

ОЦЕНКА ПОЛЯРНОСТИ НЕПОДВИЖНЫХ ФАЗ ДЛЯ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ НА ОСНОВЕ СПЕКТРАЛЬНЫХ ПАРАМЕТРОВ

В. И. Бекетов¹, М. В. Бельков², Н. Б. Зоров¹, С. Н. Ланин¹,
П. Н. Нестеренко^{1*}, П. П. Першукевич²

УДК 535.37;535.34;543.544.43

¹ Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова,
Москва, Россия; e-mail: nes.pavel@gmail.com

² Институт физики НАН Беларуси, Минск, Беларусь

(Поступила 20 мая 2021)

Проведена оценка применимости и осуществлен выбор шкалы количественной однопараметрической оценки полярности неподвижных жидких фаз для газожидкостной хроматографии. Получены спектры поглощения и люминесценции пяти индикаторов: кумарина 153, кумарина 314, коронена, 4-дицианометилен-2-метил-6-[4-(ди-метиламино)-стирил]-4Н-пирана (DCM), 3-аминофталимида в растворителях с различной полярностью при комнатной температуре. Оценена зависимость длин волн максимумов флуоресценции и поглощения от полярности среды. Проведено сравнение различных спектроскопических шкал полярности и показано, что наиболее подходящая — флуоресцентная короненовая шкала. Данная шкала использована для оценки полярности некоторых широко распространенных фаз (сквалана, полидиметилсилоксана ПМС-100, 3,3'-оксидипропионитрила, 2-этилгексилсебацата и др.) для газожидкостной хроматографии. Показана перспективность данного подхода для предварительного выбора хроматографических неподвижных фаз.

Ключевые слова: спектр флуоресценции, газожидкостная хроматография, неподвижная фаза, полярность, сольватохромные эффекты.

The estimation of the applicability and the choice of the scale of quantitative one-parameter evaluation of the polarity of stationary liquid phases were carried out for gas-liquid chromatography. The absorption and luminescence spectra of five indicators including coumarin 153, coumarin 314, coronene, 4-dicyanomethylene-2-methyl-6-[4-(di-methylamino)-styryl]-4H-pyran (DCM), 3-aminophthalimide have been obtained in solvents of different polarity at room temperature. The dependence of the wavelength of the fluorescence and absorption maxima on the polarity of the medium was evaluated. Various spectroscopic polarity scales are compared. The fluorescent coronene scale has been shown to be the most appropriate. This scale was used to assess the polarity of some widespread phases (squalane, polydimethylsiloxane liquid PMS-100, 3,3'-oxydipropionitrile, 2-ethyl-hexylsebacinate, etc.) for gas-liquid chromatography. This approach has been shown to be promising for preliminary selection of chromatographic stationary phases.

Keywords: fluorescence spectra, gas liquid chromatography, stationary phases, polarity, solvatochromic effects.

Введение. Основными характеристиками неподвижной жидкой фазы (НЖФ) в газожидкостной хроматографии (ГЖХ) являются ее полярность и селективность. Полярность жидкой фазы — противоречивый показатель свойств НЖФ. Термин “полярность” широко используется на практике, и химики легко отличают полярный растворитель от неполярного. Однако в хроматографии часто оперируют понятием полярности сорбента, т. е. твердого носителя с нанесенной НЖФ, поэтому смысловая оценка полярности остается предметом научных дискуссий.

