L-谷氨酸钴配合物催化 O_2 氧化四氢呋喃产物的分离与定性分析

张雪华[1]，任水英[1,2]，王　猛[1]，王静静[1]，惠永海[1]，王吉德[1]

（1. 新疆大学化学化工学院，石油天然气教育部和自治区共建重点实验室，乌鲁木齐　830046；
2. 新疆产品质量监督检验研究院，乌鲁木齐　830004）

摘要：利用反相高效液相色谱（reversed phase high performance liquid chromatography，RP-HPLC）技术和气相色谱-质谱联用（gas chromatography-mass spectrometry，GC-MS）技术对 L-谷氨酸钴配合物催化 O_2 氧化四氢呋喃（tetrahydrofuran，THF）的产物进行分离和定性分析。考察流动相配比、pH 值对 RP-HPLC 测试的影响。在优化条件下，通过保留时间对照法定性出催化氧化产物 γ-丁内酯（γ-butyrolactone，GBL）、γ-羟基丁酸（γ-hydroxybutyrate，GHB）、2-羟基四氢呋喃、1,4-丁二酸、异丁酸酐和四氢糠醇 6 种产物。利用溶剂萃取法、柱层析法分离提纯目标产物之一 GBL，并通过核磁共振（nuclear magnetic resonance，NMR）法对其进行验证，证明了测定结果的可靠性。

关键词：分析化学；钴配合物；四氢呋喃；γ-丁内酯

中图分类号：O657　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：1674-2850(2014)07-0643-06

Separation and qualitative analysis of the products of catalytic oxidation of tetrahydrofuran with O_2 by L-glutamic acid cobalt complex

ZHANG Xuehua[1]，REN Shuiying[1,2]，WANG Meng[1]，
WANG Jingjing[1]，HUI Yonghai[1]，WANG Jide[1]

（1. *Key Laboratory of Oil and Gas Fine Chemicals，Ministry of Education and Xinjiang Uyghur Autonomous Region，College of Chemistry and Chemical Engineering，Xinjiang University，Urumqi*　830046，*China*；
2. *Product Quality Supervision and Inspection Academy of Xinjiang，Urumqi*　830004，*China*）

Abstract：The reversed phase high performance liquid chromatography（RP-HPLC）and gas chromatography-mass spectrometry（GC-MS）were used to the separation and qualitative analysis of the catalytically oxidative products of tetrahydrofuran（THF）by L-glutamic acid cobalt complex with O_2. The effects of mobile phases and pH values were investigated for optimization in RP-HPLC on separation. γ-butyrolactone（GBL），γ-hydroxybutyrate（GHB），2-hydroxyl tetrahydrofuran，1，4-succinic acid，isobutyric anhydride and tetrahydrofurfuryl alcohol were detected by retention time comparing method under the optimal conditions. In addition，one of the target products GBL was separated and purified by the methods of solvent extraction and column chromatography，and was verified by nuclear magnetic resonance（NMR），which demonstrated that the qualitative results were reliable.

Key words：analytical chemistry；cobalt complex；tetrahydrofura；γ-butyrolactone

---

基金项目：国家自然科学基金（21162027）；石油天然气精细化工重点实验室开放课题（XJDX0908-2010-03，XJDX0908-2010-09）
作者简介：张雪华（1985—），女，硕士研究生，主要研究方向：分析化学
通信联系人：王吉德，教授，主要研究方向：应用化学. E-mail：awangjd@126.com

0 引言

氧载体是一类能够可逆载氧的过渡金属配合物，在吸收 O_2 的同时，可将 O_2 活化，因此是一类很好的催化 O_2 氧化底物的催化剂[1]。同时，O_2 来源广、成本低，是很好的绿色氧化剂。因此，将能可逆载氧的过渡金属配合物用于催化活化 O_2 的研究，对于以 O_2 为氧化剂的研究具有重要意义[2]。

