

Chromatographic Chamber Saturation in Micellar Thin-Layer Chromatography

A.Yu. Renkevich¹, A.Yu. Kulikov^{2*}

¹ Department of Chemical Metrology, V.N. Karazin Kharkov National University, Svoboda Square 4, 61077, Kharkov, Ukraine

² Laboratory of Pharmacopoeial Analysis, Scientific and Expert Pharmacopoeial Centre, Astronomicheskaya street 33, 61085, Kharkov, Ukraine; *e-mail: kulikov@phukr.kharkov.ua

Received: January 27, 2015; Accepted: April 01, 2015

In the present article the influence of chromatographic chamber saturation on the rate properties of the mobile phase front was investigated with using hydrous and hydrous-organic micellar mobile phases. It was demonstrated that chromatographic chamber saturation in the room temperature in micellar TLC is not influence on flow constant value, which in the most depends on surfactant type and organic modifier volume fraction. The saturation technique can be removed when investigation with micellar TLC was done, and at the temperature 20-30 °C chromatographic separation can be done in unsaturated chromatographic chamber.

Keywords: thin-layer chromatography; micellar mobile phase; chromatographic chamber saturation

Насыщение хроматографической камеры в мицеллярной тонкослойной хроматографии

А.Ю. Ренкевич¹, А.Ю. Куликов^{2*}

¹ Кафедра химической метрологии, Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков 61077, Украина.

² ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр», ул. Астрономическая, 33, г. Харьков 61085, Украина; *e-mail: kulikov@phukr.kharkov.ua

Получена: 27 января 2015 г; Принята: 01 апреля 2015 г

В работе исследовано влияние насыщения хроматографической камеры на скоростные свойства фронта подвижной фазы при использовании водных и водно-органических мицеллярных подвижных фаз. Показано, что насыщение хроматографической камеры при комнатной температуре в мицеллярной тонкослойной хроматографии (ТСХ) не оказывает значительного влияния на величину постоянной потока, которая в большей степени зависит от типа используемого ПАВ и объемной доли органического модификатора. При проведении исследований с использованием метода мицеллярной ТСХ процедуру предварительного насыщения хроматографической камеры можно исключить, и при температуре 20-30 °C хроматографическое разделение можно проводить в ненасыщенной камере.

Ключевые слова: тонкослойная хроматография; мицеллярные подвижные фазы; насыщение хроматографической камеры

Предварительное насыщение хроматографической камеры и/или хроматографической пластинки является одним из ключевых моментов в тонкослойной хроматографии, особенно когда данный метод используется для количественного определения. Еще Шталь в своей монографии [1] описывал влияние предварительного насыщения хроматографической камеры на удерживание веществ, а также размывание и форму хроматографического пятна при использовании органических подвижных фаз.

В 1979 году Армстронг с сотрудниками предложил использовать в качестве подвижных

фаз в ТСХ водные растворы поверхностно-активных веществ [2, 3]. Использование таких фаз позволило, с одной стороны, расширить возможности метода ТСХ [4-6], а с другой – отказаться от использования токсичных органических растворителей, что и в настоящее время является актуальным (одно из требований концепции «Зеленая химия»). Данное направление получило название псевдофазной ТСХ [7], а впоследствии – мицеллярной тонкослойной хроматографии (МТСХ) [8].

В немногочисленных работах, в которых описано использование метода МТСХ для разделения и

определения аналитов различной гидрофобности отмечается, что предварительным насыщением камеры в варианте МТСХ можно пренебречь, так как молекулы ПАВ имеют большую молекулярную массу и нелетучи, а содержание органического модификатора незначительно и он чаще всего солюбилизован в мицеллах, где и удерживается [8, 9]. Такие аргументы являются мало весомыми для отказа от столь важной процедуры, как предварительное насыщение камеры, или требуют обоснования. Поэтому целью данной работы было обоснование необходимости предварительного насыщения хроматографической камеры или отказа от него при использовании мицеллярных подвижных фаз в варианте восходящей ТСХ.

