

КГЭУ

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Казанский государственный энергетический университет»

В. Ф. НОВИКОВ, А. В. ТАНЕЕВА

**ТОНКОСЛОЙНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ
ФУРАНОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ
В ТРАНСФОРМАТОРНОМ МАСЛЕ**

Учебное пособие

Казань
2020

УДК 543.544.943.3.

ББК 31.3

Н73

Рецензенты:

директор ООО НИПИ «Технополис» Н. В. Усманов;

канд. хим. наук, доцент ФГБОУ ВО «КГЭУ» А. В. Ахмеров

Н73 **Новиков, Вячеслав Федорович**

Тонкослойная хроматография фурановых соединений в трансформаторном масле: учебное пособие / В. Ф. Новиков, А. В. Танеева. – Казань : КГЭУ, 2020. – 85 с.

В учебном пособии приведены основные сведения о планарной хроматографии (бумажной и тонкослойной), основных сорбентах и растворителях для тонкослойной хроматографии и рассмотрены методы определения фурановых соединений в трансформаторном масле методом тонкослойной хроматографии.

Предназначено для студентов всех форм обучения по образовательной программе направления подготовки 13.04.01 Теплоэнергетика и теплотехника, направленность (профиль) «Энергообеспечение предприятий». Учебное пособие может быть полезно студентам других направлений подготовки.

УДК 543.544.943.3.

ББК 31.3

ВВЕДЕНИЕ

Развитие существующих хроматографических методов маслonaполненного электрооборудования в настоящее время требует повышения чувствительности и точности определения.

Тонкослойная хроматография является одним из распространенных методов определения фурановых производных в трансформаторном масле.

Контроль фурановых производных газохроматографическим методом с использованием сорбентов на основе полиэтиленгликолей является недостаточно селективным и обладает относительно большой погрешностью количественной интерпретации данных. В свою очередь для контроля примесных соединений в масле применяется метод тонкослойной хроматографии, который также обладает рядом как существенных недостатков, так и достоинств.

В силовых трансформаторах в качестве диэлектриков используются трансформаторное масло и бумажная изоляция в виде электротехнического картона. В результате термоокислительного и гидролитического превращения целлюлозы под влиянием высокой температуры и влажности бумажная изоляция подвергается деструкции, в результате чего образуются фурановые соединения, которые мигрируют в трансформаторное масло и ухудшают его диэлектрические характеристики. Поэтому в лабораториях энергетических предприятий осуществляют регулярный контроль за содержанием фурановых соединений в трансформаторном масле, который осуществляется с использованием высокоэффективной жидкостной и газовой хроматографий. Для экспрессного контроля за содержанием фурановых соединений используют тонкослойную хроматографию, которая является достаточно простым методом и не требует высокой квалификации обслуживающего персонала.

Целью издания учебного пособия по дисциплине «Энергоснабжение предприятий» является развитие навыков и умений самостоятельно приобретать и использовать в работе новые знания и умения в области контроля технического состояния силовых трансформаторов инструментальными методами.

В процессе изучения материала, представленного в учебном пособии, у студентов формируются:

- способность самостоятельно приобретать и использовать в практической работе новые знания и умения, расширять и углублять свое научное мировоззрение;

– готовность представлять результаты исследования в виде научных отчетов, научных публикаций, заявок на предполагаемые изобретения и публичных обсуждений экспериментальных результатов.

В результате студент должен:

знать:

– современные методы контроля технического состояния силовых трансформаторов с использованием инструментальных методов анализа;

– новые данные и физико-химических и эксплуатационных характеристиках трансформаторного масла и механизмы его старения под влиянием внешних факторов;

уметь:

– представлять результаты исследования в виде отчетов, научных публикаций, патентов на изобретения и на публичных обсуждениях результатов своей работы;

владеть:

– навыками работы с инструментальными приборами и оборудованием, связанным с контролем технического состояния силовых трансформаторов и их методическим обеспечением.

1. Планарная хроматография

Планарная хроматография – это метод анализа, в котором процессы разделения смеси веществ осуществляются в плоском слое сорбента. Планарная хроматография разделяется на бумажную и тонкослойную хроматографии.

Бумажная и тонкослойная хроматографии одинаковы по технике выполнения анализа. В бумажной хроматографии в качестве сорбентов используется специальная бумага, а в тонкослойной хроматографии процессы разделения происходят только в тонких слоях сорбента, нанесённого на инертную твердую подложку или в плёнках пористого полимерного материала.

1.1. История развития тонкослойной хроматографии

Тонкослойная хроматография была открыта в 1889 г., получила широкое развитие в середине XX века и до настоящего времени используется во многих областях промышленности, таких как фармацевтическая, медицинская, пищевая, а также в академической и промышленной науке.

Предпосылкой к созданию метода стало использование бумажной хроматографии К.Ф. Шёнбейном в 1861 г. Этот метод получил развитие в работах Шёнбейна–Гоппельсредера в 80-х гг. XIX века. Методика в то время носила название капиллярного анализа. Работа практически была забыта, и впоследствии хроматография на целлюлозе была открыта вновь в 1944 г. Р. Консденом, А.Х. Гордоном, А. Мартином и Р. Сингом (Англия). Впервые метод тонкослойной хроматографии почти в том виде, в котором он известен сейчас, был применен голландским биологом Мартином Бейеринком в 1889 г. Изучая диффузию серной и соляной кислот в желатине, М. Бейеринк обнаружил, что соляная кислота перемещалась быстрее, чем серная. В своих экспериментах он детектировал зону соляной кислоты путем добавления на слой раствора хлорида серебра, а зону серной кислоты – добавлением раствора хлорида бария. В 1898 г. Вийсмен применил подобный метод для определения ферментов в диастазе солода и впервые употребил флуоресцентную детекцию. Чувствительность метода на то время позволяла определить присутствие вещества в количестве 40 пг (пикограмм). Несмотря на это и колоночная хроматография, разработанная М.С. Цветом в начале XX века, и тонкослойная хроматография фактически не использовались до 30-х годов прошлого века.

В 1938 г. советские ученые Н.А. Измайлов и М.С. Шрайбер сообщили о проведении круговой хроматографии на слое оксида алюминия,

нанесенном на стеклянную пластинку. При этом слои разделяемых веществ приобретали вид концентрических кругов. Исследователи показали, что метод можно применять для испытания сорбентов и элюентов для колоночной хроматографии.

Существенные успехи в разработке метода тонкослойной хроматографии были достигнуты Ю. Кирхнером и сотрудниками, которые в 1945–1954 гг. работали над выделением пахучих веществ из цитрусовых хроматографическими методами. Убедившись в неприменимости для этих целей бумажной хроматографии, они разработали метод, сочетающий преимущества бумажной и колоночной хроматографий. Однако этот метод не привлек внимания до тех пор, пока не был разрекламирован фирмами Desaga и Merck.

До середины 50-х гг. XX века для описания метода использовали термины «хроматография на полосках», «хроматография на пластинках», «хроматография в тонких пленках», «хроматография в открытой колонке». Стоит отметить, что термин «тонкослойная хроматография» был предложен Э. Шталем в 1956 г. и оказался достаточно удачным. Примерно в эти же годы авторитетный журнал Chemical Abstracts выделил публикации по этой теме отдельным индексом, признав его самостоятельным методом аналитической химии.

Тонкослойные пластинки с нанесенным адсорбционным слоем стали доступны в 1961 г. и на сегодняшний день практически вытеснили из употребления самодельные. Обычно в качестве подложек используют стекло, пластик или алюминий, на которые наносятся сорбенты с размером частиц 10–20 мкм. Толщина слоя составляет от 100 до 250 мкм для аналитических пластинок и до 2 мм для препаративных пластинок. Стандартный формат пластинок 20×20 см, но также существуют форматы 10×20, 5×20 и 2,5×5 см. Также существуют пластинки с каналами, облегчающими нанесение образцов и препятствующие их смешиванию. Пластинки с преадсорбционным слоем производят из материала с более низкой адсорбирующей способностью (целлюлоза, кизельгур). Такие слои служат для очистки образца, а также для формирования узкой полосы перед достижением образцом разделяющего слоя.

В 1975 г. были предложены пластинки для высокопроизводительной тонкослойной хроматографии, которые имеют размеры 10×20 и 10×10 см при толщине адсорбционного слоя в 200 мкм. Такие пластинки обладают повышенной разрешающей способностью, более низким пределом обнаружения, а также требуют меньше растворителя. В 1995 г. появились высокопроизводительные пластинки со сферическими пластинками, обладающие более лучшими свойствами. В 2001 г. были предложены

тонкослойные пластинки с монолитным слоем, которые, как правило, использовали в научных исследованиях.

В качестве адсорбентов применяли несколько материалов, например оксид алюминия (кислый, нейтральный и основной), кизельгур (очищенная диатомитовая земля), полиамиды, катионообменные смолы, которые используются и в настоящее время в научных работах, однако их производство на сегодняшний день остановлено.

Для упрочения пластин может использоваться связующее вещество. Ранее для этих целей использовали гипс в количестве 13 % масс., например в пластинках с силикагелем G. В современных пластинках используются органические связующие вещества (например, метакрилаты, а также крахмал и карбоксиметилцеллюлоза). Фактически связующее вещество является компонентом неподвижной фазы, поэтому использование различных связывающих веществ может привести к разнообразным результатам в хроматографии.

Адсорбционный слой может содержать также флуоресцентный индикатор, который дает возможность легко детектировать положение зон веществ. При облучении индикатора ультрафиолетовым излучением при длине волны 254 нм индикатор испускает зеленое или бледно-голубое излучение. При этом зона вещества, поглощающего ультрафиолет, выглядит темной на фоне флуоресцирующего фона.

Тонкослойная хроматография, возникшая как преимущественно аналитический метод, впоследствии была широко использована и в качестве препаративного метода анализа. Одной из первых работ в этой области была работа Ю. Кирхнера и С. Миллера. Следует также отметить, что ученые Э. Шталь и Ю. Кирхнер опубликовали свои монографии, которые являются капитальным трудом по тонкослойной хроматографии практически энциклопедического характера и могут служить справочным пособием для ученых в этой области.

Далее препаративная техника начинает довольно широко использоваться в тонкослойной хроматографии, однако стоит отметить, что препаративная хроматография в тонких слоях не может полностью конкурировать с хроматографией на колонках.

В дальнейшем были предложены различные новые приемы препаративной тонкослойной хроматографии, в том числе и применение более толстых слоев, чем обычно. Однако было обнаружено, что увеличение толщины слоя более чем до 750 мкм значительно ухудшает разделение анализируемых веществ. То есть ограничение в толщине слоя ставит определенный предел препаративным возможностям тонкослойной хроматографии.

Технические вопросы использования тонкослойной хроматографии и характеристика многих органических соединений, которые подвергались разделению в тонких слоях, рассмотрены в работах А.А. Ахрема и А.И. Кузнецовой, внесших вклад в популяризацию тонкослойной хроматографии в нашей стране.

1.2. Бумажная хроматография

Хроматография на бумаге (или бумажная хроматография) является ценным методом исследования малых количеств разнообразных органических соединений. Метод основан на различии в скорости перемещения компонентов анализируемой смеси по бумаге в потоке растворителя (элюента).

В зависимости от направления движения раствора различают нисходящую бумажную хроматографию (поток растворителя и веществ смеси движется сверху вниз), восходящую бумажную хроматографию (поток движется снизу вверх) и радиальную (движение растворителя и веществ смеси происходит из центра носителя по радиусу к периферии) (рис. 1).

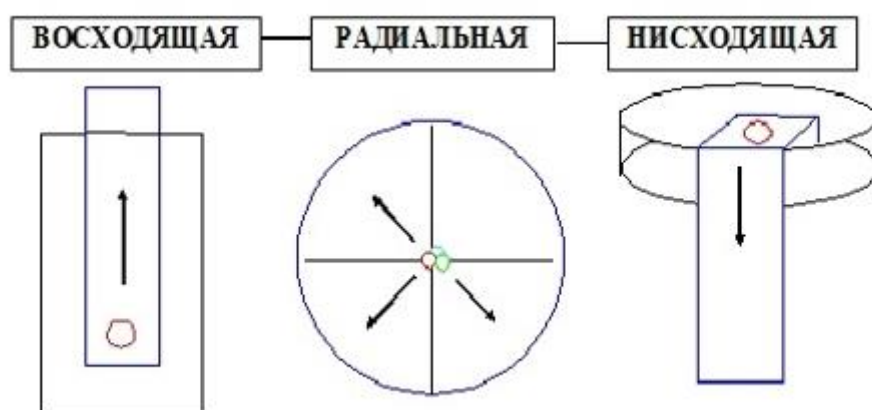


Рис. 1. Виды бумажной хроматографии

На рис. 2 приведен пример восходящей бумажной хроматографии, показывающий разделение черных чернил на составляющие его химические вещества. Растворитель поднимается вверх под действием капиллярных сил, растворяет чернила и далее происходит разделение чернил на составляющие компоненты.

Для получения хроматограммы лист бумаги после нанесения пробы помещают в хроматографическую камеру с подвижной фазой. Растворитель под действием капиллярных сил продвигается по бумаге, разделяя пробу на отдельные компоненты.

Хроматограммой в этом случае называют картину расположения хроматографических зон на бумаге после завершения разделения. Неподвижной фазой обычно является вода. Подвижной фазой служит органический растворитель или смесь органических жидкостей и воды в разных соотношениях. Подвижная и неподвижная фазы не должны смешиваться. Для водорастворимых веществ в качестве подвижной фазы применяются органические растворители, насыщенные водой, которая служит неподвижной фазой. Нерастворимые в воде вещества должны хроматографироваться водными растворами органических веществ, а неподвижной фазой являются неполярные органические растворители. Подвижная фаза продвигается вдоль листа бумаги, главным образом за счет капиллярных сил.

Роль носителя в бумажной хроматографии выполняет специальная бумага для хроматографии или обычная фильтровальная бумага хорошего качества. Целлюлоза в виде листов бумаги даже в высушенном виде содержит большое количество связанной воды, между нею и растворителем происходит распределение, а также могут присутствовать и адсорбционные эффекты.

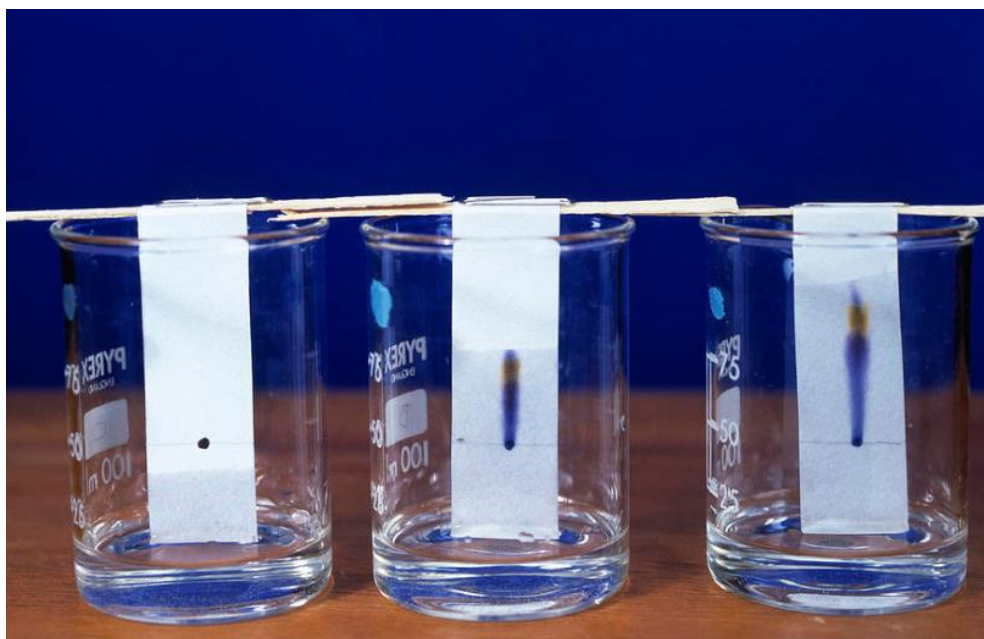


Рис. 2. Восходящая бумажная хроматография

Бумага должна быть химически чистой, однородной по плотности и толщине, обеспечивать определенную скорость движения растворителя и содержать нужное количество неподвижной фазы, где происходит разделение смеси веществ. В соответствии с поставленными задачами бумага может быть модифицирована, также она может быть изготовлена

из стекловолокна, устойчива к коррозионно-активным реагентам и обладает низкой адсорбционной способностью.

Роль неподвижной фазы выполняет вода, адсорбированная волокнами фильтровальной бумаги, или другой полярный растворитель.

В качестве подвижной фазы используют полярные растворители, такие как бензиловый спирт, бутанол, фенол, крезолы и др.

В табл. 1 приведены растворители, наиболее часто применяемые в бумажной хроматографии для разделения смесей (неподвижная фаза – вода).

Также существуют универсальные системы растворителей для разделения разнообразных органических соединений. Например, фенол, насыщенный водой (5:1), бутилацетат, насыщенный водой, петролейный эфир – метанол – вода (2:1:1) и др.

Таблица 1

Растворители, применяемые для бумажной хроматографии

№ п/п	Растворители (подвижная фаза)	Соотношение растворителей, по объёму	Разделяемые смеси веществ
1	н-Бутанол, уксусная кислота, вода	4:1:5	Аминокислоты, углеводы и другие органические вещества
2	н-Бутанол, муравьиная кислота (20 %-й раствор), вода	5:1:1	Аминокислоты
3	Этилацетат, пиридин, вода	2:1:2	Сахара
4	н-Бутанол, насыщенный аммиаком	1:1	Алифатические кислоты
5	Тетрахлорид углерода, уксусная кислота, вода	5:1:1	Алифатические кислоты и их натриевые соли

Для количественной оценки подвижности вещества в хроматографической системе используют коэффициент подвижности R_f , равный отношению расстояния l , пройденного веществом (мм), к расстоянию, пройденному растворителем L (мм) (рис. 3).

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

Чем больше различие в значениях R_f разделяемых веществ, тем лучше они разделяются.

Коэффициент подвижности R_f можно определить также экспериментально: на хроматограмме измеряют расстояние l от линии старта вещества до центра пятна и расстояние L от линии старта до линии финиша

растворителя. Величина R_f характеризует положение зоны вещества на хроматограмме. Обычно коэффициент подвижности лежит в пределах $R_f = 0-1$, а оптимальное значение составляет $0,3-0,7$. Условия хроматографирования подбираются так, чтобы величина R_f отличалась от нуля и единицы.

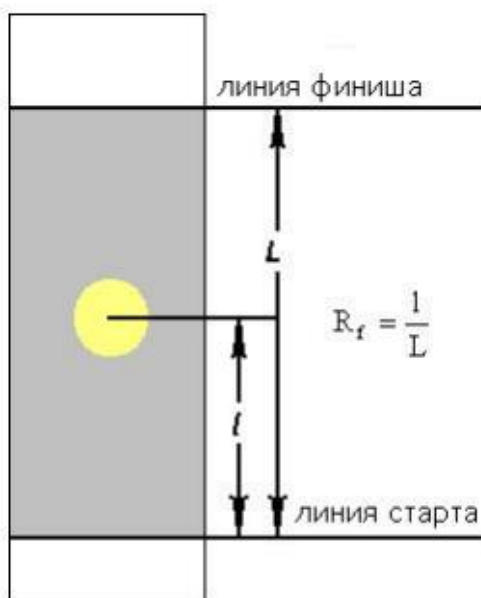


Рис. 3. Определение коэффициента подвижности R_f при проведении анализов методом бумажной хроматографии

Для воспроизводимости и строго постоянных условий хроматографирования $R_f = \text{const}$. Разделение веществ практически возможно, если $R_{f(I)} - R_{f(II)} \geq 0,1$.

На подвижность вещества в условиях хроматографии на бумаге влияет также коэффициент распределения:

$$K = C_s/C_m, \quad (2)$$

где C_m и C_s – концентрации вещества в подвижной и неподвижной фазах, соответственно.

По возможности хроматографирование лучше проводить со «свидетелями». Для этого на одной полосе бумаги рядом с местом нанесения исследуемого раствора помещают по одной капле растворов чистых веществ, которые предположительно могут входить в состав смеси. После проведения хроматографии сравнивают расположение получившихся пятен. Если пятно имеет вытянутую форму и длинный «хвост», то это свидетельствует о том,

что вещество частично изменилось в ходе проведения анализа, или его концентрация на старте велика. Для устранения этого необходимо установить предварительно оптимальную концентрацию вещества на старте, при которой образуются ясно видимые пятна хорошей формы.

Также на подвижность вещества влияют и другие факторы, такие как взаимодействие их с волокнами бумаги, характеристика бумаги и условия проведения эксперимента.

В зависимости от механизма процесса разделения различают следующие наиболее распространенные виды бумажной хроматографии:

- адсорбционная, хроматография основана на различной адсорбции компонентов смеси;
- распределительная, она основана на различной растворимости компонентов смеси в разных растворителях;
- ионообменная, вид основан на разной способности компонентов смеси обмениваться ионами;
- осадочная, хроматография основана на различной растворимости осадков, образуемых компонентами смеси.

Также существуют и некоторые другие виды бумажной хроматографии, однако они менее распространены.

В *адсорбционной* бумажной хроматографии разделение компонентов смеси происходит за счет различия в их сорбируемости адсорбентом бумагой. В качестве элюента используются, главным образом, смеси органических растворителей с водой (рис. 4).

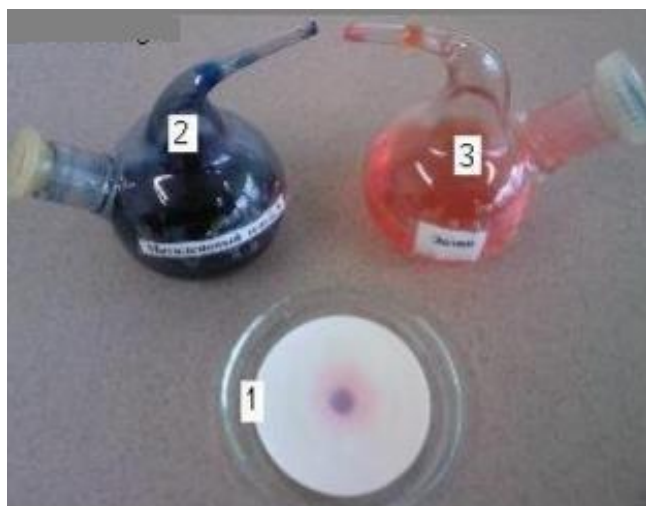


Рис. 4. Адсорбционная бумажная хроматография (1) смеси красителей метиленового голубого (2) и эозина (3)

В *распределительной* бумажной хроматографии неподвижная фаза – адсорбированная бумагой вода или неполярные органические растворители,

которыми пропитывают бумагу, а элюент — соответствующие смеси органических растворителей с водой, часто содержащие также кислоты, комплексообразующие и другие вещества, или водные растворы неорганических кислот и солей. Скорость перемещения компонентов зависит от коэффициента их распределения между фазами и от соотношения объемов этих фаз.

