

全多孔球形硅胶基质高效液相色谱填料研究进展

蒋生祥*, 刘霞

中国科学院兰州化学物理研究所, 兰州 730000

* 通讯作者, E-mail: sxjiang@lzb.ac.cn

收稿日期: 2009-06-09; 接受日期: 2009-06-23

摘要 结合本实验室的研究工作, 评述了以全多孔球形硅胶为基质的正相反相色谱填料、手性色谱填料、离子色谱填料以及核-壳型色谱填料的研究进展.

关键词

全多孔球形硅胶
液相色谱填料
色谱

1 引言

高效液相色谱(HPLC)是 20 世纪 70 年代发展起来的一项高效、新颖、快速的分析分离技术, 是广泛应用的分析手段之一, 现已成为化学化工、食品卫生、药物检测、环保监测等诸多领域中最常用的分析分离手段. 由于分离模式的不同, 可分为液固色谱、液液色谱、离子交换色谱、离子对色谱、亲和色谱、电色谱等. 而液相色谱填料则是各种 HPLC 分离模式赖以建立和发展的基础, 因此高性能的液相色谱柱填料一直是色谱研究中最丰富, 最有活力, 最富于创造性的部分.

按照基质材料的不同, 高效液相色谱填料可分为两大类: 有机基质填料和无机基质填料, 此外, 有机-无机复合物也有应用. 目前, 无机基质填料是研究和应用的主流, 无机基质材料包括硅胶、羟基磷灰石、石墨化碳、氧化铝、氧化钛以及氧化锆等金属氧化物^[1-9]. Carr 等^[10]根据理论分析和应用实践提出了理想色谱填料的概念, 根据这一概念, 硅胶因具有良好的机械强度、容易控制的孔结构和比表面积、较好的化学稳定性和热稳定性、专一的表面化学反应, 以及表面含有丰富的硅羟基易于进行化学键合或改性^[11], 成为一种理想的液相色谱填料基质. 因此,

硅胶基质成为开发最早, 研究最为深入, 应用最为广泛的 HPLC 填料基质. 但是, 硅胶基质填料在色谱应用中也存在一些问题^[10,12], Carr^[13]等针对目前色谱填料和色谱柱的现状和存在的问题, 在阐述下一代液相色谱柱的发展方向中提到了如下几个方面: (1) 色谱填料的制备必须有极高的重复性, 孔径分布窄, 有合适的孔结构和孔体积; (2) 必须提高色谱柱的耐酸碱碱性; (3) 必须提高色谱柱制备的重复性; (4) 必须改进碱性化合物的分离; (5) 必须具有高选择性等等. 在长期的色谱材料研究工作中, 人们针对这些方面开展了对硅胶基质色谱填料的研究. 结合本实验室的研究工作, 本文将对以全多孔球形硅胶为基质的正相反相色谱填料、手性色谱填料、离子色谱填料以及核-壳型色谱填料的研究进展进行评述.

2 全多孔球形硅胶基质

以硅胶为基质的现代高效液相色谱填料占 90% 以上, 绝大部分为全多孔球形基质. 全多孔球形硅胶的制备通常是按照: 反应→凝胶→老化→洗涤→浸泡→干燥→焙烧的流程进行的^[14]. 根据硅胶制备的不同技术原理, 可将制备方法分为四类: 堆砌硅珠法^[15], 两相法^[16], 喷雾干燥法^[17]和生物囊法^[18]. 由于堆砌硅珠法设备简单, 操作方便, 原理清楚, 技术要

求不苛刻,许多研究工作均采用该方法。以堆砌硅珠法生产的硅胶的典型代表是Agilent公司生产并销售的Zorbax硅胶。其原理是:在含有一定粒径(如几至十几纳米)硅微球的硅溶胶中,加入尿素与甲醛,令两者发生缩合反应,生成尿醛树脂,并与硅球一起凝聚,成为树脂与硅微球的复合球。收集这种复合球,加热煅烧令有机树脂分解并逸去,而硅球则存留下来,即得到多孔球形硅胶。其生产流程^[15]如图1所示。

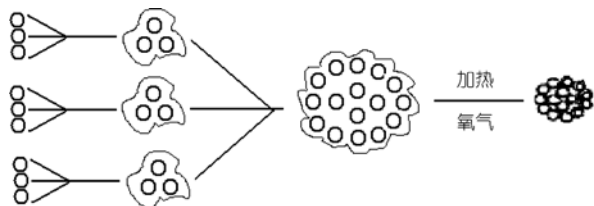


图1 堆砌硅珠法生产硅胶的流程^[15]

经过多年的发展,现代液相色谱填料和色谱柱技术已经成熟。在长期的发展和激烈的竞争中,一些国外知名的色谱填料和色谱柱的生产厂家及供应商,逐渐形成了各自的特色,其产品也成为国内市场主流^[19]。在国内,色谱工作者也对高纯多孔球形硅胶基质进行了大量研究工作,并获得了重要进展^[20-22],但由于诸多因素,大多数研究工作还处在研究阶段或产业化前期,高性能的全多孔球形硅胶基质仍需要进口。中国科学院兰州化学物理研究所多年来一直在坚持研究高性能的高纯全多孔球形硅胶基质填料和色谱柱,目前已掌握了堆砌硅珠法的核心技术,采用该方法可批量生产出高性能的多孔球形硅胶基质。1~10 μm 粒径范围内的硅胶均可获得,孔径分布为7~50 nm,比表面积为60~500 m^2/g ,纯度可达99.998%。图2出示了本所自己合成的高纯全多孔球形硅胶的电镜图。

目前,国产填料在性能和品种上与国外发达国家有较大的差距,主要体现在:(1)制备方法落后,沿用的基本上是70年代末的以硅溶胶为原料的制备方法,后来尽管有一些专利对这一技术有所改进,但停留在研究阶段,未投入实际生产;(2)填料性能欠佳,近年来,均匀粒度、均匀孔径、超纯硅质微球在国外已逐渐盛行,如:美国的Zorb公司、德国的

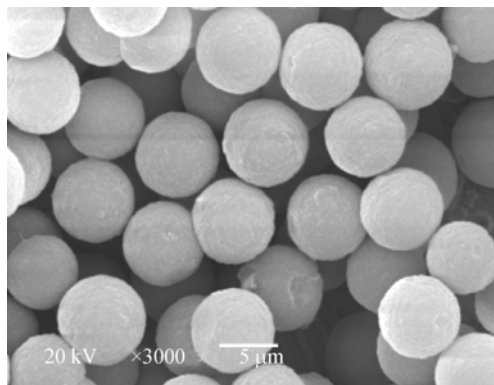


图2 硅球电镜图(3000倍)

Merck公司1997年推出的高纯硅胶微球Purospher系列填料等。近年来,随着对色谱分离速度和效率的追求以及节约流动相,一些色谱柱供应商开发了小粒径的硅胶填料,如Agilent的Zorbax RRHT柱采用粒径1.8 μm 的硅胶填料,Alltech的Alltima, Platinum, Proshphere柱均填充1.5 μm 的硅胶填料,Shimadzu的Pathfinder柱、YMC的YMC ultra-fast柱、Thermo Electron的Hypersil GOLD柱等也均采用亚2 μm 的填料。残余硅羟基效应和耐碱性差仍是高纯硅胶基质填料的两个主要缺陷,为了解决纯硅胶基质存在的两个主要缺陷^[23]以及满足超高压液相色谱(UPLC)对基质的要求,沃特斯公司开发了小粒径(1.7 μm)的杂化硅胶填料,相对于硅胶填料表现出非常优异的抗高pH腐蚀特性,明显改善了对碱性化合物时色谱峰形的对称性,耐压超过了20000 psi,应用于UPLC^[24]。小粒径硅胶基质填料应用于UPLC在分离效率、分离速度上更新了对传统HPLC的认识。今后的多孔球形硅胶填料基质将向着高纯硅胶、杂化硅胶、小粒径硅胶等方向继续发展。

3 硅胶基质正相、反相色谱填料

根据固定相和流动相之间的相对极性,可以将液相色谱分为正相色谱和反相色谱。当固定相极性大于流动相时为“正相”色谱;反之,称为“反相”色谱。

3.1 硅胶基质正相色谱填料

正相色谱包括吸附色谱和极性化学键合相色谱,两者的分离规律和应用范围有许多相似之处。优良

的正相色谱填料应当具有以下基本特性^[19]: 表面应具有极性活性基团即吸附位点, 形状最好为粒径均匀的微米级微球, 多孔并有高的比表面积, 在使用条件下有较好的化学稳定性以及高的机械强度和便宜的价格, 因此吸附色谱中最常用的填料是硅胶. 极性化学键合相系以硅胶为基质, 表面键合—NH₂, —CN, —CH(OH)CH₂OH等极性基团, 分别称为氨基、氰基、二醇基键合相填料. 正相色谱主要适用于非极性至中等极性的中小分子化合物的分离, 在石油化工、精细化工、医药、农药、环境分析等方面均有广泛的应用.

3.2 硅胶基质反相色谱填料

1970 年, Kirkland^[25]等将正十八烷基硅基键合到薄壳型硅基球的表面, 制备了高效反相填料, 经过近 40 年的发展, 反相液相色谱填料和色谱柱技术已经十分成熟. 与其他载体相比较, 由于硅胶表面上存在着足够多可反应的硅羟基, 同时硅胶载体基质具有强度高、多孔结构、表面积易于人为控制和较好的化学稳定性等优点, 因而是各种化学键合相的理想基质材料. 以硅胶为基质的反相键合相填料, 已被广泛应用于色谱工作中^[26]. 据统计资料显示, 反相色谱占到了全部色谱分离的 70%左右, 可以说反相高效液相色谱是最重要的色谱分离模式. 传统烷基硅胶键合相, 特别是C8 和C18 硅胶键合相是使用最广泛的反相色谱填料, 通常只需优化流动相组成就可实现对大多数有机化合物的分离分析^[27]. 但是在反相色谱填料制备的过程中, 由于位阻原因, 硅胶表面的硅羟基不可能全部与硅烷试剂反应, 残留的硅羟基易于脱去质子形成负离子, 能强烈地吸附阳离子, 因此在分离一些易离解化合物和碱性化合物时, 色谱峰将严重拖尾变形, 柱效下降; 同时, 单分子层有机硅烷适用的流动相pH值范围较窄, 通常在 2.0~8.0 之间, 在此区间外, 硅胶就容易水解. 封尾作用是较早采用的降低硅羟基活性的方法, 一般是在硅胶表面进行硅烷化, 引入长链烷烃后, 用含短链烷基的硅烷化试剂, 再次进行硅烷化反应, 以去掉未反应的硅羟基^[28,29]. 常用的“封尾”试剂有三甲基氯硅烷和六甲基二硅氮烷. 此外, 人们还研制了各种高反应活性的“封尾”试剂, 封尾作用能有效地改善其对有机碱的保

留性能, 但是由于空间位阻等原因, 封尾反应不完全, 且“封尾”试剂易水解, 封尾反应不能彻底消除硅羟基活性. 为了解决这些问题, 最近几年出现了一些新型的以硅胶为基质的反相HPLC填料. Kirkland^[30]制备了侧链含异丙基和异丁基的C18 单齿键合色谱填料, 由于侧链的位阻效应阻碍了其他基团对残余硅羟基的进攻, 该填料在pH = 7 时对碱性物质的分离有很好的柱效, 且色谱峰形对称. Fairbank^[31]使用长短链的硅烷化试剂混合物制备高密度键合的反相键合硅胶. 喻昕等^[32]先合成C18 键合相, 然后将键合到硅胶表面上的十八烷基三氯硅烷水解, 经处理令产生的硅羟基在固相界面上发生凝胶化(羟基缩合), 反应形成硅氧硅键, 以掩蔽金属离子和硅羟基对溶质的远程效应, 消除其对碱性物质的非特异性吸附. 含有氮原子如胺或酰胺等官能团的键合相, 因其在分离极性、碱性化合物时具有良好的分离效果, 而引起了人们的广泛兴趣^[33~38]. Kirkland 研究小组^[38]把静电屏蔽作用和空间立体保护作用结合起来, 制备了新型烷基胺反相填料, 在分离碱性药物时取得了很好的成功. Priogov等^[36,39,40]利用静电效应屏蔽硅羟基, 在酸性条件下对碱性化合物获得了良好的分离效果. 涂敷技术是指亲脂性聚合物借助键合、聚合和交联等方法以共价或吸附的形式与硅胶表面相结合, 而实现对硅胶改性的方法^[41]. 硅胶基质聚合物包覆和聚合物涂敷型填料不仅扩大了使用的pH范围, 同时, 表面的聚合物有效地覆盖了硅胶表面的硅羟基, 既避免了强极性和碱性物质的非特异吸附, 也改善了填料的分离效能, 可以用于各种物质的分离和多种分离模式. 包覆的聚合物类型包括聚烃、聚醚、聚酰胺、多糖、多肽、聚硅氧烷和聚胺等. Hirayama^[42]和 Fukumoto^[43]用偶氮二异丁腈引发 3-巯丙基三甲氧基硅烷和十八烷丙烯酸酯的聚合, 再与硅胶反应制备了具有“平行”侧链的“毛刷”型反相色谱填料, 该填料侧链上的毛刷既能较好的屏蔽硅羟基又具有良好的传质效率, 因此具有良好的色谱性能. Zuo^[44]等人把乙基苯乙烯和二乙烯基苯与乙烯基硅烷试剂改性的硅球共聚, 制得了包夹共聚反相填料, 它对一些极性化合物能进行很好的分离. Hanson^[45]等用聚丁二烯涂敷Monospher硅球, 该填料分离一些蛋白质仅需 20 s. 杨瑞琴^[46]把适量的亲脂性聚合物(甲基乙烯基聚硅

氧烷)涂敷在用甲基乙烯基二乙氧基硅烷改性的硅胶基质表面上,既避免了流动相与硅胶基质的接触,提高了填料的耐碱能力,防止了碱性溶质在固定相表面的非特异吸附,又使该固定相具有良好的色谱性能和选择性。

此外,人们还开发出了一些具有特殊性质的新型硅胶基质反相色谱填料, Ma等^[47]开发了一种耐酸、高交联的硅胶基质填料,用于分离有机化合物。Brian等^[48]制成了一种超强耐酸的反相色谱填料,可以在pH = 0.5和150℃的条件下经受1400倍柱体积的淋洗而保持性能良好。冯钰琦等^[49]采用硅烷偶联剂制备出含C8~C13混合型烷基键合硅胶液相色谱填料,多环芳烃在该填料上的分离略好于Zorbax ODS柱,二者出峰顺序相同。黄晓佳^[50]等在国内首次制备了内嵌极性基团酰胺键的反相色谱填料,在pH值为2.5~7.5时,稳定性良好,可有效分离分析碱性化合物。周蓉等^[51]制备了一种新型的苯胺甲基键合硅胶色谱填料,并将其与ODS进行比较,发现该填料除具有弱疏水作用外,还可与溶质形成定向力、氢键力和电荷转移作用力等,特别是对具有芳环的酸性化合物有高的分离选择性。近几年新发展了一些含有大环的反相填料,如Buszewski^[52]等在硅胶表面引入芳烃、酞氰、四苯基卟啉,改善了C60、C70及一些富勒烯的分离。刘英^[53]等以 γ -(乙二氨基)丙基三乙氧基硅烷为偶联剂,合成了C60键合的硅胶色谱填料,并用于多环芳烃和杯芳烃的分离。Chuzo^[54]等将十二胺基取代的环糊精连接到 γ -环氧丙烷氧丙基键合的硅胶上,该色谱填料对多环芳烃具有高度的选择性。Bianco^[55]等将C60吡咯烷衍生物键合到高纯硅球上,用于杯芳烃、环糊精以及一些多肽的分离,研究结果表明,该固定相具有分子识别作用。Gununov^[56]等人测定了卟啉键合相对C60、C70、氨基酸、多环化合物的色谱性能。

