

УДК 543.544.5.068.7

ВЛИЯНИЕ ДАВЛЕНИЯ ПРИ СИНТЕЗЕ НА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МОНОЛИТНЫХ КОЛОНОК НА ОСНОВЕ СОПОЛИМЕРА ДИВИНИЛБЕНЗОЛА, ВИНИЛЭТИЛБЕНЗОЛА И 2-ГИДРОКСИЭТИЛМЕТАКРИЛАТА

К.Н. Смирнов, И.А. Дьячков, А.В. Пирогов, О.А. Шпигун

(кафедра аналитической химии; e-mail: smirnov-const@yandex.ru)

Синтезированы и использованы для разделения смеси низкомолекулярных ароматических соединений монолитные колонки на основе сополимера дивинилбензола (ДВБ), винилэтилбензола (ВЭБ) и 2-гидроксиэтилметакрилата (ГЭМА). Монолиты получали термоинициируемой свободнорадикальной полимеризацией внутри стальных трубок размером 100×4,3 мм. Для того чтобы компенсировать усадку полимера в ходе синтеза и предотвратить отрыв монолита от стенки колонки, полимеризацию проводили под давлением азота. Избыточное давление варьировали от 0 до 9 бар. Показано, что синтез под давлением позволяет улучшить форму хроматографических пиков и эффективность колонок по сравнению с синтезом в закрытой трубке. При этом оптимальное давление для монолитов на основе поли(ДВБ–ВЭБ–ГЭМА) составляет 3 бар. Эффективность колонки, полученной под давлением 3 бар, составляет 13500 ГТ/м по пику пропилбензола ($k' = 6$) и 38300 ГТ/м по пику урацила ($k' = 0$).

Ключевые слова: монолитная колонка, дивинилбензол, 2-гидроксиэтилметакрилат, ВЭЖХ.

Монолитные диски и капиллярные монолитные колонки на основе органических полимеров успешно применяют в жидкостной хроматографии для экспрессного разделения смесей биологических макромолекул в режиме градиентного элюирования [1–3]. В то же время синтез полимерных монолитов для изократического разделения смесей низкомолекулярных органических веществ является актуальной задачей, решению которой посвящено большое число работ [4–11]. Другая важная проблема – получение высокоэффективных полимерных монолитных колонок стандартного аналитического диаметра (2,0–4,6 мм) [11–13]. Одна из причин, затрудняющих получение таких колонок, – усадка монолитного стержня в процессе полимеризации, ведущая к образованию неоднородностей в месте контакта полимера со стенкой колонки [1]. Для того чтобы компенсировать усадку, авторы [14] предложили проводить синтез под давлением.

Недавно нами были получены монолитные колонки размером 150×3 мм на основе сополимера дивинилбензола (ДВБ), винилэтилбензола (ВЭБ) и 2-гидроксиэтилметакрилата (ГЭМА) [15]. Синтез монолитов проводили при постоянном избыточном давлении азота (3 бар). Изучено влияние состава полимеризационной смеси на структуру и хромато-

графические свойства колонок при разделении низкомолекулярных ароматических соединений. Цель данной работы – изучение влияния величины давления при синтезе на свойства поли(ДВБ–ВЭБ–ГЭМА) монолитных колонок.

Экспериментальная часть

Реагенты

Для синтеза монолитов использовали 2-гидроксиэтилметакрилат (97%), технический дивинилбензол (смесь, содержащая 80% 1,3- и 1,4-ДВБ, 20% 1-винил-3-этилбензола и 1-винил-4-этилбензола), додеканол-1 (>98%) как пороген и 2,2'-азо-бис-изобутиронитрил (АИБН, >98%) как инициатор полимеризации (все «Sigma-Aldrich», США). В качестве сорбатов для изучения хроматографических свойств колонок использовали урацил (≥99%), нитробензол (>99%), этилбензол (≥99%), пропилбензол (98%) (все «Sigma-Aldrich», США), толуол («х.ч.») («Реахим», Россия), пиридин («ч.д.а.») и бензол («ч.д.а.»). В качестве органического модификатора подвижной фазы (ПФ) использовали ацетонитрил («для градиентной ВЭЖХ») («Panreac», Испания). Все вещества применяли без дополнительной очистки. Для хроматографических экспериментов готовили растворы, содержащие 40–50 мг/л урацила, 500 мг/л нитробензола и по

1000 мг/л пиридина и алкилбензолов в смеси воды и ацетонитрила того же состава, что и подвижная фаза.

