



УДК 543.544.943.3-135

## Влияние газовой фазы и мицелл пав на разделение производных фенола методом тонкослойной хроматографии

Сумина Е.Г., Воронцова М.А., Загниборода Д.А., Штыков С.Н.

ГОУ ВПО Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов

Поступила в редакцию 9.11.2009 г.

### Аннотация

Методом тонкослойной хроматографии в герметичной камере на пластинках с обращенной фазой С-18 изучено влияние газовых модификаторов кислотного и основного характера на хроматографическое поведение фенольных соединений в водных подвижных фазах, содержащих пропанол-2, а также мицеллы ПАВ. Показано, что углекислый газ и ионы ПАВ уменьшают подвижность фенолов и ухудшают их разделение, а аммиак и мицеллы ПАВ, наоборот, увеличивают подвижность и улучшают разделение. Установлены основные закономерности поведения указанных сорбатов. Даны примеры применения аммиака для разделения самих фенолов и их смесей с бензойными кислотами и глюкозой.

**Ключевые слова:** тонкослойная хроматография, газовые и мицеллярные модификаторы подвижной фазы, фенолы

The chromatographic behavior of phenolic compounds in the hermetic chamber containing gas modifiers of acid and basic character was studied on C-18 reversed phase plates with mobile phases containing water, propanol-2 and surfactants. It was shown that carbon dioxide and surfactant ions decrease the mobility of phenols and their separation parameters as well as ammonia and micelles of surfactants increase the both parameters. The main regularities of the sorbats behaviour were established. The examples of application of ammonia for separation of phenol mixtures and their mixtures with benzoic acids and glucose were given.

**Keywords:** thin-layer chromatography, gas and micellar modifiers of mobile phase, phenolic compounds

### Введение

Известно, что основным приемом повышения эффективности и селективности разделения в тонкослойной хроматографии (ТСХ) является варьирование природы неподвижной фазы (НФ), регулирование элюирующей силы подвижной фазы (ПФ), подавление или усиление ионизации сорбата при добавлении в ПФ кислот или оснований [1,2]. Ранее, на примере разделения бензойных кислот и ароматических аминов нами показано, что перечисленные характеристики в ТСХ также можно изменять динамическим модифицированием природы газовой фазы (ГФ) в замкнутом объеме хроматографической камеры [3-5]. Применяя кислотный

или основной газовый модификатор можно изменять рН подвижной фазы и, следовательно, ионное состояние протолитов без смены элюента.

Цель данной работы – оценка влияния газовой фазы на разделение фенольных соединений методом ТСХ в традиционном и мицеллярном вариантах.

## Эксперимент

Хроматографирование проводили методом восходящей ТСХ на пластинках с неполярной неподвижной фазой RP-18 (“Merck”, Darmstadt, Germany) при термостатировании ( $20 \pm 1^{\circ} \text{C}$ ) в специально сконструированной сэндвич-камере (рис. 1). Для модификации ГФ использовали газообразный  $\text{CO}_2$ , вводимый через трубку 6, и  $\text{NH}_3$ , помещаемый в вспомогательную емкость 2. Подвижной фазой служила смесь пропанол-2 – вода. Органический растворитель имел квалификацию “хроматографически чистый”. В мицеллярном варианте использовали водные ПФ, содержащие додецилсульфат натрия (ДДС), бромид цетилтриметиламмония (ЦТА) или ОП-10 и относящиеся к анионным, катионным или неионным поверхностно-активным веществам (ПАВ), соответственно. Все ПАВ содержали более 98 % основного вещества. Детектирование и количественную обработку хроматограмм проводили на видеоденситометре “Сорбфил” (АО “Сорбполимер”, Краснодар).

Модельными системами являлись смеси производных фенола, содержащие электронодонорные и акцепторные заместители: фенол (Ф), о-, м-, п-аминофенолы (АФ), о-, м-, п-бромфенолы (БФ), о-, м-, п-нитрофенолы (НФ) о-, м-, п-аминобензойная кислота (АБК) квалификации “ч.д.а.”.

