

反相离子对高效液相色谱法分离金属配合物 $\{Fe[3-(2\text{-吡啶基})\text{-}5\text{-}\beta\text{-二苯基}\text{-}1\text{-}2\text{-}4\text{-三嗪}]_3\}^{2+}$ 几何异构体*

朱维晃¹, 吴丰昌², 黄廷林¹

(1. 西安建筑科技大学环境与市政工程学院, 陕西 西安 710055;

2. 中国科学院地球化学研究所 环境地球化学国家重点实验室, 贵州 贵阳 550002)

摘要 采用反相离子对高效液相色谱法分离测定了金属配合物 $\{Fe[3-(2\text{-吡啶基})\text{-}5\text{-}\beta\text{-二苯基}\text{-}1\text{-}2\text{-}4\text{-三嗪}]_3\}^{2+}$ ($[Fe(PDT)_3]^{2+}$)的两种几何异构体,研究了流动相中有机改性剂(乙腈、甲醇)的含量、不同种类和浓度的离子对试剂(高氯酸钠和十二烷基硫酸钠(SDS))对色谱分离的影响。并在不同的试验条件下,对所获得的色谱参数(保留因子(k))、分离度、选择性因子等)进行了探讨。在不同种类及浓度的离子对试剂条件下,二元流动相中乙腈的含量与两种几何异构体的 $\ln k$ 之间均呈显著的线性关系。研究进一步发现 SDS 的浓度变化对异构体的保留因子影响程度更为显著。在上述实验的基础上,引入更能灵活调节洗脱强度和分离度的三元流动相(乙腈/甲醇/水),优化选择了三元流动相中有机改性剂的比例以及离子对试剂的种类和浓度,使得异构体的色谱分离得到了满意的结果。实验结果表明,异构体的峰面积(A)和浓度(C)之间的线性关系良好,面式和经式异构体的检测限分别为 4.28 和 3.44 ng/mL ($S/N=3$)。

关键词 反相离子对高效液相色谱法; $\{Fe[3-(2\text{-吡啶基})\text{-}5\text{-}\beta\text{-二苯基}\text{-}1\text{-}2\text{-}4\text{-三嗪}]_3\}^{2+}$; 金属配合物; 几何异构体
中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-8713(2008)02-0237-05 栏目类别: 研究论文

Separation of geometrical isomers of $\{Fe[3-(2\text{-pyridyl})\text{-}5\text{-}\beta\text{-diphenyl}\text{-}1\text{-}2\text{-}4\text{-triazine}]_3\}^{2+}$ ($[Fe(PDT)_3]^{2+}$) using ion-pair reversed-phase high performance liquid chromatography

ZHU Weihuang¹, WU Fengchang², HUANG Tinglin¹

(1. School of Environment and Municipal Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China; 2. Institute of Geochemistry, the Chinese Academy of Sciences, State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Guiyang 550002, China)

Abstract: A method has been developed for the separation of two geometrical isomers of the $\{Fe[3-(2\text{-pyridyl})\text{-}5\text{-}\beta\text{-diphenyl}\text{-}1\text{-}2\text{-}4\text{-triazine}]_3\}^{2+}$ ($[Fe(PDT)_3]^{2+}$) using ion-pair reversed-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC). The effects of the chromatographic conditions, such as the content of acetonitrile and the type and concentration of the ion-pair reagents (sodium perchlorate ($NaClO_4$) or sodium dodecyl sulfate (SDS)) in the binary mobile phase (acetonitrile and water), on the retention factor (k), resolution, and selectivity were discussed. It was found that no matter how the ion-pair reagent was $NaClO_4$ or SDS at different concentrations, the acetonitrile content in the mobile phase has good linear regression equations with the $\ln k$ of the two isomers. It was also observed that SDS showed more positive effect on the k of the two geometrical isomers than that of $NaClO_4$. Moreover, the separation of the two isomers in the ternary mobile phase (acetonitrile, methanol and water) was developed. The chromatographic conditions, including the content of the organic modifier (acetonitrile), were optimized.

收稿日期 2007-10-08

第一作者: 朱维晃, 博士. E-mail: zhuweihuang@xauat.edu.cn.

通讯联系人: 吴丰昌, 博士生导师, 研究员. E-mail: wufengchang@vip.gyig.ac.cn.

基金项目: 国家杰出青年基金项目(No. 40525011)、陕西省自然科学基金项目(No. 2007E241)和西安建筑科技大学校内人才基金项目(No. RC0613).

