



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

230581

(11) (B2)

(51) Int. Cl.³

G 01 N 31/08

(22) Přihlášeno 04 03 81
(21) (PV 1559-81)

(40) Zveřejněno 30 12 83

(45) Vydáno 15 05 86

(72) Autor vynálezu TYIHÁK ERNŐ, BUDAPEŠT, MINCSOVICS EMIL, SZENTENDRE, TÉTÉNYI PÉTER dr.,
KALÁSZ HUBA dr., BUDAPEŠT, NAGY JÁNOS dr., SZENTENDRE,
KNOLL JÓZSEF dr., ZOLTÁN SÁNDOR, LAK ISTVÁN, BUDAPEŠT (MLR)
(73) Majitel patentu LABOR MŰSZERIPARI MŰVEK, ESZTERGOM (MLR)

(54) Deska pro tenkovrstvou tlakovou chromatografií

Vynález se týká desek pro tenkovrstvou chromatografií, které je možné s výhodou používat v zařízeních pro tenkovrstvou tlakovou chromatografií při vývinu lineárního chromatogramu.

Tenkovrstvá chromatografie jakožto kapalinová chromatografie v rovinném uspořádání je způsob, při kterém mobilní fáze, tj. rozpouštědlová složka, putuje po stacionární fázi, tj. na rozpouštědlové složce nebo na adsorbentu a unáší sebou jednu nebo více sloučenin různými rychlostmi. Nejvýznamnějším procesem je distribuce putujících sloučenin mezi dvě fáze.

Nevýhodou klasické tenkovrstvé chromatografie je dlouhá doba vyvíjení a to v důsledku krátké desky s vrstvou, dělení není dokonalé a teoretický počet desek je omezený.

Významný pokrok přinesl vývoj vysokoučinné tenkovrstvé chromatografie (HPTLC) (A. Zatkis a R. E. Kaiser: High Performance Thin-Layer Chromatography, Elsevier, 1977). Proti klasické tenkovrstvé chromatografii se dosahuje lepšího rozdělení při kratší eluční době a na kratší vzdálenost.

Nejnovější technikou je ale tzv. tlaková tenkovrstvá chromatografie (maďarský patent č. 173 749), kterou lze uskutečnit jak na tenkých tak i na silných vrstvách a dělení je při tom nejrychlejší. Při tlakové tenkovrstvé chromatografii protéká rozpouštědlový systém v důsledku přetlaku vrstvou adsorbentu v uzavřeném systému. Celá vrstva adsorbentu je s výhodou pokryta elastickou fólií, která je vnějším tlakem přitlačena na vrstvu adsorbentu. Tlak 0,2 až 1,0 MPa, kterým je fólie přitlačována, je vždy vyšší než tlak 0,1 až 0,8 MPa pod kterým protéká kapalná složka. Ve srovnání s dříve známými chromatografickými způsoby v rovinném uspořádání, se v tzv. tlakové ultramikronové komoře dosáhne lepšího dělení ve

velmi krátké době 1 až 10 minut. Byla zkonstruována aparatura jak pro koncentrické, tak i pro lineární chromatogramy.

Základním problémem lineární alternativy tlakové tenkovrstvé chromatografie je to, že v důsledku přetlaku uniká na okrajích chromatografické vrstvy rozpouštědlová složka a že fronta rozpouštědla není přímá, neboť při přívodu rozpouštědla dochází ke vzniku koncentrických, semicirkulárních nebo čtvrtcirkulárních linií fronty, například v tom případě, kdy se rozpouštědlo přivádí v jednom bodě.

Cílem vynálezu je vývoj takové desky pro tenkovrstvou chromatografii, která by se dala použít v zařízení pro tlakovou tenkovrstvou chromatografii s tím, že by vyvíjecí rozpouštědlová složka neunikala na okrajích desky a s tím, že by rozpouštědlová složka putovala s rovným čelem fronty.

Vynález je založen na poznatku, že v případě, kdy je vrstva adsorbentu na okrajích desky s vrstvou vhodným způsobem utěsněna, rozpouštědlo při třetlaku neuniká.

Podstata desky pro tenkovrstvou tlakovou chromatografii s vrstvou adsorbentu, který je na ni uložen spočívá v tom, že vrstva adsorbentu je alespoň na dvou okrajích desky utěsněna a v místě popřípadě u místa přívodu rozpouštědlové složky alespoň v jedné zóně je tato vrstva adsorbentu z nosné desky odstraněna.

Vrstva adsorbentu může být odstraněna v jedné nebo několika tenkých zónách. Je také možné umístit přímo do fronty místa přívodu rozpouštědlové složky tenkou přepážkovou desku, desky nebo dráty, čímž se vytvoří minikomárka s rozpouštědlovou složkou, čímž se dosáhne toho, že čelo fronty rozpouštědlové složky je rovné.

Utěsnění vrstvy adsorbentu podle vynálezu se provede impregnací, nebo se vrstva adsorbentu stlačí použitím práškovaného skla, přičemž na okrajích vrstvy a v chromatografickém poli je toto stlačení různé. Nebo se vytvoří v nosné desce jedna nebo více rovnoběžných drážek, přičemž sama nosná deska se na okrajích utěsní, nebo v případě, že se používá keramická nosná deska opatří se její konce glazurou, například cíncolovnaté běloby.

