

Zbigniew GREGOROWICZ, Roman POKORSKI,  
Teresa SUDOŁ

Instytut Chemii Analitycznej  
i Ogólnej

Instytut Chemii Wyższej Szkoły  
Pedagogicznej - Opole

#### PRÓBA IMPREGNACJI BIBUŁY CHROMATOGRAFICZNEJ SOLĄ WEWNĘTRZNĄ KWASU DWURTĘCIOMALONOWEGO

**Streszczenie.** Sól wewnętrzną kwasu dwurtęciomalonowego zastosowano jako substancję impregnującą bibułę chromatograficzną. Zbadano zachowanie się na bibule impregnowanej i nieimpregnowanej kwasów organicznych, amin i aminokwasów w różnych układach rozwijających. Testowe badania wykazały szereg zmian wartości  $R_f$  dla różnych związków i różnych układów rozwijających.

Oprócz metod chromatograficznych, wykorzystujących zjawiska adsorpcji i podziału, duże znaczenie w analizie chemicznej posiada chemichromatografia. Podstawą tej techniki analitycznej jest wykorzystanie reaktywności substancji rozdzielanej w stosunku do impregnującej naniesionej na nośnik. Wykorzystując w tych procesach reakcje: strącania, kompleksowania, wymiany jonowej, redoks i kondensacji uzyskano rozdzielenie substancji niemożliwe do przeprowadzenia metodami chromatografii podziałkowej i adsorpcyjnej.

W ramach przeprowadzonych badań nad reakcją kwasu malonowego z jonami rtęci (II) stwierdzono, że powstający w tej reakcji związek - sól wewnętrzną kwasu dwurtęciomalonowego [1], wykazuje szereg własności fizykochemicznych [2], kwalifikujących go do wykorzystania w procesach chemichromatograficznych. Do cech tych należy zaliczyć:

- małą rozpuszczalność związku w wodzie i rozpuszczalnikach organicznych,
- dużą odporność na roztwarzanie,
- dużą powierzchnię właściwą wynoszącą około  $58 \text{ m}^2/\text{g}$ , która zapewnić winna dobre przebiegi procesów powierzchniowych,
- drobnoziarnistość związku gwarantującą należyta dyspersję w nośniku,
- obecność jonów rtęci, wykazujących bardzo dużą reaktywność w stosunku do wielu związków organicznych [1], zapewnić winna dostateczny udział procesów chemicznych w rozdziale.

Nie bez znaczenia jest również fakt, że związek ten jest barwy białej, a więc nie przeszkadza w procesie wywoływania chromatogramu.

Wymienione przesłanki spowodowały, że podjęto badania nad impregnacją bibuły chromatograficznej i określeniem jej własności. Przeprowadzone badania miały charakter testów sprawdzających rozdziאלy substancji na impregnowanej i nieimpregnowanej bibule. Analizie poddawano grupy związków: kwasy organiczne, aminy i aminokwasy. Układy rozwijające zaczerpnięto z literatury.

## CZĘŚĆ DOSWIADCZALNA

### Roztwory i odczynniki

0,02 molowy roztwór kwasu malonowego otrzymano przez rozpuszczenie odważki krystalicznego kwasu (cz.d.a. Loba-Chemie Wiedeń) w wodzie destylowanej,

0,04 molowy roztwór azotanu rtęci (II) przygotowano przez rozpuszczenie odważki  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$  (cz.d.a. POCh) w 2n  $\text{HNO}_3$  i rozcieńczenie wodą destylowaną,

0,1 molowe roztwory kwasów organicznych: mrówkowego, octowego, chlorooctowego, cytrynowego, winowego, salicylowego, szczawowego, malonowego, bursztynowego, glutarowego, adypinowego, 2,2-dwumetylobursztynowego, fenylbursztynowego, bromobursztynowego, 2,3-dwuchlorobursztynowego, jabłkowego, otrzymano przez rozpuszczenie odważek odpowiednich kwasów w wodzie destylowanej lub etanolu, 0,1% roztwory amin: etanoloaminy, aniliny, dwufenyloaminy, p-toluidyny, heksyloaminy oraz aminokwasów: L-seryny, D-glutaminy, D-fenylalaniny, D-tyrozyny otrzymano przez rozpuszczenie odważek odpowiednich związków w wodzie destylowanej lub etanolu.

Roztwory odczynników wywołujących, takich jak: zieleń bromokrezolowa, ninhydryna, siarczan ceru (IV) otrzymano zgodnie z przepisami literaturowymi [3-6].

### 1. Aparatura

Chromatogramy rozwijano w szklanych komorach chromatograficznych. Stosowano technikę wstępującą.