Получение монолитных колонок

Монолиты синтезировали термоиницируемой свободнорадикальной полимеризацией под давлением азота внутри стальных трубок длиной 100 мм и внутренним диаметром 4,3 мм («Ленхром», Россия). Поскольку в ходе синтеза происходит уменьшение объема полимеризационной смеси, к основной колонке присоединяли предколонку таких же размеров (это осуществляли также для того, чтобы уменьшить влияние границы раздела между газовой фазой и жидкостью на структуру монолита). Полимеризационную смесь, содержащую 5,6 мас.% ГЭМА, 32,5 мас.% ДВБ, 61,9 мас.% додекана-1 и 1% (от массы мономеров) АИБН, в течение 10 мин продували азотом для удаления растворенного кислорода. Далее колонку и предколонку заполняли смесью, через капилляр соединяли с баллоном с азотом и помещали в вертикальном положении в водный термостат, нагретый до 60°C. Синтез проводили в течение 22 ч. Давление варьировали от 0 до 9 бар (избыток над атмосферным давлением). После синтеза колонку охлаждали в течение 20 мин до 30–40°C, удаляли излишек полимера из предколонки и отсоединяли предколонку от основной колонки. Далее монолит промывали 25 мл ацетонитрила. Элюат анализировали для определения конверсии мономеров.

Аппаратура и методы исследования

Конверсию мономеров определяли газовой хромато-масс-спектрометрией, как описано в работе [15]. Хроматографические свойства полученных колонок изучали на хроматографе «Agilent 1200» («Agilent», Германия), снабженном насосом с дегазатором подвижной фазы, термостатом колонки, автоматизированной системой ввода пробы и спектрофотометрическим детектором. Все хроматографические данные были исправлены с учетом внеколоночного объема (57 мкл). Значения высоты, эквивалентной теоретической тарелке (ВЭТТ), рассчитывали по формуле [16]:

$$H = L \frac{w_{1/2}^2 - w_{1/2,e}^2}{5,545(t_R - t_e)^2},$$

где H – ВЭТТ, L – длина колонки, t_R – время удерживания вещества, $w_{1/2}$ – ширина пика на половине высоты, t_e и $w_{1/2,e}$ – время удерживания соединения

и ширина пика на половине высоты, соответственно измеренные с переходником нулевого объема, установленным вместо хроматографической колонки. Коэффициенты асимметрии пиков (A) рассчитывали по уравнению:

$$A = w_{0,05}/2a,$$

где $w_{0,05}$ – ширина пика на 5% высоты, a – длина отрезка, отсекаемого фронтом пика и перпендикуляром, опущенным из вершины пика, на 5% высоты. Гидродинамическую проницаемость колонок рассчитывали по уравнению Дарси [1] из тангенса угла наклона зависимости перепада давления на колонке от скорости потока ПФ. Объем пор монолитов определяли гравиметрически и хроматографически. Общую пористость (ε_t) рассчитывали соответственно по формулам:

$$\varepsilon_t, \% = 100 \frac{m_{ACN} - m_{dry}}{\rho_{ACN} V_{col}},$$

где m_{ACN} – масса монолитной колонки, заполненной ацетонитрилом, m_{dry} – масса сухой монолитной колонки, ρ_{ACN} – плотность ацетонитрила, V_{col} – объем пористой стальной трубки, или:

$$\varepsilon_t, \% = 100 V_M / V_{col},$$

где V_M – хроматографический объем удерживания несорбируемого компонента (урацила).

Результаты и их обсуждение

Чтобы изучить влияние давления при синтезе на свойства колонок, монолиты синтезировали внутри стальных трубок. Максимальное избыточное давление (9 бар) было ограничено редуктором на баллоне с азотом. Для синтеза использовали полимеризационную смесь, содержащую 5,6 мас.% ГЭМА, которая позволила в работе [15] получить наиболее эффективную колонку с удовлетворительной гидродинамической проницаемостью. Следует отметить, что, несмотря на отсутствие ковалентной прививки, адгезия полимера к стальной стенке достаточно высока.

Для того чтобы оценить влияние давления при полимеризации на состав образующегося сорбента, после синтеза определяли конверсию мономеров. Как видно из рис. 1, в изученном интервале давлений конверсия мономеров не зависит от давления. Таким образом, можно сделать вывод, что состав синтезированных монолитов практически одинаков.

