

氨基苯磺酸和氨基萘磺酸在反相离子对 色谱和离子色谱中分离行为的比较*

邹汉法 张玉奎 洪名放 卢佩章

(中国科学院大连化学物理研究所 国家色谱研究分析中心 大连 116012)

提要 本文考察了氨基苯磺酸和氨基萘磺酸染料中间体在反相离子对色谱和离子色谱中的分离行为,结果表明一些异构体在反相色谱中的保留顺序与离子色谱中的顺序发生颠倒。静电作用力在离子色谱中对保留值的贡献比在反相离子对色谱中对保留值的贡献要大,而疏水作用力在反相离子对色谱中对保留值的贡献却较在离子色谱中对保留值的贡献要大。离子对色谱更有利于有机离子的分离分析。

关键词 反相高效液相色谱,离子对分离,离子色谱,氨基苯磺酸,氨基萘磺酸

1 前言

反相离子对色谱兼有反相色谱和离子色谱的共同优点,在药物分析、生化样品分析、染料及其中间体分析和无机离子分析等方面获得日益广泛的应用^[1~6]。为了指导离子对色谱分离分析方法的发展,已有许多研究离子对色谱保留机理的文献报道^[7~11];但在离子对色谱和离子色谱这两种分离模式间存在的差别尚缺乏深入的研究。本文以染料中间体氨基苯磺酸和氨基萘磺酸为样品,考察了离子对色谱和离子色谱在有机离子分离上的性能差别,这对离子对色谱保留机理的理解和有机离子分离模式的选择有很大的意义。

2 实验部分

被分离的样品氨基苯磺酸和氨基萘磺酸由大连理工大学精细化工教研室合成。所用化学试剂四丁基碘化铵(TBAI),NaH₂PO₄,NaOH,HCl,KCl和甲醇等都为分析纯,所用水为二次蒸馏水。

实验所用仪器为 Waters-510泵,Waters-490程序可变波长紫外光检测器,SA-720 pH 测试仪。色谱柱为 200mm × 4.6mm i. d. 填充 Spherisorb-C₁₈(5μm)反相色谱柱和 250mm × 4.6mm i. d. 填充 Spherisorb-SAX(5μm)阴离子交换柱。样品检测波长 254nm,流动相流量都为 1.0mL/min。

3 结果与讨论

3.1 无机盐浓度的影响

氨基苯磺酸和氨基萘磺酸在离子色谱和离子对

色谱于不同无机盐 KCl 浓度下的容量因子 *k'* 列于表1和表2中。图1是离子色谱分离氨基苯磺酸和萘磺酸标样的色谱图。分析表1和表2的数据可以看到:一价负电荷溶质在离子对色谱中的保留值有较大的差别,而在离子色谱中的保留值却很相近。同时对于一些异构体如2-氨基-4,8-萘二磺酸和2-氨基-3,6-萘二磺酸,它们在离子对色谱中的出峰顺序与在离子色谱中的出峰顺序相反。这些异构体的差别主要是有些能形成分子内氢键,有些不能形成分子内氢键。分子内氢键的形成将增加溶质的疏水性,同时减少溶质的表观电荷数。由以上的溶质保留值变化可以推断离子色谱中静电作用力对溶质的保留比离子对色谱中的贡献要大,而疏水作用力对离子对色谱中溶质保留的贡献较离子色谱中的贡献要大,离子对色谱更有利于有机离子的分离分析。

表1 14种氨基苯磺酸和萘磺酸在反相离子对色谱中的 *k'* 值(流动相为甲醇-水(25:75)内含 KH₂PO₄10mmol/L,TBAI 4mmol/L 和 pH 6.80)

