

Тънкослойно хроматографски анализ

Методът тънкослойна хроматография е незаменим при изследване на багрилата за хомогенност и идентичност. Свойствата на химичните съединения са функция на тяхната структура, която е сложна и поради това е почти невъзможно да има универсална хроматографска система, подходяща за голямата и разнообразна група на реактивните багрила. Самите системи се намират по опитен път, поради което използването на известните в литературата е необходимо начало за всеки хроматографски анализ и в този смисъл определя значимостта на намерените чрез изследването нови хроматографски системи.

Хроматографската система е подходяща за дадени багрила, когато ги придвижва по цялата дължина на плаката като добре оформени петна с различни Rf стойности, без дифузни петна, утайки на старта и опашки.

Извършеният анализ включва изпитването на 16 хроматографски системи, представени в табл.1, от които най-подходящи са S₁₅:n-BuOH:i-PrOH:H₂O (1:0,5:0,75) и S₁₆:n-BuOH:C₂H₅OH:DMF:H₂O (3,65:0,9:0,4:0,9).

Изследвани хроматографски системи табл.1

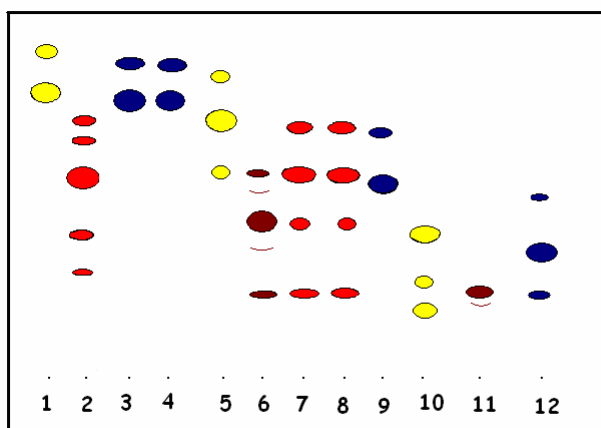
№	nBuOH	CH ₃ COOH	CH ₃ OH	nPrOH	етилацетат	етанол	DMF	ацетон	iPrOH	H ₂ O	25%NH ₃
1	40	10	50							1	
2				6	1					3	
3		1			3					2	
4	3					0.8				1	
5	3						0.5			1.4	
6	4					2	0.6			1	
7	4					2				1	
8				3				3			2
9	2					0.55				0.75	
10	1								1	0.75	
11	4		2				0.6			1	
12			2	4			0.6			1	
13				4		2	0.6			1	
14	4					1	0.6			1	
15	1								0.5	0.75	

16	3.65					0.9	0.4			0.9	
----	------	--	--	--	--	-----	-----	--	--	-----	--

В система S_1 всички багрила остават на старта. Системи S_2 - S_4 и S_7 се оказват неподходящи, т.к. изследваните багрила си движат като дифузни петна и образуват опашки.

В една многокомпонентна система решаваща роля има съотношението между отделните разтворители, което също се установява емпирично. По този начин са получени системите S_{11} - S_{16} , като S_{11} - S_{14} не се оказват по-добри от изходните.

Универсална за всички изследвани багрила е хроматографска система S_5 : n-BuOH:DMF:H₂O (3:0,5:1,4) -(фиг.1).



Фиг.1 Разделяне на изследваните багрила в система S_5 :n-BuOH:DMF:H₂O (3:0,5:1,4)

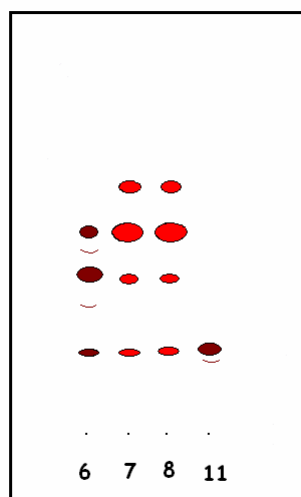
Освен изброените в табл.1 са изследвани още около 30 реактивни багрила на различни фирми производители. Получените много добри резултати определят система S_5 като много подходяща и за тези багрила. (да се даде и ТСХ на тези багрила)

Очакваното влияние на реактивоспособната група върху хроматографското поведение на багрилата осигури тяхното разделяне в зависимост от вида им. Винилсулфоновата група има най-добра разтворимост в полярните системи, докато монохлортриазиновата оставя багрилата на старта. Бифункционалните багрила, съдържащи едновременно винилсулфонова и монохлортриазинова реактивоспособна група, заемат междинно положение. Наблюдаваната тенденция най-ясно е изразена в S_{15} .

