

УДК 54.057

© В. Е. Курочкин, С. В. Борисова, А. А. Евстапов, И. В. Васильева,
С. В. Мякин, Л. М. Кузнецов, А. Ю. Шмыков

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПОРОГЕННОГО РАСТВОРИТЕЛЯ НА СТРУКТУРУ МОНОЛИТНОЙ НЕПОДВИЖНОЙ ФАЗЫ В КВАРЦЕВОМ КАПИЛЛЯРЕ, ПОЛУЧЕННОЙ ЭЛЕКТРОННО-ЛУЧЕВОЙ ПОЛИМЕРИЗАЦИЕЙ *IN SITU*

Изучена возможность создания монолитных хроматографических колонок на основе кварцевых капилляров путем инициируемой ускоренными электронами *in situ* полимеризации мономерной смеси состава глицидилметакрилат—метилметакрилат—этиленгликольдиметакрилат в соотношении 1 : 1 : 2 при варьировании типа порогенного растворителя (формамида, пропанол-1, *n*-деканол и 1,4-бутандиол) и его концентрации. Установлено, что однородное монолитное заполнение капилляров полимером происходит только при использовании в качестве порогенного растворителя формамида, характеризующегося малым размером молекул и неспособностью к взаимодействию с молекулами мономера и растущими полимерными цепями. При использовании остальных растворителей, содержащих гидроксильные группы, способные к взаимодействию с молекулами мономера с обрывом полимерных цепей, происходит неполное заполнение (в случае пропанола-1), образуется рыхлая неоднородная структура полимера (в случае 1,4-бутандиола) или происходит полное вымывание смеси из капилляра (в случае *n*-деканола). Установлены оптимальные условия формирования *in situ* хроматографических капиллярных колонок с воспроизводимыми характеристиками за счет точного задания параметров электронно-лучевого инициирования полимеризации.

Кл. сл.: монолитный сорбент, структура, электронно-лучевая полимеризация, радиационная полимеризация

ВВЕДЕНИЕ

Одно из направлений развития сепарационных методов анализа связано с использованием неподвижных стационарных фаз разнообразных синтетических полимеров на основе стирола, акриламида, метакрилата и т. д. Под полимерной неподвижной фазой понимают однородную пористую структуру, полученную полимеризацией *in situ* внутри кварцевого капилляра и называемую монолитным сорбентом, или монолитной неподвижной фазой (МНФ).

МНФ нашли применение в высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), капиллярной электрохроматографии (КЭХ), твердофазной экстракции и т. д. Аналитические свойства монолитных сорбентов характеризуются высокой эффективностью разделения сложных смесей (биополимеров) за счет конвективного массообмена и хорошей гидравлической проницаемости.

Структура МНФ представляет собой глобулы, соединенные в кластеры. В зависимости от концентрации и состава реакционной смеси, а также условий радикальной полимеризации можно синтезировать монолитные сорбенты с различной структурой. Синтез МНФ представляет собой полимеризацию моновинилового мономера или сме-

си моновиниловых мономеров с сшивающим агентом в порогенном растворителе (растворителях) (ПР), инициируемую радикальным инициатором. Разложение химического инициатора в процессе радикальной полимеризации может инициироваться химическим и термическим способами, а также ультрафиолетовым облучением [1, 2]. В результате распада молекул инициатора начинается процесс полимеризации, и растущие полимерные частицы осаждаются из раствора с образованием зародышей. Далее полимеризация протекает в двух фазах — в фазе зародышей и в порогенном растворителе. В обоих случаях образуются полимерные глобулы, которые объединяются в кластеры, формирующие пористую матрицу.

В работе [3] показана возможность получения монолитных сорбентов в формах инициированием радикальной полимеризации ионизирующим излучением. Преимуществом данного метода является образование радикалов непосредственно в мономере без использования химического инициатора. Полимеризация происходит за очень короткое время (секунды) (за счет высокой проникающей способности ионизирующего излучения) по сравнению с фото- или термоинициируемой полимеризацией. Однако при проведении полимеризации, инициируемой радиационными методами —

γ - или β -излучением [4], в результате прямого или косвенного воздействия ионизирующего излучения в полимерах могут образовываться промежуточные соединения, обладающие высокой реакционной способностью: свободные радикалы, ионы, возбужденные молекулы. Это ведет за собой дальнейшие химические превращения, что сказывается на химическом строении и свойствах полимеров.

