

ГОУ ВПО «Саратовский Государственный Университет
имени Н.Г. Чернышевского»

**Е.Г. Сумина, С.Н. Штыков,
Д.А. Загниборода, В.З. Углова**

ТОНКОСЛОЙНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ С УПРАВЛЯЕМОЙ ГАЗОВОЙ ФАЗОЙ

Учебное пособие

Саратов
2011

УДК 543:544.42

ББК

С

Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Загниборода Д.А., Угланова В.З.

Тонкослойная хроматография с управляемой газовой фазой.

Учебное пособие. Саратов: Изд-во Саратов. Ун-та, 2011. – 86 с.: ил.

В пособии рассмотрены теоретические основы и практическое применение нового варианта тонкослойной хроматографии с управляемой газовой фазой, а также представлены схемы хроматографических установок для его реализации.

Учебное пособие для преподавателей, аспирантов, студентов Института химии СГУ и химических факультетов высших учебных заведений, обучающихся по специальности 011000, 240403, 020100 (специалисты, бакалавры, магистры).

Рекомендуют к печати:

Кафедра аналитической химии и химической экологии Института химии
(ГОУ ВПО «Саратовский государственный университет
имени Н.Г. Чернышевского»)

Метод разработан при поддержке гранта РФФИ № 05-03-33178а

ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1 ОСНОВЫ МЕТОДА ТСХ-УГФ	6
1.1 Предпосылки применения метода ТСХ-УГФ	6
1.2 Изменения в хроматографической системе при использовании УГФ	7
1.2.1 Состояние сорбента	8
1.2.2 Состояние элюента	9
1.2.3 Состояние сорбатов	10
Глава 2 ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ УСТАНОВКИ В МЕТОДЕ ТСХ С УПРАВЛЯЕМОЙ ГАЗОВОЙ ФАЗОЙ	12
Глава 3 ВЛИЯНИЕ ГАЗОВОЙ ФАЗЫ НА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И РАЗДЕЛЕНИЕ АМИНОВ	16
3.1 Нормальная фаза	17
3.1.1 Хроматографирование в присутствии углекислого газа	17
3.1.2 Хроматографирование в присутствии паров уксусной кислоты	21
3.1.3 Хроматографирование в присутствии паров этанола	24
3.1.4 Хроматографирование в присутствии паров аммиака	27
3.2 Обращенная фаза и Полиамид	30
3.2.1 Хроматографирование в присутствии углекислого газа	30
3.2.2 Хроматографирование в присутствии паров аммиака	34
3.3 Практические рекомендации	38
Глава 4 ВЛИЯНИЕ МОДИФИКАТОРОВ ГАЗОВОЙ ФАЗЫ НА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И РАЗДЕЛЕНИЕ БЕНЗОЙНЫХ КИСЛОТ	39
4.1 Нормальная фаза	39
4.1.1 Хроматографирование в присутствии углекислого газа	39

4.1.2 Хроматографирование в присутствии уксусной кислоты	41
4.1.3 Хроматографирование в присутствии паров этанола	43
4.1.4 Хроматографирование в присутствии аммиака	45
4.2 Обращенная фаза и Полиамид	48
4.2.1 Хроматографирование в присутствии углекислого газа	48
4.2.2 Хроматографирование в присутствии аммиака	50
4.3 Практические рекомендации	52
Глава 5 ТСХ ФЕНОЛОВ. ВЛИЯНИЕ ГАЗООБРАЗНЫХ МОДИФИКАТОРОВ	54
5.1 Хроматографирование в присутствии углекислого газа	54
5.2 Хроматографирование в присутствии аммиака	56
Глава 6 ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ С УПРАВЛЯЕМОЙ ГАЗОВОЙ ФАЗОЙ	61
6.1 Разделение смесей фенолов и бензойных кислот с фенолом	61
6.2 Разделение и количественное определение фенола в смеси с глюкозой	64
6.3 Разделение и определение пищевых красителей	66
6.4 Определение красителей в газированных напитках	68
6.5 Разделение аминокислот в биологическом объекте	70
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	73
Библиографический список	74
Приложение	79

Введение

Тонкослойная хроматография (ТСХ) является разновидностью варианта планарной жидкостной хроматографии, включающей также высокоэффективную ТСХ (ВЭТСХ) и бумажную хроматографию, в которых разделение веществ происходит на плоском открытом слое сорбента под действием капиллярных сил. Преимуществами ТСХ являются простота, экспрессность и дешевизна хроматографического эксперимента, предполагающего использование дешевого оборудования.

ТСХ используют как аналитический и препаративный метод разделения сложных смесей органических или неорганических соединений, обеспечивающий разделение в пределах от 10^{-3} – 10^{-12} г вещества. Особенностью ТСХ является возможность выделения и последующей идентификации на пластинке отдельных зон компонентов смеси другими микроаналитическими методами: газовой, высокоэффективной жидкостной хроматографией, видимой-, УФ-, ИК-, ЯМР-спектроскопией, масс-спектрометрией и др. Современным инструментальным вариантом ТСХ является ВЭТСХ, которая позволяет реализовать высокую эффективность, чувствительность, скорость, четкость и воспроизводимость разделения веществ, с их количественным определением. В настоящее время ТСХ и ВЭТСХ стали важными и незаменимыми методами анализа в органической, неорганической и аналитической химии.

Отдельные операции в методе ТСХ включают следующие стадии: подготовку пробы, подготовку пластины, нанесение образцов, подготовку хроматографической камеры, элюирование анализируемых веществ, удаление элюента с пластины, детектирование компонентов, их идентификацию и количественный анализ. Каждая из перечисленных операций имеет самостоятельное значение и влияет на результат анализа.

Кроме того, поскольку для разделения в ТСХ используется открытая хроматографическая система, результаты анализа *существенно зависят и от*

внешних факторов. Одними из таких факторов являются относительная влажность воздуха и состав газовой (паровой) фазы в герметической камере ТСХ, оказывающие влияние на состояние гидрофильных слоев сорбента и химические формы разделяемых веществ. Газовая фаза, кроме паров воздуха, содержит летучие компоненты подвижной фазы (элюента). Невозможность контроля за большим числом внешних параметров часто приводит в ТСХ к невоспроизводимости и искажению результатов анализа.

Для того, чтобы в полной мере использовать уникальные возможности ТСХ нами предложен новый вариант – тонкослойная хроматография с управляемой газовой фазой (ТСХ-УГФ), позволяющий в градиентном режиме направленно изменять кислотно-основные и сольватационные характеристики разделяемых органических соединений и контролировать состояние газовой фазы хроматографической камеры. В настоящем пособии изложены основы этого метода и некоторые полученные экспериментальные результаты. Эти результаты могут быть использованы для дальнейшего совершенствования и развития метода ТСХ-УГФ.

ГЛАВА 1 ОСНОВЫ МЕТОДА ТСХ-УГФ

1.1 Предпосылки применения ТСХ-УГФ

Характерной чертой современной тонкослойной хроматографии (ТСХ) является поиск новых способов и приемов хроматографирования, направленных на повышение чувствительности определения, эффективности и селективности разделения аналитов в сложной многокомпонентной матрице. Можно выделить три основных направления развития метода ТСХ. Первое направление – инструментализация и автоматизация ТСХ на всех стадиях анализа: при нанесении пятен, их хроматографировании, детектировании, регистрации непосредственно на пластине интенсивности аналитического сигнала и количественной обработке хроматограмм. Второе направление связано с использованием новых сорбционных, в том числе модифицированных материалов, монолитных сорбентов и новых элюентов. Третье направление состоит в разработке новых способов и методических приемов хроматографирования, среди которых наиболее перспективными считаются хроматографирование под давлением, в непрерывном потоке элюента или на пластинке с закрытым слоем.

В развитие последнего направления нами был предложен еще один новый вариант ТСХ, в котором параметры хроматографической системы (эффективность и селективность) можно направленно изменять, варьируя природу газовой фазы в замкнутом объеме хроматографической камеры. Этот вариант назван нами ТСХ с управляемой газовой фазой (ТСХ-УГФ). Ранее отмечалось, что газовая фаза, состоящая из смеси воздуха и паров растворителей, содержащихся в подвижной фазе, вследствие её влияния на активность сорбента и эффективность хроматографического процесса служит одним из основных причин неудовлетворительной воспроизводимости результатов ТСХ. Данные, полученные нами при развитии метода ТСХ-УГФ, свидетельствуют о том, что газовая фаза может быть не мешающим

фактором, а использоваться для активного направленного воздействия на процесс разделения соединений в ТСХ.

Метод ТСХ-УГФ основан на направленном изменении в динамическом режиме физико-химических свойств хроматографической системы в результате контакта пластинки, содержащей разделяемые соединения, с газовой фазой определенного химического состава, создаваемой в хроматографической камере. Активную газовую фазу получают либо пропуская газ через хроматографическую камеру, либо при образовании паров растворителя, находящегося в другом отделении камеры. Управление составом газовой фазы позволяет программировать состав и свойства подвижной фазы непосредственно в процессе разделения за счет адсорбции и десорбции вводимого газа подвижной и неподвижной фазами. В существующих вариантах ТСХ изменять состав ПФ можно было только после остановки хроматографирования и замены предыдущего элюента новой смесью растворителя. Число таких замен могла быть не более 2-3, процесс терял преимущество в экспрессности. В методе ТСХ-УГФ адсорбция газа и изменение химических свойств ПФ протекает в аналитическом режиме во времени, что позволяет использовать различие в протолитических и сольватационных свойствах сорбатов для разделенного во времени изменения их химических форм и, следовательно, соответствующих сорбционных равновесий. Следствием указанных процессов является изменение селективности и эффективности разделения компонентов

1.2 Изменения в хроматографической системе при использовании УГФ

Изменения, вызванные использованием УГФ, будут касаться всех трех компонентов хроматографической системы: состояния сорбента (неподвижной фазы), свойств ПФ и свойств разделяемых сорбатов. Характер

предполагаемых изменений будет определяться природой создаваемой газовой фазы.

1.2.1 Состояние сорбента

Известно, что поверхность силикагеля покрыта в основном силанольными группами (рис. 1), которые диссоциируют в интервале pH 5-7, поэтому она будет содержать как диссоциированные, так и не диссоциированные гидроксильные группы.

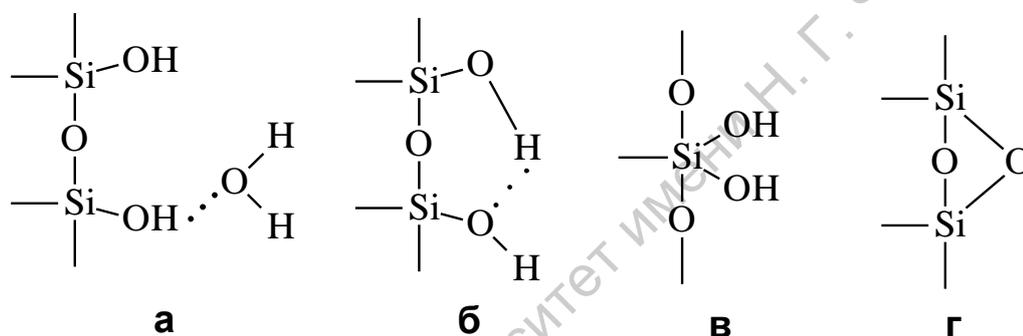
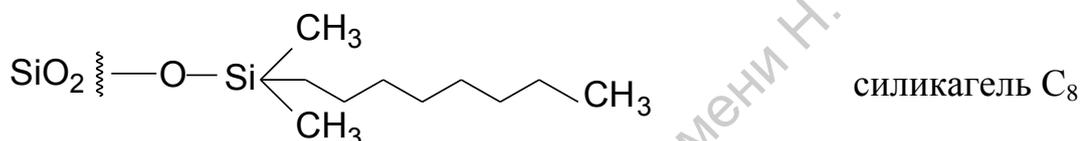


Рис. 1. Типы функциональных групп в силикагеле: **а** - свободные силанольные группы; **б** - геминальные (парные) силанольные группы; **в** - вицинальные (соседние) силанольные группы; **г** - силоксановые группы.

В связи с этим, введение в герметичную камеру ТСХ газа кислотного характера будет увеличивать протонизацию силанольных гидроксильных групп и уменьшать её отрицательны заряд. В этих условиях удерживание сорбатов будет определяться в основном водородными связями и частично гидрофобным фактором поверхности. При введении аммиака, наоборот, будет расти количество отрицательно заряженных силанольных групп и удерживание будет зависеть от электростатических взаимодействий. Если в газовой фазе будет присутствовать активный протодонорный или протонакцепторный растворитель, то его сорбция на поверхности сорбента будет изменять состояние поверхности силикагеля и характер сорбционных взаимодействиях с разделяемыми соединениями. Необходимо отметить, что изменение состояния поверхности сорбента, вследствие адсорбции газа, будет происходить раньше, поскольку тонкая пленка подвижной фазы

двигается по пластинке медленно, а объем элюента на дне камеры достаточно большой, чтобы быстро изменить свойства за счет абсорбции газа.

Такие же изменения состояния поверхности возможны и для других сорбентов, например для полиамида, содержащего протоноакцепторные и протонодонорные группы одновременно (карбоксамидная группа $-\text{CONH}_2$). Даже поверхность гидрофобных сорбентов, содержащих привитые C_8 или C_{18} -радикалы, под влиянием газов или паров растворителей будет тоже изменяться, хотя бы потому, что около половины силанольных групп остается при синтезе в неизменном виде, т.е. не будет алкилирована.



1.2.2 Состояние элюента

Вероятность изменения состава, состояния и свойств элюента во многом зависит от природы составляющих его компонентов. Например, в неводных элюентах трудно ожидать значительного изменения кислотно-основных свойств среды. В водно-органических средах степень изменения кислотно-основных свойств среды при абсорбции газа будет зависеть от количества органического растворителя: чем его больше, тем меньше будет изменение pH элюента. При абсорбции паров органического растворителя ситуация может быть обратной, поскольку поглощение сильно сольватирующего растворителя может радикально изменять сольватационные свойства элюента и, следовательно, подвижность сорбата.

1.2.3 Состояние сорбатов

Изменение поверхности сорбента и особенно состояния элюента будет существенно влиять на химическое состояние (химическую форму) разделяемых соединений, их взаимодействие с сорбентом и элюентом и, следовательно, удерживание (подвижность) сорбатов. Идея метода ТСХ-УГФ состоит в том, что протолиты, имеющие разные константы диссоциации, будут диссоциировать в разное время. Причиной этого будет постепенное изменение кислотности ПФ при абсорбции газа объемом жидкой ПФ, т.е. градиент рН в процессе элюирования. В результате последовательной диссоциации (или протонизации) в такой же последовательности будут изменяться скорости движения (подвижность) сорбатов по пластинке, а следовательно, будут изменяться не только величины R_f , но и ΔR_f , т.е. должны изменяться эффективность и селективность разделения соединений. Примером изменения химической формы соединения в фазе элюента может быть следующее равновесие $HA \leftrightarrow H^+ + A^-$. При пропускании газа кислотного характера протолитическое равновесие будет смещаться влево, а основного характера – вправо.

Другим управляющим фактором может быть изменение взаимодействия в системах сорбент-сорбат и элюент-сорбат, вызванное селективной сольватацией паров донорно-акцепторных растворителей. Число таких растворителей достаточно велико, но еще больше комбинаций, возникающих в системе сорбат-сорбент-элюент. Возможно, что некоторую помощь в прогнозировании донорно-акцепторных взаимодействий может оказать анализ литературы по сольватации соединений различных классов, накопленной в координационной химии и сведений о сорбции паров растворителей в газо-жидкостной (или газо-жидкостно-твердофазной по терминологии В.Г.Березкина) хроматографии.

Предлагаемый подход может быть полезен при разделении не только органических соединений, но и ионов металлов, как за счет изменения их

кислотно-основных форм, так и сольватных или аммиакатных комплексов. Может оказаться полезной и идея реализации лигандно-обменной ТСХ с заменой менее активного лиганда в элюента на более активный, содержащийся в газовой фазе.

Таким образом видно, что метод ТСХ-УГФ предполагает большое число различных управляющих факторов и задача исследователя состоит в накоплении экспериментальных данных с целью выявления возможностей и места данного метода в тонкослойной хроматографии.

ГЛАВА 2 ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ УСТАНОВКИ В МЕТОДЕ ТСХ УПРАВЛЯЕМОЙ ГАЗОВОЙ ФАЗОЙ

Для разработки нового метода хроматографирование проводили восходящей ТСХ при термостатировании ($20 \pm 1^{\circ} \text{C}$) в оригинальных камерах, изготовленных авторами, представленных на рис. 2-4.

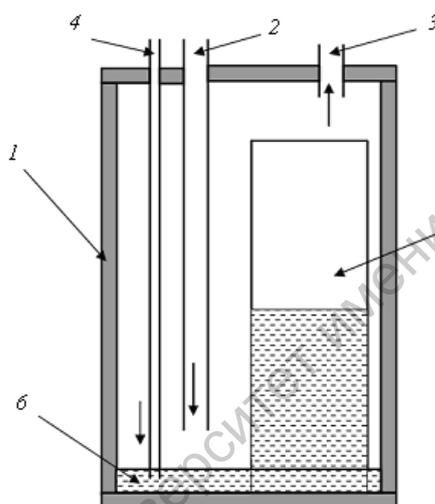


Рис. 2. Хроматографическая камера с подачей газового модификатора. 1 – камера; 2 – трубка для подачи в камеру газа; 3 – трубка для отвода газа; 4 – трубка для подачи подвижной фазы; 5 – пластина для ТСХ; 6 – жидкий элюент

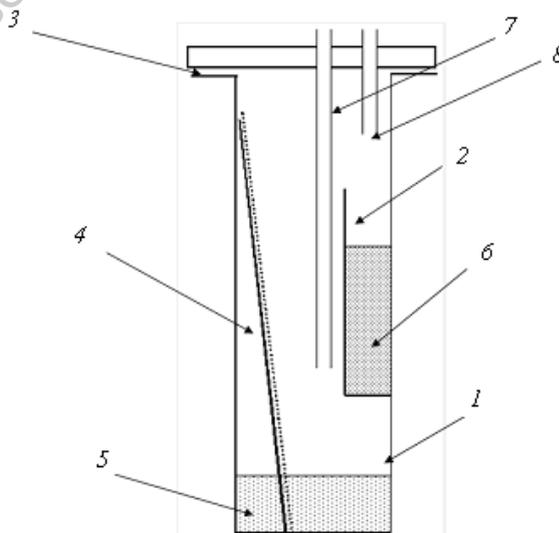


Рис. 3. Сэндвич-камера с летучим модификатором, образующимся в камере. 1 – камера для восходящей хроматографии, 2 – специальная камера для летучего модификатора; 3 – крышка, 4 – пластина для ТСХ, 5 – подвижная фаза, 6 – жидкий летучий модификатор, 7 – трубка для подачи в камеру газа, 8 – трубка для отвода газа.

На основе сэндвич-камеры (рис. 3) была предложена другая конструкция, позволяющая регулировать поток газового модификатора и создавать условия для полного контакта со всей пластиной ТСХ (рис.4).

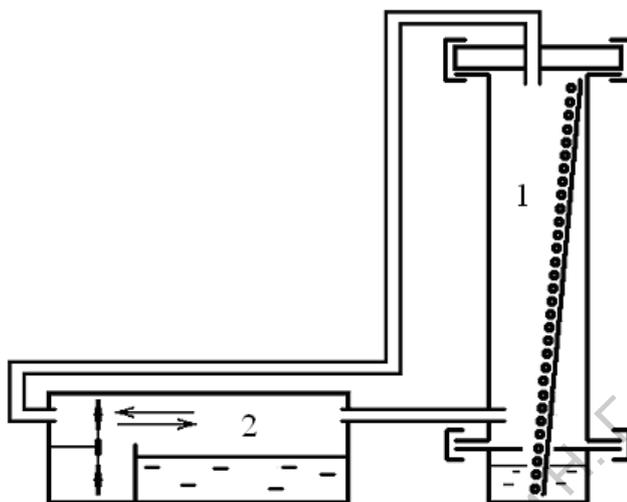


Рис. 4. Сэндвич-камера с принудительной циркуляцией газовой фазы. Камера состоит из двух частей: 1 – собственно камера для разделения, 2 – блок подготовки ГФ из жидкого легкокипящего вещества.

Блок подготовки газовой фазы (ГФ) представляет собой камеру с внутренними размерами 40×40×120 (мм). Внутри камеры установлены 2 вентилятора ($d = 40$ мм) и сменная ёмкость с жидким легкокипящим веществом. Включением вентилятора производится принудительная продувка газа (пара) через основную камеру хроматографической системы. Для измерения объёма пропущенного газового модификатора использовали газометр, представленный на рис. 5. Нижний проградуированный сосуд газометра заполнялся газом, в верхнем сосуде находилась вода. При открывании крана, вода, за счёт разницы давлений вытесняла газ, и в хроматографическую камеру подавался необходимый объём газа.

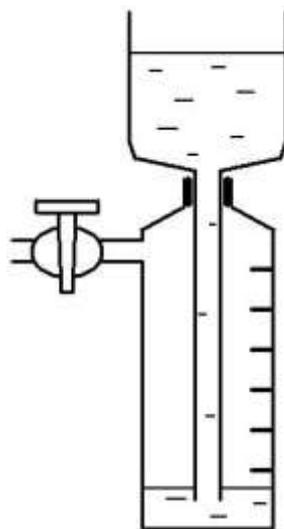


Рис. 5. Установка для подачи газа с заданным объёмом.

Методика хроматографирования

На хроматографической пластине карандашом проводили линию старта на расстоянии 15 мм от нижнего края (рис. 6). При помощи капилляра на линию старта наносили 1-5 мкл растворов разделяемых веществ. Идентификацию хроматографических зон и расчет количественных характеристик проводили с помощью видеоденситометра “Сорбфил” (ОАО “Сорбполимер”, Россия) при облучении УФ-лучами ($\lambda=254$ и 356 нм).

Расчет параметров эффективности и селективности разделения

Подвижность реагентов R_f определяли как отношение расстояния от стартовой линии до центра зоны определяемого вещества l к расстоянию, пройденному растворителем от линии старта до линии финиша L (уравнение 1, рис. 6):

$$R_f = \frac{l}{L}, \quad (1)$$

Расчет параметров эффективности N , H (ВЭТТ) и разрешение R_S в хроматографической системе проводили по формулам:

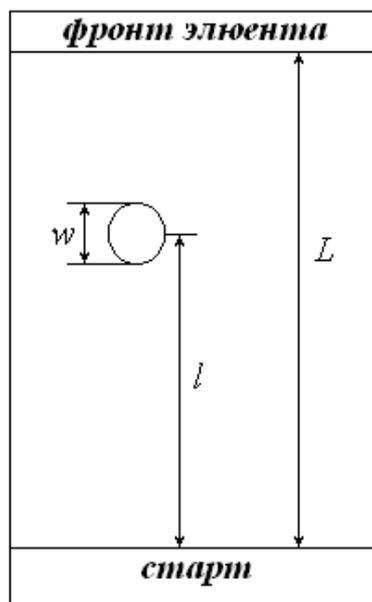


Рис. 6. Общий вид хроматограммы в ТСХ.

L – расстояние от стартовой линии данного вещества до линии фронта, l – расстояние от стартовой линии данного вещества до центра хроматографической зоны, w – расстояние от нижней до верхней границы зоны.

Число теоретических тарелок N

$$N = 16 \left(\frac{l}{w} \right)^2, \quad (2)$$

Высота, эквивалентная теоретической тарелке H

$$H = \frac{L}{N} = \frac{Lw^2}{16l^2}, \quad (3)$$

Разрешение R_s (величина, характеризующая качество разделения)

$$R_s = \sqrt{N} \cdot \frac{R_{f_1} - R_{f_2}}{\sqrt{R_{f_1}} - \sqrt{R_{f_2}}}. \quad (4)$$

где R_{f_1} и R_{f_2} – значения подвижности сорбатов с большей или меньшей величиной R_f соответственно.

Глава 3 ВЛИЯНИЕ МОДИФИКАТОРОВ ГАЗОВОЙ ФАЗЫ НА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И РАЗДЕЛЕНИЕ АРОМАТИЧЕСКИХ АМИНОВ

В качестве газообразных модификаторов использовали кислотные (CO_2 , CH_3COOH), основные (NH_3) газы и пары сольватирующих растворителей ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$). Углекислый газ, полученный в аппарате Киппа при взаимодействии соляной кислоты с карбонатом кальция, подавали в хроматографическую камеру в динамическом режиме через специальные отверстия. Остальные газообразные вещества получали насыщением камеры парами растворов аммиака, уксусной кислоты или этанола, помещенными во второй отсек хроматографического стакана, отделенный от камеры с элюентом специальной перегородкой.

Влияния газовой атмосферы изучали на примере разделения следующих ароматических аминов: о-, м-, п-нитроанилинов, дифениламина, анилина, 1-нафтиламина (прилож. 1, табл. 1-5). Первоначально апробировали следующие подвижные и неподвижные фазы: на пластинах Сорбфил (ПП – полимерная подложка) и Сорбфил (А1 – алюминиевая подложка) – гексан-ацетонитрил (6:4; 4:6), гексан-пропионовая кислота (6:4; 4:6), гексан-хлороформ (6:4), хлороформ-пропионовая кислота (6:4), гексан-изопропанол (4.0:0.1; 8.2:1.2; 8.5:1.5; 9.0:1.0; 9.5:0.5); на пластинах Силуфол – гексан-изопропанол (4:0.1; 8.2:1.2; 8.5:1.5; 9.0:1.0; 9.5:0.5), хлороформ-изопропанол (4:0.1). Среди выбранных ПФ оптимальной подвижной фазой для пластин Сорбфил (ПП), Сорбфил (А1) и Силуфол оказалась смесь гексан-изопропанол 9.5:0.5, которая и использовалась в дальнейших исследованиях. Для пластин Полиамид и RP-18 оптимальной ПФ являлась система изопропанол-вода (6:4) и ацетонитрил-вода (6:4).

3.1 НОРМАЛЬНАЯ ФАЗА

3.1.1 Хроматографирование в присутствии углекислого газа

Индивидуальные нитроанилины

Хроматографическое поведение ароматических аминов в ПФ гексан-изопропанол (9.5:0.5) на пластинах Сорбфил (ПП), Сорбфил (Al) и Силуфол при различном времени контакта с углекислым газом показано на рис. 7-9, а количественные данные, характеризующие эффективность и селективность разделения в табл. 1.

