

# 高效液体色谱固定相

(译文集)

科学出版社

# 高效液体色谱固定相

## (译文集)

王 淇 樊立民 等 编译  
何凤英 俞惟乐

俞惟乐 王 淇 校

科 学 出 版 社

1 9 8 3

## 内 容 简 介

本译文集介绍了近代高效液体色谱所用固定相的一些品种、制备、性能以及它们的某些色谱应用,也涉及了固相酶的制备和亲合色谱方面的应用,以及键合固定相在合成多肽大分子等生物化学方面的应用。

本译文集共分十六章,前十章译自 E. Grushka 主编的“Bonded Stationary Phases in Chromatography” (1974, Ann Arbor Science Publishers) 一书,后六章译自 *J. Chromatog. Sci.* 和 *Chromatographia* 等期刊。

本译文集可供从事色谱工作的科学研究工作者、技术人员和大专院校有关专业师生参考。

## 高 效 液 体 色 谱 固 定 相

(译 文 集)

王 淇 樊立民 等 编译  
何凤英 俞惟乐

俞惟乐 王 淇 校

责任编辑 操时杰

科 学 出 版 社 出 版

北京朝阳门内大街 137 号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

1983 年 6 月 第 一 版 开本: 787×1092 1/32

1983 年 6 月 第一次印刷 印张: 11 1/8

字数: 0001—3,600 印数: 254,000

统一书号: 13031·2196

本社书号: 3002·13—4

定 价: 1.70 元

## 前 言

近十年来,液体色谱法的发展十分迅速,可与气相色谱法在五十年代的发展相媲美。液体色谱法之所以能获得新生,除了理论上汲取了气相色谱的营养、工艺上获得了输送稳定的小液量的高压系统和多种多样的检测器外,与色谱理论有关的新型固定相(填料)的发展也是重要的原因。新型固定相包括化学键合固定相和微粒固定相,以及两者的结合。使用了这些新型固定相以后,在分离、分析沸点较高和热稳定性较差的化合物,如染料、农药、激素、药物、生物碱、核酸、石油产品、高分子化合物及其中间体等方面获得的成功,已使液体色谱法成为产品检验、科学研究、药物检验及环境保护等工作中重要的分析方法之一。

为了让初次从事液体色谱的工作者能对液体色谱固定相的研制、生产以及应用等方面有初步的概念,我们编译了这本译文集。

本译文集的前十章译自美国 E. Grushka 主编的“Bonded Stationary Phases in Chromatography”一书,后六章译自 *J. Chromatog. Sci.* 和 *Chromatographia* 等期刊,著者及期刊名称分别附在各章的译文前、后。

限于我们的水平及时间,译文肯定有不妥及错误之处,恳请读者批评指正。

编译者

1979年1月

# 目 录

|       |                                                                   |         |
|-------|-------------------------------------------------------------------|---------|
| 第 一 章 | 色谱用化学键合固定相 .....                                                  |         |
|       | ..... M. Lynn 和 A. M. Filbert                                     | ( 1 )   |
| 第 二 章 | 色谱用硅胶的改性 .....                                                    |         |
|       | ..... W. A. Aue 和 S. Kapila                                       | ( 12 )  |
| 第 三 章 | 反相分配色谱用化学键合固定相 .....                                              |         |
|       | ..... R. C. Williams                                              | ( 26 )  |
| 第 四 章 | 气相色谱和液体色谱的永久性键合固定相.....                                           |         |
|       | J. N. Little, D. F. Horgan, Jr., R. L. Cotter 和 R. V. Vivilecchia | ( 38 )  |
| 第 五 章 | 薄壳型离子交换剂 .....                                                    |         |
|       | C. Horvath                                                        | ( 56 )  |
| 第 六 章 | 用于固相酶和亲合色谱的载体 .....                                               |         |
|       | G. P. Royer 和 W. E. Meyers                                        | ( 86 )  |
| 第 七 章 | 聚酰胺色谱 .....                                                       |         |
|       | F. M. Rabel                                                       | ( 105 ) |
| 第 八 章 | 小多孔粒子上的键合相.....                                                   |         |
|       | R. E. Majors                                                      | ( 127 ) |
| 第 九 章 | 应用新硅烷于固相肽合成和制备液体色谱的极性化学键合相 .....                                  |         |
|       | ..... W. Parr 和 M. Novotny                                        | ( 159 ) |
| 第 十 章 | 硅烷化表面上的色谱 .....                                                   |         |
|       | M. Novotny                                                        | ( 182 ) |
| 第十一章  | 用多孔氧化硅微珠的高效液体色谱 .....                                             |         |
|       | ..... J. J. Kirkland                                              | ( 214 ) |
| 第十二章  | 现代液体色谱柱填料 .....                                                   |         |
|       | ..... R. E. Leitch 和 J. J. DeStefano                              | ( 231 ) |
| 第十三章  | 用于高效液体色谱的键合离子交换剂填料的制备(以小颗粒硅胶为基础)、特性和                              |         |

|      |                                                                            |       |
|------|----------------------------------------------------------------------------|-------|
|      | 一些应用 .....                                                                 |       |
|      | .....G. B. Cox, C. R. Loscombe,<br>M. J. Sluett, K. Sugden 和 J. A. Upfield | (252) |
| 第十四章 | 高速液体色谱和离子交换色谱载体设计的理论研究 .....                                               |       |
|      | .....L. C. Hansen 和 T. W. Gilbert                                          | (266) |
| 第十五章 | 关于高性能液相色谱填充柱的各种制备技术的评论和讨论 .....                                            |       |
|      | ..... M. Martin 和 G. Guiochon                                              | (288) |
| 第十六章 | 高效液体色谱中的进样和柱外效应; 峰的偏斜对计算理论板数的影响 .....                                      |       |
|      | .....J. J. Kirkland, W. W. Yau,<br>H. J. Stoklosa 和 C. H. Dilks, Jr.       | (314) |

# 第一章

## 色谱用化学键合固定相

M. LYNN 和 A. M. FILBERT

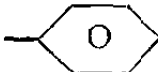
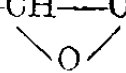
### 引言

