

SEPARÁCIA ENANTIOMÉROV PLYNOVOU CHROMATOGRAFIOU NA CYKLODEXTRÍNOVÝCH STACIONÁRNÝCH FÁZACH

IVAN ŠPÁNIK a JÁN KRUPČÍK

Katedra analytickej chémie, Chemickotechnologická fakulta, Slovenská technická univerzita, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika, e-mail: spanik@cvt.stuba.sk

Došlo dňa 21.I.2000

Kľúčové slová: α -, β -, γ -cyklodextríny, plynová chromatografia, separácia enantiomérov, stacionárne fázy

Obsah

1. Úvod
2. Zloženie zmesnej stacionárnej fázy
 - 2.1. Obsah modifikovaného cyklodextrínu v zmesných fázach
 - 2.2. Typ cyklodextrínu
 - 2.3. Polarita polysiloxánového rozpúšťadla
 - 2.4. Typ a poloha substituentov v cyklodextrínových derivátoch
 - 2.4.1. Charakter substituenta v polohe 3
 - 2.4.2. Charakter substituenta v polohe 6
 - 2.4.3. Charakter substituenta v polohe 2
3. Pracovné podmienky a štruktúra analytu
 - 3.1. Charakteristiky kolóny a mobilnej fázy
 - 3.2. Pracovné podmienky
 - 3.3. Štruktúra analytu
4. Záver

1. Úvod

Kapilárna plynová chromatografia (CGC) patrí medzi najvýznamnejšie metódy analýzy opticky aktívnych organických látok. K výhodám tejto metódy patrí značná separačná účinnosť, rozlišovacia schopnosť, reprodukovateľnosť údajov a práca s malými množstvami vzoriek.

Pri priamej separácii enantiomérov metódou CGC sa dosiahol značný pokrok najmä po zavedení modifikovaných cyklodextrínov ako stacionárnych fáz¹⁻⁴. Cyklodextríny sú cyklické glukózové oligoméry so 6, 7 alebo 8 glukózovými jednotkami, ktoré sa vyrábajú enzymatickým štiepením škrobu cyklodextrín-glukanoyl transferázou, alebo synteticky². Natívne cyklodextríny ako stacionárne fázy v plynovej chromatografii vykazujú nízke separačné účinnosti bez ohľadu na to, či sa používajú ako tuhé fázy v chromatografii plyn–tuhá fáza, alebo ako roztoky v chromatografii plyn–kvapalina². Separačné účinnosti kolón sa podstatne zvýšia, ak sa ako stacionárne fázy použijú deriváty cyklodextrínov (modifikované cyklodextríny)¹⁻⁴. Na obr. 1 je schéma glukopyranózovej stavebnej jednotky s označením uhlíkových atómov a substi-

tuentov, ktorých charakter rozhoduje o vlastnostiach modifikovaných cyklodextrínov.

V súčasnosti sa na separáciu rôznych typov organických enantiomérov využívajú najmä kremenné kapilárne kolóny zmočené s rôzne modifikovanými α -, β - a γ -cyklodextrínovými stacionárnymi fázami¹⁻⁴. Enantioselektivita cyklodextrínových fáz je na rozdiel od iných opticky aktívnych stacionárnych fáz univerzálna a vhodná na separáciu rozmanitých typov organických opticky aktívnych zlúčenín¹⁻⁴.

Na prípravu kolón s cyklodextrínovými stacionárnymi fázami možno využiť čistý derivát cyklodextrínu, alebo jeho roztok vo vhodnom rozpúšťadle. Medzi najčastejšie používané rozpúšťadlá pre modifikované cyklodextríny patria polymérne siloxány, napríklad OV-1701 (cit.²). Kolóny pripravené s takýmito zmesnými fázami vykazujú veľmi dobré separačné vlastnosti, ich enantioselektivita je však v dôsledku zriedenia chirálnej časti stacionárnej fázy nižšia ako enantioselektivita kolón s čistou opticky aktívnou fázou.