近年来随着色谱技术的进一步发展,一些色谱填料供应商采用新技术新原理开发了一些改进型色谱固定相。日本资生堂使用硅烷酮聚合体将高纯硅胶覆盖的超薄膜表面涂层技术,开发出了同时具有聚合体系填料和硅胶系填料优点的“CAPCELL PAK”系列填料。最大限度地降低了残存的硅羟基的效应,即使是在中性条件下分析碱性物质,仍能保持完美

的峰形。岛津公司的甲基纤维素涂覆的反相前处理柱(Shim-pack MAYI-ODS),使用甲基纤维素聚合物涂覆多孔硅胶外表面,并将其内表面以ODS修饰。外表面涂覆的甲基纤维素可防止蛋白质的吸附,通过体积排阻效应将蛋白质等生物分子去除,而小分子的目标化合物可以进入孔内,通过与ODS基团间的疏水作用被内表面保留。MAYI预处理柱将样品自动除蛋白和目标化合物分析完美地结合起来了。Shim-pack MAYI-ODS柱连同柱切换技术一起,可以实现血浆等生物样品的直接进样。Halo多孔壳层色谱柱在普通的液相色谱仪器上得到UPLC的分离速度和效果。Halo多孔壳层色谱柱采用2.7 μm 多孔壳层填料,该技术是在直径为1.7 μm 的实心硅胶球上烧结一层0.5 μm 的全多孔硅胶层,多孔壳层提供了较短的传质路径,减少了轴向扩散,而实心熔硅球提供坚固的支撑结构,可以承受高压,具有与1.8 μm 全多孔硅胶填料相似的分离效率,却只有其1/2的柱压和明显的抗污染性能,可能将会成为新一代高速色谱固定相。由于这种材料在均一的实心硅胶颗粒表面有一层薄多孔外壳,颗粒的薄外壳允许溶质有较高的传质速率,色谱柱具有极高的柱效,并且采用较高的流动相线速度可以进行快速分离而不明显损失柱效。

随着新技术和新材料的出现以及HPLC的不断发展,以硅胶为基质的反相色谱填料的研究将朝着制备方法简单、硅羟基掩蔽完全、选择性好、柱效高、重现性好、分析速度快、pH使用范围宽、寿命长等方向获得进一步的发展。

4 硅胶基质手性色谱填料

硅胶基质手性色谱填料(CSP)主要有多糖类手性填料、蛋白质手性填料、大环类手性填料、刷型手性填料、配体交换类手性填料以及分子印迹手性色谱填料。

4.1 多糖类手性色谱填料

用于手性拆分的多糖主要是纤维素及淀粉的衍生物。纤维素是葡萄糖通过 β -1,4-糖苷键连接成的线性聚合物,淀粉是 α -1,4-葡萄糖苷连接的螺旋结构^[57]。对多糖化合物进行化学衍生不仅可以增加多糖手性识别位点,如酰胺、酯、苯基等,也能在多糖表面形

成手性空穴, 提高多糖的手性识别能力. 将淀粉或纤维素与相应的有机化合物反应, 如酰氯、异氰酸酯类化合物等, 便制得多糖衍生物, 再将这种衍生物涂敷在硅胶、氨基硅胶或 C18 硅胶上就得到涂敷型多糖手性填料. 纤维素的微晶结构, 聚合度, 分子量大小, 纤维素原料, 纤维素酯化的完全程度, 涂敷用的溶剂类型, 硅胶孔径等对于纤维素-三乙酸酯 CSP 的拆分能力均有影响. Oguni^[58]认为纤维素-三乙酸酯的手性识别能力随其构象规则程度的增加而提高, 规则程度又在很大程度上依赖于涂敷过程中使用的溶剂, 这一发现对于其他涂敷型多糖衍生物也是适用的. 此外, 苯环上取代基的性质、数目及位置对纤维素-三苯甲酸酯 CSP、纤维素-三苯基氨基甲酸酯 CSP 的拆分能力均有影响^[59]. Chankvetadze^[60]认为纤维素-三(氯代甲基苯基氨基甲酸酯)的苯基部分包含吸电子的氯和供电子的甲基, 在某些情况下这种固定相的手性识别能力优于 Chiralcel AD 柱, 可作为它的补充. 文献^[61]比较了氨基甲酰化和苯甲酰化纤维素 CSP 的分离性能发现 6 位的取代基对于手性识别非常重要, 在 6 位增加手性碳可以提高对映体的选择性.

多糖类手性填料是一类手性拆分能力强、柱容量大、应用范围广、使用最普遍的手性填料, 已有许多商品柱出售. 此外, 近年来出现了纤维素衍生物通过反应性间隔臂键合于硅胶等基质或在载体表面相互交联成网状聚合物而成的键合型手性填料^[62-65], 不同的键合或交联方法是目前研究的热点. 键合型的 CSP 与涂敷型的 CSP 在分离某些化合物时有区别, 这是因为键合型的 CSP 在制备过程中由于间隔臂的介入, 在一定程度上破坏了微晶纤维素的空间螺旋结构, 而这种结构可能有利于增强其手性识别能力. 研究表明虽然大多键合型的填料拆分能力没有涂敷型高, 但其稳定性、耐溶剂性能、柱效都高于涂敷型, 扩大了流动相的选择范围^[66]. 2004 年已经有键合型多糖类手性填料上市, 此类键合型多糖手性固定相逐渐得到了广泛的应用.

4.2 蛋白质手性色谱填料

蛋白质类手性色谱填料主要是通过键合或涂敷在固定相基质上的各种蛋白质实现对手性化合物的拆分. 目前在手性固定相中较为常用的蛋白质包括

牛和人的血清蛋白、 α -酸性糖蛋白、卵粘蛋白、胃蛋白酶和纤维素水解酶. 蛋白质是一类复杂的生物高分子聚合物, 所含的亚单位 L-氨基酸具有手性, 能特异性的识别手性小分子, 因此对手性分子具有很强的识别能力. 由于涂敷型固定相稳定性相对较差, 因此人们通过各种方法将蛋白质键合到硅胶基质上, 制成手性填料^[67]. 在键合型蛋白质手性固定相中, 具有配位基团间隔臂更有利于固定相的拆分, 而较强的疏水基团对拆分不利. 蛋白质类手性填料主要用在反相条件下对多种化合物实现直接拆分^[67-73], 其手性识别能力可以归结为它们独特的立体结构特征. 在对映体的手性识别过程中, 蛋白质的三级结构所造成的疏水性口袋、沟槽或通道对手性拆分具有十分重要的意义^[74-76]. 1973 年, Stewert 和 Doherty^[75]等首次将牛血清蛋白(BSA)键合到琼脂糖上对 D, L-色氨酸进行了分离, 但固定相重现性及对酸、碱、温度的稳定性都欠佳. 1983 年, Hermansson^[76]将 α -酸性糖蛋白键合到硅胶小球上, 拆分了消旋体药物及其代谢物. 1986 年, Allenmark^[77]等以微粒硅胶为载体, 制备了键合型的 BSA 手性填料, 可在 HPLC 条件下对氨基酸及其衍生物进行分离. Massolini^[78]等将卵粘蛋白键合到硅胶上, 拆分了酸性、碱性和中性药物, 并考察了流动相对拆分的影响. Marle^[79]等在硅胶上键合了纤维素水解酶, 对 β -阻断剂类药物进行了拆分. Massolini^[80]等合成了鸡的碱性脂肪粘蛋白手性填料, 拆分了一些酸性消旋体药物.

蛋白质手性填料一般在反相条件下工作, 适用于生物医学分析, 对对映体选择性较强, 对 pH 值, 有机调节剂的含量变化十分敏感. 虽然蛋白质手性填料具有较好的手性拆分能力, 但如果保存不当填料表面的蛋白质容易遭到破坏, 这会在其使用过程中造成不便, 而且蛋白质手性填料的柱容量也很低, 使得其在制备性分离上的应用受到了限制.

4.3 大环手性色谱填料

大环类手性色谱填料通常都具有带手性的环状空穴结构, 手性空穴对消旋体中某一种对映体包含能力强, 而对另一种对映体包含能力弱, 从而使得两对映体在填料上得到了分离. 大环类手性填料主要指环糊精键合填料, 此外还包括手性冠醚填料及大

环抗生素手性填料。

环糊精是一类由数个D-吡喃糖单元通过 α -1,4-糖苷构成的大环分子化合物,具有腔内疏水、腔外亲水的锥筒状结构^[81],环糊精分子的主体特征和化学特征决定着复合过程的选择性,因而显示良好的分子识别能力。作为液相色谱手性填料,环糊精及其衍生物主要通过间隔臂被键合到硅胶表面^[82-84],羟丙基- β -环糊精是早期出现的衍生化环糊精填料^[85],羟丙基取代,排列于环糊精空腔的开口处,使空腔的开口处部分被掩蔽,减小了空腔开口的面积,使其有更强的手性识别作用^[86]。苊乙基氨基甲酸酯- β -环糊精也是出现较早的一个衍生化环糊精填料。据统计,它是目前应用最为广泛的一种衍生化环糊精类手性填料^[87]。磺化环糊精是具有离子交换能力的手性色谱填料,当样品的手性中心处于环内或位于两个芳香环之间时,使用该填料可以达到最满意的分离效果^[88]。

近年来,硅胶基质键合环糊精手性填料研究工作获得了新进展,如方敏^[89]等将手性希夫碱配体中的刚性C=N片断引入到环糊精中制成键合手性填料,对D、L-氨基酸对映体进行拆分。阮源萍^[90]利用自行研制的2,6-二-O-烷基- β -环糊精涂渍手性填料,反相色谱模式研究了对联萘酚类对映异构体拆分。Zhong^[91]等合成了九种二硝基苯基衍生化的环糊精手性填料,在反相条件下对多种对映体进行了分离。Poon^[92]利用尿素将环糊精键合到硅胶上,制成苯基氨基甲酸酯和乙酰化的环糊精手性填料,在反相条件下拆分了一些芳香醇类化合物和消旋体药物。Zhou^[93]等利用异氰酸酯硅烷偶联剂制备了全苯基氨基甲酸酯的环糊精填料,在微液相色谱和毛细管电泳上对系列氨基磷酸酯化合物进行了拆分。陈慧、黄君珉^[94,95]等对苯基氨基甲酸酯衍生化 β -环糊精和(S)-(+)-苊乙基氨基甲酸酯衍生化 β -环糊精填料色谱保留和手性识别机理进行了研究。Zhang^[96]等利用click化学反应通过环糊精的6位羟基进行键合,与传统的环氧基键合相比取得了更好的选择性。

冠醚因具有特殊的环腔结构,环内不同杂原子构成的高电子云密度以及环上可以引入不同基团等因素,使得它对多种极性化合物,特别是对异构体具有独特的选择性。近年来,冠醚手性填料成为冠醚化合物在液相色谱中的研究焦点,手性冠醚分离对映体

的研究起始于Cram^[97]小组的工作,主要用于一些含有能够质子化的伯胺官能团的手性化合物分离,尤其是氨基酸及其衍生物对映体的拆分^[98,99]。目前有两种冠醚作为色谱填料在手性拆分中应用比较广泛^[100],一种是带有1,1'-二苯基联萘基单元的冠醚手性填料,一种是与酒石酸基团结合的冠醚手性填料。Hyun^[101]等将光学纯1,1'-二苯基联萘基-18-冠-6键合到硅胶上,反相条件下对各种氨基酸具有良好的拆分效果。Hirose^[102,103]等制备了含有1-苯基-1,2-乙二醇和1-苯基-1,2-环己二醇手性单元的苯并18-冠-6手性填料,对一些氨基酸和脂肪胺进行了拆分。Motellier^[104]在手性冠醚填料上直接拆分了天(门)冬氨酸苯丙氨酸甲酯。Toshio^[105]等将改进的手性冠醚涂敷到反相硅胶柱上,使得这种填料在有机溶剂中更加稳定,对氨基酸具有很好的拆分能力。Machida^[106]等将四羧酸基18-冠-6键合到氨基硅胶上,以高氯酸水溶液为流动相拆分了13种氨基酸和7种氨基醇。Berkecz^[107]和Hyun^[108]等人还利用这种手性填料对多种氨基酸衍生物进行了拆分,取得了较好的效果。Hyun^[109,110]利用双羧基键合方法制备的冠醚手性填料对多种氨基酸、氨基酰胺及手性胺化合物实现了手性分离。除此之外,冠醚与其他一些基团结合也形成了一些有拆分能力的色谱填料。Hyun^[110]等制备了含有联萘及羧酸两种基团的冠醚手性填料对手性胺化合物实现了分离。Farkas^[111]等合成了吡啶并18-冠-6手性填料,拆分了苊乙胺,苯丙氨酸及丙氨酸和蛋氨酸的衍生物。目前,由于冠醚价格比较昂贵,而且毒性大,一定程度上限制了冠醚手性填料的发展,因此这类手性填料种类还比较少。

1994年Armstrong首次使用大环抗生素万古霉素(Vancomycin)、利福霉(Rifamycin B)和硫链丝菌素(Thiostrepton)作为手性选择剂,将其键合于硅胶上制成了手性色谱填料,在正相和反相模式下拆分了一系列光学异构体^[112],开辟了手性分离科学领域一个新的研究热点。用于对映体分离的大环类抗生素根据其结构上的特点可分为四大类型:糖肽类、柄状霉菌素类、多肽类和氨基糖苷类^[113],其中糖肽类抗生素的对映体选择性较高,而且在填料的键合和装柱过程中较稳定,是大环抗生素手性填料的研究重点。Armstrong^[114]等人介绍了抗生素类手性填料的一般

制备方法: 根据抗生素分子结构上的不同, 用含有不同官能团(酯基、氨基、环氧基等)的硅烷偶联剂作为间隔臂, 通过两步反应合成了一系列抗生素类手性填料. VA、TE、RI 手性柱已有市售(ChirobioticV、ChirobioticT、ChirobioticR, Astec Wippang, USA). 此类手性填料具有通用性强、柱容量高、柱性能稳定等优点, 已成为当前最具有较好应用潜力的手性色谱填料之一.

