

## ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ПАРАМЕТРЫ СПЕКТРОВ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ РАСТВОРОВ СОЛЬВАТОХРОМНЫХ ИНДИКАТОРОВ В НЕПОДВИЖНЫХ ЖИДКИХ ФАЗАХ ДЛЯ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

В. И. Бекетов<sup>1</sup>, М. В. Бельков<sup>2</sup>, Н. Б. Зоров<sup>1</sup>, С. Н. Ланин<sup>1</sup>,  
П. Н. Нестеренко<sup>1\*</sup>, П. П. Першукевич<sup>2</sup>

УДК 535.37;535.34;543.544.43

<https://doi.org/10.47612/0514-7506-2022-89-3-330-335>

<sup>1</sup> Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,  
Москва, Россия; e-mail: nes.pavel@gmail.com

<sup>2</sup> Институт физики НАН Беларуси, Минск, Беларусь

(Поступила 30 марта 2022)

Зарегистрированы спектры люминесценции нескольких индикаторов полярности при температурах 20 и 120 °С, в том числе ранее исследованных при комнатной температуре кумарина 153 и коронена, а также нильского красного и пигмента красного 179, в растворах неподвижных жидких фаз с различной полярностью. Оценено влияние температуры на параметры спектров, чувствительных к полярности неподвижных фаз для данных индикаторов. Показана перспективность оценки полярности неподвижных жидких фаз с помощью люминесцентных методов при высоких температурах.

**Ключевые слова:** спектр флуоресценции, газожидкостная хроматография, неподвижная жидкая фаза, полярность, сольватохромный эффект.

The luminescence spectra of several polarity indicators at temperatures of 20 and 120°C, including previously studied at room temperature Coumarin 153 and coronene and also Nile Red and Pigment Red 179 are registered in solutions of liquid stationary phases of different polarity. The effect of temperature on the spectral parameters sensitive to the polarity of the stationary phases is estimated for the indicators. The prospects for estimating the polarity of stationary liquid phases using luminescent methods at high temperatures are demonstrated.

**Keywords:** fluorescence spectrum, gas liquid chromatography, liquid stationary phase, polarity, solvato-chromic effect.

**Введение.** Огромное количество неподвижных жидких фаз (НЖФ) для газожидкостной хроматографии (ГЖХ), различных по своим свойствам, определяется большим кругом конкретных задач хроматографического анализа и широким спектром разделяемых соединений [1]. Характеристика свойств нанесенных или иммобилизованных НЖФ, определяющих селективность разделения, представляет собой трудоемкую и сложную задачу. Это связано с тем, что межмолекулярные взаимодействия между растворенным веществом и НЖФ слишком сложны, а недостаточно высокая точность их описания не позволяет осуществлять достоверный прогноз удерживания различных веществ и, соответственно, селективности фаз, прямо связанной с их полярностью [2—4]. Кроме того, многие органические соединения, включая неподвижные фазы, особенно полярные, способны изменять свои характеристики при иммобилизации на поверхности твердого носителя, используемого в качестве

---

## EFFECT OF TEMPERATURE ON THE PARAMETERS OF FLUORESCENCE SPECTRA OF SOLVATOCROMIC INDICATOR SOLUTIONS IN STATIONARY PHASES FOR GAS-LIQUID CHROMATOGRAPHY

V. I. Beketov<sup>1</sup>, M. V. Belkov<sup>2</sup>, N. B. Zorov<sup>1</sup>, S. N. Lanin<sup>1</sup>, P. N. Nesterenko<sup>1\*</sup>, P. P. Pershukevich<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup> Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia; e-mail: nes.pavel@gmail.com; <sup>2</sup> B. I. Stepanov Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus)

подложки, и условий разделения [5]. При повышении температуры возможны увеличение подвижности молекул и полимерных цепей НЖФ в тонком поверхностном слое, а также изменение структуры тонкого слоя с упрощенной координацией функциональных групп НЖФ относительно поверхности подложки [6]. Соответственно, следует ожидать изменения полярности НЖФ при варьировании температуры.

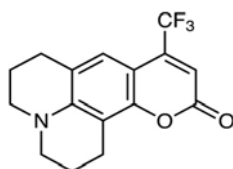
Фундаментальная проблема состоит в понимании изменения характеристик НЖФ, в первую очередь полярности, в зависимости от толщины слоя, природы подложки или твердого носителя, при варьировании температуры и увеличении срока службы или старения, а также возможности идентификации изменения физико-химические свойств таких фаз путем анализа спектров люминесценции адсорбированных или растворенных модельных соединений, полученных в измененных условиях.

