

**Маерле Кирилл Владимирович**

**СВЕРХСШИТЫЙ ПОЛИМЕР НА ОСНОВЕ ВИНИЛПИРИДИНА В КАЧЕСТВЕ  
СТАЦИОНАРНОЙ ФАЗЫ  
В КАПИЛЛЯРНОЙ ЭЛЕКТРОХРОМАТОГРАФИИ**

Специальность 05.11.11 – **Хроматография и хроматографические  
приборы**

**Автореферат**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата химических наук

Москва – 2009

Работа выполнена в лаборатории стереохимии сорбционных процессов  
Учреждения Российской академии наук Институт элементоорганических  
соединений имени А.Н. Несмеянова РАН.

**Научный руководитель:** доктор химических наук, профессор  
**Даванков Вадим Александрович**

**Официальные оппоненты:** доктор химических наук, профессор  
**Карцова Людмила Алексеевна**  
СПбГУ, г. Санкт-Петербург

доктор химических наук  
**Курганов Александр Александрович**  
ИНХС РАН, Москва

**Ведущая организация:** химический факультет Московского  
государственного университета им. М.В.  
Ломоносова

Защита диссертации состоится «15» декабря 2009 г. в 15 часов 30 минут на  
заседании диссертационного совета Д 002.259.04 при Учреждении  
Российской академии наук Институте физической химии и электрохимии им.  
А.Н. Фрумкина РАН по адресу: 119991, ГСП-1, г. Москва, Ленинский  
проспект, д. 31, корп. 4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Учреждения Российской  
академии наук Института физической химии и электрохимии им. А.Н.  
Фрумкина РАН, г. Москва, Ленинский проспект, д. 31, корп. 4.

Автореферат размещен на сайте ИФХЭ РАН: <http://phyche.ac.ru>

Автореферат разослан «\_\_» ноября 2009 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета Д 002.259.04

кандидат химических наук

Коломиец Л.Н.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Капиллярная электрохроматография (КЭХ) - относительно новый метод в аналитической химии, хотя принцип этого процесса был опубликован около 40 лет назад. С развитием приборостроения интерес к этому методу возрастал, и основной объём информации представлен в публикациях последних десяти лет. На сегодняшний день метод КЭХ освоен настолько, что организован промышленный выпуск специализированных приборов и разнообразных капиллярных аналитических колонок, к этим приборам предлагаются стандартные методики измерений.

Капиллярная электрохроматография – гибридный метод, сочетающий в себе принципы капиллярного электрофореза (КЭ) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). В этом методе движение подвижной фазы через колонку создается за счет приложенного вблизи концов капилляра электрического поля вследствие явления электроосмоса, а разделение аналитов происходит как вследствие различия в их электрофоретической подвижности, так и вследствие их различного взаимодействия со стационарной фазой. Круг объектов, анализируемых методом КЭХ, достаточно широк. В спектр определяемых компонентов входят не только неорганические и органические ионы, но и нейтральные органические молекулы, олигомеры, белки, нуклеиновые кислоты.

Капиллярная электрохроматография имеет ряд принципиальных достоинств по сравнению с другими хроматографическими методами: малый расход реагентов и растворителей, отсутствие насосов высокого давления и простота управления потоком подвижной фазы с помощью изменяемого напряжения, высокая скорость разделений. Все это стимулирует продвижение КЭХ в практику аналитических работ и подогревает интерес приборостроительных фирм к совершенствованию специализированного оборудования.

**Актуальность темы.** Капиллярная колонка является основной частью системы КЭХ. Содержащаяся в ней неподвижная фаза должна иметь заряд, обеспечивать плоский профиль перемещения подвижной фазы при достаточно высокой скорости электроосмотического потока (ЭОП), а также создавать условия для достаточно

интенсивного взаимодействия аналитов с неподвижной фазой при минимальном размытии хроматографических зон аналитов. Предложенные на сегодняшний момент колонки еще далеки от совершенства и не обеспечивают ожидаемой эффективности разделений. Поэтому разработка новых типов колонок является самой актуальной проблемой развития КЭХ. Все колонки для КЭХ можно разделить на три типа: полые колонки – в них стационарной фазой являются модифицированные стенки капилляра, набивные колонки - роль стационарной фазы играют микросферы, заполняющие капилляр, и монолитные колонки, где стационарная фаза – пористый полимерный монолитный материал (монолит). Полые колонки обладают недостаточной сорбционной емкостью, а набивные крайне сложны в изготовлении. Монолиты признаются самым перспективным видом стационарной фазы в КЭХ главным образом из-за простоты их изготовления, надёжности в работе и хороших хроматографических характеристик, таких как ёмкость, селективность и эффективность разделения.

Однако, несмотря на большой интерес к практическому использованию КЭХ, среди полимерных органических стационарных фаз широко представлены только два типа полимеров: полистирольный и полиметакрилатный. Получение и изучение свойств новых ионогенных сорбционных материалов – комплекс наиболее актуальных задач, стоящих перед исследователями и практиками в области КЭХ.

**Цель и задачи исследования.** Целью настоящей диссертационной работы является разработка нового типа стационарной фазы для КЭХ на основе полимерной матрицы пиридиновой природы, разработка простых и удобных методов получения монолитов и нанесения пористых полимерных покрытий на внутренние поверхности капилляра, исследование свойств капиллярных колонок с новыми стационарными фазами, а также выявление аналитических возможностей новых стационарных фаз с использованием различных тестовых смесей.

Конкретные задачи исследования включали следующие этапы:

- Разработка метода синтеза капиллярных колонок с монолитной стационарной фазой на основе гидрофильного свёрнутого полимера - продукта взаимодействия 4-винилпиридина и 1,4-бис-(бромметил)-бензола.

- Выявление потенциальных возможностей формирования электроосмотического потока полимерным анионообменным материалом в колонке в условиях КЭХ.
- Апробация полученных колонок в режиме КЭХ с использованием тестовых смесей анализируемых компонентов и выявление хроматографического вклада в разделение компонентов анализируемой пробы.
- Изучение возможности создания пористых полимерных слоев на внутренней поверхности капилляров.
- Разработка методов ковалентного закрепления поливинилпиридиновых стационарных фаз в кварцевом капилляре.
- Изучение зависимости хроматографических характеристик колонок от величины приложенного электрического напряжения и состава электролита.

**Научная новизна работы.** Сверхсшитый полимерный материал как продукт взаимодействия 4-винилпиридина и 1,4-бис-(бромметил)-бензола был впервые получен Павловой и Даванковым в 2004 году. Проведённые предварительные эксперименты показали, что ионообменные хроматографические колонки на основе этого полимера уступают по своей эффективности оптимизированным фазам на основе полистирольных матриц. Появление доступных отечественных приборов для капиллярного электрофореза позволило нам впервые применить новый полимерный материал на основе винилпиридина в качестве монолитной стационарной фазы в режиме капиллярной электрохроматографии.

В отличие от всех капиллярных монолитов, описанных ранее в литературе, этот продукт имеет высокую плотность положительных зарядов в виде четвертичных пиридиниевых групп и, кроме того, является первым гидрофильным высокоосновным анионообменником сверхсшитой пространственной структуры.

