



Конкурс для школьников «Гениальные мысли» Автореферат проекта призера III степени

Название работы – Монолитные сорбенты на основе сополимеров глицидилметакрилата и этиленгликольдиметакрилата для ТСХ-МАЛДИ.

Автор – Ябланович Анастасия Деяновна (11 класс, СУНЦ МГУ, г. Москва).

Руководитель – Канатьева Анастасия Юрьевна, к.х.н., с.н.с. лаб. хроматографии ИНХС РАН.

Литературый обзор

Монолитные сорбенты – это новое поколение неподвижных фаз, используемых в хроматографических методах анализа.

Первые монолитные сорбенты были созданы в семидесятых годах двадцатого века и представляли собой полиуретановые пены для использования в газовой хроматографии. Однако первые сорбенты оказались механически непрочными и разрушались под действием гидростатического давления, что привело к временной остановке развития этой темы в связи с отсутствием доступных материалов, обладающих необходимыми свойствами. Лишь в 1980-90х годах исследования в области монолитных сорбентов продолжились. На начальных этапах работы с монолитными сорбентами считалось, что они могут быть использованы только для разделения больших органических молекул (например, белков), однако по мере разработки новых видов монолитов, стало возможным их применение и в разделении не очень крупных частиц [1].

Структура монолитных сорбентов отличается от структуры гранулированных сорбентов и в первом приближении может быть представлена как коралл. Если в случае колонки, заполненной гранулированным сорбентом, движение подвижной фазы происходит через межгранульное пространство, размер каналов в котором прямо пропорционально связан с диаметром частиц сорбента, то в случае монолитных сорбентов подвижная фаза фильтруется через поры, диаметр которых не зависит от размеров доменных структур монолитного скелета.

Монолитные сорбенты имеют определенные преимущества перед гранулированными:

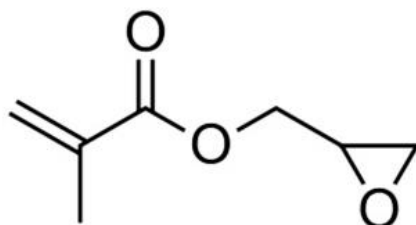
- 1) процесс внутривещного массообмена в них в большей степени управляется конвекцией потока подвижной фазы, а не молекулярной диффузией, характерной для гранулированных или поверхностнослойных сорбентов. Это ускоряет процесс разделения компонентов смеси. В большей степени это характерно для монолитных сорбентов на основе силикагеля, чем для органополимерных монолитов;
- 2) в случае монолитных неподвижных фаз возможно использование более высокой скорости элюента при сохранении удельной эффективности, что сокращает время разделения;
- 3) монолитные сорбенты позволяют относительно легко регулировать структуру пор и химическую природу сорбента в зависимости от конкретных аналитических задач, а также оптимизировать структуру монолита для разделения определенных соединений.

К недостаткам монолитных сорбентов можно отнести следующие их особенности:

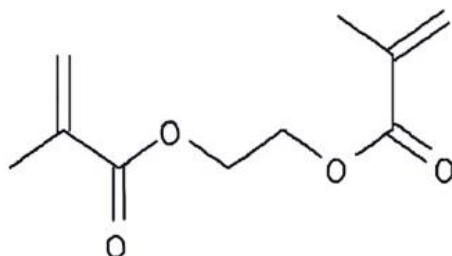
- 1) Невысокая по сравнению с гранулированными сорбентами воспроизводимость

- синтеза полимера;
- 2) Необходимость работы с высокими давлениями при использовании монолитов в газовой хроматографии.

Монолитные сорбенты могут быть синтезированы на основе неорганических веществ (например, силикагеля) и органических веществ. В данной работе мы рассмотрим монолиты на основе органических соединений, а конкретно – сополимеров глицидилметакрилата и этиленгликольдиметакрилата. Структуры этих соединений показаны на рис. 1.



Глицидилметакрилат



Этиленгликольдиметакрилат

Рис.1. Структурные формулы глицидилметакрилата и этиленгликольдиметакрилата

Метакрилаты часто используются в качестве основы для синтеза монолитных стационарных фаз. Это связано с тем, что они могут вступать в реакции как термоиницированной, так и фотоиницированной радикальной полимеризации [2]. Монолитные сорбенты на основе метакрилатных соединений можно использовать при разделении веществ на аналитических капиллярных колонках в режиме жидкостной хроматографии, а также при ионообменной хроматографии после соответствующего модифицирования поверхности.