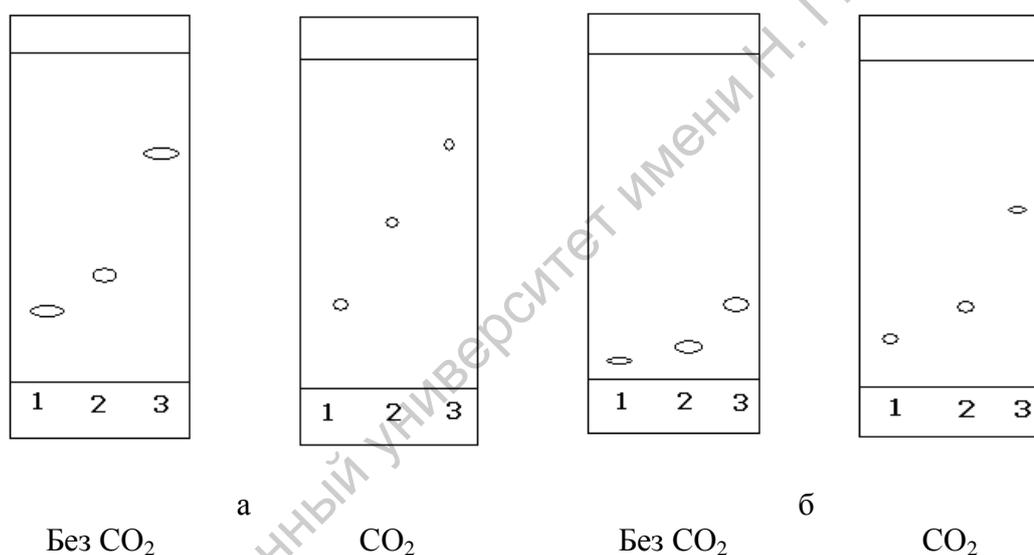


Рис. 7. Хроматограммы индивидуальных нитроанилинов на Сорбфиле (ПП) (а), Силуфоле (б). 1 – п-НА, 2 – м-НА, 3 – о-НА. Время контакта пластин с CO_2 15 мин.

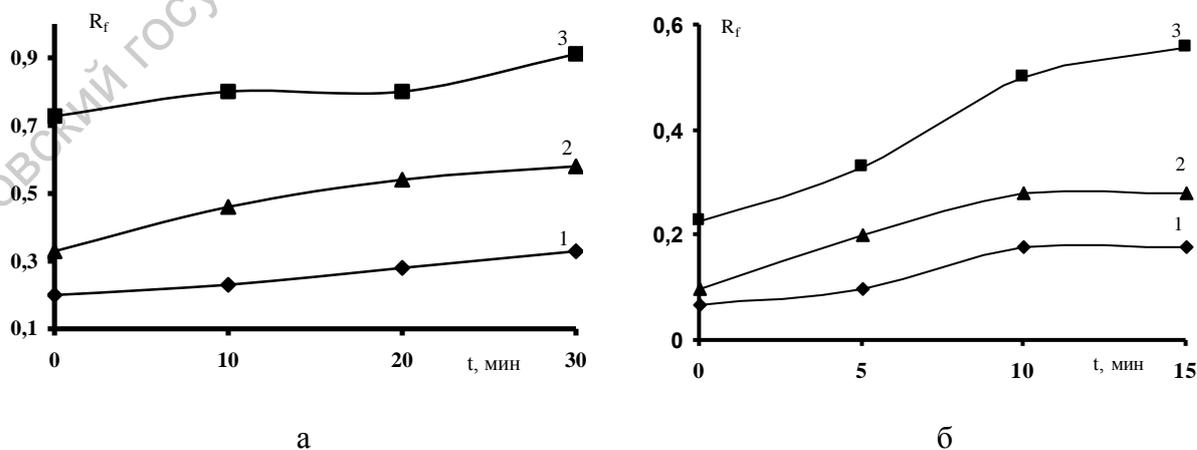


Рис. 8. Зависимости значений подвижностей о-, м-, п-нитроанилинов от времени контакта хроматографической системы с CO_2 . ПФ: Сорбфил (ПП) (а), Силуфол (б). ПФ: гексан-изопропанол (9.5:0.5). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. 1 – п-НА, 2 – м-НА, 3 – о-НА

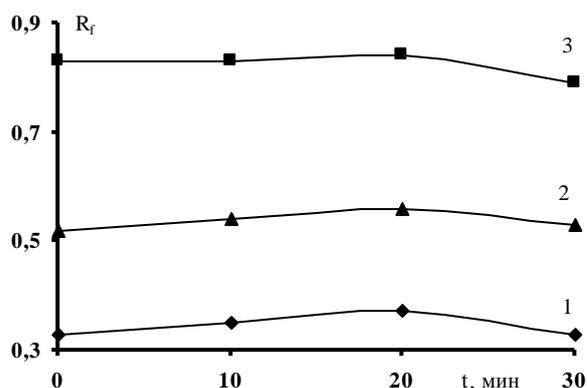


Рис. 9. Зависимости значений подвижностей о-, м-, п-нитроанилинов от времени контакта хроматографической системы с CO_2 . НФ: Сорбфил (Al). ПФ: гексан-изопропанол (9.5:0.5). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. 1 – п-НА, 2 – м-НА, 3 – о-НА.

Таблица 1

**Количественные характеристики разделения сорбатов
в ПФ гексан – изопропанол (9.5:0.5) в отсутствие и в присутствии CO_2
на пластинах Сорбфил (Al), Сорбфил (ПП), Силуфол. ($C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М, $n=3$, $P=0.95$)**

Сорбат	Эффективность				Разрешение	
	$N \cdot 10^{-2}$		H, мм		R_S^*	
	Без CO_2	В прис. CO_2	Без CO_2	В прис. CO_2	Без CO_2	В прис. CO_2
<i>Сорбфил (Al)</i>						
о-НА	11	9.5	0.061	0.074	-	-
м-НА	5.2	5.5	0.13	0.13	42	56
п-НА	1.2	0.57	0.56	1.2	38	50
<i>Сорбфил (ПП)</i>						
о-НА	2.8	9.4	0.25	0.074	-	-
м-НА	0.68	5.5	1.0	0.13	23	53
п-НА	0.25	0.57	2.8	1.20	21	46
<i>Силуфол</i>						
о-НА	1.2	6.9	0.59	0.10	-	-
м-НА	1.5	2.1	0.48	0.34	7	13
п-НА	0.97	1.3	0.72	0.56	6	10

* Значения R_S для всех компонентов рассчитаны по отношению к о-НА.

Из рис. 8, 9 видно, независимо от типа пластин, применение углекислого газа как газового модификатора ведёт к увеличению подвижности сорбатов. Для пластин Сорбфил (Al) это увеличение выражено в меньшей степени, а для пластин Сорбфил (ПП) в большей. Наибольшие значения ΔR_f наблюдаются для пластин Силуфол. Выявлены закономерности: чем выше R_f , тем больше его прирост при пропускании

углекислого газа. Данное явление, по-видимому, связано с градиентным изменением свойств движущейся пластинки и самих сорбатов.

Показано, что в присутствии CO_2 параметры эффективности и селективности разделения также меняются: R_S возрастает почти в 2 раза, происходит некоторое сжатие хроматографических пятен, что видно по уменьшению ВЭТТ. Исключением являются пластины Сорбфил (Al), параметры N , H и R_S на которых практически не меняются. Порядок элюирования на всех НФ одинаков: $o\text{-НА} > m\text{-НА} > p\text{-НА}$, что согласуется с известными литературными данными для хроматографирования геометрических изомеров на прямой НФ.

Смеси нитроанилинов

Аналогичное исследование проведено и для смесей нитроанилинов в ПФ гексан-изопропанол 9.5:0.5 при различном времени контакта с CO_2 . Результаты исследований представлены на рис. 10-12 и в табл. 2.

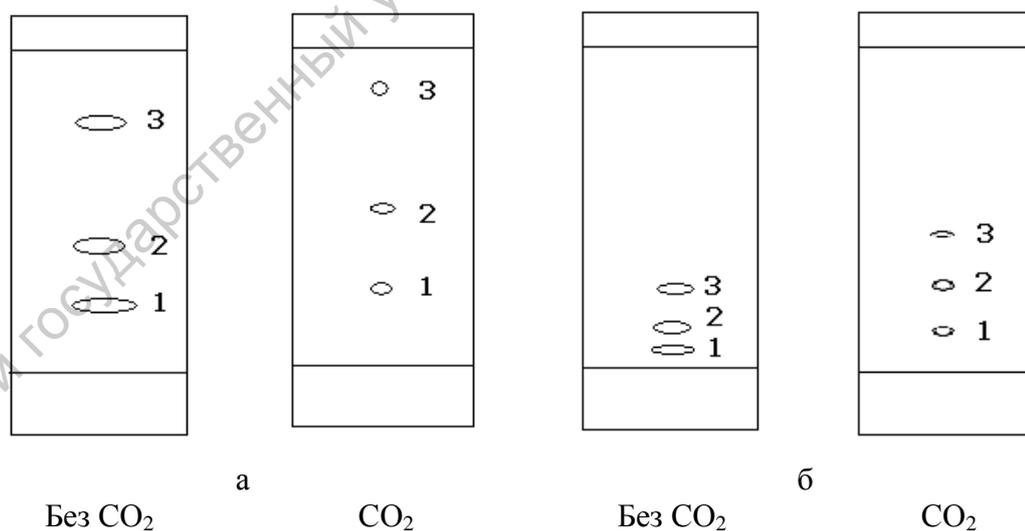
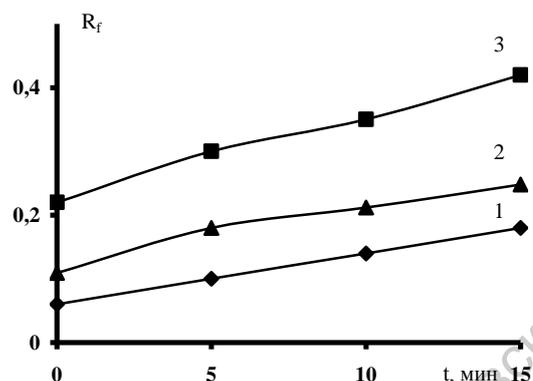
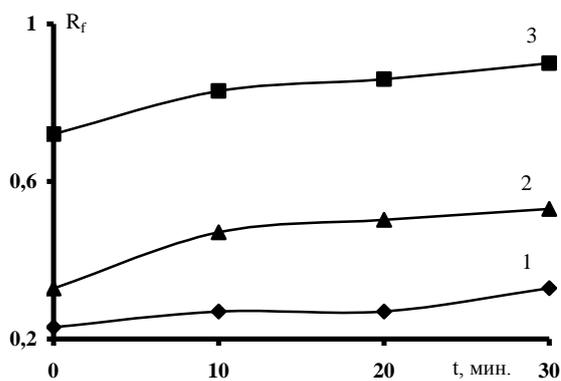


Рис. 10. Хроматограммы смеси нитроанилинов на Сорбфиле (ПП) (а), Силуфол (б). 1 – $p\text{-НА}$, 2 – $m\text{-НА}$, 3 – $o\text{-НА}$.
Время контакта пластин с CO_2 15 мин.



а

б

Рис. 11. Зависимости подвижности для смеси нитроанилинов от времени контакта хроматографической системы с CO_2 . НФ: Сорбфил (ПП) (а), Силуфол (б). ПФ: гексан-изопропанол (9.5:0.5). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. 1 – п-НА, 2 – м-НА, 3 – о-НА.

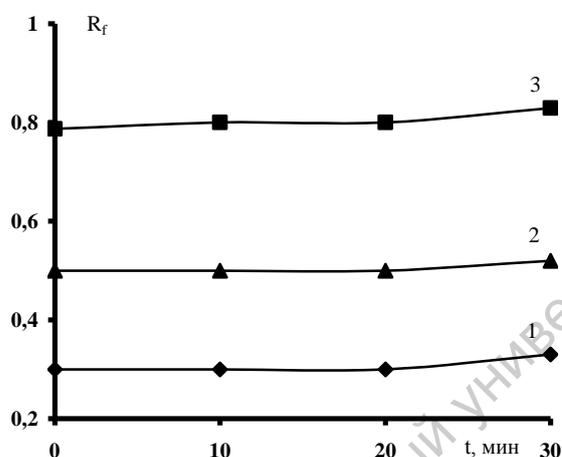


Рис. 12. Зависимости подвижности для смеси нитроанилинов от времени контакта хроматографической системы с CO_2 . НФ: Сорбфил (Al), ПФ: гексан-изопропанол (9.5:0.5). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. 1 – п-НА, 2 – м-НА, 3 – о-НА.

Из полученных данных видно, что независимо от типа пластин и природы НФ для индивидуальных веществ и их смесей, присутствие углекислого газа в хроматографической камере увеличивает подвижность, улучшает разрешение зон, число теоретических тарелок, уменьшает ВЭТТ и, следует отметить, что также как для индивидуальных веществ, при хроматографировании смеси НА наблюдается некоторое сжатие хроматографических зон и увеличение ΔR_f между ними. Совпадение значений подвижностей индивидуальных компонентов и компонентов смеси служит гарантией надёжной идентификации соединений.

**Количественные характеристики разделения смеси сорбатов
в ПФ гексан – изопропанол (9.5:0.5) в отсутствие и в присутствии CO₂
на пластинах Сорбфил (АI), Сорбфил (ПП), Силуфол. (C_R=1·10⁻³ М, n=3, P=0.95)**

Сорбат	Эффективность				Разрешение	
	N·10 ⁻²		H, мм		R _S *	
	Без CO ₂	В прис. CO ₂	Без CO ₂	В прис. CO ₂	Без CO ₂	В прис. CO ₂
<i>Сорбфил (АI)</i>						
о-НА	11	12	0.03	0.03	-	-
м-НА	5.2	4.8	0.05	0.04	42	56
п-НА	1.2	1.1	0.08	0.10	38	50
<i>Сорбфил (ПП)</i>						
о-НА	2.6	4.8	0.08	0.04	-	-
м-НА	0.60	1.4	0.13	0.06	23	35
п-НА	0.20	0.20	0.25	0.03	21	31
<i>Силуфол</i>						
о-НА	1.0	4.5	0.15	0.03	-	-
м-НА	0.90	1.8	0.08	0.04	7	12
п-НА	0.60	1.0	0.06	0.04	6	6

* Значения R_S для всех компонентов рассчитаны по отношению к о-НА.

3.1.2 Хроматографирование в присутствии паров уксусной кислоты

Индивидуальные нитроанилины

На пластинах Силуфол изучено хроматографическое поведение нитроанилинов в ПФ гексан – изопропанол (9.5:0.5) при различном времени контакта с парами CH₃COOH. Результаты исследований представлены на рис. 13 и в табл. 3.

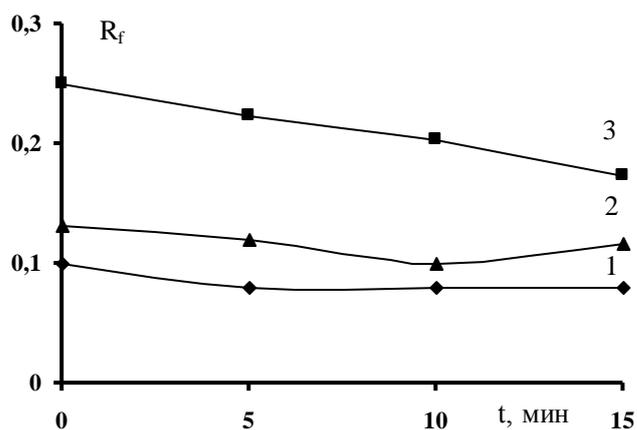


Рис. 13. Зависимости значений подвижностей индивидуальных нитроанилинов от времени контакта хроматографической системы с парами CH_3COOH . НФ: Силуфол. ПФ: гексан-изопропанол (9.5:0.5). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М, 1 – п-НА, 2 – м-НА, 3 – о-НА

Таблица 3

Количественные характеристики разделения сорбатов в ПФ гексан – изопропанол (9.5:0.5) в отсутствие и в присутствии паров CH_3COOH на пластинах Силуфол. ($C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М, $n=3$, $P=0.95$)

Сорбат	Эффективность				Разрешение	
	$N \cdot 10^{-2}$		Н, мм		R_S *	
	Без CH_3COOH	В прис. CH_3COOH	Без CH_3COOH	В прис. CH_3COOH	Без CH_3COOH	В прис. CH_3COOH
о-НА	1.2	0.50	0.59	1.4	-	-
м-НА	1.5	0.50	0.48	1.4	7	5
п-НА	0.97	0.60	0.72	1.2	6	3

* Значения R_S для всех компонентов рассчитаны по отношению к о-НА.

Как видно из приведенных данных, применение паров CH_3COOH как газового модификатора на пластинах Силуфол уменьшает подвижность и разрешение хроматографических зон. Порядок элюирования остаётся без изменения. В отличие от CO_2 , при пропускании паров CH_3COOH размывание хроматографических зон увеличивается. Поэтому, использование этого модификатора для хроматографирования нитроанилинов нецелесообразно. К этому выводу можно прийти и на основании анализа смесей веществ.

Смеси нитроанилинов

С этой целью на пластинах Силуфол изучено хроматографическое поведение смеси нитроанилинов в ПФ гексан-изопропанол (9.5:0.5) при различном времени контакта с парами CH_3COOH . Результаты исследований представлены на рис. 14 и в табл. 4 и согласуются с выводами, сделанными в предыдущем разделе.

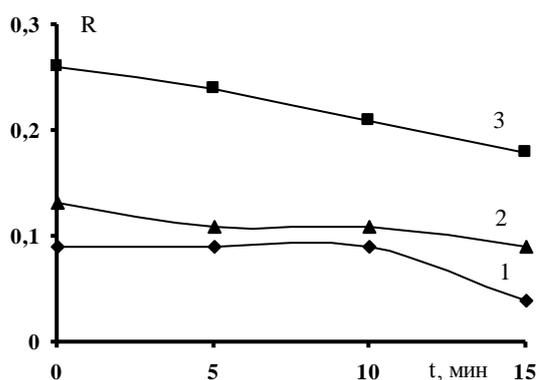


Рис. 14. Зависимости значений подвижностей для компонентов смеси нитроанилинов от времени контакта хроматографической системы с парами CH_3COOH . ПФ: Силуфол. ПФ: гексан-изопропанол (9.5:0.5). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. 1 – п-НА, 2 – м-НА, 3 – о-НА.

Таблица 4

Количественные характеристики разделения смеси сорбатов в ПФ гексан-изопропанол (9.5:0.5) в отсутствие и в присутствии паров CH_3COOH на пластинах Силуфол. ($C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М, $n=3$, $P=0.95$)

Сорбат	Эффективность				Разрешение	
	$N \cdot 10^{-2}$		H, мм		R_S *	
	Без CH_3COOH	В прис. CH_3COOH	Без CH_3COOH	В прис. CH_3COOH	Без CH_3COOH	В прис. CH_3COOH
о-НА	1.2	0.70	0.59	1.1	-	-
м-НА	1.5	0.60	0.48	1.2	7	5
п-НА	0.97	0.30	0.72	2.3	6	3

* Значения R_S для всех компонентов рассчитаны по отношению к о-НА.

3.1.3 Хроматографирование в присутствии паров этанола

Индивидуальные нитроанилины

Аналогичным образом на пластинах Сорбфил (ПП) и Силуфол изучено хроматографическое поведение нитроанилинов в ПФ гексан – изопропанол (9.5:0.5) при различном времени контакта с парами C_2H_5OH . Результаты исследований представлены на рис. 15, 16 и в табл. 5.

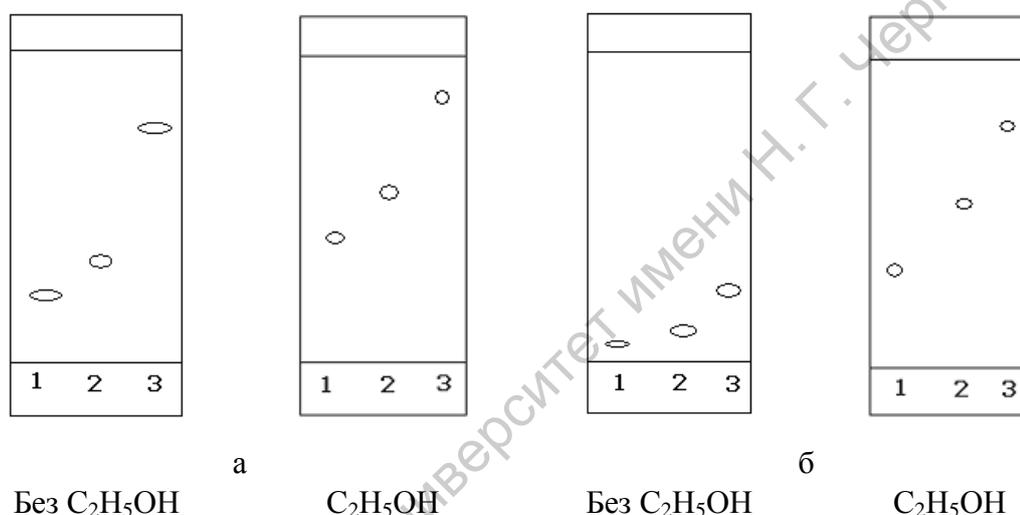


Рис. 15. Хроматограммы индивидуальных нитроанилинов на Сорбфиле (ПП) (а), Силуфоле (б). 1 – п-НА, 2 – м-НА, 3 – о-НА. Время контакта пластин с C_2H_5OH 15 мин.

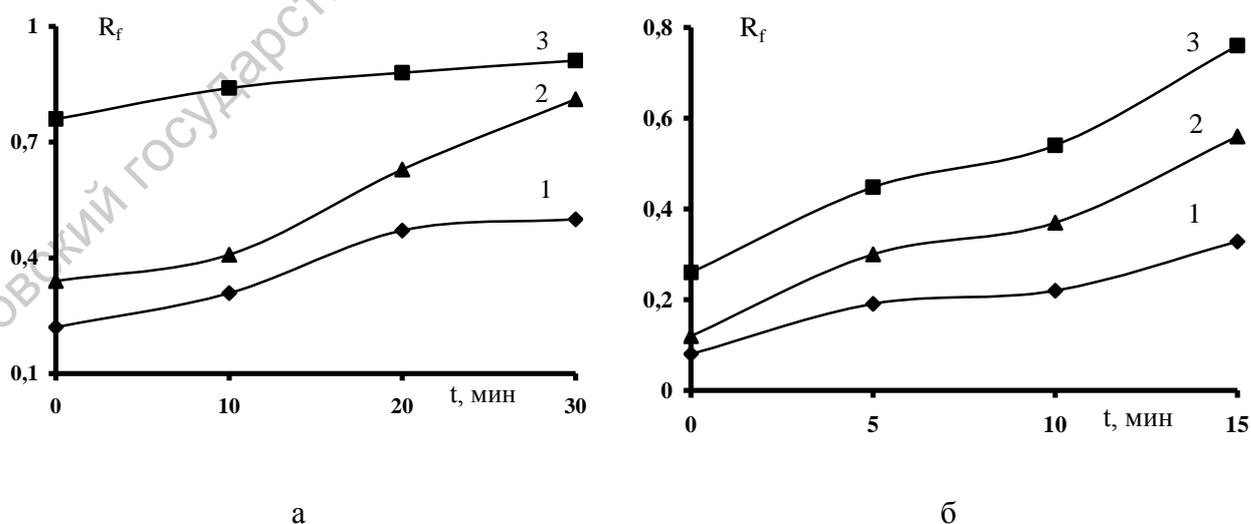


Рис. 16. Влияние времени контакта паров C_2H_5OH на подвижность о-, м-, п-нитроанилинов. ПФ: Сорбфил (ПП) (а), Силуфол (б). ПФ: гексан-изопропанол (9.5:0.5). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. 1 – п-НА, 2 – м-НА, 3 – о-НА.

**Количественные характеристики разделения сорбатов
в ПФ гексан – изопропанол (9.5:0.5) в отсутствие и в присутствии C₂H₅ОН
на пластинах Сорбфил (ПП), Силуфол. (C_R=1·10⁻³ М, n=3, P=0.95)**

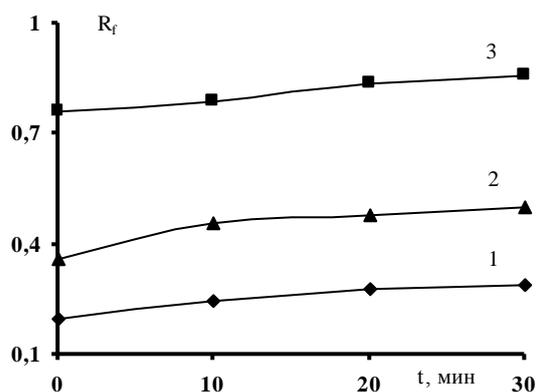
Сорбат	Эффективность				Разрешение	
	N·10 ⁻²		H, мм		R _S *	
	Без C ₂ H ₅ ОН	В прис. C ₂ H ₅ ОН	Без C ₂ H ₅ ОН	В прис. C ₂ H ₅ ОН	Без C ₂ H ₅ ОН	В прис. C ₂ H ₅ ОН
<i>Сорбфил (ПП)</i>						
o-НА	2.8	3.9	0.25	0.18	-	-
m-НА	0.68	2.7	1.0	0.26	23	30
p-НА	0.25	1.5	2.8	0.46	21	28
<i>Силуфол</i>						
o-НА	1.2	8.2	0.59	0.085	-	-
m-НА	1.5	6.9	0.48	0.10	7	34
p-НА	0.97	2.5	0.72	0.28	6	31

* Значения R_S для всех компонентов рассчитаны по отношению к o-НА.

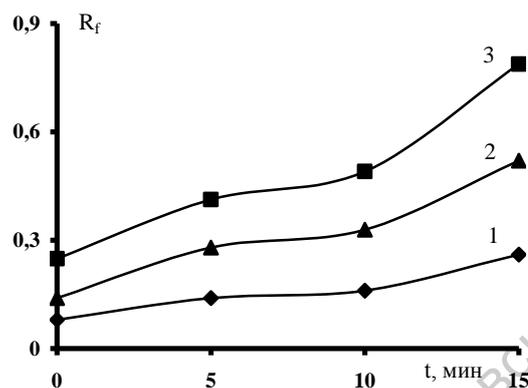
Из полученных данных видно, что также как и в случае CO₂ применение паров C₂H₅ОН как газового модификатора ведёт к увеличению значений R_f, R_S, N, и уменьшению H. Пластины Силуфол более эффективны, чем Сорбфил, т.к. разделение на них лучше и время хроматографирования меньше. Причиной может быть увеличению сольватационных свойств ПФ, в состав которой включается этанол, более активно взаимодействующий с сорбатами по сравнению с изопропанолом.

