

# 纳米二氧化硅颗粒的制备及其在加压毛细管电色谱中的应用

张晓辉<sup>1</sup> 王彦<sup>1</sup> 谷雪<sup>1</sup> 瞿其曙<sup>2</sup> 阎超\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>(上海交通大学药学院, 上海 200240) <sup>2</sup>(扬州大学化学化工学院, 扬州 225002)

**摘要** 为了考察小粒径固定相在色谱分析中的特性,以 Stöber 法为基础,以 86.5% 乙醇 (V/V) 作为反应溶剂,加入 0.2 mol/L 四乙氧基硅烷、2.0 mol/L 氨水制得 517 nm 无孔二氧化硅颗粒,并将其用高压匀浆法填充,制得毛细管色谱柱。以加压毛细管电色谱 (pCEC) 为分析平台,采用乙腈-水为流动相,探讨该硅胶色谱柱的保留机理。为了考察制备的硅胶固定相对碱性化合物的分离能力,选用 4-二甲氨基吡啶、阿米替林、咖啡因、2,4,6-三氯苯胺 4 种碱性化合物为分离对象,讨论了流动相比例、缓冲盐浓度、pH 值及操作电压对于分离的影响。结果表明,当流动相中乙腈与 5 mmol/L Tris HCl 缓冲液的体积比为 30:70, pH = 5.0, 电压为 -9 kV, 检测波长为 214 nm 时,4 种碱性物质能够获得很好的分离,对咖啡因的柱效达到 90000 理论塔板/m。实现了 500 nm 二氧化硅固定相用于 pCEC 分离,为亚微米固定相在色谱中的应用提供了可能。

**关键词** 加压毛细管电色谱; 硅胶固定相; 制备; 碱性化合物

## 1 引言

在液相色谱中,降低固定相粒径能够获得更高的分离柱效和更快的分析速度。因此,1.7~2.0 μm 的小粒径色谱固定相备受关注,并成功地实现了产业化。然而,当固定相粒径降低到 1.5 μm 时,柱反压会达到 55.16 MPa<sup>[1]</sup>,使固定相粒径向微米和亚微米方向发展受到了限制。超高效液相色谱 (Ultra performance liquid chromatography, UPLC) 的出现部分解决了该问题<sup>[2]</sup>。解决柱反压过高的另一种方法是采用电渗流驱动的毛细管电色谱 (Capillary electrochromatography, CEC) 技术,该技术以电渗流驱动流动相,不产生反压,而且流体的前锋轮廓呈柱塞型,可使用极小的颗粒并取得极高的柱效<sup>[3]</sup>。但其主要缺点是可靠性及重现性较低,当施加高电压时会出现气泡及烧干现象。加压毛细管电色谱 (Pressurized capillary electrochromatography, pCEC) 由于采用压力和电渗流联合驱动流动相,避免了 CEC 的上述缺点,在使用小粒径色谱固定相时仅使用很低的辅助压力 (3.45~6.90 MPa) 即可达到合理的线性流速,实现较高的分离柱效<sup>[4]</sup>。

单分散的 SiO<sub>2</sub> 颗粒的粒子分散性好、尺寸可控,且表面具有丰富的硅羟基,因而非常适合作为高效色谱填料<sup>[5]</sup>。Stöber 等<sup>[6]</sup>以氨水为催化剂,通过四烷基正硅酸酯在醇溶液中的缩聚反应合成了纳米至微米级单分散无孔硅胶颗粒,该法具有仪器设备简单、实验条件温和、粒径分布窄等特点。由于硅胶对碱性化合物具有较好的分离能力,因此选用 4-二甲氨基吡啶、阿米替林、咖啡因、2,4,6-三氯苯胺考察固定相的性能<sup>[6]</sup>。本研究在文献[5]的基础上,通过调整反应条件,制备了粒径为 500 nm 的 SiO<sub>2</sub> 颗粒,并将其用于 pCEC 分离,在反压仅为 8.96 MPa 时即可实现高效分离。探讨了该亚微米固定相的保留机理,及 4 种碱性化合物的分离方法。