В *ионообменной* бумажной хроматографии используют бумагу, пропитанную ионообменными смолами. Скорость миграции компонентов в этом случае зависит от констант ионного обмена и pH элюента.

Осадочная хроматография осуществляется на бумаге, обработанной раствором реагента-осадителя, образующего с разделяемыми веществами малорастворимые соединения. Скорость движения компонентов определяется произведениями растворимости этих соединений.

Например, бумажный фильтр был пропитан раствором иодида калия KJ и высушен. Затем в его центр внесли каплю бесцветной смеси ионов серебра Ag^+ , ртути Hg^{2+} и свинца Pb^{2+} . При этом катионы анализируемой смеси вступили в реакцию с иодидом калия, которым предварительно был пропитан фильтр, образуя осадочную хроматограмму, зоны которой имеют цвета осадков, образовавшихся в соответствии с уравнениями (рис. 5):

- 1) $\text{AgNO}_3 + \text{KJ} \rightarrow \text{AgNO}_3 + \text{AgJ} \downarrow$ (осадок бледно-желтый);
- 2) $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 + 2\text{KJ} \rightarrow 2\text{KNO}_3 + \text{Hg}_2\text{J}_2 \downarrow$ (осадок оранжевый);
- 3) $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2 + 2\text{KJ} \rightarrow 2\text{KNO}_3 + \text{PbJ}_2 \downarrow$ (осадок ярко-желтый).

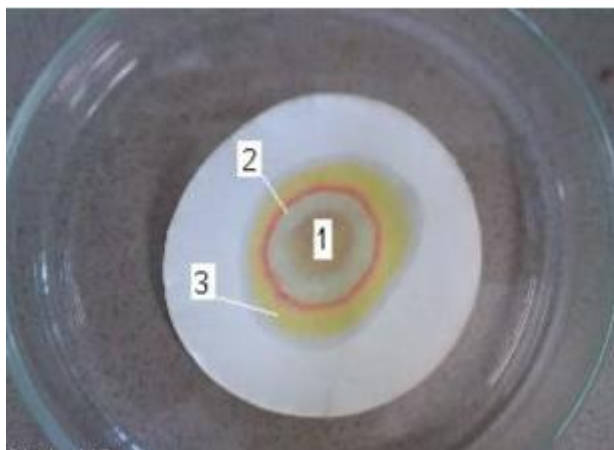


Рис. 5. Осадочная хроматограмма смеси катионов Ag^+ , Hg^{2+} , Pb^{2+}

Если хроматографируемая смесь содержит бесцветные компоненты, то хроматограмму обрабатывают проявителем (одним или несколькими) — веществом, дающим с компонентами хроматографируемой

смеси окрашенные соединения. В результате этого на хроматограмме появляются зоны, окрашенные в разные цвета, и хроматограмму становится легче интерпретировать. Такой вид хроматографии получил название проявительной.

Метод бумажной хроматографии имеет как достоинства, так и недостатки. К плюсам метода можно отнести его высокую чувствительность. Например, можно определить 10–20 мкг вещества с точностью 5–7 %.

Недостатком метода является необходимость работать с малыми количествами вещества, поскольку при их значительных количествах пятна на хроматограмме получаются размытыми и с растянутыми хвостами. Кроме этого, по сравнению с тонкослойной хроматографией разделение занимает большее время. Также можно отметить, что слой сорбента неустойчив к агрессивным средам. Все это необходимо учитывать при проведении бумажной хроматографии.

Вопросы для самоконтроля

1. Дайте определение планарной хроматографии.
2. В чем отличие бумажной хроматографии от тонкослойной?
3. Определите суть метода бумажной хроматографии.
4. За счет каких факторов происходит распределение между связанной водой и растворителем в бумажной хроматографии?
5. Какие основные требования предъявляются к бумаге в бумажной хроматографии?
6. Какие подвижные фазы используют в бумажной хроматографии?
7. Какие основные растворители используют в бумажной хроматографии?
8. Каким образом осуществляют количественную оценку полученных результатов в бумажной хроматографии?
9. Дайте определение коэффициенту подвижности.
10. Какие основные факторы влияют на подвижность вещества в бумажной хроматографии?

2. Тонкослойная хроматография

2.1. Теоретические основы тонкослойной хроматографии

Тонкослойная хроматография (ТСХ) – это метод анализа смесей жидких и твердых веществ, основанный на различном сродстве разделяемых веществ к неподвижной (сорбент) фазе и подвижной фазе (элюенту). Как правило, чем лучше вещество сорбируется неподвижной фазой, тем медленнее оно движется по пластине.

Хроматографический процесс в тонком слое адсорбента обеспечивается динамическим передвижением подвижной фазы (растворителя) через стационарную неподвижную фазу (адсорбент). В результате передвижения смеси растворителя и анализируемых веществ происходит разделение анализируемой смеси на компоненты, основанное на различной скорости их перемещения в слое адсорбента.

Механизм хроматографического разделения в тонком слое в принципе не отличается от механизма разделения на колонках. Различие в том, что в тонкослойной хроматографии разделяемые вещества могут диффундировать не только в продольном, но и поперечном направлении.

Движение подвижной фазы может быть ступенчатым, прерывным и непрерывным. Тонкослойную хроматографию можно комбинировать с тонкослойным электрофорезом, тонкослойным изoeлектрическим фокусированием, тонкослойной гель-фиксацией и т. д.

Существуют три вида тонкослойной хроматографии:

- адсорбционная хроматография основана на различной сорбции анализируемых веществ твердой фазой сорбента и характеризуется константой сорбции;

- распределительная хроматография основана на распределении разделяемых веществ между подвижной и неподвижной жидкими фазами и характеризуется константой распределения;

- ионообменная хроматография основана на обмене ионами между растворенным веществом и ионогенными группами сорбента и характеризуется константой обмена.

Необходимо отметить, что все эти виды хроматографических процессов редко протекают в изолированном виде, однако один из них при этом обычно является основным.

Поскольку тонкослойная хроматография является разновидностью жидкостной хроматографии, то основные механизмы разделения в жидкостной хроматографии реализуются и в тонкослойной хроматографии.

В табл. 2 приведены основные механизмы разделения, происходящие в жидкостной хроматографии.

Классификация механизмов разделения основана на характере сил, действующих между растворенным веществом и твердой или жидкой фазами, с которыми оно соприкасается, то есть на основе межмолекулярных взаимодействий.

Таблица 2

Основные механизмы разделения в жидкостной хроматографии

Виды хроматографии	Основной механизм действия	Параметры, контролирующие разделение
Адсорбционная нормально-фазовая и обращенно-фазовая	Адсорбция	Коэффициент адсорбции
Распределительная нормально-фазовая	Экстракция, межфазное распределение	Коэффициент распределения
Распределительная обращенно-фазовая	Экстракция, межфазное распределение, гидрофобное взаимодействие	Коэффициент распределения
Ион-парная обращенно-фазовая	Гидрофобные взаимодействия с установлением вторичного равновесия ион-парных комплексов	Коэффициент распределения, вторичные контакты равновесия
Ионообменная	Электростатические (ионные) взаимодействия	Заряд, константа диссоциации, изоэлектрические точки
Эксклюзионная гелепроникающая	Исключение из пор адсорбента	Эффективный размер макромолекул, коэффициент распределения

В адсорбционной тонкослойной хроматографии в зависимости от полярности подвижной и неподвижной фаз различают нормально-фазовую и обращенно-фазовую хроматографии. В нормально-фазовой хроматографии используют полярный адсорбент и неполярные подвижные фазы. В обращенно-фазовой хроматографии применяют неполярный сорбент и полярные подвижные фазы. Стоит отметить, что выбор подвижной фазы важнее, чем выбор неподвижной. Суть неподвижной фазы – удерживать разделяемые вещества, подвижная же фаза (растворитель) должна обеспечивать эффективное разделение за определенное время.

Распределение анализируемого вещества между подвижной жидкой и неподвижной твердой фазами осуществляется межмолекулярными

взаимодействиями двух видов: неспецифических (дисперсионных, ориентационных, индукционных, гидрофобных) и специфических, вносящих основной вклад в величины удерживания (образование водородных связей, донорно-акцепторное взаимодействие и др.).

Природа сорбента определяет механизм удерживания. На полярных сорбентах удерживание осуществляется взаимодействием компонентов с гидроксильной группой неподвижной фазы с образованием водородных связей. На неполярных сорбентах, как правило, адсорбция происходит за счет неспецифических взаимодействий с обращенно-фазовым сорбентом. Помимо этого, на поверхности обращенной фазы за счет адсорбции может удерживаться слой жидкой фазы, обогащенный менее полярным растворителем из подвижной фазы, причем состав этого слоя отличается от состава подвижной фазы, и разделение осуществляется за счет распределения компонентов между двумя несмешивающимися жидкостями. Поэтому разделение на обращенных фазах обычно относят к распределительной хроматографии. Стоит учесть то момент, что четко разграничить адсорбционную и распределительную хроматографию нелегко.

Распределительная тонкослойная хроматография (жидкостно-жидкостная) основана на распределении вещества между двумя несмешивающимися жидкостями.

На пористый сорбент наносят жидкую неподвижную фазу. Жидкая подвижная фаза проходит через слой сорбента, и анализируемая смесь разделяется на компоненты за счет различной растворимости в жидкой неподвижной фазе. Как правило, растворимость компонентов анализируемого вещества в подвижной и неподвижной жидких фазах, обладающих разной полярностью, различается. Если растворимость анализируемого вещества выше в неподвижной фазе, коэффициент подвижности R_f уменьшается, если выше в подвижной – R_f возрастает. Для лучшего разделения в подвижную фазу чаще всего включают третий компонент, который снижает различие в полярности подвижной и неподвижной фаз. Так, например, к смеси полярного (вода) и неполярного (гексан) растворителей добавляют спирт, что приведет к оптимальным условиям разделения пробы.

В большинстве случаев полярный растворитель (вода, спирт) фиксирован на твердом носителе. Подвижной фазой в этом случае служат неполярные растворители (изооктан, гексан, бензол). Такие системы применяются в нормально-фазовой распределительной тонкослойной хроматографии.

Если же неполярный растворитель зафиксировать на носителе, а в качестве подвижной использовать полярные растворители (вода, спирты,

ацетонитрил, кислоты), то это вариант обращенно-фазовой распределительной тонкослойной хроматографии. Здесь механизмами разделения служат гидрофобные силы, вытесняющие неполярное вещество из водного элюента, так и на силах Ван-Дер-Ваальса между углеродной части молекулы разделяемых соединений и алкильными радикалами адсорбента. Показано, что при увеличении длины алкильного радикала взаимодействие увеличивается. Этот метод хроматографии применяют для разделения полярных и неполярных соединений. Вещества с большей полярностью элюируются быстрее. При увеличении полярности вещества для снижения удерживания повышают содержание воды в элюенте. Однако в случае увеличения содержания воды более чем на 35 % движение элюента сильно замедляется, и пластины перестают смачиваться, однако добавление солей LiCl, NaCl в элюент улучшает смачивание и процесс разделения.

Преимущество метода тонкослойной хроматографии по сравнению с бумажной хроматографией – это скорость выполнения эксперимента, на который требуется около 10–30 мин. Помимо этого, метод тонкослойной хроматографии отличается большей чувствительностью. Метод дает возможность обнаруживать до 0,5 % масс. примесей. Тонкослойная хроматография, в отличие от бумажной, может использовать любые материалы, которые можно мелко измельчить, и получить из них однородный слой. Это могут быть неорганические вещества (например, силикагель, оксид алюминия, силикат магния), а также органические вещества (например, полиамиды, целлюлоза, порошок полиэтилена). Важным является то, что возможность широкого выбора сорбента и проявляющего растворителя дает возможность легко подобрать оптимальные условия эксперимента.

К недостаткам тонкослойной хроматографии относятся плохая сходимость и межлабораторная воспроизводимость результатов анализа, трудность разделения веществ, имеющих близкие свойства, а также низкая эффективность (размывание пятен).

В тонкослойной хроматографии разделение смеси происходит в тонком слое сорбента, нанесенном на твердую плоскую подложку. Метод основан на явлении сорбции – десорбции.

Пластина ТСХ представляет собой основу из стекла, алюминия или полимера (полиэтилентерефталат). Чаще в современной практике используют пластины на основе алюминиевой фольги или полимеров. Для закрепления сорбента используют крахмал, гипс, силиказоль и другие вещества, способные удерживать зерна сорбента на подложке. Толщина слоя может быть различна (более 100 мкм), но основное требование – слой должен быть равномерный по толщине по всей поверхности тонкослойной пластинке.

Тонкослойная хроматография используется для разделения и анализа как органических, так и неорганических веществ. Возможно разделение практически всех неорганических катионов, анионов, близких по свойствам ионов благородных металлов, лекарственных и наркотических веществ, пестицидов, аминокислот, липид, алкалоидов. Также удобно анализировать малые количества веществ, оценивать чистоту препаратов, контролировать различные технологические процессы, состав сточных вод.

Главная количественная характеристика метода аналогично бумажной хроматографии – коэффициент подвижности R_f , то есть отношение расстояния, пройденного определяемым веществом l к расстоянию, пройденному подвижной фазой (элюентом) L . Для пятен, имеющих симметричную правильную форму, величину l определяют по положению центра пятна, для несимметричных пятен – по положению максимума интенсивности.

Так же, как и в бумажной хроматографии, в ТСХ используют «свидетели».

Метод тонкослойной хроматографии имеет большое значение для быстрого качественного анализа смесей и в последнее время широко применяется в аналитической практике. Разделение производится на плоской пластинке, покрытой тонким слоем сорбента. В качестве сорбента чаще всего используют силикагель и оксид алюминия.

Принцип основан на различии в скорости перемещения компонентов смеси в плоском тонком слое (0,1–0,5 мм) сорбента при их движении в потоке подвижной фазы.

Подвижная фаза движется в пористой среде плоского слоя сорбента под действием капиллярных сил. Скорость движения вещества определяется соотношением времени его удерживания в потоке подвижной фазы и удерживания за счет сорбции сорбентом. Во время хроматографического анализа зона каждого вещества проходит расстояние, определяемое его природой.

Растворители, применяемые в тонкослойной хроматографии, должны быть чистыми и осушенными. Смеси веществ могут разделяться с помощью одного растворителя, однако обычно применяют системы, состоящие из двух, трех и даже четырех растворителей. Выбор растворителей определяется их элюирующей способностью, которая зависит от полярности растворителя, а также его протонодонорных и протоноакцепторных свойств. Для каждой новой пластинки систему растворителей следует готовить заново, так как в ней соотношение компонентов после хроматографирования изменяется.

Существенную роль при разделении веществ с помощью тонкослойной хроматографии играет количество наносимой смеси, оно влияет на величину

R_f и на разрешение пятен. Пробы испытуемых веществ массой от 0,1 до 50 мкг наносят на пластинку в виде растворов в эфире, хлороформе или другом летучем растворителе.

Природа растворителя может влиять на размер пятна наносимой пробы. При нанесении пробы необходимо, чтобы растворитель легко удалялся со стартовой зоны, и растворимость анализируемых веществ была бы не менее 0,01 г/мл.

Перед началом эксперимента необходимо правильно подготовить образец. Для этого следует выбрать репрезентативную порцию материала. Обычно для этого требуется его полностью растворить в подходящем растворителе. В ряде случаев растворить весь образец не удастся. В этом случае нужно убедиться, что растворены по крайней мере все необходимые вещества. Наличие в веществе большого количества примесей может привести к ухудшению результатов анализа или разделения, поэтому предварительно может применяться этап очистки образца методами экстракции. Этот шаг реализуется при использовании пластинок с преадсорбционным слоем, который задерживает полярные компоненты матрицы.

В ряде случаев перед постановкой пластин их подвергают дополнительным этапам подготовки:

- **предварительная отмывка** пластинок служит для их очистки от сорбированных примесей и обычно проводится путем погружения в метанол либо элюированием пустой пластинки в этом элюенте, при этом в последнем случае эффективность отмывки выше;

- **активация** предназначена для удаления связанной воды со слоя сорбента. Она проводится путем нагревания пластинок в течение 30 минут при 120 °С (для пластинок с силикагелем). Более сильное и продолжительное нагревание может привести к удалению химически связанной воды и необратимому изменению свойств хроматографического слоя. Активированные пластинки обладают большими удерживающими свойствами, и подвижность веществ в них замедляется по сравнению с неактивированными пластинками;

- **прекондиционирование** представляет собой помещение активированной либо неактивированной пластинки в атмосферу с заданной влажностью или газовым составом с целью сорбции хроматографическим слоем того или иного количества воды или другого компонента атмосферы. Этот процесс проводят в сосуде для элюирования, содержащим необходимый растворитель;

- **импрегнирование** пластинок органическими или неорганическими веществами проводят с целью изменения сорбционных свойств слоя. Его

проводят погружением, опрыскиванием или предварительным элюированием импрегнирующим раствором. Так, например, использование импрегнированного силикагеля в тонкослойной хроматографии дает возможность провести анализ насыщенных органических веществ на силикагеле, содержащем ионы серебра.

Нанесение образца на пластинку существенно влияет на качество получаемого результата. Так, разделение компонентов смеси зависит от размеров нанесенной зоны в направлении проведения анализа, а сравнивать образцы по их подвижности можно лишь при позиционно точном нанесении зон на пластинку. При количественном анализе нужно наносить точно измеренные объемы растворов веществ.

Существует два способа нанесения образца: ручной и автоматический. При ручном нанесении пробы на пластинке карандашом отмечают точки, лежащие на отрезке, параллельном нижнему краю пластинки, и отстоящим от него на такое расстояние, чтобы точки не погружались в элюент. Число точек должно соответствовать числу анализируемых образцов. Затем на отмеченные точки при помощи микрокапилляров наносят раствор анализируемого образца, объем которых составляет не более 5 мкл в тонкослойной хроматографии и не более 1 мкл в высокопроизводительной тонкослойной хроматографии. Большие объемы проб наносят несколькими касаниями, высушивая между ними пластинку от растворителя. При этом растворитель, в котором находится образец, должен иметь как можно меньшую полярность, так как при нанесении происходит круговая хроматография, которая может привести к распространению и разделению компонентов образца.

Автоматические и полуавтоматические системы для нанесения образцов используют принцип спрея. Раствор набирают в иглу шприца, далее иглу прочно позиционируют над поверхностью пластинки, и поршень выдавливает заданный объем пробы. Растворитель удаляется путем обдувания сжатым воздухом либо азотом. Нанесение веществ возможно также в виде точек либо прямоугольных зон, а наносимые объемы могут варьироваться.

Пробы наносят в виде точки или полоски длиной 5–7 мм при помощи капилляра, пипетки на 0,1 мл или микрошприца, предварительно отметив стартовую линию на расстоянии 1,5 см от края пластинки. Расстояние между отдельными пробами должно быть не менее 1 см. После этого ждут, когда растворитель испарится, затем пластинку опускают в разделительную камеру с выбранной подвижной фазой. В зависимости от того, в каком направлении поступает растворитель на пластинку, различают методы восходящей, нисходящей и горизонтальной хроматографии

Разделяемую смесь, растворенную в соответствующем растворителе, наносят в виде капель на пластинку и после испарения растворителя помещают пластинку в проявительную камеру (рис. 6), в которой находится небольшое количество растворителя. Растворитель поднимается по слою сорбента под действием капиллярных сил. При этом различные соединения, находящиеся в смеси, поднимаются с разными скоростями в зависимости от их сродства к сорбенту. По достижении растворителем верхнего слоя сорбента соединения в идеальном случае должны полностью разделиться. Процесс разделения – это одна из форм жидкостно-адсорбционной хроматографии.

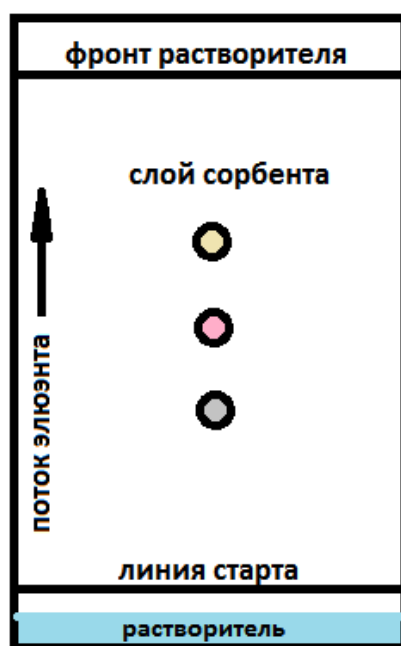


Рис. 6. Хроматографическая пластинка

На рис. 7 показаны различные методы элюирования в планарной хроматографии. Применение многоступенчатого и двумерного элюирования позволяет повысить селективность разделения за счет изменения элюирующей способности подвижной фазы.

Однако во всех указанных способах не удастся исправить существенный недостаток ТСХ – низкую эффективность разделения, поскольку движение элюента осуществляется за счет капиллярных сил. Вариант планарной хроматографии с принудительным движением элюента (под давлением) позволяет существенно улучшить эффективность разделения.

В тонкослойной хроматографии по аналогии с бумажной в качестве растворителей применяют либо чистые вещества, такие как этилацетат, бензол и др., либо смеси веществ (системы) в определенном соотношении.

После разделения веществ необходимо обнаружить их на хроматограмме. Для обнаружения бесцветных веществ, в первую очередь, следует воспользоваться физическими методами, основанными на поглощении света и флуоресценции.