Materiály pro impregnaci nebo glazuru by měly být nerozpustné v rozpouštědle, které se při chromatografii používá, neměly by se měnit vlivem přetlaku rozpouštědlové složky a vlivem daných teplotních podmínek a nemělo by mezi nimi docházet k žádným chemickým reakcím s vrstvou adsorbentu, fólií nebo utěsněním vrstvy adsorbentu.

Jako impregnační materiál se s výhodou používá parafin, syntetické roztoky nebo suspenze a vodní sklo, tj. křemičitan sodný. Okraje keramických desek se mohou pokrývat glazurou cíncolovnaté běloby. Jestliže se používá pro stlačení práškovité sklo, pak se na okrajích nosné desky používá sklo různé kvality, popřípadě se pro utěsnění okrajů nosné desky mohou používat i jiné editiva.

Při jednorozměrném vyvíjení je postačující, jestliže se utěsní dva okraje vrstvy a dále strans opačná ke směru postupu fronty. Při dvojrozměrném vyvíjení je ale nutné utěsnit vrstvu na všech čtyřech stranách. Při dvojrozměrném lineárním vyvíjení s použitím vloženého rozpouštědla je postačující utěsnit dva opačné okraje vrstvy desky, s výhodou dvě delší strany.

Šířka těsnicí vrstvy se může pohybovat mezi 0,05 až 3 cm. Nejvýhodnější je vrstva 1 cm nebo tenčí. Délka vrstvy je shodná s délkou chromatografické vrstvy.

Rovného čela fronty vyvíjející rozpouštědlové složky se dosáhne podle vynálezu tím, že se v místě nebo blízko místa přivádění rozpouštědlové složky odstraní vrstva adsorbentu o šířce 0,1 až 0,5 mm v jedné nebo několika zónách. Tím se získá na nosné desce zóna bez

adsorbentu. Maximální délka takto vytvořených drážek je stejná jako délka vrstvy adsorbentu, která zůstává po pokrytí konců desky, s výhodou je ale o 1 až 20 mm kratší a to na obou stranách nosné desky. Drážky mohou být uspořádány jedna vedle druhé. Maximální hloubka drážek není větší než tloušťka vrstvy adsorbentu. Počet drážek se může pohybovat s výhodou mezi 1 až 4.

Před místo nebo místa nanášení vzorku lze vložit drát nebo dráty o průměru 0,05 až 1,0 mm nebo přepážkové desky. Maximální délka přepážkových desek nebo drátů po pokrytí okrajů desek je stejná jako délka vrstvy adsorbentu, s výhodou je ale kratší o 1 až 20 mm na obou stranách desky. Přepážkové destičky nebo dráty se mohou umístit vedle sebe. Jejich počet je s výhodou 1 až 4. S výhodou se používá bezotvorová syntetická deska fixovaná glazováním vrstvy desky.

V části přívodu rozpouštědla na vrstvu desky, která byla vyrobena, jak je shora uvedeno, se může vytvořit také tak zvaná koncentrační zóna. To znamená, že se na vrstvu adsorbentu aplikuje zóna další vrstvy. Materiálem, který se pro tuto vrstvu používá je například křemičitá zemina, práškové sklo, syntetický prášek nebo celit, tj. jde spíše o nosiče než o adsorbenty, používané pro dělení, jako např. o kysličník hlinitý nebo silikagel. U nízkoporézní vrstvy jemného zrnění se ale příležitostně používá vysokoporézní silikagel se širokým rozmezím velikosti pórů. Takto vyrobená dvojitá vrstva usnadňuje zkoncentrování vzorku.

Pro vrstvu chromatografické desky podle vynálezu se s výhodou používá vrstva s jemným zrněním o velikosti zrna 0,5 až 10 μm nebo s normálním zrněním o velikosti zrna 10 až 40 μm . Jakoukoliv komerčně dostupnou desku s vrstvou lze upravit podle vynálezu pro tenkovrstvou tlakovou chromatografii. Vrstvu adsorbentu lze ovšem vyrobit i nekomerčně, přímo v laboratoři.

Nový a vyšší účinek desek vyrobených podle vynálezu spočívá především v tom, že v případě přetlaku neuniká u desky, vyrobené podle vynálezu, vyvíjecí rozpouštědlová složka na okrajích desky a dále v tom, že rozpouštědlová složka postupuje s rovným čelem fronty. Tento účinek nebylo až dosud možno u známých desek pro tenkovrstvou tlakovou chromatografii dosáhnout.

Příkladné provedení vynálezu je znázorněno na přiložených výkresech, kde na obr. 1 je schematicky znázorněna deska pro tenkovrstvou tlakovou chromatografii se silikagelovou vrstvou, obr. 2 je schematicky znázorněna deska pro tenkovrstvou tlakovou chromatografii se silikagelovou vrstvou s impregnovaným okrajem, kde regulaci rozpouštědla zajišťují drážky, obr. 3 je znázorněna deska pro tenkovrstvou tlakovou chromatografii s impregnovaným okrajem a koncentrační zónou, obr. 4 je znázorněna deska pro tenkovrstvou tlakovou chromatografii s vrstvou z křemičitanu hořečnatého, impregnovanou na čtyřech stranách, u níž se rozpouštědlo v obou rozměrech reguluje syntetickou fólií, obr. 5 je znázorněna deska pro tenkovrstvou tlakovou chromatografii, u níž je vrstva adsorbentu uložena v drážkách, vytvořených v nosné desce.