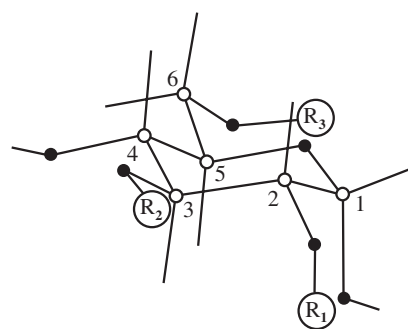
Enantiométna selektivita zmesnej stacionárnej fázy závisí od typu cyklodextrínu, povahy substituentov a ich polohy v molekule cyklodextrínu a pri zmesných fázach aj od obsahu cyklodextrínového derivátu a polaritu polysiloxánu.

V predchádzajúcej práci sme zhrnuli základné poznatky o využití cyklodextrínov ako stacionárnych fáz na separáciu enantiomérov organických opticky aktívnych zlúčenín kapilárnou plynovou chromatografiou¹. V tejto práci sa hodnotia základné parametre, ktoré ovplyvňujú plynovo-chromatografickú separáciu enantiomérov opticky aktívnych zlúčenín v kapilárnych kolónach zmočených roztokmi modifikovaných cyklodextrínov rozpustených v nechirálnom polysiloxáne.

2. Zloženie zmesnej stacionárnej fázy

2.1. Obsah modifikovaného cyklodextrínu v zmesných fázach

Vlastnosti chirálnej stacionárnej fázy závisia od viacerých faktorov. Medzi základné patrí typ cyklodextrínového derivá-



Obr. 1. Schéma glukopyranózovej stavebnej jednotky cyklodextrínov. Glukopyranózy v molekulách cyklodextrínu sú spojené cez atómy kyslíka viazané na 1 a 4 uhlíkovom atóme; ● – atómy kyslíka, ○ – atómy uhlíka, R₁, R₂ a R₃ – substituenty. Vodíkové atómy nie sú označené

tu a jeho obsah v polysiloxánovom rozpúšťadle. So vzrastajúcim obsahom chirálneho selektora v stacionárnej fáze vzrastá enantioselektivita kolóny. Pre kolóny so zmesnými fázami v ktorých sa ako chirálny selektor používa tuhý (kryštalický) cyklodextrín sa však zistilo, že enantioselektivita takýchto zmesných fáz vzrastá s obsahom cyklodextrínového derivátu v polysiloxáne len po určitú hranicu⁵⁻⁸. Táto hraničná koncentrácia sa pohybuje od 15 % do 50 % v závislosti od typu polysiloxánu a cyklodextrínového derivátu^{5,9}. Na obr. 2 je uvedená závislosť selektívneho faktora (α) od obsahu oktakis(2,6-di-*O*-pentyl-3-*O*-butyryl)- γ -CD (%w) v polysiloxáne OV-1701 nameraná pre enantioméry gáfru pri 80 °C. Navyše sa zistilo, že s rastúcim obsahom kryštalického cyklodextrínového derivátu v zmesných fázach klesá účinnosť kapilárnych kolón. Ak obsah cyklodextrínového derivátu vzrastie nad určitú hodnotu, kolóna stráca tak separačnú účinnosť ako aj enantioselektivitu. Takáto stacionárna fáza sa stáva nehomogénnou a cyklodextrínový derivát sa zo zmesnej fázy vylučuje⁸. Tak napríklad enantioméry pinénu sa separovali na stacionárnej fáze s obsahom 10 % permetyl- β -CD. Na stacionárnej fáze s obsahom 30 % permetyl- β -CD sa tieto enantioméry už nepodarilo rozlíšiť¹⁰. S rastúcim obsahom cyklodextrínu v zmesnej fáze vzrastá aj čas potrebný na separáciu. Obsah kryštalického cyklodextrínového derivátu determinuje navyše aj minimálnu teplotu, pri ktorej ešte stacionárna fáza poskytuje symetrické píky. S rastúcim obsahom cyklodextrínu, vzrastá aj táto minimálna teplota. Tak napríklad enantioméry niektorých diolov sa separujú iba na zmesných stacionárnych fázach, nie však v kolónach s čistým tuhým cyklodextrínovým derivátom¹¹. Vzťah medzi obsahom kryštalického cyklodextrínu a enantioselektivitou zmesnej stacionárnej fázy sa sledoval pri rôznych teplotách. Vant' Hoffove závislosti ($\ln \alpha$ od $1/T$) pre jednotlivé kolóny boli priamkové s rôznymi smernicami, ktoré sa pretínali pri určitej teplote. Nad touto teplotou sa enantioméry separovali v kolónach s vyšším obsahom cyklodextrínového derivátu a pod touto teplotou sa separácia enantiomérov dosiahla v kolónach s nižším obsahom cyklodextrínového derivátu¹². Bicchi so spol. študoval vplyv obsahu heptakis(2,6-di-*O*-acetyl-6-*O*-*terc*-butyl-dimetylsilyl)- β -cyclodextrínu v OV-1701 na elučné poradie enantiomérov mentolu a izomentolu. Z kolóny, ktorá obsahovala 50 % cyklodextrínového derivátu eluovali enantioméry v obrátenom elučnom poradí, ako z kolóny v ktorej bol 10%-ný obsah cyklodextrínového derivátu. Z kolóny s 30 % obsahom cyklodextrínového derivátu eluovali študované enantioméry nerozlíšené¹³.

