二叔丁基苯酚的质量浓度分别为 $1.0\times 10^{-6}\sim 1.0\times 10^{-3}$ g/mL 和 $1.0\times 10^{-7}\sim 1.0\times 10^{-4}$ g/mL 时与峰面积呈良好的线性关系,相关系数 r 分别为 0.999 94 和 0.999 95, 检出限分别为 1.0×10^{-7} g/mL 和 1.0×10^{-8} g/mL, 实际样品中抗氧剂 168 和 2,4-二叔丁基苯酚测定的相对标准偏差分别为 0.1% 和 1.8%。并将 2,4-二叔丁基苯酚的测定结果与分光光度法的测定结果进行了比较。结果显示,分光光度法并不能用于测定抗氧剂 168 中的 2,4-二叔丁基苯酚。利用液相色谱-质谱联用方法、紫外-可见光谱和色谱保留规律,分别定性鉴定了抗氧剂 168 工业产品中 3 种叔丁基杂质。在 0~20 min, $V(\text{甲醇}):V(\text{水})=100:0$ 等度洗脱的流动相条件下,本方法还可应用于复合抗氧剂中抗氧剂 168 的测定,测定的相对标准偏差为 0.7%,回收率为 101%。

关键词 抗氧剂 168, 二叔丁基苯酚, 液相色谱-质谱联用, 高效液相色谱, 紫外-可见光谱

中图分类号 O657

文献标识码 A

文章编号 1000-0518(2005)05-0511-06

抗氧剂 168 (三(2,4-二叔丁基苯基)亚磷酸酯, Tris(2,4-di-tert-butylphenyl) phosphite), 在高分子材料中通过分解聚合物氧化降解反应中生成的过氧化物来提高聚合物的抗氧化老化性能, 因此又称过氧化物分解剂^[1]。抗氧剂 168 本身毒性低, 很多国家均批准可用于食品包装用高分子制品的抗氧剂。工业上, 抗氧剂 168 是由 2,4-二叔丁基苯酚 (2,4-Di-tert-butylphenol) 和三氯化磷合成的^[2~4], 由于酚类物质对人体有很大的危害, 所以控制抗氧剂 168 中 2,4-二叔丁基苯酚的含量十分重要。对于抗氧剂 168 中的游离酚定量测定, 虽有通过测定其甲苯溶液透光率来控制其游离酚含量的方法, 但并不可靠^[5]。本文试图建立抗氧剂 168 工业产品的质量的控制分析方案。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

Varian 5060 型高效液相色谱仪 (美国 Varian 公司), 配有 Rheodyne 7725i 六通进样阀 (美国 Rheodyne 公司); Waters 486 型紫外-可见分光光度计 (美国 Waters 公司); JS-3050 色谱工作站 (大连江申分离科学技术公司); Type 3066 笔式记录仪 (四川仪表四厂)。Waters Alliance 2695 型高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司), 配有真空脱气机、数码四元泵、120 位自动进样器、996 型紫外-可见二极管阵列 (PDA) 检测器和 Millinium³² 色谱管理系统。

液相色谱-质谱联用系统: Waters Alliance 2690 型高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司), Applied Biosystem MarinerTM 5140 型质谱仪 (美国 Applied Biosystem 公司), 配有电喷雾离子化接口 (ESI)、飞行时间 (TOF) 质量分析器和 MarinerTM 质谱工作站; 722 型分光光度计 (上海精密科学仪器有限公司)。

抗氧剂 168 对照品 ($\geq 99.5\%$)、2,4-二叔丁基苯酚对照品 ($\geq 99.0\%$)、抗氧剂 168 工业样品以及复合抗氧剂工业样品均由南京扬子石化精细化工有限责任公司提供。甲醇 (HPLC 级)、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲苯均为分析纯试剂。实验中流动相和溶液用水为二次石英蒸馏水。