Смеси нитроанилинов

Аналогичные выводы можно сделать для разделения смесей нитроанилинов. Хроматографическое поведение смеси нитроанилинов в ПФ гексан-изопропанол (9.5:0.5) на пластинах Сорбфил (ПП) и Силуфол при различном времени контакта с парами C₂H₅ОН представлено на рис. 17 и в табл. 6.



а



б

Рис. 17. Зависимости значений подвижностей для компонентов смеси нитроанилинов от времени контакта хроматографической системы с парами этанола. НФ: Сорбфил (ПП) (а), Силуфол (б). ПФ: гексан-изопропанол (9.5:0.5). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. 1 – п-НА, 2 – м-НА, 3 – о-НА.

Таблица 6

Количественные характеристики разделения смеси сорбатов в ПФ гексан – изопропанол (9.5:0.5) в отсутствие и в присутствии C_2H_5OH на пластинах Сорбфил (ПП), Силуфол. ($C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М, $n=3$, $P=0.95$)

Сорбат	Эффективность				Разрешение	
	$N \cdot 10^{-2}$		H, мм		R_S^*	
	Без C_2H_5OH	В прис. C_2H_5OH	Без C_2H_5OH	В прис. C_2H_5OH	Без C_2H_5OH	В прис. C_2H_5OH
<i>Сорбфил (ПП)</i>						
о-НА	2.8	3.9	0.25	0.18	-	-
м-НА	0.67	2.7	1.0	0.26	23	30
п-НА	0.25	1.5	2.8	0.46	21	28
<i>Силуфол</i>						
о-НА	1.2	8.2	0.58	0.086	-	-
м-НА	1.5	6.9	0.47	0.11	7	33
п-НА	0.98	2.5	0.71	0.29	6	30

* Значения R_S для всех компонентов рассчитаны по отношению к о-НА.

Как следует из приведенных данных хроматографические эффекты и количественные характеристика разделения близки с результатами хроматографирования индивидуальных нитроанилинов.

3.1.4 Хроматографирование в присутствии паров аммиака

Индивидуальные нитроанилины

Изучено хроматографическое поведение нитроанилинов в ПФ гексан-изопропанол (9.5:0.5) на пластинах Сорбфил (ПП), Сорбфил (Al) и Силуфол при различном времени контакта с NH_3 . Результаты исследований представлены на рис. 18, 19 и в табл. 7.

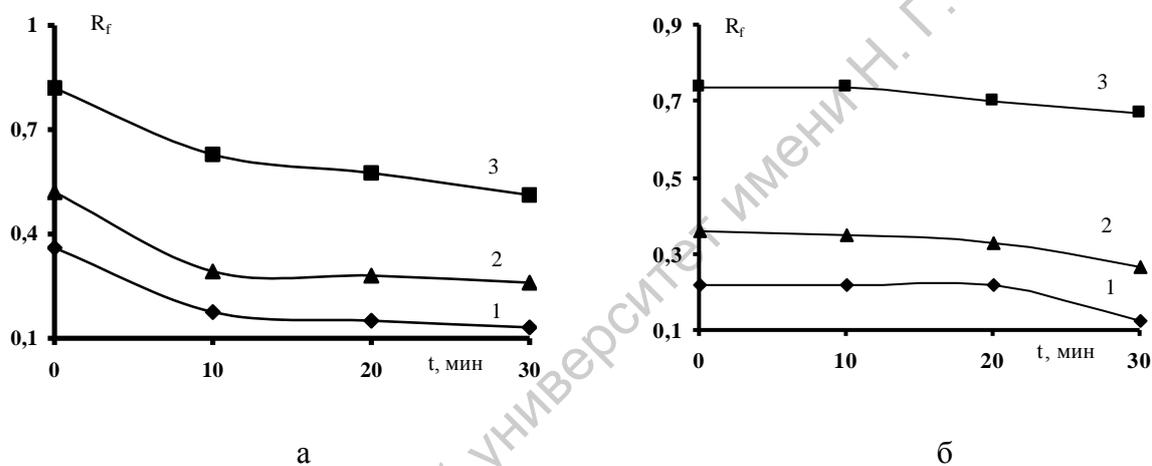


Рис. 18. Зависимости значений подвижностей о-, м-, п-нитроанилинов от времени контакта хроматографической системы с аммиаком. ПФ: Сорбфил (Al) (а), Сорбфил (ПП) (б). ПФ: гексан-изопропанол (9.5:0.5). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М.
1 – п-НА, 2 – м-НА, 3 – о-НА.

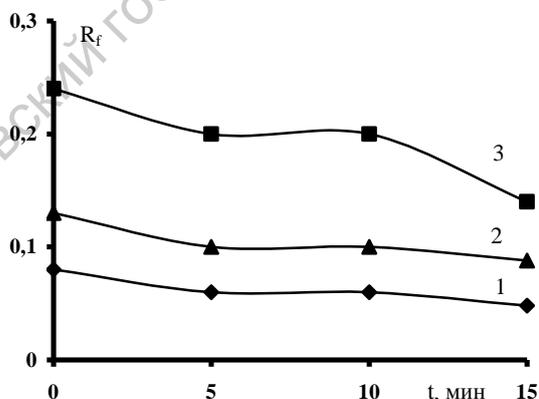


Рис. 19. Зависимости значений подвижностей о-, м-, п-нитроанилинов от времени контакта хроматографической системы с аммиаком. ПФ: Силуфол. ПФ: гексан-изопропанол (9.5:0.5). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М.
1 – п-НА, 2 – м-НА, 3 – о-НА.

**Количественные характеристики разделения сорбатов
в ПФ гексан – изопропанол (9.5:0.5) в отсутствие и в присутствии аммиака
на пластинах Сорбфил (АI), Сорбфил (ПП), Силуфол. ($C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М, $n=3$, $P=0.95$)**

Сорбат	Эффективность				Разрешение	
	$N \cdot 10^{-2}$		H, мм		R_S *	
	Без NH_3	В прис. NH_3	Без NH_3	В прис. NH_3	Без NH_3	В прис. NH_3
<i>Сорбфил (АI)</i>						
о-НА	11	19	0.061	0.034	-	-
м-НА	2.5	2.2	0.13	0.15	42	25
п-НА	1.2	2.0	0.56	0.33	38	20
<i>Сорбфил (ПП)</i>						
о-НА	2.8	1.7	0.25	0.41	-	-
м-НА	0.68	0.30	1.0	0.22	23	14
п-НА	0.25	0.20	2.8	0.34	21	10
<i>Силуфол</i>						
о-НА	1.2	0.80	0.59	0.88	-	-
м-НА	1.5	0.70	0.48	0.97	7	5
п-НА	0.97	0.20	0.72	3.5	6	4

* Значения R_S для всех компонентов рассчитаны по отношению к о-НА.

Из представленных данных видно, что на всех неподвижных фазах применение NH_3 как газового модификатора уменьшает подвижность, разрешение хроматографических зон и эффективность разделения нитроанилинов. Поэтому использование этого модификатора нецелесообразно при хроматографировании сорбатов основного типа. Результаты, полученные в этом разделе, находят подтверждение при анализе смесей. Основной причиной, видимо, может быть усиление взаимодействия аминов с сорбентом, поверхность которого приобретает отрицательный заряд за счет диссоциации силанольных групп.

Смеси нитроанилинов

Изучено хроматографическое поведение смеси нитроанилинов в ПФ гексан-изопропанол (9.5:0.5) на пластинах Сорбфил (ПП), Сорбфил (АI) и

Силуфол при различном времени контакта с NH_3 . Результаты исследований представлены на рис. 20, 21 и в табл. 8.

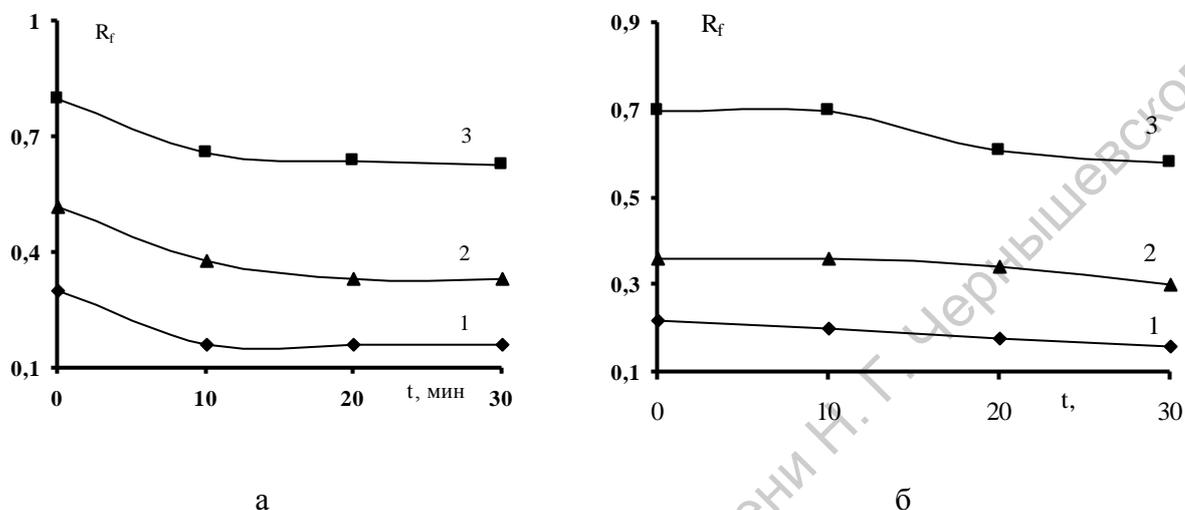


Рис. 20. Зависимости подвижности для смеси нитроанилинов от времени контакта хроматографической системы с аммиаком. НФ: Сорбфил (AI), Сорбфил (ПИ). ПФ: гексан-изопропанол (9.5:0.5). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М.

1 – п-НА, 2 – м-НА, 3 – о-НА.

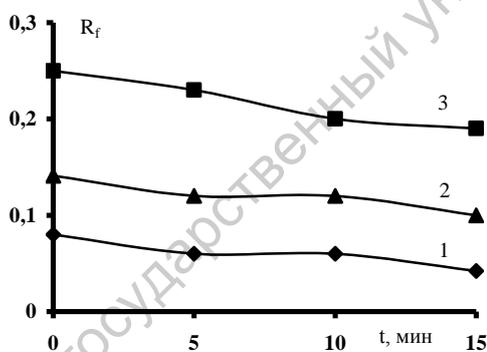


Рис. 21. Зависимости значений подвижностей для компонентов смеси нитроанилинов от времени контакта хроматографической системы с аммиаком. НФ: Силуфол. ПФ: гексан-изопропанол (9.5:0.5). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М.
1 – п-НА, 2 – м-НА, 3 – о-НА.

Данные, представленные в табл. 8 подтверждают ранее сделанный вывод о негативном влиянии аммиака на процесс разделения нитроанилинов на нормальной фазе.

**Количественные характеристики разделения смеси сорбатов
в ПФ гексан – изопропанол (9.5:0.5) в отсутствие и в присутствии аммиака
на пластинах Сорбфил (АI), Сорбфил (ПП), Силуфол. ($C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М, $n=3$, $P=0.95$)**

Сорбат	Эффективность				Разрешение	
	$N \cdot 10^{-2}$		H, мм		R_S *	
	Без NH_3	В прис. NH_3	Без NH_3	В прис. NH_3	Без NH_3	В прис. NH_3
<i>Сорбфил (АI)</i>						
о-НА	11	19	0.061	0.036	-	-
м-НА	2.5	2.2	0.13	0.15	42	26
п-НА	1.2	2.1	0.56	0.34	38	20
<i>Сорбфил (ПП)</i>						
о-НА	2.8	1.7	0.25	0.42	-	-
м-НА	0.68	0.31	1.0	0.21	23	12
п-НА	0.25	0.21	2.8	0.35	21	11
<i>Силуфол</i>						
о-НА	1.2	0.85	0.60	0.85	-	-
м-НА	1.5	0.75	0.47	0.95	7	4
п-НА	0.98	0.21	0.73	3.6	6	3

* Значения R_S для всех компонентов рассчитаны по отношению к о-НА.

3.2 ОБРАЩЕННАЯ ФАЗА И ПОЛИАМИД

3.2.1 Хроматографирование в присутствии углекислого газа

Нитроанилины

Хроматографическое поведение нитроанилинов в ПФ изопропанол-вода (6:4) на пластинах RP-18 и Полиамиде при различном времени контакта с CO_2 показано на рис. 22, 23, а данные по эффективности и селективности хроматографического процесса представлены в табл. 9.

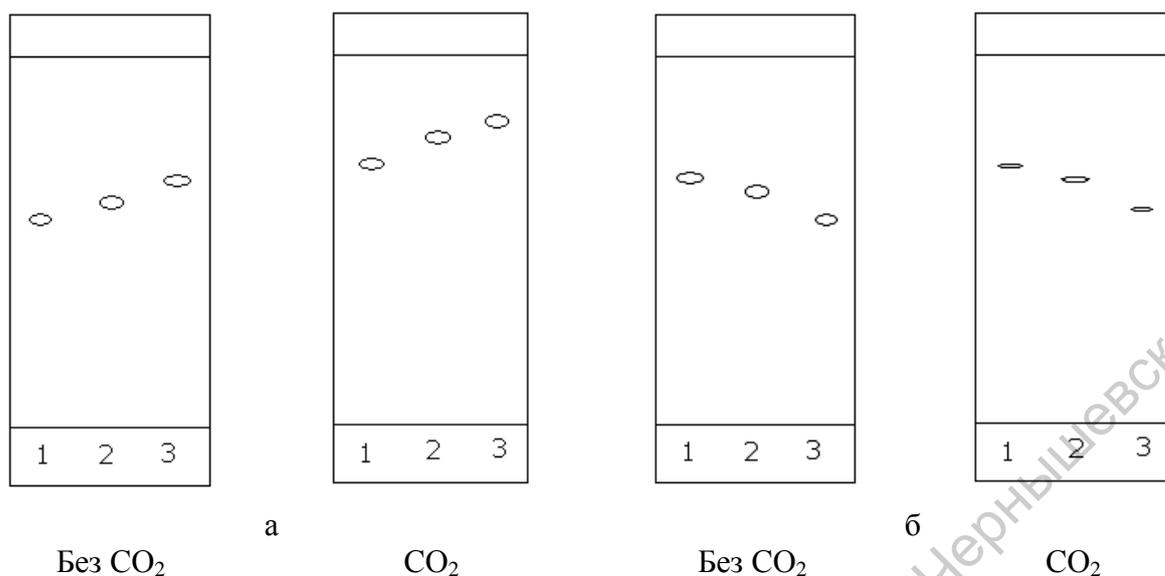


Рис. 22. Хроматограммы индивидуальных нитроанилинов.
НФ: RP-18 (а), Полиамид (б). ПФ: изопропанол-вода (6:4). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М.
1 – о-НА, 2 – м-НА, 3 – п-НА. Время контакта пластин с CO_2 30 мин.

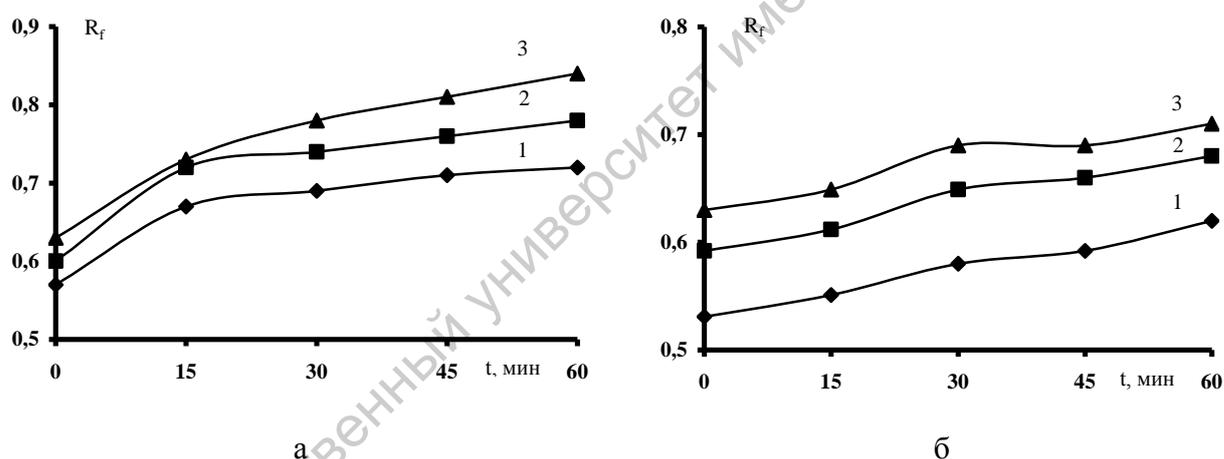


Рис. 23. Зависимость подвижности нитроанилинов от времени контакта хроматографической системы с углекислым газом. НФ: RP-18 (а), Полиамид (б). ПФ: изопропанол-вода (6:4). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. а) 1 – о-НА, 2 – м-НА, 3 – п-НА; б) 1 – п-НА, 2 – м-НА, 3 – о-НА.

Из полученных данных видно, что применение в качестве газового модификатора CO_2 увеличивает подвижности (рис. 23). Параметры эффективности и селективности разделения несколько улучшаются. Следует отметить, что при пропускании CO_2 на Полиамиде наблюдается некоторое сжатие хроматографических зон, что улучшает их разделение. Из сравнения пластин Полиамид и RP-18 видно, что для Полиамида изменение в подвижностях меньше и более линейно, чем для RP-18.

Количественные характеристики разделения сорбатов в ПФ изопропанол-вода (6:4) в отсутствие и в присутствии углекислого газа. ($C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М, $n=3$, $P=0.95$)

Сорбат	Эффективность				Разрешение	
	$N \cdot 10^{-2}$		H, мм		R_S *	
	Без CO_2	В прис. CO_2	Без CO_2	В прис. CO_2	Без CO_2	В прис. CO_2
<i>Полиамид</i>						
о-НА	24	26	0.02	0.02	-	-
м-НА	22	22	0.02	0.02	77	88
п-НА	9.0	12	0.003	0.001	83	90
<i>RP-18</i>						
о-НА	4.3	4.8	0.06	0.05	0.05	-
м-НА	2.0	2.9	0.07	0.05	0.05	38
п-НА	6.0	7.8	0.13	0.10	0.10	36

* Значения R_S для всех компонентов рассчитаны по отношению к о-НА.

Дифениламин, анилин сернокислый, 1-нафтиламин

Хроматографическое поведение дифениламина, анилина сернокислого и 1-нафтиламина в ПФ изопропанол – вода (6:4) и ацетонитрил – вода (6:4) на пластинах RP-18 и Полиамиде при различном времени контакта с CO_2 показано на рис. 24, 25, а данные по эффективности и селективности хроматографического процесса представлены в табл. 10.

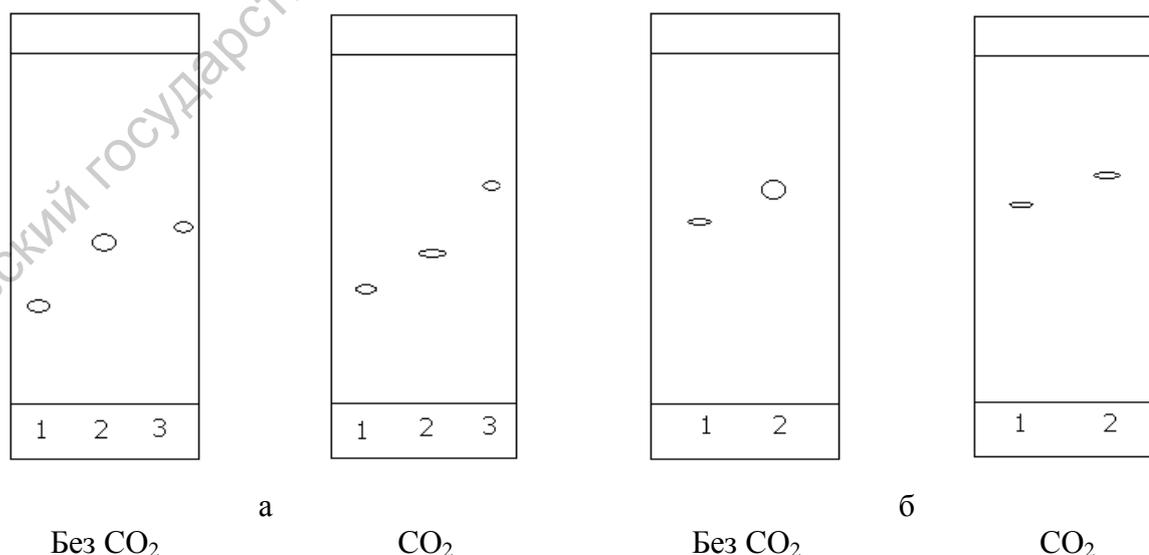


Рис. 24. Хроматограммы сорбатов. ПФ: RP-18 (а), Полиамид (б). ПФ: ацетонитрил-вода (6:4). а) 1 – ДФА, 2 – НФА, 3 – АСК; б) 1 – ДФА, 2 – НФА. Время контакта пластин с CO_2 30 мин.

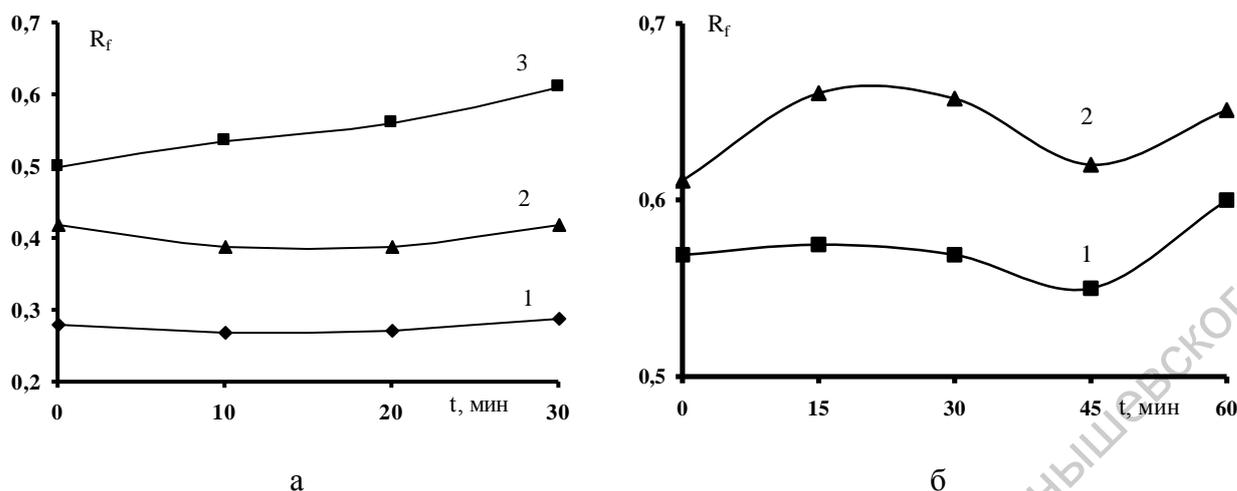


Рис. 25. Зависимости подвижности сорбатов от времени контакта хроматографической системы с CO_2 . НФ: RP-18 (а), Полиамид (б). ПФ: ацетонитрил-вода (6:4). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. а) 1 – ДФА, 2 – НФА, 3 – АСК; б) 1 – ДФА, 2 – НФА.

Таблица 10

Количественные характеристики разделения сорбатов в ПФ изопропанол-вода (6:4) в отсутствие и в присутствии углекислого газа. ($C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М, $n=3$, $P=0.95$)

Сорбат	Эффективность				Разрешение	
	$N \cdot 10^{-2}$		H, мм		R_S^*	
	Без CO_2	В прис. CO_2	Без CO_2	В прис. CO_2	Без CO_2	В прис. CO_2
<i>Полиамид</i>						
ДФА	10	61	0.02	0.005	-	-
НФА	18	21	0.02	0.002	34	88
<i>RP-18</i>						
ДФА	2.8	4.8	0.008	0.005	-	-
АСК	18	20	0.002	0.002	51	95
НФА	2.9	18	0.01	0.002	20	90

* Значения R_S для всех компонентов рассчитаны по отношению к ДФА

Из полученных данных видно, что применение в качестве газового модификатора CO_2 увеличивает подвижность и эффективность разделения, уменьшает (RP-18) или не изменяет (Полиамид) ВЭТТ дифениламина, анилина и 1-нафтиламина. Подобно нитроанилинам CO_2 снижает R_f хроматографических зон этих аминов. Порядок элюирования: ДФА < НФА < АСК на пластинах RP-18 и ДФА < НФА на пластинах Полиамид. Более

компактная молекула 1-нафтиламина имеет большую подвижность, чем молекула дифениламина, содержащая также два фенольных кольца.

3.2.2 Хроматографирование в присутствии паров аммиака

Нитроанилины

Хроматографическое поведение нитроанилинов в ПФ изопропанол-вода (6:4) на пластинах RP-18 и Полиамиде при различном времени контакта с NH_3 показано на рис. 26, 27 а данные по эффективности и селективности хроматографического процесса представлены в табл. 11.

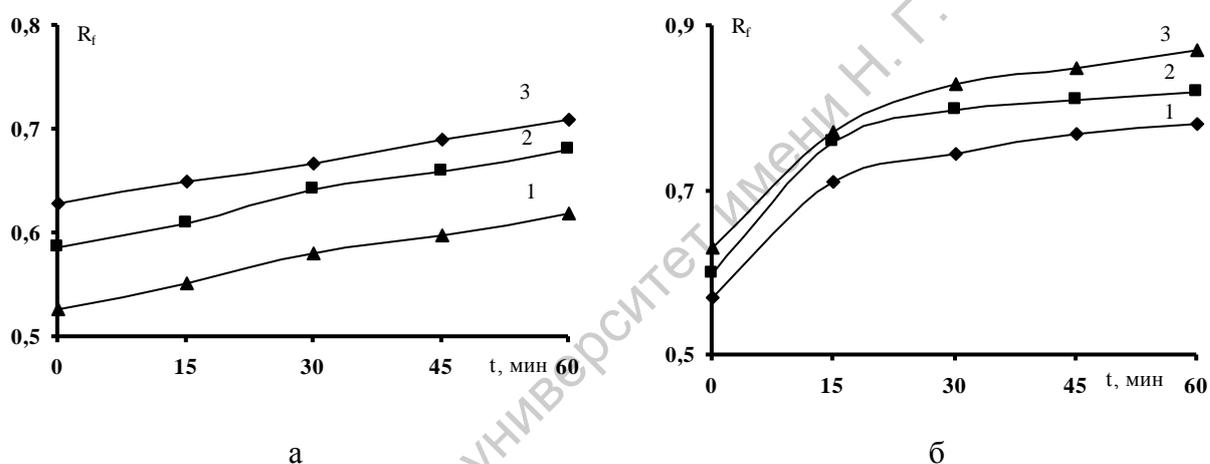


Рис. 26. Зависимости подвижности нитроанилинов от времени контакта хроматографической системы с парами аммиака. НФ: Полиамид (а), RP-18 (б). ПФ: изопропанол-вода (6:4). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. а) 1 – п-НА, 2 – м-НА, 3 – о-НА; б) 1 – о-НА, 2 – м-НА, 3 – п-НА.