4.4 刷型手性色谱填料

刷型手性色谱填料一般是通过一定的间隔臂, 将手性有机分子键合到硅胶载体上而制得, 可称为低分子量手性填料, 该类手性柱还被称为给体-受体柱. Pirkle 在 20 世纪 70 年代将 9-蒽基-三氟甲基甲醇通过化学键键合到硅胶上, 制成的填料称为 π 碱性的刷型手性填料, 并拆分了大量 π 酸性的胺、氨基酸、亚砷及氨基酸的 3,5-二硝基苯甲酰氯的衍生物(DNB-PG)等消旋体. Pirkle 还提出了在刷型手性填料设计中有重要指导意义的原则: 互为相反作用原则(the principle of reciprocity), 即如果一个固定的化合物 A 的单一对映体能对另一个化合物 B 的对映体进行拆分的话, 那么固定的化合物 B 的单一对映体也能够对化合物 A 的对映体进行拆分^[115]. 据此, Pirkle 研究小组先后制备了 π 酸型的(R)-苯甘氨酸的 DNB 衍生物 CSP(DNB-PG CSP)和(R)-亮氨酸的 DNB 衍生物 CSP(DNB-LeucineCSP). 这一类型手性填料称为第二代刷型手性填料, 它们能拆分很多带有烷基、醚基或氨基取代的给电子芳香环的对映体^[116-119]. 通过对第二代刷型填料对各种不同手性化合物的识别能力的研究, Pirkle 等人又制成了第三代刷型填料, 此类填料对于酸性大 π 键的衍生物具有很好的拆分效果, 并且其拆分效果和拆分均好于第一代刷型填料. Pirkle 运用了手性拆分的互为相反原理, 先将萘普生固定到硅胶上, 用此填料拆分一系列的对映体, 再以拆分效果最好的对映体为结构原型, 稍加改变, 固定到硅胶上, 制成了 Whelk-O1 CSP, 这种填料成功的拆分了萘普生以及与之有相似结构的多种化合物, 此手性填料已成为应用最为广泛的手性固定相之一, 尤其适合手性碳原子链有羧基的手性化合物的分离^[120-123]. 除了 Pirkle 小组外, 还有其他一些研究者将

手性分子键合到硅胶表面制成刷型手性填料^[124-133]. 由于这类手性填料的可设计性, 目前对它的研究也比较广泛, 这类填料的研究及发展将大大扩展手性色谱填料的种类.

4.5 配体交换类手性色谱填料

1961 年 Helfferich 首次提出手性配体交换色谱(chiral ligand-exchange chromatography, CLEC)技术, 通过 Rogozhin 和 Davankov 等的发展, 现已成为一种有效的手性色谱分离法^[134]. 手性配体交换色谱分为手性添加剂法^[135]和手性色谱填料法. 手性配体填料是将手性配体键合^[136]或涂敷^[137]到硅胶表面, 并在流动相系统中引入金属离子, 待测对映体与配位体形成 2 个非对映的三元络合物, 经色谱过程实现光学异构体的立体选择性分离. 这类填料已成为目前分离未衍生化氨基酸、羟基酸最有效的方法, 也可以拆分一些二胺和生物小分子. 王俊德课题组^[138]将 β -(3,4-环氧环己基)乙基三甲氧基硅烷与硅胶反应, 得到环氧化硅胶中间体, 然后与 L-异亮氨酸反应, 再与铜离子配位, 得到一种新型手性配体交换填料. 黄天宝课题组合成了(S)-1,2,3,4-四氢-3-异喹啉羧酸[(S)-THIQCA]^[139]及其衍生物^[140]涂敷手性配体填料和 L-半胱氨酸衍生物^[141]硅胶键合手性配体填料, 并应用于氨基酸的拆分. Hyun^[142,143]将 N-羧甲基钠-N-十一烷基-异亮氨酸和 N-羧甲基钠-N-十一烷基-苯基甘氨酸键合到硅胶上制成了配体交换手性填料, 对多种 α -和 β -氨基酸进行了拆分. 此外, 李永民、陈立仁^[144-146]课题组合成了 L-羟基脯氨酸、L-脯氨酸和 L-苯丙氨酸三种键合手性配体填料, 并用于 α -羟基氨基酸的直接拆分, 取得了较为满意的结果.

4.6 表面分子印迹手性色谱填料

在过去的 30 年里, 分子印迹技术被证明是对目标化合物进行选择识别的有力手段. 利用分子印迹技术可以制备出具有固定孔穴大小和形状, 并且功能基团具有一定排列顺序的交联聚合物, 该聚合物对模板分子具有“记忆性”识别功能. 近十几年来, 分子印迹技术已经广泛地应用于分离科学^[147]、分析化学^[148]、催化^[149]、化学/生物传感^[150]等领域. 由于分子印迹聚合物的选择性较强, 将分子印迹聚合物

作为色谱固定相主要用于手性分离。

自从Wulff^[151]于1970年最早进行这方面的研究以来,到现在分子印迹聚合物作为HPLC和CEC的手性固定相是分子印迹色谱技术的重要研究领域。目前,分子印迹手性固定相的制备大多基于非共价模式。Mosbach^[152]等制备了*L*-phenylalanine anilide的印迹聚合物,并研究了目标分子与功能单体甲基丙烯酸之间的相互作用。结果表明,在氯仿溶液中两者存在离子对和氢键作用。以制得的印迹聚合物为HPLC固定相,乙腈/乙酸为流动相,phenylalanine anilide对映体可以得到完全分离。

传统的分子印迹制备技术由于聚合物的形貌难以控制,化合物传质速率低等缺点,表面分子印迹技术逐渐引起人们的重视。在基质表面直接制备分子印迹膜是目前制备球形分子印迹填料的主要方法。Sellergren研究小组在硅胶表面接枝制备分子印迹膜方面做了大量研究,其基本策略是首先在一个形貌确定的硅胶基质表面引入偶氮引发剂,然后采用“graft from”方法在硅胶表面制备出分子印迹膜^[153~156]。Sulitzky^[156]等首先将偶氮引发剂引入到硅胶上,然后以甲基丙烯酸为功能单体,乙二醇二甲基丙烯酸酯为交联剂,*L*-phenylalanine anilide和*D*-phenylalanine anilide为模板制备了以硅胶为基质的表面分子印迹微球,并对*D*、*L*-phenylalanine anilide进行了分离。通过优化条件可以在孔径为10nm的硅胶表面制备出一系列厚度的分子印迹膜,当膜较薄(0.8nm)时色谱行为最好,当膜较厚时(7.0nm),MIPs的吸附的吸附容量最大。

在硅胶表面进行接枝聚合制备分子印迹膜的研究中,许多新的制备方法比如RAFT(可逆加成-断裂链转移)和ATRP(原子转移自由基聚合)也引起人们的注意。Yang^[157,158]分别对这两种方法做了研究。RAFT和ATRP方法进行聚合反应具有活性可控的优点,其手性分离方面的潜力还有待发掘。

近年来,手性色谱填料一直是研究的热点,商品化的填料已经达到几百种。手性拆分受到很多因素的影响,手性填料上一个基团的改变就有可能改变手性填料的拆分性能,而每种消旋体得到拆分所需要的立体环境都有所不同,所以还没有一种像C18广泛适用的手性填料。到目前为止,有许多手性填料的

拆分机理仍然不是十分清楚,将来可以通过计算机模型模拟手性拆分了解手性拆分的机理。随着合成技术的发展和对手性拆分了解的深入,针对拆分对象设计合成手性填料将成为可能。

5 硅胶基质离子色谱填料

硅胶基质离子色谱填料同有机高聚物色谱填料相比,虽不能在强酸、强碱介质中使用,以及残余硅羟基会对一些生物分子存在静电作用等不良影响,常需对硅胶填料表面进行处理以屏蔽或减轻这种静电作用力^[159]。但硅胶基质离子色谱填料具有其独特的优势,如具有不溶胀、耐高压、传质快等优点,因而备受离子色谱科研工作者的青睐,自离子色谱出现以来对硅胶基质离子色谱填料的研究就从未停止过。以下对基于硅胶基质的阴离子交换填料、阳离子交换填料、两性离子交换填料,以及近年来出现的离子液体基色谱填料的发展应用作着重介绍。

5.1 硅胶基质阴离子交换色谱填料

阴离子交换色谱填料常用的官能团是胺基或季铵基,用合适的烷基氯硅烷和硅胶基质表面的自由硅羟基反应,再引入胺基或季铵基,即可获得具有一定交换容量的硅胶基质阴离子交换填料。季铵基的离子交换容量是固定的,胺基的离子交换容量可以通过流动相pH值进行调节。Nesterenko^[160]等把苯胺键合到硅胶上得到了苯胺丙基硅胶填料,用于阴离子的分离,通过改变流动相pH值调节填料离子交换容量,有利于分离同色谱填料有不同静电作用强度的离子。Liu等^[161]先用氯丙基硅烷化试剂修饰多孔球形硅胶,再进行季铵化获得阴离子交换固定相,使常见的无机阴离子获得了良好分离,并能检测油田水中无机阴离子。Yang^[162]等先将氯甲基苯乙烯聚合在硅胶上,再将其和*N*、*N*-二甲基苄胺进行季胺化反应制备了一种强阴离子交换色谱填料,这种填料很好地分离了无机阴离子、有机脂肪酸及其混合物,并能分离单磺酸基和双磺酸基磺酸盐,表现出良好的稳定性。中国科学院兰州化学物理研究所采用氨丙基硅烷化试剂与多孔球形硅胶基质表面硅羟基反应,获得氨丙基键合硅胶,再季铵化获得硅胶基质阴离子交换填料,采用流动相梯度的方法,成功应用于分

离油田三次采油用单磺酸基和双磺酸基石油磺酸盐.

离子交换剂可以通过静电作用^[163,164]或疏水作用^[165]动态地涂敷在硅胶或反相硅胶填料上. 1987 年, Schomburg^[166]等把聚乙二醇-丁二烯涂敷于硅胶上, 制备出聚合物涂敷型强阴离子交换填料, 对几种常见的无机阴离子进行了较好的分离. Hu^[167]等将两性表面活性剂动态涂敷在反相 C18 硅胶填料上, 同时使用这种两性表面活性剂作流动相, 分离了生物样品中的无机阴离子. 他们也将卵磷脂动态涂敷到反相 C18、C30 硅胶填料上^[168], 也可对无机阴离子进行分离. 何丽君^[169]等用 meso-八甲基杯吡咯静态涂敷 C18 填料, 制备了一种新型大环化合物涂敷填料, 以去离子水作为流动相, 考察了有机阴离子邻苯二甲酸氢根、水杨酸根、苯甲酸根离子及酚类化合物的色谱分离. 传统的涂敷型离子色谱填料是在反相色谱填料表面涂敷阳离子表面活性剂或阴离子表面活性剂制成的, 由于涂层的厚度等因素难以控制, 柱效往往不高(10000~20000 塔板数/m). Zhu^[170]等采用先涂敷非离子表面活性剂, 然后再涂敷阳离子表面活性剂制备了阴离子交换色谱填料, 第一层涂敷的非离子表面活性剂的厚度和化学结构对柱效影响较大, 其柱效与 HPLC 柱接近可达 86000 塔板数/m, 比常规阴离子色谱柱的柱效提高了 1~2 倍, 并且稳定性良好.

5.2 硅胶基质阳离子交换色谱填料

Ohta^[171]等研究了未改性硅胶(Develosil 30-5)的阳离子交换性质, 并同时分离了环境样品中的 Na^+ 、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} , 发现阳离子交换性能是因为硅胶中含有铝杂质^[172]. 在此基础上, 他们在硅胶表面覆盖上铝^[173], 并成功地分离了一价和二价阳离子. 经铝和锆改性过的硅胶^[174], 采用一定浓度的草酸和冠醚作流动相, 可以高选择性和高灵敏度地分离一价和二价阳离子.

在硅胶表面上接入磺酸基、磷酸基或羧酸基, 就可以得到硅胶基质的阳离子交换填料. 1989 年, Schomburg 制备出了聚丁二烯-马来酸包敷的硅质阳离子填料, Läubli 和 Nair 用该填料分离了 Li^+ 、 Na^+ 、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 以及过渡金属离子^[175,176]. 90 年代初, Liu^[161]等将苯丙基硅烷键合到多孔球形硅胶表面, 再对苯丙基上的苯环进行碘化, 获得硅胶基质

键合强阳离子交换填料; 用稀硝酸水溶液作流动相, 使碱金属离子获得良好分离; 用草酸等试剂的水溶液作流动相, 可使碱土金属离子、部分过渡金属离子获得良好分离; 并用来检测油田水内无机阳离子. 杨瑞琴^[177]等先对硅胶进行硅烷化改性, 再和马来酸酐一起进行聚合反应获得聚马来酸包夹聚合的硅胶基质弱阳离子交换填料, 该填料可以较好地分离碱金属离子、碱土金属离子及一价铵离子, 并可以用于一价和二价金属离子的同时分离, 这种方法应用于对热电厂锅炉水样中阳离子的测定, 取得了满意的结果. 龚波林^[178]等在大孔硅胶表面键合乙烯基硅烷化试剂, 然后与甲基丙烯酸环氧丙酯、甲基丙烯酸乙二醇双酯共聚, 制得聚合物涂敷硅胶, 其表面经水解再与丁二酸酐反应, 得到一种新型的弱阳离子交换色谱填料, 考察了该填料对标准蛋白的分离性能, 2min 内可快速分离肌红蛋白、核糖核酸酶、细胞色素 C 和溶菌酶 4 种标准碱性蛋白质, 蛋白质的保留符合阳离子交换色谱保留规律.

在 1984 年, Shono^[179]就把冠醚动态涂敷在 ODS 柱上, 成功地分离了碱金属离子. Kimura^[180]等将亲脂性冠醚化合物吸附在十八烷基硅胶上, 分离了碱金属、碱土金属阳离子. Hu^[181]等将两性表面活性剂十二烷基胆碱磷酸(PC-ZS)动态涂敷在 ODS 柱上, 纯水作流动相分离了无机阳离子, 二价阳离子 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Ba^{2+} 得到了分离, 但是洗脱顺序为 Ba^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} , 所以其保留机理和阳离子交换不一样, 作者解释为库仑吸引和排斥及离子对作用. Xu^[182]等在 C_{30} 填料上先涂敷十二烷基磺酸钠再涂敷冠醚制备了一种涂敷型阳离子填料, 同时分离了一价和二价阳离子, 洗脱顺序为 $\text{Li}^+ < \text{Na}^+ < \text{NH}_4^+ < \text{H}^+ < \text{K}^+ < \text{Mg}^{2+} < \text{Ca}^{2+}$, 并可用于对雨水的分析.