Для определения полярности НЖФ и построения соответствующих шкал полярности необходимо выбрать набор тестовых соединений с известными параметрами и провести изучение их удерживания в условиях ГЖХ. Данная процедура трудоемкая и требует существенных временных затрат [2, 3]. Не менее сложным и недостаточным является использование квантово-химических дескрипторов для расчета полярности НЖФ [7]. Альтернативный, более простой метод — использование подходящего спектрофотометрического или флуоресцентного индикатора, для которого характерно изменение параметров спектров поглощения в зависимости от полярности среды [8]. Реже для этих целей используют изменения в спектрах испускания индикаторов, которые могут быть более показательны. В работе [9] показана перспективность метода оценки полярности НЖФ, основанного на измерении параметров флуоресценции индикаторных соединений. В продолжение [9] в настоящей работе изучена возможность применения спектроскопических эмпирических шкал полярности растворителей для оценки полярности НЖФ в ГЖХ при высоких температурах.

**Эксперимент.** Спектры испускания и возбуждения флуоресценции растворов люминофоров измерены на спектрофлуориметрическом комплексе “Люмоскан”, основанном на монохроматорах возбуждения и регистрации МДР-12 и МДР-23 (ЛОМО, СССР). В качестве источника возбуждения использована ксеноновая лампа XBO-150W/1 (OSRAM, Германия). Регистрация люминесценции проводилась под углом  $90^\circ$  относительно оси возбуждения, после прохождения монохроматора свет попадал на охлаждаемый фотоумножитель ФЭУ-100 (диапазон 230—800 нм), работающий в режиме счета фотонов. Коррекция регистрирующей системы монохроматор МДР-23—ФЭУ выполнена с помощью эталонной ленточной вольфрамовой лампы ТРШ 2850. Спектральная ширина щелей при записи структурированных спектров 1.2 нм, широкополосных 2.4 нм. Спектры излучения приведены в шкалах число квантов (квантовая интенсивность)—длины волн  $\lambda$  с вычитанием спектра растворителя. Для получения спектров в диапазоне температур от комнатной ( $\sim 20^\circ\text{C}$ ) до  $+150^\circ\text{C}$  кювету цилиндрической формы с исследуемым раствором помещали в термоблок с нагревом образцов и автоматическим поддержанием их температуры относительно заданной с погрешностью  $\pm 1^\circ\text{C}$ .

Электронные спектры поглощения растворов зарегистрированы на спектрофотометре UV-3600 Plus (Shimadzu, Япония) в прямоугольных кварцевых кюветках с длиной оптического пути 2 или 5 мм, концентрацией растворов  $\sim 10^{-6}$  М/л. Конечные приведенные спектры поглощения получены путем вычитания спектра растворителя из спектра раствора (при записи спектров в одной и той же кювете).

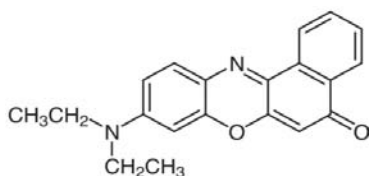
Использованы флуоресцентные индикаторы: кумарин 153 (C153), коронен, нильский красный и пигмент красный 179 (*N,N'*-диметил-3,4,9,10-перилен-тетракарбоксилдиимид) чистотой  $\geq 95\%$ .



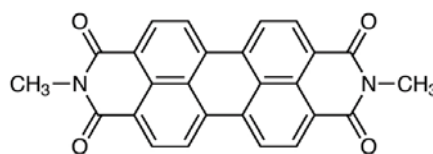
Кумарин 153



Коронен



Нильский красный



Пигмент красный 179

Характеристики индикаторов приведены в табл. 1. Оценку полярности неподвижных фаз для ГЖХ проводили для следующих фаз: сквалан, полиметилсилоксановая жидкость ПМС-100, полиметилфенилсилоксановая жидкость Lukooil MF (25 % фенилсилоксана), Triton X-100, полиэтиленгликоль ПЭГ-250, динонилфталат, полипропиленгликоль “250” (60 % Polypropylen-glykol MG 150 и 40 % Polypropylen-glykol MG 425), ди-(2-этилгексил)себацинат, диэтиленгликоль сукцинат (DEGS), 3,3'-оксидипропионитрил. Используются вещества чистотой “х.ч.”, “для хроматографии” или аналогичной квалификации. Полярности НЖФ и температуры плавления приведены в табл. 2.