1.2 实验方法

1.2.1 标准溶液及样品溶液的配制 称取 50 mg 抗氧化剂 168 及 5 mg 2,4-二叔丁基苯酚对照品,置于 50 mL 容量瓶中,先加入 25 mL 二氯甲烷,振摇使之全部溶解,再用甲醇定容至 50 mL,配成抗氧化剂 168 浓度为 1.0×10^{-3} g/mL 及 2,4-二叔丁基苯酚浓度为 1.0×10^{-4} g/mL 的混合标准溶液,使用时逐级稀释到所需浓度。

1.2.2 高效液相色谱 Kromasil C_{18} , 5 μ m, 150 mm $\times$ 4.6 mm (I. D.) 色谱柱(江苏汉邦科技股份有限公司)。流动相流速: 1.0 mL/min 柱温 30 $^{\circ}$ C, 检测波长 275 nm。HPLC 方法一(梯度条件) 0 ~ 5 min, $V(\text{甲醇}):V(\text{水})$ 为 95:5 ~ 100:0, 5 ~ 25 min, $V(\text{甲醇}):V(\text{水}) = 100:0$; HPLC 方法二(等度条件): 0 ~ 20 min, $V(\text{甲醇}):V(\text{水}) = 100:0$ 。

1.2.3 液相色谱-质谱联用 HPLC 流动相条件同 1.2.2 中方法一。ESI/TOF-MS 系统: 喷嘴电压 5 190.23 V, 喷管电压 139.89 V, 检测电压 2 375.04 V, 喷管温度 140 $^{\circ}$ C。质量分析范围(m/z) 100 ~ 1 000。

1.2.4 分光光度法 在 1 cm 石英比色皿中,以甲苯为参比,测定波长为 425 和 500 nm。

1.2.5 标准曲线 在 HPLC 方法一条件下,混合标准溶液的色谱图如图 1a。取标准溶液 10 μ L 进样,以峰面积对浓度作图。抗氧化剂 168 在溶液浓度为 1.0×10^{-6} ~ 1.0×10^{-3} g/mL 范围内成线性,回归方程为 $A = -26\,457.407\,23 + 1.932\,24E7C$, $r = 0.999\,94$,当信噪比 $S/N = 3$ 时,检出限为 1.0×10^{-7} g/mL。2,4-二叔丁基苯酚在溶液浓度为 1.0×10^{-7} ~ 1.0×10^{-4} g/mL 的范围内成线性,回归方程为 $A = -12\,220.374\,95 + 5.219\,09E7C$, $r = 0.999\,95$,当 $S/N = 3$ 时,检出限为 1.0×10^{-8} g/mL。取抗氧化剂 168 浓度为 5.0×10^{-6} g/mL 和 2,4-二叔丁基苯酚浓度为 5.0×10^{-7} g/mL 的混合标准溶液重复进样 5 次,峰面积的相对标准偏差(RSD)分别为 0.6% 和 1.3%。取抗氧化剂 168 浓度为 1.0×10^{-3} g/mL 和 2,4-二叔丁基苯酚浓度为 1.0×10^{-4} g/mL 的混合标准溶液重复进样 5 次,峰面积的 RSD 分别为 0.3% 和 1.0%。