醚类的 α-H 氧化是一类重要的氧化反应，尤其是环醚 THF 的催化氧化[3~6]备受关注。THF 作为环醚可被过渡金属配合物催化氧化[7]，多位学者研究了有氧条件下 Fe(Ⅲ)，Cu(Ⅱ)，Ru，Mo，Rh 等过渡金属配合物对 THF 的催化氧化[8~10]，主要产物有 GBL，2-羟基四氢呋喃，4-羟基丁醛等，但不同催化剂得到的主要产物不同。这里用能可逆吸氧的氨基酸钴配合物作催化剂，进行催化 O_2 氧化四氢呋喃研究，取得了很好效果，但得到的主产物与其他方法不同，因此对氨基酸钴配合物作催化剂的产物进行分离分析。

分离分析催化氧化 THF 产物的方法主要有：气相色谱法（gas chromatography，GC）、GC-MS 法、红外光谱法（infrared spectroscopy，IR）、NMR 法等[11~14]。但是，催化氧化 THF 的产物复杂，大多不稳定，产物的量随时间不断变化，且部分氧化产物无紫外吸收，分离检测比较困难。因此，建立准确分离和分析产物的分析方法对催化活化 O_2 的研究具有重要作用。

利用 RP-HPLC 法和 GC-MS 法对氨基酸钴配合物催化 THF 氧化的产物进行分离和定性分析。又通过溶剂萃取法、柱层析法对目标产物之一的 GBL 进一步分离和纯化，并用 NMR 验证 GBL 结构，为催化氧化 THF 工艺条件的优化奠定理论基础。

1 实验

1.1 主要仪器与试剂

仪器：SHIMAZU LC-10A 高效液相色谱仪（日本岛津公司）；SHIMAZU GCMS-QP2010 GC-MS 仪（日本岛津公司）；Inova-400 型 NMR 波谱仪（美国 Varian 公司）；ULTRA ANMK2 超纯水仪（美国 ELGA 公司）；离心浓缩仪（上海菲恰尔分析仪器公司）；旋转蒸发仪（上海申生仪器厂）；十万分之一电子分析天平（上海舜宇恒平仪器公司）；微孔滤膜（0.22 μm，美国 Pall 公司）。

试剂：THF 为分析纯（西安试剂公司，精制后在 N_2 保护下－26℃保存）；N,O 双三甲基硅烷三氟乙酰胺（BSTFA）、三甲基硅烷（TMCS）、甲酸、甲醇、丙酮为色谱纯（SIGMA 公司）；2-羟基四氢呋喃（Toronto Research Chemicals 公司）；GBL，1,4-丁二酸（阿拉丁试剂）；异丁酸酐、四氢糠醇（百灵威公司）；4-羟基丁酸（GHB，江苏贝达医药公司）；乙酸乙酯、正己烷为分析纯（天津致远化学试剂公司）；实验用水为超纯水。

1.2 RP-HPLC

1.2.1 色谱条件

Inertsil ODS-3 C_{18} 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；柱温 30℃，进样量 20 μL. 流动相 A 为 0.01%的甲酸水溶液，B 为甲醇，流速 0.80 mL/min，等度洗脱：0～15 min，95%A.

1.2.2 标准溶液的配制

标准储备液：精确量取 45 μL GBL，GHB 和 1,4-丁二酸各准确称取 50 mg，用高纯水溶解定容到 25 mL 容量瓶中，制得 2 g/L 的混合标准储备液，经 0.22 μm 微孔滤膜过滤，4℃冰箱保存待测。

1.2.3 样品前处理

1 mL 精制 THF 溶解反应混合物于 10 mL 离心管中，离心浓缩后取上清液。在 40℃条件下旋转蒸发仪浓缩至近干。高纯水溶解定容到 25 mL 容量瓶中，－26℃冰箱保存待测。

1.3 GC-MS 法

1.3.1 色谱、质谱条件

色谱条件：DB-5 色谱柱；程序升温：初始柱温 60℃保持 1 min，升温速率为 10℃/min，升温至 180℃保持 1 min；进样量 1 μL，He 作载气，柱头压力 50 kPa，分流比 100∶1，进样室温度 290℃，离子源温度 250℃，接口温度 250℃.

