

利用体积排阻快速原位表征整体固定相的孔结构

杨长龙^{1,2,3} 邹娟娟^{2,4} 张庆合² 张维冰² 李彤^{*2} 胡浩权¹

¹(大连理工大学化工学院, 大连 116024) ²(大连依利特分析仪器有限公司, 大连 116011)

³(齐齐哈尔大学化工学院, 齐齐哈尔 161006) ⁴(南京理工大学工业化学研究所, 南京 210094)

摘要 利用体积排阻色谱原理, 在自制的径向色谱柱上, 测定了具有窄分子量分布且已知平均分子量 418~ 190 000 的聚苯乙烯标准品的保留数据, 这些数据可用于计算柱子的外部(55.1%)、内部(4.9%)和总孔隙率以及整体材料孔尺寸分布的信息。此种技术用于整体填料孔结构的表征, 具有无破坏性、原位、快速的特点。整体固定相的外部孔隙率高于颗粒填充柱, 表明整体柱的高通透性; 流速与压力关系的分析, 证明了整体固定相在高流速下具有低背压的特征。

关键词 整体固定相, 体积排阻色谱, 孔径分布

1 引言

整体填料由多孔整体单元构成, 包括两种相互连接的孔网络, 即大孔、中孔和微孔。大孔又称通孔, 孔径大于 50 nm, 占总孔隙率的 80% 以上, 其孔网络为流体流动提供了通道, 并保证样品分子能够到达整个中孔及微孔网络的活性位点上。密集的大孔网络使整体填料具有很高的孔隙率, 高孔隙率及其相对较大的平均孔径使其表现出很高的渗透性^[1~3]; 中孔网络占总孔隙率的 8% 左右, 其孔径为 2~ 50 nm; 微孔网络占总孔隙率的 12% 左右, 其孔径小于 2 nm。整体固定相的特征表面积主要是由中孔及微孔网络构成^[4~6]。两种结构的孔网络相结合, 使整体柱具有优越的流动特性、热动力学特性及动力学特性。整体填料的中孔及微孔结构和特征表面积与传统的多孔颗粒相似, 因此对于样品的保留因子数量级相同, 分离效能近似。与传统的颗粒色谱填料相比, 整体填料具有敞开形式的内部孔道, 被分离的溶质分子可借助对流作用传递到固定相内表面, 并与活性位点作用^[4]对流传递速率远高于分子扩散速率。因此, 流动相与固定相间传质速率提高, 在改善分离的同时, 可以显著缩短分离分析的时间, 被称为第 4 代色谱固定相^[5]。

由于整体填料的大孔网络, 使其性质的研究比较困难。传统的用于关联床层性质(外部孔隙率, 渗透性, 柱效)与填充颗粒尺寸的关系不适用于整体固定相, 整体柱的外部孔隙率或者说大孔的孔隙率不再是像填充柱接近 0.4。理论上, 整体柱可以用研究传统色谱柱的理论和实验方法来研究, 用氮气在其沸点温度下的吸附量与分压的关系, 来计算整体柱的孔隙率^[7,8], 但整体固定相的尺寸与传统的氮吸附仪不匹配; 尽管整体柱具有高渗透性, 但柱入口和出口处压力会有很大差别, 因此等温线数据不是在等压条件下获得的, 获得的数据难以解释, 所得信息的适用条件与其应用条件不匹配, 置信度及置信区间下降; 虽然压汞法可以测定大孔和中孔的孔径分布, 然而柱管不能承受压汞法的操作压力, 当然, 可以从柱管中取出整体柱, 使之粉碎成合适的小颗粒, 再研究其孔性质, 但属破坏性测试方法; 现代的研究方法如小角度 X 射线散射、中子散射、核磁共振及库仑测量法等都仅适用于研究颗粒的性质, 而不适用于大尺寸整体柱材料的研究。

针对整体固定相孔结构信息的重要性, 以及其表征技术的困难, 实验采用体积排阻色谱(SEC)技术, 在径向流动模式的整体柱上, 通过测定聚苯乙烯标准品的保留数据, 方便地得到了色谱柱的总孔隙率、外部孔隙率和内部孔隙率, 同样获得了整体固定相的孔径分布。

