

УДК 543.544.943.3

## **ВОСХОДЯЩЕЕ ЭЛЮИРОВАНИЕ В МИЦЕЛЛЯРНОЙ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ НА НОРМАЛЬНО-ФАЗОВЫХ СОРБЕНТАХ: СКОРОСТЬ ДВИЖЕНИЯ ПОДВИЖНОЙ ФАЗЫ**

**А. Ю. Ренкевич, А. П. Бойченко, Л. П. Логинова, А. Ю. Куликов**

В работе определены физико-химические характеристики (поверхностное натяжение и вязкость) мицеллярных подвижных фаз на основе катионного поверхностно-активного вещества цетилпиридиний хлорида с концентрацией 0.01, 0.02 и 0.03 М с добавками этанола, 1-пропанола, 1-бутанола или 1-пентанола. Исследовано влияние свойств подвижной фазы на скорость элюирования в восходящем режиме тонкослойной хроматографии. Показано, что вязкость мицеллярных подвижных фаз монотонно возрастает, а плотность уменьшается с увеличением объемной доли модификатора в мицеллярном элюенте. Поверхностное натяжение при введении спиртов в мицеллярный элюент уменьшается. Это приводит к увеличению времени элюирования в мицеллярной тонкослойной хроматографии (МТСХ). Значения факторов задерживания тестовых веществ (азорубин, бриллиантовый голубой) практически не зависят от доли модификатора в подвижной фазе для всех спиртов, за исключением этанола. Модель Гиддинга удовлетворительно описывает движение подвижной фазы в МТСХ для элюентов с различной концентрацией поверхностно-активного вещества (ПАВ) и долей модификатора.

**Ключевые слова:** мицеллярная тонкослойная хроматография, вязкость, поверхностное натяжение, модель Гиддинга.

### **Введение**

Развитие практических применений любого метода химического анализа неразрывно связано с более глубоким пониманием его физико-химических основ [1, 2]. Это позволяет направленно подбирать оптимальные экспериментальные условия и заранее судить о применимости того или иного метода анализа для решения поставленных задач.

В отличие от газовой и колоночной хроматографии, где поступление подвижной фазы обусловлено перепадом давлений на входе и выходе из колонки, движение растворителя в тонкослойной хроматографии вызвано действием капиллярных сил. Жидкость вначале заполняет более узкие капилляры, затем заполняются более крупные. В тонкослойной хроматографии движение фронта жидкости определяется квадратичной зависимостью, которая достаточно хорошо изучена [2-4]. Так как в нормально-фазовой тонкослойной хроматографии используются летучие растворители, то значительное влияние на скорость движения фронта подвижной фазы оказывает насыщение камеры [5-8].

В мицеллярном варианте, в отличие от нормально-фазовой тонкослойной хроматографии, необходимость насыщать камеру отсутствует, т.к. используют лишь небольшие добавки органических растворителей к водным мицеллярным растворам поверхностно-активных веществ. Солюбилизация способствует уменьшению давления насыщенных паров растворителя над мицеллярным раствором и снимает необходимость насыщать хроматографическую камеру перед разделением.

Известно, что растворы поверхностно-активных веществ значительно влияют на поверхностное натяжение, потому поверхностное натяжение в случае мицеллярной тонкослойной хроматографии должно оказывать значительный эффект на скорость движения подвижной фазы.

В этой работе исследованы зависимости поверхностного натяжения, вязкости и плотности мицеллярных подвижных фаз содержащих 0.01 или 0.03 М катионного поверхностно-активного вещества (ПАВ) цетилпиридиний хлорида (ЦПХ), от объемной доли модификаторов. В качестве модификаторов мицеллярных подвижных фаз мы опробовали добавки (от 0.5 % до 8 % по объему) этанола, 1-пропанола, 1-бутанола и 1-пентанола.

## Экспериментальная часть

### *Реагенты и растворы*

Для приготовления 0.01 М раствора ЦПХ (Merck), модифицированного спиртом, использовали мерную колбу на 100 мл, куда вносили 0.5; 1.0; 2.0; 4.0; 6.0; 8.0 мл спирта (этанол «фарм.», 1-пропанол «х.ч.», 1-бутанол «х.ч.», 1-пентанол «х.ч.»); 10.0 мл 0.10 М раствора ЦПХ, приготовленного гравиметрически, и доводили до метки бидистиллированной водой. Подвижные фазы с содержанием 1-бутанола больше 10 % (по объему) и больше 3 % (по объему) 1-пентанола расслаивались. Аналогичным образом готовились подвижные фазы, содержащие 0.03 М ЦПХ.

