



УДК 543.544

Влияние температуры на закономерности удерживания аналитов с различной летучестью в ОФ ВЭЖХ с низким содержанием ацетонитрила в элюенте

Овчинникова О.К., Родинков О.В.

Санкт-Петербургский государственный университет, Институт химии, Санкт-Петербург

Поступила в редакцию 11.04.2018 г.

DOI: <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2018.18/547>

Исследованы закономерности удерживания аналитов с различной летучестью в условиях ОФ ВЭЖХ. Установлено, что независимо от летучести аналитов повышение температуры позволяет в несколько раз повысить эффективность хроматографического процесса, если скорость элюента достаточно высока. Негативное влияние высокой летучести аналитов проявляется лишь при повышенной температуре и низкой скорости элюента в сочетании с низким содержанием в нем ацетонитрила. Подобное влияние может быть объяснено наличием стационарной газовой фазы в порах гидрофобного сорбента, не смачиваемого подобными элюентами.

Ключевые слова: температура, ВЭЖХ, закономерности удерживания, органические соединения, влияние летучести, ОФ ВЭЖХ.

The effect of temperature on the retention of analytes with different volatility in RP HPLC with a low content of acetonitrile in the eluent

Ovchinnikova O.K., Rodinkov O.V.

Saint-Petersburg State University, Institute of Chemistry, St. Petersburg

It is known that an increase of temperature in RP HPLC can significantly improve the efficiency of the chromatographic process and reduce the content of the organic modifier in the eluent or even use pure water as the latter. However, an increase of the water content in the eluent, the wettability of the hydrophobic silica gel C18 inevitably deteriorates and, as a consequence, the formation of a stationary gas phase (SGP) in the pores of this sorbent occurs. Obviously, the existence of SGF, first of all, will influence the behavior of volatile analytes. The purpose of this work is to study the effect of temperature on the retention of analytes with different volatility at low acetonitrile levels in the eluent, taking into account the possible existence of a gas phase in the pores of the sorbent.

Based on the results of the studies performed, it was established that an increase in temperature allows several times to reduce the value of HETP in RP HPLC, regardless of the volatility of the analytes. The negative influence of the high volatility of the analytes begins to appear only at high temperatures and a low rate of elution in the case of a low content of acetonitrile in it or its absence. Such an effect can be explained by the longitudinal diffusion of the analytes in the SGP located in the pores of the hydrophobic sorbent. The existence of SGP is confirmed by temperature dependences of retention parameters of analytes with different volatility: potassium nitrate, dimethylformamide, acetone and acetylene. An increase in temperature is accompanied by an improvement in the wettability of the hydrophobic octadecylsilicagel, an increase in the

volatility of the analytes, and a decrease in their adsorption. The listed processes in various ways affect the retention parameters of these analytes. As the temperature rises, the volume of retention of the non-adsorbing non-volatile potassium nitrate increases, in the case of practically non-adsorbing highly volatile acetone, this volume remains practically unchanged, and in the case of less volatile acetone and dimethylformamide adsorbed, the retention volume decreases, but to different degrees.

Keywords: temperature, HETP, retention patterns, organic compounds, the effect of volatility, RP HPLC.

Введение

Отличительной чертой современной обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ) является быстрое развитие высокотемпературного варианта этого метода. Повышение температуры дает положительный эффект сразу в нескольких аспектах [1,2] и сопровождается: снижением вязкости элюента, и вследствие этого уменьшением гидравлического сопротивления хроматографической колонки и повышением эффективности массообмена – уменьшением высоты, эквивалентной теоретической тарелке (ВЭТТ); увеличением элюирующей силы подвижной жидкой фазы, что позволяет в несколько раз снизить содержание в элюенте органического компонента [3,4].

Вместе с тем, как было показано ранее [5], с увеличением доли воды в элюенте происходит неизбежное ухудшение смачиваемости гидрофобных сорбентов и, как следствие, существование стационарной газовой фазы (СГФ) в порах этих сорбентов. В этом случае, в зависимости от того, насколько сильно изолированы друг от друга поры, содержащие газовую фазу, повышение температуры будет либо уменьшать ВЭТТ, либо увеличивать ее за счет увеличения продольной диффузии в газовой фазе подобно тому, как это происходит в газовой хроматографии. Позитивный эффект от повышения температуры был обнаружен при сорбционном концентрировании некоторых летучих органических веществ из водных растворов на полимерных гидрофобных сорбентах [6].

