

酚类化合物在反相高效液相色谱中保留行为的理论分析*

宋远志^{a,b**}, 张维光^{a,b}, 尹起范^{a,b}, 石德清^c, 陆光汉^c

(a. 淮阴师范学院化学系, 淮安 223300; b. 江苏省低维功能材料重点建设实验室, 淮安 223300;
c. 华中师范大学化学系, 武汉 430070)

摘要: 采用从头算方法和密度泛函理论在 6-31G(d) 水平优化了对苯二酚、苯酚、邻苯二酚、间苯二酚、对硝基酚、苦味酸、邻氨基酚的分子结构. 在气相条件下计算了分子的半径及分子的体积, 并在气相、水和甲醇介质中计算了分子的偶极矩、分子中原子的 Mulliken 电荷、分子的前线轨道. 在高效液相色谱中用水和甲醇 (30:70) 作流动相在反相 C18 柱上分离了这七种酚类化合物. 用保留时间与分子的半径或分子的体积、分子的偶极矩、分子中总的 Mulliken 负电荷、分子的最低空轨道能量作多元回归分析, 相关系数大于 0.9957. 结果表明溶质在反相 C18 柱上的保留值由分子半径或体积、分子的偶极矩、分子的静电力及溶质与流动相分子相互作用力决定.

关键词: 从头算; 密度泛函理论; 酚; 高效液相色谱; 保留时间; 多元回归分析

中图分类号: O658 文献标识码: A

Theoretical Analysis on Retention Behavior of Phenols in Inversed-phase High Performance Liquid Chromatography*

Song Yuanzhi^{a,b**}, Zhang Weiguang^{a,b}, Ying Qifan^{a,b}, Shi Deqing^c, Lu Guanghan^c

(a. Chemistry Department, Huaian Teacher's Collage, Huaian 223300;

b. Jiangsu Province Key Laboratory for Chemistry of Low-Dimensional Materials, Huaian 223300;

c. Chemistry Department, Central Normal University, Wuhan 430070)

Abstract The geometries of phenol, hydroquinone, resorcinol, catechol, o-aminophenol, p-nitrophenol and 2,4,6-trinitrophenol were optimized using *ab initio* Hartree-Fock and density-functional theory B3LYP method at 6-31G(d) level. The molecular radius and molar volume in gas, the dipole moment in gas, water and methanol, the sum of negative Mulliken charges and the frontier molecular orbital (LUMO and HOMO) were also calculated at the same level. Seven phenol compounds were separated by inversed-phase high performance liquid chromatography (HPLC). The correlation coefficient of retention time the molecular radius or molar volume, the dipole moment, the sum of negative Mulliken charges and LUMO are more than 0.9957 using multiple linear regression (MLR). The results show that the retention time of solute in HPLC is controlled by the molecular radius or molar volume, the dipole moment, the sum of negative Mulliken charges LUMO and the interaction between solution and solute.

Key words *ab initio*, Hartree-Fock, Density-functional theory, Phenols, HPLC, Retention time, MLR

* Project supported by the National Youthful Science Foundation of China (20302002) and Science Foundation of Jiangsu Education Department (04KJD150038).

** Corresponding author, Email: Songyuanzhi@sina.com Received 7 June 2004; in final form 17 January 2005.

1 引言

高效液相色谱中的色谱保留机理及保留时间的预测是色谱研究领域的一个热点,经典的色谱理论(塔板理论与速率理论)虽然可以计算许多色谱参数和色谱的工作条件,但由于需要确定复杂的物理参数,因而限制了其发展.一些半经验方法如色谱中溶质的结构参数与保留间的定量关系一直为人们关注^[1-3],已应用于定量关联的方法有分子连通指数、疏水性参数、van der Waals 体积等^[4-7].邹汉法等用反向液相色谱保留参数与分子结构作定量关联,用于色谱保留值的预测^[8-11],并引入氢键预测极性相差较大的化合物的保留值^[12].由于量子化学方法所获得的物理参数具有明确的物理含义,近年来受到色谱工作者的重视,通常用半经验方法如 AM1 或 PM3 在气态计算溶质的物理参数,忽略了溶剂的影响^[13].

