



TALLINNA TEHNIKAÜLIKOOL
INSENERITEADUSKOND
Virumaa kolledž

**Õhukese kihi kromatograafia meetodi kasutamine
2-metüülresortsinooli karboksüülimisproduktide
analüüsimiseks**

**Using the thin-layer chromatography method for the analysis
of 2-methylresorcinol carboxylation products**

KEEMIASTEHNOLÓGIA ÕPPEKAVA LÕPUTÖÖ

Üliõpilane: Julija Voinskaja

Üliõpilaskood: 193022 EDKR

Juhendaja: Larisa Grigorieva, PhD,
teadur

AUTORIDEKLARATSIOON

Olen koostanud lõputöö iseseisvalt.

Lõputöö alusel ei ole varem kutse- või teaduskraadi või inseneridiplomit taotletud. Kõik töö koostamisel kasutatud teiste autorite tööd, olulised seisukohad, kirjandusallikatest ja mujalt pärinevad andmed on viidatud.

"22" mai 2023.

Autor: Julija Voinskaja
/ allkiri /

Töö vastab rakenduskõrgharidusõppe lõputööle/magistritööle esitatud nõuetele
"22" mai 2023.

Juhendaja: Larisa Grigorieva
/ allkiri /

Kaitsmisele lubatud
"30" mai 2023.

Kaitsmiskomisjoni esimees: Antonina Zguro
/ nimi ja allkiri /

LIHTLITSENTS LÕPUTÖÖ ÜLDSUSELE KÄTTESAADAVAKS TEGEMISEKS JA REPRODUTSEERIMISEKS

Mina Julija Voinskaja (sünnikuupäev: 02.06.1986)

1. Annan Tallinna Tehnikaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose

Õhukese kihi kromatograafia meetodi kasutamine 2-metüülresortsinooli karboksüülimisproduktide analüüsimiseks mille juhendaja on Larisa Grigorieva,

1.1. reprodutseerimiseks säilitamise ja elektroonilise avaldamise eesmärgil, sealhulgas Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogusse lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2. üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tallinna Tehnikaülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogu kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. Olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta kolmandate isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest ja teistest õigusaktidest tulenevaid õigusi.

TalTech Inseneriteaduskond Virumaa kolledž

LÕPUTÖÖ ÜLESANNE

Üliõpilane: Julija Voinskaja, 193022 EDKR

Õppekava, peeriala: EDKR16/17, Keemiatehnoloogia

Juhendaja: Teadur, PhD, Larisa Grigorieva, larisa.grigorieva@taltech.ee

Lõputöö teema:

(eesti keeles) Õhukese kihi kromatograafia meetodi kasutamine 2-metüülresortsinooli karboksüülimisproduktide analüüsimiseks

(inglise keeles) Using the thin-layer chromatography method for the analysis of 2-methylresorcinol carboxylation products

Lõputöö põhieesmärgid:

Näidata õhukese kihi kromatograafia kasutamise võimalust

2-metüülresortsinooli karboksüülimisproduktide kvalitatiivseks ja kvantitatiivseks analüüsiks

Lõputöö etapid ja ajakava:

Nr	Ülesande kirjeldus	Tähtaeg
1.	Kirjanduse ülevaade antud teemal	15.03.2023
2.	2-metüülresortsinooli karboksüülimise sünteesi läbiviimine	18.03.2023
3.	2-metüülresortsinooli ja 2,4-dihüdrosü-3-metüülbensoehappe segu analüüs õhukese kihi kromatograafia abil, kasutades arvutiprogramme	10.04.2023
4.	Tulemuste kokkuvõte	25.04.2023
5.	Lõputöö vormistamine	05.05.2023

Töö keel: Eesti keel **Lõputöö esitamise tähtaeg:** "22" mai 2023a

Üliõpilane: Julija Voinskaja "22" mai 2023a
/allkiri/

Juhendaja: Larisa Grigorieva "22" mai 2023a
/allkiri/

Programmijuht: Antonina Zguro "22" mai 2023a
/allkiri/

SISUKORD

EESSÕNA	7
LÜHENDITE JA TÄHISTE LOETELU	8
SISSEJUHATUS.....	9
1. PÕLEVKIVIFENOOLID, NENDEL PÕHINEV HAPETE SÜNTEES JA ANALÜÜS TLC ABIL	10
1.1 Põlevkivifenoolid	10
1.2 Fenoolhapped	13
1.3 Resortsinoolide karboksüülimise meetodid.....	15
1.4 Alküülresortsinoolide määramismeetodid.....	19
1.5 TLC teoreetilised alused	23
1.5.1 TLC sorbendid.....	24
1.5.2 TLC liikuvad faasid.....	25
1.5.3 Komponentide identifitseerimine	26
1.5.4 Kvalitatiivne ja kvantitatiivne analüüs TLC abil	27
1.6 TLC tarkvara.....	29
1.6.1 Just TLC	29
1.6.2 SORBFIL Videodensitometer TLC Quantitative Evaluation.....	31
2. EKSPERIMENTAALNE OSA	33
2.1 Ilmuti valik.....	34
2.2 Elunedi valik.....	35
2.3 2-MR karboksüülimisprodukti eraldamine	36
2.4 Kalibreerimisgraafiku koostamine 2-MR kontsentratsiooni määramiseks	38
2.4.1 Kalibreerimisgraafiku koostamine 2-MR kontsentratsiooni määramiseks segus, kasutades SORBFIL TLC Videodensitometer tarkvara.....	38
2.4.2 Kalibreerimisgraafiku koostamine 2-MR kontsentratsiooni määramiseks segus, kasutades Just TLC tarkvara.....	39
2.5 Kalibreerimisgraafiku koostamine 2,4-DH-3-MBA kontsentratsiooni määramiseks	41
2.5.1 Kalibreerimisgraafiku koostamine 2,4-DH-3-MBA kontsentratsiooni määramiseks SORBFIL TLC Videodensitometer tarkvara abil.....	41

2.5.2 Kalibreerimisgraafiku koostamine 2,4-DH-3-MBA kontsentratsiooni määramiseks, kasutades JusT TLC tarkvara	43
2.6 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA kvantitatiivne analüüs	45
2.7 2-MR karboksüülimisproduktide kvantitatiivne analüüs	47
JÄRELDUSED.....	52
KOKKUVÕTE	54
SUMMARY.....	55
KASUTATUD KIRJANDUS.....	56
LISAD	60

EESSÕNA

Lõputöö teema „Õhukese kihi kromatograafia meetodi kasutamine 2-metüülresortsinooli karboksüülimisproduktide analüüsimiseks“ oli valitud koostöös TalTech Virumaa kolledži Põlevkivi Kompetentsikeskuse kütuste tehnoloogia teadus-ja katselaboratooriumi teaduri Larisa Grigorievaga. Kõik põhiandmed koguti TalTech Virumaa kolledži Põlevkivi Kompetentsikeskuses.

Autor soovib avaldada tänu lõputööjuhendajale teaduri (PhD) Larisa Grigorievale osutatud abi eest.

Võtmesõnad: õhukese kihi kromatograafia, 2-metüülresortsinool, 2,4-dihüdrosü-3-metüülbensoehape, 2-metüülresortsinooli karboksüülimisproduktide analüüs, diplomitöö.

LÜHENDITE JA TÄHISTE LOETELU

2,4-DH-3-MBA – 2,4-dihüdroksü-3-metüülbensoehape (ingl.k *2,4-dihydroxy-3-methylbenzoic acid*)

2-MR – 2-metüülresortsinool

5-MR – 5-metüülresortsinool

CAS – keemiline abstraktne teenus (ingl. k *Chemical Abstracts Service*)

GC – gaasikromatograafia (ingl. k *Gas chromatography*)

EOLSS – elu toetavate süsteemide entsüklopeedia (ingl. k *Encyclopedia of Life Support Systems*)

p.a – analüüsiks puhas (ingl.k *pure for analysis*)

pH – vesiniku potentsiaal (ingl.k *Potential of hydrogen*)

R – resortsinool

TLC – õhukese kihi kromatograafia (ingl. k *Thin Layer Chromatography*)

SISSEJUHATUS

Põlevkivi peetakse peamiseks maavaraks, mis on Eesti keemiatööstuse tooraine. Põlevkiviõli on juhtivate põlevkivitöötlemisettevõtete: Viru Keemia Grupp AS (VKG AS), Enefit Power AS, Kiviõli Keemiatööstuse OÜ (KKT OÜ) - põhitoode. Põlevkiviõlist eraldatakse alküülresortsinoolide segu, mille väärtuslikud komponendid on resortsiin, 5-MR ja 2-MR. Need (alküül)resortsinoolid saadakse põlevkiviõli fraktsioonidest kristalliseerimise meetodiga. Need võivad olla erinevate ainete, näiteks fenoolhapete sünteesi toorained. Tuntud on fenoolhapete kasutamine aeroeelide, ravimite, adhesiivide tootmiseks.

Praegu on alküülresortsinoolide ja nendel põhinevate hapete määramiseks erinevaid meetodeid. Nende analüüsi (kvalitatiivse ja kvantitatiivse) probleem on asjakohane ja oluline. Selles töös valiti 2-MR karboksüülimisproduktide analüüsiks õhukese kihi kromatograafia (TLC). Teema aktuaalsus seisneb selles, et täna puudub ekspressne, soodne, üldkättesaadav ja täpne meetod 2-MR ja 2,4-dihüdroksü-3-metüülbensoehappe (2,4-DH-3-MBA) sisalduse määramiseks 2-MR karboksüülimisproduktides.

TLC on lihtne, kiire ja odav meetod tundmatu koostisega ühendite segu kromatograafiliseks analüüsiks. See sobib suurepäraselt nii ekspressanalüüsiks kui ka reaktsiooni kulgemise kontrollimiseks.

Lõputöö eesmärk on näidata TLC kasutamise võimalust 2-MR karboksüülimissaaduste kvalitatiivseks ja kvantitatiivseks analüüsiks. Selle eesmärgi saavutamiseks määratleti järgmised ülesanded: omandada TLC meetodi, kasutades arvutiprogramme plaatide töötlemiseks SORBFIL TLC Videodensitometr ja Just TLC; valida ilmuti ja eluent 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA eraldamiseks; analüüsida 2-MR karboksüülimisprodukte.

Töö uudsus seisneb selles, et hetkel puuduvad igasugused kirjanduslikud andmed või meetodid 2-MR karboksüülimistoodete eraldamiseks ja analüüsiks TLC meetodil.

Uurimistöö käigus määrati 2-MR karboksüülimise produktides kvalitatiivselt 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA. Eespool nimetatud ainete kvantitatiivseks määramiseks on koostatud kalibreerimisgraafikud. Võrreldi 2-MR karboksüülimisproduktide kvantitatiivset analüüsi TLC ja gaasikromatograafia meetodiga.

Uuringu käigus saadud andmeid võib kasutada 2-MR karboksüülimisreaktsiooni kulgemise kontrollimiseks nii uurimistööde tegemisel kui ka tööstuspraktikas.

1. PÕLEVKIVIFENOOLID, NENDEL PÕHINEV HAPETE SÜNTEES JA ANALÜÜS TLC ABIL

1.1 Põlevkivifenoolid

Fenoolid on aromaatsete süsivesinike derivaadid, milles üks või mitu benseenitsükli vesinikuaatomit on asendatud hüdroksüülrühmaga [1]. Võttes arvesse hüdroksüülrühmade arvu, jagatakse fenoolid ühe- ja mitmeaatomilisteks. Üheaatomiliste hulka kuuluvad fenool ja selle homoloogid - kresool, ksüleenool; kaheaatomiliste hulka - resortsinool, alküülresortsinool. [2]

Põlevkivifenoolid saadakse põlevkivi termilisel töötlemisel tekkinud vaigust. Põlevkivivaiku töödeldakse naatriumhüdroksiidi vesilahusega. Saadud fenolaatide lahus puhastatakse neutraalsetest õlidest benseeni või kerge bensiiniga pesemise teel. Fenoolid eraldatakse fenolaatide lagunemisel mineraalhappega. Kõik saadud ehk üldfenoolid destilleeritakse vaakumis erinevateks fraktsioonideks. [2]

Põlevkivivaigu fenoolid keemilise koostise järgi on keeruline segu erinevatest ainetest: fenool, kresool, ksüleenool ja nende derivaadid, samuti resortsinooli ja naftaleeni derivaadid. [2]

Põlevkivi-kukersiidi termilisel töötlemisel tekkinud põlevkivifenoolid jaotuvad kondensatsioonisüsteemis kahe segunematu vedeliku – vaigu ja vaiguvee – vahel. Seetõttu tuleks põlevkivi üldfenoolide all mõista kõiki nii vees (vesilahustuv) kui ka vaigus (õlis lahustuvad, vaigused) lahustuvad fenoolid. Suurem osa fenoolveest eraldatud vees lahustuvatest fenoolidest on resortsinooli alküül derivaadid (alküülresortsinoolid). [3:219]

Vees lahustuvate üldfenoolide koostis on toodud tabelis 1.1.

Tabel 1.1 Vees lahustuvad põlevkiviõli fenoolid EOLSS andmete järgi [4]

Komponent	Põlevkiviõli fenoolide sisaldus, % mass.
Ühealuselised (kaasarvatud ksüleenoolid)	5,0 – 10,0
Resortsinool	0,5 – 2,0
2-metüülresortsinool	0,5 – 1,5
4-metüülresortsinool	1,5 – 2,5
5-metüülresortsinool	25,0 – 35,0
2,5-dimetüülresortsinool	8,0 – 12,0

Tabel 1.1 (Jätk)

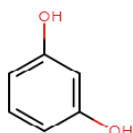
Komponent	Põlevkiviõli fenoolide sisaldus, % mass.
4,5-dimetüülresortsinool	8,0 – 10,0
5-etüülresortsinool	9,0 – 11,0
Muud tuvastatud resortsinooli derivaadid	15,0 – 28,0
Identifitseerimata resortsinooli derivaadid	3,0 – 7,0

Fenoolhapete (hüdrosüalküülbensoehapete) sünteesiks kasutatakse kõige sagedamini resortsinooli, 2-MR ja 5-MR. Need resortsinoolid eraldatakse kristalliseerimise teel VKG AS-i põlevkiviõli fraktsioonidest. Teistes riikides (v.a Eesti) kasutatakse hapete sünteesiks sünteetilist resortsinooli ja alküülresortsinooli. VKG AS toodab põlevkiviõlist Honeyol ja Rezol fraktsioonid. [5]

Honeyol fraktsiooni keemistemperatuur on 270-320°C. Antud fraktsioon koosneb resortsinooli derivaatidest. Sisaldab vähemalt 48% 5-MR. Honeyol võib tõhusalt asendada resortsinooli erinevates tootmisprotsessides. [5]

Rezol on alküülresortsinoolide fraktsioon, mille keemistemperatuur on üle 270°C. Antud fraktsioon sisaldab umbes 40% 5-MR. Rezoli saab kasutada vaikude tootmise toorainena. [5]

R (resortsinool). Molekulaarne valem on $C_6H_4(OH)_2$, resortsinooli molekulaarne mass on 110,1 g/mol. Struktuurne valem on näidatud joonisel 1.1.



Joonis 1.1 Resortsinool

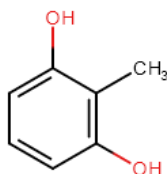
Resortsinool on värvitu või kergelt värvunud aine kerge lõhnaga. Puhas ja kuiv resortsinool sulab 118°C juures, keeb 276,5°C juures, lahustub kergesti vees (140g/100ml), alkoholis, kuid lahustub vähe bensoolis. Ühend on kantud CAS-i registrisse numbriga 108-46-3. Alustega moodustab resortsinool soolasid (resortsinaate), kergesti mõjustab formaldehüüdiga, moodustades kleepuvaid vaike. [2]

Resortsinool on kasutuses:

- keemiatööstuses kunstlike värvainete loomiseks;
- kolorimeetrilistes uuringutes raskmetallide sisalduse määramiseks;
- värvainena karusnahatoodete valmistamisel;

- meditsiinis; osa desinfitseerivatest ja haavade paranemist soodustavatest salvidest. Kasutatakse seen- ja nahahaiguste raviks. [6]

2-MR (2-metüülresortsinool). Molekulaarne valem on $C_7H_8O_2$, molekulaarne mass on 124,14 g/mol. Struktuurne valem on näidatud joonisel 1.2



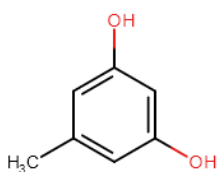
Joonis 1.2 2-MR

Antud ühend on valge kristalline. Sünteetiline 2-MR on saadud resortsinoolist. Ühend on kantud CAS-i registrisse numbriga 608-25-3. Keemistemperatuur 264°C, sulamistemperatuur 118-121°C. Sünonüümideks on 2,6-dioksütolueen, 2-metüül-1,3-benseendiol. [7]

2-MR on kasutuses:

- kolorimeetrilistes koostistes ja ka antioksidandina;
- karusnaha- ja juuksevärvide värvainena, sealhulgas ka keratiinlisandiga toodetes;
- farmakoloogias, ka kosmeetika vahendite ja parfüümide koostises. [7]

5-MR (5-metüülresortsinool). Molekulaarne valem on $C_7H_8O_2$, molekulaarne mass on 124,14 g/mol. Struktuurne valem on näidatud joonisel 1.3



Joonis 1.3 5-MR

Antud ühend on värvitu kristall, mis õhuga kokkupuutel muutub punakasroosaks. Sünteetiline 5-MR on saadud resortsinoolist. CAS number on 504-15-4. Keemistemperatuuriks on 280°C, sulamistemperatuuriks on 107-108°C. Sünonüümideks on 3,5-dihüdrosütolueen, orsiin, orsinool. Veega kristalliseerimise teel moodustub orsiinmonohüdraat valemiga $C_7H_8O_2 \cdot H_2O$, mis lahustub hästi vees, alkoholis ja eetris. [8]

5-MR on kasutuses:

- analüütilises keemias;
- ravimpreparaatide koostises;
- kosmeetikatoodete tootmises;
- karusnaha värvide koostises. [5]

5-MR ja 2-MR üks tähelepanuväärsemad kasutusviise on fenoolhapete süntees.

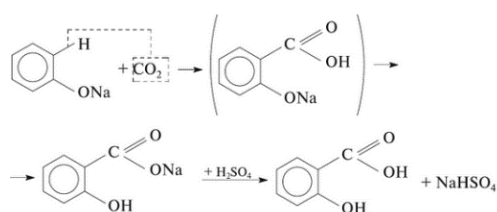
1.2 Fenoolhapped

Fenoolhapped (hüdrosübensoehapped, aromaatsed hüdrosükarboksüülhapped) on aromaatsed hüdrosühapped, mis sisaldavad ühte või mitu hüdrosüülrühma, mis on otseselt seotud aromaatses tuumaga. Fenoolhapped on värvitu kristallained, mis lahustuvad halvasti külmas ja kergesti kuumas vees, lahustuvad alkoholis ja eetris. Ühe hüdrosüülrühmaga (-OH) fenoolhapped lahustuvad vees halvasti. Fenoolsete -OH rühmade arvu suurenemisega suureneb ka nende lahustuvus. [9] Fenoolhapped on looduses levinud. Seetõttu saab neid leida ka looduslikust toorainest: veripunasest viirpuust, arooniast, taruvaigust. Hüdrosübensoehapped moodustavad olulise ühendite rühma, mida iseloomustab laiaulatuslik farmakoloogiline toime. Nendel ühenditel on viirusevastane, põletikuvastane, diureetiline, allergiavastane ja sapinõrasti toime. Nad osalevad inimese taastumis- ja kohanemisprotsessides ning aitavad ära hoida ka erinevaid haigusi. [10] Aromaatsed hüdrosükarboksüülhappeid kasutatakse farmaatsia- ja kosmeetikatööstuses, asovärvide, fungitsiidide, aerogeelide ja plastiku tootmises. Samuti antud ühendid on antiseptikumid, on ka osa nahahaiguste raviks mõeldud salvidest, pastadest, pulbritest ja lahustest. Lisaks kasutatakse neid mõnedes toiduainetes säilitusainetena. [11]

Fenoolhapete saamiseks kasutatakse sageli sünteetilisi meetodeid. Sünteetilised meetodid fenoolhapete tootmiseks algavad tavaliselt fenoolidest (nende derivaatidest) ja aromaatsetest hapetest. Karboksüülrühma viiakse fenooli molekuli sisse ja fenoolne hüdrosüülrühm viiakse omakorda aromaatses happe molekuli sisse. [9]

Aromaatsed hüdrosükarboksüülhappeid valmistatakse sageli fenoolide otsese karboksüülimise teel. Antud ühendite klassi peamiseks esindajaks on salitsüülhape. Molekulaarvalemiks on $C_6H_4(OH)COOH$. Antud aine on värvitu, lahustub hästi etanoolis, dietüületris. [9] Kui naatriumfenolaadi kuiva pulbrit CO_2 -ga kuumutatakse rõhu all temperatuuril 120–140 °C, viiakse CO_2 molekul fenolaadimolekuli fenoolrühma suhtes orto-asendis. Moodustub salitsüülhappe fenolaat. Seejärel isomeriseeritakse saadud ühend salitsüülhappe naatriumsoolaks. Salitsüülhappe fenolaadi vaba karboksüülrühm mõjutab asendatud fenoolrühma. Selle tulemusena moodustub salitsüülhappe sool. Seda lagundatakse väävelhappega ja saadakse salitsüülhape. [9]

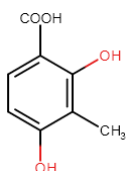
Joonisel 1.4 on näidatud salitsüülhappe moodustumise skeem.



Joonis 1.4 Naatriumfenolaadi karboksüülimine [9]

Põlevkivi alküülresortsinoole saab kasutada ka hüdroksübensoehapete, näiteks 2,4-DH-3-MBA ja 4,6-dihüdroksü-2-metüülbensoehappe tootmiseks.

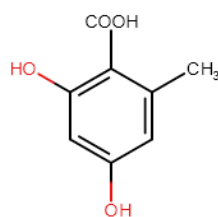
2,4-DH-3-MBA (2,4-dihüdroksü-3-metüülbensoehape). Molekulaarne valem on $C_8H_8O_4$, molekulaarne mass on 168,15 g/mol, CAS numbriks on 4707-49-7. [12] 2,4-DH-3-MBA struktuurne valem on näidatud joonisel 1.5.



Joonis 1.5 2,4-DH-3-MBA [12]

See on valge kristalline. Seda saadakse 2-MR karboksüülimisel, 3-metüül- β -resortsüülhappe sünonüümi. [13] 2,4-DH-3-MBA kasutatakse averufiini sünteesil, mis on kasulik vaheühend aflatoksiini B1 biosünteesis. [14]

4,6-dihüdroksü-2-metüülbensoehape. Molekulaarne valem $C_8H_8O_4$, molekulaarne mass on 168,15 g/mol, CAS numbriks on 480-64-8. 4,6-dihüdroksü-2-metüülbensoehappe struktuurne valem on näidatud joonisel 1.6.



Joonis 1.6 4,6-dihüdroksü-2-metüülbensoehape.

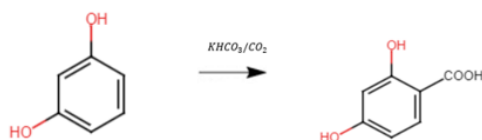
Antud ühendi saadakse 5-MR karboksüülimisel. Sünonüümiks on orseliinhape (o-orselic acid). [16] Sulamistemperatuuriks on 173–174 °C, keemistemperatuuriks: 257,07 °C (ligikaudne hinnang).

1.3 Resortsinoolide karboksüülimise meetodid

Karboksüülimine on süsihappegaasi lisamise reaktsioon orgaanilistele ainetele karboksüülrühma moodustamisega. [17]

Resortsinool ja selle derivaadid karboksüülitakse süsinikdioksiidi ja leeliseliste komponentide juuresolekul, moodustades karboksüülhappeühendeid. Resortsinooli monokarboksüülimise korral ülekaalus olevateks produktideks on 2,4-dihüdrosübensoehape (β -resorcylic acid ehk BRA) ning 2,6-dihüdrosübensoehape (γ -resorcylic acid ehk GRA). [18]

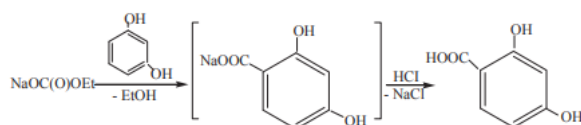
Joonis 1.7 näitab reaktsiooni β -resortsüülhappe saamiseks resortsinooli reageerimisel leelismetalli karbonaadiga.