Важной характеристикой хроматографической колонки является гидродинамическая проницаемость, определяющая перепад давления на колонке при за-

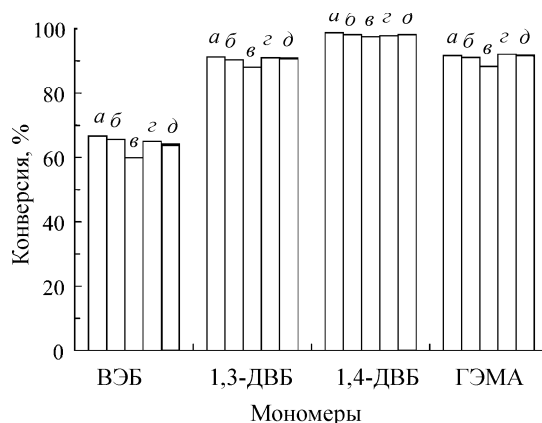


Рис. 1. Зависимость конверсии мономеров от величины избыточного давления азота (бар) при синтезе монолитов: без давления азота (а), 1 (б), 3 (в), 6 (г), 9 (д)

данной скорости потока ПФ. Увеличение давления азота при синтезе от 0 до 9 бар уменьшает проницаемость полученных колонок примерно в 1,5 раза (табл. 1). Это может быть связано как с изменением поровой структуры монолитов, так и с повышением плотности и однородности пристеночного слоя сорбента. Проницаемость колонки, полученной при давлении 3 бар, близка к проницаемости колонки со стеклянным корпусом ($1,8 \times 10^{-14} \text{ м}^2$), синтезированной в аналогичных условиях [15], и эквивалентна проницаемости колонки, заполненной сферическими частицами диаметром 4 мкм.

В табл. 1 также приведены значения общей пористости монолитов, определенные двумя методами. Поскольку хроматографические пики урацила на колонках, полученных без давления азота, были сильно асимметричными, то при хроматографическом определении пористости для расчета мертвого объема

вместо времени удерживания использовали первый статистический момент пика (μ_1):

$$\mu_1 = \frac{\int_0^{\infty} tI(t)dt}{\int_0^{\infty} I(t)dt},$$

где $I(t)$ – зависимость сигнала детектора от времени [1]. Из табл. 1 видно, что значения общей пористости, определенные гравиметрически, существенно выше значений, определенных хроматографически. Это, вероятно, обусловлено различной степенью набухания полимера в чистом ацетонитриле и в водно-ацетонитрильной ПФ, а также с эксклюзией молекул урацила из некоторых микропор, доступных меньшим по размеру молекулам ацетонитрила [15]. Отметим, что значение давления при полимеризации в целом не влияет на общую пористость полученных колонок, однако определенная хроматографически пористость монолита, синтезированного в закрытом корпусе, на 6–7% отличается от пористости монолитов, синтезированных под давлением азота. Это говорит о различии в структуре данных сорбентов.

На рис. 2 представлены хроматограммы смеси низкомолекулярных ароматических соединений на полученных колонках. Хроматографические пики на колонке, полученной без давления азота, имеют сильно асимметричную форму (рис. 2, а), свидетельствующую о существенной неоднородности монолитов, по-видимому, вызванной усадкой полимера в ходе синтеза. Синтез под давлением позволяет улучшить форму пиков (табл. 2). Оптимальное давление для моноли-

Таблица 1

Гидродинамическая проницаемость (k_p) и общая пористость (ϵ) полученных монолитных колонок

Давление азота при синтезе, бар	$k_p, \text{ м}^2 \times 10^{14} *$	$\epsilon, \%$	
		гравиметрия	хроматография**
0	1,9	78	64
1	1,5	77	71
3	1,6	78	71
6	1,4	77	70
9	1,3	77	70

*ПФ – ацетонитрил, **ПФ – вода/ацетонитрил (1:1), температура колонки 25°C.