2.2. Typ cyklodextrínu

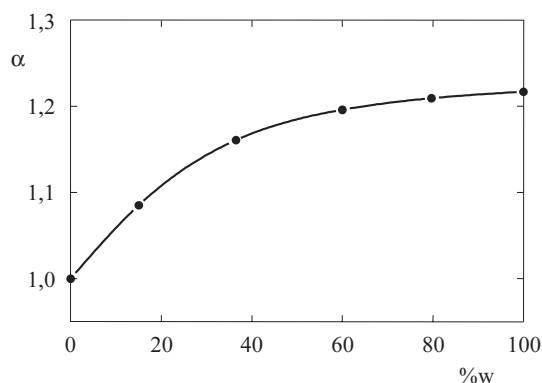
V súčasnosti sa nedarí predpovedať ako ovplyvňuje typ cyklodextrínového selektora (α -, β - a γ -CD) enantioselektivitu stacionárnej fázy. Enantioméry niektorých zlúčenín vyžadujú pri separácii definovanú veľkosť dutiny a iné sa separujú nezávisle od použitého typu cyklodextrínu. Spočiatku sa predpokladalo, že základom rozlíšenia enantiomérov na cyklodextrínových fázach je tvorba inklúzných komplexov a preto na separáciu enantiomérov objemných analytov sa vyžadovali väčšie dutiny (β - resp. γ -CD) a na separáciu enantiomérov malých molekúl menšie dutiny (α , resp. β -CD). V rozpore s týmto predpokladom sa však darilo separovať objemné molekuly δ -laktónov na α -CD (cit.¹⁴) a malé molekuly alifatických uhľovodíkov na γ -CD (cit.^{2,15}). V niektorých prípadoch, sa

zmenou veľkosti cyklodextrínovej dutiny dosiahlo obrátené elučné poradie enantiomérov¹⁵. Tak napríklad Kobor so spol.¹⁶, získali na rovnakých derivátoch α -CD na β -CD obrátené elučné poradie enantiomérov fenyletanolu. Obrátené elučné poradie je zrejme aj z obr. 3 na ktorom je chromatogram separácie enantiomérov *O*-metyl-*N*-trifluoroacetyl valínu v kapilárnej kolóne so zmesnou fázou {heptakis(2,6-di-*O*-metyl-3-*O*-pentyl)- β -CD rozpustený v polysiloxáne OV-1701 v hmotnostnom pomere 3:7} (A) a {oktakis(2,6-di-*O*-metyl-3-*O*-pentyl)- γ -CD rozpustený v polysiloxáne OV-1701 v hmotnostnom pomere 3:7} (B) pri 70 °C.

Obrátenie elučného poradia enantiomérov sa pozorovalo separáciou opticky aktívnych zlúčenín na rovnako substituovaných CD selektoroch s párnym a nepárnym počtom glukopyranózových jednotiek (α - a β -CD, resp. β - a γ -CD). Zmena elučného poradia enantiomérov sa doteraz nepozorovala pri separácii enantiomérov na rovnako substituovaných CD selektoroch s párnym počtom glukopyranózových jednotiek¹⁷ (α - a γ -CD).