ESTIMATION OF THE POLARITY OF STATIONARY PHASES FOR GAS-LIQUID CHROMATOGRAPHY BASED ON SPECTRAL PARAMETERS

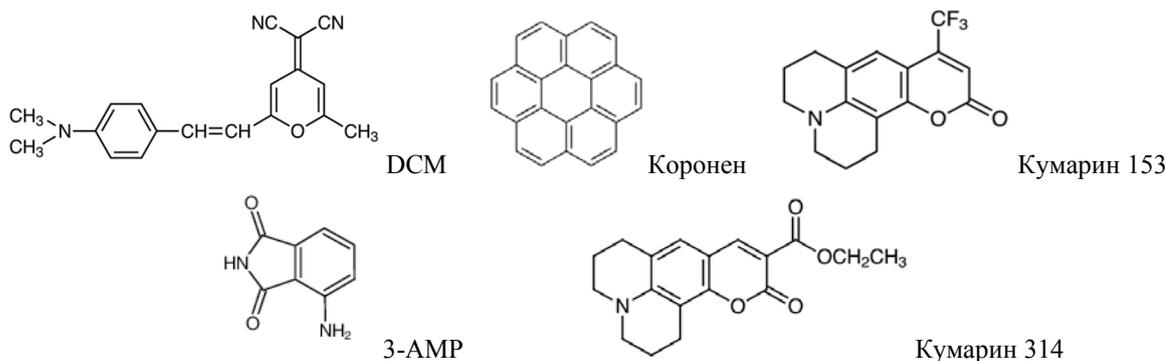
V. I. Beketov¹, M. V. Belkov², N. B. Zorov¹, S. N. Lanin¹, P. N. Nesterenko^{1*}, P. P. Pershukevich²
(¹Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia; e-mail: nes.pavel@gmail.com; ²B. I. Stepanov Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus)

Полярность хроматографической колонки подразумевает способность НЖФ удерживать полярные соединения, в первую очередь органические соединения с разнообразными полярными группами. Соответственно, неполярная неподвижная фаза подразумевает удерживание сорбатов за счет исключительно неспецифических дисперсионных взаимодействий с сорбатами [1], характерных для неполярных соединений (алканов). В случае полярных НЖФ свойства определяются общей совокупностью удельных вкладов неспецифических и специфических полярных взаимодействий с разделяемыми соединениями, среди которых выделяют, с одной стороны, ориентационные (диполь-дипольные) и индукционные (диполь—индуцированный диполь), а с другой — донорно-акцепторные взаимодействия с образованием координационной связи и образование водородной связи или комплексов включения, например, с циклодекстринами. Как правило, вклад специфических взаимодействий в удерживание полярных соединений больше, чем неспецифических, при этом энергии отдельных типов специфических взаимодействий НЖФ с полярными функциональными группами сорбатов заметно различаются, что осложняет оценку общей полярности НЖФ.

На практике для определения полярности НЖФ и построения соответствующих шкал полярности необходимо выбрать тестовые соединения и провести изучение их удерживания в условиях ГЖХ. Данная процедура трудоемкая, требует существенных временных затрат. Альтернативным, более простым методом является применение подходящего спектрофотометрического индикатора, для которого характерно изменение параметров спектров поглощения в зависимости от полярности среды [2]. Реже для этих целей используют изменения в спектрах испускания индикаторов, которые могут быть более показательными. Настоящая работа посвящена скринингу сольватифлуоресцентных индикаторов, изучению возможности применения спектроскопических эмпирических шкал полярности растворителей для оценки полярности НЖФ в ГЖХ.

Эксперимент. Измерения спектров испускания и возбуждения флуоресценции растворов люминофоров проводились на спектрофлуориметрическом комплексе “Люмоскан”, основанном на монохроматорах возбуждения и регистрации МДР-12 и МДР-23 (ЛОМО, Россия). В качестве источника возбуждения использована ксеноновая лампа XBO-150W/1 (OSRAM, Германия). Регистрация люминесценции проводилась под углом 90° к 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 регистрации структурированных спектров 1.2 нм, широкополосных 2.4 нм. Спектры излучения приведены в шкалах число квантов (квантовая интенсивность)—длины волн (λ) с вычитанием спектра растворителя. Электронные спектры поглощения растворов зарегистрированы на спектрофотометре Shimadzu UV-3600 Plus (SHIMADZU, Япония) в прямоугольных кварцевых кюветках с длиной оптического пути 2 или 5 мм, концентрация растворов $\sim 10^{-6}$ М/л. Конечные спектры поглощения получены путем вычитания спектра растворителя из спектра раствора (при регистрации спектров в одной и той же кювете).