Реактивы и оборудование

Нормально-фазовые пластинки Sorbfil-ПТСХ-АФ-А (толщина слоя 0.2 мм) размером 10x15 см и 15x15 см на алюминиевой основе («ИМИД», Краснодар, Россия).

Неионогенное ПАВ Tween 80 (чистота 99%) и катионное ПАВ цетилпиридиния хлорид моногидрат (ЦПХ, чистота 99%) производство фирмы Acros; 2-пропанол (хч, АЛЛХИМ, Харьков).

Для приготовления мицеллярных подвижных фаз использовалась бидистиллированная вода.

Результаты и обсуждение

Зависимость величины постоянной потока от насыщения хроматографической камеры. Согласно модели Гиддингса [10, 11], предложенной для нормально-фазового варианта восходящей ТСХ, время хроматографирования связано с расстоянием, проходящим подвижной фазой следующей зависимостью:

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

где z_f – расстояние, пройденной подвижной фазой от линии погружения, см; χ – постоянная потока или «коэффициент скорости», см²/мин; t – время движения подвижной фазы, отсчитываемое от начала элюирования, мин.

Постоянная потока является характеристикой, как свойств стационарной фазы, так и свойств подвижной фазы:

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

где k_0 – коэффициент проницаемости, зависящий от структуры внешних пор сорбента; d – диаметр частиц сорбента, в мкм; γ – поверхностное натяжение подвижной фазы, в дин/см; η – динамическая вязкость подвижной фазы, в сПз.

Гиддингс доказал, что постоянная потока характеризует скоростные свойства подвижной фазы для определенного сочетания системы стационарная фаза – подвижная фаза, и даже при использовании одинаковых растворителей и сорбентов, χ может меняться как в зависимости от способа нанесения слоя сорбента, так и от типа используемой хроматографической камеры [10, 11].

Также постоянство параметра χ справедливо только тогда, когда слой неподвижной фазы не подвергается воздействию паров растворителя перед или в процессе элюирования [12]. На рис. 1 приведен пример зависимости постоянной потока от пройденного фронтом подвижной фазы расстояния для различного типа хроматографических камер и времени насыщения.

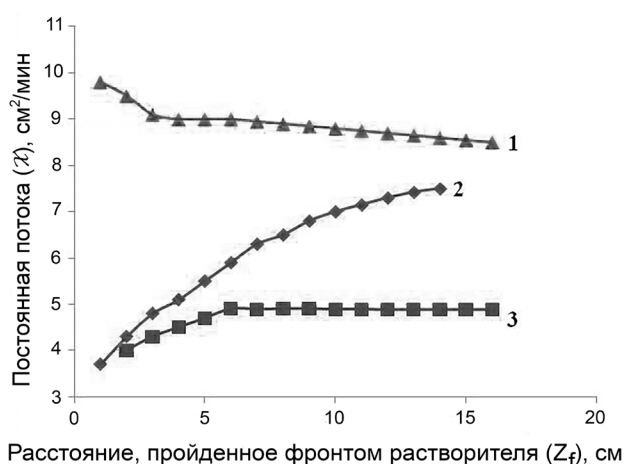


Рис. 1. Зависимость постоянной потока от типа хроматографической камеры и времени насыщения. Подвижная фаза – дихлорметан; сорбент – кизельгель 60 (Merck). N – нормальная камера; S – сэндвич-камера. 1 – N-камера с насыщением 30 мин; 2 – N-камера без насыщения; 3 – S-камера без насыщения [12].

Из рис. 1 видно, что предварительное насыщение хроматографической камеры парами подвижной фазы обеспечивает практическую неизменность постоянной потока. Аналогичный эффект получается и при использовании сэндвич-камеры или сэндвич-пластинки, использование которых характеризуется отсутствием взаимодействий слоя сорбента с газовой фазой.

При использовании обычных насыщенных камер χ увеличивается в процессе элюирования, поскольку повышается степень предварительного насыщения сухой части слоя. Только после выдерживания пластинок в парах подвижной фазы (время выдерживания зависит от летучести органических компонентов подвижной фазы) в обычной насыщенной камере удается достичь «сорбционного насыщения» слоя сорбента, при котором зависимость χ от z_f спрямляется. Однако

при этом ухудшается разделяющая способность, поскольку длина пути, на котором обеспечивается разделение, оказывается уменьшенной за счет предварительного насыщения.

