

基于共价有机框架的SiO₂@COF_{ETTA-Td}核壳型固定相的制备及色谱性能研究

吴帆, 田文锴, 刘锦, 张秋婷, 钟燕辉, 林子俺*

福州大学化学学院, 福州 350108

摘要: 本实验旨在设计新型固定相以实现各种分析物的高效分离并应用于教学实验。在二氧化硅微球的表面修饰上共价有机框架, 合成具有核壳结构的复合材料(SiO₂@COF_{ETTA-Td}), 并将其作为混合模式固定相用于高效液相色谱分离。得益于共价有机框架的优异性质, SiO₂@COF_{ETTA-Td}填充柱在分离烷基苯类、苯胺类和磺胺类等物质中表现出高柱效和优异的分选度, 并成功应用于邻苯二甲酸酯类、抗癫痫药物和PM_{2.5}中多环芳烃类物质的分离, 这进一步证明SiO₂@COF_{ETTA-Td}固定相在复杂生物样品的分离分析潜力。通过这个实验, 学生可以熟练掌握高效液相色谱的操作, 加深巩固色谱相关理论, 了解核壳型固定相分离原理并提高他们的科研思维 and 创新能力。

关键词: 高效液相色谱; 共价有机框架; 核壳型固定相; 仪器分析实验

中图分类号: G64; O6

Core-Shell Structured Covalent Organic Framework-Coated Silica Microspheres as Mixed-Mode Stationary Phase for High Performance Liquid Chromatography

Fan Wu, Wenchang Tian, Jin Liu, Qiuting Zhang, Yanhui Zhong, Zian Lin *

College of Chemistry, Fuzhou University, Fuzhou 350108, China.

Abstract: This experiment aims to design novel stationary phases for efficient separation of various analytes and apply them in teaching experiments. Covalent organic frameworks (COFs) were coated onto silica microspheres to synthesize core-shell structured composites (SiO₂@COF), which were then employed as a mixed-mode stationary phase for high performance liquid chromatography (HPLC). Thanks to the excellent properties of the covalent organic framework, the alkylbenzenes, anilines, phenols, sulfonamides, nucleosides and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), were well separated on the SiO₂@COF packed column. In addition, the SiO₂@COF_{ETTA-Td} stationary phase was successfully applied in the separation of phthalates, antiepileptic drugs, and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in PM_{2.5}, further demonstrating its potential for the separation and analysis of complex biological samples. Through this experiment, students can master the operation of HPLC, deepen and consolidate their understanding of chromatography, grasp the principles of core-shell stationary phase separation, and improve their scientific thinking and innovation abilities.

Key Words: High performance liquid chromatography; Covalent organic frameworks; Core-shell stationary phase; Instrumental analysis experiment

收稿: 2024-03-11; 录用: 2024-04-23; 网络发表: 2024-09-04

*通讯作者, Email: zianlin@fzu.edu.cn

基金资助: 国家自然科学基金(22274021); 福建省自然科学基金(2022J01535); 福建省本科高校教育教学研究项目(FBJG20220268); 福州大学本科教育教学研究项目

高效液相色谱(High-performance liquid chromatography, HPLC)是分析化学领域重要的分离技术之一,具备了快速、灵敏度高和重现性好等优势,被广泛应用于生物医药、农业、工业和食品等领域^[1-3]。同时,固定相是色谱分离的核心,是保证各个分析物有效分离的关键,固定相填料的设计、制备和应用是色谱工作者研究热点之一^[4]。

硅胶基质是最早使用和研究最深入的液相色谱固定相,但由于硅胶基质化学稳定性较低,一般只能在pH为2至8范围内使用,一定程度上限制了硅胶微球作为固定相的广泛应用^[5,6]。近年来,以二氧化硅微球为内核和以多孔材料为外壳的核壳型固定相因其流速快和柱压低的优势而被广泛使用^[7]。共价有机框架(Covalent organic frameworks, COFs)是一类高结晶度的多孔有机聚合物,具有比表面积高、化学稳定性好、孔径可调、结构多样等优点,是理想的分离材料之一^[8,9]。因此,设计与合成SiO₂@COF的核壳结构色谱固定相具有广泛的应用前景。