**Практическая значимость работы.** Простота одностадийного процесса образования монолитной анионообменной полимерной фазы внутри капилляра с использованием недорогих и доступных исходных соединений позволяет создавать дешевые аналитические колонки для КЭХ. Высокая плотность положительных зарядов в матрице полимера и независимость заряда четвертичных аммонийных групп от рН электролита позволяют создавать значительные электроосмотические

потоки подвижной фазы при относительно малых величинах приложенного электрического поля, что повышает надежность и безопасность эксплуатации прибора. Показана высокая хроматографическая эффективность монолитных фаз – до 180000 т.т./м, что позволяет работать с короткими колонками и ускоряет процесс анализа. Показана возможность разделения как заряженных аналитов, так и нейтральных молекул. Все эти факторы указывают на практическую перспективность аналитических применений новых монолитных стационарных фаз в режиме КЭХ.

**На защиту выносятся следующие положения:**

- Методы создания внутри капилляра монолитных стационарных фаз с высокой плотностью положительных зарядов.
- Закономерности электроосмотических явлений в изучаемой системе в зависимости от приложенного напряжения и типа и концентрации фонового электролита.
- Результаты разделения модельных смесей заряженных и нейтральных аналитов в режиме КЭХ.
- Метод создания пористых поливинилпиридиновых покрытий внутренней поверхности кварцевого капилляра.
- Методы ковалентного связывания полимера винилпиридинового типа с поверхностью кварцевых капилляров.

**Апробация работы.** Результаты работы были представлены на Всероссийском симпозиуме «Хроматография и хромато-масс-спектрометрия» (Москва-Клязьма, 2008 г.), XVI Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2009» (Москва, 2009 г.), на Всероссийской конференции «Теория и практика хроматографии. Хроматография и нанотехнологии» (Самара, 2009).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликованы 3 статьи и 3 тезиса докладов.

**Структура и объём работы.** Диссертация состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части, обсуждения результатов, выводов и списка литературы из 104 наименований. Диссертация изложена на 112 страницах машинописного текста.

**Работа выполнена** с 2007 по 2009 год в лаборатории стереохимии сорбционных процессов ИНЭОС РАН.

## ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

### Обзор литературы

Систематизированы сведения о монолитных органических материалах, применяемых в капиллярной электрохроматографии. Рассмотрены основные способы получения монолитных колонок (различные варианты заполнения капилляров, способы проведения реакции полимеризации, ковалентного связывания монолита со стенками капилляра, модифицирования монолитных сорбентов). Выделены факторы, как на стадии получения колонки, так и в условиях аналитического эксперимента, влияющие на хроматографические характеристики колонки. Рассмотрены наиболее важные области применения капиллярной электрохроматографии с органическими монолитными колонками.

### Экспериментальная часть

Монолиты получали непосредственно в полых кварцевых капиллярах с внешним полиимидным покрытием, внутренний диаметр 75 мкм, внешний диаметр 375 мкм, приобретенных в Polymicro Technologies (Phoenix, AZ, USA).

Для синтеза монолитных материалов *in situ* использовали реагенты:

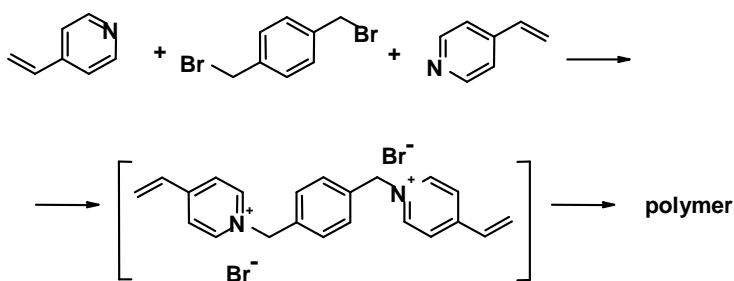
4-винилпиридин (4-ВП), 1,4-бис-(хлорметил)-бензол (пара-ксилилендихлорид, КДХ), 1,4-бис-(бромметил)-бензол (пара-ксилилендибромид, КДБ); растворители: диметилформамид (ДМФА), диметилсульфоксид (ДМСО), толуол; бифункциональные силаны: бромметил-диметил-хлорсилан, 3-бромпропил-трихлорсилан.

Смешение реагентов проводили в ультразвуковой ванне (Псб-Галс, Россия). Термостатирование образцов осуществляли в термостате SNOL 24/200 (Utenos Electrotechnika, Литва). Промывку колонок проводили с помощью хроматографического насоса (СКБ ИОХ РАН, Россия).

Электрохроматографические свойства синтезированных колонок изучали при помощи системы для капиллярного электрофореза «Капель-105» (Люмекс, Россия), оснащенного УФ детектором и системой жидкостного охлаждения колонки.

### Синтез монолитных колонок.

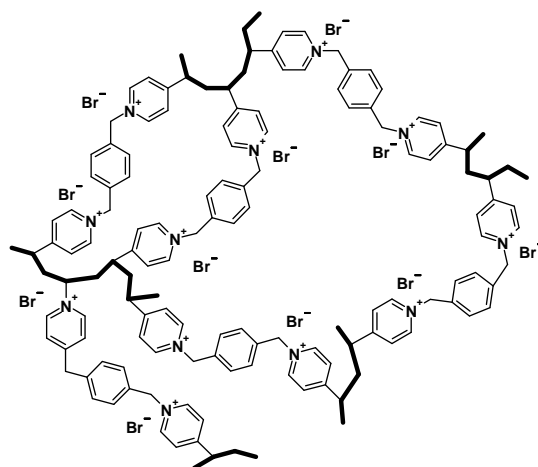
Для получения монолитного материала нами была использована спонтанная полимеризация 4-винилпиридина в процессе его алкилирования галоидалкилами. Применение бифункциональных алкилирующих агентов в этой реакции с 4-ВП открывает широкие возможности для получения полимерных сеток, являющихся высокоосновными анионообменниками. Осуществляя реакцию 4-ВП с бис-галоидалкилами в условиях, отвечающих главным принципам синтеза сверхсшитых сетчатых полимеров (формирование жесткой сетки в присутствии сольватирующего растворителя), удалось получить новый уникальный гидрофильный сверхсшитый материал (рис. 1).



**Рис. 1.** Формирование полимера при взаимодействии 1 моля пара-ксилилен-дибромида с двумя молями 4-винилпиридина.

Полимер (рис. 2) одинаково хорошо набухает как в полярных, так и в неполярных средах. Эта особенность сверхсшитых сеток дает существенные преимущества при практическом использовании такого монолита в колонке или капилляре, позволяя переходить при необходимости от водных сред к органическим, и наоборот, с сохранением высокой проницаемости полимерной фазы.

