

凝胶色谱用微粒硅胶 NWG*

柴志宽 孙日明 庞志龙**

(中国科学院化学研究所) (天津化学试剂二厂)

摘 要

研制成功 NWG 硅胶, 粒度分别为 $3-5\mu$ 和 $5-10\mu$ 。经测试渗透极限为聚苯乙烯分子量 $4 \times 10^4-7 \times 10^6$, 分离容量 V_i/V_0 不低于 0.6, 柱效在 1×10^4 塔板/米以上。可在 10 分钟内作分子量 $100-3 \times 10^6$ 样品的全分离。硅胶在不同流速下的行为符合物料平衡方程理论的预见。

在前文^[1]我们已报道了凝胶色谱用多孔硅胶 NDG 的研制, 本文报道凝胶色谱用微粒硅胶 NWG 的制备和色谱性能。

NWG 的 制 备

关于微粒硅胶制备, 主要有两种方法^[2,3]。根据 Kirkland 的报道^[4]发展起来的 PSM 微粒胶具有非常优越的高效凝胶色谱性能。我们的制备参照文献[3], 但采用了粗粒度硅胶的扩孔方法, 所得凝胶标定曲线的线性较好。现举例作简略介绍。

1. 粒子大小与分布的控制

例 1. 200 毫升硅溶胶(青岛海洋化工厂出品, 二氧化硅胶粒直径 $20-40\mu$, 硅溶胶比重 1.1579 克/毫升), 用 1500 毫升水稀释。将溶有 60 克脲素(北京化工厂出品, 分析纯)的水溶液 200 毫升加入硅溶胶中。稀盐酸调节 $\text{pH} = 1.5$ 。将甲醛(北京化工三厂出品, 分析纯) 200 毫升混合于 300 毫升水中并迅速加入反应液, 快速搅拌。出现白色混浊后, 静置一夜, 用水反复洗涤数次, 80°C 烘干。于 700°C 焙烧二小时, 得到粒径 3μ 的多孔硅胶微粒。

例 2. 50 毫升硅溶胶用 250 毫升水稀释, 加入 100 毫升溶含有 7.5 克脲素的水溶液, 调节 $\text{pH} = 1.5$ 。加入甲醛水溶液(25 毫升甲醛 + 150 毫升水)。50 分钟后反应液混浊, 放置一夜, 得 $4-5\mu$ 分散粒子。稀释至 3000 毫升, 加入硅溶胶 150 毫升, 脲素 22.5 克, 调节 $\text{pH} = 1.5$ 。再加入甲醛 75 毫升, 不停搅拌。一小时后粒子长大为 $5-6\mu$ 。第三天再重复操作, 得到 $7-10\mu$ 粒子。此例着重说明原先形成的微粒可以成为第二次反应中脲醛聚合物和二氧化硅胶粒凝聚堆积的中心。因此控制最初生成的凝聚中心是最终微粒硅胶粒径大小的关键。

* 1979 年 3 月 7 日收到。

** 常青、刘佳云、赵合利、路风琴参加部分工作。

2. 孔径大小和分布的控制

例 3. 用例 1 得到的微粒硅胶 100 克, 掺入 15 克 NaCl、22.5 克 $\text{LiCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 和 150 毫升水的溶液, 120°C 烘干, 560°C 焙烧二小时, 洗净、烘干。表面处理测试凝胶色谱标定曲线, 为渗透极限在聚苯乙烯分子量 5×10^6 的大孔径硅胶。而原始硅胶渗透极限为 4×10^4 , 是小孔径硅胶。控制盐的配方和焙烧条件可得到不同孔径的硅胶。

例 4. 用例 1 得到的硅胶 100 克, 置入高压釜中, 加入 200 毫升水。加热, 使压力保持在 80—100 公斤/厘米² 四小时。冷却后硅胶经洗涤、烘干、表面处理, 经凝胶色谱测试为渗透极限 1×10^6 扩孔硅胶。控制热处理的压力可得到各种孔径的硅胶。

例 5. 将 300 毫升硅溶胶和 150 毫升水混合, 用氨水调节 $\text{pH} = 12$, 置入高压釜中。加热, 压力恒定 30—40 公斤/厘米² 维持 6 小时。将此硅溶胶作原料, 用例 1 的反应, 即可得到渗透极限在 1×10^6 的大孔径硅胶。控制热处理的压力可得到各种孔径硅胶。