* 本文的英文电子版由 Elsevier 出版社在 ScienceDirect 上出版 (<http://www.sciencedirect.com/science/journal/18722059>).

trile and methanol) and the type and concentration of the ion-pair reagents (SDS and NaClO_4), were optimized. Two geometrical isomers were rapidly and successfully separated under the optimized conditions, which used acetonitrile/methanol/water (20:50:30, v/v/v) as the mobile phase and 60 mmol/L NaClO_4 as the ion-pair reagent. Good linear regression equations between the peak areas and concentrations for the two isomers were obtained. The detection limits of the fac-isomer and mer-isomer were 4.28 and 3.44 ng/mL ($S/N=3$), respectively.

Key words: ion-pair reversed-phase high performance liquid chromatography; $\{\text{Fe}[\text{3-(2-pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine}]_3\}^{2+}$; metal complex; geometrical isomer

金属配合物及其异构体的色谱分离已有大量的研究报道^[1-7], $\text{Fe}(\text{II})$ 与 3-(2-吡啶基)-5,6-二苯基-1,2,4-三嗪(PDT)生成的配合物存在两种几何异构体^[8], 但目前国内外还未见用高效液相色谱法(HPLC)来直接分离测定这两种几何异构体的报道。鉴于此, 本文选用了二元及三元流动相体系, 考察了流动相中改性剂种类(甲醇、乙腈)及含量、离子对试剂种类(高氯酸根和十二烷基硫酸钠(SDS))及其浓度等对配合物 $\{\text{Fe}[\text{3-(2-吡啶基)-5,6-二苯基-1,2,4-三嗪}]_3\}^{2+}$ ($[\text{Fe}(\text{PDT})_3]^{2+}$) 两种几何异构体色谱分离的影响, 优化筛选出合适的三元流动相体系, 成功地分离了配合物 $[\text{Fe}$

$(\text{PDT})_3]^{2+}$ 的两种几何异构体。

PDT 是一种二齿配体, 通过嘧啶环上的 N 原子和噻吩环上的一个 N 原子与金属离子配合。Schilt 等^[9]首次报道了在 pH 为 2~9 时, PDT 和 $\text{Fe}(\text{II})$ 能够生成稳定的带两个单位正电荷的 $[\text{Fe}(\text{PDT})_3]^{2+}$ 阳离子配合物。Hage 等^[8]用核磁共振技术研究了配合物 $[\text{Fe}(\text{PDT})_3]^{2+}$ 的空间结构, 结果表明 $[\text{Fe}(\text{PDT})_3]^{2+}$ 为不对称二齿的八面体配合物, 由于 PDT 参与络合反应的氮原子的不对称性, 核磁共振测定结果显示 $[\text{Fe}(\text{PDT})_3]^{2+}$ 配合物存在面式(facial)和经式(meridional)两种几何异构体(见图 1)。

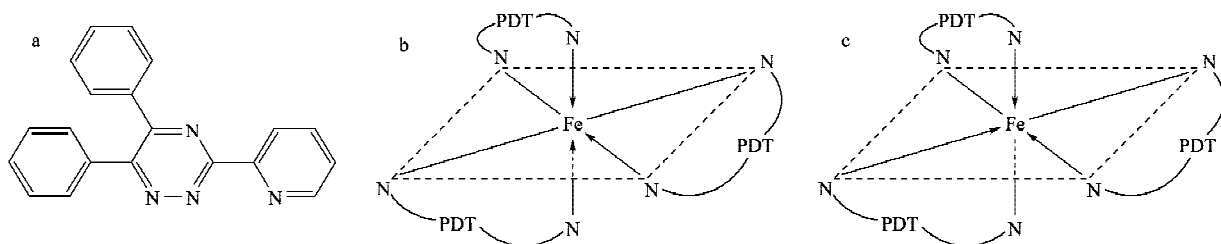


图 1 (a) PDT 的化学结构以及 $[\text{Fe}(\text{PDT})_3]^{2+}$ 的 (b) 面式 (fac-isomer) 和 (c) 经式 (mer-isomer) 两种几何异构体的几何构型

Fig. 1 Chemical structures of (a) PDT, the (b) fac-isomer and (c) mer-isomer of $[\text{Fe}(\text{PDT})_3]^{2+}$ complex

