

PŘÍPRAVA A TESTOVÁNÍ METHAKRYLÁTOVÝCH MONOLITICKÝCH KOLON V KAPILÁRNÍ KAPALINOVÉ CHROMATOGRAFII

PAVEL COUFAL^a, MARTIN ČIHÁK^a,
JANA SUCHÁNKOVÁ^a a EVA TESAŘOVÁ^b

^aKatedra analytické chemie a ^bKatedra fyzikální a makromolekulární chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Albertov 2030, 128 40 Praha 2
e-mail: pcoufal@natur.cuni.cz

Došlo dne 14.XII.2000

Klíčová slova: kapilární kapalinová chromatografie, monolitické kolony

Úvod

Miniaturizace kolon v kapalinové chromatografii doznala v posledním desetiletí velkého rozmachu^{1,2} a vedla k rozvoji tzv. mikrokolonové kapalinové chromatografie. Kapalinová chromatografisté pozvolna opouštějí klasické průměry separačních kolon a začínají používat v mikrokapalinové chromatografii (Micro LC) kolony o průměru kolem 1 mm, v kapilární kapalinové chromatografii (CLC) kolony o průměru kolem 300 μm a v nanokapalinové chromatografii (Nanoscale LC) kolony o průměru okolo 75 μm . Miniaturizace v kapalinové chromatografii s sebou přináší některé přednosti v porovnání s konvenční HPLC, jako je velmi malá spotřeba vzorku, velmi malý průtok mobilní fáze, a s tím spojená i její nízká spotřeba, a podstatně menší chromatografické naředení vzorku v koloně, které přináší vyšší citlivost detekce.

V posledních několika letech se výzkum v oblasti separačních kolon pro mikrokolonovou kapalinovou chromatografii orientuje na přípravu a vývoj tzv. monolitických kolon^{3,4}, které se připravují zapolymerováním vhodných monomerních jednotek do bloku porézního polymeru (tzv. monolitu), jenž vyplní vnitřek separační kolony, a plní funkci stacionární fáze v koloně. Přípravu a vývoj tohoto typu kolon podnítil především prudký rozvoj kapilární elektrochromatografie (CEC), neboť monolitické kolony na rozdíl od náplňových kolon lze připravit poměrně pohodlně i v kapilárách o průměru několika desítek mikrometrů, a navíc monolitické kolony nepotřebují být opatřeny na rozdíl od náplňových kolon fritami⁵.

Pro přípravu monolitických kolon se používají různé polymery či kopolymery. Monolitické kolony na bázi akrylamidu⁶ se připraví polymerací akrylamidu nebo jeho derivátů a síťujícího methylenbisakrylamidu, monolity na bázi polystyrenu⁷ se připravují polymerací styrenu, popřípadě jeho derivátů a síťujícího divinylbenzenu a monolitické kolony na bázi methakrylátu^{5,8,9} se připraví polymerací butyl-methakrylátu nebo jiných esterů kyseliny methakrylové a síťujícího ethylen-dimethakrylátu. Připravujeme-li monolitickou kolonu pro kapilární kapalinovou chromatografii, je nezbytné zachytit monolit kovalentní vazbou na vnitřní stěně kapiláry, aby její mobilní fáze hnaná do kolony pod tlakem nevytlačila z kapiláry ven. U methakrylátových monolitických kolon se k vázání

monolitu na vnitřní stěnu kapiláry často používá 3-(trimethoxysilyl)propyl-methakrylát¹⁰, jímž se silanizuje vnitřní stěna kapiláry před vlastní polymerizací monolitu.

V literatuře byla popsána úspěšná příprava monolitických kolon na bázi methakrylátu v kapilárách o vnitřním průměru 100 μm a 150 μm a tyto kolony byly úspěšně použity jak v CEC (cit.^{5,8,9,11,12}), tak i v CLC (cit.^{11,12}). Doposud však nebyla publikována práce, v níž by autoři připravovali methakrylátové monolitické kolony v kapilárách o vnitřním průměru 320 μm a používali tyto kolony v CLC. Předkládaná práce se zabývá přípravou monolitických kolon na bázi methakrylátu v kapilárách o vnitřním průměru 320 μm a optimalizací jejich přípravy z hlediska dosažení co nejlepší účinnosti (tedy co nejmenšího výškového ekvivalentu teoretického patra) těchto kolon v CLC.