Синтез любых монолитных сорбентов для колоночной хроматографии включает в себя несколько стадий:

1. Модификация внутренней поверхности будущей колонки для обеспечения ковалентного связывания монолита со стенками трубки или капилляра.
2. Заполнение трубки или капилляра полимеризационной смесью, состоящей из мономера/мономеров, порообразователя и инициатора.
3. Полимеризация.

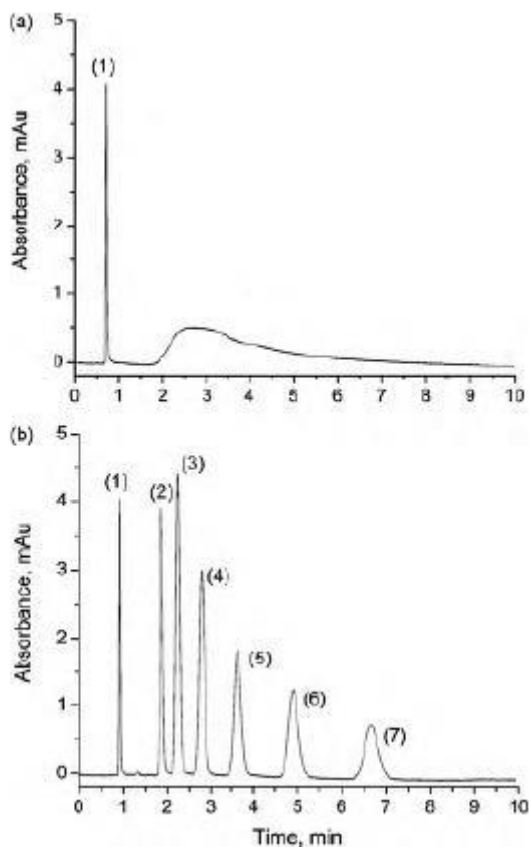


Рис.2. Хроматограммы, полученные при разделении смесей веществ на монолитных сорбентах (на основе бутилметакрилата и этилендиметакрилата), отличающихся продолжительностью процесса полимеризации:
(а) продолжительность полимеризации – 48 часов,
(б) продолжительность полимеризации – 30 минут[2].

Основываясь на описаниях исследований различных рабочих групп, занимающихся изучением монолитных сорбентов, приведем в пример вещества, которые могут быть использованы для синтеза монолитов на основе метакрилатных соединений.

Для того, чтобы подготовить колонку для работы, внутри ее сначала обрабатывают растворами соляной кислоты и гидроксида натрия [2,3]. Это необходимо для того, чтобы активировать ее поверхность. Затем необходимо функционализировать внутреннюю поверхность капилляра для того, чтобы полимер в дальнейшем с ней связался. Для этого в работах были использованы растворы метакрилатных соединений (например, 3-(триметоксисилил) пропилметакрилата) 20% (v/v) в этаноле (pH=5) [2] или 30% (v/v) в ацетоне [3]. Затем колонки заполняют полимеризационной смесью, в состав которой входит мономер, сшивающий агент и порообразователь. В качестве порообразователей обычно используют одноатомные или двухатомные спирты, ароматические соединения, углеводороды. Основное требование к порообразователю – он должен хорошо растворять мономер, однако приводить к выпадению в осадок полимера. После этого запускают процесс полимеризации. В процессе полимеризации монолит ковалентно связывается со стенками колонки. Это создает возможность повышения скорости элюента, так как повышается механическая прочность монолита, а также приводит к отсутствию пристеночного эффекта.

Многими исследованиями было подтверждено то, что на структуру монолитов могут влиять как и химические, так и физические параметры синтеза. Так, например, время

полимеризации смеси может в значительной степени повлиять на эффективность разделения (Рис.2). Хроматограммы на рис. 2. были получены при разделении одинаковых смесей веществ на монолитах, которые различаются только продолжительностью процесса полимеризации.