Одними из важнейших характеристик монолитных колонок является пористость, определяющая эффективность разделения и проницаемость колонки, а также тип покрытия, от которого зависят селективность разделения и скорость потока.

Пористость обеспечивает высокую эффективность и проницаемость колонки, для чего необходимо наличие как микро-, так и макропор [5]. Пористость колонки можно регулировать за счет варьирования параметров полимеризации: температуры реакции, концентрации мономеров, сшивающего агента, инициатора, состава и количества порожденного растворителя.

Чем лучше пороженный растворитель растворяет полимер, тем позже в процессе полимеризации происходит фазовое разделение, что приводит к снижению пористости получаемого монолита [6]. Таким образом, в бимодальной системе добавление "хорошего" растворителя уменьшает пористость монолита.

В данной работе представлены данные систематического исследования структуры и свойств МНФ в зависимости от состава и концентрации порожденного растворителя и мономера (мономеров), а также условий радиационной обработки под воздействием ускоренных электронов с целью определения и оптимизации условий получения монолитных колонок с регулируемыми характеристиками.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реактивы, материалы, приборы

Реактивы

Гидроксид натрия (ч.д.а.) ("Химреактив"), этанол (х.ч.) ("Реахим"), соляная кислота (х.ч.) ("Реахим"), ацетонитрил (Labscan Ltd., Dublin, Ireland), деканол (Labscan Ltd., Dublin, Ireland), изопропанол (Labscan Ltd., Dublin, Ireland), метанол (Labscan Ltd., Dublin, Ireland), формамид (ч.) ("Реахим"), (триметоксисилил)пропиловый эфир метакриловой кислоты (MTS) ("Aldrich", "Sigma"), ацетон ("Реахим"), пропанол-1 (ч.д.а.) ("Реахим"), глицидилметакрилат (GMA) ("Merck"), метилметакрилат (MA) ("Merck"), этиленгликольдиметакрилат (EGDMA) ("Merck"), азо-*бис*-изобутиронитрил (AIBN) ("Merck"), уксусная кислота (х.ч.) ("Реахим"), деионизованная дистиллированная вода.

Материалы и приборы

Кварцевые капилляры с внешним полиимидным покрытием: внешний диаметр — 360 мкм, внутренний — 75 мкм, длина — 25 см (Polymicro Technologies, LLC).

Резонансно-трансформаторный ускоритель электронов РТЭ-1В (НИЭФА им. Д.В. Ефремова, Санкт-Петербург). Конфокальный лазерный сканирующий микроскоп (КЛСМ) Leica TCS SL (Leica Microsystems GmbH, Германия). Термостат газового хроматографа "Цвет 100". Система для обрезки капилляров Supelco 21386-U. Насос жидкостного хроматографа Jasco 880-PU. Ультразвуковая ванна Сапфир.

Для заполнения реакционными смесями капилляров и промывки капиллярных колонок использовали жидкостной хроматограф Jasco, в том числе насос для подвижной фазы Jasco 880-PU.

Растворы и реакционные смеси дегазировали в ультразвуковой ванне Сапфир.

Силанизация капилляра

Для обеспечения максимального количества гидроксильных групп на кварцевой поверхности капилляра проводили реакцию гидролиза.

Капилляр промывали 1 М раствором NaOH в течение 30 мин, герметизировали и помещали в термостат газового хроматографа при температуре 120 °С на 2 ч; затем последовательно промывали: водой (15 мин), 0.1 М раствором HCl (15 мин), водой (15 мин), ацетоном (15 мин) — и сушили в токе азота под давлением 2 атм в течение 1 ч при температуре 120 °С.

Протравленный капилляр промывали водным раствором, содержащим (по объему): 20 % триметоксисилилпропилового эфира метакриловой кислоты, 30 % уксусной кислоты (1 % раствор). Затем концы капилляра заклеивали и оставляли на сутки при комнатной температуре. На следующий день капилляр промывали ацетоном (15 мин) и продували азотом (30 мин).