带有液相共价键合于无机固体载体的填充材料在液-液和气-液色谱分离中比其它常用填料好。化学键合相比一般的固定液有更好的热稳定性和对溶剂的稳定性<sup>[1,2]</sup>。化学偶合也减小了无机载体的表面活性。

### 载体的共价键合

发展化学键合液相填料的一种手段是通过硅烷与无机载体的反应。这里述及的工作是用十八烷基三氯硅烷和  $\gamma$ -氨丙基三乙氧基硅烷进行的<sup>[3,4]</sup>。但是，适当地选择硅烷(表 1.1)可以制备出多种填料。

表 1.1 可用利用到的基团

|                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                      |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| $-\text{CH}_3$<br>$-(\text{CH}_2)_{17}\text{CH}_3$<br>$-\text{CH}=\text{CH}_2$<br><br> | $-\text{CH}_2\text{Cl}$<br>$-\text{CH}_2\text{ON}$<br>$-\text{CH}_2\text{NH}_2$<br>$-\text{CH}_2\text{SH}$<br>$-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2$<br> |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

从非极性到极高性的填料能直接由载体与具有所需要官能团的硅烷反应来制备。此外，更多的填料可用有机化学反应对硅烷化的物质进行改性来制备。

下面介绍的工作是用二氧化硅和控制孔隙度玻璃载体进行的。图 1.1, 1.2, 1.3 表示控制孔隙度玻璃的不同放大倍数的扫描电子显微图。Hair 和 Filbert<sup>[5]</sup>已经讨论过有关控制孔隙度玻璃的制备资料，也讨论了这类独特玻璃的表面性质。