Помимо колоночной хроматографии монолитные сорбенты также используются и в тонкослойной хроматографии. Преимуществами использования монолитных сорбентов в ТСХ являются более высокая скорость и эффективность разделения, возможность относительно легкого регулирования химической природы и структуры пор монолита [4]. Также ТСХ является единственным методом разделения, который может быть непосредственно состыкован с МАЛДИ МС-детектированием, а использование монолитных пластинок в ТСХ позволит, вероятно, осуществлять безматричную МАЛДИ.

Основываясь на публикациях, посвященных исследованию свойств монолитных сорбентов, рассмотрим процесс синтеза хроматографических пластинок на основе метакрилатных соединений.

Процесс синтеза монолитных пластинок для ТСХ включает в себя две стадии: подготовку стеклянных пластин и синтез монолитного слоя. Стеклянные пластины сначала в течение 30 минут обрабатывают плавиковой кислотой. В результате обработки плавиковой кислотой на поверхности стеклянной пластинки образуется пресс-форма, которая в дальнейшем будет заполнена полимеризационной смесью. После этого их промывают деионизированной водой. Далее следует обработка 0,1 М NaOH (что необходимо для активации поверхности и восстановления гидроксильных групп). После этого следует повторная промывка деионизированной водой и высушивание при температуре 100 °С в течение одного часа [4]. Далее следует процесс силанизации. Процесс силанизации основан на взаимодействии силанизирующего агента с гидроксильными группами. Он необходим для модификации поверхности пластинки и обеспечения дальнейшего связывания с ней полимера. В качестве силанизирующего агента был использован 15% раствор 3-(триметоксисилил)пропилметакрилата в толуоле. Реакция протекает 12 часов при комнатной температуре под алюминиевой фольгой (для предотвращения процесса фотохимической деструкции 3-(триметоксисилил)пропилметакрилата). Далее пластинку промывают толуолом, ацетоном и этанолом и высушивают при 40 °С в течение одного часа [4].

Далее следует сам процесс синтеза монолитного слоя. Он начинается с подготовки полимеризационной смеси, которая состоит из мономера, сшивающего агента, инициатора и порообразователя. Готовой полимеризационной смесью заполняют пресс-форму. После этого приступают непосредственно к процессу полимеризации - пластинку облучают ультрафиолетом в течение 20 минут [4].

Далее пластинку с монолитным слоем промывают растворителем. Из описания исследований различных рабочих групп, можно сделать вывод, что на размер пор и на эффективность разделения влияют как и выбор веществ, так и продолжительность процесса полимеризации [4].

Наряду с хроматографией важнейшим методом исследования веществ является масс-спектрометрия. Сегодня масс-спектрометрия в сочетании с хроматографическим разделением является одним из важнейших инструментов в изучении органических веществ. Масс-спектрометрию долгое время нельзя было применять для исследования больших органических молекул, так как они обладают большой массой и как следствие -

низкой летучестью. Также проблемой было то, что они склонны к фрагментации при электронном ударе, после чего очень сложно определить их первоначальную структуру. Решить данную проблему позволила разработка метода матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (МАЛДИ).

Метод МАЛДИ основан на способности некоторых органических веществ возгоняться при пониженном давлении и поглощении электромагнитного излучения. Такие вещества выполняют функцию матрицы. В качестве матрицы можно использовать, например, 2,5-дигидроксibenзойную кислоту, п-нитроанилин или синапиновую кислоту. Функцию источника электромагнитного излучения, как видно из названия метода, выполняет лазер.

Для того, чтобы провести данный метод анализа, необходимо подготовить кристалл матрицы с включенными в него молекулами анализируемого вещества. Для этого анализируемое вещество вместе с матрицей растворяют в специально подобранном растворителе. Дальше происходит процесс кристаллизации. После этого полученный кристалл вносят в камеру с пониженным давлением, в которой на него действуют лазерным лучом. Молекулы матрицы поглощают излучение лазера, нагреваются и испаряются. Вместе с молекулами матрицы испаряются и молекулы анализируемого вещества. Далее все испарившиеся молекулы под воздействием лазера ионизируются и под действием приложенного электрического поля разгоняются и анализируются детектором.

Основным преимуществом данного метода является то, что он позволяет производить процесс мягкой ионизации, при котором не происходит фрагментация больших органических молекул, которые к ней склонны.