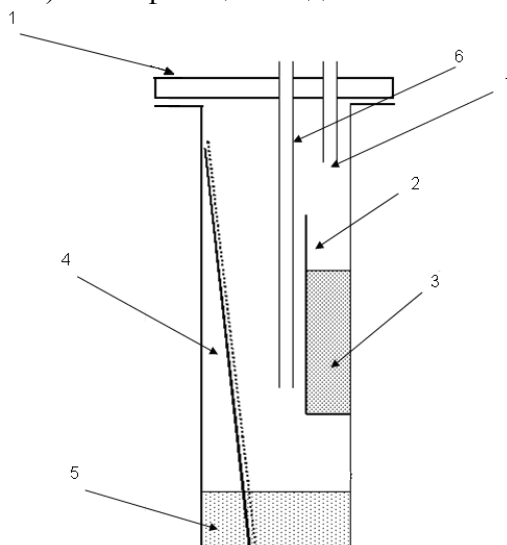


Рис. 1. Камера для хроматографирования

1 – крышка камеры; 2 – емкость для летучего модификатора (например, аммиака); 3 – жидкий летучий модификатор; 4 – пластинка ТСХ; 5 – элюент; 6, 7 – трубки для подачи и отвода газового модификатора, соответственно

Для расчета параметров эффективности и селективности использовали формулы:

$$N = 16 \left( \frac{L}{w} \right)^2 ; H = \frac{L}{N} = \frac{L \cdot w^2}{16l^2} ; R_s = \sqrt{N} \cdot \frac{R_{f_1} - R_{f_2}}{\sqrt{R_{f_1}} - \sqrt{R_{f_2}}}$$

где  $N$  – число теоретических тарелок;  $H$  – высота, эквивалентная теоретической тарелке;  $R_S$  – разрешение;  $L$  – расстояние от стартовой линии до линии фронта элюента;  $l$  – расстояние от стартовой линии до центра хроматографического пятна;  $w$  – расстояние от нижней до верхней границы пятна;  $R_{f_1}$  и  $R_{f_2}$  – значения подвижности, соответствующие двум компонентам смеси (нижнее и верхнее пятно).

### Обсуждение результатов

Предварительное исследование показало, что в присутствии указанных модификаторов газовой фазы наилучшие эффективность и селективность разделения компонентов смеси достигаются при соотношении пропанол-2 – вода равном 6:4. Хроматографические зоны фенолов на полярных сорбентах (Сорбфил и Силуфол) были сильно размыты, поэтому использовали только пластинки с неполярной фазой RP-18.

**Влияние углекислого газа.** Полученные результаты, на примере amino- и нитрофенолов, представлены на рис. 2 и в таблице 1. Из рис.2 (а, б) видно, что при введении в камеру углекислого газа общая картина хроматографического поведения фенолов не изменяется. Сравнение величин  $R_F$  показало, что при действии газа подвижность фенолов незначительно (на 0.15 ед.  $R_F$ ) уменьшается, причем почти на одну и ту же величину. Следовательно, действие углекислого газа является универсальным и связано, вероятно, с уменьшением рН ПФ [3] и протонизацией ионизированных гидроксильных групп фенолов, а также протонизацией не алкилированных ОН-групп сорбента. В связи с этим более гидрофобные недиссоциированные фенолы, как и бензойные кислоты [3], сильнее удерживаются сорбентом. Установлено, что хроматографическая эффективность разделения фенолов и разрешение зон при пропуске углекислого газа либо не изменяются, либо немного уменьшаются, т.е. модификация газом не дает положительных результатов.

