



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

209889

(11) (R2)

(51) Int. Cl.³
B 01 D 15/08

(22) Přihlášeno 17 03 78
(21) (PV 1719-78)
(32) (31) (33) Právo přednosti od 19 03 77
(P 27 12 113.7)
Německá spolková republika
(40) Zveřejněno 31 03 81
(45) Vydáno 15 06 84

(72)
Autor vynálezu HALPAAP HERBERT dr., KREBS KARL-FRIEDRICH dr., DARMSTADT (NSR)
(73)
Majitel patentu MERCK PATENT GESELLSCHAFT MIT BESCHRÄNKTER HAFTUNG, DARMSTADT (NSR)

(54) Separační materiál pro chromatografii na tenké vrstvě a způsob jeho výroby

1

Vynález se týká separačního materiálu pro chromatografii na tenké vrstvě a způsobu jeho výroby.

Chromatografie na tenké vrstvě, používaná jakožto mikro- a ultramikroanalytická metoda, nachází stále širší uplatnění. K dalšímu zdokonalování chromatografické metody na tenké vrstvě dochází také v důsledku širšího použití vysokotlaké kapalinové chromatografie na sloupci sorpčního materiálu vzhledem k tomu, že separační podmínky, jako například doba separace, hodnoty rozdělovacích koeficientů R_f a použitá eluční činidla, které se stanoví pomocí chromatografie na tenké vrstvě, se mnohdy dají bezprostředně aplikovat pro separaci vysokotlakou sloupcovou chromatografií. Proto nachází chromatografie na tenké vrstvě zejména v poslední době uplatnění jakožto pomocná metoda pro stanovení separačních podmínek pro vysokotlakou sloupcovou chromatografii.

To znamená, že vyskytne-li se určitý separační problém, potom se podmínky separace nejdříve zkušebně prověří chromatografií na tenké vrstvě a teprve potom se přistoupí k vlastní separaci vysokotlakou sloupcovou chromatografií při stanovených separačních podmínkách.

Aplikace separačních podmínek, stanove-

2

ných chromatografií na tenké vrstvě, na vysokotlakou sloupcovou chromatografii je však možná pouze v případě, že separační vlastnosti tenké vrstvy sorpčního materiálu a sloupce sorpčního materiálu jsou identické.

Je známo, že pro vysokotlakou sloupcovou chromatografii byly však vyvinuty sorbenty, jejichž povrch je modifikován organickými skupinami. Tyto povrchově modifikované sorbenty (například sorbenty s „reverzní fází“) mají však zcela odlišné separační vlastnosti vzhledem k sorbentům, které nebyly modifikovány, a umožňují zejména u křemelin vzhledem k možnosti přípravy odstupňované škály sorbentů (v závislosti na způsobu modifikace) s hydrofilními až hydrofobními vlastnostmi typy separací, které nebylo dříve možné provést.

Rozličnou volbou organických skupin, modifikujících povrch sorbentu, mohou být připraveny nejrozmanitější typy povrchových vlastností modifikovaného sorbentu.

Je tedy zřejmé, že v důsledku rozličných separačních vlastností tenké vrstvy sorbentu a sloupce sorbentu není možné přenést separační podmínky, získané při chromatografií na tenké vrstvě, na vysokotlakou sloupcovou chromatografii za použití výše uvedených modifikovaných sorbentů.

Aby tedy bylo možné použít chromatografii na tenké vrstvě jakožto orientační metodu pro vysokotlakou sloupcovou chromatografii, používající výše uvedených povrchově modifikovaných sorbentů, a aby bylo rovněž možné využít i při chromatografii na tenké vrstvě výhod plynoucích z použití výše zmíněných povrchově modifikovaných sorbentů, je třeba vyrobit sorpční materiály pro chromatografii na tenké vrstvě, které jsou rovněž tvořeny sorbenty modifikovanými organickými skupinami.

