

УДК 543.54

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА И ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ КОМПЛЕКСНЫХ ПОЛИОКСОМЕТАЛЛАТОВ**А.А. Жданов¹, О.В. Шуваева^{1,2}**¹*Институт неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН, Новосибирск, Россия*

E-mail: az_89@ngs.ru

²*Новосибирский государственный университет, Россия**Статья поступила 9 марта 2014 г.*

Проведено исследование комплексов полиоксометаллатов с применением сепарационных методов капиллярного электрофореза и ион-парной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на примере разделения модельных смесей гетерополивольфрамов и реальных смесей продуктов синтеза гетерополимолибдатов различного состава. Показана возможность разделения близких по структуре и составу комплексов с учетом оптимизации условий разделения. Для электрофоретического разделения показана возможность увеличения разрешения сигналов компонентов путем модификации внутренней поверхности капилляра.

Ключевые слова: капиллярный электрофорез, ион-парная ВЭЖХ, гетерополи-соединения.

ВВЕДЕНИЕ

Полиоксометаллаты (ПОМ) представляют собой анионные многоцентровые группировки переходных металлов, образующиеся в результате самосборки оксоанионов [1, 2]. Соединения подобного рода являются перспективными объектами для создания функциональных материалов, катализаторов окисления [3—5], компонентов лекарственных препаратов [6]. ПОМ, в структуре которых содержатся только однотипные оксоанионы металла, называют изополианионами (ИПА). Если при самосборке ПОМ оксоанионы формируют структуру вокруг оксоаниона, содержащего гетероатом (например, SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , AsO_4^{3-}), то такие анионы называют гетерополианионами (ГПА) [7].

Для изучения полиоксометаллатов, как правило, применяют физико-химические методы (ЯМР спектроскопия, масс-спектрометрия), ИК и УФ спектроскопию, рентгеноструктурный анализ [8—11], реже используют электрохимические методы, такие как инверсионная вольтамперометрия, а также ряд других [11—13]. Однако все перечисленные подходы имеют ряд ограничений при изучении растворов полиоксометаллатов, что обусловлено присутствием в растворах большого количества форм, между которыми устанавливаются быстрые или медленные равновесия, а также нестабильностью ряда ПОМ [14].

Весьма перспективными для изучения химии соединений подобного типа представляются сепарационные методы, а именно: высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) и капиллярный электрофорез (КЭ). К сожалению, число публикаций по применению этих методов в химии ПОМ ограничено и относится в основном к модельным системам. Целью данной работы является развитие методов КЭ и ВЭЖХ для изучения состояния ПОМ различной природы в растворах.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Приборы и материалы. В работе использовали систему капиллярного электрофореза "Agilent G1600" (Agilent Technologies, USA), оснащенную УФ-детектором с диодной матрицей в диапазоне длин волн 200—600 нм. Разделение проводили в кварцевом капилляре (75 мкм ID) с эффективной длиной 60 см и полной длиной 68 см. Для оценки влияния модификации поверхности использовали кварцевые капилляры (100 мкм ID) с эффективной длиной 40 см и полной длиной 48 см. pH растворов измеряли с помощью иономера "Анион 4100" (Инфра-СпекАналит, Россия), оснащенного электродом ESK-10602. Для приготовления растворов использовали деионизованную воду (18 мкСм), полученную на установке "Ultra-clear" (Germany).

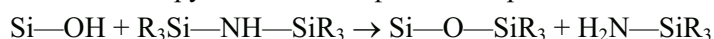
Разделение методом ВЭЖХ проводили с применением микроколоночного хроматографа "Миллихром А-02" (Институт хроматографии ЭкоНова, Россия), оснащенного двухлучевым УФ-детектором с диапазоном длин волн от 190 до 360 нм. В качестве неподвижной фазы применяли колонку ProntoSIL 120-5-C18AQ ($\varnothing 2 \times 75$ мм).

Для модификации капилляров силанизирующими реагентами использовали термостат хроматографа Цвет 500М (ОАО "Цвет", Россия).