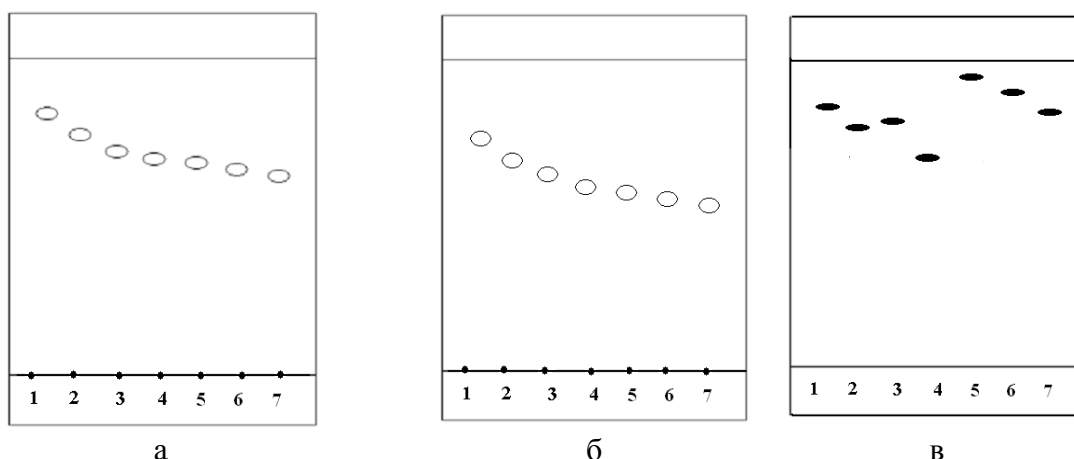


Рис. 2. Хроматограммы фенолов в отсутствие газового модификатора (а) и присутствии углекислого газа (б) и аммиака (в). НФ: RP-18; ПФ: пропанол-2 – вода (6:4).  $C_R=1 \cdot 10^{-3}$  М. 1– о-АФ, 2 – м-АФ, 3 – п-АФ, 4 – Ф, 5–о-НФ, 6 – м-НФ, 7 – п-НФ

**Влияние аммиака.** Насыщение камеры аммиаком, наоборот, радикально изменяет подвижность фенолов, при этом наблюдается два эффекта (рис. 2 с):  
- рост подвижности всех сорбатов, особенно нитропроизводных фенола;

- обращение ряда подвижностей amino- и нитропроизводных, в результате которого подвижности последних становятся больше первых (рис. 3).

Увеличение подвижности фенолов в присутствии аммиака сопровождается улучшением эффективности разделения и увеличением параметра разрешения  $R_S$  (табл. 1). Так, величины  $N$  для фенолов возрастают, а величины  $H$ , соответственно, уменьшаются в 1.5 – 2.0 раза, величина разрешения увеличивается в 1.3 – 1.4 раза.

Указанные изменения, как и в случае бензойных кислот [3], обусловлены увеличением рН подвижной фазы и диссоциацией фенольного гидроксила  $\text{HF} \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{F}^-$ . Известно, что между такими параметрами сорбатов как  $R_f$ , коэффициент распределения ( $k$ ) (между органической и водной составляющими ПФ), соотношение объёмов органической и водной фаз ( $r$ ), рН и константой диссоциации ( $K_a$ ) существует взаимосвязь. Из них три параметра -  $K_a$ ,  $r$ ,  $k$  – постоянны для данных ПФ и HF. Поэтому значение  $R_f$  сорбата будет функцией рН подвижной фазы.

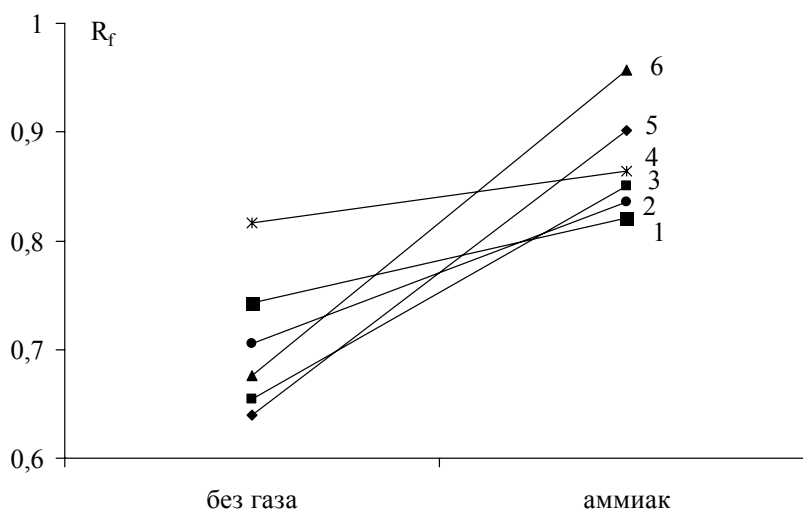


Рис. 3. Влияние аммиака на подвижность фенолов. Время пропускания газа 20 мин. HF: RP-18, ПФ: пропанол-2 – вода (6:4).  $C_R=1 \cdot 10^{-3}$  М. 1 – о-АФ, 2 – п-АФ, 3 – м-НФ, 4 – м-АФ, 5 – о-НФ, 6 – п-НФ

Таблица 1. Параметры эффективности и селективности разделения некоторых фенолов в газовой фазе, содержащей аммиак ( $n=3$ ,  $p=0.95$ )