本校开设了高效液相色谱基础类教学实验,教学重心基本是高效液相色谱的操作以及仪器工作原理的理解^[10]。固定相是色谱分离的核心,在日常的教学实验中,我们一般选择C18色谱柱作为固定相,选择较为单一,其他种类色谱柱没有进一步介绍及使用。本文设计的核壳型材料可作为色谱固定相应用于复杂样品的分析,选择邻苯二甲酸酯类物质、抗癫痫药物和PM_{2.5}中的多环芳烃类物质等作为本科实验教学项目。该实验具有较高的综合性、趣味性和实用性,丰富了教学内容,有助于学生深入思考高效液相色谱分析分离原理。以课堂学习的知识为基础,通过本实验教学,学生能更好地理解固定相填料种类、尺寸和形貌对柱效的影响,更能加深学生对知识的理解和记忆。另外,通过比较C18填充柱、SiO₂-NH₂填充柱和核壳型填充柱的分析结果,让学生学会如何根据样品性质,选择合适的色谱柱应用于分析分离,有助于扩展学生的视野,提高他们的科研思维 and 创新能力^[11]。

1 实验目的

- (1) 了解高效液相色谱的基本结构和工作原理;熟练掌握高效液相色谱的使用方法。
- (2) 了解核壳型色谱固定相的制备方法和填充柱装填的基本过程。
- (3) 理解HPLC固定相的色谱保留机制和分离原理。

2 实验原理

高效液相色谱是分析化学领域重要的分离技术之一,以液体作为流动相,采用高压输液泵和小颗粒的填料,根据混合物中各组分在固定相和流动相的相互作用强弱不同,在固定相中滞留时间不同,从而实现对试样的分离分析,与经典的液相色谱相比,其具有很高的柱效和分离能力,适用于广泛的应用领域。

色谱柱是液相色谱仪的核心部件,对于色谱柱性能评价的一个最重要依据是速率理论,从动力学角度较好地解释了影响色谱柱柱效的因素。速率理论指出,影响色谱动力学的因素主要包括涡流扩散、纵向分子扩散和传质阻力,理论基础是著名Van Deemter方程^[12]:

$$H = A + B/u + Cu \quad (1)$$

其中: H 为理论塔板高度,mm; u 为流动相的平均线速度, $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$; A 、 B 、 C 为常数,分别代表涡流扩散项系数、分子扩散项系数和传质阻力项系数。

(1) 涡流扩散:由于色谱柱内填充颗粒的结构不同,溶质分子在色谱柱中的流动阻力不同,形成紊乱流动而引起的峰展宽。固定相颗粒越小,填充得越均匀,涡流扩散越小,色谱峰越窄,柱效越高。但粒度太小,会导致柱压太高且不易填充均匀。总之,应采用细而均匀的颗粒填充色谱柱,这样有助于提高柱效。

(2) 分子扩散:由于溶质分子在柱内存在浓度梯度,使分子产生纵向扩散而引起的峰展宽。但在HPLC中,只要流速不太低, B 项可以忽略不计。

(3) 传质阻力:由于溶质分子在流动相和固定相中的传质过程而导致的峰展宽。固定相的颗粒

越小, 孔径越大, 传质阻力就越小, 传质速率越高。所以减小填料的粒度, 减小传质阻力, 是提高液相色谱柱效的关键。

(4) 流动相的线速度: 以 H 对 u 作图, 可以得到最佳线速度 u_{opt} , H 最小。但在液相色谱中, u_{opt} 很小, 分析样品时间长。因此一般选择 $1 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ 的流速进行操作。

评价色谱柱的性能参数主要是分离度, 其计算公式为:

$$R_s = (2t_{R1} - t_{R2}) / (W_1 + W_2) \quad (2)$$

在公式(2)中, t_R 为测试物的保留时间; $W_{1/2}$ 为色谱峰的半峰宽; t_{R1} 、 t_{R2} 分别为相邻两峰的保留时间, W_1 、 W_2 分别为两峰的底宽。通常认为, 分离度 R_s 越大, 分离效果越好。根据计算, 当 $R_s = 1$ 时, 等面积峰的分离可达90%左右, $R_s = 1.5$ 时两峰分离达99.7%, 可视为完全分离。

3 仪器与试剂

3.1 仪器

本实验所用仪器: LC-20AT高效液相色谱(日本Shimadzu公司)、HYHPLC-M色谱装柱机(北京海德利森)和JIDI-5G低速离心机(广州吉迪有限公司)。

