

# 微米级反相无孔硅胶色谱填料的制备及其分析

苏 华,邱利平,王 军,陈国珍,马 兰,张玉娟,李 娟,侯小梅,李 会

(陕西省石油化工研究设计院检测中心,陕西 西安 710054)

**摘要:**采用溶胶-凝胶法合成了亚 2  $\mu\text{m}$  无孔硅胶微球,在其表面键合了  $\text{C}_{18}$  链,制备出亚 2  $\mu\text{m}$  反相无孔硅胶色谱柱,并对合成的反相无孔硅胶色谱填料进行了单分散性分析,通过改变正硅酸乙酯的滴加速度发现,硅胶微球的粒径大小随着正硅酸乙酯的滴加速度的增大而逐渐增大。利用该方法合成了亚 2  $\mu\text{m}$  反相无孔硅胶色谱填料,并为进一步将该填料应用到超效液相色谱柱奠定基础。

**关键词:**无孔硅胶;填料;微米级

中图分类号:O657

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2015)09-0180-02

DOI:10.16606/j.cnki.issn 0253-4320.2015.09.045

## Preparation and analysis of non porous silica micron reversed-phase chromatographic packing

SU Hua, QIU Li-ping, WANG Jun, CHEN Guo-zhen, MA Lan, ZHANG Yu-juan, LI Juan, HOU Xiao-mei, LI Hui

(Testing Center, Shaanxi Research Design Institute of Petroleum and Chemical Industry, Xi'an 710054, China)

**Abstract:** The sub 2  $\mu\text{m}$  non porous silica microspheres are prepared by sol-gel method. The subsequent surface modification of the non porous silica microspheres obtained above is performed by using  $\text{C}_{18}$  chain to synthesize the sub 2  $\mu\text{m}$  micron reversed-phase nonporous silica chromatographic packing. The monodisperse analysis is also conducted. The silica microspheres particle size is gradually increased with the increase of dropping speed of TEOS. The sub 2  $\mu\text{m}$  inverting nonporous silica gel chromatographic packing obtained via this method will be further applied to ultra performance liquid chromatography column.

**Key words:** non-porous silica; packing; micron grade

无孔硅胶是指粒径  $< 2 \mu\text{m}$  (亚 2  $\mu\text{m}$ ) 的硅胶填料<sup>[1]</sup>,即表面无孔及良好的单分散性且机械强度高的一种新型色谱填料,是相对于多孔硅胶填料而言的,多孔硅胶孔径一般约为 30 nm,受传质阻力的影响,在有机分析中,有机物的最大分子质量不超过 100 kDa,存在很大的局限性。近些年研究发现,小粒径填料不但可以大大缩短分析时间,还能够提高柱效<sup>[2]</sup>,同时可以克服多孔硅胶传质限制中的一些缺点,所以无孔硅胶近些年成为研究热点<sup>[3]</sup>。目前合成无孔硅胶的方法主要有 Stöber 微球法<sup>[4-5]</sup>、Unger 法<sup>[6-7]</sup>、Barder 法<sup>[8]</sup>、水热法<sup>[9]</sup>、速率法<sup>[10]</sup>等。

笔者结合以上 5 种方法并通过方法的改进,采用溶胶-凝胶法合成了亚 2  $\mu\text{m}$  无孔硅胶微球,在其表面键合了  $\text{C}_{18}$  链,制备出亚 2  $\mu\text{m}$  反相无孔硅胶色谱柱,并对该微球颗粒进行相关研究。

## 1 试验部分

### 1.1 仪器与试剂

仪器:DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器,郑州长城科工贸有限公司生产;高速离心机,RC28S 型,Evolution,美国 Sovall 公司生产;BT100-2J 蠕动泵,常州普瑞流体技术有限公司生产;环境扫描电子显微镜系统,FEI Quanta 400 PEG 型。

试剂:正硅酸乙酯  $[\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4]$ ,分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司生产;无水乙醇 (EtOH),分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司生产;蒸馏水,由 Millipore 超纯水机制;氨水 ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ),分析纯,天津市河东区红岩试剂厂生产。