Ding^[183]等发现采用有机羧酸作流动相时常见无机阳离子在 ODS 柱上有强保留, 这时 ODS 柱就类似于一个阳离子交换柱, 这是因为采用羧酸做流动相, 比如酒石酸、柠檬酸等, 可以在 ODS 柱上形成一个动态的阳离子交换基团层—羧酸阳离子交换功能基层. 1990 年, Siriraks 和 Kingston^[184]首次提出了螯合离子色谱(chelation ion chromatography, CIC), 并成功地用于海水、生物样品、矿石样品、工业废水和无机试剂等样品中痕量过渡金属和镧系元素的分析. 将螯合

离子交换剂通过化学反应键合在硅胶表面^[185,186], 制备螯合离子色谱填料, 用于阳离子的分离分析。最常用的螯合离子交换剂是亚氨基二乙酸型螯合剂(IDA), 它具有很高的选择性, 对金属离子具有很好的分离效果。

5.3 硅胶基质两性离子交换色谱填料

阴阳离子的同时分析一直是离子色谱的一个难点, 人们曾尝试过用各种方法来实现阴阳离子的同时分析。如采用适当的络合剂或螯合剂与金属离子反应生成络阴离子或中性化合物, 然后利用阴离子交换色谱或分配色谱同时分离这些络阴离子和无机阴离子; 采用并联柱法^[187]、串联柱法^[188]或预停留法^[189]等的柱切换法来达到同时分离阴阳离子的目的; 将阴阳离子交换的两种填料混合均匀后充填在同一根色谱柱里制成的混合床填料等都可以实现一些有机酸和无机阴阳离子的同时分离。

随着离子色谱填料的深入研究, 人们开始探索制备可以同时分离阴阳离子的两性离子交换色谱填料。Nesterenko和Haddad对两性色谱填料^[190]进行了详细的综述, 指出两性色谱填料是一种新型高效液相色谱模式发展的方向。两性色谱填料在同一种填料里面同时含有正离子和负离子带电基团, 这就为改变分离选择性提供了一个很好的机会, 带电荷的被分析物同时受到静电排斥和静电吸引作用, 离子以离子对的形式被洗脱, 保留机理也比纯粹的离子交换要复杂^[191]。在这个条件下, 可以使用纯水作流动相, 在极低的背景电导的情况下获得很低的检测限, 可以同时分离无机阴阳离子。

1986年, Yu等首次制备出含有两性功能基的键合硅胶填料。对该填料进行色谱评价发现, pH高于4.5时呈现为阳离子交换特性, pH低于7时呈现为阴离子交换特性, 在两pH之间呈现两性色谱填料特性, 同时分离了阴阳离子。1993年, Hu^[192]等将两性离子表面活性剂包覆在ODS填料表面, 得到两性包覆填料, 采用纯水作流动相, 利用两性表面活性剂中两个强的正负电荷基团的共同作用使阴阳离子达到同时分离, 并提出了静电离子色谱的概念 (Electrostatic Ion Chromatography)。随后, 他们又利用牛磺酸的弱的正电荷基团与强的负电荷基团之间的共同作用,

使常见的无机阴阳离子得以分离并探讨了其分离机理。由于纯水中不含抗衡离子, 因此待测离子必须与样品中的离子组成电中性的离子对, 当样品中存在多种阴离子和阳离子时, 会形成多种可能的组合, 因此可能会出现多峰现象。

Jiang^[193]等在甲基丙烯酸酯聚合物基质上键合了两亲的 2-二甲基氨基乙磺酸, 该填料能在较宽的pH范围内以高氯酸或高氯酸盐为流动相单独或同时分离阴阳离子。后来他们^[194]又采用不同的合成方法制备了三种两性色谱填料, 他们认为在共价键合时只有选择合适的合成方法才能得到满意的电荷平衡的两性色谱填料。Cook^[195]等通过调整两亲化合物功能团的位置、空间构型及酸碱性等制得了一些两性色谱填料, 实现了阴阳离子的同时分离, 并对分离机理进行了详细的探讨。Nesterenko^[196,197]等采用聚天冬氨酸功能化硅胶两性色谱填料来同时分离阴阳离子, 并探讨了流动相缓冲溶液的浓度和pH值对阴阳离子的选择性的影响。虽然两性离子交换键合硅胶色谱填料的研究已有不少, 但是可以同时分离的阴阳离子不多, 效果也不是太好。该类填料的应用前景十分广阔, 随着对该类填料的深入研究, 将会更好地实现对阴阳离子的同时分离。

5.4 离子液体修饰硅胶基质离子色谱填料

离子液体是当前热点研究的一种由有机芳香杂环等阳离子与有机或无机阴离子组成的、具有独特理化性质的新型材料。它所具有的其他有机溶剂无可比拟的性质使其在当今化学工程的绿色化进程中显示了巨大的潜力和应用前景, 已广泛应用于有机合成^[198~201]、催化^[202~204]、电化学^[205]、能源电池、传感器及分离分析^[206~215]等各个领域。近年来, 随着离子液体在分离分析方面应用研究的深入开展, 离子液体在色谱方面的研究也越来越引起科研工作者的重视。离子液体在高效液相色谱方面的最早应用是作为流动相添加剂, 中国科学院兰州化学物理研究所最早开展了咪唑基离子液体作为流动相添加剂的研究, 采用 1-烷基-3-甲基咪唑离子液体作为液相色谱流动相添加剂分别分离了生物碱^[216]、胺类化合物^[217,218]和核苷酸^[219]。另外, Berthod^[220,221]等提出离子液体具有双重作用——离子液体的阳离子和阴离

子在作流动相添加剂中对分离都有作用,即阳离子负责屏蔽填料中的硅羟基,而阴离子起到离子对的作用. Kaliszan和Marszałł^[222,223]等也证明了离子液体对硅羟基有着很好的掩盖作用.

鉴于离子液体作为液相色谱流动相添加剂的良好效果,离子液体作为液相色谱填料的色谱性能也很快引起了人们的重视. Stalcup^[224]等通过一个烷基链把丁基咪唑溴盐离子液体固定在硅胶上用作液相色谱填料,并采用反相色谱条件探讨了其保留机理,对 28 种芳香族小分子溶质的线性溶剂化能相关的研究表明^[224,225],该填料虽然具有咪唑环阳离子而带正电荷,但其保留特性却与苯基填料类似,他们认为这种填料在反相条件下可以分离中性物质,并具有潜在的多重作用机理. Collins^[226]等把吡啶键合到氯丙基硅胶上使吡啶基阳离子连接到硅胶表面,制备了一种新型阴离子交换填料,在离子色谱条件下分离了 4 种常见的无机阴离子,在正相色谱条件下对 5 种芳香族化合物进行了分离.

中国科学院兰州化学物理研究所也在离子液体修饰硅胶基质离子色谱填料方面做了很多工作, Liu^[227]等把带有烯丙基的咪唑离子液体通过自由基链转移加成反应键合到疏丙基硅胶上,首次制备出离子液体键合硅胶高效液相色谱填料,对生物碱进行了成功分离,并推测有效分离归因于该填料具有疏水和离子交换双重特性. Qiu^[228,229]等采用类似的合成方法,分别把甲基咪唑和咪唑键合在硅胶上,制备了两种咪唑基离子液体键合硅胶填料,具体制备过程见图 3. 实验结果表明,此类填料表现为一类强阴离子交换填料,能够很好地对无机阴离子、有机阴离子进行分离,分离度大,柱效高. 咪唑填料对阴离子的保留能力比甲基咪唑填料强得多,推测主要原因是甲基取代基产生了空间位阻,并且分散了咪唑环上的正电荷降低了电荷密度,减弱了阴离子与咪唑环阳离子间的静电吸引.此外,咪唑键合硅胶填料在适当的色谱分离条件下,还可以实现无机阴离子、有机阴离子和一些中性有机化合物同时分离(图 4). 利用此类填料具有的弱疏水作用、静电排斥作用、氢键等分离作用机理,还可以分离胺类、酚类、碱基等有机化合物. 在此基础上又制备出了 1-烷基-3-(丙基-3-磺酸基)咪唑两性离子填料^[230],其合成过程见图 5.

这种填料除了可以分离无机阴离子、离子液体阳离子、酚类和碱基化合物外,还可以对阴阳离子同时进行分离,同时分离了两个阳离子和五个阴离子(图 6),并对几种维生素有较好的分离效果,该填料对无机阳离子的分离效果极弱,主要是因为所采用的合成方法使该填料的结构中存在着部分没有被磺化的咪唑环阳离子,正负电荷结构不均衡,使得阳离子在该填料上受到较大的静电排斥作用. Qiu^[231]等又在 1-烷基-3-(丙基-3-磺酸基)咪唑两性离子填料合成的基础上,采用了自由基链转移加成的方法来制备了一种电荷对等的基于离子液体的两性离子色谱填料. 与离子液体基强阴离子交换色谱填料对比,发现因为该填料多一个磺酸基,正相色谱条件下苯胺类化合物与磺酸基的相互作用导致胺的保留时间较长,该两性离子色谱填料在以纯水作流动相时对无机阴阳

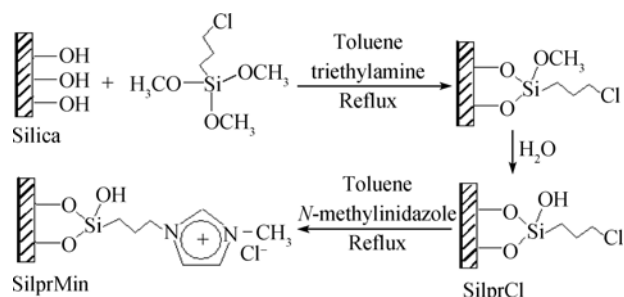


图 3 甲基咪唑键合硅胶填料的制备^[228]

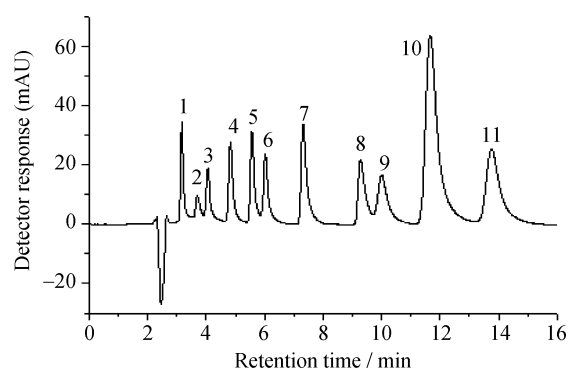
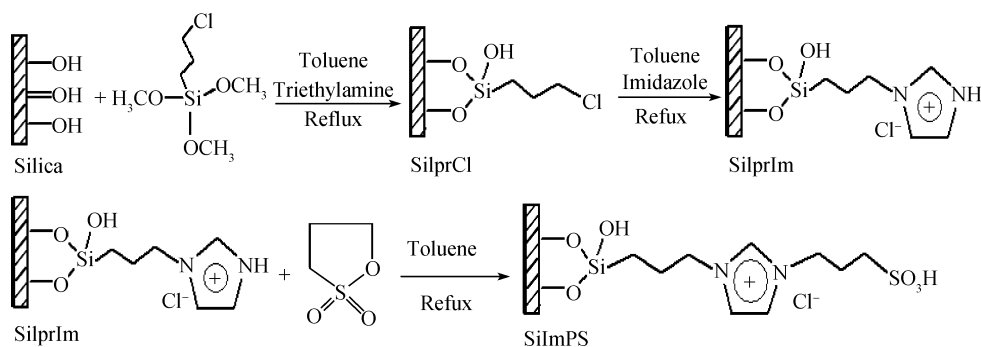
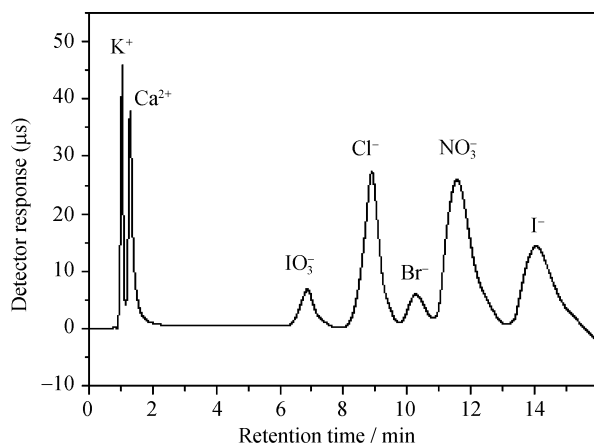


图 4 咪唑键合硅胶填料对无机阴离子、有机阴离子以及中性化合物的同时分离^[229]

1-11 分别为: 对苯二酚; 甲苯; 对氨基苯甲酸; Cl^- ; Br^- ; NO_3^- ; I^- ; SCN^- ; 对甲苯磺酸钠; 邻苯二甲酸氢钾; 水杨酸钠

图5 1-烷基-3-(丙基-3-磺酸基)咪唑两性色谱填料的合成^[220]图6 两性填料对阴阳离子的同时分离图^[221]

离子的分离呈现出“静电离子色谱”的性质, 无机阴阳离子以一个“离子对”的形式被同时洗脱, 当被分析样品中存在着多种无机阴离子和无机阳离子时, 无机阴阳离子存在着多种组合, 即存在着多种“离子对”形式被洗脱。Sun^[232]等通过先自由基链转移聚合反应, 后硅烷化反应将聚烯丙基咪唑接枝到硅胶表面形成一种新型填料, 实验结果表明, 该填料是一种混合模式的填料, 在离子色谱条件下表现为阴离子交换填料, 在反相色谱条件下表现为反相色谱填料。该填料具有与咪唑基离子液体键合填料相似的色谱性质, 分离机制包括疏水、氢键、静电、离子交换作用等。Liang^[233]等比较了*N*-甲基咪唑离子液体修饰的两种基质($\text{ZrO}_2/\text{SiO}_2-4$ 和 SiO_2)色谱填料的液相色谱行为, 并对在离子色谱条件下两种不同基质的填料分离无机阴离子和有机阴离子的色谱性能差异进行了比较

说明。除了将离子液体键合到硅胶上制备新型填料外, 他们还将长链烷基C12 和C14 的两种离子液体涂敷到ODS填料上^[234], 制备了离子液体涂敷型强阴离子填料, 对无机阴离子进行了分离分析, 得到了较高的柱效和较好的选择性。

新型离子色谱填料的研究, 将促进离子色谱在生物分析、环境分析等方面更深入地应用。随着离子液体在分析化学中的深入研究和广泛应用, 离子液体在键合硅胶液相色谱填料方面也将会获得更加深入地研究和应用, 并有望发展形成商品填料。

6 硅胶基质无机改性色谱填料

目前, 除了硅胶基质之外还出现了一些新型的色谱基质材料, 其中包括: 有机高分子基质填料, 碳基质填料和氧化铝、氧化锆、氧化钛等金属氧化物基质填料等。这几种新型基质材料在不同方面弥补了硅胶基质的不足, 尤其是金属氧化物材料是一类性能良好的色谱分离基质, 很早就引起了人们极大的兴趣, 但是用现有的方法所制备的金属氧化物填料很难具有和硅胶一样优良可控的物理结构。这极大地限制了它们作为色谱填料的应用。因此怎样将新材料的特点和硅胶基质的优点结合起来就成为了色谱工作者的研究热点。近年来 LbL-SA(Layer-by-layer self-assembly)技术被成功地用于球形胶体颗粒表面上纳米涂层的制备, 这些材料被称为核-壳粒子或核-壳复合物。基于这种技术, 可制备以硅胶为核, 以其他纳米材料为壳的核-壳型色谱填料。作为核的硅胶可以提供规整而均匀的球形, 可控制的孔径分布, 足够大的比表面积以及优异的机械强度, 硅胶表面的

活性基团则提供了进行核/壳谋和的位点; 作为壳层的最大功能在于完全遮盖硅胶基质的表面, 以克服硅胶基质不利于分离的缺点并为其提供有效的保护; 此外, 壳层还可以带来新的色谱性能。