Příprava takových sorpčních materiálů pro chromatografii na tenké vrstvě je však neobyčejně obtížná, neboť se sorbenty s reverzní fází, známé z oboru vysokotlaké sloupcové chromatografii, nehodí pro výrobu obvyklých tenkých vrstev pro chromatografii na tenké vrstvě.

Separční materiál pro chromatografii na tenké vrstvě je tvořen destičkami nebo fóliemi, které jsou o sobě známým způsobem ovrstveny tenkou vrstvou separčního materiálu, který zpravidla obsahuje ještě pojivo a případné indikátory. Všechny pokusy vyrobit vrstvy pro chromatografii na tenké vrstvě ze známých chemicky modifikovaných sorbentů, které by měli uspokojivé separční vlastnosti a dostatečnou adhezi a odolnost vůči otěru, však selhaly.

Uvedené modifikované sorbenty lpějí jen velmi špatně na nosné podložce a nedá se u nich použít obvyklých pojiv.

Byly tedy vypracovány specifické postupy pro přípravu tenkých vrstev v modifikovaných sorbentů, při kterých se pečlivě vysušené desky pro chromatografii na tenké vrstvě, ovrstvené křemelinou, uvedou ve styk s alkyltrichlorsilany v uzavřené komoře za bezvodých podmínek [Journal of Chromatography, 124 (1976) 257–264].

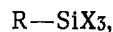
Přitom se dosáhne chemické modifikace křemelinové vrstvy. Vzhledem ke značným výrobním nákladům, plynoucím ze skutečnosti, že použité halogensilany vykazují malou odolnost vůči hydrolýze a že tedy použité reakční složky musí být prosté vody, jakož i reakční komora musí být nepřístupná jakékoliv vlhkosti, není tento postup vhodný pro provozní měřítko.

Jedná se tedy o to, vyrobit desky pro chromatografii na tenké vrstvě s chemicky modifikovaným sorbentem jednoduchým, rychlým a především nenákladným způsobem.

Podle vynálezu bylo zjištěno, že se dosáhne obzvláště výhodných výsledků v případě, že se dodatečně zpracování obvyklé tenké vrstvy pro chromatografii na tenké vrstvě silanizačním činidlem pro povrchovou modifikaci provede za podmínek, kdy do reakčního prostoru má během reakce a po reakci volný přístup okolní atmosféra a s ní také vlhkost. Vzhledem k tomu, že každý odborník by výše uvedenou reakci prováděl za dokonalého nepřístupu vzdušné vlhkosti, je, navržené řešení překvapivé.

Podstata separčního materiálu pro chro-

matografii na tenké vrstvě podle vynálezu, tvořeného nosnou podložkou, ovrstvenou tenkou vrstvou sorbentu, zvoleného ze skupiny zahrnující silikagel, křemelinu a kysličník hlinitý, přičemž tato vrstva sorbentu případně obsahuje pojiva a/nebo indikátory, spočívá v tom, že sorbent má povrch modifikovaný reakcí vrstvy sorbentu za volného přístupu vlhkosti se silanizačním činidlem obecného vzorce

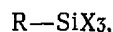


ve kterém

R znamená případně substituovanou alkylovou, arylovou nebo aralkylovou skupinu s nejvýše 20 uhlíkovými atomy a

X znamená halogen, alkoxylovou skupinu nebo alkylovou skupinu, přičemž alespoň jeden X v molu silanu znamená alkoxylovou skupinu nebo atom halogenu.

Podstata způsobu výroby výše uvedeného separčního materiálu podle vynálezu spočívá v tom, že se vrstva silikagelu, křemeliny nebo kysličníku hlinitého o sobě známého separčního materiálu pro chromatografii na tenké vrstvě s nemodifikovaným povrchem napustí roztokem silanizačního činidla obecného vzorce



ve kterém

R znamená případně substituovanou alkylovou, arylovou nebo aralkylovou skupinu s nejvýše 20 uhlíkovými atomy a

X znamená halogen, alkoxylovou skupinu nebo alkylovou skupinu, přičemž alespoň jeden X v molu silanu znamená alkoxylovou skupinu nebo atom halogenu, v organickém rozpouštědle a potom vysuší na vzduchu, načež se promyje nejdříve alespoň jedním aprotickým rozpouštědlem a potom alespoň jedním protickým rozpouštědlem.