Na obr. 1 je znázorněna deska pro tenkovrstvou tlakovou chromatografii, opatřená silikagelovou vrstvou 1, impregnovanou pevným parafinem. Na čele přívodu 3 rozpouštědla je umístěn ocelový drát 4, za nímž jsou uspořádána místa 2 pro nanášení vzorku.

Na obr. 2 je znázorněna deska pro tenkovrstvou tlakovou chromatografii, která je opatřena drážkami 2, uspořádanými pro regulaci postupu rozpouštědla ve vrstvě.

Deska pro tenkovrstvou tlakovou chromatografii, znázorněná na obr. 3 má impregnované okraje 6 a koncentrační zónu 7.

Obr. 4 znázorňuje desku pro tenkovrstvou tlakovou chromatografii v uspořádání pro dvojrozměrné vyvíjení s absorpční vrstvou (8) z křemičitanu hořečnatého, kde po proběhnutí jednorozměrného vyvíjení ve směru šipky a se deska impregnuje na čtvrté straně a vyvíjení postupuje ve směru šipky b. Přívod a postup rozpouštědla se reguluje pomocí syntetické fólie 2.

Na obr. 5 je znázorněna deska pro tenkovrstvou tlakovou chromatografii v uspořádání pro pět roztoků, u níž na okraji vrstvy 10 adsorbentu jsou uspořádány bariéry 11, vytvořené z nosné desky. Bariéry 11 oddělují od sebe jednotlivé drážky 2.

Vynález je dále ilustrován následujícími příklady:

Příklad 1

110 ml 0,85% vodného roztoku vysokopolymerního homopolyméru polyakrylamidu se přidá ke 32 g silikagelového prášku o velikosti zrna 4 až 8 μm a vnitřním průměru 600 nm. Po promíchání se na řádně očištěné desky, skleněné panely o velikosti 20 x 20 cm a tloušťce 1,5 mm nanese suspenze známým způsobem v tloušťce 0,25 mm. Vrstvy se vysuší při teplotě místnosti. Vyrobené vrstvy mají dobrou mechanickou odolnost a to i po aktivaci.

Konce takto vyrobených a aktivovaných desek s vrstvami se impregnují na třech stranách do šířky 10 mm ponořením do parafinu, který taje při 130 °C.

Pro usměrnění postupu rozpouštědla se na čelo přívodu 3 rozpouštědla umístí ocelový drát 4 o průměru 0,2 mm, jak je to znázorněno na obr. 1. Autentická barviva například máslová žluť, Sudan G, indofenol, lze dobře umístit v tzv. ultramikronové komoře při přitlačném tlaku 1,0 MPa, eluční čas byl 10 minut, délka eluční dráhy 15 cm, eluce se prováděla metylenchloridem.

Příklad 2

Postupuje se stejně jako v příkladu 1 až na to, že se místo 32 g silikagelového prášku použije 30 g neutrálního kysličníku hlinitého. Velikost zrn je 15 až 20 μm , tloušťka nanesené vrstvy je 0,3 mm.

Příklad 3

100 ml 1,8% vodného roztoku anionogenní směsi polymeru akrylamidu a kyseliny akrylové se přidá k silikagelovému prášku o zrnění 4 až 5 μm a vnitřním průměru zrn 600 nm. Po promíchání se suspenze nanese v tloušťce 0,3 mm na polytereftalovou fólii o velikosti 20 x 40 cm a tloušťce 0,4 mm. Vrstvy vysušené při 75 °C mají adekvátní odolnost i po aktivaci. Ihned po nanesení vrstvy a přes shora popsaným vysušením se čela přívodu 2 rozpouštědla, 15 mm od lichého impregnovaného okraje desky a ve stejné vzdálenosti od dalších dvou okrajů, které se mají impregnovat, umístí 2 mm široká, 0,3 mm silná a 185 mm dlouhá polytereftalová fólie za účelem následující regulace toku rozpouštědla (viz schematický obr. 1). Tato deska se během sušení do vrstvy přilepí.

Okraje tří stran takto vyrobených, vysušených desek s vrstvou se spolu s kontrolní deskou popřípadě fólií impregnují namočením do 1,5% vodného roztoku vysokopolymerního neionogenního polyakrylamidového homopolymeru v šířce 5 mm. Potom se vysuší při teplotě místnosti.

Na takto vyrobené vrstvě se během 18,5 minut účinně rozdělí digitalové glykosidy v lineární tlakové ultramikronové komoře, eluce 2-butanonem na vzdálenost 35 cm, přitlačný tlak 1,0 MPa.

Příklad 4

Postupuje se stejně jako v příkladu 2 až na to, že se s ohledem na regulaci rozpouštědla vytvoří ve vrstvě dvě drážky 2, z nichž každá je 3 mm široká (viz schematický obr. 2).