2.3. Polarita polysiloxánového rozpúšťadla

Pretože cyklodextrínové deriváty v závislosti od charakteru substituentov vykazujú rôznu polaritu, na prípravu zmesných fáz sa používajú polysiloxány s rozdielnou polaritou. Pre polárne deriváty cyklodextrínov sa ako rozpúšťadlá odporúčajú polárne polysiloxány v ktorých sa tieto cyklodextrínové deriváty lepšie rozpúšťajú, čo umožňuje zvýšiť ich obsah v zmesných stacionárnych fázach. Zvýšením obsahu chirálneho selektora v zmesných stacionárnych fázach sa vo všeobecnosti zvýši enantioselektivita kolóny. Polárne interakcie polysiloxánov a cyklodextrínových selektorov však môžu aj zhoršiť enantioselektivitu zmesnej stacionárnej fázy¹⁸. Ak sa na prípravu zmesných fáz použijú polárne polysiloxány, vplyvom polárnych interakcií vzrastá retencia enantiomérov polárnych zlúčenín, čo pri danej teplote predlžuje čas analýzy. Preto je výhodnejšie aj pre polárne cyklodextrínové deriváty používať ako rozpúšťadlá stredne polárne polysiloxány. Okrem skrátenia analýzy sa na týchto zmesných fázach spravidla zlepši aj tvar píkov⁸. Pre stredne polárne cyklodextrínové deriváty sa na prípravu zmesných fáz odporúča používať ako rozpúšťadlá stredne polárne, alebo nepolárne polysiloxány. Pretože rozpustnosť cyklodextrínových derivátov v nepolárnych polysi-



Obr. 2. Závislosť selektívneho faktora (α) od obsahu oktakis(2,6-di-*O*-pentyl-3-*O*-butyryl)- γ -CD (%w) v polysiloxáne OV-1701 nameraná pre enantioméry gáfru pri 80 °C

loxánoch je obmedzená, na prípravu zmesných fáz s týmito polysiloxánmi sa používajú nižšie obsahy cyklodextrínových derivátov, alebo sa separácia uskutoční pri vyššej teplote¹⁶. Zistilo sa, že závislosť enantioselektivity niektorých zmesných fáz od polarít použitého polysiloxánu je zložitá, pretože selektívny faktor α pre enantioméry niektorých opticky aktívnych zlúčenín sa so vzrastajúcou polaritou polysiloxánu zvyšuje a pre iné znižuje. Znížením polarít polysiloxánu v zmesných fázach, sa väčšinou zníži retencia enantiomérov, čo umožňuje ich separovať pri nižších teplotách, a tým zvýšiť enantioselektivitu zmesnej fázy (zvýšiť hodnoty selektívnych koeficientov α). Pre enantioméry niektorých analytov sa však znížením separačnej teploty enantioselektivita zmesnej fázy zhorší¹⁹. Použitím stredne polárnych polysiloxánov na výrobu zmesných fáz sa podarilo rozdeliť enantioméry niektorých zlúčenín, ktoré sa neseparovali na zmesných fázach s polárnym polysiloxánom²⁰. Štúdiom teplotných závislostí (napríklad $\ln \alpha$ od $1/T$) enantiomérov separovaných v kolónach v ktorých sa na prípravu zmesných fáz použili rôzne polárne polysiloxány sa zistilo, že zmenou polarít polysiloxánu sa menia aj smernice čiar. Závislosti sú priamkové a pretínajú sa pri určitých teplotách¹².

2.4. Typ a poloha substituentov v cyklodextrínových derivátoch

2.4.1. Charakter substituenta v polohe 3

Substitúcia vodíkových atómov v hydroxylovej skupine viazanej na uhlíkovom atóme v polohe 3 rôznymi substituentami sa študovala najčastejšie, pretože charakter substituenta v tejto polohe podstatne ovplyvňuje enantioselektivitu cyklodextrínového selektora. Substituent v polohe 3 je takmer rovnobežný s osou cyklodextrínového torusu²¹. Charakter tohto substituenta výrazne ovplyvňuje konformáciu cyklodextrínu a navyše, interakcie enantiomérov s týmto substituentom sú rozhodujúce v prípadoch v ktorých separácia enantiomérov závisí od inklúzie analytu do dutiny cyklodextrínového derivátu. Voľbou tohto substituenta, možno voliť interakcie, ktoré ovplyvňujú separáciu enantiomérov. Tak napríklad acylová skupina umožňuje elektrón donor-akceptorové interakcie^{22–24}, alkylová skupina van der Waalsove interakcie²⁴ a karbamátová skupina interakcie vodíkových väzieb²⁵. Pri výbere tohto substituenta sa zohľadňuje všeobecne akceptovaný poznatok, že polárne zlúčeniny sa lepšie separujú na polárnych derivátoch, napriek tomu, že enantioméry niektorých polárnych zlúčenín sa lepšie separovali na derivátoch cyklodextrínov s alkylovou skupinou v polohe 3 (cit.^{26,27}) a enantioméry niektorých nepolárnych analytov sa lepšie separovali na derivátoch cyklodextrínov, ktoré mali v polohe 3 polárnu funkčnú skupinu.