Очевидно, что возможное негативное влияние от повышения температуры должно проявляться, прежде всего, в случае летучих аналитов со значимой концентрацией молекул в газовой фазе. Целью данной работы явилось исследование влияния температуры на закономерности ОФ ВЭЖХ для аналитов с различной летучестью при отсутствии и низких содержаниях ацетонитрила в элюенте с учетом возможного существования газовой фазы в порах сорбента.

Эксперимент

Материалы и аналиты. В работе использовали типичные для ОФ ВЭЖХ силикагели С18. Предколонка (20×4 мм) была заполнена сорбентом Pelliguard, а колонка (250×4.6 мм) – сорбентом Discovery. Оба сорбента имели размер частиц 5 мкм. В качестве тестовых использовали органические вещества, обладающие различной летучестью, растворимостью в воде и различными коэффициентами распределения между водной и газовой фазами К (табл. 1):

$$K = C_L / C_G$$

где C_L и C_G – концентрации компонента в газовой и в водной фазах при равновесии.

Модельные водные растворы толуола, бензола и нитробензола готовили методом последовательного разбавления чистых веществ для хроматографии сначала в метаноле, а затем в дистиллированной воде. Модельные водные растворы фенола, м-крезола, ацетона, диметилформамида и нитрита натрия готовили путем непосредственного растворения в дистилляте. Концентрация тестовых веществ в модельных

растворах составляла 30 мг/дм^3 . Водный раствор ацетилен (1 г/дм^3) получали путем насыщения дистиллированной воды газообразным ацетиленом из баллона. Для определения объема жидкой фазы в системе измеряли объемы удерживания практически неадсорбирующегося нитрата калия, концентрация которого составляла 10 мг/дм^3 .

Таблица 1. Физико-химические характеристики тестовых веществ [7]

Вещество	Температура кипения, °С	Растворимость в воде, г/дм ³	K, 20 °С
Ацетилен	-84	1.15	1.11 [8]
Ацетон	56	∞	750 [9]
Бензол	80	1.8	4.8 [9]
Толуол	111	0.5	4.6 [9]
N,N' – Диметилформамид (ДМФА)	153	∞	–
Фенол	182	82	9870, 50°С [10]
М-Крезол	203	24	7280, 50°С [10]
Нитробензол	211	2.1	7200*

* Рассчитано согласно [11].

Аппаратура. Исследования проводились на жидкостном хроматографе SHIMADZU LC-20AB, снабженным спектрофотометрическим детектором. Детектирование ароматических углеводородов и фенолов проводили при длине волны 260 нм, других тестовых веществ и нитрата калия – 215 нм. Температуру в термостате колонок варьировали в диапазоне от 30 до 85°С, расход элюента от 0.3 до 2 см³/мин. Обработку результатов измерений, включая определение времени и объема удерживания анализов, величины ВЭТТ осуществляли с помощью штатной программы LCsolution, выполняя не менее 3 параллельных определений. В случае относительно сильно удерживаемых анализов (ароматические углеводороды и фенолы) использовалась только предколонка, а слабо удерживаемых – последовательно соединенные предколонка и колонка.

Обсуждение результатов

В результате проведенных исследований установлено (рис.1), что при относительно высоких расходах элюента повышение температуры на 50-60°С выше комнатной приводит к двукратному увеличению эффективности массообмена (уменьшению ВЭТТ) независимо от летучести элюента.