Для приготовления немиецеллярных подвижных фаз также использовали мерную колбу на 100 мл, куда вносили 0.5; 1.0; 2.0; 4.0; 6.0; 8.0 мл спирта и доводили до метки бидистиллированной водой. При этом эмульсия образовывалась при приготовлении подвижных фаз, содержащих 2 % 1-бутанола и 1 % 1-пентанола.

Растворы тестовых веществ (куркумина, азорубина, бриллиантового голубого) готовили растворяя 100 мг каждого красителя в 10 мл *изо*-пропанола.

### *Хроматографические разделения*

Хроматографирование проводили в ненасыщенных *N*-камерах на пластинках Sorbfil ТСХ 10 см × 10 см (Россия), которые предварительно разрезали на полоски размером 2.5 см × 10 см. Объем наносимой пробы красителей составлял 2 мкл.

### *Измерение вязкости и поверхностного натяжения подвижных фаз*

Значения кинематической вязкости определяли в соответствии с ГОСТ 10028-81 с использованием стеклянного вискозиметра ВПЖ-1 при температуре  $25.0 \pm 0.1$  °С. Динамическую вязкость рассчитывали как произведение кинематической подвижной фазы на ее плотность, определенную гравиметрически. Поверхностное натяжение подвижных фаз измеряли по методу максимального давления в пузырьке (метод Ребиндера [9]), который основан на измерении давления в момент отрыва пузырька газа, продавливаемого в жидкость через капилляр.

## Результаты и обсуждение

### *Влияние количества модификатора на вязкость подвижной фазы*

Вязкость, внутреннее трение, – это свойство текучих тел (жидкостей и газов) оказывать сопротивление перемещению одной их части относительно другой. В жидкости молекула может проникнуть в соседний слой лишь при образовании в нём полости, достаточной для «перескакивания» молекулы. На образование полости (на «рыхление» жидкости) расходуется так называемая энергия активации вязкого течения. Энергия активации уменьшается с ростом температуры и понижением давления. Возникновение в жидкостях (дисперсных системах или растворах полимеров) пространственных структур, образуемых сцеплением частиц или макромолекул, вызывает повышение вязкости. При течении «структурированной» жидкости работа внешней силы затрачивается не только на преодоление истинной (ньютоновской) вязкости, но и на разрушение структуры. На рис. 1, 2 приведены зависимости вязкости подвижных фаз содержащих 0.01 М или 0.03 М ЦПХ и модифицированных различными добавками этанола (EtOH), 1-пропанола (PrOH), 1-бутанола (BuOH) или 1-пентанола (PtOH). При увеличении объемной доли спирта наблюдается увеличение вязкости. Также увеличение вязкости наблюдается при увеличении концентрации ЦПХ для одного и того же модификатора и его объемной доли в растворе. Сравнивая рисунки 1 и 2 можно говорить о нивелировании влияния природы модификатора на значение вязкости при увеличении концентрации ЦПХ в растворе.

### *Влияние количества модификатора на поверхностное натяжение подвижной фазы на основе ЦПХ*

В данной работе поверхностное натяжение подвижных фаз измерялось по методу Ребиндера (метод определения максимального давления в пузырьке), который основан на измерении давления в момент отрыва пузырька газа, продавливаемого в жидкость через капилляр. Прибор градуировали по известным значениям поверхностного натяжения для воды.

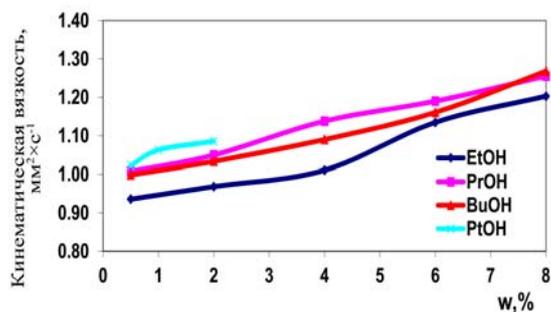


Рис. 1. Зависимость кинематической вязкости от объемной доли модификатора в 0.01 М растворе ЦПХ