Синтез полиметакрилата *in situ*

Реакционная смесь состояла из широко применяемой [2, 3, 5, 7] мономерной смеси (МС) состава глицидилметакрилат—метилметакрилат—этиленгликольдиметакрилат (сшивающий агент) в соотношении 1 : 1 : 2 и порожденного растворителя (ПР). Реакцию полимеризации проводили в присутствии различных ПР. Пороген может состоять из одного или нескольких органических растворителей. Сам по себе он не участвует в полимеризации, но остается в порах до тех пор, пока не будет промыта готовая МНФ. Фазовое выделение полимера из раствора является необходимой стадией формирования макропористой структуры и связано с его

Исследуемые порогенные растворители

№ п/п	Порогенный растворитель	Диэлектрическая проницаемость ϵ
1	Пропанол-1	20.1
2	Формаид	110.0
3	н-Деканол	7.1
4	Бугандиол-1,4	32.7

ограниченной растворимостью в порогенном растворителе. С точки зрения термодинамики полимерные зародыши лучше растворяются в мономере, чем в порогенном растворителе, поэтому в фазе полимеров образуются глобулы большего размера, приводящие к синтезу мелкопористого монолита. Если порогенный растворитель хорошо растворяет полимер, фазовое разделение произойдет позже и глобулы приобретут меньший размер (уменьшается пористость МНФ).

Критерием выбора растворителей для высокомолекулярных соединений является растворимость в нем полимера. В случае отсутствия экспериментальных значений растворимости, растворитель подбирают по его полярности, которую оценивают по величине диэлектрической проницаемости (ϵ) или по значению дипольного момента [6]. Поэтому в нашем исследовании были выбраны порогенные растворители со средними (пропанол-1, бугандиол-1,4), а также максимально различающимися (формаид, деканол) значениями диэлектрической проницаемости (см. таблицу).

Для каждой из исследуемых систем использовали три различных соотношения МС : ПР (35:65, 40:60, 45:55 %об.), выбранные на основании литературных данных [2, 7]. В эппендорфы объемом 1 мл добавляли 100 мкл глицидилметакрилата, 100 мкл метилметакрилата и 200 мкл этиленгликольдиметакрилата, после чего полученную МС смешивали с необходимым количеством порогенного растворителя (см. таблицу).

Силанизированный кварцевый капилляр промывали полимеризационным раствором (реакционной смесью) в течение 30 мин, заклеивали концы капилляра и помещали в источник ионизирующего излучения — среднеэнергетичный ускоритель электронов. Электронно-лучевое инициирование полимеризации осуществляли с использованием резонансно-трансформаторного ускорителя электронов РТЭ-1В при энергии электронов 700 кэВ, токе пучка 1.0 мА и поглощенной дозе 50 кГр (контролируемой по изменению оптической плотности стандартных пленок ЦДП-Ф2 с феназиновым красителем (ТУ 2379-006-1327/76-00)).

Затем капилляр промывали ацетоном (скорость потока — 150 мкл/мин, давление — 200–300 атм) в течение 30 мин, сушили в потоке азота (2 атм) в течение 2 ч.

Исследование структуры МНФ

Структуру МНФ изучали с использованием конфокального лазерного сканирующего микроскопа (КЛСМ) Leica TCS SL. Кварцевые капилляры с МНФ были разрезаны на фрагменты длиной 8–12 мм, с использованием приспособления для обрезки капилляров Supelco 21386-U. Полученные образцы — нарезанные фрагменты капилляров были зафиксированы в держателе. Изображения снимали в отраженном свете с использованием объектива Leica 10^x PDL с различным увеличением в диапазоне 250–500х на длине волны 488 нм.

Обработку изображений производили с использованием приложения Leica Confocal Software.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**Влияние растворителя на структуру МНФ**

Микрофотографии срезов исследуемых капилляров представлены на рис. 1–3. Полученные данные показывают, что сплошное и равномерное заполнение сечения капилляра полимером наблюдается только в случае использования в качестве порогена формаида при его концентрации свыше 60 % об. (рис. 1). При использовании пропанола-1 близкое к монолитному заполнение было достигнуто только при его концентрации 65 % об. (рис. 2, а). При использовании 1,4-бугандиола наблюдалась рыхлая фрагментарная структура наполнителя (рис. 3), а в случае н-деканола полученная смесь полностью вымывалась из капилляров и заполнения их полимером не происходило (рис. 4).

Наблюдаемые различия результатов заполнения исследуемых образцов могут объясняться химическим взаимодействием между молекулами мономера и гидроксильными группами в составе растворителя, приводящим к обрыву полимеризующихся цепей и препятствующим их взаимодействию с поверхностью капилляра. В наибольшей степени данный эффект проявляется в случае н-деканола $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_9-\text{OH}$, длинные молекулы которого способны взаимодействовать с молекулами мономера и растущими полимерными цепями (R) с участием ОН-групп с образованием макромолекул $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_9-\text{R}$, создавая при этом пространственные затруднения для их сшивания. Вследствие этого образующиеся относительно низкомолекулярные макромолекулы, не связанные друг с другом, полностью удаляемы из капилляра при промывке (рис. 4).