Při způsobu podle vynálezu se s výhodou jako silanizačního činidla použije methylalkyl-, methylaryl- nebo methylaralkyldichlorsilanu s případně substituovanými aryl-ovými, aralkylovými nebo alkylovými skupinami s celkovým počtem uhlíkových atomů nejvýše rovným 20.

Separční materiály pro chromatografii na tenké vrstvě, připravené způsobem podle vynálezu, mají vynikající vlastnosti. Jejich adheze vrstvy sorbentu k podložce je srovnatelná s normálními dosud obvyklými tenkými vrstvami pro chromatografii na tenké vrstvě.

Rovněž jejich separční kapacita a reprodukovatelnost separace nejsou dodatečnou modifikací nikterak nepříznivě ovlivněny. Jejich kvalita dokonce převyšuje kvalitu vrstev, připravených postupem provozovaným za absolutní nepřítomnosti vlhkosti.

Kvalita separčního materiálu, získaného způsobem podle vynálezu, je podstatně o-

vlivněna kvalitou nemodifikovaného separačního materiálu, použitého jakožto výchozí produkt. Proto může být například vedle separačních materiálů obvykle používaných při chromatografii na tenké vrstvě použito s výhodou separačního materiálu s vysokou separační kapacitou, jakým je například separační materiál, popsáný v DOSu 25 24 065.

Pokud jde o nosnou podložku, uspořádání vrstev a případné příměsi, jakými jsou například indikátory a pojiva, není u separačního materiálu podle vynálezu žádného rozdílu vzhledem k obvyklým nemodifikovaným separačním materiálům.

Výroba separačních materiálů pro chromatografii na tenké vrstvě podle vynálezu je překvapivě jednoduchá. Odborníkovi, seznámenému se silanizací, jakož i vysokými nároky na rovnoměrnost a hustotu povrchové vrstvy, je zřejmé, že uvedená reakce může probíhat s úspěchem pouze za přesně zachovávaných reakčních podmínek. K tomu patří zejména provádění silizace v ochranné atmosféře za nepřístupu jakékoliv vlhkosti.

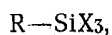
Tyto podmínky se relativně snadno zajišťují pouze v případě, kdy se provádí silizace sorbentu jako takového, který není ještě nanesen na nosné podložce. Jestliže se však provádí silizace sorbentu již naneseného na nosné podložce, potom je takový proces velmi nákladný a obtížný, v důsledku čehož nebylo dosud vůbec zkoušeno provádět silizaci již ovrstvených podložek v technickém provozním měřítku.

Tím je překvapivější skutečnost, že při způsobu podle vynálezu se bez jakýchkoliv zvláštních opatření a bez zajištění ochranné atmosféry a dokonce na vzduchu dosáhne velmi dobrého rovnoměrného a hutného pokrytí povrchu tenké vrstvy pro chromatografii na tenké vrstvě.

Způsob podle vynálezu se v praxi provádí tak, že se vrstva sorbentu, tvořící výchozí chemicky nemodifikovanou tenkou vrstvu desky pro chromatografii na tenké vrstvě, impregnuje roztokem silanizačního činidla, použitého pro modifikaci výše uvedené vrstvy sorbentu. Tuto impregnaci vrstvy sorbentu je možné provést tak, že se obvyklá deska pro chromatografii na tenké vrstvě buď do uvedeného roztoku ponoří anebo že se vrstva sorbentu uvedeným roztokem postříká.

Jakožto rozpouštědla pro přípravu roztoku silanizačního činidla se použije obvyklého rozpouštědla, které je inertní vůči silanizačnímu činidlu. S výhodou se použije organických rozpouštědel s bodem varu mezi 30 až 180 °C, jakými jsou například chlorované uhlovodíky, jako například dichlormethan, trichlormethan, dichlorethan a/nebo trichlorethan, nebo aromatické anebo alifatické uhlovodíky.

