

(19) 中华人民共和国国家知识产权局



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101806787 B

(45) 授权公告日 2012.01.04

(21) 申请号 201010140721.4

报》. 2000, 第 21 卷 (第 12 期), 1852–1854.

(22) 申请日 2010.04.02

审查员 陈永晖

(73) 专利权人 北京化工大学

地址 100029 北京市北三环东路 15 号

(72) 发明人 杨俊佼 孙文静

(74) 专利代理机构 北京思海天达知识产权代理

有限公司 11203

代理人 何俊玲

(51) Int. Cl.

G01N 30/56 (2006.01)

G01N 30/60 (2006.01)

(56) 对比文件

US 2003/0150811 A1, 2003.08.14, 1–40.

CN 101406827 A, 2009.04.15, 1–12.

CN 1831526 A, 2006.09.13, 1–11.

杨俊佼, 左育民. PICA 法制备用于高效液相色谱的锆胶基质柱填料. 《高等学校化学学

权利要求书 1 页 说明书 3 页 附图 2 页

(54) 发明名称

一种耐碱性高效液相色谱整体柱及其制备方法

(57) 摘要

本发明涉及一种耐碱性的高效液相色谱整体柱填料及其制备方法, 该整体柱填料是以锆盐、弱碱等为主要原料, 用凝胶法合成的孔径分布均匀的二氧化锆基质整体柱填料。该整体柱具有柱效高、分析速度快、机械强度高等硅胶整体柱的优点, 同时又能够适应更宽的 pH 值范围, 弥补硅胶整体柱在极端 pH 值 (即 pH < 2 及 pH > 8) 下化学性质不稳定及对碱性化合物尤其是对生物样品的吸附能力差的不足。该整体柱的应用将使色谱分离的领域得到更广泛拓展。

1. 一种耐碱性高效液相色谱整体柱的制备方法, 具体步骤如下:

A. 首先将 $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$ 配成 30 ~ 50% 浓度的水溶液, 加入制孔剂、乳化剂以及稳定分散剂, 并搅拌均匀; 其中制孔剂与氧氯化锆质量比为 0.2 ~ 0.4 : 1, 乳化剂与氧氯化锆的质量比为: 0.01 ~ 0.03 : 1, 稳定分散剂的加入量与氧氯化锆的比例为 3 滴 / 9g、4 滴 / 12g 或 4 滴 / 13g;

所述的制孔剂是分子量为 5000~20000 的聚乙二醇, 所述的乳化剂是吐温 20 或吐温 80; 所述的稳定分散剂是分析纯乙酰丙酮;

B. 保持上述溶液在 15 ~ 80°C, 逐滴加入氨水, 至 pH 值为 1.2 ~ 1.5, 得到蛋清状氧化锆水溶胶, 在冰水浴中加入六次甲基四胺的饱和水溶液, 使水溶胶的 pH 值达到 2.5 ~ 3.5, 将该溶胶注入成型管中, 将上述成型管于 60 ~ 80°C 加热、陈化 20 ~ 28 小时, 使氧化锆水溶胶变成凝胶, 取出成型管, 用氨水淋洗 3 ~ 5 次, 在 30 ~ 40°C 温度下干燥 22 ~ 28 小时, 于 120 ~ 150°C 温度持续加热交联 0.5 ~ 2 小时, 将柱体从管中完整取出, 放入马弗炉中以 10~15°C / min 升温速率升温至 500~600°C, 焙烧 2~4 小时, 即得到氧化锆整体柱。

2. 根据权利要求 1 所述的耐碱性高效液相色谱整体柱的制备方法, 其特征是步骤 B 所述成型管尺寸根据所用色谱柱规格确定。

3. 根据权利要求 1 所述的耐碱性高效液相色谱整体柱的制备方法, 其特征是步骤 B 所述成型管是长 9 ~ 12cm、直径 6 ~ 10mm 且一端封闭的管。

4. 一种由权利要求 1 所述的方法制备的耐碱性高效液相色谱整体柱, 该色谱整体柱由 ZrO_2 组成, 其尺寸根据所用色谱柱规格确定。

5. 根据权利要求 4 所述的耐碱性高效液相色谱整体柱, 其特征是该色谱整体柱为长 9 ~ 12cm、直径 6 ~ 10mm 的 ZrO_2 柱。

一种耐碱性高效液相色谱整体柱及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种高效液相色谱 (HPLC) 填料的制备方法, 具体是用氧氯化锆制备氧化锆整体柱的方法。