3.2 试剂与材料

所有化学试剂均为分析纯及以上纯度, 无需进一步纯化处理即可使用。以下是各化学试剂的供应商和来源: 所用试剂纯度为分析纯及以上。四(4-氨基苯基)乙烷(ETTA)和4,4'-(苯并[c][1,2,5]噻二唑-4,7-二基)二苯甲醛(Td)、甲醇(MeOH, 色谱纯)、乙腈(ACN, 色谱纯)、四氢呋喃(THF)、乙醇(EtOH)、醋酸、异丙醇、正己烷、丙酮、邻二氯苯、正丁醇、甲苯、乙苯、丙苯、丁苯、邻苯二胺、N-甲基苯胺、萘胺、二苯胺、胸腺嘧啶、尿嘧啶、尿苷、腺嘌呤、磺胺二甲基嘧啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺嘧啶、联苯、茚、茈、菲、邻苯二甲酸二甲酯(DMP)、邻苯二甲酸二丙酯(DPrP)、邻苯二甲酸二丁酯(DBP)、邻苯二甲酸丁基苄酯(BBP)、邻苯二甲酸二环己酯(DCHP)、卡马西平(CBZ)和卡马西平-10,11-环氧化物(CBZEP)均购自上海阿拉丁试剂有限公司。填充柱填料 $\text{SiO}_2\text{-NH}_2$ (3 μm)和C18 (3 μm)购自天津倍思乐色谱技术开发中心。空色谱柱管(50 mm \times 2.1 mm i.d.)购自浙江月旭科技有限公司。

3.3 材料制备及色谱柱填装

如图1所示, 采用一锅法合成 $\text{SiO}_2@\text{COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 核壳结构的复合材料。首先, 往10 mL的耐热管里加入 $\text{SiO}_2\text{-NH}_2$ (50 mg), ETTA (11.8 mg, 30 μmol)和Td (20.7 mg, 60 μmol), 再加入1 mL混合溶液(邻二氯苯/正丁醇, 2 : 1, v/v), 超声至混合均匀。接着加入醋酸(6 mol $\cdot\text{L}^{-1}$, 0.1 mL), 超声15 min。再将耐热管置于液氮中冷冻, 抽真空, 重复操作三次。最后把耐热管置于120 $^\circ\text{C}$ 烘箱中反应3天, 合成的产物用THF和乙醇洗涤后, 置于60 $^\circ\text{C}$ 真空下干燥备用。

所制备的核壳型色谱固定相以高压匀浆法填充到空色谱柱管(50 mm \times 2.1 mm i.d.)。首先称取100 mg $\text{SiO}_2@\text{COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 填料置于50 mL烧杯中, 加入40 mL混合溶液(异丙醇 : 乙腈 = 1 : 1), 超声10

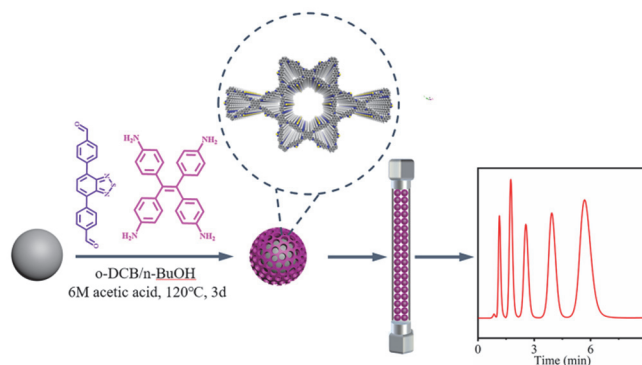


图1 $\text{SiO}_2@\text{COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 合成示意图

min. 然后将超声后的溶液倒入下端接有色谱柱的匀浆罐中, 接着把匀浆罐接上装柱机。最后把甲醇倒入匀浆杯中, 打开仪器, 在50 MPa的输出压力下填柱1 h。填柱完毕后, 将制得的色谱柱接到高压恒流泵上, 以甲醇作为流动相, 在0.3 mL·min⁻¹的流速下冲洗24 h。C18填充柱和SiO₂-NH₂填充柱的制备的方法与上述一致。

SiO₂@COF_{ETTA-Td}填充柱、C18填充柱和SiO₂-NH₂填充柱由实验员提前制备好, 本教学实验不要求学生合成该材料以及色谱柱的填装。

4 实验步骤

4.1 分析物制备和色谱分离条件

烷基苯类、苯胺类、多环芳烃类、邻苯二甲酸酯类和磺胺类标准品溶解在乙腈中作为标准溶液, 再用乙腈稀释到相应的浓度。核苷类物质溶解在水中作为标准溶液, 再用水稀释到相应的浓度。烷基苯类、苯胺类、多环芳烃类和邻苯二甲酸酯类物质的检测波长为214 nm; 磺胺类物质的检测波长为270 nm, 核苷类物质的检测波长为254 nm。流动相为乙腈/水, 流速为0.3 mL·min⁻¹, 进样量为5 μL, 柱温为35 °C。PM_{2.5}样品来自于北京市(2019年12月)。首先将60 cm²的PM_{2.5}样品滤膜分割成条状, 再放置于50 mL烧杯中, 加入正己烷/丙酮(20 mL, 1:1, v/v), 超声1 h。将超声后的溶液转移至烧瓶, 用旋转蒸发器蒸干, 加入2 mL乙腈润洗烧瓶并过滤溶液至离心管中, 作为PM_{2.5}的标准溶液, 最后将离心管放置于冰箱备用。PM_{2.5}中多环芳烃类物质样品溶液的制备是利用PM_{2.5}的标准溶液将多环芳烃类标准溶液稀释到相应的浓度。