### 1.2 无孔硅胶的合成

向 250 mL 三颈瓶中加入 10 mL 氨水和 80 mL 无水乙醇,再将 500 mL 三颈瓶瓶口分别与  $\text{N}_2$ 、磁力

收稿日期:2015-02-04

基金项目:延长石油集团陕西省石油化工研究设计院青年创新项目(2014qcx06)

作者简介:苏华(1984-),女,硕士生,工程师,主要从事色谱填料合成、分析及分析化学相关的分析、应用、理论等研究工作,suhua-1984@163.com。

搅拌器和蠕动泵依次连接起来。首先在三颈瓶中持续通入  $N_2$  以排除瓶中的氧气以及水分,同时启动磁力搅拌器,充分搅拌,使氨水和无水乙醇混合均匀,再通过蠕动泵将 10 mL 正硅酸乙酯以 0.05 mL/min 的速度滴加入三颈瓶中,为防止正硅酸乙酯水解,同时不断向瓶中通入氮气排除空气中的水汽。上述反应可通过调节蠕动泵的流速来控制合成硅胶的粒径<sup>[1]</sup>。正硅酸乙酯输送完毕后, $N_2$  保护的情况下继续搅拌 6 h,再依次用无水乙醇、水抽滤,洗涤,最后离心,弃去母液,将新制的硅胶微球分散于纯净水中。

### 1.3 微米级反相无孔硅胶色谱填料的制备

称取 20 mL 制备的硅胶微球,加入 60 mL 20% HCl 溶液,于 105℃ 加热回流 2 h,过滤,再用蒸馏水反复洗涤至中性。将处理过的硅胶放入真空干燥室中,于 105℃ 放置过夜。将此干燥过的硅胶加入到 40 mL 经钠丝干燥的甲苯中,搅拌,在  $N_2$  气保护下,升温到 105℃,加入 5 mL  $\gamma$ -氨丙基三乙氧基硅烷,加热回流键合  $C_{18}$  固定相 12 h,过滤,分别用甲苯和无水乙醇多次洗涤后,放入真空干燥室中,于 60℃ 放置过夜。将合成好的氨丙基硅胶放入干燥器内备用。将 2.0 g 羰基二咪唑溶于 80 mL 无水乙醇中,加入 2.4 g 氨丙基硅胶,室温搅拌 6 h,抽滤,用无水乙醇洗涤数次,备用。向键和  $C_{18}$  的硅胶中加入 40 mL 0.1% 三甲基氯硅烷,搅拌 30 min,抽滤,用无水乙醇溶液洗涤数次,并保存于质量分数为 0.02% 叠氮钠的无水乙醇中,备用。

## 2 结果与讨论

### 2.1 反相无孔硅胶色谱填料单分散性分析

将合成的反相无孔硅胶微球填料在光学显微镜下观察其单分散性,如图 1 所示。不同放大倍数下的无孔硅胶微球粒径分散情况可以观察到,合成的硅胶粒径均一,单分散性较好。从图 1(b)中可以观察到,硅胶表面附着一层膜状物质,造成这种现象的原因与硅胶合成过程中温度变化有关。用标尺量出图 1(c)中 4 个微球的直径,然后取平均值,测得该次合成的微球直径约为 1.05  $\mu\text{m}$ ,同时观察图 1(c)中硅胶微球发现,微球间有黏稠状液体相连的现象,这是由于洗涤时某种洗涤剂中特殊分散剂杂质的影响。利用 ICP 技术对合成的硅胶微球表面物质进行分析发现,微球表面有钠、镁等微量金属,原因是因为反应物氨水中含有微量的杂质造成的。