Рактивы. Гетерополимолибдаты состава $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{(3+x)-}$ были синтезированы по методике [15]. Для приготовления модельной смеси использовали вольфрамат натрия Na_2WO_4 и ГПС на основе вольфрама $H_3[PW_{12}O_{40}]$, $H_4[SiW_{12}O_{40}]$, $K_5[BW_{12}O_{40}]$ (GR, Sigma Aldrich). Разделительные электролиты готовили на основе малоновой $HOOCCH_2COOH$, монохлоруксусной $C_2O_2H_3Cl$, уксусной CH_3COOH , винной $C_4H_6O_6$ и щавелевой $HOOC-COOH$ кислот квалификации ОсЧ (Реахим, Москва, Россия). В работе также применяли гидроксид натрия NaOH (Chemapol, Чехия), ацетонитрил ACN (Криохром, Россия), тетрабутиламмоний гидроксид (ТБАГ) $(C_4H_9)_4NOH$ (Chemapol, CzechRepublic) квалификации не ниже ХЧ, гексан (Криохром, Россия) квалификации "высший сорт". Для модификации капилляра использовали гексаметилдисилазан (ГМДС) и диоктилтетраметилдисилазан (GR, Sigma Aldrich).

Методика эксперимента. Разделение ПОМ с применением метода капиллярного электрофореза проводили в режиме отрицательной полярности. Напряжение варьировали от -10 до -20 кВ. В качестве разделительных электролитов использовали буферные смеси на основе органических кислот и раствор соляной кислоты. Концентрацию варьировали от 0,01 до 0,1М для буферных смесей на основе органических кислот и от 0,01 до 0,05М для соляной кислоты. Ввод пробы осуществляли пневматически давлением 30—50 мбар в течение 10—20 с. Регистрацию сигнала проводили на длинах волн 230, 254, 300, 365 и 410 нм. Между разделениями капилляр промывали раствором электролита в течение 5 мин.

В рамках данной работы были подготовлены и апробированы капилляры, модифицированные метильными и октильными группами. Модификацию проводили в соответствии с реакцией



по следующей схеме:

- 1) промывка водой;
- 2) гидролиз поверхности 0,5М раствором NaOH в течение нескольких часов;
- 3) повторная промывка водой и ацетонитрилом;
- 4) сушка в токе азота;
- 5) заполнение капилляра силанизирующим реагентом;
- 6) выдержка в течение 6 ч при T 200—350 °С;
- 7) промывка гексаном, ацетонитрилом, сушка в токе инертного газа.

ВЭЖХ разделение проводили в градиентном режиме при температуре 35 °С. В качестве элюента А использовали 1%-й раствор уксусной кислоты с добавкой ТБАГ, в качестве элюента В — ацетонитрил. Содержание ТБАГ варьировали от 0,01 до 0,1 %. Наилучшие результаты были получены при содержании ион-парного реагента 0,04 %. При уменьшении концентрации ТБАГ коэффициент емкости колонки уменьшается, вплоть до полного отсутствия удерживания компонентов. Параллельно ухудшается степень разделения пиков компонентов смеси. Объем вводимой пробы варьировали от 2 до 5 мкл. Перед вводом пробу растворяли в смеси элюентов

А и Б в соотношении 2:1. Регистрацию сигнала проводили на длине волны 250 и 300 нм. Между разделениями проводили регенерацию колонки путем промывки смесью элюентов ($A:B = 1:1$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Основными проблемами применения сепарационных методов ВЭЖХ и КЭ для исследования комплексных полиоксометаллатов являются сложность состава реакционных смесей в растворе, а также узкий диапазон рН, в котором разделяемые комплексы устойчивы. Это накладывает существенное ограничение на выбор разделительного электролита (КЭ) или элюента (ВЭЖХ).

В литературе отмечается, что ионные ассоциаты ПОМ с органическими катионами, такими как четверичный аммоний, являются достаточно устойчивыми в водных растворах. Поэтому нередко для их разделения применяют обращенно-фазную ион-парную хроматографию [16—18]. Тем не менее следует принимать во внимание, что введение в состав элюента органического основания увеличивает рН среды, что, в свою очередь, разрушает комплексы, устойчивые только в кислых средах [1]. С другой стороны, некоторые соли ПОМ с катионными поверхностно-активными веществами могут образовывать трудно растворимые осадки, что также осложняет применение такого рода добавок в методах КЭ и ВЭЖХ.

Литературные данные по применению КЭ в химии ПОМ, как правило, связаны с их использованием в качестве аналитической формы для определения ряда оксоанионов (силикат, фосфат, арсенат и др.) с целью увеличения УФ поглощения при фотометрическом детектировании [19, 20]. Незначительное число опубликованных работ, посвященных изучению ПОМ методом КЭ, обусловлено также малой растворимостью солей и (или) их нестабильностью в водных растворах [14]. Однако благодаря своей высокой эффективности капиллярный электрофорез может обладать значительным потенциалом для изучения сложных многокомпонентных систем по сравнению с хроматографическими методами. В данной работе проведена оценка возможностей методов КЭ и ион-парной ВЭЖХ применительно к изучению растворов ПОМ.

