

УДК 54.057

© А. Ю. Шмыков, С. В. Борисова, А. А. Евстапов, В. Е. Курочкин

СИНТЕЗ МЕТАКРИЛАТНЫХ СОРБЕНТОВ В КВАРЦЕВЫХ КАПИЛЛЯРАХ ФОТОИНИЦИИРОВАНИЕМ РЕАКЦИОННОЙ СМЕСИ

Фотоиницированием реакционной смеси были синтезированы полиметакрилатные полимерные сорбенты, привитые к внутренней стенке кварцевого капилляра. Изучено влияние концентрации смеси мономеров в реакционной смеси на физические свойства полимеризуемого сорбента в кварцевом капилляре. Определены управляющие параметры для синтеза капиллярных колонок с заданными физическими свойствами сорбента. Предложены составы реакционных смесей для синтеза полых и монолитных капиллярных колонок. Обсуждаются особенности влияния условий процесса фотополимеризации и состава реакционных смесей мономеров на физические свойства метакрилатного сорбента и его воспроизводимость при синтезе в полых и монолитных капиллярных колонках.

Кл. сл.: сорбент, кварцевые капиллярные колонки, фотополимеризация, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия

ВВЕДЕНИЕ

Изготовление узкофракционированных микро-сорбентов и набивка ими капиллярных колонок для капиллярной электрохроматографии (КЭХ) является дорогостоящим и трудоемким процессом [1]. Большие перспективы в КЭХ открываются в возможности использовании для неподвижных стационарных фаз разнообразных синтетических полимеров на основе стирола, акриламида, метакрилата и т. д.

В настоящее время под полимерной стационарной фазой понимают однородную пористую структуру, полученную полимеризацией *in situ* внутри кварцевого капилляра при необходимости с заданной химической функционализацией поверхности для достижения нужных электрофизических и/или хроматографических свойств [2]. Изменяя концентрацию и состав реакционной смеси, а также условия для радикальной полимеризации, можно синтезировать полые или монолитные капиллярные колонки с различными электромиграционными и хроматографическими свойствами. Основные достоинства полимерных стационарных фаз заключаются в простоте и эффективности технологии их изготовления — процесс радикальной полимеризации пористой матрицы происходит *in situ* внутри капилляра, где сорбент химически прививается к стенкам кварцевого капилляра [1].

Радикальная полимеризация смеси мономеров для формирования неподвижной фазы может инициироваться четырьмя способами: гамма-излучением (в кварцевых капиллярах не синтезировался)

[3], химическим [4], повышением температуры [5] и ультрафиолетовым (УФ) облучением [6]. Каждый из данных методов радикальной полимеризации имеет свои преимущества, которые известны [7].

Несмотря на все преимущества полимерных сорбентов в настоящее время серийно выпускаются лишь несколько видов полых капиллярных колонок для КЭХ и монолитных колонок для высокоэффективной жидкостной нанохроматографии. В связи с этим представляет интерес установление особенностей синтеза полимерного сорбента при применении метода фотоиницирования для радикальной полимеризации реакционной смеси. Для изучения были выбраны метакрилатные сорбенты, поскольку кроме акриламидных и полистирольных полимерных сорбентов они являются наиболее широко изученными стационарными фазами для КЭХ и ВЭЖХ [2, 7, 8].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Приборы и реактивы

В экспериментах использовались следующие реактивы и материалы.

Деионизованная дистиллированная вода, уксусная кислота (Реахим, СПб., Россия), ацетонитрил, деканол, циклогексанол, изопропанол, метанол (Labscan limited, Dublin, Ireland), азобисизобутиронитрил, глицидилметакрилат, метилметакрилат, этиленгликольдиметакрилат, метакрилоксипропилтриметоксисилана (МОПТМС) (Aldrich, Milwaukee, WI, USA).