金属氧化物(如: 氧化锆、氧化钛、氧化铝)的性质对硅胶是一种极好的补充, 例如: 具有良好的化学稳定性, 这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; 热稳定性极高, 有利于高温快速分析, 也可用纯水作流动相, 成为无公害的分离方法. 但是用现有的方法制备的金属氧化物填料很难具有和硅胶一样优良可控的物理结构(颗粒大小及分布、孔径大小及分布、比表面积等), 限制了它们作为色谱填料的应用. 敦惠娟^[235,236]等利用LbL-SA方法在多孔硅胶微球表面组装多层纳米氧化锆颗粒, 制备了比表面积为 172.53 m²/g, 具有良好化学稳定性的ZrO₂/SiO₂核-壳型色谱填料, 并对其进行了表征. ZrO₂/SiO₂的制备工艺示意图见图 7. 2 g ZrO₂/SiO₂填料用 100 mL 0.2 mol·L⁻¹ NaOH溶液浸泡, 用电感耦合等离子体发射光谱测定浸泡液中的锆和硅的含量, 15 天的浸泡液中没有检测到锆和硅元素, 说明ZrO₂/SiO₂填料的化学性质非常稳定. 葛晋^[237~240]等采用相同的方法在色谱用硅胶表面组装了多层纳米二氧化钛, 制备了TiO₂/SiO₂核-壳型色谱填料. 用TiO₂/SiO₂ 和ZrO₂/SiO₂所制备的碳十八键合色谱填料的碳含量均高于前人报道的TiO₂ 和 ZrO₂碳十八键合色谱填料的碳含量^[241,242]. 此外, 这两种核-壳型色谱填料对稠环类化合物和碱性化合物都具有良好的色谱性能. 梁晓静^[233]等对ZrO₂/SiO₂进行了表面化学修饰, 制备了*N*-甲基咪唑键合ZrO₂/SiO₂核-壳型色谱填料, 对其正反相色谱性能进行研究, 并与*N*-甲基咪唑键合SiO₂填料进行了对比, 结果表明, 该填料具有很好的离子色谱性能以及分离碱性化合物能力; 此外, 他们还利用自组装技术成功地将纳米氧化铝组装到硅胶表面^[243], 制备了新型的Al₂O₃/SiO₂核-壳型色谱填料, 并对其进行了

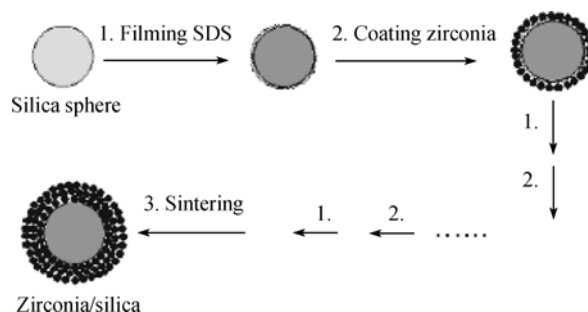


图 7 表面多层纳米氧化锆包覆硅球的制备步骤^[236]

表征, 结果表明和Al₂O₃填料相比该核-壳型填料具有和硅胶一样优良的物理结构, 离子色谱性能研究结果表明, 这种填料具有很好的分离无机阴离子的性能。

随着科学技术的不断发展, 越来越多性质优异的新材的出现为色谱填料的发展提供了丰富的资源, 并且纳米技术的不断发展, 越来越多的物质可以被制备成纳米级材料, 人们可以根据需要控制这些材料的尺寸和形状, 这就为核-壳结构材料的发展提供了广阔的资源. 人们可以根据需要将任意两种化合物组装起来, 以满足对填料多性能的要求。

7 结束语

近年来, 随着以人类健康、生物工程为核心的生命科学、环境科学及制药、合成化学的迅猛发展, 人们对 HPLC 不断提出更高、更新的要求, 色谱柱填料作为 HPLC 的核心, 对它的研究一直是色谱研究中关键的部分. 提高色谱填料的柱效、选择性、峰容量和使用稳定性, 增大填料的 pH 使用范围、延长填料使用寿命, 具有多种分离模式以及对环境友好(绿色色谱)将成为色谱填料的发展方向. 硅胶基质色谱填料在 HPLC 领域应用十分广泛, 随着 HPLC 的不断发展, 以硅胶为基质的色谱填料的研究将更加受人们的关注. 此外, 液相色谱基质也将向核-壳型、杂化硅胶等新型材料方向发展。

致谢 本工作得到甘肃省科技支撑计划项目(批准号: 0804GKCA304)和国家自然科学基金(批准号: 20805052)资助, 特此一并致谢。

参考文献

- 1 Tweeten K A, Tweeten T N. Reversed-phase chromatography of proteins on resin-based wide-pore packings. *J Chromatogr*, 1986, 359: 111—119[DOI]
- 2 Afeyan N B, Fulton S P, Regnier F E. Perfusion chromatography packing materials for proteins and peptides. *J Chromatogr*, 1991, 544: 267—279[DOI]
- 3 Tanaka N, Tanigawa T, Kimata K, Hosoya K, Arai T. Selectivity of carbon packing materials in comparison with octadecylsilyl- and pyrenylethylsilylsilica gels in reversed-phase liquid chromatography. *J Chromatogr*, 1981, 549: 29—41[DOI]
- 4 Pesek J J, Lin H D. Evaluation of synthetic procedures for the chemical modification of alumina for HPLC. *Chromatographia*, 1989, 28: 565—568[DOI]
- 5 Wieserman L F, Wefers K, Cross K, Martin E S. US 4983566, 1991
- 6 Rigney P, Funkenbush E F, Carr P W. Physical and chemical characterization of microporous zirconia. *J Chromatogr*, 1990, 499: 291—304[DOI]
- 7 Kawahara M, Nakamura H, Nakajima T. Titania and zirconia as new ceramic column packing materials for high-performance liquid-chromatography. *Anal Sci*, 1989, 5: 485-486[DOI]
- 8 Tani K, Suzuki Y J. Investigation of the ion-exchange behaviour of titania: Application as a packing material for ion chromatography. *Chromatographia*, 1997, 46: 623—627[DOI]
- 9 薛振东, 贺飞. 油乳法制备高效液相色谱氧化钛和钛锆氧化物复合填料. *武汉大学学报*, 2002, 48: 142—146
- 10 Dunlap C J, McNeff C V, Stoll D, Carr P W. Peer reviewed: zirconia stationary phases for extreme separations. *Anal Chem*, 2001, 73: 598A—607A
- 11 王俊德, 商振华, 郁蕴璐. 高效液相色谱法. 北京: 中国石油化工出版社, 1992
- 12 Buchmeiser M R. New synthetic ways for the preparation of high-performance liquid chromatography supports. *J Chromatogr A*, 2001, 918(1): 233—266[DOI]
- 13 Nawrocki J, Dunlap C, McCormick A, Carr P W. Part I. Chromatography using ultra-stable metal oxide-based stationary phases for HPLC. *J Chromatogr A*, 2004, 1028(1): 1—30[DOI]
- 14 杨新立, 王俊德, 熊博晖. 高效液相色谱用硅质填料的进展. *色谱*, 2000, 18: 308—312
- 15 陆志仁. 国外高效液相色谱柱填料生产技术的发展介绍. *化学试剂*, 1995, 17: 279—283
- 16 Unger K, Shick-Kalb J. Ger 2155281, 1971
- 17 Bergna H E, Kirkland J J. US 4131542, 1978
- 18 李新会. 新型色谱填料的研制. 北京: 中国科学院化学研究所, 1994
- 19 刘国詮, 余兆楼. 色谱柱技术(第二版). 北京: 化学工业出版社, 2006
- 20 赵睿, 李新会, 刘国詮. 高效凝胶过滤色谱填料 KH-s-GFC300 的合成与评价. *色谱*, 2005, 23: 619—621
- 21 湛英武, 陈静, 袁启华. 一种液相色谱新填充介质——多孔玻璃的特性与应用. *硅酸盐通报*, 2000, 2: 43—52
- 22 冯钰琦, 达世禄, 王忠华. 混合型烷基键合硅胶液相色谱固定相的合成与性能评价. *应用化学*, 1999, 16: 55—57
- 23 Wyndham K D, O'Gara J E, Walter T H, Glose K H, Lawrence N L, Alden B A, Izzo G S, Hudalla C J, Iraneta P C. Characterization and evaluation of C18 HPLC stationary phases based on ethyl-bridged hybrid organic/inorganic particles. *Anal Chem*, 2003, 75: 6781—6788[DOI]
- 24 Jiang Z, Fisk R P, O'Gara J, Walter T H, Wyndham K D. Porous inorganic/organic hybrid particles for chromatographic separations and process for their preparation. US 6686035 B2
- 25 Kirkland J J, De stefano J. Controlled surface porosity supports with chemically-bonded organic stationary phases for gas and liquid chromatography. *J Chromatogr Sci*, 1970, 8: 309—315
- 26 Stewart H N M, Perry S G. A new approach to liquid partition chromatography. *J Chromatogr*, 1968, 37: 97—98[DOI]
- 27 Kimata K, Iwaguchi K, Onishi S, Jinno K, Eksteen R, Hosoya K, Araki M, Tanaka N. Chromatographic characterization of silica C18 packing materials. *J Chromatogr Sci*, 1989, 27: 721—728
- 28 Ohtsu Y, Shiojima Y, Okumura T, Koyama J, Nakamura K, Nakata O, Kimata K, Tanaka N. Performance of polymer-coated silica

- C18 packing materials prepared from high-purity silica gel: The suppression of undesirable secondary retention processes. *J Chromatogr*, 1989, 481: 147—157[DOI]
- 29 Sudo Y. Optimization of end-capping of octadecyl-silylated silica gels by high-temperature silylation. *J Chromatogr A*, 1997, 757: 21—28[DOI]
- 30 Kirkland J J, Henderson J W. Reversed-phase hplc selectivity and retention characteristics of conformationally different bonded alkyl stationary phases. *J Chromatogr Sci*, 1994, 32: 473—480
- 31 Fairbank R W P, Xiang Y, Wirth M J. Use of methyl spacers in a mixed horizontally polymerized stationary phase. *Anal Chem*, 1995, 67: 3879—3885[DOI]
- 32 喻昕, 赵睿, 乔霞, 何秀娟, 王允富, 刘国詮. 利用后凝胶化反应制备低吸附性反相填料. 高等学校化学学报, 2000, 21: 383—385
- 33 Jaroniec C P, Gilpin R K, Jaroniec M. Comparative studies of chromatographic properties of silica-based amide-bonded phases under hydro-organic conditions *J Chromatogr A*, 1998, 797: 103—110[DOI]
- 34 OGara J E, Alden B A, Walter T H, Petersen J S, Niederlaender C L, Neue U D. Simple preparation of a C8 HPLC stationary phase with an internal polar functional group. *Anal Chem*, 1995, 67: 3809—3813[DOI]
- 35 Baszewski B, Jaroniec M, Gilpin R K. Studies of physicochemical and chromatographic properties of mixed amino-alkylamide bonded phases. *J Chromatogr A*, 1994, 673: 11—19[DOI]
- 36 Yu X, Zhao R, Liu G Q. A novel packing material for rp-hplc. *J Liq Chromatogr Rel Technol*, 2000, 23: 1821—1830[DOI]
- 37 Feibush B. A new chemically deactivated silica-based reverse phase/ion exchange support. *J Liq Chromatogr Rel Technol*, 1996, 19: 2315—2328[DOI]
- 38 Kirkland J J, Henderson J W, Martosella J D, Bidingmeyer B A, Vasta-Russell J, Adams Jr B A. A highly stable alkyl-amide silica-based column packing for reversed-phase HPLC of polar and ionizable compounds. *LC-GC*, 1999, 17: 634
- 39 Priogov A V, Platonov M M, Shpigum O A. Polyelectrolyte sorbents based on aliphatic ionenes for ion chromatography. *J Chromatogr A*, 1999, 850: 53—63[DOI]
- 40 龙远德, 杨晓晔, 黄天宝. 十四烷基胺键合固定相的反相色谱性能. 色谱, 1999, 17 (14): 339—341
- 41 Anderson D J. High-performance liquid chromatography (advances in packing materials). *Anal Chem*, 1995, 67 (12): 475—486[DOI]
- 42 Hirayama C, Ihara H, Mukai T. Lipid membrane analogs: Specific retention behavior in comb-shaped telomer-immobilized porous silica gels. *Macromolecules*, 1992, 25 (23): 6375—6376[DOI]
- 43 Fukumoto T, Ihara H, Shigeyoshi Sakaki, Shosenji H, Hirayama C. Chromatographic separation of geometrical isomers using highly oriented polymer-immobilized silica gels. *J Chromatogr A*, 1994, 672 (1-2): 237—241[DOI]
- 44 Zuo Y M, Zhu B R, Liao Y, Gui M D, Pang Z L, Qi J X. Polymer encapsulated packing material for reversed phase liquid chromatography. *Chromatographia*, 1994, 38: 756—760[DOI]
- 45 Hanson M, Kurganor A, Unger K K, Davankov V A. Polymer-coated reversed-phase packings in high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A*, 1993, 656: 369—380[DOI]
- 46 杨瑞琴, 蒋生祥, 刘霞, 陈立仁. 聚硅氧烷涂敷高效液相色谱固定相的制备及性能. 分析测试学报, 1997, 16 (6): 36—38
- 47 Ma L J, Luo H, Dai J, Peter W. Development of acid stable, hyper-crosslinked, silica-based reversed-phase liquid chromatography supports for the separation of organic bases. *J Chromatogr A*, 2006, 1114: 21—28[DOI]
- 48 Trammell B C, Ma L, Luo H, Hillmyer M A, Carr P W. An ultra acid stable reversed stationary phase. *J Am Chem Soc*, 2003, 125 (35): 10504—10505[DOI]
- 49 冯钰, 达世禄, 王忠华. 混合型烷基键合硅胶液相色谱固定相的合成与性能评价. 应用化学, 1999, 16 (4): 55—57
- 50 黄晓佳, 刘莺, 丛润滋, 刘学良, 王俊德. 用于碱性物质分离的酰胺型反相色谱键合相的制备及评价. 色谱, 2001, 19(4): 293—296
- 51 周蓉, 范毅, 冯钰琦, 达世禄. 苯胺甲基键合固定相的合成和色谱性能. 应用化学, 2002, 19 (1): 66—70
- 52 Buszewski B, Tezierska M, Bogusaw B, Marta J, Mirosaw W, Duan B. Survey and trends in the preparation of chemically bonded silica phases for liquid chromatographic analysis. *J High Resol Chromatogr*, 1998, 21 (5): 267—281[DOI]
- 53 刘英, 冯钰琦, 达世禄, 陈远荫. C60 键合硅胶液相色谱固定相的合成及其性能评价. 色谱, 1998, 16 (2): 115—117
- 54 Fujimoto C, Mackawa A, Murao Y, Jinno K, Takeichi T. An attempt directed toward enhanced shape selectivity in reversed-phase liq-