NWG 的色谱性能

1. 装柱方法

微粒硅胶装柱问题文献已介绍^[5]。我们采用的是浆法。装柱泵为 12J 型单柱塞泵(河北化工学院化工机械厂出品), 用碳纤维增强的聚四氟乙烯作垫圈^[6], 最大压力到 500 公斤/厘米² 以上。柱子和预柱用二通接头联接。硅胶用四氢呋喃浸泡并经超声波分散成乳液状。倒入柱系统。四氢呋喃作为介质以 12 毫升/分泵打 30 分钟。可用液体石蜡或它与四氢呋喃的混合液作为介质装柱, 但必须用四氢呋喃长时间洗涤以获得稳定的柱结构。15 厘米的柱子, 装柱压力在 200 公斤/厘米² 左右。我们发现, 柱子的阻力大、柱压高并不是高柱效的必要条件。由图 1 和图 2 可知柱 3 和柱 6 的压力都比较低, 但是柱效却比较高。因此我们认为, 柱子在液流下柱压尽可能的低但却保持稳定的高柱效具有最好的柱

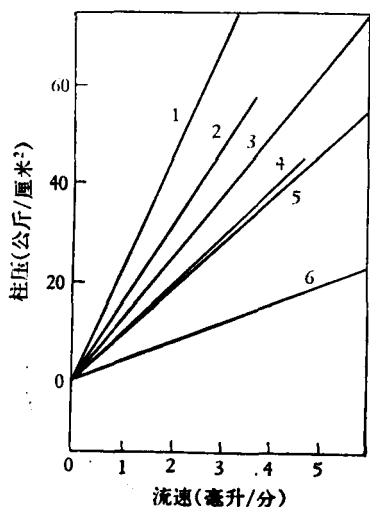


图 1 柱压—流速关系

1、3、5 柱为 15 厘米 \times 8.4 毫米; 2、4、6 柱为 15 厘米 \times 10 毫米, 4 柱的凝胶粒径 $5-10\mu$, 余 $3-5\mu$ 。

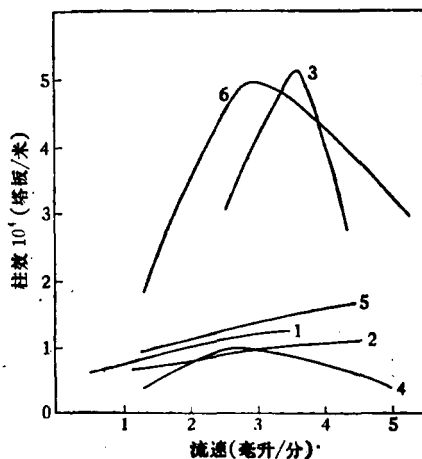


图 2 柱效—流速关系
(柱条件见图 1)

结构,这是最好的装柱方法。从减小仪器损耗的实用角度来看,本文介绍的装柱方法可以获得 3×10^4 塔板/米以上稳定的高柱效,而柱压在每米 100 公斤/厘米²以下,因此是简便、实用的方法。

所有数据均用自制的 SN-03 型高效凝胶渗透色谱仪测试。

2. NWG 的色谱指标

表 1 和图 3 反映了 NWG 硅胶的主要色谱性能。柱效按下式计算

$$N = 5.54 \left(\frac{\hat{V}_c}{W_{1/2}} \right)^2 / y$$

式中 \hat{V}_c 为以峰尖值表示的淋出体积, $W_{1/2}$ 为半高宽。 y 为柱长。

表 1 NWG-L 的凝胶色谱数据*

硅 胶	渗透极限聚苯乙烯分子量	分离范围聚苯乙烯分子量	分离容量 V_i/V_0	柱 效 (塔板/米)	柱效测试条件(甲苯)
NWG-1L	4×10^4	$500-4 \times 10^4$	0.71	16000	2.8 毫升/分, 8.4 毫米
NWG-2L	1×10^5	$2 \times 10^3-1 \times 10^5$	0.67	22000	2.5 毫升/分, 10 毫米
NWG-3L	1×10^6	$5 \times 10^3-1 \times 10^6$	0.69	37000	3.5 毫升/分, 10 毫米
NWG-4L	7×10^6	$8 \times 10^4-7 \times 10^6$	—	11000	2.8 毫升/分, 8.4 毫米

* L 系表面六甲基二硅氮烷处理

由物料平衡方程理论^[7]可知理论塔板高度的公式应为

$$HETP = \frac{y \overline{\Delta r^2}}{\bar{i}^2} = 4\lambda R + \frac{2D_m}{v_m} + \frac{2}{3} \frac{\sigma_A b^3 K v_m}{D_s (1 + \sigma_A b K)^2}$$