Сорбат	Эффективность				Разрешение*	
	$N \cdot 10^{-3}$		$H$ , мм		$R_S$	
	Без газа	$\text{NH}_3$	Без газа	$\text{NH}_3$	Без газа	$\text{NH}_3$
Ф	1.0	1.9	0.045	0.028	-	-
о-НФ	2.7	5.7	0.014	0.006	51	67
м-НФ	3.5	4.1	0.011	0.009	53	70
п-НФ	2.1	3.3	0.027	0.012	53	73
о-АФ	4.5	4.9	0.011	0.010	55	71
м-АФ	5.6	5.9	0.010	0.008	56	73
п-АФ	4.0	6.1	0.012	0.010	57	70

\* - значение разрешения рассчитано относительно Ф.

Кривая зависимости  $R_f = f(\text{pH})$  для электролитов кислотного характера имеет S-образный вид (рис. 4). Если два электролита отличаются коэффициентами распределения или константами диссоциации или двумя этими параметрами, они

будут давать две различных кривые  $R_f = f(\text{pH})$ . Значение  $\text{pH}$ , для наилучшего разделения двух кислотных сорбатов может быть найдено из формулы:

$$\text{pH}_{\text{max}} = \text{pH}_{\text{opt}} = \frac{1}{2} \cdot (\text{p}K'_a + \text{p}K''_a) - \frac{1}{2} \cdot (\log k' \cdot r + \log k'' \cdot r)$$

Таким образом, оптимальное значение  $\text{pH}$  зависит не только от констант диссоциации разделяемых электролитов, но и от их коэффициентов распределения, т.е. от свойств используемой ПФ.

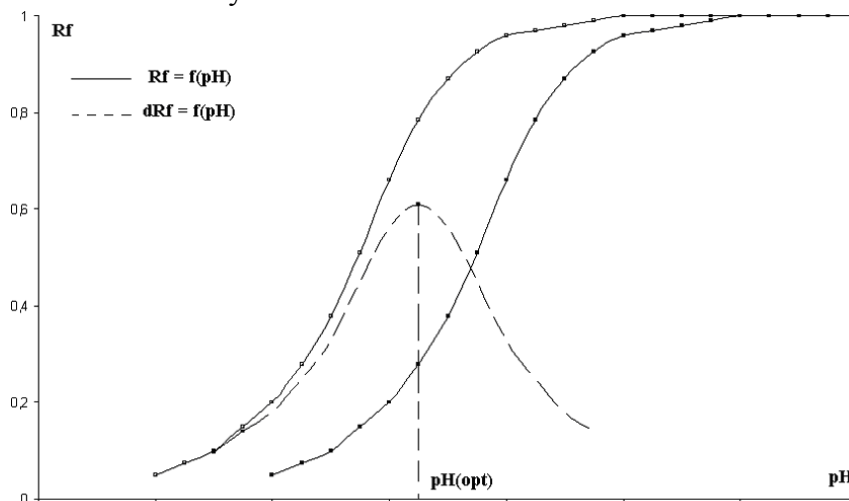


Рис. 4. Выбор оптимального параметра  $\text{pH}$  для разделения двух слабых кислот методом ТСХ

Для нитрофенолов, величины  $\text{p}K_a$  которых меньше (7.21; 8.0 и 7.16 для о-НФ, м-НФ и п-НФ, соответственно), чем у аминофенолов (9.7; 8.16 для о-АФ и п-АФ, соответственно), диссоциация ОН-группы и рост подвижности при пропускании аммиака начинаются при меньших значениях  $\text{pH}$ , т.е. раньше по времени, обеспечивая опережающий рост подвижности их анионных форм. Большие величины  $R_f$  нитрозамещенных фенолов по сравнению с аминзамещенными, объясняются тем, что в о- и п-нитрофенолят-анионах отрицательный атом фенольного кислорода находится в прямом полярном сопряжении с нитрогруппой, которая стабилизирует анион [6]. Результатом стабилизации может быть и более сильная специфическая сольватация анионов нитрофенолов молекулами пропанола-2.

Таким образом эффекты и особенности, установленные нами ранее для бензойных кислот [3], подтвердились и для фенолов, демонстрируя направленное и положительное воздействие газовой фазы на процесс разделения ионизирующих соединений. Последовательная диссоциация разделяемых фенолов является основной причиной дифференцирования их хроматографических свойств, что согласуется с ранее полученными результатами [3-5].