背景技术

[0002] 目前药物学、生物医学、生物化学和环境科学分析中约 80% 的分离是通过高效液相色谱实现的, 这种技术不仅满足了不同组分混合物的分离和制备, 而且提供了同时定性和定量分析。色谱柱填料的性能直接影响分析精度及准确率, 是此方法的瓶颈技术。在 HPLC 的发展过程中始终伴随着高效液相色谱填料的不断改进和发展, 研究新型 HPLC 柱填料具有重要的理论和实际意义。

[0003] 硅胶作为柱填料具有机械强度高、多变的孔径及其优良的化学表面改性特征, 使之在高效液相色谱中独树一帜, 占据目前 HPLC 分离介质中的 80% 以上。硅胶本身的化学稳定性差, 当 pH 值大于 8 时, 二氧化硅受碱性物质攻击而溶解, 而 pH 值小于 2 时, 连接在硅胶表面的硅氧烷链发生水解而失去分离性能, 而且硅胶对碱性化合物易发生不可逆吸附等缺陷, 使其应用范围受到很大限制。

[0004] 二氧化锆以其优良的化学稳定性、热稳定性和高机械强度, 近年来受到了广泛关注, 关于二氧化锆柱填料的研究越来越多。油乳化法或者聚合诱导胶体凝聚法是制备的微米级、球形多孔二氧化锆基质填料的常规方法, 虽制备操作条件简单, 但微球二氧化锆填料装填的色谱柱的柱效比较低, 使用受到很大限制。整体柱具有制备方法简单、内部结构均匀、通透性能好、柱效高等优点, 不但实现了快速分离, 而且能够进行流速梯度操作, 有人将其誉为第四代色谱填料。二氧化锆整体柱既具有硅胶整体柱的色谱分离优点, 又具有优良的化学和机械稳定性, 使整体柱在色谱分离中的应用领域得到拓展。

发明内容

[0005] 本发明的目的是提供一种氧化锆整体柱及其制备方法, 该氧化锆整体柱具有硅胶整体柱的优点: 制备方法简单、内部结构均匀、重现性好、具有较高的柱效和可进行快速分离等, 同时较之硅胶整体柱能适应更宽的 pH 范围。

[0006] 本发明所述氧化锆整体柱的制备方法是:

[0007] A. 首先将 $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$ 配成 30 ~ 50% 浓度的水溶液, 加入制孔剂、乳化剂以及稳定分散剂, 并搅拌均匀; 其中制孔剂与氧氯化锆质量比为 0.2 ~ 0.4 : 1, 乳化剂与氧氯化锆的质量比为: 0.01 ~ 0.03 : 1, 稳定分散剂的加入量与氧氯化锆质量比为 0.1 ~ 5 : 1;

[0008] 所述的制孔剂是分子量为 5000~20000 的聚乙二醇, 所述的乳化剂是吐温 20 或吐温 80; 所述的稳定分散剂是分析纯乙酰丙酮;

[0009] B. 保持上述溶液在 15 ~ 80°C, 逐滴加入氨水, 至 pH 值为 1.2 ~ 1.5, 得到蛋清状氧化锆水溶胶, 在冰水浴中加入六次甲基四胺的饱和水溶液, 使水溶胶的 pH 值达到 2.5 ~ 3.5, 将该溶胶注入成型管中, 将上述成型管于 60 ~ 80°C 加热、陈化 20 ~ 28 小时, 使氧化锆

水溶胶变成凝胶，取出成型管，用氨水淋洗 3~5 次，在 30~40℃ 温度下干燥 22~28 小时，于 120~150℃ 温度持续加热交联 0.5~2 小时，将柱体从管中完整取出，放入马弗炉中以 10~15℃/min 升温速率升温至 500~600℃，焙烧 2~4 小时，即得到氧化锆整体柱。

[0010] 步骤 B 所述成型管尺寸根据所用色谱柱规格确定，其为长 9~12cm、直径 6~10mm 且一端封闭的管。

[0011] 用扫描电子显微镜表征氧化锆整体柱的整体形貌和内部孔结构特性，结果见图 1~4，由图 2~4 看出，整体柱具有均匀的孔结构。

[0012] 用上述方法制备的耐碱性高效液相色谱整体柱，是由 ZrO₂ 组成，其为长 9~12cm、直径 6~10mm。该氧化锆液相色谱柱在 pH = 1~14 范围内性能稳定；且具有耐碱性强，机械强度高和热稳定性好等性能。