ГПС на основе вольфрамов состава $[XW_{12}O_{40}]^{n-}$, где X = Si, P и B. В соответствии с литературными данными [19—21] наиболее подходящими электролитами для изучения ПОМ, устойчивых в кислых средах, с применением метода капиллярного электрофореза являются буферные растворы на основе органических и неорганических кислот. При выборе условий разделения модельной смеси гетерополивольфрамов, содержащей $[PW_{12}O_{40}]^{3-}$, $[SiW_{12}O_{40}]^{4-}$, $[BW_{12}O_{40}]^{5-}$ и WO_4^{2-} в соотношении 1:1:1:0,25, в качестве разделительных электролитов использовали растворы соляной кислоты (0,01—0,05М) и буферные системы на основе винной (0,1М, рН 3,5), тетраоксалатной (0,1М, рН 1,7), малоновой (0,1М, рН 2,8), уксусной (0,1М, рН 2,5) и монохлоруксусной (0,1М, рН 2,8) кислот. Наилучшие результаты получены при использовании 0,05М раствора HCl (рис. 1, а) и 0,1М раствора малонового электролита (см. рис. 1, б).

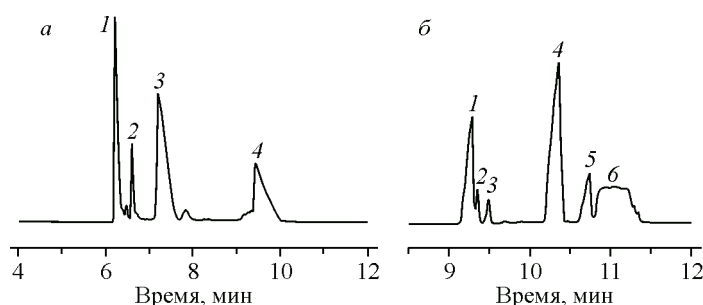
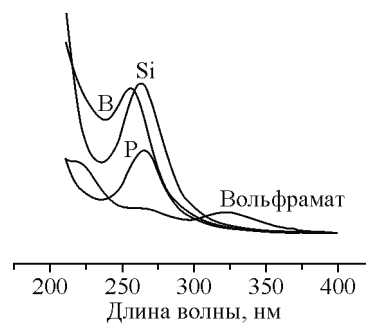


Рис. 1. Разделение смеси ГПС на основе вольфрама.

Разделительный электролит: 0,05М HCl, 12 кВ, 250 нм, пневматический ввод пробы (300 мбар·с) (а): $[BW_{12}O_{40}]^{5-}$ (1), вольфрамат-анион (2), $[SiW_{12}O_{40}]^{4-}$ (3), $[PW_{12}O_{40}]^{3-}$ (4). Разделительный электролит: 0,1М электролит на основе малоновой кислоты (рН 3,5), -17 кВ, 250 нм, пневматический ввод пробы (300 мбар·с) (б): $[BW_{12}O_{40}]^{5-}$ (1), неидентифицированный компонент (2), вольфрамат-анион (3), $[SiW_{12}O_{40}]^{4-}$ (4), $[PW_{12}O_{40}]^{3-}$ (5), неидентифицированный компонент (6)

Рис. 2. УФ спектры соединений модельной смеси (0,1М электролит на основе малоновой кислоты, рН 3,5)



Следует отметить, что эффективности разделения для всех идентифицированных на электрофореграмме пиков в обоих случаях практически одинаковы, в то же время в электролите на основе малоновой кислоты наблюдали большее количество аналитических сигналов, которые, вероятно, относятся к продуктам превращения компонентов смеси либо отвечают различным формам присутствующего в модельной смеси вольфрамат-иона.

На рис. 2 приведены электронные спектры поглощения соединений модельной смеси. Видно, что значения максимумов поглощения в спектрах соединений на основе кремния, бора и фосфора близки, что создает определенные трудности для их идентификации, особенно при изучении реакционных смесей, образующихся в ходе синтеза того или иного комплекса и содержащих как исходные соединения, так и продукты реакции. Кроме того, для многих ПОМ индивидуальные соединения недоступны, поэтому идентификация по времени миграции компонентов также проблематична. По этой причине оптимальным вариантом изучения вещественного состава смесей ПОМ является сочетание различных физико-химических методов.