4.2 SiO₂@COF_{ETTA-Td}填充柱色谱性能的考察

配制系列标准溶液, 如烷基苯类(甲苯、乙苯、丙苯和丁苯)、苯胺类(邻苯二胺、间硝基苯胺、联苯胺和二苯胺)、位置异构体(邻三联苯、间三联苯和对三联苯)、和核苷类(胸腺嘧啶、尿嘧啶、尿苷和腺嘌呤)混合溶液, 通过观察混合物在色谱柱中得到分离结果来考察SiO₂@COF_{ETTA-Td}填充柱的色谱性能。

4.3 实际样品分离

观察邻苯二甲酸酯类(DMP、DPrP、DBP、BBP和DCHP)、抗癫痫药物以及PM_{2.5}中多环芳烃类物质在SiO₂@COF_{ETTA-Td}填充柱上的色谱分离情况。

5 结果与讨论

5.1 材料表征分析

如图2a所示, 在SiO₂@COF_{ETTA-Td}傅里叶变换红外光谱中, Td中醛基和ETTA中氨基的特征吸收峰几乎观察不到, 且1620 cm⁻¹左右显示出-C=N的特征吸收峰, 证明Td和ETTA发生反应。同时465和1088 cm⁻¹处的吸收带同时出现, 归因于SiO₂-NH₂的Si-O和Si-O-Si振动。在SiO₂@COF_{ETTA-Td}红外谱图中, 可以观察到COF_{ETTA-Td}和SiO₂-NH₂的特征吸收峰, 表明了COF_{ETTA-Td}成功生在SiO₂-NH₂表面。将制备的SiO₂@COF_{ETTA-Td}进行粉末X射线衍射表征, 如图2b所示, SiO₂@COF_{ETTA-Td}的衍射峰的位置与文献报道^[13]COF_{ETTA-Td}的一致, 表明制备过程中没有破坏COFs的骨架结构和晶体形态。

通过透射电镜对SiO₂-NH₂和SiO₂@COF进行形貌表征, 如图2c和2d所示, 与SiO₂-NH₂相对比, SiO₂@COF的表面形貌更为粗糙, 证明COF在SiO₂-NH₂的表面形成核壳结构, 并且壳层厚度为131 nm。最后, 通过接触角测量, 对SiO₂@COF的表面亲-疏水性进行表征。如图2e所示, SiO₂@COF的水接触角约为36°, 证明SiO₂@COF具有亲水性。

综上所述, SiO₂@COF_{ETTA-Td}粒径大小均匀、比表面积大, 说明该填料具有优异的机械强度和化学稳定性以及完整的颗粒形貌, 制备的SiO₂@COF_{ETTA-Td}适合于色谱柱的装填。

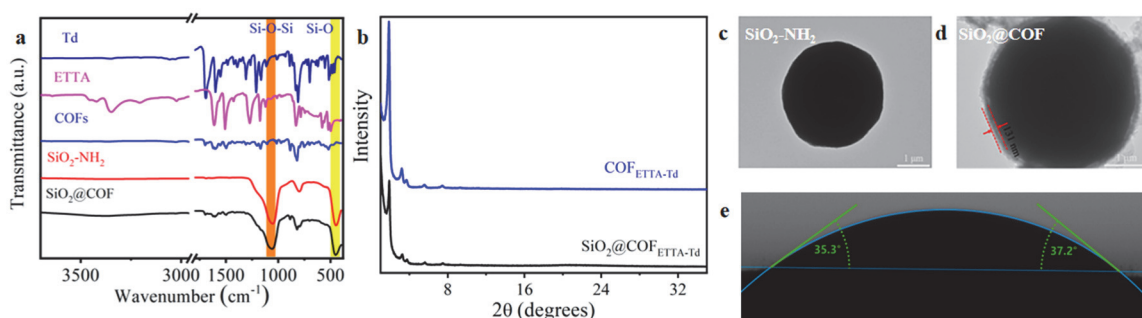


图2 (a) Td、ETTA、COF、 $\text{SiO}_2\text{-NH}_2$ 和 $\text{SiO}_2\text{@COF}$ 傅里叶变换红外光谱图；(b) COF和 $\text{SiO}_2\text{@COF}$ 粉末X射线衍射；(c) $\text{SiO}_2\text{-NH}_2$ 的投射电镜图；(d) $\text{SiO}_2\text{@COF}$ 的投射电镜图；(e) $\text{SiO}_2\text{@COF}$ 水接触角图

