

ČESKOSLOVENSKÁ
SOCIALISTICKÁ
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

267 860

(11)

(13) B1

(51) Int. Cl.⁴
G 01 N 30/56

(21) PV 422-87.J

(22) Přihlášeno 20 01 87

(40) Zveřejněno 12 07 89

(45) Vydáno 01 04 90

(75)
Autor vynálezu

ROZPRÁVKA JAROSLAV ing. CSc., PRAHA,
MISTRJUKOV ELEKTRON ALEXANDROVIČ RNDr. DrSc.,
MOSKVA (SU)

(54)

Způsob nanášení vysocepolární stacionární
fáze na vnitřní povrch kapiláry chromatogra-
fické kolony

(57)

Úkolem je vytvoření snadného a opakovatelného způsobu nanášení vysokopolární kapalinové kyanosilikonové stacionární fáze na vnitřní povrch flexibilní křemenné, nebo skleněné kapiláry. Jako rozpouštědlo stacionární kapalinové fáze byl použit akrylonitril. Produkty polymerizace akrylonitrilu jsou současně modifikátorem vnitřního povrchu kapiláry při vytvořených podmínkách vypařování. Nanesením vrstvy stacionární kapalinové fáze je provedeno v jediném kroku s modifikací vnitřního povrchu a odstraněním části rozpouštědla modifikátoru při současném axiálním kmitavém pohybu kapiláry vpřed rychlostí 10 až 15 mm s⁻¹ v předehřívací zóně při teplotě 350 až 400 °C po dobu 2 až 5 s a dalším temperováním zóny při teplotě 150 až 200 °C.

Vynález patří do oblasti chromatografie, především plynové a konkrétněji do oblasti modifikace způsobu výroby skleněných a křemenných kapilárních chromatografických kolon s vysokopolární stacionární kapalinovou fází.

Separční schopnost kapilární chromatografické kolony a její specifika separace závisí na chemické struktuře kapalinové stacionární fáze a kvalitě jejího nanesení. Pro separaci polárních látek, která se vyskytují nejčastěji ve formě alkoholů kyselin, se používají kyanosilikonové kaučuky různého stupně polymerace a obsahu kyanidových skupin. Daná stacionární kapalinová fáze nesmáčí vnitřní povrch skleněné nebo křemenné kapiláry, protože z jejího povrchu jsou odstraněny částečně nebo úplně silné polární komponenty - ionty kovů při předběžném opracování povrchu, za účelem odstranění ireverzibilních center adsorbce a vytvoření homogenní kvality po celé ploše hranice rozdělení fáze.

Daný problém se řeší prostřednictvím vytvoření mezivrstvy na hranici rozdělení kapalně a tekuté fáze, která mění povrchovou aktivitu, zvyšuje povrchovou energii stěny kapiláry a tím umožní smáčení stěny silně polární kapalinovou fází.

Je znám způsob nanášení vysokopolární kyanosilikonové stacionární kapalinové fáze na kapilární chromatografické kolony (Kozuharov S. J., J. Chromatogr., 1980, vol. 198, p. 153), při kterém se kapilára plní dynamickým způsobem předem připravenou suspenzí křemičité zeminy, s částicemi o velikosti 5 až 30 mm v acetonu, která byla předem připravena ve vodní lázni. V uvedené suspenzi byla zároveň rozpouštěna vysokopolární kyanosilikonová stacionární kapalinová fáze. Po naplnění kolony suspenzí, rozpouštědlo se vyfouká proudem inertního plynu během 3 až 4 hodin. Kapilární kolona se temperuje zahříváním s rychlostí 0,2 až 0,3 °C min⁻¹ do 195 °C, při rychlosti proudu inertního plynu 1 až 2 ml min⁻¹.

Vysokopolární kapilární kolony s kyanosilikonovou stacionární kapalinovou fází, vyrobené uvedeným způsobem, mají nanesenou vrstvu stacionární fáze s rozdílnou strukturou a tloušťkou, což značně snižuje efektivnost práce kolony.

Jiný způsob (Markides K. a kol., J. Chromatogr., 1983, vol. 267, p. 29.), sestává ze zpracování vnitřního povrchu kapiláry 5 % roztokem kyseliny chlorovodíkové ve vodním skle, kterým se naplní 10 % vnitřního objemu kapiláry, načež se kolona na koncích zataví a tak hermeticky uzavřena se zahřívá při teplotě 100 až 150 °C po dobu 2 hodin. Po ochlazení se kapilára promyje zředěnou kyselinou chlorovodíkovou (pH=3) a poté metanolem. Vnitřní povrch se pak profoukává vodíkem při 260 °C po dobu 5 hodin a po ochlazení se kolona plní 20 % roztokem cyklického kyanosilikonu v metylenchloridu, rychlostí 20 ml s⁻¹. Rozpouštědlo se odpařuje volně v průběhu 6 hodin a poté se vnitřní objem vakuuje, zataví se oba konce kapiláry, která se pak nahřívá rychlostí 5 °C min⁻¹ až do teploty 395 °C, při které se temperuje 0,7 hodiny. Po ochlazení kapiláry se vnitřní objem promyje metylenchloridem a profouká proudem suchého dusíku. Na takto připravený vnitřní povrch se nanese staticky, s použitím vodní lázně, vysokopolární kyanosilikonová stacionární kapalinová fáze, která se polymeruje organickým peroxidem při zahřívání rychlostí 5 °C min⁻¹ a temperování po dobu 0,7 hodiny při 170 °C. Po ukončení polymerace se rozpustná část odstraní dalším promytím metylenchloridem.

