

Sposób otrzymywania porowatych, monodispersyjnych mikrosfer kopolimerowych do zastosowania jako wypełnienia chromatograficzne.

Przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania porowatych, monodispersyjnych mikrosfer kopolimerowych z monomeru funkcyjnego 4-winylopirydyny i jednego z komonomerów sieciujących z grupy alifatycznych lub aromatycznych estrów metakrylowych, na bazie prekursora - ziarna polimeru liniowego - polistyrenu, syntezowanych w szczególnych warunkach i w określonych ilościach, mających zastosowanie jako wypełnienia chromatograficzne.

Znane z literatury metody syntezy mikrosfer polimerowych monodispersyjnych opierają się w większości na jedno- lub kilkietapowych metodach polimeryzacji, które prowadzone są w obecności prekursora - ziarna polimerowego, najczęściej polistyrenowego, o średnicy około 1 μm , otrzymywanego najczęściej w reakcjach polimeryzacji dyspersyjnej czy emulsyjnej.

Znany z opisu patentowego o n-rze zgł. PCT US 92/01878 sposób otrzymywania porowatych mikrosfer polimerowych o wąskim rozrzucie średnic, polega na polimeryzacji wielokrotnego spęczniania. W przedstawionym procesie, ziarno polimeru podstawowego jest szablonem kształtu i wielkości dla powstających mikrosfer oraz czynnikiem porotwórczym. Dwukrotna absorpcja rozpuszczalnika w pierwszym etapie i monomerów właściwych w etapie drugim, komplikuje i znacznie wydłuża czas syntezy takich mikrosfer porowatych.

Z kolei, metoda znana z opisu patentowego NO 170730, opiera się na polimeryzacji jednokrotnego spęczniania ziarna podstawowego, aż do

otrzymania mikrosfer w zakresie rozmiarów 1-30 μm . W tym przypadku ziarno podstawowe jest polimerem lekko usieciowanym co sprawia, że polimer ten jest nierozpuszczalny w rozpuszczalnikach organicznych, przez co nie jest usuwany ze struktury mikrosfer otrzymywanych na ich bazie. Otrzymywane tą metodą mikrosfery mają wprawdzie wąskie rozrzuty średnic, jednak dla uzyskania dostatecznie rozwiniętej struktury porowatej, konieczne jest dodatkowe zastosowanie rozpuszczalników porotwórczych.

Znana z opisu patentowego o n-rze zgł. PCT/NO00/00297 metoda syntezy monodispersyjnych mikrosfer polimerowych, oparta również na polimeryzacji jednokrotnego spęczniania ziarna podstawowego, jakim może być nieusieciowany polistyren lub poli(metakrylan metylu), prowadzi do uzyskania mikrosfer polimerowych o średnicach 5-100 μm i niezbyt wysokiej wartości powierzchni właściwej S_{Bet} , oscylującej w granicach ok. 100 m^2/g . Dla uzyskania mikrosfer o rozwiniętej strukturze porowatej trzeba więc zastosować rozpuszczalniki porotwórcze.

Monodispersyjne, porowate mikrosfery polimerowe, otrzymywane w/w znanymi sposobami nie znajdują zastosowania jako wypełnienia do kolumn chromatograficznych w wysokosprawnej chromatografii cieczowej.

Znany z opisu patentowego US 5990182 sposób otrzymywania polimerowych wypełnień do chromatografii cieczowej polega na polimeryzacji wielokrotnego spęczniania. Mikrosfery syntezowane są z diakrylanu glikolu etylenowego, który w swojej strukturze nie zawiera polarnych grup funkcyjnych.

Dotychczas szeroko stosowane wypełnienia kolumnowe oparte na kopolimerach styrenu z diwinylobenzenem są niepolarne, co ogranicza ich stosowanie do rozdziału polarnych mieszanin i stosowania wodnych faz ruchomych.