**Т а б л и ц а 1.** Длины волн максимумов флуоресценции используемых индикаторов

Индикатор	$\lambda_{\max}^N$ , нм <sup>а</sup>	$\lambda_{\max}^P$ , нм <sup>б</sup>	$\Delta\lambda_{\max}$ , нм	$\log P^B$	Литература
Кумарин 153	460	554	94	4.51	[9]
Коронен	428	429	1	7.64	[9]
Нильский красный	554	634	80	4.38	[10]
Пигмент красный 179	—	536	—	4.18	[11]

<sup>а</sup> Для растворов индикаторов в циклогексане.

<sup>б</sup> Для растворов индикаторов в диметилсульфоксиде, за исключением пигмента красного 179, для которого данные для раствора в диметилформамиде.

<sup>В</sup>  $P$  — коэффициент распределения вещества между несмешивающимися 2-октанолом и водой.

**Т а б л и ц а 2.** Параметры спектров флуоресценции производного перилена и коронена в НЖФ различной полярности при 20 и 120 °С

НЖФ				Пигмент красный 179						Коронен*	
Фаза	$T_{\max}$ , °С	Полярность		центр тяжести спектра $\lambda_{\text{св}}$ , нм		сдвиг $\Delta\lambda_{\text{св}}$ , нм		отн. сдвиг $\Delta\lambda_{\text{св}}/\Delta$		$I_1/I_3$	
		Мак Рей-нольдса	термодинамическая	20 °С	120 °С	20 °С	120 °С	20 °С	120 °С	20 °С	120 °С
		$\Sigma^5 \Delta I$ при 120 °С	$-\Delta G^E_{\text{сн}_2}$ , Дж/моль								
Сквалан	150	0	2426	540.7	534.0	0.0	0.0	0.00	0.00	0.08	0.06
ПМС-100	200	224	2211	541.9	535.0	1.2	1.0	0.02	0.02	0.16	0.15
Lukooil MF	170	620	2242	552.9	549.0	12.2	15.0	0.22	0.25	0.17	0.17
Ди-(2-этилгексил)себацинат	120	653	2178	564.9	556.0	24.2	22.0	0.45	0.37	0.48	0.46
Динонилфталат	130	803	н/д	576.2	575.0	35.5	31.0	0.65	0.53	0.60	0.55
Полипропиленгликоль “250”	125	1419	н/д	588.8	583.0	48.1	49.0	0.89	0.83	0.71	0.69
3,3'-оксидипропионитрил	100	4427	1563	595.0	593.0	54.3	59.0	1.00	1.00	0.93	0.92

\* Значения  $I_1$  и  $I_3$  измерены при ~428 и ~445 нм; н/д — нет данных.

**Результаты и их обсуждение.** Анализ результатов большого количества НЖФ (>20) показал, что среди однополосных модельных соединений самыми эффективными являются кумарин 153, производное перилена, нильский красный, а среди соединений с линейчатым спектром — коронен. В данной работе обобщены результаты исследований спектров флуоресценции модельных соединений, применяемых для оценки свойств НЖФ при температурах 20 и 120 °С. Для оценки использован сольватифлуоресцентный индикатор нильский красный, характеризующийся широким (80 нм) диапазоном сдвига максимума флуоресценции при увеличении полярности растворителя от циклогексана к диметилсульфоксиду [10]. Данный сдвиг незначительно уступает значению для кумарина 153 (94 нм) [9].

Рассмотрена перспективность использования в качестве сольватохромного индикатора красителя пигмента красного 179, относящегося к группе симметричных периленкарбоксидимидов. Его структурированные спектры флуоресценции в растворах низкомолекулярных растворителей расположены в красной области [12], где влияние собственной флуоресценции использованных неподвижных фаз минимально. В исследуемых растворах разрешенная колебательная структура спектров флуоресценции во многом утрачивается, однако наблюдается значительный сдвиг длин волн максимумов флуоресценции, зависящий от природы (полярности) растворителя. Согласно [12, 13], спектр флуоресценции симметричных *N,N*-диалкилзамещенных периленкарбоксидимидов представлен тремя полосами с максимумами при 536, 574 и 628 нм для растворов в диметилформамиде и 535, 577, 628 нм для растворов в хлороформе.