## 2 实验部分

### 2.1 仪器及试剂

加压毛细管电色谱 TriSep<sup>TM</sup>-2100 pCEC 系统 (美国 Unimicro Technologies 公司),包括高压流动相输送系统、30000 V 双极式高压电源、紫外-可见可变波长检测器和数据采集分析系统; KQ2200B 型超声波清洗器 (江苏昆山超声仪器有限公司); 场发射电子扫描显微镜 FEI SIRION 200/INCA OX-

2010-08-10 收稿; 2010-10-28 接受

本文系国家科技部农业科技成果转化资金 (No. 2008GB2C000096), 上海市科委科学仪器环境条件建设项目 (No. 09142200202) 和自然科学基金 (No. 20705018) 和综合性新药研究开发技术大平台项目 (No. 2009ZX0931007) 资助项目

\* E-mail: chaoyan@unimicrotech.com

FORD 系统(美国 FEI 公司/英国 OXFORD 公司); 循环水式多用真空泵(河南郑州长城科工贸有限公司); 真空干燥箱 DZF-OR 型(上海博泰实验设备有限公司)。

乙腈(色谱纯美国 TEDIA 公司); 四乙氧基硅烷(TEOS)、氨水、乙醇、4-二甲氨基吡啶、阿米替林、2,4,6-三氯苯胺、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、咖啡因(分析纯,上海国药集团)。熔融石英毛细管(100 mm i. d., 360 mm o. d., 美国 Polymicro Technologies 公司)。实验用水为纯净水。

## 2.2 亚微米二氧化硅颗粒的制备

通过优化条件,确定了亚微米 SiO<sub>2</sub> 颗粒的制备流程。将一定比例的水加入乙醇中、TEOS、氨水及水依次加入圆底烧瓶中,常温搅拌反应 16 h, 陈化 12 h, 依次用去离子水和无水乙醇洗涤, 80 °C 真空干燥 4 h, 150 °C 真空干燥 4 h, 600 °C 煅烧 5 h, 停止加热, 随炉冷却后, 用 0.1 mol/L HCl 浸泡过夜, 洗涤至中性。

## 2.3 加压毛细管电色谱分析条件

将合成好的 500 nm 二氧化硅颗粒通过高压匀浆填充法制备成毛细管色谱柱(11 cm × 100 mm i. d., 500 nm), 将色谱柱依次用乙腈、乙腈-水混合物冲洗数小时后, 进行 pCEC 分析。流动相为乙腈/Tris-HCl 缓冲液, 泵流速 100 mL/min, 检测波长为 214 nm, 分流比约为 500:1, 分流前进样环体积为 1 nL, 实际进样量为 2 nL。在本实验中, 毛细管柱的出口端连接负电极, 进样端接地, 因此电渗流和压力流一致。

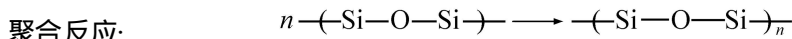
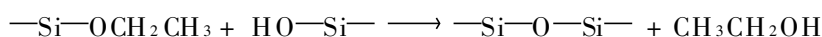
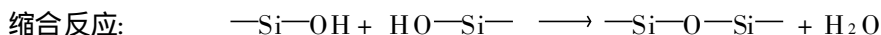
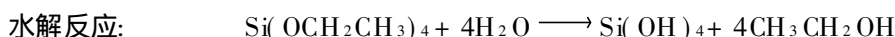
## 2.4 样品溶液的制备

准确称取 4-二甲氨基吡啶、阿米替林、咖啡因、2,4,6-三氯苯胺标准品各 0.20 g, 将其分别溶于乙腈中, 转移至 10 mL 容量瓶中, 定容, 得到 20 g/L 的样品储备液, 经 0.22 μm 滤膜过滤, 在 4 °C 条件下避光保存, 临用前用流动相稀释至 0.2 g/L。