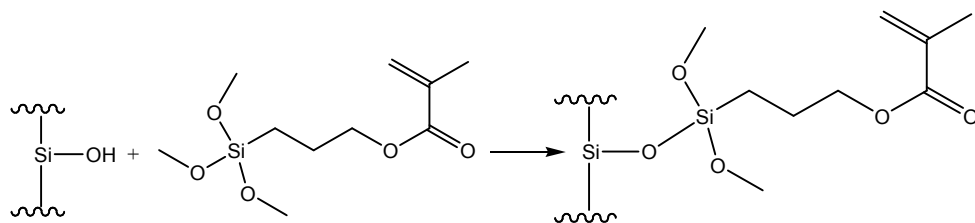


Рис. 1. Схема 1 — реакция силанизации

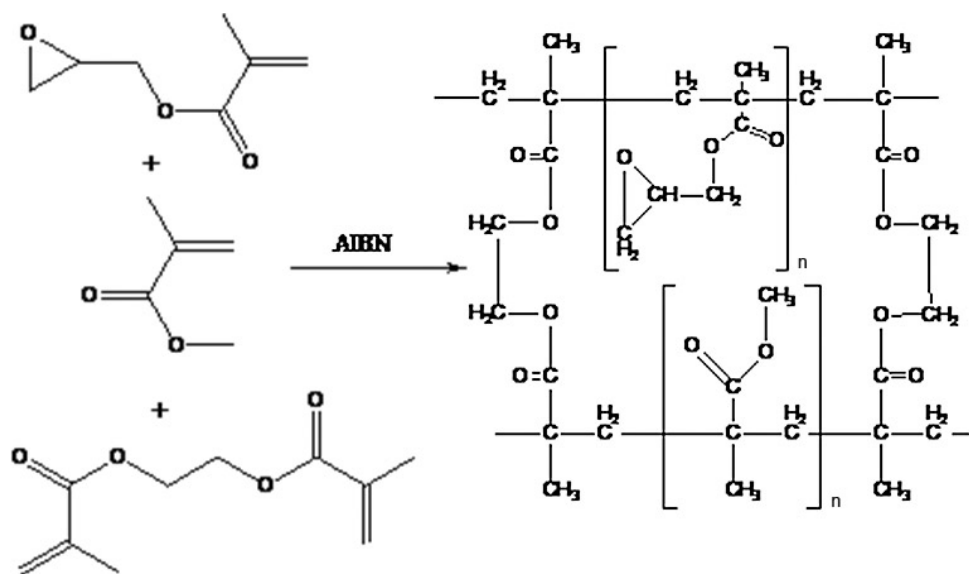


Рис. 2. Схема 2 — реакция полимеризации

Синтез полимеров осуществлялся в кварцевых капиллярах с внешним прозрачным УФ-полиимидным покрытием. Внешний диаметр — 360 мкм, внутренний — 75, 100 мкм (Polymicro Technologies, LLC).

Сечения изготовленных колонок исследовались на конфокальном лазерном сканирующем микроскопе (КЛСМ) Leica TCS SL (Leica Microsystems GmbH, Germany). Измерения проводились на длине волны 488 нм в отраженном свете с объективом Leica 10× PDL.

Для фотополимеризации применялась ртутная лампа высокого давления ДРК-250 с устройством корректирующих светофильтров.

Обрезка капилляров проводилась с использованием системы Supelco 21386-U.

Заполнение реакционными смесями капилляров и промывка капиллярных колонок осуществлялась жидкостным хроматографом Jasco с насосом для подвижной фазы Jasco 880-PU.

Растворы и реакционные смеси дегазировались в ультразвуковой ванне Сапфир.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПОЛЫХ И МОНОЛИТНЫХ КАПИЛЛЯРНЫХ КОЛОНОК ДЛЯ КАПИЛЛЯРНОЙ ЭЛЕКТРОХРОМАТОГРАФИИ МЕТОДОМ ФОТОПОЛИМЕРИЗАЦИИ

Силанизация капилляра

Для обеспечения максимального количества гидроксильных групп на кварцевой поверхности капилляра проводили реакцию гидролиза. Капилляр последовательно промывали 1М раствором NaOH в 30 % изопропанолу 30 мин; 1М раствором NaOH в течение 30 мин; дистиллированной водой 15 мин; 1М раствором HCl 20 мин; дистиллированной водой 15 мин.

Бифункционализация

По завершении стадии силанизации к силанольным группам кварца на внутренней поверхности капилляра присоединялись (через силоксановую связь) способные к радикальной полимериза-

ции метакрильные группы (рис. 1). Для этого последовательно "промывали" капилляр следующими растворами реагентов: 1 час — 1 % водный раствор уксусной кислоты; 1 час — 1 % (по объему) раствор МОПС в 1 % водном растворе уксусной кислоты. Далее заклеивали концы капилляра и оставляли на 24 часа в растворе; на следующий день проводили промывку капилляра 50 % (по объему) водным раствором ацетонитрила в течение 5 мин, дистиллированной водой 5 мин.