电子版为彩图，下同

5.2 分离效果

5.2.1 $\text{SiO}_2\text{@COF}$ 填充柱的疏水相互作用

首先选取烷基苯类物质来考察 $\text{SiO}_2\text{@COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 填充柱的分离效果。如图3a所示， $\text{SiO}_2\text{@COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 填充柱可实现甲苯、乙苯、丙苯和丁苯的基线分离，且分离顺序为甲苯、乙苯、丙苯和丁苯，与疏水性增加一致，证明了烷基苯类物质在 $\text{SiO}_2\text{@COF}$ 填充柱的分离是基于反相色谱保留机制。在相同的分离条件下， $\text{SiO}_2\text{@COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 和C18填充柱产生了相同的分离效果，但对 $\text{SiO}_2\text{-NH}_2$ 填充柱无分离效果，这表明COFs在反相色谱模式中发挥了重要作用。同时，进行探究 $\text{SiO}_2\text{@COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 填充柱对苯胺类物质的分离效果。从图3b中可以看出，邻苯二胺、间硝基苯胺、联苯胺、二苯胺混合溶液的分离效果与烷基苯类物质类似，证明苯胺类物质的分离机制也是基于反相色谱模式，且 $\text{SiO}_2\text{-NH}_2$ 填充柱和C18填充柱无法实现上述4种物质的有效分离，表明 $\text{SiO}_2\text{@COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 填充柱在分离苯胺类物质具有较大优势。

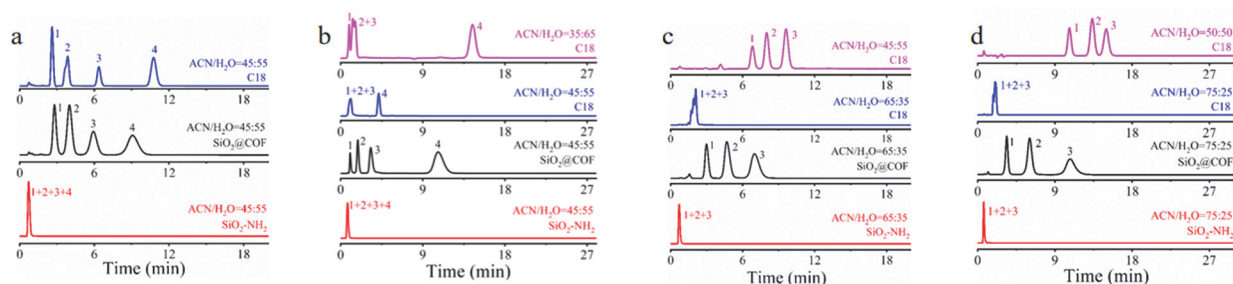


图3 (a) 烷基苯类物质、(b) 苯胺类物质、(c) 多环芳烃类物质和(d) 位置异构体分别在 $\text{SiO}_2\text{@COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 填充柱、C18填充柱和 $\text{SiO}_2\text{-NH}_2$ 填充柱的分离色谱图

由于 $\text{SiO}_2\text{@COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 核壳型固定相含有多个苯环结构，可与含芳香环的化合物之间具有较强的 $\pi\text{-}\pi$ 共轭作用。因此，实验选用多环芳烃类物质来考察 $\text{SiO}_2\text{@COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 填充柱对具有不同共轭结构的化合物的分离效果。如图3c所示，在8 min内， $\text{SiO}_2\text{@COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 填充柱实现联苯、萘和菲的基线分离， $\text{SiO}_2\text{-NH}_2$ 填充柱和C18填充柱无法实现上述3种物质的有效分离。

如图3d所示，使用了 $\text{SiO}_2\text{@COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 填充柱来分离位置异构体。邻三联苯、间三联苯和对三联苯在 $\text{SiO}_2\text{@COF}$ 填充柱上以较短的时间实现基线分离，而C18和 $\text{SiO}_2\text{-NH}_2$ 填充柱不能实现基线分离。间三联苯/邻三联苯和对三联苯/间三联苯的分离度分别为3.55和3.28，显示了 $\text{SiO}_2\text{@COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 填充柱分离位置异构体的优越性。