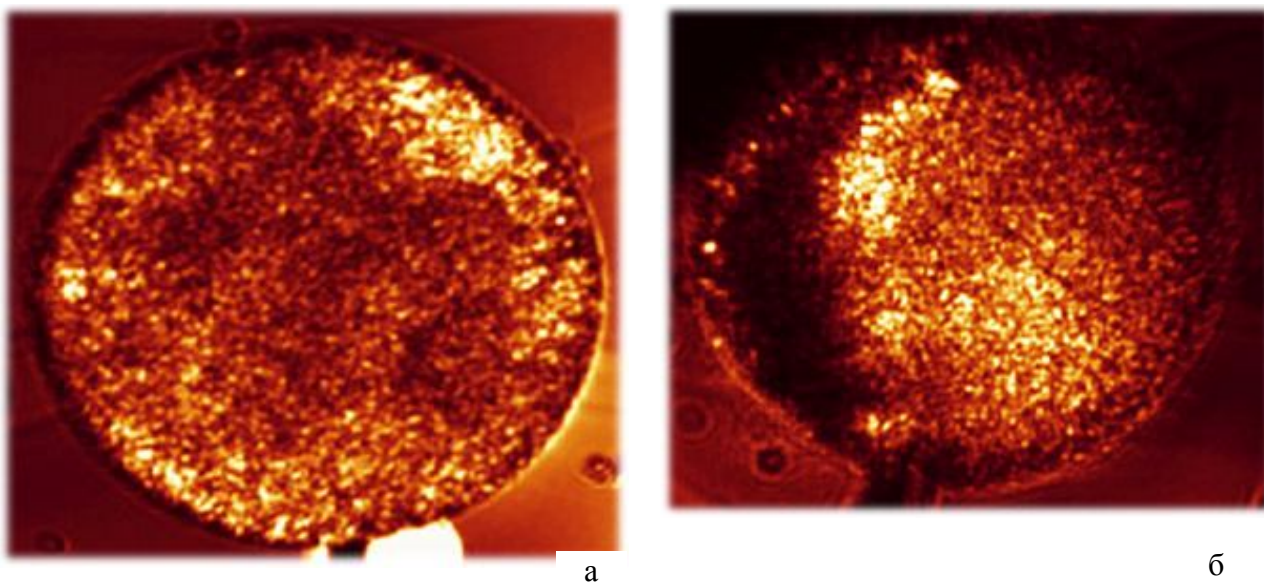


Рис. 1. Изображение среза капилляров после инициируемой ускоренными электронами полимеризации реакционной смеси с использованием в качестве порожденного растворителя формамида в количестве 60 (а) и 55 % об. (б)