溶质	KCl(mol/L)			
	0.05	0.10	0.20	0.40
1-氨基-4-苯磺酸	0.45	0.34	0.24	0.14
1-氨基-3-苯磺酸	0.97	0.68	0.51	0.34
1-氨基-2-苯磺酸	2.09	1.76	1.32	1.04
1-氨基-4-甲基-3-苯磺酸	3.40	2.78	1.89	1.48
1-氨基-4-甲基-2-苯磺酸	3.65	2.98	2.26	1.63
1-氨基-4-氨基-3-苯磺酸	2.10	1.64	1.20	0.96
1-氨基-5-萘磺酸	2.89	2.47	1.98	1.65
2-氨基-5-萘磺酸	7.77	5.97	5.03	4.32
1-氨基-2,5-萘二磺酸	1.28	0.64	0.24	0.11
1,3-二氨基-4,6-萘二磺酸	1.75	0.96	0.39	0.16
2-氨基-4,8-萘二磺酸	4.90	3.02	1.46	0.93
2-氨基-3,6-萘二磺酸	6.48	3.66	1.89	1.21
2-氨基-4,6,8-萘三磺酸	8.11	3.64	0.91	0.39
2-氨基-3,6,8-萘三磺酸	9.18	4.22	1.25	0.54

* 国家自然科学基金青年基金资助项目
本文收稿日期:1993年10月26日,修回日期:1993年12月17日

表2 13种氨基苯磺酸和萘磺酸在离子色谱中的 k' 值(流动相为甲醇-水(45:55)内含 KH_2PO_4 10mmol/L 和 pH 6.80)

溶质	KCl(mol/L)			
	0.05	0.10	0.20	0.40
1-氨基-4-苯磺酸	0.86	0.65	0.31	0.21
1-氨基-3-苯磺酸	0.77	0.59	0.30	0.20
1-氨基-2-苯磺酸	0.76	0.55	0.29	0.21
1-氨基-4-甲基-3-苯磺酸	0.80	0.58	0.29	0.21
1-氨基-4-甲氧基-2-苯磺酸	0.70	0.50	0.30	0.18
1-氨基-4-硝基-3-苯磺酸	0.61	0.43	0.25	0.14
2-氨基-5-萘磺酸	0.98	0.71	0.42	0.27
1-氨基-2,5-苯二磺酸	3.72	2.01	0.72	0.35
1,3-二氨基-4,6-苯二磺酸	3.25	1.90	0.61	0.27
2-氨基-4,8-萘二磺酸	5.37	2.72	0.90	0.47
2-氨基-3,6-萘二磺酸	4.62	2.50	0.90	0.47
2-氨基-4,6,8-萘三磺酸	27.31	9.17	1.87	0.62
2-氨基-3,6,8-萘三磺酸	17.82	6.31	1.41	0.49

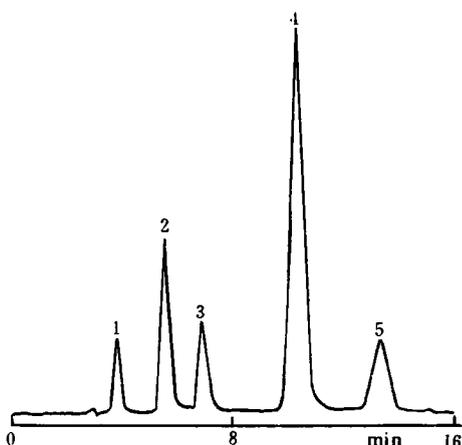


图1 离子色谱分离5种磺酸标样的谱图

流动相: 甲醇-水(45:55)内含 KCl 0.14 mol/L, KH_2PO_4 10mmol/L 和 pH 6.80, 其它条件见实验部分。

色谱峰: 1. 1-氨基-4-苯磺酸, 2. 1,3-二氨基-4,6-苯二磺酸, 3. 2-氨基-3,6-萘二磺酸, 4. 2-氨基-3,6,8-萘三磺酸, 5. 2-氨基-4,6,8-萘三磺酸。