2 原理

SEC 是液相色谱分离模式之一, 依靠物理筛分过程, 根据注入样品分子的流体力学体积大小, 依次

2003 12 29 收稿; 2004 04 26 接受

本文系“十五”国家科技攻关计划项目资助课题(No. 2001BA210A01)

从柱中被洗脱出来,从而达到分离的目的。分离过程是将样品混合物通过多孔固定相,样品中的大分子不能进入孔道而完全被排阻,首先从柱中被流动相洗脱出来;中等大小的分子能进入固定相中的一些合适的孔道,但不能进入更小的微孔,在柱中受到滞留,较慢地从柱中洗脱出;小分子可以进入固定相的大部分孔道,在柱中受到更强的滞留。SEC 通常用来分离高聚物及生物大分子。应用体积排阻色谱原理,从具有窄分子量分布且已知平均分子量的聚合物的保留数据,可以推测填料的孔结构^[9]。由 SEC 的保留数据可以得到总孔隙率(ε_T)、外部孔隙率(ε_e)和内部孔隙率(ε_i):

$$\varepsilon_T = \frac{V_T}{V_g}, \quad \varepsilon_e = \frac{V_e}{V_g}, \quad \varepsilon_i = \varepsilon_T - \varepsilon_e \quad (1)$$

式(1)中, V_T 为滞留时间最长的样品的保留体积,即填料的总孔体积,一般用与示踪剂(实验中为聚苯乙烯)具有相似分子结构,且分子量最小的样品分子(如苯及甲苯)进行测定; V_e 为被排阻分子的保留体积(两条直线交点对应的横坐标,见图 1); V_g 为固定相的几何体积。同样,由 SEC 的保留数据可以得到固定相的孔径分布。

假设 V_n 为孔径等于或大于 d_n 的孔所占体积, V_{n+1} 为孔径等于或大于 d_{n+1} 的孔所占体积,则孔径在 d_n 和 d_{n+1} 之间的孔体积为:

$$\Delta V_{n+1, n} = V_{n+1} - V_n \quad (2)$$

孔径在 d_n 和 d_{n+1} 之间的孔道占总孔体积的分率为:

$$\phi_{n+1, n} = \frac{\Delta V_{n+1, n}}{V_T} \quad (3)$$

采用下面的经验关联式^[9], 关联聚苯乙烯样品的平均分子量与孔径的关系:

$$M_w = 113d_n^{1.7} \quad (4)$$

式中孔径 d_n 的单位为 nm。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

环型中心移热、外部换热式反应器及径向色谱柱系统由实验室设计加工; 501- 型超级恒温水器(上海实验仪器厂); 9310- 型汞渗透测孔仪(美国 MIC 公司); KYKY-1000B 型扫描电子显微镜(中国科学院科学仪器厂); 高效液相色谱仪(大连依利特公司), 由 P200 II 型高压恒流泵、UV200 II 型紫外可变波长检测器以及 Echrom98 色谱工作站等部件组成。

甲基丙烯酸缩水甘油酯(GMA)、二甲基丙烯酸乙二酯(EDMA)、环己醇、十二醇和过氧化苯甲酰(BPO)为美国 Acros Organics 公司产品; 分子量为 418~190 000 的聚苯乙烯标准品(日本 TOSOH 公司); 四氢呋喃(THF, 天津科密欧科技有限公司)为色谱纯, 其他试剂为分析纯。