Взаимодействие двух реагентов 4-винилпиридина и 1,4-бис-(бромметил)-бензола проводится непосредственно в кварцевом капилляре при 60 °С без добавления каких бы то ни было инициаторов. Добавление инертных растворителей (порогенов) к реакционной среде этих последовательно-параллельных реакций алкилирования и полимеризации приводит к получению монолитов с развитой пористой



**Рис. 2.** Структура полимерной сетки

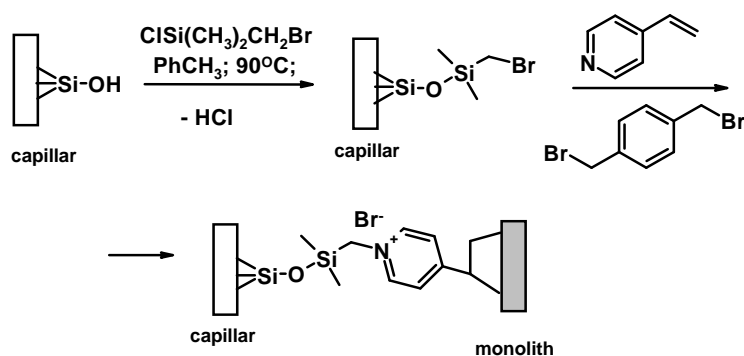


структурой. Отсутствие разлагающихся пероксидных инициаторов в реакционной смеси позволяет избежать формирования пузырьков газа и значительно увеличить срок службы колонки в рабочем режиме.

Спонтанная ионная полимеризация, инициируемая поляризацией молекулы вследствие алкилирования пиридинового азота, не ингибируется стабилизаторами, содержащимися в техническом 4-ВП для подавления радикальной полимеризации. Немаловажно, что реагенты - 4-ВП и пара-ксилилен-дигалоид - являются доступными коммерческими продуктами.

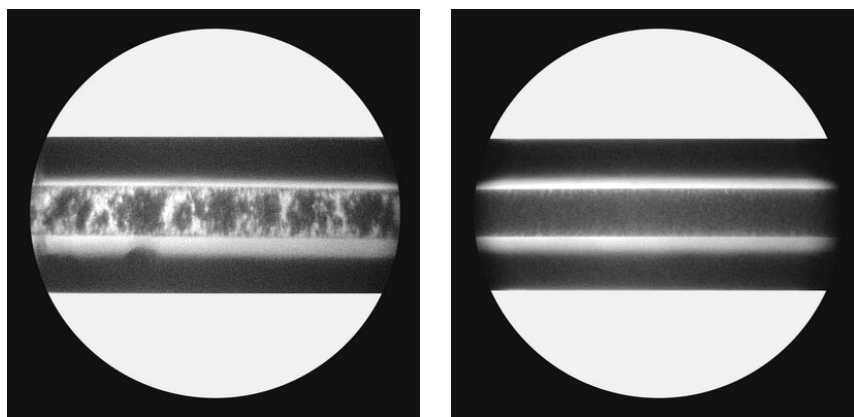
Скорость формирования полимерной сетки легко регулируется. Ее можно увеличивать, вводя избыточное количество 4-ВП или используя более полярные растворители, или замедлять, повышая долю инертного разбавителя в системе. Возможность ускорения или замедления процесса особенно важна при работе с капиллярами. Капилляр легко заполняется раствором - гомогенной подвижной реакционной смесью, которая вскоре теряет текучесть, превращаясь в гель, что облегчает дальнейшие манипуляции с капилляром.

Чтобы избежать экструдирования монолита из капилляра, его ковалентно пришивали к стенкам капилляра. Для этого капилляр предварительно модифицировали бифункциональным силаном, например бромметил-диметил-хлорсиланом, активная бромметильная группировка которого участвует в реакции с 4-ВП по выше описанному механизму, и формирующийся монолит оказывается связан с внутренней поверхностью кварцевого капилляра С-N связью (рис. 3). Из двух испытанных нами бифункциональных силанов: бромметил-диметил-хлорсилан и 3-бромпропил-трихлорсилан, последний обеспечивает более надёжное связывание модификатора и монолита со стенками капилляра.

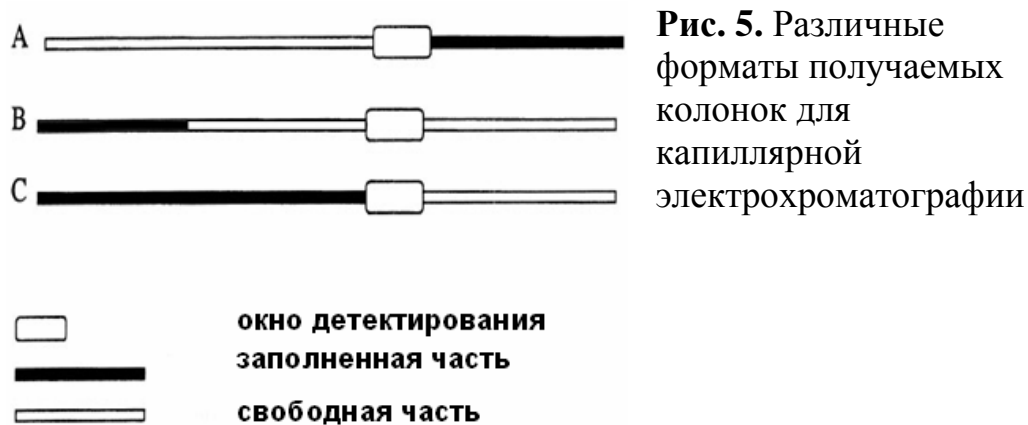


**Рис. 3.** Схема ковалентного закрепления монолита на поверхности кварца

Монолиты, полученные в капиллярах, в зависимости от типа растворителя и присутствия линейного поливинилпиридина в исходном мономере, отличались по морфологическим свойствам. Так, при использовании чистого 4-ВП и ДМСО в качестве растворителя формируется достаточно однородная структура по всей длине капилляра. В других растворителях, например, в ДМФА или его смеси с толуолом наблюдается явно гетерогенная макроструктура, состоящая из прозрачных и непрозрачных зон, четко различаемых под микроскопом. Однако, если брать технический 4-ВП, то в тех же условиях однородность структуры во всем объеме получаемого монолита заметно улучшается (рис. 4). Вероятно, за счет изначального присутствия полимерных цепей в исходной смеси изменяются условия микрофазового распада структурируемой системы.



**Рис. 4.** Влияние качества используемого 4-винилпиридина на однородность получаемого полимерного материала: слева - с очищенным 4-винилпиридином, справа - с техническим, содержащим 1,8 % (вес) полимера ( $M_w = 1000$  кDa).



Так как для работы УФ-детектора требуется свободная часть капилляра, было реализовано несколько вариантов колонок с частичным заполнением капилляра монолитом (рис. 5). Также пробовали выжигать окно детектирования в капилляре, полностью заполненном монолитом, однако, в режиме КЭХ такая колонка работает не стабильно. Скорее всего, это происходит из-за сформировавшихся в результате отжига пузырьков газа, которые практически невозможно полностью удалить из колонки перед проведением аналитического эксперимента.

#### ***Химическая и механическая устойчивость монолитных сорбентов***

Установлено, что монолитный материал проявляет химическую и механическую устойчивость в кислых и нейтральных средах в рабочем диапазоне pH 3-8. После промывки колонки буферными растворами её хроматографические характеристики не изменялись. Монолитный сорбент в условиях КЭХ оказался стабильным и в полярных органических растворителях (диметилформамид, ацетонитрил, ацетон).