Синтез сорбента полиметакрилата *in situ*

Реакция полимеризации реакционной смеси (рис. 2) проводилась в разных соотношениях смеси метакрилатных мономеров и порогенных растворителей с изменением времени УФ-облучения при постоянных температуре и расстоянии от источника облучения до капиллярной колонки. Варьирование времени УФ-облучения необходимо для определения оптимальных условий и физических параметров полимеризации реакционной смеси. Изменяя соотношения мономеров и растворителей в реакционной смеси, можно изменять толщину и пористость капиллярной колонки, оптимизируя тем самым ее проницаемость.

Реакционная смесь имела состав: глицидилметакрилат (GMA), метилметакрилат (МА), этиленгликольдиметакрилат (EGDMA), азо-бис-изобутиронитрил (AIBN), деканол, циклогексанол (ЦГ). Доля инициатора AIBN для всех реакционных смесей составляла 1 %. Составы реакционных смесей приведены в таблице.

Метакрилатные сорбенты были приготовлены *in situ* с помощью радикальной фотоинициируемой полимеризации. Капилляры заполняли свежеприготовленными дегазированными реакционными смесями (см. таблицу). Заполнение кварцевых капилляров, а также удаление остатков мономеров после полимеризации производилось при помощи

насоса ВЭЖХ Jasco. Фотоинициируемая полимеризация реакционной смеси мономеров осуществлялась путем УФ-обработки заполненных капилляров в специально созданной технологической установке на основе ртутной лампы высокого давления ДРК-250 с корректирующим светофильтром (для выделения ультрафиолетового диапазона 250–320 нм). Время УФ-облучения варьировалось от 20 до 50 мин. По истечении установленного времени полимеризации капиллярные колонки продували азотом для удаления смеси порогенных растворителей, промывали метанолом и затем окончательно высушивали потоком азота в течение часа. После чего капилляр обрезался при помощи специальной обрезной машинки Supelco, и полученное поперечное сечение среза капиллярной колонки изучалось с помощью лазерного сканирующего микроскопа TCS-SL: измерялась толщина полимеризованного слоя, оценивалась пористость.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Задача данного исследования состояла в установлении корреляций между составом реакционных смесей, параметрами УФ-облучения и конечной структурой метакрилатного сорбента.

Определение времени УФ-облучения, необходимого для синтеза метакрилатного сорбента

Для определения времени УФ-облучения, необходимого для синтеза метакрилатного сорбента, использовали состав реакционной смеси 7 (см. таблицу), описанный в литературе и апробированный при синтезе монолитных метакрилатных сорбентов термическим иницированием радикальной полимеризации реакционной смеси.

Исследуемые реакционные смеси

№	Состав смеси мономеров (СМ)			Состав смеси растворителей (СР)			Соотношение СМ / СР
	GMA, %	МА, %	EGDMA, %	Деканол, %	ЦГ, %	AIBN, %	
1	0.5	0.5	1	33	65	1	2 / 98
2	1.25	1.25	2.5	32	63	1	5 / 95
3	2.5	2.5	5	30	60	1	10 / 90
4	3.75	3.75	7.5	28	57	1	15 / 85
5	5	5	10	27	53	1	20 / 80
6	7.5	7.5	15	23	47	1	30 / 70
7	10	10	20	20	40	1	40 / 60
8	12.5	12.5	25	17	32	1	50 / 50