[0013] 本发明的有益效果是：(1) 采用 ZrOCl₂ 为原料的 ZrO₂ 基质整体柱填料具有优良的化学稳定性和机械强度。ZrO₂ 在 pH = 1~14 范围内性能稳定，不仅有利于改善碱性物质的色谱分离，还使那些在酸性、中性条件下无法进行的分析成为可能。高 pH (pH > 11) 可以抑制胺类化合物的质子化，低 pH (pH < 2) 则可抑制酸性溶质的电离，因此可以期望进行极端 pH 条件下的色谱分析。ZrO₂ 的 pH 稳定性使其可以用强碱冲洗被污染的柱子，使色谱柱再生，色谱柱的再生在生物大分子的分离分析及在制备、生产规模的分离中非常重要。(2) 热稳定性好。快速分离分析是目前色谱发展的一个新热点。ZrO₂ 有极高的热稳定性，对高温、快速分析非常有利。同时可用纯水作流动相，成为无公害的分析方法，被称为“greener mobile-phasesystem”。(3) 生物适应性强。ZrO₂ 的弱酸性或弱碱性表面使它适用于蛋白质、多肽、核苷、单克隆抗体等生物大分子的色谱纯化、分离、分析。(4) 多种分离模式选择。ZrO₂ 表面存在阴离子交换、阳离子交换和配体交换作用位点，ZrO₂ 可不加修饰直接作为色谱固定相用于不同类型化合物的色谱分离。由于其独特的优点并具有与硅胶的互补性，ZrO₂ 在许多应用领域尤其是在生化分离分析方面呈现出很好的应用前景。

附图说明

[0014] 图 1 是氧化锆整体柱的整体形貌照片，

[0015] 图 2 是实施例 1 的氧化锆整体柱在不同放大倍率下内部孔结构的扫描电镜照片。

[0016] 图 3 是实施例 2 的氧化锆整体柱在不同放大倍率下内部孔结构的扫描电镜照片。

[0017] 图 4 是实施例 3 的氧化锆整体柱在不同放大倍率下内部孔结构的扫描电镜照片。

具体实施方式

[0018] 实施例 1

[0019] 在 100mL 三口瓶中称 9g 氧氯化锆溶于 10mL 蒸馏水中，加入 2.5g 聚乙二醇 (M = 10000)，加入 5 滴吐温 20，并加入 3 滴乙酰丙酮，在室温 25℃ 下充分搅拌；搅拌均匀后，边搅拌边滴加氨水（分析纯）使溶液的 pH 值达 1.2，此时得到氧化锆水溶胶；称 2g 六次甲基四铵溶于 4mL 水中，在冰水浴 (0℃) 中边搅拌边滴加入氧化锆水溶胶中，使溶胶 pH = 3.0；将溶胶倒在 11cm 长，直径 8mm 一头封闭的塑料成型管中，放入超声波中震荡 10min，释放其中所含气泡，将其放入 80℃ 水浴锅中陈化 24h，待氧化锆水溶胶变成凝胶后，取出并用氨水淋洗 3 次，放进鼓风干燥箱中干燥 40℃ 下干燥 24h，再将干燥箱升温至 120℃，持续加热交联 1

小时。将柱体从管中完整取出,放入马弗炉中以 10°C /min 升温速率升温至 600°C, 焙烧 4 小时得到氧化锆整体柱填料。

[0020] 实施例 2

[0021] 在 200mL 三口瓶中称 12g 氧氯化锆溶于 15mL 蒸馏水中,加入 3.5g 聚乙二醇 ($M = 10000$),加入 5 滴吐温 80,并加入 4 滴乙酰丙酮,用 75°C 水浴锅加热并充分搅拌;搅拌均匀后,边搅拌边滴加氨水使溶液的 pH 值将近达 1.5,此时得到氧化锆水溶胶,冷却;称 3g 六次甲基四铵溶于 6mL 水中,在冰水浴中边搅拌边滴加入氧化锆水溶胶中,使溶胶 pH = 3.5;将溶胶倒在 11cm 长,直径 8mm 一头封闭的塑料管中,放入超声波中震荡 10min,击碎里面气泡,将其放入 70°C 水浴锅中陈化 26h,待氧化锆水溶胶变成凝胶后,取出成型管,用氨水淋洗 3 次,放进鼓风干燥箱中干燥 28h,温度设置为 35°C;将干燥箱升温至 150°C,持续加热交联 45 分钟。将柱体从管中完整取出,放入马弗炉中以 10°C /min 升温速率升温至 500°C, 焙烧 4 小时得到氧化锆整体柱填料。

