

溶胶-凝胶法制备开管毛细管柱的研究进展

葛晓霞^{1,2}, 齐美玲², 傅若农², 顾峻岭², 戴荣继²

(1. 中国人民武装警察部队学院, 河北 廊坊 065000; 2. 北京理工大学, 北京 100081)

摘要 介绍了溶胶-凝胶法制备开管毛细管柱的方法, 分析了溶胶-凝胶法制备开管毛细管柱的影响因素和特点, 总结了溶胶-凝胶技术在毛细管气相色谱柱、毛细管液相色谱柱、毛细管电泳柱及电色谱柱方面的应用进展。

关键词 溶胶-凝胶; 开管毛细管柱; 色谱; 综述

中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-8713(2004)05-0535-04

Review on the Development of Sol-Gel Coated Open Tubular Capillary Column

GE Xiaoxia^{1,2}, QI Meiling², FU Ruonong², GU Junling², DAI Rongji²

(1. The Chinese People's Armed Police Force Academy, Langfang 065000, China;

2. Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China)

Abstract: The methods of preparing sol-gel open tubular capillary column are introduced. The characteristics and major factors of sol-gel column preparation method are analyzed and its applications in gas chromatography, high performance liquid chromatography, capillary electrophoresis and capillary electroosmotic chromatography are reviewed.

Key words: sol-gel; open tubular capillary column; chromatography; review

色谱分析发展至今已经是一项十分成熟的分离分析技术, 它广泛应用于环境科学^[1]、生命科学^[2]、石油化工^[3]以及食品^[4]等领域中复杂组分的分离分析。在色谱分析中色谱柱的性能起着至关重要的作用, 而制柱技术的优劣是能否得到优良柱性能的关键。目前, 柱制备技术虽然做了多种改进^[5,6], 但仍然没有找到一种理想的方法, 因此寻求一种高效的制柱方法仍然是当前具有挑战性的课题。溶胶-凝胶法是一种新的制柱技术, 它能够简单、快速地制备出性能良好的毛细管柱, 在气相色谱、液相色谱、毛细管电泳及电色谱中都有一定的应用。了解溶胶-凝胶技术的应用进展, 对于溶胶-凝胶技术的研究具有十分重要的意义。

溶胶-凝胶技术是制备材料的湿化学方法, 可以方便地制备从非线性光学材料^[7]、生物活性玻璃^[8]到化学敏感的板型材料^[9]及超细粉末^[10]等, 近年来在很多领域^[11]广泛应用。张庆合等^[12,13]综述了溶胶-凝胶技术在制备色谱填料方面的应用。采用溶胶-凝胶技术制备的毛细管色谱柱主要分为两大类, 一种为开管毛细管柱, 另一种为整体柱。Tanaka等^[14]详细地分析了整体柱的结构和色谱特性, 平贵臣等^[15]详细地综述了整体硅胶柱的应用。本文主

要介绍溶胶-凝胶法制备开管毛细管色谱柱的方法、影响因素、特点及其应用。

1 原理、方法及影响因素

溶胶-凝胶材料在常温和温和的条件下形成。溶胶-凝胶技术制备开管毛细管色谱柱, 实质上是将含烷基链的烷氧基硅烷作为溶胶溶液的前体, 利用溶胶-凝胶化学在毛细管内壁形成有孔的有机硅薄膜, 从而在增大毛细管的内表面的同时又引入具有保留功能的官能团。溶胶-凝胶的形成是一个复杂的多步反应过程, 主要涉及溶胶前体的水解、水解产物的缩合以及和毛细管内壁的硅羟基缩聚, 形成三维网状结构。其典型反应主要有(1)前体的水解(2)缩合(3)缩聚。其原理请参考文献[11]。