5.2.2 SiO₂@COF填充柱的亲水相互作用

通过水接触角测量可知, SiO₂@COF_{ETTA-Td}填充柱具有亲水性, 进一步研究SiO₂@COF_{ETTA-Td}填充柱对磺胺类化合物的分离效果。如图4a所示, 在SiO₂@COF_{ETTA-Td}和SiO₂-NH₂填充柱上, 磺胺类药物在较短的时间内实现基线分离, 而在C18填充柱上则未达到基线分离, 证明了SiO₂@COF_{ETTA-Td}填充柱是通过亲水作用实现磺胺类药物的分离。

如图4b所示, 胸腺嘧啶、尿嘧啶、尿苷和腺嘌呤一系列核苷类物质在SiO₂@COF_{ETTA-Td}填充柱上也获得了较好的分离效果, 与C18和SiO₂-NH₂填充柱相比具有更大的分离优势。此外, SiO₂@COF_{ETTA-Td}填充柱对胸腺嘧啶、尿嘧啶、尿苷和腺嘌呤的分离效果优于SiO₂-NH₂填充柱, 说明COF在分离过程中起着重要的作用。

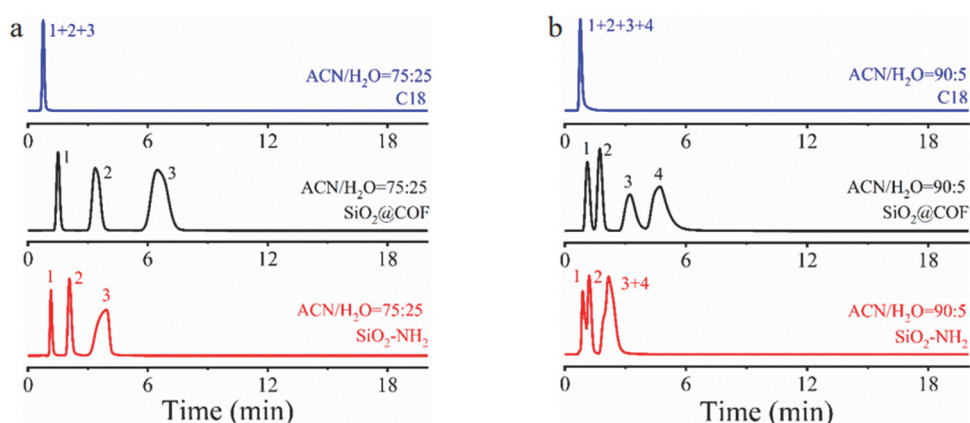


图4 (a) 磺胺类物质和(b) 核苷类物质分别在SiO₂@COF_{ETTA-Td}填充柱、C18填充柱和SiO₂-NH₂填充柱的分离色谱图

5.3 实际样品分离

5.3.1 分离邻苯二甲酸酯类物质

邻苯二甲酸酯属于常见的内分泌干扰物, 经常被用作增塑剂和软化剂, 应用于食品包装、化妆品和玩具等产品中, 对人类健康造成威胁^[14]。因此, 对邻苯二甲酸酯类物质的研究是一项有意义的工作。如图5a所示, SiO₂@COF_{ETTA-Td}填充柱在短时间内可实现DMP、DPrP、DBP、BBP和DCHP的基线分离, 而C18填充柱和SiO₂-NH₂填充柱无法实现上述5种物质的有效分离。

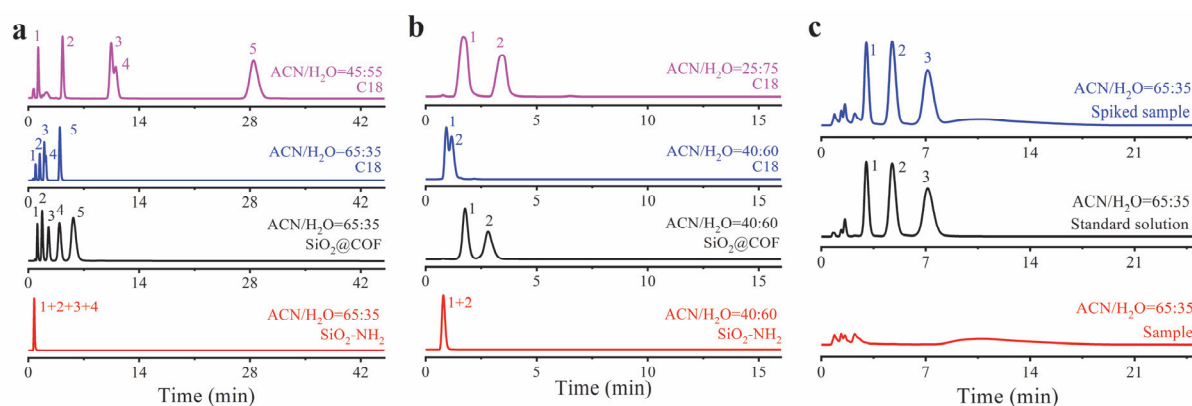


图5 (a) 邻苯二甲酸酯类物质、(b) 抗癫痫药物和(c)PM_{2.5}中含有多环芳烃类物质分别在SiO₂@COF_{ETTA-Td}填充柱、C18填充柱和SiO₂-NH₂填充柱的分离色谱图