图 1.4 中的红外光谱说明，热处理改变二氧化硅和控制孔隙度玻璃的表面性质。谱线 a 是湿二氧化硅表面的光谱，谱

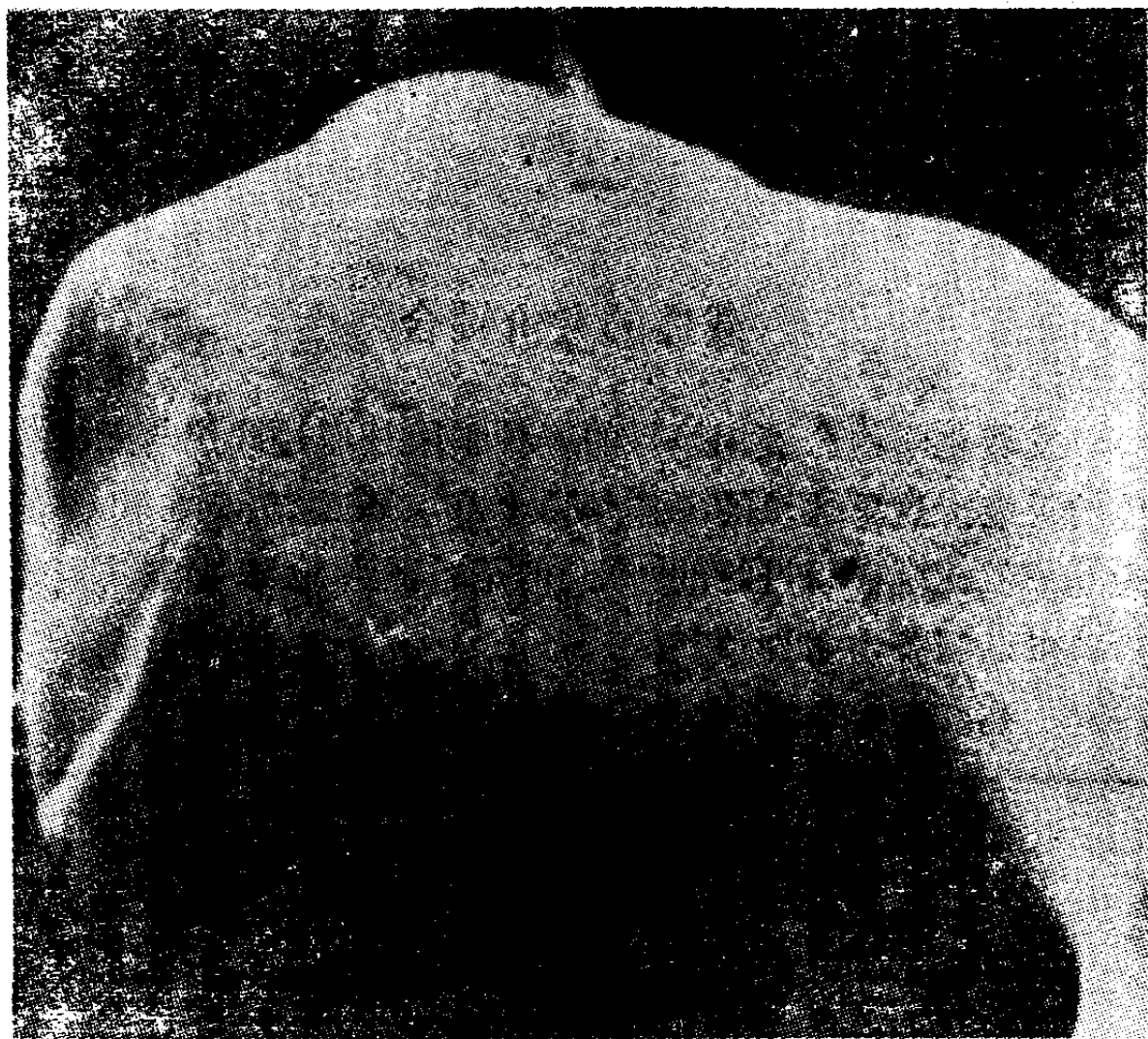


图 1.1 控制孔隙度玻璃(2300 埃, 40 微米)  
的扫描电子显微图, 315 倍

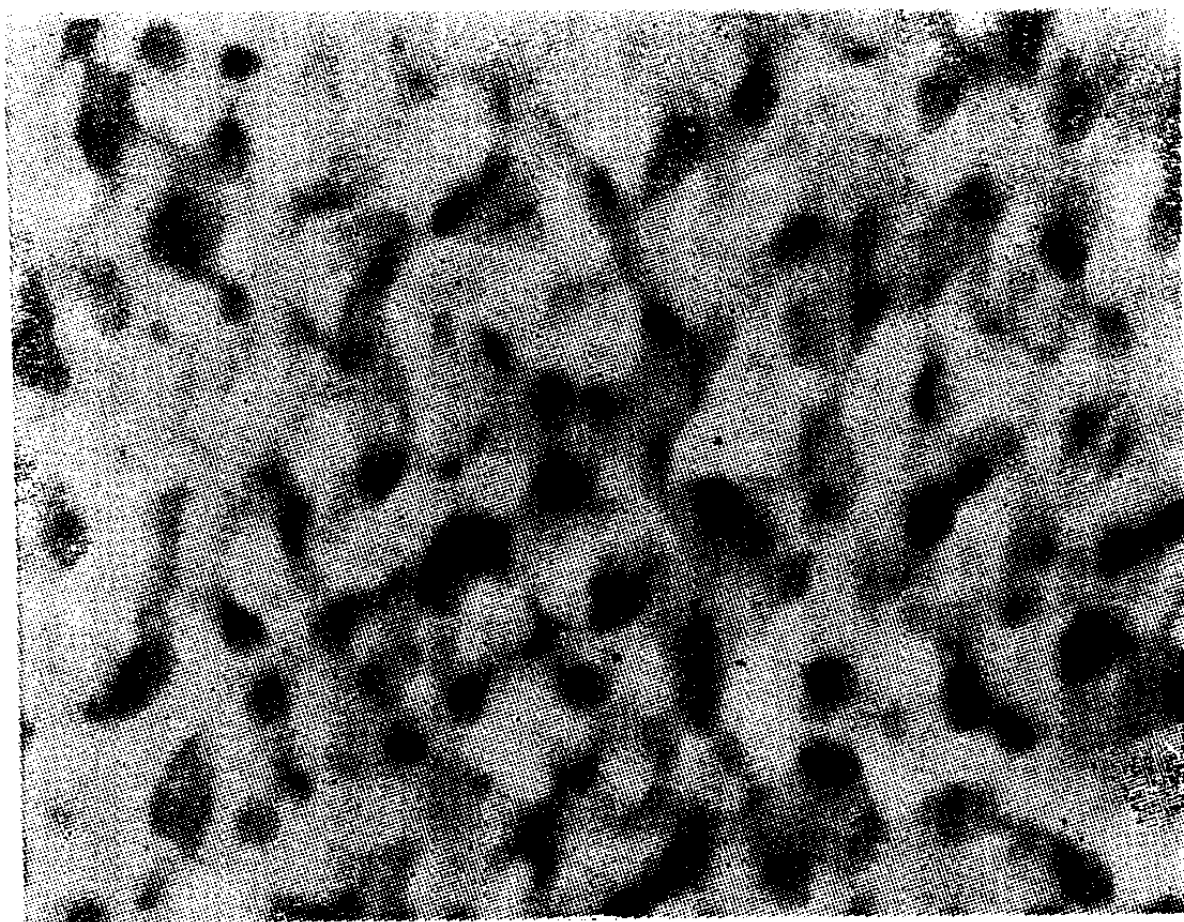


图 1.2 控制孔隙度玻璃(2300 埃, 1.2 微米)  
的扫描电子显微图, 10,500 倍

线 b 是二氧化硅加热到  $150^{\circ}\text{C}$  时的光谱, 谱线 c 是二氧化硅加热到  $800^{\circ}\text{C}$  时的光谱. 谱线 a 中在  $3450\text{ 厘米}^{-1}$  的宽带与分子水有关, 当载体加热到  $150^{\circ}\text{C}$  时就消失了. 谱带  $3660\text{ 厘米}^{-1}$  是由靠在一起并以氢键互相结合的表面羟基所引起的. 当进一步把二氧化硅加热, 这一谱带就消失, 在  $500^{\circ}\text{C}$  时仅有拖尾. 在  $800^{\circ}\text{C}$  时,  $3660\text{ 厘米}^{-1}$  的谱带完全消失, 只留下谱带  $3747\text{ 厘米}^{-1}$ . 后者是由于游离的硅羟基的振动而产生的.

硅烷与二氧化硅载体的反应机理, 包括硅烷上的酯、卤素或硅羟基官能团与二氧化硅表面上硅羟基的缩合. 在二氧化硅表面无水存在时, 硅烷上的卤素, 或酯基与二氧化硅上自