Příklad 5

100 ml 2% vodného roztoku polyvinylacetátu se přidá ke 26 g silikagelového prášku o velikosti zrn 8 až 10 μm a o vnitřním průměru 600 nm. Současně se k 8 g křemičité hlíny o velikosti zrn 10 až 20 μm přidá 30 ml 2% vodné polyvinylacetátové suspenze. Oba systémy se odděleně homogenizují jednu minutu v elektrickém homogenizátoru. Potom se obě suspenze vlijí do dvou žlábků, vhodně od sebe oddělených co se týká místa i délky a obvyklým způsobem se nanese na hliníkové fólie o velikosti 20 x 20 cm a tloušťce 0,2 mm. Tímto způsobem se vyrobí 0,25 mm silná vrstva se dvěma zónami adsorbentů. Šířka inaktivní zóny, v závislosti na nastavení žlábků je 40 mm (obr. 3).

Před vysušením vrstvy adsorbentu, ihned po nanesení, se do čela místa, kam se bude přivádět rozpouštědlo, 15 mm od lichého impregnovatelného okraje desky, v odvráceném směru od strany zóny s inaktivním adsorbentem a ve stejné vzdálenosti od dalších dvou rovnoběžných okrajů, které se mají impregnovat, umístí 0,3 mm silná, 1 mm široká a 160 mm dlouhá polytereftálová deska za účelem následující regulace toku rozpouštědla. Potom se vrstva vysuší a popřípadě se aktivuje. Impregnace okraje desky se v tomto případě provádí tak, jak to bylo shora popsáno v příkladě 2.

Na takto vyrobené vrstvě s tak zvanou koncentrační zónou 7 lze během 12 minut efektivně rozdělit vzorky těžkých olejů, získaných z květenství *Matricaria chamomilla* L. přeháněním s vodní párou. Pracuje se v lineární tlakové komoře, eluce benzenem, přítlačný tlak 0,7 MPa, objemová rychlost rozpouštědla 20 ml/hod., eluce do vzdálenosti 15 cm.

Příklad 6

Postup je shodný s postupem popsaným v příkladu 4 až na to, že se místo 8 g křemičité hlíny použije 7 g cellitového prášku o velikosti zrn 10 až 20 μm .

Příklad 7

36 g práškovatého křemičitanu hořečnatého o velikosti zrn 6 až 10 μm se spolu se 110 g vodného roztoku křemičitanu sodného o hustotě 1,042 g/cm³ měřené při 15 °C homogenizuje v elektrickém drtiči. Potom se obvyklým způsobem aplikuje na vhodně vyčištěný 1,5 mm silný skleněný panel. Desky se skladují 2,5 hodiny v komoře se 75% vlhkostí. Pak se vyjmou a při teplotě místnosti se vysuší. Tímto způsobem se vyrobí stálá vrstva.

Okraje takto vyrobených desek se impregnují jak je shora popsáno v příkladě 1. Tyto desky lze použít pro účinné rozdělení barviv.

Příklad 8

Postupuje se stejně jako v příkladu 3 až na to, že se dva opačné okraje vrstvy ještě před vysušením vrstvy 10 adsorbentu impregnují ponořením do 1,5% vodného roztoku vysokopolymerního neionogenního polyakrylamidového homopolymeru. Současně se ve středu vrstvy 10 adsorbentu v místě, přívodu 3 rozpouštědla, vyrobí 1 mm silná drážka 2 pro následnou regulaci toku rozpouštědla a dvojrozměrné vyvíjení. Potom se vrstva 10 adsorbentu vysuší a použije se pro chromatografii.

P ř í k l a d 9

Postupuje se stejně jako v příkladu 7 až na to, že se vrstva 10 adsorbentu upraví vhodně pro dvojrozměrné vyvíjení. Po jednorozměrném vyvíjení se deska impregnuje na čtvrté straně. Rozpouštědlo se reguluje podle toho, jak je to znázorněno na obr. 4.

P ř í k l a d 10

V hliníkové desce 20 x 20 cm, silné 2 mm se vytvoří šest drážek 2 hlubokých 0,3 mm. Drážky 2 se vyplní pastou, která se vyrobí z práškovitého polyamidu 11 o velikosti zrn 8 až 10 μ m; ve 100 ml 1,5% vodného roztoku polyvinylacetátu se rozmíchá 25 g polyamido-
vého prášku a roztok se poté 1 minutu homogenizuje.

Na okrajích vrstvy 10 adsorbentu se vyrobí 15 mm široká bariéra 11. Bariéry 11, které oddělují jednotlivé drážky 2 od sebe se vyrobí vyhlazením povrchu v šířce 10 mm. Do čela pěti míst přívodu 3 rozpouštědla se umístí syntetická fólie 2 z polyetylenu o velikosti 16 x 3 x 0,3 mm, jak je to znázorněno na obr. 5. Tím se zajistí rovná fronta rozpouštědla. Vzorok se nanáší 12 mm od otvoru přívodu 3 rozpouštědla.

