

## 聚 *N*-异丙基丙烯酰胺硅胶键合固定相的制备与评价

徐荣来, 杨同华, 董 伟

(江南大学化学与材料工程学院, 江苏 无锡 214122)

**摘要** :以 3-巯丙基三甲氧基硅烷为偶联剂,将聚 *N*-异丙基丙烯酰胺(PNIPAM)键合到硅胶上,制得了键合固定相(SI-PNIPAM)填料,并用元素分析、红外光谱等对其进行了表征。以甲醇-水为二元流动相,用多环芳烃、碱性物质对该固定相进行了色谱评价,并考察了该固定相的适用 pH 范围及水解稳定性。结果表明:该固定相具有较好的色谱性能与温敏特性,并且在 pH 2.5 ~ 7.5 时稳定性良好。

**关键词** :聚 *N*-异丙基丙烯酰胺;硅胶;反相高效液相色谱;键合固定相

中图分类号 :O658 文献标识码 :A 文章编号 :1000-8713(2008)02-0246-04 栏目类别 :研究论文

## Preparation and characterization of poly(*N*-isopropylacrylamide) bonded silica gel stationary phase

XU Ronglai, YANG Tonghua, DONG Wei

(School of Chemical and Material Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

**Abstract** : A thermal sensitive bonded stationary phase, poly(*N*-isopropylacrylamide) bonded silica gel stationary phase (SI-PNIPAM), was prepared by reacting silica gel with 3-mercaptopropyltrimethoxysilane (MPS). The characterization of the prepared packings was carried out with elemental analysis and Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy. The chromatographic evaluations were carried out by testing with polycyclic aromatic hydrocarbons and basic compounds using methanol-water as a binary mobile phase. The applicable range of pH and stability of SI-PNIPAM were also evaluated. The results showed that the stationary phase has excellent chromatographic properties, thermal-responsibility and resistance to hydrolysis between pH 2.5 and 7.5. It can be used to separate basic solutes efficiently due to the existence of the special structure containing internal polar amide group contributing to restraining the activity of the residual silanol group below the lower-critical-solution temperature (LCST).

**Key words** : poly(*N*-isopropylacrylamide); silica gel; reversed-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC); bonded stationary phase

聚 *N*-异丙基丙烯酰胺(PNIPAM)的大分子链上同时具有亲水性的酰胺基和疏水性的异丙基,使线性 PNIPAM 的水溶液以及交联后的 PNIPAM 水凝胶都呈现出温敏特性<sup>[1,2]</sup>。近年来这类温敏性高分子材料在药物控释、生化分离以及化学传感器等方面得到了广泛的应用<sup>[3,4]</sup>。将这类温敏性高分子通过偶联剂键合到硅胶上作为色谱填料,利用其温敏性的特征,通过改变温度来改变其色谱性能,用以分离某些特殊的物质。这方面的工作国外已有不少研究<sup>[5,6]</sup>,而对于其一般的色谱性能却未见报道。因此,我们制备了 PNIPAM 硅胶键合固定相(SI-

PNIPAM),并对其进行了反相色谱性能的研究。

### 1 实验部分

#### 1.1 仪器与试剂

Waters 高效液相色谱系统,包括 515 泵、2487 Daul  $\lambda$  紫外吸收检测器和 Millen-nium32 色谱工作站等;Vaivo Element 元素分析仪;Bruker FT-IR 红外光谱仪。

YMC 120-S5 硅胶(直径 5  $\mu\text{m}$ ,孔径 12 nm,比表面积 300  $\text{m}^2/\text{g}$ ) $\beta$ -巯丙基三甲氧基硅烷(国药集团),*N*-异丙基丙烯酰胺(上海物竞化工科技有限公

司,经正己烷重结晶提纯后使用),偶氮二异丁腈(上海试剂四厂,化学纯,经乙醇重结晶提纯后使用),甲醇(江苏汉邦科技有限公司,色谱纯),水为二次蒸馏水,经  $0.45\ \mu\text{m}$  微膜过滤。实验中其他试剂均为分析纯。

### 1.2 键合固定相的制备

取  $10\ \text{g}$  纯化后的 *N*-异丙基丙烯酰胺,置于  $250\ \text{mL}$  圆底三颈烧瓶中,加入  $100\ \text{mL}$  甲醇、 $1\ \text{mL}$  3-巯丙基三甲氧基硅烷、 $0.1\ \text{g}$  偶氮二异丁腈,在氮气保