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

HP1100 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司), 可变波长紫外检测器(G1365B), Agilent Chemstation 化学工作站软件(G2170AA)等。色谱纯乙腈、甲醇(美国 Tedia 公司), 十二烷基硫酸钠(SDS, 德国 ABCR 公司), PDT(美国 Sigma-Aldrich 公司), 高氯酸钠由氢氧化钠和高氯酸配制而成。

1.2 $[\text{Fe}(\text{PDT})_3]^{2+}$ 配合物的制备

称取 $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.039 2 g 溶于 100 mL 容量瓶中, 取 1 mL 溶液加入另一只 100 mL 容量瓶中, 再加入浓度为 1 mmol/L 的 PDT(乙醇体系) 4 mL, 稍振荡, 再加入 0.2 mol/L 醋酸-醋酸钠缓冲溶液(pH 4.65) 10 mL, 然后定容至 100 mL。

配制的 $[\text{Fe}(\text{PDT})_3]^{2+}$ 配合物溶液的吸光度在 2 周内均保持稳定。

1.3 色谱条件

色谱柱: Eclipse XDB-C8(4.6 mm × 150 mm)(美国 Agilent 公司)。流动相为乙腈/甲醇/水(体积比为 20:50:30), 其中水相为 20 mmol/L 醋酸钠-醋酸缓冲溶液(pH 4.65), 离子对试剂为 60 mmol/L 高氯酸钠; 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 295 nm $[\text{Fe}(\text{PDT})_3]^{2+}$ 配合物的一次进样量为 20 μL 。色谱柱死时间以不保留的溶剂进样测定。

2 结果与讨论

2.1 流动相条件的选择

首先在二元流动相(乙腈/水)体系展开对配合物异构体的色谱分离实验研究, 离子对试剂选用

SDS 和高氯酸钠。在此研究基础上,引入了更能灵活调节流动相组成及洗脱强度的三元流动相(乙腈/甲醇/水),进一步优化了配合物 $[Fe(PDT)_3]^{2+}$ 两种几何异构体的色谱最佳分离条件。

2.1.1 二元流动相中乙腈含量对色谱分离的影响

当流动相中乙腈的含量(水相为含有相应离子对试剂的醋酸钠缓冲溶液)变化时,配合物 $[Fe(PDT)_3]^{2+}$ 的两种几何异构体的保留因子对数值($\ln k$)以及两种异构体之间的分离度也发生相应的变化。

实验结果表明,当流动相中的离子对试剂为 60 mmol/L 的高氯酸钠时,两种异构体的 $\ln k$ 与流动相中乙腈含量(φ)之间的线性关系分别为: $\ln k = -0.1347\varphi + 10.418$ ($r^2 = 0.9964$, $n = 12$, 面式异构体), $\ln k = -0.1301\varphi + 10.17$ ($r^2 = 0.9934$, $n = 12$, 经式异构体);当流动相中的离子对试剂为 2 mmol/L SDS 时, $\ln k$ 与流动相中乙腈含量的线性关系为: $\ln k = -0.1508\varphi + 11.403$ ($r^2 = 0.9824$, $n = 9$, 面式异构体), $\ln k = -0.1409\varphi + 10.906$ ($r^2 = 0.9787$, $n = 9$, 经式异构体)。说明在不同的离子对试剂条件下,随着二元流动相中乙腈含量的增加,配合物 $[Fe(PDT)_3]^{2+}$ 的两种几何异构体的 $\ln k$ 均呈线性减小趋势,表现出明显的反相色谱特征,符合在二元溶剂(如乙腈/水)反相色谱中溶质的保留随洗脱剂浓度变化的规律^[10]。

二元流动相中乙腈含量对两种几何异构体分离度(R_s)的影响见图 2。当流动相中的离子对试剂为高氯酸钠时,乙腈含量在 57%~60% 范围内时,两种几何异构体之间的 R_s 近似为零,不能得到有效分离,在色谱图上只出现重叠的单峰。当流动相中的乙腈含量大于 60% 时,随着流动相中乙腈含量的增加,分离度 R_s 也逐渐增加,即两种几何异构体的分