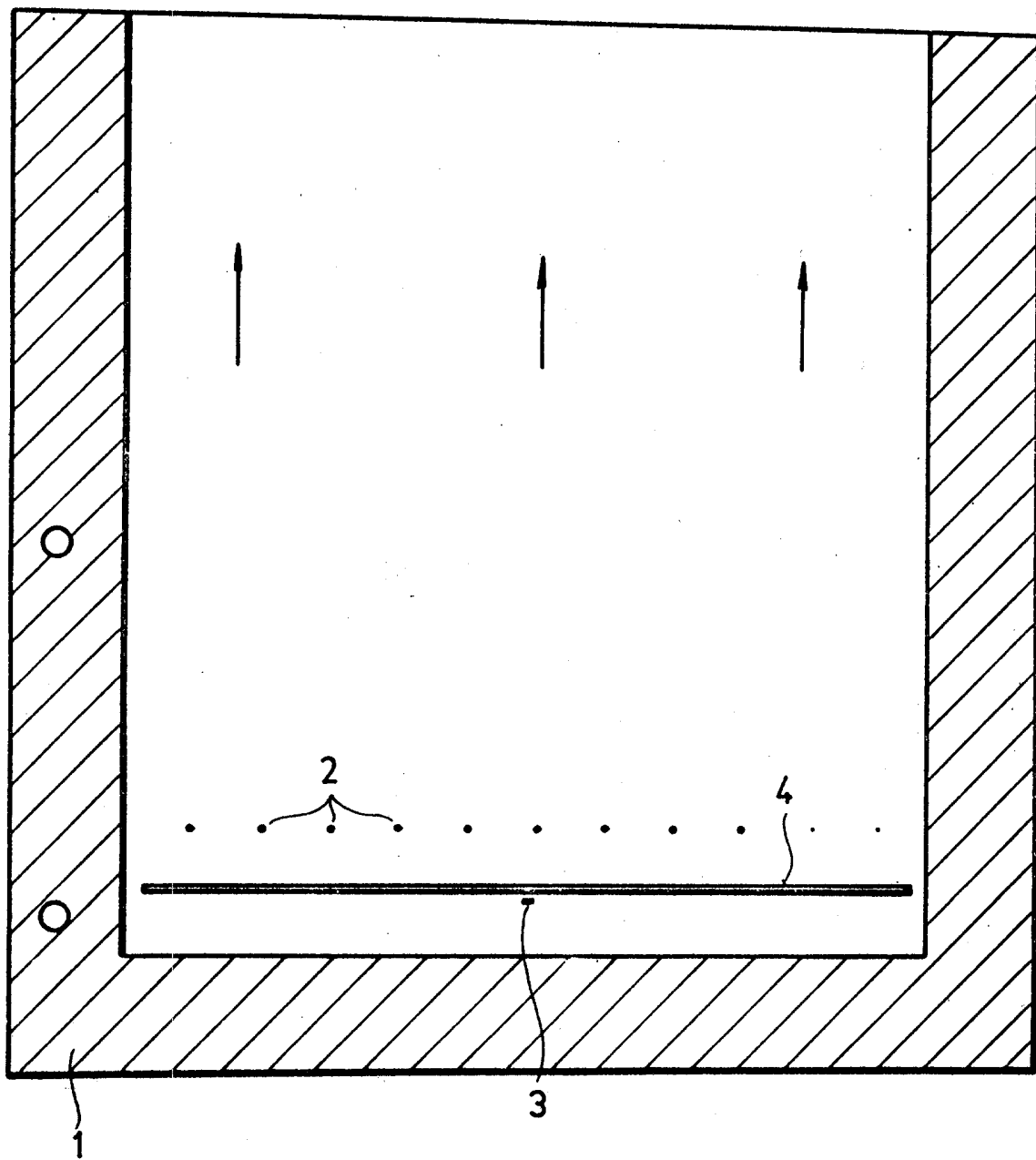
P ř í k l a d 11

Postupuje se stejně jako v příkladu 1 až na to, že použitý silikagel obsahuje jako fluorescenční materiál křemičitan zinečnatý, aktivovaný manganem.