Рис. 7. Варианты элюирования компонентов в тонкослойной (планарной) хроматографии

Для обнаружения веществ, поглощающих в УФ-области 120 спектра, часто применяют пластинки со слоем сорбента, содержащим флуоресцирующее вещество, или опрыскивают хроматограмму после разделения смеси раствором флуоресцирующего вещества. При облучении пластинки УФ-излучением вещества, поглощающие в этой области спектра, обнаруживаются в виде темных зон (пятен). Флуоресцировать в УФ-свете способно значительное количество веществ, полученные пятна имеют при этом различный оттенок. Для обнаружения флуоресцирующих веществ или веществ, поглощающих в УФ-области спектра, используют источники света с максимумами излучения в области 254 и 365 мкм. Помимо оптических методов обнаружения веществ, применяют химические методы проявления хроматограмм. К химическим методам относится использование «универсальных реагентов» и реагентов, избирательно реагирующих с определенными функциональными группами определяемых соединений.

На процесс разделения компонентов методом тонкослойной хроматографии влияют такие факторы, как температура и pH.

Как правило, влияние температуры на результаты хроматографического анализа незначительно. Ее необходимо учитывать при повышении выше 24 °С. Показано, что повышение температуры выше комнатной не влияет на селективность разделения. Снижение температуры анализа оправдано в том случае, когда исследуют вещества с высокой летучестью и низкой термической стабильностью.

Гораздо больше, чем температура, на результаты разделения веществ, проявляющих свойства кислот и оснований, влияет кислотность среды. Для таких соединений время удерживания зависит от рН среды, констант ионизации K_a (для кислот) и K_b (для оснований), коэффициентов распределения ионной и молекулярной форм, а также ионной силы раствора.

Уравнение, связывающее рН раствора, R'_f и R'_m , имеет следующий вид:

$$R'_f = \frac{1}{1 + \left(\frac{A_{\text{нф}}}{A_{\text{пф}}} D \left[1 + 10^{\text{рН} - \text{р}K_a} \right] \right)}, \quad (3)$$

где $A_{\text{нф}}/A_{\text{пф}}$ – фазовое отношение; D – коэффициент распределения сорбата между подвижной и неподвижной фазами; $\text{р}K_a = -\lg K_a$.

$$R'_m = \lg D \left(\frac{A_{\text{нф}}}{A_{\text{пф}}} \right) + \lg \left[1 + 10^{\text{рН} - \text{р}K_a} \right]. \quad (4)$$

Из этих уравнений видно, что с увеличением рН раствора величина R'_f снижается, а величина R'_m увеличивается.

В случае оснований рН и $\text{р}K_a$ меняют знаки:

$$R'_f = \frac{1}{1 + \left(\frac{A_{\text{нф}}}{A_{\text{пф}}} D \left[1 + 10^{\text{р}K_a - \text{рН}} \right] \right)}. \quad (5)$$

Следовательно, два электролита с разными значениями $\text{р}K$ могут быть разделены даже в случае всех остальных одинаковых хроматографических характеристик.

Для графического представления зависимости рН от R'_f можно наблюдать точку инверсии, или точку перегиба (рис. 8).

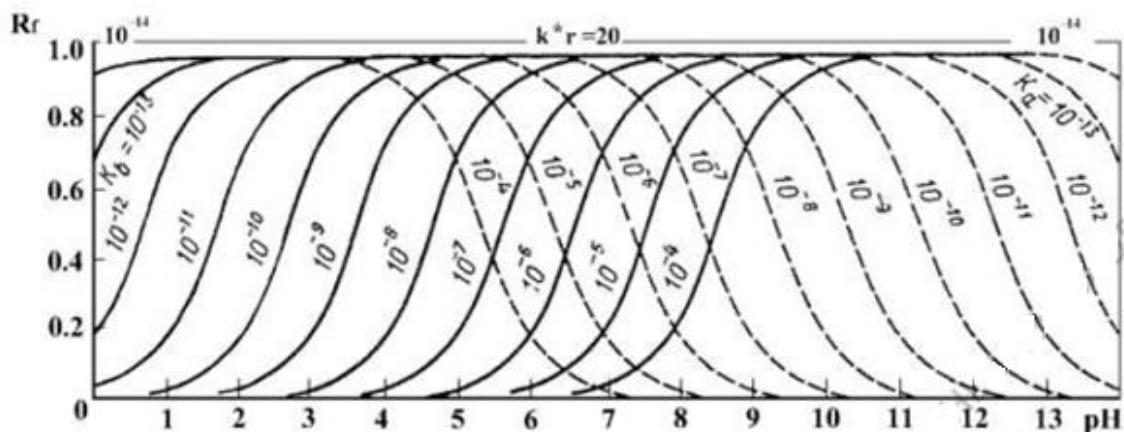


Рис. 8. Зависимость R_f от pH. Штриховые линии обозначают кислоты, сплошные линии – основания

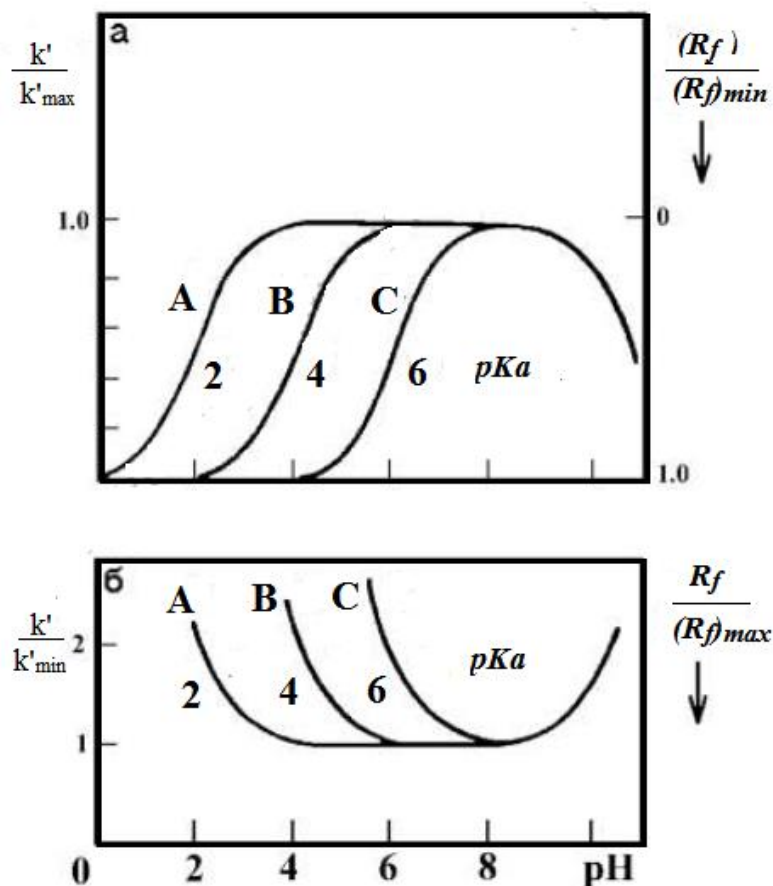


Рис. 9. Изменение относительных величин удерживания в зависимости от pH в ион-парной тонкослойной хроматографии анионов: а – вариант с обращенными фазами; б – вариант с нормальными фазами

Оптимальное значение pH определяют по уравнению:

$$pH_{opt} = \frac{1}{2}(pK'_a + pK''_a) - \frac{1}{2}(\lg K_r^{*'} + \lg K_r^{*''}). \quad (6)$$

В ион-парной тонкослойной хроматографии возможно менять селективность разделения также путем изменения рН водной подвижной среды. На рис. 9 представлены теоретические зависимости R'_f от рН для анионных форм кислот, имеющих разные значения pK_a .

В ион-парной ТСХ минимальные значения R_f получают при промежуточных значениях рН, когда компоненты пробы полностью ионизированы, и образование ионных пар достигает максимума. По мере снижения рН количество ионных пар в неподвижной фазе уменьшается, а также уменьшаются и значения R_f каждого аниона.

Как было показано ранее, тонкослойная хроматография – это простой, эффективный и высокоэкономический метод жидкостной хроматографии. Как правило, в аналитической практике используют линейный вариант тонкослойной хроматографии, однако для решения некоторых задач используют круговую тонкослойную хроматографию, которая характеризуется наиболее высокой эффективностью разделения.

2.2. Сорбционные материалы для тонкослойной хроматографии

Для успешного проведения хроматографического анализа важной задачей является выбор и подготовка необходимых сорбентов.

Требования, предъявляемые к сорбентам для тонкослойной хроматографии:

- не должны химически реагировать с хроматографируемым веществом;
- сорбенты не должны растворяться в подвижной фазе;
- вещества, используемые для образования слоя, не должны быть окрашены;
- не должны содержать компонентов, мешающих разделению и определению.

Важной характеристикой сорбента является его активность, которая зависит от содержания воды и понижается при увеличении содержания воды в сорбенте. В первую очередь, нужно исходить из свойств разделяемых соединений: их растворимости (гидрофильности, гидрофобности), содержания и характера функциональных групп. Так, например, насыщенные углеводороды адсорбируются слабо или совсем не адсорбируются на силикагелях и оксиде алюминия. Введение двойных связей, особенно сопряженных, увеличивает адсорбционную способность соединений. Функциональные группы в еще большей степени усиливают способность веществ к адсорбции. Адсорбционная способность функциональных групп возрастает в следующем порядке:



В качестве сорбентов в тонкослойной хроматографии применяют материалы, которые отвечают следующим требованиям: образуют химически и физически стабильные слои; не образуют ковалентных связей с разделяемыми веществами; не растворяются в подвижной фазе или перемещаются вместе с ней по пластинке; не содержат компонентов, мешающих разделению или детектированию; не имеют собственной окраски; не набухают и не сжимаются под действием подвижной фазы.

Общие требования к сорбентам для тонкослойной хроматографии следующие. Сорбент должен быть устойчив по отношению к среде, в которой будет осуществляться его использование. Он должен обладать максимальной способностью к сорбции данного вещества и достаточной механической прочностью, а также быть доступным и относительно недорогим материалом.

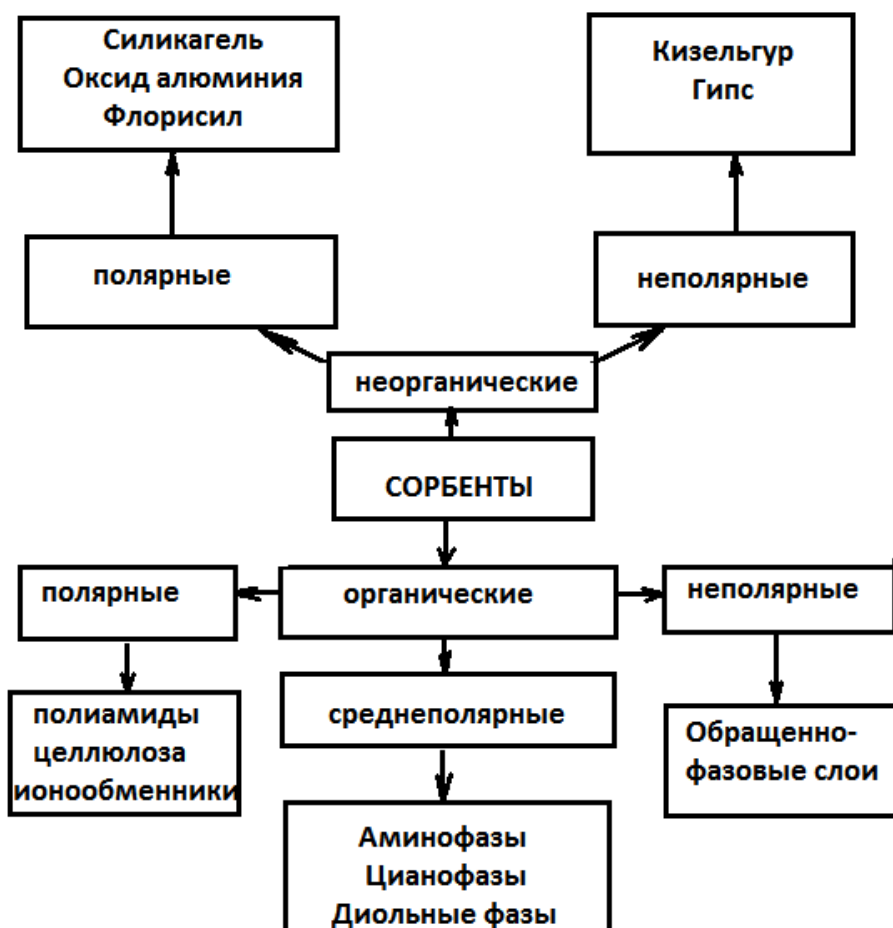
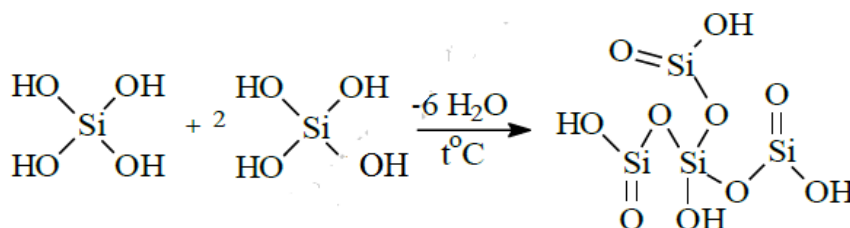


Рис. 10. Сорбенты в тонкослойной хроматографии

На рис. 10 приведена обобщенная схема используемых сорбентов для тонкослойной хроматографии.

Рассмотрим подробнее основные сорбенты для тонкослойной хроматографии.

Силикагель – это наиболее распространенный гидрофильный сорбент, применяемый для хроматографии органических соединений. Силикагель синтезируют полимеризацией ортокремниевой кислоты, получаемой гидролизом или обработкой силиката натрия соляной кислотой. Структура силикагеля формируется по следующей схеме:



Это гидратированная кремниевая кислота, образующаяся при действии минеральных кислот на силикат натрия с последующим высушиванием образовавшегося золя. Химические свойства силикагеля обусловлены наличием на его поверхности функциональных групп Si–OH. Предполагается, что OH– группы находятся на вершинах тетраэдров, выходящих на поверхность скелета силикагеля. При прокаливании при высокой температуре у соседних тетраэдров за счет гидроксильных групп у соседних тетраэдров образуется силоксановая связь. Этот процесс сопровождается изменением взаимной ориентации тетраэдров, что ведет к образованию «активных кислородных мостиков» на поверхности, которые служат активными центрами в каталитических реакциях. На поверхности могут существовать как удаленные друг от друга на расстоянии больше 0,3 нм и поэтому не взаимодействующие друг с другом «свободные» гидроксильные группы, так и расположенные на расстоянии меньше 0,3 нм гидроксильные группы, связанные водородной связью.

Помимо адсорбционных свойств силикагель обладает также ионообменными свойствами. Это достаточно гидрофильный сорбент, поэтому он мало пригоден для сорбции из водных растворов. Нейтральный силикагель используют для разделения нейтральных и основных соединений. Силикагель, обработанный уксусной или щавелевой кислотой, используют для хроматографии соединений кислотного характера.

Структура и пористость силикагеля зависят от способа и условий его получения. Как правило, силикагели разных производителей различаются свойствами, размерами пор, pH поверхности, поэтому они обладают разными сорбционными свойствами. Поэтому перед работой необходимо проводить оценку каждой новой партии силикагеля.

Применяемый в тонкослойной хроматографии силикагель, как правило, имеет размер частиц 0,07–0,10 мм.

В качестве основы обычно используют стекло либо алюминиевую фольгу, а также полимерные материалы.

Толщина слоя сорбента составляет 0,1–0,2 мм. В качестве связующего вещества для получения однородного прочного слоя к сорбенту добавляют гипс (5–20 %) или крахмал (2–5 %), а для идентификации разделяемых соединений в слой часто добавляют флуоресценты.

Активность силикагеля зависит от содержания в нем воды: чем ее меньше, тем активность силикагеля выше.

При нагревании силикагеля до 150–200 °С с его поверхности удаляется физически связанная вода. При достижении более высоких температур можно наблюдать спекание сорбента, и силанольные группы преобразовываются в силоксановые. Нагревание выше 400 °С приводит к дополнительному уменьшению поверхности сорбента, а при 1000 °С полностью утрачивается способность силикагеля к связыванию воды, его поверхность становится гидрофобной, а его структура – подобной структуре силоксана.

В табл. 3 приведены физические свойства силикагелей и типы связующих веществ для пластинок, наиболее часто используемых в тонкослойной хроматографии.

Таблица 3

Характеристики силикагелей для тонкослойной хроматографии

Пластины	Диаметр пор, нм	Объем пор, мл/г	Удельная поверхность, м ² /г	Фракционный состав, мкг	Толщина слоя, мкм	Связующие
1	2	3	4	5	6	7
«Мерк», Германия						
TLC-Si-60	6	0,82	550	5–20	250	Органическое полимерное
HPTLC –Si-60	6	0,82	550	5–10	200	
«Ватман», США						
LK-5-HP-K	8	0,70	300	5–10	200	Органическое полимерное
«Машерей и Нагел», Германия						
SiLG-25	6	0,75	500	5–25	250	Гипс
«Кавалиер», Чехия						
Силуфол	6	0,8	500	5–40	100	Крахмал
«Реахром», Армения						
Реахром	6	0,8	300	10–20	100	Силиказоль

1	2	3	4	5	6	7
<i>ЗАО «Собполимер», «Ленхром», Россия</i>						
Сорбфил АТСХ	9–12	0,8	350	5–17	100–120	Силиказоль
Сорбфил ВЭТСХ	9–12	0,8	350	8–10	100– 120, 160	

В тонкослойной хроматографии довольно часто используется **оксид алюминия** Al_2O_3 в качестве сорбента, он применяется для анализа большого количества органических соединений. Это слабо основной адсорбент, который используется для разделения слабоосновных и нейтральных соединений. Адсорбционная емкость по сравнению с силикагелем у оксида алюминия низкая, однако он так же, как и силикагель, способен образовывать водородные связи. Его протоноакцепторные свойства сильнее по сравнению с силикагелем.

Оксид алюминия получают путем дегидратации гидроксида алюминия при 500 °С. При нагревании происходит удаление воды с образованием Al-O-Al структуры, которая имеет в своем составе гидроксильные группы ($\text{pH} = 7,5\text{--}8$).

Оксид алюминия может быть представлен в различных формах: основной, нейтральной и кислой. Основной оксид алюминия используют для хроматографии соединений основного характера, например кислых аминокислот, карбоновых кислот и др. Нейтральный оксид алюминия применяют для хроматографического анализа из неводных растворов органических соединений, например предельных углеводородов, альдегидов, кетонов, спиртов, фенолов и эфиров.

Следует отметить, что оксид алюминия более термоустойчив по сравнению с органическими сорбентами, например целлюлозой. Так, например, перед употреблением оксид алюминия часто активируют нагреванием при 130 °С. Активность оксида алюминия зависит от содержания воды в сорбенте.

В качестве сорбента для хроматографии часто используют сильнопористый сорбент **кизельгур**. Он дает достаточно прочный нейтральный слой сорбента и используется для хроматографического анализа кетокислот, оксикислот, лактонов и др. Иногда кизельгур применяют в смеси с силикагелем или гипсом.

Органические полимеры природного происхождения **целлюлозные порошки** часто используют в хроматографии в качестве сорбентов. В настоящее время известно до 57 разновидностей различных целлюлоз,

используемых в тонкослойной хроматографии. Порошки целлюлозы образуют достаточно прочные слои в ряде случаев и без связующего материала. В качестве подложки используют стекло или алюминиевую фольгу, толщина слоя сорбента – 0,10–0,20 мм.

Целлюлоза относится к эффективным сорбентам для разделения сложных органических веществ. Однако стоит отметить, что в ТСХ, как и в бумажной хроматографии, подъём фронта растворителя на целлюлозе происходит медленно.

Для использования в качестве *ионообменных сорбентов* в тонкослойной хроматографии разработано несколько типов модифицированных целлюлоз. Для анионного обмена применяются следующие виды модифицированных целлюлоз: АЕ (аминоэтил), DEAE (диэтиламиноэтил), ЕСТЕОЛА (продукт реакции эпихлоргидрина, триэтиламина и щелочной целлюлозы), РЕІ (полиэтиленимин). Для катионного обмена известны следующие модифицированные сорбенты на основе целлюлозы: СМ (карбоксиметил), Р (с введением фосфора), Poly-P (полифосфат). Также в качестве носителя для ионообменной хроматографии используют некоторые полимеры.

Полиамиды – сорбенты, широко распространенные в тонкослойной хроматографии. Полиамидные сорбенты могут быть получены как в виде белого гигроскопического порошка, так и в виде пленок или листов.

Полиамиды – группа полярных сорбентов со смешанным механизмом разделения: карбоксамидная группа ответственна за адсорбционный, метиленовые звенья – за распределительный механизмы. Эти сорбенты применяют для разделения фенолов, нитрофенолов, спиртов, пищевых красителей, флаваноидов, танинов, кислот. Они устойчивы к действию многих органических растворителей, но гидролизуются под действием минеральных концентрированных кислот и щелочей и разрушаются под действием окислителей.

Сорбционные свойства полиамидных сорбентов колеблются в широких пределах от 0,31 до 1,15 мг сорбируемого вещества на 100 мг сорбента. Сорбция на этих сорбционных материалах полностью обратима. К недостаткам можно отнести полидисперсность исходных смол и наличие примесей.

Для приготовления суспензии сорбента используют различные органические растворители, такие как этанол, метанол, этилацетат, бензол и др.

Флоросил – основной силикат магния, занимает промежуточное положение между оксидом алюминия и силикагелем; удобен для разделения флаваноидов, стероидов и ацетилованных углеводов.

Ионообменные смолы (ионообменники) – достаточно новые сорбенты для тонкослойной хроматографии. В качестве сорбентов

используют диэтиламиноэтилцеллюлозу (ДЭАЭ) MN-300 DEAE и MN-300 G/ DEAE и целлюлозу MN-300 ESTEOLA и MN-300 G/ ESTEOLA.

По уменьшению полярности **органические сорбенты средней полярности** можно расположить в следующий ряд: немодифицированный силикагель с амино- > циано- > диол- > RP_2 - > RP_8 - > RP_{18} -группами. Индексы 2, 8, 18 означают число атомов углерода в привитом алкильном радикале.

Гидрофильно-модифицированные слои.

Для расширения диапазона селективности между полярными силикагельными слоями и неполярными RP -фазами были разработаны амино-, циано- и диольные фазы, где конечная функциональная группа и атом кремния разделены «прокладкой» из трех CH_2 -групп (спейсер) (рис. 11).