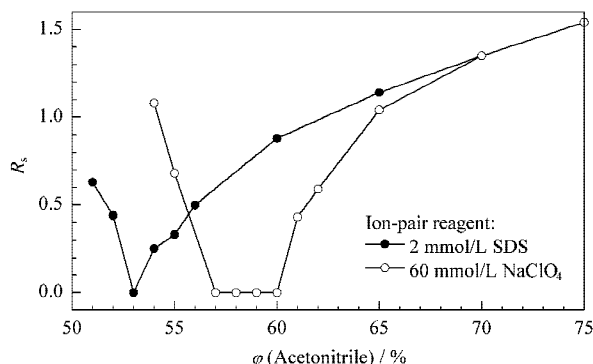


图 2 二元流动相中乙腈含量对 $[Fe(PDT)_3]^{2+}$ 两种几何异构体分离度(R_s)的影响

Fig. 2 Effect of acetonitrile content in the binary mobile phase on the resolution (R_s) between two isomers of $[Fe(PDT)_3]^{2+}$

离效果越明显;当流动相中乙腈含量小于 57% 时,随流动相中乙腈含量的增加, R_s 呈现出与上述相反的趋势。当流动相中的离子对试剂为 SDS 时, R_s 随流动相中乙腈含量的变化曲线也出现拐点。在乙腈含量为 53% 时,分离度 R_s 近似为零;乙腈含量在其他范围内变化时,分离度的变化趋势均与离子对试剂为高氯酸钠时相似。当流动相中的乙腈为 75% 时, R_s 接近 1.5(完全分离时 R_s 的理论值),但是由于 SDS 的浓度(2 mmol/L)较低,带正电荷的异构体的拖尾现象得不到有效抑制。

2.1.2 二元流动相中离子对试剂浓度变化对色谱分离的影响

在讨论二元流动相(乙腈/水)中离子对试剂浓度变化对色谱分离的影响时,考虑到色谱分离过程中所需适宜的分离度和保留因子,选用的流动相中乙腈含量为 70%。流动相中离子对试剂高氯酸钠和 SDS 浓度变化对 PDT 及 $[Fe(PDT)_3]^{2+}$ 两种几何异构体保留因子的影响见图 3。

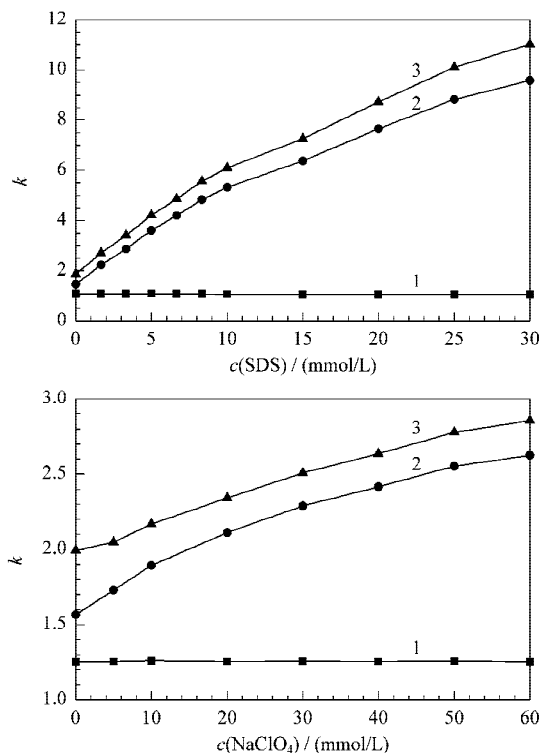


图 3 流动相中离子对试剂浓度对 PDT 及 $[Fe(PDT)_3]^{2+}$ 两种几何异构体保留因子的影响

Fig. 3 Effect of the concentration of ion-pair reagent in the binary mobile phase on the k of PDT and two isomers of $[Fe(PDT)_3]^{2+}$

1. PDT; 2. fac-isomer; 3. mer-isomer.

由于 $[Fe(PDT)_3]^{2+}$ 的两种几何异构体均带有两单位正电荷,与带负电荷的高氯酸根和 SDS 形成极性较弱的离子对缔合物,因此,随着流动相中离子对试剂 SDS 和高氯酸根浓度的升高,这两种几何异

构体在反相色谱柱上的保留得到增加,故 k 值也随之增加。当采用 SDS 作为离子对试剂时,对异构体保留因子的影响较为显著,面式和经式两种异构体的 k 值分别由 1.45 和 1.86 (SDS 为 0 mmol/L 时) 增加至 9.59 和 11.03 (SDS 为 30 mmol/L 时),即分别增加了 5.61 倍和 4.92 倍;而以高氯酸根作为离子对试剂时,在相同的浓度范围内(0 ~ 30 mmol/L)变化时,面式和经式两种异构体的 k 值只分别增加了 1.28 倍和 1.51 倍,可见 SDS 作为离子对试剂能显著改变两种异构体的 k 值。

