



## **Мицеллярная и ион-парная ТСХ ионизированных соединений в растворах ПАВ в присутствии газовых модификаторов в хроматографической камере**

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

*Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, Саратов*

Березкин В.Г.

*Институт нефтехимического синтеза имени А.В. Топчиева, Москва*

---

### **Аннотация**

Предложен новый вариант мицеллярной и ион-парной тонкослойной хроматографии, основанный на управлении свойствами хроматографической системы в результате направленного воздействия потока газовой фазы на процесс элюирования. Потенциальные возможности нового метода продемонстрированы на примере разделения бензойных кислот при замене исходной газовой атмосферы хроматографической камеры газом кислотного и основного характера. Этот метод позволяет значительно улучшить как хроматографические характеристики сорбатов, так и разделение соединений

---

### **Введение**

Известно два основных варианта динамической модификации метода тонкослойной хроматографии (ТСХ) с применением поверхностно-активных веществ (ПАВ) – мицеллярный и ион-парный [1-3]. В первом случае концентрация ПАВ в водной подвижной фазе (ПФ) превышает критическую концентрацию мицеллообразования (ККМ) и разделение веществ основано на их избирательной солюбилизации в мицеллы ПАВ [4-5]. Во втором – концентрация ПАВ в растворе ниже ККМ и они выполняют функцию гидрофобных противоионов разделяемых веществ [6]. Разные варианты ТСХ с модификацией ПАВ позволили расширить возможности метода и в ряде случаев эффективно разделить смеси, особенно нейтральных и ионизированных органических соединений.

Нами впервые показано [7-10], что на свойства ионизированных соединений влияет и газовая фаза (ГФ) внутри хроматографической камеры, обычно состоящая из смеси воздуха и паров растворителей, содержащихся в ПФ. Вариабельность ГФ также может использоваться для дополнительного направленного изменения в динамическом режиме свойств разделяемых веществ в обращенно-фазовой (ОФ) и нормально-фазовой ТСХ. Целью данной работы является изучение влияния ГФ на разделение веществ в мицеллярной (МТСХ) и ион-парной (ИПТСХ) тонкослойной хроматографии.

---

## Эксперимент

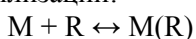
Модельными соединениями служили смеси бензойных кислот (БК), разделение которых проводили в специально сконструированной герметичной и термостатируемой камере в присутствии кислотного ( $\text{CO}_2$ ) или основного ( $\text{NH}_3$ ) газовых модификаторов, которые присутствовали в камере в течение всего времени протекания хроматографического процесса, либо вводились через фиксированный промежуток времени. Хроматографирование проводили методом восходящей ТСХ на пластинах с неполярной (С18, Merck, Germany) неподвижной фазой (НФ). В качестве БК использовали: бензойную (БК), о-, м-, п-аминобензойную (АБК), о-, м-, п-нитробензойную (НБК), о-, м-, п-хлорбензойные (СБК), о-, м-, п-бромбензойные (ВгБК) фталевую (ФК) и терефталевую (ТФК) кислоты. Все реагенты имели квалификацию не ниже “ч.д.а.” Концентрация их водных растворов составляла  $1 \cdot 10^{-3}$  М.

В мицеллярной ТСХ подвижными фазами являлись водные мицеллярные растворы бромиды цетилтриметиламмония (ЦТА) квалификации “хроматографически чистый”. В ион-парной ТСХ – смеси пропанол-2 – вода (6:4) в присутствии ЦТА при концентрациях ниже ККМ.

Детектирование и количественные измерения хроматограмм проводили с помощью видеоденситометра “Сорбфил” (АО “Сорбполимер”, Краснодар).

## Обсуждение результатов

Предварительные исследования показали, что с возрастанием концентрации ЦТА в *мицеллярном растворе* величина подвижности ( $R_f$ ) исследуемых веществ линейно возрастает. Этот факт согласуется с известными литературными данными [4, 11] и результатами собственных исследований авторов [12-17]. Он объясняется усилением связывания реагентов (R) с мицеллами ПАВ в ПФ вследствие смещения вправо равновесия солюбилизации:



где M – мицелла, M(R) – мицелла ПАВ с солюбилизированным реагентом.

Повышение концентрации ЦТА в *молекулярном растворе* в случае ИП ТСХ, наоборот, уменьшает подвижность БК, по-видимому, вследствие преимущественной сорбции гидрофобных ионных пар, образующихся в ПФ, на неполярной неподвижной фазе [6, 18].

