

甲基丙烯酸酯类色谱填料的制备及应用研究进展

包建民, 许 慧, 李优鑫*

(天津大学药物科学与技术学院, 天津市现代药物传递及功能高效化重点实验室,
天津化学化工协同创新中心, 天津 300072)

摘要:综述了近10年来甲基丙烯酸酯类填料的制备方法 & 影响微球形态的重要因素, 对每种制备方法进行举例分析, 并总结了这类填料在离子交换色谱、亲和色谱、整体柱等方面的应用, 最后对甲基丙烯酸酯类微球的发展趋势进行了展望。

关键词:甲基丙烯酸酯类微球; 色谱; 分离; 整体柱

中图分类号: TB34

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2015)08-0031-05

Preparation and application progress of methacrylate-based chromatographic packings

BAO Jian-min, XU Hui, LI You-xin*

(Collaborative Innovation Center of Tianjin Chemical Engineering, Tianjin Key Laboratory for Modern Drug Delivery & High-Efficiency, School of Pharmaceutical Science and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract: The recent progress of the preparation methods and relative influence factors about methacrylate-based microspheres are introduced. Some special examples for each method are given. The applications of these microspheres in ion-exchange chromatography, affinity chromatography and monolithic column are summarized. Finally, the development trends of methacrylate-based media are proposed.

Key words: methacrylate-based microspheres; chromatography; separation; monolithic

色谱法创始于20世纪初,最初是以无机材料为固定相,随着聚合物载体发展,色谱技术得到了更广泛的应用。随着新兴科学如环境科学、蛋白质组学及生物技术的发展及其多样性,对这些大分子的分析、分离和纯化已成为研究热点,开发适用于生物分析分离的填料非常重要^[1]。由于多糖类软凝胶的机械稳定性差、粒度不宜控制及硅球、聚苯乙烯-二乙烯苯(PS-DVB)微球亲水性差或者与生物样品不兼容,因此机械性能好及亲水性强的甲基丙烯酸酯类微球得到了快速发展。

甲基丙烯酸酯类微球最早由 Coupek 通过悬浮聚合法制成,并将该填料成功用于生物大分子的分析^[2],随后,由于甲基丙烯酸羟乙酯(HEMA)和甲基丙烯酸缩水甘油酯(GMA)含有易于被修饰的羟基或环氧基而成为了研究热点^[3]。经过几十年的开发与应用,甲基丙烯酸酯类基质的制备方法多样,应用广阔。现生产分析型或制备型的甲基丙烯酸酯类微球的厂家有美国 BioRad 公司、日本 TOSOH 公司、捷克共和国的 TESSEK 公司及我国苏州纳微生物科

技有限公司。Beneš 等^[2]于2005年综述了以悬浮聚合法及种子溶胀法制备 HEMA 和 GMA 微球的方法及其影响因素,还概括了此类微球在分子排阻色谱、离子交换色谱及亲和色谱等方面的应用。本文中在此基础上,综述了近10年来此类基质的制备方法及应用研究,为研究者根据不同的应用目的选择合适的制备方法 & 分析手段提供一定的参考。

1 甲基丙烯酸酯类微球的制备方法

1.1 悬浮聚合法

悬浮聚合法是在聚合过程中,溶有引发剂的单体在含稳定剂的连续相中分散成液滴,在一定搅拌速度下聚合形成微球的方法。这种制球方法简单,能制备 5~2 000 μm 的多分散微球,高分子聚合物微球的制备多采用此种方法。

对于微球来说,其表面化学性质 & 孔径及其分布非常关键。前者是由所用的单体决定,而单体与交联剂比例、致孔剂种类及其比例 & 聚合速率影响着微球的孔特性,另一些重要的影响因素则为分

收稿日期: 2015-01-26

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21375093); 高等学校博士学科点专项科研基金资助项目(20130032120081); 天津大学自主创新基金资助项目(1102213)

作者简介: 包建民(1961-),男,教授,博士生导师,主要研究方向为药物分析和仪器分析等;李优鑫(1981-),女,博士,讲师,通讯联系人,022-27892820,lyx@tju.edu.cn。