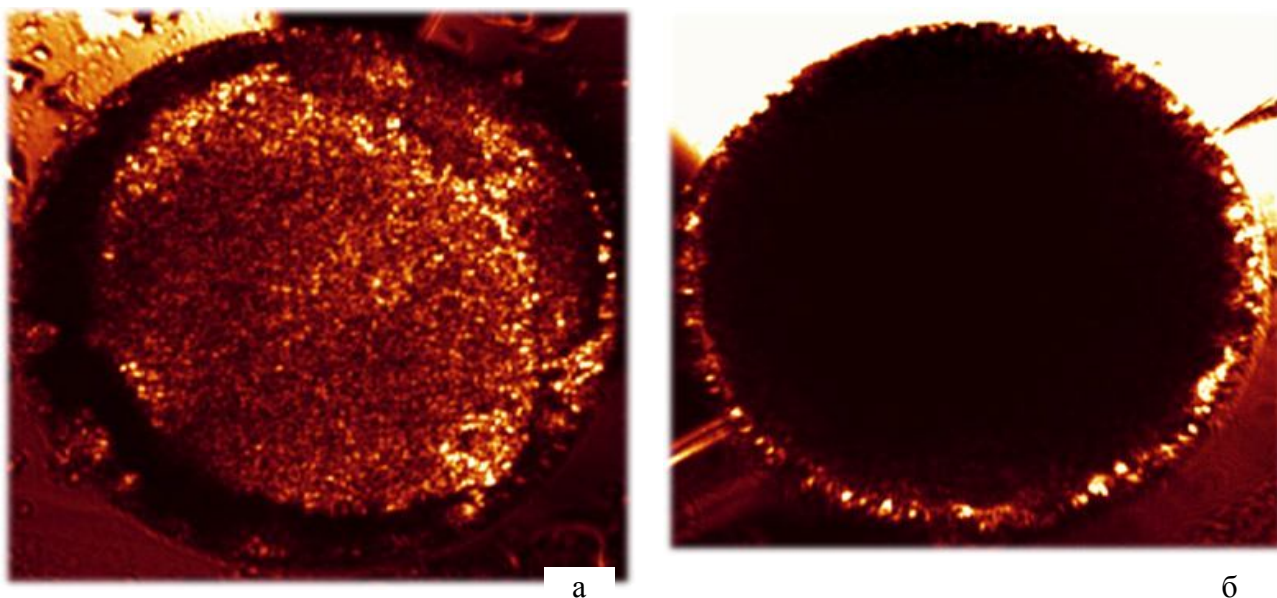


Рис. 2. Изображение среза капилляров после инициируемой ускоренными электронами полимеризации реакционной смеси с использованием в качестве порожденного растворителя н-пропанола в количестве 65 (а) и 55 % об. (б)

Аналогичный эффект наблюдается и при использовании пропанола-1 $\text{CH}_3\text{-(CH}_2)_2\text{-OH}$ в случае относительно невысокой концентрации реакционной смеси (рис. 2, б). Вместе с тем при повышенной концентрации мономеров в данном случае наблюдается формирование полимерной МНФ

(рис. 2, а). Это, по-видимому, обусловлено значительно меньшими пространственными затруднениями для сшивания макромолекул вследствие относительно малой длины молекул пропанола по сравнению с н-деканолом. При использовании в качестве растворителя 1,4-бутандиола

НО-(CH₂)₄-ОН возможны два варианта взаимодействия в системе растворитель—мономерная смесь:

– взаимодействие растворителя с двумя растущими полимерными цепями с образованием мак-

ромолекул R₁-(CH₂)₄-R₂, в дальнейшем либо взаимодействующих друг с другом с образованием сшитых неудаляемых ассоциатов, либо удаляемых при промывке;

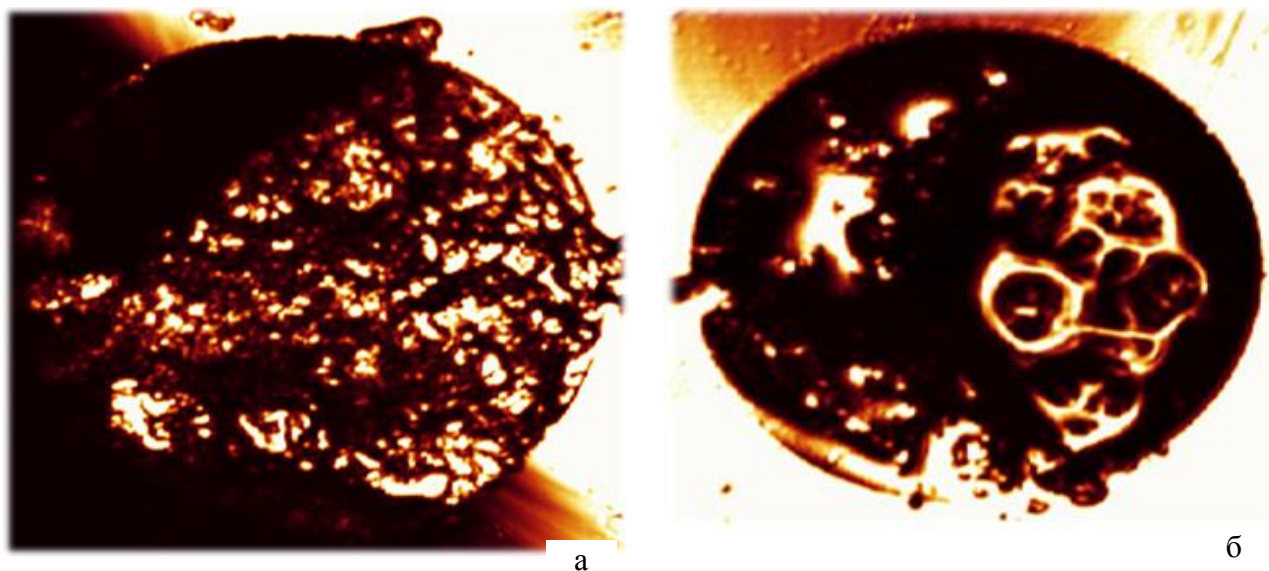


Рис. 3. Изображение среза капилляров после инициируемой ускоренными электронами полимеризации реакционной смеси с использованием в качестве порогенного растворителя бутандиола в количестве 65 (а) и 55 % об. (б)