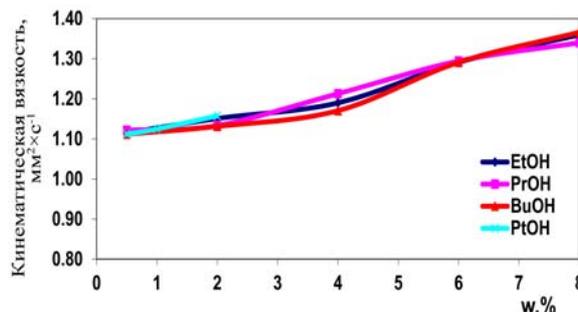


Рис. 2. Зависимость кинематической вязкости от объемной доли модификатора в 0.03 М растворе ЦПХ

Спирты, как и ЦПХ, снижают поверхностное натяжение водных растворов за счет ориентации на поверхности раздела вода-воздух. Поэтому интересным является эффект уменьшения поверхностного натяжения мицеллярных растворов ЦПХ при введении в них спиртов. На рис. 3 и 4 приведены зависимости поверхностного натяжения от объемной доли модификатора.

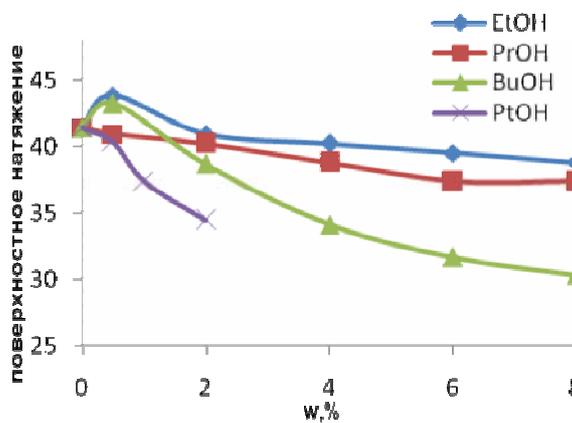


Рис. 3. Зависимость поверхностного натяжения подвижной фазы от объемной доли модификатора, концентрация ЦПХ 0.01 М

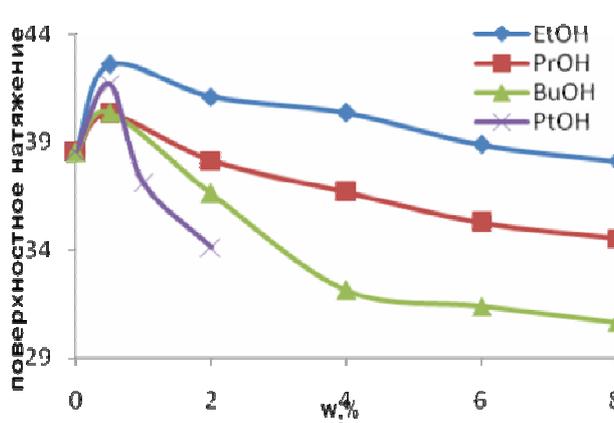


Рис. 4. Зависимость поверхностного натяжения подвижной фазы от объемной доли модификатора, концентрация ЦПХ 0.03 М

По влиянию спиртов на поверхностное натяжение их можно разделить на две группы: (1) этанол и 1-пропанол, которые вызывают плавное снижение поверхностного натяжения и (2) 1-бутанол вызывающие более резкое снижение. Поверхностное натяжение подвижных фаз содержащие максимальное количество 1-бутанола(6% по объему) и 1-пентанола(1% по объему) без добавок ЦПХ составляет: 32,11 мН×м<sup>-1</sup> и 39,94 мН×м<sup>-1</sup> соответственно. Влияние спиртов на поверхностное натяжение растворов ПАВ сейчас подробно изучается в литературе [10]. Интерпретация, полученных нами результатов будет проведена нами позднее.

*Влияние состава подвижной фазы на удерживание в мицеллярной тонкослойной хроматографии.*

Для изучения влияния состава подвижной фазы на удерживание в мицеллярной тонкослойной хроматографии использовали смесь трех красителей куркумина, азорубина и бриллиантового голубого. На рис. приведены зависимости значений  $R_f$  азорубина и бриллиантового голубого от доли модификатора. Движения гидрофобного красителя куркумина ( $\log K_{ow} = 4.02$  ACDLabs 4.01) при использовании всех подвижных фаз не наблюдалось, а бриллиантовый голубой и азорубин имели высокие значения  $R_f$ . При добавлении алифатических спиртов к мицеллярным подвижным фазам форма хроматографических пятен улучшалась, однако значения  $R_f$  азорубина и бриллиантового голубого мало зависят от содержания модификатора в мицеллярной подвижной фазе.