Реактивы. Использованы флуоресцентные индикаторы: 4-(дицианометил)-2-метил-6-(4-диметиламиностирил)-4H-пиран (DCM); коронен; кумарин 153 (2,3,5,6-1H,4H-тетрагидро-8-трифторметилхинолино[9,9a,1-g]кумарин, C153); 3-аминофталимид (4-аминоизоиндол-1,3-дион, 3AMP); кумарин 314 (2,3,5,6-1H,4H-тетрагидро-9-карбэтоксихинолино-[9,9a,1-g]кумарин, C314) чистотой $\geq 98\%$



Т а б л и ц а 1. Спектральные характеристики используемых индикаторов

Индикатор	λ_{\max}^N , нм ^а	λ_{\max}^P , нм ^б	$\Delta\lambda_{\max}$, нм	$\log P$ [3]	Литература
DCM	533	644	111	4.79	[4]
C153	460	554	94	4.51	[5]
3-AMP	416	507	91	0.38	[6, 7]
C314	460	486	26	2.73	[8]
Коронен	428	429	1	7.64	[9]

Примечание: $\log P$ — логарифм коэффициента распределения вещества между несмешивающимися 2-октанолом и водой, распространенный параметр измерения гидрофобности химического соединения.

^а Длины волн максимумов флуоресценции растворов индикаторов в циклогексане.

^б Длины волн максимумов флуоресценции растворов индикаторов в ДМСО, за исключением 3-AMP, для которого данные приведены для разбавленного 0.1 М водного раствора серной кислоты.

Спектральные характеристики индикаторов обобщены в табл. 1.

В качестве растворителей использованы циклогексан, гексан, метанол, этанол (абс), ацетон, толуол, диметилсульфоксид (ДМСО) и ацетонитрил, растворители квалификации “осч”, “хч”, “for spectroscopy”, неподвижные фазы (“чда”, “для хроматографии”) без дополнительной очистки; ДМСО 98 % перегоняли под вакуумом. Растворители и неподвижные фазы перед приготовлением растворов выдерживали не менее 3 сут над активированными молекулярными ситами 0.3 нм в соответствии с рекомендацией [10]. Оценку полярности неподвижных фаз для ГЖХ проводили для следующих фаз: сквалан; полиметилсилоксановая жидкость ПМС-100; полиметилфенилсилоксановая жидкость Lukoil MF (25 % фенилсилоксана), Triton X-100; полиэтиленгликоль ПЭГ-250; диноилфталат; полипропиленгликоль-250 (60 % Polypropylen-glykol MG 150 и 40 % Polypropylen-glykol MG 425); ди-(2-этилгексил)себацат; диэтиленгликоль сукцинат (DEGS); 3,3'-оксидипропионитрил и 4,7,10,13-тетраоксагексадекандинитрил.

Результаты и их обсуждение. Шкалы полярности НЖФ. Термин “полярность растворителей” (в том числе НЖФ для ГЖХ) является установившимся, его смысл хорошо понятен и широко используется в научной литературе. Тем не менее строгое определение термина “полярность”, как и ее количественное измерение, вызывает сложности. Проблема заключается во множестве неравнозначных по относительному вкладу и энергии различных полярных взаимодействий, характерных для того или иного растворителя или жидкой фазы. К таким взаимодействиям в ГЖХ относят ориентационные (диполь-дипольные), индукционные (образование индуцированных диполей), дисперсионные, донорно-акцепторные и др. Учет совокупности этих взаимодействий в рамках одной универсальной шкалы полярности НЖФ представляет собой сложную задачу.

Одна из наиболее успешных попыток учесть различные типы взаимодействий в одном параметре — использование эмпирических констант Мак Рейнольдса, рассчитываемых из индексов удерживания, полученных в стандартизованных условиях (весовое соотношение НЖФ к носителю 20 %, температура хроматографической колонки 120 °С) для пяти модельных соединений [11]. Рассчитывается разница (ΔI) между индексами удерживания для сравниваемой НЖФ и найденными для реперной неполярной стационарной фазы, в качестве которой выбран сквалан. Для построения шкалы полярности используют сумму $\Sigma^5 \Delta I$ значений, полученных для бензола, 1-бутанола, 2-пентанола, нитропропана и пиридина. Считается, что взаимодействия данных сорбатов наиболее полно учитывают возможные специфические взаимодействия, характерные для полярных соединений [2, 11].