Joonis 1.7 Resortsinooli reaktsioon leelismetallkarbonaadiga [18]

Resortsinooli karboksüülimiseks on mitmeid meetodeid, mida käsitletakse allpool.

Hüdrosüareenide karboksüülimine metallalküülkarbonaatidega. Resortsinooli ja m-kresooli karboksüülimise reaktsioonis kasutatakse karboksüülimisreagendina etüülsüsihappe naatriumsoola. Joonis 1.8 näitab resortsinooli karboksüülimisreaktsiooni, kasutades etüülsüsihappe naatriumsoola.



Joonis 1.8 Resortsinooli karboksüülimisreaktsioon [19]

Resortsinooli karboksüülimine erinevatel temperatuuridel toob kaasa isomeersed resortsüülhapped: β -resortsüülhape ja γ -resortsüülhape. Temperatuuril $120^\circ C$ tekib β -resortsüülhape 59,7%, aga temperatuuril $160^\circ C$ tekib γ -resortsüülhape 23,4%. [19]

Süntees viiakse läbi roostevabast terasest autoklaavi tüüpi aparaadis ilma lahusteid kasutamata. Arvutatud kogused algreaktiive laaditakse klaasreaktorisse, mis on asetatud terasest autoklaavi, millel on segisti, elektriküte ja gaasilise süsinikdioksiidi sisend/väljund. Autoklaavi suletakse, õhu eemaldamiseks puhastatakse kaks korda süsinikdioksiidiga. Seejärel täidetakse süsihappegaasiga kuni 10 atm. Lülitatakse sisse segamine ja kuumutamine. Reaktsioonisegu hoitakse teatud aja jooksul

katsetemperatuuril. Pärast seda lõpetatakse segamine ja kuumutamine. Autoklaav jahutatakse toatemperatuurini. Reaktsioonisegu töödeldakse veega. Veefaasi ekstraheeritakse eetriga, et eemaldada lähteainet - hüdroksüareeni. Reaktsiooniprodukti eraldatakse veefaasi hapestamisel vesinikkloriidhappega ja puhastatakse ümberkristalliseerimisega. [19]

Erinevate protsessitingimuste mõju tulemused resortsinooli karboksüülimisreaktsiooni kulgemisele naatriumetüülkarbonaadiga on toodud tabelis 1.2. [19]

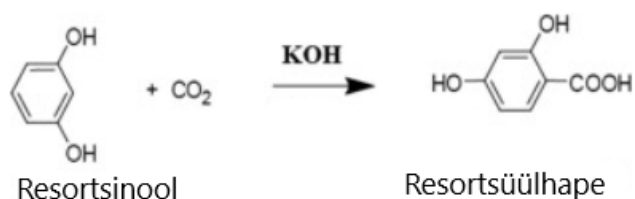
Tabel 1.2 Resortsinooli karboksüülimine naatriumetüülkarbonaadiga [19]

Reaktsiooni läbiviimise tingimused				β-resortsüülhappe saagis, %
Lähteainete [resortsinool]: [naatriumetüülkarbonaat] molaarsuhe	Temperatuur, °C	Rõhk CO ₂ , atm	Kestus katse temperatuuril, tund	
2:1	120	10	4*	84,5
2:1	120	10	1*	71,6
2:1	120	10	6*	84,4
3:1	120	10	1*	66,1
2:1	160	10	4*	48,6
2:1	120	7	4*	81,7
2:1	120	12	4*	84,5

* Reaktsioonisegu temperatuuri tõstmise aeg katse temperatuurini 4 tundi

Kolbe-Schmitt`i reaktsioon. Fenoolist karboksüülhapete saamiseks kasutatakse traditsiooniliselt Kolbe-Schmitt`i meetodit. Sel juhul Kolbe-Schmitt`i reaktsioon on protsess β-resortsüülhappe (2,4-dihüdroksübensoehappe) sünteesimiseks resortsinoolist kaaliumhüdroksiidi vesilahuses koos gaasilise CO₂. [20]

Joonisel 1.9 on toodud Kolbe-Schmitt`i reaktsioon.



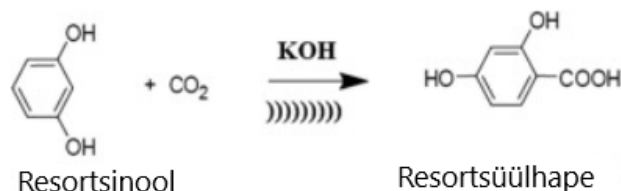
Joonis 1.9 Kolbe-Schmitt`i reaktsioon [20]

Süntees viiakse läbi rõhu all roostevabast terasest Parra reaktoris, millel on manomeeter ja termopaar. Reaktorisse juhitakse kuni 0,100 dm³ vett, mille kaudu mullitatakse lämmastikku hapniku eemaldamiseks. Lisaks lahustatakse selles resortsinool ja KOH. Seejärel tõstetakse temperatuuri etteantud väärtuseni 80 °C kuni 120 °C. Lahusesse sisestatakse pidevalt 95% gaasilist CO₂, mis sattub N₂ sisse. Osarõhk on 1,0–3,0 baari voolukiirusel 0,200 dm³ min⁻¹. Pärast CO₂ iga absorptsiooni lõppemist (30–140 min), pärast töötlemist vesinikkloriidhappe vesilahusega saadakse reaktsiooniproducti sademena. Edasi eraldatakse lahusest filtreerimisega ja puhastatakse ümberkristalliseerimisega. Resortsinooli poolt neelatud CO₂ kogust hinnatakse gravimeetriliselt karboniseeritud ühendi massi järgi. IR-spektroskoopiat kasutatakse reaktsioonisegust eraldatud 2,4-dihüdoksübensoehappe tuvastamiseks. [21]

Resortsinooli karboksüülimine ultraheli abil. Sellel β-resortsüülhappe sünteesi meetodil on täiesti uus lähenemine resortsinooli karboksüülimisele Kolbe-Schmitt reaktsiooni abil. Meetod põhineb Kolbe-Schmitt reaktsioonil, kasutades süsinikdioksiidi kergetes ultraheli tingimustes. [20]

Ultraheli kasutamine suurendab reaktsioonikiirust, produkti saagist ilma kõrgeid temperatuure ja rõhku kasutamata. [20]

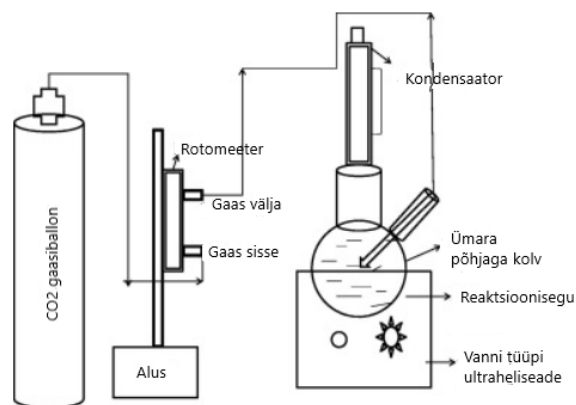
Joonisel 1.10 on toodud resortsinooli karboksüülimise reaktsioon ultraheli abil.



Joonis 1.10 Resortsinooli karboksüülimise reaktsioon [20]

Süntees viiakse läbi kahe avaga ümarapõhjalises kolvis mahuga 250 ml. Kolbi laaditakse resortsinool ja kaaliumhüdrosiid. Reaktori ühte avasse sisestatakse jahuti-kondensaator. Gaasiline CO₂ juhitakse teatud kiirusega läbi teise ava. Pärast reaktsiooni lõppemist eemaldatakse kolvi sisu. Produkti eraldatakse esmasest lahusest eetriga ekstraheerimisel, millele järgneb loksutamine naatriumvesinikkarbonaadi veelahusega. Veekiht hapestatakse vesinikkloriidhappega. Reaktsiooniproduct ekstraheeritakse seejärel eetriga. Pärast seda eeter aurustatakse. Identifitseeritakse ühendid TLC abil. Kasutatakse fikseeritud silikageeli või alumiiniumoksiidi kihiga TLC plaate. [20]

Ultraheli võimalusega vanni tüüpi aparatis karboksüülimise eksperimentaalne skeem on näidatud joonisel 1.11

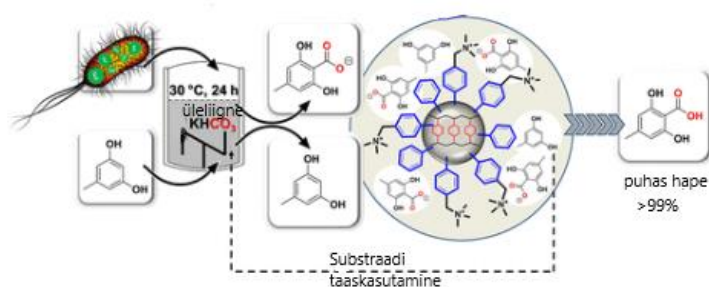


Joonis 1.11 Ultraheli võimalusega vanni tüüpi aparaadis karboksüülimise eksperimentaalne skeem [20]

Alküülresortsinoolide biokatalüütiline karboksüülimine. Kolbe-Schmitt reaktsiooni biokatalüütiline alternatiiv on mitteoksüdatiivsete (de)karboksülaaside kasutamine. Need katalüüsivad karboksüülrühma pöörduvat sisseviimist/eemaldamist orgaanilistest ühenditest. Seda saab kasutada CO₂ allikana fenooli derivaatide regioselectiivseks orto- ja parakarboksüülimiseks bikarbonaadiga. [22]

Biokatalüütiline karboksüülimine nõuab palju vähem rangeid tingimusi kui klassikaline Kolbe-Schmitt reaktsioon. Süntees toimub temperatuuril 30°C, atmosfääri rõhul või sellele lähedal. CO₂ allikana kasutatakse kaaliumvesinikkarbonaati või naatriumvesinikkarbonaati. Reaktsiooni tasakaal nihkub fenoolsete ühendite suunas. Tasakaalu nihutamiseks karboksüülimisproduktide moodustumise suunas on vaja erilisi tingimusi. [22]

Alküülresortsinoolide biokatalüütilise karboksüülimise skeem on näidatud joonisel 1.12



Joonis 1.12 Biokatalüütiline karboksüülimine [22]

Orsiini (3,5-dihüdroksütolueeni) regioselectiivsel ensümaatilisel karboksüülimisel kasutatakse *Aspergillus oryzae* mitteoksüdatiivset 2,3-dihüdroksübensoehappe dekarboksülaasi. Reaktsiooni produkt 2,6-dihüdroksü-4-metüülbensoehape puhastatakse adsorptsiooni-desorptsiooni teel. Saadud happe puhastusaste on üle 99%. [22]

1.4 Alkүүлresortsinoolide määramismeetodid

2-MR ja 5-MR karboksüülimiseks on üsna palju erinevaid meetodeid. Ainuke oluline aspekt on see, et karboksüülimise produktid sisaldavad alati lähteaineid (2-MR ja 5-MR) ja neile vastavaid happeid. Just seetõttu eraldunud ainete (hapete) või nende segude kvalitatiivne ja kvantitatiivne analüüs on väga oluline.

Alkүүлresortsinoolide määramiseks on mitu meetodit: kromatograafiline, fotomeetriline, fluorimeetriline.

Kromatograafilised analüüsi meetodid. Antud rühm on pidevalt kasutusel keemialaborites. Nende hulka kuuluvad lai valik erinevaid kromatograafiatehnikaid, näiteks:

- gaasikromatograafia,
- kõrgefektiivne vedelikkromatograafia,
- geelist läbitungiv kromatograafia,
- õhukese kihi kromatograafia,
- gaas-vedelikkromatograafia. [23]

Kõik ülalmainitud on füüsikalise-keemilised meetodid ainete eraldamiseks, mis põhinevad komponentide jaotusel kahe faasi – liikuva ja statsionaarse – vahel. Statsionaarse faasina on tavaliselt tahke aine (sorbent) või tahkele ainele sadestunud vedel kile. Liikuva faasina on vedelik või gaas, mis voolab läbi statsionaarse faasi. [24]

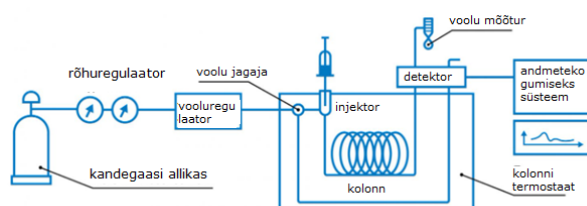
Analüüsitava segu komponendid liiguvad koos liikuva faasiga mööda statsionaarset faasi, mida tavaliselt asetatakse kolonni (klaas- või metalltoru sisse). Kui eraldatava segu komponentide molekulidel on erinev adsorbeeruvus või lahustuvus, siis nende statsionaarses faasis viibimise aeg ja kolonni läbimise keskmine kiirus on erinevad. Ühed komponendid jäävad sorbendi ülemisse kihti, teised, mille adsorbeeruvus on väiksem, satuvad kolonni alumisse kihti. Mõned lahkuvad kolonnist koos liikuva faasiga. Sellisel moel saavutatakse komponentide eraldamine. Kromatograafia on dünaamiline meetod, mis on seotud sorptsiooni- ja desorptsiooniprotsesside korduva kordamisega, kuna eraldumine toimub liikuva faasi ajal. Nii tagatakse kromatograafilise meetodi efektiivsus võrreldes staatilistes tingimustes sorptsioonimeetoditega. [24]

Põlevkivifenoolide ja nendel põhinevate toodete analüüsimiseks kasutatakse kõrgefektiivset vedelikkromatograafiat, gaas-vedelikkromatograafiat ja õhukese kihi kromatograafiat.

Gaas-vedelikkromatograafia (GLC) on gaasikromatograafia tüüp, mis on ette nähtud selliste ühendite eraldamiseks ja analüüsimiseks, mida saab muuta gaasilisteks ilma neid lagundamata. GLC-s liikuvaks faasiks on gaas: õhk, inertgaas (heelium,

argoon) või mittereaktiivne gaas (lämmastik, süsinikdioksiid). Statsionaarseks faasiks on tahkele kandjale õhukese kihina sadestunud vedelik. Kandja asetatakse klaasist või metallist kolonni. Segu ühendid gaasilises olekus kontakteeruvad kolonni pinnaga, mis on kaetud statsionaarse faasiga. Iga segu ühend hakkab kolonnis liikuma erineva aja jooksul, seda nimetatakse retentsiooniajaks. Antud analüüsimeetod põhineb retentsiooniaegade võrdlusel. Ühendid väljuvad kolonnist kindlas järjekorras. Nii on võimalik neid kromatograafiliste detektorite abil elektrooniliselt eraldada ja identifitseerida [25]. Kasutades piigi pindalat on võimalik määrata fenoolide massikontsentratsiooni analüüsitava proovis.

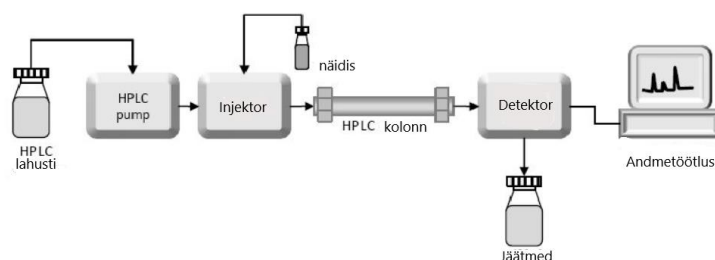
Joonisel 1.13 on näidatud gaasikromatograafia jaoks seadise skeem.



Joonis 1.13 Gaasikromatograafia seadise skeem [26]

Kõrgefektiivne vedelikkromatograafia. Üldfenoolide eraldamiseks, tuvastamiseks ja kvantifitseerimiseks kasutatakse sageli kõrgefektiivset kromatograafiat. Meetod põhineb proovide segu sisaldava rõhu all oleva vedela lahusti juhtimisel pumpade kasutamise abil läbi tahke adsorbentmaterjaliga täidetud kolonni. Iga proovi komponent reageerib adsorbendiga erinevalt, seetõttu tulemuseks on erinevate komponentide voolukiirused ja komponentide eraldumine kolonnist väljumisel. [27]

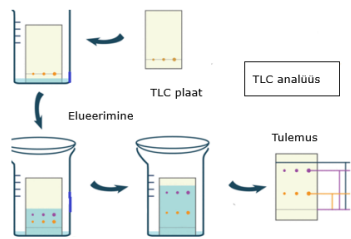
Kõrgefektiivse vedelikkromatograafia skeem on näidatud joonisel 1.14.



Joonis 1.14 Kõrgefektiivse vedelikkromatograafia skeem [28]

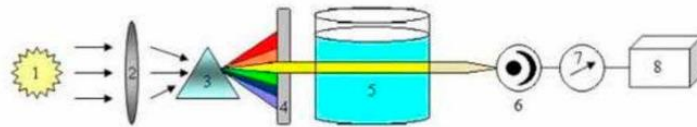
TLC on üks olulisi meetodeid alküülresortsinoolide ja nendel põhinevate hapete kvalitatiivseks ja kvantitatiivseks analüüsiks. TLC meetod on kiire ja lihtne. Antud meetod põhineb komponentide segu erineval liikumiskiirusel õhukeses sorbendikihis, kasutades liikuva faasi voolu. [29]

TLC analüüsi skeem on näidatud joonisel 1.15



Joonis 1.15 TLC analüüs [30]

Fotomeetriline meetod. Meetodi põhimõte seisneb kaaliumheksatsüanoferraadi (III) juuresolekul destilleeritud fenoolide kontakteerumisel 4-aminoantipüriiniga. Antud reaktsiooni käigus moodustuvad värvilised ühendid, mida seejärel ekstraheeritakse. Nende optilist tihedust mõõdetakse spektrofotomeetriga lainepikkusel $\lambda = 470 \text{ nm}$ või valgusfiltriga fotomeetriga 460–490 nm. Spektrofotomeetri skeem on näidatud joonisel 1.16



Joonis 1.16 Spektrofotomeetri skeem: 1) valgusallikas 2) lääts 3) monokromaator 4) difraktsioonivõre 5) värvilise lahusega küvett 6) fotoelement 7) detektor 8) optilise tiheduse näitajatega displei [31]

Anutud tehnika nõuab suure hulga abilahuseid ettevalmistamist ning ka laborandi teatud pädevust. Meetod on aga leidnud laialt rakendust reovee tööstuslikul kontrollimisel üldfenoolide sisalduse osas. [23]

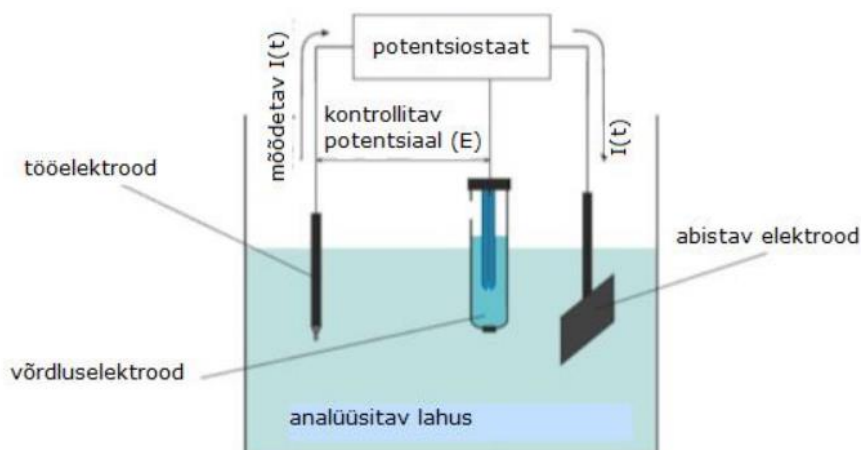
Kemoluminestsentsmeetod. Mitte väga täpne ja raskelt teostatav veeanalüüsi meetod. Põhineb kemoluminestsentsi intensiivsuse mõõtmisel. Selle põhjuseks on Fentoni reaktsioonide läbimine uuritavas proovis võrreldes fenooli standardvesilahusega. Vesifaasis on võimalik määrata fenooli kontsentratsiooni kuni $1 \mu\text{kg}/\text{dm}^3$. Antud meetod ei ole alati piisav fenooliga reostuse kohta põhjaliku teabe saamiseks. [23]

Lisaks meetod nõuab luminofooride ja fenooli standardlahuse kasutamist. See vähendab veelgi selle täpsuse, kuna fenooli standardlahus ei saa sisaldada kõiki võimalikke reovees leiduvaid fenole. Lisaks mängib kemoluminestsentsmeetodi puhul olulist rolli kasutatud luminofooride puhtus. [23]

Voltampermeetriline meetod fenoolide määramiseks. Meetod on seotud elektrokeemiliste protsesside kasutamisega, et saada teavet fenoolide sisalduse kohta vees. Voltampermeetrilise analüüsi käigus toimub uuritava aine esialgne sadestumine kõrge selektiivsele elektroodile. Seejärel lahustatakse sade elektrokeemiliste protsesside abil. Elektroodile ladestunud aine lahustumise tagajärjel ilmneb

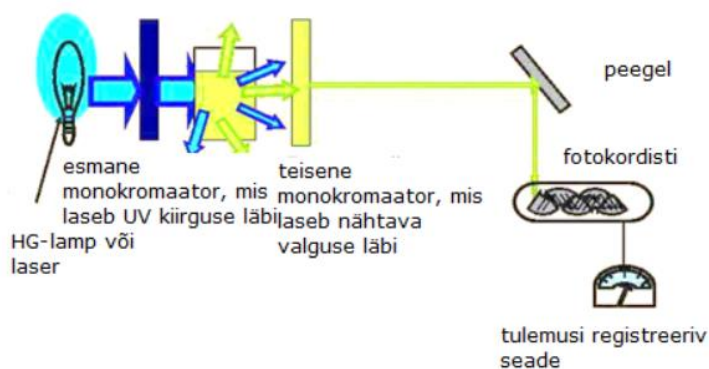
indikaatorelektroodi potentsiaali muutus, mida registreeritakse ja tõlgendatakse volt-ampere kõvera kujul. Antud kõvera järgi uurija saaks hinnata fenoolide kontsentratsiooni uuritavas proovis. Meetod on üsna kiire ja täpne ning ei nõua proovide eelnevat kontsentreerimist. Seetõttu kasutatakse seda sageli reovee kvaliteedi jälgimiseks. [23]

Joonisel 1.17 on toodud voltampermeetriline elektrokeemiline kolonn mõõtmiste teostamiseks.



Joonis 1.17 Elektrokeemiline kolonn [32]

Fluorimeetriline meetod. Meetod põhineb üldfenoolide ekstraheerimisel veest butüülatsetaadiga, nende reekstraheerimisel naatriumhüdroksiidi vesilahusesse ja sisalduse mõõtmisel fenooli fluorestsentsi intensiivsuse järgi pärast reekstrakti hapestamist. Fluorimeetri skemaatiline toimemehhanism on toodud joonisel 1.18.



Joonis 1.18 Fluorimeetri skemaatiline toimemehhanism [34]

Mõõtmise käigus toimub fenoolide fluorestsentsi erutus, sejärel andmete registreerimine ja kogu ehk üldfenoolide massikontsentratsiooni arvutamine automaatselt vedelikuanalüsaatori mälu salvestatud kalibreerimiskarakteristiku abil. [33]

1.5 TLC teoreetilised alused

Alküülresortsinoolide ja nendel põhinevate hapete kvalitatiivse ja kvantitatiivse analüüsi üheks oluliseks meetodiks on TLC. Tuleb mainida, et antud meetod on eriti kiire ja suhtelise täpsusega.