1.1 毛细管柱的处理及制备

1.1.1 柱处理

先用 NaOH 溶液沥洗熔融石英毛细管柱, 然后用水沥洗, 接着用 HCl 溶液来中和未被洗掉的 NaOH, 最后再用水洗, 将洗好的柱子在 N₂ 气流下干燥。

1.1.2 溶胶-凝胶法制柱过程

将一定量的固定相溶解于溶液中, 加入前体和

催化剂,搅拌一定时间,离心分离,滤去沉淀物,将清液填充到柱中,在柱中保持一段时间后,将柱内液体从柱中吹出,然后进行老化。

1.2 影响因素

溶胶-凝胶技术制备开管毛细管柱固定相的过程中存在各种影响参数,如 pH 值、反应物浓度比、反应时间等,这些因素会影响凝胶的形成,使其物化特性受到影响,从而影响所制备固定相的功能。

1.2.1 溶胶前体的组成

溶胶前体选择的恰当与否直接影响缩合后形成的网状结构的性能。

在溶胶-凝胶法制备毛细管气相色谱柱的过程中,往往选用单一的有机硅烷前体。一般选用三甲氧基硅烷(MTMS)为前体,这是因为甲基的存在有利于改善固定相的保留性能。而在毛细管液相色谱柱和电色谱柱的制备过程中一般选用两种前体进行混合,不同的混合比所得的色谱柱的分离性能不同。

Guo 等^[16]对比了萘、菲、芘在溶胶-凝胶法制备的四乙氧基硅烷(TEOS)/C₈-TEOS 杂化凝胶和纯 TEOS 凝胶开管毛细管电色谱柱上的分离,发现上述 3 种测试物在 TEOS/C₈-TEOS 杂化凝胶上可基线分离,而在纯 TEOS 凝胶上却同时流出。这 3 种测试物在液相色谱中的分离^[17]也有相似的结论。

Constantin 等^[18]在电色谱的研究中发现,如果仅仅用 C₈-TEOS 做溶胶前体,无论用酸催化、碱催化还是改变加入前体中的水量,都不能形成凝胶。

1.2.2 反应时间的影响

溶胶-凝胶法在毛细管内壁制得的涂层的厚度直接影响相比的大小,进而影响被分离物质的保留因子的大小。涂层的厚度随凝胶在柱内反应时间的变化而不同。

Shirley 等^[19]在对衍生开管毛细管电色谱(OT-CEC)固定相的研究中发现,TEOS 比 C₈-TEOS 有更高的水解活性,水解后的 C₈-TEOS 比 TEOS 的缩合反应慢。

1.2.3 pH 值的影响

在溶胶-凝胶技术中,凝胶的结构主要由单体的水解和缩聚反应决定,而 pH 值是影响水解和缩聚速度的主要因素。

1.2.4 其他因素的影响

在溶胶-凝胶法制柱的过程中除了以上几个重要影响因素外,其他一些因素也不可忽视。如水,既是前体水解不可缺少的,在后来的缩合反应中又是反应的副产物,水量的多少影响着溶胶的形成。Constantin 等^[18]做了这方面的探讨。

2 特点

(1)在常温和温和的化学条件下进行,操作技术简单、省时且可得到比较高的柱效。溶胶-凝胶技术可有效地将柱管的表面处理、脱活、涂渍及固定相的固载化集中在一步操作中完成,所需的时间约为静态涂渍法的 1/10^[20],制备的色谱柱具有很好的分离能力,强极性化合物及一些碱性蛋白质能得到很好的分离。溶胶-凝胶柱对一些物质的分离效果见表 1。

表 1 溶胶-凝胶柱在不同的色谱中对不同物质的分离

Table 1 Efficiency of different sol-gel columns in chromatography for different analytes