**Влияние ПАВ.** Так как все производные фенола при хроматографировании в мицеллярных подвижных фазах (МПФ) ведут себя одинаково, для детального исследования выбрали один представитель фенолов - о-аминофенол. Оценивали зависимость подвижности о-АФ от концентрации ПАВ в растворе в интервале 0.2 – 10 величины критической концентрации мицеллообразования (ККМ) ПАВ.

Установлено, что при концентрации ионных ПАВ меньше ККМ подвижность о-АФ почти в 2 раза уменьшается (рис. 5). Такое поведение вполне закономерно, поскольку объясняется образованием в растворе гидрофобных ионных ассоциатов [7], сильно удерживаемых неполярной НФ. В случае ЦТА ионная пара образуется по частично диссоциированной ОН-группе, а в случае ДДС — частично

протонированной аминогруппе фенола. Уменьшение подвижности о-АФ в присутствии нейтральных молекул ОП-10 не совсем понятно, поскольку каких-либо химических соединений в системе образоваться не может.

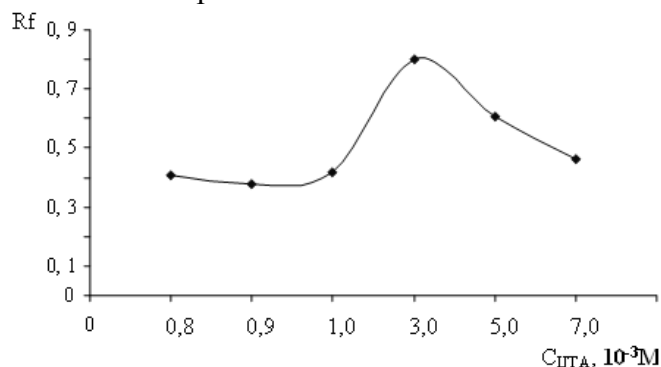


Рис. 5. Зависимость подвижности о-АФ от концентрации ЦТА. НФ: С18; ПФ: ЦТА- вода + пропанол-2 (3%);  $C_R=1 \cdot 10^{-3} \text{М}$ .  $\text{ККМ}_{\text{ЦТА}} \sim 1 \cdot 10^{-3} \text{М}$

Возможно, что причиной может быть водородная связь между ОН- и NH<sub>2</sub>-группами фенола и кислородом оксиэтиленовой цепи неионного ПАВ. Дополнительным фактором может быть адсорбция молекул ОП-10 на поверхности сорбента RP-18, придающая ей гидрофильный характер.

При увеличении концентрации ПАВ в растворе выше ККМ подвижность фенола постепенно растет, достигая максимума для ионных ПАВ примерно при  $C_{\text{ПАВ}} = 3\text{ККМ}$ , а затем снова уменьшается. Этот эффект объясняется тем, что мицеллы ПАВ сольбилизируют как фенолы, так и их гидрофобные ионные ассоциаты и, тем самым, увеличивают их подвижность [7]. Уменьшение подвижности при  $C_{\text{ПАВ}} > 3\text{ККМ}$  связано с известным «эффектом разбавления», т.е. уменьшением концентрации мицелл в растворе.

На примере ЦТА также видно, что в водных ПФ, содержащих ПАВ, параметры эффективности и разрешения хуже, чем в водно-пропанольной ПФ (табл.2). С увеличением концентрации мицеллярного раствора ЦТА эти параметры несколько улучшаются, но не достигают значений, характерных для водно-органической ПФ (см. табл. 1). Аналогичное действие отмечено и для других ПАВ [8].