散相与连续相比、稳定剂的种类与浓度等。

Yasuda 等^[4]在悬浮聚合之前加入一个乳化的步骤,通过控制水相和油相黏度和用于乳化的玻璃珠的尺寸,可以得到粒径在 20 ~ 200 μm 较均一分散的聚甲基丙烯酸缩水甘油酯-乙二醇二甲基丙烯酸酯(PGMA-EDMA)微球。Trakulsujaritchok 等^[5]以 MgCl₂、NaCl 为稳定剂,正庚烷为致孔剂得到了粒径在 500 ~ 710 μm 的聚甲基丙烯酸缩水甘油酯-甲基丙烯酸羟乙酯-二乙烯苯(PGMA-HEMA-DVB)微球,实验中考察了搅拌速度、交联剂比例、致孔剂的种类及用量对粒径及微球形态的影响。Rahman 等^[6]以聚乙烯醇(PVA)为稳定剂,甲苯和正庚烷为致孔剂,考察了搅拌速度、交联剂及致孔剂比例对微球形态及孔特征的影响。在搅拌速度为 400 r/min,交联剂比例为 30% ~ 40%,致孔剂比例为 75% ~ 100% 时能得到粒径在 100 ~ 250 μm、孔径达 400 nm 的聚甲基丙烯酸缩水甘油酯-三烯丙基异三聚氰酸酯-乙二醇二甲基丙烯酸酯(PGMA-TAIC-EDMA)微球。

1.2 种子溶胀法

种子溶胀法是由 J. Ugelstad 在 20 世纪 70 年代开发的一种制备单分散交联多孔微球的方法。该方法以乳液聚合法或分散聚合法得到单分散的微球为种球,用不溶于水的化合物如邻苯二甲酸二丁酯

(DBP)或氯代癸烷对种球进行活化,再加入单体、交联剂、致孔剂等进行溶胀聚合。这种方法所制备的微球除了具有单分散性好、交联度高、孔径大等优点外,还可以使用不同的功能单体并加以修饰得到不同用途的填料,因此,种子溶胀聚合法是目前制备 HPLC 聚合物微球最重要的方法。影响微球形态及粒径的因素主要包括种球的粒径、交联剂浓度、致孔剂种类及比例等。

Smigol 等^[7]首次以多步溶胀聚合制备了 PGMA-EDMA 微球,并就溶胀及聚合过程中的各个参数进行了详细考察,包括溶胀剂、致孔剂、交联剂的种类及比例。结果显示,以 DBP 为溶胀剂效果最好;随着交联剂 EDMA 浓度的增加,微球比表面积增大,在 60% 左右能达到平衡;随着致孔剂浓度的增加,孔径增大。Melany 等^[8]用一步溶胀制备了粒径为 5 μm,比表面积为 107.3 m²/g 的 PS-GMA、PS-GMA-EDMA 微球,并对影响微球形态的因素进行了考察,包括单体的浓度及 DBP 的用量。实验证明,随着单体浓度的增大,微球粒径增大,分布也变宽;不同有机相的溶胀能力为,EDMA ≥ GMA > DBP,其中 DBP 不仅具有溶胀能力,也是一种致孔剂。Horák 等^[9]以 0.7 μm PS 微球为种球,用多步溶胀制备了粒径为 4 μm,孔体积为 3.23 mL/g,比表面积为 104 m²/g 的磁性大孔 PGMA 微球。Grams 等^[10]

(上接第 30 页)

[2] 王辅臣,于广锁,龚欣,等.大型煤气化技术的研究与发展[J].化工进展,2009,28(2):173-180.

[3] 立进,王磊,黄慧慧,等.费托合成工艺研究进展[J].石油化工,2012,41(12):1429-1436.

[4] 吴昊,胡志海,聂红.低温 F-T 合成进展及技术对比[J].石油炼制与化工,2010,41(4):1-5.

[5] 赵玉龙.浆态床 F-T 合成反应器的工程放大[J].化学反应工程与工艺,2008,24(5):461-467.

[6] 杨涛,唐晓津,张占柱.费托合成浆态床反应器模型研究进展[J].过程工程学报,2012,12(6):1073-1080.

[7] 许世峰,王斯民,李彩霞.F-T 合成浆态床反应器的研究进展[J].化工进展,2013,32(s1):1-5.

[8] 孙启文.煤炭间接液化[M].北京:化学工业出版社,2012:156-164.

