

# 二氧化锆基质高效液相色谱柱 填料研究进展及应用前景

王 晖<sup>1</sup>, 郭云峰<sup>2</sup>, 左育民<sup>1</sup>

(1. 南开大学化学系, 天津 300071; 2. 天津市土壤肥料工作站)

**摘要:** 综述了近几年来二氧化锆固定相的研究进展及在环境、无公害食品中的应用前景, 指出: 二氧化锆及改性二氧化锆基质填料是很有发展前途的高效液相色谱 (HPLC) 填料, 此类填料既保留了硅胶基质固定相和有机聚合物固定相的优点, 又克服了它们各自的缺陷。在环境监测方面如测定土壤、植物中农药残留量、多环芳烃等致癌物以及在生化药品制备及检测方面, 尤其是在强碱性化合物测定上具有极大的优势。

**关键词:** 二氧化锆; 色谱柱填料; 无公害食品

中国分类号: O652. 63

文献标识码: A

文章编号: 1000 - 0267(2001)05 -

## Advance and Application of Packing Materials of Zirconium Dioxide as Matrix in High Performance Liquid Chromatography

WANG Hui<sup>1</sup>, GUO Yun-feng<sup>2</sup> and ZUO Yu-min<sup>1</sup>

(1. Chemistry Department of Nankai University, Tianjin 300071; 2. Tianjin Soil and Fertilizer Working Station)

**Abstract:** The present paper reviews foreground and application of zirconium dioxide as packing materials in high performance liquid chromatography in environmental monitoring works and surveillance of non - polluted food development. The packing materials are characterized by remaining advantages of silica gel and organic polymers, in the meantime, overcoming disadvantages of the above materials. In prospect of future, the packing materials will be a power tool in detection of pesticide residues in soil and plants, poly - aromatic hydrocarbons in environment as well as pharmaceutics industry.

**Keywords:** zirconium dioxide, packing materials for HPLC, non - polluted foods

## 1 引言

当前在药理学、生物医学、生物化学和环境科学分析中大约 80% 的分离是通过高效液相色谱来实现的。这种技术不仅满足了不同组分混合物的分离和制备, 而且可以同时进行定性和定量分析<sup>[1, 2]</sup>。色谱柱填料的性能直接影响着高效液相色谱的分析精度及准确率。目前应用的高效液相色谱柱填料主要有两种: 一类是键合硅胶, 另一类是有机聚合物。硅胶基质固定相的代表——碳十八键合硅胶固定相 (ODS) 是反相液相色谱中使用最多和应用最广的一个, 各种商业品牌的 ODS 固定相高达 200 多种<sup>[3]</sup>。但硅胶基质本身的缺陷却很难彻底改变, 特别是碱性条件下硅胶基质溶解<sup>[4, 5]</sup>, 限制了它在药物分析、生命科学和环境科学等领域中的应用。有机聚合材料虽然可在全 pH 值范围使用, 但其机械强度与柱效均不如硅胶填料, 而且在不同的溶剂中溶胀程度不同, 难于进行梯度淋洗, 因此这类填料多用于低柱效、高选择性, 并伴有强酸强碱流动

相的色谱分离中。

理想的 HPLC 柱填料应有高柱效和高选择性, 应具备: (1) 表面能量均一和具有较高的表面积, 而且易改性以满足各种不同的分离要求; (2) 物理和化学性质稳定, 即耐强酸、强碱以及不溶于各种流动相溶剂; (3) 传质快, 即要求有合适的孔结构、孔容和孔径; (4) 机械强度高, 即耐压; (5) 微米级球形, 粒度分布范围窄且粒径小 (如: 3—7  $\mu\text{m}$ )。研究表明, 最有希望替代硅胶的氧化物基质是氧化铝、二氧化锆和二氧化钛, 如氧化铝和二氧化钛基质固定相可在 pH = 12 的流动相中使用, 而二氧化锆基质柱填料在 1 mol · L<sup>-1</sup> 氢氧化钠溶液中于 100 °C 下淋洗数小时都不变质<sup>[6, 7]</sup>。

## 2 二氧化锆基质柱填料应用现状

二氧化锆独自作为 HPLC 填料的研究最早始于 1979 年<sup>[8]</sup>。在低比表面积 (9 m<sup>2</sup> · g<sup>-1</sup>) 的氧化锆上吸附季铵盐以形成反相结构, 并对其 HPLC 中应用的可能性进行了初步探讨, 然而在随后几年里很少有这方面的研究报道。自 1989 年 Unger<sup>[9]</sup> 和 Carr<sup>[10]</sup> 报道了二氧化锆的 HPLC 研究以来, 人们对它表现了极大的兴趣。多孔、微球二氧化锆的制备方法以及改性二氧化