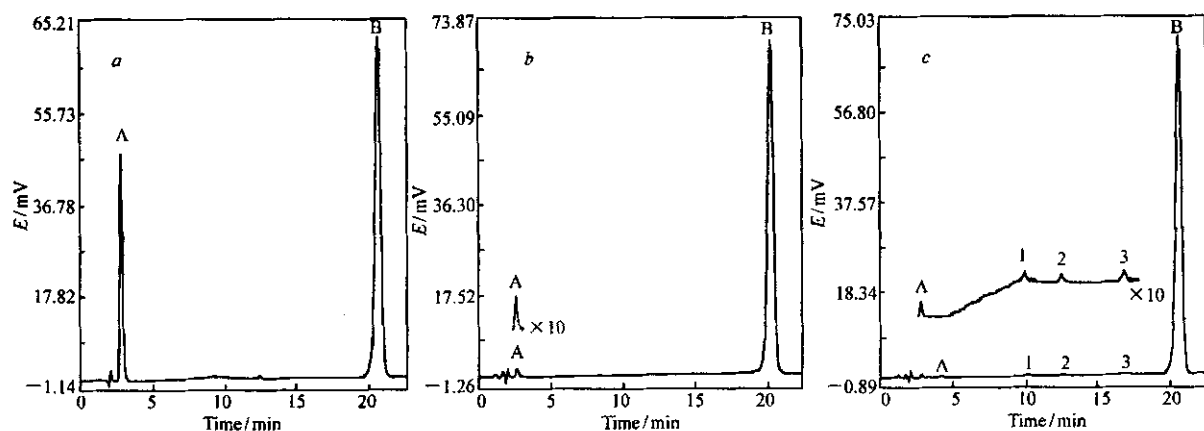


图1 梯度洗脱条件下的色谱图

Fig. 1 Chromatograms obtained from gradient elution

a. mixture standard; b. sample 1; c. sample 2

Peaks A: 2,4-di-tert-butylphenol; B: tris(2,4-di-tert-butylphenyl) phosphite; 1: impurity 1; 2: impurity 2; 3: impurity 3

2 结果与讨论

2.1 高效液相色谱条件选择

2.1.1 溶剂的选择 由于抗氧化剂 168 在甲醇中的溶解度 $< 0.01\%$, 在二氯甲烷中溶解度为 36%。考虑到溶解性及溶剂挥发的影响,采用二氯甲烷溶解后再用甲醇稀释的办法配制样品,溶解效果较好。二氯甲烷沸点低,具有较强的挥发性,放置时间长,挥发会造成溶液浓度升高。有些作者采用乙酸乙酯和甲醇作为溶剂,试图避免因二氯甲烷沸点低、易挥发带来的误差。但经我们实验证明,由于抗氧化剂 168 在乙酸乙酯中溶解度过小(4%),在加入甲醇稀释过程中样品溶液会产生混浊。称取 20 mg 抗氧化剂 168,加入 12.5 mL 乙酸乙酯,用甲醇定容至 25 mL,重复进样 6 针,得到抗氧化剂 168 峰面积的 RSD 为 4.5%,

2,4-二叔丁基苯酚峰面积的 RSD 为 4.7%, 不能实现准确测量。

2.1.2 色谱条件的选择 用 100% 甲醇等度洗脱(图 2), 尽管抗氧剂 168 与杂质分离情况良好, 但 2,4-二叔丁基苯酚出峰时间太短, 与溶剂峰部分重叠, 影响测定的准确度。用 95% 甲醇-5% 水等度洗脱, 抗氧剂 168 出峰时间又太长(40 min 之后)。兼顾杂质分离效果和抗氧剂 168 的出峰时间, 采用梯度洗脱(HPLC 方法一)。在测定复合抗氧剂时, 由于只考虑抗氧剂 168 和抗氧剂 1076 的分离, 并不考虑 2,4-二叔丁基苯酚的含量测定, 故选择 100% 甲醇等度洗脱(HPLC 方法二)。