[9] 姜少华.半水煤气一步法浆态床合成二甲醚中型实验装置的工程研究[D].太原:太原理工大学,2005.

[10] 侯朝鹏,夏国富,李明丰,等.F-T 合成反应器的研究进展[J].化工进展,2011,30(2):251-257.

[11] 钱炜鑫.钴基催化剂费托合成反应动力学及浆态床反应器数学模拟[D].上海:华东理工大学,2011.

[12] 王洪学,石玉林,吕毅军,等.浆态床反应器;CN,201210180047.1

[P].2012-10-11.

[13] 胡立峰,李大东,唐晓津,等.一种浆态床环流反应器及其应用;CN,201010522544.6[P].2010-10-28.

[14] 孙予罕,廖波,刘小浩,等.一种浆态床反应器;CN,201310039758.1[P].2014-08-06.

[15] 石战胜,翁力,门卓武,等.费托合成浆态床反应器的 CFD 模拟[J].化学工程,2014,42(2):55-60.

[16] 王钰,樊伟,刘颖,等.费托合成鼓泡浆态床反应器模型化研究[J].燃料化学学报,2011,39(12):961-966.

[17] 纪仕飞.浆态床费托合成反应器的数学模拟[D].上海:华东理工大学,2011.

[18] 张俊峰,白云星,张清德,等.Zr 改性 Ni/γ-Al₂O₃ 催化剂用于浆态相合成气的低温甲烷化[J].燃料化学学报,2013,41(8):966-971.

[19] 胡智力,刘殿华,房鼎业,等.浆态床合成气制二甲醚反应器数学模拟[J].化学反应工程与工艺,2010,26(3):193-197.

[20] 陈振.浆态床合成气一步法制二甲醚反应宏观动力学及反应器数学模拟[D].上海:华东理工大学,2011.

[21] 崔晓曦,李忠,张庆庚,等.一种焦炉煤气进行甲烷化合成天然气的工艺;CN,201010524311.X[P].2011-02-03.

[22] 王存文,朱炳辰,百全,等.三相床甲醇合成新工艺工程开发研究[J].化学工程,2001,29(4):51-54. ■

以修饰的多步溶胀制备了粒径为 $9.3\ \mu\text{m}$, 比表面积为 $77.7\ \text{m}^2/\text{g}$ 的 PGMA-EDMA 微球, 并首次用硅烷化试剂对此微球进行了修饰, 在生物医学的应用方面具有潜能。

1.3 分散聚合

分散聚合法是 1975 年英国 ICI 公司的 Osmond 等首次提出的一种新型制备单分散微球的方法。反应之前单体、稳定剂、引发剂等是一个均一的体系, 开始加热后, 引发剂降解产生自由基, 引发单体形成寡链聚合物, 寡链聚合物不稳定, 继续形成晶核, 晶核捕捉介质中的单体及稳定剂后形成稳定的微球。分散聚合的介质一般为甲醇或乙醇, 所制备出的微球粒径一般小于 $10\ \mu\text{m}$ 。

Herault 等^[11]以聚乙烯吡咯烷酮(PVP)为分散剂, 乙醇为分散介质, 手性 GMA 为单体制备了 $0.8\sim 2.4\ \mu\text{m}$ 的单分散手性 PGMA-EDMA 微球, 考察了 EDMA 比例、PVP 分子质量及比例、乙醇与单体相比比例对微球粒径及形态的影响。随着 EDMA 用量及单体相比比例的增大, 微球粒径增大且多分散; 微球粒径随着 PVP 分子质量的增大而增大, 随着 PVP 浓度的增大而减小。他还在 PGMA-EDMA 微球上固定冠醚及 β -环糊精, 用含氮亲核试剂与之反应, 最大的转化率达到了 99%。Lee 等^[12]以 PVP 为分散剂、甲醇-水为分散介质, 制备了交联的 PMMA-DVB 和 PMMA-EDMA 微球, 考察了甲醇-水比例、反应温度及 DVB 和 EDMA 含量及其加入时间对微球粒径及形态的影响, 得到了粒径为 $6.5\ \mu\text{m}$, 交联度为 7%~8% 的微球。