[0022] 实施例 3

[0023] 在 200mL 三口瓶中称 13g 氧氯化锆溶于 18mL 蒸馏水中,加入 4.0g 聚乙二醇 ($M = 5000$),加入 5 滴吐温 80,并加入 4 滴乙酰丙酮,用 45°C 水浴锅加热并充分搅拌;搅拌均匀后,边搅拌边滴加氨水使溶液的 pH 值将近达 1.5,此时得到氧化锆水溶胶,冷却;称 3.5g 六次甲基四铵溶于 8mL 水中,在冰水浴中边搅拌边滴加入氧化锆水溶胶中,使溶胶 pH = 3.5;将溶胶倒在 11cm 长,直径 8mm 一头封闭的塑料管中,放入超声波中震荡 10min,击碎里面气泡,将其放入 65°C 水浴锅中陈化 28h,待氧化锆水溶胶变成凝胶后,取出成型管,用氨水淋洗 3 次,放进鼓风干燥箱中干燥 28h,温度设置为 30°C;将干燥箱升温至 130°C,持续加热交联 1 小时。将柱体从管中完整取出,放入马弗炉中以 15°C /min 升温速率升温至 600°C, 焙烧 2 小时得到氧化锆整体柱填料。

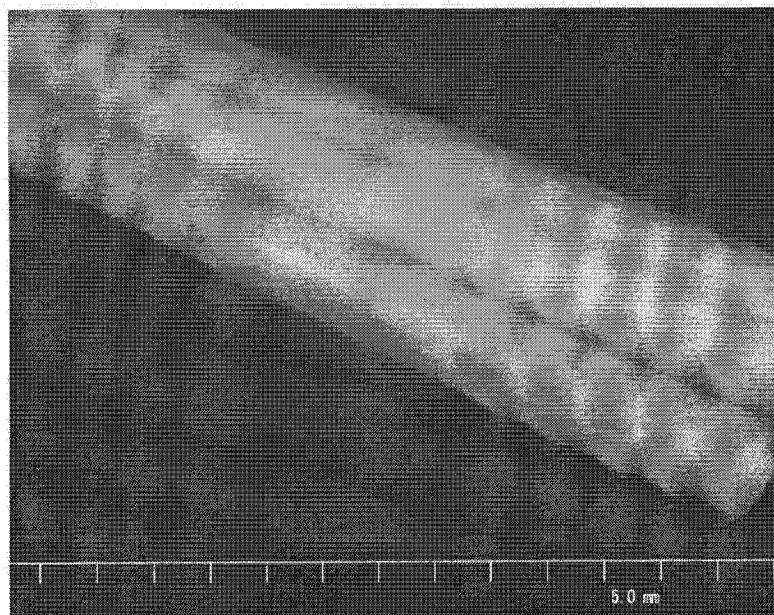


图 1

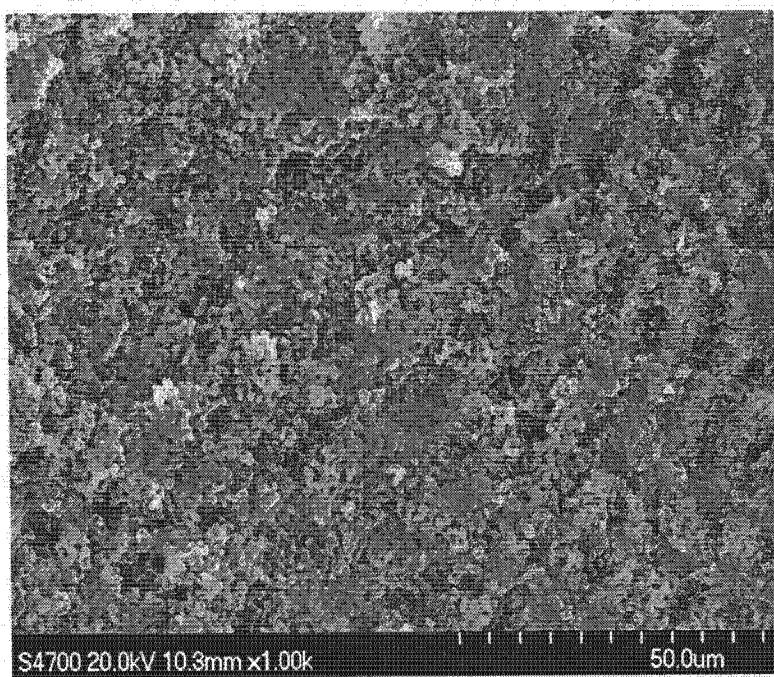


图 2

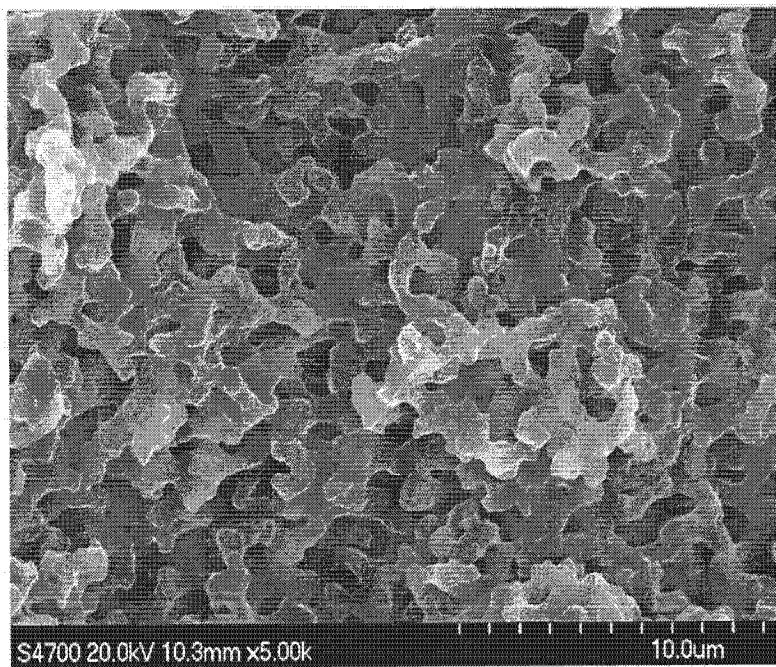


图 3

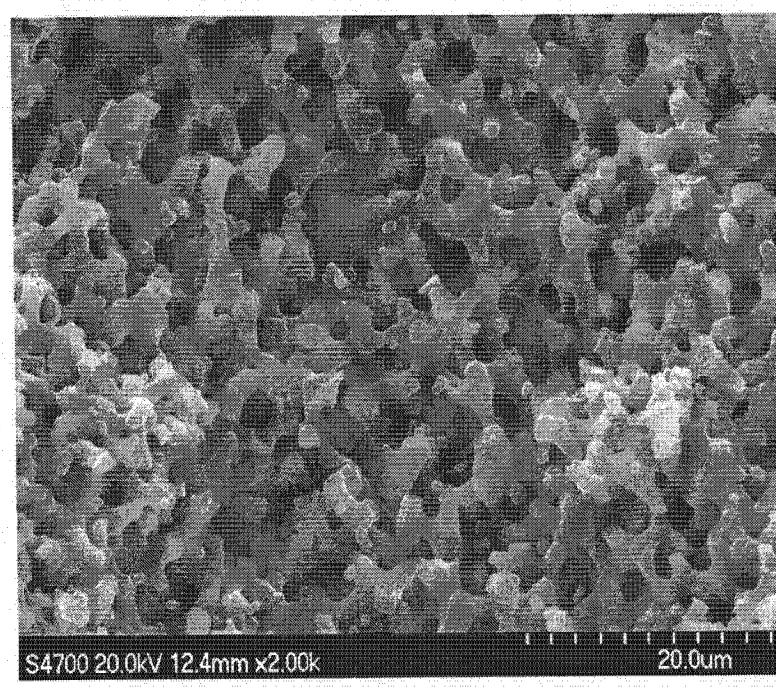


图 4