本工作应用量子化学理论预测溶质的结构参数,采用相关分析法研究反相高效液相色谱中溶质的保留机理,并考虑溶剂效应,使预测色谱保留机理的数学模型更加接近实际.从头算(HF)方法和密度泛函理论(DFT)对于预测分子的性质及相互作用具有较高的可靠性^[14-17],因此选择 HF/6-31G(d) 和 DFT/6-31G(d) 计算溶质的物理参数.

2 理论假设

高效液相色谱中的被测定物质(溶质)是在流动相(通常为水和甲醇)的推动下在固定相(色谱柱)中分离的,进入固定相的所有溶质受流动相的这种推动力是一样的,溶质流出色谱柱的时间(保留时间)主要受溶质与固定相中的分子和流动相中的分子间的作用力所决定,分子间的作用力主要有氢键、van der Waals 力、 π - π 键堆积等.这些作用力由溶质分子中的原子的净电荷、分子的偶极矩、分子的前线轨道能量等物理参数决定.

反相高效液相色谱法最常用的色谱柱为 C18 烷烃,常用的流动相为水和甲醇的混合物.设溶质与 C18 和溶剂分子的相互作用力由溶质的极性、分子体积、分子间氢键、分子的极性、分子间的电子轨道重叠几个因素决定,则可以分别用量子化学方法计算溶质的极性、分子体积、Mulliken 电荷、分子的前线轨道,并用保留时间与之作多元相关分析.

3 试验

3.1 仪器和试剂

Waters 600 高效液相色谱仪,包括 Waters 2487 紫外检测器, Waters Delta 600 进行泵, Waters In-Line Degasser AF 脱气机等(美国 Waters 公司生产).甲醇为色谱纯(上海振欣试剂厂),乙酸铵(AR),7种酚类化合物为(5.0000 g/L)对苯二酚、苯酚、邻苯二酚、间苯二酚、对硝基酚、苦味酸、邻氨基酚(AR).所用水均为亚沸水.

3.2 色谱条件

色谱柱:反相 SYMMETRY ODS C18 柱(150 mm (柱长) \times 3.9 mm (柱半径),固定相颗粒直径 4 μ m),流动相:0.01 mol/L 乙酸铵:甲醇(体积比) = 30:70 (pH = 7.0);检测波长为 254 nm;流量:0.60 mL/min.

3.3 试验方法

分别取七种 1.0000 g/L 酚类化合物用亚沸水配制成 0.50 mg/L 的混合液,按上述色谱条件测定混合物的色谱保留值,并确定每种物质的保留时间.

3.4 溶质分子的物理参数的量子化学计算

用 AM1 对溶质分子进行初始几何构型优化,获得稳定构形后,在 Gaussian98 计算软件上采用 HF (Hartree-Fock)方法和 DFT(B3LYP)方法全优化七种酚类化合物构型,在气相条件下计算分子半径、体积,然后利用 Onsager 模型计算溶质在水中和甲醇溶液中的 Mulliken 电荷分布、前线轨道等参数.计算基组为 6-31G(d).多元线性回归分析采用 PEMS3.1 软件包.

4 结果与讨论

4.1 七种酚类化合物保留时间

图 1 为七种酚类化合物的色谱图,苯酚、对苯二酚、间苯二酚、邻氨基酚、邻苯二酚、对硝基酚、苦味酸(编号依次分别为 1~7,以下样品编号相同)的保留时间分别为 3.072、2.075、2.300、1.439、2.764、3.793、18.008 min.这几种化合物的分子结构相似,都含有苯环,比较难以分离,间苯二酚、邻氨基酚、邻苯二酚、邻硝基酚易形成分子内氢键.

4.2 分子的半径与摩尔体积

表 1 列出了分子在气态下的分子的半径与摩尔体积,由于计算方法不同,计算结果略有差异.