Другая общепринятая шкала полярности, предложенная Шовином и Леббе [12], построена от противоположного, т. е. измерения гидрофобности или неполярности НЖФ. Для этого из индексов удерживания, полученных для гомологического ряда *n*-алканов, рассчитывают термодинамический вклад в удерживание ΔG_{CH_2} отдельной метиленовой группы. Данная величина отражает вклад гидрофобных или неспецифических дисперсионных взаимодействий в удерживание сорбата и характеризует неполярность фазы. При этом чем меньше значение ΔG_{CH_2} , тем более полярна НЖФ, а неспецифичность дисперсионных взаимодействий нивелирует проблему неравнозначного вклада различных полярных взаимодействий в случае шкалы $\Sigma^5 \Delta I$. Значения $\Sigma^5 \Delta I$ и ΔG_{CH_2} для НЖФ приведены в табл. 2.

Т а б л и ц а 2. Полярность некоторых неподвижных фаз для ГЖХ при 120° [2, 16—21]

Неподвижная фаза	Полярность			
	$\Sigma^s \Delta I$	$-\Delta G^E_{\text{СН}_2}$, Дж/моль	С153 λ_{max} , нм	I_1/I_3 для коронена ^а
Сквалан	0	2426	440	0.08
ПМС-100	224	2211	462	0.16
Lukoil MF	620 ^б	2242 ^б	468	0.17
Ди-(2-этилгексил)себацинат	653	2178	481	0.48
Дионилфталат	803	—	499	0.60
Полипропиленгликоль 250	1419	—	525	0.71
Полиэтиленгликоль ПЭГ-250	2646	1650	521	0.74
Тритон X-100	1750	1894	545	0.86
Диэтиленгликоль сукцинат	3504	1524	509	0.93
3,3'-оксидипропионитрил ^в	4427	1563	533	0.93
4,7,10,13-тетраоксагексадекадинитрил	—	—	526	0.95

^а I_1 и I_3 измерены при ~427 и ~445 нм.

^б Значения для аналогичной фазы Dow Corning 550.

^в Данные для 75 °С.

Выбор индикатора. Использование сольватифлуоресцентных молекулярных индикаторов для оценки полярности НЖФ для ГЖХ можно проводить путем измерения длины волны максимума излучения (λ_{max}) либо изменения соотношения интенсивности излучения (I) при определенных длинах волн [2]. Такие способы широко используются для оценки полярности растворителей и бинарных смесей на их основе. Например, для 1-фенил-4-[(4-циано-1-нафтил)метил]пиперидина разница между λ_{max} в полярном ацетонитриле (695 нм) и неполярном циклогексане (407 нм) $\Delta\lambda_{\text{max}} = 288$ нм [13] существенно больше, чем $\Delta\lambda_{\text{max}}$ для известных сольватохромных фотометрических индикаторов. При этом широкое распространение получила шкала полярности, основанная на флуоресценции ряда полиароматических углеводов (ПАУ), например пирена [14]. В основе ПАУ-шкалы лежит измерение соотношения интенсивностей некоторых спектрально-разрешенных колебательных полос (для коронена I_1/I_3). Это отношение пропорционально полярности растворителя, оцениваемой по диэлектрической проницаемости (ϵ) или показателю полярности Димрота (E_T) [2]. Найдено, что соотношение I_1/I_3 для определенных полос в спектре флуоресценции пирена возрастает от 0.58 для гексана до 1.95 для ДМСО (изменение в 3.36 раза). При этом длины волн максимумов полос поглощения и испускания растворов ПАУ очень слабо зависят от полярности растворителя. В то же время для красителей с неразрешенной колебательной структурой спектров флуоресценции вследствие релаксации растворителя наблюдается зависимость длины волны максимума испускания от длины волны возбуждающего света. Так, для раствора С153 в дионилфталате при изменении $\lambda_{\text{возб}}$ от 370 до 450 нм (короче и длиннее максимума поглощения) максимум испускания сдвигается с 500 до 509 нм. Важным практическим преимуществом по сравнению с пиреном является использование в качестве индикаторного вещества коронена, у растворов которого спектр флуоресценции мономерной формы полностью расположен в видимой области. Использование пиреновой шкалы для целей данного исследования затруднительно, поскольку большая часть используемых фаз обладает сильным светопоглощением в ближней УФ-области.