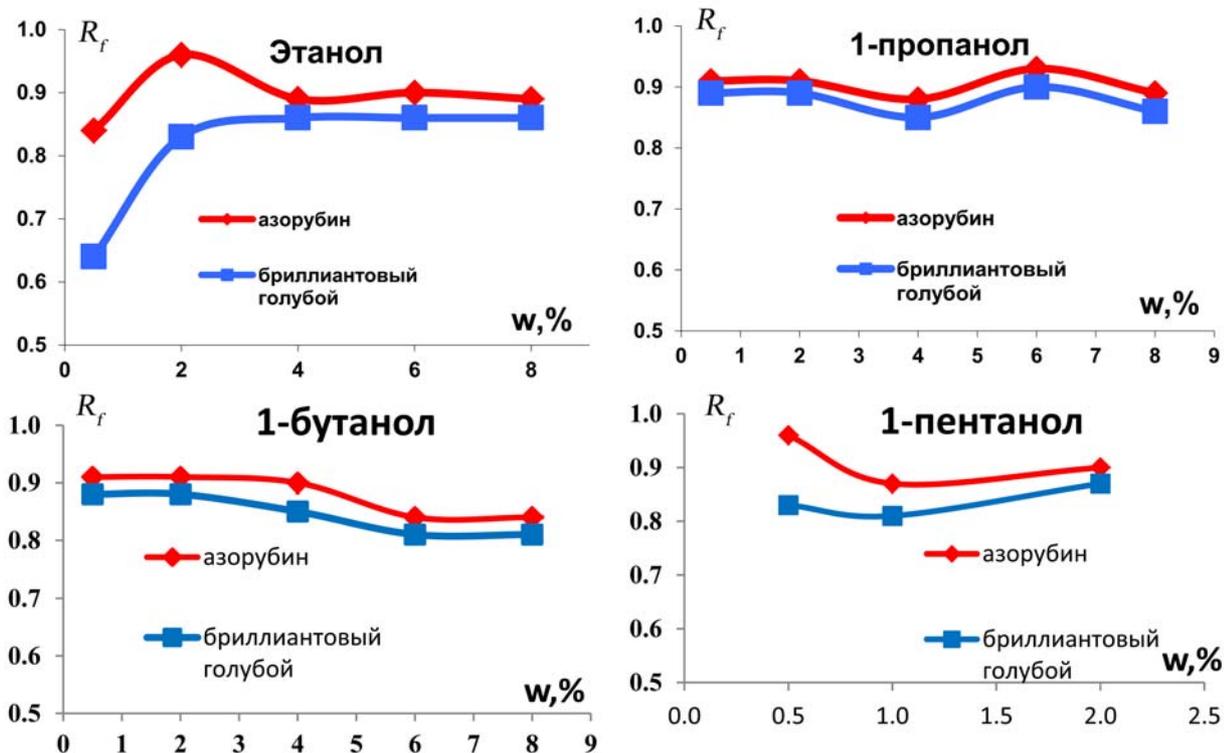


Рис. 5. Зависимость значений  $R_f$  бриллиантового голубого и азорубина от объемной доли модификтора для А – этанола, Б – 1-пропанола, В – 1-бутанола; Г – 1-пентанола, концентрация ЦПХ в подвижной фазе – 0.01 М.