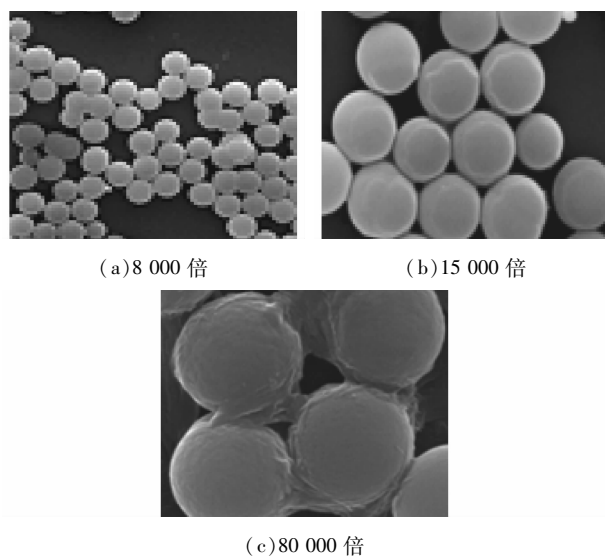


图 1 扫描电镜图

### 2.2 正硅酸乙酯的滴加速度对微球粒径大小的影响

实验过程中发现,正硅酸乙酯的滴加速度影响合成的微球粒径大小,故采用改变蠕动泵输送正硅酸乙酯流速大小,即分别在 0.05、0.08、0.10、0.20 mL/min 4 种流速下合成了 4 批微球,并且从每批合成的微球中任意选取 4 个微球对其粒径进行测试,由表 1 可知,硅胶微球的粒径大小随着正硅酸乙酯滴加速度的增大而逐渐增大。

表 1 不同流速下无孔硅胶微球平均粒径比较  $\mu\text{m}$

正硅酸乙酯的滴加速度/ ( $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ )	0.05	0.08	0.10	0.20
微球 1 粒径	1.04	1.09	1.09	1.16
微球 2 粒径	1.03	1.06	1.08	1.13
微球 3 粒径	1.08	1.08	1.08	1.09
微球 4 粒径	1.05	1.06	1.08	1.08
平均粒径	1.05	1.07	1.08	1.12

## 3 结论

采用溶胶-凝胶法合成了亚 2  $\mu\text{m}$  反相无孔硅胶色谱填料,硅胶微球的粒径大小随着正硅酸乙酯的滴加速度的增大而逐渐增大,利用该方法合成了亚 2  $\mu\text{m}$  反相无孔硅胶色谱填料,并为进一步将该填料应用到超效液相色谱柱奠定了基础。

### 参考文献

- [1] Wagner K, Racaityte K, Unger K K, *et al.* Protein mapping by two-dimensional high performance liquid chromatography[J]. *Journal of Chromatography A*, 2000, 893: 293 - 305.

在海底到平台之间通常有上百米的竖直管段,须保证有足够的推力使内检测器顺利通过最极端的竖直管段。利用计算流体分析软件 Ansys Fluent 计算流体对球体的推力,其几何模型与边界条件如图 1 所示。

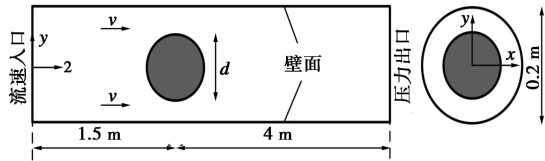


图 1 计算流体仿真几何模型与边界条件

管道内径设置为油气输送最常用的 8 英寸 (0.2 m),球体直径为  $d$ ,管内的平均流速为  $v$ ,入口设置为流速入口,出口设置为压力出口,球体上下游分别设置为 1.5 m 与 4 m,保证流体充分发展,其他边界设置为壁面无滑移,粗糙系数为 0.5。利用 ICEM 划分流体域 3D 六面体网格,利用多个 O 网格对计算域进行划分,对球体表面及壁面附近进行网格加密, $d=0.08$  m,管径比  $\lambda = d/D = 0.4$  时的网格剖面图如图 2 所示,网格整体质量  $> 0.7$ 。