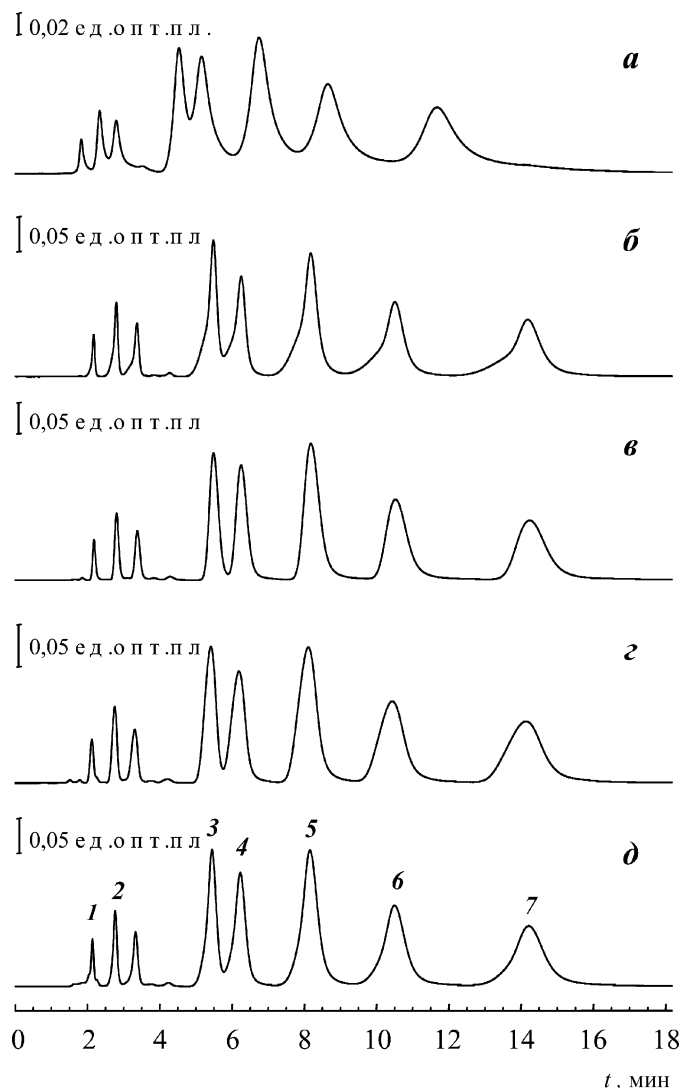


Рис. 2. Хроматограммы смеси ароматических соединений на монолитных колонках ($100 \times 4,3$ мм), полученных синтезом без давления азота (*a*) и под избыточным давлением (бар): 1 (*б*), 3 (*в*), 6 (*г*), 9 (*д*). ПФ – вода/ацетонитрил (4:6), скорость потока 0,5 мл/мин ($u = 0,8-0,9$ мм/с). Температура колонки 25°C. Объем пробы 1 мкл. Пики: урацил (1), пиридин (2), нитробензол (3), бензол (4), толуол (5), этилбензол (6), пропилбензол (7)

тов на основе поли(ДВБ–ВЭБ–ГЭМА) составляет 3 бар (рис. 2, *в*). Меньшего давления, по-видимому, недостаточно для компенсации усадки полимера и образования сорбента с однородной структурой. Колонки, полученные при давлении азота более 3 бар, были неустойчивы в работе. Вероятно, давление выше 3 бар приводит к возникновению в структуре сорбентов напряжений, при релаксации которых в ходе дальнейшей эксплуатации колонки происходит отрыв монолита от стенки. В результате форма пиков ухудшается, эффективность падает.

На рис. 3 приведены факторы удерживания и ВЭТТ для компонентов смеси ароматических соединений на колонке, полученной при давлении азота 3 бар. Для неудерживаемого компонента (урацила) ВЭТТ составляет 26 мкм ($N = 38300$ ТТ/м). С ростом фактора удерживания сорбата эффективность колонки падает, однако при высоких значениях k' снижение эффективности замедляется, и для пропилбензола ($k' = 6$) ВЭТТ не превышает 74 мкм ($N = 13500$ ТТ/м). Рост фактора удерживания на данном монолите, по-видимому, приводит к значительному

Таблица 2

Коэффициенты асимметрии пиков (A) при разделении на полученных монолитных колонках

Давление азота при синтезе, бар	A	
	урацил	толуол
0	2,59	2,50
1	0,79	0,90
3	1,21	1,41
6	1,04	1,26
9	0,91	1,07

Примечание. ПФ – вода/ацетонитрил (1:1), температура колонки 25°C, скорость потока 0,5 мл/мин, объем пробы 1 мкл, фактор удерживания толуола $k' = 6$.

увеличению степени неравновесности хроматографического процесса вследствие медленного диффузионного массопереноса внутри колонки и тем самым уменьшает эффективность.