Таблица 2. Зависимость эффективности и разрешения о-АФ от концентрации ЦТА в подвижной фазе (n=3)

Сорбат	Концентрация ЦТА, М	Эффективность		Разрешение* $R_s$
		$N \cdot 10^{-3}$	H, мм	
о-АФ	-	4,5	0,011	55
о-АФ	$8 \cdot 10^{-4}$	0,6	0,049	52
	$9 \cdot 10^{-4}$	0,4	0,075	51
	$1 \cdot 10^{-3}$	0,6	0,051	52
	$3 \cdot 10^{-3}$	2,1	0,027	61
	$5 \cdot 10^{-3}$	2,2	0,032	62
	$7 \cdot 10^{-3}$	2,6	0,024	61

\* - значение разрешения рассчитано относительно фенола

**Влияние мицелл ПАВ и газа.** Установлено, что в мицеллярных ПФ, как и в ПФ пропанол-2 – вода, пропускание через хроматографическую камеру углекислого газа дополнительно уменьшает подвижность фенолов и ухудшает параметры

эффективности. Уменьшение подвижности в водно-мицеллярных ПФ в 1.5-2 раза большее значительное по сравнению с системой без газа, особенно в ПФ, содержащей ЦТА и связано, как показано нами экспериментально, с уменьшением рН подвижной фазы с 6.2 до 4.3.

При пропускании аммиака подвижность фенолов, связанных в ионные пары или солубилизированных в мицеллы ПАВ, наоборот, растет, причем в разной степени для разных ПАВ. Так для ЦТА величина  $R_f$  увеличивается на 0.1 ед., для ДДС на 0.3-0.4 ед., для ОП-10 на 0.3 ед., т.е. в двух последних случаях – в 2 раза (рис. 6). Экспериментально показано, что пропускание аммиака в ПФ, содержащую ПАВ, увеличивает рН среды с 6.2 до 10.0–10.2. Отличие в поведении ЦТА может быть связано с тем, что увеличение диссоциации ОН-группы увеличивает и вероятность образования гидрофобных ионных ассоциатов  $\Phi^-ЦТА^+$ , причем не только в растворе, но и на поверхности сорбента, которая за счет гидрофобного взаимодействия привитых алкильных радикалов С-18 с алкильными радикалами ПАВ, приобретает положительный заряд. В мицеллярных растворах ДДС, поверхность сорбента, наоборот, получает отрицательный заряд и удерживание одноименно заряженных анионов фенолов сильно уменьшается. Из рис. 6, который типичен для всех систем, также следует, что наибольшее влияние оказывает объем газа, равный примерно двукратному объему хроматографической самой камеры (75 мл).

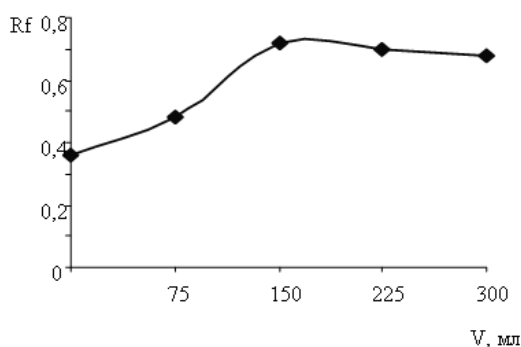


Рис. 6. Зависимость подвижности о-АФ от объема  $NH_3$ , пропущенного в камеру. НФ:  $C_{18}$ ; ПФ: ДДС ( $1 \cdot 10^{-2} M$ )- вода + пропанол-2, 3%;  $C_R = 1 \cdot 10^{-3} M$

Наряду с увеличением подвижности улучшается эффективность и параметр разрешения фенолов (табл.3).

Таблица 3. Зависимость параметров эффективности и разрешения о-АФ от объема  $NH_3$ , пропущенного через хроматографическую камеру; МПФ на основе ДДС ( $n=3$ ;  $P=0.95$ )

Объем $NH_3$ , мл	Эффективность		Разрешение*
	$N \cdot 10^{-3}$	H, мм	
0	0,1	0,29	50
75	0,3	0,063	66
150	0,9	0,039	78
225	1,3	0,027	74
300	0,9	0,039	77

\* - значение разрешения рассчитано относительно фенола

Таким образом, развиваемый новый вариант тонкослойной хроматографии позволяет воздействовать на химическую форму сорбатов, химическую однородность неподвижной фазы и улучшить параметры разделения хроматографируемых веществ.

**Примеры разделения при пропускании аммиака.** Аналитические возможности метода продемонстрированы на примерах разделения смесей фенольных соединений. На рис. 7 представлены результаты разделения в смесях фенола с нитрофенолами и аминокислотами в отсутствие и в присутствии  $\text{NH}_3$ . Из рисунка видно, что газообразный модификатор увеличивает значения  $\Delta R_f$  между хроматографическими зонами сорбатов, улучшая практическое разделение смесей.