Category	Stationary phase	Analytes	Column efficiency	Literature
GC	PDMS	fluoranthene	3 400	[21]
	hydroxyl-dibenzo crown ether	naphthalene	3 900	[22]
HPLC	C ₈ -TEOS/TEOS	biphenyls	240 000	[16]
	C ₈ -TEOS/TEOS	anthracene	200 000	[17]
CE	Ucon	cytochrome	700 000	[23]
CEC	C ₈ -TEOS/TEOS	biphenyl	500 000	[16]
	C ₈ -TEOS/TEOS	ethoxybenzene	520 000	[24]
	F13-TEOS/TEOS	organic fluorochemicals	100 000 - 300 000	[25]
	macrocyclic dioxopolyamine	benzylic acid	270 000	[26]

GC : gas chromatography ; HPLC : high performance liquid chromatography ; CE : capillary electrophoresis ; CEC : capillary electroosmotic chromatography. PDMS : polydimethylsiloxane ; TEOS : tetraethoxy silane.

(2)具有比较高的重现性。溶胶-凝胶法制备毛细管色谱柱较传统制柱方法简化了制备过程,减少了中间环节,从而减少了许多在制备过程中不可控制的因素,大大降低了柱与柱之间、柱内不同次进样之间的差别。表 2 列出了不同柱的重复性能。

解产生的三维网状结构键合到毛细管壁上,形成了高惰性、低流失的毛细管柱,较传统的制柱方法制得的涂层柱具有更高的稳定性。李方等^[30]用 10 mol/L NaOH 溶液冲洗 γ -环氧丙烷氧丙基三甲氧基硅烷(KH-560)溶胶-凝胶柱 60 h 后,12 次进样测得溶菌酶、细胞色素 C、核糖核酸 A、 α -糜蛋白酶的迁

(3)具有比较高的稳定性。溶胶-凝胶法是将水

移时间的相对标准偏差 (RSD) 分别为 1.74% , 1.77% , 1.91% 和 1.92%。Hsieh 等^[27]先后用 0.1 mol/L NaOH , 1 mol/L HCl 和 pH 为 9 的缓冲溶液

冲洗具有季铵基团的凝胶涂层 , 电渗流的变化不超过 2%。曾昭睿等^[22, 31]制得的溶胶-凝胶毛细管气相色谱柱在 330 °C 的高温下基线没有明显的漂移。

表 2 溶胶-凝胶柱的重复性能
Table 2 Repeatability of sol-gel columns

Classification	Stationary phase	Analytes	RSD	<i>n</i>	Literature
Column to column	C ₈ -TEOS/TEOS	naphthalene	10% (<i>k</i>)	5	[16]
	C ₈ -TEOS/TEOS	biphenyl	8% (<i>k</i>)	4	[18]
	Ucon	cytochrome	1.88% (<i>t</i>)	3	[23]
	OH-PDMS	fluoranthene	stable column efficiency	5	[21]
Run to run on the column	propyl- <i>N-N</i> -trimethylamine	amino acids	2.7% - 3.0% (<i>t</i>)	4	[27]
	2 β-dibutyl-β-CD	nitrophenol	4.5% (<i>t</i>)	5	[28]
	OH-PDMS	carboxylic acids	0.33% (<i>t</i>)	10	[21]
	Ucon	proteins	0.58% - 0.74% (<i>t</i>)	9	[23]
	C ₈ -TEOS/TEOS	naphthalene	0.45% (<i>k</i>)	5	[24]
	macrocyclic dioxopolyamine	benzenediol	1% (<i>t</i>)	5	[29]

k : retention factor ; *t* : retention time.

3 应用

3.1 制备开管毛细管气相色谱柱的应用

采用溶胶-凝胶技术制备毛细管气相色谱柱主要以含端羟基的化合物为固定相 , 通过与前体的水解缩聚 , 然后键合到毛细管柱表面。目前 , 已经应用的固定相有 : Ucon 75-H-90000^[20]、聚二甲基硅氧烷 (PDMS)^[20, 32-34]、开链冠醚^[31]、端羟基苯并冠醚^[22]和聚乙二醇^[35] , 利用这些固定相制备的毛细管气相色谱柱对于游离的脂肪酸、胺类化合物和芳香族位置异构体具有很好的分离效果 , 并且显示了良好的重复性^[21]和稳定性^[36] , 但与用传统法制备的色谱柱在柱容量^[37, 38]、柱极性^[39]等方面有一定的差别。