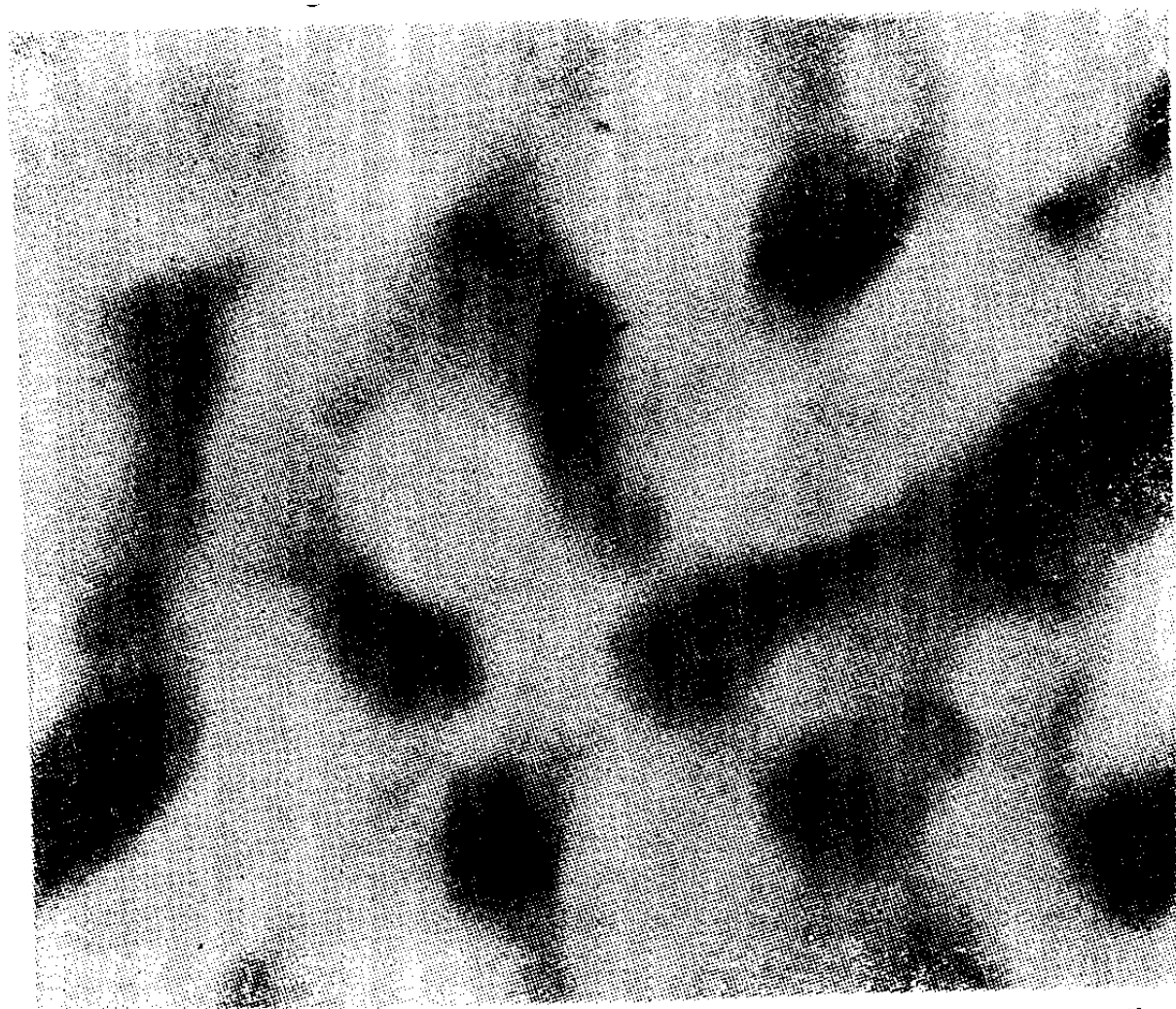


图 1.3 控制孔隙度玻璃(2300 埃, 0.4 微米)的扫描电子显微图, 31,000 倍

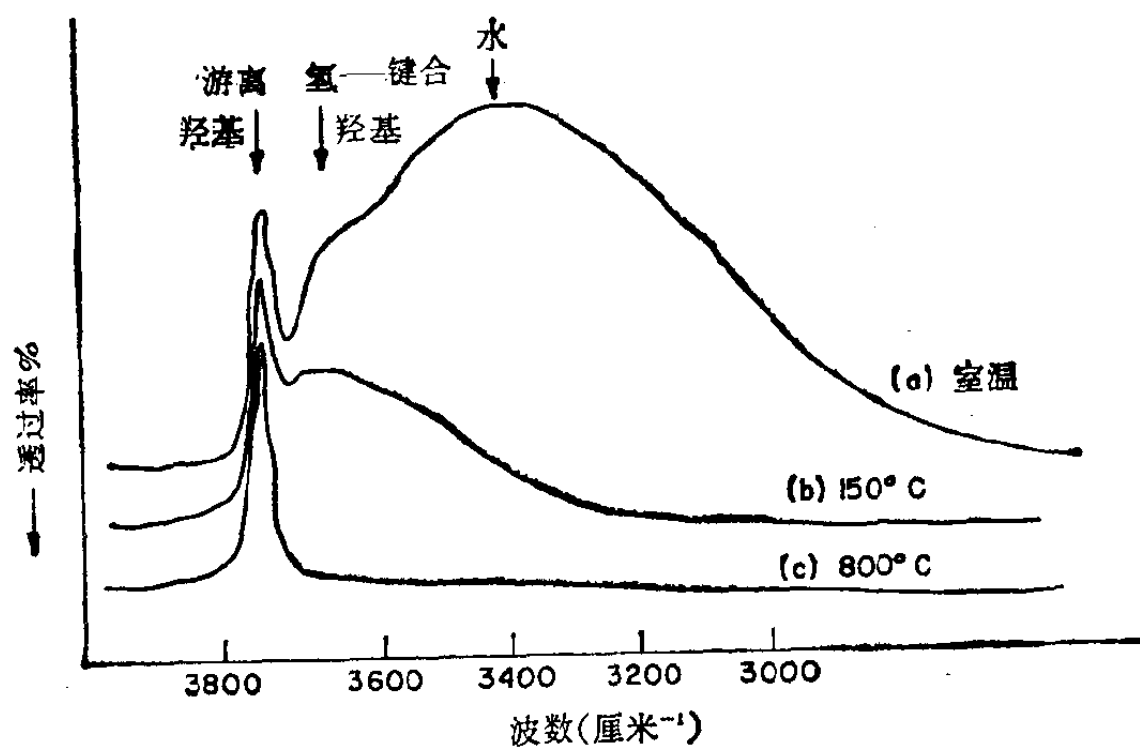


图 1.4 高表面积二氧化硅的红外光谱

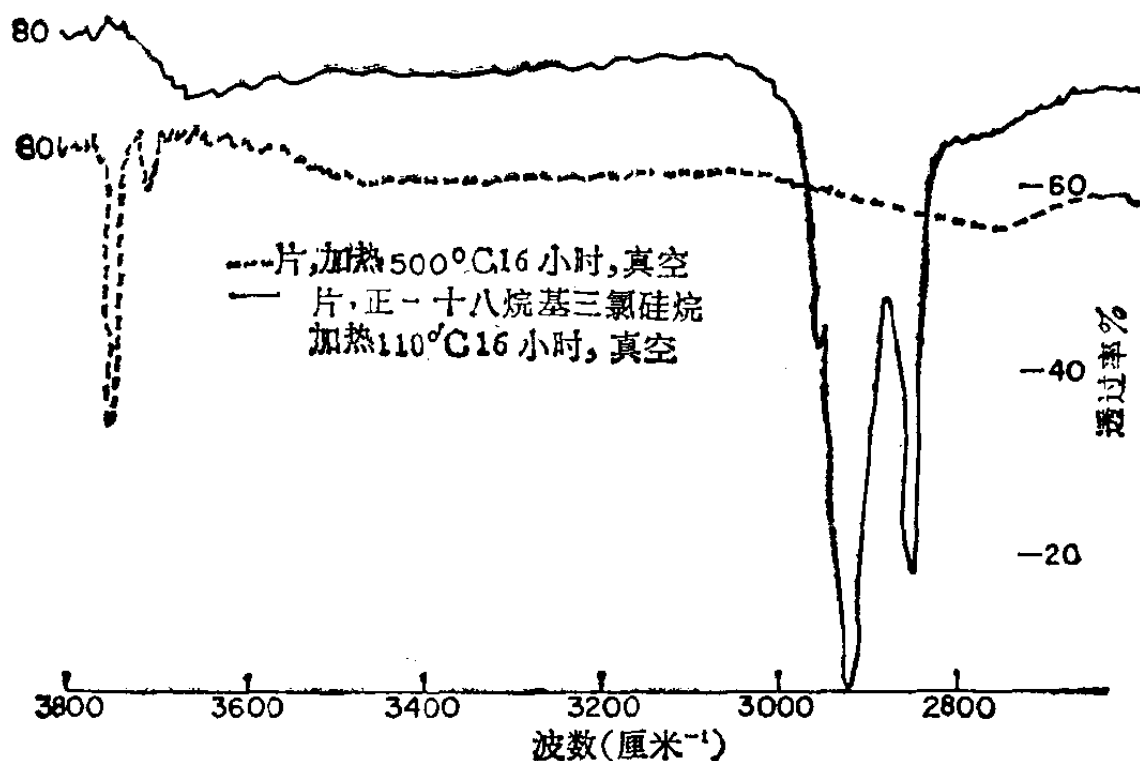
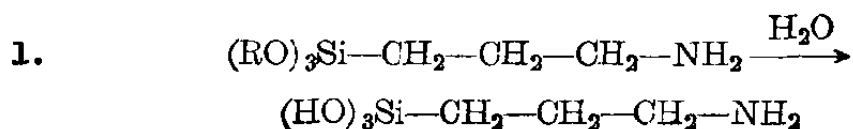


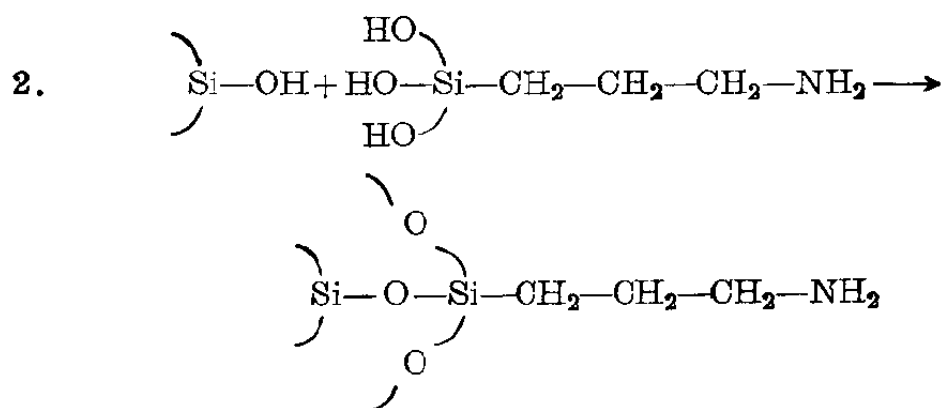
图 1.5 控制孔隙度玻璃片用正-十八烷基三氯硅烷处理后的红外光谱

由振动的硅羟基缩合。图 1.5 中所示为 290 埃控制孔隙度的玻璃片首先加热到  $500^{\circ}\text{C}$ ，然后才与硅烷反应。加热到  $500^{\circ}\text{C}$  后，只有游离硅羟基谱带  $3747\text{ 厘米}^{-1}$  和属于硼羟基的小谱带  $3690\text{ 厘米}^{-1}$  存在。在永久固定相填料制备中第一步反应是硅羟基与十八烷基三氯硅烷的反应。