Jakožto silanizační činidlo přichází při způsobu podle vynálezu v úvahu všechny silany obecného vzorce



ve kterém

R znamená případně substituovanou alkylovou, arylovou nebo aralkylovou skupinu s nejvýše 20 uhlíkovými atomy a

X znamená atom halogenu, alkoxylovou skupinu nebo alkylovou skupinu, přičemž alespoň jeden X v molu silanu znamená alkoxylovou skupinu nebo atom halogenu.

S ohledem na zamýšlený účel použití reaktujících modifikovaných vrstev sorbentu mohou být zbytky R několikrát substituovány. Jakožto substituenty přichází v úvahu především polární skupiny, jakými jsou například:

hydroxylová skupina,
aminová skupina,
epoxy-skupina,
kyano-skupina,
halogen,
amonium,
sulfoniová skupina nebo
karboxylskupina.

Samotný alkylový nebo aralkylový řetězec může být také přerušen atomem kyslíku, atomem síry nebo atomem dusíku.

Množství silanizačního činidla, použitého pro modifikaci povrchu sorbentu, se řídí především podle tloušťky vrstvy sorbentu a specifického povrchu sorbentu, který má být modifikován.

Aby se dosáhlo dokonalé modifikace povrchu sorbentu hydroxylovými skupinami, mělo by být použito silanizačního činidla v množství alespoň 10 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ povrchu sorbentu. S výhodou se však použije přebytku silanizačního činidla; silanizační činidlo se potom používá například 0,1 až 1 mmol/m^2 povrchu sorbentu. V některých specifických případech může být s výhodou použito i většího přebytku silanizačního činidla.

Specifický povrch obvyklých sorbentů leží mezi 1 a 1000 m^2/g a ve většině případů mezi 200 a 800 m^2/g . V tomto případě tedy nedochází při způsobu podle vynálezu k žádnému omezení.

Po impregnaci separačního materiálu roztokem silanizačního činidla se separační materiál vysuší na vzduchu. Toto sušení se neprovádí v ochranné atmosféře, to znamená že především vzdušná vlhkost má volný přístup k sušenému separačnímu materiálu.

Takto zpracovaný separační materiál se potom vede do čistící lázně za účelem vyčištění a odstranění přebytku silanizačního činidla; skrze tuto lázeň se separační materiál vede jednou nebo vícekrát. Tato čistící lázeň přitom sestává pouze z jednoho aprotického rozpouštědla, popřípadě ze směsi rozpouštědel, jakou je například směs methylenchloridu a benzenu nebo toluenu. Separací materiál se potom s výhodou znovu vysuší a to s výhodou jednoduchým ponecháním na vzduchu.

Separací materiál se potom vede ještě

skrže druhou čisticí lázeň, ve které se nachází protické rozpouštědlo popřípadě směs rozpouštědel, s výhodou směs alkoholu a vody. Přitom se jakožto alkoholů s výhodou používá nižších alifatických alkoholů.

Jakožto výchozích materiálů je možné při způsobu podle vynálezu použít všech používaných separačních materiálů s tenkou vrstvou kysličníku hlinitého, křemeliny nebo silikagelu, nanesenou na nosné podložce. Tyto podložky mohou být vytvořeny z obvykle používaných materiálů, přičemž jsou s výhodou vytvořeny ze skla. Použitelné jsou rovněž jiné fólie, například z hliníku nebo z umělé hmoty.

Vrstva sorbentu je na nosnou podložku nanášena ve formě nátěrové, většinou vodné suspenze za použití obvyklých nanášecích, popřípadě ovrstvovacích zařízení. Obvykle se k uvedené suspenzi přidává ještě pojivo, které zlepšuje adhezi a odolnost vůči otěru vrstvy sorbentu, a/nebo indikátory.