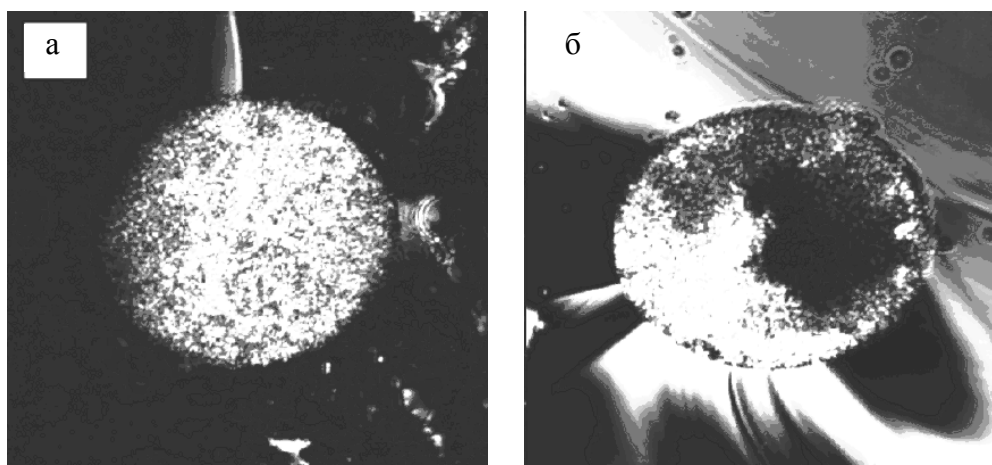


Рис. 3. Изображение среза капилляра, полученное на КЛСМ Leica TCS SL (отраженный свет, размер кадра 100×100 мкм). а — синтезированный монолитный сорбент; б — незавершенный синтез монолитного сорбента

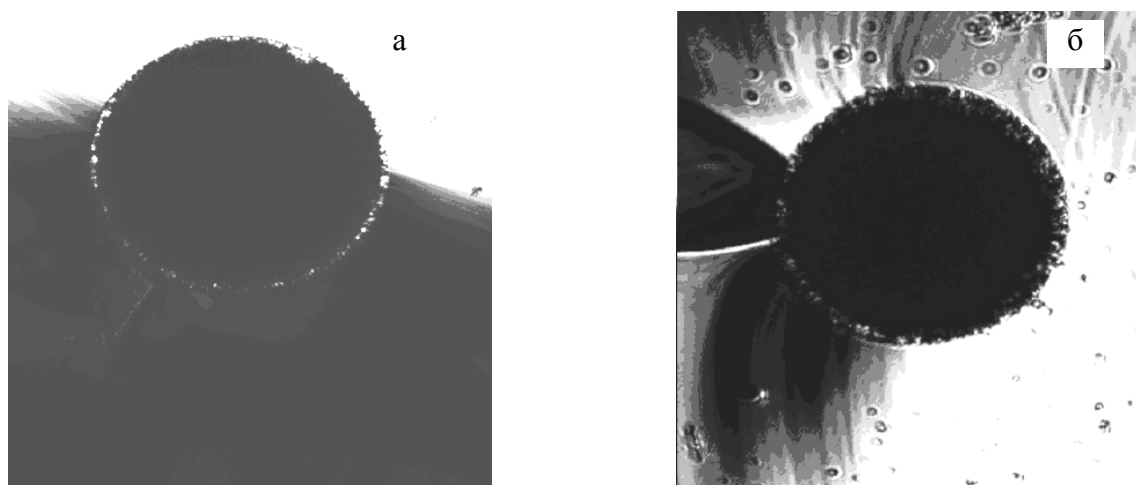


Рис. 4. Изображение среза капилляра, полученное на КЛСМ Leica TCS SL (отраженный свет, размер кадра 100×100 мкм): а — реакционная смесь 1; б — реакционная смесь 2

Силанизированные кварцевые капилляры с внутренним диаметром 75 и 100 мкм заполнялись реакционной смесью 7 и подвергались УФ-облучению на расстоянии 50 см при температуре 22 °С продолжительностью 20–50 мин с интервалом 5 мин.

Для образования монолитного сорбента в капилляре минимальное время УФ-облучения составило для диаметра 75 мкм — 25 мин и 100 мкм — 30 мин (см. рис. 3).

Изучение влияния состава реакционной смеси на свойства сорбента

Для оценки влияния состава реакционной смеси на структуру образующегося сорбента осуще-

ствлялось изменение соотношения смеси мономеров к смеси растворителей (СМ/СР) путем увеличения концентрации мономеров от 2 до 50 %. Это позволило отследить динамику формирования сорбента и получить кинетические зависимости, описывающие процесс синтеза. Анализ изображений, полученных с помощью конфокального лазерного микроскопа, показал, что при увеличении концентрации мономеров в реакционной смеси происходит соответствующее увеличение объема сорбента в капилляре. На рис. 4, 5 представлены изображения срезов капиллярных колонок, синтезированных из реакционных смесей 1–8. Доля смеси мономеров от 2 до 5 % (рис. 4) обеспечивает равномерное покрытие внутренней поверхности капилляра.