ГПС на основе молибдатов состава $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-(3+x)}$. Для оценки возможностей КЭ применительно к более сложным системам было проведено исследование реакционной смеси, образующейся при синтезе ПОМ состава $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-(3+x)}$ по методике [15].

На рис. 3, б (1) представлен результат разделения смеси методом КЭ. В данном случае идентификация аналитических сигналов, соответствующих продуктам реакции и промежуточным формам комплексных ПОМ, практически невозможна вследствие недоступности выделенных индивидуальных форм. Видно, что селективность и эффективность разделения недостаточны для характеристики ГПС, присутствующих в смеси. Одной из причин возникновения подобной ситуации является формирование затянутого заднего фронта для всех присутствующих на электрофореграмме пиков, возникающего, вероятно, вследствие адсорбции разделяемых ГПА на стенках кварцевого капилляра. Можно предположить, что модификация поверхности капилляра неполярными группами приведет к ослаблению такого рода взаимодействий.

При модификации неполярными группами, с одной стороны, из-за частичного экранирования уменьшаются взаимодействия разделяемых анионов с кварцевой поверхностью, что нивелирует эффект их сорбции на поверхности. С другой стороны, из-за того, что часть силаноль-

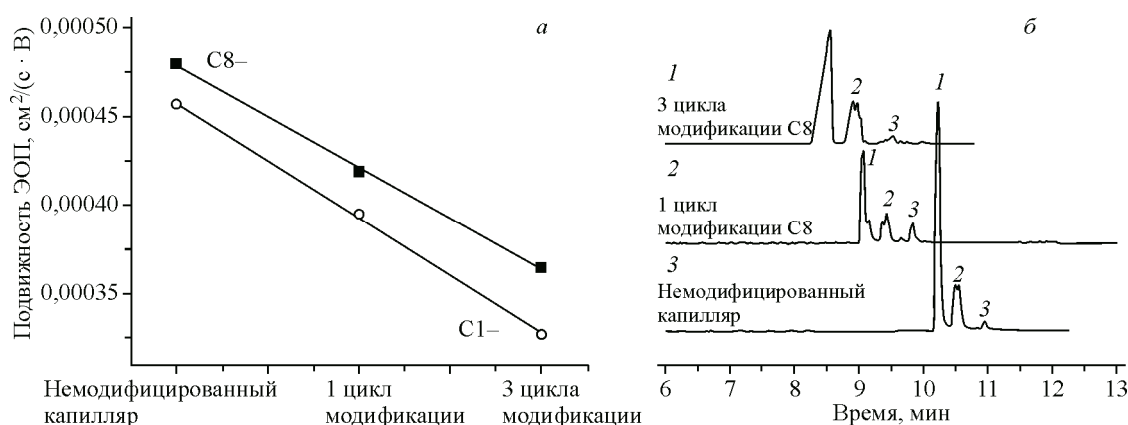


Рис. 3. Зависимость подвижности, рассчитанной для ЭОП от количества циклов модификации (а), электрофореграммы смеси комплексов состава $[PV_xMo_{12-x}O_{40}]^{-(3+x)}$, полученные на капиллярах с различной степенью модификации поверхности (б).

Разделительный электролит: электролит на основе монохлоруксусной кислоты (0,1М, рН 2,5), -17 кВ, 250 нм, пневматический ввод пробы (300 мбар · с): $[PV_2Mo_{10}O_{40}]^{5-}$ (1), $[PVMo_{11}O_{40}]^{4-}$ (2), $[PV_3Mo_9O_{40}]^{6-}$ (3)

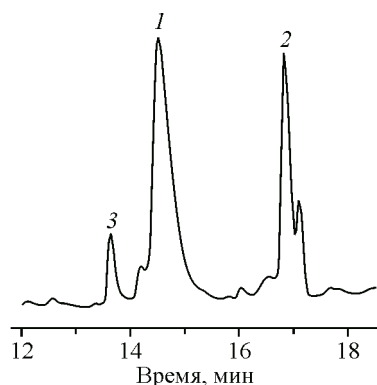


Рис. 4. Хроматограмма смеси ПОМ на основе фосфора, ванадия и молибдена.