而电中性的 PDT 由于难于形成保留增加的离子对化合物,故其 k 值几乎不受离子对试剂浓度变化的影响,保持在 1.26 (离子对试剂为高氯酸根时) 和 1.05 (离子对试剂为 SDS 时) 左右。

流动相中两种离子对试剂浓度变化对 $[\text{Fe}(\text{PDT})_3]^{2+}$ 两种几何异构体的 R_s 和选择性因子 α 的影响见图 4。随着离子对试剂浓度的增加,异构体之间的分离度均逐渐增大,而选择性因子则逐渐减小。但是随着不同的离子对试剂浓度的增加,异构体之间的分离度增加的程度也不同,从图 4 可以看出:当高氯酸钠浓度由 0 增加到 30 mmol/L 时,分离度由 1.02 变化为 1.35,增加了 32%,而 SDS 在相同的浓度变化范围内,分离度由 1.1 变化为 3.36,增加了约 200%。由此可见,SDS 对分离度的影响更为明显。

2.1.3 三元流动相中甲醇和乙腈含量比对色谱分离的影响

在二元流动相(乙腈/水)研究的基础上,进一步讨论了三元流动相(乙腈/甲醇/水)体系下 $[\text{Fe}(\text{PDT})_3]^{2+}$ 两种几何异构体的色谱分离情况。

在保持三元流动相中乙腈和甲醇总量为 70% 以及离子对试剂高氯酸根浓度为 60 mmol/L 的条件下,三元流动相中乙腈和甲醇的含量变化对异构体保留因子的影响见图 5。由于甲醇的洗脱能力比乙腈弱,随着流动相中甲醇含量的增加,则异构体的保留时间会延长,保留因子也随之增加;当乙腈与甲醇的体积比小于 30/40 时,两种异构体的保留因子均出现减小的异常趋势。

保留因子产生异常趋势的原因主要是:随着甲醇含量的增加,上述三元流动相体系的密度出现不规则的变化,从而导致溶质保留产生相应的不规则变化^[11,12]: 1) 由于甲醇和水易生成氢键而缔合在一起,故当甲醇含量增加时,三元流动相体系中水与甲醇生成氢键的机会上升,从而呈游离态洗脱能力弱的水含量减少,使得因甲醇含量的增加而对流动相洗脱能力减弱的效应削弱,总体上使得溶质的保留

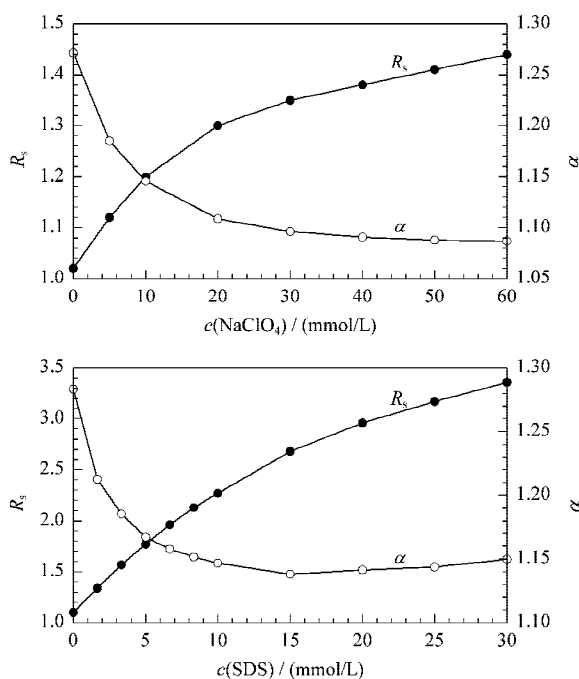


图 4 流动相中离子对试剂浓度变化对 $[\text{Fe}(\text{PDT})_3]^{2+}$ 两种几何异构体的 R_s 和 α 的影响

Fig. 4 Effect of the concentration of ion-pair reagent in the binary mobile phase on the R_s and α between two isomers of $[\text{Fe}(\text{PDT})_3]^{2+}$