锆柱填料已有诸多报道。

## 2.1 二氧化锆填料在正相色谱中的应用

目前,制备微米、级球形和多孔二氧化锆的常用方法有两种:(1)油乳化法(OEM)和(2)聚合诱导胶体凝聚法(PICA)。Carr<sup>[11]</sup>、Unger<sup>[12]</sup>、Rassi<sup>[13]</sup>、Kawabara<sup>[14]</sup>、达世禄<sup>[15]</sup>,以及我们的研究小组<sup>[16]</sup>进行了大量的关于OEM法制备二氧化锆微球的研究。但这种方法制备多孔微球粒径范围分布宽还需进一步分级,而PICA法制备的多孔填料粒度分布窄不需分级。PICA法制备多孔二氧化锆微球现只有美国的Carr研究小组在做<sup>[17]</sup>,而且他们所用的关键原料二氧化锆水溶胶还是购自于商品材料。我们则以氧氯化锆为原料合成了粒度分布窄、浓度和pH值均能满足PICA法要求的二氧化锆水溶胶,然后用这种水溶胶制备了二氧化锆微球,并且研究了该微球的生成、烧结和处理条件。同时评价了二氧化锆微球的正相色谱行为,分离了碱性、中性和酸性化合物。无论是从Carr小组<sup>[18]</sup>还是我们小组所做的正相色谱中均可看出,二氧化锆固定相在分离碱性化合物和富电子的稠环芳烃很有效,是硅胶所无法比拟的。

## 2.2 键合型二氧化锆基质固定相

我们注意到,目前我国发表的关于HPLC应用于环境科学分析的论文中,大多使用碳十八键合二氧化硅(ODS)固定相,但由于二氧化硅的化学稳定性差及ODS表面残留硅羟基具有有为附活性而引起峰形拖尾,对碱性化合物不可逆吸附等缺陷,而二氧化锆是两性氧化物,在碱性条件下有极好的稳定性。

Wirth等制备了键合改性二氧化锆填料,在pH=13时还非常稳定<sup>[19]</sup>,Jim Yu等用ODZ柱填料<sup>[20]</sup>来分离氨基酸、多肽和蛋白质等物质。

本研究小组自制的二氧化锆基质键合固定相的化学稳定性是在极端pH值条件下测试的(pH 2.0和pH 12.0)。碳十八键合二氧化锆色谱柱用 $10\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的磷酸盐缓冲溶液在流速为 $1\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 条件下淋洗。缓冲溶液每淋洗5h后,色谱柱先用水淋洗,再用流动相平衡并检测苯、甲苯和萘的保留时间的变化,由此测定ODZ固定相的化学稳定性还是比较好的,尤其是碱性条件可达pH=12.0,使之在生命科学、环境科学和药物学中将有作为。因其良好的性能特点,在无公害食品发展中起到应有的作用。

我们在自制的ODZ柱上分离了稠环芳烃和苯的同系物等中性物质和苯胺类碱性物质,碱性化合物在ODZ色谱柱上的分离,仍得到较对称的峰形,这一点是ODS固定相所无法相比的。我们还利用自制ODZ色谱柱进行了实际样品测试,辛伐他汀是由洛伐他汀为原料合成的,美国药典规定了后者在前者中的含量不得>1%<sup>[21]</sup>,因此分析后者的含量就成为鉴定辛伐他汀质量的必要程序。本组使用碳十八键合改性二氧化锆柱填料,甲醇/水(70/30, v/v)为流动相成功地分离测定了辛伐他汀中的洛伐他汀,尽管辛伐他汀和洛伐他汀的分子量高达400,而其分子结构仅差一个甲基,它们还是很好地达到了基线分离且5次进样分析结果偏差为0.04%。

## 2.3 聚合物包覆二氧化锆基质固定相

聚合物微球柱填料早在60年代初就已用于商品化仪器中。聚合物微球和凝胶(即凝胶微球)支持物被广泛地用作各种色谱技术的填料<sup>[21]</sup>。有机聚合物柱填料与硅胶基质相比其色谱性能有如下优点:(1)柱的重现性好;(2)柱寿命长;(3)样品负载量高;(4)pH值范围宽。因此其在生命科学领域的研究很活跃。然而,多数聚合物填料有其难以克服的弱点:一是在不同的溶剂中溶胀收缩差别很大,难以进行梯度淋洗;二是其机械强度远远不如硅胶——抗压性差,长期使用会使死体积增加并产生沟流;三是在反相HPLC中常常出现峰形不对称和保留时间过长。由于这种原因时至今日有机聚合物填料的使用也不足20%。将聚合物包覆于理想的无机载体如二氧化锆,所制成的包覆型柱填料已在生命科学和环境科学领域中崭露头角,随着分子印迹聚合物包覆填料的问世,立体选择性填料对药物和立体化学研究中的手性分离大有可为。

### 2.3.1 聚合物包覆二氧化锆反相色谱

Carr研究小组报道了用聚丁二烯包覆二氧化锆(PBD-ZrO<sub>2</sub>)柱填料分离蛋白质<sup>[23,24]</sup>。他们发现聚合物包覆二氧化锆填料在碱性介质中特别稳定,即使在100℃的 $1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠水溶液中煮几个小时也无变化<sup>[25]</sup>。