Направленное динамическое воздействие газовой фазы как в методе МТСХ, так и ИП ТСХ позволило улучшить параметры эффективности и селективности хроматографического процесса. Наиболее характерные результаты представлены на рисунках 1-4 и в таблицах 1, 2. Применение нового подхода характеризуется следующими, *однотипными* для обоих методов, эффектами, выявляющимися на примере БК его преимущества перед традиционными приемами динамического модифицирования в ТСХ.

1. Установлено, что газовая фаза кислотного или основного характера изменяет подвижность бензойных кислот как солюбилизированных в мицеллах, так и образующих ионные пары с противоионами ПАВ в водной фазе (рис. 1-4). Так, при пропускании углекислого газа величина  $R_f$  производных БК уменьшалась (рис. 2), а при воздействии аммиака, наоборот, увеличивалась (рис. 3). Найденные эффекты могут быть объяснены *селективной* динамической модификацией ПФ и находящихся в ней разделяемых компонентов.

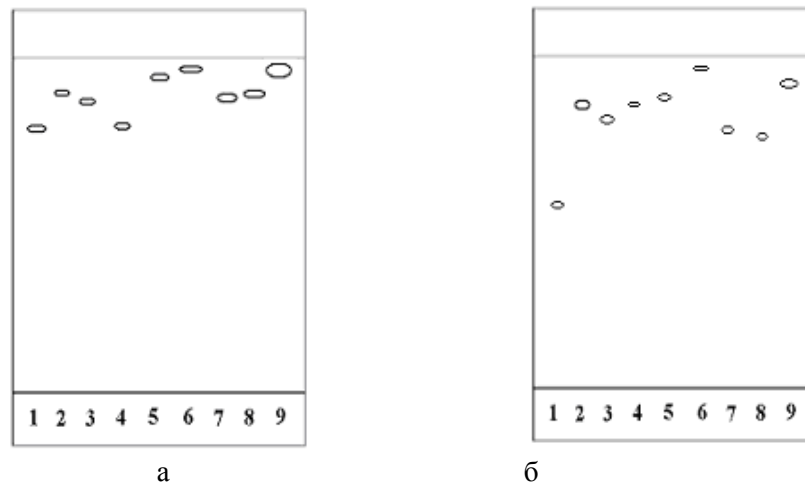


Рис. 1. Хроматограммы бензойных кислот в отсутствие (а) и присутствии (б) углекислого газа в хроматографической камере. НФ:  $C_{18}$ ;  $C_R=1 \cdot 10^{-3}M$ ;  $C_{ЦТА}=4 \cdot 10^{-3}M$  (МТСХ). 1 – о-АБК, 2 – м-АБК, 3 – п-АБК, 4 – БК, 5 – ФК, 6 – ТФК, 7 – о-НБК, 8 – м-НБК, 9 – п-НБК. Время контакта с  $CO_2$  60 мин

2. Изменение свойств подвижной в присутствии газового модификатора фазы связано с уменьшением величины рН с 7.1 – 7.5 до 3.1 – 3.5 при пропускании  $CO_2$  и увеличением рН с 7.1 – 7.5 до 10.5 при пропускании  $NH_3$ .

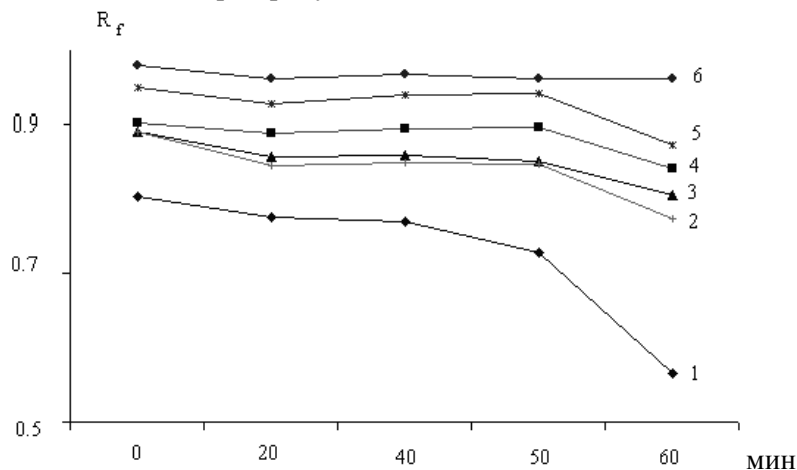


Рис. 2. Изменение  $R_f$  бензойных кислот с увеличением времени контакта с углекислым газом. НФ:  $C_{18}$ ;  $C_R=1 \cdot 10^{-3}M$ ;  $C_{ЦТА}=4 \cdot 10^{-3}M$  (МТСХ); 1 – о-АБК, 2 – о-НБК, 3 – п-АБК, 4 – м-АБК, 5 – ФК, 6 – ТФК.