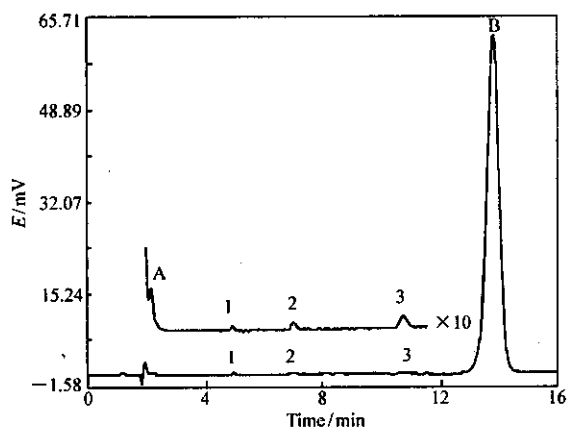


图 2 等度洗脱条件下 2#抗氧剂 168 样品的色谱图

Fig. 2 Chromatogram of sample 2 under isocratic elution

Peaks are the same as those in Fig. 1

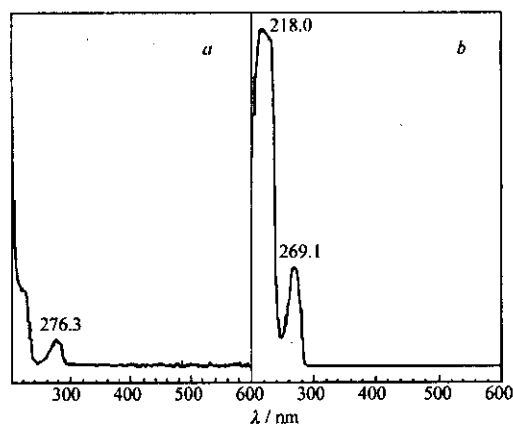


图 3 紫外-可见光谱

Fig. 3 UV-Vis absorption spectra of (a) 2,4-di-tert-

butylphenol, and (b) tris(2,4-di-tert-butylphenyl) phosphite

2.1.3 检测波长的选择 用二极管阵列检测器在 200 ~ 600 nm 进行连续扫描, 抗氧剂 168 和杂质 2,4-二叔丁基苯酚分别在 269 和 276 nm 处有特征吸收(图 3)。考虑到 2,4-二叔丁基苯酚含量极低, 为提高杂质检测的灵敏度, 选择 275 nm 作为检测波长。

2.2 抗氧剂 168 工业样品主含量及杂质含量测定

精确称取 1#抗氧剂 168 样品 20 mg 3 份, 分别置于 25 mL 容量瓶中, 先加入 12.5 mL 二氯甲烷, 振摇使之全部溶解, 再用甲醇定容至 25 mL, 在 HPLC 方法一的条件下, 进样 10 μ L, 色谱图如图 1b, 按外标法计算含量, 测得 1#样品中抗氧剂 168 的平均含量为 99.24%, RSD 为 0.1%, 2,4-二叔丁基苯酚的平均含量为 0.390%, RSD 为 1.8%。取其中一份样品溶液, 重复进样 3 针, 测得抗氧剂 168 的平均含量为 99.36%, RSD 为 0.2%, 2,4-二叔丁基苯酚的平均含量为 0.390%, RSD 为 1.9%。

2.3 杂质的鉴定

通过 HPLC 谱图(图 1c)可以发现, 2#样品中存在 3 个明显的未知杂质峰, 按照保留时间的顺序依次是 2,4-二叔丁基苯酚, 杂质 1, 杂质 2, 杂质 3, 抗氧剂 168, 保留时间分别为 2.8、9.8、12.3、16.6 和 20.3 min。对 2#抗氧剂 168 样品溶液进行 LC/MS 实验, 与色谱峰 B(20.3 min) 对应的质谱图如图 4a。从分子离子峰(m/z) 647 ($[M+H]^+$), 可知分子量为 646, 与抗氧剂 168 的分子量一致。与杂质 1(9.8 min) 和杂质 3(16.6 min) 对应的