ФАЗА	СТРУКТУРА
амино-	$\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—NH}_2$ $\underbrace{\hspace{1.5cm}}$ спейсер
циано-	$\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—C}\equiv\text{N}$
Диол	$\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—O—CH}_2\text{—CH—CH}_2$ $\begin{array}{cc} & \\ \text{OH} & \text{OH} \end{array}$

Рис. 11. Гидрофильно-модифицированные слои

Эти фазы подходят как для использования в обращенно-фазовой, так и нормально-фазовой хроматографии. Для нормально-фазовой хроматографии главным являются адсорбционные взаимодействия. Все функциональные группы сорбентов имеют свободные электронные пары, и легко образуют водородные связи с анализируемыми веществами. Некоторые функциональные группы являются донорами протонов. Если используются гидрофильные подвижные фазы, функциональные группы быстро насыщаются. В этом случае за удерживание веществ ответственны гидрофобные взаимодействия со спейсерами, то есть на этих фазах происходит обращенно-фазовая распределительная хроматография.

Слои с аминотазами. Фазы содержат пропиламиновые радикалы, связанные ковалентно с силикагелем. Слои обладают основными свойствами что позволяет проводить анализ веществ с аналогичными характеристиками, например аминов и алкалоидов. Эти фазы можно использовать также в качестве слабоосновных ионообменников. Добавление солей к элюенту подавляет ионообменные свойства.

Слои с цианофазами. Содержат цианопропильные группы, связанные с силикагелем. По отношению к водным элюентам слои имеют нейтральную реакцию. Так как цианогруппы не ограничивают выбор подвижных фаз, то можно использовать как обращенно-фазовую, так и нормально-фазовую хроматографию.

Слои с диольными фазами. Их силанольные группы связаны с радикалами 1,2-пропандиола через пропильные пространственные группы (спейсеры). Хроматографические характеристики поверхности сорбента определяются присутствием алкильных радикалов и спиртовых групп. Спиртовые группы по своим свойствам близки с силанольными группами силикагеля. Связь силикагеля через алкильный радикал уменьшает их полярность, они становятся менее поверхностно-активными. Эти сорбенты можно использовать в случае нормально-фазовой и обращенно-фазовой хроматографии.

Некоторые результаты практического применения таких сорбентов приведены в табл. 4.

Таблица 4

Применение гидрофильно-модифицированных слоев в нормально-фазовой хроматографии

Класс вещества	Неподвижная фаза	Система подвижной фазы
1	2	3
Метилированные фенолы	NH ₂	Дихлорметан / метанол
Нитроанилины	NH ₂	Гексан / этанол
Фенолы	NH ₂	Ацетон / дихлорметан
Ксантин-производные	NH ₂	Метанол
Эстрогены	CN	Петролейный эфир / ацетон
Фенолы	CN	Этилацетат / толуол
РТН-аминокислоты	CN	Дихлорметан / метанол
Половые гормоны	CN	Петролейный эфир / ацетон
Анаболики	Диол	Диизопропиловый эфир / уксусная кислота
Олигофенилены	Диол	циклогексан
Тестостерон	Диол	Диизопропиловый эфир
Стероиды	Диол	Гексан / ацетон / уксусная кислота / LiCl
Бензолкарбоновые кислоты	NH ₂	Этанол / аммиак / NaCl

1	2	3
Нуклеотиды	NH ₂	Этанол / вода
Пурины	NH ₂	Этанол / вода / NaCl
Консерванты	CN	Этанол / вода / тетраэтиламмоний
РТН-аминокислоты	CN	Метанол / пропанол / вода
Половые гормоны	CN	Ацетон / вода
Гликозиды дигиталиса	Диол	Этилацетат
Стероиды	Диол	Ацетон / вода

К органическим неполярным сорбентам относят *гидрофобно-модифицированные слои*, которые получают путем прививки алкиларсинов к скелету силикагеля. В качестве алкильных заместителей выступают диметил-, этил- (RP_2), октил- (RP_8) и октадецил (RP_{19}) группы. За счет такой прививки количество реакционноспособных силанольных групп уменьшается, образуются новые силоксановые группы, которые химически менее активны.

Показано, что неполярные алкильные цепи с числом атомов углерода до 4-х торчат из матрицы силикагеля аналогично волокнам щетки, они проникают во внутренний объем частиц силикагеля. В результате этого радиус пор уменьшается. Более длинные углеводородные цепи лежат плоско на поверхности и их необходимо поднять перед разделением при кондиционировании.

RP -слои применимы для разделения с гидрофильными подвижными фазами. Компоненты пробы удерживаются за счет гидрофобных взаимодействий, которые являются основными. Мерой степени модифицирования силикагеля является соотношение между прореагировавшими и непрореагировавшими силанольными группами.

Такая прививка уменьшает количество реакционноспособных силанольных групп и приводит к образованию новых силоксановых групп, обладающих меньшей химической активностью.

Чем больше молекулярная масса используемых алкиларсинов, тем меньше степень модифицирования, а следовательно, растет влияние силанольных групп на удерживание молекул пробы, селективность и смачиваемость фазы водой.

С увеличением длины цепи алкильного заместителя гидрофобность слоев возрастает. Поэтому смачиваемость RP -слоев полярной, содержащей воду, подвижной фазой, является слабой. При увеличении содержания воды в подвижной фазе гидрофильные силы противодействуют капиллярным силам.

Слои RP_2 смачиваются подвижными фазами, содержащими 70–80 % воды по объему, в то время как смачиваемость RP_8 и RP_{18} слоев составляет 50–60 %.

В табл. 5 приведены данные по модифицированным силикагелям для ТСХ.

Таблица 5

Модифицированные силикагели для тонкослойной хроматографии

Фирма-производитель, страна	Обозначение пластинок	Модифицирующая функциональная группа	Диаметр частиц, мкм	Примечание
«Мерк», Германия	TLC RP_2	C-2	11–13	Неполное силанизирование
	TLC RP_8	C-8		
	TLC RP_{18}	C-18		
	HP TLC RP_2	C-2	5–7	
	HP TLC RP_8	C-8		
	HP TLC RP_{18}	C-18		
	HP TLC $RP-NH_2$	γ -аминопропил		
	HP TLC $RP-CN$	-циано		
	HP TLC RP -диол	-диол		
	$RP_2, RP_8, RP_{18}, RP_{18}(S)$	C-2, C-8, C-18	С повышенной смачиваемостью	
«Машерей и Нагел», Германия	SIL C 18-100	C-18	5–10	Силанизирование 100, 75, 50 %
	SIL C 18-75			
	SIL C 18-50			
«Ватман», США	K C-2	C-2	10–14	Полное силанизирование (endocapped C-2)
	K C-8	C-8		
	K C-18	C-18		
	Multi	C-18		Двухфазные (C-18/силикагель)
	R CS 5-дифенил	дифенилметил		
«Ленхром», Россия	ОФ RP_2	C-2	5–17	
	ОФ RP_8	C-8		

Из таблицы видно, что чем больше молекулярная масса алкиларсинов, тем меньше степень модифицирования, следовательно, увеличивается влияние силанольных групп на удерживание молекул анализируемых соединений, селективность и смачиваемость фазы водой. С увеличением длины цепи алкильного заместителя растет гидрофобность слоев. Поэтому смачиваемость слоев полярной, содержащей воду, подвижной фазой является слабой. По мере увеличения в подвижной фазе содержания воды гидрофильные силы противодействуют капиллярным силам.

2.3. Способы проведения анализа в тонкослойной хроматографии

После нанесения опытных проб на пластинку с адсорбентом последнюю помещают в камеру для хроматографии, на дно которой предварительно наливают небольшое количество подвижной фазы (растворителя). В настоящее время существует множество разновидностей камер для тонкослойной хроматографии.

В зависимости от направления движения растворителя и от положения пластинки с сорбентом различают восходящую, горизонтальную и нисходящую тонкослойные хроматографии. В методе *восходящей хроматографии* растворитель поднимается по пластинке снизу вверх под действием капиллярных сил. Пластинку помещают в камеру и погружают в растворитель приблизительно на 0,5–1,0 см.

При работе с закрепленным слоем продвижение растворителя на пластинке обычно не должно превышать 10–12 см, так как в противном случае наблюдаются замедление движения фронта растворителя, диффузия пятен и большие колебания R_f . При работе с незакрепленными слоями пластинку обычно ставят под углом 10–15°, длина продвижения растворителя на пластинке обычно не вызывает больших колебаний R_f .

Метод *нисходящей хроматографии* характеризуется подачей растворителя на пластинку сверху вниз. В этом случае в верхнюю часть камеры над пластинкой с сорбентом помещают лоток с растворителем. Лоток соединяют с пластинкой при помощи фильтровальной бумаги. При этом скорость подачи растворителя можно регулировать, используя фильтровальную бумагу различной толщины.

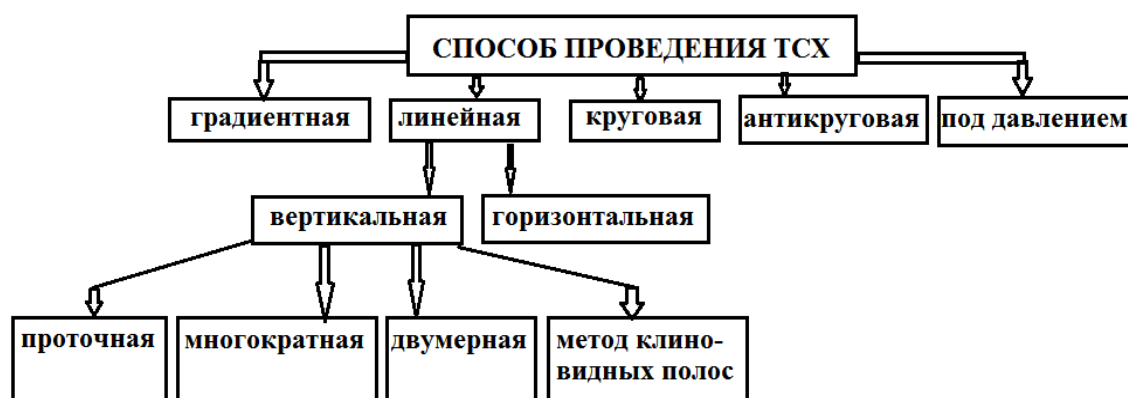


Рис. 12. Возможные способы проведения тонкослойной хроматографии

При *горизонтальной тонкослойной хроматографии* пластинка в камере расположена горизонтально. В зависимости от способа подачи

растворителя и приема, применяемого для нанесения пробы, могут быть следующие разновидности этого метода, представленные на рис. 12.

В колоночной жидкостной хроматографии возможно только линейное движение элюента. Благодаря открытому слою сорбента, тонкослойная хроматография дает возможность осуществлять три типа хроматографирования: линейное, круговое и антикруговое, как представлено на рис. 13.

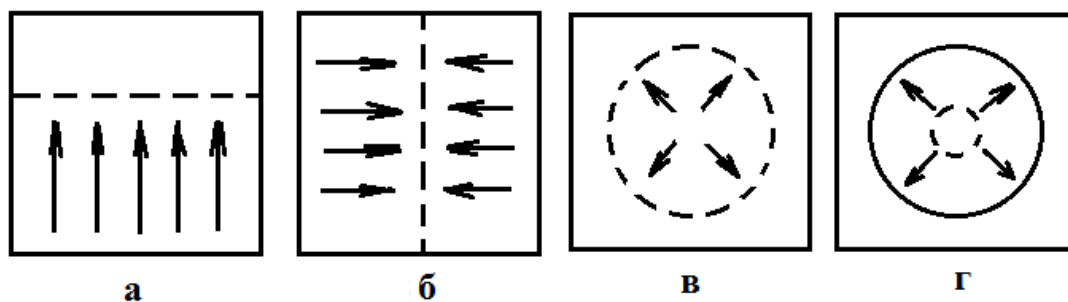


Рис. 13. Типы элюирования в тонкослойной хроматографии: а – линейное (вертикальное), б – линейное (горизонтальное), в – круговое, г – антикруговое

Как правило, наиболее часто используют линейное элюирование в ТСХ. В этом случае пробы наносят на стартовую линию параллельно одной из сторон.

При круговой тонкослойной хроматографии пробы наносят по окружности на некотором расстоянии от центра пластины, а элюент подают в центр. При этом оптимальное разрешение достигается при $R_f = 0,009$, то есть хорошо разделяются вещества с низкими R_f . После разделения получаются кольцевые концентрические зоны разделяемых веществ.

В антикруговой тонкослойной хроматографии пробу наносят по окружности по периферии пластинки. Зоны при этом сжимаются по мере движения по пластинке. В этом виде ТСХ возможно анализировать большое количество проб. Этот тип элюирования дает неплохие результаты анализа при разделении веществ с высокими значениями R_f .

Для круговой и антикруговой тонкослойной хроматографии выпускают специальные U-камеры. Элюент вынесен за пределы камеры, за счет чего исключается влияние паровой фазы. Анализ возможно проводить также в атмосфере инертного газа. Все это позволяет повысить воспроизводимость получаемых результатов.

Также круговую и антикруговую хроматографию можно выполнять и в обычных камерах в вертикальном варианте, так называемая треугольная тонкослойная хроматография и хроматография по Маттиасу (метод клиновидных полос).

В литературе описано несколько способов реализации круговой тонкослойной хроматографии. Например, фирма Camag производит *U*-камеру для круговой тонкослойной хроматографии, в которой подвижная фаза подается на слой сорбента под давлением. Известны также и другие способы осуществления круговой ТСХ: круговая с закрытым слоем сорбента, электроосмотическая и конусная. Следует отметить, что все варианты круговой тонкослойной хроматографии характеризуются, во-первых, тем, что подачу подвижной фазы осуществляют в центральную область тонкослойной пластинки, и во-вторых, разделение производят в горизонтальной камере.

Были предложены также новые варианты круговой ТСХ: боковая и угловая, в которых подвижная фаза подается не в центр горизонтально расположенной тонкослойной пластинки, как в традиционных методах ТСХ. Боковая и угловая ТСХ характеризуются более высокой эффективностью разделения по сравнению с традиционной линейной и дают возможность более рационально использовать тонкослойную пластинку. Однако авторы отмечают и некоторые недостатки, которые заключаются в относительной сложности аппаратуры по сравнению с традиционной линейной ТСХ.

Метод клиновидных полос (метод Маттиаса) – это видоизмененная круговая хроматография, она проводится на секторе круга и применяется для разделения веществ с близкими R_f , так как дает более четкие разграниченные зоны. Этот вариант ТСХ можно рассматривать как вариант круговой ТСХ, который проводится в секторе круга.

Треугольная тонкослойная хроматография приближено может рассматриваться как метод антикруговой хроматографии (движение подвижной фазы от периферии к центру). В этом методе используют тонкослойную пластинку в виде треугольника, при этом подвижная фаза подается на одну из сторон этого треугольника и движется к его вершине. Следует отметить, что при использовании этого метода тонкослойной хроматографии наблюдается удлинение зон соединений под действием боковых сдвигающих сил, а следовательно, происходит снижение эффективности разделения. Однако в этом случае элюирование происходит с большей скоростью, чем при использовании традиционной линейной ТСХ.

Иногда в тонкослойной хроматографии применяют специальную технику с целью достичь лучшего разделения анализируемых веществ и добиться концентрирования соединений. Так, например, проводят разделение сначала в одном направлении, а затем в другом, перпендикулярном первому. Также возможен способ, позволяющий сконцентрировать, а затем препаративно выделить хроматографические пятна, полученные после разделения анализируемой смеси. Сначала проводится обычное разделение в одном направлении. Затем

хроматографические пятна (видимые, например, в ультрафиолете) оставляют на пластинке в виде небольших выступов, удаляя адсорбент с части пластинки. После этого на выступы с пятнами накладывают небольшие полоски фильтровальной бумаги и производят разделение в направлении, перпендикулярном первоначальному, как представлено на рис. 14. Этот метод носит название *двумерной тонкослойной хроматографии*.

В некоторых случаях можно применять двумерную хроматографию, используя пластинку с двумя различными адсорбентами. Так, можно разделить на пластинке с силикагелем и активированным углем смесь кетонов. Хроматография кетонов в одном направлении осуществлялась в смеси растворителей бензол : этиловый эфир : уксусная кислота (82 : 9 : 9), во втором направлении – бензол : этиловый эфир (85 : 15).

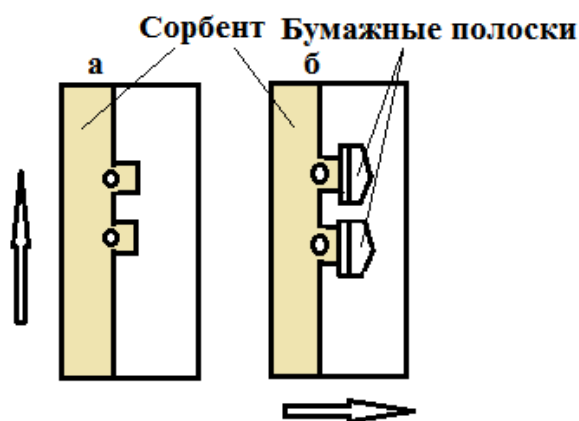


Рис. 14. Концентрирование пятен и перевод их на полоски бумаги: а – пластинка с частично удаленным слоем сорбента после разделения в одном направлении; б – разделение в направлении, перпендикулярном первому, и перевод пятен на полоски бумаги

Также известен способ *градиентной тонкослойной хроматографии*. Установлено, что использование различных видов градиента позволяет значительно улучшить разделение анализируемых веществ и расширяет возможности метода ТСХ.

При этом могут применяться следующие типы градиента:

- градиент подвижной фазы может быть вызван изменением концентрации элюирующего раствора (градиент концентрации), полярности элюирующих растворов (градиент полярности) и pH в процессе анализа (градиент pH);

- градиент стационарной неподвижной фазы может быть вызван изменением структуры и состава применяемых сорбентов, введением в сорбент импрегнирующего вещества с изменением его концентрации и изменением характера активности сорбента (градиент активности);

– градиент среды может быть обусловлен изменениями температуры, толщины слоя сорбента, изменениями летучести растворителей при хроматографии и некоторыми другими причинами.

В тонкослойной хроматографии также можно использовать различия в направлении этих градиентов на пластинке по отношению к направлению потока элюирующего раствора.

В случае градиента подвижной фазы происходит непрерывное изменение какого-либо параметра – концентрации, полярности или pH подвижной фазы.

Градиент неподвижной фазы успешно применяется для разделения кетонов, смеси красителей, стероидов.

Для разделения анализируемых веществ можно использовать разницу в летучести многокомпонентных растворителей. Различие в скорости испарения растворителей в этих условиях создает градиент среды. Пластинку помещают в камеру слоем адсорбента вниз над рядом лотков, содержащих систему растворителей с заранее заданным градиентом испарения этих растворителей, хроматография – горизонтальная, в качестве сорбента используют силикагель.

Следует отметить, что различные способы тонкослойной хроматографии необходимо оценивать с точки зрения их простоты, скорости выполнения эксперимента и тех результатов, которые можно с их помощью получить. В этом отношении чаще используется метод восходящей хроматографии. Нисходящая хроматография используется реже, так как требует специального устройства, более сложна и трудоемка. Горизонтальная круговая хроматография также нечасто используется на практике, как правило для быстрого подбора растворителя.

2.4. Количественный анализ в тонкослойной хроматографии

В настоящее время количественная тонкослойная хроматография является общепринятым методом анализа различных смесей веществ.

Существуют два способа количественного анализа в ТСХ.

Первый способ – это оценка результатов ТСХ непосредственно на пластинке, второй – перенос пятна с пластинки в приемник с последующим элюированием вещества с сорбента и определением его путем традиционных аналитических методов анализа – колориметрических, спектрофотометрических и др.

Методы определения анализируемых соединений непосредственно на пластинке.

Определение площади пятен. Как правило, в этом методе снимают с контрастных пятен фотокопии и определяют площадь пятна либо переносят контуры пятна на прозрачную бумагу (наложением) и так же измеряют площадь пятна.

Для оценки площади пятен строят калибровочную кривую. Зависимость между площадью пятна и логарифмом количества анализируемого вещества определяется уравнением:

$$\sqrt{Q} = a \cdot \lg g + b, \quad (7)$$

где g – количество вещества; Q – площадь пятна; a и b – константы.

Эта зависимость справедлива при содержании вещества в пятне 1–80 мкг.

Помимо методов, основанных на измерении площади пятна, также существуют методы количественной оценки вещества по размерам пятен. Здесь учитывают только ширину и длину пятен либо максимальный и минимальный диаметры пятен и оптическую плотность в центре пятна.

Расчет проводят по формуле:

$$g = K \cdot A \cdot D \cdot d, \quad (8)$$

где g – количество измеряемого вещества; K – коэффициент пропорциональности; A – оптическая плотность в центре пятна; D и d – максимальный и минимальный диаметры пятна, соответственно.

Данный способ обладает высокой чувствительностью и позволяет определять соединения с количеством вещества до 10^{-11} – 10^{-9} мкг. Допускается, что максимум оптической плотности в центре пятна прямо пропорционален количеству измеряемого вещества. Для измерения пятен по этому методу используют спектрофотометр, соединенный с источником света и микроскоп.

Следует отметить, что использование специальной аппаратуры повышает чувствительность метода, однако увеличивает его сложность и делает его неэкономичным для одиночных анализов.

В целом, пределы ошибок, допускаемых при использовании методов с измерением площади или размеров пятен, составляют обычно 5–6 %. На размер ошибки могут оказывать влияние неравномерное распределение вещества в пятне и некоторые другие причины.

Денситометрический метод, повышающий точность результатов определения, основан на сканировании хроматограмм в видимом и УФ-свете

с помощью «хроматографических спектрофотометров» – денситометров. Метод денситометрии связан с определением интенсивности проходящего или отраженного света, пропускаемого через пластинку. Между количеством определяемого вещества и плотностью окраски пятна должна быть линейная зависимость.

Денситометры позволяют измерять поглощение света веществом на хроматограмме в режиме пропускания или отражения, а также флуоресценцию и ее тушение. Режим пропускания доступен, если только исследуемое вещество имеет полосу поглощения в видимой области спектра. В УФ-области регистрацию в режиме пропускания осуществить нельзя из-за собственного поглощения силикагеля и подложки хроматограммы.

Здесь большое влияние имеет равномерная окраска пятен, стандартизация условий хроматографирования, соответствие размеров пятен длине щели денситометра и т. д.