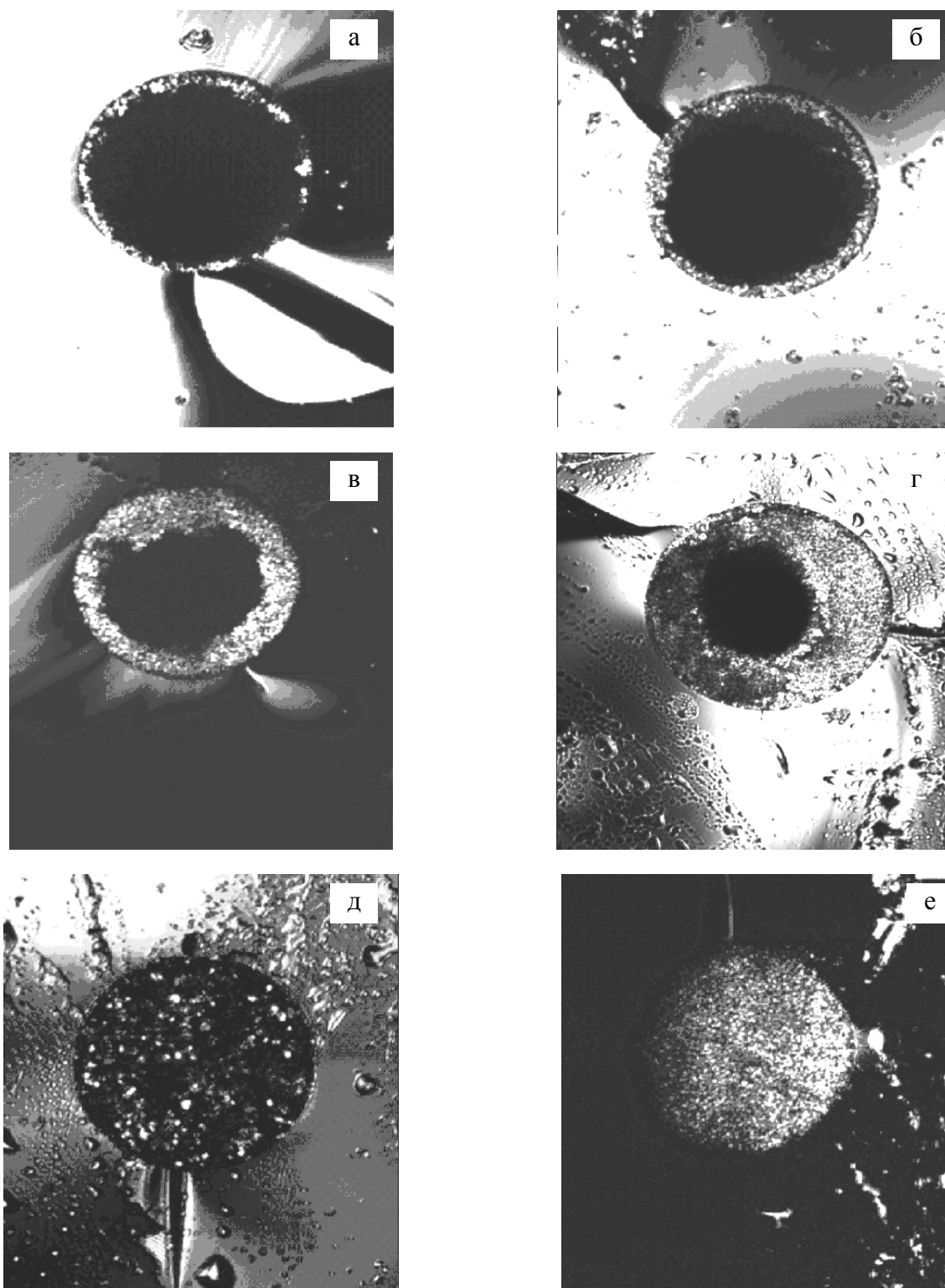


Рис. 5. Изображение среза капилляра, полученное на КJCM Leica TCS SL при разных составах смеси мономеров (отраженный свет, размер кадра 100×100 мкм).

а — реакционная смесь 3; б — реакционная смесь 4; в — реакционная смесь 5; г — реакционная смесь 6; д — реакционная смесь 7; е — реакционная смесь 8

Концентрация мономеров в реакционной смеси величиной 2 % является достаточной для полной замены неоднородных и трудно ионизируемых силанольных групп на внутренней поверхности капилляра на легко функционализируемые метакрилатные группы.