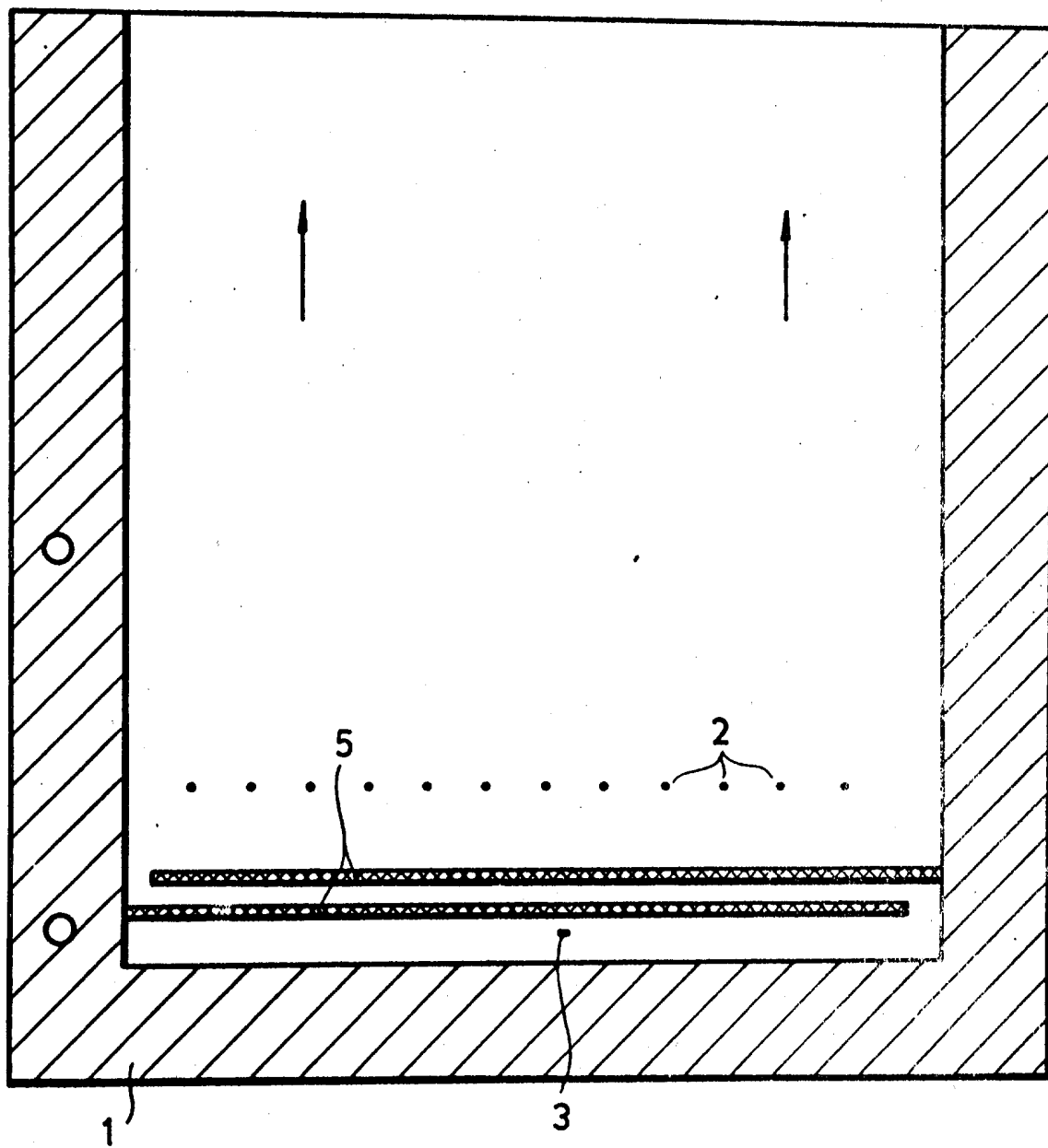
P Ř E D M Ě T V Y N Á L E Z U

1. Deska pro tenkovrstvou tlakovou chromatografii s vrstvou adsorbentu, uloženou na desce, vyznačující se tím, že vrstva (10) adsorbentu je alespoň na dvou okrajích desky utěsněna a v místě popřípadě u místa přívodu (3) rozpouštědla je alespoň v jedné zóně vrstva (10) adsorbentu z desky odstraněna.
2. Deska podle bodu 1, vyznačující se tím, že v místě přívodu (3) rozpouštědla je pro vytvoření komůrky pro rozpouštědlo umístěna přepážka, s výhodou ve tvaru desky nebo drátu, například ocelového drátu (4).
3. Deska podle bodu 1, vyznačující se tím, že utěsnění vrstvy (10) adsorbentu je provedeno impregnací, například parafinem nebo křemičitanem sodným.
4. Deska podle bodu 1, vyznačující se tím, že utěsnění vrstvy (10) adsorbentu je provedeno jejím stlačením práškovitým sklem.
5. Deska podle bodu 1, vyznačující se tím, že ve vrstvě (10) adsorbentu je vytvořena drážka (5) a vrstva (10) adsorbentu je na okrajích desky utěsněna.
6. Deska podle bodu 1, vyznačující se tím, že pro dvojrozměrné vyvíjení jsou ve vrstvě (10) adsorbentu vytvořeny alespoň dvě rovnoběžné drážky (5) a vrstva (10) adsorbentu je na okrajích desky utěsněna.
7. Deska podle bodu 1, vyznačující se tím, že je keramická a její okraje jsou pro utěsnění vrstvy (10) adsorbentu opatřeny glazurou, například cínoolovnaté bíloby.
8. Deska podle bodu 1, vyznačující se tím, že je opatřena inaktivní koncentrační zónou (7), například z křemičité hlinky, práškového skla nebo cellitu.