Достоинствами этого метода являются высокая скорость измерения, отсутствие каких-либо дополнительных операций, которые могут привести к загрязнению измеряемого вещества, относительная точность метода.

К недостаткам можно отнести необходимость соблюдения различных требований к подготовке анализируемых веществ, так как воспроизводимость эксперимента зависит от характера и интенсивности окраски пятна.

Как правило, ошибки при использовании этого метода количественной интерпретации составляют 5–8 %. Они могут быть вызваны рядом причин, таких как различие в скорости перемещения пластинки с сорбентом в приборе, т. к. при замедленном передвижении пластинки площадь вычерчиваемого пика больше. Также причиной ошибок может быть невозможность учета количества рассеянного света, попадающего на пластинку. В зависимости от метода измерения (в проходящем или отраженном свете) и типа прибора показания прибора могут быть различны. Кроме этого, ошибки могут возникнуть в процессе самой тонкослойной хроматографии, например при измерении объемов анализируемого вещества при нанесении его на пластинку. Точность определения зависит и от толщины слоя сорбента на пластинке, влажности слоя, присутствия посторонних веществ, характера растворителей и др.

В табл. 6 приведена зависимость между толщиной слоя сорбента и площадью пика денситометра при различных методах измерения.

При работе по методу пропускания света через пластинку с увеличением толщины слоя сорбента площадь пика, вычерчиваемая денситометром, увеличивается, тогда как при использовании метода отражения с увеличением толщины слоя сорбента площадь пика уменьшается.

На площадь пиков может оказывать влияние и влажность адсорбционного слоя. Изменение относительной влажности на 3 % вызывает изменение пика приблизительно на 1 %.

Метод видеоденситометрии – достаточно новый метод для количественной обработки хроматограмм. Принцип метода основывается во введении изображения хроматограммы в компьютер с помощью видеокамеры или цифровой камеры с последующим сравнением интенсивностей пятен стандартных и определяемых соединений.

Таблица 6

Зависимость площади пика от толщины слоя сорбента и метода измерения

Толщина слоя сорбента, мм	Площадь пика, см ²	
	Метод отражения	Метод пропускания
0,13	13,13	15,08
0,30	11,38	18,50
0,39	10,54	20,53
0,47	10,01	22,05
0,52	9,66	22,31

На рис. 15 показана количественная обработка пятна в видеоденситометрии, которая осуществляется по двум характеристикам: по площади пятна и его «объему» в пространстве, при этом в качестве третьей координаты используют яркость (интенсивность окраски пятна).

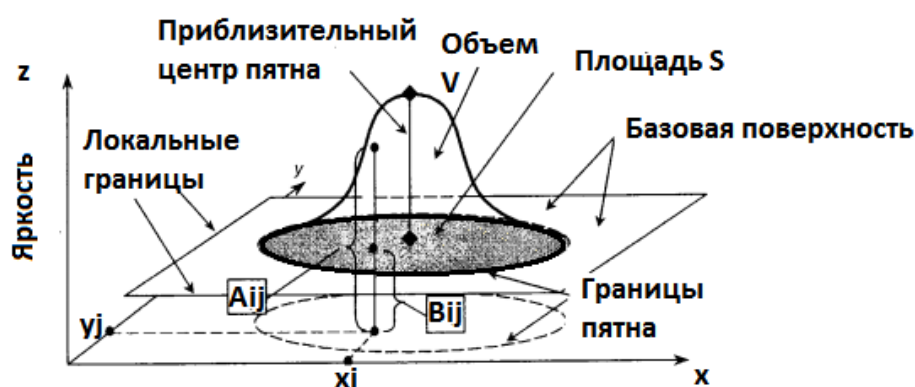


Рис. 15. Вид пространственного распределения яркости в области пятна:
 A_{ij} – значение уровня яркости точки пятна; B_{ij} – значение уровня яркости точки на базовой поверхности

Прямые спектрофотометрические измерения веществ непосредственно на пластинках увеличивают возможности ТСХ. Это

быстрый и чувствительный метод оценки, однако для этого метода необходим спектрофотометр либо спектроденситометр. Спектрофотометрические измерения можно использовать для количественного определения всех соединений, поглощающих в УФ-области спектра при длинах волн, соответствующих их максимуму поглощения. Метод высокочувствительный и требует гораздо меньшего времени обработки результатов. Ошибки в методе прямой спектрофотометрии на пластинках составляют 4–6 %.

Прямая количественная флуорометрия на пластинках. Непосредственное количественное определение на пластинках пятен флуоресцирующих соединений может проводиться как методом измерения флуоресценции, так и методом гашения флуоресценции, основанном на гашении флуоресценции вещества, предварительно нанесенного на сорбционный слой. Ошибки первого метода составляют около 3–5 %, второго – 5–8 %.

Количественная тонкослойная хроматография с использованием метода элюирования. Метод количественного переноса сорбента с анализируемым веществом с пластинки в приемник с последующим элюированием вещества довольно широко используется в ТСХ.

После окончания хроматографирования на пластинке и проявления пятен анализируемые пятна вместе с адсорбентом количественно переносят в приемник. Вещество вымывают из сорбента соответствующим растворителем и после центрифугирования количественно переносят в кювету для измерения.

В этом методе большое значение имеет чистота сорбента, так как примеси из сорбента могут перейти в измеряемый раствор и повлиять на результаты анализа. Определенное значение имеет качество сорбционных слоев на пластинке: слои должны быть однородными и плотными, без повреждений. Растворители также должны быть свободными от примесей.

После извлечения соединений их подвергают анализу. Чаще всего для этого используют спектрофотометрические, колориметрические и флуорометрические методы.

Комбинированное использование тонкослойной хроматографии в сочетании с другими методами. Хорошие результаты дает сочетание тонкослойной и колоночной хроматографии, так называемая пилот-техника. Благодаря скорости определения исследуемых компонентов, экономичности, наглядности тонкослойная хроматография может быть использована для предварительного подбора и оценки сорбентов элюирующих растворов – растворителей, а также для выбора условий работы с последующим их использованием в колоночной хроматографии.

Тонкослойная хроматография может быть использована в качестве дополнительного метода для оценки и идентификации хроматографических пиков, получающихся при газо-жидкостной хроматографии.

Значительный интерес представляет также техника идентификации различных хроматографических зон с точками кипения соединений при газовой хроматографии.

Интересные результаты дает сочетание тонкослойной хроматографии с электрофорезом. Этот метод применим также и в колоночной хроматографии.

2.5. Современные направления развития тонкослойной хроматографии

К современным направлениям развития тонкослойной хроматографии относится *высокоэффективная тонкослойная хроматография (ВЭ ТСХ)*. Основное ее отличие от тонкослойной хроматографии состоит в применении пластинок, частицы сорбента которых имеют меньший диаметр и более узкое их распределение по размерам (рис. 16).

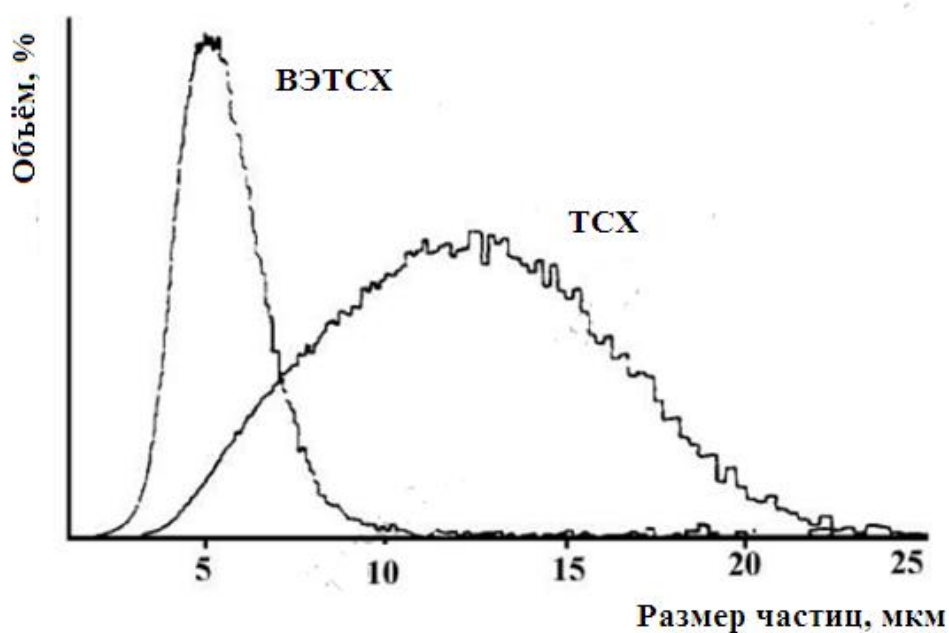


Рис. 16. Распределение частиц по размерам сорбента (массовое распределение).
Силикагель 60 для ТСХ и ВЭТСХ

Существует определенное соотношение между средним размером частиц сорбента, длиной хроматографируемой зоны и ее емкостью. При использовании пластинок для ВЭТСХ с размером зерен 3–5 мкм зоны получаются более компактными, а длина миграции фронта растворителя обычно не превышает 5–6 см. Поскольку слой сорбента в ВЭТСХ имеет

меньшую толщину, и его поверхность более однородна, чем у пластинок ТСХ, то в ВЭТСХ высота теоретической тарелки снизилась со 100 до 2 мкм. Также снизился фоновый шум и менее трудоемкой стала калибровка.

Повышенная эффективность слоя новых пластинок ведет к меньшему размыванию хроматографических зон и, соответственно, к повышению селективности разделения и чувствительности обнаружения разделяемых веществ.

Стоит отметить, что на мелкозернистых слоях разделение происходит медленнее, что ведет к уменьшению длины пробега элюента. Следовательно, высокоэффективную тонкослойную хроматографию предпочтительнее применять при сложных разделениях, когда временной фактор не является важным. Как правило, высокоэффективная ТСХ эквивалентна хроматографической колонке эффективностью до 20–50 тыс. теоретических тарелок по числу возможных анализируемых компонентов.

В табл. 7 приведен сравнительный анализ пластинок для тонкослойной хроматографии и высокоэффективной тонкослойной хроматографии.

Таблица 7

Сравнение пластинок для ТСХ и ВЭТСХ

Параметр пластинки	Пластинки для ТСХ	Пластинки для ВЭТСХ
Размер пластинки, см	20×20, 15×15	10×10
Наносимый объем образца, мкл	1–5	0,1–0,2
Диаметр пятна на старте, мм	3–6	Не более 1
Диаметр разделившихся пятен, мм	6–15	2–5
Путь, проходимый фронтом растворителя (Z_f), см	10–15	3–6
Пределы обнаружения: – по поглощению света, нг – по флуоресценции, нг	~1 ~0,006	0,1 0,001

Следующее современное направление тонкослойной хроматографии – это *тонкослойная хроматография с управляемой газовой фазой (ТСХ – УГФ)*.

Суть метода в направленном изменении в динамической режиме физико-химических свойств хроматографической системы в результате контакта пластинки, содержащей разделяемые компоненты, с газовой фазой определенного химического состава, создаваемой в хроматографической камере. Газовая фаза получается путем его пропускания через хроматографическую камеру либо при образовании паров растворителя, помещенного в другое отделение камеры. Составом газовой фазы можно

управлять, что дает возможность программировать состав и свойства подвижной фазы непосредственно во время разделения.

Развитие тонкослойной хроматографии позволило применять на практике новые способы элюирования, что, в свою очередь, привело к разработке новых инструментальных методов ТСХ. Одним из таких методов является *проточная тонкослойная хроматография* (ПТСХ). В этом методе пробу вводят в поток элюента, находящегося в равновесии с сорбентом. Компоненты пробы двигаются от точки ввода в зоне испарения элюента, пересекают зону детектирования вещества денситометром и сканируют «сами себя». Пластинки в ПТСХ можно использовать многократно.

Известна также тонкослойная хроматография под давлением, реализованная в различном аппаратном направлении.

Таким образом, можно обобщить основные тенденции развития тонкослойной хроматографии.

1. Новые способы и методические приемы проведения анализа:

- автоматическое многократное (техника AMD);
- автоматическое многомерное;
- автоматическое градиентное – линейное и кольцевое (pH, полярность подвижных фаз, температура);
- автоматическое непрерывное проточное;
- под давлением;
- центростремительное (антикруговое);
- круговое;
- с концентрированием зон;
- изменение конфигурации пластин;
- ТСХ с управляемой газовой фазой (ТСХ-УГФ).

2. Новые сорбенты и пластинки для ТСХ:

- уменьшение размера зерна и улучшение его однородности;
- модификация сорбентов путем ковалентной прививки гидрофобных групп и функциональных хиральных групп;
- модификация импрегнированием (соли металлов, органические реагенты, поверхностно-активные вещества);
- динамическая модификация в подвижных фазах, содержащих ПАВ;
- новые сорбенты на основе целлюлозы и ее производных, ионообменников;
- смешанные сорбенты;
- пластинки с несколькими зонами (преадасорбционными, концентрирующими, прямыми и обращенными фазами);
- расширение круга связующих материалов.

3. Совершенствование техники работы:

- применение автоматических устройств для повышения точности отбора и нанесения проб;
- использование специальных хроматографических камер для работы под давлением и в потоке;
- использование камер, позволяющих сочетать тонкослойную хроматографию с электрофорезом, твердофазной или сверхкритической флюидной экстракцией, ВЭЖХ;
- использование безфитильного способа подачи элюента;
- применение пульверизаторов со сменной форсункой;
- хроматографирование в расплавах органических соединений при температуре 50–200 °С;
- использование спецприемов для элюирования пятен с хроматограммы;
- ксерокопирование, фотографирование пятен.

4. Автоматизация и расширение способов детектирования.

а) денситометрия:

- отражательная адсорбционная (УФ/вид);
- флуоресцентная спектроскопия;
- ИК-, КР-(SERRS)- спектроскопия;
- рентгеновская спектроскопия;
- фотоакустическая фспектроскопия;
- масс-спектрометрия;

б) спектрометрия и флуориметрия (для прозрачных подложек);

в) электрохимическое детектирование.

Вопросы для самоконтроля

1. Дайте определение тонкослойной хроматографии.
2. Какие основные виды тонкослойной хроматографии существуют?
3. Назовите основные механизмы разделения в ТСХ.
4. Какими преимуществами и недостатками обладает тонкослойная хроматография перед бумажной?
5. Объясните принцип действия тонкослойной хроматографии.
6. Какие основные этапы подготовки тонкослойных пластинок существуют?
7. Для чего необходимо прекондиционирование пластинок?
8. Для чего используют импрегнирование пластинок?
9. В чем отличие ручного способа нанесения образца на пластинку от автоматического?

10. Каким образом осуществляется техника эксперимента в ТСХ?
11. Какие методы используют для количественной оценки вещества в хроматографических зонах?
12. Какие основные факторы влияют на процесс разделения компонентов в ТСХ?
13. Каковы основные требования к сорбентам в ТСХ?
14. Назовите основные способы хроматографирования в ТСХ.
15. Назовите основные типы элюирования в ТСХ. В чем отличие кругового элюирования от линейного?

3. Подвижные фазы для тонкослойной хроматографии

К подвижным фазам в тонкослойной хроматографии относятся водно-органические растворители и мицеллярные растворы ПАВ (поверхностно-активных веществ).

К растворителям предъявляются следующие требования. Растворители должны:

- растворять образцы;
- обладать определенной элюирующей силой;
- легко испаряться после завершения процесса;
- переносить пробу в область с заданной величиной R_f ;
- быть нетоксичными, легко утилизируемыми и недорогими;
- полярность их компонентов не должна сильно различаться во избежание расслоения и образования нежелательного фронта на сорбенте.

Основной параметр, определяющий способность подвижной фазы перемещать вещества по сорбенту в тонкослойной хроматографии, – это сила растворителя. Так, например, слабый растворитель не способен сдвинуть зону вещества с точки нанесения, а сильный, напротив, смещает зону вещества практически с линией фронта. Подходящий элюент сдвигает вещество примерно на $1/3$ от общего расстояния, преодоленного элюентом. В случае силикагеля более сильными являются полярные растворители, а более слабыми – неполярные. Эта зависимость отличается для различных сорбентов.

Количественное описание силы растворителя дается параметром E° , который определяют как адсорбционную энергию растворителя на единицу стандартного сорбента. На практике расстояние, проходимое веществом, не может быть рассчитано на основе этого параметра, однако представляется возможным дать относительную оценку: при большем значении E° для элюента вещество проходит больший путь, и наоборот. Для обращенных фаз ситуация прямо противоположная: расстояние миграции зоны вещества также связано с его полярностью. Более полярные вещества сильнее взаимодействуют с силикагелем и движутся медленнее, а неполярные проявляют более слабое взаимодействие и мигрируют дальше.

Определение подходящего элюента производят экспериментальным путем. Так, например, образец может быть отхроматографирован в этилацетате. Если сила этилацетата слишком велика, необходимо перейти к менее полярному растворителю или использовать смесь этилацетата с менее полярным растворителем (например, гексаном). В случае низкой силы растворителя можно провести эксперимент с более полярным растворителем или повысить силу растворителя, например добавлением метанола.

В тонкослойной хроматографии большую роль играет качество используемых растворителей. Рекомендуется применять растворители по крайней мере аналитической чистоты, так как содержащиеся в элюенте примеси могут взаимодействовать с сорбентом или растворённым веществом. Некоторые растворители при хранении подвергаются окислению. Также при хранении растворителей в металлических емкостях они могут разлагаться или вступать в иные реакции. Также большой вклад в проблему воспроизводимости вносит и содержащаяся в растворителе вода, количество которой также может изменяться со временем, что может привести к изменению силы растворителя. Так, например, кроме иных примесей, хлороформ может содержать этанол в качестве стабилизатора, и даже малые его количества могут существенно повлиять на результат хроматографии.

В тонкослойной хроматографии необходимо также учитывать некоторые физические свойства растворителей: вязкость, поверхностное натяжение и давление паров. Так, например, если поверхностное натяжение подвижной фазы невелико, а вязкость велика, то скорость ее передвижения в неподвижной фазе также мала. В результате увеличивается время удерживания, и происходит размывание хроматографических зон.

Отношение поверхностного натяжения к вязкости называется коэффициентом проницаемости слоя. Он показывает, какая площадь сорбента (мм^2) смачивается подвижной фазой за 1 с. Для его нормализации коэффициент нормализации слоя относят к расстоянию миграции слоя, равному 5 см. Чем выше коэффициент проницаемости слоя, тем меньше времени необходимо для анализа.

По мере увеличения расстояния, пройденного подвижной фазой, наблюдается уменьшение скорости перемещения потока. Если расстояние выше 10 см, то ухудшаются разделение и воспроизводимость результатов анализа. Все эти факторы необходимо учитывать при выборе подвижной фазы для тонкослойной хроматографии.

3.1. Подвижные фазы на основе органических растворителей

В тонкослойной хроматографии применяют и чистые растворители, и их смеси. Необходимо уметь правильно подобрать правильный растворитель, так как от этого зависит правильность результатов анализа. Для ориентировочной оценки хроматографической системы в целом и выбора оптимальных условий анализа используют треугольную диаграмму Шталя (рис. 17).

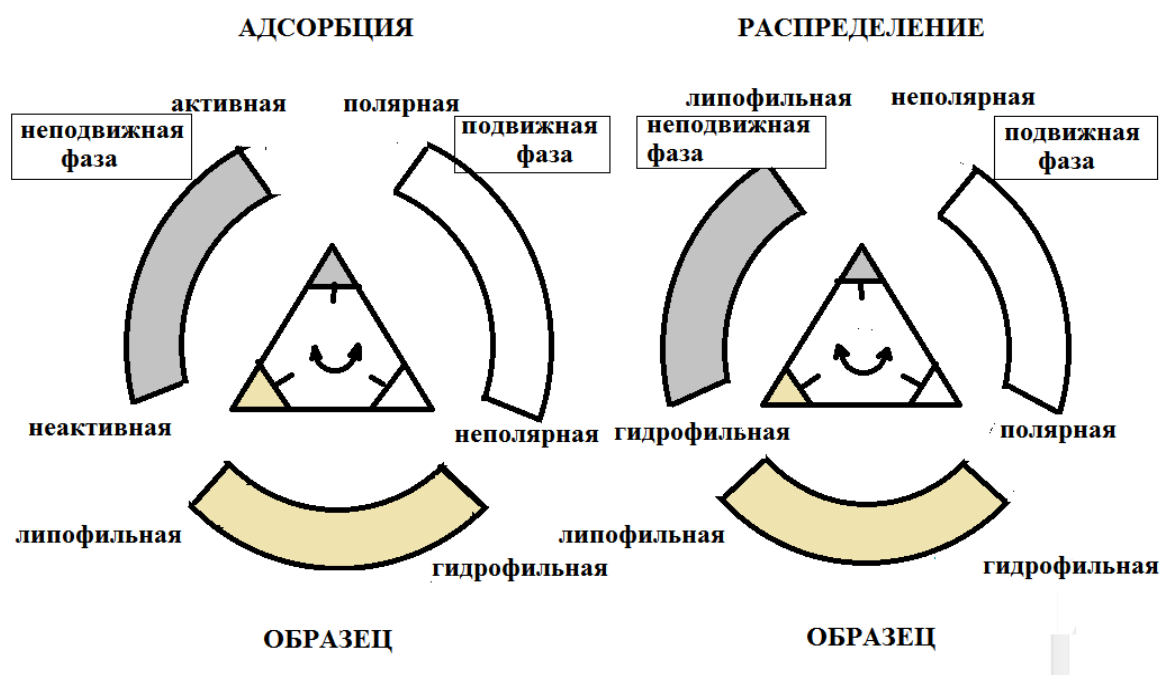


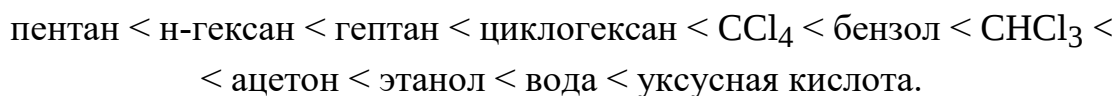
Рис. 17. Треугольная диаграмма по Шталю

С помощью этой диаграммы возможно провести ориентировочную оценку хроматографической системы и выбрать оптимальные условия анализа. Для этого необходимо оценить, в первую очередь, полярность, растворимость и устойчивости во времени анализируемых веществ.