Дальнейшее увеличение содержания мономеров в полимеризационной смеси приводит к увеличению толщины слоя монолитного сорбента (рис. 5). Изменением соотношения концентраций мономеров и пороженных растворителей СМ/СР становится возможным регулирование свойств полых капиллярных колонок (Porous Layer Open-Tubular (PLOT) Columns), для которых одним из важнейших параметров является внутренний диаметр, изменение которого в данном случае может легко осуществляться путем прививки к стенкам капилляра пористых слоев различной толщины.

На рис. 5, д, представлено изображение среза монолитной капиллярной колонки, синтезированной фотополимеризацией из реакционной смеси, содержащей 40 % мономеров и 60 % пороженных растворителей. Данная пропорция полностью обеспечивает заполнение капилляра метакрилатным монолитным сорбентом.

Увеличение концентрации мономеров в смеси до 50 % приводит к уменьшению пористости сорбента (рис. 5, е); это связано с избыточным количеством микроглобул метакрилата, образующихся на начальной стадии полимеризации, и процесс коагуляции (образования и роста-увеличения глобул метакрилата) замещается процессом флокуляции — слипанием глобул метакрилата.

Пористость синтезированных колонок соответствует литературным данным по синтезу метакрилатных сорбентов методом термополимеризации, который чаще всего используется для синтеза монолитных и PLOT-колонок [6].

При сравнении методов синтеза монолитных сорбентов фото- и термоиницированием реакционной смеси можно сделать вывод, что фотоиницирование позволяет сократить время полимеризации с 19 часов до 30 мин.

При синтезе полых капиллярных колонок возможно сокращение времени синтеза с 3–4 часов до 15–20 мин, однако воспроизводимость равномерной толщины сорбента на всей длине капиллярной колонки уменьшается с увеличением толщины слоя сорбента и/или длины колонки. Так, при концентрации СМ до 5 % (реакционная смесь 1 и 2 в таблице) воспроизводимость равномерности толщины сорбента составляет около 50 % при длине капиллярной колонки 30 см, а при увеличении длины синтезируемой капиллярной колонки до 50 см воспроизводимость равномерности толщины сорбента уменьшается до 20–25 %.

Применение реакционных смесей с концентрацией СМ 10 и 15 % обеспечивает прививку равномерного слоя в колонках длиной до 30 см, которые воспроизводятся в 20 % от общего числа синтезированных колонок. Кроме того, применение реакционных смесей с концентрацией мономеров 10 и 15 % дает возможность получать сорбентные слои меньшей толщины путем завершения реакции полимеризации ранее момента полного превращения мономеров реакционной смеси в полимер. В этом случае толщина образующегося слоя сорбента регламентируется временем облучения заполненного реакционной смесью капилляра (т. е. продолжительностью реакции полимеризации) (рис. 6). Это позволяет не только существенно сократить время синтеза при необходимости сформировать монолитные слои меньшей толщины, но и значительно снизить трудо- и времязатраты за счет возможности приготовления из одной реакционной смеси колонок с метакрилатными слоями различной толщины.

При концентрации СМ от 20 до 30 % (реакционные смеси 5 и 6 в таблице) длина капиллярной колонки с равномерно синтезированным сорбентом составляла менее 15 см с воспроизводимостью менее 5 %. Это связано с неравномерностью распределения сорбента в капилляре, которая приводит к хаотическому чередованию сорбента в виде монолита, пустот или иммобилизации сорбента на одной стороне капилляра (рис. 7, приведены примеры с концентрацией смеси мономеров 10 %).

Оптимизация состава полимеризационного раствора для синтеза полых и монолитных капиллярных колонок

Объединение многочисленных результатов, полученных в ходе данного исследования, позволило получить количественные зависимости, характеризующие синтез метакрилатного монолитного сорбента из реакционных смесей 1–8 в фотоиницируемых процессах (рис. 8).