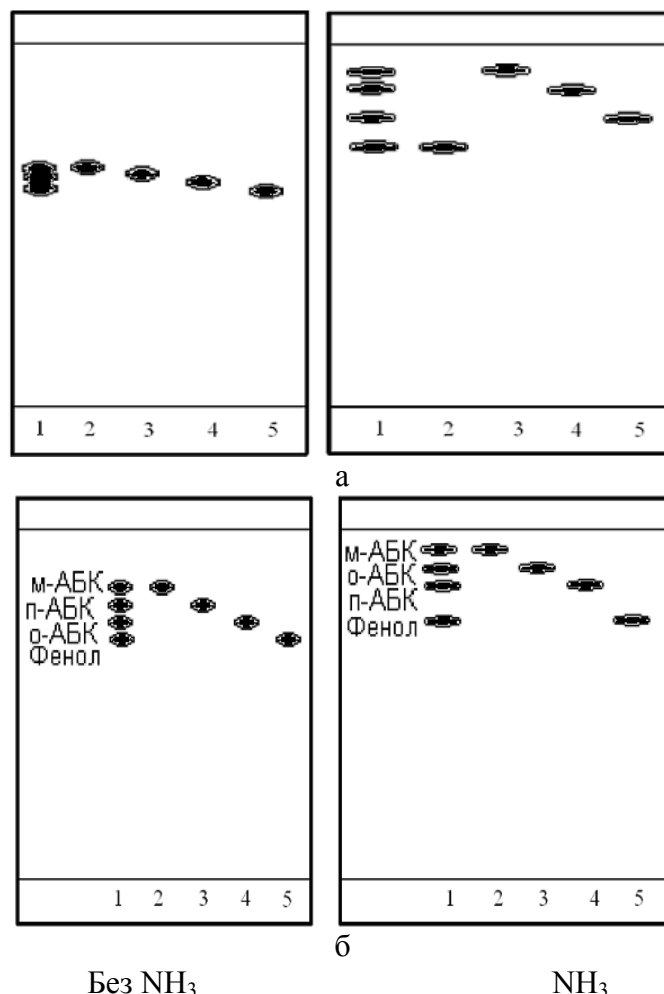


Рис. 7. Разделение смесей фенола с нитрофенолами (а) и аминокислотами (б). НФ: RP-18, ПФ: пропанол-2-вода (6:4). а: 1 – смесь, 2 – Ф, 3 – п-НФ, 4 – м-НФ, 5 – о-НФ), б: 1-смесь, 2,3,4,5 – «свидетели» о-АБК, м-АБК, п-АБК, Ф

Другим примером положительного влияния газовой фазы является разделение и количественное определение фенола в смеси с глюкозой в смеси, которая является одним из основных компонентов сточных вод целлюлозно-бумажных комбинатов. На рис. 8 и в табл. 4. представлены результаты разделения и определения компонентов этой смеси в отсутствие и присутствии аммиака. Применение аммиака позволило полностью разделить компоненты даже при более чем 500-кратном избытке глюкозы.