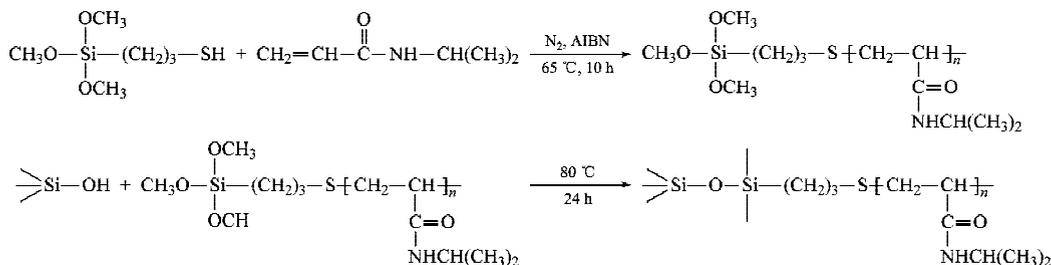


图 1 SI-PNIPAM 的制备过程

Fig. 1 Preparation process of SI-PNIPAM

### 1.3 色谱柱的填充

色谱柱为  $250\ \text{mm} \times 4.6\ \text{mm}$  不锈钢柱,匀浆液为三氯甲烷,顶替液为乙醇,装柱压力为  $70\ \text{MPa}$ 。

## 2 结果与讨论

### 2.1 键合固定相的表征

#### 2.1.1 元素分析

重复 3 次实验所得到的 SI-PNIPAM 的元素分析结果如表 1 所示。从表 1 中可见,合成该键合相有较好的重现性。

表 1 SI-PNIPAM 键合相的元素分析结果

Table 1 Elemental analysis of SI-PNIPAM %

Batch	$w(\text{C})$	$w(\text{H})$	$w(\text{N})$
1	12.16	1.98	1.47
2	12.58	2.18	1.53
3	12.84	2.20	1.58

#### 2.1.2 傅里叶红外光谱分析

图 2 为硅胶与键合固定相的红外光谱图对比,通过比较发现:键合固定相在  $2857 \sim 2950\ \text{cm}^{-1}$  之间出现了表征  $\text{CH}_3$  和  $\text{CH}_2$  伸缩振动的吸收峰,同时在  $1458\ \text{cm}^{-1}$  处出现了  $\text{C}-\text{H}$  键的弯曲振动峰;在  $1636\ \text{cm}^{-1}$  处出现了酰胺 I 峰(即  $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ ),在  $1558\ \text{cm}^{-1}$  处出现了酰胺 II 峰(即  $\delta_{\text{N}-\text{H}} + \nu_{\text{C}-\text{N}}$ )。综合元素分析结果和红外谱图,可以推断反应按所设计的路线进行。

### 2.2 SI-PNIPAM 的色谱性能

#### 2.2.1 多环芳烃的色谱行为

以苯、甲苯、乙苯、萘、联苯、菲为测试溶质评价

护下于  $65\ ^\circ\text{C}$  恒温水浴中搅拌回流  $10\ \text{h}$  后,蒸除回流产物中的溶剂。用少量丙酮溶解回流产物,将其逐滴滴入正己烷中沉淀,抽滤后真空干燥过夜。

取上述产物  $4.0\ \text{g}$ ,置于  $100\ \text{mL}$  圆底三颈烧瓶中,加入  $4.0\ \text{g}$  硅胶、 $50\ \text{mL}$  干燥异丙醇,于  $80\ ^\circ\text{C}$  下搅拌回流  $24\ \text{h}$ ,抽真空过滤,依次用苯、丙酮、甲醇淋洗数次,真空干燥过夜,得白色粉末,即 SI-PNIPAM。

