

УДК 543.544-414.6+543.395

О СОСТОЯНИИ ПОВЕРХНОСТИ ОКТАДЕЦИЛИЛСИЛИКАГЕЛЯ КАК СТАЦИОНАРНОЙ ФАЗЫ ДЛЯ МИЦЕЛЛЯРНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

© 2006 Е. Ю. Яковлева, Л. П. Логинова

Обсуждены литературные и экспериментальные данные о возможностях исследования состояния поверхности алкилсиликагелей, модифицированной мицеллярным раствором додецилсульфата натрия (ДСН). Методом электронной сканирующей микроскопии обнаружено, что сорбция ДСН на частицах октадецилсиликагеля C_{18} способствует их взаимному притяжению; этот эффект устраняется при введении 1-пентанола в раствор ДСН. Методом твердофазной спектрофотометрии исследована ионизация индикатора гексаметокси красного на поверхности октадецилсиликагеля C_{18} , модифицированной ДСН. Обнаружено уменьшение полярности в микроокружении адсорбированного индикатора по сравнению с микроокружением на поверхности мицелл ДСН. Обсуждены перспективы продолжения исследований при температуре выше комнатной.

Мицеллярная жидкостная хроматография (МЖХ), развивающаяся в течение последних двух десятилетий как отдельная область высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), основана на использовании мицеллярных элюентов — водных растворов поверхностно-активных веществ (ПАВ) с концентрацией выше критической концентрации мицеллообразования, как правило, содержащих небольшие добавки органических растворителей-модификаторов [1]. Являясь альтернативой обращенно-фазовой хроматографии (ОФ ВЭЖХ), МЖХ обладает рядом преимуществ, среди которых возможность одновременного разделения ионных и неионных сорбатов, возможность прямого введения в колонку биологических жидкостей без отделения белковой матрицы; уникальная селективность, обусловленная микрогетерогенностью мицеллярных элюентов и динамическим модифицированием стационарной фазы, робастность результатов, обусловленная стабилизацией концентрации мономеров ПАВ в присутствии мицелл и др. [1].

В МЖХ в качестве стационарной фазы используются те же сорбенты, что и в ОФ ВЭЖХ: алкилпривитые силикагели, чаще всего октадецилсиликагели C_{18} . Однако при пропускании мицеллярного элюента на поверхности стационарной фазы сорбируются частицы ПАВ и модификатора, что заметно меняет состояние поверхности по сравнению с состоянием в условиях ОФ ВЭЖХ. Ориентированная сорбция ПАВ приводит к образованию нового поверхностного слоя, подобного гемимицеллам [2]. Хроматографический процесс в МЖХ включает взаимодействие вещества с поверхностью мицелл элюента и мицеллоподобной поверхностью стационарной фазы. Для построения физико-химических моделей удерживания в МЖХ [3-4] необходимо знать, как отличаются свойства этих поверхностей, что и составило предмет данных исследований.

Ключевой вопрос таких исследований — выбор экспериментального метода. Для изучения поверхности микроагрегатов в мицеллярных растворах ПАВ используются те же экспериментальные методы, что и при исследовании растворов, например, спектрофотометрия с рК-пробами позволяет охарактеризовать полярность и электростатические свойства мицеллярной поверхности [5]. При изучении свойств модифицированной поверхности алкилсиликагелей речь может идти об исследовании твердых образцов или суспензий сорбент-мицеллярный раствор, что существенно затрудняет выбор экспериментального метода и условий исследования.

В данном сообщении на основе литературных данных и результатов собственных экспериментов мы обсуждаем возможности применения отдельных методов для исследования состояния поверхности алкилпривитых стационарных фаз, модифицированных мицеллярными растворами ПАВ.

Литературные данные о свойствах привитого слоя алкилсиликагелей, используемых в ОФ ВЭЖХ, получены в основном методами твердотельной ЯМР-спектроскопии и другими методами исследования твердого тела: ИК-спектроскопии, спектроскопии диффузного отражения, флуоресценции [6-8]. Установлено, что подвижность алкильных радикалов и вязкость привитого слоя зависят не только от собственных характеристик алкилсиликагеля (длина углеводородного радикала, плотность прививки), но и от температуры, наличия растворителя и свойств

последнего [6, стр. 212-218]. Отсюда следует, что информация, получаемая методами исследования твердого тела, лишь приближенно может характеризовать поведение алкилпривитого сорбента в условиях хроматографической системы.