Znany jest również z opisu patentowego PL 216321 sposób otrzymywania porowatych mikrosfer polimerowych wykorzystywanych jako wypełnienia kolumn chromatograficznych. Otrzymywane tym sposobem mikrosfery o szerokim rozkładzie średnic znajdują zastosowanie jako wypełnienia do kolumn chromatograficznych, ale dopiero po przeprowadzeniu modyfikacji chemicznej w kierunku nadania im polarnego charakteru oraz sedymentacyjnego rozdzielenia struktur o określonej

wielkości.

Celem wynalazku było opracowanie prostego sposobu, opartego na polimeryzacji jednokrotnego spęczniania, otrzymywania porowatych, mikrosfer kopolimerowych, o wysokim stopniu usieciowania i monodispersyjnej średnicy ziarna mieszczącej się w zakresie od kilku do kilkunastu μm oraz dużej powierzchni właściwej, nadających się do zastosowania jako skuteczne wypełnienia kolumn chromatograficznych, bez żadnej modyfikacji.

Sposób otrzymywania porowatych monodispersyjnych mikrosfer kopolimerowych z monomeru funkcyjnego w postaci 4-winylopirydyny o wzorze 1 i komonomeru sieciującego z grupy alifatycznych lub aromatycznych estrów metakrylowych, na bazie prekursora - ziarna polimeru liniowego - polistyrenu, według wynalazku charakteryzuje się tym, że w początkowej fazie do wodnego roztworu znanego surfaktanta, np. dodecylosiarczanu sodu, wprowadza się mieszaninę składającą z monomeru funkcyjnego 4-winylopirydyny oraz jednego z monomerów sieciujących - dimetakrylanu glikolu etylenowego o wzorze 2 lub trimetakrylanu trimetylopropanu o wzorze 3, lub 1,4-dimetakryloiloksybenzenu o wzorze 4, lub 1,3,5-trimetakryloiloksybenzenu o wzorze 5, użytych w stosunku molowym do monomeru funkcyjnego w granicach od 1:1 do 1:2 i rozpuszczonych w rozpuszczalniku organicznym, korzystnie toluenie lub chlorobenzenu, w ściśle określonej ilości z zakresu 1,2-2,2 ml rozpuszczalnika na 1g mieszaniny monomerów, a także znanego inicjatora polimeryzacji rodnikowej, np. a,a'-azoizobutyronitrylu, w ilości 3% wagowych w stosunku do ilości mieszaniny monomerów.

W drugim etapie, mieszaninę poddaje się homogenizacji, po czym wprowadza się ziarno polistyrenu o średnicach 2-3 μm i średnim ciężarze cząsteczkowym M_w w granicach 7300-8000 Da, w ilości 0,15g na 1g mieszaniny monomerów. Proces absorpcji monomerów na ziarnie prekursora prowadzi się w temperaturze pokojowej przez 24 godziny, ciągle mieszając, korzystnie przy obrotach 350 rpm, po czym mieszaninę przepłukuje się gazowym azotem i dalej prowadzi polimeryzację na mieszkadle magnetycznym w temperaturze 70°C w ciągu 24 godzin. Uzyskany produkt, znanymi sposobami, odsącza się, oczyszcza

i przeprowadza ekstrakcję polistyrenu tetrahydrofuranem.

Otrzymane mikrosfery kopolimerowe zawierają w swojej strukturze ugrupowania o różnej polarności takie jak, grupy karbonylowe, pierścienie aromatyczne, krótkie łańcuchy alifatyczne oraz atomy azotu z wolnymi parami elektronowymi obecne w pierścieniu 4-winylopirydyny. Obecność wymienionych fragmentów strukturalnych w kopolimerach, nadaje im znacznie bardziej polarny charakter niż kopolimerom styrenu z diwinylobenzenem, co przy stosunkowo małych średnicach monodispersyjnych struktur i dużej powierzchni właściwej, potwierdzonych w analizie fizykochemicznej, wpływa na polepszenie właściwości rozdzielczych wypełnionych nimi kolumn chromatograficznych.

Wynalazek przedstawiono w poniższych przykładach.