# 3 结果与讨论

## 3.1 合成条件对亚微米二氧化硅颗粒的影响

Stöber 法<sup>[6]</sup>是在乙醇和水中, 以氨水为催化剂, 使 TEOS 发生水解缩合反应, 形成粒径均匀的高纯度 SiO<sub>2</sub> 颗粒。其形成过程是 TEOS 的水解、成核及颗粒生长三者之间复杂的竞争过程。该反应共分三步: TEOS 水解形成硅酸; 硅酸之间发生缩合反应形成胶体状态混合物; 形成的低聚物继续聚合, 形成三维网络状的硅氧四面体结构, 反应过程如下<sup>[7]</sup>:



本实验在 Stöber 法基础上, 通过调整反应条件制备了亚微米粒径的 SiO<sub>2</sub> 颗粒。图 1a 和图 1b 分别为制备的两批 SiO<sub>2</sub> 颗粒的场发射扫描电镜图。从图 1a 可见, 合成的 SiO<sub>2</sub> 颗粒为规整的球形, 且具有很好的单分散性, 颗粒的平均粒径为 517 nm (RSD= 3.6%)。

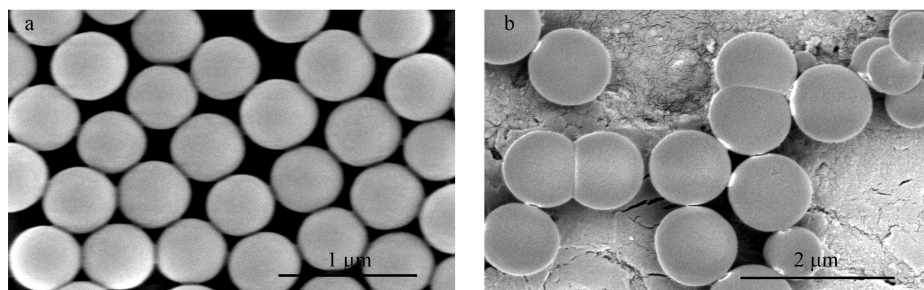


图 1 SiO<sub>2</sub> 颗粒的扫描电镜图

Fig. 1 Scanning electron micrographs of 500 nm SiO<sub>2</sub> particles

a. 517 nm; b. 发生粘连的颗粒(Particles with conglutination)。

考察了各反应物的浓度对颗粒粒径的影响, 其中 TEOS 浓度对颗粒粒径的影响最为明显, 如表 1

所示。随着 TEOS 浓度的增加,  $\text{SiO}_2$  颗粒的粒径逐渐变大。在其它条件不变时, TEOS 浓度的增加使其水解速率增加, 形成较长的三维网络链; 在缩聚过程中, 较长的三维网络链聚合在一起, 聚合度也较大, 生成颗粒的粒径也随之增大<sup>[8]</sup>。实验发现, 当 TEOS 浓度过大时, 颗粒粒径分布范围较大, 并出现了  $\text{SiO}_2$  微球共生长和粘连现象(图 1b, 平均粒径约为 920 nm), 其原因可能是随着 TEOS 浓度的增加, 其缩聚反应速率增大, 颗粒生长时间延长, 导致出现大小均匀的两个或多个半球共生的现象。

催化剂氨水对颗粒的形态也有一定影响。由表 2 可见, 随着氨水浓度增大, 颗粒粒径逐渐增大。当氨水浓度增大时, 反应体系中的  $\text{OH}^-$  增加, 抑制了成核速度, 使得体系中的成核数量减少, 促进了颗粒的生长, 得到的微球粒径较大。

表 1 反应液中 TEOS 的浓度对粒径的影响

Table 1 Effect of tetraethoxysilene (TEOS) concentration on particles diameter

反应液 Reagent	浓度 Concentration			颗粒直径 Particle diameter/nm
	TEOS (mol/L)	$\text{NH}_4\text{OH}$ (mol/L)	乙醇 Alcohol (%)	
1	0.15	2.0	6.0	420
2	0.20	2.0	6.0	517*
3	0.25	2.0	6.0	734
4	0.30	2.0	6.0	982