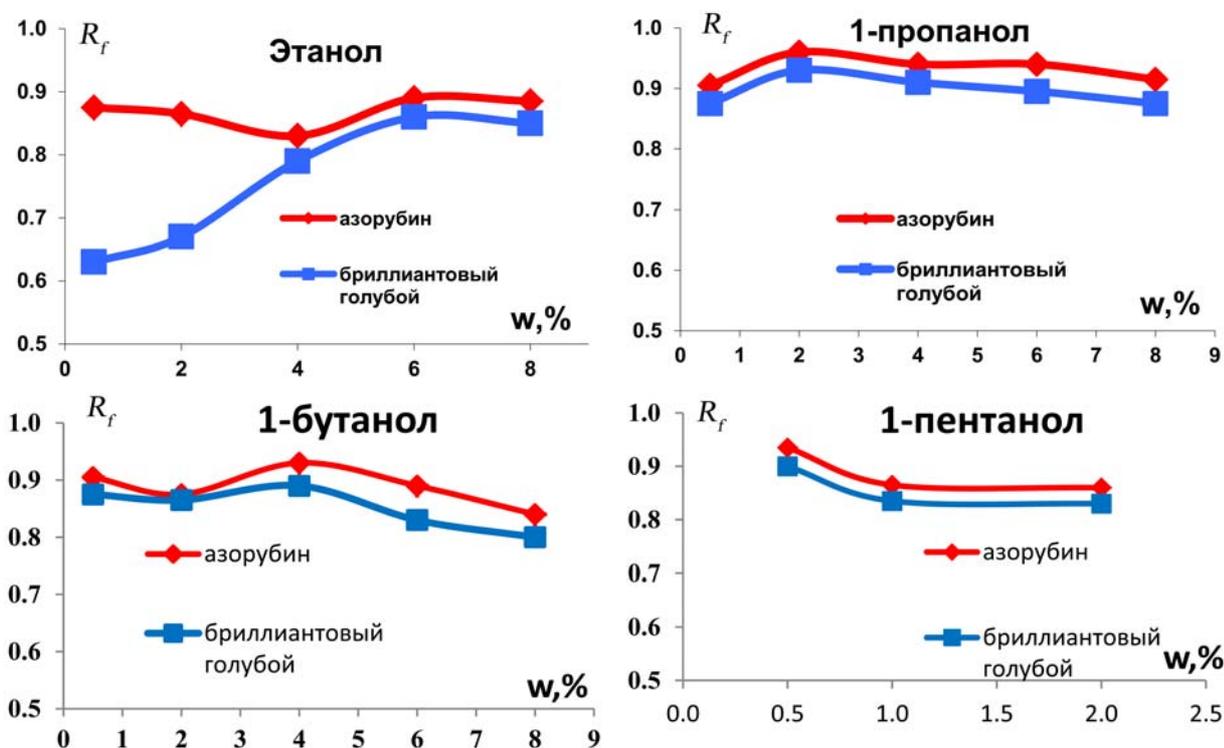


Рис. 6. Зависимость значений  $R_f$  бриллиантового голубого и азорубина от объемной доли модификтора для А – этанола, Б – 1-пропанола, В – 1-бутанола; Г – 1-пентанола, концентрация ЦПХ в подвижной фазе – 0.03 М.

Такое поведение может свидетельствовать о псевдомицеллярном характере разделения в тонкослойной хроматографии на нормально-фазовых сорбентах, что связано со значительно

большой скоростью движения подвижной фазы, обедненной молекулами поверхностно-активного вещества по сравнению с движением фронта, содержащего мицеллы ЦПХ. Таким образом, большую часть времени аналиты контактируют с домицеллярным раствором ПАВ. Это подтверждают и близость значений  $R_f$  тестовых веществ, полученных с мицеллярными подвижными фазами, и  $R_f$ , полученными с использованием чистой воды в качестве элюента (0.86 и 0.91 соответственно). Однако использование подвижных фаз без добавок ЦПХ приводит к уменьшению селективности разделения красителей.

*Модель Гиддингса для описания движения подвижной фазы в нормально-фазовой мицеллярной тонкослойной хроматографии*

Согласно модели Гиддингса [3, 4], в восходящей тонкослойной хроматографии время хроматографирования связано с расстоянием от линии погружения до линии финиша ( $z_f$ ) следующим уравнением:

$$z_f = \sqrt{\chi t} \quad (1)$$

где  $\chi$  – постоянная потока или «коэффициент скорости»;  $t$  – время хроматографирования.

Постоянная потока характеризует скоростные свойства фронта для конкретного сочетания подвижной и стационарной фазы и зависит от параметра проницаемости ( $k_0$ ), на который влияет структура пор сорбента, диаметр частиц сорбента ( $d$ ), поверхностное натяжение ( $\gamma$ ) и динамическая вязкость подвижной фазы ( $\eta$ ):

$$\chi = 2k_0 d \frac{\gamma}{\eta} \quad (2)$$

Преобразуя формулы (1) и (2), можно получить выражение, связывающее отношение времени хроматографирования к квадрату пройденного фронтом расстояния с отношением динамической вязкости подвижной фазы к ее поверхностному натяжению:

$$\frac{t}{z_f^2} = \frac{\eta}{2k_0 d \gamma} \cong \text{const} \frac{\eta}{\gamma} \quad (3)$$

При введении модификаторов в мицеллярные подвижные фазы время хроматографирования увеличивалось, т.к. при добавлении алифатических спиртов увеличивается вязкость и уменьшается поверхностное натяжение подвижных фаз.