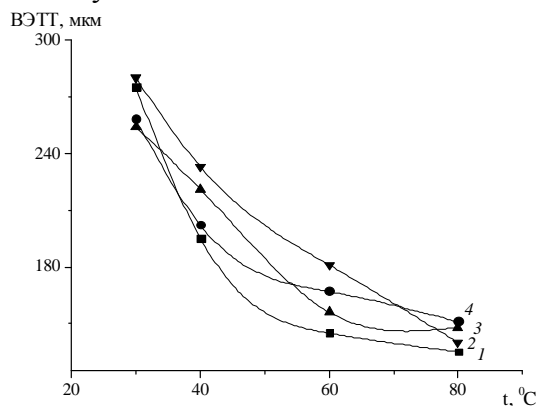


Рис. 1. Зависимость ВЭТТ от температуры. Предколонка (см. эксперимент), расход элюента (20 % об. ацетонитрила в воде) 2 см³/мин. 1 – фенол; 2 – толуол; 3 – бензол, 4 – м- крезол.

Проведенное исследование влияние скорости элюента на величину ВЭТТ при различных температурах (рис. 2) показало, что при повышенных температурах и невысоких скоростях элюента начинает проявляться негативное влияние продольной диффузии на размытие зон разделяемых компонентов. При этом летучесть аналитов не имеет решающего значения. Однако подобное отсутствие влияния летучести аналитов на величину ВЭТТ имеет место при достаточно высоких концентрациях ацетонитрила (20% и более), обеспечивающих смачиваемость силикагеля S_{18} . При более низких концентрациях ацетонитрила, когда возможно существование стационарной газовой фазы в порах сорбента, зона более летучего бензола размывается гораздо сильнее, чем нитробензола (рис. 3). При этом этот эффект проявляется тем сильнее, чем выше температура. Это может служить доказательством существования СГФ при этих условиях.

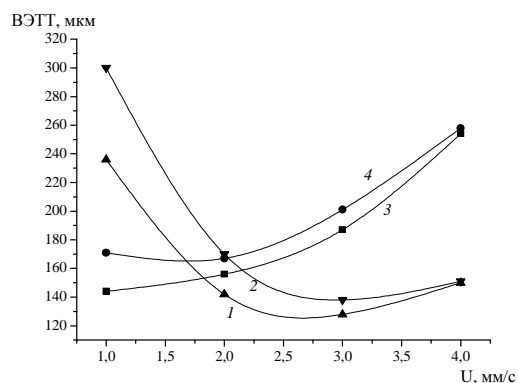


Рис. 2. Зависимость ВЭТТ от линейной скорости элюента при различных температурах. Предколонка. 1,2 – 80 °С; 3,4 – 30 °С. 1,3 – бензол; 2,4 – м-крезол.

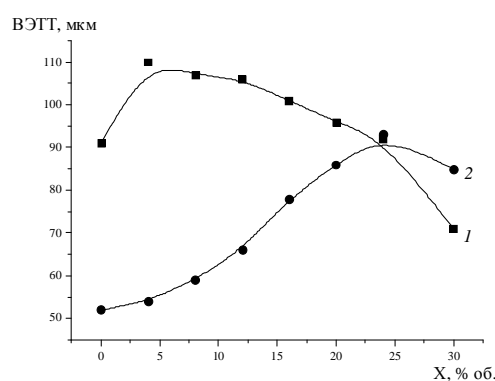


Рис. 3. Зависимость ВЭТТ от содержания ацетонитрила в элюенте для ароматических углеводородов с различной летучестью. Предколонка. Температура – 80°С. 1 – бензол, 2 – нитробензол

Определение объема СГФ в хроматографической колонке по разности свободного объема колонки и объема жидкой фазы в колонке, определенного гравиметрически, технически довольно сложно, учитывая высокое давление в колонке, и обеспечивает приемлемую для практики погрешность, если объем СГФ составляет не менее 10 % от свободного объема колонки. Более рациональным является определение объема СГФ по объему удерживания какого-либо практически не адсорбирующегося на октадецилсиликагеле тестового вещества, имеющего достаточно низкий коэффициент распределения K , который обеспечивал бы его значительное удерживание за счет распределения между подвижной жидкой фазой и СГФ. Если пренебречь адсорбцией вещества, то его объем удерживания (V_R) можно определить по формуле:

$$V_R = V_G/K,$$

где V_G – объем СГФ. В качестве подобного вещества в настоящей работе использовался ацетилен. Полученные температурные зависимости объемов удерживания аналитов с различной летучестью (рис. 4) из чистой воды могут быть объяснены с позиции существования СГФ в порах сорбентах.