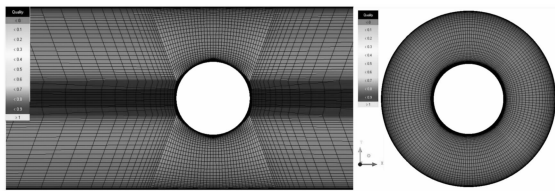


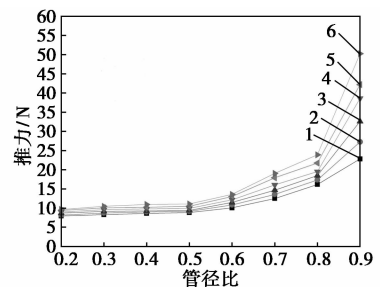
图 2 计算域六面体结构网格剖面图

为了提高油气输送的经济效率,油管道输送的经济流速通常在  $0.49 \sim 2.25$  m/s 之间<sup>[9]</sup>,流速  $v$  取值为  $0.5 \sim 1.5$  m/s (雷诺数  $Re = 20\,000 \sim 60\,000$ )。取不同的球体直径  $d$ ,使管径比在  $0.2 \sim 0.9$  之间。管内流体设置为水,密度为  $999.4$  kg/m<sup>3</sup>,动力黏度

为  $0.001$  Pa·s。计算阻流体在流体中的受力时,为了获得更好的计算精度,选择基于时间平均 Navier-Stokes 方程的标准  $k-\omega$  湍流模型<sup>[10]</sup>,应用 SIMPLE 算法进行压力修正,且用二阶迎风差分格式对动量方程进行离散。针对不同管径比  $\lambda$  及流速  $v$ ,计算了 48 组 3D 仿真数据,每次计算均保证  $x, y, z$  方向上的动量残差达到  $10^{-5}$ ,以达到收敛条件。利用式 (1) 可得到沿  $z$  方向的球面上的受力<sup>[11]</sup>:

$$F_t = \int \vec{z} \cdot \vec{F}_p + \int \vec{z} \cdot \vec{F}_v \quad (1)$$

其中,  $F_p$  是压强差产生的力,等于各面元法向上压强对面元面积乘积的矢量和,  $F_v$  是粘性力,是各面元切向上粘性力的矢量和。不同管径比及流速下流体对球体的推力影响如图 3 所示。



1— $v=0.5$  m/s; 2— $v=0.7$  m/s; 3— $v=0.9$  m/s;  
4— $v=1.1$  m/s; 5— $v=1.3$  m/s; 6— $v=1.5$  m/s

图 3 流体对球体的推力与管径比及流速的关系

从图 3 可以看出,流体对球体的推力随着流速及管径比的增大而增大。但当管径比  $< 0.6$  时,推力随着管径比及流速增大变化不明显;当管径比  $> 0.7$  后,推力值随着流速增加迅速增大;当管径比达到 0.9 后,推力值增大明显,这是由于过大的阻挡面积,压强差的作用更加明显,而过大的管径比,在球体经过弯头处时不易通过,且由于球体后部尾流

(上接第 181 页)

- [2] Kalghatgi K, Horváth C. Rapid peptide mapping by high-performance liquid chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 1988, 443: 343-354.
- [3] Blackler A R, Speers A E, Wu C C. Chromatographic benefits of elevated temperature for the proteomic analysis of membrane proteins [J]. Proteomics, 2008, 8: 3956-3964.
- [4] Stöber W, Fink A. Controlled growth of monodisperse silica range [J]. Journal of Colloid and Interface Science, 1968, 26: 62-69.
- [5] Stöber W. Method of producing monodisperse silica spradioactive tracer: US, 3634558 [P]. 1972-01-11.
- [6] Unger K, Giesche H, Kinkel J. Spherical SiO<sub>2</sub> particles: US, 4775521 [P]. 1987-07-10.

- [7] Issaeva T, Kourganov A, Unger K. Super-high-speed liquid chromatography of proteins and peptides on non-porous Miera NPS-RP packings [J]. Journal of Chromatography A, 1999, 846: 12-23.
- [8] Barder J T, DuBois D P. Process for forming highly uniform silica spheres: US, 4893369 [P]. 1990-01-16.
- [9] 董鹏,任平,朱英,等.表面无孔的胶体微球及其制备方法:中国,02125734.4 [P]. 2004-02-18.
- [10] Nozawa K, Gailhanou H, Raison L, et al. Smart control of monodisperse stöber silica particles: Effect of reactant addition rate on growth process [J]. Langmuir, 2005, 21: 1516-1523.
- [11] 王斐,耿信笃.无孔反相色谱填料对高负载整体蛋白的高速和高分离度分离 [J]. 科学通报, 2010, 55(11): 992-995. ■