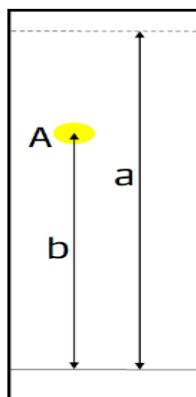
TLC on üks kromatograafilisi meetodeid orgaaniliste ja anorgaaniliste ühendite kvalitatiivseks ja kvantitatiivseks määramiseks mitmekomponendilises ainete segus. TLC meetodit nimetatakse tasapinnaliseks kromatograafia tüübiks, kuna sorbendi kiht kinnitatakse tasasele pinnale. Seda tüüpi kromatograafiat nimetatakse tasapinnaliseks kromatograafiaks. Kromatograafiline eraldamine on tingitud liikuva faasi komponentide ülekandmisest mööda statsionaarse faasi kihti erinevatel kiirustel vastavalt kahe faasi vahel eraldatavate ainete jaotuskoefitsientidele. Liikuva faasi rolli täidab lahusti, statsionaarset faasi - plaadil olev sorbent. Ainete segu komponentide tuvastamiseks kromatogrammil kasutatakse keemilisi reaktiive (ilmuti) ja ultravioletvalgust. [35]

TLC meetod hõlmab järgmisi toiminguid:

- analüüsitava proovi kandmine sorbendi kihile;
- proovi komponentide eraldamine liikuva faasi voolus eraldi tsoonideks;
- tsoonide tuvastamine sorbendi kihil;
- tekkinud eraldumise kvantitatiivne hindamine, sealhulgas retentsiooniaja ja aine sisalduse määramine kromatogrammi tsoonides. [36]

Süsteemi sorptsiooni omadusi TLC-s iseloomustab retentsioonikoefitsient R_f . Retentsioonikoefitsiendiks R_f nimetatakse komponentide suhtelist liikumiskiirust õhukeses kihis. R_f väärtused arvutatakse katsete ajal saadud andmete põhjal. [37]

TLC kromatogramm on näidatud joonisel 1.19.



Joonis 1.19 Kromatogramm [38]

$$R_f = \frac{a}{b}, \quad (1.1) [37]$$

kus

a – vahemaa algjoonest uuritava ainele vastava punkti keskpunktini;

b – vahemaa algjoonest lahusti rindeni.

1.5.1 TLC sorbendid

TLC meetodil eraldatakse komponentide segu sorbendikihti läbiva eluendi abil. TLC sorbentidena kasutatakse materjale, mis vastavad järgmistele nõuetele:

- moodustavad keemiliselt ja füüsikaliselt stabiilseid kihte;
- ei moodusta kovalentseid sidemeid eraldatud ainetega;
- ei lahustu liikuv faasis ega liigu sellega mööda plaati;
- ei sisalda komponente, mis segavad eraldamist või detekteerimist;
- ei oma mingit värvi;
- ei paisu ega muutu kuju liikuva faasi mõjul. [36]

Edukas eraldamine sõltub kromatograafilise plaadi sorptsiooni omadustest. TLC plaat koosneb inertsest substraadist (klaas, metall, polümeer), sorptsioonikihist, inertsest sideainest ja ilmutusainetest (enamasti luminofoorid, harvem indikaatorid, mis moodustavad analüüdiga värvilisi ühendeid) (vt Joonis 1.20). Plaatide kromatograafilised omadused sõltuvad peamiselt kasutatavast sorbendist. Tavaliselt kasutatakse plaatide valmistamisel sorbentidena silikageeli, alumiiniumoksiidi, tselluloosi, magneesiumsilikaati, ionivahetusvaikusiid, polüamiidi, samuti ka nende ja teiste sorbentide segusid. [39]



Joonis 1.20 TLC plaadid

Eraldamise efektiivsust mõjutavad järgmised sorbentide omadused:

- osakeste läbimõõt,
- osakeste keskmine suuruste järgi jaotus,
- pooride suurus. [36]

Sorbentidena kasutatakse järgmisi aineid:

- **Silikageel** ($SiO_2 \cdot nH_2O$) – universaalne ja laialt levinud polaarne adsorbent TLC-s. Silikageelil on olemas hüdroksüülitud pind. Kergesti imab vett. Seda kasutatakse erineva polaarsusega ühendite eraldamiseks. [40]
- **Alumiiniumoksiid** (Al_2O_3) – amfoteerne adsorbent. Selle adsorbendi pinnal on mitu tüüpi adsorptsiooni keskust. Mõned neist adsorbeerivad valikuliselt happeid, teised - aluseid ja teised on neutraalsed. On võimalik eraldada erinevaid segusid nii polaarsetes kui ka mittepolaarsetes lahustites. [41]
- **Kobediatoomiitmuld** (SiO_2) – see on looduslik diatomiit, mida saab kasutada polaarsete ja mõõdukalt polaarsete ühendite eraldamiseks. [42]
- **Polüamiidid** – segatud eraldusmehhanismiga polaarsete sorbentide rühm: karboksamiidrühm vastutab adsorptsiooni mehhanismi eest, metüleeniosa jaotusmehhanismi eest. [43]

1.5.2 TLC liikuvad faasid

Segu komponendid saab eraldada TLC abil, kasutades ühte lahustit või nende segu. Tavaliselt koosneb segu kahest, kolmest või isegi neljast komponendist. Nende valik põhineb:

- elueerimisvõimsusel, mis sõltub lahusti polaarsusest, prootoni doonori ja prootoni aktseptori jõududest;
- sorbendi olemusel;
- analüüsitava komponentide omadustel. [36]

Iga uue plaadi jaoks tuleb lahusti süsteem uuesti ette valmistada, kuna komponentide vahetamine pärast kromatograafiat koguaeg muutub. [36]

Elueerimisel mängib olulist rolli analüüsitava proovi kogus. See mõjutab R_f väärtust ja laikude mahtu. [36]

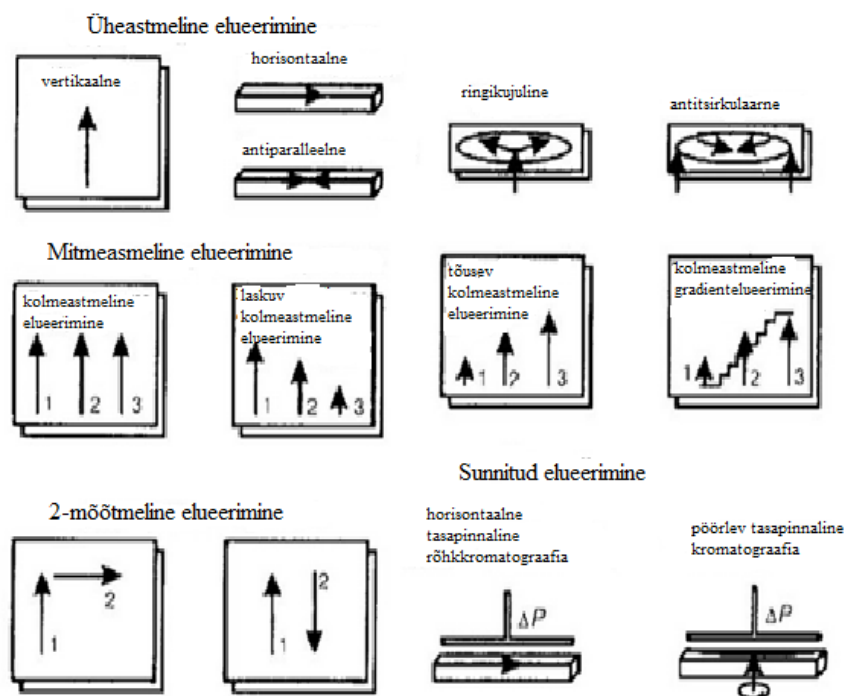
Sõltuvalt sellest, millises suunas lahusti TLC plaadile siseneb, eristatakse meetodeid:

- tõusev,
- kahanev,
- horisontaalne kromatograafia. [36]

Joonis. 1.21 näitab komponentide elueerimisvõimalusi TLC-s.

ERALDUMINE KAPILLAAR JÕUDEDE MÕJUL

ÜHEMÕÖTMELINE JAOTUS



Joonis 1.21 Komponentide elueerimise variandid õhukese kihi kromatograafias [36]

Liikuva faasina valitakse selline lahustite süsteem, mille sees eraldatud komponendid lahustuvad kõige paremini. Oluline on valida liikuva faasi koostise, mis on ühtlane ja kergesti reprodutseeritav. Lahusti ei tohi olla mürgine ega raskesti kätte saadav. Eluent peab eraldama sarnase struktuuriga aineid, samuti ei tohi eraldatud komponentides põhjustada keemilisi muutusi. Mobiilse faasi ülesandeks on tagada ainete eraldumine kogu R_f vahemikus. [44]

1.5.3 Komponentide identifitseerimine

Pärast ainete eraldamist on vajalik nende tuvastamine kromatogrammil. Värvitute ainete tuvastamiseks kasutatakse füüsikalisi meetodeid. Antud meetodid põhinevad valguse ja fluorestsentsi neeldumisel. Ainete tuvastamiseks kasutatakse fluorestseeruvat ainet sisaldava sorbendi kihiga plaate või pihustatakse kromatogrammi pärast segu eraldamist fluorestseeruva aine lahusega. Plaati kiiritamisel UV-kiirgusega, tuvastatakse aineid tumedate tsoonide (ehk laikude) kujul. Märkimisväärne hulk aineid on võimeline ultravioletvalguses fluorestseeruma. Saadud laigud on erineva värviga. [36]

Lisaks optilistele meetoditele ainete tuvastamiseks kasutatakse keemilised meetodid kromatogrammide ilmutamiseks. Keemilised meetodid hõlmavad reaktiivide kasutamist, mis annavad analüüsitava ainetega kokkupuutel värvilised laigud. [36]

Aine identifitseerimist võib läbi viia, kui määrataval ainel on iseloomulik värv. Nähtamatud kromatogrammid ilmutatakse sobivate reagentide abil. Analüüsitud proovi koostist hinnatakse moodustunud tsoonide iseloomuliku värvuse järgi. Plaadi töötlemisel, näiteks joodiauruga, ilmnevad selgelt küllastumata ühendid; kui plaati pihustada koobaltiotsüanaadiga, moodustuvad amiinid ehk roosakasvalgele taustale sinised laigud. Füüsikalistes meetodites ilmutamiseks kasutatakse teatud ainete võimet ultraviolettkiirguse toimel fluorestseeruda. [37]

Universaalsed ilmutid on oksüdeerivad ained:

- 10-25% väävelhappe vesilahus. Lahus ilmutab orgaanilisi aineid pruunide või hallide laikude kujul, on madal selektiivne oksüdeerija. [45]
- 10% kaaliumpermanganaadi lahus vees ilmutab ilma kuumutamata tumepruunide laikudena mitmeid sidemeid sisaldavaid aineid. [45]
- 5-10% fosfomolübdeenhappe lahus etanoolis. Plaati kuumutatakse, mille järel muutuvad määratavate ainete tsoonid rohelisteks või sinisteks. Mitteoksüdeerivad ained jätavad heledad laigud. [45]

Karboksüülhappe laikude ilmutamiseks kasutatakse indikaatorvärvide vesi- või vesi-alkoholilahuseid. Laikude piiri paremaks määramiseks kergelt leelistatakse indikaatorlahus. Pärast töötlemist ilmuvad värvilisele taustale värvilised laigud. [45]

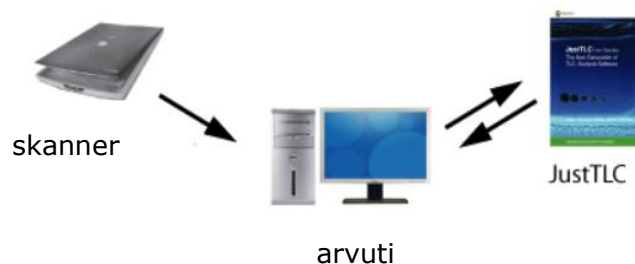
1.5.4 Kvalitatiivne ja kvantitatiivne analüüs TLC abil

Segus sisalduvaid aineid on võimalik kvalitatiivselt määrata retentsioonikoefitsiendi R_f abil. Standardtingimustes saadakse R_f reprodutseeritavad väärtused. Neid saab võrrelda tabelite väärtustega. Kuna standardtingimusi on erinevate katsete puhul raske järgida, usaldusväärsem on kasutada R_f suhtelist väärtust. Standardaine kantakse analüüsitud proovi kõrval olevale algjoonele ja kromatografeeritakse samadel tingimustel. Seejärel võrreldakse R_f väärtusi. [37]

Aine sisalduse kvantitatiivseks hindamiseks kromatograafilistes tsoonides kasutatakse erinevaid meetodeid:

- Kromatograafilise tsooni plaadilt eemaldamise meetod. Seda viiakse läbi kahel viisil: kromatograafilise tsooni ülekandmine koos sorbendiga; kromatograafilise tsooni eraldamine sorbendikihist. [41]
- Meetod laikude pindalate suuruse ja värvi visuaalseks võrdlemiseks standardproovide laikude vastavate parameetritega. [41]
- Densitomeetria. Antud meetod põhineb kromatogrammide skaneerimisel nähtavas ja ultravioletvalguses kromatograafiliste densitomeetrite abil. [41]

- Videodensitomeetria on suhteliselt uus meetod kromatogrammide kvantitatiivseks töötlemiseks. Meetodi põhimõte seisneb kromatogrammi kujutise sisestamises arvutisse videokaamera või digikaamera abil. Seejärel võrreldakse standardsete ja määratud ühendite laikude intensiivsust. Videodensitomeeter sisaldab: 1) valgustusseadet, 2) videokaamerat koos skanneriga, 3) personaalarvutit, millel on Windows operatsioonisüsteem ja laaditud vastav tarkvara. Videodensitomeetri näide on näidatud joonisel 1.22

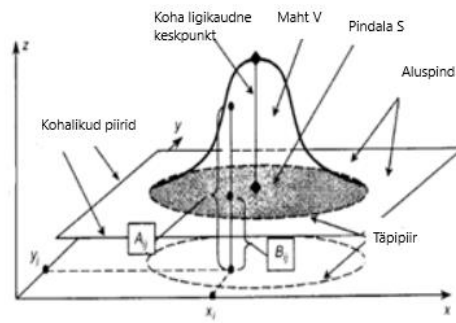


Joonis 1.22 Videodensitomeeter [46]

Kromatograafiliste andmete töötlemise programm võimaldab täita järgmisi funktsioone:

- võimaldab sisestada kromatogrammi kujutisi ning salvestada neid kõrge kvaliteediga ja resolutsiooniga;
- teostada laikude töötlemist,
- muuta neid kromatograafiliste piikide kujuks,
- arvutada R_f ja piikide pindalade väärtus;
- mõõta ainete sisaldust (suhtelistes ühikutes);
- gradueeritud sõltuvuste loomiseks sisestada kontsentratsiooniväärtused;
- arvutada automaatselt aine sisaldust analüüsitud laikudes vastavalt sisestatud kalibreerimisväärtustele;
- esitada tulemused trükitud dokumentide kujul. [36]

Laigu kvantitatiivne töötlemine videodensitomeetria abil viiakse läbi vastavalt kahele tunnusele: laigu pindala ja selle "maht" ruumi sees. Kolmanda tunnuseks kasutatakse kirkust (ehk plekivärvi intensiivsust). Kirkuse ruumilise vaade jaotus laigu piirkonnas on näidatud joonisel 1.23. [36]



Joonis 1.23 Kirkuse ruumilise vaade jaotus laigu piirkonnas [36]

- Densitomeetria tahvelarvuti skanneriga. Meetod ei erine praktiliselt videodensitomeetriast. Kromatogrammi kujutis sisestatakse tahvelarvuti skanneri abil arvutisse. Meetod annab kromatograafilistest tsoonidest selgema pildi kui digitaalne videokaamera pilt. Sellel meetodil on oluliselt madalamad kulud. [36]

TLC meetodi eelised ja puudused.

TLC meetodil on teiste kromatograafiliste meetoditega võrreldes mitmeid eeliseid:

- TLC-s kasutatakse lihtsamaid ja odavamaid seadmeid,
- meetod võimaldab tundmatu segu täielikku analüüsi, kuna alguses on võimalik kontrollida elueerimata komponentide olemasolu;
- ühel plaadil on võimalik paralleelselt määrata proove ja standardlahuseid,
- nõuab minimaalset proovi ettevalmistamist,
- TLC meetod kuulub ekspressmeetodite hulka, sest sel moel saab koostist lihtsalt ja kiiresti määrata. [47]

Kuid antud meetodil on ka puudusi:

- analüüsi tulemuste sõltuvus keskkonnast: suhteline õhuniiskus, temperatuur, samuti saasteainete olemasolu õhus;
- raskused töötamisel väga lenduvate proovidega, samuti ainetega, mis on tundlikud õhuhapniku või valguse toimele;
- madalam tundlikkus kui kõrgefektiivsel vedelikkromatograafial. [46]

Antud lõputöös toimub TLC plaatide töötlemine tahvelarvuti skanneri ja erinevate arvutiprogrammide abil, näiteks Sorbfil TLC Videodensitometer ja Just TLC.

1.6 TLC tarkvara

1.6.1 Just TLC

Just TLC on uue põlvkonna tarkvara TLC-plaatide kujutise analüüsimiseks. Programmi töötas välja Rootsi ettevõtte Sweday. [47]

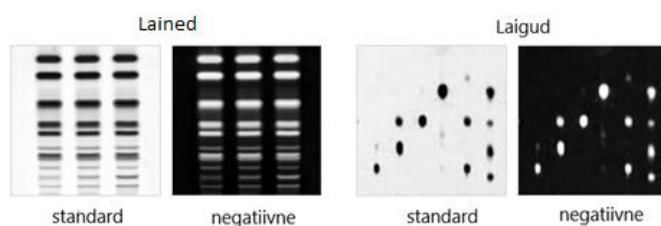
Just TLC abil on võimalik:

- teostada täpsemalt analüütiliste uuringute mõõtmisi,
- saada usaldusväärseid tulemusi minutites,
- teostada kvantitatiivset analüüsi TLC abil,
- automaatselt tuvastada ja võrrelda kolmemõõtmelisi kromatogramme,
- kuvada graafikuid ja salvestada neid,
- andmete eksportimine Excelisse ja muusse tarkvarasse
- välja printida andmeid ja andmetabeleid. [46]

TLC-plaatide analüüsimiseks peab olema nende digitaalne pilt, näiteks jpg-kujul. Pilte saab hankida tavalise skanneri, digikaamera või täiustatud spetsiaalse TLC-skanneriga. [46]

Just TLC analüüs algab programmi käivitamisega. Programmis on saadaval kaks režiimi: lainete analüüs ja laikude analüüs (punktanalüüs). Iga analüüsi režiim algab uue faili loomisega. Seejärel analüüsitakse plaate ja võrreldakse saadud andmeid. [46]

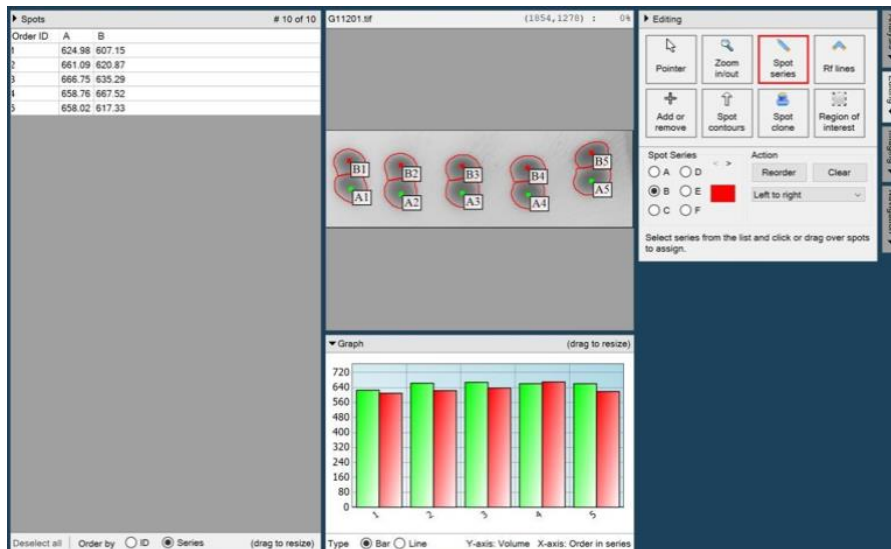
Just TLC analüüsi režiimid on näidatud joonisel 1.24.



Joonis 1.24 Just TLC analüüsi režiimid [46]

Faili loomiseks sisestatakse programmi dialoogi akna nimetust. Edasi tuleb laadida pilt ülesse ja viia loomise lõpule. Kõik failis olevad plaadid on esitatud pisipiltidena. Seejärel jätkatakse lainete või laikude analüüsiga. Tuleb minna jaotisse nimetusega "Analüüs". Lainete või laikude automaatseks tuvastamiseks tehakse vajalikud sätted. Laikude teave eraldatakse TLC plaatidelt graafikute ja tabelite kujul. Programm annab andmeid retentsioonikoefitsiendi R_f väärtuse kohta. Seejärel viiakse läbi kvantitatiivne laikude töötlemine Just TLC-s vastavalt kahele tunnusele: laikude pindala ja selle "maht" ruumi sees. [46]

Joonisel 1.25 on toodud näide infost, mis on saadud TLC plaadilt kasutades Just TLC.



Joonis 1.25 Just TLC tarkvara dialoogi aken [46]

Just TLC tarkvara on toodud lisa 1.

1.6.2 SORBFIL Videodensitometer TLC Quantitative Evaluation

Antud tarkvara on mõeldud kvantitatiivseks hindamiseks.

Sorbfil TLC Videodensitometer tarkvara abil on võimalik:

- sisse viia kromatogrammide pilte ja salvestada neid hea kvaliteediga,
- määrata tööala, millel kromatogrammi kujutist tuleb edasi töödelda,
- teostada kvantitatiivset analüüsi TLC abil,
- saada täpseid tulemusi,
- kuvada graafikuid,
- eksportida andmeid Excelisse. [48]

Ilmutatud ja kuivatatud TLC plaat asetatakse skannerisse. Analüüs Sorbfil TLC Videodensitomeetris algab programmi käivitamisest. Seejärel pilt skannitakse. Seejärel tuleb märkida pildile algus- ja lõppjooned. Edasi valitakse dialoogi aknast lainete arvu, mis vastab analüüsitud laikude arvule. Järgmisena määratakse kohapeal laine piirid: punane on vasak piir, sinine on parem piir. Kui vajutada menüüs arvutamise nuppu, kuvatakse tulemuse kromatogrammi kujul, samuti ilmub ka andmetega tabel. Tabeliandmed sisaldavad retentsioonikoefitsiendi R_f väärtust ja piigi pindalat.

Joonisel 1.26 on näiteks toodud TLC plaadilt saadud informatsioon.

2. EKSPERIMENTAALNE OSA

Uuringu peamiseks eesmärkideks olid:

- tingimuste (eluent, ilmuti ja muud) valik kvalitatiivseks ja kvantitatiivseks määramiseks 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA
- kahe arvutiprogrammi Sorbfil TLC Videodensitometr ja Just TLC väljatöötamine TLC plaatide töötlemiseks.

Käesolevas lõputöös 2-MR ja sellel põhineva happe kvalitatiivseks ja kvantitatiivseks analüüsiks ilmuti ja eluent said valitud TLC abil. 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA kontsentratsioonide määramiseks koostati kalibreerimisgraafikud.

Eluentide valmistamisel kasutuses olid järgmised reaktiivid:

- heksaan (p.a)
- etüülatsetaat (p.a)
- butüülatsetaat (p.a)
- toluen (p.a)
- petrooleeter (p.a)
- äädikhape (p.a)
- sipelghape ehk metaanhape (p.a)
- püridiin (p.a)
- atsetoon (p.a)
- atsetonitriil (p.a)
- benseen (p.a)

Ilmuti ettevalmistamisel kasutati:

- ammooniumpersulfaat (p.a)
- naatriumi heksanitrokobaltaat (III) (p.a)

Klaasnõud ja seadmed analüüside teostamiseks:

- keemiline keeduklaas 250 ml - 4 tk;
- Petri tass - 4 tk;
- elektripliit;
- TLC plaadid DC-Fertigfolien ALUGRAM SIL G/ UV₂₅₄;
- jahvatatud korgiga kolvid 250 ml - 4 tk;

- mikrosüstal TLC jaoks 10 µl;
- katseklaasid 5 ml - 10 tk;
- analüütilised kaalud (täpsusega kuni 0,0001 g)
- tahvelarvuti - skanner
- automaatpipett Sartorius, 5 ml
- printer
- Sorbfil TLC Videodensitometer tarkvara
- Just TLC tarkvara

Reaktiivid (standardained):

- 2-MR (99,9 %)
- 2,4-DH-3-MBA (p.a)

Kvalitatiivseks ja kvantitatiivseks analüüsiks kasutati lisaks standardainetele katseliselt saadud 2-MR karboksüülimisprodukte.