Experimentální část

Chemikálie

Pro přípravu a testování methakrylátových monolitických kolon byly použity následující chemikálie: 3-(trimethoxysilyl)propyl-methakrylát (99%), methanol (<99,8%), butan-1,4-diol (99%), propan-1-ol (99%) a kyselina octová (99%), které byly dodány firmou Fluka (Buchs, Švýcarsko). Ethylen-glykol-dimethakrylát (EDMA) (98%), 2,2'-azobisisobutyronitril (AIBN) (98%) a butyl-methakrylát (BMA) (99%) byly koupeny od firmy Merck (Darmstadt, SRN). Uracil (99%), fenol (p.a.), anilin (98%), 4-ethylanilin (98%), *N,N*-dimethylanilin (98%), toluen (99%) a ethylbenzen (99%) byly dodány firmou Sigma (St. Louis, USA). Hydroxid sodný (p.a.) pocházel od firmy Lachema (Brno, Česká republika).

Pro testování připravených kolon byl použit roztok 70 obj.% acetonitrilu v deionizované vodě jako mobilní fáze a roztoky uracilu (0,5 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$), ethylbenzenu (2,5 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$), fenolu (1,0 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$), anilinu (1,0 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$), 4-ethylanilinu (1,0 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$), *N,N*-dimethylanilinu (1,0 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) a toluenu (1,0 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) v mobilní fázi jako dávkované vzorky.

Přístroje a materiál

Monolitické kapilární kolony byly připravovány v křemenné kapiláře s vnější vrstvou polyimidu o vnitřním průměru 320 μm a vnějším průměru 450 μm od firmy Supelco (Bellefonte, USA). Pro termostatování kapilár při úpravě jejich vnitřního povrchu a při polymerizaci monolitu byla použita sušárna UL 400 od firmy Memmert (Schwabach, Německo). Chromatografická měření s připravenými kapilárními kolonami byla prováděna s lineárním dávkovačem mobilní fáze MHPP 20 od Laboratorních přístrojů (Praha, Česká republika). Lineární dávkovač byl spojen s dávkovacím ventilem Valco C14W od firmy Valco Europe (Schenkon, Švýcarsko) s vnitřní dávkovací smyčkou o objemu 100 nL. Monolitická separační kolona byla připojena pomocí trubičky z PEEK (vnitřní průměr 500 μm a délka 5 cm), šroubu a ferulky z PEEK přímo do dávkovacího kohoutu. Na monolitickou separační kolonu byla teflonovou trubičkou připojena křemenná kapilára s detekčním okénkem o vnitřním průměru 100 μm , vnějším průměru 375 μm a délce k detekčnímu okénku 9 cm. K detekci sloužil PU 4225 UV detektor od firmy Philips (Eindhoven,

Nizozemí), který pracoval při vlnové délce 254 nm pro detekci *N,N*-dimethylanilinu a 214 nm pro detekci ostatních látek. Chromatogramy byly zaznamenávány a vyhodnocovány na počítači pomocí programu CSW v.1.7 od firmy DataApex (Praha, Česká republika).

Testování připravených monolitických kolon bylo prováděno při průtocích mobilní fáze od 1 do 5 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ za tlaků od 1 až do 20 MPa podle porozity monolitu.

Výsledky a diskuse

Příprava methakrylátových monolitických kolon

Příprava kapilárních monolitických kolon na bázi butylmethakrylátu v této práci vychází z postupu publikovaného Petersem a spol.⁵ pro přípravu methakrylátových monolitických kolon o vnitřním průměru 100 μm a 150 μm pro CEC. Tento postup byl však modifikován ve dvou bodech, neboť pro naše účely byly připravovány monolitické kolony o vnitřním průměru 320 μm s tím, že budou používány pro CLC. Do polymerizační směsi nebyla přidávána 2-akrylamido-2-methylpropan-1-sulfonová kyselina (AMPS), protože v CLC není třeba, aby v pórech monolitu byl generován elektroosmotický tok. Dále byl před vlastní polymerizací monolitu v kapiláře pokryt vnitřní povrch kapiláry vinylovými skupinami, které se též účastní radikálové polymerizace monomerů v monolitu. Díky tomu je monolit kovalentně navázán na vnitřní stěnu kapiláry, čímž se stane odolný proti vytlačení z kapiláry tlakem mobilní fáze na vstupu do kolony.

Pro přípravu monolitické kolony byla křemenná kapilára o vnitřním průměru 320 μm a délce 22 cm nejprve proplachována 1 M-NaOH při průtoku 5 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ po dobu 6 hodin, čímž došlo k aktivaci vnitřního povrchu kapiláry a většina siloxanových skupin byla převedena na skupiny silanolové. Po propláchnutí kapiláry deionizovanou vodou při průtoku 5 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ po dobu 1 hodiny byl vnitřní povrch pokrýván vinylovými skupinami.