Методом твердотельной ЯМР-спектроскопии получены также немногочисленные литературные данные о свойствах поверхности алкилсиликагелей, модифицированных ПАВ [9,10]. С использованием техники кросс-поляризации и магически-углового вращения изучена структура слоев анионного и катионного ПАВ (цетилтриметиламмоний бромида (ЦТАБ) и додецилсульфата натрия (ДСН)), сорбированных на поверхности алкилсиликагелей C_8 , C_{18} и цианопропилсиликагеля. В качестве пробы, отражающей связывание ПАВ углеводородными радикалами привитого сорбента, рассматривали атом углерода радикала ПАВ в α -положении (ближайший) к ионной головке. ЯМР-спектры образцов сорбента, обработанных ПАВ, свидетельствуют о том, что углеводородная часть мономера ДСН, включая α - атом углерода, связана с привитой фазой сорбента, а головная сульфогруппа находится вне привитой фазы. В спектре сорбата ДСН на алкилсиликагеле C_8 исчезал сигнал, свойственный несвязанному ДСН. В то же время в спектре сорбата ДСН на алкилсиликагеле C_{18} наряду с сигналом связанного ДСН оставался сигнал, свойственный чистому, несвязанному ДСН. Этот факт, неожиданный с точки зрения усиления гидрофобности при переходе от C_8 к C_{18} , не получил должной интерпретации. Подготовка образцов для ЯМР-спектроскопии включала приготовление суспензии 0.5 г сорбента и 10 мл раствора 0.05 моль/л ЦТАБ или ДСН, выдерживание ее в течение суток при периодическом перемешивании для достижения равновесия, фильтрование и высушивание под вакуумом при 35 °С в течение 2 дней.

Похожую методику подготовки образцов мы применили для исследования сорбента Silasorb SPH C_{18} (LC), модифицированного мицеллярными растворами ДСН, методом электронной сканирующей микроскопии (сканирующий микроскоп JSM-840). Навеску 0.02 г сорбента смешивали с 10 мл раствора 0.01 моль/л ДСН или с таким же объемом раствора, содержащего 0.01 моль/л ДСН и 1-пентанол с объемной долей 1%. ДСН выбран для исследований, поскольку это ПАВ чаще всего используется для приготовления мицеллярных элюентов в МЖХ; 1-пентанол является одним из наиболее эффективных модификаторов мицеллярного элюента [1,3,11]. Частицы сорбента, смоченного раствором, наносили на медный столбик, который после высыхания помещали в микроскоп. На рис. 1 приведены фотографии частиц немодифицированного сорбента и сорбента, обработанного мицеллярными растворами ДСН. Изображения получены при ускоряющем напряжении 15 кВ.

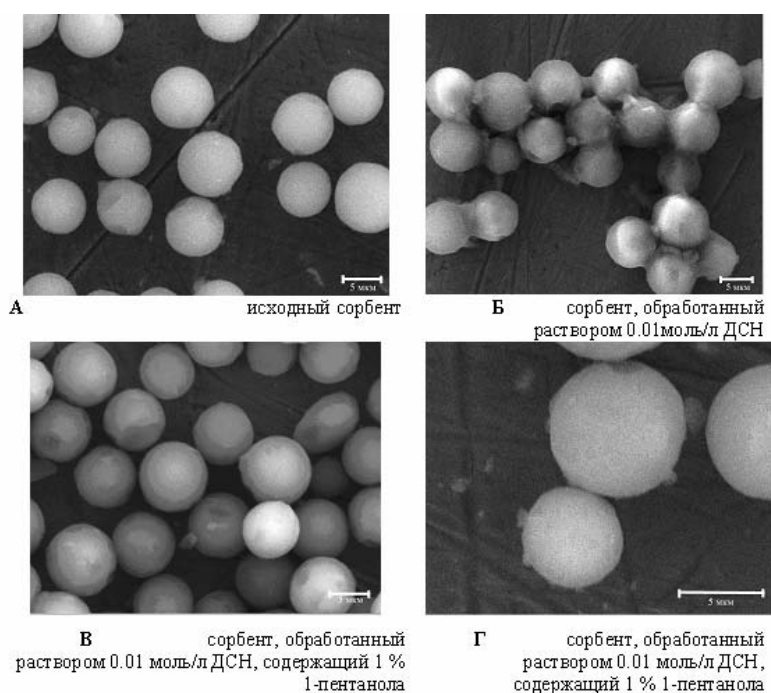


Рис. 1. Изображение частиц Silasorb SPH C_{18} (LC) (диаметр частиц 7.5 $\mu\text{м}$, удельная поверхность 300 $\text{м}^2/\text{г}$, диаметр пор 10 нм).