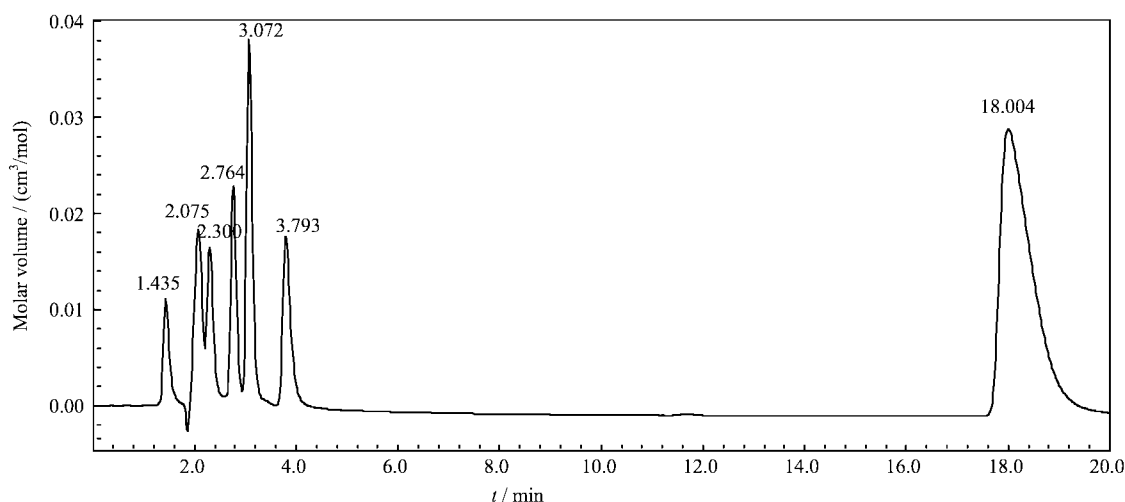


图1 七种酚高效液相色谱图

Fig. 1 Liquid chromatogram of phenols

表1 气态下的分子的半径与摩尔体积

Table 1 Molecular radius and Molar volume in gas

Sample	Retention time/min	Radius/Å		Molar volume/(cm ³ /mol)	
		HF/6-31G(d)	B3LYP/6-31G(d)	HF/6-31G(d)	3LYP/6-31G(d)
1	2.609	3.71	4.00	62.566	81.076
2	1.995	4.23	4.07	98.327	86.249
3	2.068	3.74	3.94	64.600	77.205
4	1.675	4.12	3.94	89.922	76.872
5	2.239	4.04	4.01	83.650	81.811
6	3.476	4.31	4.12	104.591	89.628
7	18.008	4.66	4.50	136.112	121.165

4.3 分子在不同介质中的偶极矩

表2列出了分子在气态和在甲醇及水中的偶极矩,同一分子用HF方法和DFT方法计算的结果比较接近,溶剂对分子的极性影响较大,在不同介质中相同水平计算的偶极矩大小顺序为 $D_{\text{水}} > D_{\text{甲醇}} > D_{\text{气态}}$.因流动相甲醇与水的比例为70:30,故可以分别采用下式计算分子在混合相中的偶极矩 $D_{\text{混}}/D_{\text{混}} = 0.70D_{\text{甲醇}} + 0.30D_{\text{水}}$,苯酚、对苯二酚、间苯二酚、邻氨基酚、邻苯二酚、邻硝基酚、苦味酸在混合相中的偶极矩($D_{\text{混}}$)分别为:

HF方法: 1.80147、3.26023、2.87792、3.26852、3.17012、4.80255、2.22841;

DFT方法: 1.62134、3.22114、2.94427、3.35607、3.05424、4.68183、2.4887.

4.4 Mülliken 电荷

表3列出了分子总的负电荷,其主要贡献为电负性较大的O、N原子,由于库仑引力的作用,且因固定相不变,故作用力大小由流动相的组成变化决定.由表3可以看出同一分子用不同方法计算的结果差异较大,在不同介质相同水平Mülliken电荷变化不大.考虑混合溶剂效应,按 $M_{\text{混}} = 0.70M_{\text{甲醇}} + 0.30M_{\text{水}}$ 计算苯酚、对苯二酚、间苯二酚、邻氨基酚、邻苯二酚、邻硝基酚、苦味酸在混合相中的Mülliken电荷结果分别为:

HF方法: -0.459870、-0.778364、-0.915066、-0.611922、-0.706006、-1.271504、-2.481121;

DFT方法: -0.354267、-0.694526、-0.724139、-0.518541、-0.622022、-1.205336、-2.457982.