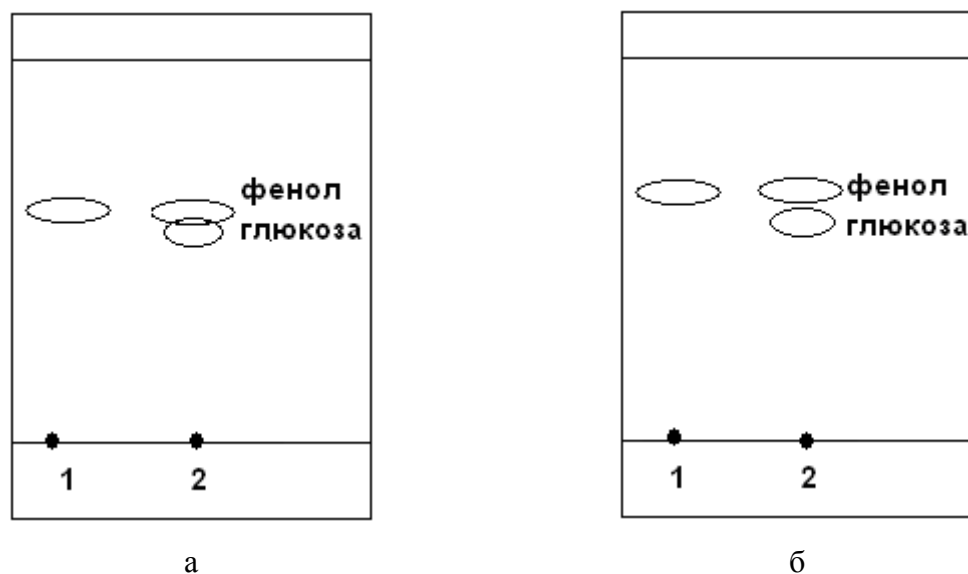


Рис. 8. Хроматограмма разделения смеси фенола и глюкозы. НФ: RP-18; ПФ: пропанол-2–вода (6:4). 1 – фенол; 2 – смесь фенола ( $C=1.1 \cdot 10^{-3}$  М) и глюкозы ( $C=0.55$  М) в отсутствие (а) и в присутствии (б) аммиака

Таблица 4. Результаты определения фенола в смеси с глюкозой ( $n=3$ ,  $P=0.95$ ) (метод «введено- найдено») ( $C_{\text{глюкозы}} = 100$  мг/л)

Введено, мг/л	Найдено, мг/л	$S_r$	$t_{\text{эксп}}$	$t_{\text{теор}}$	Относительная погрешность, %
3.80	$4.17 \pm 0.04$	0.015	3.4	4.3	11
4.70	$4.26 \pm 0.05$	0.021	3.3		8.5
5.60	$5.01 \pm 0.06$	0.025	3.1		11

## Заключение

Исследовано модифицирующее действие газовой фазы кислотного и основного характера в герметичной хроматографической камере на разделение производных фенола в водно-органических и мицеллярных подвижных фазах на гидрофобных пластинках с фазой C-18. Показано, что применение углекислого газа ухудшает разделение, а аммиака – улучшает эффективность разделения и разрешение хроматографических зон. Мицеллы ПАВ и углекислый газ влияют одинаково, сильно увеличивая удерживание и ухудшая разделение. Действие мицелл и аммиака разнонаправлено: мицеллы уменьшают подвижность фенолов, а аммиак – увеличивает её. Показана возможность улучшения разделения фенола с нитрофенолами и бензойными кислотами, разработана методика разделения и количественного определения фенола в смесях, имитирующих стоки целлюлозно-бумажной промышленности.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект № 08-03-00725а*

## Список литературы

1. Киселев А.В., Пошкус Д.П., Яшин Я.И. Молекулярные основы адсорбционной хроматографии. М.: Химия. 1986. 270 с.
2. Гейсс Ф. Основы тонкослойной хроматографии. Планарная хроматография. М., 1999. Т.1/2.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. Днепровский А.С., Темникова Т.И. Теоретические основы органической химии: Учебное пособие для вузов. Л.: Химия, 1979. 520 с.
7. Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Тюрина Н.В. Поверхностно-активные вещества в тонкослойной хроматографии // Журн. аналит. химии. 2003. Т.58 № 8. С. 809-819.
8. Загниборода Д.А. Новый вариант тонкослойной хроматографии с управляемой газовой фазой. Дис. канд. хим. наук. Саратов. 2009. 26 с.

---

**Сумина Елена Германовна** – д.х.н., профессор кафедры аналитической химии и химической экологии, Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов

**Штыков Сергей Николаевич** – д.х.н., профессор кафедры аналитической химии и химической экологии, Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов

**Воронцова Мария Алексеевна** – студентка, Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов

**Загниборода Дмитрий Анатольевич** – аспирант кафедры аналитической химии и химической экологии, Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов

**Sumina Elena G.** – Doctor of Chemical Sciences (Dr. Sc., Highest Degree), Professor, Division of Analytical Chemistry and Chemical Ecology, N.G. Chernyshevskii Saratov State University, [SuminaEG@yandex.ru](mailto:SuminaEG@yandex.ru)

**Shtykov Sergei N.** - Doctor of Chemical Sciences (Dr. Sc., Highest Degree), Professor, Division of Analytical Chemistry and Chemical Ecology, N.G. Chernyshevskii Saratov State University

**Vorontsova Mariya A.** – student, N.G. Chernyshevskii Saratov State University

**Zagniboroda Dmitrii A.** – post-graduate student, Division of Analytical Chemistry and Chemical Ecology, N.G. Chernyshevskii Saratov State University