在硅烷的甲苯溶液中回流载体，然后再在甲苯中回流，以除去没有化学键合到表面上的硅烷。这个技术应产生可能得到的近似于单层的液相。反应后的红外光谱图(图 1.5)说明硅羟基和硼羟基峰消失，出现了属于十八烷基硅烷衍生物的一 $\text{CH}_2$ —和一 $\text{CH}_3$ 基团的谱带。

在有水存在时，硅烷上的烷氧基水解生成羟基后再与玻璃表面上的羟基反应。





理想情况下，应该要求硅烷上的所有羟基与表面硅羟基反应。然而，由于位阻因素，这个反应没有发生，而是发生了硅烷间的部分缩合，形成硅氧烷聚合物，此外，还有些没有反应的羟基。但在这样的情况下必须认为液相是多层的覆盖层。

## 硅烷化研究

影响有机层浓度或厚度的某些因素是硅烷单体浓度，反应溶剂，pH，反应温度，反应时间和表面积。二氧化硅表面上活性硅羟基的浓度由材料的表面积和热处理的过程来决定。象前面谈到的那样，加热载体到高温再在非水系统中硅烷化后应在玻璃上产生单分子层。然而，在一般情况下，反应期间如果玻璃表面有水时，那末从有机溶剂得到的硅烷负载量比从水相系统得到的高。

正如容易料想到的，硅烷负载量受反应溶液中单体硅烷浓度的影响(图 1.6)。在硅烷浓度低的时候，稍增加浓度对硅烷负载量有大的效果。而在硅烷浓度超过百分之五时，增加浓度几乎没有效果。在这个例子中，载体是比表面积为每克 70 平方米 550 埃的控制孔隙度玻璃。