1.4 沉淀聚合法

沉淀聚合法是指以单一溶剂或者混合溶剂为介质, 将单体、交联剂、引发剂、致孔剂等溶于其中, 在聚合反应发生后, 生成的聚合物不溶于介质而沉淀出来, 得到固态球状聚合物材料的方法。Yang 等^[13]以乙腈/2-甲氧基乙醇为介质制备了 PMMA-DVB 微球, 考察了反应介质、搅拌速度、单体浓度、引发剂浓度及交联剂含量对微球粒径及形态的影响。在温和的搅拌速度下 ($<100\ \text{r}/\text{min}$), 当单体总量占反应介质的 4%~12%, AIBN 占单体总量的 2%~8% 时能获得球形度良好, 粒径在 $3\sim 4\ \mu\text{m}$ 的均一的微球, 其中 DVB 在微球的粒径及产量方面起着重要的作用, 可以根据需求选择合适的比例。Lime 等^[14]以乙腈及 THF 或正癸醇为介质制备了粒径为 $3\ \mu\text{m}$, 孔径为 $15\ \text{nm}$ 的 PGMA-DVB 微球, 该基质即使在 $60\ \text{MPa}$ 的压力下也能保持良好的球形度。

1.5 膜乳化法

膜乳化法是在单体相和连续相之间有一多孔膜, 用一定的压力将单体相通过多孔膜压入连续相中进行聚合的方法, 多孔膜的尺寸决定着聚合后微球的粒径。该方法能制备单分散性良好的多孔微球, 但所需的设备较昂贵。Qu 等^[15]通过膜乳化法制备了粒径范围在 $28\sim 75\ \mu\text{m}$, 最大孔径为 $44.97\ \text{nm}$, 最大比表面积为 $129.0\ \text{m}^2/\text{g}$ 的 PHEMA-EDMA 微球。

2 甲基丙烯酸酯类微球的应用

甲基丙烯酸酯类微球作为一种固定相在色谱中的应用非常广泛, 如分子排阻色谱(SEC)、离子交换色谱(IEC)、亲和色谱(AC)、毛细管色谱等, 现今, 甲基丙烯酸酯类填料已被普遍用于各种大小分子化合物的分析与分离。

2.1 分子排阻色谱

分子排阻色谱是根据被分离物质的分子质量大小及凝胶孔隙的孔径大小进行分离的一种手段。龚波林等^[16]以单分散交联 PGMA-EDMA 为基质, 对其进行化学改性得到亲水性良好的 SEC 固定相, 用三羟基氨基甲烷缓冲溶液为流动相, 对 3 种蛋白质和 1 种多肽进行分离, 发现其完全遵循 SEC 色谱分离机理, 取得了良好的分离效果。Gölgelioglu 等^[17]以不同粒径的 PGMA 为种子, 通过种子微悬浮聚合得到了粒径在 $4.5\sim 6.7\ \mu\text{m}$, 平均孔径在 $20\sim 45\ \text{nm}$ 的聚二(甲基丙烯酸)甘油酯-1,3-二甘油醇酸二丙烯酸甘油酯(PGDMA-GDGDMA)微球, 在 $25\sim 250\ \mu\text{L}/\text{min}$ 的流速下能测定分子质量在 $1\ 000\sim 670\ 000\ \text{Da}$ 的葡聚糖标准品。

2.2 离子交换色谱

离子交换色谱是蛋白和多肽纯化中最常用的一种分析技术, 可以说所有的工业纯化步骤都会涉及到离子交换步骤。甲基丙烯酸酯类单体中 MMA、HEMA、GMA 等含有活性官能团, 易于被修饰而得到离子交换基质的色谱填料。

我国学者龚波林对 PGMA-EDMA 基质的微球进行了全面开发, 通过对其表面修饰制备了弱阴、弱阳、强阴、强阳及两性离子交换色谱填料^[18-21], 对不同等电点的蛋白均具有较好的分离效果。Zhang 等^[22]在平均粒径为 $50\ \mu\text{m}$, 平均孔径为 $150\ \text{nm}$ 的 PGMA-DVB 微球上键合聚乙烯亚胺得到弱阴离子化的微球, 以 BSA 为模型蛋白, 测得蛋白的回收率能达到 95%, 静态蛋白结合量为 $26\ \text{mg}/\text{mL}$, 在