Один из углов вращающегося треугольника показывает эти особенности (гидрофильность или липофильность). Два других угла треугольника указывают на характеристики необходимых неподвижных и подвижных фаз. Например, в адсорбционной тонкослойной хроматографии, в случае, если образец растворим в органическом растворителе (бензол, хлороформ, гексан), применяют нормально-фазовую хроматографию на активном (полярном) сорбенте в неполярной подвижной фазе. В случае же растворимости образца в полярном растворителе (вода, спирты, кислоты) применяют обращенно-фазовую хроматографию на неполярном сорбенте в полярном растворителе. Такие же закономерности применимы и для распределительной хроматографии.

Как было показано ранее, растворители можно разделить на сильные и слабые. Слабые органические растворители слабо сорбируются неподвижной фазой, поэтому коэффициенты распределения сорбируемых веществ между подвижной и неподвижной фазами высокие. Сильные же растворители сорбируются сильно, и коэффициенты распределения сорбируемых веществ низкие. Чем выше растворимость в растворителе анализируемого вещества и чем сильнее взаимодействие между ними, тем растворитель сильнее.

Последовательность расположения подвижных фаз в элюотропном ряду зависит от полярности сорбента. В нормально-фазовой хроматографии с увеличением полярности растворителя его элюирующая сила возрастает, в обращенно-фазовой – снижается, а в жидкостной адсорбционной хроматографии элюотропный ряд Снайдера выглядит таким образом:



В случае обращенно-фазовой хроматографии на силикагеле этот ряд имеет следующий вид:



В табл. 8 приведены физические свойства органических растворителей, расположенных в порядке увеличения E^0 для слоев сорбентов на основе силикагеля.

При сравнении двух сорбентов – силикагеля и оксида алюминия, разделение на которых происходит по адсорбционному механизму, мы видим некоторые различия в элюирующей силе растворителей.

Зная элюирующую силу растворителей для одного сорбента, можно рассчитать элюирующую силу другого сорбента по формуле:

$$\varepsilon^0(\text{SiO}_2) = 0,77 \varepsilon^0(\text{Al}_2\text{O}_3). \quad (9)$$

Таблица 8

Физические свойства органических растворителей в порядке увеличения элюирующей силы на силикагеле

Вяз- кость, η , сПз	Поверх- ностное натя- жение, γ , дин/см	Кэффи- циент скорости k^* , мм ² /с	Подвижная фаза	Диэлек- трическая проницае- мость, ε (при 20 °С)	Давление пара, мбар (при 20 °С)	Темпе- ратура кипе- ния, °С
1	2	3	4	5	6	7
0,40	20,4	9,2	н-Гептан	1,97	36	98,4
0,31	18,4	12,5	н-Гексан	1,89	120	68,9
0,24	16,0	10,6	н-Пентан	1,84	430	36,1
1,84	255	5,4	Циклогексан	2,02	78	80,7
0,94	27,0	6,1	Четыреххлористый углерод	2,24	90	76,5
0,57	–	8,1	Трихлорэтилен	3,40	58	87

1	2	3	4	5	6	7
0,57	28,5	8,3	Толуол	2,40	22	110,6
0,63	28,9	8,6	Бензол	2,28	75	80,1
0,56	27,1	9,0	Хлороформ	4,81	158	61,7
0,42	26,5	10,1	Дихлорметан	9,08	340	40
0,35	32,0	11,0	Диизопропиловый эфир	3,88	135	68,0
2,82	20,7	1,0	трет-Бутанол	12,2	31	82,3
0,65	36,8	–	Нитрометан	35,9	27	101,0
0,36	29,3	12,6	Ацетонитрил	37,5	73	81,6
2,80	24,6	–	2-Бутанол	17,80	–	117,3
2,27	21,7	2,1	2-Пропанол	18,3	32	82,4
0,45	23,9	9,2	Этилацетат	6,00	73	77,1
2,15	23,8	2,3	1-Пропанол	20,1	14	94,4
0,43	24,6	11,1	Метилэтилкетон	18,5	79	79,6
0,32	23,7	12,7	Ацетон	20,70	175	52,6
1,16	22,8	3,4	Этанол	24,30	44	78,5
1,21	33,7	5,2	1,4-Диоксан	2,21	31	101,6
0,47	–	10,9	ТГФ	7,40	150	67,0
0,58	22,6	5,6	Метанол	32,63	96	65,0
0,97	38,0	6,3	Пиридин	12,30	15	115,5
0,95	72,7	–	Вода	80,30	18	100,0

В табл. 9 приведены сравнительные данные элюотропных рядов для силикагеля и оксида алюминия в порядке возрастания элюирующей силы.

Таблица 9

Сравнение элюотропных рядов для силикагеля и оксида алюминия
в порядке возрастания элюирующей силы

Силикагель	Оксид алюминия
н-гексан	Пентан
Пентан	н-Гексан
Циклогексан	Циклогексан
Четыреххлористый углерод	Четыреххлористый углерод
Толуол	Толуол
Хлороформ	Диэтиловый эфир
Дихлорметан	Хлороформ
Уксусная кислота	Ацетон
Ацетон	Уксусная кислота
Этанол	Пиридин
Метанол	Этанол
Пиридин	Метанол
Вода	Вода

По сравнению с оксидом алюминия и силикагелем, полиамидные слои более гидрофобны и проявляют как адсорбционные, так и распределительные свойства. Поэтому элюотропные свойства на полиамидах несколько отличны от элюотропных свойств силикагелей и оксида алюминия. Для полиамидных сорбентов наблюдается следующий элюотропный ряд (в порядке возрастания): вода → метанол → этанол → пропанол → н-бутанол → метилэтилкетон → ацетон → ацетонитрил → формамид → диметилформамид → разбавленный водный раствор NaOH.

Элюотропные ряды на гидрофобной поверхности обращенных фаз обратны рядам на гидрофильной поверхности силикагеля, что можно объяснить гидрофобными взаимодействиями, которые и определяют порядок изменения диэлектрической проницаемости растворителей: вода → метанол → ацетонитрил → этанол → метилэтилкетон → ацетон → н-пропанол → тетрагидрофуран.

В противоположность элюотропным рядам, Снайдер предложил использовать сравнение растворителей на основе различия силы растворителя. Он разделил хроматографические растворители на 8 групп селективности, которые находятся внутри треугольника, а углы обозначают протоно-акцепторные свойства, протоно-донорные свойства и дипольные свойства (рис. 18).

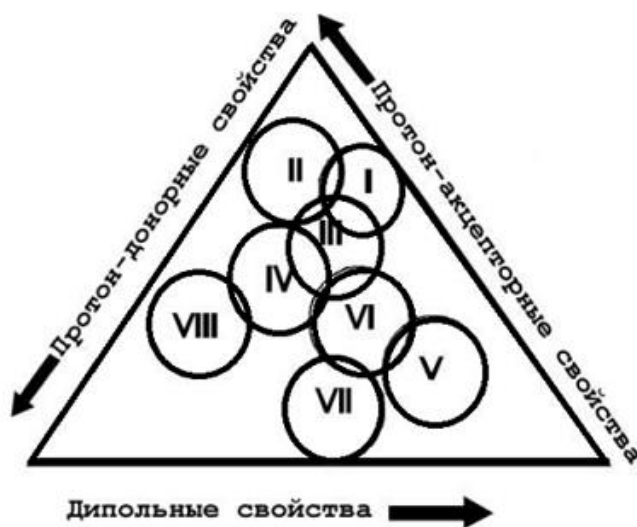


Рис. 18. Треугольник селективности растворителя Снайдера

Каждому растворителю соответствует определенная величина силы растворителя на основе их хроматографических характеристик.

В табл. 10 приведены значения силы растворителя для нормальных неподвижных фаз.

Стоит отметить, что в нормально-фазовой и обращенно-фазовой тонко-слойных хроматографиях применяют небольшое количество растворителей.

Значения силы растворителя для нормальных неподвижных фаз

Группа	Растворитель	Сила растворителя (S_i)
I	н-Гексан	0
	н-Бутиловый эфир	2,1
	Изопропиловый эфир	2,4
	Метилтретбутиловый эфир	2,7
	Диэтиловый эфир	2,8
II	н-Бутанол	3,9
	2-Пропанол	3,9
	1-Пропанол	4,0
	Этанол	4,3
	Метанол	5,1
III	Тетрагидрофуран	4,0
	Пиридин	5,3
	Метоксиэтанол	5,5
	Диметилформамид	6,4
IV	Ледяная уксусная кислота	6,0
	Формамид	9,6
V	Дихлорметан	3,1
	1,2-Дихлорэтан	3,5
VI	Этилацетат	4,4
	Метилэтилкетон	4,7
	Диоксан	4,8
	Ацетон	5,1
	Ацетонитрил	5,8
VII	Толуол	2,4
	Бензол	2,7
	Нитробензол	4,4
VIII	Хлороформ	4,1
	Нитрометан	6,0
	Вода	10,2

В табл. 11 приведены значения силы растворителя для обращенных фаз.

Значения силы растворителя для обращенных фаз

Группа	Растворитель	Сила растворителя (S_i)
1	2	3
I	Вода	0
	Метанол	2,6
	Этанол	3,9
	2-Пропанол	4,2
II	Тетрагидрофуран	4,5
III	Ацетонитрил	3,2

Как правило, эти растворители не используют в чистом виде, их смешивают и используют в виде многокомпонентных смесей. Силу смеси растворителей S_T рассчитывают из суммы силы растворителей индивидуальных компонентов S_i .

3.2. Подвижные фазы на основе поверхностно-активных веществ

Органические растворители, несмотря на их удобство применения в качестве подвижных фаз в тонкослойной хроматографии, обладают и некоторыми недостатками. К ним относятся резкий запах, легкая воспламеняемость, легкая летучесть, агрессивность. Стоит также отметить, что органические растворители нелегко подвергнуть утилизации.

Помимо органических растворителей, в практике тонкослойной хроматографии успешно себя зарекомендовали поверхностно-активные растворители. Они обладают такими достоинствами, как низкая токсичность, невоспламеняемость, биоразлагаемость и невысокая стоимость.

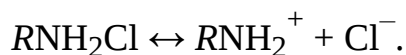
По химической природе ПАВ (поверхностно-активные вещества) классифицируют на следующие группы:

- анионоактивные ПАВ;
- катионоактивные ПАВ;
- амфотерные;
- неионогенные.

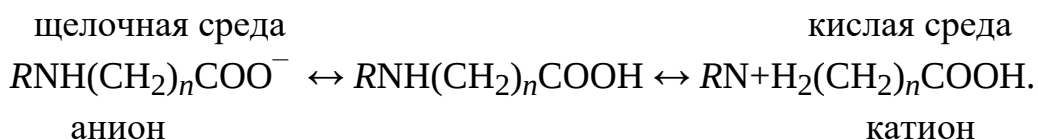
Анионоактивные ПАВ диссоциируют в воде с образованием отрицательно заряженных поверхностно-активных анионов:



Катионоактивные диссоциируют в воде с образованием положительно заряженных поверхностно-активных анионов:



Амфотерные ПАВ содержат две группы, одна носит основной характер, другая – кислый, например карбоксильную и аминную группы:



Неионогенные ПАВ при растворении в воде не образуют ионов.

В табл. 12 приведены основные представители ионогенных и неионогенных ПАВ.

Важной особенностью поверхностно-активных веществ является способность образовывать в растворе мицеллы – ансамбль молекул (ионов) коллоидного размера.

Таблица 12

Основные представители ионогенных и неионогенных ПАВ

№ п/п	Класс ПАВ	Неионогенные и ионогенные ПАВ
1	Анионоактивные	Соли карбоновых кислот Алкилсульфаты Алкилсульфонаты Алкиларилсульфонаты Фосфаты Тиофосфаты
2	Катионоактивные	Соли первичных, вторичных и третичных алифатических аминов и четырехзамещенных аммониевых оснований Соли гетероциклических аминов
3	Неионогенные	Оксиэтилированные жирные кислоты Оксиэтилированные жирные спирты Оксиэтилированные алкилфенолы Продукты оксиэтилирования других соединений с подвижным атомом водорода – аминов, амидов, меркаптанов и др.

В общем случае при мицеллообразовании при определенной для каждого ПАВ критической концентрации отдельные молекулы (ионы) ПАВ диссоциируют с образованием мицеллярных агрегатов. Внутренняя часть мицелл содержит углеводородный радикал, а полярные группы обращены в водную фазу (рис. 19).

При образовании мицелл происходит резкое изменение физико-химических свойств растворов ПАВ. Считается, что вид и форма мицелл могут быть сферической формы (мицелла Гартли), а также цилиндрические и пластинчатые мицеллы (мицелла Мак-Бэна).

Способность поверхностно-активных веществ к мицеллообразованию зависит от соотношения гидрофильных свойств молекул, обусловленных природой и качеством полярных групп, и гидрофобных групп, связанных с длиной углеводородного радикала.

Среднее число ионов (молекул) ПАВ, приходящееся на одну мицеллу, называется *числом агрегации*. Для сферических мицелл в отсутствие электролита оно составляет от 30 до 150 единиц.

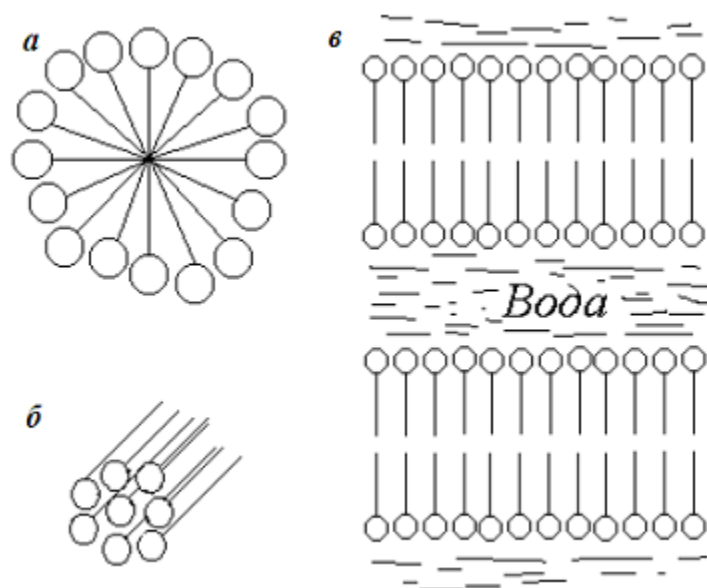


Рис. 19. Строение мицелл: а – сферическая (мицелла Гарти); б – цилиндрическая; в – пластинчатая (мицелла Мак-Бэна)

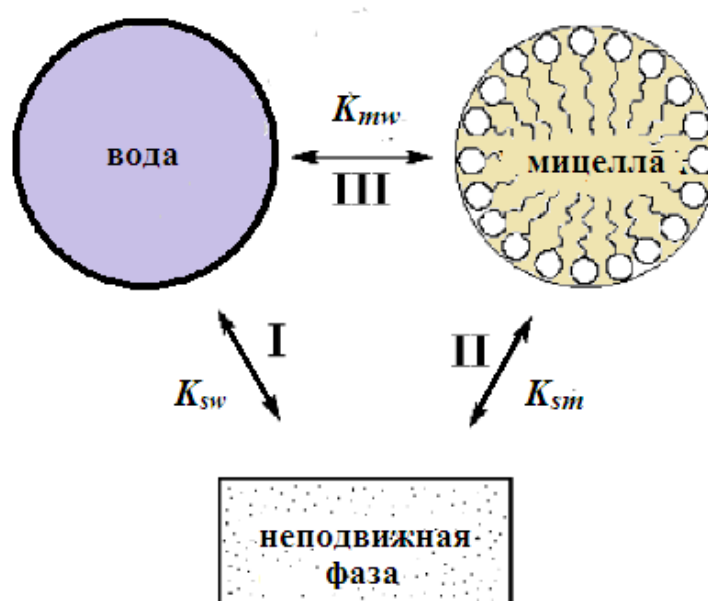


Рис. 20. Схематическое представление «трехфазной» модели мицеллярной тонкослойной хроматографии

За счет диссоциации полярных групп поверхность ионогенных ПАВ электрически заряжена. За счет электростатического притяжения около 60–70 % противоионов удерживаются у поверхности мицеллы, а остальные находятся в прилегающем слое воды, образуя диффузный электрический слой.

В целом мицеллу можно рассматривать как своеобразный крупный многозарядный ион.

В зависимости от концентрации ПАВ в подвижной фазе различают два вида тонкослойной хроматографии:

- ион-парная тонкослойная хроматография;
- мицеллярная тонкослойная хроматография.

В случае ион-парной хроматографии концентрация ПАВ в водной подвижной фазе ниже критической концентрации мицеллообразования или в ее составе находится значительное количество органического растворителя, препятствующего образованию мицелл. В этом случае ПАВ играют роль противоиона.

Во втором варианте тонкослойной хроматографии концентрация ПАВ в растворе превышает критическую концентрацию мицеллообразования, и в подвижной фазе находятся мицеллы.

На рис. 20 приведена схема «трехфазной» мицеллярной хроматографии

Для количественной оценки распределения реагентов в мицеллярных растворах используют уравнение:

$$\frac{R_f}{1 - R_f} = \frac{V_{\text{пф}}}{V_{\text{нф}}} \left[\frac{(K_{mw} - 1)V}{K_{sw}} \right] \cdot C_m + \frac{V_{pf}}{V_{nf}} \cdot \frac{1}{K_{sw}}, \quad (10)$$

где $V_{\text{нф}}$ – объём неподвижной фазы; $V_{\text{пф}}$ – объём подвижной фазы; $V_{\text{нф}}/V_{\text{пф}}$ – «фазовый отношение»; V – парциальный удельный объём, мл/г; C_m – коцентрация мицелл в подвижной фазе: $C_m = C - \text{ККМ}$, где C – полная концентрация поверхностно-активного вещества в подвижной фазе; K_{mw} – коэффициент распределения между мицеллярной подвижной фазой и водой; K_{sw} – коэффициент распределения между неподвижной фазой и водой.

В табл. 13 приведены коэффициенты распределения K_{mw} и K_{sw} для индикаторов ряда флуоресцеина и сульфоталеинов в мицеллы додецилсульфата натрия.

Таблица 13

Коэффициенты распределения K_{mw} и K_{sw} для индикаторов ряда флуоресцеина и сульфоталеинов в мицеллы додецилсульфата натрия

Реагент	K_{mw}	K_{sw}
Флуоресцеин	13,1	0,30
Эозин	105	3,6
Эритрозин	431	11,7
Феноловый красный	33,2	0,50
Бромфеноловый красный	48,1	0,80
Бромфеноловый синий	108	3,1
Крезоловый красный	119	2,6
Тимоловый синий	681	18,6
Бромтимоловый синий	710	18,5

Вопросы для самоконтроля

1. Что представляет из себя мицелла?
2. Что представляет из себя подвижная фаза в тонкослойной хроматографии?
3. Какие основные требования к растворителям предъявляются в ТСХ?
4. В чем различие слабых растворителей от сильных?
5. Какой параметр количественно описывает силу растворителя?
6. Что представляет из себя треугольная диаграмма Штала?
7. От чего может зависеть последовательность расположения подвижных фаз в элюотропном ряду?
8. Какие основные характеристики подвижных фаз на основе ПАВ?
9. Что такое число агрегации?
10. Назовите основные недостатки органических подвижных фаз.

4. Тонкослойная хроматография фурановых соединений в трансформаторном масле

На промышленных предприятиях эксплуатируется большое количество силового маслonaполненного оборудования, аварии которых, как правило, приводят к большим экономическим потерям. Основная особенность силовых трансформаторов заключается в том, что срок их безаварийной работы в большей степени определяется состоянием бумажно-масляной изоляции в процессе её естественного старения, а также под воздействием различных внешних факторов. Повреждаемость трансформаторного оборудования приводит к повышению расходов на его текущий ремонт, увеличивает вероятность аварийного выхода из строя и требует проведения профилактических мероприятий.

Известно, что наиболее нагруженным масляным каналом является первый канал между обмоткой и ближайшим к ней барьером, в котором возникает электрический пробой изоляции, что приводит к повреждению электрокартона. В зависимости от интенсивности этого пробоя могут образовываться электрические разряды вдоль поверхности электрокартона или в его толще. В результате этого процесса возможно появление сильно разветвленного «ползущего разряда» по поверхности картона, приводящего к пробоям изоляции.

Обычно тестирование системы износа трансформаторного оборудования заключается в его визуальном осмотре, измерении мощности обмотки, сопротивления винтовых выводов, изоляции сердечника, напряжении пробоя изоляции, тангенса диэлектрических потерь, инфракрасной термографии, анализе растворенных в трансформаторном масле газов, определении физико-химических характеристик, контроль влагосодержания, антиокислительной присадки и фурановых соединений, образующихся в результате деструкции бумажной изоляции.

В силовых трансформаторах масло выполняет изолирующую и охлаждающую функции. Кроме того, трансформаторное масло способствует гашению электрической дуги, а также является информационной средой, в которой сконцентрированы сведения о различных физико-химических процессах, происходящих в силовых трансформаторах.

Минеральное трансформаторное масло представляет собой очищенную нефтяную фракцию, выкипающую в интервале температур от 300 до 400 °С. Она состоит из парафиновых, ароматических и нафтенных углеводородов, а также кислородных, сернистых и азотсодержащих веществ.

Основные физико-химические характеристики трансформаторного масла, контролируемые в процессе эксплуатации, условно разбиваются на две группы.

К первой группе физико-химических характеристик относятся: пробивное напряжение, тангенс угла диэлектрических потерь, кислотное число, содержание водорастворимых кислот и щелочей, температура вспышки, содержание механических примесей, цвет масла, оптическая плотность, коэффициент поверхностного натяжения, температура застывания, стабильность к окислению, содержание серы и растворимого шлама.

Ко второй группе физико-химических характеристик относятся: концентрация легких газов, содержание воды, общее газосодержание, концентрация антиокислительной присадки, содержание фурановых производных. В этом случае, как правило, определяют концентрацию фурфурола, гидроксиметилфурана, фурфурилового спирта, ацетилфурана и метилэтилфурана. На начальных стадиях старения изоляции скорость образования фурановых производных является небольшой и при достижении предельного износа существенно увеличивается. Фурановые производные являются неустойчивым веществом и быстро разлагаются под действием температур и кислой среды. Наиболее устойчивым соединением является фурфурол, концентрация которого используется в основном для оценки состояния изоляции.