2.1 Ilmuti valik

Pärast elueerimist jäävad alküülresortsinoolid ja fenoolhapped TLC plaadil värvituks. Nende visuaalseks tuvastamiseks tuleb plaati töödelda ilmutiga läbi, mis värvib nähtamatud laigud.

Ilmutina number 1 uuriti ammooniumpersulfaati. Uurimiseks valmistati 5% $(NH_4)_2S_2O_8$ lahust destilleeritud vees. Seejärel TLC plaat oli saanud ilmuti lahusesse. Pärast seda kuivatati elektripliidil temperatuuril 130°C kuni täieliku kuivamiseni. Valgele taustale ilmusid helepruunid laigud. Plaatide töötlemine 5% ammooniumpersulfaadi lahusega annab hea tulemuse, kuna on näha laikude helepruuni värvi.

Ilmutina number 2 sai testitud naatriumi heksanitrokobaltaati (III) ehk $Na_3[Co(NO_2)_6]$ 1% lahus 5% äädikhappes. Selleks pandi 5g kristallilist $Na_3[Co(NO_2)_6]$ 500 ml kolbi, lahjendati 495g 5% äädikhappes. 5% äädikhappe lahus valmistati 23,9 ml jää-äädikhappe (tihedus 1,048 g/cm³ [49]) lahjendamisega 475 ml deioniseeritud vees. Pärast elueerimist TLC plaati asetati lahusesse, seejärel kuivatati elektripliidil temperatuuril 130°C. Alküülresortsinooli ja fenoolhappe laigud muutusid pruuniks. Saadud kromatogrammide tuvastati Sorbfil TLC Videodensitometer ja Just TLC tarkvarade abil.

Võrreldes 5% ammooniumpersulfaadi lahusega annab plaatide töötlemine 1% naatriumi heksanitrokobaltaadi (III) $Na_3[Co(NO_2)_6]$ lahusega 5% äädikhappes parema tulemuse,

kuna ilmunud laigud on intensiivsemalt värvunud tumepruunideks. Edaspidiselt kasutati katsetes just antud lahust.

2.2 Elunedi valik

Lõputöö põhiülesanne oli eraldada TLC abil 2-MR karboksüülimisprodukti, mis sisaldab lähteainet (2-MR) ja 2,4-DH-3-MBA.

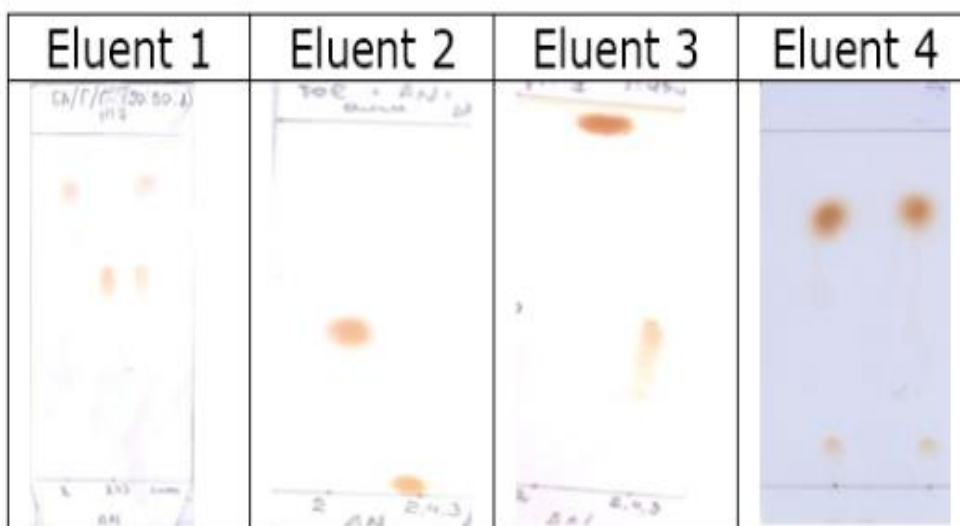
Katse sai läbi viidud kasutades puhaste ainete lahust: 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA. Uuriti järgmised lahustid: etanool, atsetonitril ja deioniseeritud vesi. 2-MR lahustub nende sees hästi. 2,4-DH-3-MBA lahustub etanoolis ja vees ainult kuumutamisel, atsetonitrilis aga lahustub toatemperatuuril. Seetõttu valiti lahustiteks atsetonitril ja vesi. Atsetonitrili kasutamine lahustina ei ole majanduslikult otstarbekas. Karboksüülimisproduktide analüüsimiseks asendati 2-MR atsetonitril deioniseeritud veega.

Uuringu esimeseks etapiks sai eluendi valik. 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA eraldamiseks uuriti olulist arvu eluente TLC abil (Lisa 2). Tabelis 2.1 on loetletud neli eluenti, millel on parim eraldusvõime.

Tabel 2.1 Uuritud eluentide koostis

Eluent A/B/C mahuosa	pH	R_f		ΔR_f
		2-MR	2,4-DH-3-MBA	
1. heksaan/butüülatsetaat/püridiin (5:5:1)	7	0,73	0,45	0,28
2. toluen/atsetonitril/ammoniaak 25% (7:3:1)	7	0,44	0,03	0,41
3. heksaan/etüülatsetaat/püridiin (5:5:1)	7	0,95	0,42	0,53
4. heksaan/butüülatsetaat/püridiin (6:4:1)	7	0,76	0,13	0,63

Eluentide eraldusvõime tulemused on näidatud joonisel 2.1



Joonis 2.1 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA eraldamise tulemused

Tulemustest on näha, et parim komponentide eraldumine toimub eluendi number 4 kasutamisel. Seda eluenti kasutati edasistes katsetes.

2.3 2-MR karboksüülimisprodukti eraldamine

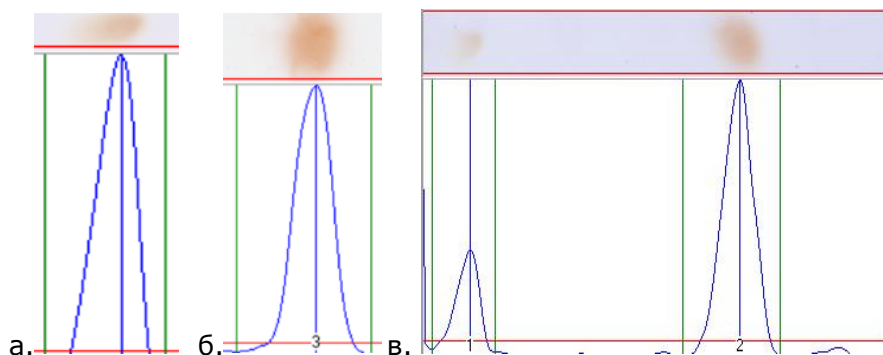
TLC abil saab näidata reageerimata 2-MR ja saadud 2,4-DH-3-MBA olemasolu 2-MR karboksüülimisproduktis. Selleks on vaja läbi viia karboksüülimisprodukti eraldamine eluendi abil. Eluent koosnes heksaanist, butüülatsetaadist ja püridiinist mahuosas 6:4:1. Eluendi eraldusvõimet uuriti DC-Fertigfolien ALUGRAM SIL G/UV₂₅₄ plaatidel.

Enne TLC eraldamise alustamist valmistati 5cm x 10cm plaadid. Selleks tõmbati stardijoon 2 cm kaugusele alumisest servast ja lõppjoon - 1,5 cm plaadi ülemisest servast. Stardijoonele joonistati kolm punkti (iga 1,5 cm järel), astudes plaadi servadest (paremale ja vasakule) tagasi ühe sentimeetri võrra. TLC plaadi stardijoonele määrati süstlaga kolm proovi mahuga 1 µl:

- 2-MR 1% lahus
- 2,4-DH-3-MBA 0,5% lahus
- 2-MR karboksüülimisprodukti 1% lahus

Ainete kromatograafilise eraldamine sai läbi viidud kromatograafilises kambris, suletud süsteemis, mis oli küllastunud eluendiauruga. Kromatograafilise kambrina kasutati 250 ml keeduklaasi, mida omakorda kaeti Petri tassiga. Sellele lisati enne ettevalmistatud eluent kihi kõrgusega umbes üks sentimeeter. Standardainete (2-MR ja 2,4-DH-3-MBA) lahused ja karboksüülimisprodukt 2-MR kanti süstlaga TLC-plaadile, millel oli märgistus peal. Seejärel asetati eluendiga keeduklaasi, mida kaeti Petri tassiga. Liikuva faasi tase peab olema stardijoonest allpool. Elueeriti, kuni liikuva faasi esiosa sai eelnevalt

märgitud lõppjoonel nähtavaks. Seejärel võeti plaat välja ja kuivatati õhu käes kuni lahusti aurustumiseni. Pärast seda langetati vanni, kus oli ilmuti sees, seejärel eemaldati ja kuivatati õhu käes. Järgmisena plaat oli 5 minutit elektripliidi peal temperatuuril 130°C. Katse tulemused on näidatud joonisel 2.2.



Joonis 2.2 a) 2,4-DH-3-MBA b) 2-MR c) 2-MR karboksüülimisprodukt

Nii sai eraldamine teostatud. Andmed R_f on esitatud tabelis 2.2.

Tabel 2.2 2-MR R_f ja 2,4-DH-3-MBA väärtused

2-MR karboksüülimisprodukt	R_f	TLC plaat
2-MR	0,14	
2,4-DH-3-MBA	0,78	

Ülaltoodud komponentide TLC kromatogrammide ja R_f väärtused on esitatud lisa osas number 3.

2.4 Kalibreerimisgraafiku koostamine 2-MR kontsentratsiooni määramiseks

2.4.1 Kalibreerimisgraafiku koostamine 2-MR kontsentratsiooni määramiseks segus, kasutades SORBFIL TLC Videodensitometer tarkvara

2-MR sisalduse kvantitatiivseks määramiseks segudes on vaja koostada kalibreerimisgraafiku $y = f(x)$, kus y on piigi pindala (tingmõõõtühikutes) ja x on kontsentratsioon, massiprotsentides.

Graafiku koostamiseks valmistati 2-MR lahuste seeria erinevate kontsentratsioonidega, massiprotsentides: 0,5, 0,75, 1,0, 1,5, 2,0. Lahustina kasutati deioniseeritud vett. Lahused valmistati mõõtekolbide mahuga 25 ml ja 50 ml ja pipettide abil.

2% massiprotsenti: 0,5g 2-MR → kuni 25ml H₂O

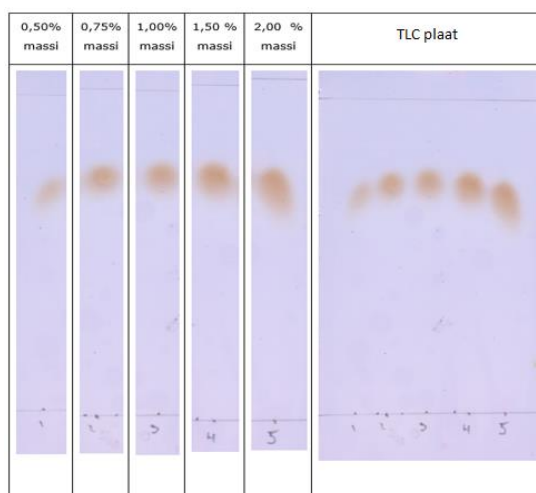
1,5% massiprotsenti: 18,75ml 2% massiprotsenti 2-MR + 6,25 ml H₂O

1,0% massiprotsenti: 25ml 2% massiprotsenti 2-MR + 25 ml H₂O

0,75% massiprotsenti: 18,75 ml 1,5% massiprotsenti 2-MR + 6,25 ml H₂O

0,5% massiprotsenti: 12,5 ml 1% massiprotsenti 2-MR + 12,5 ml H₂O

Lahused kanti plaatide peale ja elueeriti heksaani-butüülatsetaadi-püridiini seguga (6:4:1). Kui eluent jõudis lõppjooneni, eemaldati plaat kambri, kuivatati õhu käes ja asutati ilmutisse - 1% naatriumi heksanitrokobaltaadi (III) lahusesse 5% äädikhappes. Seejärel kuivatati elektripliidil 5 minutit temperatuuril 130°C. Saadud kujutised (Joonis 2.3) töödeldi SORBFIL TLC Videodensitometer tarkvara abil. Iga lahuse puhul analüüs oli läbi viidud 3 korda. Tulemused on esitatud tabelis 2.3.

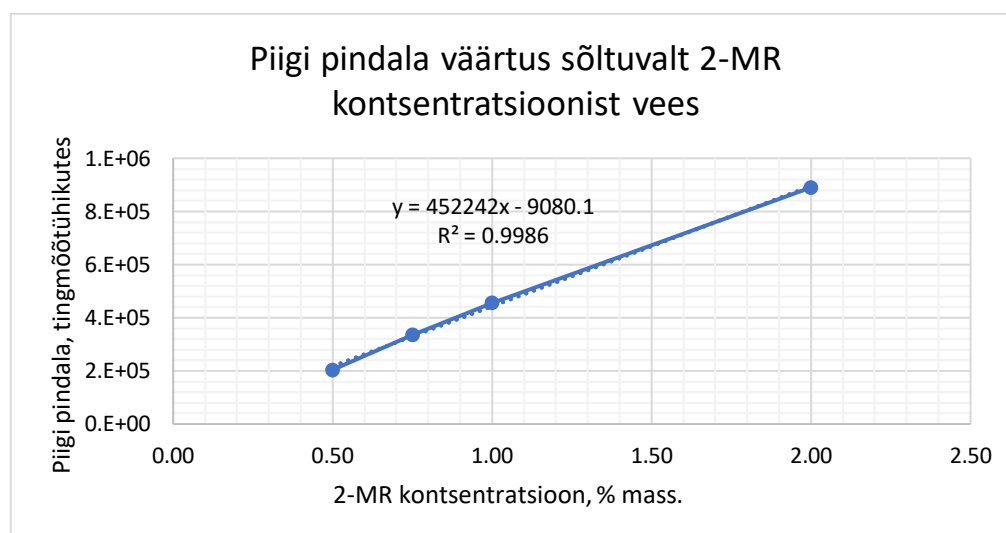


Joonis 2.3 Erinevate massikontsentratsioonidega 2-MR vesilahuste TLC plaat

Tabel 2.3 Piigi pindala väärtus sõltuvalt 2-MR kontsentratsioonist

2-MR kontsentratsioon, % mass.	Piigi pindala, tingmööühikutes			Piigi pindala keskväärus, tingmööühikutes
	1	2	3	
0,5	207819	243501	161109	204143
0,75	291982	347507	366944	335478
1,0	407531	453280	506555	455789
1,5	643725	393539	786751	608005
2,0	1011472	823354	836072	890299

Nende andmete põhjal koostati kalibreerimisgraafiku $y = f(x)$, kus y on piigi pindala (tingmööühikutes) ja x on 2-MR kontsentratsioon, massiprotsentides. Graafik on näidatud joonisel 2.4.



Joonis 2.4 Piigi pindala väärtuste graafik sõltuvalt 2-MR kontsentratsioonist vees

Koostatud graafiku järgi on võimalik määrata kvantitatiivselt puhta 2-MR sisaldust segus.

Kromatograafia tulemused on toodud lisa osas number 4.

2.4.2 Kalibreerimisgraafiku koostamine 2-MR kontsentratsiooni määramiseks segus, kasutades Just TLC tarkvara

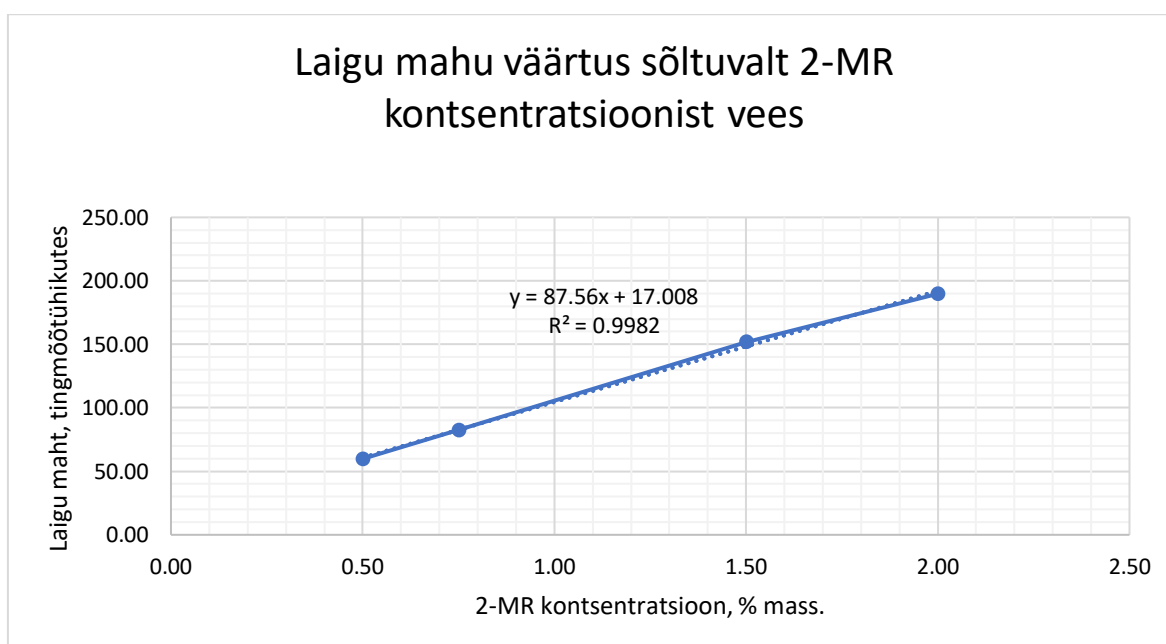
2-MR sisalduse kvantitatiivseks määramiseks segudes on vaja koostada kalibreerimisgraafikut $y=f(x)$, kus y on laigu maht (tingmööühikutes) ja x on kontsentratsioon, massiprotsentides.

Graafiku koostamiseks valmistati 2-MR lahuste seeria erinevate kontsentratsioonidega, massiprotsentides: 0,5, 0,75, 1,0, 1,5, 2,0. Lahustina kasutati deioniseeritud vett. Lahuste seeria valmistamist saab näha 2.4.1 osas. Lahused kanti plaatidele ja elueeriti heksaani-butüülatsetaadi-püridiini seguga (6:4:1). Kui eluent jõudis lõppjooneni, eemaldati plaat kambrist, kuivatati õhu käes ja asetati ilmutisse - 1% naatriumi heksanitrokobaltaadi (III) lahusesse 5% äädikhappes. Seejärel kuivatati elektripliidil 5 minutit temperatuuril 130°C. Saadud pilte töödeldi Just TLC tarkvara abil. Iga lahuse puhul analüüs sai läbi viidud 3 korda. Tulemused on esitatud tabelis 2.4.

Tabel 2.4 Laigu mahu väärtus sõltuvalt 2-MR kontsentratsioonist

2-MR kontsentratsioon, % mass.	Laigu maht, timgmõõtühikutes			Laigu mahu keskvärtus, timgmõõtühikutes
	1	2	3	
0,5	62,91	62,08	54,48	59,82
0,75	67,51	78,83	100,88	82,41
1,0	90,94	119,4	141,34	117,23
1,5	117,79	156,62	181,35	151,92
2,0	193,09	194,86	181,42	189,79

Antud andmete põhjal koostati kalibreerimisgraafik $y=f(x)$, kus y on laigu maht, timgmõõtühikutes, x on 2-MR kontsentratsioon, massiprotsentides. Graafik on näidatud joonisel 2.5.



Joonis 2.5 Laigu mahu väärtuste graafik sõltuvalt 2-MR kontsentratsioonist vees

2.5 Kalibreerimisgraafiku koostamine 2,4-DH-3-MBA kontsentratsiooni määramiseks

2.5.1 Kalibreerimisgraafiku koostamine 2,4-DH-3-MBA kontsentratsiooni määramiseks SORBFIL TLC Videodensitometer tarkvara abil

Segudes sisalduva 2,4-DH-3-MBA kvantitatiivseks määramiseks on vaja koostada kalibreerimisgraafikut $y = f(x)$, kus y on piigi pindala, tingmõõtühikutes, aga x on 2,4-dihüdrosü-3-metüülbensoehappe kontsentratsioon, massiprotsentides.

Valmistati erineva kontsentratsiooniga 2,4-DH-3-MBA lahused, massiprotsentides: 0,5, 0,25, 0,125 0,0625. Lahustina kasutati deioniseeritud vett. Lahused valmistati mõõtekolbide mahuga 25 ml ja 50 ml ja pipettide abil.

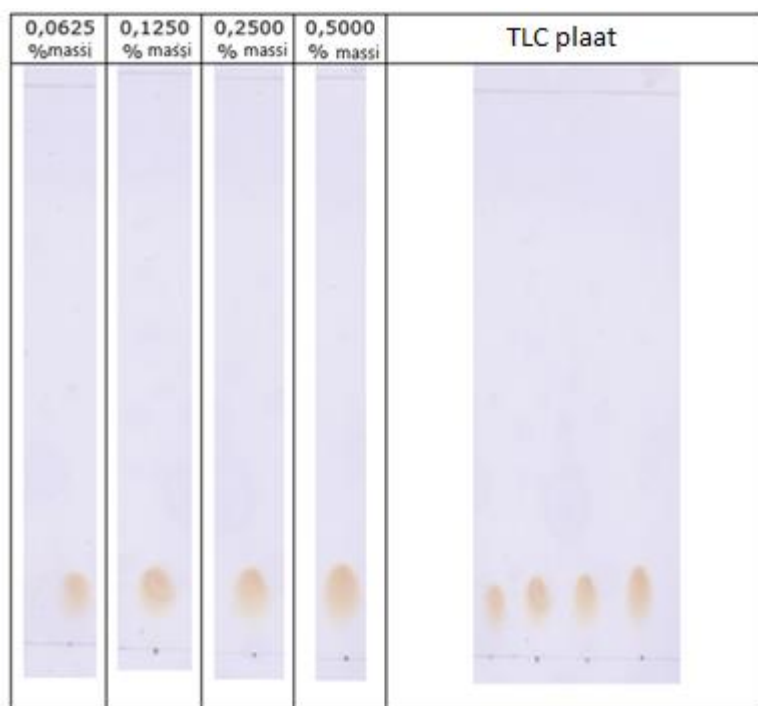
0,5% massiprotsenti: 0,25 g 2,4-DH-3-MBA + 50ml H₂O

0,25% massiprotsenti: 25 ml 0,5% massiprotsenti 2,4-dihüdrosü-3-metüülbensoehapet + 25 ml H₂O

0,125% massiprotsenti: 25 ml 0,25% massiprotsenti 2,4-dihüdrosü-3-metüülbensoehapet + 25 ml H₂O

0,0625% massiprotsenti: 12,5 ml 1,5% massiprotsenti 2,4-dihüdrosü-3-metüülbensoehapet + 12,5 ml H₂O

Lahused kanti plaatidele ja elueeriti heksaani-butüülatsetaadi-püridiini seguga (6:4:1). Kui eluent jõudis lõppjooneni, eemaldati plaat kambrist, kuivatati õhu käes ja asetati ilmutisse - 1% naatriumi heksanitrokobaltaadi (III) lahusesse 5% äädikhappes. Seejärel kuivatati elektripliidil 5 minutit temperatuuril 130°C. Saadud pilte (Joonis 2.6) töödeldi SORBFIL TLC Videodensitometer tarkvara abil. Iga lahuse puhul analüüs sai läbi viidud 3 korda. Tulemused on esitatud tabelis 2.5.