Следовательно, для мицеллярной ТСХ необходимо определить зависимость величины постоянной потока от расстояния, пройденного фронтом подвижной фазой, при использовании хроматографической камеры без предварительного насыщения и с различным временем её насыщения. Постоянство величины χ и будет служить критерием оценки необходимости предварительного насыщения хроматографической камеры.

Определение постоянной потока в мицеллярной ТСХ. Определение χ проводилось в стандартной N-камере по методике [13]. На рис. 2 схематично показан эксперимент по определению величины постоянной потока. Измерение постоянной потока проводят не от начальной позиции подвижной фазы, а с уровня 3-5 см над линией погружения, так как на начальном уровне движения подвижной фазы ее скорость очень высокая из-за близости основного объема подвижной фазы.

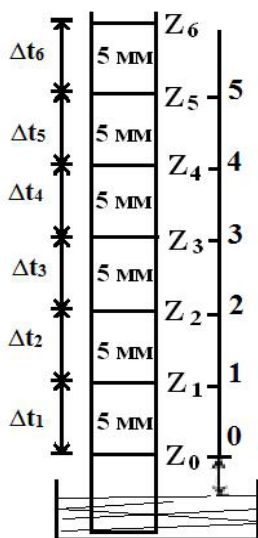


Рис. 2. Схема эксперимента по определению постоянной потока.

Определение времени проводили через каждые 0.5 см пути пройденного подвижной фазой, и по полученным данным рассчитывали величину постоянной потока, используя уравнение (1).

На рис. 3 приведены зависимости величины постоянной потока от времени насыщения хроматографической N-камеры. Как можно увидеть из полученных данных, постоянная потока практически не зависит ни от времени насыщения камеры, ни от типа используемого ПАВ при использовании водных мицеллярных подвижных фаз.

Из рис. 3 видно, что постоянная потока χ при использовании в качестве подвижной фазы водных растворов ПАВ приобретает постоянное значение после того как преодолет некоторое начальное расстояние. Отклонение значений χ на начальном этапе обусловлено большой скоростью передвижения подвижной фазы через слой сорбента в связи с ее близостью к общему объему элюента, находящемуся в хроматографической камере.

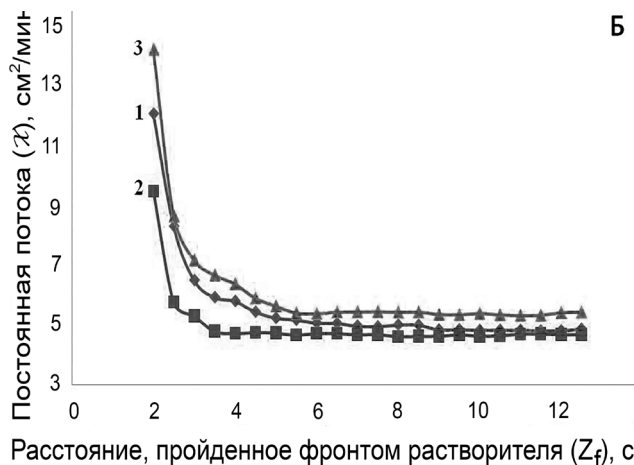
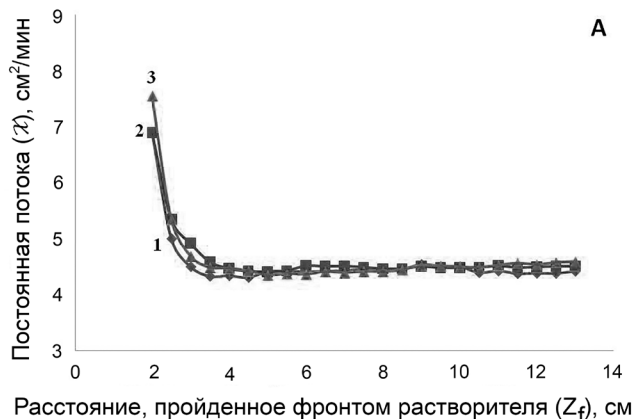


Рис. 3. Зависимость величины постоянной потока от расстояния, пройденного фронтом подвижной фазы. Подвижная фаза: водный раствор ЦПХ с концентрацией 0.01 моль/л (А) и водный раствор Tween 80 с концентрацией 0.001 моль/л (Б). 1 – без насыщения; 2 – насыщение камеры 60 мин; 3 – насыщение камеры 180 мин.