Предельными значениями концентрации фурановых соединений в трансформаторном масле в России является величина от 10 до 15 мг/кг.

В процессе эксплуатации трансформаторное масло подвергается воздействию кислорода, влаги, электрических и магнитных полей, высокой температуры, что приводит к деструкции, сопровождающейся старением твердой изоляции, которая состоит из материалов, изготовленных на основе целлюлозы. Бумажную изоляцию обмотки силовых трансформаторов разрушают низкомолекулярные кислоты, перекиси, соли металлов, осадки при каталитическом воздействии высокой температуры. При этом образуются фурановые производные, которые являются индикаторными веществами, характеризующими старение целлюлозной изоляции.

В процессе эксплуатации силового трансформатора целлюлозная изоляция обмоток претерпевает деградацию, обусловленную развитием процессов деструкции и дегидратации, сопровождающихся ухудшением ее физико-химических свойств. Это проявляется в снижении механической прочности, окислении и образовании пор, хемосорбции кислых продуктов, образующихся в процессе старения трансформаторного масла, а также соединений металлов переменной валентности.

Из-за сложного взаимодействия параллельных и последовательных химических процессов, приводящих к деградации, и большого количества влияющих факторов не представляется возможным прогнозировать степень

износа изоляции обмоток путем анализа воздействий эксплуатационных факторов. Следует также отметить, что электрическая прочность пропитанной маслом бумаги в результате ее старения существенно не изменяется, так как разрушенные участки целлюлозной изоляции немедленно заполняются маслом, и электрические показатели (сопротивление и тангенс угла диэлектрических потерь изоляции) существенно не изменяются и не могут служить индикаторами старения.

Оценка износа изоляции обмоток для каждого конкретного трансформатора должна включать непосредственный анализ физико-химического состояния целлюлозной изоляции и сопутствующих показателей, свидетельствующих о степени развития ее деградации. При этом необходимо иметь набор диагностических признаков, позволяющих объективно оценивать степень износа изоляции и принимать решение о возможности и целесообразности дальнейшей эксплуатации трансформатора.

Формирование набора диагностических признаков должно основываться на анализе физико-химических процессов, происходящих в целлюлозной изоляции под воздействием эксплуатационных факторов. Среди этих факторов можно выделить наиболее значимые в плане влияния их на скорость развития деградации: электрическое поле, температура, наличие воздуха (кислорода), наличие химически активных примесей (продуктов старения), наличие влаги.

К настоящему времени накоплен достаточно обширный фактический материал по влиянию на целлюлозу различных факторов. Это позволяет выделить основные физико-химические процессы, приводящие к деградации изоляции обмоток в процессе эксплуатации силовых трансформаторов:

- каталитический кислотный алкоголиз;
- термическая деструкция и дегидратация;
- гидролиз целлюлозной изоляции;
- окислительная деструкция при воздействии кислых продуктов старения масла и содержащихся в нем окислителей.

Существенное влияние на ускорение старения целлюлозной изоляции в среде жидкого диэлектрика оказывает электрическое поле. Оно усиливает воздействие практически всех физико-химических факторов, а также способствует адсорбции на поверхности целлюлозной изоляции продуктов старения трансформаторного масла и конструкционных материалов.

Воздействие электрического поля ускоряет и другой важный процесс деградации целлюлозы – каталитический кислотный алкоголиз при действии гидроксилсодержащих углеводов (спиртов) в присутствии

низкомолекулярных органических кислот и других продуктов, образующихся в масле в процессе старения. Высокая степень влияния этого процесса на деградацию изоляции обмоток обусловлена тем, что трансформаторное масло по своим физико-химическим характеристикам является лучшим пластификатором для целлюлозной изоляции, чем вода. Наличие в целлюлозной изоляции участков с сильным межмолекулярным взаимодействием, т. е. полностью «кристаллических», недоступных для масла областей, в общем случае составляет не более 20%, и с увеличением времени эксплуатации будет уменьшаться под действием электрического поля и других эксплуатационных факторов (температуры, наличия химически активных примесей и др.).

Гидролиз целлюлозной изоляции, протекающий параллельно с процессом кислотного алкоголиза, по сравнению с ним вносит существенно меньший вклад в общий процесс деградации. Это обусловлено достаточно низким содержанием влаги в изоляции трансформатора при нормальной его эксплуатации.

Важным фактором старения целлюлозной изоляции является ее термоллиз, вызванный повышенной температурой. Под воздействием высокой температуры (более 90 °C) в целлюлозной изоляции, помимо ускорения перечисленных выше процессов, активизируются также процессы термической деградации – деструкция и дегидратация в аморфных и мезоморфных областях с образованием фурфурола и фурановых соединений.

Наряду с указанными процессами деградации в процессе эксплуатации происходит окислительная деструкция целлюлозной изоляции при воздействии кислых продуктов старения масла и содержащихся в них окислителей. Этот процесс приводит к образованию в макромолекулах полимера окисленных (главным образом карбоксильных) групп и нарушениям в ее структуре. Разрушение структуры целлюлозной изоляции и образование окисленных групп приводит к хемосорбции низкомолекулярных продуктов деструкции, а также кислых продуктов старения масла, ионов меди и железа, образующихся при коррозии металлических компонентов трансформатора в процессе его эксплуатации. Данный процесс сопровождается выделением в масло оксида и диоксида углерода, а визуальным признаком каталитической термоокислительной деструкции целлюлозной изоляции обмоток является ее темно-коричневый цвет.

Рассмотренные процессы деградации целлюлозной изоляции обмоток (каталитический кислотный алкоголиз, термическая деструкция и дегидратация, гидролиз и окислительная деструкция) являются наиболее значимыми и приводят к снижению механической прочности бумаги и образованию воды.

Для оценки состояния бумажной изоляции обмоток предусмотрено два метода:

- по наличию фурановых соединений в масле;
- по степени полимеризации образцов изоляции.

Фурановые соединения являются продуктом деградации целлюлозы, концентрация их в трансформаторном масле может быть определена различными инструментальными методами и служит мерой деструкции изоляции силового трансформатора.

В настоящее время контроль за содержанием фурановых соединений в отработанном трансформаторном масле осуществляется с помощью газовой хроматографии или хромато-масс-спектрометрии, которые позволяют разделить анализируемые смеси на индивидуальные компоненты, выделить фурановые соединения и провести их идентификацию по библиотеке масс-спектров хромато-масс-спектрометра. Процедура эта длительная, требует дорогостоящей аппаратуры и высокой квалификации обслуживающего персонала.

Для оценки состояния бумажной изоляции обмоток в последнее время в энергосистемах получил распространение метод измерений фурановых соединений в масле в соответствии с РД 34.45-51.300-97 «Объем и нормы испытаний электрооборудования». Было установлено значение содержания фурановых производных, ограничивающее область нормального состояния оборудования. Однако следует отметить, что хотя деструкция бумаги сопровождается выделением в трансформаторное масло фурановых соединений, тем не менее они являются лабильными соединениями и могут разлагаться под действием кислой среды в сторону образования продуктов нефуранового ряда. При этом, как известно, при наличии в трансформаторе термосифонного фильтра, образующиеся фурановые соединения адсорбируются и распадаются из-за кислой среды на силикагеле. Лишь в случае наступления динамического равновесия между продуктами поглощения и продуктами выделения сорбентом, уже далеко продвинувшийся процесс разложения бумажной изоляции может начать проявляться в накоплении фурановых соединений в масле. На основе анализа результатов, полученных во ВНИИЭ при обследовании 244 силовых трансформаторов напряжением 110 кВ и выше, в табл. 13 приведены выборочные средние значения содержания фурановых соединений в масле в зависимости от срока эксплуатации.

Из таблицы видно, что нет определенной монотонной зависимости содержания фурановых соединений в масле от увеличения срока эксплуатации трансформаторов.

Таблица 13

Средние значения содержания фурановых соединений в трансформаторном масле

Срок эксплуатации, лет	Среднее значение содержания фурановых соединений в масле, % массы
0–5	0,00015
5–10	0,00018
10–15	0,00038
15–20	0,00026
20–25	0,00033
25–30	0,00045

В табл. 14 приведены результаты измерений содержания фурановых соединений в масле и степени полимеризации образцов витковой изоляции обмоток трансформаторов, выполненные во ВНИИЭ.

Таблица 14

Содержание фурановых соединений и степень полимеризации образцов витковой изоляции обмоток трансформаторов

Тип трансформатора	Содержание фурановых соединений в масле трансформатора, % массы	Степень полимеризации, <i>P</i>
ТДТН-10000/110 зав. № 64324	0,0006	198
ТДТН-15000/110 зав. № 61208	0,0005	303
ТРДЦН-80000/110 зав. № 1026479	0,0005	140
ТДНГУ-63000/110 зав. № 871684	0,0008	317

В таблице показано, что у всех трансформаторов имеет место сильное старение изоляции обмоток, а у трансформаторов зав. № 64324 и зав. № 1026479 полностью исчерпан ресурс бумажной изоляции (в соответствии с «Объем и нормы испытаний электрооборудования» ресурс бумажной изоляции считается исчерпанным при достижении степени полимеризации 250 ед.), однако содержание фурановых соединений находится в зоне допустимых значений (менее 0,0015 % массы). Это можно объяснить лабильностью фурановых соединений в процессе эксплуатации силовых трансформаторов. Отсутствие монотонности и значимых различий изменения содержания фурановых соединений от срока эксплуатации

трансформаторов указывает на случайную диагностическую ценность данного показателя и невозможность его использования для оценки степени старения изоляции обмоток.

Как известно, тепловое старение бумаги при отсутствии других внешних воздействий практически не меняет ее кратковременную электрическую прочность. Однако в реальных условиях эксплуатации одновременно с нагревом изоляции подвергается также воздействию механических усилий, особенно при коротких замыканиях. Поэтому снижение механической прочности бумаги в результате теплового старения приводит к механическому повреждению изоляции и уже, как следствие, к электрическому пробое.

Условия работы витковой и барьерной изоляции с точки зрения происходящих в них физико-химических процессов существенно различаются. При этом для барьерной изоляции наиболее характерным в процессе старения является кислотный алкоголиз, а для витковой, наряду с алкоголизом, усиливается деструкция в кристаллической части целлюлозы.

В настоящее время в эксплуатации еще находится достаточно много изготовленных в соответствии со старыми ГОСТ 11677-65 трансформаторов (наиболее часто повреждаются трансформаторы, разработанные до 1970 г., имеющие недостаточную электродинамическую стойкость к возросшим уровням токов короткого замыкания), на которых возможны существенные превышения значений допустимых для них токов короткого замыкания. Для таких трансформаторов имеет место фактор риска их повреждений вследствие возможного возникновения токов короткого замыкания, превышающих нормированные. Риск в этом случае представляет собой материальные и социальные потери от короткого замыкания.

В результате термоокислительного и гидролитического превращения целлюлозы в качестве продуктов частичной деструкции целлюлозной изоляции, как было показано ранее, образуются фурановые соединения. Схема этой деструкции представлена на рис. 21.

В результате действия влаги и высокой температуры происходит гидролиз целлюлозы. В результате этого гидролиза образуются молекулы глюкозы (I), которая находится в форме α -глюкопиранозы (II) и α -глюкофуранозы (III). При кислотном катализе находящихся в масле кислот Льюиса, муравьиной, уксусной и других кислот под действием высоких температур моносахариды (II) и (III) подвергаются дегидратации, при этом из шлюкофуранозы образуется фурфурол (IV).

Показано, что при гидролизе целлюлозы можно определить около 30 фурановых производных. При этом главными продуктами распада можно назвать 5-оксиметилфурфурол (V), фурфурол, метилфурфурол (VI), фурфуриловый спирт (VII).

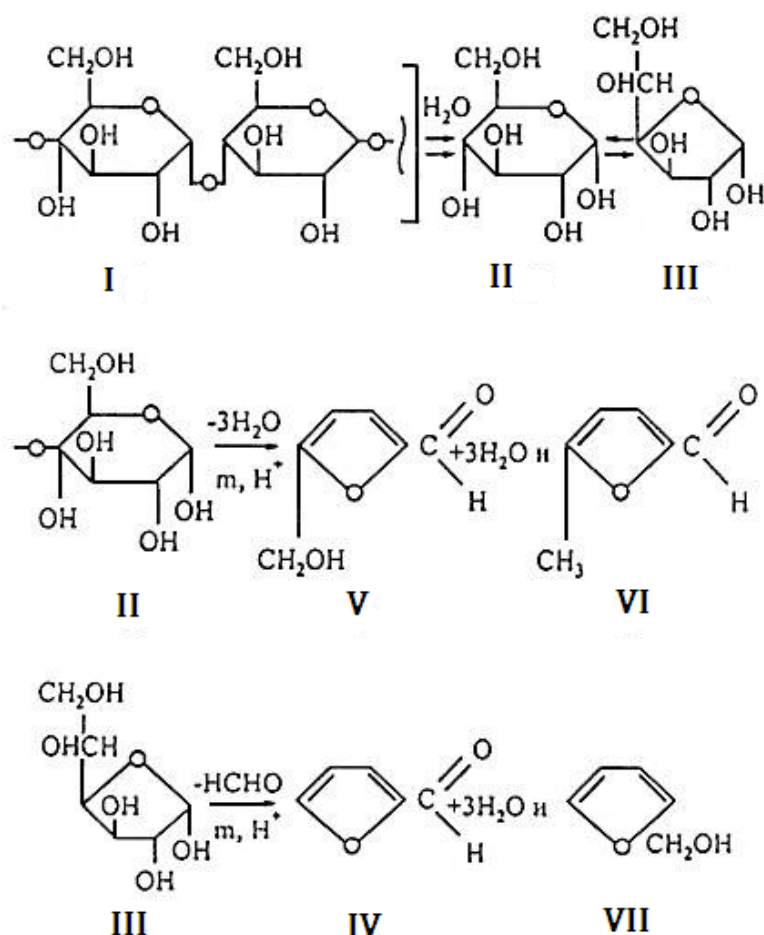


Рис. 21. Термоокислительное и гидролитическое превращение целлюлозы

Как правило, для анализа фурановых производных используется метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с капиллярной микроколонкой, обладающей хорошей селективностью разделения фурановых соединений. В то же время метод высокоэффективной жидкостной хроматографии является затратным, требует обслуживания высококвалифицированными специалистами и наличия малодоступных расходных материалов высокой степени очистки. Более широкое распространение для определения фурановых производных в трансформаторном масле получил метод газовой хроматографии с использованием как насадочных, так и капиллярных колонок.

Оценку остаточного ресурса твердой изоляции по наличию фурановых соединений в трансформаторном масле проводят также методом тонкослойной хроматографии, который характеризуется простотой проведения эксперимента и не требует высокой квалификации обслуживающего персонала.

Методика определения фурановых производных методом тонкослойной хроматографии служит для оценки остаточного ресурса

твёрдой изоляции силовых и измерительных трансформаторов без отключения оборудования.

Далее рассматриваются способ выделения фурановых производных из изоляционного масла и варианты определения данных соединений на пластинках с силикагелем по суммарному содержанию фурановых веществ и отдельных фракций.

Способ выделения фурановых производных из трансформаторного масла

Из образца отработанного трансформаторного масла темного цвета фурановые производные экстрагируют в делительные воронки гексаном, насыщенным ацетонитрилом, в соответствии с алгоритмом, приведенным на рис. 22.

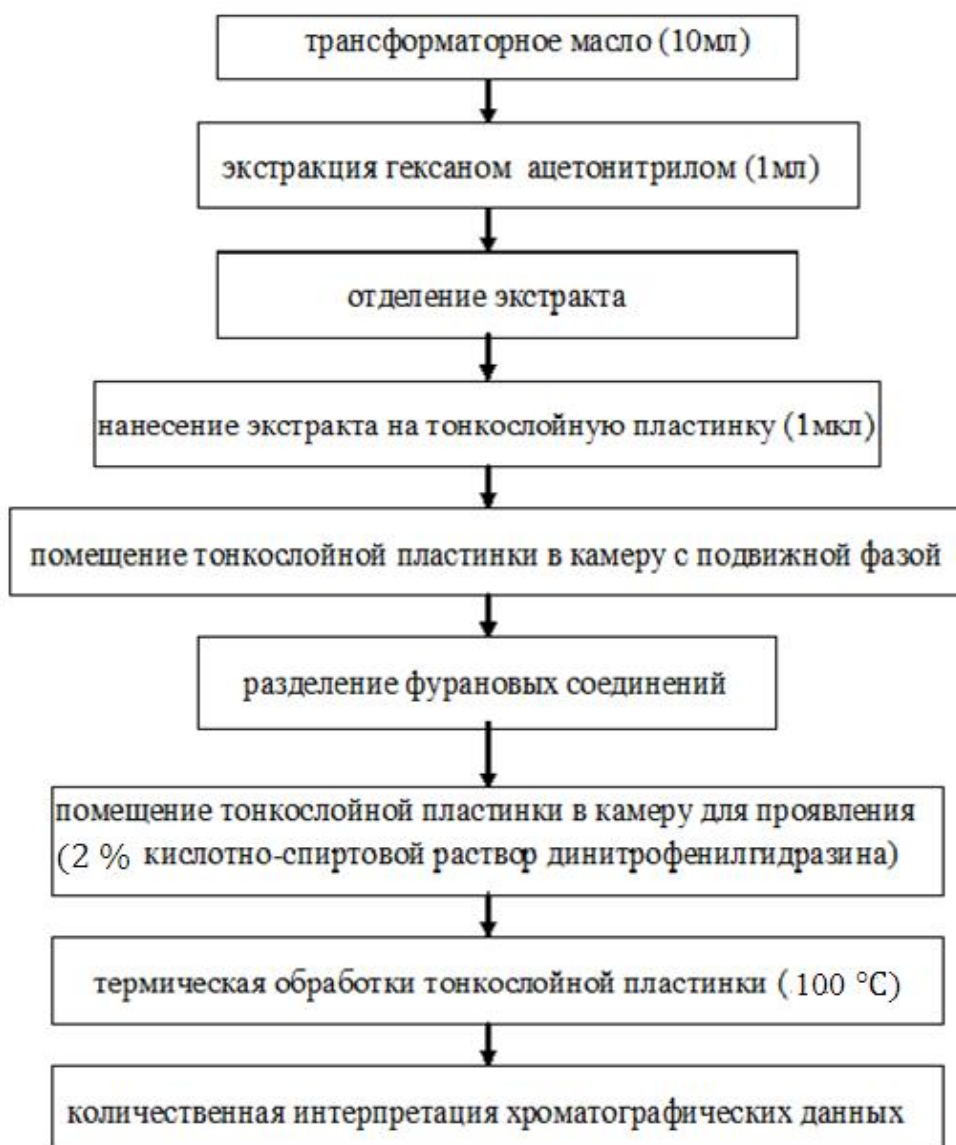


Рис. 22. Алгоритм определения фурановых соединений в трансформаторном масле методом тонкослойной хроматографии

Полученный экстракт трансформаторного масла наносят на тонкослойную пластину с помощью микрошприца. Объем пробы составляет 1 мкл. В качестве тонкослойной пластинки используют лавсановую подложку с нанесенным на нее слоем силикагеля толщиной от 5 до 20 мкм. Оценка количественного содержания фурановых производных производится по анализу стандартных растворов фурфурола, оксиметилфурфурола и фурфурилового спирта. С этой целью готовят стандартные растворы, которые содержат от 1 до 10 ppm фурфурола в одном литре трансформаторного масла.

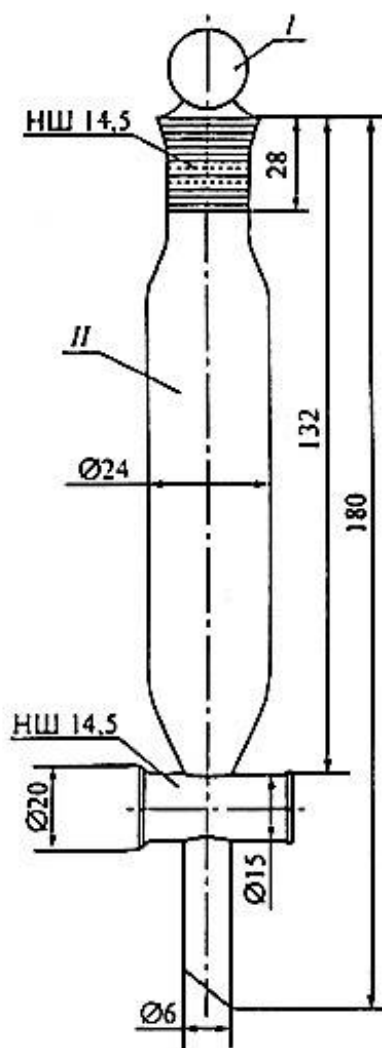


Рис. 23. Делительная воронка с пробкой НШ 14,5 и краном вместимостью 25 мл: I – пробка; II – делительная воронка; III – кран

Приготовление стандартных растворов осуществляется следующим образом: к 1 л свежего трансформаторного масла, не содержащего фурановых производных, добавляют от 1 до 10 мкл фурфурола. Таким образом готовят десять стандартных растворов. Хранят их в холодильнике при температуре от -4 до $+3$ °C.

Далее определяется экстракт либо в делительной воронке (рис. 23), либо центрифугированием, а далее наносится на силикагельную пластинку.

Для проведения тонкослойной хроматографии выбираются стеклянные или лавсановые пластинки $10 \times 10 \text{ см}^2$ с тонким слоем силикагеля КСКГ 10–15 мкм (АТСХ) и пластины с фракцией 5–20 мкм (ВЭТСХ). Оценка количественного соединения фурановых производных производится по стандартным растворам фурфурола, оксиметилфурфурола и фурфурилового спирта.

Экстракция фурановых производных из отработанного трансформаторного масла

Алгоритм определения приведен на рис. 24. В делительную воронку помещают 10 мл изоляционного масла и 1 мл гексана, насыщенного ацетонитрилом. Воронку или пробирку интенсивно встряхивают в течение 1 мин. Верхний гексановый слой отделяют через 20 мин отстаиванием или центрифугированием.