2.4.2. Charakter substituenta v polohe 6

Za predpokladu, že separácia enantiomérov vyžaduje inklúziu do dutiny cyklodextrínu a ostatné funkčné skupiny analytu interagujú na povrchu cyklodextrínu so substituentami v polohe 2 a 3, substituent v polohe 6 sa bezprostredne nezúčastňuje enantioselektívnych interakcií. Charakter tohto substituenta však výrazne ovplyvňuje tvar cyklodextrínového konusu a tým inklúziu analytu do dutiny. Substitúciou vodíkového atómu v OH skupine viazanej na 6 uhlíkovom ató-

me tercbutyldimetylsilylovou (TBDMS) skupinou sa výrazne zmení konformácia cyklodextrínu, čo prispieva k enantioselektívite takýchto derivátov^{28,29}. Nahradením TBDMS skupiny acetylovou skupinou sa konformácia cyklodextrínu výrazne nezmení, enantioselektivita získanej fázy sa však zmenší. Pokles enantioselektivity týchto fáz sa vysvetľuje interakciami acetylovej skupiny s ostatnými substituentami cyklodextrínového derivátu, čo znižuje flexibilitu tohoto derivátu. Kim so spol.³⁰ zistili, že enantioselektivitu cyklodextrínových derivátov ovplyvňuje aj hydrofóbnosť substituenta v polohe 6.

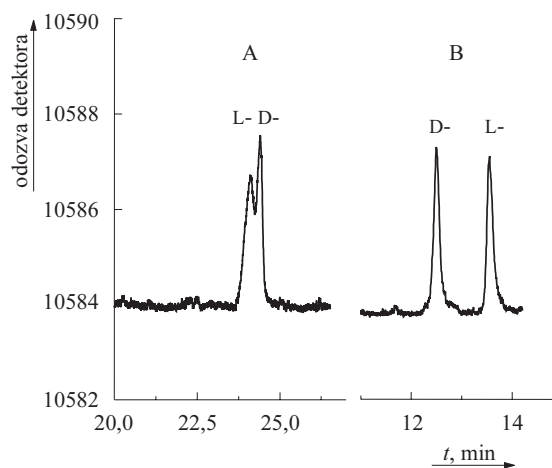
2.4.3. Charakter substituenta v polohe 2

V prípadoch, v ktorých separácia enantiomérov vyžaduje tvorbu inklúzných komplexov, substituent v polohe 2 ovplyvňuje separáciu enantiomérov menej významne, ako substituent v polohách 3 a 6. Keďže substituent v polohe 2 smeruje von z dutiny, neovplyvňuje významne tvar cyklodextrínovej dutiny a inklúziu analytu. V prípade, že separácia enantiomérov závisí od interakcií na povrchu cyklodextrínového derivátu, substituent v polohe 2 však môže separáciu enantiomérov výrazne ovplyvniť.

3. Pracovné podmienky a štruktúra analytu

3.1. Charakteristiky kolóny a mobilnej fázy

Parametre kolóny a vlastnosti mobilnej fázy ovplyvňujú enantioméru separáciu v podstatne menšej miere ako vlastnosti stacionárnej fázy. Separáciu enantiomérov ovplyvňuje dĺžka kolóny, hrúbka filmu stacionárnej fázy a vnútorný priemer kapiláry. Pre kolóny s dĺžkou (10 m až 25 m) sa zistilo, že dĺžka prakticky neovplyvňuje hodnoty selektívneho faktora α (cit.³¹). Ak je hodnota selektívneho faktora dostatočne veľká, na separáciu spravidla postačujú krátke kolóny (60 cm