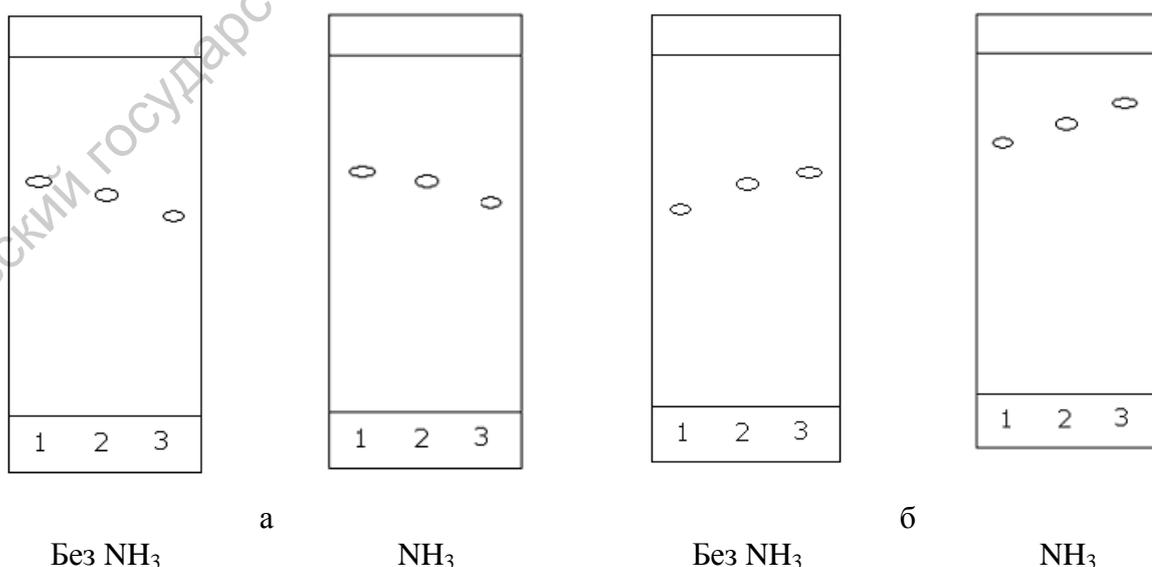


Рис. 27. Хроматограммы индивидуальных нитроанилинов. НФ: Полиамиде (а), RP-18 (б). 1 – о-НА, 2 – м-НА, 3 – п-НА. Время контакта пластин с парами аммиака 30 мин.

**Количественные характеристики разделения сорбатов
в ПФ изопропанол-вода (6:4) в отсутствие и в присутствии паров аммиака.**

$(C_R=1 \cdot 10^{-3} \text{ M}, n=3, P=0.95)$

Сорбат	Эффективность				Разрешение	
	$N \cdot 10^{-2}$		H, мм		R_S *	
	Без NH_3	В прис. NH_3	Без NH_3	В прис. NH_3	Без NH_3	В прис. NH_3
<i>Полиамид</i>						
о-НА	24	26	0.02	0.01	-	-
м-НА	22	22	0.02	0.01	77	88
п-НА	9.0	11	0.003	0.001	83	90
<i>RP-18</i>						
о-НА	4.3	4.5	0.06	0.06	-	-
м-НА	2.0	2.3	0.07	0.06	31	36
п-НА	6.0	8.0	0.13	0.11	29	33

* Значения R_S для всех компонентов рассчитаны по отношению к о-НА.

Из полученных данных видно, что применение NH_3 в качестве газового модификатора, также как и CO_2 , увеличивает подвижность сорбатов, селективность, число теоретических тарелок и уменьшает (Полиамид) или не изменяет (RP-18) ВЭТТ нитроанилинов. Порядок элюирования: п-НА > м-НА > о-НА на пластинах RP-18 и о-НА > м-НА > п-НА на Полиамиде, что соответствует известным тенденциям.

Дифениламин, анилин сернокислый, 1-нафтиламин

Хроматографическое поведение дифениламина, анилина сернокислого и 1-нафтиламина в ПФ изопропанол-вода (6:4) и ацетонитрил-вода (6:4) на пластинах RP-18 и Полиамиде при различном времени контакта с NH_3 показано на рис. 28-31, а данные по эффективности и селективности хроматографического процесса представлены в табл. 12.

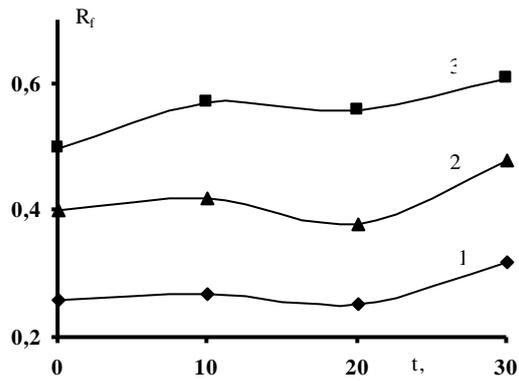


Рис. 28. Зависимости подвижности сорбатов от времени контакта хроматографической системы с парами аммиака.

НФ: RP-18. ПФ: ацетонитрил-вода (6:4).

1 – ДФА, 2 – НФА, 3 – АСК.

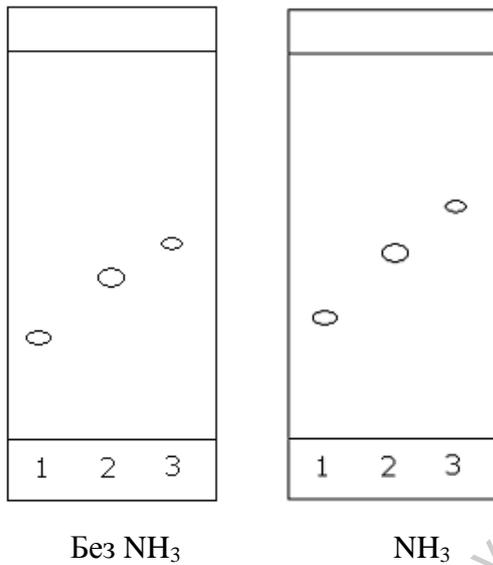
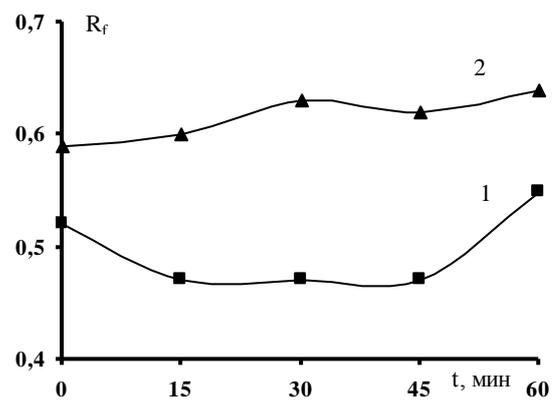
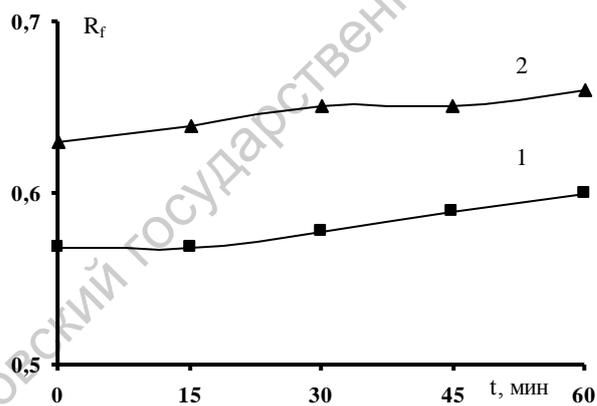


Рис. 29. Хроматограммы сорбатов на RP-18. ПФ: ацетонитрил – вода (6:4). Время контакта пластин с NH_3 30 мин.

1 – ДФА, 2 – НФА, 3 – АСК.



а

б

Рис. 30. Зависимости подвижности сорбатов от времени контакта хроматографической системы с парами аммиака. НФ: Полиамид (а), RP-18 (б). ПФ: изопропанол-вода (6:4).

1 – ДФА, 2 – НФА.

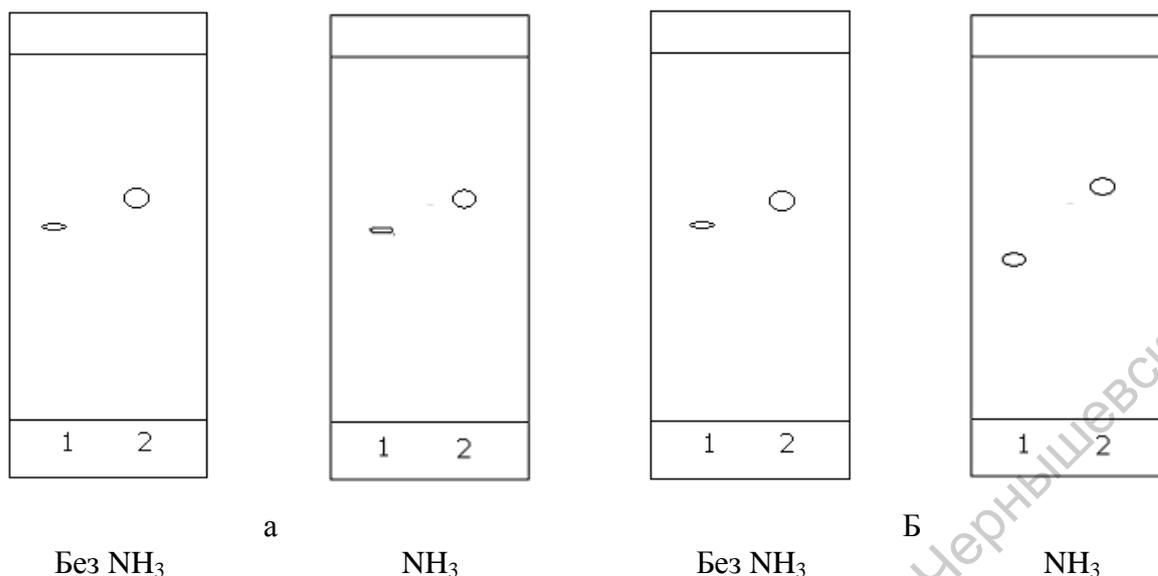


Рис. 31. Хроматограммы сорбатов. НФ: Полиамид (а), RP-18 (б). ПФ: изопропанол-вода (6:4). 1 – ДФА, 2 – 1-НА. Время контакта пластин с NH₃ 30 мин.

Таблица 12

Количественные характеристики разделения сорбатов в отсутствие и в присутствии паров аммиака. ($C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М, $n=3$, $P=0.95$)

Сорбат	Эффективность				Разрешение	
	$N \cdot 10^{-2}$		H, мм		R_s^*	
	Без NH ₃	В прис. NH ₃	Без NH ₃	В прис. NH ₃	Без NH ₃	В прис. NH ₃
<i>НФ: Полиамид, ПФ: изопропанол-вода (6:4)</i>						
ДФА	10	59	0.02	0.009	-	-
НФА	18	20	0.02	0.002	34	48
<i>НФ: RP-18, ПФ: изопропанол-вода (6:4)</i>						
ДФА	14	1.6	0.03	0.03	-	-
НФА	17	19	0.02	0.02	63	70
<i>НФ: RP-18, ПФ: ацетонитрил-вода (6:4)</i>						
ДФА	2.8	4.0	0.008	0.006	-	-
АСК	18	19	0.002	0.002	51	80
НФА	2.9	17	0.01	0.009	20	75

* Значения R_s для всех компонентов рассчитаны по отношению к ДФА

Анализ полученных данных показывает, что изменения хроматографических характеристик ароматических аминов на пластинах RP-18 и Полиамиде при обработке парами аммиака подобны влиянию CO₂.

3.3 Практические рекомендации

Таким образом установлено, что при хроматографировании на нормальной фазе в присутствии газов (паров) как кислотного так и основного характера подвижность основных сорбатов изменяется. Углекислый газ и пары этанола увеличивают подвижность и сжимают хроматографические зоны нитроанилинов; пары уксусной кислоты и аммиака уменьшают подвижность и размывают зоны. Подвижность на немодифицированных пластинах Сорбфил больше, чем на пластинах Силуфол, что можно объяснить участием в удерживании сорбатов крахмала, присутствующего в сорбенте пластин Силуфол в качестве связующего вещества. На Силуфоле и Сорбфиле (ПП) как кислотные так и основные газы-модификаторы изменяют эффективность и разрешение хроматографических зон нитроанилинов: CO_2 и $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ улучшают, NH_3 и CH_3COOH – ухудшают эти параметры.

При хроматографировании на обращенной фазе и Полиамиде CO_2 и NH_3 увеличивают подвижность аминов. Порядок элюирования на Полиамиде соответствует нормальной фазе, на пластинах RP-18 меняется на обратный. В отличие от аммиака, CO_2 сжимает хроматографические зоны. В целом, модифицирование газовой фазы при разделении основных сорбатов в обращенно-фазовом варианте хроматографирования заметных преимуществ не дает. Поэтому при их хроматографировании на пластинах RP-18 и Полиамиде использование газа-модификатора целесообразно только в отдельных случаях. Для ряда систем в присутствии CO_2 и NH_3 число теоретических тарелок растет, в ВЭТТ уменьшается, т.е. разрешение хроматографических зон увеличивается.

Глава 4 ВЛИЯНИЕ МОДИФИКАТОРОВ ГАЗОВОЙ ФАЗЫ НА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАЗДЕЛЕНИЕ БЕНЗОЙНЫХ КИСЛОТ

4.1 НОРМАЛЬНАЯ ФАЗА

Хроматографическое поведение бензойных кислот в подобранных оптимальных подвижных фазах изучали в присутствии углекислого газа, паров аммиака, уксусной кислоты и этанола на пластинах Сорбфил (ПП) и Силуфол при различном времени контакта с газовыми модификаторами.

4.1.1 Хроматографирование в присутствии углекислого газа

Результаты влияния CO_2 на пластинах Сорбфил (ПП) и Силуфол представлены на рис. 32, 33, а данные по эффективности и селективности хроматографического процесса представлены в табл. 13.

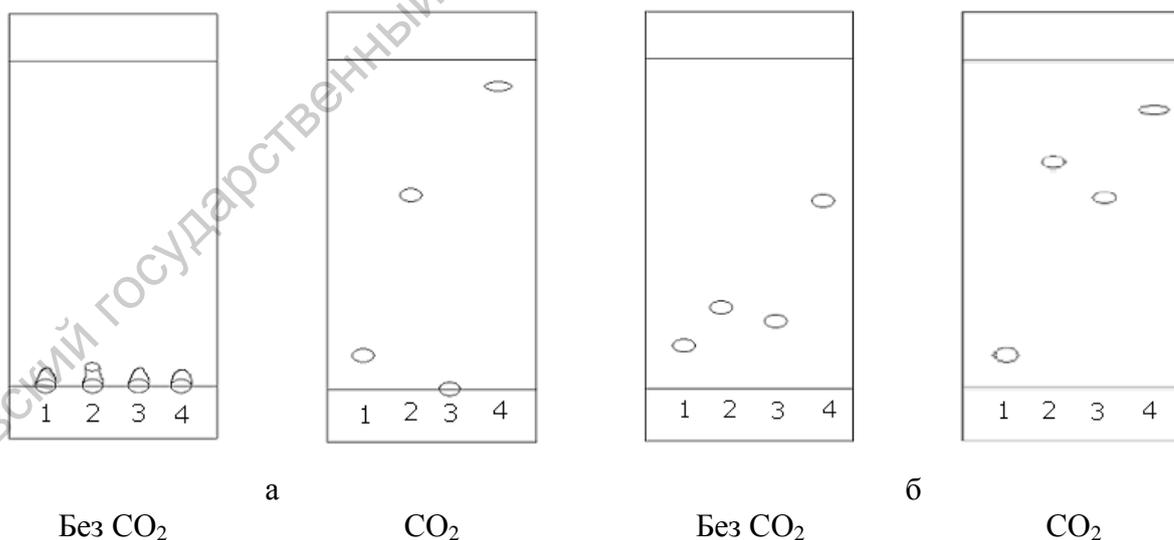


Рис. 32. Хроматограммы индивидуальных бензойных кислот в отсутствие и присутствии углекислого газа. НФ: Сорбфил (ПП) (а), Силуфол (б). ПФ: гексан-изопропанол (9.5:0.5). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. 1 – о-СБК, 2 – п-СБК, 3 – о-ВгБК, 4 – п-ВгБК. Газ находился в камере в процессе всего разделения. Время разделения 20 мин.

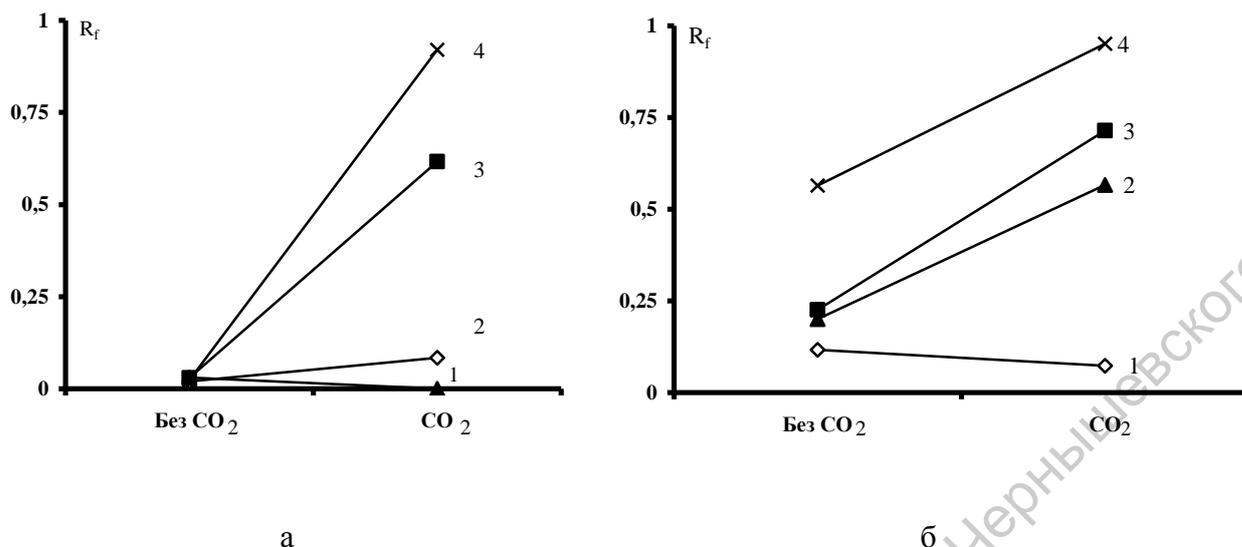


Рис. 33. Зависимость подвижности бензойных кислот от контакта хроматографической системы с углекислым газом. НФ: Сорбфил (ПП) (а), Силуфол (б). ПФ: гексан-изопропанол (9.5:0.5). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. а) 1 – о-ВгБК 2 – о-СгБК, 3 – п-СгБК, 4 – п-ВгБК; б) 1 – о-СгБК, 2 – о-ВгБК, 3 – п-СгБК, 4 – п-ВгБК. Время разделения 20 мин.

Таблица 13

Параметры эффективности и селективности разделения бензойных кислот в отсутствие и в присутствии углекислого газа в хроматографической камере.

ПФ: гексан-изопропанол (9.5:0.5). ($C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М., $n=3$, $P=0.95$)

Сорбат	Эффективность				Разрешение	
	$N \cdot 10^{-2}$		H, мм		R_S^*	
	Без CO_2	В прис. CO_2	Без CO_2	В прис. CO_2	Без CO_2	В прис. CO_2
<i>Сорбфил (ПП)</i>						
о-СгБК	0.12	1.0	5.7	0.68	-	-
п-СгБК	0.12	20	5.7	0.034	0.59	8.5
о-ВгБК	0.12	0.12	5.7	5.7	0.55	3.2
п-ВгБК	0.12	1.0	5.7	0.0070	0.59	9.9
<i>Силуфол</i>						
о-СгБК	0.18	0.44	0.11	1.6	-	-
п-СгБК	26	25	0.027	0.028	3.0	5.3
о-ВгБК	18	20	0.039	0.034	2.8	4.8
п-ВгБК	38	1.7	0.019	0.0042	4.4	6.2

* Значения R_S для всех компонентов рассчитаны по отношению к о-СгБК

Как следует из полученных данных, атмосфера углекислого газа на пластинах Сорбфил (ПП) сильно дифференцирует подвижность бензойных кислот: значения R_f резко возрастают только для п-замещенных кислот, зона о-СгБК незначительно сдвигается с места старта, а зона о-ВгБК остается на

старте. Также с увеличением подвижности происходит сжатие хроматографических зон, что служит основой для улучшения их разделения. Существенно меняются параметры эффективности и селективности: N возрастает в 8-800 раз, R_S в 14-16 раз. Пластины Силуфол менее эффективны для бензойных кислот, так как только для *p*-ВrБК число теоретических тарелок возрастает в ~64 раза, для *o*-СlБК – в 2 раза, а для остальных кислот практически не меняются. Значение R_S увеличивается в 1.5 раза.

4.1.2 Хроматографирование в присутствии уксусной кислоты

Результаты влияния уксусной кислоты представлены на рис. 34, 35. параметры эффективности и селективности хроматографического процесса представлены в табл. 14.

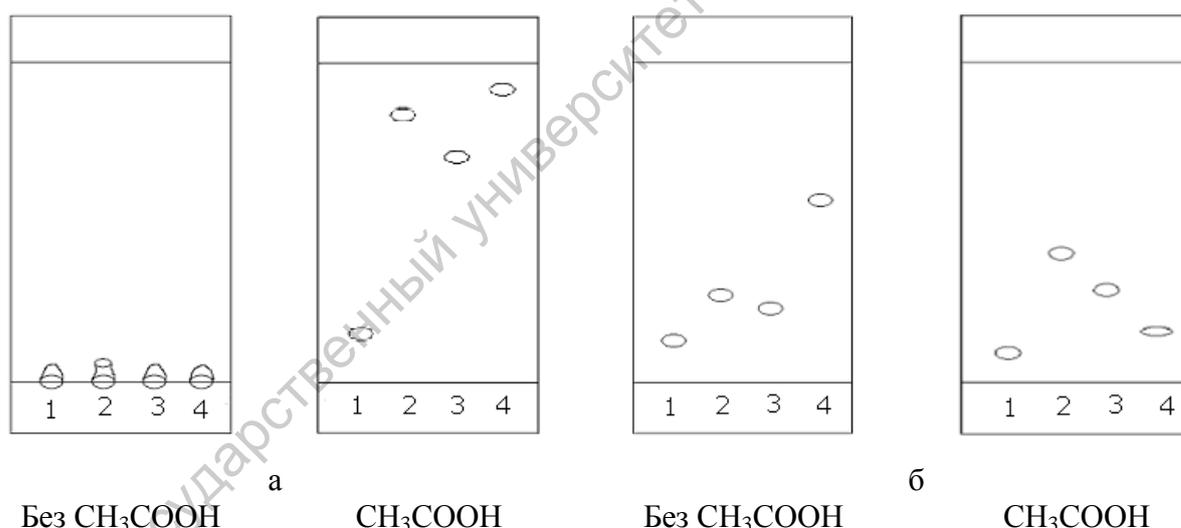


Рис. 34. Хроматограммы бензойных кислот в отсутствие и в присутствии паров уксусной кислоты. НФ: Сорбфил (ПП) (а), Силуфол (б). ПФ: гексан-изопропанол (9.5:0.5). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$. М. 1 – *o*-СlБК, 2 – *p*-СlБК, 3 – *o*-ВrБК, 4 – *p*-ВrБК. Время разделения 20 мин. Газ находился в камере в процессе всего разделения.

Как следует из полученных данных, присутствие паров CH_3COOH влияет на хроматографическое поведение бензойных кислот лишь на пластинах Сорбфил (ПП): их R_f значительно возрастают. Особенно сильно увеличивается R_f для *p*-СlБК, *o*-ВrБК и *p*-ВrБК. Хроматографическая подвижность большинства БК на Силуфоле под влиянием паров CH_3COOH

изменяется незначительно, но разнонаправлено (рис. 35 б). Для о-С1БК, п-ВrБК значения R_f несколько уменьшаются, для п-С1БК и о-ВrБК возрастают. В результате происходит изменение порядка хроматографирования БК: п-ВrБК элюируется не четвертой, а второй..