В настоящей работе для оценки полярности неподвижных фаз для ГЖХ использованы оба вышеуказанных способа. Для первого способа опробованы флуоресцентные индикаторы DCM, С153, 3-АМР и С314 (табл. 1) с $\Delta\lambda_{\text{max}} = 111, 94, 91$ и 26 нм соответственно. С учетом растворимости индикаторов, положения и вида спектра флуоресценции, а также доступности индикаторов достаточной чистоты для оценки полярности НЖФ использован С153. Для второго способа — оценки полярности по соотношению полос флуоресценции ПАУ — использован коронен, для которого изменение I_1/I_3 увеличивается в 7.91 раза при переходе от неполярного *n*-гексана (0.11) к полярному ДМСО (0.87) [9, 15]. Поскольку спектры флуоресценции исследуемых растворов коронена содержат узкие полосы, для нахождения точного значения интенсивности в максимумах взяты шесть точек, проведена аппроксимация участка спектра функцией Лоренца и найдена максимальная интенсивность.

Спектры флуоресценции в неподвижных фазах для ГЖХ. Спектры флуоресценции С153 и коронена для НЖФ с различной полярностью от $\Sigma^5\Delta I = 0$ для неполярного сквалана до $\Sigma^5\Delta I = 4427$ для 3,3'-оксидипропионитрила, перекрывающей весь диапазон полярности неподвижных фаз для ГЖХ, представлены на рис. 1. Проверено влияние концентрации НЖФ в растворителе на спектры флуоресценции С153. Найдено, что максимумы длин волн флуоресценции С153 зависят от весовой концентрации слабополярной ПМС-100 ($\Sigma^5\Delta I = 224$) для растворов в неполярном циклогексане: 0, 10, 30, 70 и 100 % — 456, 459, 460, 464 и 465 нм соответственно. Таким образом определена первичная чувствительность индикатора к изменению полярности жидкой среды за счет добавления НЖФ для газовой хроматографии.

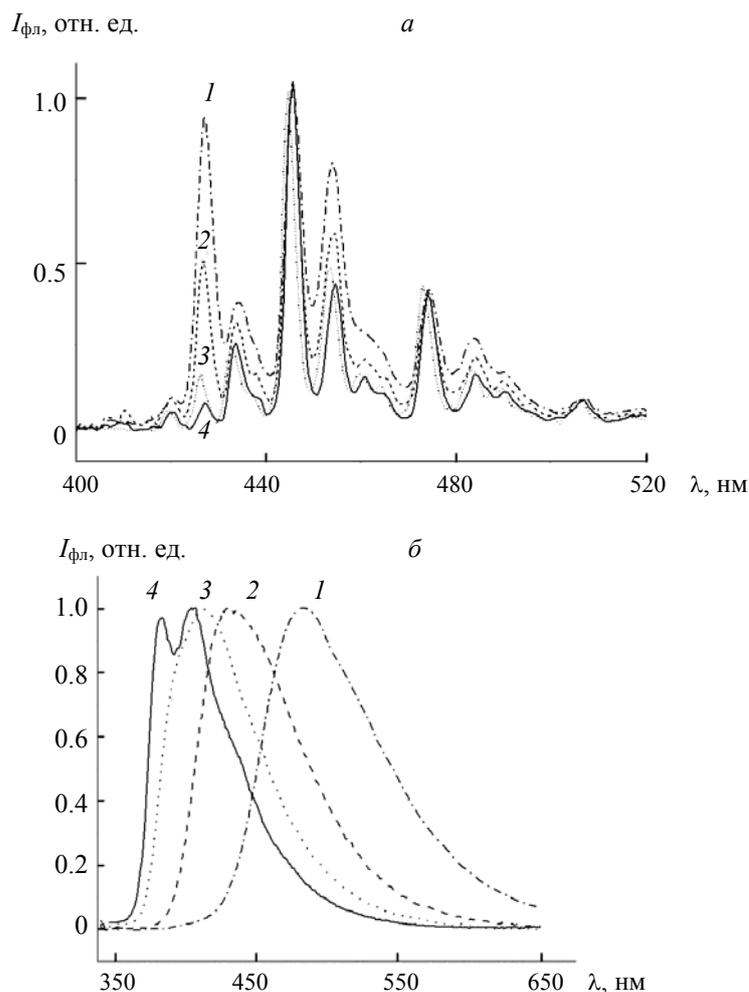


Рис. 1. Нормированные спектры флуоресценции индикаторных веществ коронена (а) кумарина 153 (б) в растворах различных неподвижных жидких фаз для газожидкостной хроматографии: в 3,3'-оксидипропионитриле (1), ди-(2-этилгексил)себацinate (2), полидиметилсилоксане ПМС-100 (3) и сквалане (4)

Получены спектры флуоресценции С153 для используемых НФЖ. На рис. 1, б приведены нормированные спектры для неподвижных фаз с различной полярностью. Видно, что увеличение полярности фазы сдвигает максимум флуоресценции в длинноволновую область. Длины волн максимума флуоресценции С153 в различных фазах приведены в табл. 2.