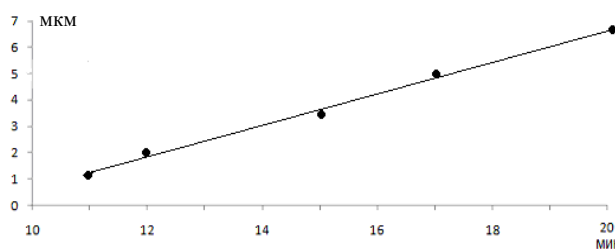


Рис. 6. Изменение толщины слоя монолитного сорбента на внутренних стенках капилляра в зависимости от времени облучения (смесь 4, СМ = 15 %)

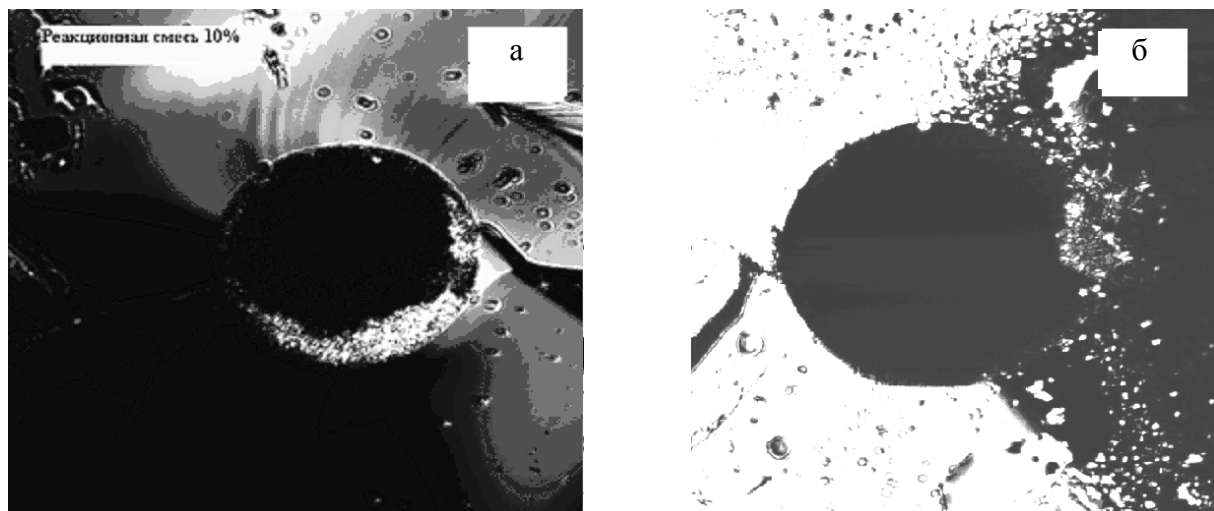


Рис. 7. Изображение среза капилляра, полученное на КЛСМ Leica TCS SL при 10 % смеси мономеров (отраженный свет, размер кадра 100×100 мкм).

а — сорбент привит неравномерно; б — сорбент привит с одной стороны

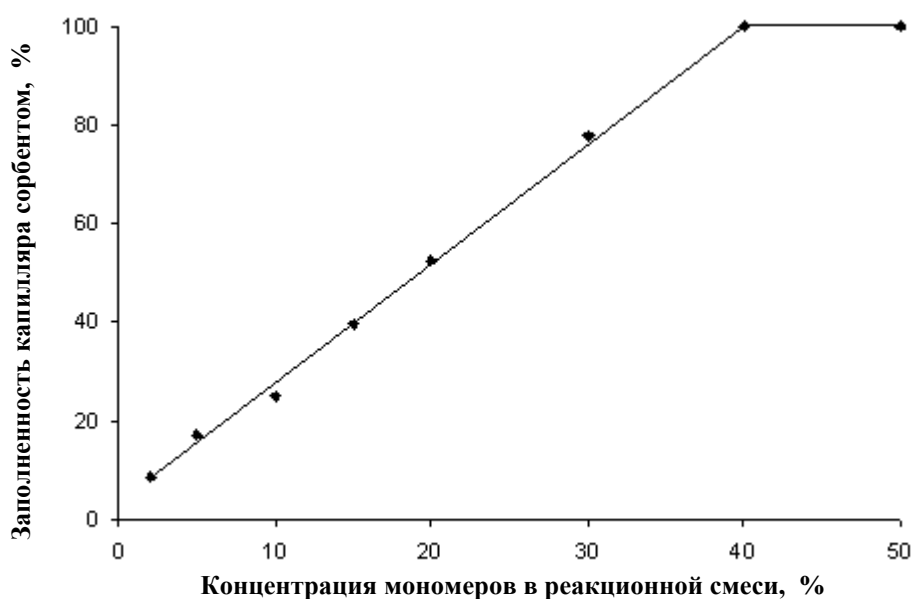


Рис. 8. Зависимость объема заполнения капилляра от концентрации мономеров в реакционной смеси

Данная зависимость позволяет осуществлять оптимизацию состава реакционной смеси с целью получения монолитной структуры, характеризующейся заранее заданными свойствами, и эффективно планировать эксперимент.

