

รีเทนชันและสภาพเลือกจำเพาะของเฟสคงที่ซิลิกาเมอนอลิทิกที่ดัดแปรด้วยหมู่ออกตะเดซิลและ
หมู่แอมิโนสำหรับลิควิดโครมาโทกราฟีโหมดผสม



นางสาววันวิสาข์ รัตนงาม

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2556
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



5472097523

RETENTION AND SELECTIVITY OF MONOLITHIC SILICA STATIONARY PHASE MODIFIED
WITH OCTADECYL AND AMINO MOIETIES FOR MIXED-MODE LIQUID
CHROMATOGRAPHY

Miss Wanvisa Rattanangam

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Chemistry

Department of Chemistry

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2013

Copyright of Chulalongkorn University



วันวิสาข รัตนงาม : รีเทนชันและสภาพเลือกจำเพาะของเฟสคงที่ซิลิกาอนอลิทิกที่ดัดแปรด้วย หมู่ออกตะเดซิลและหมู่อามิโนสำหรับลิควิดโครมาโทกราฟีโหมดผสม. (RETENTION AND SELECTIVITY OF MONOLITHIC SILICA STATIONARY PHASE MODIFIED WITH OCTADECYL AND AMINO MOIETIES FOR MIXED-MODE LIQUID CHROMATOGRAPHY) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อ. ดร.พุทธรักษา วรานุศูภากุล, 55 หน้า.

ในงานวิจัยนี้ ได้เตรียมมอนอลิทิกคอลัมน์เพื่อการวิเคราะห์โดยลิควิดโครมาโทกราฟีโหมดผสม มอนอลิทิกคอลัมน์มีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์สูง และมีความสามารถในการซึมผ่านดี และการวิเคราะห์ในโหมดผสมช่วยให้มีประสิทธิภาพในการแยกสารกลุ่มที่มีขั้วได้ดี มีความเสถียร และช่วยปรับปรุงความสมมาตรของพีคในการแยกสารกลุ่มเบส คอลัมน์สำหรับลิควิดโครมาโทกราฟีโหมดผสม สามารถเตรียมได้หลากหลายวิธี สำหรับงานวิจัยนี้ได้ทำการปรับปรุงพื้นผิวที่แตกต่างกัน 2 แบบ คือ การปรับปรุงพื้นผิวชั้นตอนเดียวและการปรับปรุงพื้นผิว 2 ชั้นตอน หลังการสังเคราะห์ซิลิกาอนอลิทิกคอลัมน์ ในการปรับปรุงพื้นผิวชั้นตอนเดียว ปรับปรุงพื้นผิวของซิลิกาอนอลิทิกคอลัมน์โดยสารละลายผสมของแอมิโนโพรพิลไตรเมทอกซีไซเลน และออกตะเดซิลไตรเมทอกซีไซเลน หรือเรียกในชื่อย่อว่า คอลัมน์ซี 18 เอพี และการปรับปรุงพื้นผิว 2 ชั้นตอน ทำการปรับปรุงพื้นผิวของซิลิกาอนอลิทิกคอลัมน์ด้วยไกลซิโดอกซีโพรพิลไตรเมทอกซีไซเลนก่อนแล้วจึงตามด้วยเตตระเดซิลแอมีน หรือเรียกในชื่อย่อว่า คอลัมน์ซี 14 เอมีนเอ็มเบ็ด พฤติกรรมทางโครมาโทกราฟี (chromatographic behavior) ของคอลัมน์ทั้ง 2 แบบ ประเมินจากค่ารีเทนชันและสภาพเลือกจำเพาะ โดยวิธีของทานากะ (Tanaka) คอลัมน์ซี 14 เอมีนเอ็มเบ็ด มีลักษณะความไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) น้อยกว่าคอลัมน์ซี 18 เอพี ซึ่งยืนยันด้วยค่ารีเทนชันที่ต่ำกว่า สำหรับสภาพเลือกจำเพาะทางรูปร่าง ไม่มีความแตกต่างอย่างชัดเจนของสภาพเลือกจำเพาะของคอลัมน์ทั้ง 2 สุดท้ายพฤติกรรมการแลกเปลี่ยนไอออนของคอลัมน์ซี 18 เอพี มีความแตกต่างจากคอลัมน์ซี 14 เอมีนเอ็มเบ็ด เนื่องจากความแตกต่างของหมู่อะมิโนที่ต่างกัน นอกจากนั้น ทำการวิเคราะห์สารกลุ่มเบนซีน กลุ่มอนุพันธ์กรดเบนโซอิก กลุ่มอนุพันธ์อะนิลีน และกลุ่มสารประกอบแอมโรมาติกเพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการแยกสาร โดยทั้ง 2 คอลัมน์มีการแยกสารด้วยกลไกการแยกแบบโหมดผสม คือรีเวิร์สเฟส และแอนไอออนเอ็ก-เชนจ์