- uid chromatography: Preparation of the dodecylaminated beta-cyclodextrin-bonded phase. *Anal Sci*, 2002, 18: 65—68^[DOI]
- 55 Bianco A, Gasparrini F, Maggini M, Misiti D, Polese A, Prato M, Scorrano G, Toniolo C, Villani C. Molecular recognition by a silica-bound fullerene derivative. *J Am Chem Soc*, 1997, 119: 7550—7554^[DOI]
- 56 Gumanov L L, Korsounskii B L. New sorbents based on tetraphenylporphyrin bound to silica gel for the separation of C60 and C70 fullerenes. *Mendele Comm*, 1997, 7: 158—159^[DOI]
- 57 Yashima E. Polysaccharide-based chiral stationary phases for high-performance liquid chromatographic enantioseparation. *J Chromatogr A*, 2001, 906 (1-2): 105—125^[DOI]
- 58 Oguni K, Oda H, Ichida A. Development of chiral stationary phases consisting of polysaccharide derivatives. *J Chromatogr A*, 1995, 694: 91—100^[DOI]
- 59 李兵, 施介华, 杨根生. 高效液相色谱中的纤维素衍生物手性固定相. *化学通报*, 2003, 60 (3): 169—173
- 60 Chankvetadze B, Endresz G, Bergenthal D, Blaschk G. Enantioseparation of mianserine analogues using capillary electrophoresis with neutral and charged cyclodextrin buffer modifiers 13C NMR study of the chiral recognition mechanism. *J Chromatogr A*, 1995, 717: 245—253^[DOI]
- 61 Yashima E, Yamada M, Kaida Y, Okamoto Y. Computational studies on chiral discrimination mechanism of cellulose trisphenylcarbamate. *J Chromatogr A*, 1995, 694: 347—354^[DOI]
- 62 Pilar F, Antonio S, Laureano O, Cristina M. Pilar Franco. Covalently bonded polysaccharide derivatives as chiral stationary phases in high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A*, 2001, 906(1-2): 155—170^[DOI]
- 63 Chen X M, Liu Y Q, Qin F, Kong L, Zou H F. Synthesis of covalently bonded cellulose derivative chiral stationary phases with a bi-functional reagent of 3-(triethoxysilyl)propyl isocyanate. *J Chromatogr A*, 2003, 1010(2): 185—194^[DOI]
- 64 Chen X M, Qin F, Liu Y Q, Huang X D, Zou H F. Synthesis of chiral stationary phases with radical polymerization reaction of cellulose phenylcarbamate derivatives and vinylized silica gel. *J Chromatogr A*, 2004, 1034(1-2): 109—116^[DOI]
- 65 Chen X M, Chiyo Y, Yoshio O. Influence of vinyl monomers and temperature on immobilization of cellulose 3,5-dimethylphenylcarbamate onto silica gel as chiral stationary phases for high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A*, 2006, 1104 (1-2): 62—68^[DOI]
- 66 Zhang T, Nguyena D, Franco P, Murakamib T, Ohnishi A, Kurosawa H. Cellulose 3,5-dimethylphenylcarbamate immobilized on silica: A new chiral stationary phase for the analysis of enantiomers. *Anal Chim Acta*, 2006, 557(1-2): 221—228^[DOI]
- 67 Aginaka J. Protein-based chiral stationary phases for high-performance liquid chromatography enantioseparations. *J Chromatogr A*, 2001, 906(1-2): 253—273^[DOI]
- 68 Bonato P S, Bortocan R, Gaitani C M, Paia F O, Iha M H, Lima R P. Enantiomeric resolution of drugs and metabolites in polysaccharide and protein-based chiral stationary phases. *J Brazil Chem Soc*, 2002, 13 (2): 190—199
- 69 Felix G, Berthod A, Piras P, Roussel C. Part III: Supercritical fluid chromatographic separations. *Separ Purif Rev*, 2008, 37 (3): 229—301^[DOI]
- 70 Haginaka J. Recent progresses in protein-based chiral stationary phases for enantioseparations in liquid chromatography. *J Chromatogr B*, 2008, 875 (1): 12—19^[DOI]
- 71 Loeser E, Yowell G, Drumm P. Effect of tertiary alcohol additives on enantioselectivity of the chiral-AGP column. *J Liq Chromatogr Rel Technol*, 2006, 29(18): 2625—2640^[DOI]
- 72 Millot M C. Separation of drug enantiomers by liquid chromatography and capillary electrophoresis using immobilized proteins as chiral selectors. *J Chromatogr B*, 2003, 797 (1-2): 131—159^[DOI]
- 73 Sadakane Y, Matsunaga H, Nakagomi K, Hatanaka Y, Haginaka J. Protein domain of chicken alpha(1)-acid glycoprotein is responsible for chiral recognition. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 295 (3): 587—590^[DOI]
- 74 叶金翠, 殷红, 陈国神. HPLC 中的蛋白质类手性固定相用于对映体药物的拆分. *药物分析杂志*, 2003, 23 (2): 160—163
- 75 Narayanan S R. Immobilized proteins as chromatographic supports for chiral resolution. *J Pharm Biomed Anal*, 1992, 10 (4): 251—262^[DOI]
- 76 Pinkerton T G, Howe W J, Ulrich E L, Comiskey J P. Protein binding chiral discrimination of HPLC stationary phases made with whole, fragmented, and third domain turkey ovomucoid. *Anal Chem*, 1995, 67 (14): 2354—2367^[DOI]
- 77 Allenmark S, Bomgren B. Direct liquid chromatographic separation of enantiomers on immobilized protein stationary phases. *J*

- Chromatogr A, 1982, 252: 297—300[DOI]
- 78 Hermansson J. Direct liquid chromatographic resolution of racemic drugs using α_1 -acid glycoprotein as the chiral stationary phase. J Chromatogr A, 1983, 269: 71—80[DOI]
- 79 Allenmark S. Optical resolution by liquid chromatography on immobilized bovine serum albumin. J Liq Chromatogr, 1986, 9: 425—442[DOI]
- 80 Massolini G, Lorenzi E D, Ponci M C, Gandini C, Caccialanza G, Monaco H L. Egg yolk riboflavin binding protein as a new chiral stationary phase in high-performance liquid chromatography. J Chromatogr A, 1995, 704 (1): 55—65[DOI]
- 81 Marle I, Erlandsson P, Hansson L, Isaksson R, Pettersson C, Pettersson G. Separation of enantiomers using cellulase (CBHI) silica as a chiral stationary phase. J Chromatogr A, 1991, 586 (2): 233—248[DOI]
- 82 Massolini G, Lorenzi E D, Calleri E, Bertucci C, Monaco H L, Perduca M, Caccialanza G, Wainer I W. Properties of a stationary phase based on immobilised chicken liver basic fatty acid-binding protein. J Chromatogr B, 2001, 751 (1): 117—130[DOI]
- 83 张纪贵, 郝爱友. β -环糊精固定相在色谱中的应用及发展趋势. 化学研究与应用, 2003, 15(3): 303—306
- 84 陈慧, 王琴孙. 环糊精类高效液相色谱固定相的研究进展. 色谱, 1999, 17(6): 533—538
- 85 Ng S C, Ong T T, Fu P, Ching C B. Enantiomer separation of flavour and fragrance compounds by liquid chromatography using novel urea-covalent bonded methylated β -cyclodextrins on silica. J Chromatogr A, 2002, 968 (1-2): 31—40[DOI]
- 86 Lai X H, Ng S C. Enantioseparation on mono (6A-N-allylamino-6A-deoxy) permethylated β -cyclodextrin covalently bonded silica gel. J Chromatogr A, 2004, 1031 (1-2): 135—142[DOI]
- 87 Stalcup A M, Chang S C, Armstrong D W, Pitha J. (S)-2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin, a new chiral stationary phase for reversed-phase liquid chromatography. J Chromatogr A, 1990, 513: 181—194[DOI]
- 88 Fukushima T, Murayama K, Santa T, Homma H, Imai K. Enantiomeric separation of d-/l-norepinephrine and -epinephrine by high-performance liquid chromatography with a -cyclodextrin type chiral stationary phase. Biomed Chromatogr, 1998, 12: 1—3[DOI]
- 89 Zhou Z M, Fang M, Yu C X. Synthesis and chromatographic properties of alpha-Schiff bases (6-imino)-beta-cyclodextrin bonded silica for stationary phase of liquid chromatography. Anal Chim Acta, 2005, 539: 23—29[DOI]
- 90 阮源萍, 张雪曼, 陈安齐. 2,6-二-O-烷基- β -环糊精涂渍手性固定相分离联苯酚类对映异构体. 厦门大学学报(自然科学版), 2004, 43: 364—367
- 91 Zhong Q Q, He L F, Beesley T E. Development of dinitrophenylated cyclodextrin derivatives for enhanced enantiomeric separations by high-performance liquid chromatography. J Chromatogr A, 2006, 1115: 19—45[DOI]
- 92 Poon Y F, Muderawan W Y, Ng S C. Synthesis and application of mono-2(A)-azido-2(A)-deoxyperphenylcarbamoylated beta-cyclodextrin and mono-2(A)-azido-2(A)-deoxyperacetylated beta-cyclodextrin as chiral stationary phases for high-performance liquid chromatography. J Chromatogr A, 2006, 1101: 185—197[DOI]
- 93 Zhou A L, Lv X Y, Xie Y X, Yan C, Gao R Y. Chromatographic evaluation of perphenylcarbamoylated beta-cyclodextrin bonded stationary phase for micro-high performance liquid chromatography and pressurized capillary electrochromatography. Anal Chim Acta, 2005, 547(2): 158—164[DOI]
- 94 陈慧, 吕宪禹, 黄君珉, 高如瑜, 王琴孙. 衍生化环糊精键合固定相色谱保留和手性识别机理的研究(I). 高等学校化学学报, 2000, 21: 562—565
- 95 黄君珉, 陈慧, 高如瑜, 王琴孙. 衍生化环糊精键合固定相色谱保留和手性识别机理的研究(II). 高等学校化学学报, 2001, 22: 1838—1842
- 96 Zhang Y, Guo Z, Ye J, Xu Q, Liang X, Lei A. Preparation of novel β -cyclodextrin chiral stationary phase based on click chemistry. J Chromatogr A, 2008, 1191: 188—192[DOI]
- 97 Cram D J. The design of molecular hosts, guests, and their complexes. Science, 1988, 240: 760—767[DOI]
- 98 Shinbo T, Yamaguchi T, Nishimura K, Sugiura M. Chromatographic-separation of racemic amino-acids by use of chiral crown ether-coated reversed-phase packings. J Chromatogr, 1987, 405: 145—153[DOI]
- 99 Esquirel B, Nicholson L. Enantiomeric resolution of underivatized small peptides by hplc with a chiral crown-ether stationary phase. J High Res Chromatogr, 1991, 14: 816—823[DOI]
- 100 Cho Y J, Choi H J, Hyun M H. Preparation of two new liquid chromatographic chiral stationary phases based on diastereomeric chiral crown ethers incorporating two different chiral units and their applications. J Chromatogr A, 2008, 1191: 193—198[DOI]

- 101 Hyun M H, Han S C, Lipshutz, B H, Shin Y J, Welch C J. New chiral crown ether stationary phase for the liquid chromatographic resolution of alpha-amino acid enantiomers. *J Chromatogr A*, 2001, 910: 359—365 [\[DOI\]](#)
- 102 Hirose K, Nakamura T, Nishioka R, Veshige T, Tobe Y. Preparation and evaluation of novel chiral stationary phases covalently bound with chiral pseudo-18-crown-6 ethers. *Tetrahedron Lett*, 2003, 44: 1549—1551 [\[DOI\]](#)
- 103 Hirose K, Jin Y Z, Nakamura T, Nishioka R, Veshige T, Tobe Y. Preparation and evaluation of a chiral stationary phase covalently bound with chiral pseudo-18-crown-6 ether having 1-phenyl-1,2-cyclohexanediol as a chiral unit. *J Chromatogr A*, 2005, 1078: 35—41 [\[DOI\]](#)
- 104 Motellier S, Wainer I W. Direct stereochemical resolution of aspartame stereoisomers and their degradation products by high-performance liquid-chromatography on a chiral crown-ether based stationary phase. *J Chromatogr A*, 1990, 516: 365—373 [\[DOI\]](#)
- 105 Toshio S, Tomohiko Y, Hiroshi Y, Dai K, Keiji S, Masaaki. Improved crown ether-based chiral stationary phase. *J Chromatogr A*, 1992, 625: 101—108 [\[DOI\]](#)
- 106 Machida Y, Nishi H, Nakamura K, Nakai H, Sato T. Enantiomer separation of amino compounds by a novel chiral stationary phase derived from crown ether. *J Chromatogr A*, 1998, 805: 85—92 [\[DOI\]](#)
- 107 Berkecz R, Sztokov-Ivanov A, Ilisz I, Forro E, Fulop F, Hyun M H, Peter A. High-performance liquid chromatographic enantio-separation of beta-amino acid stereoisomers on a (+)- (18- crown- 6)- 2, 3, 11, 12-tetracarboxylic acid-based chiral stationary phase. *J Chromatogr A*, 2006, 1125: 138—143 [\[DOI\]](#)
- 108 Hyun M H, Tan G H, Xue J Y. Unusual resolution of N-(3, 5-dinitrobenzoyl)-alpha-amino acids on a chiral stationary phase based on (+)- (18- crown- 6)- 2, 3, 11, 12-tetracarboxylic acid. *J Chromatogr A*, 2005, 1097: 188—191 [\[DOI\]](#)
- 109 Hyun M H, Zn Y S, Cho Y J, Kim D H. Preparation of a new doubly tethered chiral stationary phase based on (+)- (18- crown- 6)- 2, 3, 11, 12- tetracarboxylic acid and its application. *J Chromatogr A*, 2006, 1108: 208—217 [\[DOI\]](#)
- 110 Zhang D D, Li F M, Kim D H, Choi H J, Hyun M H. Resolution of beta-blockers on a chiral stationary phase based on (+)-(18-crown-6)-2, 3, 11, 12-tetracarboxylic acid: Unusual temperature effect. *J Chromatogr A*, 2005, 1083: 89—95 [\[DOI\]](#)
- 111 Farkas i, Toth T, Orosz G, Huszthy P. Enantioseparation of protonated primary arylalkylamines and amino acids containing an aromatic moiety on a pyridino-crown ether based new chiral stationary phase. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2006, 17: 1883—1889 [\[DOI\]](#)
- 112 Perrin C, Coussot G, Lefebvre I, Perigaud C, Fabre H. Separation of 3'-azido-2',3'-dideoxythymidine pronucleotide diastereoisomers in biological samples by CZE with cyclodextrin addition. *J Chromatogr A*, 2006, 1111(2): 139—146 [\[DOI\]](#)
- 113 Desiderio C, Fanali S. Chiral analysis by capillary electrophoresis using antibiotics as chiral selector. *J Chromatogr A*, 1998, 807(1): 37—56 [\[DOI\]](#)
- 114 Armstrong D W, Tang Y B, Chen S S, Zhou Y W, Bagwill C, Chen J R. Macrocyclic antibiotics as a new class of chiral selectors for liquid-chromatography. *Anal Chem*, 1994, 66: 1473—1484 [\[DOI\]](#)
- 115 Pirkle W H, Dappen R. Reciprocity in chiral recognition-comparison of several chiral stationary phases. *J Chromatogr*, 1987, 404: 107—115 [\[DOI\]](#)
- 116 Pirkle W H, Welch C J, Hyun M H. A chiral recognition model for the chromatographic resolution of n-acylated 1-aryl-1- Aminoal-kanes. *J Org Chem*, 1983, 48: 5022—5026 [\[DOI\]](#)
- 117 Yang S K, Li X C. Direct enantiomeric resolution of cyclic alcohol derivatives of polycyclic aromatic-hydrocarbons by chiral stationary phase high-performance liquid-chromatography. *J Chromatogr*, 1984, 291: 265—273 [\[DOI\]](#)
- 118 Weems H B, Mushtaq, Yang S. K. Absolute-configurations of k-region epoxide enantiomers of 3-methylcholanthrene, benz[a]anthracene, and benzo[a]pyrene. *Anal Chem*, 1987, 59(22): 2679—2688 [\[DOI\]](#)
- 119 Pirkle W H, Schreiner J L. Chiral high-pressure liquid-chromatographic stationary phases. 4. separation of the enantiomers of bi-beta-naphthols and analogs. *J Org Chem*, 1981, 46: 4988—4991 [\[DOI\]](#)
- 120 Pirkle W H, Brice L J, Caccamese S, Principato G, Filla S. Facile separation of the enantiomers of diethyl N-(aryl)-1-amino-1- aryl-methanephosphonates on a rationally designed chiral stationary phase. *J Chromatogr A*, 1996, 721: 241—246 [\[DOI\]](#)
- 121 Wolf C, William H P. Enantioseparations by subcritical fluid chromatography at cryogenic temperatures. *J Chromatogr A*, 1997, 785: 173—178 [\[DOI\]](#)
- 122 Ferretti R, Gallinella R, Torre F L, Zanitti L, Bonifacio F, Piccolo O. Direct enantiomeric resolution of diphosphine and diphosphine oxide ligands by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A*, 1998, 795: 289—295 [\[DOI\]](#)