另外 , Newkome 等^[40]合成了端苯基树枝晶 , 采用溶胶-凝胶法涂渍毛细管气相色谱柱 , 在优化条件下理论塔板数达到 3 200/m。我们对以环糊精衍生物为固定相采用凝胶-溶胶法制备的毛细管气相色谱柱进行了研究 , 取得了良好的分离效果^[41]。

虽然 SEG 公司生产的溶胶-凝胶 PDMS 和聚乙二醇毛细管气相色谱柱已商品化^[42] , 但采用溶胶-凝胶法制备毛细管气相色谱柱对固定相有很大的选择性。一般需要含羟基的固定相 , 但并不是含羟基的固定相就适合用于溶胶-凝胶法。因此该法相对于静态法仍有一定的局限性。

3.2 制备开管毛细管液相色谱柱的应用

开管液相色谱柱主要以 TEOS/C₈-TEOS 为共前体。Guo 等^[16]用 TEOS/C₈-TEOS 为固定相采用溶胶-凝胶法制备了开管毛细管液相色谱柱 , 成功地分离了在用传统法制备的柱上不能分离的多环芳香族化合物 (萘、联苯、芴、2-乙基萘、2, 6-二甲基萘)。运用高雷方程推出了凝胶固定相的动力性能并考察了色谱柱的选择性^[17]。

在液相色谱柱的制备中 , 溶胶-凝胶技术主要应用在整体柱的制备上。由于毛细管柱易出现堵塞现象 , 所以关于溶胶-凝胶开管毛细管液相色谱柱的研究比较少。

3.3 制备开管毛细管电泳柱及电色谱柱的应用

开管毛细管电泳柱及电色谱柱主要以 TEOS/C₈-TEOS 为共前体。近年来 , 溶胶-凝胶技术在制备毛细管电色谱柱上的应用得到迅速发展。

Hayes 等^[23]以端羟基 Ucon 为固定相采用溶胶-凝胶法制备毛细管电泳柱 , 分离了 4 种蛋白质且同一根柱多次进样之间、不同柱之间呈现出良好的重复性。

Hsieh 等^[27]建立了采用溶胶-凝胶法使毛细管内表面形成具有季铵基团的硅膜的方法。

Colon 等^[25]用溶胶-凝胶法制得 F13-TEOS/TEOS 为固定相的毛细管电色谱柱 , 基线分离了 6 种苯的氟化物。这 6 种化合物无论是在采用溶胶-凝胶技术还是传统法制备的 C₈ 柱上都不能分离。同时他们又研究以 TEOS/C₈-TEOS 为固定相采用溶胶-凝胶法制备开管毛细管电色谱柱 , 探讨了柱保留因子与反应时间和 C₈-TEOS 与 TEOS 的物质的量比之间的关系。

Constantin 等^[18]用溶胶-凝胶法制备了以 TEOS/C₈-TEOS 为固定相的开管电色谱柱 , 研究中认为 , 水对于形成硅胶非常重要 , 他们证明水解及缩合反应完全所需要的水量为 $2m + 3/2n$, 其中 *m* 为溶胶前体中 C₈-TEOS 的物质的量 , *n* 为溶胶前体中 TEOS 的物质的量。他们还将溶胶-凝胶技术应用用于芯片毛细管电色谱中^[43]。

曾昭睿等分别以大环多胺^[26, 29]、2, 6-二丁基-β-环糊精 (DB-β-CD)^[28, 44]为固定相研究了溶胶-凝胶法制备开管毛细管电色谱的过程 , 并且对苯胺类化