ภาควิชา เคมี

สาขาวิชา เคมี

ปีการศึกษา 2556

ลายมือชื่อนิสิต

วันวิสาข รัตนงาม

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก



2546725980

5472097523 : MAJOR CHEMISTRY

KEYWORDS: HPLC; MONOLITHIC COLUMN; MIXED-MODE; SELECTIVITY

WANVISA RATTANANGAM: RETENTION AND SELECTIVITY OF MONOLITHIC SILICA STATIONARY PHASE MODIFIED WITH OCTADECYL AND AMINO MOIETIES FOR MIXED-MODE LIQUID CHROMATOGRAPHY. ADVISOR: DR. PUTTARUKSA VARANUSUPAKUL, Ph.D., 55 pp.

In this research, a monolithic capillary column was prepared for a mixed-mode liquid chromatography. A monolithic column provides high efficiency and high permeability and a mixed-mode mechanism offers a good separation efficiency for polar analytes, better stability and a symmetry peak for basic analytes. A column for mixed-mode liquid chromatography can be prepared with several modification methods. This work showed two different modification methods which were one-step and two-step modifications after silica monolithic synthesis. The one-step method modified a silica monolithic capillary column by a mixture of octadecylmethoxysilane and aminopropyltrimethoxysilane (C₁₈-AP column) and the two-step method modified a silica monolithic capillary column with glycidoxypropyltrimethoxysilane and followed by tetradecylamine (C₁₄-amine embedded column). The chromatographic behaviors of both columns were evaluated by retention and selectivity of test probes in Tanaka's test. The lower hydrophobicity on C₁₄-amine embedded column comparing to C₁₈-AP column was observed with the low retention of all test probes. For shape selectivity, it was not significantly different between the columns. Lastly, the ion exchange behavior of C₁₈-AP column was different from that on C₁₄-amine embedded column because of the difference of polar groups on the phase. In addition, the separation of alkyl benzenes, benzoic acid derivatives, aniline derivatives and polycyclic aromatic hydrocarbons were performed to evaluate the separation performance. Both columns showed the separation of analytes based on a mixed-mode mechanism (reversed phase and anion exchange mechanism).

Department: Chemistry

Field of Study: Chemistry

Academic Year: 2013

Student's Signature

Wanvisa R.
Puttara V.

Advisor's Signature

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to thank many people for kindly support and helpfulness especially my advisor, Dr. Puttaruksa Varanusupakul for invaluable guidance, inspiration and encouragement. Even more, I would like to acknowledge the advice and guidance of Associate Professor Dr. Thamnoon Nhujak and Dr. Patcharin Chaisuwan for their suggestions and comment as thesis examiners. Additionally I am grateful to my thesis committees, Associate Professor Dr. Vudhichai Parasuk, Dr. Puttaruksa Varanusupakul, Associate Professor Dr. Thamnoon Nhujak and Dr. Patcharin Chaisuwan who give me opinions and valuable suggestions for my work and devote their valuable time for my thesis defense examination. Furthermore, I would like to thank all members of Chromatography and Separation Research Unit for their helpfulness, precious friendship and encouragement.

CONTENTS

	Page
THAI ABSTRACT.....	iv
ENGLISH ABSTRACT.....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF FIGURES.....	xi
LIST OF TABLES.....	xii
CHAPTER I INTRODUCTION.....	1
1.1 Statement of purpose.....	1
1.2 Literature reviews.....	4
1.3 Scopes of this research.....	6
1.4 The benefit of this research.....	6
CHAPTER II THEORY.....	7
2.1 LC Instrument.....	7
2.1.1 Mobile phase reservoirs.....	7
2.1.2 Pump.....	8
2.1.3 Injector.....	8
2.1.4 Column.....	8
2.1.5 Detector.....	9
2.2 LC column.....	9
2.2.1 Particle packed column.....	9
2.2.1.1 Pellicular particles.....	10
2.2.1.2 Superficially porous particles.....	10
2.2.1.3 Perfusion particles.....	10
2.2.2 Monolithic column.....	10

	Page
2.2.2.1 Silica-based monoliths.....	11
2.2.2.2 Organic polymer-based monoliths	13
2.3 Mode of Liquid Chromatography	14
2.3.1 Normal phase	14
2.3.2 Reversed phase.....	14
2.3.3 Ion exchange chromatography	14
2.3.4 Mixed-mode reversed phase	15
2.4 Theory in LC	15
2.4.1 Retention and Capacity factor	15
2.4.2 Plate theory and Rate theory.....	16
2.4.3 Resolution	18
2.4.4 Selectivity.....	18
CHAPTER III EXPERIMENTAL	20
3.1 Instrument and apparatus.....	20
3.1.1 Liquid chromatography (LC).....	20
3.2 Chemicals.....	21
3.2.1 Preparation of a C ₁₈ -AP monolithic silica capillary column.....	21
3.2.2 Preparation of a C ₁₄ -amine embedded monolithic silica capillary column	21
3.2.3 Chromatographic characterization by Tanaka's procedure	21
3.2.4 Separation performance for modified monolithic silica capillary column.....	21
3.3 The preparation of mixed-mode monolithic silica capillary column.....	22