ВЫВОДЫ

Радикальная полимеризация смеси мономеров под действием ультрафиолетового излучения яв-

ляется перспективным методом для формирования неподвижной фазы в капиллярах. Этот метод достаточно прост и может быть реализован в исследовательских лабораториях для получения монолитных капиллярных колонок.

Применение метода конфокальной лазерной сканирующей микроскопии позволяет осуществлять контроль и оценку качества полимеризации метакрилатных сорбентов в кварцевых капиллярах. При анализе изображений сечения капилляра могут быть получены оценки толщины полимери-

зованного слоя, оценена пористость получаемых структур и размер пор.

Получены зависимости изменения толщины слоя метакрилатного сорбента на внутренних стенках капилляра от времени облучения. Установлено, что управляющими параметрами, влияющими на свойства сорбента при его синтезе в капиллярных колонках, являются время и соотношение концентраций мономеров и порогенных растворителей при постоянных значениях прочих абиотических и технических параметров.

Показано, что при изменении соотношения концентраций мономеров и порогенных растворителей становится возможным регулирование физико-химических свойств полых капиллярных колонок.

Выявлено, что наиболее простым подходом для регулирования пористости монолитных сорбентов является варьирование соотношения концентраций мономеров и порогенного растворителя.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бельский Б.Г. Высокоэффективный капиллярный электрофорез. СПб.: Наука, 2009. 320 с.
2. Li Y., Xiang R., Wilkins J.A., Horvath C. Capillary Electrochromatography of Peptides and Proteins // *Electrophoresis*. 2004. V. 25. P. 2242–2256.
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. P. 2862–2871.

4. Щеглов А.А., Шмыков А.Ю., Мальцев В.Г. Целе-направленная регуляция электроосмотического потока для оптимизации капиллярного электрофореза белков // *Научное приборостроение*. 2003. Т. 13, № 4. С. 22–27.
5. Карцова Л.А., Бессонова Е.А., Поликарпов Н.А. Синтез метакрилатного монолитного сорбента для капиллярной электрохроматографии // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2008. Т. 8, № 5. С. 724–731.
6. Eeltink S., Svec F., Frechet J.M.J. Open-Tubular Capillary Columns with a Porous Layer of Monolithic Polymer for Highly Efficient and Fast Separations in Electrochromatography // *Electrophoresis*. 2006. V. 27. С. 4249–4256.
7. Augustin V., Jardy A., Gareil P., Hennion M.-C. In Situ Synthesis of Monolithic Stationary Phases for Electrochromatographic Separations: Study of Polymerization Conditions // *J. Chromatogr. A*. 2006. V. 1119. P. 80–87.
8. Zou H., Huang X., Ye M., Luo Q. Monolithic Stationary Phases for Liquid Chromatography and Capillary Electrochromatography // *J. Chromatogr. A*. 2002. V. 954. P. 5–32.

Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург

Контакты: Шмыков Алексей Юрьевич,
shmykniy@mail.ru

Материал поступил в редакцию 12.10.2009.

SYNTHESIS OF METHACRYLATE SORBENTS IN FUSED-SILICA CAPILLARIES BY PHOTOINITIATION OF POLYMERIZATION MIXTURE

A. Yu. Shmykov, S. V. Borisova, A. A. Evstrapov, V. E. Kurochkin

Institute for Analytical Instrumentation RAS, Saint-Petersburg

Methacrylate-based stationary phases were prepared in fused-silica capillaries using UV photopolymerization. The percentage of monomers in polymerization mixture has been studied in terms of effect on properties of the final polymer monolith. Compositions of polymerization mixtures and operation parameters for synthesis of capillary porous open-tubular and monolithic columns with required sorbent physical properties have been determined. The features of photopolymerization process conditions and monomer mixture influence on the physical properties of methacrylate sorbents and its reproducibility in synthesis of porous open-tubular and monolithic capillary columns are discussed.

Keywords: sorbent, capillary columns, photopolymerization, confocal laser scanning microscopy