\* 为最终确定的 500 nm 球形硅胶颗粒的合成条件 (Optimum conditions for synthesis of 500 nm silica particles)

表 2 反应液中氨水的浓度对粒径的影响

Table 2 Effect of  $\text{NH}_4\text{OH}$  concentration on particles diameter

反应液 Reagent	浓度 Concentration			颗粒直径 Particle diameter/nm
	TEOS (mol/L)	$\text{NH}_4\text{OH}$ (mol/L)	乙醇 Alcohol (%)	
1	0.20	1.5	6.0	440
2	0.20	2.0	6.0	517*
3	0.20	2.5	6.0	650
4	0.20	3.0	6.0	762

\* 同表 1 (As same as in Table 1).

水作为反应物之一, 其强极性会导致  $\text{SiO}_2$  晶格在一定方向上产生优势生长。实验中固定 TEOS 和氨水的浓度, 从 2.0~8.0 mol/L 调整乙醇中水的含量,  $\text{SiO}_2$  颗粒粒径变化不明显。通过对上述条件的考察, 实验最终确定了 500 nm 球型硅胶颗粒合成条件为: TEOS 浓度为 0.2 mol/L,  $\text{NH}_4\text{OH}$  浓度为 2.0 mol/L 和 86.5% 乙醇 6.0 mol/L。

### 3.2 亚微米二氧化硅颗粒保留机理的研究

硅胶表面有硅羟基、硅氧桥两种基团, 硅氧桥中的氧具有一定的疏水性, 在分离中起反相色谱的作用, 未离解的羟基对极性样品有吸附作用; 离解的羟基则是良好的阳离子交换基团<sup>[9]</sup>。因此硅胶固定相表面的性质决定了其具有反相分配、正相吸附和离子交换多重保留机理。实验中为了考察亚微米硅胶固定相的保留机理, 选择在水相及乙腈中都具有良好溶解性的硫脲、阿米替林和甲苯作为样品进行测定, 如图 2 所示。硫脲容量因子随乙腈比例的增加而增大, 主要因为硫脲极性较大, 硅胶表面未解离的硅羟基对其有较强的吸附作用, 表现为正相保留机理。阿米替林的容量因子随乙腈比例的增加而减小, 主要因为阿米替林的三环结构使其与固定相表面以反相分配作用为主, 同时固定相表面带有负电荷的硅羟基与以阳离子形式存在的阿米替林间的离子交换作用较弱<sup>[10]</sup>; 甲苯的容量因子随乙腈比例增加先减小后增加。这是因为甲苯既具有一定的疏水性又具有一定的极性, 当乙腈比例较低时, 甲苯在亚微米  $\text{SiO}_2$  颗粒表面表现出反相分配的机理; 当乙腈比例增加到 70% 时, 甲苯的保留时间低于硫脲的保留时间呈现正相模式, 此结果与 Wei 等<sup>[11]</sup>的研究结果一致。

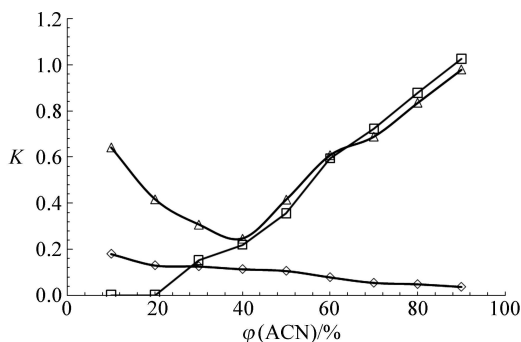


图 2 乙腈浓度对硫脲、阿米替林和甲苯容量因子的影响

Fig. 2 Effects of ACN concentration on capacity factors of thiourea, amitriptyline and toluene

色谱条件 (Conditions): 毛细管色谱柱 (Capillary column), 36 cm × 100 mm; 有效长度 (Effective length), 11 cm; 流动相 (Mobile phase), 5 mmol/L Tris-HCl 缓冲液 (pH 5.0) 和乙腈 (Acetonitrile); 泵流速 (Flow rate of pump), 100 mL/min; 运行电压 (Applied voltage), -7 kV; 检测波长 (UV detection wavelength) 214 nm. 样品 (Samples): □ 硫脲 (Thiourea); ◇ 阿米替林 (Amitriptyline); △ 甲苯 (Toluene).