质谱条件：电子轰击离子源，70 eV；SCAN 全扫模式，扫描范围，m/z=50～500.

1.3.2 标准溶液的配制与标准品的衍生化

标准溶液：移液枪准确移取 50.00 μL 2-羟基四氢呋喃、GBL、异丁酸酐和四氢糠醇，丙酮溶解定容到 1 mL，得到 50 mL/L 的混合标准储备液。过 0.22 μm 微孔滤膜，－26℃冰箱保存待测 GC-MS.

标准品衍生化[15]：准确称取 GHB 和 1,4-丁二酸各 0.001 0 g，加入 200 μL BSTFA-TMCS，混匀后放入烘箱中，由 30℃升温至 70℃，保持 30 min，然后取出，用丙酮稀释定容到 1.00 mL，得 1.00 g/L 的标准混合液，过 0.22 μm 微孔滤膜，立即进行 GC-MS 测试。

1.3.3 样品前处理

1 mL 丙酮溶解反应混合物，离心浓缩后，将上清液取出。取 20 μL 上清液用丙酮溶解定容到 2 mL，－26℃冰箱保存待测 GC-MS.

样品衍生化：取 20 μL 离心后的上清液，放入样品管中，加入 40 μL BSTFA-TMCS，混匀后放入烘箱，由 30℃升温至 70℃，并保持 30 min，然后取出，用丙酮稀释定容到 2.00 mL，过 0.22 μm 微孔滤膜，－26℃冰箱保存待测 GC-MS.

1.4 溶剂萃取法

2 份相同的反应混合物分别进行离心浓缩、旋蒸，高纯水溶解。用乙醚萃取，有机相旋干后分别用 500 μL 丙酮和甲醇溶解，过 0.22 μm 微孔滤膜，－26℃冰箱保存待测 GC-MS. 水相再用乙醚反萃取，旋干后 500 μL 丙酮溶解。过 0.22 μm 微孔滤膜，－26℃冰箱保存待测 GC-MS.

1.5 柱层析法

称取 35 g 已活化好的中性 Al_2O_3，干法装柱。将离心浓缩、旋干的产物以 $CDCl_3$ 溶解上样，以正己烷和乙酸乙酯为淋洗液进行柱层析，试管收集，每管 20 mL，旋干后 2 mL 高纯水溶解，过 0.22 μm 微孔滤膜，进行 RP-HPLC 测试。

1.6 核磁法

将 1.5 节收集的纯 GBL 进行旋蒸、充分干燥。以 D_2O 作溶剂，TMS 做内标，将溶液移入核磁管中进行 ^1H NMR，^{13}C NMR 测试。

2 结果与讨论

2.1 RP-HPLC 测试

2.1.1 色谱条件的选择

实验中首先考察了 pH 值在 3.00～4.50 之间高纯水-甲醇、乙酸/乙酸铵缓冲盐（0.01 mol/L）-甲醇、磷酸二氢钾/磷酸氢二钠缓冲盐-甲醇、甲酸水溶液-甲醇 4 种体系对目标产物分离的影响。0.01％甲酸水溶液-甲醇（pH＝3.20）体系作流动相时检测产物峰数最多，峰形较好，因此选用其作为 RP-HPLC 测试的流动相。

2.1.2 RP-HPLC 测试结果

图 1 为混标和样品的对比液相色谱图。图 1a 为混合标准品的液相色谱图，1～3 号峰依次为 GHB，GBL 和 1,4-丁二酸。通过保留时间进行对照，图 1b 中的 1～3 号峰分别为 GHB，GBL 和 1,4-丁二酸。其中，从峰大小比例来看，GBL 在产物中比例较大，与文献中 GBL 为常见 THF 氧化主产物相同，但与文献中不同的是，产物中还有少量的 GHB 和 1,4-丁二酸，但在其他研究文献中却鲜见报道[2,4～8]。