На рис. 7 приведена зависимость отношения времени хроматографирования к квадрату пройденного расстояния от отношения динамической вязкости к поверхностному натяжению, построенная для мицеллярных подвижных фаз, содержащих 0.01 М, 0.02 М, 0.03 М ЦПХ и различные добавки спиртов-модификаторов. Данные для подвижных фаз с концентрацией ЦПХ 0.02 М были получены нами ранее [11].

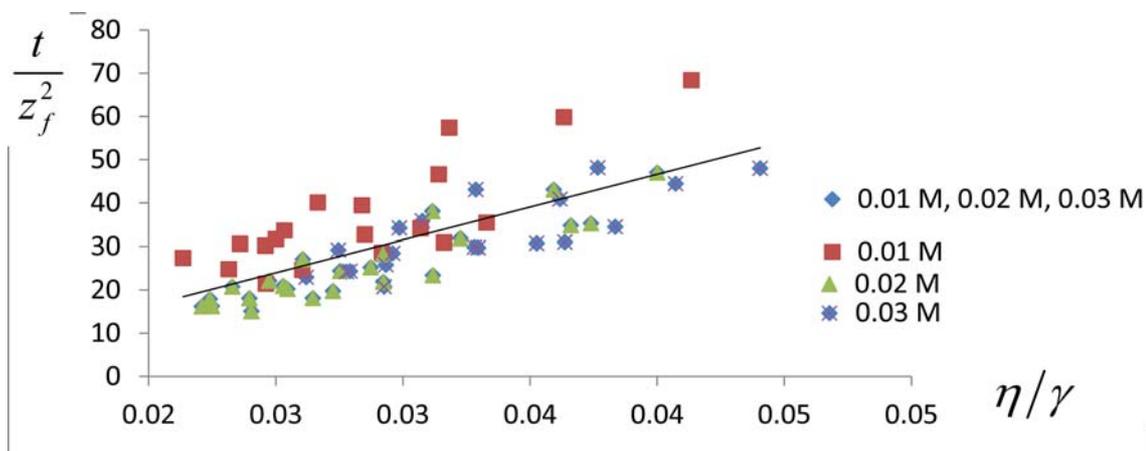


Рис. 7. Зависимость  $t/z_f^2$  от отношения динамической вязкости к поверхностному натяжению, построенная для подвижных фаз, с концентрацией ЦПХ 0.01, 0.02, 0.03 М.

Линейная зависимость  $t/z^2 = 1500(\pm 300)\eta/\gamma + 13(\pm 10)$  удовлетворительно описывает наблюдаемый тренд значений. Коэффициент корреляции составляет 0.74, значение  $F$ -критерия равно 69, количество точек – 59. Анализ полученного графика указывает на смещение экспериментальных значений  $t/z^2$  в область более высоких значений, что соответствует большим временам хроматографирования, что будет изучено в наших последующих работах.

### Выводы

Таким образом, модель Гиддинга удовлетворительно описывает движение подвижной фазы в МТСХ для элюентов с различной концентрацией ПАВ и долей модификатора. Увеличение вязкости мицеллярных подвижных фаз с увеличением объемной доли модификатора, а также уменьшение поверхностного натяжения приводит к увеличению времени элюирования в мицеллярной ТСХ. Изменение содержания модификатора в мицеллярном элюента на основе цетилпиридиний хлорида мало влияет на селективность разделения гидрофильных веществ (азорубин, бриллиантовый голубой), что скорее всего с псевдомицеллярным характером разделения для веществ с высокими значениями факторов задерживания.