### 3.3 流动相组成对分离结果的影响

由于硅胶具有弱疏水性及离子交换能力,对碱性药物具有较好的分离。为了考察制备的硅胶固定相对碱性物质的分离能力,采用 4-二甲氨基吡啶、阿米替林、咖啡因、2,4,6-三氯苯胺作为研究对象。以乙腈-Tris-HCl 缓冲液为流动相,当缓冲液的浓度固定为 5 mmol/L,从 20%~70% 调节乙腈比例。如图 3 所示,随着流动相中乙腈比例的增加,4 种物质的保留时间逐渐降低,说明在此种条件下,4 种碱性化合物在亚微米硅胶柱上呈反相保留机理。同时,4 种物质的分离度随乙腈浓度的增加而减小;当乙腈比例大于 40% 时,咖啡因和 2,4,6-三氯苯胺不能达到基线分离。综合考虑分离度和分析时间,流动相中乙腈的体积分数选择为 30%。

### 3.4 缓冲液中离子浓度对分离结果的影响

考察了流动相中 Tris-HCl 缓冲液浓度对 4 种物质分离的影响。如图 4 所示,当乙腈浓度固定在 30% 时,随着缓冲液浓度的增加,4-二甲氨基吡啶和阿米替林保留时间增加,当盐浓度大于 10 mmol/L 时,保留时间随盐浓度变化不大;咖啡因、2,4,6-三氯苯胺的保留时间随盐浓度的增加均有所增加。这主要因为缓冲液中离子浓度增大时,缓冲溶液对样品离子的电离抑制作用增强,增强了样品的疏水性,使其在硅胶上的保留增强。在所选浓度范围内,4 种物质均实现了基线分离,考虑到盐浓度增加会产生焦耳热效应,影响电色谱分离效果,因此,Tris 的浓度选择为 5 mmol/L。

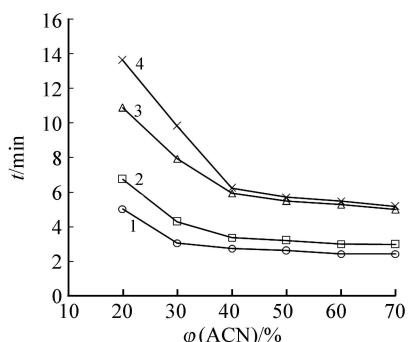


图 3 乙腈浓度对各物质保留时间的影响

Fig. 3 Effects of ACN concentration on retention time of analytes

1. 4-二甲氨基吡啶(4-Dimethylaminopyridine); 2. 阿米替林(Amitriptyline); 3. 咖啡因(Caffeine); 4. 2,4,6-三氯苯胺(2,4,6-Trichloroaniline)。色谱条件同图 2 (Conditions are the same as in Fig. 2)。

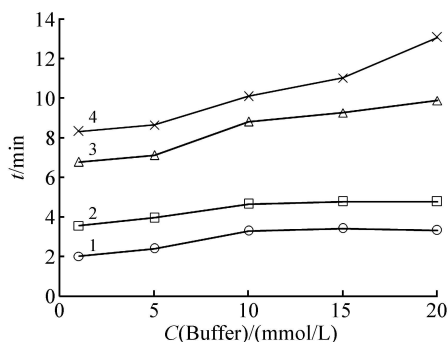


图 4 缓冲液浓度对保留时间的影响

Fig. 4 Effects of buffer concentration on retention time of analytes

色谱条件(Conditions): Tris-HCl 缓冲液(pH 5.0 buffer) + 乙腈(Acetonitrile) (70:30, V/V); 除缓冲液浓度外其它条件及样品同图 3 (Samples and other conditions are same as in Fig. 3 except buffer concentration)。