Как видно из сопоставления изображений на рис. 1А и 1Б, обработка сорбента раствором, содержащим только ДСН, приводит к «склеиванию» частиц сорбента. «Склеивания» не наблюдалось, когда сорбент обрабатывали раствором, содержащим ДСН и 1-пентанол (рис. 1В, 1Г). Эти наблюдения также относятся к твердотельным образцам. Можно, однако, предположить, что наблюдаемый при удалении растворителя эффект «склеивания» отражает дополнительное притягивание между частицами сорбента, покрытыми слоем сорбированного ДСН, существующее и в суспензии. Это предположение согласуется с тем фактом, что применение индивидуальных растворов ДСН в МЖХ не обеспечивает эффективного массопереноса; его улучшают добавки органических растворителей, таких как 1-пентанол [1].

Другой подход к выбору экспериментального метода в нашей работе заключался в попытке исследовать суспензии сорбентов C_{18} в мицеллярных растворах ДСН методами электронной спектроскопии: спектроскопии диффузного отражения [12,13] и твердофазной спектрофотометрии [16,17]. В качестве спектрофотометрического зонда использовали индикатор гексаметокси красный (рис. 2), ранее применявшийся для изучения мицелл ПАВ, в частности, мицелл ДСН, модифицированных 1-пентанолом [16,17].

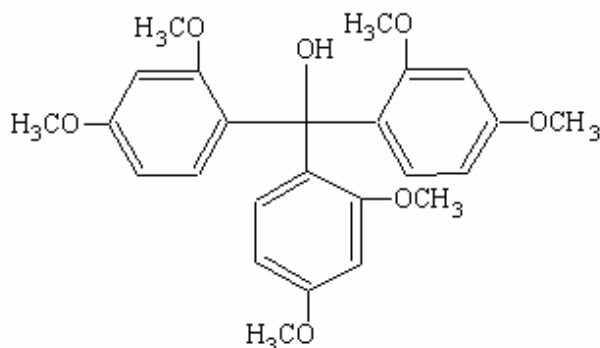


Рис. 2. Графическая формула индикатора гексаметокси красного (ГМК).

Рабочие суспензии содержали $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л индикатора, 0.01 моль/л ДСН, 0.05 г сорбента Silasorb SPH C_{18} (LC) при pH 2. Для их приготовления навеску индикатора растворяли в растворе 0.1 моль/л ДСН, к аликвоте раствора добавляли реагенты, регулирующие pH, и порошок сорбента, тщательно перемешивали, добиваясь полного смачивания сорбента. По аналогии с исследованиями аминопропилсиликагеля [13], из суспензии удаляли растворитель, высушивая ее при 115 °С в течение 4 ч. Отражение R измеряли на приборе SPECOL-10 (Carl Zeiss, Jena), стандарт отражения — оксид магния, стандарт поглощения — сажа. По измеренным величинам отражения R вычисляли значения функции Кубелки-Мунка [12]:

$$F=(1-R^2)/2R, \quad (1)$$

по которым строили спектры диффузного отражения (рис. 3). Наряду с поглощением в области 560 нм (максимум поглощения ГМК в мицеллярном растворе ДСН) в спектре диффузного отражения сорбата ГМК регистрируется поглощение и в более длинноволновой области – до 600 нм. Визуально окраска сорбата казалась более фиолетовой по сравнению с окраской ГМК в кислом растворе ДСН. На этом этапе работы не удалось обеспечить приемлемую воспроизводимость результатов, к тому же методика с высушиванием образцов непригодна для исследования влияния спиртов-модификаторов на свойства сорбата.

Такие же суспензии с индикатором при

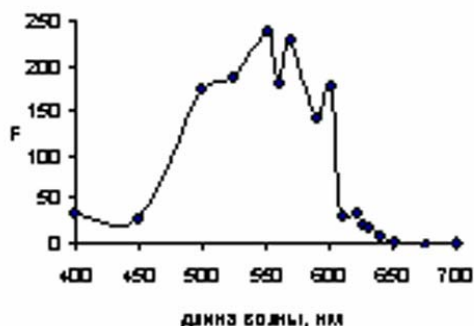


Рис. 3. Зависимость функции Кубелки-Мунка от длины волны для сорбента C_{18} с индикатором ГМК, сорбированным из мицеллярного раствора ДСН.