在离子色谱和离子对色谱中, 无机盐浓度 C_s 对保留值的影响可由下式表达⁽¹²⁻¹⁴⁾:

$$\ln k' = A - B \ln C_s \quad (1)$$

式中 A 和 B 是常数。把表1和表2中的数据按(1)式作线性回归, 所得结果列于表3中。从所得的相关系数可以看到: (1)式能较好地描述无机盐浓度对溶质在离子色谱和离子对色谱中保留值的影响。在离子色谱和离子对色谱中参数 B 值随溶质的电荷数增加而增加, 且对同一溶质在离子色谱中的参数 B 值远远大于在离子对色谱中的 B 值, 这表明在离子色谱中无机盐浓度对保留值的影响较在离子对色谱中的影响要大得多。

3.2 有机溶剂浓度的影响

图2和图3给出的是流动相中甲醇浓度 (C_b) 对

溶质在离子对色谱和离子色谱中保留值的影响。比较图2和图3的结果可以看到: (1)随着甲醇浓度的升高, 溶质在反相离子对色谱中的保留值迅速下降, 但一价负电荷溶质在离子色谱中的保留值变化很小, 而二、三价负电荷溶质的保留值稍有增加。(2)在离子色谱中的疏水作用较弱而静电作用很强, 流动相中的水分子对离子色谱固定相的吸附作用比甲醇要强。因此, 随着流动相中水浓度的增大, 溶质与离子色谱固定相的作用有所降低, 也即随流动相中有机溶剂浓度的增大, 离子性有机化合物在离子色谱中的保留值有所增加。

表3 表1和表2中的数据按(1)式回归得到的结果

溶质	反相离子对色谱			离子色谱		
	A	B	γ	A	B	γ
1-氨基-4-苯磺酸	-2.19	0.479	0.987	-2.23	0.717	0.986
1-氨基-3-苯磺酸	-1.36	0.441	0.993	-2.30	0.681	0.988
1-氨基-2-苯磺酸	-0.157	0.305	0.998	-2.24	0.671	0.992
1-氨基-4-甲基-3-苯磺酸	0.137	0.369	0.998	-2.22	0.689	0.988
1-氨基-4-甲氧基-2-苯磺酸	0.289	0.344	0.994	-2.29	0.662	0.997
1-氨基-4-氯-3-苯磺酸	-0.281	0.339	1.000	—	—	—
1-氨基-4-硝基-3-苯磺酸	—	—	—	-2.57	0.715	0.994
1-氨基-5-萘磺酸	0.339	0.243	1.000	—	—	—
2-氨基-5-萘磺酸	1.28	0.246	0.987	-1.87	0.634	0.996
1-氨基-2,5-苯二磺酸	-2.94	1.07	1.000	-2.13	1.17	0.996
1,3-二氨基-4,6-苯二磺酸	-2.44	1.02	0.997	-2.42	1.24	0.992
2-氨基-4,8-萘二磺酸	-0.596	0.730	0.999	-2.10	1.28	0.996
2-氨基-3,6-萘二磺酸	-0.344	0.728	0.999	-1.83	1.14	0.995
2-氨基-4,6,8-萘三磺酸	-1.90	1.35	0.999	-2.24	1.87	0.997
2-氨基-3,6,8-萘三磺酸	-1.48	1.24	1.000	-2.38	1.77	0.997

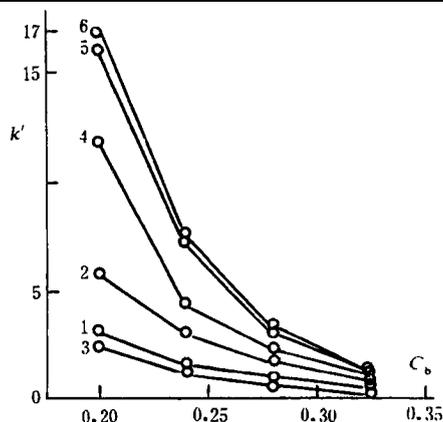


图2 反相离子对色谱中甲醇浓度对保留值的影响

流动相:不同配比的甲醇-水,含 TBAI 4 mmol/L, KH_2PO_4 10mmol/L 和 pH 7.15.其它条件见实验部分。

色谱峰:1.1-氨基-2-苯磺酸,2.2-氨基-5-萘磺酸,3.1-氨基-2,5-苯二磺酸,4.2-氨基-4,8-萘二磺酸,5.2-氨基-4,6,8-萘三磺酸,6.2-氨基-3,6,8-萘三磺酸。