### 3.5 pH 值对分离结果的影响

pH 值对碱性物质保留时间的影响比较复杂。考察了缓冲盐 pH 值在 4.0~8.0 范围内与保留时间的关系,如图 5 所示。4-二甲氨基吡啶和阿米替林的保留时间随 pH 值的增大先减小后增加,咖啡因和三氯苯胺的保留时间随 pH 值的增大而减小。在 pH 4.0 时,由于 pH 较低,硅胶表面电离的硅羟基减少使得固定相表面  $\zeta$  电势降低,电渗流速度较低,因此 4 种物质在 pH 4.0 时保留时间较长。随着 pH 值的增加,4-二甲氨基吡啶( $pK_a = 9.4$ )<sup>[12]</sup> 和阿米替林( $pK_a = 9.6$ ) 电离率不断减小,在接近 pH 7.0~8.0 时,只有部分带正电荷,在相同电场强度下,电泳对其正向迁移的贡献降低,使这两种化合物的保留时间增加。同时 pH 值增加,使得固定相表面的电离硅羟基增多,导致硅胶作为离子交换固定相的作用增加,对保留时间的延长也有一定的作用。咖啡因和 2,4,6-三氯苯胺在 pH 4~8 范围内表面带电状况变化不大,电泳对其迁移的速度变化的影响不大。随着 pH 增加固定相表面硅羟基增多,电渗流速度增加,使其保留时间缩短。由于 pH 值对硅胶固定相表面的性质及碱性物质的带电状况都有影响,使其保留机理十分复杂,有待进一步研究。综合考虑分离度、分析时间和柱寿命等因素,本实验选择 pH 5.0。

### 3.6 电压对分离结果的影响

由于 pCEC 具有压力流与电渗流双重驱动力,与微径液相色谱(micro-HPLC)相比,它能够通过调

节电压实现对带电物质的分离分析。从图6可见, 随着电压的增大, 各物质的保留时间明显降低的同时, 色谱峰峰形变窄, 亚微米硅胶色谱柱的分离理论塔板数有所增加。当电压在 $-9\text{ kV}$ 时, 咖啡因的柱效达到 $90000$ 理论塔板/ $\text{m}$ 。从表3可见, 体系具有良好的重现性。但当实验中电压太高时, 出现焦耳热效应。考虑到实验的连续性及分离效果, 选择 $-7\text{ kV}$ 作为操作电压。本实验得到的柱效与文献[13]采用 $1\text{ mm SiO}_2$ 颗粒在 $\text{pCEC}$ 模式下获得的 $200000$ 理论塔板/ $\text{m}$ 的柱效相比明显偏低, 这主要由于色谱填料的粒度极小, 毛细管柱的填充密度不够理想, 导致柱容量过低所致。因此, 在后续实验中采用不同的毛细管柱制备方法, 以获得更高柱效。

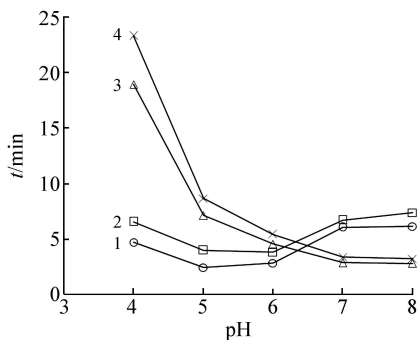


图5 缓冲液 pH 对保留时间的影响

Fig. 5 Effects of pH of running buffer in mobile phase on retention time of four analytes

色谱条件(Conditions):  $5\text{ mmol/L Tris-HCl}$  缓冲液(Buffer) + 乙腈(Acetonitrile) ( $70:30, \text{V/V}$ ), 除 pH 外其它条件及样品同图2, (Samples and other conditions are the same as in Fig. 2 except pH value)。