5.3.2 分离抗癫痫药物

卡马西平(CBZ)是一种抗癫痫药物,它的主要代谢物为卡马西平-10,11-环氧化物(CBZEP)。然而,次优剂量的CBZ可能导致治疗失败或严重毒性^[15]。因此,在治疗过程中对CBZ及其代谢产物CBZEP进行快速、灵敏的监测具有重要意义。如图5b所示,在4 min内, $\text{SiO}_2@\text{COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 填充柱可实现CBZEP和CBZ的基线分离,而 $\text{SiO}_2\text{-NH}_2$ 填充柱和C18填充柱都无法实现上述2种物质的有效分离。

5.3.3 分离PM_{2.5}中多环芳烃类物质

多环芳烃属于持久性有机污染物,具有致癌性和突变性,因此多环芳烃的分离和检测是十分重要的。现有研究表明,PM_{2.5}中含有多环芳烃类物质,严重危害人类健康安全^[16]。如图5c所示,对PM_{2.5}中的联苯、荧烯和菲进行了分离,取得了良好的分离效果,并且PM_{2.5}中基质不干扰醌类物质的分离,这证明了 $\text{SiO}_2@\text{COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 填充柱分离复杂样品的优越性。

5.4 色谱保留机理

本实验所采用的 $\text{SiO}_2@\text{COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 核壳型固定相,是由二氧化硅微球为内核和以COFs材料为外壳组成。内核的二氧化硅微球具有良好的机械强度、粒径可控和表面易于修饰等优点,并且外壳的COFs可在分离过程中可以提供多种相互作用力,因此 $\text{SiO}_2@\text{COF}$ 是一种理想的色谱固定相。

由于 $\text{SiO}_2@\text{COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 核壳型固定相含有多个苯环,可以提供疏水作用。 $\text{SiO}_2@\text{COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 填充柱在分离过程中可能呈现出反相色谱保留机制。其次, $\text{SiO}_2@\text{COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 的接触角约为36°,具有亲水性,在分离过程中可能呈现出亲水色谱保留机制。烷基苯类物质的分离结果和核苷类物质的分离结果分别证明了 $\text{SiO}_2@\text{COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 填充柱具有反相色谱保留机制和亲水色谱保留机制。总之, $\text{SiO}_2@\text{COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 可作为混合模式的固定相用于高效液相色谱分离。

从色谱理论分析 $\text{SiO}_2@\text{COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 核壳型色谱柱高柱效的原因有以下几点:

(1) 涡流扩散减少: $\text{SiO}_2@\text{COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 的粒径大约为3 μm ,且为球状,粒径较为均匀,分散性好,填充规则均匀。球形颗粒在一定压力条件下更容易形成紧密的柱床堆积方式,堆积出来的柱床不易形成空腔,柱床更稳定,色谱过程中的涡流扩散作用也最小。因此,分析物通过色谱柱的流路更为均匀,色谱峰均匀对称,从而导致van Deemter方程式的“A项”减小。

(2) 分子扩散减小: $\text{SiO}_2@\text{COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 具有较小的孔隙体积和较短的扩散路径长度,从而减小纵向扩散引起的体积扩展和加快传质速度。

(3) 传质阻力的减小: $\text{SiO}_2@\text{COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 具有均匀的介孔结构,并且传质发生在 SiO_2 外所包裹的COFs材料,具有较快的传质速度,从而降低传质阻力。

综上所述,由于Van Deemter方程中的A项、B项和C项的有效减低, $\text{SiO}_2@\text{COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 核壳型色谱柱的塔板高度大幅降低,色谱柱效明显提高。

