

ХИМИЯ

Е. М. БРУМБЕРГ

**ПРИБОР ДЛЯ ХРОМАТОГРАФИИ И ХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА
В УЛЬТРАФИОЛЕТОВЫХ ЛУЧАХ (УЛЬТРАХЕМИСКОП)**

(Представлено академиком С. И. Вавиловым 10 IV 1950)

В 1939 г. автором настоящей статьи ⁽¹⁾ был предложен применимелько к ультрафиолетовой микроскопии метод химического анализа, основанный на получении цветных изображений, отражающих характер ультрафиолетовых спектров поглощения изучаемых веществ, получивший в настоящее время название метода цветовой трансформации. Позднее Е. М. Брумбергом и С. А. Гершгориным ⁽²⁾ было описано приложение этого метода к задачам хроматографии.

Здесь описывается простой прибор — ультрахемископ, предназначенный для работ по хроматографии на фильтровальной бумаге и для капельного химического анализа, а также основанный на использовании ультрафиолетовых спектров поглощения определяемых веществ.

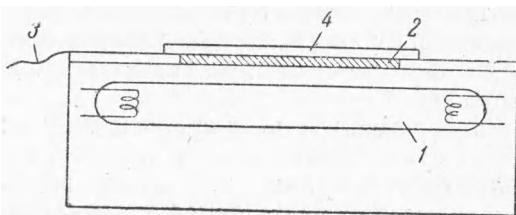


Рис. 1

Ультрахемископ (рис. 1) состоит из небольшого плоского ящика, в котором помещена ртутная лампа низкого давления 1 в увиолевом стекле (бактерицидная). В верхней крышке ящика, в непосредственной близости от лампы, вделан тонкий светофильтр 2 из темного пурпурного стекла марки УФС1 завода Лензос (UG-5 по Шотту), поглощающий видимое излучение лампы (особенно сильно лучи средней части видимого спектра) и пропускающий ультрафиолетовые лучи с длинами волн от 410 до 240 м μ . Исследуемая фильтровальная бумага 3 кладется на этот светофильтр и плотно прижимается к нему флуоресцирующим экраном 4, на котором в местах, расположенных против мест скопления в бумаге веществ, поглощающих ультрафиолетовые лучи, появляются тени.

Основная доля энергии в излучении ртутной лампы низкого давления сосредоточена в резонансной спектральной линии ртути с длиной волны 253 м μ ; однако в наших условиях, когда лампа горит при несколько повышенном давлении вследствие отсутствия вентиляции в кожухе, в ее излучении достаточно представлены и более длинноволновые линии ртутного спектра.

Флуоресцирующий экран ультрахемископа представляет собою стеклянную пластину, на которой со стороны, обращенной к прибору, нанесены три тонких слоя флуоресцирующих веществ, отличающихся спектрами возбуждения и флуоресценции. Первый слой, наружный

возбуждается только ультрафиолетовыми лучами с длиной волны от 270 м μ и короче; флуоресценция второго слоя может возбуждаться лучами с $\lambda = 320$ м μ и короче, но в наших условиях она возбуждается только лучами ограниченного участка длин волн 320—270 м μ , так как лучи с λ короче 270 м μ поглощаются первым слоем, играющим по отношению ко второму слою роль светофильтра; третий слой состоит из флуоресцирующего вещества, возбуждаемого лучами всех длин волн короче 400 м μ , но в наших условиях, по причинам, аналогичным указанным выше, он возбуждается только лучами с λ от 400 до 320 м μ . Цвет флуоресценции отдельных слоев в соответствии с трехцветной природой нашего зрения должен иметь один из трех основных цветов — красный, зеленый и синий. Возможно также применение в одном слое смеси флуоресцирующих веществ с избирательным поглощением и флуоресценцией.

Цвет теней, возникающих на описанном выше трехслойном экране против мест скопления различных веществ, нанесенных на прижатую к экрану фильтровальную бумагу, определяется ультрафиолетовыми спектрами поглощения этих веществ. Таким образом, цвет тени на экране может служить качественным признаком находящегося под ней вещества, что и было положено нами ранее в основу визуальных приемов метода цветовой трансформации (1, 3).