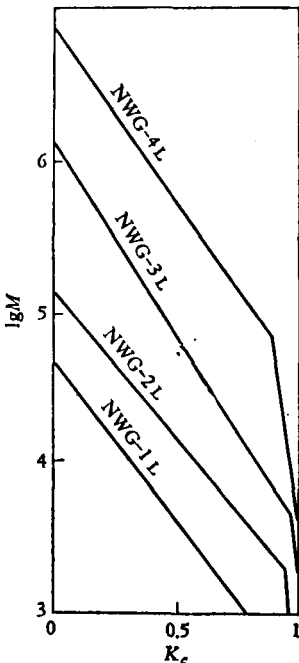


图 3 NWG-L 的标定曲线

式中 $\overline{\Delta r^2}$ 为色谱峰的方差, \bar{i} 为色谱峰的一次矩, λ 为表征装柱效率的参数, R 为凝胶球半径, D_m 是样品在流动相中扩散系数, v_m 是液流在流动相中流速, σ_A 为单位流动相体积内两相界面的面积, b 为试样分子在小孔中扩散深度, K 是两相界面处分配系数, D_s 是样品在固定相中扩散系数。在测定柱效时,决定 HETP 的主要是第一项涡流扩散项。假定装柱效率最高时 $\lambda = 1$, 就得到理论上不同大小粒子可能达到的最低 HETP_{m.l.} 或最高柱效 N_{m.h.}。

$$HETP_{m.l.} = 2D_p$$

$$N_{m.h.} = 1/HETP_{m.l.}$$

上式中 D_p 为粒子直径。表 2 列出了各类凝胶实际所达到的最高柱效。可以看出,随着粒度分布的均一和装柱方法改进,可以进一步提高柱效率。

为使凝胶有较大的分离容量,必须提高凝胶的孔度 ϕ 。这是因为在装填了硅胶的柱子中总体积 V_T 由三部分构成

$$V_T = V_0 + V_i + V_s$$

表 2 各类凝胶的理论和实际柱效

粒径 (μ)	HETP _{m.l.} (μ)	理论 $N_{m.h.}$ (塔板/米)	实际 $N_{m.h.}^*$ (塔板/米)	$N_{m.h.}^*/N_{m.h.}$	凝 胶
100	200	5000	1000	0.20	Porasil (75—125 μ) ^[8]
90	180	5600	2800	0.50	NDG (76—98 μ) ^[11]
60	120	8300	3400	0.41	Styragel (37—74 μ) ^[9]
40	80	13000	4800	0.37	EM-Gel OR-PVA(20—55 μ) ^[10]
10	20	50000	32000	0.64	Shodex (10 μ), TSKgel (8—10 μ) ^[12]
6	12	83000	55000	0.66	PSM (6 \pm 1.5 μ) ^[4]
4	8	130000	52000	0.40	NWG (3—5 μ)

式中 V_0 为凝胶的粒间隙体积, V_i 为凝胶的孔内体积, V_s 为凝胶的骨架体积。有意义的是: $\frac{V_i}{V_T} = \psi \left(1 - \frac{V_0}{V_T}\right)$, 对紧密堆积时的 $\frac{V_0}{V_T}$ 值有不少讨论^[11-13], 我们取 $\frac{V_0}{V_T} = 0.364$, 故 $\frac{V_i}{V_T} = 0.636\psi$, 常用 $\frac{V_i}{V_0}$ 来表征凝胶的分离容量, $\frac{V_i}{V_0} = 1.75\psi$, NDG 硅胶由于 ψ 保持在 0.6 以上, 故 $\frac{V_i}{V_0}$ 值在 1 以上。对于 NWG 硅胶, $\frac{V_i}{V_0}$ 一般在 0.7 左右, 表示胶的孔度较小。

选用 3—5 μ NWG-3L 硅胶装柱, 对聚苯乙烯混合标样作了分离实验, 见图 4。NWG 可在 10 分钟内作分子量 100—3 \times 10⁶ 样品的全分离。