本课题组用PICA法直接制备了窄粒径分布的二氧化锆微球并在此基质上进行了键合和包覆改性,做了大量工作并取得了可喜的进展。制备和评价了聚丁二烯包覆二氧化锆(PBD-ZrO<sub>2</sub>)、八碳烯-聚丁二烯包覆二氧化锆(C<sub>8</sub>-PBD-ZrO<sub>2</sub>)、十八碳烯-聚丁二烯包覆二氧化锆(C<sub>18</sub>-PBD-ZrO<sub>2</sub>)、交联聚苯乙烯包覆二氧化锆(PS-ZrO<sub>2</sub>)、交联聚八碳烯-苯乙烯包覆二氧化锆(C<sub>8</sub>-PS-ZrO<sub>2</sub>)和交联聚十八碳烯-苯乙烯包覆二氧化锆(C<sub>18</sub>-PS-ZrO<sub>2</sub>)新型固定相。此类固定相对芳烃、含胺基和羟基的化合物、多肽等的分离显示较高的选择性和柱效。

### 2.3.2 聚合物包覆二氧化锆离子色谱

McNeff报道的锆胶基质强碱离子交换固定相,其突出优点是在pH=1—13范围及100℃温度下具化学稳定性,可用于多种无机和有机阴离子的分离<sup>[26]</sup>。我们小组制备了强阳离子(HO<sub>3</sub>S-PS-ZrO<sub>2</sub>)和强阴离子新型固定相[(Me)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>-PS-ZrO<sub>2</sub>],并尝试性地用于糖、核苷、核苷酸和脱氧核苷酸的分离,收到了不错的效果。

## 3 结语

鉴于硅胶在酸碱稳定性以及聚合物固定相刚性方面存在的缺陷,近年来二氧化锆基质固定相引起了国内外色谱工作者的注意,尤其是它所表现出的优良的化学稳定性和机械强度备受人们关注,可以预言,在不久的将来,我们通过在制备方法与分离机理的进一步研究,继续提高柱效和选择性,二氧化锆达到理想的填料标准是完全有可能的。

## 参考文献:

[1] Poole C F and Poole S K. Chromatography Today, Elsevier, Amsterdam,

- [2] Namrocki J and Buszewski B. *J Chromatogr*, 1988, 449: 1.
- [3] S A B Liquid Chromatography Columns[J]. *Anal Chem*, 1986, 58: 876A.
- [4] Iler R E. *The chemistry of Silica*, Wiley – Interscience, New York, 1979.
- [5] Scott R P W. *Adv Chromatogr*, 1982, 20: 167.
- [6] Rigney M P, Funkenbush E F and Carr P W. *J Chromatogr*, 1990, 499: 291 – 304.
- [7] Rigney M P, Weber T P and Carr P W. *J Chromatogr*, 1989, 484: 273 – 291.
- [8] Ghaemi Y and Wall R A. *J Chromatogr*, 1979, 174: 51.
- [9] Unger K K and Trüdinger U. *Chem Anal*, 1989, 98: 145.
- [10] Rigney M P, Webber T P and Carr P W. *J Chromatogr*, 1989, 484: 273.
- [11] Carr P W, Funkenbush E F, Rigney M P, et al. US Pat, 5015373, 1991.
- [12] Trüdinger U, Müller G and Unger K K. *J Chromatogr*, 1990, 535: 111 – 125.
- [13] Jin Yu and Ziad El Rasssi. *J HRC*, 1994, 17: 773 – 778.
- [14] Kawahara M, Nakamura H and Nakajima T. *Anal Sci*, 1989, 5: 485 – 486.
- [15] 张庆合, 冯钰琦, 达世禄. 色谱, 1999, 17: 284 – 286.
- [16] 贾项娜, 南开大学硕士论文, 1999.
- [17] Annen M J, Kizhappali R, Carr P W et al. *J Mater Sci*, 1994, 29: 6123 – 6130.
- [18] Wang H C and Lin K L. *J Mater Sci*, 1991, 26: 2501.
- [19] Wirth H J, Eriksson K O, Holt P et al. *J Chromatoge*, 1993, 646: 129 – 141.
- [20] Jim Yu and Ziad El Rasssi. *J Chromatogr*, 1993, 631: 91 – 106.
- [21] Third Supplement, USP – NF, P: 2980.
- [22] Arshady R. *J Chromatogr*, 1991, 586: 181.
- [23] Sun L, McCormick A V and Carr P W. *J Chromatogr*, 1994, 658: 465 – 473.
- [24] Dunlap C J and Carr P W. *J Liq Chromatogr & Rel Technol*, 1996, 19: 2059 – 2076.
- [25] Rigney M P, Funkenbusch E F and Carr P W, *J Chromatogr*, 1990, 499: 291.
- [26] NeNeff C, Carr P W. *Anal Chem*, 1995, 67: 3 886 – 3 892.