Повышение температуры, приводит к увеличению смачиваемости сорбента и, как следствие, к заполнению его пор водой. При этом увеличивается объем жидкости в хроматографической колонке и, соответственно, объем удерживания KNO_3 . Объем СГФ при этом уменьшается. Объем удерживания ацетилена практически не

изменяется, поскольку с повышением температуры уменьшается не только V_G , но и K , поскольку увеличивается концентрация компонента в газовой фазе.

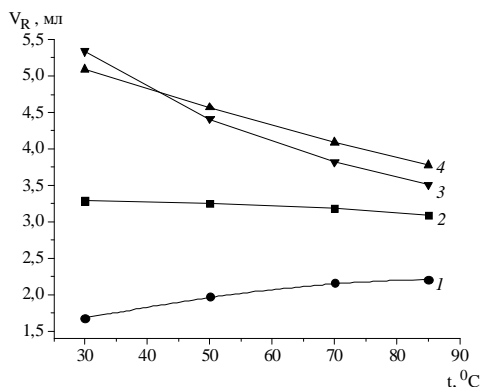


Рис. 4. Зависимость объемов удерживания аналитов с различной летучестью от температуры. Элюент – вода. Предколонка + колонка (см. эксперимент).

1 – нитрат калия; 2 – ацетилен; 3 – ДМФА; 4 – ацетон.

Поведение ацетона и ДМФА можно расценивать как традиционное – при повышении температуры происходит уменьшение их параметров удерживания, хотя для менее летучего ДМФА это уменьшение резче. Нетипичные температурные зависимости параметров удерживания для некоторых аналитов в ОФ ВЭЖХ и возможные причины их возникновения неоднократно обсуждались в литературе [12-14]. Обнаруженная нами инверсия параметров удерживания аналитов с различной летучестью (ацетона и ДМФА) при изменении температуры (рис. 4) подобна инверсии при изменении давления, которую недавно обнаружили японские исследователи, объяснив её также стационарной газовой в порах сорбента [15].

Заключение

На основании результатов выполненных исследований установлено, что повышение температуры позволяет в несколько раз снизить величину ВЭТТ в ОФ ВЭЖХ независимо от летучести аналитов. Негативное влияние высокой летучести аналитов, приводящее к их высокой продольной диффузии, проявляется лишь при низких концентрациях органического компонента в элюенте или его отсутствии и высоких температурах. Подобное влияние может быть объяснено наличием стационарной газовой фазы в порах гидрофобного сорбента, которое подтверждается температурными зависимостями параметров удерживания аналитов с различной летучестью.

Список литературы

1. Шпигун А.О. // *Заводская лаборатория*. 2012. Т. 79. № 1. С. 6-17.
2. Yu Yang // *J. Sep. Sci.* 2007. Vol. 30. pp. 1131-1140.
3. Hartonen K., Riekkola M.L. // *Trends Anal. Chem.* 2008. Vol. 27, pp. 1-7.
4. Snyder L.R., Dolan J.W. // *J. Chromatogr. A.* 2013. Vol. 1302. pp. 45-54.
5. Москвин Л.Н., Родинков О.В. // *Журнал аналитической химии*. 2004. Т. 59. № 12. С. 1283-1288.
6. Родинков О.В., Сбитнев С.В. Москвин Л.Н. // *Журнал физической химии*. 1998. Т. 72. № 2. С. 337-339.
7. Свойства органических соединений. Справочник. Под ред. А.А. Потехина. Л. Химия. 1984. 520 с.

8. Вредные вещества в промышленности. Справочник для химиков, инженеров и врачей. Под общ. Ред. Н.В. Лазарева. Изд. 7-ое. Л. Химия. 1976. Т. 1. Органические соединений. С.28.

9. Витенберг А.Г., Иоффе Б.В. Газовая экстракция в хроматографическом анализе: Парофазный анализ и родственные методы. Л. Химия. 1982. С. 28.