На рис. 1 приведены спектры флуоресценции растворов производного пигмента красного 179, нильского красного и коронена в НЖФ различной полярности при температурах 20 и 120 °С. Отметим, что выбор температуры 120 °С для измерения спектров флуоресценции сольватохромных индикаторов соответствует стандартной температуре хроматографических колонок при измерении констант Мак Рейнольдса в ГЖХ [2]. Подвижность полимерных цепей для многих НЖФ при 120 °С может заметно отличаться от таковой при 20 °С, что отражается на правильности полученных спектральных характеристик.

В табл. 2 представлены константы Мак Рейнольдса и термодинамической полярности, максимальные температуры использования изученных НЖФ, а также полные данные об относительных сдвигах центра тяжести полосы при температурах 20 и 120 °С для одного из трех самых эффективных однополосных индикаторов — пигмента красного 179. Введение центра тяжести полосы вместо длины волны максимума ( $\lambda_{\max}$ ) для этого соединения обусловлено проявлением колебательной структуры в растворах с малой полярностью НЖФ. Приведены параметры спектров для линейчатого индикатора второго типа (коронена) — отношение интенсивностей двух выбранных узких полос  $I_1/I_3$  на длинах волн ~428 и ~445 нм, возрастающее по мере повышения полярности НЖФ при 20 и 120 °С.

Как видно из рис. 1, *a, a', б, б'*, спектры флуоресценции растворов пигмента красного 179 и нильского красного смещаются в длинноволновую область по мере увеличения полярности НЖФ, причем для растворов малой полярности характерно проявление некоторой колебательной структуры, которая полностью исчезает при высокой полярности НЖФ. При повышении температуры от 20 до 120 °С в зависимости от НЖФ в разной степени наблюдается смещение полос в синюю область спектра от 1 до 9 нм (табл. 2). Для растворов коронена при аналогичном повышении температуры, наоборот, происходит небольшое (на 1.5—2.5 нм) смещение в красную область спектра (рис. 1, *в, в'*), при этом в зависимости от НЖФ отношение  $I_1/I_3$  несколько уменьшается (табл. 2).

При повышении температуры от 20 до 120 °С для широкополосного индикатора в различных НЖФ интенсивность падает (до 30 %). При аналогичном изменении температуры для индикатора с линейчатым спектром происходит едва заметное уширение (размытие) полос, причем и падение интенсивности (до 20 %), и размытие полос более сильно в растворах неполярных НЖФ, чем полярных.

Результаты по оценке полярности НЖФ с помощью использования в качестве флуоресцентного индикатора пигмента красного 179 и коронена достаточно хорошо коррелируют между собой (табл. 2). На рис. 2 представлена корреляционная зависимость между параметрами спектров пигмента красного 179 и коронена в НЖФ различной полярности, которая хорошо аппроксимируется прямой линией с наклонами 0.783 и 0.808 и коэффициентами корреляции 0.965 и 0.952, полученными при 20 и 120 °С. Аналогичные корреляционные зависимости наблюдаются для растворов кумарина С153 и нильского красного с той лишь разницей, что изменяется наклон прямой линии.

На рис. 3 представлена корреляционная зависимость между сдвигом  $\Delta\lambda_{\text{св}}$  в спектрах флуоресценции пигмента красного 179, полученных при 20 и 120 °С, и полярностью, выраженной константами Мак Рейнольдса в диапазоне 200—1600 для различных НЖФ. Как ожидалось, корреляция, полученная при более высокой температуре, сильнее ( $R = 0.962$ ). Это хорошо согласуется с тем, что константы Мак Рейнольдса рассчитываются из хроматографических данных, полученных при 120 °С [1]. Показана возможность использования пигмента красного 179 в качестве сольватифлуоресцентного индикатора.