Przykład 1. Otrzymywanie mikrosfer kopolimerowych 4VP-1,4DMB

Do kolby stożkowej wprowadzono 250 ml 0,25% roztworu wodnego dodecylosiarczanu sodu SDS, do którego dodano roztwór składający się z 1,2g 4-winylopirydyny (4VP), 2,8g 1,4-dimetakryloiloksybenzenu (1,4DMB), 8,8 ml chlorobenzenu oraz 0,12 g α,α' -azoizobutyronitrylu (AIBN), po czym całość zemulgowano w homogenizatorze. Do emulsji dodano 0,6 g prekursora - ziarna polistyrenowego, umieszczono na mieszadle magnetycznym o stałej szybkości obrotów 350 rpm i przez 24 godziny w temperaturze pokojowej następowało spęcznienie prekursora. Następnie reagenty przepłukano gazowym azotem przez 15 minut, podniesiono temperaturę do 70°C i powadzono reakcję polimeryzacji przez 24 godziny, stosując stałe obroty mieszania na poziomie 300 rpm. Po zakończeniu polimeryzacji otrzymane mikrosfery kopolimerowe - fig.1, odsączono, przemyto gorącą wodą z metanolem i po umieszczeniu w aparacie Soxhleta prowadzono ekstrakcję tetrahydrofuranem.

Przykład 2. Otrzymywanie mikrosfer kopolimerowych 4VP-TRIM

Do kolby z surfaktantem jak w przykładzie 1 wprowadzono roztwór składający się z 0,95 g 4-winylopirydyny (4VP), 3,05 g trimetakrylanu trimetylolopropanu (TRIM), 5 ml toluenu i 0,12 g inicjatora polimeryzacji

rodnikowej (AIBN). Całość zemulgowano w homogenizatorze, dodano 0,6 g ziarna polistyrenowego i pozostawiono do spęcznienia prekursora a następnie poddano reakcji polimeryzacji, w warunkach opisanych w przykładzie 1.

Otrzymane mikrosfery kopolimerowe 4VP-TRIM – fig. 2, odsączono, przemyto i wyekstrahowano jak w przykładzie 1.

Przykład 3. Otrzymywanie mikrosfer kopolimerowych 4VP-EGDMA

Do kolby z surfaktantem jak w przykładzie 1 wprowadzono roztwór składający się z 0,84 g 4-winylopirydyny (4VP), 3,16 g dimetakrylanu glikolu etylenowego (EGDMA), 5 ml toluenu i 0,12 g inicjatora polimeryzacji rodnikowej (AIBN).

Całość zemulgowano w homogenizatorze, dodano 0,6g ziarna polistyrenowego i pozostawiono do spęcznienia prekursora, a następnie poddano reakcji polimeryzacji, w warunkach opisanych w przykładzie 1.

Otrzymane mikrosfery kopolimerowe 4VP-EGDMA – fig. 3, odsączono, przemyto i wyekstrahowano jak w przykładzie 1.

Przykład 4. Przygotowanie mikrosfer kopolimerowych 4VP-1,3,5TMB

Do kolby z surfaktantem jak w przykładzie 1 wprowadzono roztwór składający się z 0,97g 4-winylopirydyny (4VP), 3,03g 1,3,5-trimetakryloiloxybenzenu (1,3,5TMB), 7 ml chlorobenzenu i 0,12g inicjatora polimeryzacji rodnikowej (AIBN). Całość zemulgowano w homogenizatorze, dodano 0,6 g ziarna polistyrenowego i pozostawiono do spęcznienia prekursora, a następnie poddano reakcji polimeryzacji, w warunkach opisanych w przykładzie 1.

Otrzymane mikrosfery kopolimerowe 4VP-1,3,5TMB – fig. 4, odsączono, przemyto i wyekstrahowano jak w przykładzie 1.

Przykład 5. Wyznaczanie właściwości fizyko-chemicznych mikrosfer otrzymanych w przykładach 1- 4.