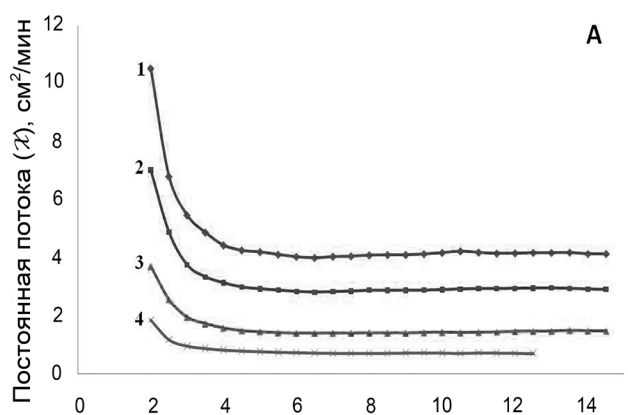
В мицеллярной ТСХ, как и в мицеллярной жидкостной хроматографии, чистые мицеллярные растворы ПАВ используются достаточно редко, так как такие подвижные фазы обладают низкой элюирующей силой. Для повышения элюирующей силы, а также для уменьшения размывания хроматографической зоны, в мицеллярные подвижные фазы добавляют органический модификатор, наиболее используемый из которых - алифатические спирты. Добавка

спирта-модификатора к мицеллярной подвижной фазе варьируется в достаточно широких пределах, что привело к разделению мицеллярной ТСХ (по аналогии с мицеллярной ВЭЖХ) на: непосредственно мицеллярную (концентрация органического модификатора небольшая, в подвижной фазе присутствуют мицеллы) и субмицеллярную (подвижная фаза содержит большую долю органического модификатора, в системе мицеллы не образуются). Поэтому тут также следует изучить степень влияния предварительного насыщения хроматографической камеры при использовании водно-органических мицеллярных подвижных фаз на постоянную потока.

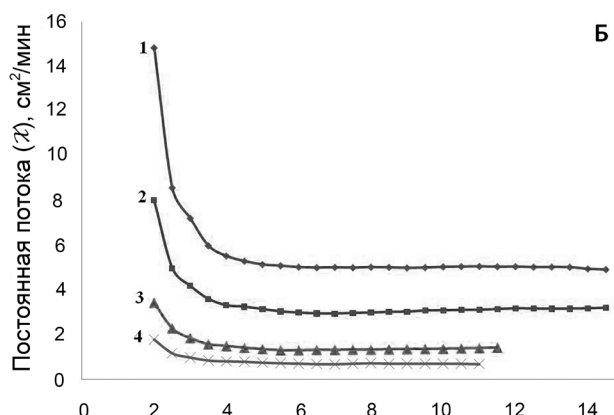
На рис. 4 приведены зависимости величины постоянной потока от расстояния, пройденного подвижной фазой, которая содержала ЦПХ или Tween 80 и изопропанол в объемных долях 0–20% (область мицеллярной ТСХ) и 20–40% (область субмицеллярной ТСХ).

Исходя из полученных зависимостей можно отметить, что постоянная потока не изменяется в процессе элюирования в ненасыщенной хроматографической камере. Постоянство значения характеристики χ сохраняется даже в случае содержания в составе мицеллярной подвижной фазы изопропанола в объемной доле до 40%.

Из данных, представленных на рис. 3 и 4 видно, что при использовании в качестве подвижной фазы водных или водно-органических растворов поверхностно-активных веществ, величина постоянной потока остается неизменной. То есть предварительное насыщение хроматографической камеры в мицеллярной и субмицеллярной ТСХ не оказывает значительного влияния на хроматографическую систему (при комнатной температуре), и при использовании ТСХ с организованными растворами в качестве подвижных фаз, предварительное насыщение хроматографической камеры не нужно.