3.2 整体固定相的合成

引发剂 BPO(1 wt% 单体体积)溶于 40% 的单体混合物(60% GMA, 40% EDMA)中, 缓慢加入 60% 的致孔剂混合物(90% 环己醇, 10% 十二醇)。所得的聚合混合物通 N_2 15 min, 除 O_2 , 同时使引发剂溶解, 将盛装混合物的容器密封, $-18^\circ C$ 下保存 12 h, 以使聚合混合物充分混匀。将配制的聚合混合物用 P200II 型高压恒流泵在 N_2 保护下, 以一定流速缓慢加入到已恒温的环型中心移热、外部换热式反应器中, 加料完毕后, 将反应器密封恒温 $55^\circ C$ 反应 24 h, 具体合成步骤见文献^[10]。反应结束后取出整体柱床层材料, 并将其装入径向流动色谱柱的腔体中^[11]。用乙醇溶液萃取 12 h, 将其连接到 HPLC 系统上, 以一定流速(视操作压力而定, 压力不超过 2 MPa)用 THF 冲洗至基线水平, 以移去致孔剂环己醇和十二醇。

3.3 孔隙率及扫描电镜测试

将不同分子量的聚苯乙烯标准品和甲苯分别用流动相(THF)溶解, 取 25 μL 样品由六通阀手动注入色谱柱, 流速为 5.0 mL/min。每种标准品重复测定 3 次, 取 3 次实验的平均值为测定结果。注入 25 μL 的甲苯样品测定色谱柱的总孔体积, 测定波长为 254 nm。所有测试样品的保留体积均对系统的死体积进行校正。将制备的整体材料由色谱柱中取出, 在 $50^\circ C$ 下烘干 12 h。用 9310 型汞渗透测孔仪测定其孔尺寸分

布,与 SEC 测定结果进行对比。用 KYKY-1000B 型扫描电子显微镜(SEM)测定其微观结构。

4 结果与讨论

4.1 孔隙率

图 1 为聚苯乙烯标准品分子量的对数与其保留体积的关系曲线。可以看出,聚苯乙烯分子量由大到小的序列恰好关联 3 条直线,分别对应于大孔、中孔和微孔,表明整体多孔 GMA-EDMA 固定相具有双峰孔结构(大孔、中孔和微孔)。甲苯作为测定总孔隙率的示踪剂,由于其分子体积(分子量为 92)足够小,能够进入几乎所有的孔道,因此其保留体积可以认为是整体固定相的总孔体积(23.7 mL)。环型整体固定相的几何体积 V_g , 用下式计算: $V_g = \frac{1}{4} \pi (D_1^2 - D_2^2) l$ 。式中 D_1 (50 mm) 和 D_2 (8 mm) 分别为环型整体固定相的外环和内环直径, l (20 mm) 为整体固定相的高度。由式(1)可以得到整体固定相的总孔隙率为 62%,与制备整体固定相时采用的聚合混合物中致孔剂的比例吻合。

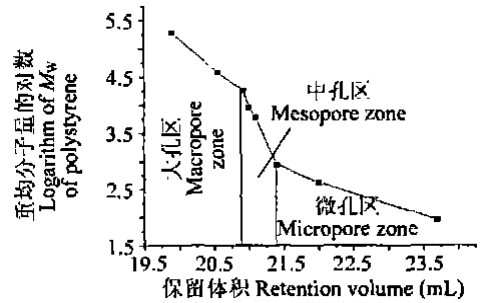


图 1 聚苯乙烯标准品分子量的对数对其保留体积的曲线

Fig. 1 The curve of the molecular masses of the polystyrene standards versus their retention volume

前已述及,传统的用于关联颗粒填充柱外部孔隙率和内部孔隙率与颗粒尺寸的关系不适用整体固定相,为评价整体固定相的孔结构特征,可以将具有双峰孔结构的整体固定相的大孔所占分率看作是外部孔隙率,中孔及微孔所占分率看作是内部孔隙率^[7-9]。由图 1 可见,两条关联直线(大孔和中孔)的交点所对应的横坐标 V_e (20.92 mL) 即为被排阻分子的保留体积。因此可以得出整体固定相外部孔隙率 ϵ_e (55.1%),可以看出整体固定相的外部孔隙率即大孔孔隙率不再是像颗粒填充柱接近 0.4,此点恰好验证了整体固定相在高流量时表现出低背压的特征^[6,7]。