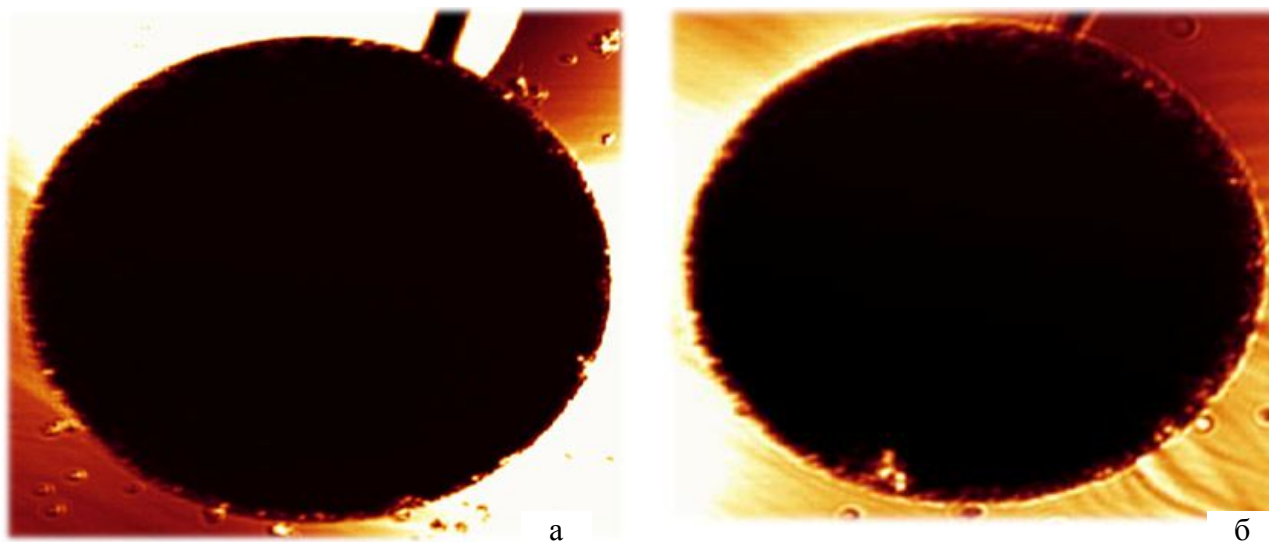


Рис. 4. Изображение среза капилляров после инициируемой ускоренными электронами полимеризации реакционной смеси с использованием в качестве порогенного растворителя деканола в количестве 65 (а) и 55 % об. (б)

– одновременное взаимодействие с гидроксированной поверхностью капилляра и растущей полимерной цепью с образованием присоединенных к капилляру фрагментов $\equiv\text{Si}-\text{O}-(\text{CH}_2)_4-\text{R}$, способных к последующему сшиванию с другими образующимися макромолекулами.

Такой характер взаимодействия приводит к формированию МНФ с рыхлой структурой (рис. 3), образованной отдельными ассоциатами сшитых макромолекул.

Наилучший результат (рис. 1), достигнутый при использовании формамида HCONH_2 , обусловлен малым размером его молекул и отсутствием в его составе способных к взаимодействию с растущими цепями гидроксильных групп, что приводит к отсутствию затруднений как при росте макромолекул, так и при их сшивании с образованием сплошного однородного МНФ.

Кроме того, полученные результаты можно в целом объяснить тем, что под воздействием ионизирующего излучения реакционная смесь претерпевает как прямое, так и косвенное воздействие излучения, связанное с радиоллизом растворителя [8]. Основными продуктами при радиоллизе спиртов являются водород, карбонильные соединения и гликоли [8]. Скорость выделения газов существенно зависит от режимов обработки, а полученные жидкие и газообразные продукты, в частности (предположительно) пероксид водорода, могут оказывать существенное воздействие на ход полимеризации.