Отметим также, что монолитный сорбент проявляет механическую прочность и не смещается в капилляре при промывке колонки под давлением в 50 бар, а также в ходе экспериментов при приложенном напряжении в 15 киловольт.

Колонки с малой длиной монолита проще и надёжнее в эксплуатации.

#### ***Ёмкость монолитного материала***

Описываемый монолитный материал является высокоосновным анионообменником. Определение его ёмкости проводилось замещением одного подвижного противоиона другим, который брался в избытке, с последующим титриметрическим определением количества либо вытесняемого аниона, либо

избытка вытесняющего. В качестве анализируемого объекта использовался модельный полимер в виде гранул 1,0-0,1 мм в диаметре.

Полученные значения обменной ёмкости значительно расходятся для разных экспериментов, но воспроизводятся в пределах 5-10% от абсолютного значения (табл. 1). Все экспериментальные значения оказываются ниже расчётного. Отсюда следует вывод, что практически никогда не происходит полное замещение анионов в структуре монолита. Примечательно, что изменения цвета полимера при изменении рН и/или состава промывающего раствора хорошо воспроизводятся.

**Таблица 1.** Данные по определению ёмкости монолитного материала.

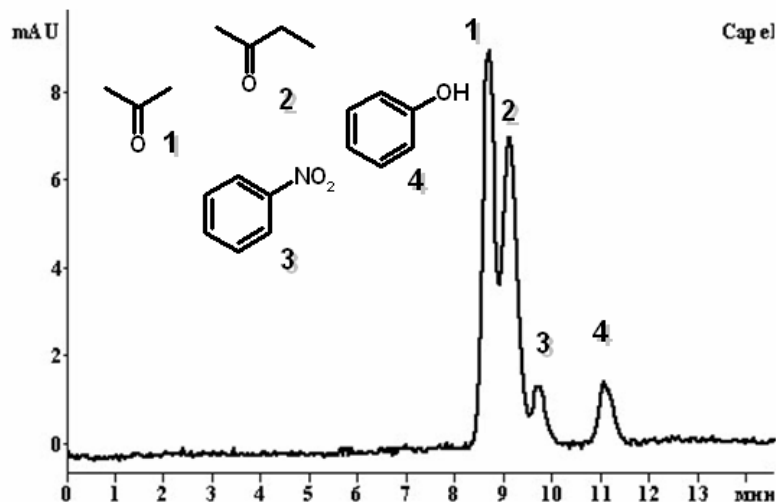
	Замещение	Цвет полимера	Реагент	Ёмкость, ммоль/г	Ёмкость отн. расчетной
1	$RCl \rightarrow ROH$	коричневый	0,85N NaOH	2,28	0,44
2	$RCl \rightarrow RNO_3$	серый	1,00N $NaNO_3$	3,61	0,69
3	$RCl \rightarrow R_2SO_4$	серый	0,56N $Na_2SO_4$	4,09	0,79
4	$ROH \rightarrow RCl$	розовый	1,00N HCl	5,05	0,97
расчет				5,20	1,00

### *Свойства монолитных колонок в КЭХ*

Первым этапом исследований при работе с новым материалом было изучение принципиальной возможности применения данного монолита в КЭХ. В ходе эксперимента определяли генерирование электроосмотического потока (ЭОП) и его силу, стабильность системы по электрическому току, эффективность электрохроматографического разделения компонентов на примере смеси стандартных веществ (рис. 6).

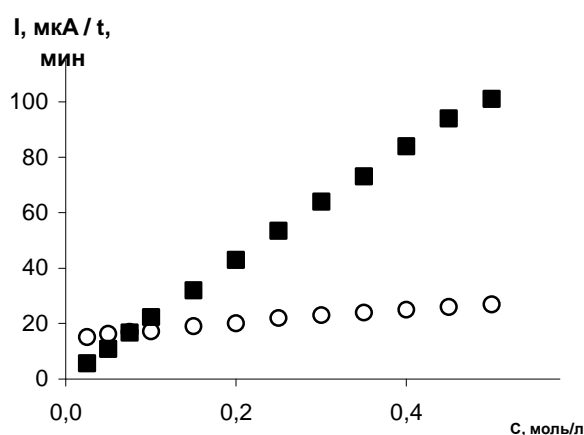
Также изучалась зависимость силы тока и скорости электроосмотического потока от концентрации электролита при постоянном напряжении на концах капилляра. Цель данного эксперимента – определить оптимальный состав электролита, при котором формируется достаточно сильный ЭОП, а сила электрического тока не превышает значений, при которых происходит сильное разогревание колонки и, как

следствие, уширение пиков анализируемых веществ на электрохроматограмме или образование газовых пузырьков.



**Рис. 6.** Хроматограмма первого эксперимента по разделению компонентов модельной смеси в режиме КЭХ

Зависимость силы тока от концентрации электролита прямо пропорциональная, и прямая проходит через начало координат, что вполне закономерно (рис. 7).



**Рис. 7.** Зависимость силы тока (■,  $I$ , мкА) и времени выхода ацетона (○,  $t$ , мин) от концентрации электролита в КЭХ

С другой стороны, наблюдается небольшое увеличение времени выхода ацетона с ростом концентрации фонового буфера, а это свидетельствует об уменьшении скорости электроосмотического потока. Этот эффект отнюдь не очевиден и для его объяснения в диссертации рассматривается влияние нескольких факторов.

Сохранение и даже некоторое возрастание скорости электроосмотического потока при уменьшении концентрации фонового электролита крайне выгодно, так как одновременно с быстрым падением силы тока значительно уменьшается тепловыделение в колонке.

Введение органического растворителя – ацетонитрила в состав электролита, также позволяет значительно уменьшить ток и тепловыделение (рис. 8) и в широком диапазоне варьировать скорость электроосмотического потока (рис. 9).

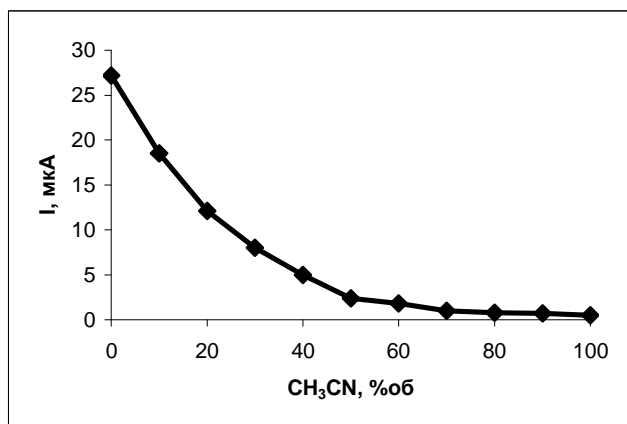


Рис. 8. Зависимость силы тока от доли ацетонитрила в электролите.