若用同样的玻璃和百分之十的硅烷水溶液，硅烷负载量随温度而增加，直到大约 75°C 为止(图 1.7)。硅烷负载量也

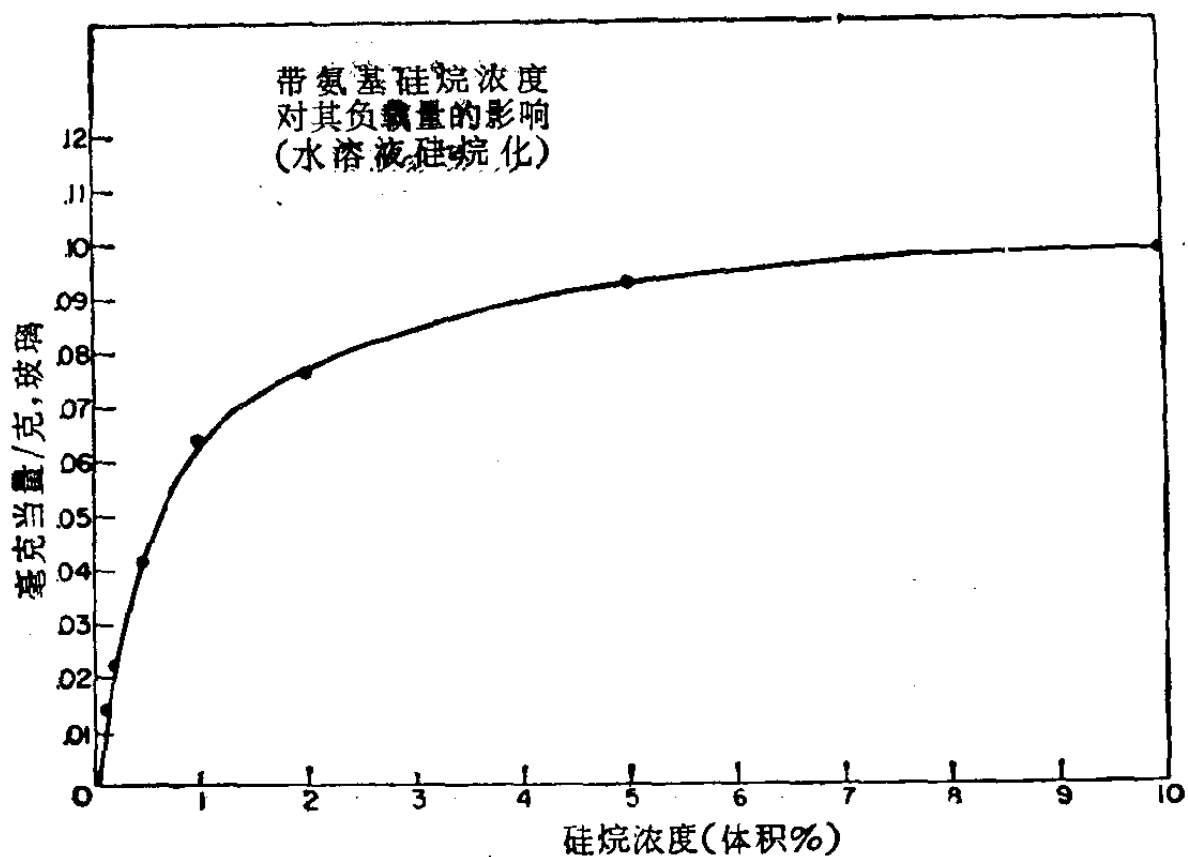


图 1.6 硅烷浓度对控制孔隙度玻璃上硅烷负载量的影响  
(带氨基硅烷的水溶液)