Для проведения экспрессных хроматографических разделений помимо высокой гидродинамической проницаемости, позволяющей использовать высокие скорости потока ПФ при умеренном давлении в хроматографе, необходимо, чтобы эффективность колонки также оставалась высокой при больших скоростях. На рис. 4 приведены зависимости ВЭТТ колонки, синтезированной при 3 бар, от хроматографической линейной скорости ПФ (кривые Ван Деемтера) для неудерживаемого компонента (урацила) и сильноудерживаемого толуола ($k' = 6$). Максимальная скорость была ограничена давлением в хроматографе 100 бар, выше которого монолиты механически неустойчивы. ВЭТТ были рассчитаны из хроматограмм раствора, содержащего урацил и толуол, полученных при последовательном увеличении, снижении и снова увеличении скорости потока ПФ. Относительное стандартное отклонение ВЭТТ, определенных из трех вводов пробы, не превышает 5% для урацила и 4% для толуола, что говорит о стабильности колонки при эксплуатации. Как видно из представленных зависимостей, эффективность полученной в данной работе колонки слабо меняется при возрастании скорости от 0,5 до 2 мм/с, и для толуола ВЭТТ равна 72 мкм ($N = 13900$ ТТ/м) при 2 мм/с. По сравнению с поли(ДВБ–ВЭБ–ГЭМА) колонкой со стеклянным корпусом размером 150×3 мм, полученной нами ранее (рис. 4, кривые 1, 3), кривые Ван Деемтера колонки со стальным

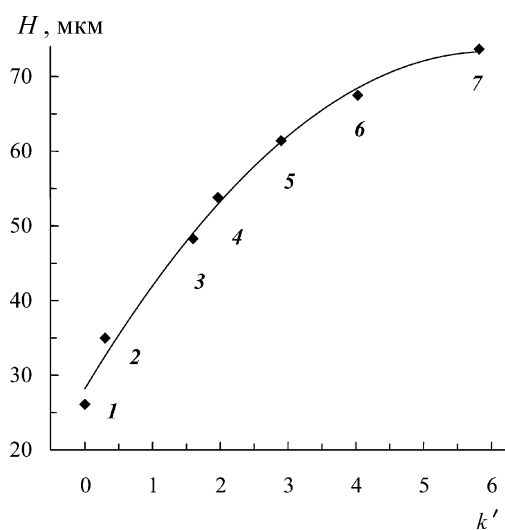


Рис. 3. Зависимость ВЭТТ (H) от фактора удерживания вещества (k') для колонки, полученной под давлением азота 3 бар. Условия разделения приведены на рис. 2. Нумерация точек соответствует нумерации компонентов на рис. 2

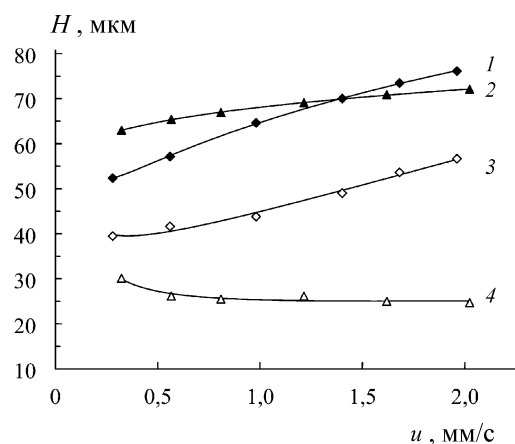


Рис. 4. Зависимость ВЭТТ (H) толуола (1, 2) и урацила (3, 4) от хроматографической линейной скорости ПФ (u) для поли(ДВБ–ВЭБ–ГЭМА) колонок со стальным корпусом размером 100×4,3 мм (2, 4) и со стеклянным корпусом размером 150×3 мм (1, 3) [15], полученных синтезом под давлением азота 3 бар. ПФ – вода/ацетонитрил (1:1). Температура колонки 25°C. Объем пробы 1 мкл. Фактор удерживания толуола $k' = 6$

корпусом (100×4,3 мм) имеют более пологую форму, и для несорбируемого компонента в последнем случае эффективность значительно выше во всем диапазоне скоростей. Очевидно, различие в размерах, теплопроводности и химии поверхности использованных для синтеза стальных и поверхностно-модифицированных стеклянных трубок влияет на структуру образующегося монолита и, следовательно, на эффективность хроматографической колонки.