Obr. 3. Plynovochromatografická separácia enantiomérov *O*-metyl-*N*-trifluoroacetyl valínu v kapilárnej kolóne so zmesnou fázou {heptakis(2,6-di-*O*-metyl-3-*O*-pentyl)- β -CD rozpustený v polysiloxáne OV-1701 v hmotnostnom pomere 3:7} (A) a {oktakis(2,6-di-*O*-metyl-3-*O*-pentyl)- γ -CD rozpustený v polysiloxáne OV-1701 v hmotnostnom pomere 3:7} (B) pri 70 °C

až 5 m)³². Separáciu enantiomérov v kratších kolónach navyše možno realizovať pri nižších teplotách, čo je výhodné, pretože enantioselektívita chirálneho selektora spravidla s klesajúcou teplotou separácie vzrastá. Enantioméry niektorých zlúčenín je preto výhodné separovať v kratších kolónach, pretože požadovaná separácia v dlhších kolónach by sa dosiahla za veľmi dlhý čas. Kratšie kolóny však možno využiť výhodne najmä na separáciu enantiomérov zlúčenín s nižšou prchavosťou a ak ich netreba separovať vo veľmi komplikovaných matriciach, pretože skrátením kolóny sa znižuje aj jej separačná účinnosť⁵. Hrúbka filmu stacionárnej fázy významne neovplyvňuje enantioméru separáciu. S rastúcou hrúbkou filmu stacionárnej fázy v kolóne však vzrastá retencia, spravidla bez výraznej zmeny selektivity, napriek tomu, že sa pozoroval aj pokles enantioselektivity v kolónach s hrubším filmom stacionárnej fázy³¹. Priemer kolóny prakticky neovplyvňuje enantioselektívitu separačného procesu. Použitie kolón s väčším priemerom však umožňuje dávkovať väčšie množstvá.

Mobilná fáza ovplyvňuje enantioméru separáciu najmä prostredníctvom rýchlosti, ktorou prúdi v kolóne. Pri hodnotení vplyvu rýchlosti nosného plynu na enantioselektívitu stacionárnej fázy boli publikované protichodné výsledky. Zatiaľ čo Hardt so spol. zistili, že hodnota selektívneho faktora sa so zmenou prietoku mobilnej fázy v kolóne nemení⁵, Grob so spol. zistili, že zvyšovaním prietoku nosného plynu sa separácia enantiomérov obsahujúcich hydroxylovú skupinu zhorší, ale pre zlúčeniny s inými funkčnými skupinami obsahujúcich atóm kyslíka sa zlepši³³. Podobné výsledky sa dosiahli pre všetky najčastejšie používané mobilné fázy v plynovej chromatografii (H₂, He, N₂)³³. Z týchto výsledkov sa usudzuje, že vplyv rýchlosti prietoku mobilnej fázy kolónou na separáciu enantiomérov závisí aj od štruktúry analytu. Použitie NH₃ ako mobilnej fázy síce nezlepšilo enantioméru separáciu, avšak v porovnaní s ostatnými nosnými plynmi sa výrazne zlepšila symetria píkov opticky aktívnych zlúčenín, ktoré obsahovali NH₂ skupiny a navyše sa znížila medza detekcie³⁴.

3.2. Pracovné podmienky

Z pracovných podmienok, ktoré sa nastavujú v plynovej chromatografii, separáciu enantiomérov ovplyvňuje najmä teplota kolóny, spôsob a teplota kondicionovania kolóny a čas skladovania kolóny. Znižovaním teploty sa spravidla hodnota selektívneho koeficienta α uvažovaných enantiomérov zvyšuje, preto sa na separáciu používa najnižšia teplota, pri ktorej sa ešte akceptuje čas separácie. Minimálna teplota separácie sa volí s ohľadom na charakter cyklodextrínového derivátu, charakter polysiloxánu a parametre kolóny. Vo všeobecnosti platí, že zmesné fázy s nepolárnym polysiloxánom možno používať pri nižších teplotách ako fázy pre ktoré sa použil polárny polysiloxán. Preto sa na prípravu zmesných fáz odporúča rozpúšťať cyklodextrínové deriváty v najmenej polárnych polysiloxánoch, v ktorých sa ešte rozpustí požadovaný obsah cyklodextrínového derivátu. Teplota kondicionovania kolóny ovplyvňuje separáciu enantiomérov iba v tých prípadoch v ktorých sa na prípravu stacionárnej fázy použije tuhý cyklodextrínový derivát. Takéto kolóny treba kondicionovať pri teplotách vyšších, ako je teplota topenia cyklodextrínového derivátu^{10,35}. Skladovaním kolón s cyklodextrínovými stacionárnymi fázami rozpustenými v polysiloxánoch sa stráca ich

