



**URZĄD  
PATENTOWY  
PRL**

Patent dodatkowy  
do patentu nr \_\_\_\_\_

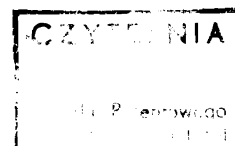
Int. Cl.<sup>3</sup> **B01D 15/08  
G01N 31/08**

Zgłoszono: 11.01.79 (P. 212776)

Pierwszeństwo \_\_\_\_\_

Zgłoszenie ogłoszono: 25.08.80

Opis patentowy opublikowano: 30.11.1983



**Twórcy wynalazku:** Zdzisław Suprynowicz, Bogusław Buszewski, Jerzy Trocewicz,  
Roman Łodkowski

**Uprawniony z patentu:** Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej,  
Lublin (Polska)

## **Sposób napełniania kolumn, z chemicznie związaną fazą oktadecylową do wysokosprawnej chromatografii cieczowej**

Przedmiotem wynalazku jest sposób napełniania kolumn z chemicznie związaną fazą oktadecylową zwaną dalej ODS, do wysokosprawnej chromatografii cieczowej, nadający się szczególnie do pakowania kolumn metodą niskociśnieniową.

Szerokie zastosowanie, szybki rozwój wysokosprawnej chromatografii cieczowej wynika przede wszystkim z jej uniwersalności i dużych możliwości analitycznych. Postęp jaki został w tej dziedzinie osiągnięty jest głównie wynikiem zastosowania nowych typów wypełnień, zwłaszcza z chemicznie związaną fazą ciekłą opartych na bazie żeli krzemionkowych. Modyfikacja, poprzez chemiczne wiązanie faz na powierzchni nośnika ma na celu podniesienie jakości, selektywności i trwałości stosowanych wypełnień.

Wypełnienia z chemicznie związaną fazą ciekłą stanowi nośnik chromatograficzny, najczęściej silikażel lub szkło porowate, z chemicznie związanym monomerem krzemoorganicznym. Stosowany monomer decyduje o charakterze i właściwościach wypełnień. Zastosowanie wymienionych wypełnień daje stabilne i trwałe w czasie kolumny chromatograficzne w których faza ciekła jest wymywana przez eluent. Możliwości zastosowania jako eluentów, polarnych rozpuszczalników pozwala na pracę kolumn w układzie odwróconych faz (revers phase).

Jednym ze stosowanych powszechnie wypełnień jest wypełnienie z chemicznie związaną fazą ciekłą oktadecylową (ODS) uzyskane na drodze syntezy pomiędzy powierzchnią nośnika o n-alkilochlorosilanami. Wypełnienie to ze względu na niepolarny charakter modyfikatora oraz dużą selektywność rozdziału znajduje szerokie zastosowanie w analizie chromatograficznej. Wiadomo, że warunkiem uzyskania wysokich wydajności kolumn jest użycie sorbentów o małej średnicy (poniżej 30  $\mu\text{m}$ ) i wąskiej frakcji ziarnowej. Natomiast uzyskanie powtarzalnych i selektywnych wysokowydajnych kolumn w dużej mierze uzależnione jest od techniki napełniania.

Dotychczas napełnianie kolumn z chemicznie związaną fazą ODS odbywało się jedną z ogólnie znanych i stosowanych technik napełniania, które można podzielić na dwie zasadnicze grupy, to jest metodą suchą i metodą mokrą. Metoda sucha znalazła zastosowanie jedynie w przypadku ziaren powyżej 30  $\mu\text{m}$ . Polega ona na wsypywaniu do kolumny małymi porcjami

nośnika, a następnie ubijaniu go przy pomocy wibratora. Sposób ten nie daje jednak równomier-nych i jednorodnych upakowań kolumny, głównie ze względu na elektryzowanie się wypełnień w czasie wibrowania. Ponadto wibracja powoduje rozdrabnianie materiału i niszczenie jego powierzchniowej struktury. Metodą moką można pakować ziarna o średnicy poniżej 30  $\mu\text{m}$ . W zasadzie należy odróżnić tutaj dwa sposoby napełniania, to jest wysokociśnieniowy-gęstościowy, polegający na zawieszeniu wypełnienia w roztworze gęstej, lepkiej stanowiącej tak zwaną fazę ruchomą cieczy, a następnie poprzez ciśnieniowe filtrowanie osadzenie nośnika w kolumnie. Sposób nisko ciśnieniowy-lepkościowy polega na zawieszeniu wypełnienia w rozpuszczalniku o niskiej lepkości i niskiej gęstości, a następnie osadzeniu tak przygotowanej zawiesiny o określonym stężeniu w kolumnie przy zastosowaniu ciśnienia rzędu do 16 MPa. Główną niedogodnością opisaney metody wysokociśnieniowej jest konieczność stosowania wysokich ciśnień rzędu 60 MPa. Ponadto, jak wiadomo, głównym składnikiem fazy ruchomej jest czterobromoetan, który jest związkiem nietrwałym i rozpadając się pozostawia w kolumnie trudny do usunięcia brom, co zmienia cechy jakościowe kolumny.