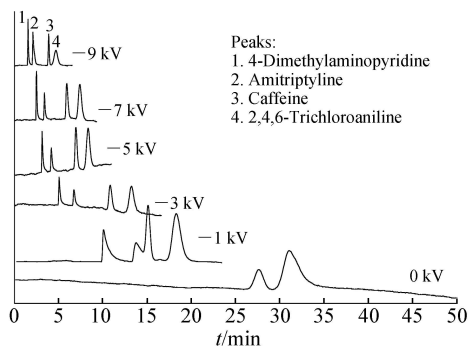


图6 电压对各物质保留时间的影响

Fig. 6 Effects of separation voltage on retention time of analytes

色谱条件(Conditions): 毛细管柱(Capillary column),  $36\text{ cm} \times 100\text{ mm}$ ; 有效长度(Effective length),  $11\text{ cm}$ ; 流动相(Mobile phase),  $5\text{ mmol/L Tris-HCl}$  缓冲液(pH 5.0)和乙腈(Acetonitrile) ( $70:30, \text{V/V}$ ); 泵流速(Flow rate of pump),  $100\text{ nL/min}$ ; 检测波长(UV detection wavelength):  $214\text{ nm}$ 。

表3 在不同电压下, 4种物质的保留时间及相对标准偏差( $n=3$ )

Table 3 Relative standard deviations (RSD) of retention times of four analytes under condition of different voltages

电压 Voltage (kV)	4-二甲氨基吡啶 4 Dimethylaminopyridine				阿米替林 Amitriptyline				咖啡因 Caffeine				2,4,6-三氯苯胺 2,4,6-Trichloroaniline			
	$t_1$	$t_2$	$t_3$	RSD (%)	$t_1$	$t_2$	$t_3$	RSD (%)	$t_1$	$t_2$	$t_3$	RSD (%)	$t_1$	$t_2$	$t_3$	RSD (%)
1	9.81	9.62	9.77	1.03	13.49	13.35	13.39	0.54	14.84	14.80	14.82	0.41	18.02	17.96	17.99	0.17
3	5.01	5.04	5.03	0.30	6.71	6.67	6.68	0.74	10.77	10.85	10.67	0.84	13.10	12.95	13.10	2.87
5	3.09	3.10	3.15	1.03	4.12	4.13	4.23	1.50	6.85	6.81	7.00	1.50	8.30	8.09	8.51	2.53
7	2.47	2.45	2.48	0.62	3.37	3.30	3.40	1.53	5.89	5.85	5.90	1.30	7.37	7.29	7.53	1.65
9	1.48	1.50	1.52	1.33	2.04	1.97	2.08	2.74	3.80	3.70	3.85	2.01	4.63	4.42	4.69	3.00

## 4 结论

本研究以 Stöber 法制备  $500\text{ nm}$  球型  $\text{SiO}_2$  颗粒, 并对合成条件和保留机理进行了研究。当采用乙腈-水体系, 该固定相呈现出正相吸附、反相分配及离子交换 3 种保留机理。当盐浓度在  $5\sim 30\text{ mmol/L}$  时, 所制备的  $500\text{ nm}$  无孔  $\text{SiO}_2$  颗粒系统中仍存在电渗流, 可用于  $\text{pCEC}$  分析。采用  $\text{pCEC}$  分析模式, 在较低压力推动下合成的亚微米级  $\text{SiO}_2$  颗粒, 在  $10\text{ min}$  内即实现对 4 种碱性化合物的分离, 效果较好。

## References

- Jerkovich A D, Mellors J S, Jorgenson J W. *Lcgc. North America*, **2003**, 21(7): 604~ 610
- MA Qiang, BAI Hua, WANG Chao, ZHANG Qing, MA Wei, ZHOU Xin, DONG Yi Yang, WANG Bao Lin (马强, 白桦, 王超, 张庆, 马微, 周新, 董益阳, 王宝麟). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2010**, 38(1): 51~ 56
- Dadoo R, Yan C, Zare, R N, Rakestraw D J. *LGCC*, **1997**, 15(7): 630~ 634.