- 123 Pirkle W H, Gan K Z. Facile and predictable means of separating the enantiomers of 5-arylhydantoins. *J Chromatogr A*, 1997, 790: 65—71 [\[DOI\]](#)
- 124 Chen Y, Shiao M T. Chiral stationary phases derived from (–)-anti head-to-head coumarin dimer: Preparation, characterization, and chiral recognition ability. *Bull Chem Soc Jpn*, 1992, 65: 3423—3429 [\[DOI\]](#)
- 125 Tambute A, Begos A, Lienne M. New chiral stationary phases containing a phosphorus atom as an asymmetric centre : I. Synthesis and first chromatographic results. *J Chromatogr A*, 1987, 396: 65—81 [\[DOI\]](#)
- 126 Oi S, Shijo M, Tanaka H, Miyano S, Yamashita J. Chiral stationary phases consisting of axially dissymmetric 2'-substituted-1,1'-binaphthyl-2-carboxylic acids bonded to silica-gel for high-performance liquid-chromatographic separation of enantiomers. *J Chromatogr A*, 1993, 635: 17—28 [\[DOI\]](#)
- 127 Ôi S, Miyano S. Design and synthesis of chiral stationary phase derived from (S)-[10]paracyclophane-13-carboxylic acid for the HPLC separation of enantiomers. *Chem Lett*, 1992, 21(6): 987—990 [\[DOI\]](#)
- 128 Dobashi Y, Hara S. A chiral stationary phase derived from (R,R)-tartramide with broadened scope of application to the liquid chromatographic resolution of enantiomers. *J Org Chem*, 1987, 52(12): 2490—2496 [\[DOI\]](#)
- 129 Machida Y, Nishi H, Nakamura K, Nakai H. Enantiomeric separation of diols and β -amino alcohols by chiral stationary phase derived from (R,R)-tartramide. *J Chromatogr A*, 1997, 757: 73—79 [\[DOI\]](#)
- 130 Bruckner H, Wachsmann M. Liquid chromatographic separation of amino acid enantiomers on a silica-bonded chiral s-triazine column. *J Chromatogr A*, 1996, 728: 447—454 [\[DOI\]](#)
- 131 Bruckner H, Wachsmann M. Design of chiral monochloro-s-triazine reagents for the liquid chromatographic separation of amino acid enantiomers. *J Chromatogr A*, 2003, 998: 73—82 [\[DOI\]](#)
- 132 Lin C, Li F, Lin C. Evaluation of new chiral stationary phases of bonded cyanuric chloride with amino acid and naphthylalkylamine substituents for liquid chromatographic separation of amino acids and amino alcohols as dinitrobenzoyl derivatives. *J Chromatogr A*, 1996, 722: 211—220 [\[DOI\]](#)
- 133 Kurata K, Sakamoto S, Dobashi A. Chiral separation with novel (S)-biotin-bonded silica gel for liquid chromatography. *J Chromatogr A*, 2005, 1068(2): 335—337 [\[DOI\]](#)
- 134 祝馨怡, 陈立仁, 柳春辉. α -羧基酸在不同的手性配体交换色谱固定相上分离性能的考察. *分析化学*, 2003, 31: 650—654
- 135 Sortgia S, Zinellu A, Pisanu E, Pinna G A, Deiana L, Carru C. Enantiomeric reversed-phase high-performance liquid chromatography resolution of D-/L-penicillamine after spirocyclization with ninhydrin and by using copper(II)-L-proline complex as a chiral selector in the mobile phase. *J Chromatogr A*, 2008, 1205: 90—93 [\[DOI\]](#)
- 136 Ma G J, Gong B L, Yan C. Preparation of polymer-bonded chiral ligand exchange chromatographic stationary phase and resolution of racemates. *Chin J Anal Chem*, 2008, 36: 275—279 [\[DOI\]](#)
- 137 Zaher M, Ravelet C, Baussanne I, Ravel A, Grosset C, Decout J L, Peyrin E. Chiral ligand-exchange chromatography of amino acids using porous graphitic carbon coated with a dinaphthyl derivative of neamine. *Anal Bioanal Chem*, 2009, 393: 655—660 [\[DOI\]](#)
- 138 黄晓佳, 丁国生, 王俊德, 刘学良. 新型手性配体交换色谱固定相的合成及其对 DL-氨基酸的拆分. *色谱*, 2003, 21: 230—232
- 139 龙远德, 王群标, 黄天宝. 异喹啉酸衍生物配体交换色谱手性固定相的制备及应用. *高等学校化学学报*, 2001, 22: 566—568
- 140 孟庆华, 王圣庆, 郭瑛, 马言顺, 龙远德, 黄天宝. 异喹啉酸衍生物配体交换色谱手性固定相的制备及应用. *分析化学*, 2006, 34: 311—315
- 141 王圣庆, 孟庆华, 郭瑛, 马言顺, 龙远德, 黄天宝. L-半胱氨酸衍生物配体交换手性色谱固定相. *高等学校化学学报*, 2005, 26: 1631—1633
- 142 Hyun M H, Han S C, Lee C W, Lee Y K. Preparation and application of a new ligand exchange chiral stationary phase for the liquid chromatographic resolution of α -amino acid enantiomers. *J Chromatogr A*, 2002, 950: 55—63 [\[DOI\]](#)
- 143 Hyun M H, Han S C, Whangbo S H. New ligand exchange chiral stationary phase for the liquid chromatographic resolution of α - and β -amino acids. *J Chromatogr A*, 2003, 992: 47—56 [\[DOI\]](#)
- 144 祝馨怡, 韩小茜, 齐邦峰, 李永民, 蒋生祥, 陈立仁. 硅胶键合手性配体交换固定相键合量对 α -氨基酸拆分的影响. *色谱*, 2002, 20: 223—226
- 145 祝馨怡, 蔡迎春, 陈立仁, 李永民. α -氨基酸在 L-苯丙氨酸手性配体交换色谱固定相上的分离研究. *化学试剂*, 2003, 25: 65—68

- 146 祝馨怡, 陈立仁, 柳春辉, 李永民. α -羧基酸在不同的手性配体交换色谱固定相上分离性能的考察. 分析化学, 2003, 31: 650—654
- 147 Wang J F, Cormack A G, Sherrington D C, Khoshdel E. Monodisperse, molecularly imprinted polymer microspheres prepared by precipitation polymerization for affinity separation applications. *Angew Chem Int Ed*, 2003, 115: 5494—5496 [\[DOI\]](#)
- 148 Hawkins D W, Trache A, Ellis E A, Stevenson D, Holzenburg A, Meininger G A, Reddy S M. Quantification and confocal imaging of protein specific molecularly imprinted polymers. *Biomacromolecules*, 2006, 7: 2560—2564 [\[DOI\]](#)
- 149 Liu J Q, Wulff G. Functional mimicry of carboxypeptidase A by a combination of transition state stabilization and a defined orientation of catalytic moieties in molecularly imprinted polymers. *J Am Chem Soc*, 2008, 130: 8044—8054 [\[DOI\]](#)
- 150 Li X, Husson S M. Two-dimensional molecular imprinting approach to produce optical biosensor recognition elements. *Langmuir*, 2006, 22: 9658—9663 [\[DOI\]](#)
- 151 Wulff G, Vesper R, Grobe-Einsler R, Sarhan A. Enzymean-alogue built polymers: On the synthesis of polymers containing chiral cavities and their use for the resolution of racemates. *Makromol Chem*, 1977, 178: 2799—2816 [\[DOI\]](#)
- 152 Shannessy D, Ekberg B, Andersson L, Mosbach K. Recent advances in the preparation and use of molecularly imprinted polymers for enantiomeric resolution of amino acid derivatives. *J Chromatogr*, 1989, 470: 391—399 [\[DOI\]](#)
- 153 Quaglia M, De Lorenzi E, Sulitzky C, Caccialanza G, Sellergren B. Molecularly imprinted polymer films grafted from porous or non-porous silica: Novel affinity stationary phases in capillary electrochromatography. *Electrophoresis*, 2003, 24(6): 952—957 [\[DOI\]](#)
- 154 Titirici M M, Sellergren B. Thin molecularly imprinted polymer films via reversible addition-fragmentation chain transfer polymerization. *Chem Mater*, 2006, 18 (7): 1773—1779 [\[DOI\]](#)
- 155 Sellergren B, Ruckert B, Hall A J. Layer-by-layer grafting of molecularly imprinted polymers via iniferter modified supports. *Adv Mater*, 2002, 14: 1204 [\[DOI\]](#)
- 156 Sulitzky C, Rückert B, Hall A J, Lanza F, Unger K, Sellergren B. Grafting of molecularly imprinted polymer films on silica supports containing surface-bound free radical initiators. *Macromolecules*, 2002, 35: 79—91 [\[DOI\]](#)
- 157 Lu C H, Zhou W H, Han B, Yang H H, Chen X, Wang X R. Surface-imprinted core-shell nanoparticles for sorbent assays. *Anal Chem*, 2007, 79: 5457—5461 [\[DOI\]](#)
- 158 Wang H J, Zhou W H, Yin X F, Zhuang Z X, Yang H H, Wang X R. Template synthesized molecularly imprinted polymer nanotube membranes for chemical separations. *J Am Chem Soc*, 2006, 128: 15954—15955 [\[DOI\]](#)
- 159 Wirth M J, Fairbank R W P, Fatunmbi H O. Mixed self-assembled monolayers in chemical separations. *Science*, 1997, 275: 44—47 [\[DOI\]](#)
- 160 Kiseleva M G, Nesterenko Pavel N. Novel stationary phase with regulated anion-exchange capacity. *J Chromatogr A*, 2001, 920: 87—93 [\[DOI\]](#)
- 161 Liu X, Jiang S X, L R Chen, Y Q Xu, P Ma. Determination of inorganic ions in oil field waters by single-column ion chromatography. *J Chromatogr A*, 1997, 789: 569—573 [\[DOI\]](#)
- 162 Yang R Q, Jiang S X, Liu X, Chen L R. Chloromethylstyrene encapsulated and quaternized silica anion exchanger in high performance liquid chromatography. *Talanta*, 1999, 48: 1045—1050 [\[DOI\]](#)
- 163 Priogov A V, Platonov M M, Shpigun O A. Polyelectrolyte sorbents based on aliphatic ionenes for ion chromatography. *J Chromatogr A*, 1999, 850: 53—63 [\[DOI\]](#)
- 164 Krokhin O V, Smolenkov A D, Svintsova N V, Obrezkov O N, Shpigun O A. Modified silica as a stationary phase for ion chromatography. *J Chromatogr A*, 1995, 706: 93—98 [\[DOI\]](#)
- 165 Ito K, Kumamaru T. Separation and detection of common mono-and divalent cations by ion chromatography with an ODS column and conductivity/UV detection. *J Chromatogr A*, 1999, 850: 247—256 [\[DOI\]](#)
- 166 Heinemann G, K  hler J G, Scholmburg G. New polymer coated anion-exchange HPLC-phases: Immobilization of poly (2-hydroxy, 3N-ethylenediamino) butadiene on silica and alumina. *Chromatographia*, 1987, 23: 435—441 [\[DOI\]](#)
- 167 Hu W, Kazuhiko T, Kyoshi H. Determination of inorganic anions in biological fluids with direct sample injection by electrostatic ion chromatography using zwitterionic micelles in both stationary and mobile phases. *Analyst*, 2000, 125: 447—451 [\[DOI\]](#)
- 168 Hu W, Haddad P R, Tanaka K, Mori M, Tekura K, Hasebe K, Ohno M, Kamo N. Creation and characteristics of phosphatidylcholine stationary phases for the chromatographic separation of inorganic anions. *J Chromatogr A*, 2003, 997: 237—242 [\[DOI\]](#)