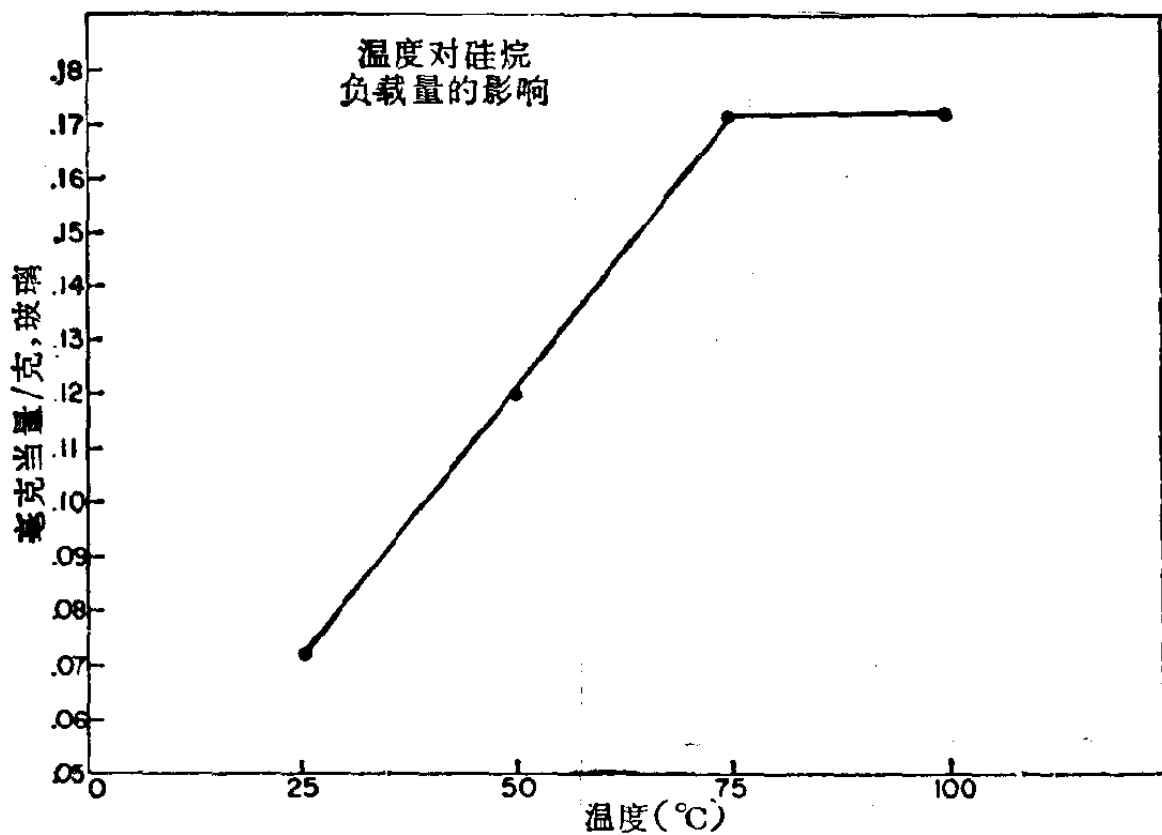


图 1.7 温度对控制孔隙度玻璃上硅烷负载量的影响

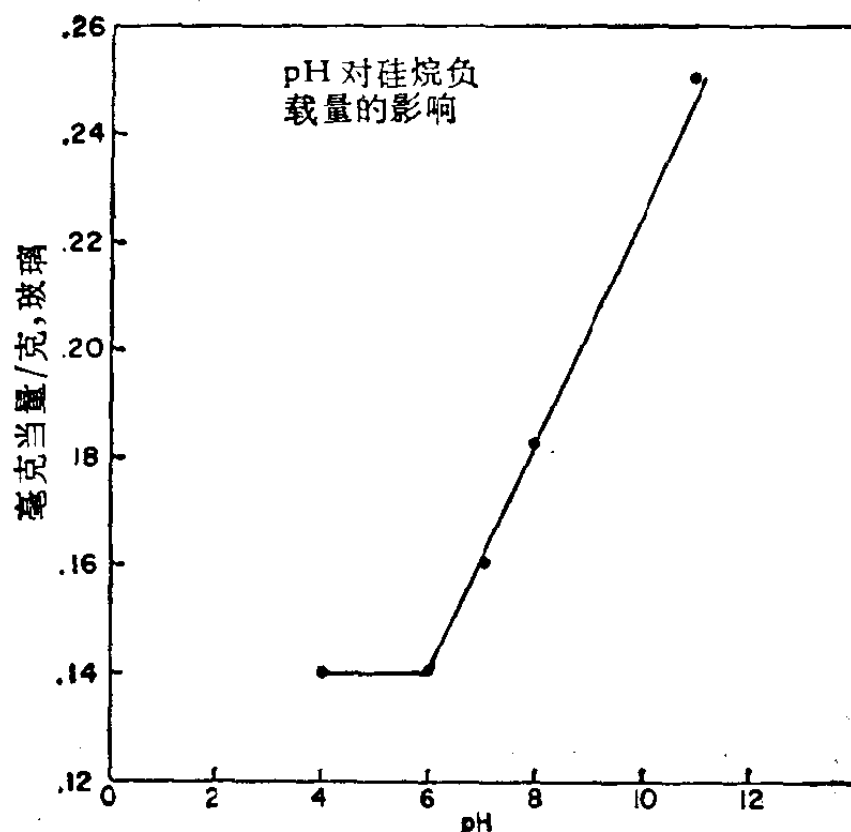


图 1.8 pH 值对控制孔隙度玻璃上硅烷负载量的影响

受 pH 变化 (pH 6 到 11 的范围内) 的影响 (图 1.8). 在这个例子中, 当 pH 为 11 时, 得到最高负载量. 此 11 是百分之十的  $\gamma$ -氨基丙基三乙氧基硅烷溶液的 pH 值.

为了消除反应时间的影响, 上面的反应都是两小时周期操作. 不管怎样, 在高温进行硅烷化反应时, 看来反应时间不是关键的因素 (表 1.2).

表 1.2 反应时间对硅烷负载量 (水溶液硅烷化) 的影响

| 反 应 时 间 (分) | 每克玻璃的毫克当量数 |
|-------------|------------|
| 0           | 0.15       |
| 15          | 0.16       |
| 30          | 0.16       |
| 60          | 0.17       |
| 120         | 0.18       |
| 240         | 0.18       |

## 填料的稳定性

评价了永久性液体固定相的热稳定性和化学稳定性。用热重分析和差热分析研究了  $\gamma$ -氨丙基硅烷填料的热稳定性。用这两种热分析法,直到  $300^{\circ}\text{C}$  填料是稳定的。在更高的温度时,硅烷从载体上损失。在同样的条件下,硅酮油处理的玻璃填料在  $100^{\circ}\text{C}$  到  $200^{\circ}\text{C}$  之间就有明显的损失。

用红外研究来评价十八烷基硅烷-控制孔隙度玻璃填料。图 1.9 示出了热处理对十八烷基硅烷-多孔玻璃片的影响。当温度增加到  $300^{\circ}\text{C}$  时,与碳-氢伸缩振动有关的吸收谱带没有受到影响。在更高的温度时,从玻璃片的表面上就有硅烷损失了。