Poszczególne mikrosfery kopolimerowe poddano badaniom na zawartość azotu, oznaczano parametry struktury porowatej: powierzchnię właściwą, objętość porów, a także średnie wartości średnic cząstek.

Zawartość azotu w próbkach polimerowych wyznaczono przy użyciu analizatora CHN 2400 firmy Perkin-Elmer. Strukturę porowatą - powierzchnię właściwą (S_{BET}) i objętość porów ($V_{porów}$) określano metodą niskotemperaturowej adsorpcji-desorpcji azotu używając aparatu ASAP 2405 firmy Micrometrics Inc. Średnice mikrosfer (dn) i rozrzut średnic, wyrażony współczynnikiem zmienności (CV) wyznaczono przy użyciu mikroskopu SEM Quanta 3D FEG firmy FEI. Do obliczeń każdorazowo wybierano 100 cząstek. Liczbowo średnią średnicę (dn) oraz CV obliczono ze wzorów:

$$dn = \frac{\sum n_i d_i}{\sum n_i} \quad CV = \frac{SD}{dn} \cdot 100\%$$

Wyniki charakteryzujące otrzymane mikrosfery polimerowe przedstawiono w poniższej tabeli.

Tabela

kopolimer	Zawartość % azotu	Dn [μ m]	CV [%]	S_{BET} [m ² /g]	$V_{porów}$ [cm ³ /g]
4VP-EGDMA	2,75	6,5	13	95	0,13
4VP-TRIM	2,95	8,5	8	203	0,19
4VP-1,4DMB	3,49	5,8	7	75	0,24
4VP-1,3,5TMB	3,09	6,5	15	125	0,15

Przykład 6. Przygotowanie kolumn chromatograficznych i wykonanie analizy chromatograficznej.

Otrzymane według wynalazku poszczególne mikrosfery kopolimerowe użyto do wypełnień kolumn wysokosprawnej chromatografii cieczowej.

W tym celu kolumny chromatograficzne o długości 10 cm i średnicy wewnętrznej 4,6 mm zapakowano każdym z kopolimerów przy pomocy zestawu do pakowania kolumn Pack In a Box firmy Restech, używając

metanolu jako fazy ruchomej i nie przekraczając ciśnienia 200 atmosfer. Po zapakowaniu, kolumny poddano stabilizacji w fazie ruchomej acetonitryl – bufor fosforanowy pH 7 (50/50 v/v) i przeprowadzono analizy z ich użyciem.

Poniżej, na przykładzie kolumny zawierającej wypełnienie 4VP-TRIM, otrzymane w przykładzie 3, o średnicy ziarna $7,5 \mu\text{m}$ i powierzchni właściwej $203 \text{ m}^2/\text{g}$, przedstawiono rozdział mieszaniny N-alkiloanilin: anilina (1), N-metyloanilina (2), N-etyloanilina (3), N-propyloanilina (4), N-butyloanilina (5), N-pentyloanilina (6).

Analizę chromatograficzną przeprowadzono w odwróconym układzie faz używając wysokosprawnego chromatografu cieczowego, przy przepływie fazy ruchomej $1 \text{ ml}/\text{min}$ - chromatogram nr 1, zamieszczony na rysunku jako fig.5.

Dla porównania przeprowadzono analizę chromatograficzną identycznej mieszaniny, w takich samych warunkach, przy zastosowaniu kolumny z metakrylowym wypełnieniem mikrosferycznym na bazie 2-hydroksy-3-metakryloyloksypropoksybenzenu i trimetakrylanu trimetylolopropanu – chromatogram nr 2, zamieszczony na rysunku jako fig.6

Z analizy w/w chromatogramów wynika, że wypełnienie w postaci mikrosfer polimerowych według wynalazku, wykazuje się lepszą sprawnością i rozdzielczością, co w znacznym stopniu poprawia rozdział chromatograficzny mieszaniny.

UNIWERSYTET POLSKI
pl. Marii Curie-Skłodowskiej 5
20-031 LUBLIN

REKTOR
dr hab. Stanisław Michałowski
prof. nadzw.