разных pH, содержащие 0.1 г сорбента Silasorb SPH C₁₈ (LC), исследовали методом твердофазной спектрофотометрии. В твердофазной спектрофотометрии используется обычное оборудование для спектрофотометрии растворов (в нашем случае – прибор КФК-3) и специальные приемы, позволяющие снизить потери света за счет рассеяния твердыми частицами. Один из приемов — размещение кюветы с исследуемым образцом вплотную к окошку детектора [14], другой прием — гетерохроматическая экстраполяция [15]. Спектр поглощения индикатора в суспензии регистрировали против такой же суспензии, не содержащей индикатора. В присутствии ДСН частицы суспензии оставались взвешенными в течение 15-20 мин, что позволяло выполнить измерения. После оседания частиц оказывалось, что индикатор полностью сорбирован на октадецилсиликагеле.

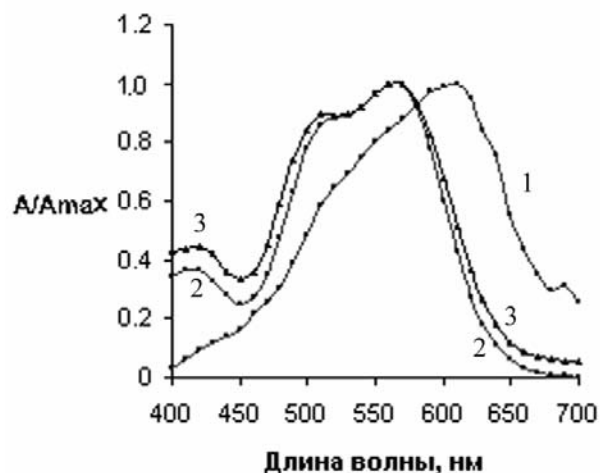
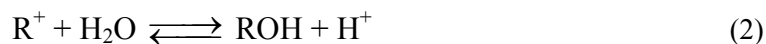


Рис. 4. Нормализованные спектры поглощения $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л гексаметокси красного:
 1 – в суспензии, содержащей 0.1 г сорбента C₁₈ и 0.01 моль/л ДСН;
 2 – в растворе, содержащем 0.01 моль/л ДСН;
 3 – в суспензии, содержащей 0.1 г сорбента C₁₈ и 0.01 моль/л ДСН (методика твердофазной спектрофотометрии).

На спектре, полученном при обычном расположении кювет, максимум поглощения был сдвинут в длинноволновую область по сравнению со спектром поглощения индикатора в мицеллярном растворе ДСН (рис. 4, кривая 1). При размещении кюветы с суспензией, содержащей индикатор, вплотную к окошку детектора, получили спектр, который качественно не отличается от спектра поглощения индикатора в мицеллярном растворе ДСН при той же кислотности, pH 2 (рис. 4, кривые 2 и 3).

С помощью приемов твердофазной спектрофотометрии мы использовали ГМК как рК-пробу для изучения модификации октадецилсиликагеля растворами ДСН. Ионизация ГМК описывается уравнением (2):



По стандартной спектрофотометрической методике были определены значения показателя кажущейся константы ионизации pK_a^a :

$$pK_a^a = pH + \lg \frac{A}{A_{R^+} - A} \quad (3)$$

где A_{R^+} – индивидуальное поглощение формы R^+ , определяемое на плато зависимости поглощения от pH в кислых растворах, когда весь индикатор превращен в эту форму; форма ROH не поглощает свет в видимой области; A – поглощение раствора, в котором присутствуют обе формы, значение pH по условиям измерения относится к объему водной фазы.