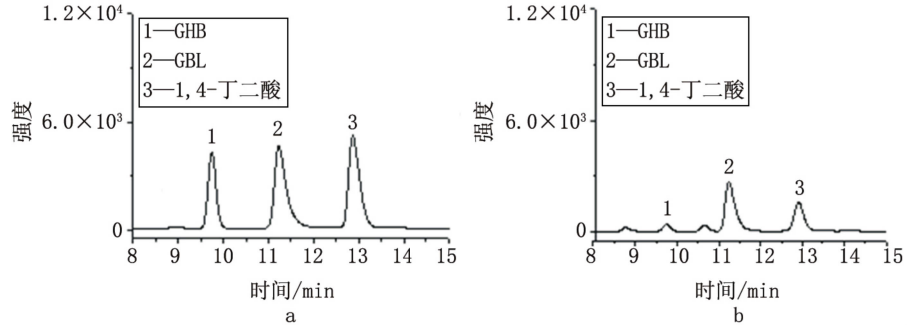


图 1　液相色谱图（λ=220 nm）

Fig. 1　Liquid chromatograms (λ=220 nm)

a—标准品的液相色谱图；b—样品的液相色谱图

a-Liquid chromatograms of standards; b-Liquid chromatograms of sample

2.2　GC-MS

RP-HPLC 检测出产物中的 GHB 和 1,4-丁二酸沸点太高需衍生化，不能直接气化，因此分别对混合标准品和样品进行衍生化处理，得到的气相色谱图如图 2 所示。图 2a 中的 1～6 号峰依次为 2-羟基四氢呋喃、GBL、异丁酸酐、GHB 衍生物、四氢糠醇衍生物和 1,4-丁二酸衍生物。图 2b 中的 1～6 号产物通过一级质谱谱库检索，并用保留时间对照确认产物与图 2a 中的 6 种标准品相同。

通过 GC-MS 检测结果可以看出：产物中的 2-羟基四氢呋喃、异丁酸酐和四氢糠醇 3 种产物在液相上未检测出，说明选用 GC-MS 法定性的产物多、效果好。

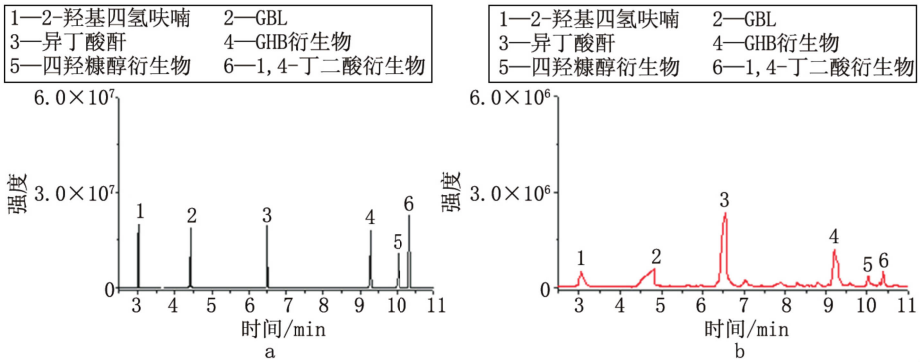


图 2　气相色谱图

Fig. 2　Gas chromatograms

a—混标衍生物的气相色谱图；b—样品衍生物的气相色谱图

a-Gas chromatograms of standard derivants; b-Gas chromatograms of sample derivantsd

2.3　溶剂萃取与柱层析结果

RP-HPLC 和 GC-MS 检测均得到产物 GBL，为进一步验证检测结果，同时将 GBL 进行提纯分离，又用溶剂萃取法和柱层析法处理反应混合物。2 种结果验证了色谱测试结果。溶剂萃取后 GC-MS 测试，图 3 中 1，2 号峰分别为丙酮、甲醇溶解一次萃取物色谱峰，3 号峰为丙酮溶解二次萃取物色谱峰，可以看出，丙酮对 GBL 的溶解度稍大一些，GBL 可被乙醚一次萃取完全。因此，乙醚作萃取剂，丙酮作溶剂萃取效果较好。

柱层析法利用 RP-HPLC 法监测过柱后溶液，图 4 中 1 号峰为 GBL 标准品色谱峰，2～3 号峰为收集溶液的色谱图，结果表明柱层析可收集到纯目标产物 GBL.