Хроматография

Ультрахемископ, подобно тому, как было описано нами в первой статье (2), позволяет определять положение веществ, поглощающих ультрафиолетовые лучи в бумажной хроматограмме. Цвет теней на флуоресцирующем экране ультрахемископа во многих случаях может быть использован для качественной характеристики разделенных веществ.

Избирательность флуоресценции многослойных экранов чрезвычайно существенна и в тех случаях, когда интересуются только местом положения в бумаге известных веществ, так как ею определяется также контрастность теней и резкость очертания их контуров. На неселективных экранах, возбуждаемых ультрафиолетовыми лучами широкой спектральной области, вещества, поглощающие лучи относительно узких спектральных участков, не дают заметных теней, подобно тому, как не получается отчетливых снимков на микрофотографиях, снятых в ультрафиолетовых лучах без светофильтров. Многослойные экраны позволяют получать резкие тени от веществ с различным положением в спектре полос поглощения в пределах области действия прибора от 400 до 250 м μ ; в отдельных случаях для хроматографии возможно применение упрощенных экранов, покрытых одним слоем флуоресцирующего вещества, возбуждаемого только коротковолновыми ультрафиолетовыми лучами.

При разгонке веществ в толстых и поэтому малопрозрачных фильтровальных бумагах, последние приходится просвечивать для просмотра на ультрахемископе, смачивая их жидкостью, прозрачной для ультрафиолетовых лучей — водой, бутанолом и др. Подобным же образом на ультрахемископе можно рассматривать еще невысушенные, сырье хроматограммы сразу после разгонки веществ или даже в самом процессе разгонки, если только применяемый для разгонки растворитель прозрачен в используемой для наблюдений ультрафиолетовой области.

Прибор был применен для хроматографического разделения нукleinовых кислот и нуклеопротеидов (С. Е. Манойлов) и некоторых других производных пуриновых и пиридиновых оснований (С. А. Эпштейн и М. П. Фомина).

На том же приборе, разумеется, можно рассматривать хроматограммы, образованные флуоресцирующими веществами в свете их собственной флуоресценции, не применяя в этом случае флуоресцирующих экранов.

Основной недостаток хроматографии в ультрафиолетовых лучах состоит в том, что она применима только к веществам, флуоресцирующим или поглощающим ультрафиолетовые лучи с длинами волн больше 250 мк. В целях придания этому методу и описанному здесь прибору большей универсальности нами, совместно с Р. М. Плотниковым, М. П. Фоминой, С. А. Эштейном и др., разрабатываются в настоящее время приемы химического проявления хроматограмм для рассматривания их в ультрафиолетовых лучах. Возможны два различных приема такого проявления: 1) ультрафиолетовое окрашивание соответствующими реактивами веществ в готовой хроматограмме и 2) превращение испытуемых веществ в исходном смешанном растворе до их разгонки в соединения, поглощающие ультрафиолетовые лучи, и последующее разделение хроматографическим методом этих новых веществ, которые займут в хроматограмме хотя и другие, но определенные положения.

В качестве первого примера применения в хроматографии ультрафиолетовых химических реакций нами применялось бензоилирование аминокислот до их разделения в бумажной хроматограмме. В дальнейшем, после разделения, исходные аминокислоты могут быть получены в чистом виде путем дебензоилирования разделенных веществ. Подробнее эти опыты будут описаны отдельно.

Ультрахемископ, являющийся источником преимущественно коротковолновых лучей, может быть хорошо использован также для наблюдения „зон“, образованных в хроматографической колонке веществами, поглощающими коротковолновые ультрафиолетовые лучи, для чего к адсорбенту, находящемуся в кварцевой трубке, может быть подмешан люминофор, возбуждаемый только коротковолновыми ультрафиолетовыми лучами*.