制备过程如图 1 所示。

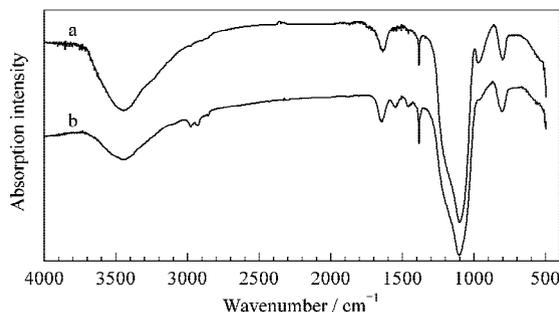


图 2 (a) YMC 硅胶和 (b) SI-PNIPAM 的红外光谱图

Fig. 2 IR spectra of (a) YMC silica and (b) SI-PNIPAM

了固定相的一般色谱性能,如图 3 所示,以萘计算的色谱柱柱效为  $35\ 050$  理论塔板/ $\text{m}$ ,不对称因子为  $0.93$ ,可见此柱具有较高的柱效和良好的峰形。

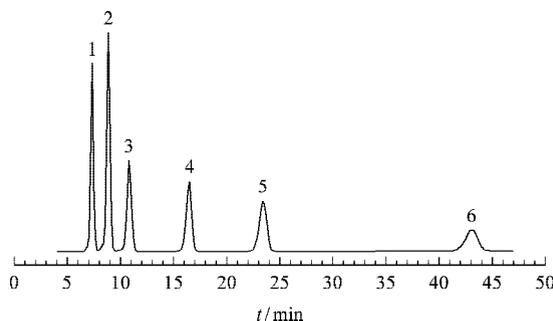


图 3 芳香烃化合物的色谱分离图

Fig. 3 Chromatogram of some aromatic compounds

Conditions: mobile phase, methanol-water ( $60:40, \text{v/v}$ ); flow rate,  $0.8\ \text{mL/min}$ ; column temperature,  $20\ ^\circ\text{C}$ ; detection wavelength,  $254\ \text{nm}$ .

Peak identifications: 1. benzene; 2. toluene; 3. ethylbenzene; 4. naphthalene; 5. biphenyl; 6. phenanthrene.

图 4 为苯、甲苯、乙苯、萘、联苯的保留因子与温度之间的关系,可以看出,在 20~28 °C 之间,保留因子随温度升高而增大。这是因为随着温度的升高,硅胶表面键合的 PNIPAM 由亲水性构象转变为疏水性构象,从而增大疏水保留能力,说明该键合固定相与 PNIPAM 一样,具有温敏特性;在 32~40 °C 之间,保留因子随温度升高而减小,这是因为随着温度的升高,流动相的粘度降低,加快了溶质的传质速率<sup>[7]</sup>,从而减少了溶质的保留时间。

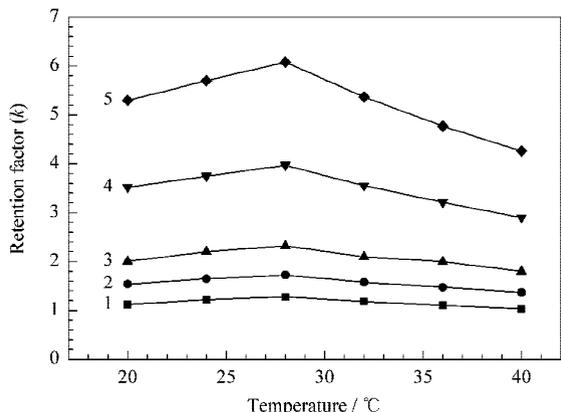


图 4 温度对芳香烃化合物保留因子  $k$  的影响

Fig. 4 Effect of temperature on the retention factor ( $k$ ) of some aromatic compounds on SI-PNIPAM

Conditions: mobile phase, methanol-water (55:45, v/v); flow rate, 0.8 mL/min.

1. benzene; 2. toluene; 3. ethylbenzene; 4. naphthalene; 5. biphenyl.