合物、布洛芬、二萘酚进行了分离。

李方等^[31,45]用 TEOS/C₈-TEOS 为固定相制备的开管毛细管电色谱柱对苯系化合物及碱性蛋白质进行了分离。

叶明亮等^[24]以 TEOS/C₈-TEOS 为固定相采用溶胶-凝胶法制备开管电色谱柱,考察了 pH 值和柱内反应时间对柱性能的影响,得出 pH 值在 2 左右水解速度最快的结论。

4 结论

溶胶-凝胶技术有效地将柱管的表面处理、脱活、涂渍及固定相的固载化集中在一步操作中完成,可简单、快捷地制备出选择性好、重复性高的开管毛细管电色谱柱。克服了传统制柱过程中存在的诸多缺点,拓宽了色谱分析的应用领域。因此溶胶-凝胶法是柱制备中很有应用前景的方法。

参考文献:

- [1] van der Hoff G R, van Zoonen P. J Chromatogr A, 1999, 843 : 301
- [2] Kato M, Sakai-Kato K, Matsumoto N, Toyoko 'oka T. Anal Chem, 2002, 74 : 1 915
- [3] Beens J, Brinkman U A Th. Trends in Analytical Chemistry, 2000, 19(4) : 260
- [4] Lehotay S J, Hajslova J. Trends in Analytical Chemistry, 2002, 21(9-10) : 686
- [5] Nyholm L M, Markides K E. J Chromatogr A, 1998, 813 : 11
- [6] Pesek J J, Matyska M T. J Chromatogr A, 1996, 736 : 255
- [7] Hsiue G H, Lee R H, Jeng R J. Polymer, 1999, 40 : 6 417
- [8] Lin J, Brown C W. Trends in Analytical Chemistry, 1997, 16 (4) : 200
- [9] Gerritsen M, Kros A, Sprakel V, Lutterman J A, Nolte R J M, Jansen J A. Biomaterials, 2000, 21 : 71
- [10] Pan Qunxiong, Pan Huihua, Chen Jianhua. Material Review (潘群雄, 潘晖华, 陈建华. 材料导报), 2001, 15 (12) : 40
- [11] Collinson M M. Trends in Analytical Chemistry, 2002, 21 (1) : 30
- [12] Zhang Qinghe, Feng Yuqi, Da Shilu. Chemistry (张庆合, 冯钰琦, 达世禄. 化学通报), 1999, (6) : 8
- [13] Zhang Qinghe, Feng Yuqi, Da Shilu. Chinese Journal of Chromatography (张庆合, 冯钰琦, 达世禄. 色谱), 1999, 17(3) : 284
- [14] Tanaka N, Kobayashi H, Ishizuka N, Minakuchi H, Nakanishi K, Hosoya K, Ikegami T. J Chromatogr A, 2002, 965 : 35
- [15] Ping Guichen, Yuan Xianglin, Zhang Weibing, Zhang Yukui. Chinese Journal of Analytical Chemistry (平贵臣, 袁湘林, 张维冰, 张玉奎. 分析化学), 2001, 29(12) : 1 464
- [16] Guo Y, Colon L A. Anal Chem, 1995, 67 : 2 511
- [17] Guo Y, Colon L A. Chromatographia, 1996, 43(9-10) : 477
- [18] Constantin S, Freitan R. J Chromatogr A, 2000, 887 : 253
- [19] Rodriguez S A, Colon L A. Analytica Chimica Acta, 1999, 397 : 207
- [20] Wang D X, Chong S L, Malik A. Anal Chem, 1997, 69 : 4 566
- [21] Wang Dongxin, Malik A. Chinese Journal of Chromatography (王东新, Malik A. 色谱), 2002, 20(3) : 279
- [22] Zeng Zhaorui, Qiu Wenli, Xing Huan, Zhou Jiehua, Huang Zaifu. Chinese Journal of Chromatography (曾昭睿, 仇文丽, 邢 煥, 周洁华, 黄载福. 色谱), 2000, 18(4) : 304
- [23] Hayes J D, Malik A. J Chromatogr B, 1997, 695 : 3