Pro tento účel bylo vyzkoušeno několik publikovaných postupů používajících různé roztoky 3-(trimethoxysilyl)propyl-methakrylátu (též nazývaného (γ -methakryloyloxypropyl)-trimethoxysilan, γ -MAPS) při laboratorní teplotě po různé dlouhou dobu^{10,13,14}. Žádný z těchto postupů nám však nezajistil udržení monolitu v kapiláře u všech připravených kolon, a velmi často se stávalo, že monolit byl vytlačen z kapiláry mobilní fází. Mírná modifikace těchto postupů nám umožnila udržet monolit v kapiláře ve 100 % případech. Modifikovaný postup spočíval v naplnění kapiláry roztokem γ -MAPS v 6 M kyselině octové (40 μl γ -MAPS v 10 ml 6 M- CH_3COOH), pak byla kapilára na koncích uzavřena silikonovými septy a termostatována po dobu 20 hodin při teplotě 60 °C. Tímto postupem bylo dosaženo dostatečného pokrytí vnitřního povrchu kapiláry vinylovými skupinami, a tím byla zaručena dokonalá vazba monolitu na vnitřní povrch kapiláry kovalentními vazbami.

Následně byla kapilára propláchnuta deionizovanou vodou při průtoku 5 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ po dobu 0,5 hodiny a profukována dusíkem po dobu 5 minut. Pak byla kapilára naplněna polymerizační směsí, konce kapiláry byly uzavřeny silikonovými septy nebo ponořeny do malého množství polymerizační smě-

si v polypropylenových mikrozkuřavkách a polymerizace směsi probíhala za termostatování kapiláry na teplotu 60 °C po dobu 20 hodin. Ponoření konců kapilár do mikrozkuřavek s polymerizační směsí se při polymerizaci ukázalo jako výhodnější, než uzavírání konců kapilár silikonovými septy; během polymerizace totiž dochází k mírnému smrštění polymeru, a při použití mikrozkuřavek je během polymerizace malé množství polymerizační směsi z mikrozkuřavky ještě vtaženo do vnitřku kapiláry. Monolitické kapiláry připravené pomocí mikrozkuřavek s polymerizační směsí vykazovaly o poznání lepší účinnost, než kapiláry uzavřené pouze silikonovými septy, a proto byl po zjištění tohoto faktu nadále používán výhradně postup s mikrozkuřavkami.

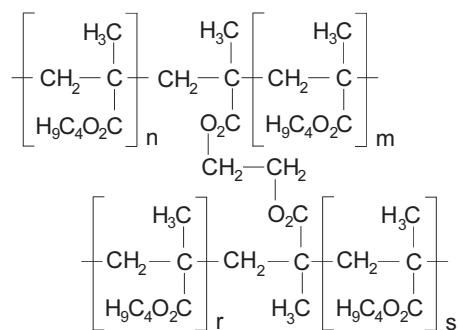
Polymerizační směs se skládala z monomerní směsi (obsahující hlavní monomer BMA a síťovací monomer EDMA ve vhodném poměru (tabulka I) a 1 hm.% primárního zdroje radikálů AIBN) a porogenní směsi (obsahující 60 hm.% propan-1-olu, 30 hm.% butan-1,4-diolu a 10 hm.% deionizované vody). Polymerizační směs uvedené polymerizační směsi se získá monolit chemického složení, jež je naznačeno na obr. 1. Monomerní směs a porogenní směs byly míchány v různých poměrech do polymerizační směsi (tab. I), čímž bylo dosaženo rozdílné porozity připravených monolitů. V tabulce I je uveden přehled složení monomerních a polymerizačních směsí, které byly použity pro přípravu methakrylátových monolitických kolon v této práci. Každá polymerizační směs byla před naplněním do kapiláry ultrazvukována po dobu 10 minut a probublána dusíkem po dobu 5 minut.

Z kolony se zpolymerizovaným monolitem byly na každé straně kapiláry odříznuty konce o délce 1 až 1,5 cm, a takto získaná kolona o délce kolem 20 cm byla nainstalována do

Tabulka I

Složení monomerní a polymerizační směsi (hm.%) použité pro přípravu methakrylátových monolitických kolon

Kolona	Monomerní směs		Polymerizační směs	
	BMA	EDMA	monomerní	porogenní
A	59,5	39,5	40	60
B	59,5	39,5	45	55
C	59,5	39,5	50	50
D	59,5	39,5	35	65
E	54,5	44,5	40	60
F	49,5	49,5	40	60



Obr. 1. Struktura methakrylátového monolitu

dávkovacího ventilu kapalinového chromatografu a po dokonalém promytí mobilní fáze byla proměřena její účinnost.