ТСХ является единственным методом разделения, напрямую связанным с МАЛДИ МС. При сочетании ТСХ – МАЛДИ раствор соединения-матрицы наносят непосредственно на пластинку с разделенными компонентами смеси и проводят дальнейший анализ, используя ТСХ пластину в качестве мишени. Использование монолитных сорбентов в ТСХ позволит продвинуться дальше и исключить саму необходимость приготовления и нанесения раствора матричного соединения на хроматографическую пластину, включив необходимые функциональные группы в состав монолита. Это в значительной степени упростит сам метод анализа. Дополнительно это также позволит исключить фоновый сигнал, возникающий при использовании традиционной низкомолекулярной матрицы.

После изучения литературы по теме были сформулированы основные цели и задачи для дальнейшей работы.

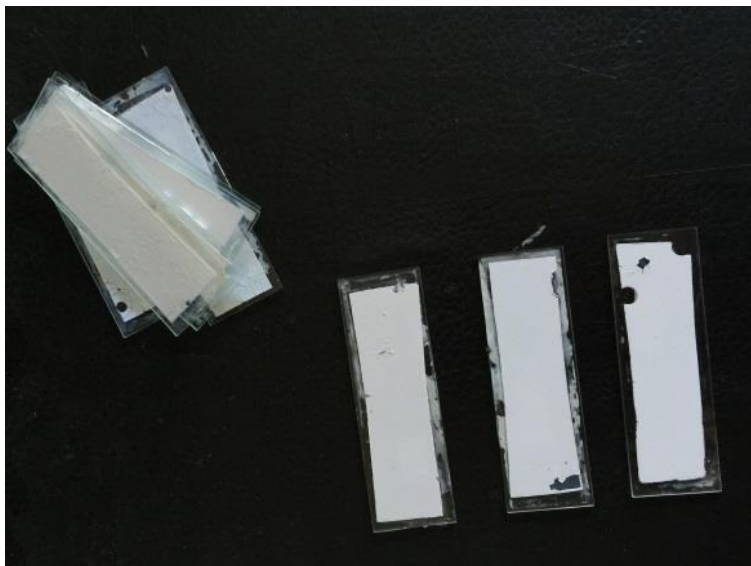


Рис.3. Готовые пластинки для ТСХ на основе сополимеров ГМА-ДМЭГ

Основная идея работы, цели, задачи

Цели:

А) Оценка возможности сочетания ТСХ на пластинках с монолитным сорбентом с МАЛДИ МС-детектированием как с матрицей, так и без

Задачи:

- А) Синтез пластинок для ТСХ с монолитным слоем на основе сополимеров глицидилметакрилата и этиленгликольдиметакрилата
Б) Анализ пластинок в режиме МАЛДИ МС

Основные результаты

В процессе синтеза были использованы следующие реагенты

- 3-(триметоксисил)пропилметакрилат
- Глицидилметакрилат (ГМА)
- Этиленгликольдиметакрилат (ДМЭГ)
- Азобисизобутиронитрил (АИБН)
- Циклогексанол
- Тoluол
- Додеканол

Практическая часть работы состояла из двух частей: синтеза пластинок для ТСХ и анализа в режиме МАЛДИ МС.

1) Синтез пластинок для ТСХ

Синтез пластинок для ТСХ осуществляли в две стадии.

Первой стадией была подготовка поверхности стекла. Сначала поверхность пластинок обрабатывали 0,1 М раствором HCl, затем промывали бидистиллированной водой. После этого следовала обработка 0,1 М NaOH в течение 30 минут. Затем пластинки снова промывали бидистиллированной водой. После подготовки поверхности провели процесс силанизации - обрабатывали поверхность пластинок силанизирующим агентом (3-(триметоксисил)пропилметакрилатом) в течение суток. Далее пластинки были промыты ацетоном.

На второй стадии осуществляли термоиницированный синтез монолита. Для этого подготовили полимеризационные смеси, состоящие из мономеров (ГМА, ДМЭГ), порообразователя (циклогексанол или смесь додеканола и толуола) и инициатора (АИБН). Смеси отличались между собой процентным соотношением мономеров.

Полимеризационную смесь наносили на поверхность стеклянных пластинок. Далее пластинки поместили в термостат. Реакция полимеризации протекала в течение трех часов при температуре 70 °С. После этого пластинки промывали этанолом. Промытые пластинки были готовы для дальнейших анализов (рис 3).