ВЫВОДЫ

Полученные результаты показали возможность создания монолитных хроматографических колонок путем иницируемой ускоренными электронами *in situ* полимеризации мономерной смеси состава глицидилметакрилат—метилметакрилат—этиленгликольдиметакрилат. Установлено, что условиями, необходимыми для однородного монолитного заполнения капилляров полимером является использование в качестве растворителя формамида при его концентрации не более 60 %. Благодаря возможности точного регулирования параметров процесса данный подход перспективен для развития технологии изготовления хроматографических капиллярных колонок с воспроизводимыми характеристиками.

Работа проводилась при финансовой поддержке программы фундаментальных исследований Президиума РАН № 8 и гранта РФФИ № 09-03-00368.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Беленький Б.Г. Высокоэффективный капиллярный электрофорез. СПб.: Наука, 2009. 320 с.
2. Svec F., Tennikova T.B., Deyl Z. Monolithic materials: preparation, properties, and applications. Elsevier, Amsterdam, 2003.
3. Safrany A., Beiler B., Laszlo K., Svec F. Control of pore formation in macroporous polymers synthesized by single-step γ -radiation-initiated polymerization and cross-linking // Polymer. 2005. V. 46, N 9. P. 2862–2871.
4. Пикаев А.К. Современная радиационная химия. Твердое тело и полимеры. Прикладные аспекты. М.: Наука, 1987. 448 с.
5. Gusev I., Huang X., Horvath Cs. Capillary columns with in situ formed porous monolithic packing for micro high-performance liquid chromatography and capillary electrochromatography // J. Chromatogr. A. 1999. V. 855. P. 273–290.
6. Lide D.R. CRC Handbook of chemistry and physics, 87th edition. CRC, 2004. 2475 p.
7. Li Y., Xiang R., Wilkins J.A., Horvath C. Capillary electrochromatography of peptides and proteins // Electrophoresis. 2004. V. 25. P. 2242–2256.
8. Пикаев А.К. Современная радиационная химия. Радиоллиз газов и жидкостей. М.: Наука, 1986. 439 с.

*Институт аналитического приборостроения РАН,
г. Санкт-Петербург (Курочкин В.Е., Борисова С.В., Евстапов А.А., Шмыков А.Ю.)*

*Инженерно-технологический центр РАДИАНТ,
г. Санкт-Петербург (Васильева И.В., Мякин С.В.)*

Санкт-Петербургский государственный инженерно-экономический университет (Кузнецов Л.М.)

Контакты: Борисова Светлана Валерьевна,
borisova_svetl@mail.ru

Материал поступил в редакцию 10.10.2011.

STUDY OF THE POROGENIC SOLVENT EFFECT UPON THE STRUCTURE OF THE STATIC MONOLITH PHASE IN QUARTZ CAPILLARIES OBTAINED IN SITU BY ELECTRON BEAM INITIATED POLYMERIZATION

V. E. Kurochkin¹, S. V. Borisova¹, A. A. Evstrapov¹, I. V. Vasilieva²,
S. V. Myakin², L. M. Kuznetsov³, A. Yu. Shmykov¹

¹*Institute for Analytical Instrumentation of RAS, Saint-Petersburg*

²*Engineering Technology Center RADIANT, Saint-Petersburg*

³*Saint-Petersburg State University of Economics and Engineering*

A possibility for obtaining monolith chromatographic columns based on quartz capillaries is studied using electron beam initiated in situ polymerization of the monomer mixture glycidyl methacrylate: methyl methacrylate: ethylene glycol dimethacrylate in the ratio 1:1:2 using formamide, propanol-1, n-decanol and 1,4-butanediol porogenic solvents in different concentrations. A uniform monolith column is only formed in the case of using formamide characterized by a small molecule size and inability to interact with the monomer molecules and growing polymer chains. The use of other solvents containing hydroxyl groups reacting with the monomer molecules and causing chain termination results in the incomplete capillary filling (in the case of propanol-1), loose inhomogeneous structure (in the case of 1,4-butanediol) or complete removal of the mixture from the capillary (in the case of n-decanol). Generally, optimal conditions are determined for in situ preparation of chromatographic capillary columns with reproducible characteristics due to the precise control of the electron beam initiation parameters.

Keywords: monolith sorbent, structure, electron beam induced polymerization, radiation induced polymerization