Testování účinnosti připravených monolitických kolon a optimalizace jejich přípravy

V literatuře byl zkoumán vliv obsahu AMPS v monomerní směsi a obsahu propan-1-olu v porogenní směsi^{5,8}, popřípadě vliv obsahu porogenní směsi v polymerizační směsi¹² na porozitu a následně i účinnost methakrylátových monolitických kolon o vnitřním průměru 100 μm a 150 μm pro CEC a CLC. Ve všech těchto případech bylo zastoupení hlavního monomeru BMA a síťujícího monomeru EDMA v monomerní směsi konstantní a to 60:40 hm.%. Na základě těchto prací byla připravena kolona A (tab. I) s poměrem BMA/EDMA 60:40 a se 60 hm.% porogenní směsi v polymerizační směsi. Tato kolona byla testována z hlediska účinnosti při různých průtocích mobilní fáze (3 až 5 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$). Nejlepší účinností bylo dosaženo pro uracil ($H = 352 \mu\text{m}$) při průtoku eluentu 5 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$. Tato kolona poskytovala značně nesymetrické píky testovaných látek.

S cílem změnit porozitu připraveného monolitu, a tím zvýšit účinnost připravovaných monolitických kolon, byly připraveny kolony B, C a D (tab. I) mající stejný poměr BMA/EDMA v monomerní směsi, avšak lišící se zastoupením porogenní směsi v polymerizační směsi. Testováním těchto kolon z hlediska účinnosti při různých průtokových rychlostech mobilní fáze (1 až 5 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$) bylo zjištěno, že mají velmi podobné účinnosti jako kolona A pohybující se ve stovkách μm výškového ekvivalentu teoretického patra pro jednotlivé látky. I přesto, že s klesajícím obsahem porogenní směsi v polymerizační směsi klesal rozměr pórů monolitu, a bylo tedy nutné použít vyšší tlaky mobilní fáze pro dosažení příslušného průtoku, účinnost separace s klesajícím obsahem porogenní směsi nerostla. Z předcházející diskuse je zřejmé, že postup přípravy methakrylátového monolitu publikovaný pro kapiláry o vnitřním průměru 100 μm a 150 μm a vedoucí k účinnostem separace desítek až jednotek μm výškového ekvivalentu teoretického patra není jednoduše použitelný pro kolony o vnitřním průměru 320 μm .

Na základě těchto poznatků byly připraveny kolony E a F (tab. I) zachovávající si obsah porogenní směsi v polymerizační směsi na 60 hm.%, avšak obsahující vyšší procento síťujícího monomeru EDMA v monomerní směsi. Testováním těchto kolon z hlediska účinnosti při různých průtocích mobilní fáze (1 až 5 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$) bylo zjištěno, že vykazují o poznání vyšší účinnost v porovnání s kolonami A až D, jak ukazuje tabulka II pro uracil. Navíc se na kolonách E a F výrazně zlepšila symetrie píky testovaných látek vzhledem ke kolonám A až D.

Kolona E dosahuje pro uracil a ostatní testované látky největší účinnosti při průtoku 2 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ a kolona F dosahuje maximální účinnosti pro testované látky při průtoku 1 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$. Pro průtok 2 a 3 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ jsou výškové ekvivalenty teoretického patra vzhledem k uracilu pro obě kolony téměř identické, což svědčí o jejich velmi podobném kinetickém chování v této oblasti průtokových rychlostí. Porozita kolon E a F odhadnutá z průtokové rychlosti mobilní fáze a mrtvého retenčního času se pohybovala okolo 65 %.