230581

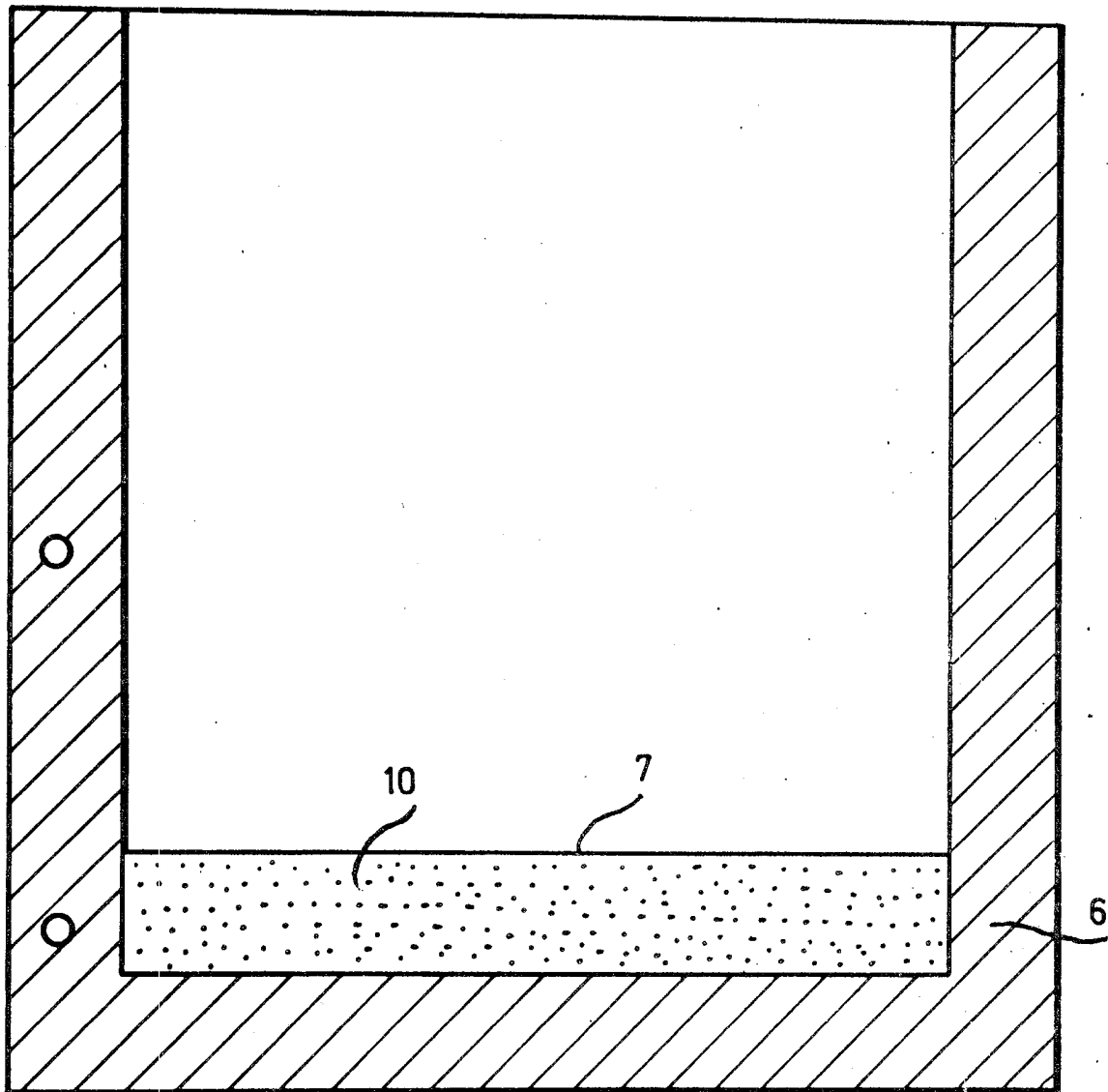


Obr.1



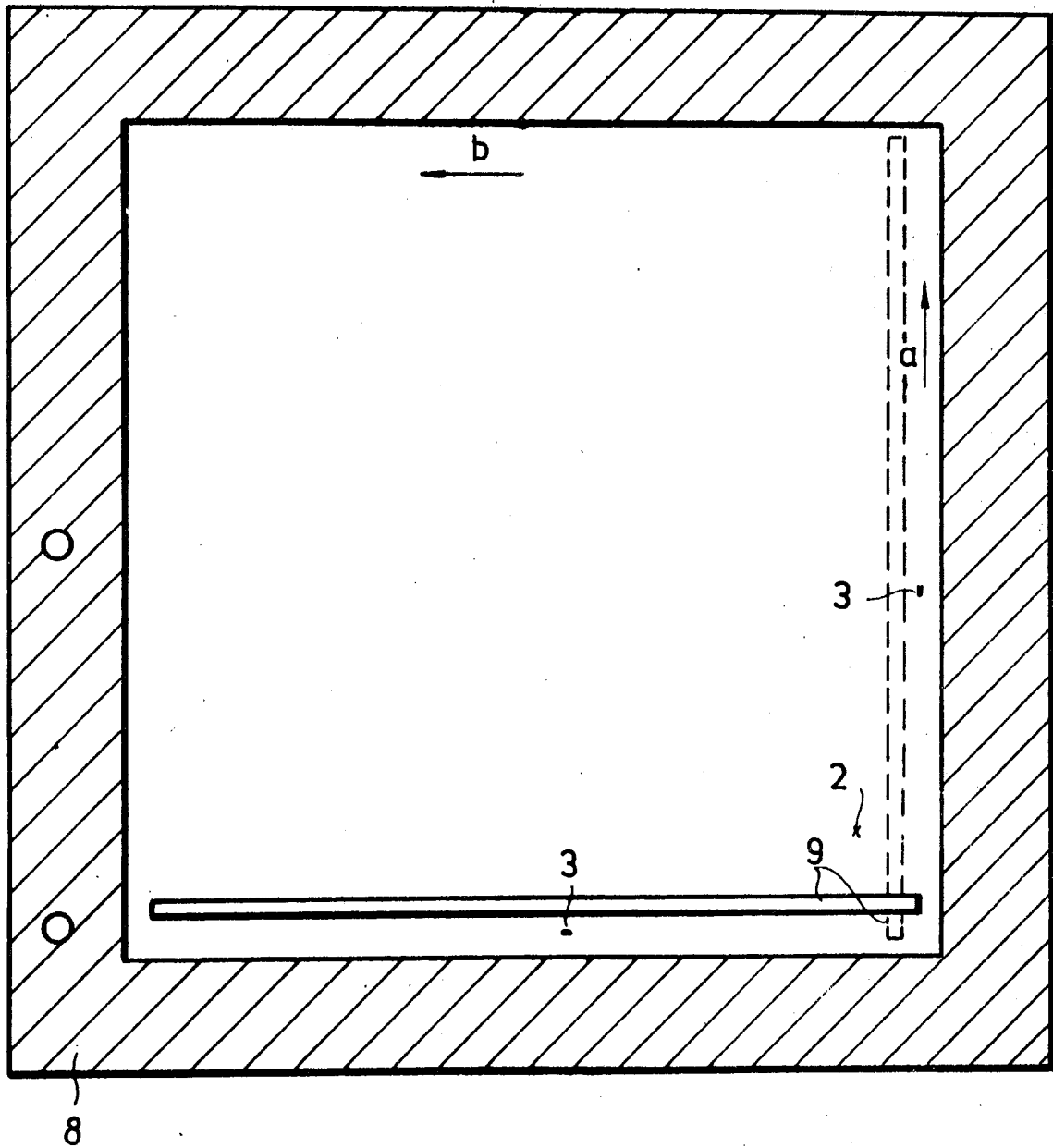