Při způsobu podle vynálezu lze použít jakožto pojiv v podstatě všech obvyklých pojiv. Nicméně bylo s překvapením zjištěno, že se dosáhne mimořádně výhodné modifikace povrchu substrátu v případě, že se na rozdíl od známých postupů nepoužije jakožto pojivo sádra ale organická pojiva. Taková organická pojiva jsou známa z literatury a jsou popsána například v německých patentových spisech č. 14 42 446 a 15 17 929.

Při způsobu podle vynálezu jsou tedy obzvláště výhodnými pojivy polymerisáty na bázi kyseliny akrylové a kyseliny methakrylové, estery kyseliny akrylové a kyseliny methakrylové, zejména takové, které mají hydrofilní zbytky, kopolymery ethylenu a kyseliny maleinové, polyakrylamid a polymethakrylamid, které mohou být případně na amidovém dusíku substituovány nižšími alkylovými skupinami, jakož i kopolymery a/nebo směsné polymery uvedených materiálů a jejich soli. Tato pojiva se přidávají v množství, které se zpravidla nachází v rozmezí 0,1 až asi 10 %.

Jakožto indikátory přichází rovněž v úvahu při způsobu podle vynálezu všechny obvyklé indikátory. Nejčastěji používaným indikátorem je fluorescenční indikátor, zejména křemičitan zinečnatý, jehož absorpční maximum pro ultrafialové světlo leží při 254 nm. Uvedené indikátory se zpravidla přidávají v množství asi 0,5 až 5 hmotnostních %, přičemž však přítomnost indikátoru není nezbytná.

Tloušťka vrstvy sorbentu separačních materiálů podle vynálezu leží stejně jako v případě dosud obvyklých tenkých vrstev pro chromatografii na tenké vrstvě v rozmezí 100 až 300 μm . Ve výjimečných speciálních případech mohou být samozřejmě vyrobeny separační materiály, mající tenčí nebo tlustší vrstvu modifikovaného sorbentu.

Po vysušení jsou separační materiály, vyrobené způsobem podle vynálezu, připraveny k použití. Použití těchto separačních mate-

riálů je v podstatě stejné jako použití dosud obvyklých separačních materiálů pro chromatografii na tenké vrstvě. Jediný rozdíl oproti známému stavu techniky spočívá v tom, že modifikací povrchu sorbentu způsobem podle vynálezu se získá široká paleta separačních materiálů, jejichž použití umožňuje najít i pro těžce separovatelné systémy složek optimální separační materiál. Tím je rozšířen rozsah použití separačních materiálů pro chromatografii na tenké vrstvě.

Další výhoda separačních materiálů podle vynálezu spočívá v tom, že vzhledem k hydrofobii vrstvy sorbentu nemá tato vrstva sklon přijímat vzdušnou vlhkost, takže v mnohých případech odpadá aktivace separačního materiálu před jeho použitím.

To má další výhodu spočívající v tom, že se při použití nových separačních materiálů podle vynálezu dosáhne i při méně pozorné práci reprodukovatelných výsledků, což bylo možné u dosud známých separačních materiálů pouze v případě, kdy byla před použitím provedena kontrolovaná aktivace.

Příklad 1

Do vany, která obsahuje 20 litrů 10% roztoku dimethyldichlorsilanu v dichlormethanu, se ponoří na dobu 30 minut dva nosiče desek, obsahující po 13 obvyklých deskách pro chromatografii na tenké vrstvě o velikosti 20×20 cm (silikagel s pojivem na skle); potom se desky suší na vzduchu po dobu 12 hodin. Takto vysušené desky se potom ponoří na dobu 30 minut do směsi dichlormethanu a toluenu v objemovém poměru 1:1. Desky se potom opět suší na vzduchu po dobu 12 hodin a potom opět ponoří do směsi methanolu a vody v objemovém poměru 1:1. Desky se znovu vysuší na vzduchu. Takto získané desky mohou být potom ihned použity pro chromatografii na tenké vrstvě.