### Литература / References

1. Braithwaite, A. and F.J. Smith, Chromatographic Methods. 1999: Kluwer Academic Publishers.
2. Geiss, F., Fundamentals of Thin Layer Chromatography (Planar Chromatography). Chromatographic methods. 1987, Heidelberg: Huethig Verlag.
3. Giddings, J.C., G.H. Stewart, and A.L. Ruoff, Zone migration in paper chromatography. Journal of Chromatography, 1960. 3: p. 239-251.
4. Ruoff, A.L. and J.C. Giddings, Paper geometry and flow velocity in paper chromatography Journal of Chromatography, 1960. 3: p. 438-442.
5. Berezkin, V.G., Development of nontraditional planar-chromatographic methods. Journal of Planar Chromatography - Modern TLC, 2008. 21(5): p. 325-329.
6. Berezkin, V.G., Nontraditional variants of thin layer chromatography. Russian Journal of Physical Chemistry A, 2008. 82(7): p. 1197-1201.
7. Berezkin, V.G., et al., Use of thin-layer chromatography with closed sorption layer for the determination of volatile compound. Petroleum Chemistry, 2009. 49(5): p. 401-405.
8. Berezkin, V.G. and S.L. Bolotov, Thin-layer chromatography with mobile phases of low volatility. Talanta, 1987. 34(1): p. 183-189.
9. Rebinder, P.A., Selected works. Surface phenomena in dispersed systems. Colloid chemistry. 1978, Moscow: Nauka. 121.
10. Zdziennicka, A. and B. Jan'czuk, Behavior of cationic surfactants and short chain alcohols in mixed surface layers at water-air and polymer-water interfaces with regard to polymer wettability. I. Adsorption at water-air interface. Journal of Colloid and Interface Science, 2010. 349: p. 374-383.
11. Boichenko, A.P., et al., The mobile phase motion in ascending micellar thin-layer chromatography with normal-phase plates. Journal of Planar Chromatography: Modern TLC, 2011: p. accepted for publication.

*Поступила в редакцию 10 июля 2012 г.*

А. Ю. Ренкевич, О. П. Бойченко, Л. П. Логінова, А. Ю. Куліков. Висхідне елюювання в міцеллярній тонкошаровій хроматографії на нормально-фазових сорбентах: швидкість руху рухомої фази.

У роботі визначені фізико-хімічні характеристики (поверхневий натяг і в'язкість) міцеллярних рухомих фаз на основі катіонної поверхнево-активної речовини цетилпіридиній хлориду з концентрацією 0.01, 0.02 і 0.03 М з добавками етанолу, 1-пропанолу, 1-бутанолу або 1-пентанолу. Досліджено вплив властивостей рухомої фази на швидкість елюювання у висхідному режимі тонкошарової хроматографії. Показано, що в'язкість міцеллярної рухомих фаз монотонно зростає, а густина зменшується зі збільшенням об'ємної частки модифікатора в міцеллярному елюенті. Поверхневий натяг при введенні спиртів в міцеллярний елюент

зменшується. Це призводить до збільшення часу елюювання в міцелярній тонкошаровій хроматографії (МТШХ). Значення факторів затримання тестових речовин (азорубін, діамантовий блакитний) практично не залежать від частки модифікатора в рухомій фазі для всіх спиртів, за винятком етанолу. Модель Гіддінгса задовільно описує рух рухомої фази в МТШХ для елюентів з різною концентрацією поверхнево-активної речовини (ПАР) і вмістом модифікатора.

**Ключові слова:** міцелярна тонкошарова хроматографія, в'язкість, поверхневий натяг, модель Гіддінгса.

A. Yu. Renkevich, A. P. Boichenko, L. P. Loginova, A. U. Kulikov. Ascending elution in micellar thin layer chromatography on normal-phase sorbents: mobile phase velocity.

In this paper, physico-chemical characteristics (surface tension and viscosity) of micellar mobile phases on the basis of the cationic surfactant cetylpyridinium chloride with a concentration 0.01, 0.02 and 0.03 M with additives of ethanol, 1-propanol, 1-butanol or 1-pentanol were obtained. The effect of the properties of the mobile phase on the elution velocity in ascending mode of thin layer chromatography was investigated. It is shown that the viscosity of micellar mobile phases increases monotonically and the density decreases with increasing volume fraction of modifier in the micellar eluent. The surface tension of the micellar eluent is reduced after the addition of alcohol. This leads to the increasing of elution time in micellar TLC (MTLC). The values of the retardation factors of the test substances (azorubin, brilliant blue) practically do not depend on the fraction of modifier in the mobile phase for all alcohols except ethanol. Giddings model satisfactorily describes the motion of the mobile phase in MTLC for eluents with various concentrations of surface-active agent (surfactant) and the proportion of the modifier.

**Key words:** micellar thin layer chromatography, viscosity, surface tension, Giddings model.

Kharkov University Bulletin. 2012. № 1026. Chemical Series. Issue 21 (44).