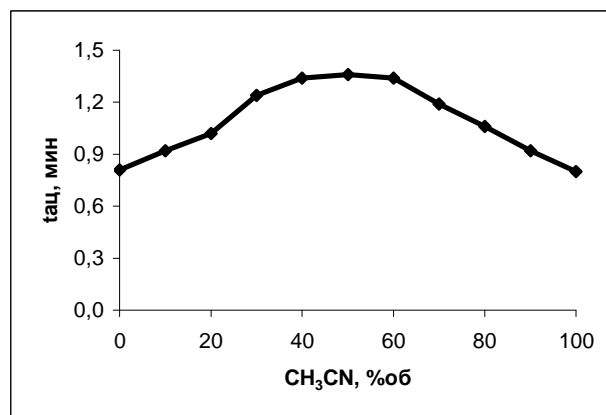


Рис. 9. Зависимость времени выхода ацетона от доли ацетонитрила в электролите.

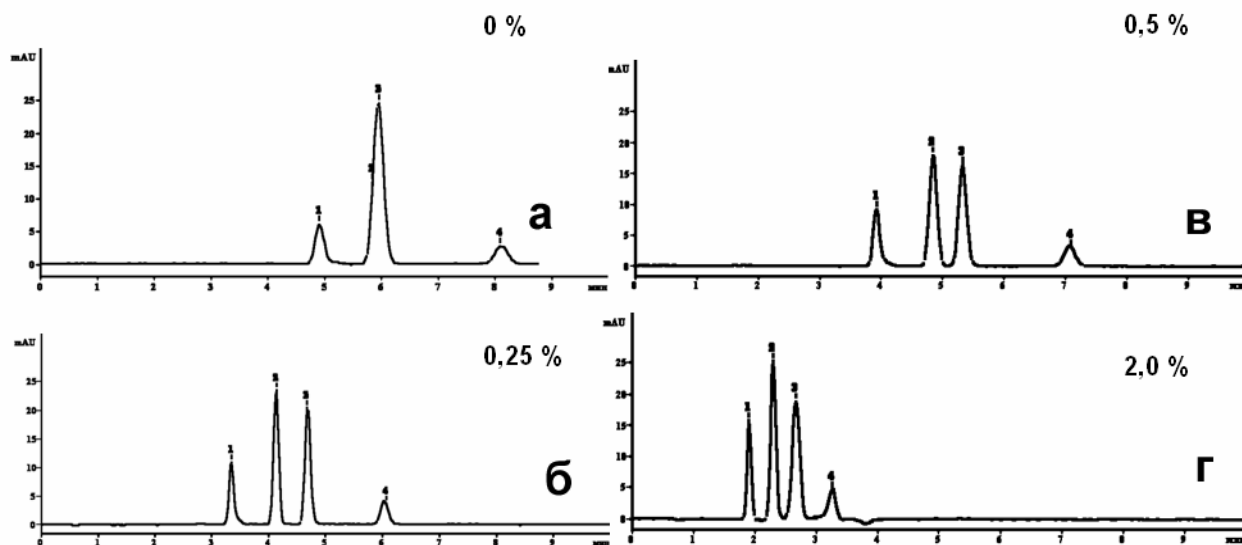
В режиме КЭХ было проведено определение суммарного объема доступных для ацетона пор монолита. Для трех колонок доля порового пространства в монолите составила  $85 \pm 5$  % от объема, занимаемого полимером в капилляре.

### *Анализ многокомпонентной смеси органических веществ*

На втором этапе было изучено влияние природы электролита на хроматографические характеристики разделения смеси органических веществ. В качестве стандартной использовали смесь водных растворов ацетона, тиомочевины, нитробензола и фенола. Эксперимент проводили на колонке с укороченной монолитной фазой длиной всего пять сантиметров. Эта колонка с использованием в качестве электролита 1М уксусной кислоты не позволила разделить все компоненты исследуемой смеси. Тиомочевина и нитробензол выходили одним пиком между пиками ацетона и фенола (рис. 10 а).

Результат разделения заметно улучшился при введении в электролит небольшой добавки азотной кислоты (рис. 10). При 0,5 процентной добавке (по объему) 1М азотной кислоты к 1М уксусной кислоте количество теоретических тарелок для той же колонки по пику нитробензола резко возросло до величины 180 000 на метр.

Пики нитробензола и тиомочевины теперь разделяются полностью, при этом время анализа значительно уменьшилось (рис. 10 г).

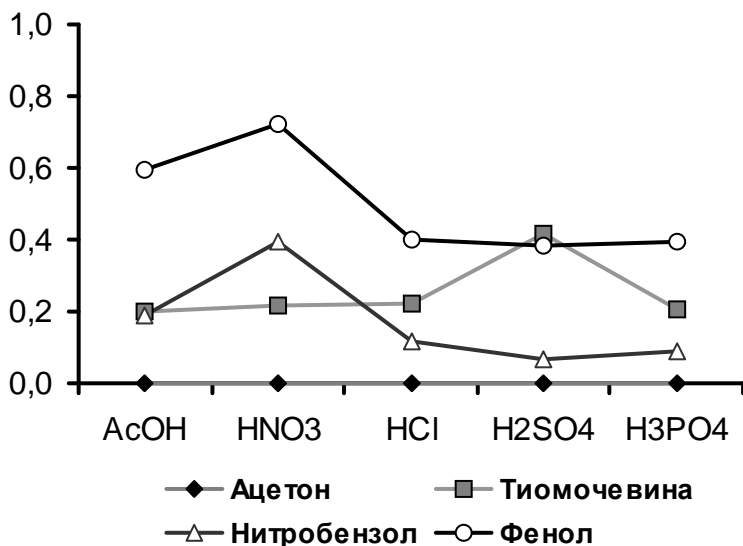


**Рис. 10.** Влияние добавки азотной кислоты к электролиту на основе уксусной кислоты. 1 – ацетон, 2 – тиомочевина, 3 – нитробензол, 4 – фенол.

Колонка:  $L_{\text{общ}} - 30 \text{ см}, L_{\text{мон}} - 5 \text{ см}, L_{\text{эфф}} - 9 \text{ см}.$   
 Электролит: 1 М смесь  $\text{CH}_3\text{COOH} + \text{HNO}_3$  (объем. %)  
 Напряжение: 3 кВ  
 Длина волны: 254 нм

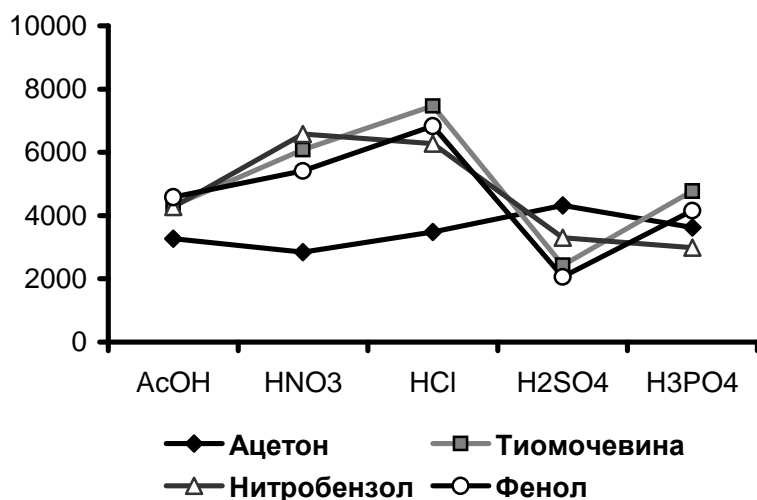
Природа минерального аниона, дополнительно введенного в 1М уксусную кислоту, сильно влияет на удерживание анализируемых веществ полимерным монолитом. При введении в качестве добавки хлоридного аниона вместо нитратного пики нитробензола и тиомочевины также разделяются, но теперь первым из колонки выходит нитробензол. В присутствии сульфат-аниона перекрываются пики фенола и тиомочевины, а нитробензол выходит очень быстро (рис. 11).