Построены зависимости λ_{\max} от полярности неподвижных фаз для шкал полярности, наиболее распространенных в ГЖХ (рис. 2). Для шкалы Мак Рейнольдса получена линейная зависимость в диапазоне $\Sigma^5\Delta I$ от 0 (сквалан) до 1894 (Тритон X-100), при котором происходит сдвиг максимума

флуоресценции с 440 до 545 нм. С учетом максимального значения $\lambda_{\max} = 554$ нм для С153 увеличение полярности неподвижной фазы для параметра $\Sigma^5\Delta I$, по Мак Рейнольдсу, >1900 не приводит к линейному изменению λ_{\max} (рис. 2, а). Для термодинамической шкалы полярности на основе значений $-\Delta G_{\text{CH}_2}^E$ менее сильная линейная корреляция получена для всего диапазона полярности фаз (рис. 2, б). При использовании коронена в качестве флуоресцентного индикатора получены аналогичные зависимости I_1/I_3 от $\Sigma^5\Delta I$ и $\Delta G_{\text{CH}_2}^E$ (рис. 2, в и г). Очевидно, что применимость шкалы полярности Мак Рейнольдса ограничена неполярными и среднеполярными НЖФ, что упоминается в [2], а представленные результаты показывают перспективность разработки методов оценки полярности фаз с использованием флуоресцентных индикаторов.

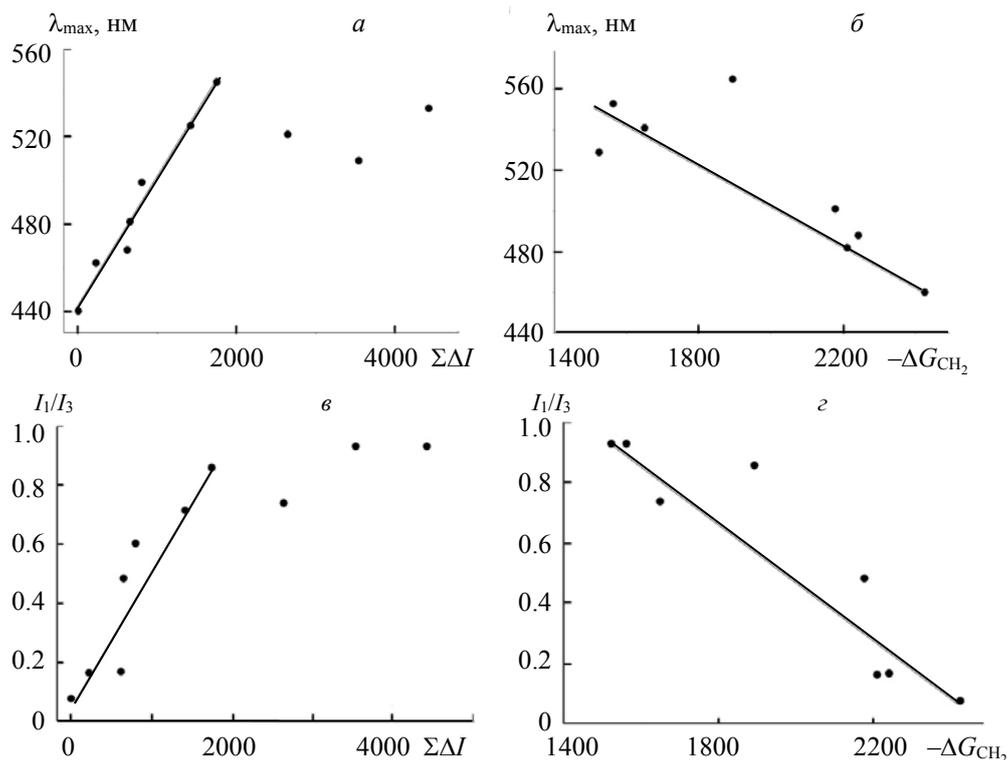


Рис. 2. Корреляция сдвига максимума флуоресценции λ_{\max} кумарина 153 (а, б) и соотношения интенсивностей I_1/I_3 (в, г) в спектре флуоресценции коронена с полярностью НЖФ для газожидкостной хроматографии, выраженной в различных шкалах