Элюент А: 0,04 % ТБАГ в 1 % АсОН (рН 2,7), элюент Б: АСН; условия разделения: 9,375 мин — градиент 20—80 % Б (6,4 % Б/мин); 3,125 мин 80 % Б; 6,25 мин — градиент 80—100 % Б (3,2 % Б/мин); поток — 160 мкл/мин, T 35°, 250 нм; молибдат-анион $[\text{PV}_2\text{Mo}_{10}\text{O}_{40}]^{5-}$ (1), $[\text{PVMo}_{11}\text{O}_{40}]^{4-}$ (2), $[\text{PV}_3\text{Mo}_9\text{O}_{40}]^{6-}$ (3)

ции, скорость ЭОП лишь незначительно отличалась от немодифицированного капилляра, что указывает на недостаточную степень модификации поверхности. При увеличении числа циклов модификации наблюдали значимое снижение скорости ЭОП (см. рис. 3, а), причем величина эффекта практически не зависела от длины алкильного радикала модификатора, несмотря на то, что меньший размер метильной группы предположительно должен обеспечивать и более высокую степень модификации в сравнении с октильной. При увеличении числа циклов модификации отмечалось ухудшение эксплуатационных характеристик капилляра (увеличение хрупкости), что, вероятнее всего, связано с разрушением защитного полимерного покрытия. На рис. 3, б приведены результаты разделения смеси ПОМ состава $[\text{PV}_x\text{Mo}_{12-x}\text{O}_{40}]^{-(3+x)}$ методом КЭ на модифицированных капиллярах. Видно, что при снижении скорости ЭОП время миграции компонентов уменьшается, при этом величина разрешения, рассчитанная по формуле $R_{i,i+1} = 2(t'_{ri+1} - t'_{ri}) / (W_1 + W_2)$, где t'_r — исправленное время миграции компонентов; W — ширина пика у основания, для пар соседних пиков 1 и 2 и 2 и 3 увеличивается. В то же время, несмотря на исчезновение затянутых задних фронтов пиков, наблюдается их уширение, за счет чего эффективность разделения падает. Степень разделения для пиков 1 и 2 и 2 и 3 для немодифицированных капилляров после одного цикла модификации и после трех циклов модификации приведены в таблице.

Разделение молибден-ванадиевых ПОМ методом ВЭЖХ (рис. 4) демонстрирует существенно меньшую по сравнению с КЭ эффективность, кроме того, существуют проблемы, связанные с использованием ион-парного реагента (ТБАГ): низкая растворимость ионных ассоциатов исследуемых ПОМ с тетрабутиламмоний-катионом в воде, что приводит к уменьшению времени эксплуатации хроматографической колонки, вероятнее всего, из-за формирования осадка. В то же время для ВЭЖХ характерна существенно более высокая воспроизводимость времени удерживания аналитов.

На рис. 5 представлены результаты, характеризующие изменение времени удерживания (ВЭЖХ) и времени миграции (КЭ) для ряда последовательных вводов пробы (фиксируем время выхода фосформолибдата $[\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}]^{-3}$). Значение относительного стандартного отклонения (RSD) рассчитывали по формуле: $\text{RSD} = \frac{\sum |X_i - X_{\text{cp}}|}{N \cdot X_{\text{cp}}}$, где X_i — время миграции i -го компонента; X_{cp} — среднее значение времени миграции; N — количество параллельных разделений.

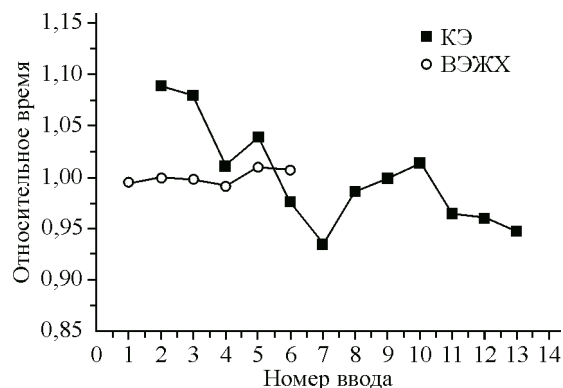
Разрешение пиков компонентов для капилляров с различной степенью модификации

Количество циклов модификации	$R_{1,2}$	$R_{2,3}$
0	1,5	2,5
1	1,7	2,6
3	2,6	3,5

ных групп на поверхности кварца модифицирована, уменьшается их поверхностная концентрация и, следовательно, скорость электроосмотического потока (ЭОП). Для подготовленных описанным способом капилляров была измерена скорость ЭОП. Оказалось, что для капилляров, подвергнутых однократной модификации,