Stosowana metoda niskolepkościowa nie dała również pozytywnych rezultatów w przypadku nośników z chemicznie związaną fazą ODS ponieważ apolarne drobiny nośnika aglomerują i sedimentują w polarnym rozpuszczalniku, takim jak woda, metanol i aceton.

Wyżej wymienionych niedogodności nie posiada sposób według wynalazku, w którym jako fazę ruchomą zastosowano 5–20% objętościowo roztwór rozpuszczalnika polarnego w rozpuszczalniku niepolarnym. Korzystnie stosuje się roztwór metanoilu lub acetanu w czterochlorku węgla.

Według wynalazku, spreparowane wypełnienie o grubości zairna 3–15  $\mu\text{m}$  z zachowaniem wąskiej frakcji ziarnowej  $\pm 2 \mu\text{m}$  z chemicznie związaną fazą ciekłą ODS, zawiesza się w fazie ruchomej o wyżej podanym składzie, a następnie poddaje sedimentacji. Z powstałego osadu tworzy się 0,5–3% wagowo zawiesinę w roztworze o wyżej podanym składzie i całość ujednodnia się w łaźni ultradźwiękowej. Tak przygotowane wypełnienie poddaje się procesowi napełniania najkorzystniej metodą niskociśnieniową.

Uzyskane sposobem według wynalazku kolumny charakteryzują się dużą wydajnością, dobrą rozdzielczością i stabilnością. Opisaną metodą można osiągnąć sprawność kolumny wynoszącą średnio 2000 pól teoretycznych/10 cm.

Przykład. Próbkę wypełnień z chemicznie związaną fazą ciekłą ODS w ilości 1 g, uzyskane przez związanie z nośnikiem, szkłem porowatym lub żel krzemionkowym o powierzchni właściwej 210 m<sup>2</sup>/g i o średnicy ziaren 10  $\mu\text{m}$ :

A-oktadecylotrójchlorosilanu ( $\text{C}_{18}\text{H}_{37}\text{SiCl}_3$ )

B-oktadecyldwuchlorometylosilanu ( $\text{C}_{19}\text{H}_{40}\text{SiCl}_2$ )

C-oktadecylojednochlorodwumetylosilanu ( $\text{C}_{20}\text{H}_{43}\text{SiCl}$ )

wprowadzono do 50 ml fazy ruchomej o składzie 10% metanolu w czterochlorku węgla. Po 15 minutach roztwór zdekantowano, osad ponownie wprowadzono do 50 ml roztworu o wyżej podanym składzie. Uzyskane zawiesiny ujednodniono w łaźni ultradźwiękowej przez 5 minut i następnie stosując ciśnienie minimum 12 MPa napełniano kolumny ze stali kwasoodpornej o średnicy wewnętrznej 4 mm i długości 10 cm. Otrzymane kolumny w układzie odwróconych faz posiadały następujące wydajności:

A — 1800 pól teoretycznych na 10 cm

B — 2500 pól teoretycznych na 10 cm

C — 3500 pól teoretycznych na 10 cm

#### Z a s t r z e ż e n i e   p a t e n t o w e

Sposób napełniania kolumn z chemicznie związaną fazą oktadecylową do wysokosprawnej chromatografii cieczowej, zwłaszcza metodą niskociśnieniową przez zwiększenie wypełnienia w rozpuszczalniku do określonego stężenia i następnie napełnianie pod ciśnieniem uzyskaną zawiesiną kolumn, **znamlenny tym**, że wypełnienie z chemicznie związaną fazą oktadecylową o grubości ziarna 3–15  $\mu\text{m}$  z zachowaniem wąskiej frakcji ziarnowej  $\pm 2 \mu\text{m}$  zawiesza się w roztworze składają-

cym się z 5–20% obj. rozpuszczalnika polarnego, korzystnie acetonu lub metanolu w rozpuszczalniku niepolarnym, Korzystnie w czterochlorku węgla, następnie osad oddziela się od cieczy, najlepiej przez dekantację i zawiesza ponownie w roztworze o wyżej podanym składzie do uzyskania zawiesiny o zawartości 0,5–3% wag. stałego wypełnienia, następnie otrzymaną zawiesinę ujednrodnia się w łaźni ultradźwiękowej i poddaje procesowi napęnlania.