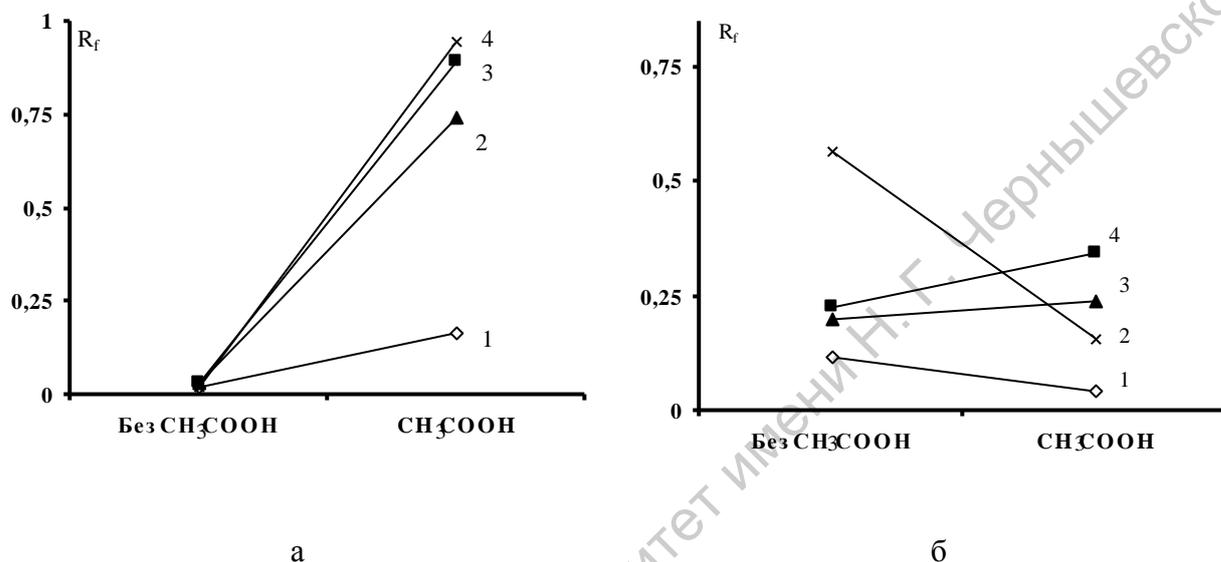


Рис. 35. Влияние паров уксусной кислоты на подвижность бензойных кислот. НФ: Сорбфил (III) (а), Силуфол (б). ПФ: гексан-изопропанол (9.5:0.5). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. а) 1 – о-С1БК, 2 – о-ВrБК, 3 – п-С1БК, 4 – о-ВrБК; б) 1 – о-С1БК, 2 – п-ВrБК, 3 – о-ВrБК, 4 – п-С1БК. Время разделения 20 мин.

Таблица 14

Параметры эффективности и селективности разделения бензойных кислот в отсутствие и в присутствии уксусной кислоты в хроматографической камере. ПФ: гексан-изопропанол (9.5:0.5). ($C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М., $n=3$, $P=0.95$)

Сорбат	Эффективность				Разрешение	
	$N \cdot 10^{-2}$		H, мм		R_S^*	
	Без CH_3COOH	В прис. CH_3COOH	Без CH_3COOH	В прис. CH_3COOH	Без CH_3COOH	В прис. CH_3COOH
<i>Сорбфил (III)</i>						
о-С1БК	0.12	2.5	5.7	0.28	-	-
п-С1БК	0.12	18	5.7	0.039	0.59	20
о-ВrБК	0.12	6.0	5.7	0.12	0.55	19
п-ВrБК	0.12	22	5.7	0.032	0.59	20
<i>Силуфол</i>						
о-С1БК	0.18	6.1	0.11	3.7	-	-
п-С1БК	26	11	0.027	0.062	3.0	11
о-ВrБК	18	9.3	0.039	0.075	2.8	9.3
п-ВrБК	38	8.3	0.019	0.084	4.4	8.0

* Значения R_S для всех компонентов рассчитаны по отношению к о-СБК.

На любой пластинке ТСХ использование паров уксусной кислоты приводит к большему разделению компонентов, чем в отсутствие данного модификатора, что подтверждается расчетами эффективности и селективности разделения (табл. 14). Эффективность и селективность разделения существенно улучшается на Сорбфиле. Так, величины N для бензойных кислот при хроматографировании в присутствии паров CH_3COOH возрастают в 4-180 раз, пропорционально значениям N уменьшаются величины H . Разрешение в хроматографической системе увеличивается в 13-14 раз. Эффекты влияния CH_3COOH имеют много общего с влиянием углекислого газа.

4.1.3 Хроматографирование в присутствии паров этанола

Хроматографическое поведение бензойных кислот в присутствии паров этанола в камере показано на рис. 36, 37. Результаты расчета параметров эффективности и селективности приведены в табл. 15.

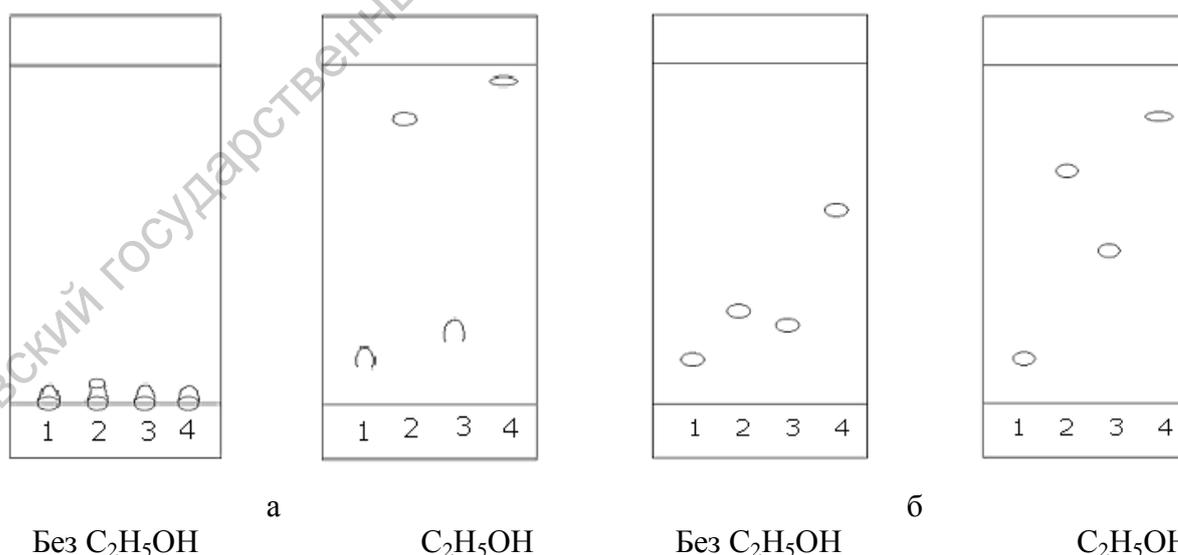


Рис. 36. Хроматограммы бензойных кислот в отсутствие и в присутствии паров этанола НФ: Сорбфил (III) (а), Силуфол (б). ПФ: гексан-изопропанол (9.5:0.5). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. 1 – о-СБК, 2 – п-СБК, 3 – о-ВгБК, 4 – п-ВгБК. Время разделения 20 мин. Газ находился в камере в процессе всего разделения.

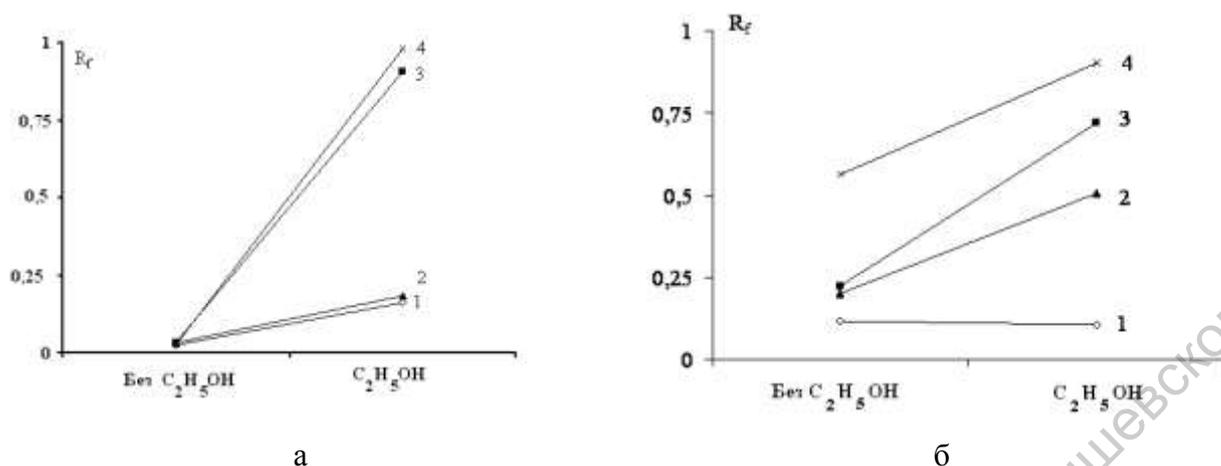


Рис. 37. Влияние паров этанола на подвижность бензойных кислот. НФ: Сорбфил (ПП) (а), Силуфол (б). ПФ: гексан-изопропанол (9.5:0.5). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. 1 – о-СІБК, 2 – о-ВrБК, 3 – п-СІБК, 4 – п-ВrБК. Время разделения 20 мин.

Таблица 15

Параметры эффективности и селективности разделения бензойных кислот в отсутствие и в присутствии паров этанола в хроматографической камере. ПФ: гексан-изопропанол (9.5:0.5). ($C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М., $n=3$, $P=0.95$)

Сорбат	Эффективность				Разрешение	
	$N \cdot 10^{-2}$		Н, мм		R_S^*	
	Без C_2H_5OH	В прис. C_2H_5OH	Без C_2H_5OH	В прис. C_2H_5OH	Без C_2H_5OH	В прис. C_2H_5OH
<i>Сорбфил (ПП)</i>						
о-СІБК	0.12	0.48	5.7	1.4	-	-
п-СІБК	0.12	1.3	5.7	0.006	-	10
о-ВrБК	0.12	2.3	5.7	0.031	0.59	7.4
п-ВrБК	0.12	50	5.7	0.013	0.55	10
<i>Силуфол</i>						
о-СІБК	0.18	0.28	0.11	2.5	-	-
п-СІБК	26	38	0.027	0.018	3.0	5.7
о-ВrБК	18	47	0.039	0.003	2.8	5.3
п-ВrБК	38	1.5	0.019	0.0045	4.4	6.5

* Значения R_S для всех компонентов рассчитаны по отношению к о-СІБК.

Из рис. 37 видно, что пары этанола мало влияют на подвижность на Сорбфиле о-замещенных БК и сильно на п-замещенные. В присутствии газа меняется форма хроматографических зон. Так, на Сорбфиле (ПП) нижние границы хроматографических зон о-СІБК и о-ВrБК размыты и имеют вытянутую форму, п-СІБК и п-ВrБК, наоборот, сжаты. На Силуфоле в присутствии C_2H_5OH подвижность трех БК растет и зоны сжимаются. Наиболее существенное изменение в значениях N и H наблюдается для п-

СБК. Число теоретических тарелок в присутствии газа возросло в 1000, а разрешение увеличилось в 20 раз.

Рассмотренное поведение кислот может быть объяснено тем, что пары CH_3COOH , $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ и CO_2 лучше сорбируются на хроматографической пластине, чем бензойные кислоты, поэтому вытесняют их с поверхности НФ и способствуют последующему переносу ПФ. Таким образом, поведение БК на пластинах Силуфол и Сорбфил (ПП) является однотипным и свидетельствует о позитивном влиянии кислотных и нейтральных модификаторов на разделение этих сорбатов.

4.1.4 Хроматографирование в присутствии аммиака

Влияние паров аммиака на разделение кислот показано на рис. 38, 39.

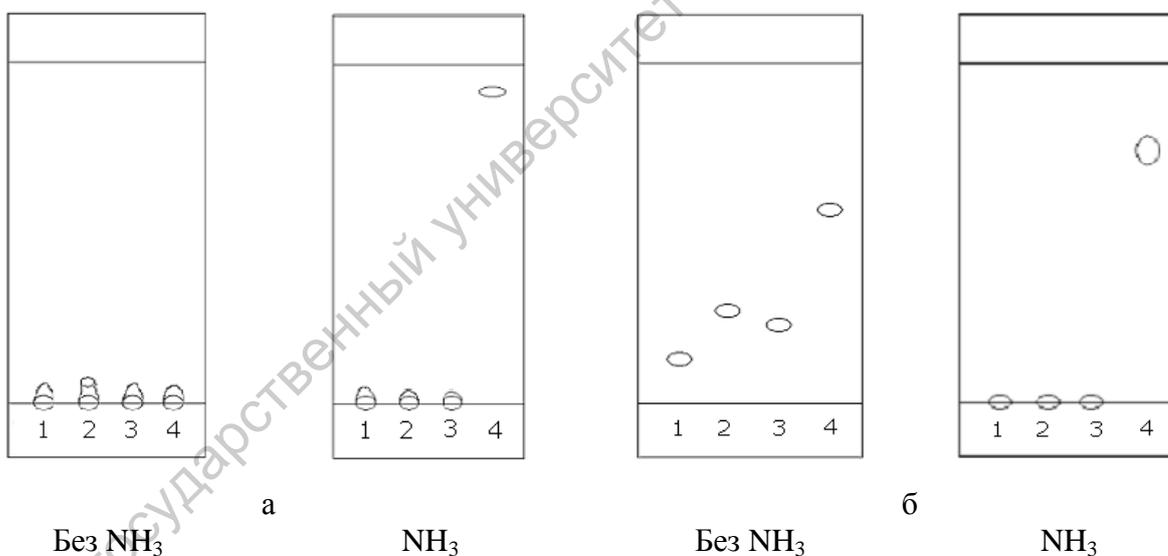


Рис. 38. Хроматограммы бензойных кислот в отсутствие и в присутствии аммиака. Время контакта пластин с NH_3 15 мин. Газ находился в камере в процессе всего разделения. НФ: Сорбфил (ПП) (а), Силуфол (б). ПФ: гексан-изопропанол (9.5:0.5). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. 1 – о-СБК, 2 – п-СБК, 3 – о-ВгБК, 4 – п-ВгБК.

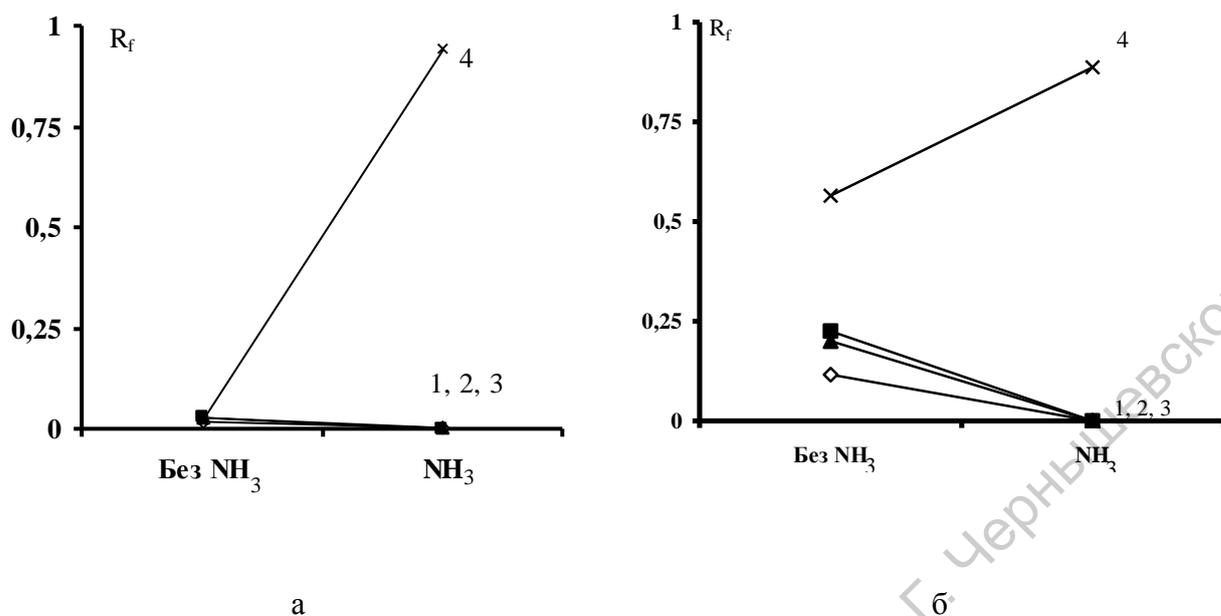


Рис. 39. Влияние паров NH_3 на подвижность бензойных кислот. НФ: Сорбфил (ПП) (а), Силуфол (б). ПФ: гексан-изопропанол (9.5:0.5). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. 1 – о-СБК, 2 – о-ВгБК, 3 – п-СБК, 4 – п-ВгБК. Время разделения 15 мин.

Таким образом, влияние паров аммиака на хроматографическое поведение бензойных кислот оказалось в целом однотипным для обоих сорбента. На обеих пластинках резко возросла подвижность только п-ВгБК, остальные кислоты либо остались на линии старта (Сорбфил), либо их подвижность неожиданно упала до нуля (Силуфол). Аномальное поведение п-ВгБК отмечалось и во многих других случаях. Если предположить, что насыщение подвижной фазы аммиаком приводит к диссоциации как кислот, так и силанольных групп сорбента, то отсутствие подвижности анионных форм других кислот объяснения не находит.

Обобщённые данные по хроматографическому поведению бензойных кислот на пластинках с нормальной фазой приведены на рис. 40.

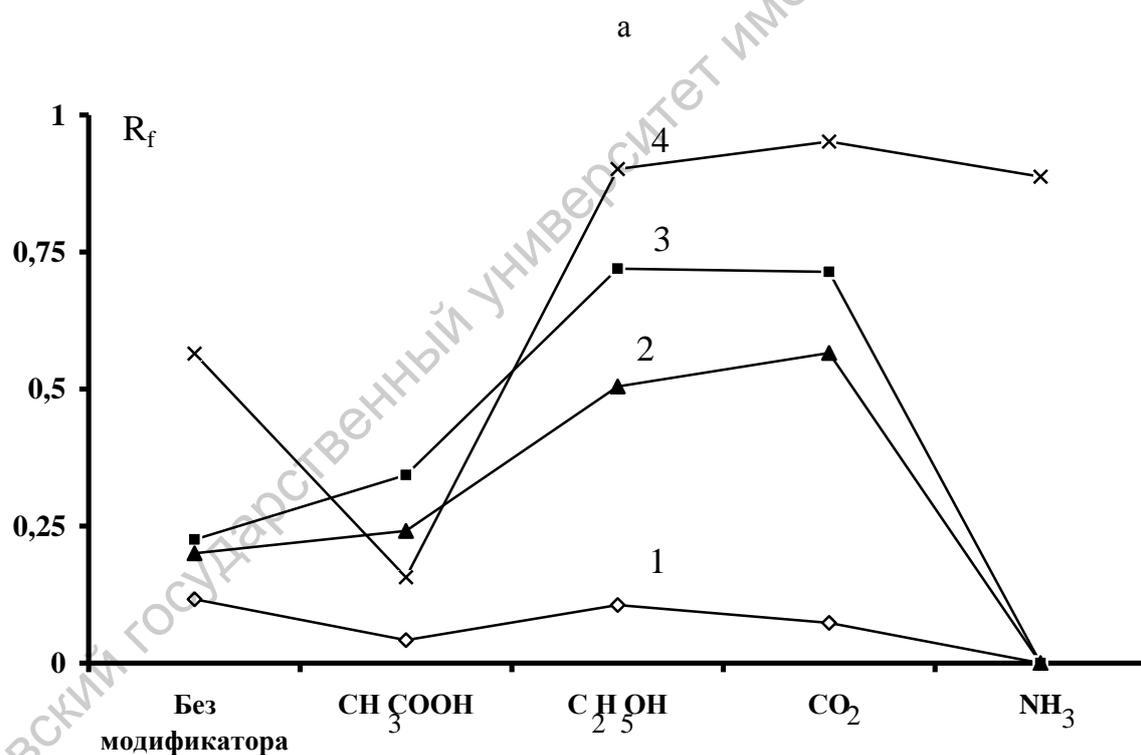
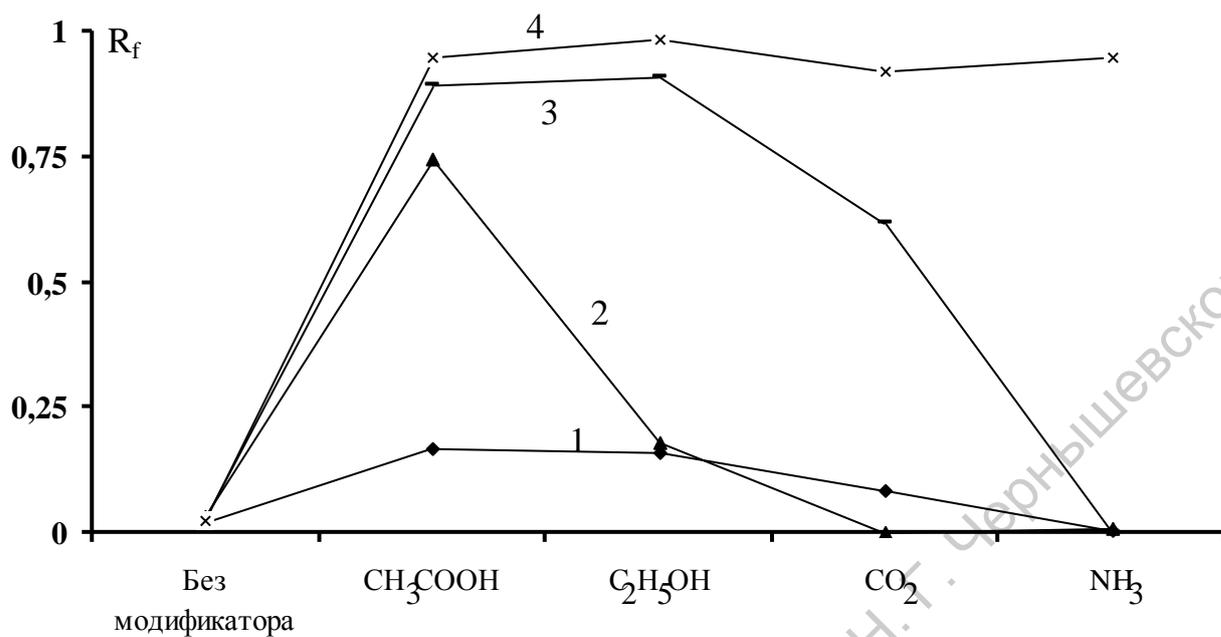


Рис. 40. Сводные данные для НФ Сорбфил (ПП) (а), Силуфол (б). 1 – о-СІБК, 2 – о-ВгБК, 3 – п-СІБК, 4 – п-ВгБК.

Таким образом, хроматографирование бензойных кислот на нормальной фазе показало, что лучшими модификаторами являются “кислотные” газы: CO₂ и пары уксусной кислоты. Следовательно их

позитивный эффект связан с однотипным влиянием газов на химические формы бензойных кислот и на их взаимодействие с сорбентом.

Несмотря на то, что пары этанола непосредственно не влияют на кислотные свойства сорбатов и сорбента, их модифицирующее действие, связанное с сольватационными эффектами, также велико.

4.2 ОБРАЩЕННАЯ ФАЗА И ПОЛИАМИД

В водно-изопропанольных подвижных фазах нами изучено хроматографическое поведение бензойных кислот на слабополярных пластинах Полиамид и обращенной фазе RP-18 при различном времени контакта с газовыми модификаторами.

4.2.1 Хроматографирование в присутствии углекислого газа

Типичные хроматограммы изомеров индивидуальных бензойных кислот в обычных условиях и при воздействии CO_2 представлены на рис. 41, 42, а данные по эффективности и хроматографического процесса – в табл. 16.

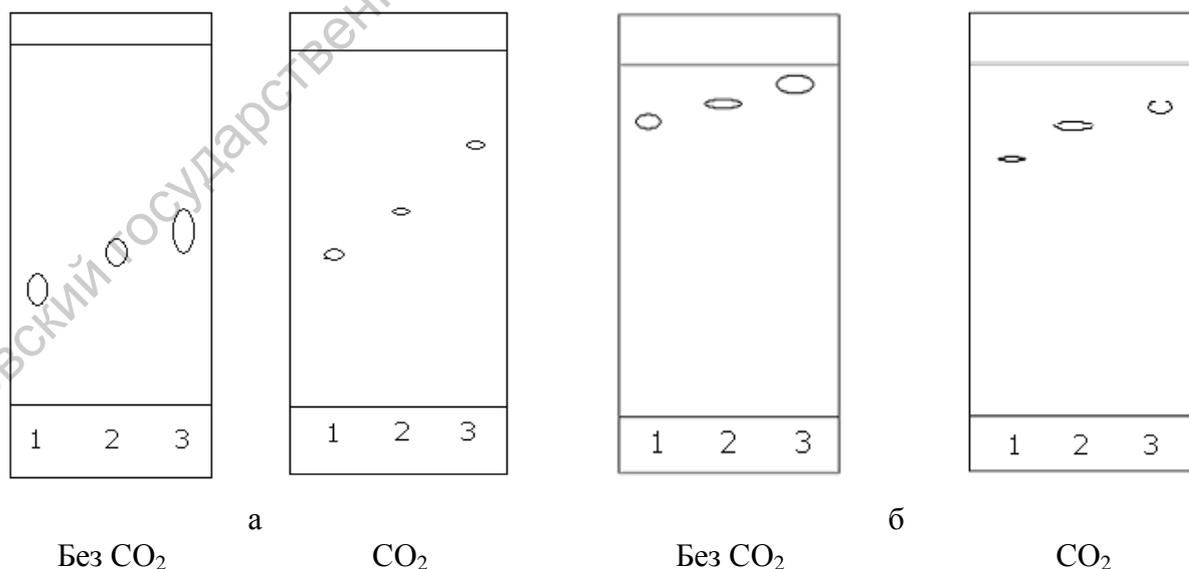


Рис. 41. Хроматограммы бензойных кислот в отсутствие и в присутствии CO_2 . НФ: Полиамид (а), RP-18 (б). ПФ: изопропанол-вода (6:4). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. а) 1 – м-НБК, 2 – м-АБК, 3 – БК; б) 1 – м-НБК, 2 – БК, 3 – м-АБК. Время контакта пластин с CO_2 60 мин.