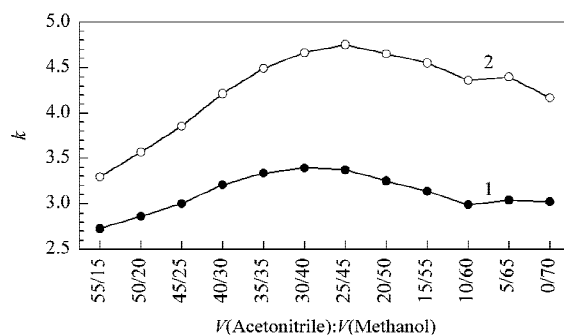


图 5 三元流动相中乙腈和甲醇的体积比对 $[\text{Fe}(\text{PDT})_3]^{2+}$ 两种几何异构体保留因子的影响

Fig. 5 Effect of acetonitrile/methanol (v/v) in the ternary mobile phase on the k of the two isomers of $[\text{Fe}(\text{PDT})_3]^{2+}$

The composition of the mobile phase: V (methanol + acetonitrile): V (water) = 70:30.

1. fac-isomer; 2. mer-isomer.

时间减小; 2) 由于甲醇是一种强的质子供体和受体,更易于与固定相形成氢键,当其含量增加时,甲醇与固定相之间的作用力得到加强,从而相应减弱了溶质与固定相之间的作用力,溶质的保留时间和保留因子也随之减小。当流动相中乙腈和甲醇含量比例为 20:50 和 25:45 时,两种异构体之间的分离度达到最大值(5.62) (见图 6)。

2.1.4 最佳流动相组成的选择

Palmar 等^[13]认为异构体在色谱柱上的洗脱顺序主要取决于异构体的偶极相互作用,面式异构体

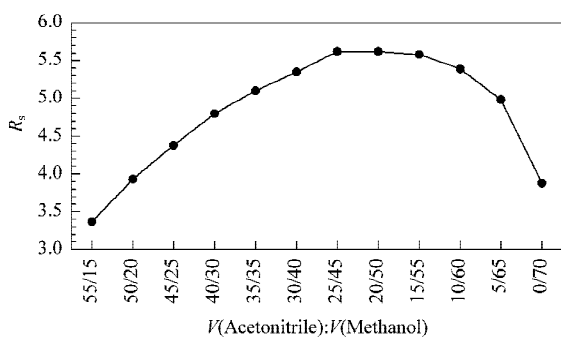


图 6 三元流动相中乙腈和甲醇的体积比对 $[\text{Fe}(\text{PDT})_3]^{2+}$ 两种几何异构体 R_s 的影响

Fig. 6 Effect of acetonitrile/methanol (v/v) in the ternary mobile phase on the R_s between two isomers of $[\text{Fe}(\text{PDT})_3]^{2+}$

的偶极相互作用比经式异构体要强。极性越大,分子之间的相互作用力越大。在反相色谱中,固定相的极性小于流动相,所以面式异构体与流动相的偶极相互作用相对较大,面式异构体优先被洗脱下来^[14]。

在确定了流动相组成为乙腈/甲醇/水(体积比为 20:50:30)后,考察了离子对试剂种类对两种异构体的分离效果,结果表明,当离子对试剂为 1.67 mmol/L SDS 时,面式和经式两种异构体的保留因子分别为 11 和 15.6,分离时间较长,且带正电荷的异构体的拖尾现象较为明显。实验中同时考察了将高氯酸钠作为离子对试剂对色谱分离的影响,结果表明,当高氯酸钠在 0~100 mmol/L 范围内变化时,高氯酸根浓度越高,对两种异构体的色谱峰形改善以及谱峰拖尾现象的抑制程度越明显;当高氯酸根浓度不低于 50 mmol/L 时,两种异构体的拖尾现象均得到有效控制。考虑到过高浓度的高氯酸盐对色谱系统有一定的损害作用,故在实验中选择离子对试剂高氯酸根的浓度为 60 mmol/L。在此色谱条件下,面式和经式两种异构体的保留因子仅为 3.25 和 4.65,8 min 内即可完成色谱分离过程(见图 7),且两种异构体的峰形得到改善,谱峰拖尾现象受到抑制,同时两种异构体之间得到更充分的分离(分离度 $R_s = 5.62$)。