4.2 孔径分布

根据聚苯乙烯标准品的保留数据,由公式(3)及(4)可以得到整体固定相的孔径分布,如表 1 所示。由表 1 可以看出,大孔占总孔体积的 84%,明显高于颗粒填充固定相。大孔的主要作用在于传输流动

表 1 GMA-EDMA 整体固定相的孔径分布*

Table 1 Pore size distribution of GMA-EDMA monolith

分子量 M_w (g/mol)	对数 $\log M_w$	孔径 Pore diameter (nm)	保留时间** t_R (min)	范围 Range (nm)	孔容 Pore Vol. (%)
92	1.96	0.9	5.14	0.9~2.1	7.2
418	3.62	2.1	4.80	2.1~3.3	2.5
870	2.94	3.3	4.68	3.3~10.3	1.3
5970	3.78	10.3	4.62	10.3~13.2	0.4
9100	3.96	13.2	4.60	13.2~19.8	0.3
18100	4.26	19.8	4.58	19.8~30.6	1.6
37900	4.58	30.6	4.51	30.6~79.0	2.7
190000	5.28	79.0	4.38	> 79.0	84.0

* 反应条件 (reaction conditions): 聚合混合物 (polymerization mixture): 甲基丙烯酸缩水甘油酯 (glycidyl methacrylate, GMA): 24%; 亚乙基-二甲基丙烯酸酯 (ethylene dimethacrylate, EDMA): 16%; 环己醇 (cyclohexanol): 54%; 十二醇 (dodecanol): 6%; 过氧化苯甲酰 (benzoyl peroxide): 1wt%; 聚合温度 (polymerization temperature): 55°C; ** 流动相 (mobile phase): (tetrahydrofuran, THF); 流速 (flow rate): 5.0 mL/min; 检测器 (detection): ultraviolet (UV); 检测波长 (detection wavelength): 254 nm.

相,使流动相携带样品能够到达孔网络的各个部位;大孔所占分率越高,则固定相的渗透性越好,高流速下所表现出的背压越低。中孔占总孔体积的 5%,微孔占总孔体积的 11%,明显小于颗粒填充固定相。中孔及微孔的主要功能是提供适当的特征表面积,为整体柱修饰提供活性位的连接点,整体柱的内表面积小于颗粒填充柱,因此柱效低于颗粒填充柱。整体固定相的孔结构必须按用途进行调节,即所谓的孔结构优化设计。对于生物大分子的分离,所关心的是缩短分离的时间;而低分子量化合物的分离通常以

柱效的高低来评价填料的优劣, 此点恰好验证了整体固定相多用于生物领域的研究。图 2 给出了压汞法测定的孔径分布曲线, 微孔占 9%, 中孔占 6%, 大孔占 85%, 两种方法所得结果的良好吻合, 证明了 SEC 是一种用于表征整体固定相孔结构的方便、快捷的技术。

4.3 流速与压力的关系

实验考察了流速与压降间的关系。对于广泛研究的棒型整体材料, 流速在 10~50 mL/min 内, 流速与压降间符合 Hanger Poiseuille 线性关系^[6]。实验观察到, 大体积径向流动整体柱同样符合这一规律, 且在较高流速下的压力仍很低, 流速为 50 mL/min 时, 压降不超过 2 MPa, 明显低于轴向流动模式的整体柱, 表明所制备的整体材料具有非常好的通透性, 同时也进一步验证了 SEC 测定孔结构的准确性。

4.4 结论

SEC 测定整体色谱柱的总孔隙率、外部孔隙率、内部孔隙率及整体固定相的孔径分布, 是一种方便、有效、实用的技术, 具有快速、无破坏性、原位表征等特点。孔径分布及流速与背压关系的测定, 验证了 SEC 法所测孔结构的准确性。现代的研究方法如小角 X 射线散射、中子散射、核磁共振和库仑测量法等都可用于表征材料的孔结构, 但仅适用于颗粒固定相。如用于整体固定相的孔结构分析, 由于仪器尺寸与整体材料的几何构型及尺寸不匹配, 必将存在取样部位及取样量的局限, 因而不能将整体固定相作为一个整体进行表征。SEC 明显优于上述诸方法, 并且廉价, 所得数据准确。