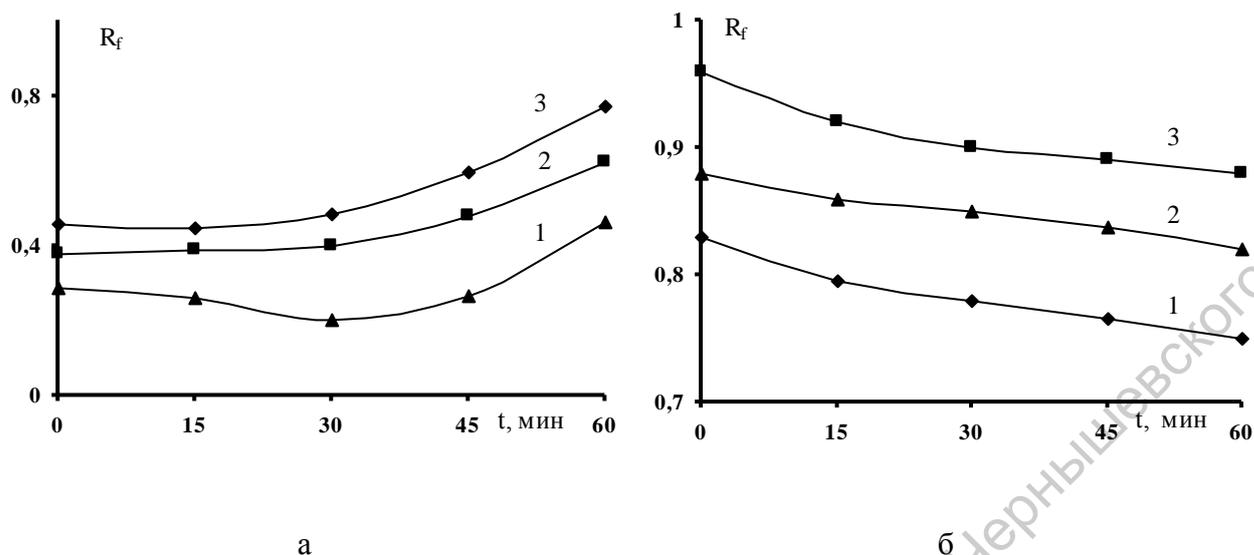


Рис. 42. Зависимости подвижности бензойных кислот от времени контакта хроматографической системы с CO_2 . НФ: Полиамид (а), RP-18 (б). ПФ: изопропанол-вода (6:4). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. а) 1 – м-НБК, 2 – м-АБК, 3 – БК; б) 1 – м-НБК, 2 – БК, 3 – м-АБК.

Таблица 16

Параметры эффективности разделения селективности и разрешения бензойных кислот в отсутствие и в присутствии CO_2 в хроматографической камере. ПФ: изопропанол-вода (6:4). Время контакта пластин с CO_2 60 мин.

($C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М., $n=3$, $P=0.95$)

Сорбат	Эффективность				Разрешение	
	$N \cdot 10^{-2}$		H, мм		R_S^*	
	Без CO_2	В прис. CO_2	Без CO_2	В прис. CO_2	Без CO_2	В прис. CO_2
<i>Полиамид</i>						
м-НБК	0.26	1.1	2.7	0.64	19	91
м-АБК	0.83	7.7	0.85	0.091	18	85
БК	2.4	32	0.29	0.022	-	-
<i>RP-18</i>						
м-НБК	83	7.6	0.003	0.03	39	34
м-АБК	22	8.6	0.016	0.041	32	34
БК	41	6.1	0.01	0.067	-	-

* Значения R_S для всех компонентов рассчитаны по отношению к БК

Как видно из рис. 41 (а) и 42 (а) в отсутствие углекислого газа хроматографические зоны нитро- и аминобензойных кислот имеют вытянутую форму и их разрешение с практической точки зрения неудовлетворительно. В присутствии CO_2 в герметичной камере зоны кислот сжимаются, значения R_f и ΔR_f между ними увеличиваются и за счет этого на

Полиамиде происходит улучшение разделения, что подтверждается расчетом N , H и R_S (табл. 16). На пластинах RP-18 такие эффекты не наблюдаются. Присутствие CO_2 на разделение галогензамещенных бензойных кислот на обращенной фазе практически не влияет (табл. 17).

Таблица 17

Параметры эффективности и разрешения бензойных кислот в отсутствии и в присутствии паров аммиака в хроматографической камере. НФ: RP-18, ПФ: изопропанол-вода (6:4). ($C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М., $n=3$, $P=0.95$)

Сорбат	Эффективность				Разрешение	
	$N \cdot 10^{-3}$		H , мм		R_S^*	
	Без CO_2	В прис. CO_2	Без CO_2	В прис. CO_2	Без CO_2	В прис. CO_2
о-СБК	33	35	0.001	0.001	-	-
п-СБК	4.9	7.1	0.007	0.005	32	35
о-BrБК	31	16	0.001	0.002	34	36
п-BrБК	0.72	0.32	0.023	0.051	27	28

* Значения R_S^* для всех компонентов рассчитаны по отношению к о-СБК

4.2.2 Хроматографирование в присутствии аммиака

Хроматографическое поведение исследуемых систем в присутствии аммиака на пластинах содержащих Полиамид и RP-18 показано на рис. 43, 44, а результаты расчета количественных характеристик разделения – в табл. 18.

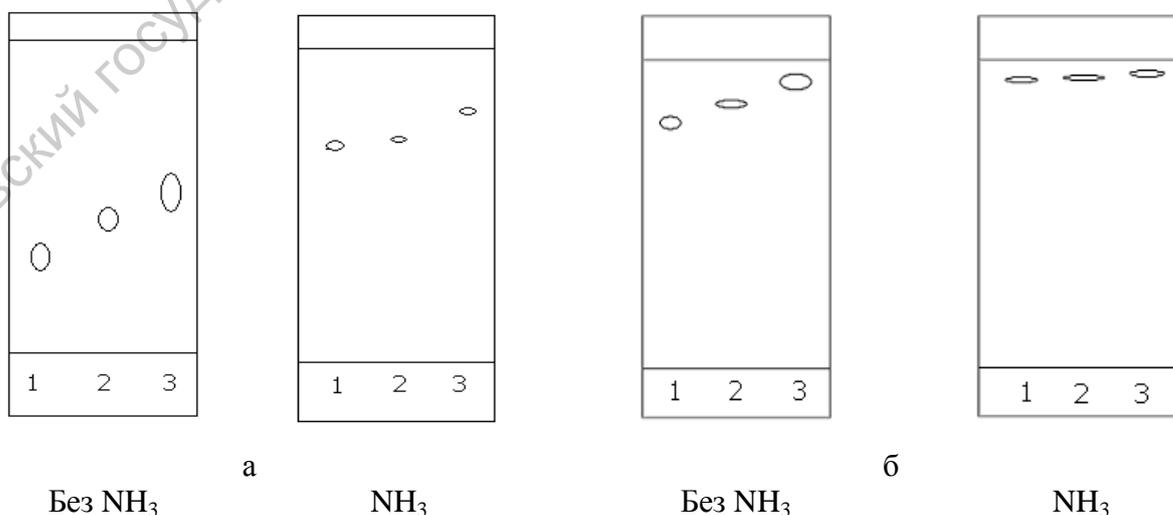


Рис. 43. Хроматограммы индивидуальных бензойных кислот в отсутствие и в присутствии паров NH_3 в хроматографической камере. НФ: Полиамид (а), RP-18 (б). ПФ: изопропанол-

вода (6:4). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. а) 1 – м-НБК, 2 – м-АБК, 3 – БК; б) 1 – м-НБК, 2 – БК, 3 – м-АБК.
Время контакта пластин с NH_3 60 мин.

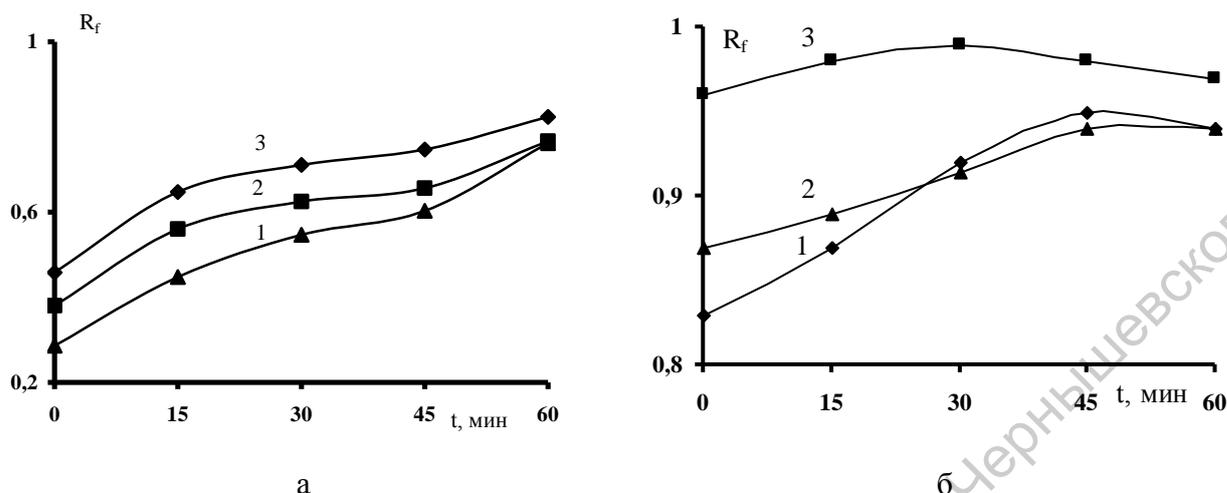


Рис. 44. Зависимости подвижности бензойных кислот от времени контакта хроматографической системы с NH_3 . НФ: Полиамид (а), RP-18 (б). ПФ: изопропанол-вода (6:4). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. а) 1 – м-НБК, 2 – м-АБК, 3 – БК; б) 1 – м-НБК, 2 – БК, 3 – м-АБК.

Таблица 18

Параметры эффективности разделения и разрешение бензойных кислот в отсутствие и в присутствии NH_3 в хроматографической камере. Время контакта пластин с NH_3 60 мин. ($C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М., $n=3$, $P=0.95$)

Сорбат	Эффективность				Разрешение	
	$N \cdot 10^{-2}$		H, мм		R_S^*	
	Без NH_3	В прис. NH_3	Без NH_3	В прис. NH_3	Без NH_3	В прис. NH_3
<i>Полиамид</i>						
м-НБК	0.26	17	2.7	0.041	19	29
м-АБК	0.83	14	0.85	0.051	18	29
БК	2.4	2.8	0.29	0.25	-	-
<i>RP-18</i>						
м-НБК	83	92	0.10	0.086	$39 \cdot 10^{-1}$	$40 \cdot 10^{-1}$
м-АБК	22	36	0.086	0.080	$32 \cdot 10^{-1}$	$40 \cdot 10^{-1}$
БК	41	1.4	0.12	0.084	-	-

* Значения R_S для всех компонентов рассчитаны по отношению к БК

Экспериментальные данные, полученные при изучении NH_3 , свидетельствуют о том, что этот модификатор, как и CO_2 сжимает хроматографические зоны. Следствием является улучшение эффективности разделения. В меньшей степени меняется селективность, поскольку ΔR_f уменьшается. При сравнении разделения БК, м-АБК, м-НБК на Полиамиде и RP-18 видно, что NH_3 более эффективен при разделении на Полиамиде (табл.

18). Галогензамещенные бензойные кислоты существенно улучшают параметры эффективности и селективности и на обращенно-фазовых пластинах (табл. 19).

Таблица 19

Параметры эффективности и разрешение бензойных кислот в отсутствие и в присутствии паров аммиака в хроматографической камере. НФ: RP-18, ПФ: изопропанол-вода (6:4). ($C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М., $n=3$, $P=0.95$)

Сорбат	Эффективность				Разрешение	
	$N \cdot 10^{-3}$		H, мм		R_S^*	
	Без NH_3	В прис. NH_3	Без NH_3	В прис. NH_3	Без NH_3	В прис. NH_3
o-СІБК	32	1.3	0.001	0.0002	-	-
п-СІБК	4.9	31	0.007	0.001	32	49
o-BrBK	31	33	0.001	0.001	34	30
п-BrBK	0.72	14	0.023	0.011	27	40

* Значения R_S^* для всех компонентов рассчитаны по отношению к o-СІБК

4.3 Практические рекомендации

Для пластин Полиамид найдено, что с увеличением времени контакта хроматографической системы с аммиаком и углекислым газом подвижность сорбатов увеличивается при одновременном улучшении эффективности хроматографического разделения. Для пластин RP-18 при использовании углекислого газа наблюдается уменьшение подвижности кислот, при этом селективность разделения практически не меняется. Показано, что с увеличением времени контакта хроматографической системы с аммиаком подвижность сорбатов несколько увеличивается, а селективность разделения также не меняется.

Установлено, что эффекты в нормально-фазовой и обращенно-фазовой ТСХ однотипны. Однако в большей степени выражены для нормальной фазы и кислотных сорбатов. Пропускание газа, имеющего кислый и основной характер, приводит к динамическому, постепенному и направленному изменению химической формы разделяемых кислот и оснований. Измерение

кислотности подвижной фазы при использовании пластин RP-18 показало, что указанные явления связаны с уменьшением величины рН с 6.6 до 3.0 при пропускании CO_2 и увеличением рН с 6.6 до 10.2 при пропускании NH_3 . В первом случае протолитическое равновесие в растворах бензойных кислот $\text{HA} \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{A}^-$ смещалось влево, а во втором – вправо. Таким образом, уменьшение подвижности бензойных кислот в присутствии CO_2 обусловлено появлением в процессе элюирования менее полярной химической формы HA , которая сильнее сорбируется малополярной (Полиамид) или неполярной (RP-18) неподвижной фазой. Последовательная, а не одновременная диссоциация разделяемых бензойных кислот, которая имеет место в традиционном подходе, является, по нашему мнению, основной причиной дифференциации хроматографических свойств компонентов разделяемой смеси.

Глава 5 ТСХ ФЕНОЛОВ. ВЛИЯНИЕ ГАЗООБРАЗНЫХ МОДИФИКАТОРОВ

В качестве модельных соединений выбраны производные фенола, содержащие электронодонорные и электроноакцепторные заместители, изменяющие кислотно-основные свойства фенольной ОН-группы. Модификаторами газовой фазы являлись газообразные CO_2 и NH_3 . Предварительное изучение показало, что на силикагеле (нормальная фаза) хроматографические зоны фенолов сильно размыты и получить удовлетворительное разделение не удастся. В связи с этим хроматографическое поведение фенольных соединений, эффективность и селективность их разделения оценивали только на пластинах с неполярной неподвижной фазой RP-18.

5.1 Хроматографирование в присутствии углекислого газа

Хроматографирование проводили в водно-изопропанольных ПФ в отсутствие и в присутствии газового модификатора, варьируя время контакта пластинки с газовым модификатором. Результаты исследований представлены на рис. 45, 46 и в табл. 20. Из рис. 45 видно, что при введении в ТСХ-камеру углекислого газа общая картина хроматографического поведения фенолов не меняется. Более детальное изучение показало, что при действии газа подвижность фенолов незначительно (в пределах 0.2 ед. R_f) уменьшается (рис. 46), причем практически на одну и ту же величину для всех фенолов. Это наблюдение подтверждается и характером зависимости величин R_f от времени действия CO_2 . Следовательно, действие углекислого газа является универсальным и связано, вероятно, с протонизацией небольшого процента гидроксильных групп, которые присутствовали в сорбированных на поверхности пластинки фенолах и протонизации немодифицированных ОН-групп сорбента. Подвижность

недиссоциированных фенолов, в результате усиления взаимодействия их с поверхностью сорбента, уменьшается. Из табл. 20 также следует, что эффективность и разрешение зон ТСХ либо не изменяются, либо немного уменьшаются, т.е. действие CO_2 не дает существенных положительных результатов.

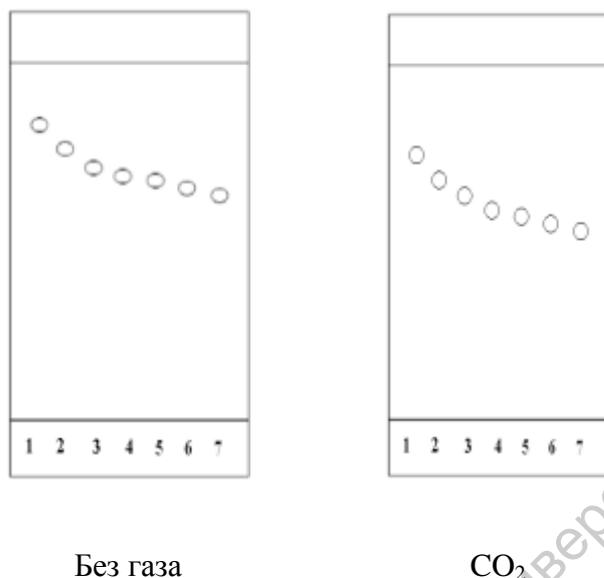


Рис. 45. Хроматограммы фенолов. НФ: RP-18. ПФ: изопропанол-вода (6:4). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. 1 – м-АФн, 2 – о-АФн, 3 – п-АФн, 4 – Фн, 5 – п-НФн, 6 – м-НФн, 7 – о-НФн.

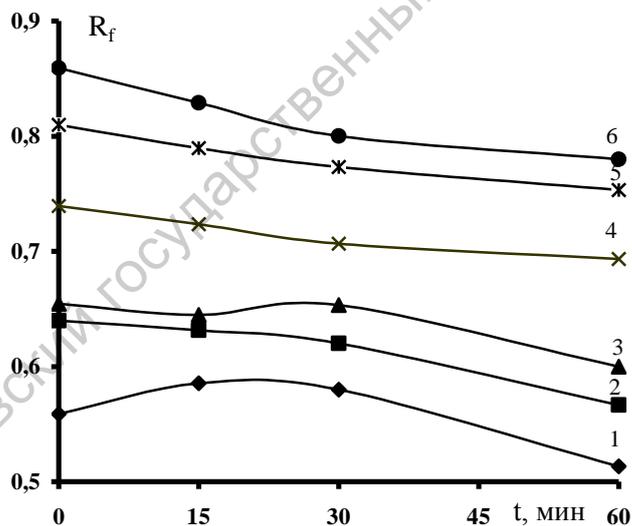


Рис. 46. Влияние углекислого газа на подвижность фенолов. НФ: RP-18, ПФ: изопропанол-вода (6:4). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. 1 – о-НФн, 2 – м-НФн, 3 – п-НФн, 4 – п-АФн, 5 – о-АФн, 6 – м-АФн.

Параметры эффективности разделения и разрешение фенолов.(C_R=1·10⁻³ М, n=3, P=0.95)

Сорбат	Эффективность				Разрешение	
	N·10 ⁻²		H, мм		R _S *	
	Без CO ₂	В прис. CO ₂	Без CO ₂	В прис. CO ₂	Без CO ₂	В прис. CO ₂
ФН	10	0.30	0.045	0.145		
о-НФН	27	26	0.014	0.014	51	42
м-НФН	35	32	0.011	0.013	53	43
п-НФН	21	20	0.027	0.022	53	44
о-АФН	45	27	0.011	0.192	55	46
м-АФН	5600	54	0.010	0.009	56	47
п-АФН	40	37	0.012	0.009	57	48

* - значение R_S рассчитано относительно ФН**5.2 Хроматографирование в присутствии аммиака**

Насыщение камеры аммиаком, наоборот, радикально изменяет подвижность фенолов, причем в системе наблюдается два эффекта (рис. 47, 48):

- существенный рост подвижности сорбатов, особенно нитропроизводных фенола;
- обращение ряда подвижностей амино- и нитропроизводных, в результате которого подвижности последних становятся больше подвижностей первых.

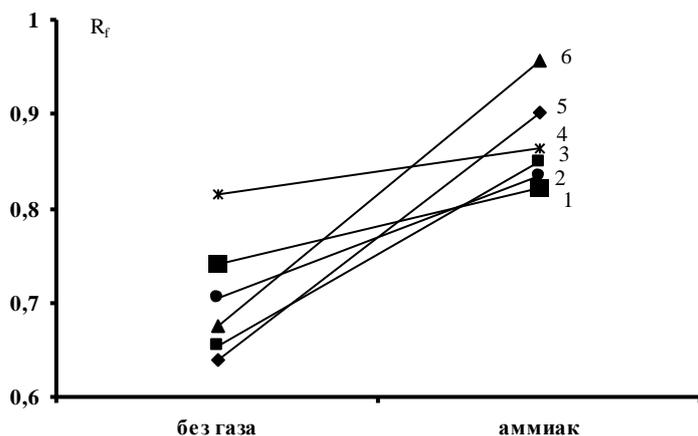


Рис. 47. Влияние аммиака на подвижность фенолов. Время пропускания газа 20 мин. НФ: RP-18, ПФ: изопропанол-вода (6:4). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. 1 – о-АФн, 2 – п-АФн, 3 – м-НФн, 4 – м-АФн, 5 – о-НФн, 6 – п-НФн.

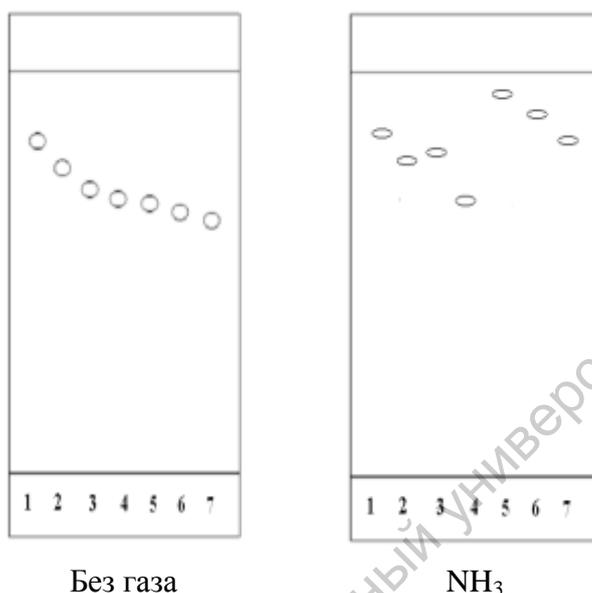


Рис. 48. Хроматограммы фенолов. НФ: RP-18. ПФ: изопропанол-вода (6:4). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. 1 – м-АФн, 2 – о-АФн, 3 – п-АФн, 4 – Фн, 5 – п-НФн, 6 – м-НФн, 7 – о-НФн.

Существенное изменение подвижности фенолов в присутствии аммиака сопровождается улучшением эффективности разделения и параметра разрешения R_s (табл. 21).

Указанные изменения, как и в случае рассмотренных ранее классов кислот и оснований, обусловлены диссоциацией фенольного гидроксила, которая для нитрозамещённых соединений, имеющих более низкие величины pK_a , начинается при значительно меньшей кислотности, чем для аминопроизводных и обеспечивает опережающий рост подвижности анионных форм нитрофенолов.

Параметры эффективности разделения и разрешение некоторых фенолов.

$$(C_R=1 \cdot 10^{-3} \text{ M}, n=3, P=0.95)$$

Сорбат	Эффективность				Разрешение	
	$N \cdot 10^{-2}$		H, мм		R_S^*	
	Без NH_3	В прис. NH_3	Без NH_3	В прис. NH_3	Без NH_3	В прис. NH_3
Фн	10	19	0.045	0.028		
о-НФн	27	57	0.014	0.006	51	67
м-НФн	35	41	0.011	0.009	53	70
п-НФн	21	33	0.027	0.012	53	73
о-АФн	45	49	0.011	0.010	55	71
м-АФн	56	59	0.010	0.008	56	73
п-АФн	40	61	0.012	0.010	57	70

* - значение R_S рассчитано относительно Фн.

Описанные эффекты могут быть объяснены установленным нами ранее изменением рН подвижных фаз при пропускании газов через герметичную камеру ТСХ. Изменение рН ПФ смещает протолитическое равновесие в растворах кислот $\text{HA} \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{A}^-$ и в растворах оснований $\text{BOH} \leftrightarrow \text{B}^+ + \text{OH}^-$. Установлено, что между такими параметрами сорбатов как R_f , коэффициент распределения (D) (между органической и водной составляющими ПФ), соотношением объёмов органической и водной фаз (r), рН и константой диссоциации (K_a) существует взаимосвязь. Из них три параметра - K_a , r , D – постоянны для данных ПФ и НФ. Поэтому значение R_f сорбата будет функцией рН подвижной фазы. Кривая зависимости $R_f = f(\text{pH})$ для веществ кислотного характера будет иметь S-образный вид (рис. 49). При изменении кислотности ПФ кривая будет сдвигаться вдоль оси рН. Если два электролита отличаются между собой по значениям коэффициентов распределения и констант ионизации или сразу по обоим параметрам, то они будут давать две различных кривые $R_f = f(\text{pH})$.

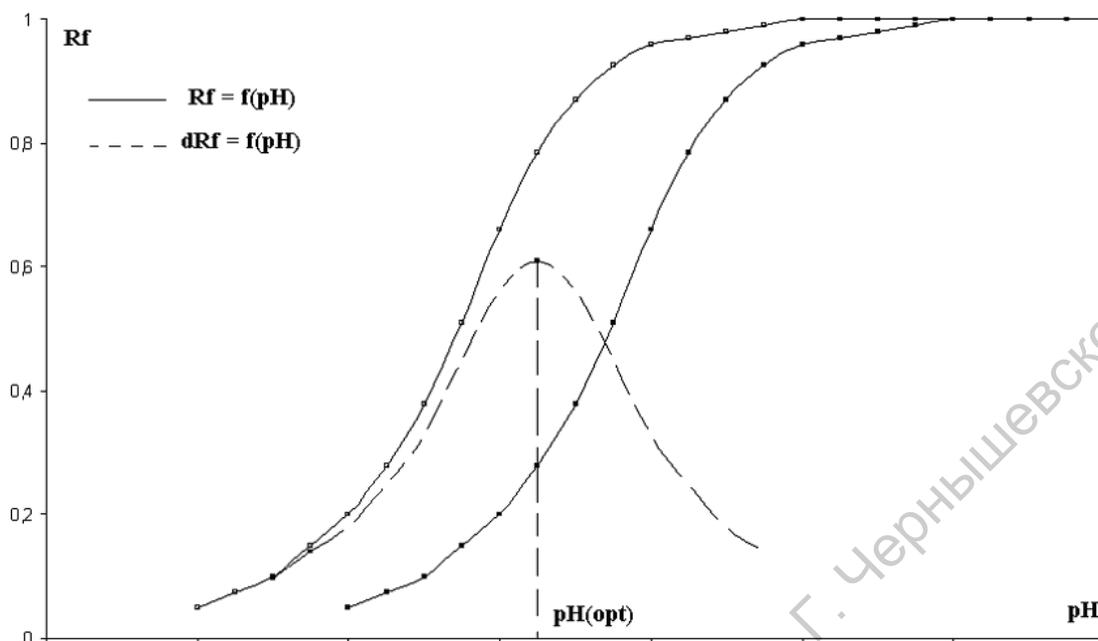


Рис. 49. Выбор оптимального параметра pH для разделения двух слабых кислот методом ТСХ

Значение pH, для наилучшего разделения двух кислотных сорбатов может быть найдено из формулы:

$$pH_{max} = pH_{opt} = \frac{1}{2} \cdot (pK'_a + pK''_a) - \frac{1}{2} \cdot (\log D' \cdot r + \log D'' \cdot r)$$

Таким образом, оптимальное значение pH зависит не только от констант ионизации разделяемых электролитов, но и от их коэффициентов распределения, т.е. от свойств используемой ПФ.