2.4　NMR 表征 GBL

将 2.3 节中提取纯化物进行 ^{1}H NMR 和 ^{13}C NMR 的测试，所得数据与 GBL 的标准结构相吻合，

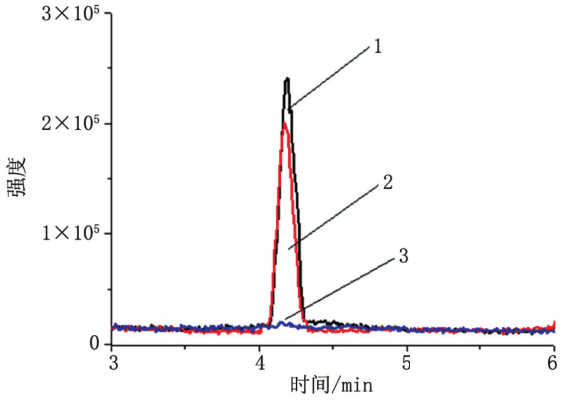


图 3 一次萃取（峰 1，2）和二次萃取（峰 3）的气相色谱图

Fig. 3 Gas chromatograms of extractant (peak 1, 2) and twice extractant (peak 3)

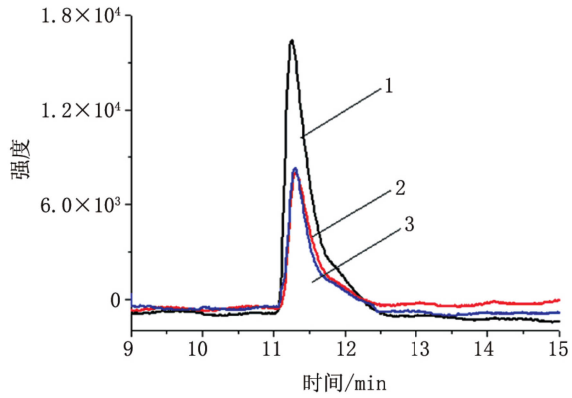


图 4 GBL（峰 1）和过柱得纯产物（峰 2，3）的液相色谱图

Fig. 4 Liquid chromatograms of GBL (peak 1) and pure product (peak 2, 3)

进一步验证了色谱法、溶剂萃取法和柱层析法的结果。表征数据如下：无色油状液体，^{1}H NMR (D_2O，400 MHz)，δ：2.25（q，J=6.6 Hz，2H），2.54（t，J=7.0 Hz，2H），4.41（t，J=6.9 Hz，2H）. ^{13}C NMR（400 MHz，D_2O），δ：183.16（C_1），183.16（C_2），183.16（C_3），183.16（C_4）. 以上数据与文献[9]报道的 GBL 数据一致。

3 结论

通过 RP-HPLC 法和 GC-MS 法，对 L-谷氨酸钴配合物催化 O_2 氧化四氢呋喃的产物进行了初步分离分析，外标保留时间对照法定性出 GBL，GHB，1,4-丁二酸，2-羟基四氢呋喃，异丁酸酐和四氢糠醇 6 种产物。利用溶剂萃取法、柱层析法对主产物 GBL 进行分离提纯，纯化效果较好，NMR 进一步验证了测定结果的可靠性。这为催化氧化 THF 工艺条件的优化提供了方法依据。

[参考文献] (References)

[1] NIEDERHOFFER E C, TIMMONS J H, MARTELL A E. Thermodynamics of oxygen binding in natural and synthetic dioxygen complexes[J]. Chem. Rev., 1984, 84(2): 137-203.