2 800 cm/h 的流速下能分离 3 种蛋白。Zhang 等^[23]将 PGMA-EDMA 微球进行羧基化制备弱阴离子色谱填料用于溶菌酶的吸附,其最大吸附量能达到 49.50 mg/g,并用此基质的固定相分离了 4 种不同等电点的蛋白。

2.3 亲和色谱

亲和色谱是基于试样中组分与固定在载体上的配基之间的专一性亲和作用而实现分离的。Altintas 等^[24]以分散聚合制备 1.6 μm 的 PGMA 微球,并在其表面通过亚氨基二乙酸固定 Cu^{2+} 用以吸附血液中的血红蛋白,吸附量能达到 97.5% 以上。Wu 等^[25]在 7 μm 的 PGMA-EDMA 微球上固定染料配基 Procion Bule MX-R 得到亲和色谱,具有对生物高分子分离度好、柱效高及柱压低的优点,并成功用于从鸡蛋白中纯化溶菌酶。Bayramoglu 等^[26]在 PHEMA-EDMA 微球上接枝 GMA,并在此基质上固定蛋白 L 及 L-组氨酸得到具有亲和能力的色谱基质,其中固定蛋白 L 的基质对免疫球蛋白(Ig)在 pH 7.5 有最大吸附(81.8 mg/g),固定 L-组氨酸在 pH 5.5 时有最大吸附(112.3 mg/g),并用固定了蛋白 L 的基质从人血清中吸附 Ig,纯度能达到 98%。

2.4 毛细管电色谱

毛细管电色谱包含了电泳和色谱 2 种机制,结合了毛细管电泳的高效和 HPLC 的高选择性,开辟了微分离技术的新途径。Zhang 等^[27]用分散聚合制备单分散的 PGMA-DVB 微球用于毛细管电泳柱,效能达到 40 000 ~ 50 000 N/m,经过季胺化修饰成功分离了 7 种红霉素类物质,他们还将以 PGMA-DVB 为基质的微球装填入毛细管,经过磺酸化,成功分离 4 种蛋白^[28]。Tian 等^[29]在 PGMA-EDMA 整体柱上经过大环多胺修饰用于毛细管电色谱,在 pH 2 ~ 8 时能得到阳极的电渗流,对 6 种无机阴离子及 6 种苯甲酸类物质有很好的分离。

2.5 整体柱

聚合物整体柱是 20 世纪 90 年代由 Svec 开发的,其大部分是以甲基丙烯酸酯类为基质,在这 20 多年中,其在色谱分离方面的发展非常快。Yang 等^[30]以高内相乳液 HIPE 为模版,通过 γ 射线引发制备了以 GMA 为基质、含 50% 以上环氧基的整体柱,用之吸附香烟中的苯酚,在含 90% 的环氧基时对苯酚的最高吸附量能达到 55.8%。Michael 等^[31]用 DEAE-Cl 对 PGMA-EDMA 整体柱进行修饰后用于从大肠杆菌中分离质粒 DNA,其在 5 min 内能被分离出,对质粒 DNA 的最大吸附量为 15.2 mg/mL,

证明了这种基质只需一步即可纯化质粒 DNA,并可进行放大实验。此外,商品化的 CIM 型整体柱也以甲基丙烯酸酯类为基质。

3 结论与展望

以甲基丙烯酸酯类为单体制备的微球种类繁多、应用广泛,这类填料可以通过悬浮聚合、多步溶胀聚合、分散聚合等方法制得,在分子排阻色谱、离子交换色谱、亲和色谱、酶的固定化等方面具有重要应用,尤其是近年来发展起来的整体柱,具有制备容易、速度快、有特殊的孔结构而得到更多的青睐,其中甲基丙烯酸酯类是最常用的整体柱基质,使得甲基丙烯酸酯类基质受到更多的关注。需更进一步研究这类基质的制备方法及应用,可以从以下几个方面进行探索。

(1) 现有技术仅适合于单一的用途,开发具有双功能或多功能的甲基丙烯酸酯类基质十分必要,如磁性与离子化结合或者荧光与磁性的结合等。

(2) 相对于亲水性的葡聚糖、琼脂糖填料来说,甲基丙烯酸酯类微球的机械稳定性好,用多步溶胀能得到 4 ~ 20 μm 适合于 HPLC 的填料,但目前尚不能制备 2 μm 左右的多孔、均一、机械强度好的微球以适合于分离效率更高的超高效液相 UPLC。