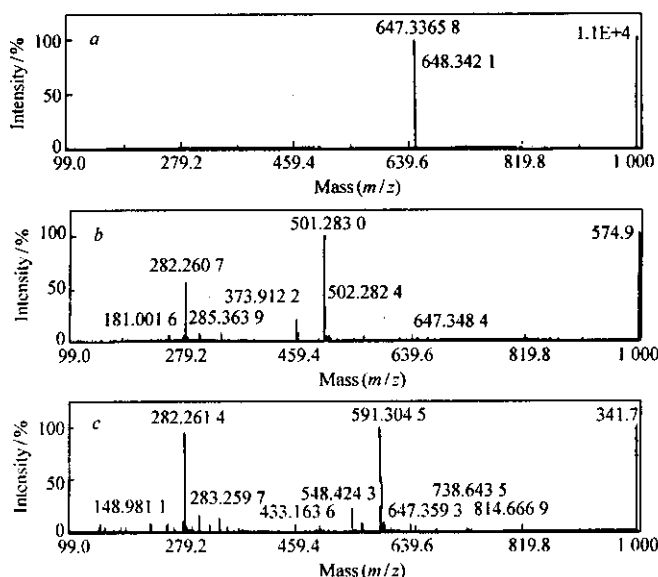


图 4 抗氧剂 168 及其杂质的质谱图

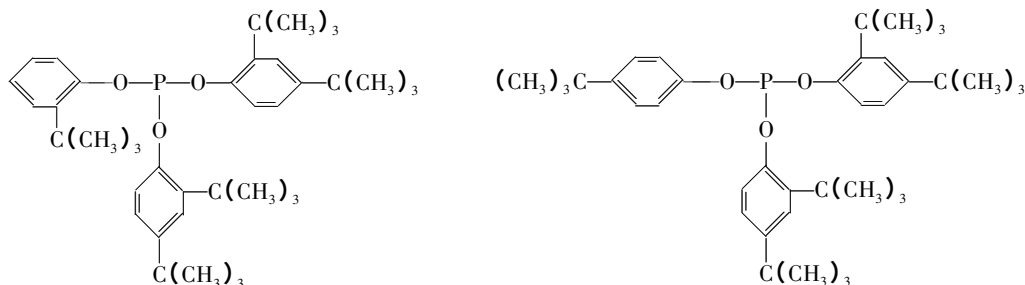
Fig. 4 Mass spectra of tris(2,4-di-tert-butylphenyl) phosphite

and its impurities obtained from LC/MS

a. tris(2,4-di-tert-butylphenyl) phosphite; b. impurity 1; c. impurity 3

质谱图分别如图 4b 和图 4c 所示,但是我们没有得到杂质 2 (12.3 min) 对应的质谱图。

抗氧剂 168 合成过程中产生的杂质^[3]可能为 $(((\text{CH}_3)_3\text{C})_2\text{C}_6\text{H}_3\text{O})_2\text{PCl}$ 和 $(((\text{CH}_3)_3\text{C})_2\text{C}_6\text{H}_3\text{O})\text{PCl}_2$,但在质谱图中,杂质峰 1 和杂质峰 3 均未出现与分子离子分子量相差 2 的氯的同位素特征峰,因此可断定杂质中不含氯原子。杂质 3 的分子离子峰(m/z)为 591,由 $[(646 - 57 + \text{H}) + \text{H}]^+$ 可知分子量为 590,推测可能为抗氧剂 168 失去 1 个叔丁基的亚磷酸酯,结构式可能为:



杂质 1 的分子离子峰(m/z)为 501,由 $[(646 - 57 \times 3 + 3\text{H}) + \text{Na}]^+$ 可知分子量为 478,推测可能为抗氧剂 168 失去 3 个叔丁基的亚磷酸酯。

用二极管阵列检测器(PDA)收集 HPLC 中杂质峰 1、2、3 在 200 ~ 600 nm 范围内的紫外-可见光谱,图 5 显示,3 个杂质具有形状相似的紫外-可见光谱,说明它们应具有类似的结构。