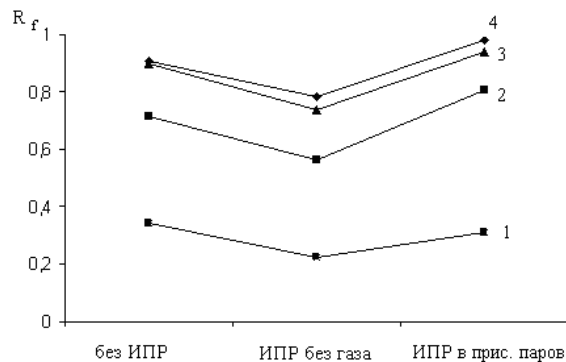


Рис. 3. Значение подвижности бензойных кислот в отсутствие и присутствии паров аммиака в хроматографической камере. НФ:  $C_{18}$ ;  $C_R=1 \cdot 10^{-3}M$ ;  $C_{ЦТА}=4 \cdot 10^{-4}M$  (ИП ТСХ). 1 – п-ВрБК, 2 – о-ВрБК, 3 – п-СiБК, 4 – о-СiБК. Время контакта с  $NH_3$  60 мин

3. В свою очередь, изменение кислотности подвижной фазы изменяет протолитическое равновесие в растворах бензойных кислот  $\text{HA} \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{A}^-$ . В первом случае равновесие смещается влево, во-втором – вправо. Поэтому, уменьшение подвижности бензойных кислот в присутствии  $\text{CO}_2$  связано с преобладающей в процессе хроматографирования менее полярной химической формы  $\text{HA}$ , которая сильнее сорбируется неполярной  $\text{HФ}$ .

При пропускании  $\text{NH}_3$  в растворе преобладает диссоциированная форма БК, более активно переносимая положительно заряженными мицеллами и анионами ЦТА.

4. Найдено, что в присутствии аммиака хроматографические зоны бензойных кислот становятся более компактными (рис. 4), т.е. происходит улучшение их разрешения и, следовательно, разделения смесей указанных соединений. Подтверждением этому является и улучшение селективности разделения веществ (табл. 1, 2).

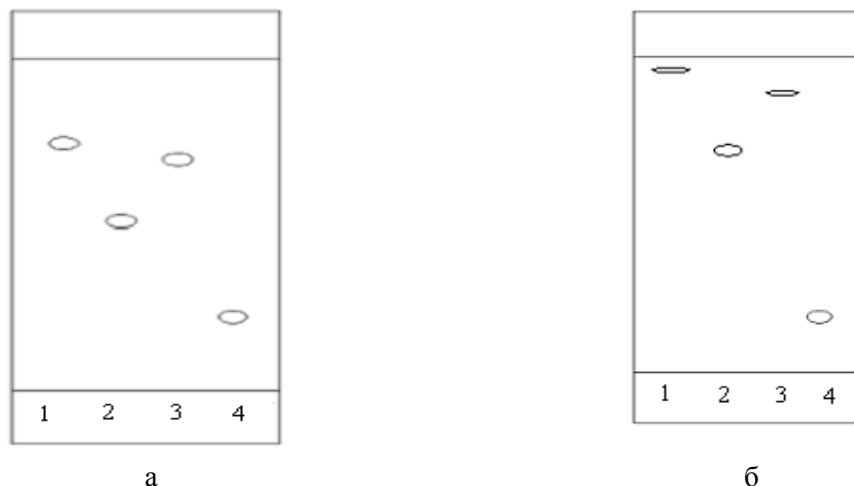


Рис. 4. Хроматограммы бензойных кислот в отсутствие (а) и присутствии (б) паров аммиака в хроматографической камере.  $\text{HФ}$ :  $\text{C}_{18}$ ;  $\text{C}_R = 1 \cdot 10^{-3} \text{M}$ ;  $\text{C}_{\text{ЦТА}} = 4 \cdot 10^{-4} \text{M}$  (ИП ТСХ). 1 – о-СБК, 2 – п-СБК, 3 – о-ВгБК, 4 – п-ВгБК. Время контакта с  $\text{NH}_3$  60 мин