Tímto způsobem se dají vyrobit vysokopolární kapilární chromatografické kolony s průměrnou efektivností 3 200 ekvivalentních teoretických pater na metr (e.t.p.m⁻¹), pomocí naftalénu. Uvedený způsob má však nedostatky ve vysokém kolísání pracovních parametrů kapilárních kolon (± 25 %), vysoké časové náročnosti výroby, minimálně 20 hodin a ve vysokém podílu složitých a přesných ručních operací.

Uvedené nedostatky odstraňuje způsob nanášení vysocepolární kyanosilikonové stacionární kapalinové fáze na vnitřní povrch skleněné nebo křemenné kapiláry chromatografické kolony, jejíž povrch je upraven dezaktivací silanem rozpuštěným v kyselině chlorovodíkové, dále hydrogenací a odpařením rozpouštědla a vytvořením vrstvy vysocepolární kyanosilikonové stacionární kapalinové fáze včetně její polymerace, jehož podstata je, že jako rozpouštědla kapalinové stacionární fáze a zároveň modifikátoru vnitřního povrchu je použito akrylonitrilu a nanesení vrstvy stacionární kapalinové fáze je provedeno v jediném kroku s modifikací vnitřního povrchu a odstraněním části rozpouštědla modifikátoru při současném axiálním kmitavém pohybu kapiláry vpřed rychlostí 10 až 15 mm s⁻¹ v předehřívací zóně při teplotě 350 až 400 °C po dobu 2 až 5 s a dalším temperováním zóny při teplotě 150 až 200 °C.

Cílem podaného vynálezu je vytvoření méně složitého způsobu nanášení vysokopolární kyanosilikonové stacionární kapalinové fáze a zvýšení pracovních parametrů kapilárních kolon a dosažení vyšší stabilitu těchto pracovních parametrů.

Vytyčený účinek je dosažen tím, že skleněná, nebo křemenná kapilára se nejprve zpracuje silanem a kyselinou chlorovodíkovou, pak se povrch hydrogenuje, vytvoří se mezivrstva modifikátoru vnitřního povrchu, na kterou se nanese statickým způsobem vrstva vysocepolární kapalinové stacionární fáze a provede se její polymerace. Jako rozpouštědlo stacionární kapalinové fáze a zároveň modifikátor vnitřního povrchu, je použit akrylonitril a nanesení vrstvy stacionární kapalné fáze a modifikace vnitřního povrchu probíhá ve stejném stadiu výroby, při neúplném odstranění rozpouštědla. Část rozpouštědla vytváří polymerní mikrostrukturu, která se také chemicky váže na vnitřní povrch kapiláry, vytvářejíc tím kompenzační mezivrstvu. Modifikace a nanášení probíhá při axiálně kmitavém pohybu před zónou předehřívání, při teplotě 350 až 400 °C a temperování opracované zóny při teplotě 150 až 200 °C.

Dále uvedené příklady ilustrují předmět vynálezu:

Příklad 1

Křemenná kapilární trubka (syntetický křemen), jejíž vnější povrch je pokryt termostabilním polybenzimidním lakem, s vnitřním průměrem 250 μm a délkou 20 m, se předem uvnitř upraví silanem v 50 % kyselině chlorovodíkové a poté se oba konce zataví a zahřívá po dobu 1 hodiny, při teplotě 130 až 150 °C a poté se promyje kyselinou chlorovodíkovou ($\text{pH}=3$) a metanolem. Po použití metanolu se kapilára vysuší a postupně nahřívá v slabém proudu vodíku, při teplotě 260 °C po dobu 5 hodin, načež se vnitřní objem naplní 0,25 % roztokem vysocepolární kyanosilikonové stacionární kapalinové fáze v akrylonitrilu. Poté se jeden konec zataví tak, aby zůstala část vnitřního objemu o délce 50 až 60 mm uvnitř prázdná. Vytvoření vrstev se provádí při axiálním kmitavém pohybu vpřed v předehřívací zóně rychlostí 15 mm sec^{-1} , při teplotě 350 °C. Poté se kapilára temperuje v termostatu při 150 °C.

Způsob dle vynálezu dovoluje vyrobit vysoceefektivní kapilární kolony s průměrnou efektivností 3 400 ekvivalentních teoretických pater na metr (e.t.p.m^{-1}), (pomocí naftalénu). Kolísání v efektivnosti nepřevýšilo ± 8 %. Kolony vyrobené uvedeným způsobem mají vyšší průměrnou efektivnost a také nižší odchylky pracovních parametrů, než je tomu u nejbližšího známého způsobu.