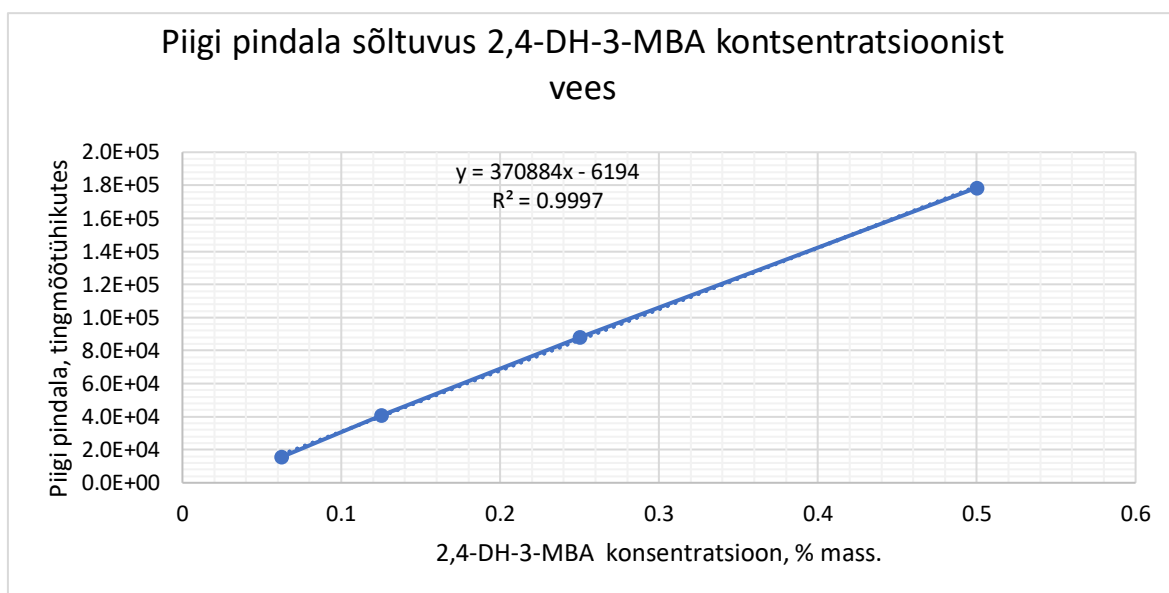


Joonis 2.6 Erinevate massikontsentratsioonidega 2,4-DH-3-MBA vesilahuste TLC plaat

Tabel 2.5 2,4-DH-3-MBA kontsentratsioonist sõltuv piigi pindala väärtus

2,4-DH-3-MBA kontsentratsioon, % mass.	Piigi pindala, tingmõõtühikutes			Piigi pindala keskväärtus, tingmõõtühikutes
	1	2	3	
0,0625	19700	7874	19271	15615
0,1250	45119	28611	48697	40809
0,2500	87561	84219	92110	87963
0,5000	108548	217090	209985	178541

Antud andmete põhjal koostati graafik $y = f(x)$, kus y on piigi pindala, tingmõõtühikutes, x - 2,4-DH-3-MBA, massiprotsentides. Graafik on toodud joonisel 2.7.



Joonis 2.7 Graafik, mis näitab piigi pindala sõltuvust 2,4-DH-3-MBA kontsentratsioonist vees

Tehtud graafiku järgi on võimalik määrata kvantitatiivselt, näiteks puhta 2,4-DH-3-MBA sisaldust 2-MR karboksüülimisproduktis.

Kromatograafia tulemused on leitavad lisa osas number 5.

2.5.2 Kalibreerimisgraafiku koostamine 2,4-DH-3-MBA kontsentratsiooni määramiseks, kasutades Just TLC tarkvara

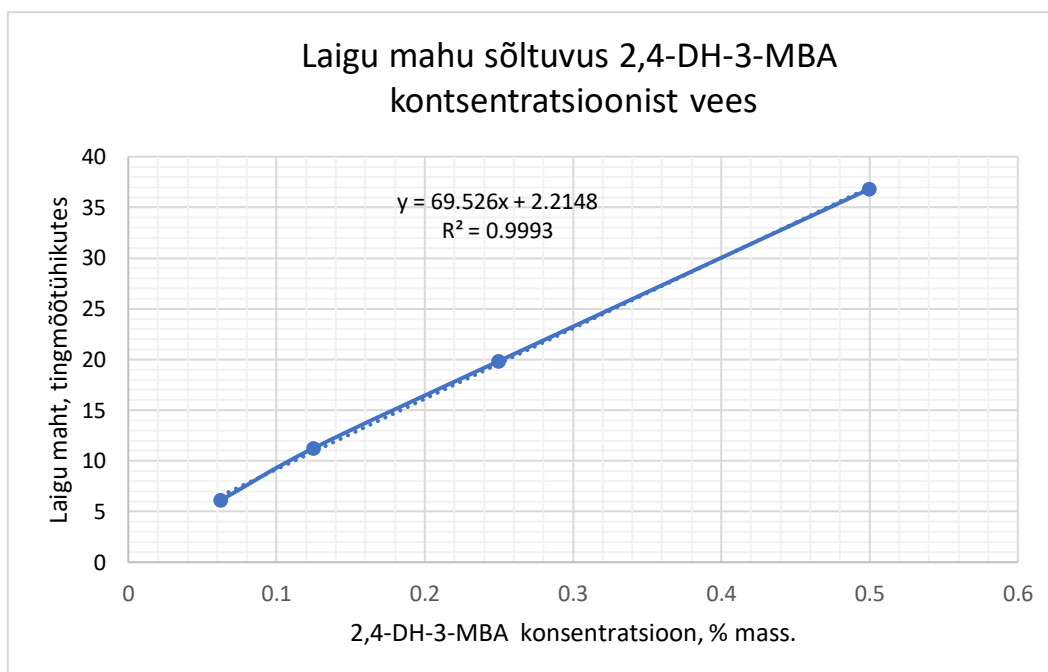
Segudes sisalduva 2,4-DH-3-MBA kvantitatiivseks määramiseks on vaja koostada kalibreerimisgraafikut $y = f(x)$, kus y on laigu maht, tingmõõtühikutes, x on 2,4-DH-3-MBA kontsentratsioon, massiprotsentides.

Valmistati erineva kontsentratsiooniga 2,4-DH-3-MBA lahused, massiprotsentides: 0,5, 0,25, 0,125 0,0625. Lahustina kasutati deioniseeritud vett. Lahused valmistati mõõtekolbide mahuga 25 ml ja 50 ml ja pipettide abil. Lahuste seeria valmistamine on näidatud jaotises 2.5.1. Lahused kanti plaatide peale ja elueeriti heksaani-butüülatsetaadi-püridiini seguga (6/4/1). Kui eluent jõudis lõppjooneni, eemaldati plaat kambrist, kuivatati õhu käes ja asetati ilmutisse - 1% naatriumi heksanitrokobaltaadi (III) lahusesse 5% äädikhappes. Seejärel kuivatati elektripliidil 5 minutit temperatuuril 130°C. Saadud pilte töödeldi Just TLC tarkvara abil. Iga lahuse puhul analüüs sai läbi viidud 3 korda. Tulemused on esitatud tabelis 2.6.

Tabel 2.6 Laigu mahu väärtus sõltuvalt 2,4-DH-3-MBA kontsentratsioonist

2,4-DH-3-MBA, % mass.	Laigu maht, tingmõõtühikutes			Laigu mahu keskmine väärtus, tingmõõtühikutes
	1	2	3	
0,5000	5,35	6,62	6,39	6,12
0,2500	12,73	12,19	8,83	11,25
0,1250	18,09	27,37	14,1	19,85
0,0625	36,71	46,87	36,82	36,82

Antud andmete põhjal koostati graafik $y = f(x)$, kus y on laigu maht, tingmõõtühikutes, x - 2,4-DH-3-MBA kontsentratsioon, massiprotsentides. Graafik on näidatud joonisel 2.8.

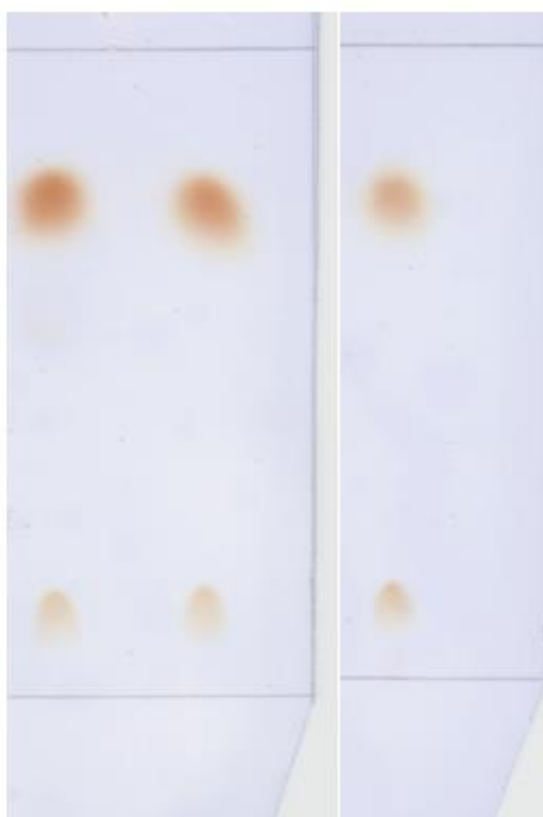


Joonis 2.8 Graafik, mis näitab laigu mahu sõltuvust 2,4-DH-3-MBA kontsentratsioonist vees

2.6 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA kvantitatiivne analüüs

Kalibreerimisgraafikute näitude korrigeerimiseks valmistati 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA segust vesilahused. Antud lahus koosnes 2-MR-st (1,25 g), 2,4-DH-3-MBA (0,25 g) ja 100 ml deioniseeritud veest. Proovid asetati 1 µl mikrosüstlaga DC-Fertigfolien ALUGRAM SIL G/UV₂₅₄ TLC plaatidele ja elueeriti heksaani-butüülatsetaadi-püridiini seguga (6:4:1). Plaat ilmutati 1% naatriumi heksanitrokobaltaadi (III) lahuses 5% äädikhappes. Pärast ilmutiga töötlemist kuivatati plaadid elektripliidil. Segu TLC plaat on näidatud joonisel 2.9.

2,4-dihüdroksü-3metüülbensoehape +
2MR



Joonis 2.9 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA segude TLC plaat

Sorbfil TLC Videodensitometer tarkvara ja Just TLC laigu mahude abil saadud piikide pindalad asendati vastava graafiku lineaarvõrrandiga ja leiti soovitud aine kontsentratsioon. Iga analüüs sai läbi viidud 3 korda. Tulemused on esitatud Sorbfil TLC Videodensitometer tarkvara jaoks tabelis numbriga 2.7 ja Just TLC tarkvara kasutades tabelis 2.8, samuti lisa osas 6–7.

Tabel 2.7 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA kalibreerimisgraafikute kontrollimise tulemused Sorbfil TLC Videodensitometer tarkvara kasutades

Komponent	Piigi pindala, tingmööühikutes			Keskmine piigi pindala, tingmööühikutes	Konsentratsioon, C, mg/ml	
	1	2	3		Saadud	Sisestatud
2-MR	587298	533494	460940	527244	1,19	1,25
2,4-DH-3-MBA	90349	57645	108115	85370	0,25	0,25

Absoluutne viga:

1. $(1,25 - 1,19) \cdot 100\% = 0,06\%$

2. $(0,25 - 0,25) \cdot 100\% = 0,00\%$

Suhteline viga:

1. $(0,06 : 1,25) \cdot 100\% = 0,048\%$

2. $(0,00 : 0,25) \cdot 100\% = 0,00\%$

Saadud andmetest tuleb järeldus, et esitatud kalibreerimisgraafikuid saab kasutada 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA kvantitatiivseks määramiseks erinevates segudes, eeldusel, et need on segu teistest komponentidest täielikult eraldatud. Absoluutne viga ei ületa 2%.

Tabel 2.8 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA kalibreerimisgraafikute tulemused Just TLC tarkvara kasutades

Komponent	Laigu maht, tingmööühikutes			Keskmine laigu maht, tingmööühikutes	Konsentratsioon, C, mg/ml	
	1	2	3		Saadud	Sisestatud
2-MR	103,83	139,12	113,92	118,96	1,17	1,25
2,4-DH-3-MBA	23,66	18,28	16,15	19,36	0,25	0,25

Absoluutne viga:

1. $(1,25 - 1,17) \cdot 100\% = 0,08\%$

2. $(0,25 - 0,25) \cdot 100\% = 0,00\%$

Suhteline viga:

1. $(0,08 : 1,25) \cdot 100\% = 0,064\%$

2. $(0,00 : 0,25) \cdot 100\% = 0,00\%$

Saadud andmetest tuleb järeldus, et esitatud kalibreerimisgraafikuid saab kasutada 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA kvantitatiivseks määramiseks erinevates segudes, eeldusel, et need on segu teistest komponentidest täielikult eraldatud. Absoluutne viga ei ületa 2%.

2.7 2-MR karboksüülimisproduktide kvantitatiivne analüüs

On teada, et 2-MR karboksüülimisproduktides on alati sees ka 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA. Segu komponentide kvantitatiivne määramine TLC abil sai läbi viidud kalibreerimisgraafikute abil. Uuringu käigus kasutati ühte ekstraheerimise järgne filtraadi (vee) proov ja neli tahket proovi, mis saadi pärast dietüüleetri aurustamist: 1) 2-MR/ $\text{KHCO}_3=1/3$, 2) 2-MR/ $\text{KHCO}_3=1/4$, 3) 2-MR/ $\text{KHCO}_3=1/5$, 4) 2-MR/ $\text{KHCO}_3=1/6$. Proovidest said valmistatud 1% lahused. Selleks said võetud neli erineva kaaluga eeterlikku ekstrakti massiga 0,5000 grammi ja lahustatud 50 ml mõõtekolbidesse deioniseeritud veega. Lahuseid kuumutati pliidiil temperatuuril 40 °C, kuni proov oli täielikult lahustunud.

- 2-MR/ $\text{KHCO}_3=1/3$ 1% 0,5000g → 50 ml deioniseeritud vesi
- 2-MR/ $\text{KHCO}_3=1/4$ 1% 0,5000g → 50 ml deioniseeritud vesi
- 2-MR/ $\text{KHCO}_3=1/5$ 1% 0,5000g → 50 ml deioniseeritud vesi
- 2-MR/ $\text{KHCO}_3=1/6$ 1% 0,5000g → 50 ml deioniseeritud vesi

Seejärel kanti proovid 1 µl mikrosüstlaga TLC plaatidele DC-Fertigfolien ALUGRAM SIL G/ UV₂₅₄ ja elueeriti heksaani-butüülatsetaadi-püridiini seguga (6:4:1). Plaat ilmutati 1% naatriumi heksanitrokobaltaadi (III) lahuses 5% äädikhappes. Pärast seda kuivatati plaadid elektripliidiil. Saadud pilte töödeldi Sorbfil TLC Videodensitometer tarkvara abil piigi pindala väärtuste saamiseks, samuti Just TLC tarkvara abil, et saada laigumahu väärtusi. Iga analüüs sai läbi viidud kolm korda. Saadud piigi pindala ja laigu maht sisestati kalibreerimisgraafikute peale lineaarseteks võrranditeks ja leiti soovitud aine kontsentratsioon. Iga analüüs viidi läbi 3 korda. Tulemused on esitatud Sorbfil TLC Videodensitometer tarkvara kasutades tabelis 2.9 ja Just TLC kasutades tabelis 2.12, samuti lisa osas 8–10.

Tabel 2.9 2-MR karboksüülimisproduktide analüüside tulemused Sorbfil TLC Videodensitometer tarkvara kasutades

2MR/KHCO ₃ , mol/mol	Komponent	Piigi pindala, tingmõõdühikutes			Keskmine piigi pindala	C, % mass.
		1	2	3		
1/3	2-MR	696274	295071	890518	810347	1,40
	2,4-DH-3-MBA	83771	67515	74083	75123	0,21
1/4	2-MR	677834	786170	872260	778755	1,74
	2,4-DH-3-MBA	74849	99479	104955	93094	0,26
1/5	2-MR	580438	639300	779540	666426	1.49
	2,4-DH-3-MBA	96464	96493	85715	92891	0.26
1/6	2-MR	507572	721998	610910	613493	1,38
	2,4-DH-3-MBA	113913	72998	93721	93544	0,27
Filtraat (H ₂ O)	2-MR	134160	135024	162008	143731	0,33
	2,4-DH-3-MBA	-	-	-	-	-

2-MR karboksüülimisproduktide vesilahuste kromatograafia tulemusi võrreldi samade produktide analüüsi tulemustega gaasikromatograafia kasutades (tabel 2.10).

Tabel 2.10 TLC ja GC analüüside võrdlustulemused 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA sisalduse kohta 2-MR karboksüülimisproduktides

Proovi nimetus	TLC abil saadud kontsentratsioon, % mass.		GC meetodil saadud kontsentratsioon, % mass.	
	2-MR	2,4-DH-3-MBA	2-MR	2,4-DH-3-MBA
1/3	86,96	13,04	88,71	11,05
1/4	87,00	13,00	85,51	14,25
1/5	85,14	14,86	82,13	17,44
1/6	83,64	16,36	79,97	19,07

TLC ja GC meetodite absoluutsete ja suhteliste vigade arvutuste tulemused on toodud tabelis 2.11.

Tabel 2.11 Absoluutsete ja suhteliste vigade arvutuste tulemused

Proov	Absoluutne viga	
	2-MR	2,4-DH-3-MBA
1/3	$(0,8871 - 0,8696) \cdot 100\% = 0,0175\%$	$(0,1304 - 0,1105) \cdot 100\% = 0,0199\%$
1/4	$(0,8700 - 0,8551) \cdot 100\% = 0,0149\%$	$(0,1425 - 0,1300) \cdot 100\% = 0,0125\%$
1/5	$(0,8514 - 0,8213) \cdot 100\% = 0,0301\%$	$(0,1744 - 0,1486) \cdot 100\% = 0,0258\%$
1/6	$(0,8364 - 0,7997) \cdot 100\% = 0,0367\%$	$(0,1907 - 0,1636) \cdot 100\% = 0,0271\%$
	Suhteline viga	
1/3	$(0,0175/0,8871) \cdot 100\% = 0,0197\%$	$(0,0199/0,1105) \cdot 100\% = 0,1800\%$
1/4	$(0,0149/0,8551) \cdot 100\% = 0,0174\%$	$(0,0125/0,1425) \cdot 100\% = 0,0877\%$
1/5	$(0,0301/0,8213) \cdot 100\% = 0,0366\%$	$(0,0258/0,1744) \cdot 100\% = 0,1479\%$
1/6	$(0,0367/0,7997) \cdot 100\% = 0,0458\%$	$(0,0271/0,1907) \cdot 100\% = 0,1421\%$

Esitatud andmetest tuleb järeldus, et saadud TLC tulemused on lähedased GC tulemustele. Määramise absoluutne viga on vahemikus 0,0149% kuni 0,0367%. Graafikuid kasutades on võimalik määrata 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA kontsentratsiooni eeldusel, et need on kromatograafilistel plaatidel teistest komponentidest täielikult eraldatud.

Tabel 2.12 2-MR karboksüülimisproduktide analüüside tulemused Just TLC Videodensitometer tarkvara kasutades

2MR/KHCO ₃ , mol/mol	Komponent	Laigu maht, tingmõõtühikutes			Keskmise laigu maht	C, % mass
		1	2	3		
1/3	2-MR	117,72	145,16	145,81	136,23	1,36
	2,4-DH-3-MBA	17,99	12,28	10,68	13,65	0,17
1/4	2-MR	125,96	123,98	122,91	124,28	1,23
	2,4-DH-3-MBA	23,19	15,18	18,71	19,03	0,24
1/5	2-MR	88,07	106,5	115,13	103,23	0,99
	2,4-DH-3-MBA	11,06	15,64	15,32	14,01	0,17
1/6	2-MR	80,54	95,9	109,79	95,4	0,90
	2,4-DH-3-MBA	17,28	12,31	15,6	15,06	0,18
Filtraat (H ₂ O)	2-MR	31,77	34,63	31,01	32,47	0,18
	2,4-DH-3-MBA	-	-	-	-	-

2-MR karboksüülimisproduktide vesilahuste kromatograafia tulemusi võrreldi samade saaduste GC analüüsi tulemustega (tabel 2.12).

Tabel 2.13 TLC ja GC analüüside võrdlustulemused 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA sisalduse kohta 2-MR karboksüülimisproduktides

Proovi nimetus	TLC abil saadud kontsentratsioon, % mass.		GC meetodil saadud kontsentratsioon, % mass.	
	2-MR	2,4-DH-3-MBA	2-MR	2,4-DH-3-MBA
1/3	88,89	11,11	88,71	11,05
1/4	83,68	16,32	85,51	14,25
1/5	85,34	14,66	82,13	17,44
1/6	83,34	16,66	79,97	19,07

TLC ja GC meetodite absoluutsete ja suhteliste vigade arvutuste tulemused on esitatud tabelis 2.14

Tabel 2.14 Absoluutsete ja suhteliste vigade arvutuste tulemused

Proov	Absoluutne viga	
	2-MR	2,4-DH-3-MBA
1/3	$(0,8889 - 0,8871) \cdot 100\% = 0,0018\%$	$(0,1111 - 0,1105) \cdot 100\% = 0,0006\%$
1/4	$(0,8551 - 0,8368) \cdot 100\% = 0,0183\%$	$(0,1632 - 0,1425) \cdot 100\% = 0,0207\%$
1/5	$(0,8534 - 0,8213) \cdot 100\% = 0,0321\%$	$(0,1744 - 0,1466) \cdot 100\% = 0,0278\%$
1/6	$(0,8334 - 0,7997) \cdot 100\% = 0,0337\%$	$(0,1907 - 0,1666) \cdot 100\% = 0,0241\%$
	Suhteline viga	
1/3	$(0,0018/0,8871) \cdot 100\% = 0,0020\%$	$(0,0006/0,1105) \cdot 100\% = 0,0054\%$
1/4	$(0,0183/0,8551) \cdot 100\% = 0,0214\%$	$(0,0207/0,1425) \cdot 100\% = 0,1453\%$
1/5	$(0,0321/0,8213) \cdot 100\% = 0,0391\%$	$(0,0278/0,1744) \cdot 100\% = 0,1594\%$
1/6	$(0,0337/0,7997) \cdot 100\% = 0,0463\%$	$(0,0241/0,1907) \cdot 100\% = 0,1264\%$

Esitatud andmetest tuleb järeldus, et saadud TLC tulemused on lähedased GC tulemustele. Määramise absoluutne viga on vahemikus 0,0006% kuni 0,0337%. Graafikuid kasutades on võimalik määrata 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA kontsentratsiooni eeldusel, et need on kromatograafilistel plaatidel teistest komponentidest täielikult eraldatud.