Рис. 5. Зависимость нормированного времени миграции (удерживания) компонентов пробы от количества последовательных вводов пробы. Время нормировано на среднее значение

Для КЭ ($n = 13$) RSD составило 0,035, а для ВЭЖХ ($n = 6$) — 0,0062. При этом наблюдается явная тенденция уменьшения времени миграции компонентов для КЭ, что, вероятнее всего, обусловлено эффектом модификации поверхности капилляра гетерополимолибдат-ионами при многократном вводе пробы.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на то, что ВЭЖХ не обеспечивает высокой эффективности разделения, для данного метода характерна более высокая по сравнению с КЭ селективность, что позволяет количественно разделять пики компонентов. Метод КЭ обладает большей эффективностью, что при тщательном подборе условий позволяет обеспечить качественное разделение сложных смесей. Кроме того, для метода КЭ не существует ограничений, связанных с необходимостью использования ион-парных реагентов, применение которых может вызвать либо разрушение исследуемых ПОМ, либо образование осадков. Модификация внутренней поверхности кварцевого капилляра приводит к повышению селективности разделения исследуемых фосфорванадо-молибдат-анионов и исчезновению затянутых задних фронтов пиков. Данные, полученные двумя методами (КЭ и ион-парная ВЭЖХ), находятся в хорошем соответствии друг с другом. Для корректной идентификации пиков необходимо применение комплекса методов, в том числе использование элемент-селективного детектора (ИСП-АЭС, ИСП-МС).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pope M.T. Heteropoly and isopoly oxomaterials. — New York: Springer-Verlag, 1983.
2. Day V.W., Klemperer W.G. // Science (Washington, D.C.). — 1985. — **228**. — P. 533.
3. Finke R.G., Rapko B., Domaille P.J. // Organometallics. — 1986. — **5**. — P. 17.
4. Revital B.-D., Neumann R. // Angew. Chem. Int. Ed. — 2003. — **42**, N 1. — P. 92 — 95.
5. Ressler U., Dorn A., Walter S. et al. // J. Catalysis. — 2010. — **275**, N 1. — P. 1 — 10.
6. Rozenbaum W., Dormont D., Spire B et al. // Lancet. — 1985. — **I**. — P. 450 and ref. 4 — 10 therein.
7. Long D.-L., Tsunashima R., Leroy Cronin L. // Angew. Chem. Int. Ed. — 2010. — **49**. — P. 1736 — 1758.
8. Finke R.G., Rapko B., Saxton R.J., Domaille P.J. // J. Amer. Chem. Soc. — 1986. — **108**. — P. 2947 — 2960.
9. Suslick K.S., Cook J.C., Rapko B., Droege M.W., Finke R.G. // Inorg. Chem. — 1986. — **25**. — P. 241.
10. Song Y.-F., Long D.-L., Ritchie C., Cronin L. // Chem. Record. — 2011. — **11**. — P. 158 — 171.
11. Corella-Ochoa M., Miras H.N., Long D.-L., Cronin L. // Chem. Eur. J. — 2012. — **18**. — P. 13743 — 13754.
12. Himeno S., Takamoto M., Higuchi A., Maekawa M. // Inorgan. Chim. Acta. — 2003. — **348**. — P. 57 — 62.
13. Yamase T. // Molec. Engineer. — 1993. — **3**. — P. 241 — 262.
14. Hettiarachchi K., Ha Y., Tran T., Cheung A.P. // J. Pharmaceut. & Biomed. Anal. — 1995. — **13**, N 4/5. — P. 515 — 523.
15. Tsigdinos G.A., Hallada C.J. // Inorg. Chem. — 1968. — **7**. — P. 437 — 441.
16. Sakurai N., Kadohata K., Ichinose N. // Fresenius' Anal. Chem. — 1983. — **314**. — P. 634 — 637.
17. Braungart M., Russel H. // Chromatographia. — 1984. — **19**. — P. 185 — 187.
18. Kirk A.D., Riske W., Lyon D.K., Rapko B., Finke R.G. // Inorg. Chem. — 1989. — **28**. — P. 191 — 192.
19. Himeno S., Inazuma N., Kitano E. // J. Sep. Sci. — 2007. — **30**. — P. 1077 — 1081.
20. Himeno S., Sanoa K., Nakashima Y. // J. Chromatogr. A. — 2002. — **966**. — P. 213 — 219.
21. Kitazumia I., Nakashimab Y., Himeno S. // J. Chromatogr. A. — 2001. — **939**. — P. 123 — 129.