[2] CHANG T M S. Evolution of artificial cells using nanobiotechnology of hemoglobin based RBC blood substitute as an example[J]. Artificial Cells, Blood Substitutes and Biotechnology, 2006, 34(6): 551-566.

[3] WANG T J, MA Z H, HUANG M Y, et al. Selective oxidation of tetrahydrofuran with molecular oxygen catalyzed by polyalumazane-platinum complexes[J]. Polym. Adv. Technol., 1998, 7(2): 88-91.

[4] MOREIRA R F, TSHUVA E Y, LIPPARD S J. Catalytic oxidative ring opening of THF promoted by a carboxylate-bridged diiron complex, triarylphosphines, and dioxygen[J]. Inorg. Chem., 2004, 43(14): 4427-4434.

[5] LUCKAY R C, SHENG X, STRASSER C E, et al. Aerial oxidation of tetrahydrofuran to 2-hydroxotetrahydrofuran in the presence of a trimeric CuI complex[Cu3L3](HL = tBuNHC(S)NHP(S)(OiPr)2) and trapping of the unstableproduct at recrystallization[J]. New J. Chem., 2010, 34(12): 2835-2840.

[6] HAY M T, GEIB S J, PETTNER D A. Aerobic oxidation of tetrahydrofuran by a series of iron (III) containing POSS compounds[J]. Polyhedron, 2009, 28(11): 2183-2186.

[7] TINE M R. Cobalt complexes in aqueous solutions as dioxygen carriers[J]. Coord. Chem. Rev., 2012, 256(1): 316-327.

[8] STRAUB T, KOSKINEN A M. Catalytic oxidation of THF with homo and hetero metallic Mo/Ru complexes and molecular oxygen[J]. Inorg. Chem. Commun., 2002, 5(12): 1052-1055.

[9] SHI M. Catalytic oxidation of tetrahydrofuran in the presence of transition metal complexes under aerobic conditions[J]. Journal of Chemical Research, Synopses, 1998(9): 592-593.

[10] SALAVATI-NIASARI M. Oxidation of tetrahydrofuran with hydrogen peroxide in the presence of host (zeoliteY)/guest (1, 9-dialkyl-1, 3, 7, 9, 11, 15-hexaazacyclohexadecane copper (II) complexes, [Cu (R_2 [16] $aneN_6$)]$^{2+}$) nanocomposite materials[J]. Inorg. Chem. Commun., 2006, 9(6): 628-633.

[11] HENCK C, NALLY L. GC-MS analysis of gamma-hydroxybutyric acid analogs[J]. J. Chem. Educ., 2007, 84(11): 1813.

[12] MERCER J W, OLDFIELD L S, HOFFMAN K N, et al. Comparative analysis of gamma-hydroxybutyrate and gamma-hydroxyvalerate using GC/MS and HPLC[J]. Journal of Forensic Sciences, 2007, 52(2): 383-388.

[13] STAVOVA J, BERANEK J, NELSON E P, et al. Limits of detection for the determination of mono-and dicarboxylic acids using gas and liquid chromatographic methods coupled with mass spectrometry[J]. J. Chromatogr. B Analyt Technol Biomed Life Sci., 2011, 879(17-18): 1429-1438.

[14] LEE Y M, HONG S, MORIMOTO Y, et al. Dioxygen activation by a non-heme iron (II) complex: formation of an iron (IV)-oxo complex via CH activation by a putative iron (III)-superoxo species[J]. Journal of the American Chemical Society, 2010, 132(31): 10668-10670.

[15] SABUCEDO A J, FURTON K G. Extractionless GC/MS analysis of γ-hydroxybutyrate and γ-butyrolactone with trifluoroacetic anhydride and heptafluoro-1-butanol from aqueous samples[J]. J. Sep. Sci., 2004, 27(9): 703-709.