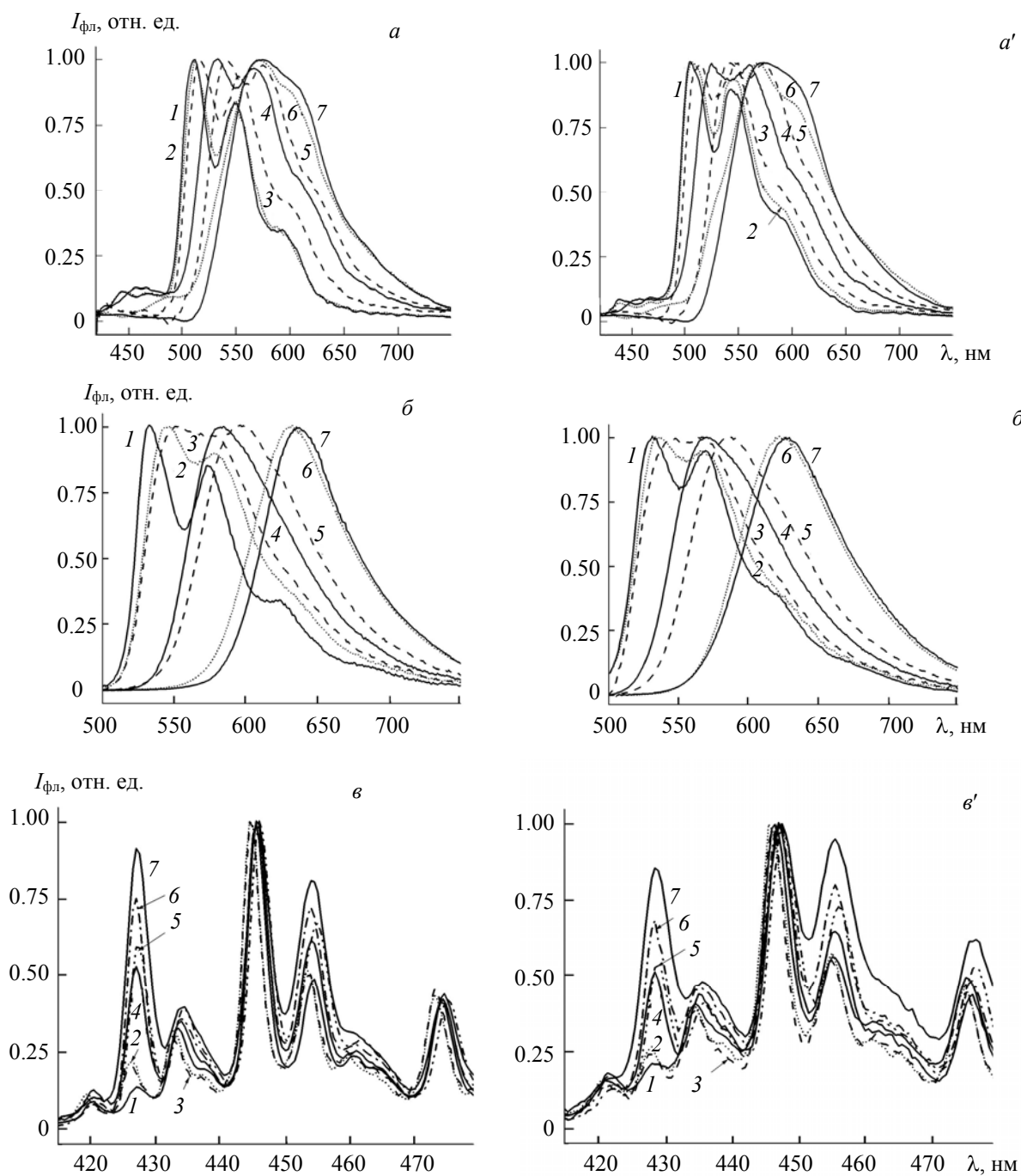


Рис. 1. Спектры флуоресценции растворов пигмента красного 179 (*a, a'*),  $\lambda_{\text{возб}} = 405$  нм; нильского красного (*б, б'*),  $\lambda_{\text{возб}} = 470$  нм; коронена (*в, в'*),  $\lambda_{\text{возб}} = 340$  нм при 20 (*a–в*) и 120 °С (*a'–в'*): 1 — сквалан; 2 — ПМС-100; 3 — Lukoil MF (25 % фенилсилоксана); 4 — ди-(2-этилгексил)себацат; 5 — динонилфталат; 6 — полипропиленгликоль “250”; 7 — 3,3'-оксидипропионитрил