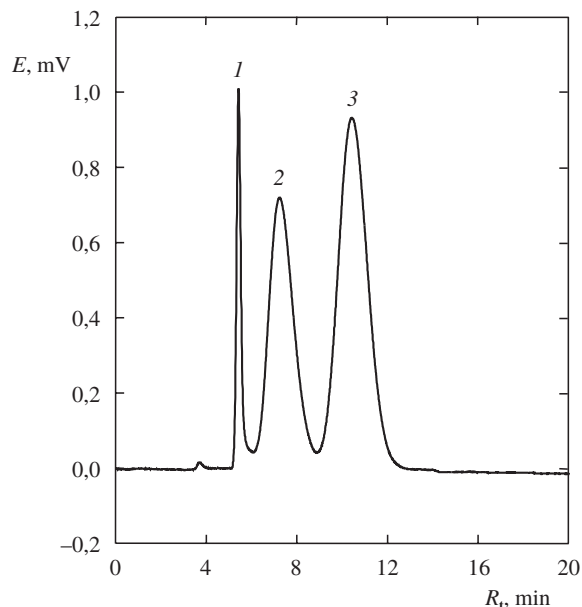
Na obr. 2 je uveden ilustrativní chromatogram separace směsi uracilu, anilinu a toluenu na monolitické koloně F při

Tabulka II

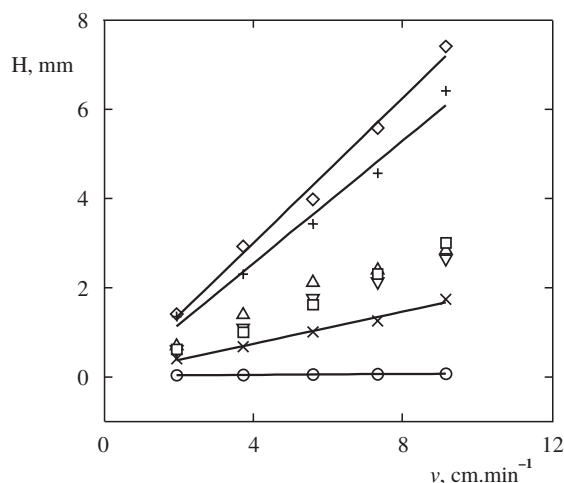
Závislost výškového ekvivalentu teoretického patra vzhledem k uracilu na průtokové rychlosti mobilní fáze f pro monolitické kolony E a F

f [$\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$]	Výškový ekvivalent teoretického patra [μm]	
	E	F
1	940	34
2	45	46
3	54	53
4	89	61
5	102	70

průtoku mobilní fáze 2 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ a na obr. 3 jsou vyneseny van Deemterovy křivky změřené pro všechny testované látky na stejné monolitické koloně. Na této koloně bylo dosaženo největší účinnosti (a tedy nejmenšího H) pro všechny testované látky při lineární rychlosti mobilní fáze 1,9 $\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$, která odpovídá průtoku mobilní fáze 1 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$. Pouze pro uracil bylo v tomto optimu dosaženo výškového ekvivalentu teoretického patra desítek μm . Pro toluen, anilin, fenol a ethylbenzen bylo dosaženo stovek μm a pro *N,N*-dimethylanilin a 4-ethylanilin bylo dosaženo pouze tisíců μm výškového ekvivalentu teoretického patra. Z těchto údajů je zřejmé, že účinnost separace na studovaných monolitických kolonách je do značné míry ovlivněna povahou separovaných látek bez ohledu na pořadí jejich retence. Toluén a ethylbenzen (retenční faktory 0,96 a 1,21) byly zadržovány na studované monolitické koloně více než 4-ethylanilin a *N,N*-dimethylanilin (retenční faktory 0,55 a 0,87), a přesto u nich bylo dosaženo nižších hodnot H , jak demonstruje obr. 3. Podobně jako u většiny



Obr. 2. Separace směsi uracilu (1 – 0,25 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$), anilinu (2 – 1,0 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) a toluenu (3 – 1,0 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) na monolitické koloně F. Délka kolony 21 cm, průtok mobilní fáze 2 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$, dávkování 100 nl, detekce při 214 nm, odezva detektoru E , retenční čas R_t



Obr. 3. Van Deemterovy křivky pro testované látky změřené na koloně F při různých lineárních rychlostech mobilní fáze v : \diamond 4-ethylanilin, $+$ N,N -dimethylanilin, \square ethylbenzen, Δ fenol, ∇ anilin, \times toluen, \circ uracil

chromatografických kolon vykazují tyto bazické sloučeniny menší separační účinnost, ale velmi dobrou symetrii, jak ukazuje obrázek 2.