На следующем этапе работы выясняли объем газа, необходимый для оптимальной модификации хроматографической системы, т.е. получения неизменяемого значения подвижности. Работу проводили на примере о-аминофенола. Как следует из рис. 1, 2 (прилож.) присутствие углекислого газа снижает подвижность о-АФн. Наиболее существенное влияние оказывают первые порции CO_2 (150мл), пропускаемые в хроматографическую камеру.

Из данных, представленных в табл. 22 видно, что увеличение содержания углекислого газа ухудшает хроматографические характеристики, а также селективность разделения сорбата. N и H ухудшаются

приблизительно в 2.5-3.0 раза, и разрешение уменьшается примерно в 1.5 раза.

Таблица 22

Зависимость параметров эффективности и разрешения о-АФн от количества CO₂, пропущенного в хроматографическую камеру. (C_R=1·10⁻³ М, n=3, P=0.95)

Сорбат	Объём CO ₂ , мл	Эффективность		Разрешение*
		N·10 ⁻²	H, мм	R _S *
о-АФн	0	45	0.011	55
	75	15	0.019	32
	150	10	0.031	34
	225	16	0.018	33
	300	13	0.027	33

* - значение R_S рассчитано относительно Фн.

Данные, представленные на рис. 3, 4 (прилож.), свидетельствуют о том, что оптимальное количество аммиака (150- 225 мл) увеличивает и улучшает параметры эффективности о-АФн. Разрешение увеличивается почти в 1.5 раза (табл. 23)

Таблица 23

Зависимость параметров эффективности и разрешение о-АФн от количества NH₃, пропущенного в хроматографическую камеру. (C_R=1·10⁻³ М, n=3, P=0.95)

Сорбат	Объём NH ₃ , мл	Эффективность		Разрешение
		N·10 ⁻²	H, мм	R _S *
о-АФн	0	45	0.011	55
	75	15	0.041	32
	150	10	0.046	34
	225	16	0.042	33
	300	13	0.044	33

* - значение R_S рассчитано относительно Фн.

Как видно из данных, приведённых в табл. 23, присутствие аммиака в хроматографической системе улучшает параметры эффективности и селективности разделения фенолов. Селективность разделения увеличивается почти в 1.5 раза.

Глава 6 ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ С УПРАВЛЯЕМОЙ ГАЗОВОЙ ФАЗОЙ

В данной главе представлены примеры практического применения динамического модифицирования газовой фазы и улучшения аналитических характеристик процесса разделения для некоторых объектов.

6.1 Разделение смесей фенолов и бензойных кислот фенолом

Иллюстрацией реализации метода ТСХ с управляемой газовой фазой является разделение смесей фенола с аминокислотами и замещёнными фенолами. Так как в большинстве изученных случаев аммиак улучшает основные хроматографические характеристики, для реализации учебных задач был выбран именно этот газовый модификатор. Хроматограмма смеси фенола с замещёнными фенолами представлена на рис. 50, а в приведённой ниже табл. 24 представлены основные хроматографические характеристики N , H , R_s исследуемых систем.

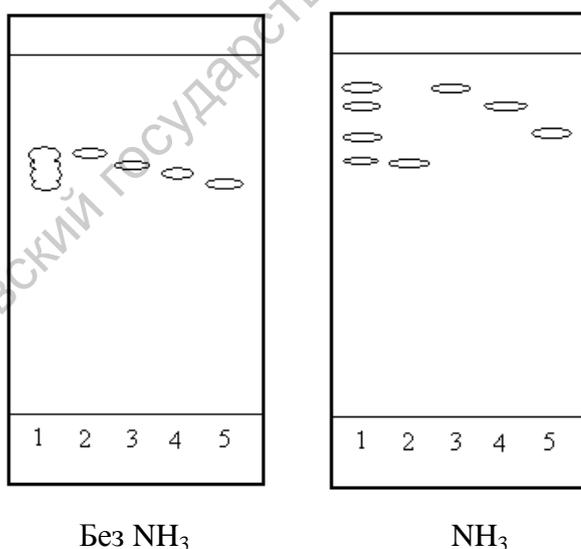


Рис. 50. Разделение смеси фенола с аминокислотами в отсутствие и в присутствии паров аммиака. НФ: RP-18. ПФ: изопропанол-вода (6:4). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. 1 – смесь, 2 – о-АФн, 3 – п-АФн, 4 – Фн, 5 – м-АФн.

**Параметры эффективности и разрешения смеси фенолов в газовой фазе,
содержащей аммиак. ($C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М, $n=3$, $P=0.95$)**

Сорбат	Эффективность				Разрешение	
	$N \cdot 10^{-2}$		H, мм		R_S^*	
	Без NH_3	В прис. NH_3	Без NH_3	В прис. NH_3	Без NH_3	В прис. NH_3
о-АФн	27	57	0.014	0.006	49	66
м-АФн	35	41	0.011	0.009	51	71
п-АФн	21	33	0.027	0.012	52	72
Фн	10	19	0.045	0.028	-	-

* Значения R_S для всех компонентов рассчитаны по отношению к Фн.

Как видно из табл. 24, применение паров аммиака способствует увеличению ΔR_f и некоторому сжатию хроматографических зон, что улучшает разрешение хроматографических зон. Значения N возрастают почти в 2.5 раза, а R_s увеличивается в 1.5 раза.

Аналогичное позитивное влияние аммиака можно наблюдать при разделении фенола и аминокислот (рис. 51, табл. 25).

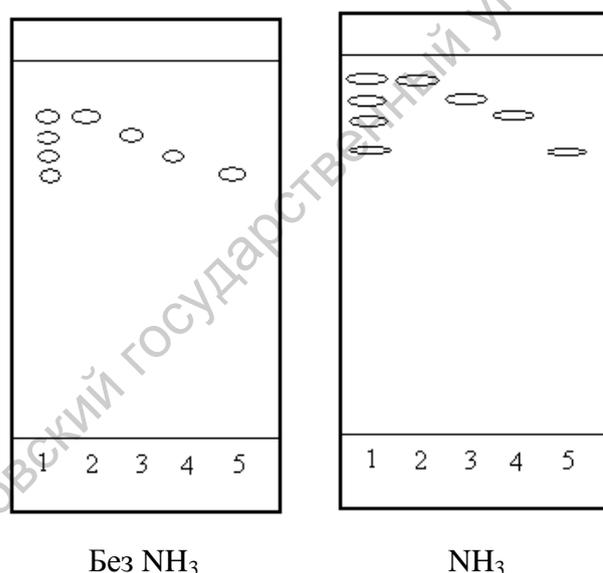


Рис. 51. Разделение смеси фенола с аминокислотами в отсутствие и присутствии паров аммиака. НФ: RP-18. ПФ: изопропанол-вода (6:4). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. 1 – смесь, 2 – Фн, 3 – о-АБК, 4 – п-АБК, 5 – м-АБК.

**Параметры эффективности и разрешения смеси фенола с АБК в газовой фазе,
содержащей аммиак. ($C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М, $n=3$, $P=0.95$)**

Сорбат	Эффективность				Разрешение	
	$N \cdot 10^{-2}$		H, мм		R_S^*	
	Без NH_3	В прис. NH_3	Без NH_3	В прис. NH_3	Без NH_3	В прис. NH_3
о-АБК	43	47	0.008	0.007	11.4	16.3
м-АБК	54	88	0.007	0.005	11.6	16.3
п-АБК	22	84	0.016	0.004	11.5	16.1
Фн	43	81	0.008	0.004	-	-

* Значения R_S для всех компонентов рассчитаны по отношению к Фн.

Как видно из табл. 25 аммиак также улучшает разрешения разделения веществ. Значения N и H возрастают приблизительно в 1.5 – 3.5 раза, а разрешение возрастает почти в 1.5 раза.

На рис. 52 показан случай использования аммиака как модификатора при разделении бинарной смеси фенол – о-аминофенол.

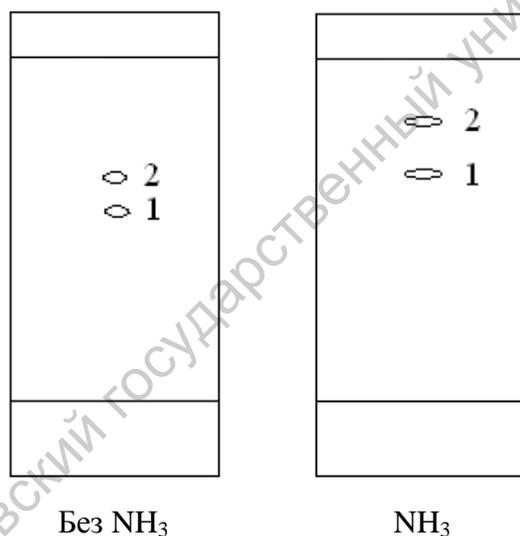


Рис. 52. Разделение смеси фенола с о-аминофенолом в отсутствие и присутствии паров аммиака.
НФ: RP-18. ПФ: изопропанол-вода (6:4).
 $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. 1 – о-АФн, 2 – Фн.

В приведённой ниже таблице представлены основные хроматографические характеристики N, H, R_S этой системы.

Параметры эффективности и разрешения смеси фенолов в газовой фазе, содержащей аммиак. ($C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М, $n=3$, $P=0.95$)

Сорбат	Эффективность				Разрешение	
	$N \cdot 10^{-2}$		H, мм		R_S^*	
	Без NH_3	В прис. NH_3	Без NH_3	В прис. NH_3	Без NH_3	В прис. NH_3
о-АФн	12	41	0.021	0.07	10.7	16.3
Фн	43	81	0.008	0.004	-	-

* Значения R_S для всех компонентов рассчитаны по отношению к Фн.

Как видно из табл. 26, пары аммиака улучшают разрешение при разделении фенола и о-аминофенола приблизительно в 2 раза.

6.2 Разделение и количественное определение фенола в смеси с глюкозой

Смесь фенола с глюкозой входит в состав компонентов сточных вод целлюлозно-бумажных комбинатов. Анализируемая модельная смесь состояла из фенола с концентрацией порядка $n \cdot 10^{-2}$ М и глюкозы с концентрацией 0.55 М (100 г/л), превышающей концентрацию фенола почти в 100 раз. Идентификацию фенола проводили с помощью видеоденситометра “Sorbfil” (АО «Сорбполимер», Краснодар) при облучении УФ-лучами ($\lambda=254$ нм), а глюкозы – при обработке пластинки смесью H_2SO_4 и $KMnO_4$.

Расчёт количественного содержания фенола проводили по интенсивности хроматографической зоны с помощью RGB-параметра. Параметр RGB отражает суммарную интенсивность трёх цветов – красного (red), зелёного (green) и голубого (blue), но его можно разделить на составляющие. Предварительно получили зависимость суммарной интенсивности хроматографической зоны в формате RGB от концентрации фенола (рис. 53). Так как коэффициент корреляции больше 0.95, то зависимость параметра RGB от концентрации фенола может быть использована для его количественного определения.

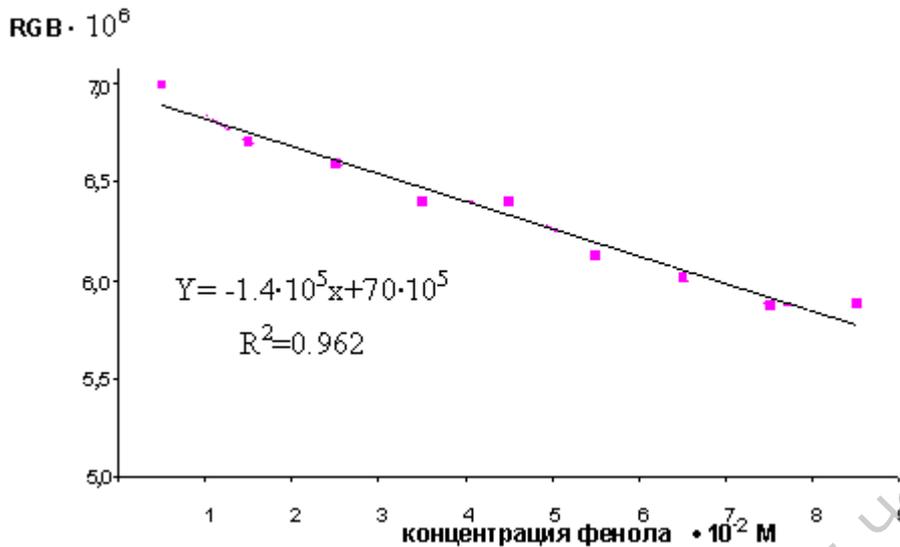


Рис. 53. Зависимость суммарной интенсивности RGB от концентрации фенола.

Предварительный эксперимент показал, что разделение смеси фенола с глюкозой в отсутствие газового модификатора неполное (рис. 54 а). Использование аммиака в качестве газового модификатора позволило добиться полного разделения смеси фенола и глюкозы в связи с тем, что подвижность фенола при диссоциации его ОН-группы немного увеличилась (рис. 54 б).

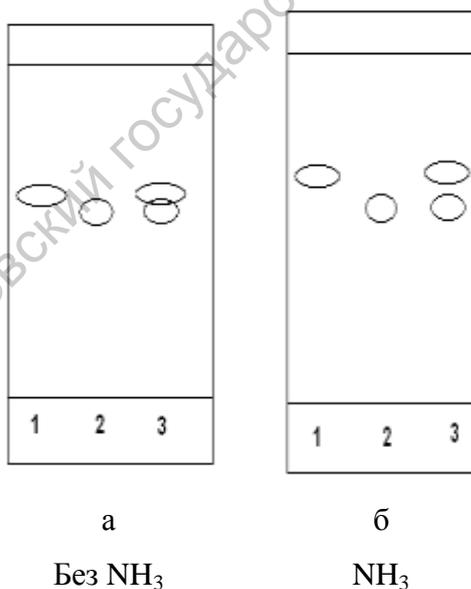


Рис. 54. Хроматограмма разделения смеси фенола и глюкозы в отсутствие (а) и в присутствии (б) аммиака. НФ: RP-18, ПФ: изопропанол-вода (6:4). $C_{\text{Фн}}=1 \cdot 10^{-3}$ М. $C_{\text{глюк.}}=0.55$ М. 1 – Фн, 2 – глюкоза, 3 – смесь Фн и глюкозы.

**Количественное определение фенола в смеси с глюкозой
с помощью метода «введено – найдено». ($C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М, $n=3$, $P=0.95$)**

<i>Введено, мг/л</i>	<i>Найдено, мг/л</i>	S_r	$t_{\text{эсп}}$	$t_{\text{теор}}$	<i>Относительная погрешность, %</i>
3.80	4.17±0.04	0.015	3.4	4.3	9.5
4.70	4.26±0.05	0.021	3.3		10
5.60	5.01±0.06	0.025	3.1		10

Расчет t-критерия подтвердил правильность результатов методики «введено-найденно». Погрешность количественного измерения при анализе смеси, содержащей фенол, не превышает 10 %, что свидетельствует о возможности использования данного подхода для количественного анализа.

6.3 Разделение и определение пищевых красителей

Новый метод с управляемой газовой фазой использовался для разделения и определения пищевых красителей в их смеси.

Разделение красителей

Использованные пищевые красители можно разделить на 3 группы – E102, E104, E110 – придающие жёлтый цвет, E122, E123, E124, E127, E129 – красный цвет и E133, E151, FCF – синий цвет напиткам и пищевым продуктам. Результаты хроматографирования показаны на рис. 55.

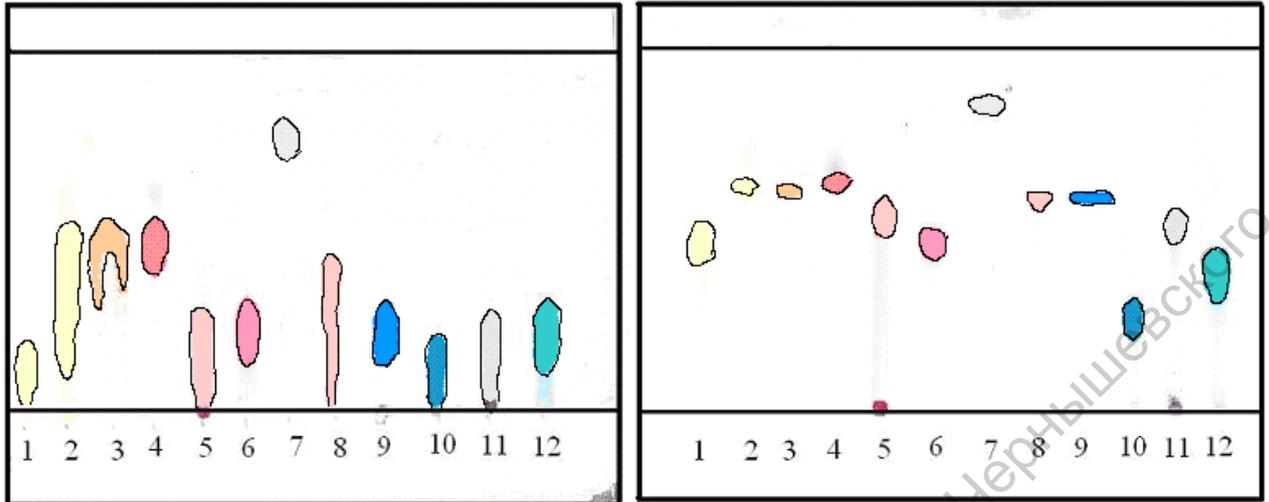
Без CH_3COOH CH_3COOH

Рис. 55. Хроматограммы пищевых красителей в отсутствие и в присутствии паров уксусной кислоты. НФ: RP-18. ПФ: изопропанол-гексан (2.0:0.1). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М.
1 – E102, 2 – E104, 3 – E110, 4 – E122, 5 – E123, 6 – E124, 7 – E127, 8 – E129, 9 – E132, 10 – E133, 11 – E151, 12 – FCF.

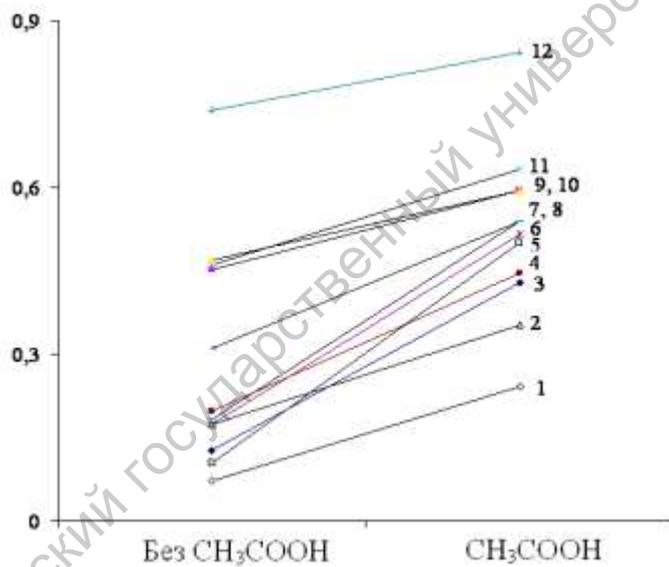


Рис. 56. Зависимость подвижность пищевых красителей от контакта хроматографической системы с парами уксусной кислоты. Газ пропускали с начала момента разделения. НФ: RP-18.
ПФ: изопропанол-гексан (2.0:0.1). $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М. 1 – E133, 2 – FCF, 3 – E102, 4 – E124, 5 – E151, 6 – E123, 7 – E132, 8 – E129, 9 – E104, 10 – E110, 11 – E122, 12 – E127.

Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского

Параметры эффективности и разрешение пищевых красителей (n=3, P=0.95)

Сорбат	Эффективность				Разрешение	
	N·10 ⁻²		H, мм		R _S *	
	Без CH ₃ COOH	В прис. CH ₃ COOH	Без CH ₃ COOH	В прис. CH ₃ COOH	Без CH ₃ COOH	В прис. CH ₃ COOH
E102	0.28	4.8	2.2	0.13	14	54
E104	0.44	14	1.4	0.04	18	≈0
E110	1.7	14	0.37	0.04	-	-
E122	2.1	11	0.30	0.06	95	19·10 ¹
E123	0.13	11	4.7	0.06	79	18·10 ¹
E124	1.0	5.2	0.63	0.12	81	17·10 ¹
E127	38	1.2	0.02	0.01	-	-
E129	0.75	21	0.84	0.03	88	18·10 ¹
E132	0.26	1.9	2.4	0.003	-	-
E133	0.13	4.3	4.9	0.15	3.55	17·10 ¹
E151	0.4	10	16	0.06	3.83	20·10 ¹
FCF	0.30	0.67	2.1	0.96	4.32	18·10 ¹

* значение R_S считано относительно E110, E127, E132 для каждой группы веществ соответственно

Таким образом, применение паров уксусной кислоты позволило разделить пищевые красители из групп жёлтого, красного и синего **цветов**. Увеличение разрешения в цветовой гамме происходит за счёт сжатия зон (рис. 55).

6.4 Определение красителей в газированных напитках

На основании исследуемых систем нами было проведено разделение и количественное определение пищевых красителей в газированных напитках «Сахара», «Тархун», «Миринда». В состав этих напитков входит E110 (в напитках «Сахара» и «Миринда»), придающий напитку оранжевый цвет; E102 и E133, совместное присутствие которых придаёт напитку изумрудный цвет. Разделение проводили на пластинах RP-18 с использованием паров уксусной кислоты в качестве газового модификатора. Количественное

содержание определяли при помощи метода градуировочного графика и методом добавок. На рис. 57 показаны зависимости суммарной интенсивности RGB от концентрации E102, E110 и E133. Так как коэффициент корреляции больше 0,95, то зависимость параметра RGB от концентрации может быть использована для количественного определения соответствующего пищевого красителя.

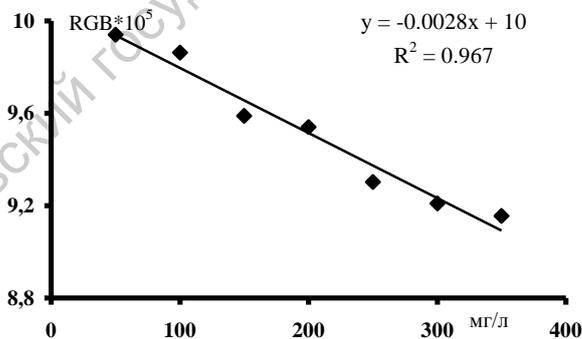
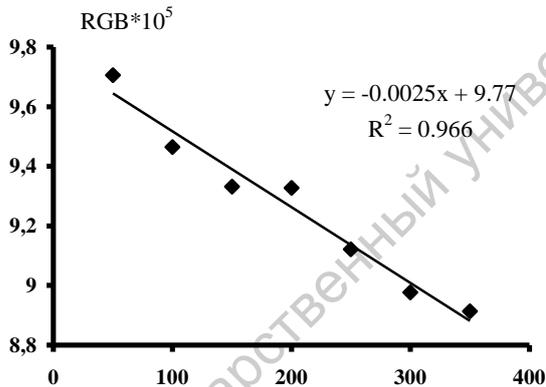
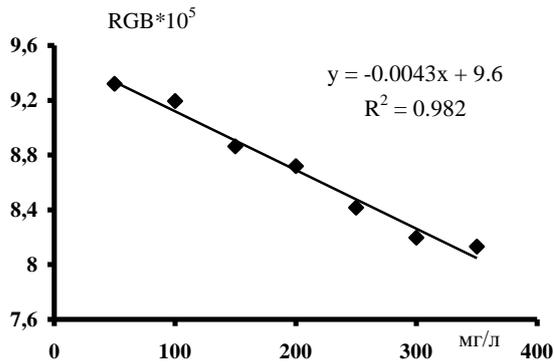


Рис. 57. Зависимость суммарной интенсивности RGB от концентрации E102 (а), E110 (б), E133 (в).

Результаты определения пищевых красителей E102, E110 и E133 в напитках представлены в табл. 29.

**Статистическая обработка результатов определения пищевых красителей
в напитках. (n=3, P=0.95)**

Объект исследования	Содержание, мг/л	$X_{ср}$, мг/л	S	ΔX	$X_{ср} \pm \Delta X$, мг/л	
«Сахара» E110	15.1 15.4 15.6	15.3	0.25	0.6	15.3±0.6	
«Гархун» E102	13.7 14.4 14.1	14.1	0.35	0.9	14.1±0.9	
«Гархун» E133	9.2 9.3 8.8	9.1	0.26	0.7	9.1±0.7	
«Миринда» E110	21.3 21.8 21.9	21.6	0.32	0.8	21.6±0.8	
Проверка правильности						
Объект исследования	Найдено, мг/л		S		$F_{экс.}$	$t_{экс.}$
	Градуировочный график	Метод добавок	Градуировочный график	Метод добавок		
«Сахара» E110	15.3±0.6	14.7±0.5	0.25	0.21	3.97	2.1
«Гархун» E102	14.0±0.9	13.9±0.8	0.35	0.30	3.20	0.33
«Гархун» E133	9.1±0.7	9.5±0.6	0.26	0.25	5.14	1.1
«Миринда» E110	21.6±0.8	20.8±0.8	0.32	0.31	6.14	1.7

Известно, что содержание ПК в безалкогольных напитках не должно превышать 50 мг/л. Из полученных данных видно, что содержание ПК в представленных напитках находится в пределах нормы.

6.5 Разделение аминокислот в биологическом объекте

Модельная смесь

Предварительно проводили разделение искусственной смеси аминокислот, состоящей из аргинина, гистидина, орнитина, результаты

которого представлены на рис. 58. Идентификация проводилась водным раствором нингидрина.

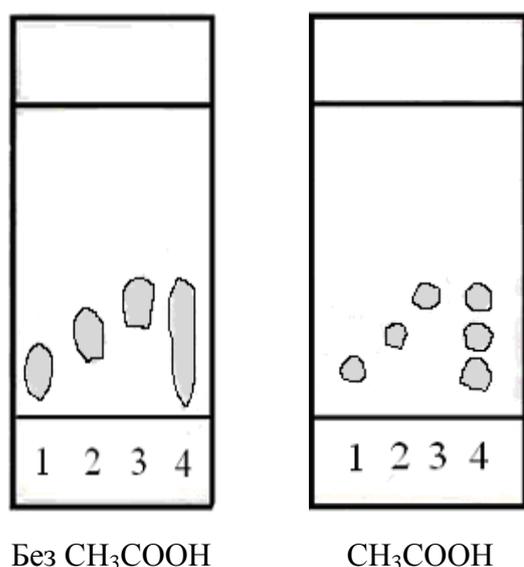


Рис. 58. Хроматограмма разделения смеси аргинина, гистидина, орнитина в отсутствие и в присутствии паров уксусной кислоты.