- 4 Qu Q S, Lu X, Huang X J, Hu X Y, Zhang Y K, Yan C. *Electrophoresis*, **2006**, 27(20): 3981~ 3987
- 5 WANG Jur De, LI Xia Hong, DONG Peng(王俊德, 李晓红, 董鹏). *Chinese Journal of Chromatography(色谱)*, **1995**, 13(5): 361~ 364
- 6 Stöber W, Fink A. *J. Colloid Interface Sci.*, **1968**, 26(1): 62~ 69
- 7 Matsoukas T, Gulari E. *J. Colloid Interface Sci.*, **1988**, 124(1): 252~ 261
- 8 LU Xiao(陆晓). Master's Paper(硕士论文). *Preparation of Novel Micrometre & Submicrometre SiO<sub>2</sub> Particles and Its Application on Pcec(新型微米、亚微米级SiO<sub>2</sub>颗粒的制备及其在加压电色谱中的应用)*. Yangzhou(扬州): Yangzhou University(扬州大学), **2007**: 35~ 38
- 9 YE Ming Liang, ZOU Han Fa, LIU Zhen, ZHANG Li Hua, NI Jian Yi, ZHANG Yu Kui(叶明亮, 邹汉法, 刘震, 张丽华, 倪坚毅, 张玉奎). *Chinese J. Anal. Chem.(分析化学)*, **1999**, 27(9): 1007~ 1012
- 10 Guo Y, Gaiki S. *J. Chromatogr. A*, **2005**, 1074(F2): 71~ 80
- 11 Wei W, Luo G A, Hua G Y, Yan C. *J. Chromatogr. A*, **1998**, 817(F2): 65~ 74
- 12 CHEN Fang, TANG Feng Xiang, SHAO Yu Fei(陈方, 唐凤翔, 邵宇飞). *Journal of Fuzhou University (Natural Science Edition)(福州大学学报(自然科学版))*, **2005**, 33(3): 414~ 418
- 13 QU Qi Shu, ZHOU Yu, PENG Sheng Wei, HU Xiao Ya, YAN Chao(瞿其曙, 周瑜, 彭生微, 胡效亚, 阎超). *Chinese Journal of Chromatography(色谱)*, **2010**, 28(3): 260~ 263

## Preparation of 500 nm Spherical Silica Particles and Its Applications in Pressurized Capillary Electrochromatography

ZHANG Xiao Hui<sup>1</sup>, WANG Yan<sup>1</sup>, GU Xue<sup>1</sup>, QU Qi Shu<sup>2</sup>, YAN Chao<sup>\*1</sup>

<sup>1</sup>(School of Pharmacy, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240)

<sup>2</sup>(College of Chemistry and Chemical Engineering, Yangzhou University, Yangzhou 225002)

**Abstract** Nonporous, spherical silica particles with diameter of 500 nm was prepared by Stöber method. The concentration of tetraethoxysilane(TEOS), ammonium hydroxide and water was 0.2, 2.0 and 6.0 mol/L respectively. The 500 nm packing was packed into 100 mm i. d. capillary columns by slurry packing method. The application of the column in pressurized capillary electrochromatography (pCEC) for the separation of four basic compounds: 4-dimethylaminopyridine, amitriptyline, caffeine and 2,4,6-trichloroaniline has been studied. The effects of the composition of mobile phase, the concentration of the buffer, pH value and applied voltage were investigated. The optimum separation for the four basic compounds was achieved with the mobile phase of acetonitrile and 5 mmol/L Tris-HCl buffer (pH 5.0) 30/70, V/V), applied voltage at 9 kV and UV detection at 214 nm. A column efficiency of 90 000 plates per meter for caffeine was obtained under the optimized conditions. The experimental results demonstrated that the silica column showed a normal phase separation mechanism, reversed phase separation mechanism and ion exchange mechanism as the proportion of the acetonitrile changed. In this research, the 500 nm silica stationary phase was used in pCEC separation for the first time, which provides useful guideline for application of submicron particles in chromatographic field.

**Keywords** Submicron silica stationary phase; Pressurized capillary electrochromatography; Preparation; Basic compounds

(Received 10 August 2010; accepted 28 October 2010)