- [24] Ye Mingliang, Zou Hanfa, Liu Zhen, Ni Jianyi, Zhuang Qianyi, Zhang Yukui. Chinese Journal of Chromatography (叶明亮, 皱汉法, 刘 震, 倪坚毅, 庄谦义, 张玉奎. 色谱), 1999, 17(2) : 142
- [25] Narang P, Colon L A. J Chromatogr A, 1997, 773 : 65
- [26] Wang Yuanchao, Zeng Zhaorui, Guan Na, Fu Enqin, Cheng Jieke. Chinese Journal of Analytical Chemistry (王园朝, 曾昭睿, 管 娜, 傅恩琴, 程介克. 分析化学), 2002, 30(2) : 227
- [27] Hsieh Y Y, Lin Y H, Yang J S, Wei G T, Tien P, Chau L K. J Chromatogr A, 2002, 952 : 255
- [28] Wang Y C, Zeng Z R, Guan N, Cheng J K. Electrophoresis, 2001, 22 : 2 167
- [29] Zeng Zhaorui, Xie Chuanhui, Wang Yuanchao, Guan Na, Fu Enqin, Cheng Jieke. Chemical Journal of Chinese Universities (曾昭睿, 谢传辉, 王园朝, 管 娜, 傅恩琴, 程介克. 高等学校化学学报), 2001, 22(7) : 1 108
- [30] Li Fang, Zhang Hanbang, Gao Dan, Lu Guangju, Gu Junling, Fu Ruonong. Chinese Science Bulletin (李 方, 张汉邦, 高 丹, 卢光菊, 顾峻岭, 傅若农. 科学通报), 1998, 43(4) : 446
- [31] Sun Daihong, Li Liangchao, Han Huimin, Zeng Zhaorui. Chemistry (孙代红, 李良超, 韩惠敏, 曾昭睿. 化学通报), 2002, (3) : 182
- [32] Malik A, Wang D X. World Patent 2001, No. 2000011463
- [33] Wang Dongxin. Chemical World (王东新. 化学世界), 2003, (5) : 266
- [34] Wang Dongxin. Journal of Nanjing Normal University (Engineering and Technology) (王东新. 南京师范大学学报 (工程技术版)), 2002, 2(3) : 70
- [35] Shende C, Kabir A, Townsend E, Malik A. Anal Chem, 2003, 75(14) : 3 186
- [36] Wang Dongxin, Malik A. Chinese Journal of Analytical Chemistry (王东新, Malik A. 分析化学), 2003, 31(4) : 467
- [37] Wang Dongxin, Malik A. Chinese Journal of Chromatography (王东新, Malik A. 色谱), 2002, 20(6) : 534
- [38] Wang Dongxin, Malik A. Journal of Nanjing Normal University (Natural Science) (王东新, Malik A. 南京师范大学学报 (自然科学版)), 2002, 25(4) : 67
- [39] Wang Dongxin. Chinese Journal of Chromatography (王东新. 色谱), 2003, 21(5) : 528
- [40] Newkome G R, Yoo K S, Kabir A, Malik A. Tetrahedron Lett, 2001, 42 : 7 537
- [41] Ge Xiaoxia, Fu Ruonong, Dai Rongji, Liu Liwen, Qi Meiling. Chinese Chemical Letters, 2004, 15(4) : 428
- [42] de Zeeuw J. Trends in Analytical Chemistry, 2002, 21(9-10) : 594
- [43] Constantin S, Freitag R, Solignac D, Sayah A. Sensors and Actuators B, 2001, 78 : 267
- [44] Wang Yuanchao. Journal of Xianning Teachers College (王园朝. 咸宁师专学报), 2000, 20(3) : 71
- [45] Li Fang, Jin Hui, Gu Junling, Fu Ruonong. Journal of Beijing Institute of Technology, 1996, 5(2) : 122