Изучение различных композиций электролитных систем на основе органической кислоты (уксусной) с добавками минеральных кислот показало, что небольшие количества нитратных и хлоридных ионов резко увеличивают число теоретических тарелок колонки, т.е. эффективность разделения исследуемых нейтральных органических веществ (рис. 12). При этом необходимость наличия уксусной кислоты обоснована тем, что в её присутствии регистрируемая в ходе эксперимента кривая силы тока характеризуется низким шумом, и тем, что она поддерживает колонку в рабочем состоянии более продолжительный период времени.



**Рис. 11.** Коэффициент емкости стационарной фазы для различных анализируемых веществ.

Электролит: 1М  $\text{CH}_3\text{COOH}$  с добавкой 1Н кислоты (2% по объему)



**Рис. 12.** Число теоретических тарелок колонки ( $L_{\text{мон}} = 5$  см, условия - см. рис 11) при добавлении 2% (объемных) минеральных кислот к 1М уксусной кислоте.

Значительным недостатком монолитной колонки является ее непредсказуемый и зачастую очень непродолжительный срок службы: появление пузырька газа в монолите уменьшает сечение колонки, повышает локальное сопротивление и генерирование Джоулева тепла с неизбежным ростом пузырька и прерыванием электрической цепи. Попытки удалить пузырек прокачиванием жидкости под давлением к успеху не приводят. Единственным эффективным средством борьбы с этим недостатком была бы работа капилляра под постоянным избыточным давлением, однако отечественный прибор «Капель» такой возможности не предоставляет.



## *Полые колонки с поверхностью, модифицированной мономолекулярным и полимерным слоями на основе винилпиридина*

Проблема пузырьков не должна возникать в случае применения полых капиллярных колонок, т.к. образующиеся микропузырьки будут автоматически вымываться электроосмотическим потоком жидкости. Поэтому нами были созданы три полые колонки для капиллярной электрохроматографии с полимерным покрытием, близким по химическому составу рассмотренному выше монолитному материалу на основе винилпиридина. Один из вариантов – создание привитого мономолекулярного слоя алкилированного поли-(4-винилпиридина), два других – прививка наногубок на основе 4-ВП.

Три капилляра предварительно активировались 1М раствором гидроксида калия, а затем подвергались силанизации 3-бромпропил-трихлорсиланом. Способы дальнейшей модификации колонок принципиально различны.

*Колонка А.* Прокачивалась 200 кратным объёмом раствора 4-винилпиридина в толуоле при 60°C в течение 6 часов.

*Колонка Б.* Заполнялась раствором смеси 1,4-бис-(бромметил)-бензола и пятикратного избытка 4-винилпиридина в 30-ти кратном объеме ДМСО и выдерживалась в термостате при 60°C в течение 6 часов.

*Колонка В.* Прокачивалась 200 кратным объёмом раствора того же состава, что и для колонки Б при 60°C в течение 6 часов. Подаваемый раствор с исходной смесью реагентов всё время находился вне термостата при комнатной температуре (18°C).

Полученные колонки промывались последовательно диметилформамидом и 1М раствором уксусной кислоты, укорачивались до одинаковой длины ( $L_{\text{общ}} = 32$  см,  $L_1 = 9$  см,  $L_2 = 23$  см), после чего применялись в капиллярной электрохроматографии.

В колонке А за реакцией алкилирования винилпиридина бромпропильными группами силанового модификатора должна была последовать спонтанная анионная полимеризация винильных групп. В результате поверхность кварца должна быть покрыта стабильным монослоем четвертичного пиридиниевого полимера (т.к.

избыточный неалкилированный винилпиридин в реакцию ионной полимеризации не вовлекается).

В двух других случаях наряду с указанным выше процессом в реакцию алкилирования должен вовлекаться и присутствующий в растворе 1,4-бис-(бромметил)-бензол. Однако, из-за малой концентрации реагентов в реакционной смеси, вместо сплошного монолита во всем объеме колонки, должен образовываться лишь рыхлый полимерный слой, ковалентно связанный с поверхностью капилляра. Причем в колонке В его толщина могла быть больше, чем в колонке Б. Вообще при использованных в этих опытах концентрациях реагентов продуктом реакции являются рыхлые наногубки. Понятно, что по своей химической природе привитые полимерные слои в полых колонках А-В должны быть идентичны рассмотренным выше монолитам.

Сверхсшитые макромолекулы (наногубки) впервые получены в середине 90-х годов Даванковым и сотр. путем внутримолекулярного сшивания индивидуальных полистирольных цепей в очень разбавленных растворах. Нами впервые получены сверхсшитые наногубки гидрофильной природы путем взаимодействия 4-винилпиридина с ксилилендибромидом в разбавленных растворах, т.е. той же самой реакцией, которая в концентрированном растворе дает монолитный полимерный гель. Сверхсшитые наногубки представляют собой сильнонабухающие высокомолекулярные высокопроницаемые структуры, доступные для большинства аналитов по всему своему объему. Это главное и принципиальное отличие такого типа покрытия от других типов полимерных слоев, предложенных для капиллярной электрохроматографии. Полые колонки, модифицированные наногубками, кроме устойчивости против образования пузырей, должны иметь и ещё одно преимущество перед монолитами, суммарная обменная ёмкость которых по отношению к неорганическим и органическим анионам слишком велика. Уменьшение количества полимерного материала в колонке должно улучшить условия разделения анионов без большой потери эффективности разделения смесей нейтральных органических соединений.

Естественно, условия образования наногубок (30-кратное разбавление) необходимо было предварительно определить в отдельной серии экспериментов, в которых количественное соотношение реагентов было таким же, как и при синтезе монолитного материала. Действительно, с увеличением степени разбавления реакционного раствора в ДМСО наблюдался качественный переход от нерастворимых макрогелей (монолитов) через стадию образования микрогелевых частиц к получению одиночных внутримолекулярно сшитых структур различной молекулярной массы. Последние образуются при 30-кратном и большем избытке растворителя. Эти продукты способны растворяться в сольватирующих средах, таких, как вода или ДМСО. Молекулярная масса полученных наногубок определялась методом седиментационного анализа (табл. 2).