Основната информация, която се получава чрез тънкослойната хроматография е за хомогенност на даден продукт. Известно е, че при синтеза на азо багрилата се получават хомолози на главният продукт на реакцията, които са колористично идентични с него и не могат да бъдат

определени спектрофотометрично. Разделянето им е възможно чрез тънкослойната хроматография. Наличието на нюансиращи компоненти, също се установява чрез този анализ.

Получените от нас резултати относно хроматографското поведение на четирите червени багрила са показани на следващата фигура.



Фиг.2 Хроматографско поведение на червените багрила в S_5 :n-BuOH:DMF:H₂O (3:0,5:1,4)

Bezaktiv Rot S-2B и Cl Reactive Red 194, ползвано в случая като свидетел, имат идентично хроматографско поведение - еднакъв брой петна с един и същ цвят и R_f стойности, което дава основание за твърдението, че имат еднакъв строеж. Последното се потвърждава и от спектрофотометричния анализ. Багрилата 6 и 11, макар и да изглеждат с едакъв цвят имат различно хроматографско поведение - първото съдържа 3 броя петна, докато второто е компактно - само едно петно, движещо се най-бавно в сравнение с петната на останалите три багрила.

Изследваните багрила съдържат едно основно и няколко по-малки със същият цвят, но с различна наситеност петна. За тях може да се предполага че са хомолози, тавтомерни форми или хидролизирани форми на багрилото. Конкретен отговор може да бъде даден в случай, че се разполага с подходящи свидетели. За тази цел, познавайки схемата на синтез на Bezaktiv Rot S-2B, е проведен и ТСХ анализ на изходните суровини – сулфанилова и Н-киселина, както и на синтезираният от нас продукт D-NH₂.

Тънкослойната хроматография е изключително подходящ метод за разделяне на активната и хидролизираната форма на багрилата, което не може да бъде постигнато спектрофотометрично, поради идентичност на хромофорните системи. Подходящ пример за казаното е извършената хидролиза на багрило 4- Cl Reactive Blue 19 и проследяване на промяната на състава на багрилния разтвор в зависимост от продължителността на въздействие с алкалиите/фиг.3/. Известно е, че поради високата реактивоспособност на винилсулфоновата група, търговската форма на тези багрила е във вид на сяроокисел естер. Първите десетина минути след добавяне на алкалиите са достатъчни за превръщането ѝ в активна форма. След тридесет минути се появява и хидролизираната форма, която остава единствена в края на хидролизата.

Възможни форми на винилсулфоновите багрила, съдържащи се в багрилния разтвор са:

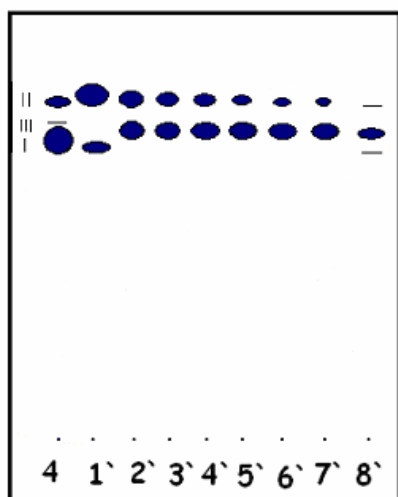
I Б-ло- $\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OSO}_3\text{Na}$ – изходна форма на багрилото

II Б-ло- $\text{SO}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ – активна форма

III Б-ло- $\text{SO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ – хидролизирана форма

Хидролизата е извършена с 25 g/l Na_2CO_3 в продължение на 75 min при 60°C . През 15 min са вземани проби, които са подложени на хроматографски анализ.

Получените опитни резултати, както се вижда от фигурата, потвърждават възможностите на метода и са в синхрон с резултатите, постигнати и от други автори[6].



Фиг.3 Състав на багрилния разтвор на багрило Reactive Blue 19, в зависимост от продължителността на въздействие с алкали: 1`- 15 min, 2`-30 min, 3`-45 min, 4`-60 min, 5`- 75 min, 6`- 90min, 7`-105 min, 8`-120min.

Забележка: Може да се даде и хидролиза на Bezaktiv Rot S-2B

В резултат на извършения ТСХ анализ са получени три оригинални хроматографски системи, подходящи за групата на реактивните багрила, за изследване на тяхната хомогенност и идентичност, за разделяне на активната от хидролизираната форма на багрилата, както и за разделянето им по реактивоспособни групи.