JÄRELDUSED

1. TLC abil on nii kvalitatiivselt kui ka kvantitatiivselt võimalik kiiresti ja odavalt analüüsida erinevate ühendite segusid (2-MR karboksüülimisproduktide segud).
2. Kromatograafia andmete saamiseks sai uuritud videodensitomeetria meetod tahvelarvuti-skanneri abil, samuti ka kaasaegne tarkvara abil. Tahvelarvuti-skanneri ja tarkvara kasutamine võimaldavad saada ja töödelda andmeid alküülresortsinoolide ja nendel põhinevate hapete eraldamise kohta ilma selliseid meetodeid nagu spektrofotomeetria ja GC kasutamata.
3. TLC plaatidelt saadud tulemused said töödeldud arvutiprogrammide ehk tarkvara abil: 1) Sorbfil TLC Videodensitometer, mis arvutab laikude pindalaid, 2) Just TLC, mis arvutab laikude mahud.
4. Laikude tuvastamiseks sai valitud ilmuti: 1% naatriumi heksanitrokobaltaadi (III) $Na_3[Co(NO_2)_6]$ lahus 5% äädikhappes, mida saab kasutada 2-MR identifitseerimisel ja 2,4-DH-3-MBA 2-MR karboksüülimisproduktides.
5. Sai valitud eluent 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA kvalitatiivseks ja kvantitatiivseks hindamiseks 2-MR karboksüülimise produktides: heksaan-butüülatsetaat-püridiin (6:4:1). Reaktiivide suhe võeti mahuosades. Analüüsid said läbi viidud DC-Fertigfolien ALUGRAM SIL G/UV₂₅₄ kromatograafiliste plaatide peal.
6. Kvantitatiivse analüüsi läbiviimiseks said koostatud kalibreerimisgraafikud kontsentratsioonide vahemikes: 1) 2-MR alates 0,5 % massiprotsendist kuni 2 % massiprotsendini, 2) 2,4-DH-3-MBA alates 0,0625 % massiprotsendist kuni 0,5 % massiprotsendini. Kromatograafia sai läbi viidud ALUGRAM firma plaatide peal.
7. 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA segu analüüsi täpsust sai kontrollitud kalibreerimisgraafikute abil, kasutades kunstlikku segu (1,25g:0,25g). Saadud andmetest tuleb järeldus, et neid graafikuid saab kasutada 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA sisalduse kvantifitseerimiseks 2-MR karboksüülimisproduktides. Absoluutne määramisviga: 1) Sorbfil TLC videodensitomeeter tarkvara kasutades 0,06% 2-MR ja 0,00% 2,4-DH-3-MBA puhul, 2) Just TLC kasutades 0,08% 2-MR ja 0,00% 2,4-DH-3-MBA puhul.
8. 2-MR karboksüülimisproduktide kvantitatiivne analüüs sai läbi viidud kalibreerimisgraafikute abil. TLC kromatograafia tulemused said võrreldud samade 2-MR karboksüülimise produktide GC analüüsi tulemustega. TLC abil saadud andmed on lähedased GC tulemustele. Määramise absoluutne viga on vahemikus: 1) Sorbfil TLC Videodensitomeeter tarkvara kasutades 0,0149% kuni 0,0367% 2-MR puhul ja 0,0006% kuni 0,0278% 2,4-DH-3-MBA puhul, 2) Just TLC tarkvara kasutades alates 0,0018 % kuni 0,0337% 2-MR ja 0,0006% kuni 0,0278% 2,4-DH-3-MBA puhul.

Tulemustest tuleb järeldus, et 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA sisalduse muutumise jälgimiseks sünteesi käigus saab kasutada kallima GC meetodi asemel TLC-d.

KOKKUVÕTE

Põlevkivikeemiatööstus on Ida-Virumaa üks olulisi majandussektoreid. Nõudlus peenkeemiatoodete järele kasvab igal aastal. Kvaliteetsete saaduste tootmiseks on vajalik nende omaduste range jälgimine. Toodete kvaliteediomaduste kontrollimiseks on palju võimalusi, näiteks kuluka gaasi- või vedelikkromatograafia kasutamisega. Esitatud uurimistöös valiti 2-MR karboksüülimissaaduste analüüsiks õhukese kihi kromatograafia (TLC).

Selle töö eesmärk on näidata TLC kasutamise võimalust 2-MR karboksüülimissaaduste kvalitatiivseks ja kvantitatiivseks analüüsiks.

Uurimustöö käigus analüüsiti 2-MR karboksüülimisprodukte erinevate lähteainete suhetega: 2-MR ja kaaliumvesinikkarbonaat. On tõestatud, et 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA esinemist 2-MR karboksüülimisproduktides saab määrata tänu valitud eluendi ja ilmuti kasutamisele. 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA kunstsegu kvalitatiivne ja kvantitatiivne analüüs viidi läbi TLC meetodiga. Ülaltoodud ühendite sisalduse kvantitatiivseks hindamiseks 2-MR karboksüülimisproduktides koostati kalibreerimisgraafikud. Kinnitati, et saadud graafikute abil on võimalik määrata 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA kontsentratsiooni 2-MR karboksüülimisel saadud toodetes.

TLC meetodit koos tahvelarvuti skanneri ja arvuti tarkvaraga TLC analüüsimiseks on võimalik rakendada 2-MR karboksüülimistoodete kvalitatiivseks ja kvantitatiivseks hindamiseks nii uurimistöodes kui ka ettevõtete laborites. TLC on lihtne, kiire ja odav kromatograafilise analüüsi meetod võrreldes gaasikromatograafiaga. Selle meetodi rakendamine ei nõua suuri rahalisi kulusi väärtuslikele seadmetele, samuti annab see kiire vastuse küsimusele, mis on analüüsitavas segus ja millises koguses, komponentide täieliku eraldamise tingimused kromatograafilisel plaadil.

Töö käigus analüüsiti 2-MR karboksüülimissaadusi. Teistes (alküül)resortsiinide karboksüleerimistoodetes (R, 5-MR) ainete segu kvaliteetse ja kvantitatiivse määramise vajaduse korral tuleb teha sarnane uurimustöö. Eksperimentaalselt valida tingimused analüüsi teostamiseks TLC meetodil.

SUMMARY

Oil shale is considered the main mineral that serves as a raw material for the chemical industry in Estonia. The main product produced at the leading oil shale processing enterprises Viru Keemia Grupp AS (VKG AS), Enefit Power AS, Kivioli Keemiatööstus OÜ (KKT OÜ) is shale oil. A mixture of alkylresorcins is isolated from shale oil, the valuable components of which are resorcinol, 5-MR and 2-MR. Specified (alkyl)resorcins are obtained by crystallization from fractions of shale oil. They can be raw materials for the synthesis of various substances, for example, phenolic acids. It is known that phenolic acids are used to produce aerogels, medicines, adhesives.

There are different ways to control the quality characteristics of the products. For example, using expensive gas or liquid chromatography. In the presented research paper, the method of thin-layer chromatography (TLC) was chosen for the analysis of 2-MR carboxylation products.

The purpose of this work is to show the possibility of using TLC for qualitative and quantitative analysis of 2-MR carboxylation products. The relevance of the topic lies in the fact that today there is no express, budget, publicly available and accurate method for determining the content of 2-MR and 2,4-dihydroxy-3-methylbenzoic acid in 2-MR carboxylation products.

2-MR carboxylation products with a different ratio of starting substances, namely 2-MR and potassium bicarbonate, were analyzed during the study. It is proved that thanks to the use of selected eluent and developer, it is possible to determine the presence of 2-MR and 2,4-dihydroxy-3-methylbenzoic acid in 2-MR carboxylation products. A qualitative and quantitative analysis of an artificial mixture of 2-MR and 2,4-dihydroxy-3-methylbenzoic acid was carried out by the TLC method. Calibration graphs have been constructed to quantify the content of the above compounds in 2-MR carboxylation products. It is confirmed that the obtained graphs can be used to determine the concentration of 2-MR and 2,4-dihydroxy-3-methylbenzoic acid in products obtained by carboxylation of 2-MR.

The method of thin-layer chromatography in combination with a flatbed scanner and computer software for TLC analysis can be used for qualitative and quantitative evaluation of 2-MR carboxylation products, both in research and in enterprise laboratories.

TLC is a simple, fast and inexpensive method of chromatographic analysis in comparison with gas chromatography.

KASUTATUD KIRJANDUS

1. Кислородосодержащие соединения. [Online] <https://orgchem.ru/chem4/o22.php> (15.05.2023)
2. Получение фенола. [Online] https://spbcomposit.ru/receiving_phenol.html (15.05.2023)
3. Згуро А., Григорьева Л., С. Чекрыжов С., Бородина И. Химические технологии: учебное пособие для химико-технологических специальностей профессиональных центров. Йыхви: Innove, 2012.
4. Hans Luik. Chemicals and other products from shale oil. [Online] <http://www.eolss.net/sample-chapters/c08/E3-04-04-05.pdf> (15.05.2023)
5. Продукты тонкой химии. [Online] <https://www.vkg.ee/ru/produkt-y-tonkoj-himii/> (15.05.2023)
6. Применение резорцина. [Online] <https://snabcomplekt.com/helpful-information/primenenie-rezortsina/> (15.05.2023)
7. Метилрезорцин (2-метилрезорцин). [Online] <https://isthim.ru/production/syre-dlya-kosmeticheskoy-promyshlennosti/metil-rezorcin-2-metil-rezorcin> (15.05.2023)
8. 5-метилрезорцин. [Online] <https://acetyl.ru/o/z61b1i2b3b3i4b5b5r16ba1.php> (15.05.2023)
9. Фенолокислоты. [Online] <https://pandia.ru/text/86/002/71151.php> (15.05.2023)
10. Methods for Extraction and Determination of Phenolic Acids in Medicinal Plants: A Review. [Online] https://www.researchgate.net/publication/260369736_Methods_for_Extraction_and_Determination_of_Phenolic_Acids_in_Medicinal_Plants_A_Review (15.05.2023)
11. Оксibenзойные кислоты (фенолокислоты). [Online] https://revolution.allbest.ru/chemistry/00368508_0.html (15.05.2023)
12. 2,4-Dihydroxy-3-methylbenzoic acid. [Online] <https://www.sigmaaldrich.com/EE/en/product/aldrich/s947814> (15.05.2023)
13. 2,4-Dihydroxy-3-methylbenzoic acid. [Online] https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2_4-Dihydroxy-3-methylbenzoic-acid (15.05.2023)
14. D494963. [Online] <https://www.trc-canada.com/product-detail/?D494963> (15.05.2023)

15. 2,4-Dihydroxy-6-methylbenzoic acid. [Online] [2,4-DIHYDROXY-6-METHYLBENZOIC ACID | 480-64-8 \(chemicalbook.com\)](https://chemicalbook.com/ChemicalProductProperty.aspx?cid=480648) (15.05.2023)
16. 2,4-Dihydroxy-6-methylbenzoic acid. [Online] https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2_4-Dihydroxy-6-methylbenzoic-acid (15.05.2023)
17. Карбоксилирование. [Online] <https://dic.academic.ru/dic.nsf/medic2/19865> (15.05.2023)
18. Raj B. Durairaj. Resorcinol: Chemistry, Technology and Applications. Pittsburgh: Indspec Chemicals Corporation, 2005.
19. Ф. М. Канапиева и др. Синтезы на основе оксидов углерода. XXXV. Карбоксилирование резорцина и м- крезола натриевой солью этилугольной кислоты. Вестник КазНУ. Серия химическая № 4(72). 2013.
20. Conversion of carbon dioxide to resorcylic acid under ultrasonication by Kolbe-Schmitt reaction. [Online] <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1350417715001480> (15.05.2023)
21. The chemistry of resorcinol carboxylation and its possible application to the CO₂ removal from exhaust gases. [Online] <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2212982015000281> (15.05.2023)
22. Adsorbent-Based Downstream-Processing of the Decarboxylase-Based Synthesis of 2,6-Dihydroxy-4-methylbenzoic Acid. [Online] <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.oprd.8b00104> (15.05.2023)
23. Определение фенолов в сточных и природных водах различными методами. [Online] <https://vistaros.ru/stati/analizatory/metodiki-opredeleniya-fenolov-v-stochnoj-vode.html> (15.05.2023)
24. Сущность хроматографии [Online] <https://studfile.net/preview/6179792/page:2/> (15.05.2023)
- 25 Газо-жидкостная хроматография. [Online] <https://photobioschool.ru/ru/methods-ru/gas-liquid-chromatography-ru/> (15.05.2023)
26. Газовая хроматография: суть метода. [Online] <https://www.alto-lab.ru/zanimatelnyaya-himija/gazovaya-hromatografiya/> (15.05.2023)
27. Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ или HPLC). [Online] https://www.biotechnologies.ru/catalog/_vysokoeffektivnaya_zhidkostnaya_hromatografiya_HPLC.html (15.05.2023)

28. High Performance Liquid Chromatography (HPLC): Principle, Types, Instrumentation and Applications. [Online] <https://laboratoryinfo.com/hplc/> (15.05.2023)
29. Тонкослойная хроматография. [Online] <https://xumuk.ru/encyklopedia/2/4518.html> (15.05.2023)
30. Analysis of Intermediates of Steroid Transformations in Resting Cells by Thin-Layer Chromatography (TLC). [Online] https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-4939-7183-1_24/figures/1 (15.05.2023)
31. Что такое спектрофотометр. [Online] https://pe-lab.ru/blog/chto_takoe_spektrofotometr/ (15.05.2023)
32. Аналитическая химия II. Физические и физикохимические методы анализа. Лекция 3. Электрохимические методы анализа. [Online] <https://thepresentation.ru/himiya/elektrohimicheskie-metody-analiza-lektsiya-3> (15.05.2023)
33. Метод определения фенолов в воде. [Online] <https://nortest.pro/stati/voda/metody-opredeleniya-fenolov-v-vode.html> (15.05.2023)
34. Люминесцентный анализ. [Online] [Люминесцентный анализ Люминесценция В определенных условиях часть \(present5.com\)](https://present5.com/люминесцентный-анализ-люминесценция-в-определенных-условиях-часть-1/) (15.05.2023)
35. Теоретические основы тонкослойной хроматографии. [Online] https://law.sci.house/toksikologiya_1126/teoreticheskie-osnovyi-tonkosloynoy-122311.html (15.05.2023)
36. Планарная (тонкослойная) хроматография. [Online] <https://www.chem.msu.su/rus/teaching/analyt/chrom/part2.pdf> (15.05.2023)
37. Хроматографические методы анализов. [Online] https://portal.tpu.ru/SHARED/o/OAA/academic/Tab2/Chromatography_posobie.pdf (15.05.2023)
38. What is the Rf value in HPTLC? [Online] <https://anchrom.in/blogs/what-is-rf-value-in-hptlc/> (15.05.2023)
39. Отечественное оборудование для количественной тонкослойной хроматографии. [Online] <http://www.chem.msu.su/rus/jvho/2003-1/136.pdf> (15.05.2023)
40. Модифицирование силикатных поверхностей путём силилирования их кремнийорганическими соединениями. [Online] <http://www.chem.vsu.ru/sorbcr/images/pdf/2009/5/20090506.pdf> (15.05.2023)

41. Сорбент оксид алюминия. [Online] <http://www.okabiolab.ru/catalogue/materials/hromatografiya-zhidkostnaya-preparativnaya-sorbenty-i-kolonki/sorbent-oksid-alyuminiya-60-diametr-por-6-nm-aktivnost-i-rn-9-osnovnoj-razmer-chastits-0-063-0-200-mkm-1-kg-mersk-millipore/> (15.05.2023)
42. Тонкослойная хроматография. [Online] <https://www.vitus.by/upload/iblock/8c9/8c981ef9de430fb2b9e40ccb7b687be2.pdf> (15.05.2023)
43. Тонкослойная хроматография остаточных концентраций пестицидов в пищевых продуктах. [online] <https://pandia.ru/text/81/294/3861-2.php> (15.05.2023)
44. Аналитическая химия. [Online] <http://chemistry.univer.kharkov.ua/files/Lecture18.pdf> (15.05.2023)
45. Тонкослойная хроматография. [Online] <https://studfile.net/preview/10807214/page:24/> (15.05.2023)
46. Just TLC. [Online] <http://www.sweday.com/Products.aspx> (15.05.2023)
47. Общие сведения о хроматографии. [Online] <https://helpiks.org/3-3109.html> (15.05.2023)
48. Sorbfilil TLC Videodensitometer 2.3. [Online] https://sorbfilil-tlc-videodensitometer.software.informer.com/#google_vignette (15.05.2023)
49. Уксусная кислота. [Online] <https://www.iodine.ru/catalog/organika/kisloty-i-soli/835/> (15.05.2023)

LISAD

JUST TLC TUTORIAL

JustTLC is packed with advanced features that make it a simple task to display, analyze and draw reliable conclusions based on TLC plates.

In this tutorial we will guide you through TLC plate analysis by using the two different available analysis modes, Lane Analysis and Spot Analysis. For each analysis mode we start by first creating a new project, then analyzing the plates and finally comparing the obtained data. Lane Analysis is presented first and then follows Spot Analysis.

Before You Start

In order to analyze your TLC plates, you need to have them as digital images, in e.g. jpg or tif format. The images can be obtained by using an ordinary desktop scanner, digital camera or advanced dedicated TLC scanner.

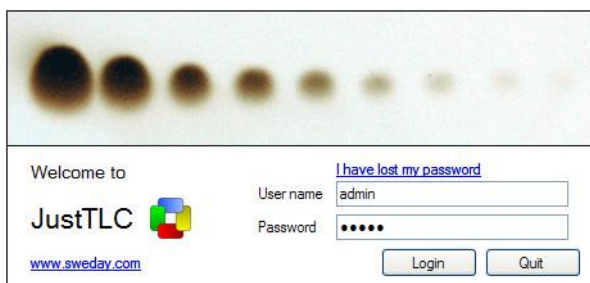
If you do not have any digital images yet, you can download sample images from our website. This tutorial is based on the images "Tutorial - Lanes" and "Internal Standard", which you can download below.

 [Tutorial - Lanes](#)

 [Internal Standard](#)

If you haven't already installed JustTLC, you can download an evaluation version [here](#).

Start JustTLC by double clicking the icon on your desktop or in your program menu. When the program starts it will ask you to login. This will ensure that your data is secure and inaccessible for unauthorized users.



If you are evaluating JustTLC both the user name and password is "admin".

Lane Analysis

- [Step 1 - Creating a Project](#)
- [Step 2 - Analyzing Plates](#)
- [Step 3 - Defining Rf Lines](#)
- [Step 4 - Comparing Data](#)
- [Step 5 - Export](#)

Spot Analysis

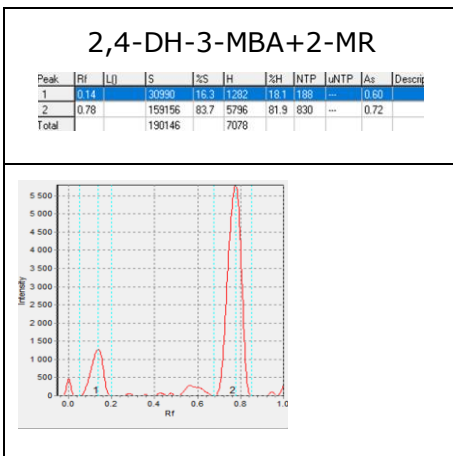
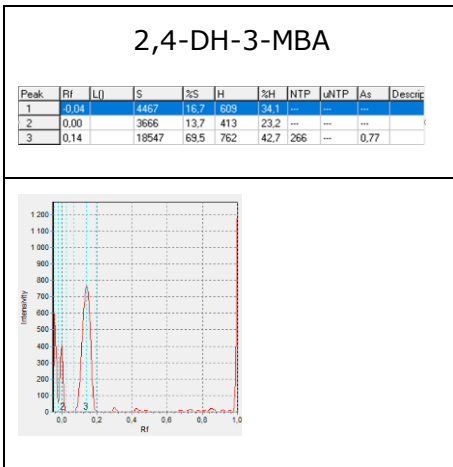
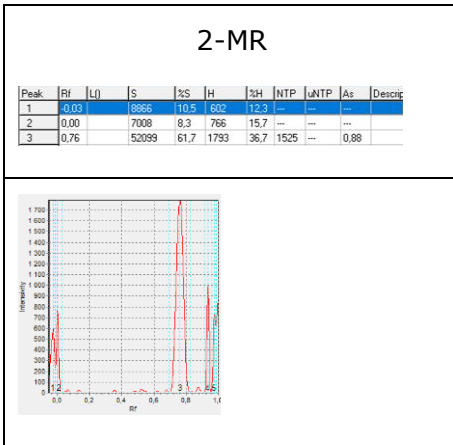
- [Step 1 - Creating a Project](#)
- [Step 2 - Analyzing Plates](#)
- [Step 3 - Defining Spot Series](#)
- [Step 4 - Comparing Data](#)
- [Step 5 - Export](#)

<http://www.sweday.com/JustTLCTutorial.aspx>

Lisa 2 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA R_f sõltuvus eluendi koostisest

Eluent (mahuosad)	pH	R_f		ΔR_f
		2-MR	2,4-dihüdoksü-3- metüülbensoehape	
Butüülatsetaat:heksaan (50/50)	6	0,82	0,68	0,14
	6	0,92	0,89	0,03
	7(amoniaak 1 tilk)	0,26	0,02	0,20
Etüülatsetaat:heksaan (50/50)	6	0,95	0,82	0,13
	6	0,95	0,79	0,16
	6	0,82	0,65	0,17
Tolueen:atsetonitril:äädikhape (50/50/1)	3-4	0,88	0,91	0,03
Tolueen:atsetonitril (70/30)	6	0,68	0,49	0,19
	6	0,66	0,29	0,37
	6	0,47	0,36	0,11
Kloroform:sipelghape:heksaan (69/23/8)	2	0,81	0,69	0,12
	2	0,82	0,86	0,04
Tolueen:atsetonitril (50/50)	6	0,83	0,70	0,13
	7(amoniaak 1 tilk)	0,77	0,00	-
	5(äädikhape 1 tilk)	0,87	0,87	0,00
Kloroform:atsetoon:äädikhape (10/2/1)	5	0,96	0,98	0,02
Kloroform:äädikhape (5/1)	5	0,73	0,87	0,14
	5	0,87	0,95	0,07
	5	0,82	0,94	0,12
Benseen:äädikhape (5/1)	5	0,53	0,63	0,10

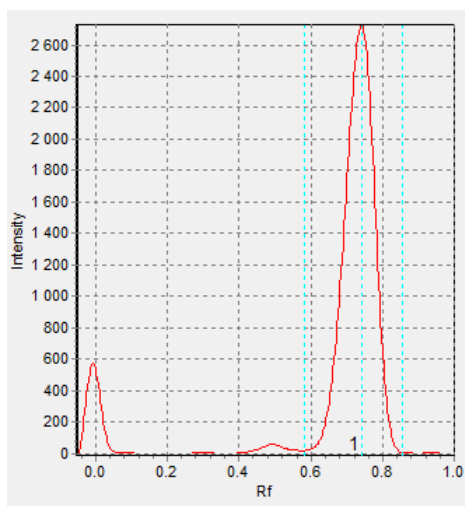
Lisa 3 Eraldatud 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA R_f väärtus



Lisa 4 Rf väärtused 2-MR kalibreerimiseks

0,5% mass.

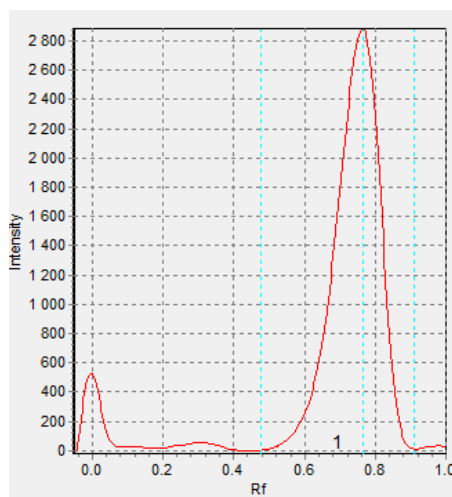
Peak	Rf	L()	S	%S	H	%H	NTP	uNTP	As	Descrip
1	0.74		97194	100.0	2729	100.0	493	---	0.74	
Total			97194		2729					



0,75% mass.

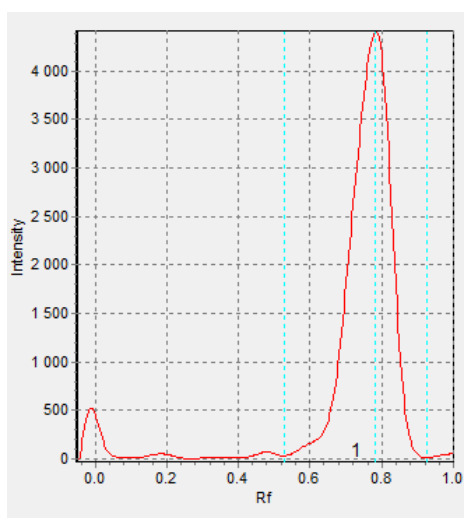
Track # 2

Peak	Rf	L()	S	%S	H	%H	NTP	uNTP	As	Descrip
1	0.76		117185	100.0	2884	100.0	224	---	0.59	
Total			117185		2884					



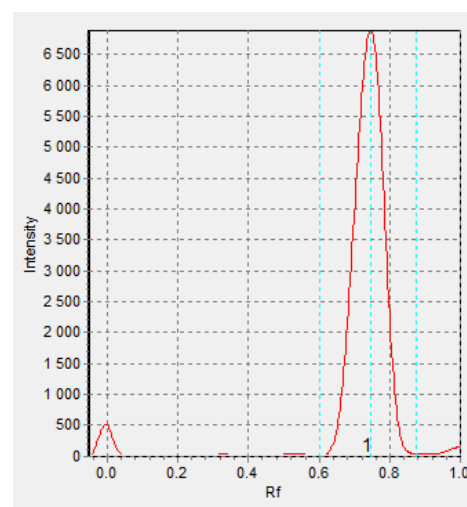
1,0% mass.