3. 不同流速下的行为

应用上述柱子, 测定 \hat{V}_d 和方差 σ^2 观察其不同流速下的色谱行为, 所得结果见图 5 和图 6。其中方差的计算公式是

$$\sigma^2 = (W_{1/2})^2/5.54$$

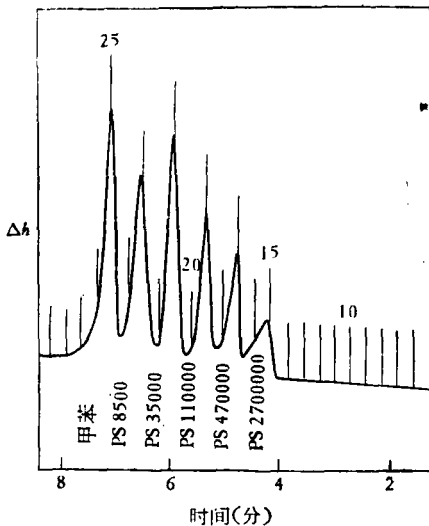
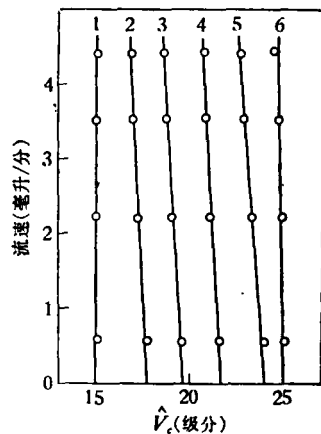


图 4 聚苯乙烯标样的分离

柱条件: 30 厘米 \times 10 毫米; NWG-3L, 3—5 μ ; 流速 2.2 毫升/分; 柱压 27 公斤/厘米²

图 5 \hat{V}_d 对流速的依赖性

1. PS2700000; 2. PS470000; 3. PS110000;
4. PS35000; 5. PS8500; 6. 甲苯。

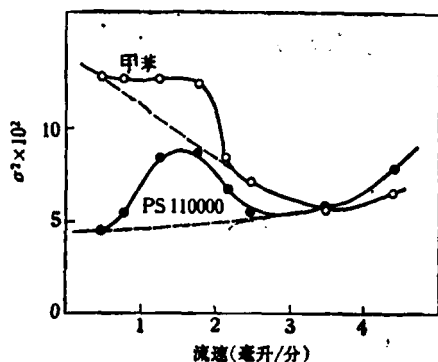


图6 色谱峰方差 σ^2 对流速的依赖性

可以看到对于部分渗透的高分子, σ^2 有较大的流速依赖性, 在较低的流速下尽管甲苯峰的方差较大, 但高分子峰的方差减小, 暗示在较低的流速 F 对于高分子会有较好的分离。物料平衡方程理论^[7] 已有很好的说明。图6在流速1—2毫升/分时和理论虚线有些出入, 不论是对高分子或甲苯色谱峰的方差都有较大的增加, 可能是示差折光计总死体积较大所致。Kirkland应用紫外检测器没有观察到这样的现象^[4]。

致谢: 黄寿令、贾贵玉同志将研制的 SN-03 型高效凝胶色谱仪提供测试使用, 贾贵玉同志还协助改装了柱塞泵。作者谨向他们表示感谢。

参 考 文 献

- [1] 柴志宽、陈一泓、蒋文辉、施良和, 化学通报, 1978, 276.
- [2] Unger, K., Schick-Kalb, J., *J. Chromatog.*, 83, 5(1973).
- [3] Iler, R. K., McQueston, H. J., *U. S. Pat.*, 3855172(1974).
- [4] Kirkland, J. J., *J. Chromatog.*, 125, 231(1976).
- [5] Majors, R. E., *J. Chromatog. Sci.*, 15, 334(1977).
- [6] 中国科学院化学研究所凝胶色谱仪试制组, 化学通报, 1976, 332.
- [7] 柴志宽, 高分子通讯, 1978, 65.
- [8] DeVries, A., et al., *Anal. Chem.*, 39, 935(1967).
- [9] Dark, W. A., Limpert, R. J., *J. Chromatog. Sci.*, 11, 114(1973).
- [10] Heitz, W., et al., *J. Chromatog. Sci.*, 9, 521(1971).
- [11] 复旦大学化学系, 中国科学院吉林应用化学所, 未发表资料.
- [12] Ouano, A. C., Barker, J. A., *Separation Sci.*, 8, 673(1973).
- [13] Unger, K., et al., *J. Chromatog.* 99, 435(1974).

NWG — A POROUS SILICA MICROSPHERE PACKING FOR HIGH-PERFORMANCE GPC

Chai Zhikuan

(Institute of Chemistry, Academia Sinica)

Sun Yueming and Pang Zhilong

(Second Chemical Reagent Works of Tianjin)

ABSTRACT

A porous silica microsphere packing, NWG, having particle sizes of 3—5 μ and 5—10 μ for high-performance GPC was prepared by a refined method. The molecular weight permeation limit of this packing for polystyrene was found to be 4×10^4 to 7×10^6 . Its separation capacity is not less than 0.6, and the column efficiency is higher than 1×10^4 plates/m. Experimental results showed that it is possible to separate 100— 3×10^6 MW samples in 10 minutes on a 30 cm \times 10 mm column. The behavior of NWG under different flow velocities is in accord with the expectation of the material balance equation theory of GPC.