Расстояние, пройденное фронтом растворителя (Z_f), см



Расстояние, пройденное фронтом растворителя (Z_f), см

Рис. 4. Зависимость величины постоянной потока от расстояния пройденного фронтом подвижной фазы. Подвижная фаза: водный раствор ЦПХ с концентрацией 0.01 моль/л (А) и водный раствор Tween 80 с концентрацией 0.001 моль/л (Б) с добавками изопропилового спирта: 1 – 0% i-PrOH; 2 – 5% i-PrOH; 3 – 20% i-PrOH; 4 – 40% i-PrOH. Ненасыщенная камера.

Выводы

В работе показано, что величина постоянной потока не зависит ни от времени насыщения хроматографической камеры, ни от состава используемых водных и водно-органических мицеллярных подвижных фаз. Поэтому в

мицеллярной ТСХ процедурой предварительного насыщения хроматографической камеры и/или хроматографической пластинки – важного этапа работы в классической ТСХ с органическими растворителями – можно пренебречь.

Литература

1. Stahl, E.: Thin-Layer Chromatography, A Laboratory Handbook, 2nd. Edit. Translated from the German by M. R. F. Ashword. Springer-Verlag, Berlin–Heidelberg–New York, 1969, P. 508.
2. Armstrong D. W., Terrill R. Q. Thin layer Chromatographic Separation of Pesticides, Decachlorodiphenyl, and Nucleosides with Micellar solutions. *Anal. Chem.* 1979, 51, №. 13, 2160-2163.
3. Armstrong D. W., McNeely M. Use of Micelles in the TLC Separation of Polynuclear Aromatic Compounds and Amino Acids. *Anal. Lett.* 1979, 12, 1285-1291.
4. Ренкевич А.Ю., Куликов А.Ю. Разработка и валидация методики количественного определения 4-аминобутановой кислоты в таблетках алендроната натрия методом мицеллярной тонкослойной хроматографии. Методы и объекты химического анализа. 2013, т.8, № 4, 194-201.
5. Ренкевич А. Ю., Бойченко А. П., Логинова Л. П., Куликов А. Ю. Восходящее элюирование в мицеллярной тонкослойной хроматографии на нормально-фазовых сорбентах: скорость движения подвижной фаз. Вісник Харківського національного університету. 2012. № 1026. Хімія. Вип. 21 (44), 251-257.
6. Boichenko, A.P., Makhno I.P., Renkevich A.Yu., Loginova L.P. The mobile phase motion in ascending micellar thin-layer chromatography with normal-phase plates. *Journal of Planar Chromatography: Modern TLC.* 2011, 463-469.
7. Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Тюрина Н.В. Гидрофобная ТСХ фенолкарбоновых кислот трифенилметанового ряда в мицеллах ПАВ. Химия и хим. технология. 2001, 44 (4), 10-13.
8. Штыков С. Н., Сумина Е. Г., Тюрина Н. В. Мицеллярная тонкослойная хроматография: особенности и аналитические возможности. Ж. Рос. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева. 2003, XLVII (1), 119-126.
9. Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Тюрина Н.В. Тонкослойная хроматография: теоретические основы и практическое применение. Саратов: «Изд-во Сар. ун-та», 2006, 112с
10. Giddings J.C., Stewart G.H. and Ruoff A.L. Zone migration in paper chromatography. *Journal of Chromatography.* 1960, 3, 239-251.
11. Ruoff A.L. and Giddings J.C. Paper geometry and flow velocity in paper chromatography. *Journal of Chromatography.* 1960, 3, 438-442.
12. Гейсс Ф. Основы тонкослойной хроматографии (планарная хроматография). Пер. с англ. под ред. В.Г. Березкина Москва, 1997. Т. 1 – 404 с; Т. 2 – 348 с.
13. Schweingruber M., Cramer Y., and Arm H. Determination of flow constants in TLC. *Chimia.* 1975, 25, 301-303.