Příklad 2

Skleněná kapilární trubka o délce 50 m, s vnitřním průměrem 250 μm , vyrobená z boritého skla (značky "Pyrex") je předem zpracována uvnitř silanem rozpustným v 50 % kyselině chlorovodíkové, při teplotě 130 až 150 °C po dobu 1 hodiny v zatavené kapiláře. Poté se promyje zředěnou kyselinou chlorovodíkovou ($\text{pH}=3$) a metanolem. Po promytí se vysuší a zahřívá v pomalém proudu vodíku, při teplotě 260 °C v průměru 5 hodin. Poté se kapilára naplní roztokem vysocepolární kyanosilikonové stacionární kapalinové fáze (0,25 % hmot.) v akrylonitrilu, načež jeden konec se zataví tak, aby zůstala část vnitřního objemu o délce 50 až 60 mm uvnitř volná. Vytvoření vrstev se provádí při axiálním kmitavém pohybu vpřed v zóně přednahřívací rychlostí 15 mm sec^{-1} při teplotě 400 °C a poté temperovací teplotě v termostatu 200 °C.

Průměrná efektivnost takových kolon 3 280 e.t.p.m^{-1} (pomocí naftalénu) a kolísání v efektivnosti nepřevyšovalo 9 %. Uvedený způsob dovoluje vyrobit také vysoceefektivní kapilární kolony, s vyššími středními pracovními parametry a nižším kolísáním pracovních parametrů ve srovnání s nejbližším známým způsobem.

Příklad 3

Skleněná kapilární trubka o délce 50 m s vnitřním průměrem 250 μm , vyrobená z boritého skla značky Pyrex se předem naplní silanem v 50 % kyselině chlorovodíkové, oba konce kapiláry se zataví a zahřívá se po dobu 1 hodiny při teplotě 100 až 150 °C. Poté se kapilára promyje zředěnou kyselinou chlorovodíkovou ($\text{pH}=3$) a metanolem. Po promytí kapilár se vysuší a nahřívá v slabém proudu vodíku při teplotě 260 °C po dobu 5 hodin a poté se naplní 0,25 % roztokem vysocepolární kyanosilikonové stacionární kapalinové fáze v akrylonitrilu. Jeden konec se zataví tak, aby ve vnitřním objemu kapiláry zůstal volný prostor o délce 50 až 60 mm. Vytvoření vrstev se provádí při axiálním kmitavém pohybu vpřed přednahřívací zóně rychlostí 15 mm sec^{-1} při teplotě 370 °C a poté při teplotě temperování v termostatu 170 °C.

Průměrná efektivnost vyrobených kolon byla 3 260 e.t.p.m⁻¹ pomocí naftalénu. Kolísání v efektivnosti nepřevyšovalo 9 %. Kolony, vyrobené tímto způsobem mají vyšší pracovní parametry ve srovnání s nejbližším známým způsobem.

Způsob dle vynálezu má následující výhody:

1. Vyšší stabilita pracovních parametrů kapilárních kolon. Kolísání v efektivnosti nepřevyšuje 9 %.
2. Vyšší průměrná efektivnost, při použití křemenných kapilár 3 400 e.t.p.m⁻¹ a při použití skleněných kapilár 3 280 e.t.p.m⁻¹ ve srovnání s nejbližším způsobem při použití křemenných kapilár 3 200 e.t.p.m⁻¹.
3. Proces výroby je méně složitý a obsahuje méně ručních operací a je kratší (11 hodin), ve srovnání s nejbližším známým způsobem (20 hodin), protože modifikace probíhá v jediném kroku s nanesením kapalinové stacionární fáze a není třeba zdlouhavé operace dynamického nanášení modifikátoru, odpaření rozpouštědla, vakuování vnitřního objemu kapiláry, opracování teplem, promytí a vysušení.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob nanášení vysocepolární stacionární fáze na vnitřní povrch kapiláry chromatografické kolony, jejíž povrch je upraven dezaktivací silanem rozpuštěným v kyselině chlorovodíkové, dále hydrogenací a odpařením rozpouštědla a vytvořením vrstvy vysocepolární kyanosilikonové stacionární kapalinové fáze včetně její polymerace, vyznačené tím, že se jako rozpouštědlo kapalinové stacionární fáze a zároveň modifikátor vnitřního povrchu použije akrylonitril a nanesení vrstvy stacionární kapalinové fáze se provede v jediném kroku s modifikací vnitřního povrchu a odstraněním části rozpouštědla modifikátoru při současném axiálním kmitavém pohybu kapiláry vpřed rychlostí 10 až 15 mm s⁻¹ v předehřívací zóně při teplotě 350 až 400 °C po dobu 2 až 5 s a dalším temperováním zóny při teplotě 150 až 200 °C.