5. Анализ количественных характеристик эффективности хроматографического процесса, т.е. числа теоретических тарелок ( $N$ ), высоты, эквивалентной теоретической тарелке ( $H$ ) показал, что в присутствии  $\text{NH}_3$  эти характеристики также улучшаются (табл. 1, 2). В присутствии  $\text{CO}_2$  параметры  $N$ ,  $H$  и  $\alpha$  либо не меняются, либо несколько уменьшаются.

Таблица 1. Параметры эффективности и селективности разделения бензойных кислот методом МТСХ в отсутствие и присутствии паров аммиака в хроматографической камере ( $n=3$ ,  $p=0.95$ )

Исследуемые вещества	Эффективность						Селективность*		
	$N_{\text{ср.}}$			$H_{\text{ср.}}, \text{мм}$			$\alpha$		
	Без ЦТА и паров $\text{NH}_3$	В присутствии		Без ЦТА и паров $\text{NH}_3$	В присутствии		Без ЦТА и паров $\text{NH}_3$	ЦТА	В присутствии ЦТА и паров $\text{NH}_3$
		ЦТА	ЦТА и паров $\text{NH}_3$		ЦТА	ЦТА и паров $\text{NH}_3$			
о-АБК	4,6	4,4	69	0,011	0,013	0,0009	1,1	1,2	5,0
м-АБК	3,1	11	18	0,015	0,006	0,003	0,9	2,0	2,6
ТФК	1,7	88	332	0,027	0,001	0,0002	0,7	5,6	11
о-НБК	9,5	19	16	0,007	0,004	0,004	1,8	1,8	2,5
м-НБК	28	19	10	0,002	0,004	0,006	2,9	2,9	2,0

\* – Значение селективности рассчитано относительно БК.

6. При действии паров аммиака найден порядок изменения параметров  $N$ ,  $H$  и  $\alpha$ , который, например, при разделении терефталевой, амино- и нитробензойных кислот в варианте МТСХ можно представить рядом ТФК > о-АБК > м-АБК > о-НБК > м-НБК > п-НБК, для ИП ТСХ ряд имеет вид о-СБК > о-ВрБК > п-СБК > п-ВрБК.

7. Сравнение обоих вариантов ТСХ показывает, что газовая фаза основного типа в МТСХ оказывает наибольшее влияние на хроматографические свойства о-аминобензойной и терефталевой кислот, в случае ИП ТСХ на свойства о-хлор- и п-хлорбензойных кислот.

Таблица 2. Параметры эффективности и селективности разделения бензойных кислот методом ИП ТСХ в отсутствие и присутствии паров аммиака в хроматографической камере ( $n=3$ ,  $p=0.95$ )

Исследуемые вещества	Эффективность						Селективность*		
	$N_{ср.}$			$H_{ср.}, мм$			$\alpha$		
	Без ЦТА и паров $NH_3$	В присутствии		Без ЦТА и паров $NH_3$	В присутствии		Без ЦТА и паров $NH_3$	ЦТА	В присутствии ЦТА и паров $NH_3$
		ЦТА	ЦТА и паров $NH_3$		ЦТА	ЦТА и паров $NH_3$			
о-СБК	4,6	6,9	191	0,011	0,008	0,0002	-	-	-
п-СБК	3,5	9,8	32	0,010	0,004	0,001	1,15	1,35	8,3
о-ВрБК	9,4	9,4	44	0,005	0,005	0,001	1,22	1,44	8,6
п-ВрБК	0,078	0,28	0,76	0,098	0,052	0,022	0,86	1,12	6,8

\* – Значение селективности рассчитано относительно о-СБК.

Следует отметить, что эффекты, выявленные для бензойных кислот в мицеллярном и ион-парном вариантах в присутствии газовых модификаторов, соответствуют таковым в ОФ ТСХ бензойных кислот в газовой фазе [8, 9]. Как в случае обращенно-фазовой ТСХ в газовой фазе, мы предполагаем, что выявленные изменения хроматографических характеристик являются результатом последовательного изменения кислотно-основных свойств бензойных кислот в соответствии со значениями их  $pK$  диссоциации, которые приводят к постепенному и дифференцированному изменению формы состояния реагентов в растворе вследствие изменения  $pH$  подвижной фазы.