Заключение. Определены максимумы спектров флуоресценции для кумарина 153 и соотношения интенсивностей полос излучения в спектре коронена для различных неподвижных фаз в газожидкостной хроматографии. Найдены линейные корреляции между значениями λ_{\max} , а также I_1/I_3 и полярностью растворителя, выраженной в двух наиболее распространенных в газожидкостной хроматографии шкалах полярности неподвижной жидкой фазы. При увеличении количества неподвижных жидких фаз возможно построение количественного эмпирического параметра оценки их полярности, основанного на измерении параметров флуоресценции индикаторных соединений. Показана ограниченность применения шкалы Мак Рейнольдса для описания полярности жидких фаз.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 20-53-00025, Бел_а) и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант № Ф20Р-190).

- [1] **C. F. Poole, S. K. Poole.** *Chem. Rev.*, **89** (1989) 377—395
- [2] **C. Reichardt.** *Chem. Rev.*, **94** (1994) 2319—2358
- [3] KOWWIN software. Estimation Program Interface (EPI) Suite, US Environmental Protection Agency. Version 1.67
- [4] **B. Boldrini, E. Cavalli, A. Painelli, F. Terenziani.** *J. Phys. Chem. A*, **106** (2002) 6286—6294
- [5] **M. L. Horng, J. A. Gardecki, A. Papazyan, M. Maroncelli.** *J. Phys. Chem.*, **99** (1995) 17311—17337
- [6] **N. A. Nemkovich, W. Baumann, A. S. Kozlovski, H. Reis.** *Proc. Soc. Photo-Optical Instrumentation Engineers (SPIE). Advances in Fluorescence Sensing Technology II*, **2388** (1995) 335—346
- [7] **R. A. Velapoldi.** *J. Res. Nat. Bur. Standards A*, **76A** (1972) 641—754
- [8] **V. A. Lapina, T. A. Pavich, P. P. Pershukevich, A. V. Trofimov, N. N. Trofimova, Y. B. Tsaplev, P. P. Zak.** *J. Phys. Org. Chem.*, **30** (2017) 3731
- [9] **R. Waris, M. A. Rembert, D. M. Sellers, J. Acree, J. Street, J. C. Fetzer.** *The Analyst*, **114** (1989) 195—199
- [10] **D. B. G. Williams, M. Lawton.** *J. Org. Chem.*, **75** (2010) 8351—8354
- [11] **W. O. McReynolds.** *J. Chromatogr. Sci.*, **8** (1970) 685—691
- [12] **P. Chovin, J. Lebbe.** *J. Chromatogr. Sci.*, **4** (1966) 37—41
- [13] **G. F. Mes, B. de Jong, H. J. van Ramesdonk, M. P. de Haas, L. E. W. Horsman-van den Dool, J. W. Verhoeven, J. M. Warman.** *J. Am. Chem. Soc.*, **106** (1984) 6524—6528
- [14] **D. C. Dong, M. A. Winnik.** *Can. J. Chem.*, **62** (1984) 2560—2565
- [15] **A. Nakajima.** *J. Lumin.*, **8** (1974) 266—269
- [16] **Л. А. Онучак, Ю. Г. Кураева, В. И. Платонов, В. О. Чванов, З. П. Белоусова.** *Сорбционные и хроматографические процессы*, **12** (2012) 345—354
- [17] **C. E. Figgins, T. H. Risby, P. C. Jurs.** *J. Chromatogr. Sci.*, **14** (1976) 453—476
- [18] **R. V. Golovnya, T. A. Misharina.** *J. High Res. Chromatogr.*, **3** (1980) 51—61
- [19] **Н. Пецев, Н. Коцев.** *Справочник по газовой хроматографии*, Москва, Мир (1987) 31—41
- [20] **H. Rotzsche.** *Stationary Phases in Gas Chromatography*, Amsterdam, Elsevier (1991) 312—313
- [21] **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