НФ: RP-18. ПФ: уксусная кислота-ацетонитрил-этанол (0.5:1:1).

1 – орнитин, 2 – гистидин, 3 – аргинин, 4 – смесь.

Как видно из хроматограмм, присутствие паров уксусной кислоты приводит к полному разделению смеси. Оптимальным моментом начала пропускания газа, обеспечивающим разделение, считается момент прохождения фронтом ПФ 3.5 см после линии старта. Если пропускание газа начинали раньше или позже, разделение проходило хуже. Установлено, что оптимальной из испытанных ПФ для разделения этих аминокислот является смесь уксусная кислота: ацетонитрил: этанол (0.5:1:1). Улучшение разделения преимущественно связано с сжатием хроматографических зон аминокислот.

Биологический объект

В качестве биологического объекта использовали мочу. Предварительная пробоподготовка объекта включала следующие стадии: 1.5 мл пробы замораживали на сутки, затем добавляли двукратный избыток абс. этилового спирта, после чего центрифугировали при 3 тыс. об./мин. в течение 10 мин. Для анализа использовали верхний слой полученной жидкости. Результаты разделения представлены на рис. 59. и в табл. 30.

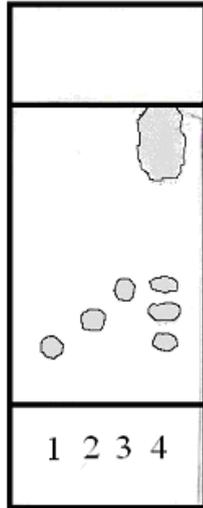


Рис. 59. Хроматограмма разделения аргинина, гистидина, орнитина в моче в присутствии уксусной кислоты в качестве газового модификатора. НФ: RP-18. ПФ: уксусная кислота-ацетонитрил-этанол (0.5:1:1). 1 – орнитин, 2 – гистидин, 3 – аргинин, 4 – объект.

Таблица 30

Значение R_f разделяемых аминокислот. ($n=3$, $P=0.95$)

Аминокислота	R_f	
	В объекте	Свидетель
аргинин	0.39	0.36
гистидин	0.30	0.26
орнитин	0.20	0.17

Более высокие значения R_f аминокислот в объекте (по сравнению со свидетелями) обусловлены так называемыми краевыми эффектами.

Заключение

В настоящем пособии впервые показана принципиальная возможность использования в анализе разработанного авторами нового варианта тонкослойной хроматографии с управляемой газовой фазой.

Этот метод не имеет аналогов в плоскостной и колоночной жидкостной хроматографии и является первым примером нового вида программирования свойств подвижной фазы одновременно на всей пластинке ТСХ в процессе разделения веществ за счет абсорбции и адсорбции газа подвижной и неподвижной фазами. Направленное изменение свойств газовой фазы в хроматографической камере в ряде случаев существенно изменяет подвижность хроматографических зон, параметры эффективности и селективности разделения компонентов смесей.

В дальнейших исследованиях следует более детально изучить связь селективности разделения с кислотно-основными свойствами компонентов разделяемых смесей. Целесообразно также выявить возможность использования газов, способных в динамическом режиме регулировать донорно-акцепторные и сольватационные взаимодействия в хроматографической системе. Предлагаемый метод пригоден для разделения на полярных, слабополярных и неполярных неподвижных фазах. Он позволил, с одной стороны, исключить этап стабилизации состава газовой атмосферы, улучшив воспроизводимость величин подвижности, а с другой, - управлять химическими формами разделяемых соединений и значительно улучшить хроматографические характеристики.

Библиографический список

1. Березкин В.Г., Бочков А.С. Количественная тонкослойная хроматография. - М.: Наука, 1980. 183 с.
2. Кибардин С. А., Макаров К.А. Тонкослойная хроматография в органической химии. - М.: Химия, 1978. 128 с.
3. Волинец М.П. Количественная тонкослойная хроматография в неорганическом анализе. - М.: Наука, 1993. 240 с.
4. Кирхнер Ю. Тонкослойная хроматография. - М.: Мир, 1981. 1139 С.
5. Шрайнер Р., Фьюзон Р., Кёртин Д., Морил Т. Идентификация органических соединений. - М.: Мир, 1983. 703 с.
6. Шаршунова М., Шварц В., Михалец Ч. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии. - М.: Мир, 1980. Ч. 1 и 2. 621 с.
7. Беленький Б.Г., Гурковская Е.А., Коган Ю.Д., Красиков В.Д. // В кн. "100 лет хроматографии" / Отв. ред. Б.А. Руденко. - М.: Наука, 2003. С.61-114.
8. Planar Chromatography in the Life Sciences // J.C. Touchstone Ed. N.Y.: Wiley, 1990. 199 p.
9. Planar Chromatography 2003. Modern Thin-Layer Chromatography. Camag. Muttentz, 2003. 44 p.
10. Ахрем А.А., Кузнецова Л.И. Тонкослойная хроматография. - М.: Наука, 1964. 175 с.
11. Хроматография в тонких слоях / под ред. Э. Шталя. - М.: Мир, 1965. 508 с.
12. Кирхнер Ю. Тонкослойная хроматография. - М.: Мир, 1980. Т.1. 616 С. Т.2. 710 с.
13. Руководство по современной тонкослойной хроматографии / под ред. О.Г. Ларионова. - М.: Научный совет по хроматографии РАН, 1994, 311 с.

14. Гейсс Ф. Основы тонкослойной хроматографии. - М., 1999. Т.1. 405 с.
15. Гейсс Ф. Основы тонкослойной хроматографии. - М., 1999. Т.2. 348 с.
16. Planar Chromatography – A Retrospective View for the Third Millenium / Ed. Sz. Nyiredy. Budapest: Springer Scientific Publisher, 2001. 614 p.
17. 100 лет хроматографии / под ред. Б.А. Руденко. - М.: Наука, 2003. 739 с.
18. Красиков В.Д. Основы планарной хроматографии. - СПб.: Химиздат, 2005. 232 с.
19. Baner K., Gros L., Sauev W. Thin-Layer Chromatography. Merck. Haidelberg: Huthing Buch Verlag, 1991. 166 p.
20. Grinberg N. Modern Thin-Layer Chromatography. London. N.Y.: Marcel Dekker, 1990. 490 p.
21. Ганкина Э.С. Аналитическая хроматография / под ред. К.И. Сакодынского. - М.: Химия, 1993. 453 с.
22. Sherma J., Fried B. Handbook of Thin-Layer Chromatography. 2nd Ed. N.Y.: Marcel Dekker, 1996. 1104 p.
23. Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Тюрина Н.В. Тонкослойная хроматография. Теоретические основы и практическое применение. 2-е изд. Саратов: изд-во Саратовск. ун-та, 2006. 112 с.
24. Berezkin V.G., Sumina E.G., Shtykov S.N., Atayan V.Z., Tyurina N.V., Zagniboroda D.A., Gaidamakin D.V. New Variant of Planar Chromatography with Time-Dependent Properties of Chromatographic System upon Contact with Acidic and Basic Gas Stream // Proc. Intern. Symp. on Planar Separations “Planar Chromatography 2005”, 29-31 May, 2005. Hungary. 2005. – P.273-277.
25. Berezkin V.G., Sumina E.G., Shtykov S.N., Atayan V.Z., Zagniboroda D.A., Nekhoroshev G.A. Effects of Chamber Gas Phase on Mobile Phase

- pH and on Separation Efficiency in TLC. A New Mode of Chromatography. // *Chromatographia*. – 2006. – V.64, №1/2. – P.105-108.
26. Берёзкин В.Г., Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Загниборода Д.А., Атаян В.З. Новый метод тонкослойной хроматографии ионизируемых соединений, основанный на изменении кислотности подвижной фазы в процессе элюирования. // *Докл. Акад. Наук*. – 2006. – Т.407, №3. – С.349-351.
27. Берёзкин В.Г., Штыков С.Н., Сумина Е.Г., Загниборода Д.А., Атаян В.З. Динамическое модифицирование хроматографического разделения в ТСХ, основанное на свойствах газовой фазы. // *Сорбц. и хроматогр. процессы*. – 2007. – Т.7, № 1. – С.28-32.
28. Загниборода Д.А., Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Атаян В.З. Влияние газовой фазы на разделение ионизируемых соединений методом тонкослойной хроматографии // *Современные проблемы теорет. и эксп. химии: Межвуз. сб. науч. трудов VI Всерос конф. молодых ученых с международ. участием*. – Саратов: Изд-во «Научная книга», 2007. – С. 189-192.
29. Воронцова М.А., Загниборода Д.А., Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Атаян В.З. Газовая фаза в герметичной камере как динамический модификатор свойств хроматографической системы в ТСХ // *Современные проблемы теорет. и эксп. химии: Межвуз. сб. науч. трудов VI Всерос конф. молодых ученых с международ. участием*. – Саратов: Изд-во «Научная книга», 2007. – С. 184-186.
30. Sumina E.G., Berezkin V.G., Zagniboroda D.A., Shtykov S.N., Atayan V.Z. Thin-layer chromatography of benzoic acids and phenols at the presence of acid and basic gas phase modifiers // *Proc. 10th Anal. Russian-German-Ukrainian Symp. (ARGUS'2007 - Nanoanalytics)* / Ed. by S.N. Shtykov. Nauchnaya Kniga, 2007. - P.125-128.
31. Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Загниборода Д.А., Атаян В.З., Березкин В.Г. Мицеллярная и ион-парная ТСХ ионизированных соединений в

растворах пав в присутствии газовых модификаторов в хроматографической камере. // Сорбц. и хроматогр. процессы. – 2008. – Т.8, вып. 1. – С.44-49.

32. Berezkin V.G., Sumina E.G., Shtykov S.N., Atayan V.Z., Tyurina N.V., Zagniboroda D.A. Experimental units for planar chromatography with external control properties of the chromatographic system // Intern. Conf. Anal. Chem. and Chemical Analysis (AC&CA-05), devoted to 100 anniversary of Anatoly Babko, Sept. 12-18, 2005. Book of Abstr. Kyiv, 2005. - P.98.
33. Berezkin V.G., Sumina E.G., Shtykov S.N., Atayan V.Z., Tyurina N.V., Zagniboroda D.A. Thin-layer chromatography of benzoic acids with external control properties of the mobile phase // Intern. Conf. Anal. Chem. and Chemical Analysis (AC&CA-05), devoted to 100 anniversary of Anatoly Babko, Sept. 12-18, 2005. Book of Abstr. Kyiv, 2005. - P.99.
34. Березкин В.Г., Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Атаян В.З., Загниборода Д.А. Новый подход к динамическому модифицированию хроматографической системы в ТСХ, основанный на использовании свойств газовой фазы в герметической камере // VI Всерос. конф. по анализу объектов окружающей среды «ЭКОАНАЛИТИКА-2006», 26-30 сентября 2006, Самара. Тез. докл. конф. Самара, 2006. - С.82.
35. Berezkin V.G., Sumina E.G., Shtykov S.N., Atayan V.Z., Zagniboroda D.A. Separations of acidic and basic sorbates by thin-layer chromatography in mobile phases containing gaseous modifiers. // Internal. Conf. Anal. Sciences. ICAS-2006 June 25-30, Moscow, Russia, 2006. Book of Abstr. – P.197.
36. Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Березкин В.Г., Атаян В.З., Загниборода Д.А. Динамическое модифицирование хроматографической системы в ТСХ, основанное на использовании свойств газовой фазы в герметической камере. // Аналитика России: Материалы II Всерос.

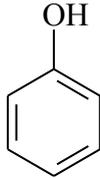
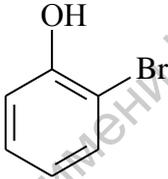
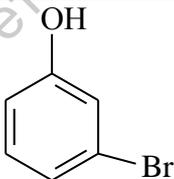
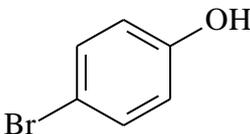
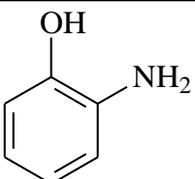
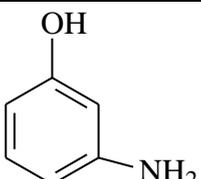
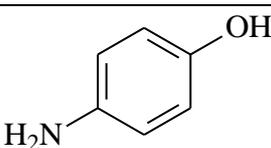
конф. с международ. участием (к юбилею акад. Ю.А. Золотова).
Краснодар, 7-12 октября 2007. – С. 57.

37. Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Березкин В.Г., Загниборода Д.А., Атаян В.З. Разделение кислотных и основных сорбатов методом нормально-фазовой ТСХ с изменяемой во времени газовой фазой. // Всероссийский симпозиум «Хроматография в химическом анализе и физико-химических исследованиях», Клязма, 23-27 апреля 2007, - с.151.
38. Березкин В.Г., Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Атаян В.З., Загниборода Д.А., Тюрина Н.В. Новый подход к оптимизации хроматографического разделения методом ТСХ, основанный на использовании свойств газовой фазы в герметичной камере. // Тез. докл. XVIII Менделеевского съезда по общей и приклад. химии, 23-28 сентября 2007. В 5 т.; т. 4. – М.: Граница, 2007. – С.82.
39. Березкин В.Г., Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Загниборода Д.А., Атаян В.З., Нехорошев Г.А. Способ разделения соединений методом тонкослойной хроматографии и устройство для осуществления Патент на изобретение № 2327155. – 2008.
40. Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Березкин В.Г., Загниборода Д.А. Влияние газовой фазы на хроматографические свойства основных сорбатов в мицеллярных подвижных фазах // VIII Украинская конференция по аналит. химии с международ. участием (к 100-летию со дня рождения чл.-корр. НАН Украины В.А. Назаренко). – 8-12 сентября 2008г. Одесса. – С.25
41. Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Березкин В.Г., Загниборода Д.А., Атаян В.З. Новый метод тонкослойной хроматографии с управляемой газовой фазой. // Журн. аналит. химии. – 2009. Т.64, №12. – С.1256-1264.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Таблица 1

Структурные формулы фенолов (ч.д.а.)

№	Название	Структурная формула	Молярная масса, г/моль
1	Фенол (Фн)		94
2	о-Бромфенол (о-BrФн)		173
3	м-Бромфенол (м-BrФн)		173
4	п-Бромфенол (п-BrФн)		173
5	о-Аминофенол (о-АФн)		109
6	м-Аминофенол (м-АФн)		109
7	п-Аминофенол (п-АФн)		109

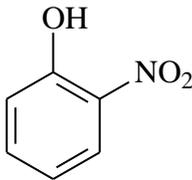
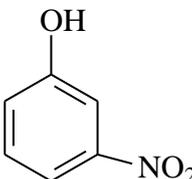
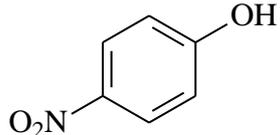
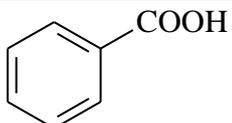
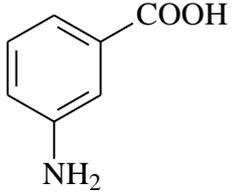
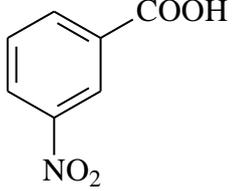
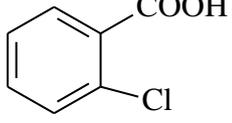
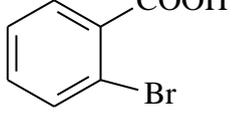
8	о-Нитрофенол (о-НФн)		139
9	м-Нитрофенол (м-НФн)		139
10	п-Нитрофенол (п-НФн)		139

Таблица 2

Структурные формулы бензойных кислот (ч.д.а.)

№	Название	Структурная формула	Молярная масса, г/моль
1	Бензойная кислота (БК)		122
2	м-Аминобензойная кислота (м-АБК)		137
3	м-Нитробензойная кислота (м-НБК)		167
4	о-Хлорбензойная кислота (о-СБК)		157
5	о-Бромбензойная кислота (о-ВгБК)		202

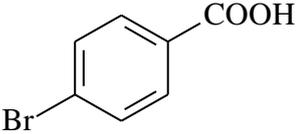
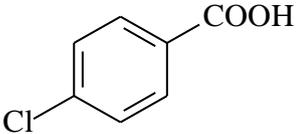
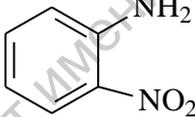
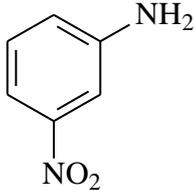
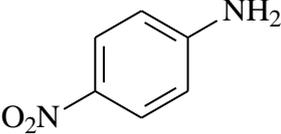
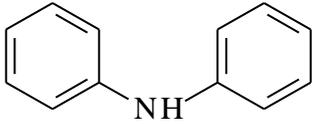
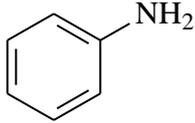
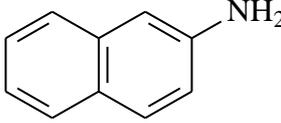
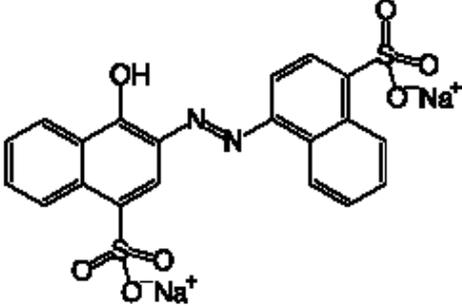
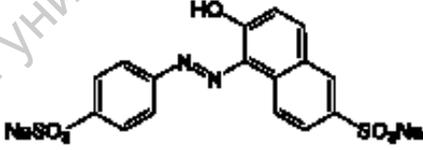
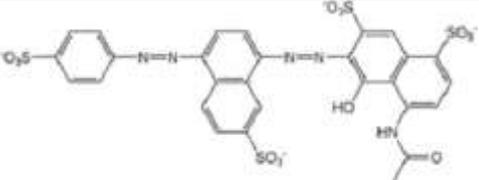
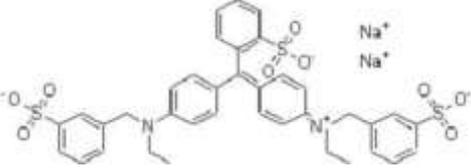
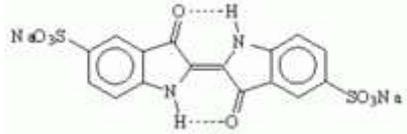
6	п-Бромбензойная кислота (п-ВгБК)		202
7	п-Хлорбензойная кислота (п-СгБК)		157

Таблица 3

Структурные формулы нитроанилинов (ч.д.а.)

№	Название	Структурная формула	Молярная масса, г/моль
1	о-Нитроанилин (о-НА)		138
2	м-Нитроанилин (м-НА)		138
3	п-Нитроанилин (п-НА)		138
4	Дифениламин (ДФА)		169
5	Анилин сернокислый (АСК)		93
6	1-Нафтиламин (НФА)		143

Структурные формулы пищевых красителей (ч.д.а.)

№	Название	Структурная формула	Молярная масса, г/моль
1	Кармазин, E112		477
2	Амарант, E123		604
3	Оранжево-жёлтый S, E110 FCF		452
4	Чёрный блестящий BN, E151		871
5	Синий блестящий CFC, E133		792
6	Индиготин E132		466

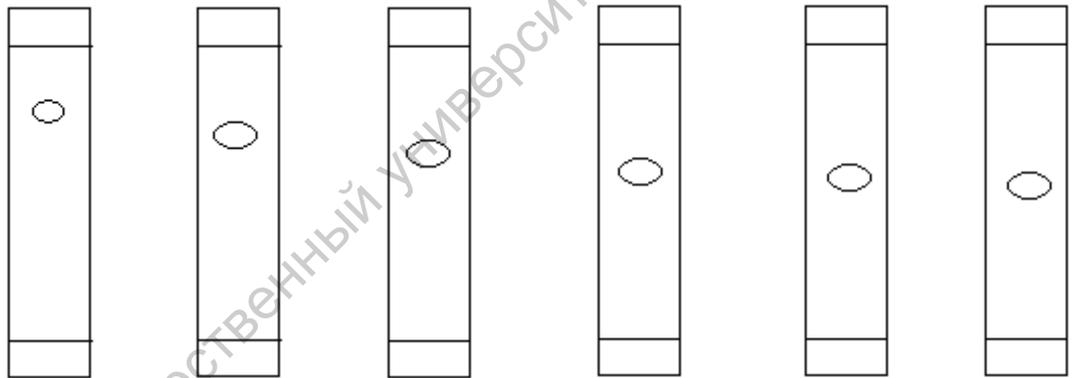
7	Красный очаровательный АС, E129		484
8	Эритрозин, E127		879
9	Понсо 4R, E124		604
10	Азорубин, E122		502
11	Хинолиновый жёлтый, E104		452
12	Тартразин, E102		512

Таблица 5

Структурные формулы аминокислот (ч.д.а.)

№	Название	Структурная формула	Молярная масса, г/моль
---	----------	---------------------	------------------------

1	Гистидин	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{HOOC}-\text{CH}-\text{CH}_2 \\ \\ \text{Imidazole ring} \end{array}$	209
2	Орнитин	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \quad \text{NH}_2 \\ \quad \\ (\text{H}_2\text{C})_3-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$	168
3	Аргинин	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \quad \text{O} \\ \quad \quad // \\ \text{N}-\text{C}-\text{C} \\ \quad \quad \\ \text{H} \quad \text{H} \quad \text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{NH} \\ \\ \text{C} \\ / \quad \backslash \\ \text{H}_2\text{N} \quad \text{NH} \end{array}$	174



$V_{\text{CO}_2}=0$ $V_{\text{CO}_2}=0$ $V_{\text{CO}_2}=75\text{мл}$ $V_{\text{CO}_2}=150\text{мл}$ $V_{\text{CO}_2}=225\text{мл}$ $V_{\text{CO}_2}=300\text{мл}$

Рис. 1. Хроматограммы о-АФ в зависимости от количества пропущенного в хроматографическую камеру CO_2 НФ: C_{18} . ПФ: изопропанол: $\text{H}_2\text{O}=6:4$. $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М.

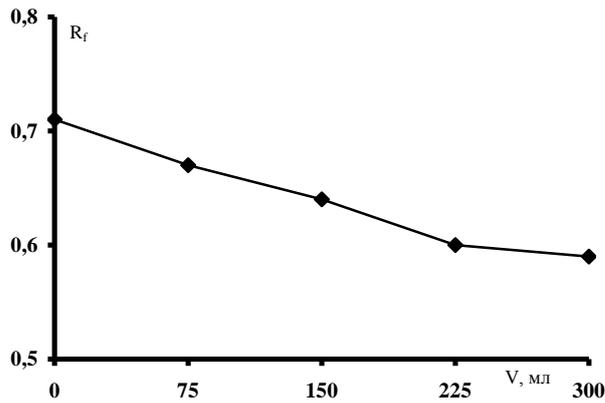


Рис. 2. Зависимость подвижности о-АФ от количества пропущенного в хроматографическую камеру CO_2 . НФ: C_{18} . ПФ: изопропанол: H_2O = 6:4. $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М.

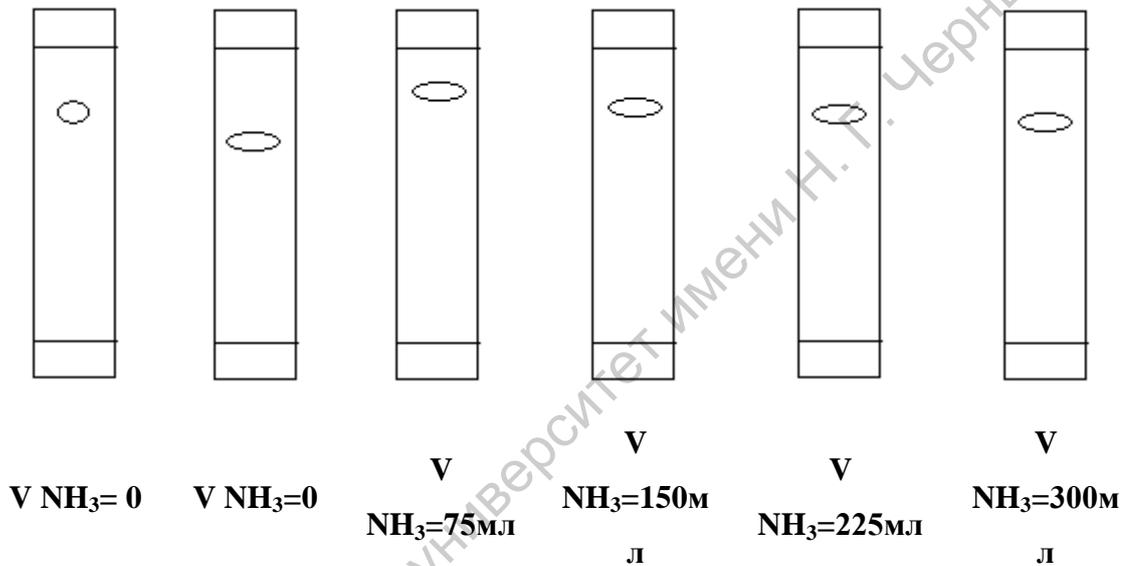


Рис. 3. Хроматограммы о-АФ в зависимости от количества пропущенного в хроматографическую камеру NH_3 . НФ: C_{18} . ПФ: изопропанол: H_2O = 6:4. $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М.

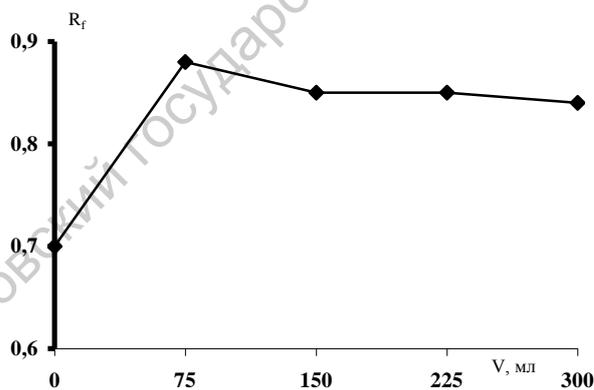


Рис. 4. Зависимость подвижности о-АФ от количества пропущенного в хроматографическую камеру NH_3 . НФ: C_{18} . ПФ: изопропанол: H_2O = 6:4. $C_R=1 \cdot 10^{-3}$ М.