2.2 线性关系考察及检测限

在最佳三元流动相组成条件下,对一系列不同浓度的 $[\text{Fe}(\text{PDT})_3]^{2+}$ 异构体进行了分离,以峰面积(A)对其浓度(C , mol/L)进行线性回归,结果表明在 $4 \sim 25 \times 10^{-7}$ mol/L 范围内线性关系良好,线性方程分别为:经式异构体 $A = 3.6333C - 2.3378$ ($r^2 = 0.9957$, $n = 7$),面式异构体 $A = 1.8219C - 1.0783$ ($r^2 = 0.9964$, $n = 7$)。面式和经式异构体的检测限分别为 4.28 和 3.44 ng/mL ($S/N = 3$)。

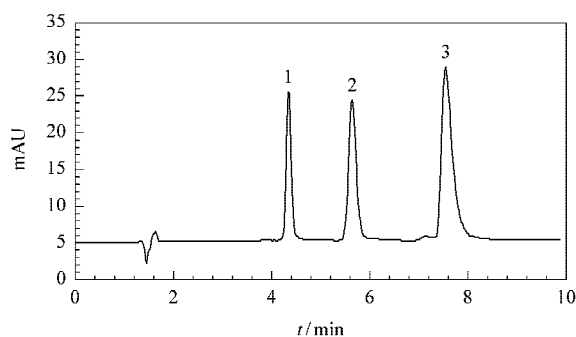


图 7 最佳色谱条件下 PDT 和配合物 $[\text{Fe}(\text{PDT})_3]^{2+}$ 两种几何异构体的分离色谱图

Fig. 7 Chromatogram of PDT and the two isomers of $[\text{Fe}(\text{PDT})_3]^{2+}$ in different chromatographic conditions

Conditions : detection wavelength , 295 nm ; 5- μm particle size Eclipse XDB-C8 (4.6 mm \times 150 mm) ; Mobile phase : acetonitrile/methanol/water (20 : 50 : 30 , v/v/v) , 60 mmol/L NaClO_4 , 20 mmol/L acetate buffer ; flow rate : 1.00 mL/min.

1. PDT ; 2. fac-isomer ; 3. mer-isomer.

3 结论

本文采用反相离子对高效液相色谱法对 $[\text{Fe}(\text{PDT})_3]^{2+}$ 的两种几何异构体进行了分离,所用的色谱固定相为普通的反相键合 C8 柱,但由于优化选择了色谱条件,使用了更能灵活的调节洗脱强度的三元流动相(乙腈/甲醇/水,体积比为 20:50:30,离子对试剂高氯酸钠浓度为 60 mmol/L),使得 PDT 及 $[\text{Fe}(\text{PDT})_3]^{2+}$ 的两种几何异构体直接在 C8 柱上得到了满意的色谱基线分离。

参考文献:

- [1] Tesic Z L, Sabo T J, Trifunovic S R, et al. J Chromatogr A, 1999, 847 : 297
- [2] Li D R, Hu C W. Chinese Journal of Analysis Laboratory (李道荣,胡长文.分析试验室), 2004, 23(3) : 68
- [3] Liu Y, He J, Liu Z D, et al. Chinese Journal of Chromatography (刘洋,何键,刘祝东,等.色谱), 2002, 20(4) : 345
- [4] Wang Y C, Liu Q P, Liu J C, et al. Chinese Journal of Chromatography (王园朝,刘绮萍,刘锦春,等.色谱), 1993, 11(6) : 327
- [5] Aldrich-Wright J R, Greguric I, Vagg R S, et al. J Chromatogr A, 1995, 718 : 436
- [6] Fletcher N C, Nieuwenhuyzen M, Rainey S. J Chem Soc, Dalton Trans, 2001 : 2641
- [7] Pellegrini P P, Aldrich-Wright J R. Dalton Trans, 2003 : 176
- [8] Hage R, Haasnoot J G, Reedijk J. Inorg Chim Acta, 1990, 172(1) : 19
- [9] Schilt A A, Taylor P J. Anal Chem, 1970, 42(2) : 220
- [10] Lu P Z, Dai C Z, Zhang X M. The basis of the chromatographic theory. Beijing : Science Press (卢佩章,戴朝政,张祥民.色谱理论基础.北京:科学出版社), 1997
- [11] Katz E D, Lochmuller C H, Scott R P W. Anal Chem, 1989, 61 : 349
- [12] Poole C F, Kiridena W, DeKay C, et al. J Chromatogr A, 2006, 1115(1/2) : 133
- [13] Palmar R A, Fay R C, Piper T S. Inorg Chem, 1964, 3 : 875
- [14] Akama Y, Iwadate T, Tong A, et al. J Chromatogr A, 1997, 789 : 479