10. Vitenberg A.G., Novikaite N.V., Kostkina M.I. // *Chromatographia*. 1993. Vol. 35. pp. 661-666.

References

1. Shpigun A.O., *Zavodskaya laboratoriya*, 2012, Vol. 79, No 1, pp. 6-17.

2. Yu Yang, *J. Sep. Sci.*, 2007, Vol. 30, pp. 1131-1140.

<https://doi.org/10.1002/jssc.200700008>.

3. Hartonen K., Riekkola M.L., *Trends Anal. Chem.*, 2008, Vol. 27, pp. 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2007.10.010>.

4. Snyder L.R., Dolan J.W., *J. Chromatogr. A.*, 2013, Vol. 1302, pp. 45-54. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.05.082>.

5. Moskvina L.N., Rodinkov O.V., *J. of Analytical Chemistry*, 2004. Vol. 59, No 12, pp. 1165-1170.

6. Rodinkov O.V., Sbitnev C.V., Moskvina L.N., *Russian Journal of Physical Chemistry*, 1998, Vol. 72, No 2, pp. 273-275.

7. Svoistva organicheskikh soedinenii. Spravochnik, Pod red. A.A. Potekhina. L., Chemistry, 1984, 520 p.

8. Vrednye veshchestva v promyshlennosti. Spravochnik dlya khimikov, inzhenerov i vrachei. Pod obshch. Red. N.V. Lazareva. 7th publ.

Овчинникова Ольга Константиновна – магистрант Института химии Санкт-Петербургского государственного университета, Санкт-Петербург

Родинков Олег Васильевич – д.х.н., профессор, профессор кафедры аналитической химии Института химии Санкт-Петербургского государственного университета, Санкт-Петербург

11. Родинков О.В., Москвин Л.Н. // *Журнал аналитической химии*. 1995. Т. 50. № 2. С. 164-166.

12. Kwietniewski L., Rycyk M. // *J. Chromatogr. A*. 2017. Vol. 1496. pp. 45-50.

13. Galaon T., Anghel D.-F., David V. et al. // *Chromatographia*. 2013. Vol. 76, pp. 1623-1630.

14. Loeser E., Babiak S. // *J. Liq. Chromatogr. @ Rel. Technol.* 2013. Vol. 36. pp. 1959-1975.

15. Nakamura K., Nakamura H., Saito S., Shibukawa M. // *Anal. Chem.* 2015. Vol. 87. pp. 1180-1187.

L.: Chemistry, 1976., Vol. 1, Organicheskiye soyedineniya, 28 p.

9. Vitenberg A.G., Ioffe B.V. *Gazovaya ekstraktsiya v khromatograficheskom analize: Parofaznyi analiz i rodstvennye metody*, L., Chemistry, 1982, 28 p.

10. Vitenberg A.G., Novikaite N.V., Kostina M.I., *Chromatographia*, 1993, Vol. 35, pp. 661-666.

11. Rodinkov O.V., Moskvina L.N., *Zh. Anal. Khim.*, 1995, Vol. 50, No 2, pp. 164-166.

12. Kwietniewski L., Rycyk M., *J. Chromatogr. A*, 2017, Vol. 1496, pp. 45-50. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.03.021>

13. Galaon T., Anghel D.-F., David V. et al., *Chromatographia*, 2013, Vol. 76, pp. 1623-1630. <https://doi.org/10.1007/s10337-013-2540-5>.

14. Loeser E., Babiak S., *J. Liq. Chromatogr. @ Rel. Technol.*, 2013, Vol. 36, pp. 1959-1975.

15. Nakamura K., Nakamura H., Saito S., Shibukawa M., *Anal. Chem.*, 2015, Vol. 87, pp. 1180-1187. <https://doi.org/10.1021/acs503802q>.

Ovchinnikova Olga K. – graduate student of the Institute of Chemistry of St. Petersburg State University, St. Petersburg, E-mail: st058431@student.spbu.ru

Rodinkov Oleg V. – Doctor of Chemistry, Professor, Professor of the Department of Analytical Chemistry of the Institute of Chemistry of St. Petersburg State University, St. Petersburg, E-mail: o.rodinkov@spbu.ru