Таким образом, предлагаемый новый вариант динамического модифицирования пригоден не только для нормально-фазовой и ОФ ТСХ, но может быть применен в обращенно-фазовой мицеллярной и ион-парной тонкослойной хроматографии. Развиваемый подход позволяет направленно воздействовать на химическую форму сорбата и  $pH$  подвижной фазы, а также улучшить селективность разделения веществ.

## Список литературы

1. Pelizzetti E., Pramauro E. Analytical applications of organized molecular assemblies // *Anal. Chim. Acta*. 1985. V.169. P.1-29.
2. Berthod A., Girard I., Gonnet C. Micellar liquid chromatography. Retention study of solutes of various polarities // *Anal. Chem.* – 1986. – Vol. 58, № 7. – С. 1359-1362.
3. Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Тюрина Н.В. Поверхностно-активные вещества в тонкослойной хроматографии // *Журн. аналит. химии*. 2003. Т.58, №. С.808-818.
4. Armstrong D.W., Terril R.Q. Thin Layer Chromatography separation of Pesticides, Decachlorobiphenyl and Nucleosides with Micellar Solutions // *Anal. Chem.* 1979. V.51, №13. P.2160-2163.
5. Armstrong D.W., McNeely M. Use of micelles in the TLC separation of polynuclear aromatic compounds and amino acids // *Anal. Lett.* 1979. V.12. P.1285-1291.
6. van Petegheim C., Bijl J. // *J. Chromatogr.* 1981. V.210, №1. P.113-125.

7. 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 // In: Planar Chromatography 2005: Proc. Intern. Symp., Siofok. 2005. P.273-277.

8. Березкин 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.

9. Berezkin V.G., Sumina E.G., Shtykov S.N., Atayan V.Z., Zagniboroda D.A., Nekhoroshev G.A. Effect of Chamber Gas Phase on Mobile Phase pH and Separation Efficiency in TLC. A New Mode of Chromatography // Chromatographia. 2006. V.64, №1/2. P.105-108.

10. Березкин В.Г., Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Загниборода Д.А., Атаян В.З. Динамическое модифицирование хроматографического разделения в ТСХ, основанное на свойствах газовой фазы // Сорбц. и хромат. процессы. 2007. Т.7, вып.1. С.28-32.

11. Armstrong D.W., Stine J.Y. Evaluation of partition coefficients to micelles and cyclodextrins via planar chromatography // J. Amer. Chem. Soc. 1983. V.105, №10. P.2962-2964.

12. Shtykov S.N., Sumina E.G., Smushkina E.V., Tyurina N.V. Thin layer chromatography of fluoresceine derivatives on direct and reversed stationary phases with aqueous micellar solutions // J. Planar. Chromatogr. 1999. V.12, №2. P.129-134.

13. Shtykov S.N., Sumina E.G., Tyurina N.V. Micellar mobile phases in TLC separation of some transition metal ions and their 1,3-diketonates // J. Planar. Chromatogr. 2000. V.13, №4. P.264-268.

14. Штыков С.Н., Сумина Е.Г., Паршина Е.В., Лопухова С.С. Применение мицеллярных подвижных фаз для разделения производных флуоресцеина методом ТСХ // Журн. аналит. химии. - 1995. - Т.50, №7. - С.747-751.

15. Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Тюрина Н.В. Гидрофобная ТСХ фенолкарбоновых кислот трифенилметанового ряда в мицеллах ПАВ // Изв. вузов. Химия и хим. технол. - 2001. - Т.44, №4. - С.10-13.

16. Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Тюрина Н.В. Физико-химические особенности метода мицеллярной тонкослойной хроматографии // Журн. физ. химии. - 2002. - Т.76, №9. - С.1697-1702.

17. Штыков С.Н., Сумина Е.Г., Тюрина Н.В. Мицеллярная тонкослойная хроматография: особенности и аналитические возможности // Рос. хим. журн. - 2003. - Т.47, №1. - С.119-126.

18. Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Дорофеева С.В. Ион-парная обращенно-фазовая тонкослойная и высокоэффективная жидкостная хроматография бензойных кислот // Журн. аналит. химии. - 2002. - Т.57, №3. - С.257-261.

*Работа выполнена при поддержке Гранта РФФИ, № 05-03-33178.*