Капельный химический анализ

Ранее нами была показана возможность применения в ультрафиолетовой микроскопии качественных микрохимических реакций, основанных на наблюдении ультрафиолетовой окраски продуктов реакции⁽⁴⁾. Этот прием может быть использован в гистохимии и других разделах органической химии, а также в неорганической химии, для которой возможно построить при комбинированном использовании хороших микрохимических реакций для видимого света некоторых особенно удачных люминесцентных реакций и новых ультрафиолетовых цветных реакций общую систему микрохимического анализа, составленную из наиболее простых и чувствительных реакций. Перечисленные приемы наблюдения осуществляются с помощью одного и того же прибора — визуального ультрафиолетового микроскопа⁽⁵⁾. Аналогичная система анализа может быть осуществлена также при помощи описанного здесь хемископа и капельных реакций на фильтровальной бумаге.

Техника проведения ультрафиолетовых капельных реакций та же, что и обычных. Отличие этого метода состоит лишь в способе наблюдения результата реакции. На фильтровальную бумагу наносится капля испытуемого раствора, а затем капля реагента. Результатом реакции получается вещество с сильным поглощением в определенном участке

* Особенно хорош для этой цели дешевый фосфор на основе фосфата кальция, описанный В. В. Зелинским, Ф. М. Пекерман и Б. И. Вайнбергом⁽⁶⁾.

ультрафиолетового спектра, которое дает на трехслойном флуоресцирующем экране хемископа теневое пятно определенного цвета. Вещества, присутствующие в том же растворе, но не дающие с тем же реактивом продуктов, вызывающих заметное окрашивание экрана, не мешают анализу.

В качестве одного из примеров ультрафиолетовых капельных реакций мы, совместно с Т. А. Зайцевым и К. П. Столяровым, испытали капельную реакцию на цинк, микрохимическое определение которого другими средствами представляет значительные трудности. Реакция эта сводится к получению в фильтровальной бумаге сернистого цинка при действии сернистым натрием на уксуснокислый цинк. Сернистый цинк даже в очень тонких слоях чрезвычайно сильно поглощает ультрафиолетовые лучи, начиная с длины волн $340 \text{ м} \mu$ (⁶). Сернистые соединения или гидраты других элементов, например, гидрат окиси алюминия, образующиеся с тем же реактивом, прозрачные в районе $\lambda 340 \text{ м} \mu$, не мешают определению цинка.

Алюминий может быть открыт в том же растворе с помощью люминесцентной капиллярной реакции с морином (⁷), хорошо наблюдаемой на том же приборе.

Аналогичная реакция на цинк может быть проведена и с помощью ультрафиолетового микроскопа при значительно меньшем содержании цинка. К. П. Столяровым в настоящее время продолжается систематическая разработка микрохимических и капельных ультрафиолетовых реакций для ряда других веществ. Разработка достаточно полной системы такого анализа на многие вещества потребует, естественно, значительного времени и работы многих людей.

Ультрахемископ, повернутый на 90° в вертикальное положение, позволяет также производить реакции в плоских кварцевых кюветках, наблюдая цветные тени на поставленном за ними трехслойном флуоресцирующем экране.

В разработке описанного здесь прибора и особенно многослойных экранов к нему, которые будут описаны отдельно, большое участие принимали В. П. Дуткинский и И. Н. Бережная. Специальные ртутные лампы для ультрахемископа разработаны С. И. Левиковым и К. Н. Улитиной. Работа выполнена в лаборатории акад. С. И. Вавилова, которому я приношу глубокую благодарность за многочисленные указания

Поступило
22 XI 1949

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ Е. М. Брумберг, ДАН, **25**, № 6 (1939). ² Е. М. Брумберг и С. А. Гершгорин, ДАН, **69**, № 6 (1949). ³ Е. М. Брумберг, Изв. АН СССР, сер. физ., **6**, 32 (1942). ⁴ Е. М. Брумберг, Вестн. АН СССР, **6**, № 8—9, 117 (1946). ⁵ Е. М. Брумберг, ДАН, **52**, № 6 (1946). ⁶ Е. М. Брумберг и Ф. М. Пекерман, Изв. АН СССР, сер. физ., **13**, 218 (1949). ⁷ М. А. Константинова-Шлезингер, Люминесцентный анализ, Изд. АН СССР, 1948. ⁸ В. В. Зелинский, Ф. М. Пекерман и Б. И. Вайнберг, ЖЭТФ, **20**, 395 (1950).