(3) 我国在甲基丙烯酸酯类微球中商业化的产品非常少,开发重现性好、适合于工业化的生产工艺非常重要。

参考文献

- [1] Slater M, Snauko M, Svec F, *et al.* "Click chemistry" in the preparation of porous polymer-based particulate stationary phases for HPLC separation of peptides and proteins[J]. *Anal Chem*, 2006, 78:4969-4975.
- [2] Beneš M J, Horak D, Svec F. Methacrylate-based chromatographic media[J]. *J Sep Sci*, 2005, 28:1855-1875.
- [3] Vlach E G, Maksimova E F, Krasikov V D, *et al.* Macroporous polymer materials: Synthesis of a new functional copolymer and its use for biological microanalysis[J]. *Polym Sci B +*, 2009, 51(9):327-334.
- [4] Yasuda M, Goda T, Ogino H, *et al.* Preparation of uniform monomer droplets using packed column and continuous polymerization in tube reactor[J]. *J Colloid Interf Sci*, 2010, 349:392-401.
- [5] Trakulsujaritchook T, Noiphom N, Tangtreamjittum N, *et al.* Adsorptive features of poly(glycidyl methacrylate-co-hydroxyethyl methacrylate): Effect of porogen formulation on heavy metal ion adsorption[J]. *J Mater Sci*, 2011, 46:5350-5362.
- [6] Rahman A, Iqbal M, Rahman F, *et al.* Synthesis and characteriza-