Jako nośnik stosowano bibułę chromatograficzną Whatman nr 54.

### 2. Impregnacja bibuły

Szczególna wytrzymałość mechaniczna po zwilżeniu wodą, znaczna czystość, jak również znaczne zdolności adsorpcyjne powodują, że bibuła Whatman 54 znajduje szczególne zastosowanie do impregnacji. Pierwsza cecha w szczególności, zadecydowała o jej zastosowaniu w toku przeprowadzonych badań. Znaczne zakwaszenie roztworów w procesie impregnacji powodowało, że bibuły innych gatunków nie mogły znaleźć zastosowania na wskutek utraty wytrzymałości mechanicznej. Do impregnacji stosowano początkowo roztwory o stę-

zeniach dc 1 mola/litr. Znaczne jednak straty osadu impregnatu powstające w trakcie płukania bibuły spowodowały, że empiryczne stężenia przyjęte w trakcie dalszych prac wynosiły dla kwasu malonowego i azotanu rtęci (II) odpowiednio 0,02 m i 0,04 m. Wielkość ta wynika ze stechiometrii reakcji kwas malonowy - rtęć (II) = 1:2.

Impregnacji bibuły dokonywano trzema metodami:

1. Paski bibuły o szerokości 14 cm zanurzano do roztworu kwasu malonowego, a po wysuszeniu na powietrzu zanurzano w roztworze azotanu rtęci (II). Po wytrąceniu się na bibule impregnatu, wmywano wodą destylowaną azotan rtęci (II) i kwas azotowy. Bibuły rozwieszano w pozycji poziomej oraz pionowej w celu wyschnięcia.

2. Paski bibuły wstawiano krawędzią do krystalizatora z roztworem kwasu malonowego. Roztwór uległ wessaniu i po niedługim czasie dochodził do górnej krawędzi bibuły. W celu przyspieszenia wytrącania się osadu impregnatu, wysuszoną bibułę zanurzano do gorącego roztworu azotanu rtęci (II). Po wyjęciu i wypłukaniu bibułę suszono w pozycji poziomej oraz pionowej w temperaturze pokojowej.

3. Paski bibuły ustawiano krawędzią w krystalizatorze z roztworem kwasu malonowego. Po wessaniu roztworu, wysuszeniu bibuły w suszarce przy temperaturze 50°C, powtarzano proces stosując roztwór azotanu rtęci (II). Wysuszoną bibułę z wytworzonym nośnikiem płukano w wodzie destylowanej, a następnie ponownie suszono w temp. 50°C.

W trakcie wykonywania impregnacji stwierdzono, że metody 1 i 2 dają nie zadowalające wyniki. Mankamentami metod tych są: nierównomierność osadzania się kwasu malonowego, jego wypłukiwanie przez roztwór azotanu rtęci (II) co powoduje nierównomierność impregnacji. Zostaje ona pogłębiona przez epływanie osadu w dół w trakcie suszenia bibuły w pozycji pionowej oraz wymywanie mechaniczne w procesie płukania. Metoda 3 dała wyniki najbardziej korzystne i w trakcie dalszych prac bibułę impregnowano tą metodą.

### 3. Chromatograficzny rozdział kwasów organicznych

Roztwory organicznych kwasów dwukarboksylowych takich jak: szczawiowy, malonowy, bursztynowy, glutarowy, adypinowy, 2,2-dwumetylobursztynowy, fenylbursztynowy, bromobursztynowy i 2,3-dwuchlorobursztynowy наносzono w ilościach około 2  $\mu$ l na paski impregnowanej i nieimpregnowanej bibuły Whatman 54. Po naniesieniu bibuły kondycjonowano w parach rozpuszczalników dla dwu układów rozwijających:

I butanol : kwas mrówkowy : woda (10:2:5) [7]

II etanol : amoniak : woda (8:1:1) [7]

a następnie rozwijano techniką wstępującą w ciągu 30 minut.

Chromatogramy suszono w suszarce w temp. 50°C, a następnie wywoływano. W wypadku układu I stosowano alkoholowy roztwór zieleni bromokrezolowej [3] uzyskując żółte plamy na niebieskozielonym tle. W wypadku układu II po wysuszeniu uzyskano wyraźne biało-szare plamy na kremowoszarym tle. Średnie wielkości  $R_f$  otrzymano dla dwu pomiarów i układu I i II zestawiono w tablicy 1.