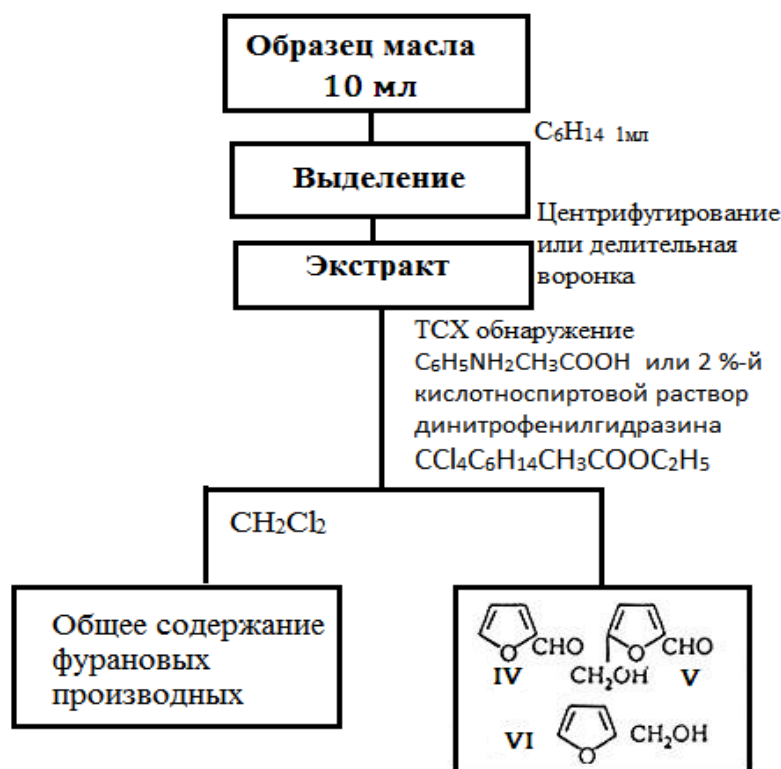


Рис. 24. Схема определения фураносодержащих компонентов

Для оценки содержания фурановых соединений используют метод тонкослойной хроматографии. Для этого 10 мкл верхней (гексановой) фазы

наносятся на хроматографическую пластинку, которую помещают в камеру с подвижной фазой. Большое значение имеет выбор подвижной фазы. В табл. 15 приведены значения растворителей для тонкослойной хроматографии, имеющие различные физико-химические характеристики

Таблица 15

Свойства растворителей для тонкослойной хроматографии фурановых соединений в трансформаторном масле

№ п/п	Наименование растворителя	Температура кипения, °С	Дипольный момент, D^{20}	Диэлектрическая постоянная, ϵ^{20}	Показатель преломления, n_D^{20}	Плотность, d_u^{20} , г/см ³
1	Диэтиламин	55,5	1,20	3,80	1,39	0,707
2	Ацетон	56,0	2,70	21,4	1,36	0,791
3	Хлороформ	61,2	1,15	4,81	1,45	1,480
4	н-Гексан	68,0	0,05	1,90	1,42	0,660
5	Углерод четыреххлористый	76,7	0	2,24	1,46	1,594
6	Этилацетат	77,1	2,48	6,00	1,37	0,900
7	Этанол	78,4	1,68	25,80	1,36	0,789



Рис. 25. Тонкослойная хроматография фурановых производных на силикагеле при элюировании в хлористом метиле

В качестве подвижной фазы при проведении ТСХ фурановых веществ, как правило, используют хлористый метилен, дающий одно пятно на пластинке (рис. 25), а также смесь растворителей, состоящую из четыреххлористого углерода, гексана и этилацетата, позволяющую обнаружить 3 соединения (рис. 26).

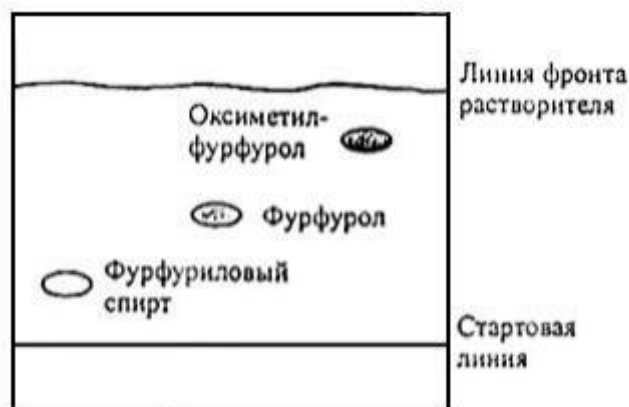


Рис. 26. Тонкослойная хроматография фурановых производных на силикагеле при элюировании в системе $\text{CCl}_4 : \text{C}_6\text{H}_{14} : \text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5 = 10:2:1$

Показатели удерживания фурановых соединений представлены в табл. 16.

Таблица 16

Величины фактора удерживания (R) фурановых производных на силикагельных пластинках

Соединение	Подвижная фаза		
	CH_2Cl_2	$\text{CCl}_4 - \text{C}_6\text{H}_{14}$	$\text{CH}_3\text{COO}_2\text{H}_3$
Фурфурол	0,40	0,350	
Оксиметил-фурфурол	0,40	0,725	
Фурфуриловый спирт	0,40	0,159	

Выбор обнаружителей

Для визуализации пятен фурановых производных используется 2 %-ный кислотнospиртовой раствор 2,4-динитрофенилгидразина или 10 %-ный раствор анилина в ледяной уксусной кислоте.

Денситометрическими измерениями было установлено, что чувствительность ацетоуксусного анилина при проявлении пятен на пластинках в 2,5 раза выше, чем при использовании динитрофенилгидразина.

Окраска пятен с помощью ацетоуксусного анилина нестабильна, исчезает через 10 мин, тогда как окрашивание динитрофенилгидразином дает стабильный результат и сохраняется в течение 0,5 года.

Предел обнаружения фурановых производных

По результатам операций, выполненных, как указано методом ТСХ в хлористом метиле, при обнаружении пятен на пластинках с помощью

ацетоуксусного анилина установлен диапазон определения фурановых производных: нижний предел –0,5 ppm; верхний предел –1000 ppm.

Указанные пределы позволяют достоверно определить общее содержание фурановых производных с учетом чувствительности (нижний предел) и емкости (верхний предел) методом ТСХ.

Работа с нормокомплектom оборудования и материалов для проведения анализа отработанного трансформаторного масла методом тонкослойной хроматографии.

Пластины хроматографические марки «Sorbfil» ПТСХ-П-В по ТУ-26-11-17-89 уложены по 10 шт. в полиэтиленовый пакет и упакованы в картонную коробку; в каждой коробке 50 пластин (рис. 27).



Рис. 27. Пластины хроматографические марки «Sorbfil»



Рис. 28. Стеклянная камера для тонкослойной хроматографии

Необходимо вскрыть коробку, извлечь и надрезать полиэтиленовый пакет и вынимать пластины по мере надобности. Во избежание нарушения активного сорбционного слоя пластинок запрещается хранить пластинки без упаковки.

На рис. 28 представлена стеклянная камера для хроматографии со стеклянной крышкой. Дно камеры имеет разделительный выступ для фиксации пластин.

Для герметизации камеры в процессе работы внесите на шлифованную поверхность вакуумную смазку или любой другой вид смазки, совместимый с парами используемого элюента. В процессе эксплуатации избегайте ударов камеры и крышки о твердые предметы.



Рис. 29. Распылитель для проведения тонкослойной хроматографии

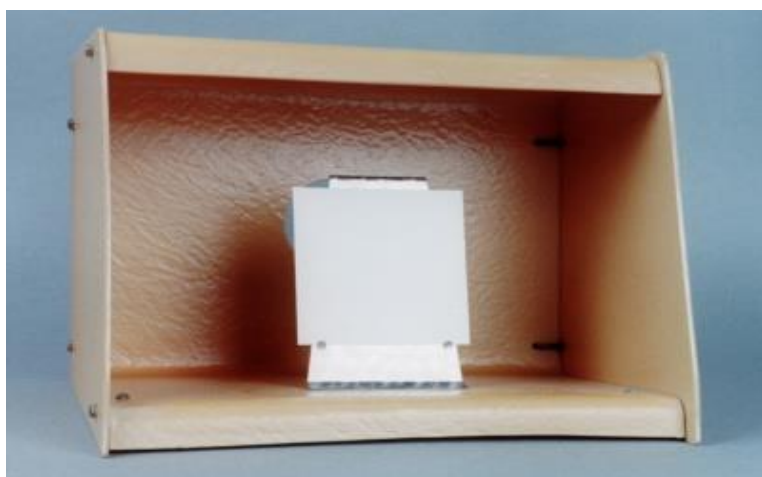


Рис. 30. Камера для опрыскивания

На рис. 29 представлен распылитель, который совмещает инъекционную систему и рабочую камеру в одном стеклянном корпусе. Распылитель поставляется в комплекте с резиновой грушей для нагнетания воздуха.

Плоское дно груши обеспечивает устойчивость комплекта в нерабочем состоянии.

Необходимо налить рабочий раствор в стеклянную камеру распылителя и распылять путем нажатия на резиновую грушу.

На рис. 30 приведена камера для опрыскивания, которая изготовлена из устойчивого к агрессивным соединениям материала. Она состоит из установочного столика для пластин. В любой стенке этой камеры может быть выполнено отверстие, чтобы была возможность присоединиться к вытяжной вентиляции в случае, если отсутствует вытяжной шкаф.

Необходимо поместить установочный столик в камеру, положить на него хроматографическую пластинку и наносить распылителем окрашивающее вещество на платину. Затем необходимо придвинуть столик к переднему краю камеры, захватив пинцетом за выступ над пластиной. Далее обработанную платину снять со столика, а по окончании работы протереть влажной тканью установочный столик и камеру для опрыскивания.

На разных стадиях анализа также можно воспользоваться нагревательным устройством УСП-1 для просушки пластин, как представлено на рис. 31.



Рис. 31. Нагревательное устройство УСП-1

Устройство обеспечивает возможность работы в температурном диапазоне 40–110 °С и предназначено для работы с пластинами размером до 100×200 мм. Устройство укомплектовано трафаретной пластинкой для нанесения проб с подсушкой без предварительной разметки хроматографической пластины. На стадии нанесения проб и стандартных растворов подогрев пластин до заданной температуры обеспечивает получение компактного пятна, и, следовательно, повышает эффективность и четкость разделения. Подогрев пластин после нанесения проб или обслуживающего реагента обеспечивает их ускоренную сушку или

проявление для последующего анализа в ультрафиолетовом спектре излучения.

Далее необходимо привести устройство в рабочее состояние, выполнив все мероприятия, указанные в инструкции.

Пробы требуется наносить в соответствии с принятой методикой, давая подсохнуть нанесенному пятну. Для подсушки пластин после элюирования или окраски нужно взять пластину пинцетом и положить на поверхность нагревателя, предварительно установив требуемую температуру.

Для подсушки пластин в процессе нанесения проб можно использовать также электрофен.

При необходимости процесс подсушки также может быть совмещен: размещенную на нагревательном устройстве пластину подсушивают дополнительно электрофеном.

Трафарет предназначен для разметки хроматографической пластины или для нанесения проб, как представлено на рис. 32.



Рис. 32. Трафарет для разметки хроматографической пластины

Трафарет предназначен для предварительной разметки хроматографических пластин или для прямого нанесения проб на пластины через специальные отверстия. Нижний ряд отверстий обеспечивает стартовую линию на расстоянии 10 мм от нижнего края пластин, а верхний – 15 мм. Крайние отверстия выполнены на расстоянии 10 мм от правого и левого срезов пластин. Расстояние между отверстиями в ряду 5 мм. Размер трафарета: 105×100 мм.

Необходимо вставить пластину в карман трафарета и произвести разметку через отверстия тонко отточенным карандашом либо нанесите пробу.

Набор микропипеток предназначен для приготовления анализируемых растворов и нанесения проб на хроматографические пластины (рис. 33).

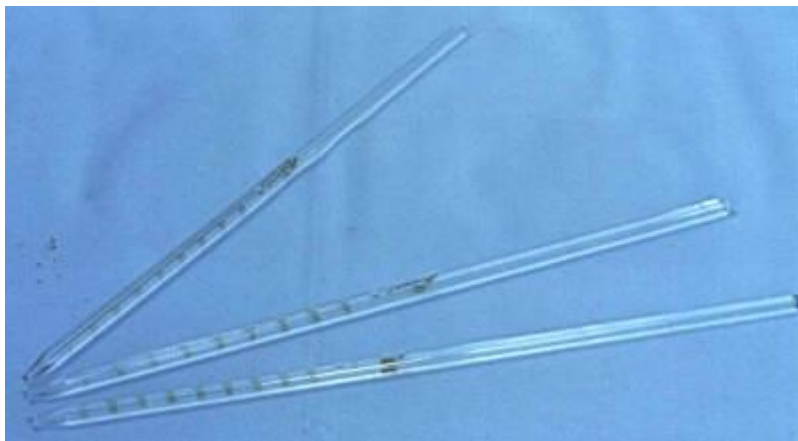


Рис. 33. Набор микропипеток для тонкослойной хроматографии



Рис. 34. Микрошприц для нанесения пробы в тонкослойной хроматографии

При необходимости нанесения большого объема пробы нужно производить подсушивание после каждого нанесения на нагревательной плите для сушки или с помощью электрофена.

Микрошприц МШ-10 (рис. 34) предназначен для дозированного нанесения пробы анализируемого вещества. Вместимость микрошприца 10 мл. Для качественного нанесения проб игла имеет прямой шлифованный срез.

Пинцет-держатель предназначен для захвата и удерживания пластин на разных стадиях анализа. Во избежание повреждения сорбционного слоя необходимо брать пластину пинцетом в одном и том же месте вне рабочей зоны. Пинцет выполнен из коррозионностойкого материала.

Определение фурановых производных в трансформаторном масле методом тонкослойной хроматографии

Для подготовки хроматографической камеры в чистую сухую хроматографическую камеру помещают фильтровальную бумагу $8 \times 8 \text{ см}^2$

и вливают 10 мл хлористого метилена при помощи мерного цилиндра. Камеру закрывают крышкой и оставляют на 1 ч для насыщения парами растворителя.

Перед работой хроматографические тонкослойные пластинки промывают хлористым метилом, для чего их при помощи пинцета помещают в хроматографическую камеру, дожидаясь полного прохождения растворителя до верхнего края пластинки. После промывания пластинки хранят до начала работы в эксикаторе.

Затем производят нанесение образцов на пластинку. Для этого промытую пластинку помещают на столик УСП-1, где заранее устанавливают температуру 30 °С. При помощи калиброванного шприца наносят 10 мкл выделенного из изоляционного масла гексанового экстракта фурановых производных. Расстояние между точками нанесения должно быть не менее 1 см, что осуществляется при помощи трафаретной пластинки с выемками, каждая последующая точка наносится через две выемки от предыдущей. Так как определение содержания фурановых веществ производится дважды, т. е. экстракты выделяются из параллельных образцов, то порядок нанесения на пластинку должен чередоваться нанесением экстракта из исследуемого масла и из стандартных растворов фурфурола в масле известной концентрации. Например, 1-й параллельный исследуемый образец: стандарты фурфурола в масле - 1, 2, 2,5 и 5 ppm; 2-й параллельный образец и т. д. При нанесении каждого последующего пятна предыдущее высушивают при помощи электрофена. При заполнении микрошприца образцом необходимо добиваться отсутствия пузырьков воздуха в набираемой пробе. После нанесения образцов пластинку снимают с нагреваемого столика при помощи пинцета и охлаждают на воздухе перед проведением хроматографии.

Проведение хроматографии

В предварительно насыщенную камеру с хлористым метилом при помощи пинцета помещают пластинку с нанесенными образцами. Пластинку вынимают из камеры, когда элюент прошел 9 см сорбента. Пластинку высушивают на воздухе и помещают в камеру для опрыскивания пластинок (рис. 35).

Обнаружение фурановых производных на пластинке происходит следующим образом. В распылитель наливают обнаружитель: 10 %-й раствор свежеперегнанного бесцветного анилина в ледяной уксусной кислоте. При помощи распылителя опрыскивают пластинку, помещенную в специальную камеру. На пластинке появляются малиновые пятна ($R_f = 0,4$), соответствующие фурановым производным.



Рис. 35. Проведение тонкослойной хроматографии

О количестве фурановых соединений судят при сравнении реальных образцов со стандартами, измеряя длину и ширину конкретных пятен на пластинке.

Если содержание исследуемых фурановых соединений более 500 ppm, то стандарты и исследуемые образцы соответственно разбавляются с учетом обнаружения.

Вопросы для самоконтроля

1. Определите роль трансформаторного масла в силовых трансформаторах.
2. Что представляет собой минеральное трансформаторное масло?
3. Назовите основные физико-химические характеристики трансформаторного масла, контролируемые в процессе эксплуатации.
4. Каковы предельные концентрации фурановых соединений в трансформаторном масле?
5. Что представляют собой фурановые соединения?
6. Как осуществляется выделение фурановых соединений из трансформаторного масла?
7. Опишите алгоритм определения фурановых соединений из трансформаторного масла.
8. Опишите порядок работы на тонкослойных пластинках для анализа отработанного трансформаторного масла.
9. Опишите методику проведения эксперимента ТСХ по анализу фурановых соединений.
10. Каким образом производится идентификация фурановых производных на тонкослойных пластинках?

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Кибардин, С. А. Тонкослойная хроматография в органической химии / С. А. Кибардин, К. А. Макаров. – Москва : Химия, 1978. – 128 с.
2. Сумина, Е. Г. Тонкослойная хроматография. Теоретические основы и практическое применение : учебное пособие / Е. Г. Сумина, С. Н. Штыков, В. З. Углонова, Н. В. Кулакова. – Саратов: Издательство Саратовского университета, 2012. – 128 с.
3. Березкин, В. Г. Количественная тонкослойная хроматография / В. Г. Березкин, А. С. Бочков. – 3-е изд., доп. – Москва : Наука, 1980. – 183 с.
4. Березкин, В. Г. Круговая восходящая и нисходящая тонкослойная хроматография / В. Г. Березкин, А. В. Чаусов, Ю. Ю. Костюкович [и др.] // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2010. – Т. 76. № 10. – С. 5–10.
5. Березкин, В. Г. Об использовании различных форм пластинки в тонкослойной хроматографии / В. Г. Березкин, А. В. Чаусов // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2011. – Т. 11, вып. 1. – С. 111–125.
6. Методические указания по применению в энергосистемах тонкослойной хроматографии для оценки остаточного ресурса твердой изоляции по наличию фурановых соединений в трансформаторном масле : РД 34.51304–94 : утвержден и введен в действие РАО ЕЭС России 20.06.1994 / разработан АО ВНИИЭ. – Москва : СПО ОРГРЭС, 1995.
7. Методические указания по подготовке и проведению хроматографического анализа газов, растворенных в масле силовых трансформаторов : РД 34.46.303–98 : утвержден Департаментом стратегии развития и научно-технической политики РАО «ЕЭС России» 13.03.1998 : введен впервые : дата введения 1998–05–01 / разработан АО ВНИИЭ, АО ВТИ и ВС АО Ленэнерго. – Москва : АО ВНИИЭ, 1998.
8. Методические указания по диагностике развивающихся дефектов по результатам хроматографического анализа газов, растворенных в масле силовых трансформаторов : РД 34.46.302–89 : утвержден Главным научно-техническим управлением энергетики и электрификации 21.12.1988 : введен впервые : дата введения 1989–06–01 / разработан ВНИИЭ. – Москва : СПО Союзтехэнерго, 1989.
9. Львов, Ю. Н. Применение тонкослойной хроматографии при определении микроколичеств фурановых производных в изоляционном масле электрооборудования / Ю. Н. Львов, Н. А. Писарева, Ю. М. Сапожников // Электрические станции. – 1993. – № 8. – С. 48–51.

10. Карташова, А. А. Тонкослойная хроматография как метод контроля фурановых соединений в трансформаторном масле / А. А. Карташова, В. Ф. Новиков // Известия высших учебных заведений. Проблемы энергетики. – 2016. – (1–2). – С. 122–128 [Электронный ресурс]. – URL: <https://doi.org/10.30724/1998-9903-2016-0-1-2-122-128> (дата обращения: 23.01.2020).
11. Аналитическая хроматография / под редакцией В. И. Сакодынского [и др.]. – Москва : Химия, 1993. С. 19–21.
12. Алесковский, В. Б. Физико-химические методы анализа. Практическое руководство / В. Б. Алесковский, В. В. Бардин, М. И. Булатов. – Ленинград : Химия, 1988. – 376 с.
13. Львов, М. Ю. Физико-химические методы в практике оценки состояния силовых трансформаторов в условиях эксплуатации : учебно-методическое пособие / М. Ю. Львов, П. П. Кутлер. – Москва : ИУЭ ГУУ, ВИПК-энерго, ИПК госслужбы, 2003. – 20 с.
14. Липштейн, Р. А. Трансформаторное масло / Р. А. Липштейн, М. И. Шахнович. – Москва : Энергоатомиздат, 1983.
15. Bogomolov, V. S. Problems of autotransformers operation in systems with fault currents up growth / V. S. Bogomolov, N. N. Khublarov, M. Ju. Lvov [et al.] // CIGRE Session–2000. – P. 12–106.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.	3
1. Планарная хроматография.	5
1.1. История развития тонкослойной хроматографии.	5
1.2. Бумажная хроматография.	8
2. Тонкослойная хроматография.	15
2.1. Теоретические основы тонкослойной хроматографии.	15
2.2. Сорбционные материалы для тонкослойной хроматографии.	26
2.3. Способы проведения анализа в тонкослойной хроматографии. ...	36
2.4. Количественный анализ в тонкослойной хроматографии.	40
2.5. Современные направления развития тонкослойной хроматографии	45
3. Подвижные фазы для тонкослойной хроматографии.	50
3.1. Подвижные фазы на основе органических растворителей.	51
3.2. Подвижные фазы на основе поверхностно-активных веществ. ...	57
4. Тонкослойная хроматография фурановых соединений в трансфор- маторном масле.	62
Библиографический список.	82

Учебное издание

Новиков Вячеслав Федорович
Танеева Алина Вячеславовна

**ТОНКОСЛОЙНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ
ФУРАНОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ
В ТРАНСФОРМАТОРНОМ МАСЛЕ**

Учебное пособие

Кафедра энергообеспечения предприятий и энергоресурсосбережения КГЭУ

Корректор *Л. Р. Гайнуллина*
Компьютерная верстка *Ю. Ф. Мухаметшиной*

Подписано в печать 29.04.2020. Формат 60×84/16.
Усл. печ. л. 4,94. Уч.-изд. л. 3,49. Заказ № 280/эл.

Редакционно-издательский отдел КГЭУ,
420066, г. Казань, ул. Красносельская, д. 51