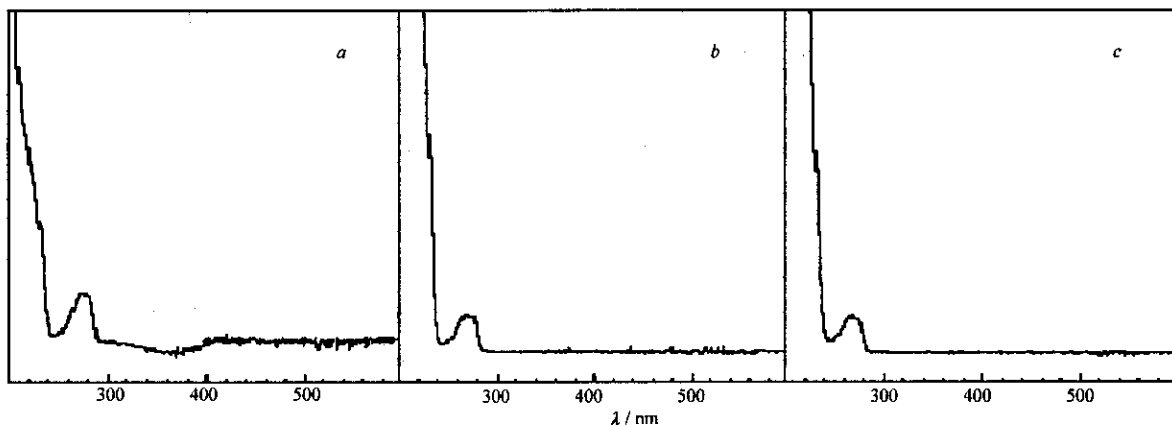


图 5 杂质的紫外-可见光谱

Fig. 5 UV-Vis absorption spectra of the impurities

a. impurity 1 ; b. impurity 2 ; c. impurity 3

在反相高效液相色谱中,化合物容量因子 k' 值与化合物的疏水性有关,具体表现为化合物碳原子数越多, $\log k'$ 越大,同系物的 $\log k'$ 值与碳原子数之间则呈线性关系。本实验中 HPLC 流动相条件为等度洗脱(方法二,图 2)时,3 个杂质及抗氧剂 168 的 $\log k'$ 与碳原子数的关系呈线性,符合同系物的色谱保留规律。由杂质 2 在色谱上的保留值可知其碳原子数应在杂质 1 与杂质 3 之间,故推测杂质 2 应为抗氧剂 168 失去 2 个叔丁基的亚磷酸酯。

由 LC/MS 结果可知,产品中并不含 $(((\text{CH}_3)_3\text{C})_2\text{C}_6\text{H}_3\text{O})_2\text{PCl}$ 和 $(((\text{CH}_3)_3\text{C})_2\text{C}_6\text{H}_3\text{O})\text{PCl}_2$,杂质 1、2、3 产生的原因可能是由于原料 2,4-二叔丁基苯酚不纯,其中含有的单叔丁基苯酚(2-叔丁基苯酚或 4-叔丁基苯酚)或苯酚,在合成时产生了缺少叔丁基

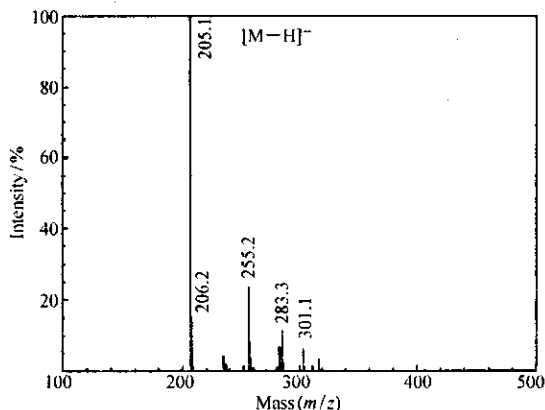


图 6 2,4-二叔丁基苯酚的质谱图

Fig. 6 Mass spectrum of 2,4-di-tert-butylphenol obtained from LC/MS

的亚磷酸酯。所以在合成抗氧剂 168 的过程中,必须注意控制原料 2,4-二叔丁基苯酚的质量。

在 LC/MS 实验中,我们发现电离源为正离子电离模式时,2,4-二叔丁基苯酚电离程度小,在质谱中响应微弱,而在负离子电离模式下,有较强的响应,对应于保留时间 2.8 min 的峰的质谱图如图 6 所示, m/z 205. 1 ($[M - H]^{-}$),分子量为 206,对应于 2,4-二叔丁基苯酚的分子量。

2.4 抗氧剂 168 中 2,4-二叔丁基苯酚检测方法的验证

目前,被国内外一致接受的抗氧剂 168 中 2,4-二叔丁基苯酚最大残留量的指标为 0. 3% ,有些作者提出抗氧剂 168 工业产品的甲苯透光率与游离酚的含量存在相关性,即如果 168 中 2,4-二叔丁基苯酚的含量符合要求,在 425 和 500 nm 波长下,10% 甲苯溶液透光率应该分别不小于 97% 和 98% ^[5],我们对此进行了验证。分别称取不同批号抗氧剂 168 工业样品约 1 g,溶于 10 mL 甲苯中,配制成 10% 的甲苯溶液进行透光率的测定,同时按照本文 2. 2 步骤测定其中 2,4-二叔丁基苯酚含量。结果列于表 1。