В диапазоне pH от 1.5 до 8 кислотность рабочих суспензий варьировали добавками хлороводородной кислоты и буферных растворов и контролировали потенциометрически. Буферные растворы готовили таким образом, что концентрация ионов Na⁺ во всех рабочих растворах оставалась постоянной (0.05 моль/л), чтобы обеспечить одинаковый режим мицелл [16]. При

варьировании pH от 1.5 до 2.5 добавками HCl в растворы вводили NaCl. Замену противоионов Na^+ на H^+ можно считать эквивалентной, поскольку соответствующая константа обмена для ДСН близка к 1 [18]. Значения pH от 4 до 5 создавали ацетатными буферами, pH от 6 до 8 создавали фосфатными буферами (Na_2HPO_4 и NaH_2PO_4). Серию измерений поглощения в зависимости от pH повторяли трижды. Полученное значение показателя кажущейся константы ионизации ГМК $pK_a^a = 5.72$ со стандартным отклонением 0.10 превышает значение $pK_a^a = 5.24$, полученное в мицеллярном растворе 0.02 моль/л ДСН при той же концентрации добавленных противоионов — 0.05 моль/л Na^+ [16].

Из изотерм сорбции, полученных в первых работах по изучению свойств стационарной фазы в МЖХ [1,19,20], следует, что в условиях исследований с рК-пробой на октадецилсиликагеле сорбируется примерно половина общего количества ДСН. Поскольку краситель полностью локализуется на частицах сорбента, можно утверждать, что наблюдаемое значение кажущейся константы ионизации ГМК характеризует свойства поверхности октадецилсиликагеля, модифицированного ДСН. Судя по более высокому значению pK_a^a , на «мицеллоподобной» поверхности модифицированного ДСН октадецилсиликагеля индикатор находится в менее полярном микроокружении, чем при локализации на мицеллах ДСН в растворе.

Описанные выше исследования выполнены при температуре около 20 °С; твердофазная ЯМР-спектроскопия выполнялась при 25 °С [9], в то же время изотермы сорбции получены при 30 °С [1,19,20]. Возможно, слабо выраженные эффекты в наших исследованиях методом твердофазной спектрофотометрии и наблюдаемые в [9] различия в состоянии ДСН на поверхности алкилсиликагелей C_8 и C_{18} можно объяснить особенностями температурных условий. Известно, что на зависимостях свойство-температура для алкилпривитых силикагелей существуют точки излома [6]. Их обычно интерпретируют как фазовые переходы, обусловленные «плавлением» привитого слоя. Температура перехода для плотного монослоя октадецилдиметилсилана составляет 26.5 °С [6, стр. 218]. Для привитых слоев с радикалами, содержащими больше 18 атомов углерода, температура перехода примерно соответствует температуре плавления нормального алкана [6], в частности, 29-30 °С для C_{18} [21]. Для более коротких радикалов температура перехода значительно ниже температуры плавления соответствующего алкана [6]. Таким образом, в условиях подготовки образца для ЯМР-исследований [9] привитой слой алкилсиликагеля C_8 находился в «расплавленном» состоянии, а привитой слой C_{18} — в «твердом» состоянии. Меньшая подвижность привитых радикалов C_{18} в последнем случае могла не обеспечить полное связывание ДСН, что и проявилось в спектрах.

Отсюда следует, что исследования свойств поверхности октадецилсиликагеля, используемого в МЖХ и модифицированного мицеллярными растворами ДСН, целесообразно продолжить при температуре выше 30 °С.

Авторы выражают благодарность Министерству образования и науки Украины за финансирование НДР № ДР 0106U003109, ст.н.с. кафедры физических технологий Крышталю А.П. за электронно-микроскопические исследования, мл.н.с. кафедры химической метрологии Бойченко А.П. за помощь в подготовке рисунков.

Литература

1. Berthod A., Garcia-Alvarez-Coque M.C. Micellar Liquid Chromatography. – New York: Marcel Dekker, 2000. — 632 p.
2. Rosen M.J. Surfactants and Interfacial phenomena. – New-York: Wiley-Interscience, 2004. — 444 p.
3. Loginova L.P., Samokhina L.V., Boichenko A.P., Kulikov A.U. Micellar liquid chromatography retention model based on mass-action concept of micelle formation // J. Chromatogr. A — 2006. — Vol. 1104. — P. 190-197.
4. Логинова Л.П., Самохина Л.В., Куликов А.Ю. Характеристики мицеллообразования как параметры модели удерживания в мицеллярной жидкостной хроматографии // Вестник Харьков. нац. ун-та. Химия. — 2002. — № 9(32). — С. 107-114.
5. Healy T.W., Lovelock B., Grieser F. Solid/Liquid Dispersions. — London: Academic Press, 1987. — 275 p.