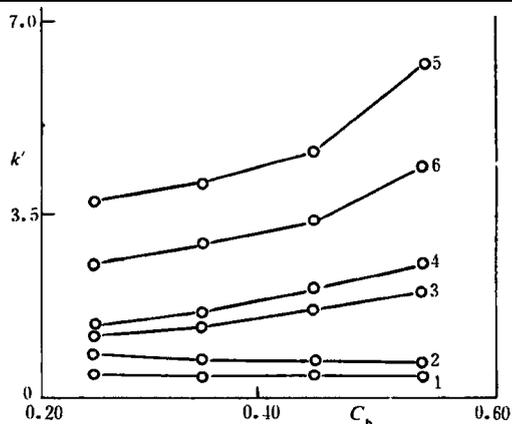


图3 离子色谱中甲醇浓度对保留值的影响

流动相:不同配比甲醇-水,含 KCl 0.14mol/L, KH_2PO_4 10mmol/L, pH 6.80.其它条件见实验部分。

参考文献

- 1 Bidlingmeyer B A. J Chromatogr Sci, 1980;18:525
- 2 Tilly-Melin A, Askemark Y, Schill G. Anal Chem, 1979;51:976
- 3 邹汉法,张玉奎,卢佩章著.高效液相离子对色谱法.郑州:河南科技出版社,1994
- 4 程介克,张新祥.分析化学,1990;18:87
- 5 Huang C T, Taylor R B. J Chromatogr, 1980;202:233
- 6 Kissinger P T. Anal Chem, 1977;49:883
- 7 Knox J H, Hartwick R A. J Chromatogr, 1981;204:3
- 8 Afrashtehfer S, Cantwell F F. Anal Chem, 1982;54:2422
- 9 Horvath Cs, Welander R W. In: Hearn M T W. eds.

Ion-pair chromatography—ptheory and biological and pharmaceutical application. New York: Marcel Dekker, 1985

- 10 Stahlberg J. J Chromatogr, 1986;356:231
- 11 Bartha A, Vigh Gy, Stahlberg J. J Chromatogr, 1990;506:85
- 12 Lu P C, Zou H F, Zhang Y K. Mikrochimica Acta, 1990;III:35
- 13 Zhang Y K, Zou H F, Hong M F, Lu P C. Chromatographia, 1991;32:538
- 14 Zou H F, Zhang Y K, Hong M F *et al.* J Liq Chromatogr, in press

Comparison of Retention Behaviors of Phenylamine and Naphthylamine Sulphonic Acids in Reversed-Phase Ion-pair Liquid Chromatography (RP-IPC) with in Ion Exchange Chromatography (IEC)

Zou Hanfa, Zhang Yukui, Hong Mingfang and Lu Peichang

(National Chromatographic R. & A. Center, Dalian Institute of Chemical Physics, The Chinese Academy of Sciences, Dalian, 116012)

The capacity factors of phenylamine and naphthylamine sulphonic acids in RP-IPC and IEC were measured. It has been observed that the retention order of some phenylamine and naphthylamine sulphonic acids in RP-IPC is altered in IEC. The electrostatic interaction plays a more important role in the retention of sulphonic acids in IEC than one does in RP-IPC and there is a stronger effect of salt concentration on the retention in IEC than that in RP-IPC. However, the hydrophobic interaction plays a more important role in retention of sulphonic acids in RP-IPC than it does in IEC. From our experimental findings, the RP-IPC is more suitable for the separation of phenylamine and naphthylamine sulphonic acids.

Key words reversed-phase high performance liquid chromatography, ion-pair separation, ion chromatography, phenylamine sulphonic acid, naphthylamine sulphonic acid