Příklad 2

Postupuje se stejně jako v příkladě provedení 1 s výjimkou, že se namísto dimethyldichlorsilanu použije methyloktadecyldichlorsilanu. Namísto jednoho ponoření do směsi dichlormethan/toluen se použije dvojího ponoření po dobu 30 minut.

Příklad 3

Postupuje se jako v příkladě provedení 1 s výjimkou, že se namísto dimethyldichlorsilanu použije methyloktadecyldichlorsilanu. Namísto jednoho ponoření do směsi dichlormethan/toluen se použije trojnásobného ponoření po dobu 30 minut.

Příklad 4

Do vany, která obsahuje 20 litrů 10% roztoku difenyldichlorsilanu v toluenu, se po-

noří nosič desek, nesoucí 50 obvyklých desek pro chromatografii na tenké vrstvě (silikagel s pojivem na skle) o velikosti 20×20 cm na dobu 30 minut.

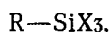
Po jednohodinovém sušení na vzduchu se desky opět ponoří na dobu 30 minut. Potom se desky třikrát promyjí v toluenu, dvakrát se promyjí ve směsi dichlormethan/methanol a dvakrát se promyjí ve směsi aceton/voda. Obě směsi obsahují složky v objemovém poměru 1 : 1. Desky se potom vysuší.

Příklad 5

Fólie z plastické hmoty nesoucí vrstvu silikagelu (50 m × 20 cm) je pomocí distančního držáku navinuta tak, že mezi jednotlivými závity je vzdálenost alespoň 1 mm. Takto získaný svitek se potom ponoří na dobu 30 minut do 10% roztoku dimethyldichlor-silanu, načež se suší na vzduchu po dobu jedné hodiny. Potom se opět ponoří do uvedeného roztoku na dobu 30 minut a dále se promyje a vysuší jako v příkladě provedení 4.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Separační materiál pro chromatografii na tenké vrstvě, tvořený nosnou podložkou ovrstvenou tenkou vrstvou sorbentu, zvoleného ze skupiny zahrnující silikagel, křemelinu a kysličník hlinitý, přičemž tato vrstva sorbentu případně obsahuje pojiva a/nebo indikátory, vyznačené tím, že sorbent má povrch modifikovaný reakcí vrstvy sorbentu za volného přístupu vlhkosti se silanizačním činidlem obecného vzorce



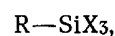
ve kterém

R znamená případně substituovanou alkylovou, arylovou nebo aralkylovou skupinu s nejvýše 20 uhlíkovými atomy a

X znamená halogen, alkoxylovou skupinu nebo alkylovou skupinu, přičemž alespoň jeden X v molu silanu znamená alkoxylovou skupinu nebo atom halogenu.

2. Způsob výroby separačního materiálu podle bodu 1, vyznačený tím, že se vrstva silikagelu, křemeliny nebo kysličníku hlinitého o sobě známého separačního materiálu pro chromatografii na tenké vrstvě s nemo-

difikovaným povrchem napustí roztokem silanizačního činidla obecného vzorce



ve kterém

R znamená případně substituovanou alkylovou, arylovou nebo aralkylovou skupinu s nejvýše 20 uhlíkovými atomy a

X znamená halogen, alkoxylovou skupinu nebo alkylovou skupinu, přičemž alespoň jeden X v molu silanu znamená alkoxylovou skupinu nebo atom halogenu, v organickém rozpouštědle a potom vysuší na vzduchu, načež se promyje nejdříve alespoň jedním aprotickým rozpouštědlem a potom alespoň jedním protickým rozpouštědlem.

3. Způsob podle bodu 2, vyznačený tím, že se jako silanizačního činidla použije methylalkyl-, methylaryl- nebo methylaralkyldichlorsilanu s případně substituovanými arylovými, aralkylovými nebo alkylovými skupinami s celkovým počtem uhlíkových atomů nejvýše rovným 20.