表 1 抗氧剂 168 样品的甲苯溶液透光率测定结果与色谱测定结果比较
Table 1 Comparison of 2,4-di-tert-butylphenol residues by HPLC with the spectrophotometric transmittance of the corresponding sample in toluene

	Batch No.				
	2#	3#	4#	5#	6#
2,4-Di-tert-butylphenol content/% ,HPLC	0. 044	0. 036	0. 052	0. 190	0. 380
Transmittance T_{425} /% ,Spectrophotometry	97. 4	98. 3	98. 9	98. 8	98. 4
Transmittance T_{500} /% ,Spectrophotometry	98. 3	98. 4	99. 0	99. 0	98. 5

由表 1 的结果可知,抗氧剂 168 的甲苯溶液的透光率和其中 2,4-二叔丁基苯酚的含量并无对应关系,且 HPLC 测得的 2,4-二叔丁基苯酚含量为 0. 380% 的样品,透光率实验也符合要求。由抗氧剂 168 和 2,4-二叔丁基苯酚在 200 ~ 600 nm 的 PDA 紫外-可见光谱(图 3)可知,在 425 和 500 nm 处,2,4-二叔丁基苯酚并无特征吸收,故用这种测量方法估计 2,4-二叔丁基苯酚含量没有依据。

2.5 复合抗氧剂中抗氧剂 168 的测定

抗氧剂 168 经常和其它抗氧剂配合使用,某复合塑料助剂的主要成分为抗氧剂 168 和抗氧剂 1076, β -(3,5-二叔丁基-4-羟基苯基)丙酸十八碳醇酯(Octadecyl β -(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate) 以及其它成分组成,这类复合抗氧剂能发挥协同效应,提高抗氧化效果。

精确称取复合抗氧剂样品 20 mg,置于 25 mL 容量瓶中,先加入 12. 5 mL 二氯甲烷,超声使之全部溶解,再用甲醇定容至 25 mL,用 0. 45 μ m 孔径的滤膜过滤,取滤液进行 HPLC 分析,在 HPLC 方法二的条件下,进样 10 μ L(如图 7),按外标法计算含量,复合抗氧剂中抗氧剂 168 含量为 36. 73% ,3 次测定的 RSD 为 0. 7%。称取 2 份复合抗氧剂样品约 20 mg,分别置于 25 mL 容量瓶中,分别在样品中加抗氧剂 168 标样,按上述方法处理,回收率的测定结果如表 2 所示。

表 2 某复合抗氧剂中抗氧剂 168 回收率实验结果
Table 2 Recovery rate of tris(2,4-di-tert-butylphenyl) phosphite in a composite antioxidant

Background/ mg	Added/ mg	Found/ mg	Recovery/ %	RSD ($n = 3$)/%
7. 37	10. 07	17. 57	101. 3	0. 6
7. 37	5. 14	12. 57	101. 2	0. 5

本文提出的高效液相色谱-紫外检测方法,可以准确地测定抗氧剂 168 及其中的杂质 2,4-二叔丁基苯酚的含量,方法灵敏、准确,而分光光度法不能提

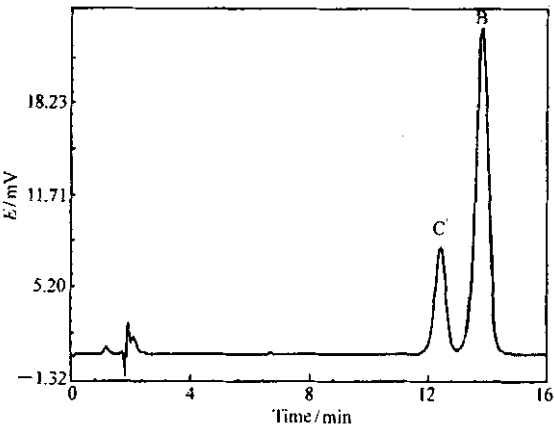


图 7 某复合抗氧剂中抗氧剂 1076 及抗氧剂 168 测定色谱图

Fig. 7 Chromatogram of the composite antioxidant
Peaks B, tris(2,4-di-tert-butylphenyl) phosphite ;
C, Octadecyl β -(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate

供有关 2,4-二叔丁基苯酚的信息。通过液相色谱-质谱联用和紫外-可见光谱方法,并结合色谱保留规律定性鉴定了抗氧化剂 168 中的 3 种杂质,为寻找工业抗氧化剂产品的杂质来源提供了重要参考。

参 考 文 献

- 1 CAO Shu-Dong(曹树东). *Qilu Petrochem Tech*(齐鲁石油化工) [J], 1996, 24(4) 279
- 2 ZHOU Zhong(周忠). *J Yangzhou Sci Tech*(扬州科技) [J], 1997, 5(2) 8
- 3 QIAN Jian-Hua(钱建华), LIU Lin(刘琳), LIU Chun-Sheng(刘春生). *Speciality Petrochem*(精细石油化工) [J], 2001, (6) 37
- 4 YU Cui-Fen(俞翠芬). *Lanzhou Petrochem Sci Tech*(兰化科技) [J], 1992, 10(2) 99
- 5 CAO Shu-Dong(曹树东). *Mod Plast Process Appl*(现代塑料加工应用) [J], 1996, 8(5) 24

Quality Control Method for Tris(2,4-di-tert-butylphenyl) phosphite Production and Identification of Its Impurities

LI Dan-Ni^a, LIU Wen-Wen^a, LIAN Hong-Zhen^{a*}, ZHU Jin-Song^b

(^aKey Laboratory of Analytical Chemistry for Life Science, The Ministry of Education, Center of Materials Analysis, Department of Chemistry, Nanjing University, Nanjing 210093 ;

^bNanjing YPC Fine Chemical Industry Company Ltd., Nanjing)

Abstract This paper presents a high-performance liquid chromatography-UV detection analytical method for the determination of tris(2,4-di-tert-butylphenyl) phosphite (TBP) and its poisonous impurity 2,4-di-tert-butylphenol (DBP). The separation between TBP and DBP was performed on a Kromasil C₁₈ column, 5 μ m, 150 mm $\times$ 4.6 mm (i. d.), and the quantitation was achieved with UV detection at 275 nm. The column temperature was maintained at 30 $^{\circ}$ C. The mobile phase was a mixture of methanol and water and run at a flow rate of 1.0 mL/min, and a two-step linear gradient elution, 0 ~ 5 min, $V(\text{methanol}):V(\text{water}) = 95:5$; 5 ~ 25 min, $V(\text{methanol}):V(\text{water}) = 100:0$, was adopted. The calibration curves were linear in the concentration ranges of $1.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-3}$ g/mL of TBP and $1.0 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-4}$ g/mL of DBP, respectively, with correlation coefficients of 0.999 94 and 0.999 95. The detection limits were 1.0×10^{-7} g/mL for TBP and 1.0×10^{-8} g/mL for DBP. Good reproducibility was obtained for the determinations of TBP and DBP in real industrial samples with relative standard deviations of 0.1% and 1.8%, respectively. The DBP analysis result obtained by HPLC were compared with that by spectrophotometry, and it was found that the spectrometric method was unable to determine DBP in TBP accurately. Two impurities were identified by LC-MS. The structure of another impurity was estimated according to its UV-Vis spectrum and chromatographic behavior. All these three impurities in antioxidant 168 were TBP derivatives with fewer tert-butyl substituents. When an isocratic elution was used : (0 ~ 20 min, $V(\text{methanol}):V(\text{water}) = 100:0$), this method was applied to analyze TBP in composite antioxidants with a relative standard deviation of 0.7% and a recovery rate of 101%.

Keywords tris(di-tert-butylphenyl) phosphite, di-tert-butylphenol, LC-MS, HPLC, UV-Vis spectrum