enantioselektívita. Pravdepodobným dôvodom straty enantioselektivity sú zmeny fyzikálnej modifikácie cyklodextrínového derivátu v roztoku, alebo jeho rekryštalizácia. U niektorých derivátov sa zistila strata enantioselektivity po skladovaní dlhšom ako 2 mesiace. U niektorých cyklodextrínových derivátov strata enantioselektivity vplyvom skladovania bola len dočasná a rekondicionáciou kolóny sa ju podarilo obnoviť³⁶.

3.3. Štruktúra analytu

Medzi významné parametre, od ktorých závisí enantioselektívita chirálneho selektora patrí charakter, konfigurácia a konformácia opticky aktívnych zlúčenín. Medzi najdôležitejšie fyzikálne parametre analytov patrí ich prchavosť, pretože od nej závisí teplota separácie a tým nepriamo aj hodnota selektívneho faktora α (cit.³⁷). Veľmi prchavé analyty treba separovať pri nízkych teplotách. Z neprchavých analytov treba pripraviť také deriváty aby ich enantioméry bolo možno separovať pri teplotách, pri ktorých je cyklodextrínový selektor stály. Separácia enantiomérov závisí aj od konfigurácie a konformácie opticky aktívnych zlúčenín a od charakteru funkčných skupín^{38,39}. Pretože mechanizmus separácie enantiomérov na cyklodextrínových stacionárnych fázach nie je známy, v súčasnosti prakticky nemožno predpovedať typ stacionárnej fázy, ktorú by bolo vhodné použiť na enantioméru separáciu daných opticky aktívnych zlúčenín. Vhodné stacionárne fázy sa hľadajú skusmo postupmi, ktoré sú známe ako „metódy pokusu a omylu“.

4. Záver

V článku sú zhrnuté poznatky o základných parametroch, ktoré ovplyvňujú plynovo-chromatografickú separáciu enantiomérov organických opticky aktívnych zlúčenín v kapilárnych kolónach zmočených s derivátmi α -, β - a γ -cyklodextrínov. Z článku vyplýva, že medzi základné parametre, ktoré ovplyvňujú enantioselektívitu stacionárnych CD fáz patrí typ cyklodextrínu, charakter substituentov a ich poloha v glukopyranózovej jednotke cyklodextrínu. Kvapalnú CD deriváty možno použiť ako stacionárne fázy bezprostredne. Z tuhých (kryštalických) derivátov sa vyrábajú zmesné stacionárne fázy (roztoky CD derivátov vo vhodnom polysiloxánovom polyméru). Zistilo sa, že enantioselektívita zmesných stacionárnych fáz závisí tak od obsahu CD derivátu v tomto roztoku ako aj od polarítivity polysiloxánového rozpúšťača. Z experimentálnych podmienok ovplyvňuje enantioselektívitu najmä teplota kolóny, podmienky pri tepelnom formovaní kolóny a čas skladovania kolóny.

LITERATÚRA

1. Špánik I., Krupčík J.: Chem. Listy 94, 10 (2000).
2. König W. A.: *Gas Chromatographic Enantiomer Separation with Modified Cyclodextrins*. Hüthig Buch Verlag, Heidelberg 1992.
3. König W. A.: Trends Anal. Chem. 12, 130 (1993).
4. Schurig V., Nowotny H. P.: Angew. Chemie 102, 969 (1990).
5. Jung M., Schmalzing D., Schurig V.: J. Chromatogr. 552, 43 (1991).