### 2.2.2 碱性物质的色谱行为

同其他酰胺型固定相<sup>[8]</sup>一样,由于键合相上存在大量的酰胺基,氮原子产生的屏蔽效应大大减弱了残留硅醇基的影响,从而在分离碱性物质时能产生较对称的峰形。图 5 为吡啶与苯胺的色谱分离图,其对称性分别为 1.08 和 1.02。

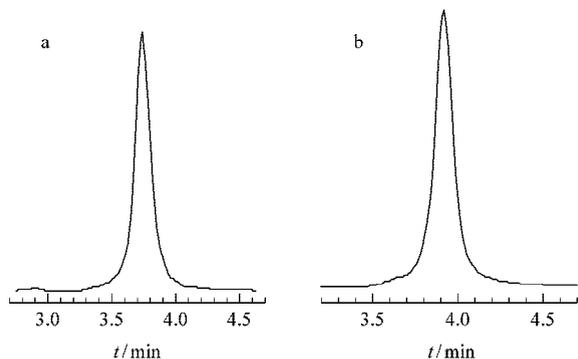


图 5 碱性物质 (a) 吡啶和 (b) 苯胺的色谱分离图

Fig. 5 Chromatograms of basic compounds (a) pyridine and (b) aniline

Mobile phase, methanol-water (70:30, v/v); other conditions as in Fig. 3.

由图 5 可以看出,碱性化合物的峰“底座”较大。这是因为:一方面,除了离硅胶表面较近的酰胺键能与硅醇基发生相互作用外,更多的酰胺键由于主链的限制并未参与屏蔽作用,而这些酰胺键会对离解的带正电的碱性化合物产生一个排斥作用,从而在峰形上出现“前沿”;另一方面,离硅胶表面较近的酰胺键由于在聚合物链端部,屏蔽作用受与之相连的异丙基的限制,并不能完全屏蔽硅醇基的作用,从而在峰形上出现“拖尾”;这两种情况同时发生在色谱分离的过程中,使碱性化合物的分离峰“底座”较大。

图 6 为不同温度下苯胺的色谱分离图,可以看出,随着温度的升高,峰的“前沿”消失,但峰的“拖尾”增强,导致对称性急剧变差。这是因为随着温度的升高,硅胶表面键合的 PNIPAM 的构象由亲水性的酰胺基逐渐变成疏水性的异丙基,使得酰胺基在色谱分离过程中的作用大大减弱,导致碱性物质的色谱分离峰拖尾严重。这说明对于碱性物质的分离温度应控制在相转变温度以下。

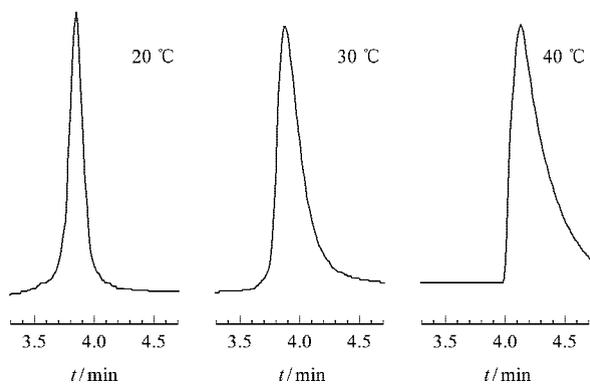


图 6 温度对苯胺峰形的影响

Fig. 6 Effect of temperature on the peak shape of aniline on SI-PNIPAM

Mobile phase, methanol-water (70:30, v/v); flow rate, 0.8 mL/min; detection wavelength, 254 nm.

### 2.2.3 酸性、中性、碱性混合物的分离

图 7 为室温下 SI-PNIPAM 对酸性、中性、碱性混合物的色谱分离图。由图 7 可以看出,该柱在室温下分离硫脲、邻甲苯胺、对甲苯胺、*N,N*-二甲基苯胺这几种碱性化合物可以得到良好的峰形,且苯胺先于苯酚出峰,邻甲苯胺与对甲苯胺同时被洗脱。以溶剂峰为死时间计算保留因子  $k$ ,得到乙苯的  $k$  为 2.19,这符合文献<sup>[9]</sup>中适合碱性化合物分离的色谱柱所要满足的条件,说明该柱在室温下适合分离碱性物质。在此条件下,计算得到乙苯与甲苯的相对保留值  $\alpha$  为 1.52,说明该柱的疏水识别能力并

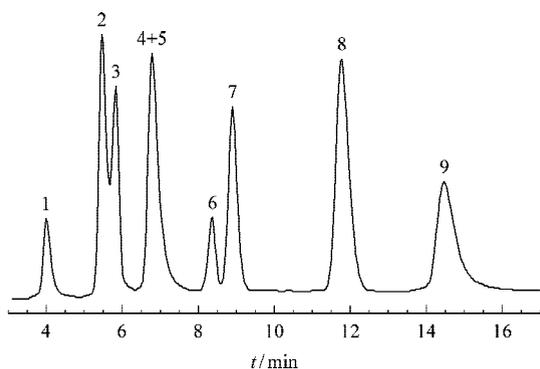


图 7 SI-PNIPAM 用于分离酸性、中性和碱性化合物的色谱图

Fig. 7 Chromatogram of separation of some acidic, neutral and basic compounds by SI-PNIPAM

Mobile phase, methanol-water (55:45, v/v); column temperature, 25 °C; other conditions as in Fig. 3.