	Page
3.3.1 The preparation of bared monolithic silica capillary column.....	22
3.3.2 The modification method of C ₁₈ -AP monolithic silica capillary column ..	22
3.3.3 The modification method of C ₁₄ -amine embedded monolithic silica capillary column.....	23
3.4 Chromatographic characterization by Tanaka's procedure	23
3.4.1 Hydrophobicity (α_{CH_2}).....	23
3.4.2 Shape selectivity ($\alpha_{T/O}$).....	24
3.4.3 Ion exchange at low pH ($\alpha_{B/P}$)	24
3.4.4 Ion exchange at neutral pH ($\alpha_{B/P}$).....	24
3.4.5 Silanolphilic Interaction ($\alpha_{C/P}$).....	24
3.5 Separation performance of mixed-mode silica capillary column by LC.....	24
3.5.1 Reversed phase mechanism.....	25
3.5.1.1 Alkylbenzene separation.....	25
3.5.1.2 Benzoic acid derivatives separation	25
3.5.2 Anion exchange mechanism.....	25
3.5.2.1 Benzoate anions separation	25
3.5.3 Basic compound separation	25
3.5.4 Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) separation.....	26
CHAPTER IV RESULTS AND DISCUSSION.....	27
4.1 Preparation of bared monolithic silica column	27
4.2 Chromatographic characterizations by Tanaka's Test.....	31
4.2.1 Overview of chromatographic performance	31
4.2.2 Hydrophobicity.....	33
4.2.3 Shape Selectivity	33

	Page
4.2.4 Ion exchange and silanol activity.....	34
4.3 Column performance of C ₁₈ -AP and C ₁₄ -amine embedded monolithic silica columns	36
4.3.1 Separation of alkylbenzene.....	36
4.3.2 Separation of benzoic acids.....	38
4.3.3 Separation of halobenzoate anions.....	41
4.3.4 Separation of basic compounds.....	43
4.3.5 Separation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs).....	45
CHAPTER V CONCLUSION.....	48
5.1 Conclusion	48
5.2 Suggestion of future work	48
REFERENCES.....	50
VITA	55



LIST OF FIGURES

Figure	Page
1.1 SEM images of a porous structure of monolithic silica column(A), the mesoporous structure (B), the macroporous or flow-throughpores structure (C)	2
1.2 The synthetic process of silica monolithic column for HPLC [6].....	3
1.3 The structures for (A) a conventional C ₁₈ phase, (B) a polar-embedded phase, and (C) a polar-endcapped C ₁₈ phase	6
2.1 HPLC instrument diagram.	7
2.2 The composition triangle representing the fractions of silica, PEG and solvent.....	13
2.3 The column dead time (t ₀) acquired from an unretained compound (thiourea) in reversed-phase LC.....	16
2.4 The manifestation of shape selectivity	19
3.1 The schematic diagram of capillary liquid chromatography instrument.	20
4.1 SEM images of the cross section of a bared silica monolithic capillary column (a) preparing in Thailand (b) column given by Dr.Wasura.....	28
4.2 The proposed structure of columns (a) C ₁₈ -AP column (b) C ₁₄ -amine embedded column.	29
4.3 The proposed structure of unreacted C ₁₄ -amine embedded groups.....	35
4.4 Chromatogram for the separation of alkylbenzene.....	37
4.5 Chromatogram for the separation of benzoic acids.....	40
4.6 Chromatogram for the separation of benzoate anions.....	42
4.7 Chromatogram for the separation of basic compounds.....	44
4.8 The slot of the column (a) C ₁₈ -AP column (b) C ₁₄ -amine embedded column...	46
4.9 Chromatogram for the separation of PAHs	47

LIST OF TABLES

Table	Page
4.1 The permeability of the one-step (C ₁₈ -AP) and two-step (C ₁₄ -amine embedded) modification columns.....	30
4.2 Correlation between average pore size, skeleton size, HETP and permeability of silica monolithic column.....	30
4.3 Chromatographic characterization comparison by Tanaka.....	32
4.4 The retention factors of alkylbenzene on the C ₁₈ -AP and C ₁₄ -amine embedded columns.....	36
4.5 pK _a , Log octanol/water coefficients (Log P _{ow}) and the retention factor of polar acids.....	38
4.6 The retention factors of benzoate anions.....	41
4.7 The retention factors and peak symmetry comparison.....	43
4.8 The retention of PAHs comparison.....	45