6 教学实验安排和学生反馈

本实验为综合性探究实验,开设学期为大二学年第二学期,开课对象为化学系拔尖班及其他有兴趣选课的同学。建议学生在学习仪器分析理论课程、仪器分析实验部分基础内容以及有机化学课程的基础上再进行本实验的学习。本实验综合探究性强,实验进行时间长,建议将学生分成4-5人一组,以利于小组合作。本实验总时长约为8.0个学时,其中教师讲授1.0个学时,混合溶液配制1.0学时,上机操作5.0个学时,思考和讨论1.0个学时。实验前,学生要做好预习工作,查阅相关文献资料,了解高效液相色谱的操作和发展前景、色谱分离原理和色谱固定相填料的种类。实验中,教师指导学生溶液的配制和HPLC的操作。实验结束后,学生进行小组讨论,根据实验现象评价色谱柱性能、分析核壳型固定相保留机制以及探究色谱柱高柱效原因。

本实验具有一定的挑战性,参与本实验的同学们纷纷表示,该实验探究过程丰富充实,通过此次实验,加深对色谱分离原理的理解,熟练掌握HPLC的基本操作、提高实验操作技能。同时,通过本实验教学,学生能更好地理解固定相填料种类、尺寸和形貌对柱效的影响通过,也能更好理解速

率理论。

7 结语

本文介绍了一个仪器分析实验,包括 $\text{SiO}_2@\text{COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 核壳结型固定相的合成装填、分离效果评价、实际应用研究以及分离机制探究。 $\text{SiO}_2@\text{COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 作为混合模式的固定相在分离过程中呈现出反相/亲水色谱混合保留机制,并且可对烷基苯类、苯胺类、核苷类等物质进行基线分离,展现出良好的分离性能。此外, $\text{SiO}_2@\text{COF}_{\text{ETTA-Td}}$ 填充柱具有广阔的应用前景,可用于抗癫痫药物、位置异构体和 $\text{PM}_{2.5}$ 中多环芳烃类物质的分离,在复杂样品分离中展示巨大的潜力。

在本实验中,向学生介绍新材料的设计、合成到应用等较为系统的过程,其丰富完整的实验内容,有利于激发学生的科研兴趣,有利于培养学生科研思维和科学探究能力。同时,色谱固定相填料的设计为学生留下了充足思考和发挥空间,调动学生学习的积极性,培养学生独立思考的能力。

参 考 文 献

- [1] Ramezani, A. M.; Absalan, G.; Ahmadi, R. *Anal. Chim. Acta* **2018**, 1010, 76.
- [2] Sun, L.; Kong, D.; Gu, W.; Guo, X.; Tao, W.; Shan, Z.; Wang, Y.; Wang, N. *J. Chromatogr. A* **2017**, 1502, 8.
- [3] Wang, J.; Liu, X.; Wei, Y. *Food Chem.* **2018**, 256, 358.
- [4] 牛丽红, 周云, 于莹, 张源, 吴彼伦, 麦炜琦. 大学化学, **2019**, 34 (5), 46.
- [5] 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. *Anal. Chem.* **2003**, 75 (24), 6781.
- [6] Engelhardt, H.; Blay, C.; Saar, J. *Chromatographia* **2005**, 62, S19.
- [7] Dunlap, C. J.; McNeff, C. V.; Stoll, D.; Carr, P. W. *Anal. Chem.* **2001**, 73 (21), 598A.
- [8] Huang, J.; Han, X.; Yang, S.; Cao, Y.; Yuan, C.; Liu, Y.; Wang, J.; Cui, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, 141 (22), 8996.
- [9] Zheng, Q.; Huang, J.; He, Y.; Huang, H.; Ji, Y.; Zhang, Y.; Lin, Z. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* **2022**, 14 (7), 9754.
- [10] 刘浩然. 大学化学, **2017**, 32 (5), 25.
- [11] 孙寅璐, 姜宏月, 熊英. 大学化学, **2021**, 36 (3), 2002016.
- [12] 文翰章, 秦冰冰. 大学化学, **1988**, 13 (3), 51.
- [13] Li, G.; Tian, W.; Zhong, C.; Yang, Y.; Lin, Z. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* **2022**, 14(18), 21750.
- [14] Gao, H.-T.; Xu, R.; Cao, W.-X.; Qian, L.-L.; Wang, M.; Lu, L.; Xu, Q.; Yu, S.-Q. *Food Chem. Toxicol.* **2017**, 101, 94.
- [15] Schapira, M.; Manor, O.; Golan, N.; Kalo, D.; Mordehay, V.; Kirshenbaum, N.; Goldsmith, R.; Chefetz, B.; Paltiel, O. *Environ. Int.* **2020**, 143.
- [16] Yuan, X.-X.; Jiang, Y.; Yang, C.-X.; Xie, B.-J.; Yong, L.; Hu, B.; Liu, T. *Chin. J. Anal. Chem.* **2017**, 45 (11), 1641.