Závěr

Předkládaná práce ukázala, že postup přípravy methakrylátových monolitických kolon ve 100 μm a 150 μm kapilárách pro CEC a CLC není jednoduše aplikovatelný pro 320 μm kapiláry. Prostým přenesením publikovaného postupu přípravy na 320 μm kapiláry získáme methakrylátové monolitické kolony pro CLC o velmi nízké separační účinnosti. Bylo zjištěno, že nejen obsah porogenní směsi v polymerizační směsi má vliv na porozitu (a tedy i účinnost) připravené monolitické kolony, ale i poměr základního monomeru BMA a síťujícího monomeru EDMA v monomerní směsi určuje významně účinnost připravené kolony. Dále bylo pozorováno, že na připravených monolitických kolonách závisí výškový ekvivalent teoretického patra vzhledem k příslušné látce na chemické struktuře této látky bez ohledu na její retenční pořadí. Získané výsledky ukázaly, že lze připravit methakrylátové monolitické kolony pro CLC v kapilárách o vnitřním průměru 320 μm s výškovým ekvivalentem teoretického patra desítek μm , a že pečlivou optimalizací složení monomerní směsi a polymerizační směsi bude v budoucnu možno připravit methakrylátové monolitické kolony tohoto průměru s účinností jednotek μm výškového ekvivalentu teoretického patra.

Seznam použitých zkratk

AIBN	2,2'-azobisisobutyronitril
AMPS	2-akrylamido-2-methylpropan-1-sulfonová kyselina
BMA	butyl-methakrylát
EDMA	ethylen-dimethakrylát
CEC	kapilární elektrochromatografie
CLC	kapilární kapalinová chromatografie
H	výškový ekvivalent teoretického patra

HPLC	vysokoučinná kapalinová chromatografie
LC	kapalinová chromatografie
γ -MAPS	(γ -methakryloyloxypropyl)trimethoxysilan, 3-(trimethoxysilyl)propyl-methakrylát
PEEK	polyetheretherketon

Práce na tomto projektu byla finančně podporována grantem GA UK 227/2000/B CH/PřF a výzkumným záměrem J13/98:113100002.

LITERATURA

- Vissers J. P. C., Claessens H. A., Cramers C. A.: *J. Chromatogr.*, A 779, 1 (1997).
- Vissers J. P. C.: *J. Chromatogr.*, A 856, 117 (1999).
- Švec F., Peters E. C., Sýkora D., Yu C., Fréchet J. M. J.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 23, 3 (2000).
- Švec F., Peters E. C., Sýkora D., Fréchet J. M. J.: *J. Chromatogr.*, A 887, 3 (2000).
- Peters E. C., Petro M., Švec F., Fréchet J. M. J.: *Anal. Chem.* 69, 3646 (1997).
- Fujimoto C., Kino J., Sawada H.: *J. Chromatogr.*, A 716, 107 (1995).
- Gusev I., Huang X., Horváth C.: *J. Chromatogr.*, A 855, 273 (1999).
- Peters E. C., Petro M., Švec F., Fréchet J. M. J.: *Anal. Chem.* 70, 2288 (1998).
- Peters E. C., Petro M., Švec F., Fréchet J. M. J.: *Anal. Chem.* 70, 2296 (1998).
- Ericson Ch., Lio J.-L., Nakazato K., Hjertén S.: *J. Chromatogr.*, A 767, 33 (1997).
- Bunčeková S., Jiang T., Claessens H. A., Jiskra J., Cramers C. A.: *Sborník abstraktů konference Pokroky v chromatografii a elektroforéze 2000*, Univerzita Pardubice, září 2000, poster P05.
- Jiang T., Jiskra J., Claessens H. A., Cramers C. A.: *Sborník abstraktů konference Pokroky v chromatografii a elektroforéze 2000*, Univerzita Pardubice, září 2000, poster P04.
- Hjertén S.: *J. Chromatogr.* 347, 191 (1985).
- Xiong B., Zhang L., Zhang Y., Zou H., Wang J.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 23, 67 (2000).

P. Coufal^a, M. Čihák^a, J. Suchánková^a, and E. Tesařová^b (^aDepartment of Analytical Chemistry, ^bDepartment of Physical and Macromolecular Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague): **Preparation and Testing of Methacrylate Monolithic Columns in Capillary Liquid Chromatography**

Methacrylate monolithic columns (320 μm i.d.) for capillary liquid chromatography (CLC) have been prepared by radical polymerization of butyl methacrylate and ethylene dimethacrylate (EDMA) in the presence of a porogen solvent consisting of propan-1-ol, butane-1,4-diol and water. The contents of EDMA and of the porogen solvent were varied in the polymerizations. The column efficiency (height equivalent to theoretical plate, HETP) was determined for a set of test compounds as a function of the mobile phase flow rate. The composition of the polymerization mixture was optimized to achieve minimum HETP.