Peak	Rf	L()	S	%S	H	%H	NTP	uNTP	As	Descrip
1	0.78		174165	100.0	4417	100.0	278	---	0.63	
Total			174165		4417					



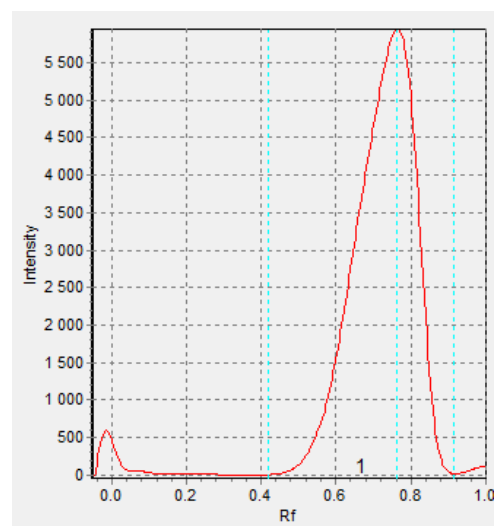
1,5% mass.

Peak	Rf	L()	S	%S	H	%H	NTP	uNTP	As	Descrip
1	0.75		255754	100.0	6890	100.0	449	---	0.79	
Total			255754		6890					

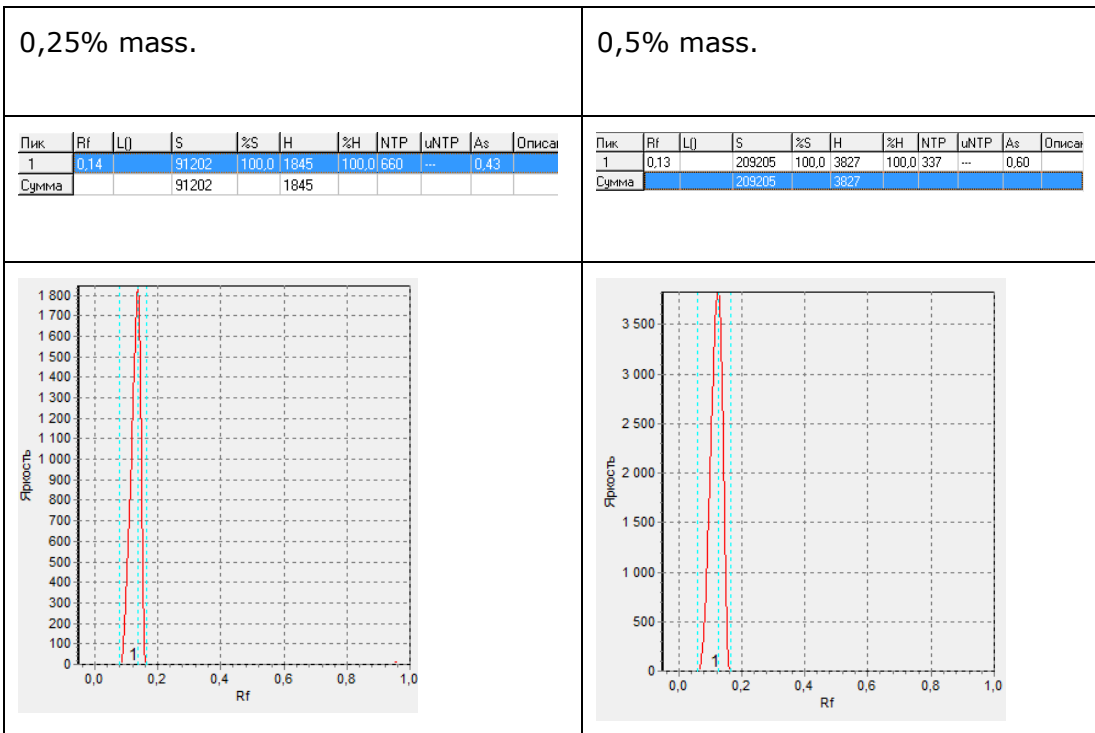
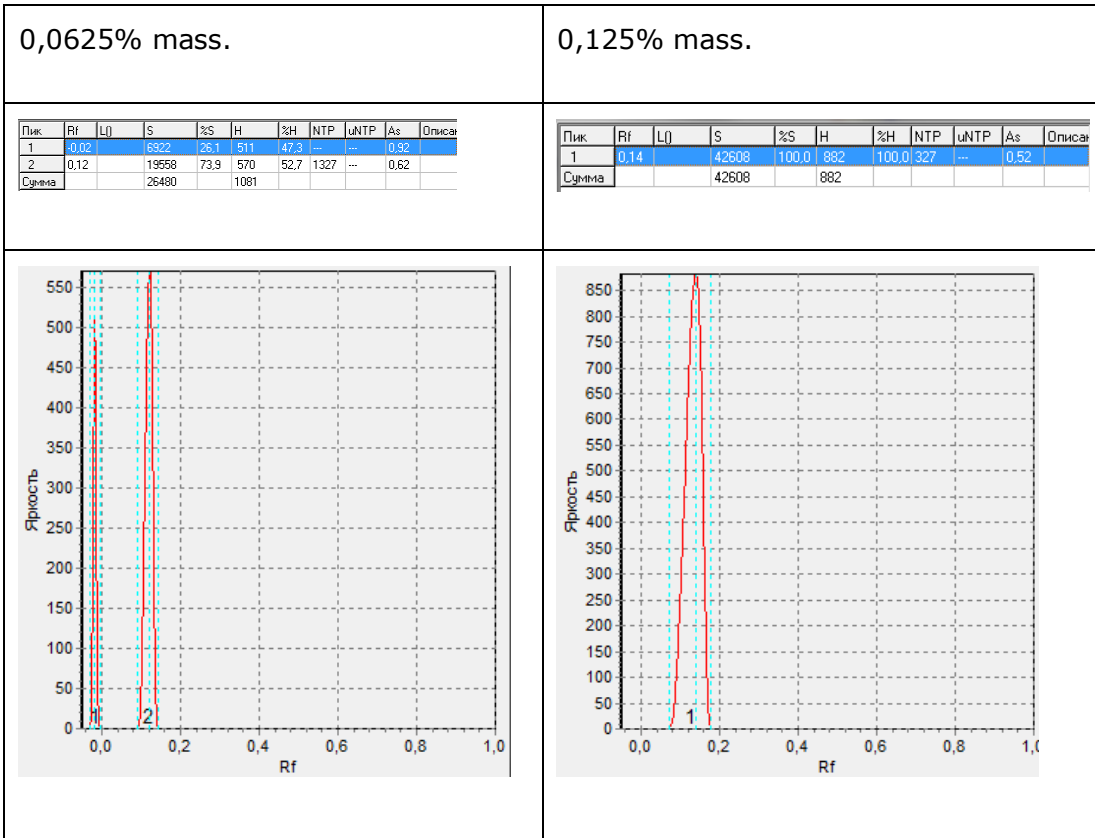


1,5% mass.

Пик	Rf	LI	S	%S	H	%H	NTP	uNTP	As	Описание
1	0,02	6922	26,1	511	47,3	---	---	---	0,92	
2	0,12	19568	73,9	570	52,7	1327	---	---	0,62	
Сумма			26480		1081					



Lisa 5 Rf väärtused 2,4-DH-3-MBA kalibreerimiseks



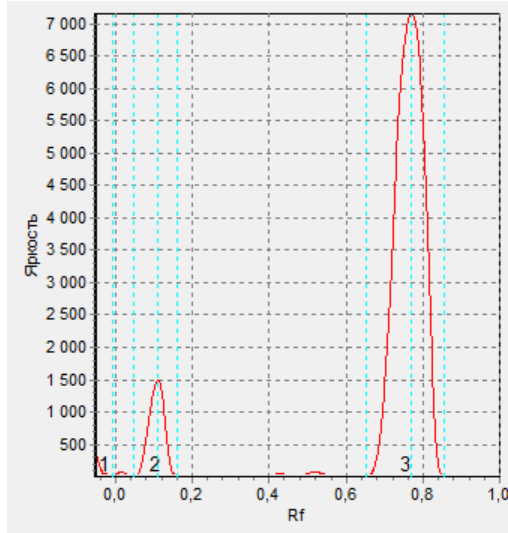
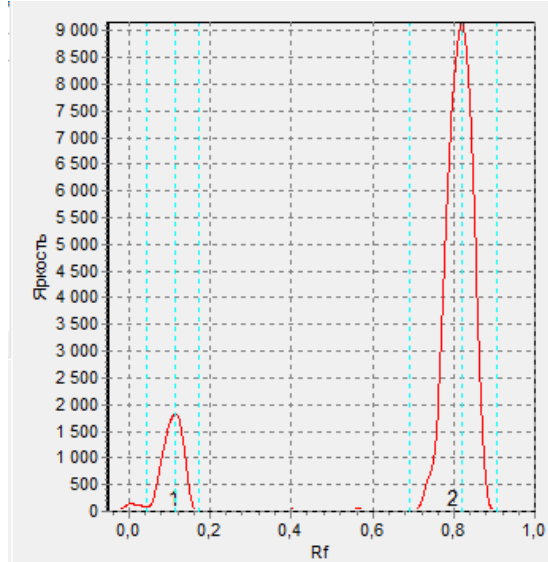
Lisa 6 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA segude kromatograafia tulemused

2MR+2,4-DH-3-MBA

Трек № 1

Пик	Rf	L()	S	%S	H	%H	NTP	uNTP	As	Описание
1	0,12		90349	13,3	1822	16,6	170	---	0,67	
2	0,82		587298	86,7	9158	83,4	733	---	0,77	
Сумма			677647		10980					

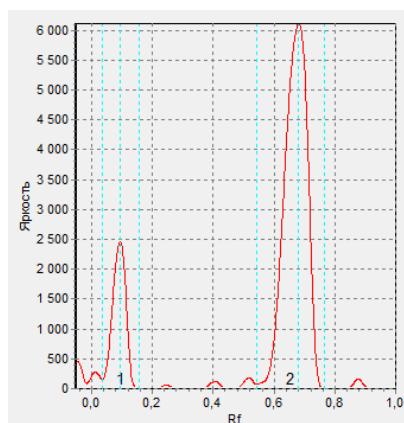
Пик	Rf	L()	S	%S	H	%H	NTP	uNTP	As	Описание
1	0,05		2380	0,5	356	4,0	---	---	---	
2	0,11		57645	9,7	1486	16,5	260	---	0,72	
3	0,77		533494	89,8	7158	79,5	500	---	0,74	
Сумма			594119		9000					



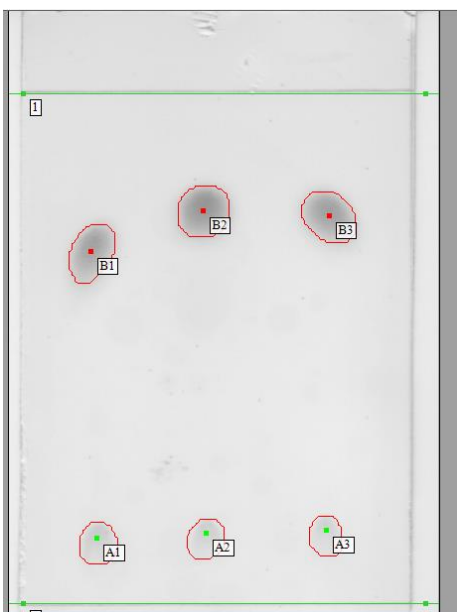
2MR+2,4-DH-3-MBA

Трек № 1

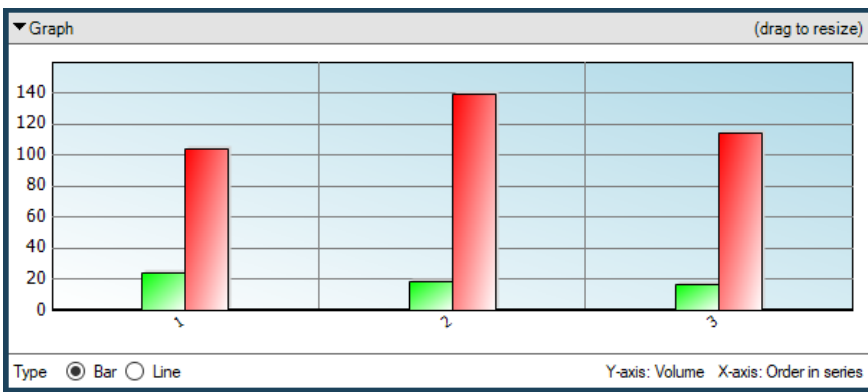
Пик	Rf	L()	S	%S	H	%H	NTP	uNTP	As	Описание
1	0,09		108115	19,0	2454	28,7	199	---	0,71	
2	0,68		460940	81,0	6110	71,3	485	---	0,63	
Сумма			569055		8564					



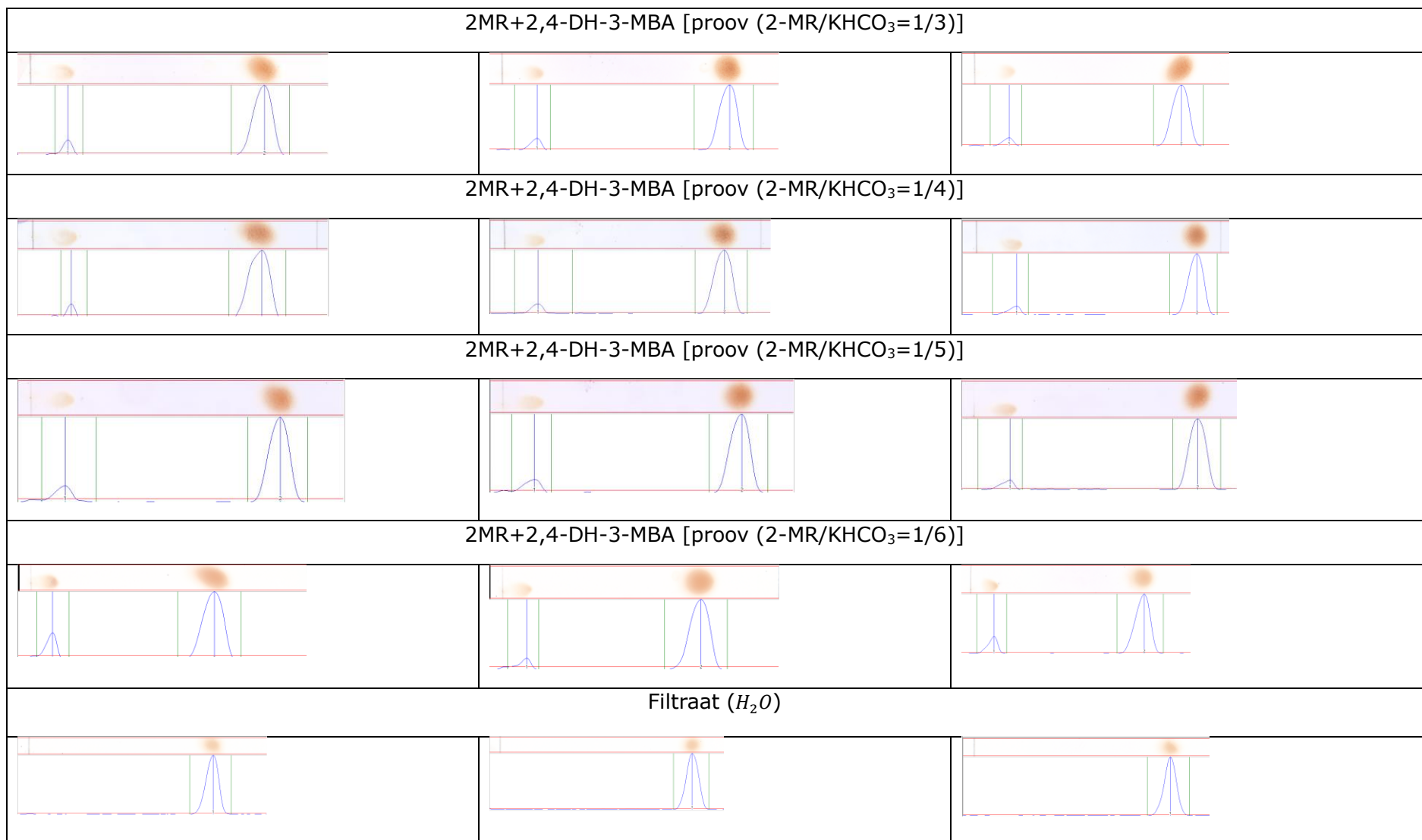
Lisa 7 2-MR ja 2,4-DH-3-MBA segude kromatograafia tulemused



Spots # 6 of 6		
Order ID	A	B
1	23,66	103,83
2	18,28	139,12
3	16,15	113,92

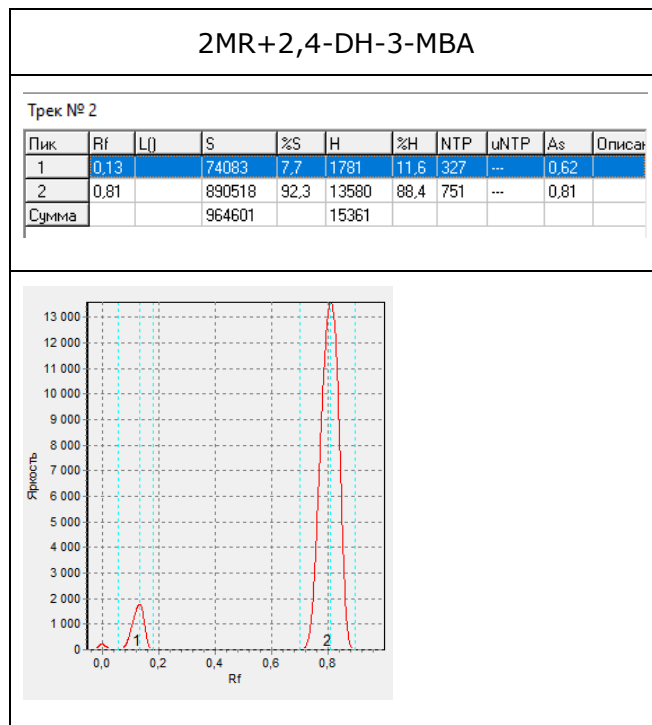
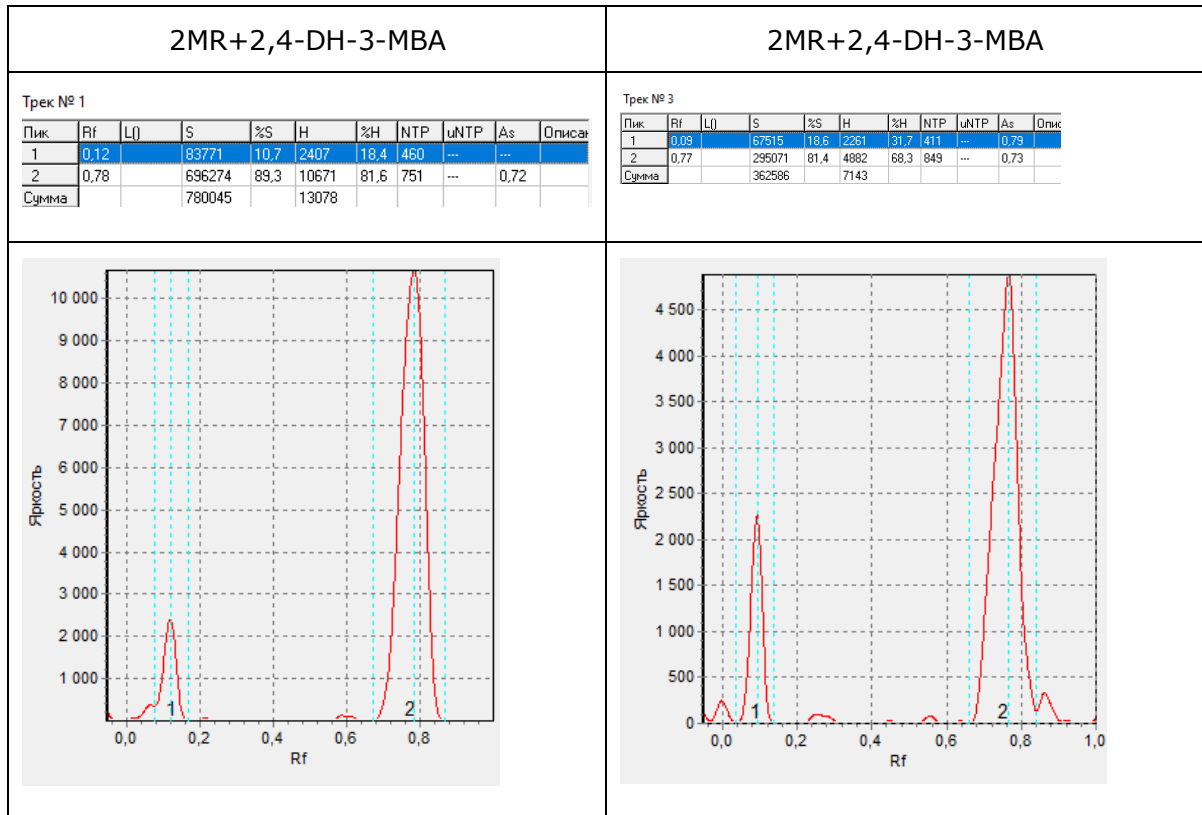


Lisa 8 Karboksüülimisproduktide analüüsi tulemused TLC abil

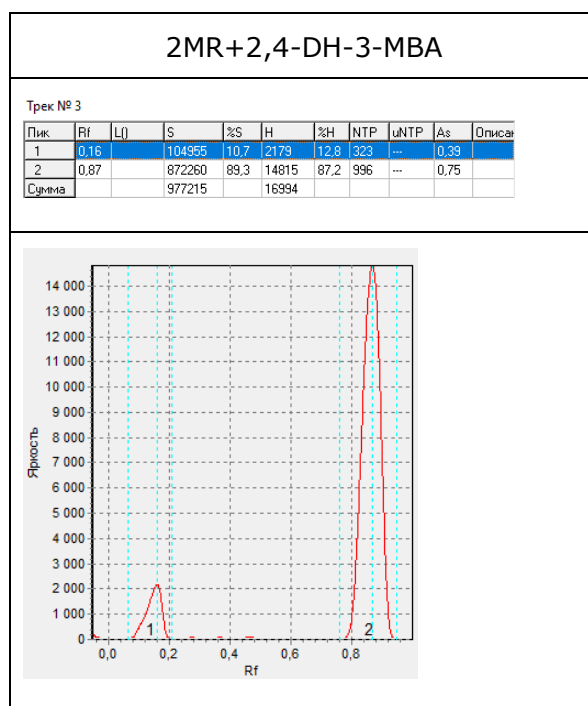
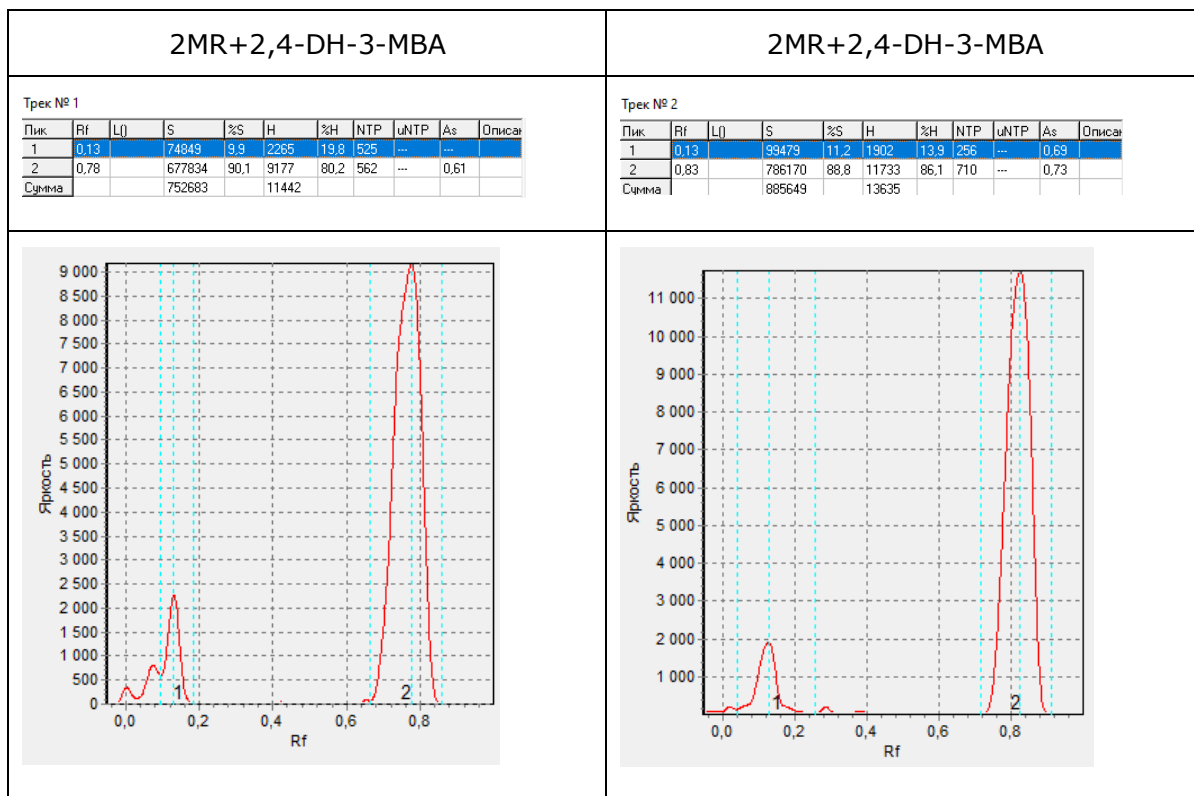