Obr. 2

230581

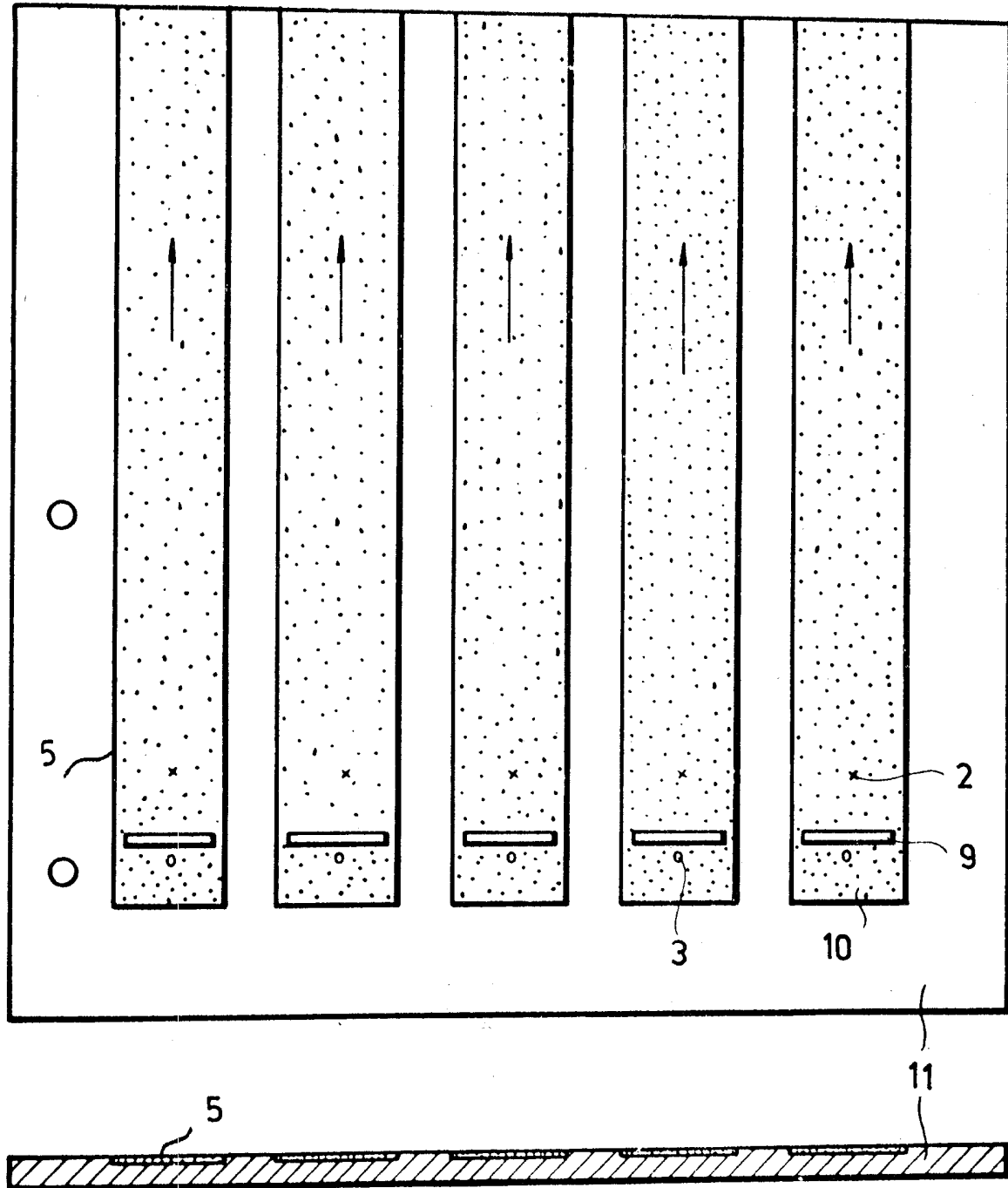


Obr 3

230581



Obr. 4



Obr. 5