Для оценки возможности использования данных пластин для анализа в режиме МАЛДИ МС в качестве анализируемого вещества были использованы стандартные смеси полиэтиленгликолей.

Выводы, заключение, перспективы

В ходе работы были приготовлены сорбенты на основе различных полимеризационных смесей, отличавшихся между собой процентным соотношением монофункционального и бифункционального мономеров. Состав смесей показан в таблице 1.

Таблица 1. Состав полимеризационных смесей. Обозначения: ГМА – глицидилметакрилат, ДМЭГ – этиленгликольдиметакрилат, АИБН – азобисизобутиронитрил.

Номер смеси	ГМА (%)	ДМЭГ(%)	Порообразователь; %	АИБН (%)
1	24,0	16,0	Циклогексанол; 60,0	1,0
2	19,0	21,0	Циклогексанол; 60,0	1,0
3	14,0	26,0	Циклогексанол; 60,0	1,0
4	9,0	31,0	Циклогексанол; 60,0	1,0
5	4,0	36,0	Циклогексанол; 60,0	1,0
6	-	38,0	Толуол, додеканол;62,0	1,0

Все эти пластинки были исследованы на возможность проведения анализа в режиме МАЛДИ МС.

Проведенные эксперименты показали, что наличие монофункционального мономера (в нашем случае это глицидилметакрилат) в составе полимеризационной смеси является критичным. При его отсутствии не удастся ионизировать даже такие легко взлетающие соединения, как ПЭГи, причем даже при добавлении классических матричных соединений. На рис. 4,5 приведен пример масс-хроматограмм, полученных с использованием пластин на основе сополимера ГМА-ДМЭГ.

Из рисунка 5 видно, что даже при отсутствии внешней матрицы с монолитной пластины удастся поднять ПЭГи с массами до 1200 Дальтон. Полное распределение показано на рисунке 4.

Также были проведены тестовые разделения различных нефтепродуктов (газового конденсата, дизельного топлива) на пластинках с данным сорбентом (рис.6). Однако эффективность их оказалась невелика, поэтому вопрос повышения эффективности разделений – одна из важнейших задач следующих исследований.



Рис.6. Пластика для ТСХ с газовым конденсатом (светящаяся точка) в концентрации 0,125% масс. в УФ.

Эти данные позволяют сформулировать основные выводы, сделанные в ходе работы:

1. Наличие монофункционального мономера в полимеризационной смеси при сочетании ТСХ с МАЛДИ является критичным.
2. При использовании монолитного сорбента на основе сополимеров глицидилметакрилата и этиленгликольдиметакрилата возможно проведение анализа в режиме ТСХ-МАЛДИ без использования матричных соединений.

Список цитированных источников

1. Nischang I. Porous polymer monoliths: morphology, porous properties, polymer nanoscale gel structure and their impact on chromatographic performance //Journal of Chromatography A. – 2013. – Т. 1287. – С. 39-58.
2. Nischang I., Brüggemann O. On the separation of small molecules by means of nano-liquid chromatography with methacrylate-based macroporous polymer monoliths //Journal of Chromatography A. – 2010. – Т. 1217. – №. 33. – С. 5389-5397.
3. Rahayu A., Lim L. W., Takeuchi T. Polymer monolithic methacrylate base modified with tosylated-polyethylene glycol monomethyl ether as a stationary phase for capillary liquid chromatography //Talanta. – 2015. – Т. 134. – С. 232-238.
4. Maksimova E. F., Vlakh E. G., Tennikova T. B. Methacrylate-based monolithic layers for planar chromatography of polymers //Journal of Chromatography A. – 2011. – Т. 1218. – №. 17. – С. 2425-2431.
5. Griesinger H. et al. Stationary phase thickness determines the quality of thin-layer chromatography/matrix-assisted laser desorption and ionization mass spectra of lipids //Analytical biochemistry. – 2014. – Т. 451. – С. 45-47.
6. Lv Y. et al. Preparation of porous styrenics-based monolithic layers for thin layer chromatography coupled with matrix-assisted laser-desorption/ionization time-of-flight mass spectrometric detection //Journal of Chromatography A. – 2013. – Т. 1316. – С. 154-159.
7. Гришин И. Д. Времяпролетная масс-спектрометрия с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией для анализа высокомолекулярных и металлоорганических соединений. Электронное учебно-методическое пособие.- Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет, 2014-49 с.