Peak identifications: 1. thiourea; 2. aniline; 3. phenol; 4. *p*-toluidine; 5. *o*-toluidine; 6. *p*-nitroaniline; 7. toluene; 8. ethylbenzene; 9. *N,N*-dimethyl aniline.

不强。这是因为此温度下 PNIPAM 为亲水性构象的缘故。

#### 2.2.4 键合固定相的水解稳定性

以甲苯和苯甲酸乙酯为待测物,考察了键合固定相在甲醇-柠檬酸/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  缓冲液 (pH 2.5) (体积比为 70:30) 以及甲醇- $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$  缓冲

液 (pH 7.5) (体积比为 70:30) 流动相中的水解稳定性。分别用 9 000 倍柱体积的流动相冲洗键合固定相后,甲苯和苯甲酸乙酯的保留因子  $k$  未见明显的变化,表明这种聚合物键合固定相具有较好的抗水解性能,能在 pH 2.5 ~ 7.5 的流动相中长期使用。

#### 参考文献:

- [1] Tiktopulo E I, Uversky V N, Lushchik V B, et al. *Macromolecules*, 1995, 28: 7514
- [2] Pelton R. *Adv Colloid Interface Sci*, 2000, 85: 1
- [3] Suzuki K, Yumura T, Tanaka Y, et al. *J Control Release*, 2001, 75: 183
- [4] Gao C Y, Mohwald H, Shen J C. *Polymer*, 2005, 46: 4088
- [5] Ayano E, Okada Y, Sakamoto C, et al. *J Chromatogr A*, 2005, 1069: 281
- [6] Ayano E, Okada Y, Sakamoto C, et al. *J Chromatogr A*, 2006, 1119: 51
- [7] Wang J D, Shang Z H, Yu Y L. *High performance liquid chromatography*. Beijing: China Sino Petrochemical Press (王俊德, 商振华, 郁蕴璐. 高效液相色谱法. 北京: 中国石化出版社), 1992: 130
- [8] Huang X J, Liu Y, Cong R Z, et al. *Chinese Journal of Chromatography* (黄晓佳, 刘莺, 丛润滋, 等. 色谱), 2001, 19(4): 293
- [9] Engelhardt H, Arangio M, Lobert T. *LC-GC*, 1997, 15(9): 856

### 书 讯

## 气相色谱仪器系统

由中国色谱学会副理事长武杰高级工程师等编著的《气相色谱仪器系统》已于 2007 年 1 月由化学工业出版社出版。

本书是“分析仪器使用与维护丛书”之一。全书分 10 章介绍了气相色谱仪的基础原理和基本组成,从实用角度对仪器用气体与气源、进样系统、检测器、电路系统、色谱柱、色谱工作站、仪器日常维护和保养、整机故障现象分析与排除等内容进行了详尽的介绍,仅有关气相色谱仪日常维护与保养和常见故障分析与排除方法等有关信息就有几百条之多。

本书除提供给一线气相色谱仪操作者一本实用参考书外,也可供从事气相色谱分析、研究与开发及仪器维修人员参考,同时可作为高等院校与分析化学相关专业师生的参考书。

“分析仪器使用与维护丛书”由中国仪器仪表学会分析仪器学会组织编写,丛书已出版的其他分册还有《分析仪器与仪器分析概论》、《傅里叶变换红外光谱仪》、《高效液相色谱仪器系统》、《样品前处理仪器与装置》、《原子吸收光谱仪》、《紫外可见光光度计》、《物性分析仪器》等。

《气相色谱仪器系统》采用 B5 开本,376 页,49 万字,书号 978-7-5025-9689-7,定价 48.00 元。

详情可登录化学工业出版社网站查询 (www.cip.com.cn)。