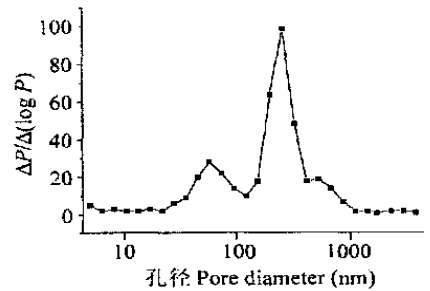


图 2 孔径分布曲线

Fig. 2 Differential pore size distribution curve of the molded poly (GMA-EDMA) monolith reaction conditions see Table 1 (for conditions see Table 1).

References

- 1 Vervoort N, Gzil P, Baron G V, Desmet G. *Anal. Chem.*, **2003**, 75: 843~850
- 2 Kele M, Guiochon G. *J. Chromatogr. A*, **2002**, 960: 19~49
- 3 Motokawa M, Kobayashi H, Ishizuka N, Minakuchi H, Nakanishi K, Jinnai K, Ikegami T, Tanaka N. *J. Chromatogr. A*, **2002**, 961: 53~63
- 4 Meyers J J, Liapis A I. *J. Chromatogr. A*, **1999**, 852: 3~23
- 5 Iberer G, Hahn R, Jungbauer A. *LC-GC*, **1999**, 17: 998~1055
- 6 Svec F, Frechet J M J. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **1999**, 38: 34~48
- 7 Merhar M, Podgornik A, Barut M, Zigon M, Strancar A. *J. Sep. Sci.*, **2003**, 26: 322~330
- 8 Guan H, Guiochon G. *J. Chromatogr. A*, **1996**, 731: 27~40
- 9 Al-Bokari M, Cherrak D, Guiochon G. *J. Chromatogr. A*, **2002**, 975: 275~284
- 10 Li Tong (李彤), Yang Changlong (杨长龙), Liang Zuocheng (梁作成), Zhang Qinghe (张庆合), Zhang Weibing (张维冰). *China Patent* (中国发明专利), 200310105041.9
- 11 Li Tong (李彤), Yang Changlong (杨长龙), Liang Zuocheng (梁作成), Zhang Qinghe (张庆合), Zhang Weibing (张维冰). *China Patent* (中国发明专利), 03238152.2

Rapid Determination the Pore Structure of Monolithic Stationary Phases by Size-Exclusion Chromatography

Yang Changlong^{1,2,3}, Zou Juanjuan^{2,4}, Zhang Qinghe², Zhang Weibing², Li Tong^{*2}, Hu Haoquan¹

¹(School of Chemical Engineering of Dalian University of Technology, Dalian 116024)

²(Dalian Elite Analytical Instruments CO., Ltd., Dalian 116011)

³(School of Chemical Engineering of Qiqihar University, Qiqihar 161006)

⁴(Industrial Chemistry Institute of Nanjing University of Science and Technology, Nanjing 210094)

Abstract Retention data of polystyrene samples of narrow molecular size distribution and known average molecular

mass from 418 to 190 000 were measured on radial flow monolithic column by size-exclusion chromatography (SEC). These data were used to determine the external (55.1%), internal (4.9%), and total porosities of the column. These data provided also information on the pore-size distribution of the adsorbent medium. The SEC applied in the determination of the pore structure possesses the characteristics of speediness, easiness, in situ and nondestructive. The external and the total porosities of the column are much higher than those of conventional packed columns. The results illustrate the high penetrability and low pressure drop even in the case of high mobile phase flow velocities.