Таким образом, в данной работе показано, что давление при синтезе монолитных колонок стандартного аналитического диаметра является важным параметром, небольшое изменение которого существенно влияет на хроматографические характеристики

колонок. Установлено, что синтез под давлением азота 3 бар позволяет получать внутри стальных трубок размером 100×4,3 мм монолиты на основе поли(ДВБ–ВЭБ–ГЭМА) с эффективностью до 38300 ТТ/м при разделении низкомолекулярных органических веществ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 10-03-00215-а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Guiochon G. // J. Chromatogr. A. 2007. **1168**. N 1–2. P. 101.
2. Svec F. // J. Chromatogr. A. 2010. **1217**. N 6. P. 902.
3. Vlakh E.G., Tennikova T.B. // J. Chromatogr. A. 2009. **1216**. N 13. P. 2637.
4. Urban J., Svec F., Frechet J.M.J. // J. Chromatogr. A. 2010. **1217**. N 52. P. 8212.
5. Nischang I., Teasdale I., Bruggemann O. // J. Chromatogr. A. 2010. **1217**. N 48. P. 7514.
6. Lubbad S.H., Buchmeiser M.R. // J. Chromatogr. A. 2010. **1217**. N 19. P. 3223.
7. Nesterenko E.P., Nesterenko P.N., Connolly D., Lacroix F., Paull B. // J. Chromatogr. A. 2010. **1217**. N 14. P. 2138.
8. Greiderer A., Trojer L., Huck C.W., Bonn G.K. // J. Chromatogr. A. 2009. **1216**. N 45. P. 7747.
9. Xu Z., Yang L., Wang Q. // J. Chromatogr. A. 2009. **1216**. N 15. P. 3098.
10. Викторова Е.Н., Канатьева А.Ю., Королев А.А., Курганов А.А. // Журн. физич. химии. 2007. **81**. № 3. С. 507.
11. Матусова С.М., Иванова К.И., Дьячков И.А., Смоленков А.Д., Пирогов А.В., Шпигун О.А. // Изв. АН. Сер. химич. 2008. № 12. С. 2503.
12. Trojer L., Lubbad S.H., Bisjak C.P., Wieder W., Bonn G.K. // J. Chromatogr. A. 2007. **1146**. N 2. P. 216.
13. Mayr B., Holzl G., Eder K., Buchmeiser M.R., Huber C.G. // Anal. Chem. 2002. **74**. N 23. P. 6080.
14. Allington R.W., Xie S., Jiang T., Xu M. US patent application 2008/0179773 A1 (2008).
15. Smirnov K.N., Dyatchkov I.A., Telnov M.V., Pirogov A.V., Shpigun O.A. // J. Chromatogr. A. 2011. **1218**. N 30. P. 5010.
16. Gritti F., Guiochon G. // J. Chromatogr. A. 2007. **1169**. N 1–2. P. 125.

Поступила в редакцию 31.01.2011

THE INFLUENCE OF THE SYNTHESIS PRESSURE ON THE CHROMATOGRAPHIC PROPERTIES OF POLY(DIVINYLBENZENE-CO-ETHYLVINYLBENZENE-CO-2-HYDROXYETHYL METHACRYLATE) MONOLITHIC COLUMNS

K.N. Smirnov, I.A. Dyatchkov, A.V. Pirogov, O.A. Shpigun

(Division of Analytical Chemistry)

Monolithic columns based on copolymer of divinylbenzene (DVB), ethylvinylbenzene (EVB) and 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) were prepared and applied to the separation of low-molecular-weight aromatic compounds. The monoliths were synthesized via thermally initiated free-radical polymerization in confines of stainless steel tubes with dimensions of 100×4,3 mm. In order to compensate for the polymer shrinkage during the synthesis and prevent the monolith from detachment from the column wall, the polymerization was conducted under nitrogen pressure. The excess pressure was varied from 0 bar to 9 bar. The synthesis under pressure was shown to improve the peak shapes and column efficiency in comparison with the synthesis in the closed tube. The optimum pressure for poly(DVB-co-EVB-co-HEMA) monoliths was found to be 3 bar. The efficiency of the column obtained at 3 bar is 13500 plates/m for propylbenzene ($k' = 6$) and 38300 plates/m for uracil ($k' = 0$).

Key words: monolithic column, divinylbenzene, 2-hydroxyethyl methacrylate, HPLC.

Сведения об авторах: Смирнов Константин Николаевич – аспирант кафедры аналитической химии химического факультета МГУ (smirnov-const@yandex.ru); Дьячков Иван Александрович – мл. науч. сотр. кафедры аналитической химии химического факультета МГУ (ivan_d99@mail.ru); Пирогов Андрей Владимирович – вед. науч. сотр. кафедры аналитической химии химического факультета МГУ, докт. хим. наук (pirogov@analyt.chem.msu.ru); Шпигун Олег Алексеевич – профессор кафедры аналитической химии химического факультета МГУ, чл.-корр. РАН, докт. хим. наук (shpigun@analyt.chem.msu.ru).