**Таблица 2.** Характеристики наногубок, растворимых в воде, по данным седиментационного анализа.

Шифр	Степень разбавления реагентов	Коэффициент диффузии, $D_0$ , см <sup>2</sup> /сек	Константа седиментации, $S_0$ , сек.	Молекулярная масса, Da $\pm 5\%$
А	41	$0.31 \times 10^{-6}$	$13.4 \times 10^{-13}$	400 000*
Б	68	$1,3 \times 10^{-6}$	$10 \times 10^{-13}$	70 000
В	147	$3,2 \times 10^{-6}$	$2.3 \times 10^{-13}$	6 700

\* - обнаружена высокомолекулярная примесь от 1 600 000 до 3 000 000 дальтон

Прививка наногубок к поверхности капилляров и создание подобных рыхлых сверхсшитых полимерных покрытий в литературе не описано.

Все три колонки оказались протекаемыми при приложенном давлении в 1 атм, причем скорость протекания водного электролита лишь незначительно снижалась от колонки А к колонке В. Все три колонки формировали одинаковый электроосмотический поток при наложении внешнего электрического поля (табл. 3). Направление ЭОП к аноду задавалось наличием подвижных анионов в электролите и положительно заряженным стационарным слоем.

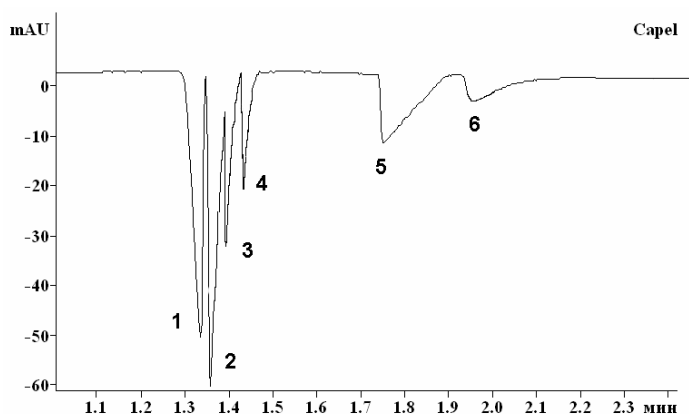
**Таблица 3.** Эксперименты КЭХ с 1М уксусной кислотой в качестве электролита при напряжении +10 кВ.

Колонка	Время детектирования ацетона, мин	Скорость ЭОП, см/сек	Число теоретических тарелок
<i>A</i>	5,34	4,13	5 200
<i>B</i>	5,28	4,21	5 300
<i>B</i>	5,36	4,11	4 800

На колонке *A* в среде 1М уксусной кислоты с прямым детектированием провести разделение смеси неорганических анионов не удалось. Её ионообменная ёмкость слишком мала, и определяемые компоненты либо выходили широким пиком с явной перегрузкой колонки, либо не детектировались совсем. Для повышения чувствительности прибора нами была использована методика с косвенным детектированием анионов на фоне хромат-аниона  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ . Электролит – смесь растворов оксида хрома(VI) и диэтанолamina. Порядок выхода анализируемых анионов (рис. 13) был таким же, как и в стандартной электрофоретической методике, разработанной в компании «Люмекс» (Россия) для измерения концентрации анионов с применением системы «Капель». В последней методике перезарядка поверхности кварца с отрицательной на положительную достигается за счет адсорбции добавляемого катионного ПАВ. В нашем случае внутренняя поверхность капилляра заряжена положительно за счёт ковалентносвязанных пиридиновых групп полимера, поэтому добавления ПАВ в электролит не требуется.

Интересно, что при переходе от электролита на основе раствора уксусной кислоты к электролиту, содержащему дополнительно диэтанолamin, для всех трёх колонок (*A*, *B* и *B*) наблюдалось инвертирование электроосмотического потока, который теперь направлен в сторону катода. При анализе смеси нейтральных органических соединений и неорганических анионов были найдены условия, при которых нейтральные компоненты движутся по направлению электроосмотического

потока, а анионы - против, причем собственная электрофоретическая скорость последних больше скорости ЭОП. Если в этих



**Рис. 13.** Электрофореграмма анализа смеси анионов на колонке А с непрямым дектированием.

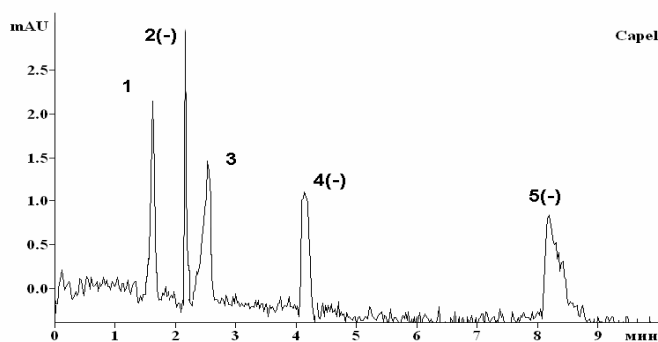
Электролит: 7мМ  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , 40мМ ДЭА,  $\text{CrO}_4^{2-}$ .

Напряжение: -10 кВ

Длина волны: 374 нм

Анионы: 1 - хлорид, 2 – нитрит, 3 – сульфат, 4 – нитрат, 5 – фторид, 6 - фосфат

условиях проводить введение пробы (приложенным напряжением) одновременно с обоих концов колонки, то в ходе анализа на одной электрофореграмме удаётся зафиксировать пики всех компонентов смеси. Нейтральные соединения проходят ячейку детектора по направлению ЭОП к катоду, а анионы - к аноду (рис. 14).



**Рис. 14.** Электрофореграмма перекрёстного анализа на колонке А.

Электролит: 7мМ  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , 40мМ ДЭА

Напряжение: -10 кВ

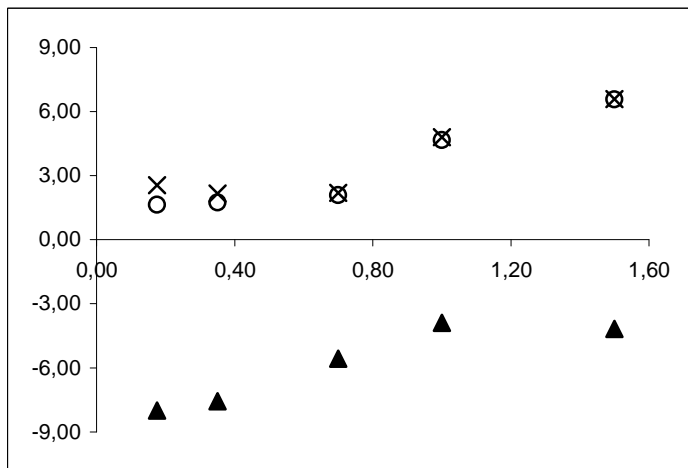
Длина волны: 254 нм

Компоненты\*: 1 - тиомочевина, 2 – нитрит-анион, 3 – фенол, 4 – хромат-анион, 5 – бензойная кислота

\* - знаком «минус» обозначены компоненты, движущиеся против ЭОП.

Времена выхода компонентов анализируемой смеси значительно зависят от рН электролита (рис. 15).