6. Химия привитых поверхностных соединений / Под. ред. Г.В. Лисичкина — М.: Физматлит, 2003. — 592 с.
7. Sentell K.B. Nuclear magnetic resonance and electron spin resonance spectroscopic investigations of reversed-phase liquid chromatographic retention mechanisms: stationary phase structure // J. Chromatogr. A — 1993. — Vol. 656. — P. 231-263.
8. Rutan S. C., Harris J.M. Electronic spectroscopic investigations of the stationary phase in reversed-phase liquid chromatography // J. Chromatogr. A — 1993. — Vol. 656. — P. 197-215.
9. Lavine B.K., Cooper W.T., He Y., Hendayana S., Han J.H., Tetreault J. Solid-state ¹³C NMR studies of ionic surfactants adsorbed on C-18 and C-8 silicas: implications for micellar liquid chromatography // J. Colloid Inter. Sci. — 1994. — Vol. 165. — P. 497-504.
10. Lavine B.K., Hendayana S., He Y., Cooper W.T. Solid-state NMR studies of ionic surfactants adsorbed on cyanopropyl bonded phase: implications for micellar liquid chromatography // J. Colloid Inter. Sci. — 1996. — Vol. 179. — P. 341-349.
11. Kulikov A.U., Loginova L.P., Samokhina L.V. Influence of Various Factors on the Chromatographic Behavior of Cytostatic Antibiotics of Rubomicin Derivatives in Micellar Liquid Chromatography // Chromatographia — Vol. 57. — 2003. — P. 463-469.
12. Kubelka P., Munk F. // Z. Tech. Phys. — 1931. — Bd. 12. — S. 593.
13. Христенко И.В., Холин Ю.В., Мчедлов-Петросян Н.О. Зондирование поверхности аминокремнеземов сольватохромным бетаиновым индикатором Райхардта // Вестник Харьков нац. ун-та. Химия. — 2002. — № 549. — С. 115-118.
14. Брыкина Г.Д., Марченко Д.Ю., Шпигун О.А. Твердофазная спектрофотометрия // Журн. анал. химии — 1995. — Т. 50, № 5. — С.484-491.
15. Булатов М.И., Калинин И.П. Практическое руководство по фотоколориметрическим и спектрофотометрическим методам анализа. — Л.: Химия, 1972. — 408 с.
16. Мчедлов-Петросян Н.О. Дифференцирование силы органических кислот в истинных и организованных растворах. — Х.: ХНУ, 2004. — 326 с.
17. Логинова Л.П., Маслий О.Г., Решетняк Е.А., Евсюкова Л.В., Коцюр И.Н., Дементьева Т.А., Шумахер А.С., Мчедлов-Петросян Н.О. Потенциометрическое и спектрофотометрическое исследование связывания противоионов мицеллами додецилсульфата натрия и меди // Вестник Харьков нац. ун-та. Химия — 1998. — № 2. — С. 223-229.
18. Romsted L.C., Zanette D. // J. Phys. Chem. — 1988. — Vol. 92. — P. 4690-4696.
19. Berthod A., Girard I., Gonnet C. Micellar liquid chromatography. Adsorption isotherms of two ionic surfactants on five stationary phases // Anal. Chem. — 1986. — Vol. 58. — P. 1356-1358.
20. Berthod A., Roussel A. The role of the stationary phase in micellar liquid chromatography. Adsorption and efficiency // J. Chromatogr. — 1998. — Vol. 449. — P. 349-360.
21. Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии. — Воронеж: Водолей, 2004. — 528 с.

Поступила в редакцию 16 августа 2006 г.

Kharkov University Bulletin. 2006. №731. Chemical Series. Issue 14(37). E. Iu. Yakovleva, L. P. Loginova. State of the surface of octadecyl silica as a stationary phase for micellar liquid chromatography.

The possibility to study the state of octadecyl silica surface modified by micellar solution of sodium dodecyl sulfate (SDS) has been discussed using the literature and experimental data. Scanning electron microscopy has been used to study SDS sorption on the octadecyl silica C₁₈ particles. SDS sorption is shown to facilitate the attractive interactions between C₁₈- particles. This effect is vanishing in the presence of 1-pentanol in SDS micellar solution. Solid state spectrophotometry has been used to study the ionization of hexametoxy red adsorbed on the octadecyl silica C₁₈ modified by SDS. The decrease of polarity is observed in the micro-vicinity of modified C₁₈ surface in comparison with microenvironment of the SDS micelle surface. Issues of future experiments at temperatures higher than the room temperature are discussed.