

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 применительно 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. Гершгориним ⁽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.

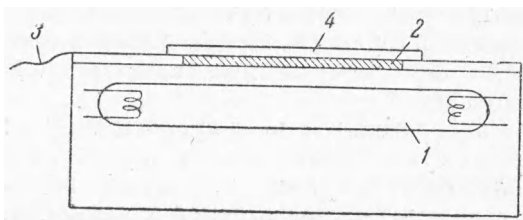


Рис. 1

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 мμ и короче; флуоресценция второго слоя может возбуждаться лучами с $\lambda = 320$ мμ и короче, но в наших условиях она возбуждается только лучами ограниченного участка длин волн 320—270 мμ, так как лучи с λ короче 270 мμ поглощаются первым слоем, играющим по отношению ко второму слою роль светофильтра; третий слой состоит из флуоресцирующего вещества, возбуждаемого лучами всех длин волн короче 400 мμ, но в наших условиях, по причинам, аналогичным указанным выше, он возбуждается только лучами с λ от 400 до 320 мμ. 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 не-селективных 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 мμ; 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 просветлять для просмотра на ультрахемископе, смачивая их жидкостью, прозрачной для ультрафиолетовых лучей — водой, бутанолом и др. Подобным же образом на ультрахемископе можно рассматривать еще невысушенные, сырые 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 нуклеиновых кислот и нуклеопротеидов (С. Е. Манойлов) и некоторых других производных пуриновых и пиримидиновых 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 мμ. В целях придания этому методу и описанному здесь прибору большей универсальности нами, совместно с Р. М. Плотиновым, М. П. Фоминой, С. А. Эпштейном 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 реактива. 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 (8).

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 волны 340 мμ⁽⁶⁾. Сернистые соединения или гидраты других элементов, например, гидрат окиси алюминия, образующиеся с тем же реактивом, прозрачные в районе λ 340 мμ, 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).