表2 分子在气态和在甲醇及水中的偶极矩(Debye)

Table 2 The dipole moment of phenol in gas, water and methanol (Debye)

Sample	Gas		CH ₃ OH		H ₂ O	
	B3LYP	HF	B3LYP	HF	B3LYP	HF
1	1.3548	1.4555	1.6187	1.7979	1.6275	1.8098
2	2.6828	2.8239	3.2245	3.2560	3.2133	3.2701
3	2.3748	2.2868	2.9370	2.8718	2.9560	2.8922
4	2.7111	2.7524	3.3495	3.1652	3.3714	3.5096
5	2.5209	2.6710	3.0489	3.1652	3.0667	3.1816
6	3.6202	3.9751	4.6704	4.7952	4.7085	4.8197
7	1.9147	1.8368	2.4854	2.2252	2.4966	2.2359

表3 分子总的 Mulliken 负电荷

Table 4 Sum of negative Mulliken charges

Sample	Gas		CH ₃ OH		H ₂ O	
	B3LYP	HF	B3LYP	HF	B3LYP	HF
1	-0.350028	-0.412733	-0.354437	-0.459869	-0.354194	-0.459799
2	-0.69325	-0.777842	-0.694506	-0.778378	-0.694534	-0.778358
3	-0.720502	-0.926859	-0.724224	-0.914776	-0.724102	-0.915191
4	-0.517993	-0.544259	-0.518554	-0.558898	-0.518535	-0.705675
5	-0.620604	-0.703829	-0.622056	-0.706006	-0.622008	-0.634647
6	-1.02945	-0.990953	-1.059042	-1.279603	-1.058018	-1.268033
7	-2.404253	-2.489947	-2.400873	-2.478005	-2.401195	-2.482457

4.5 分子的前线轨道

表4列出了苯酚、对苯二酚、间苯二酚、邻氨基酚、邻苯二酚、邻硝基酚、苦味酸分子的前线轨道。由于流动相为水和甲醇,故只能提供电子,与溶质分子的空轨道形成电子给体和受体体系,这部分作用力为化学键作用力。溶质分子最低空轨道能量越低,则越容易得电子,作用力越强。从表4可知,同一分子用DFT方法计算的分子的前线轨道能量比HF方法小得多,但在不同介质中相同水平计算的分子的前线轨道能量基本一致。考虑混合溶剂效应,以LUMO $L_{混} = 0.70 L_{甲醇} + 0.30 L_{水}$ 计算苯酚、对苯二酚、间苯二酚、邻氨基酚、邻苯二酚、邻硝基酚、苦味酸分子的最低空轨道能量分别为:

HF方法: 0.144263、0.13666、0.147606、0.147864、0.149856、0.051426、0.003981;

DFT方法: 0.00130、-0.00208、0.005582、0.00083、0.00809、-0.101105、0.142331。

4.6 多元线性回归分析

以相同水平计算的分子半径 R 或摩尔体积 V

及流动相中分子的偶极矩 D 、Mulliken 电荷 M 、最低空轨道能量 L 与保留时间 T 作多元线性回归分析,分别得到四个偏回归方程,结果如下:

HF方法:

$$T = -7.2324 + 3.683R - 2.4677D - 5.5529M - 12.875L, r = 0.9959$$

$$T = 3.1202 + 0.0505V - 2.3612D - 5.3419M - 12.3474L, r = 0.9957$$

DFT方法:

$$T = -18.0216 + 5.3084R - 1.5598D - 6.208M + 4.8411L, r = 0.9966$$

$$T = -2.8965 + 0.0757V - 1.5418D - 6.0595M + 4.2419L, r = 0.9967$$

以苯酚为例,将其 R 、 V 、 D 、 M 、 L 值代入上述四个偏回归方程,偏回归系数与 R 、 V 、 D 、 M 、 L 的乘积分别为: HF-R方法: 13.66(R 项), -4.44(D 项), 2.55(M 项), -1.86(L 项); HF-V方法: 3.16(V 项), -4.25(D 项), 2.46(M 项), -1.78(L 项);

DFT-R 方法: 21.23 (*R* 项), -2.55 (*D* 项), 2.20 (*M* 项), 0.006 (*L* 项); DFT-V 方法: 6.14 (*V* 项), -2.50 (*D* 项), 2.15 (*M* 项), 0.005 (*L* 项).