Tablica 1

Wartości  $R_f$  kwasów dwukarboksylowych  
dla bibuły impregnowanej i nieimpregnowanej

K w a s	Układ I		Układ II	
	$R_f$ nieimpreg.	$R_f$ impreg.	$R_f$ nieimpreg.	$R_f$ impreg.
Szczawliowy	0,57	0,21	0,04	0,04
Malonowy	0,69	0,49	0,13	0,06
Bursztynowy	0,73	0,73	0,17	0,12
Glutarowy	0,81	0,84	0,24	0,18
Adypinowy	0,88	0,89	0,32	0,32
2,2-dwumetylo bursztynowy	0,93	0,86	0,36	0,23
Fenylbursztynowy	0,99	0,87	0,17	0,28
Bromobursztynowy	0,91	0,83	0,31	0,24
2,3-dwuchlorobursztynowy	0,90	0,82	0,34	0,25

W chromatogramach rozwijających w układzie I na bibule impregnowanej pojawiły się także czarne plamy w wypadku wszystkich pochodnych jak również wolnego kwasu bursztynowego. Wartości  $R_f$  tych plam około 0,10.

Dokonano analizy chromatograficznej kwasów organicznych stosując układ rozwijający III o składzie: etanol : amoniak : woda - (80:4:10) [4]. Bibuły kondycjonowano w parach 60 min., a następnie rozwijano techniką wstępującą w ciągu 30 minut. Chromatogramy wywoływano roztworem zieleni bromokrezolowej. Wartości średnie z trzech serii pomiarowych zestawiono w tablicy 2.

Tabela 2

Wartości  $R_f$  kwasów organicznych uzyskane dla bibuły impregnowanej i nieimpregnowanej

K w a s	$R_f$	
	b. impreg.	b. nieimpreg.
Mrówkowy	0,43	0,50
Octowy	0,47	0,52
Chlorooctowy	0,53	0,52
Cytrynowy	0,02	0,11
Winowy	0,10	0,19
Salicylowy	0,69	0,73
Szczawicwy	0,00	0,10
Malonowy	0,15	0,26
Bursztynowy	0,24	0,29
Glutarowy	0,29	0,32
Adypinowy	0,34	0,41
Jabłkowy	0,24	0,25

#### 4. Chromatograficzny rozdział amin

Badania rozdziałów amin przeprowadzono dla pięciu układów rozwijających:

- |  |           |     |
|--|-----------|-----|
| I butanol : kwas octowy (lodowaty) : woda            | (4:1:5)   | [8] |
| II butanol : kwas octowy (lodowaty) : woda           | (2:1:5)   | [8] |
| III m-krezol : kwas octowy (lodowaty) : woda         | (50:2:48) | [8] |
| IV etanol : amoniak (25%)                            | (80:20)   | [5] |
| V alkohol izoamylowy : kwas octowy (lodowaty) : woda | (4:1:5)   | [5] |

Bibuły z naniesionymi roztworami wybranych amin w ilości około 2  $\mu$ l kondycjonowano przez okres 60 minut w parach rozpuszczalników, a następnie rozwijano techniką wstępującą. Po wysuszeniu wywoływano alkoholowym roztworem ninhydryny [6] i roztworem siarczanu ceru (IV) [5].

Wyniki średnie z dwu pomiarów zestawiono w tabelicy 3.

Tablica 3

Wartości  $R_f$  amin dla bibuły impregnowanej i nieimpregnowanej

A m i n a	Układ I		Układ II		Układ III		Układ IV		Układ V	
	bib. impreg.	bib. nieimpr.	bib. impreg.	bib. nieimpr.	bib. impreg.	bib. nieimpr.	bib. impreg.	bib. nieimpr.	bib. impreg.	bib. nieimpr.
Etanoloamina	0,37	0,34	0,46	0,48	0,95	0,98	0,66	0,75	0,11	0,11
Anilina	0,75	0,86	0,75	0,75	0,93	0,98	0,86	0,92	0,60	0,64
Dwufenyloamina	0,94	0,93	0,98	0,95	-	-	0,88	0,89	0,87	0,96
p-Toluidyna	0,75	0,95	0,84	0,91	-	-	0,90	0,96	0,67	0,83
Heksyloamina	0,76	0,88	0,84	0,89	0,94	0,96	0,89	0,87	0,62	0,79
Czas rozwijania	40 minut		50 minut		20 minut		35 minut		30 minut	

### 5. Chromatograficzny rozdział aminokwasów

W badaniach chromatograficznych tej grupy połączeń stosowano trzy układy rozwijające:

I chloroform : metanol : amoniak (17%) (2:2:1) [5]

II butanol : kwas octowy : woda (4:1:1) [4]

III butanol : metyloetyloketon : woda (4:4:2) [4]

Bibuły z naniesionymi aminokwasami kondycjonowano przez okres 60 minut, a następnie rozwijano techniką wstępującą. Po wysuszeniu wywoływano plamy roztworem ninhydryny. Wartość średnia  $R_f$  plam z dwu pomiarów zestawiono w tabelicy 4.