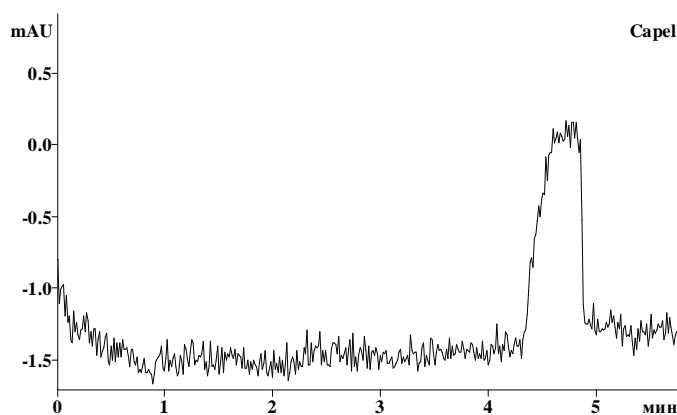
При попытке анализа хромат-анионов  $\text{CrO}_4^{2-}$  в буферном растворе, для всех трёх колонок наблюдалась перегрузка, т.е. на электрофореграмме фиксировался не острый пик компонента, а четырёхугольник с верхним плато, параллельным базовой линии (рис. 16).



**Рис. 15.** Зависимость времён выхода компонентов от мольного соотношения уксусная кислота : диэтаноламин в электролите.

▲ – бензойная кислота\*  
 ○ – тиомочевина  
 x – фенол

\* - время выхода бензойной кислоты взято с отрицательным знаком, так как она двигалась против электроосмотического потока.



**Рис. 16.** Электрофореграмма анализа хромат-аниона на колонке А.

Электролит: 5мМ  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , 40мМ ДЭА  
 Напряжение: -10 кВ

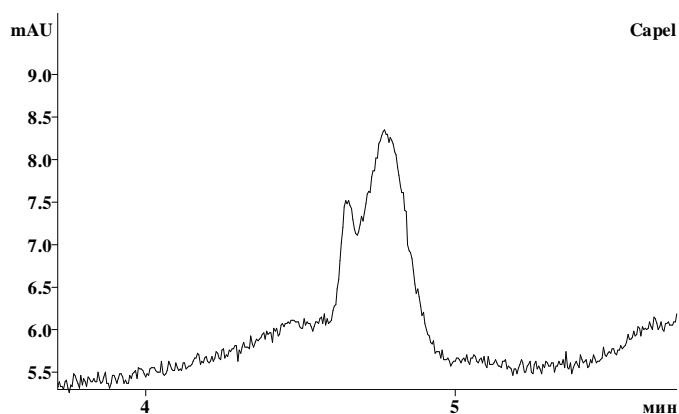
Для колонок Б и В высота верхнего плато больше чем для колонки А, что свидетельствует о их большей ионообменной ёмкости, что косвенно свидетельствует о возрастающей толщине слоя в колонках Б и В (табл. 4).

Колонка	Высота верхнего плато, mAU
А	1,60±20
Б	2,00±20
В	2,80±20

**Таблица 4.** Уровень концентрирования аналита при электрохроматографировании водного раствора оксида хрома (VI) с концентрацией 50 мг/л

Электролит: 5мМ  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , 40мМ ДЭА  
 Напряжение: -10 кВ  
 Длина волны: 254 нм

На колонках *A* и *B* нам не удалось поделить нейтральные органические компоненты. На электрофореграмме, полученной с использованием колонки *B*, пики ацетона и нитробензола начинают частично разделяться (рис. 17). Это свидетельствует о появлении хроматографической составляющей в работе полых колонок при увеличении полимерного слоя на их стенках.



Сарел

**Рис. 17.** Электрофореграмма нейтральных аналитов на колонке *B*.

Электролит: 5мМ  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , 40мМ ДЭА

Напряжение: -10 кВ

1 - ацетон, 2 - нитробензол

## ВЫВОДЫ

1. Впервые разработан метод получения капиллярных колонок с монолитным сорбционным материалом на основе анионообменного сверхсшитого продукта взаимодействия 1,4-бис-(бромметил)-бензола и 4-винилпиридина.
2. Полученные монолитные колонки позволяют в режиме КЭХ проводить эффективное разделение смеси нейтральных и слабокислых органических соединений при длине монолита 2-10 см. Эффективность колонок достигает 180000 т.т./м.
3. Установлено, что ионный состав электролита определяет не только эффективность разделения, но и последовательность выхода анализируемых нейтральных компонентов в режиме КЭХ на монолитной колонке.
4. Впервые получены и исследованы методом седиментационного анализа полимерные наногубки гидрофильной природы на основе продукта взаимодействия 1,4-бис-(бромметил)-бензола и 4-винилпиридина.
5. Предложен метод создания стабильных ковалентно связанных полимерных анионообменных слоев различной толщины в полых капиллярных колонках.
6. Обнаружено инвертирование направления движения электроосмотического потока для полых модифицированных анионообменным полимером колонок при введении диэтанолamina в электролит на основе уксусной кислоты.



## ПУБЛИКАЦИИ

### *Статьи в журналах, рекомендованных ВАК*

1. Павлова Л.А., Маерле К.В., Ильин М.М., Даванков В.А. Новый тип сорбционной фазы на основе N-алкилированного 4-винилпиридина для капиллярной электрохроматографии // Сорбционные и хроматографические процессы. 2008. Т.8. Вып. 5. С. 707-716.
2. Блинникова З.К., Маерле К.В., Цюрупа М.П., Даванков В.А. Особенности разделения минеральных солей методом фронтальной эксклюзионной хроматографии на нейтральном нанопористом сверхсшитом полистироле // Сорбционные и хроматографические процессы. 2009. Т.9. Вып. 3. С. 323-331.
3. Маерле К.В., Павлова Л.А., Даванков В.А. Изучение свойств монолитных колонок на основе 4-винилпиридина и 1,4-бис-(бромметил)-бензола в условиях капиллярной электрохроматографии // Сорбционные и хроматографические процессы. 2009. Т.9. Вып. 4. С. 469-476.

### *Работы, опубликованные в сборниках*

1. Маерле К.В., Даванков В.А., Павлова Л.А. Новый тип монолитной фазы на основе 4-винилпиридина и 1,4-бис-(бромметил)-бензола для капиллярной электрохроматографии // Хроматография и хромато-масс-спектрометрия, Всероссийский симпозиум, Москва-Клязьма, 14-18 апреля 2008. С. 40.
2. Маерле К.В., Павлова Л.А., Даванков В.А. Новый сверхсшитый гидрофильный материал на основе 4-винилпиридина и 1,4-бис-(бромметил)-бензола для капиллярной электрохроматографии // XVI Международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов», Москва, 14-17 апреля, электрон. опт. диск (CD-ROM), раздел «Химия», подраздел «Аналитическая химия», С. 36,
3. Маерле К.В., Павлова Л.А., Даванков В.А. Изучение свойств монолитных колонок на основе поли-(4-винилпиридина), сшитого 1,4-бис-(бромметил)-бензолом для капиллярной электрохроматографии // Теория и практика хроматографии. Хроматография и нанотехнологии, Всероссийская конференция, Самара, 6-10 июля 2009. С. 140.