Keywords Monolithic column, size-exclusion chromatography, pore size distribution

(Received 29 December 2003; accepted 26 April 2004)

第 40 届 IUPAC 学术大会征稿通知

第 40 届 IUPAC 学术大会将于 2005 年 8 月 14~19 日在北京国际会议中心举行。会议主题为“*Innovation in Chemistry*”。会议主席为中国化学会理事长白春礼院士; 秘书长为中国化学会秘书长姚建年研究员。

会议设置 8 个分组, 分别为:

(1) Environmental Chemistry and Green Chemistry; (2) Chemistry in the Life Sciences and Chemical Biology; (3) Materials Chemistry, Supramolecular Chemistry and Nanochemistry; (4) Information Technology in Chemistry and Computational Chemistry; (5) Innovation in Physical Chemistry and Biophysical Chemistry, Research Methods and Techniques; (6) Innovation in Methodology, Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry; (7) Innovation in Chemical Education and Teaching Methods; (8) Innovation in the Chemical and Petrochemical Industries and “Responsible Care” to Society

各分组主席分别为: 徐晓白院士, 张礼和院士, 杨玉良院士, 陈凯先院士, 张存浩院士, 汪尔康、周其凤院士和洪定一教授。

会议已邀请 9 位国际著名的化学家作大会报告, 其中包括 4 位诺贝尔奖获得者: Prof. Akira Fujishima (University of Tokyo, Japan): “Water Photolysis and Photocatalysis—How to Extend Fundamental Finding to Actual Applications”; Prof. Alan J. Heeger (Nobel Laureate, University of California at Santa Barbara, USA): “Semiconducting and Metallic Polymers: From ‘Plastic Electronics’ to Novel Biosensors”; Prof. Jianguo HOU (University of Science and Technology of China, China): “Study of single Molecules and their Assembly by Scanning Tunneling Microscopy”; Prof. Charles M. Lieber (Harvard University, USA): “Nanoscience and the Pathway to Nanotechnologies”; Prof. William N. Lipscomb, (Nobel Laureate, Harvard University, USA): “Structure and Functions in Chemistry and Biology: Experimental and Computational Studies”; Prof. Yuri Oganessian (Joint Institute of Nuclear Research, Russia): “Synthesis and Decay Properties of Superheavy Elements”; Prof. John E. Walker (Nobel Laureate, University of Cambridge, UK): “报告题目待定”; Prof. Jiming Wang (SINOPEC, China): “Petrochemical Technology of China in New Century”; Prof. Kurt Wüthrich (Nobel Laureate, ETH, Switzerland): “The NMR View of Proteins From Structural Biology to Structural Genomics”。

各分组还将邀请了本领域的著名化学家作邀请报告(详见会议网页)。

会议语言为英文, 将编纂摘要文集。与会者将安排为口讲和墙报展讲。IUPAC 将评选优秀墙报, 并发给证书及奖品。

征文要求: 凡应征论文应具有创新性, 已发表论文不在征集范围内。论文应提供本单位允许发表的推荐信; 应提供中文全文和英文摘要各一份。摘要规格为 A4 复印纸一页, 版式为上下各空 3 cm, 左右各空 2.5 cm。用 Word 软件录入, 用激光打印输出。摘要内容应包括: 文题(Arial 字体三号加黑居中)、作者(Arial 四号居中)、作者单位(小四号 Times New Roman 居中, 含所在省市、邮政编码、国籍以及电子信箱地址, 请用逗号分开)、关键词(自版芯左起)和主要参考文献(自版芯左起, 并在正文中引用的相应位置用 [] 在右上角标出编号)。摘要正文为五号 Times New Roman, 可以安排主要论据的图、表和照片(图题、表体及其注释字号均与正文相同)。应征者需向会议提供电子版文件, 可用 Email 邮件, 也可提供软盘, 应征论文者应同时在会议网页上注册本人信息, 报名并将论文上传。应征稿件一般不退, 请自留底稿。征文截止期: 2005 年 4 月 1 日。报名表格可在网页中下载。

40th IUPAC congress 秘书处通讯处 联系人: 刘钧, 邱希白 地址: 北京中关村北一街 2 号, 邮编: 100080

电话: 010-62568157, 62564020 传真: 010-62568157 E-mail: oeslj@iccas.ac.cn; qiuxb@iccas.ac.cn

会议网址: <http://www.iupac-congress05.org.cn>; <http://www.ecs.ac.cn/iupac2005.htm>