6. Hardt I., König W. A.: *J. Microcolumn. Sep.* 5, 35 (1993).
7. Jung M., Schurig V.: *J. Microcolumn. Sep.* 5, 11 (1993).
8. Francotte E., Grolimund K., Juvancz Z.: *Chirality* 5, 232 (1993).
9. Schurig V.: *J. Chromatogr. A* 666, 111 (1994).
10. Bicchi C., Artuffo G., D'Amato A., Nano G. N., Galli A., Galli M.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 14, 301 (1991).
11. Juvancz Z., Peterson P.: *J. Microcolumn. Sep.* 8, 99 (1996).
12. Dietrich A., Maas B., Mosandl A.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 18, 152 (1995).
13. Bicchi C., D'Amato A., Manzin V., Galli A., Galli M.: *J. Microcolumn. Sep.* 7, 327 (1995).
14. Schmarr H. G., Mosandl A., Kaunzinger A.: *J. Microcolumn. Sep.* 3, 391 (1991).
15. König W. A., Icheln D., Runge T., Pffor I., Krebs A.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 13, 702 (1990).
16. Kobor F., Schomburg G.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 16, 693 (1993).
17. Armstrong D. W., Li W., Pitha J.: *Anal. Chem.* 162, 214 (1990).
18. Dietrich A., Maas B., Mosandl A.: *J. Microcolumn. Sep.* 6, 33 (1994).
19. Bicchi C., Artuffo G., D'Amato A., Manzin V., Galli A., Galli M.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 16, 209 (1993).
20. Dietrich S., Maas B., Brand G., Karl V., Kaunzinger A., Mosandl A.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 15, 769 (1992).
21. Harata K., Uemura K., Otagiri M., Hirayama F.: *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 60, 437 (1987).
22. Jung M., Schurig V.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 16, 289 (1993).
23. König W. A., Krebber R., Mischick P.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 12, 732 (1989).
24. König W. A.: *Carbohydr. Res.* 192, 51 (1989).
25. Takeichi T., Toriyama H., Shimura S., Takayama Y., Morikawa M.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 18, 179 (1995).
26. König W. A., Gehrcke B.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 16, 175 (1993).
27. König W. A., Lutz S., Evers P., Knabe J.: *J. Chromatogr.* 503, 256 (1990).
28. Dietrich A., Maas B., Karl V., Kreis P., Lehmann D., Weber B., Mosandl A.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 15, 176 (1992).
29. Dietrich A., Maas B., Messer W., Bruche G., Karl V., Kaunzinger A., Mosandl A.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 15, 530 (1992).
30. Kim B. E., Lee K. P., Park K. S., Lee S. H., Park J. H.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 20, 437 (1997).
31. Bicchi C., Artuffo G., D'Amato A., Galli A., Galli M.: *Chirality* 4, 125 (1992).
32. Lindström M.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 14, 765 (1991).
33. Grob K., Neukom H. P., Schmarr H. G., Mosandl A.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 13, 433 (1990).
34. Gyllenhaal O., Gustavson K., Vessman J.: *Proceedings of the 15th Symposium on Capillary Gas Chromatography* (Sandra P., ed.), str. 311. Huethig, Heidelberg 1993.
35. Venema A., Tolsma P. J. A.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 12, 32 (1989).
36. Bicchi C., Artuffo G., D'Amato A., Galli A., Galli M.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 15, 655 (1992).
37. Benická E., Krupčík J., Špánik I., Hrouzek J., Sandra P.: *J. Microcolumn. Sep.* 8, 57 (1996).
38. Jaques K., Pottie M., van der Eyecken J., van der Walle M., Venema A., Sandra P.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 16, 703 (1993).
39. Jaques K., Buda W. M., Venema A., Sandra P.: *J. Microcolumn. Sep.* 7, 145 (1995).

I. Špánik and J. Krupčík (*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Chemical Technology, Slovak Technical University, Bratislava, Slovak Republic*): **Gas Chromatographic Separation of Enantiomers on Cyclodextrin Stationary Phases**

The review describes main factors influencing direct gas chromatographic separation of enantiomers in capillary columns coated with cyclodextrin stationary phases. It has been shown that the type of cyclodextrin (α -, β - or γ -CD), the nature and positions of substituents in CD derivatives, polarity of the polysiloxane used in mixed stationary phases and separation temperature are the main factors influencing separation of enantiomers of optically active compounds. Column characteristics, the carrier gas, conditioning and storage of columns are secondary parameters influencing the enantioselective separation procedure.