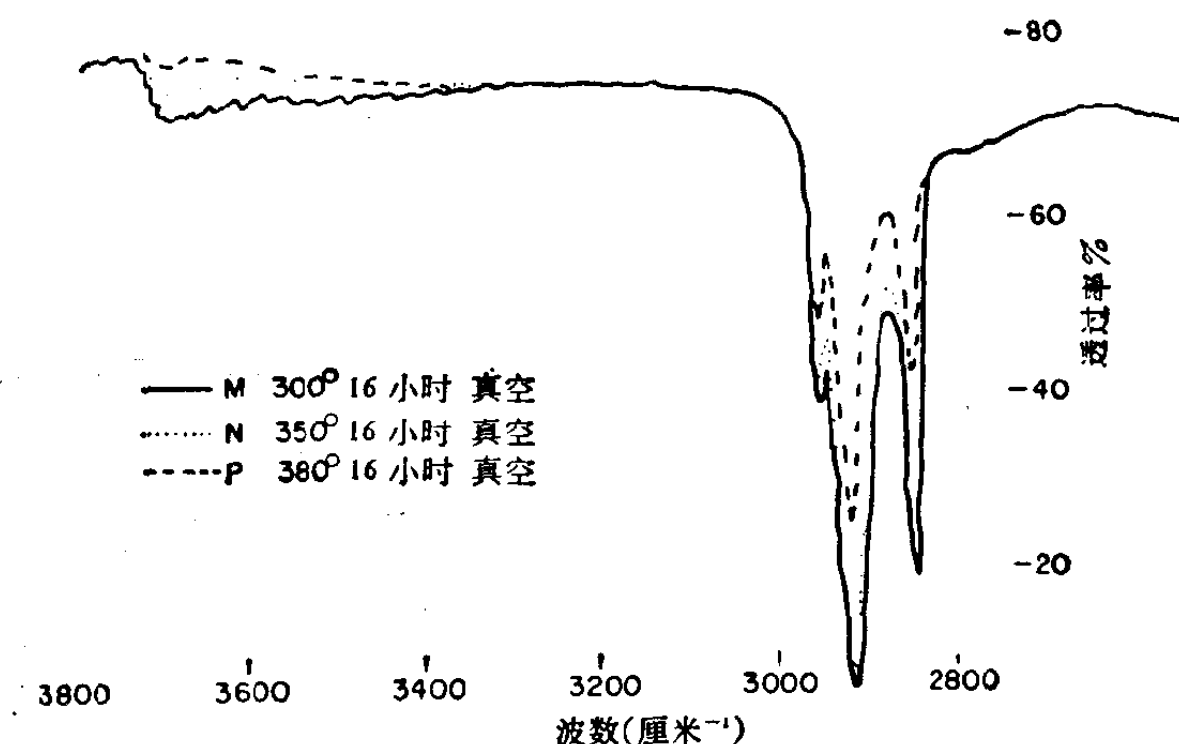


图 1.9 热处理过的十八烷基硅烷-多孔玻璃片的红外光谱

十八烷基硅烷填料的化学稳定性是通过在一系列的溶剂中把 300 埃多孔玻璃片回流,并检查萃取前后玻璃片的红外

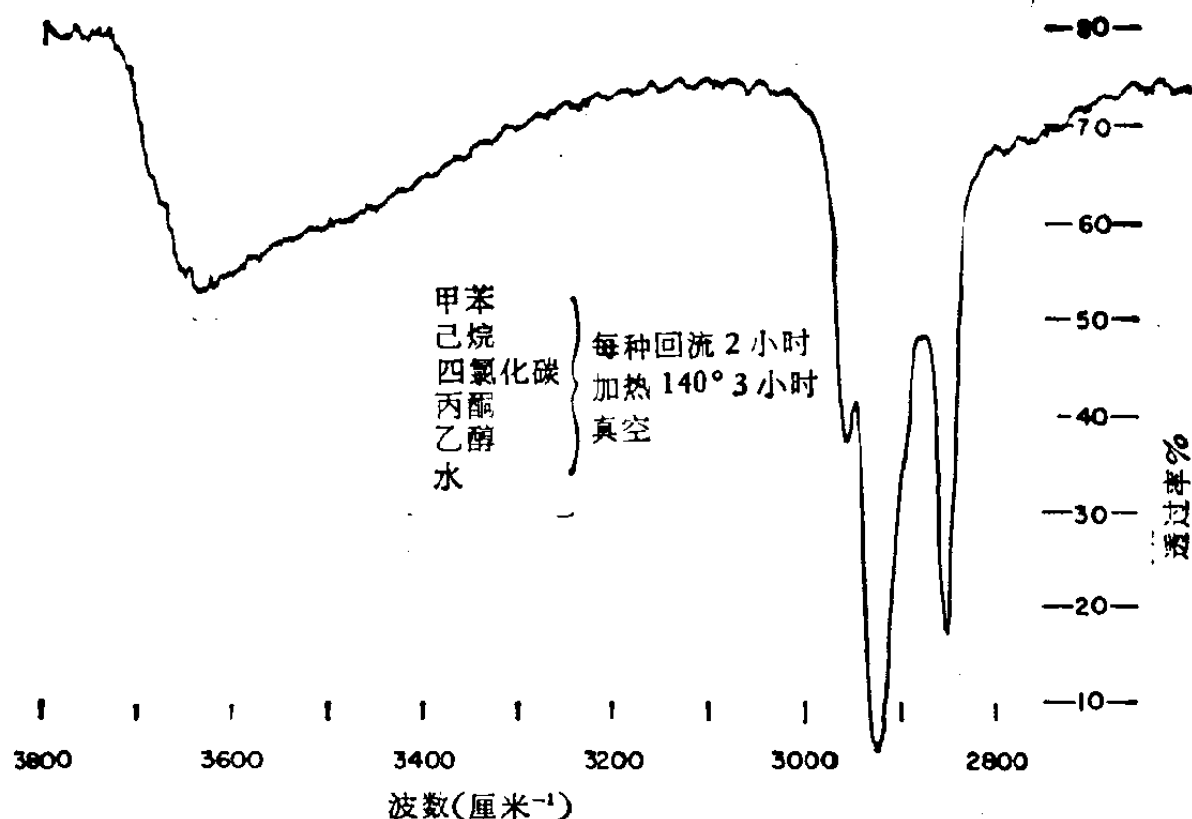


图 1.10 用溶剂处理过的十八烷基硅烷-多孔玻璃片的红外光谱

光谱来评价的(图 1.10)。没有观察到碳-氢伸缩振动的谱带强度变化,这说明硅烷没有从表面上除去。

## 提 要

硅烷化技术是用来制备有化学键合的液相填料的极好方法。因为可得到许多硅烷,所以能制备出从非极性到极性的许多液相。无机载体也能容易地用硅烷化改性,为气-液或液-液色谱分离提供了任何类型的表面。

## 参 考 文 献

1. Karasek, F. W. *Res. Devel.*, 22, 34 (1971).
2. Majors, R. E. *Am. Lab.*, 4, 27 (1972).
3. Sterman, S. and J. G. Marsden. Union Carbide Corp., Bulletin F-41920 (1968).
4. Aue, W. A. and C. R. Hastings. *J. Chromatog.*, 42, 319

- (1969).
5. Hair, M. L. and A. M. Filbert. *Res. Devel.*, 20(12), 30 (1969).
  6. Hair, M. L. and A. M. Filbert. *Res. Devel.*, 20(10), 34 (1969).
  7. Hair, M. L. and I. D. Chapman. *J. Am. Ceram. Soc.*, 49, 651 (1966).

[樊立民 译]