Tablica 4

Wartości  $R_f$  aminokwasów dla bibuły impregnowanej i nieimpregnowanej

Aminokwas	Układ I		Układ II		Układ III	
	bib. impreg.	bib. nieimpreg.	bib. impreg.	bib. nieimpreg.	bib. impreg.	bib. nieimpreg.
L-seryna	0,28	0,40	0,16	0,17	0,03	0,07
D-glutamina	0,13	0,27	0,22	0,25	0,02	0,04
D-fenylalanina	0,66	0,75	0,51	0,58	0,23	0,36
D-tyrozyna	0,32	0,44	0,38	0,38	0,14	0,25
Czas rozwijania:	16 minut		50 minut		20 minut	

### 6. Podsumowanie i wnioski

Przeprowadzone badania wykazują, że sól wewnętrzna kwasu dwurtęciomalowego, może być wykorzystana do impregnacji bibuły chromatograficznej. Testowe badania jej przydatności analitycznej wykazały, że dla niektórych układów rozwijających zmiany wartości  $R_f$  substancji analizowanych, są bardzo wyraźne. Dotyczy to w szczególności analizy kwasów i aminokwasów. Rzeczą charakterystyczną jest na ogół zmniejszanie się współczynnika  $R_f$ , przy czym dla niektórych substancji zmiany są bardzo wyraźne, dla innych nieznaczne. Świadczy to o wyraźnej przewadze zjawisk chemicznych nad fizycznymi w procesie chromatografii.

Obecność substancji impregnującej nie wpływa ujemnie na proces wywoływania plam. W wypadku wywoływania plam aminokwasów za pomocą ninhydryny stwierdzono, że na bibule impregnowanej polepsza się kontrastowość. W miejscach różowych na białym tle uzyskiwano ciemnobordowe na białym tle. Nie stwierdzono ujemnego wpływu impregnatu na kształt plam. Były one podobnego kształtu jak na bibule nieimpregnowanej. Stwierdzono zmiany zachowań się

substancji na bibule impregnowanej solą wewnętrzną kwasu dwurtęciomalonowego, stanowią korzystną i zachęcającą przesłankę do dalszych prac mających na celu uściślenie możliwych układów analizowanych, rozwijających i wywołujących z zastosowaniem proponowanego sposobu impregnacji.

## LITERATURA

- [1] Makarova L.G., Nesmeyanov A.N.: The Organic Compounds of Mercury, tłum. z jęz. ros., North Holland Publishing Comp., Amsterdam 1967.
- [2] Gregorowicz Z., Pokorski R.: Zesz. Nauk. Politechn. Śląskiej, Chemia 63, 3 (1973).
- [3] Knappe E., Rohedewald J.: Z. Anal. Chem., 210, 183 (1965).
- [4] Cramer F.: Papierchromatographie, Verlag Chemie, Weinheim 1962.
- [5] Stahl E.: Thinlayer Chromatography, Springer Verlag - Berlin, New York 1969.
- [6] Farren E.F., Mills J.A.: Anal. Chem., 24, 650 (1952).
- [7] Bauer H., Moll H., Pohloudek-Fabini R., Beyrich R.: Die organische Analyse, Akademischer Verlag, Leipzig 1967.
- [8] Opińska-Blauth J., Waksmundzki A., Kański M.: Chromatografia, PWN Warszawa 1957.

ПОПЫТКА ИМПРЕГНИРОВАНИЯ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ БУМАГИ ПРИ ПОМОЩИ  
ВНУТРЕННЕЙ СОЛИ ДВУРТУТЬЕМАЛОНОВОЙ КИСЛОТЫ

## Резюме

При помощи внутренней соли двуртутьемалоновой кислоты была импрегнирована хроматографическая бумага. Исследовано сохранение на этой бумаге органических кислот, амин, и аминокислот в разных системах развития.

Подтверждено изменение коэффициента  $R_f$  для разных соединений, и разных систем развития.

A TEST FOR IMPREGNATION OF CHROMATOGRAPHIC PAPER BY MEANS  
OF INTERNAL SALT OF DIMERCURYMALONIC ACID

## Summary

The internal salt of dimercurymalonic acid has been used as a substance impregnating the chromatographic paper. Observation of organic acids, amines and aminoacids in various developing arrangements on the impregnated paper. The performed tests have revealed a number of changes in the value  $R_f$  for different combinations and different developing arrangements.