Lisa 9 Karboksüülimisproduktide analüüsi tulemused

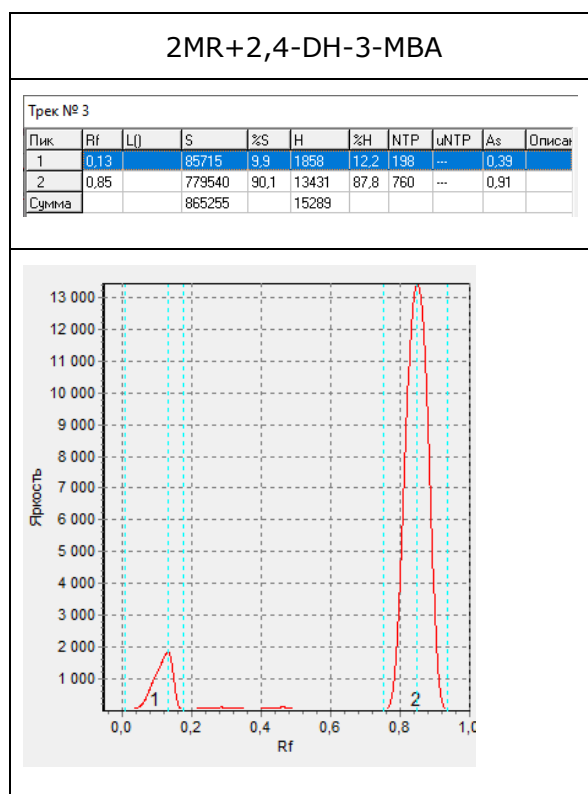
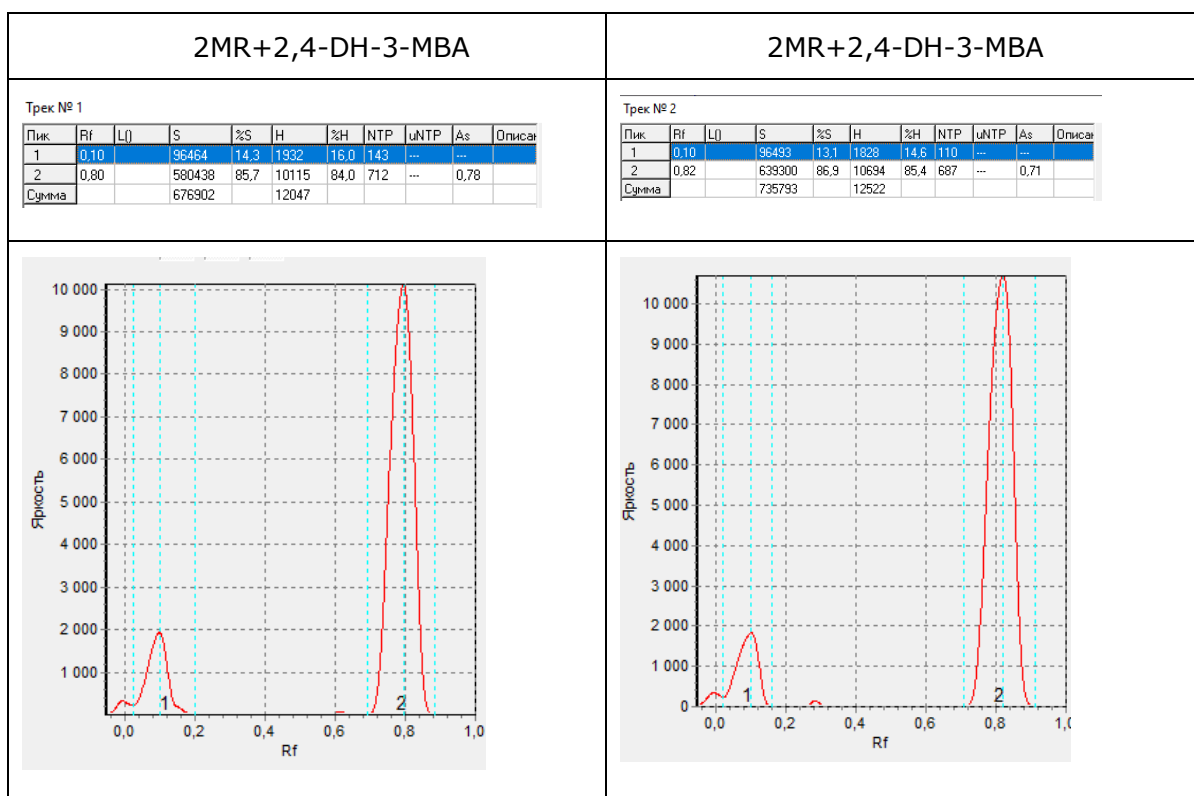
1. 2MR+2,4-DH-3-MBA [proov (2-MR/KHCO₃=1/3)] eeterlikust ekstraktist



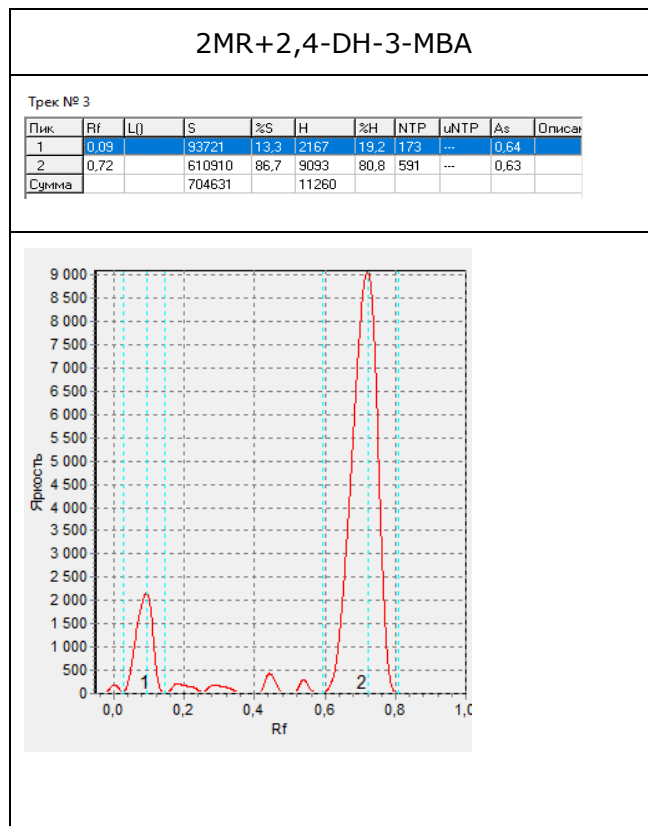
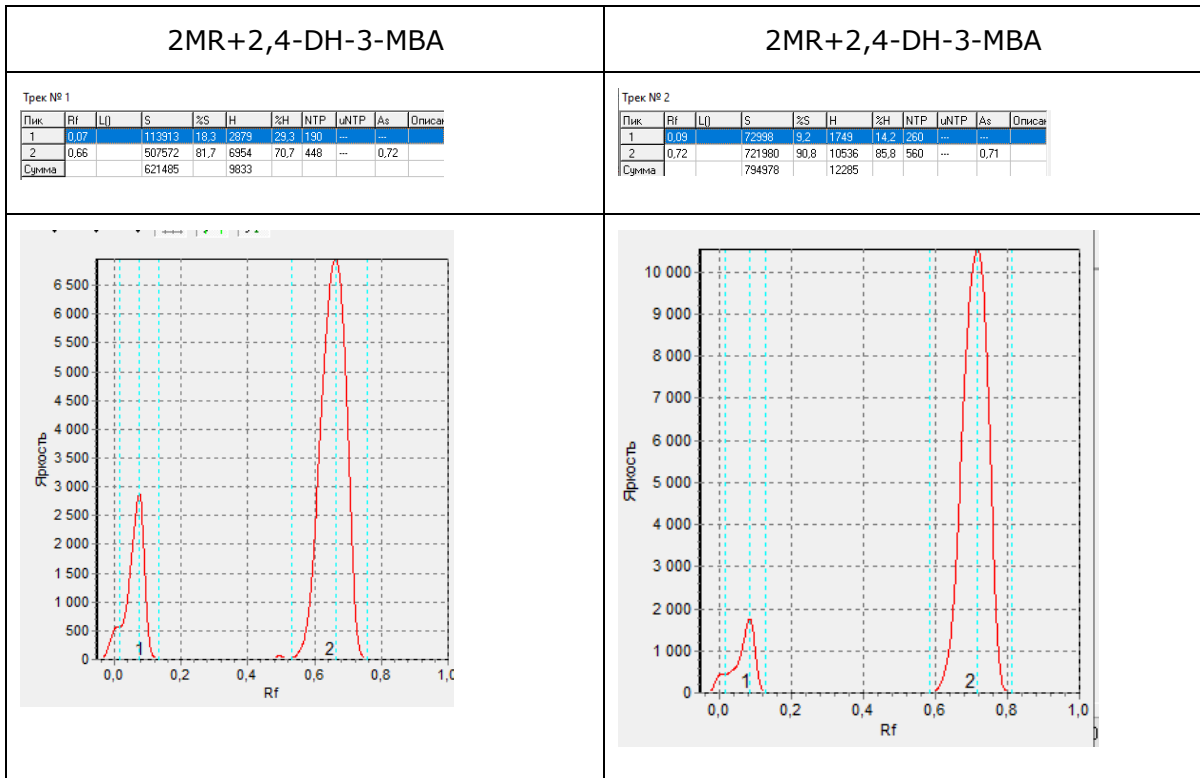
2. 2MR+2,4-DH-3-MBA [proov (2-MR/KHCO₃=1/4)] eeterlikust ekstraktist



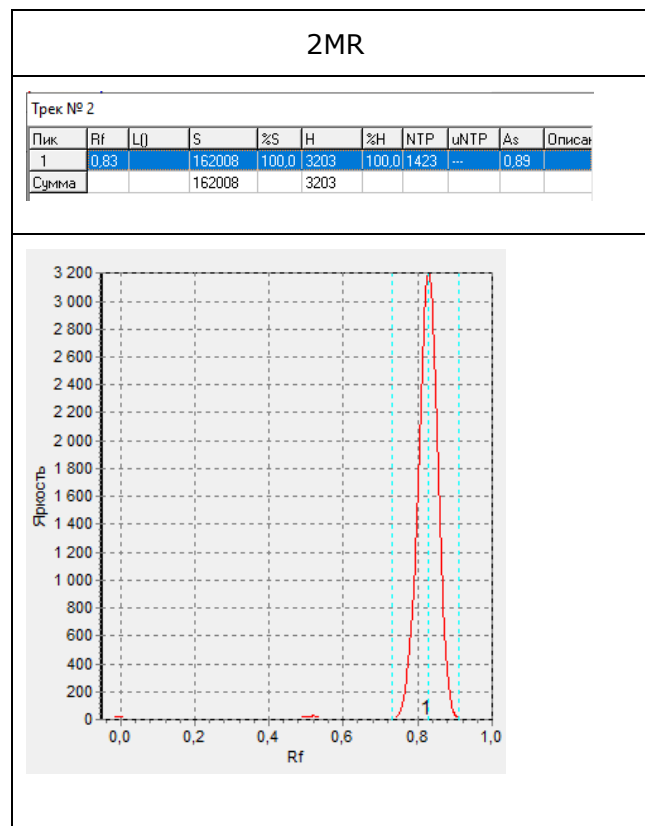
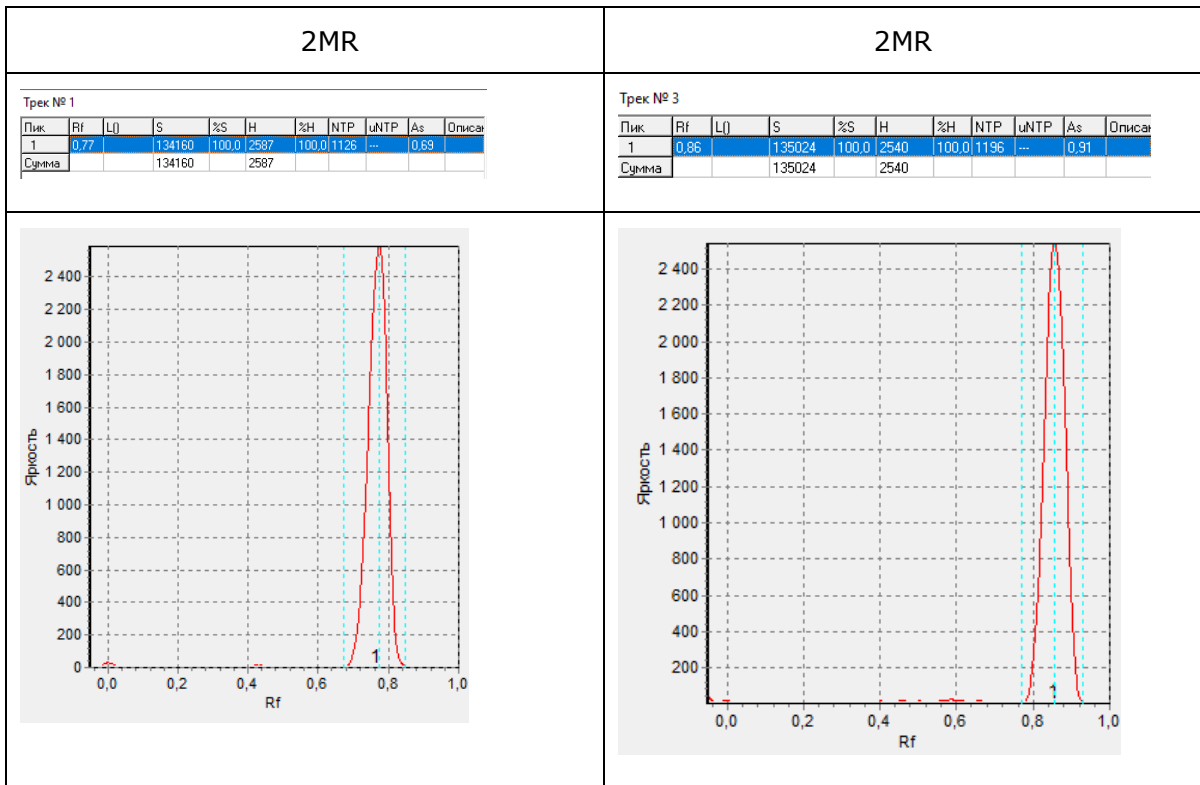
3. 2MR+2,4-DH-3-MBA [проов (2-MR/KHCO₃=1/5)] eeterlikust ekstraktist



4. 2MR+2,4-DH-3-MBA [проов (2-MR/KHCO₃=1/6)] eeterlikust ekstraktist

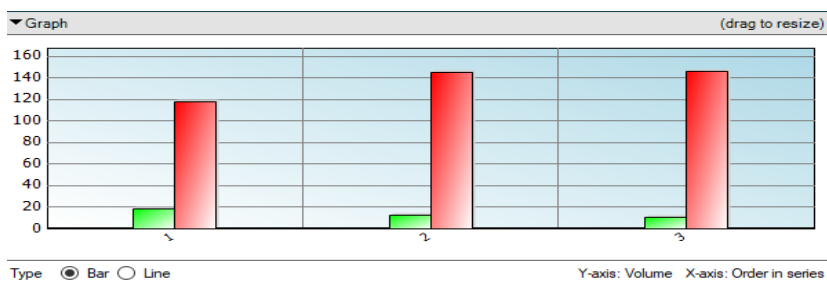
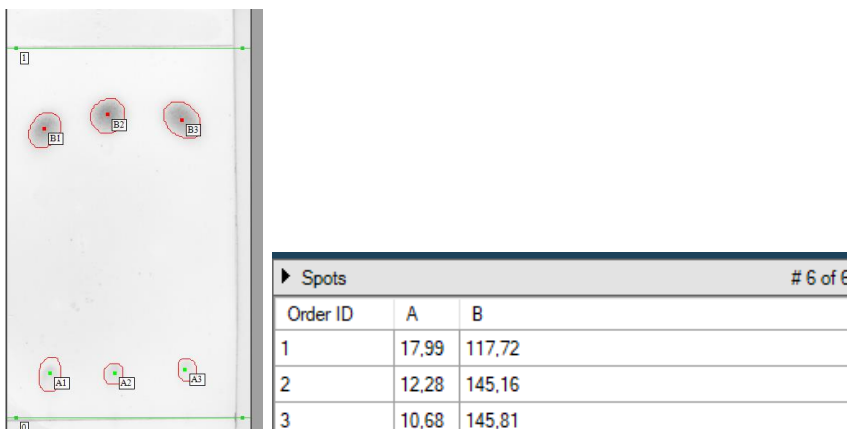


5. Filtraat (H_2O)

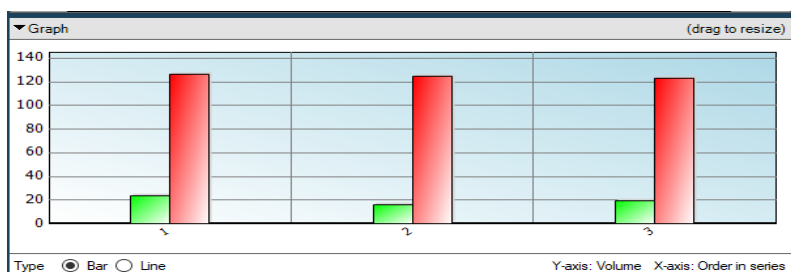
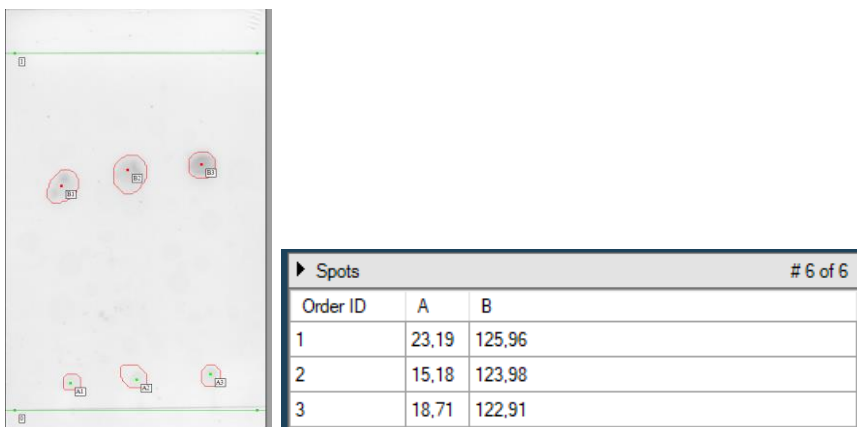


Lisa 10 Karboksüülimisproduktide analüüsi tulemused

1. 2MR+2,4-DH-3-MBA [proov (2-MR/KHCO₃=1/3)] eeterlikust ekstraktist



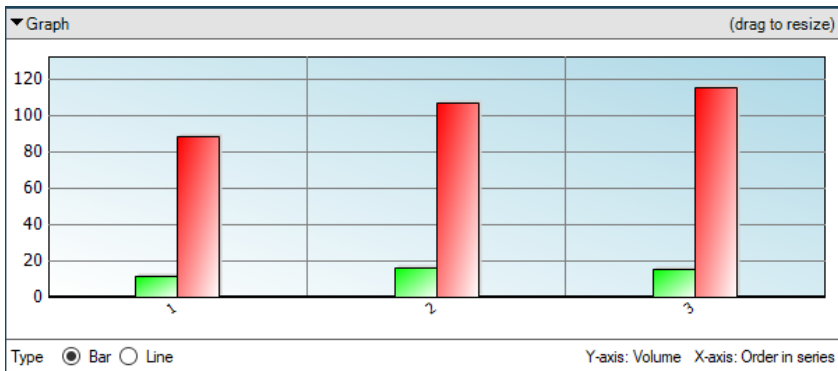
2. 2MR+2,4-DH-3-MBA [proov (2-MR/KHCO₃=1/4)] eeterlikust ekstraktist



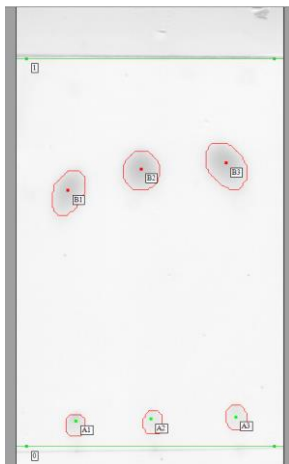
3. 2MR+2,4-DH-3-MBA [proov (2-MR/KHCO₃=1/5)] eeterlikust ekstraktist



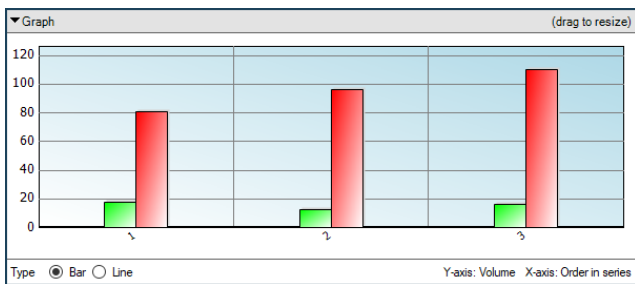
Spots # 6 of 6		
Order ID	A	B
1	11,06	88,07
2	15,64	106,5
3	15,32	115,13



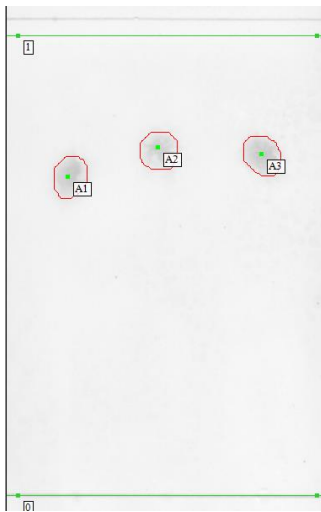
4. 2MR+2,4-DH-3-MBA [proov (2-MR/KHCO₃=1/6)] eeterlikust ekstraktist



Spots # 6 of 6		
Order ID	A	B
1	17,28	80,54
2	12,31	95,9
3	15,6	109,79



5. Filtraat (H_2O)



Spots		# 3 of 3
Order ID	A	
1	31,77	
2	34,63	
3	31,01	