- tion of reactive macroporous poly(glycidyl methacrylate-triallyl isocyanurate-ethylene glycol dimethacrylate) microspheres by suspension polymerization; Effect of synthesis variables on surface area and porosity[J]. *J Appl Polym Sci*, 2012, 124: 915 - 926.
- [7] Smigol V, Svec F. Synthesis and properties of uniform beads based on macroporous copolymer glycidyl methacrylate-ethylene dimethacrylate: A way to improve separation media for HPLC[J]. *J Appl Polym Sci*, 1992, 46: 1439 - 1448.
- [8] Melany O M, Shlomo S. Synthesis and characterization of spherical and hemispherical polyepoxide micrometer-sized particles of narrow size distribution by a single-step swelling of uniform polystyrene template microspheres with glycidyl methacrylate[J]. *J Polym Sci Pol Chem*, 2007, 45: 4612 - 4622.
- [9] Horák D, Svobodová Z, Autebert J, *et al.* Albumin-coated monodisperse magnetic poly(glycidyl methacrylate) microspheres with immobilized antibodies; Application to the capture of epithelial cancer cells[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2013, 101A: 23 - 32.
- [10] Grama S, Plichta Z, Trchová M, *et al.* Monodisperse macroporous poly(glycidyl methacrylate) microspheres coated with silica; Design, preparation and characterization[J]. *React Funct Polym*, 2014, 77: 11 - 17.
- [11] Herault D, Saluzzo C, Lemaire M. Preparation of monodisperse enantiomerically pure glycidyl methacrylate-ethylene glycol dimethacrylate copolymers in dispersion copolymerization; Functionalization[J]. *React Funct Polym*, 2006, 66: 567 - 577.
- [12] Lee K C, Lee S Y. Preparation of highly cross-linked, monodisperse poly(methyl methacrylate) microspheres by dispersion polymerization; Part II. Semi-continuous processes[J]. *Macromol Res*, 2008, 16(4): 293 - 302.
- [13] Yang S, Shim S E, Lee H, *et al.* Size and uniformity variation of poly(MMA-co-DVB) particles upon precipitation polymerization[J]. *Macromol Res*, 2004, 12(5): 519 - 527.
- [14] Lime F, Irgum K. Preparation of divinylbenzene and divinylbenzene-co-glycidyl methacrylate particles by photoinitiated precipitation polymerization in different solvent mixtures[J]. *Macromolecules*, 2009, 42: 4436 - 4442.
- [15] Qu H H, Gong F L, Ma G H, *et al.* Preparation and characterization of large porous poly(HEMA-co-EDMA) microspheres with narrow size distribution by modified membrane emulsification method[J]. *J Appl Polym Sci*, 2007, 105: 1632 - 1641.
- [16] 龚波林, 王超展, 王丽丽, 等. 以单分散交联聚甲基丙烯酸环氧丙酯树脂为基质的亲水性排阻色谱固定相的合成及其在生物大分子分离中的应用[J]. *分析化学研究报告*, 2004, 32(5): 565 - 568.
- [17] Gölgecioglu C, Bayraktar A, Celebi B, *et al.* Aqueous size exclusion chromatography in semimicro and micro-columns by newly synthesized monodisperse macroporous hydrophilic beads as a stationary[J]. *J Chromatogr A*, 2012, 1224: 43 - 50.
- [18] Gong B L, Zhu J X, Li L, *et al.* Preparation of weak anion exchange chromatographic packings based on monodisperse polymer beads and their application in the separation of biopolymers[J]. *J Liq Chromatogr R T*, 2006, 29: 235 - 245.
- [19] Gong B L, Zhu J X, Li L, *et al.* Synthesis of non-porous poly(glycidyl methacrylate-co-ethylene dimethacrylate) beads and their application in separation of biopolymers[J]. *Talanta*, 2006, 68: 666 - 672.
- [20] Gong B L, Li L, Zhu J X. Preparation of strong anion-exchange chromatographic packings based on monodisperse polymeric beads and their application in the separation of biopolymers[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2005, 382: 1590 - 1594.
- [21] Gong B L, Bo C M, Zhu J X, *et al.* Synthesis of zwitterionic stationary phase based on hydrophilic non-porous poly(glycidyl methacrylate-co-ethylene dimethacrylate) beads and their application for fast separation of proteins[J]. *J Appl Polym Sci*, 2009, 113: 984 - 991.
- [22] Zhang R Y, Li Q, Gao Y. Hydrophilic modification of macroporous resins with poly(ethylenimine) for high-throughput proteins ion-exchange chromatography[J]. *J Chromatogr A*, 2014, 1343: 109 - 118.
- [23] Zhang J, Han Y T, Bu X L, *et al.* Study on the adsorption property of lysozyme on weak cation exchanger based on monodisperse poly(glycidyl methacrylate-co-ethylene dimethacrylate) beads[J]. *J Chromatogr Sci*, 2013, 51: 122 - 127.
- [24] Altıntaş E B, Türkmen D, Karakoc V, *et al.* Hemoglobin binding from human blood hemolysate with poly(glycidyl methacrylate) beads[J]. *Colloid Surface B*, 2011, 85: 235 - 240.
- [25] Wu F Y, Zhu Y, Jia Z S. Preparation of dye-ligand affinity chromatographic packings based on monodisperse poly(glycidyl methacrylate-co-ethylene dimethacrylate) beads and their chromatographic properties[J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1134: 45 - 50.
- [26] Bayramoglu G, Ozalp V C, Arica M Y. Adsorption and separation of immunoglobulins by novel affinity core-shell beads decorated with Protein L and l-histidine[J]. *J Chromatogr B*, 2013, 936: 1 - 9.
- [27] Zhang S H, Huang X, Yao N S, *et al.* Preparation of monodisperse porous polymethacrylate microspheres and their application in the capillary electrochromatography of macrolide antibiotics[J]. *J Chromatogr A*, 2002, 948: 193 - 201.
- [28] Zhang S H, Zhang J, Horvath C. Capillary electrochromatography of proteins with polymer-based strong-cation-exchanger microspheres[J]. *J Chromatogr A*, 2002, 965: 83 - 92.
- [29] Tian Y, Yang F X, Yang X M, *et al.* Macrocyclic polyamine-modified poly(glycidyl methacrylate-co-ethylene dimethacrylate) monolith for capillary electrochromatography[J]. *Electrophoresis*, 2008, 29: 2293 - 2300.
- [30] Yang S, Zeng L, Wang Y P, *et al.* Facile approach to glycidyl methacrylate-based polyHIPE monoliths with high epoxy-group content[J]. *Colloid Polym Sci*, 2014, 292: 2563 - 2570.
- [31] Michael K D, Gareth M F. The suitability of DEAE-Cl active groups on customized poly(GMA-co-EDMA) continuous stationary phase for fast enzyme-free isolation of plasmid DNA[J]. *J Chromatogr B*, 2007, 853: 38 - 46. ■