- 169 何丽君, 郭勇, 邵士俊, 温博, 刘霞, 蒋生祥. 杯[4]吡咯涂敷 C₁₈(18)反相色谱柱分离阴离子及酚类化合物. 色谱, 2003, 21(5): 487—489
- 170 Zhu Y, Paul R H, James S F. Ion chromatography on reversed-phase materials coated with mixed cationic and nonionic surfactants. *J Chromatogr A*, 2003, 985: 359—365 [\[DOI\]](#)
- 171 Otha K, Sando M, Tanaka K, Haddad P R. Simultaneous determination of common mono- and divalent cations by ion chromatography with an unmodified silica gel column. *J Chromatogr A*, 1996, 752: 167—172 [\[DOI\]](#)
- 172 Otha K, Morikawa H, Tanaka K, Uryu Y, Paull B, Haddad P R. Ion chromatographic behavior of alkali and alkaline earth metal cations on silica gel columns with cation exchange characteristics. *Anal Chim Acta*, 1998, 359(3): 255—261 [\[DOI\]](#)
- 173 Otha K, Morikawa H, Tanaka K, Haddad P R. Non-suppressed ion chromatography of cations on silica gel modified with aluminium. *J Chromatogr A*, 1998, 804: 171—177 [\[DOI\]](#)
- 174 Otha K, Tanaka K, Haddad P R. Simultaneous separation of common mono- and divalent cations on silica gels modified with aluminium and zirconium. *Trends Anal Chem*, 2001, 20: 330—335 [\[DOI\]](#)
- 175 Läubli M W, Kampus B. Cation analysis on a new poly(butadiene-maleic acid)-based column. *J chromatogr* 1995, 706: 99—102 [\[DOI\]](#)
- 176 Nair L M, Nordhaus R S, Anderson J M. Ion chromatographic separation of transition metals on a polybutadiene maleic acid-coated stationary phase. *J Chromatogr*, 1994, 671: 43—49 [\[DOI\]](#)
- 177 杨瑞琴, 蒋生祥. 聚马来酸包夹硅胶基质单柱弱阳离子色谱柱填料. 分析化学, 1998, 26(2): 151—153
- 178 邢彬, 常璇, 龚波林. 以涂敷型硅胶为基质的弱阳离子交换色谱固定相的制备及其在生物大分子分离中的应用. 宁夏大学学报(自然科学版). 2007, 28(4): 350—353
- 179 Kimura K, Hayata E, Shono T. Convenient, efficient crown ether-containing stationary phases for chromatographic separation of alkali metal ions: dynamic coating of highly lipophilic crown ethers on octadecylsilanized silica. *J Chem Soc, Chem Commun*, 1984, 271—272
- 180 Kimura K, Harino H, Hayata E, Shono T. Liquid chromatography of alkali and alkaline-earth metal ions using octadecylsilanized silica columns modified in situ with lipophilic crown ethers. *Anal Chem*, 1986, 58: 2233—2237 [\[DOI\]](#)
- 181 Hu W Z, Haddad P R, Hasebe K, Tanaka K. Electrostatic ion chromatography of cations using an N-dodecylphosphocholine zwitterionic stationary phase and water as the mobile phase. *Anal Commun*, 1999, 36: 97—100 [\[DOI\]](#)
- 182 Xu Q, Mori M, Tanaka K, Hu W, Haddad P R. Ion chromatographic separation of hydrogen ion and other common mono- and divalent cations. *J Chromatogr A*, 2004, 1023: 239—245 [\[DOI\]](#)
- 183 Guo L, Ding M Y. Dynamic coating ion-exchange chromatography of cations on an octadecyl-bonded silica stationary phase. *J Chromatogr A*, 2002, 946: 169—175 [\[DOI\]](#)
- 184 Siriraks A, Kingston H M. Chelation ion chromatography as a method for trace elemental analysis in complex environmental and biological samples. *Anal Chem*, 1990, 62(11): 1185—1193 [\[DOI\]](#)
- 185 Voloschik I N, Litvina M L, Rudenko B A. Ion chromatographic determination of beryllium in rock and waste waters with a chelating sorbent and conductimetric detection. *J Chromatogr A*, 1995, 706: 315—319 [\[DOI\]](#)
- 186 Thompson H W, Jezorek J R. Single-injection liquid chromatographic separation of a mixture of transition metals, neutral organics, and inorganic anions on a bonded 8-quinolinol stationary phase. *Anal Chem*, 1991, 63: 75—78 [\[DOI\]](#)
- 187 丁明玉, 铃木义仁, 小泉均. 日本分析化学会第 8 回离子色谱恳谈会演讲摘要集. 东京: 日本分析化学会, 1991. 40—41
- 188 Karim K J B A, Jin J Y, Takeuchi T. Simultaneous separation of inorganic anions and cations by using anion-exchange and cation-exchange columns connected in tandem in ion chromatography. *J Chromatogr A*, 2003, 995: 153—160 [\[DOI\]](#)
- 189 Ding M Y, Suzuki Y, Koizumi H. Selective detection using a suppressor switching technique for anions and cations in beverages by ion chromatography. *Bunseki Kagaku*, 1993, 42: 343—349
- 190 Nesterenko P N, Haddad P R. Zwitterionic ion-exchange in liquid chromatography. *Anal Sci*, 2000, 16: 565—574 [\[DOI\]](#)
- 191 Hu W Z, Haddad P R. Electrostatic ion chromatography. *Trends Anal Chem*, 1998, 17: 73—79 [\[DOI\]](#)
- 192 Hu W, Takeuchi T, Haraguchi H. Electrostatic ion chromatography. *Anal Chem*, 1993, 65: 2204—2208 [\[DOI\]](#)
- 193 Jiang W, Irgum K. Covalently bonded polymeric zwitterionic stationary phase for simultaneous separation of inorganic cations and anions. *Anal Chem*, 1999, 71: 333—334 [\[DOI\]](#)
- 194 Jiang W, Irgum K. Synthesis and evaluation of polymer-based zwitterionic stationary phases for separation of ionic species. *Anal*

- Chem, 2001, 73: 1993—2003[\[DOI\]](#)
- 195 Cook H A, Dicoski G W, Haddad P R. Mechanistic studies on the separation of cations in zwitterionic ion chromatography. *J Chromatogr A*, 2003, 997: 13—20[\[DOI\]](#)
- 196 Nesterenko P N. Application of amino acid-bonded silicas as ion exchangers for the separation of anions by single-column ion chromatography. *J Chromatogr A*, 1992, 605(2): 199—204[\[DOI\]](#)
- 197 Kiseleva M G, Kebets P A, Nesterenko P N. Simultaneous ion chromatographic separation of anions and cations on poly(aspartic acid) functionalized silica. *Analyst*, 2001, 126: 2119—2123[\[DOI\]](#)
- 198 邹汉波, 董新法, 林维明. 离子液体及其在绿色有机合成中的应用. *化学世界*, 2004, 2: 107—111
- 199 李达, 张玉梅, 朱方亮, 王华平, 王彪. 离子液体在自由基聚合反应中的应用研究进展. *高分子通报*, 2006, 7: 38—46
- 200 Gu Y L, Shi F, Deng Y Q. Esterification of aliphatic acids with olefin promoted by Brønsted acidic ionic liquids. *J Mol Catal A-Chem*, 2004, 212: 71—75[\[DOI\]](#)
- 201 Zhao D, Fei Z, Geldbach T J, Scopelliti R, Dyson P J. Nitrile-functionalized pyridinium ionic liquids: Synthesis, characterization, and their application in carbon-carbon coupling reactions. *J Am Chem Soc*, 2004, 126: 15876—15882[\[DOI\]](#)
- 202 Dupont J, Souza R F D, Suarez P A Z. Ionic liquid (molten salt) phase organometallic catalysis. *Chem Rev*, 2002, 102: 3667—3692[\[DOI\]](#)
- 203 Li D M, Shi F, Guo S, Deng Y Q. One-pot synthesis of silica gel confined functional ionic liquids: effective catalysts for deoxygenation under mild conditions. *Tetrahedron Lett*, 2004, 45: 265—268[\[DOI\]](#)
- 204 Gui J Z, Cong X H, Liu D, Zhang X T, Hu Z D, Sun Z L. Novel Brønsted acidic ionic liquid as efficient and reusable catalyst system for esterification. *Catal Commun*, 2004, 5(9): 473—477[\[DOI\]](#)
- 205 Ohno H, Yoshizawa M, Ogihara W. A new type of polymer gel electrolyte: zwitterionic liquid/polar polymer mixture. *Electrochim. Acta*, 2003, 48: 2079—2083
- 206 肖小华, 刘淑娟, 刘霞, 蒋生祥. 离子液体及其在分离分析中的研究进展. *分析化学*, 2005, 33(4): 569—574
- 207 Baker G A, Baker S N, Pandey S, Bright F V. An analytical view of ionic liquids. *Analyst*, 2005, 130: 800—808[\[DOI\]](#)
- 208 Pandey S. Analytical applications of room-temperature ionic liquids: A review of recent efforts. *Anal Chim Acta*, 2006, 556: 38—45[\[DOI\]](#)
- 209 Anderson J L, Armstrong D W, Wei G T. Ionic liquids in analytical chemistry. *Anal Chem*, 2006, 78(9): 2892—2902[\[DOI\]](#)
- 210 段培高, 王媛媛, 戴立益. 离子液体在分析化学领域中的应用. *化学世界*, 2006, 47(3): 183—187
- 211 Armstrong D W, He L F, Liu Y S. Examination of ionic liquids and their interaction with molecules, when used as stationary phases in gas chromatography. *Anal Chem*, 1999, 71: 3873—3876[\[DOI\]](#)
- 212 Anderson J L, Ding J, Welton T, Armstrong D W. Characterizing ionic liquids on the basis of multiple solvation interactions. *J Am Chem Soc*, 2002, 124: 14247—14254[\[DOI\]](#)
- 213 Anderson J L, Armstrong D W. High-stability ionic liquids. A new class of stationary phases for gas chromatography. *Anal Chem*, 2003, 75: 4851—4858[\[DOI\]](#)
- 214 Yanes E G, Gratz S R, Baldwin M J, Robison S E, Stalcup A M. Capillary electrophoretic application of 1-alkyl-3-methylimidazolium-based ionic liquids. *Anal Chem*, 2001, 73: 3838—3844[\[DOI\]](#)
- 215 Jiang T F, Gu Y L, Liang B, Li J B, Shi Y P, Ou Q Y. Dynamically coating the capillary with 1-alkyl-3-methylimidazolium-based ionic liquids for separation of basic proteins by capillary electrophoresis. *Anal Chim Acta*, 2003, 479: 249—254[\[DOI\]](#)
- 216 He L J, Zhang W Z, Zhao L, Liu X, Jiang S X. Effect of 1-alkyl-3-methylimidazolium-based ionic liquids as the eluent on the separation of ephedrine by liquid chromatography. *J Chromatogr A*, 2003, 1007: 39—45[\[DOI\]](#)
- 217 Xiao X H, Zhao L, Liu X, Jiang S X. Ionic liquids as additives in high performance liquid chromatography, Analysis of amines and the interaction mechanism of ionic liquids. *Anal Chim Acta*, 2004, 519: 207—211[\[DOI\]](#)
- 218 Zhang W Z, He L J, Gu Y L, Liu X, Jiang S X. Effect of ionic liquids as mobile phase additives on retention of catecholamines in reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Anal Lett*, 2003, 36: 827—838[\[DOI\]](#)
- 219 Zhang W Z, He L J, Liu X, Jiang S X. Ionic liquids as mobile phase additives for separation of nucleotides in high-performance liquid chromatography. *Chin J Chem*, 2004, 22: 549—552
- 220 Ruiz-Angel M J, Carda-Broch S, Berthod A. Ionic liquids versus triethylamine as mobile phase additives in the analysis of β -blockers. *J Chromatogr A*, 2006, 1119: 202—208[\[DOI\]](#)

- 221 Berthod A, Ruiz-Angel M J, Huguet S. Nonmolecular solvents in separation methods: dual nature of room temperature ionic liquids. *Anal Chem*, 2005, 77: 4071—4080 [\[DOI\]](#)
- 222 Kaliszan R, Marszał M P, Markuszewski M J, Bączek T, Pernak J. Suppression of deleterious effects of free silanols in liquid chromatography by imidazolium tetrafluoroborate ionic liquids. *J Chromatogr A*, 2004, 1030: 263—271 [\[DOI\]](#)
- 223 Marszał M P, Bączek T, Kaliszan R. Reduction of silanophilic interactions in liquid chromatography with the use of ionic liquids. *Anal Chim Acta*, 2005, 547: 172—178 [\[DOI\]](#)
- 224 Sun Y, Cabovska B, Evans C E, Ridgway T H, Stalcup A M. Retention characteristics of a new butylimidazolium-based stationary phase. *Anal Bioanal Chem*, 2005, 382: 728—734 [\[DOI\]](#)
- 225 Sun Y Q, Stalcup A M. Mobile phase effects on retention on a new butylimidazolium-based high-performance liquid chromatographic stationary phase. *J Chromatogr A*, 2006, 1126: 276—282 [\[DOI\]](#)
- 226 Aulera L M L A, Silvab C R, Collinsb K E, Collins C H. New stationary phase for anion-exchange chromatography. *J Chromatogr A*, 2005, 1073: 147—153 [\[DOI\]](#)
- 227 Liu S J, Zhou F, Zhao L, Xiao X H, Liu X, Jiang S X. Immobilized 1,3-dialkylimidazolium salts as new interface in HPLC separation. *Chem Lett*, 2004, 33(5): 496—497 [\[DOI\]](#)
- 228 Qiu H D, Jiang S X, Liu X. N-Methylimidazolium anion-exchange stationary phase for high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A*, 2006, 1103: 265—270 [\[DOI\]](#)
- 229 Qiu H D, Jiang S X, Liu X, Zhao L. Novel imidazolium stationary phase for high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A*, 2006, 1116: 46—50 [\[DOI\]](#)
- 230 Qiu H D, Jiang Q, Wei Z, Wang X S, Liu X, Jiang S X. Preparation and evaluation of a silica-based 1-alkyl-3-(propyl-3-sulfonate) imidazolium zwitterionic stationary phase for high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A*, 2007, 1163: 63—69 [\[DOI\]](#)
- 231 Qiu H D, Wang L C, Liu X, Jiang S X. Preparation and characterization of silica confined ionic liquids as chromatographic stationary phases through surface radical chain-transfer reaction. *Analyst*, 2009, 134: 460—465 [\[DOI\]](#)
- 232 Sun M, Qiu H D, Wang L C, Liu X, Jiang S X. Poly(1-allylimidazole)-grafted silica, a new specific stationary phase for reversed-phase and anion-exchange liquid chromatography. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(18): 3904—3909 [\[DOI\]](#)
- 233 Liang X J, Chen Q S, Liu X, Jiang S X. Comparison of liquid chromatographic behaviors on N-methylimidazolium functionalized $\text{ZrO}_2/\text{SiO}_2$ -4 and N-methylimidazolium functionalized SiO_2 stationary phases. *J Chromatogr A*, 2008, 1182: 197—204 [\[DOI\]](#)
- 234 Qiu H D, Zhang Q H, Chen L M, Liu X, Jiang S X. Long-chain alkylimidazolium ionic liquids, a new class of cationic surfactants coated on ODS columns for anion-exchange chromatography. *J Sep Sci*, 2008, 31: 2791—2796 [\[DOI\]](#)
- 235 敦惠娟, 宋秀芹, 魏雨, 李永民, 陈立仁. 表层纳米氧化钛包覆硅球色谱载体的制备和表征. *高等学校化学学报*, 2003, 24: 2192—2194
- 236 Dun H J, Zhang W Q, Wei Y, Song X Q, Li Y M, Chen L R. Layer-by-layer self-assembly of multilayer zirconia nanoparticles on silica spheres for HPLC packings. *Anal Chem*, 2004, 76: 5016—5023 [\[DOI\]](#)
- 237 葛晋, 翟宗德, 明永飞, 赵艳芳, 李永民, 陈立仁. 分子自组装氧化钛包覆硅球色谱柱载体的制备及正相色谱性能研究. *分析化学*, 2006, 34: 73—76
- 238 葛晋, 张红丽, 李秀娟, 邵士俊, 李永民, 陈立仁. 两种新型反相高效液相色谱填料疏水选择性能的比较. *色谱*, 2006, 24: 376—379
- 239 Ge J, Li Y M, Chen L R. Characterization of $\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$ based stationary phase for RP-HPLC. *J Liq Chromatogr Rel Technol*, 2006, 29: 2329—2339 [\[DOI\]](#)
- 240 Ge J, Shi X F, Li Y M, Chen L R. Preparation and evaluation of octadecyl-bonded $\text{ZrO}_2/\text{SiO}_2$. *Chromatographia*, 2006, 63(1): 25—30 [\[DOI\]](#)
- 241 杨俊俊, 王晖, 左育民. 碳十八键合硅胶固定相的制备与色谱性能评价. *高等学校化学学报*, 2002, 23: 835—838
- 242 Kawahara M, Nakamura H, Nakajima T. Titania and zirconia: Possible new ceramic microparticulates for high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A*, 1990, 515: 149—158 [\[DOI\]](#)
- 243 Liang X J, Wang S, Niu J G, Liu X, Jiang S X. Preparation and ion chromatographic properties of a new core-shell chromatographic support $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$ -10. *J Chromatogr A*, 2009, 1216: 3054—3058 [\[DOI\]](#)

The research progress of full porous spherical silica based packing for high performance liquid chromatography

JIANG ShengXiang^{*} & LIU Xia

Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China

Abstract: Combining with the work done in our laboratory, we review the research progress of full porous spherical silica-based packing material for high performance liquid chromatography, which include: normal phase chromatographic packing, reverse phase chromatographic packing, chiral chromatographic packing, ion chromatographic packing and core-shell chromatographic packing. In this review we citing more than 200 references.

Keywords: full porous spherical silica, high performance liquid chromatography packing, chromatography