表5 分子的前线轨道
Table 5 Molecular front orbital

Sample	B3LYP		HF	
	LUMO	HOMO	LUMO	HOMO
Gas				
1	0.00131	-0.21894	0.14402	-0.30916
2	-0.00216	-0.19913	0.13668	-0.29191
3	0.00729	-0.21049	0.14992	-0.30246
4	0.00052	-0.21058	0.14241	-0.30255
5	0.00806	-0.20666	0.14935	-0.30023
6	-0.09962	-0.24976	0.05365	-0.34146
7	-0.14455	-0.30497	0.00270	-0.40849
H ₂ O				
1	0.00130	-0.21889	0.14427	-0.30896
2	-0.00208	-0.19884	0.13666	-0.29160
3	0.00554	-0.21165	0.14755	-0.30428
4	0.00084	-0.21124	0.14323	-0.30282
5	0.00809	-0.20677	0.14987	-0.30003
6	-0.10114	-0.24535	0.05319	-0.33634
7	-0.14231	-0.30474	0.00403	-0.40826
CH ₃ OH				
1	0.00130	-0.21889	0.14426	-0.30896
2	-0.00208	-0.19884	0.13666	-0.29161
3	0.00560	-0.21161	0.14763	-0.30421
4	0.00083	-0.21122	0.14985	-0.30003
5	0.00809	-0.20677	0.14985	-0.30003
6	-0.10109	-0.24551	0.05067	-0.33440
7	-0.14234	-0.30472	0.00396	-0.40845

由此可见,对保留时间起决定作用的是分子的半径和体积、分子的电荷、分子的偶极矩,分子的结构参数与保留时间高度相关,说明本工作所假设的分子间的作用力是正确的.

5 结论

用量子理论方法研究色谱的保留机理,并预测保留时间是可行的.尽管用不同的方法预测的参数

有较大的系统误差,但在相同水平仍然可以获得满意的结果.七种酚在反向 C18 柱上的保留值由分子的传导阻力(分子的半径或体积)、分子的偶极矩(分子在流动相和固定相中的极性)、分子中原子总的 Mülliken 负(正)电荷(分子的静电力)、溶剂分子提供的电子(电子供给体)与溶质分子的空轨道(电子接受体)之间的作用力(化学键合)所决定.

参 考 文 献

- [1] Tomasz Baczek, Roman Kaliszan J. *Chromatogr. A*, 2003, **987**: 29
- [2] Andrisano V, Bertucci C, Cavrini V J. *Chromatogr. A*, 2000, **876**: 75
- [3] Salo M, Siren H, Volin P J. *Chromatogr. A*, 2000, **728**: 83
- [4] Koopmans E, Rekker R F. *Chromatogr.*, 1985, **285**: 287
- [5] Wells M J M, Clark C R. *Chromatogr.*, 1982, **244**: 231
- [6] Kaliszan R. *Critical Reviews in Anal. Chem.*, 1986, **16**: 323
- [7] Lu P, Zou H, Zhang Y. *Chromatogr.*, 1990, **509**: 171
- [8] Zou H, Zhang Y, Lu P. *Chromatogr.*, 1990, **522**: 49
- [9] Zou H, Wang Q, Gao R, Yang B, Zhang Y, Lu P. *Chromatogr.*, 1991, **31**: 143
- [10] Lu P Z (卢佩章), Zou H F (邹汉法), Zhang Y K (张玉奎). *Science in China B* (中国科学 B 辑), 1991, **4**: 347
- [11] Zou H, Wang Q, Gao R, Yang H, Yang B, Zhang Y, Lu P. *Chromatogr.*, 1991, **31**: 143
- [12] Zou H F (邹汉法), Zhang Y K (张玉奎), Hong M F (洪名放). *Acta Chimica Sinica* (化学学报), 1995, **53**: 269
- [13] Yang G F (杨光富), Jiang X H (姜晓华), Ding Y (丁宇). *Chin. Compu. and Appl. Chem.* (计算机与应用化学), 2002, **19**: 229
- [14] Xiao J J (肖继军), Gong X D (贡雪东), Xiao H M (肖鹤鸣). *Chin. J. Chem. Phys.* (化学物理学报), 2002, **15**: 433
- [15] Li B Z (李宝宗). *Chin. J. Chem. Phys.* (化学物理学报), 2003, **16**: 375
- [16] Li B Z (李宝宗). *Chin. J. Chem. Phys.* (化学物理学报), 2004, **17**: 433
- [17] Xia Q Y (夏其英), Xiao H M (肖鹤鸣), Qu X H (居学海), Gong X D (贡雪东). *Chin. J. Chem. Phys.* (化学物理学报), 2004, **17**: 45