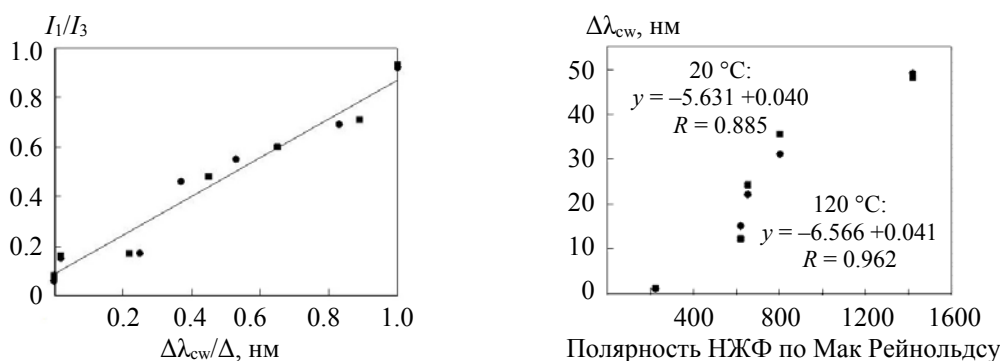


Рис. 2. Корреляционная зависимость между относительным сдвигом  $\Delta\lambda_{sw}/\Delta$  в спектрах пигмента красного 179 и соотношением интенсивностей  $I_1/I_3$  в спектрах коронана, полученных для растворов в НЖФ различной полярности при 20 (■) и 120 °С (●)

Рис. 3. Корреляционная зависимость между сдвигом  $\Delta\lambda_{sw}$  в спектрах флуоресценции пигмента красного 179, полученных при 20 (■) и 120 °С (●) с полярностью, выраженной константами Мак Рейнольдса для различных НЖФ

**Заключение.** Индикаторные свойства растворов при повышении температуры хорошо сохраняются, однако их следует учитывать для повышения точности определения полярности по параметрам индикатора. Показано, что пигмент красный 179 может служить в качестве эффективного индикатора полярности неподвижных жидких фаз, применяемых в газожидкостной хроматографии, так как его полоса поглощения удалена от полос поглощения неподвижных жидких фаз, а спектры флуоресценции характеризуются сильной зависимостью от полярности неподвижных жидких фаз.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов Российского фонда фундаментальных исследований (№ 20-53-00025, Бел\_а) и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (№ Ф20Р-190).

- [1] К. И. Сакодынский, В. В. Бражников, С. А. Волков, В. Ю. Зельведенский, Э. С. Ганкина, В. Д. Шатц. Аналитическая хроматография, Москва, Химия (1993) 108—110
- [2] Н. Д. Лоик, И. Г. Зенкевич. Вестн. Санкт-Петербург. ун-та. Физика и химия, № 2 (2008) 97—103
- [3] P. N. Nesterenko, E. P. Nesterenko. Heliyon, 7 (2021) e07290
- [4] M. H. Abraham, C. F. Poole, S. K. Poole. J. Chromatogr. A, **842** (1999) 79—114
- [5] P. N. Nesterenko, A. I. Elefterov, D. A. Tarasenko, O. A. Shpigun. J. Chromatogr., **706** (1995) 59—68
- [6] C. F. Poole. J. Chromatogr. A, **1604** (2019) 460482
- [7] A. A. D'Archivio, A. Giannitto. Int. J. Mol. Sci., **20** (2019) 2120
- [8] C. F. Poole, S. K. Poole. J. Chromatogr. A, **1184** (2008) 254—280
- [9] В. И. Бекетов, М. В. Бельков, Н. Б. Зоров, С. Н. Ланин, П. Н. Нестеренко, П. П. Першукевич. Журн. прикл. спектр., **88** (2021) 569—575 [V. I. Beketov, M. V. Belkov, N. B. Zorov, S. N. Lanin, P. N. Nesterenko, P. P. Pershukevich. J. Appl. Spectr., **88** (2021) 749—754]
- [10] Л. Г. Самсонова, Н. И. Селиванов, Т. Н. Копылова. Опт. и спектр., **116** (2014) 79—84
- [11] N. Pasaogullari, H. Icil, M. Demuth. Dyes and Pigments, **69** (2006) 118—127
- [12] F. Zhang, Y. Ma, Y. Chi, H. Yu, Y. Li, T. Jiang, X. Wei, J. Shi. Sci. Rep., **8** (2018) 8208
- [13] S. Icli, H. Icil. Spectr. Lett., **29** (1996) 1253—1257