

毛细管离子色谱及相关新技术

朱 岩¹, 杨丙成²

(1. 浙江大学化学系, 浙江 杭州 310028; 2. 华东理工大学药学院, 上海 200237)



朱 岩: 浙江大学化学系教授, 博士生导师。1986 年毕业于原杭州大学化学系, 就职于浙江省测试技术研究所, 1995 年调入母校工作。1996 和 2001 年通过在职学习, 分别获硕士学位和博士学位。2001 年至 2002 年在澳大利亚塔斯马尼亚大学澳洲分离科学研究中心著名分析化学家 Paul R. Haddad 教授实验室从事博士后和访问研究。1987 年开始从事离子色谱研究和应用工作, 发表相关论文 200 余篇, 研究成果曾获日本化学会离子色谱成就奖, 浙江省科技进步二、三等奖, 化工部科技进步三等奖, 国家质量监督检验检疫总局科技兴检二等奖和浙江省青年科技奖, 现为中国仪器仪表学会分析仪器分会常务理事, 离子色谱专业委员会和样品制备专业委员会副主任委员, 中国色谱学会常务理事, 中国化学会色谱专业委员会委员, 《色谱》、《生命科学仪器》、《中国无机分析化学》编委。

与离子色谱(IC)成功的商业发展形成对比的是 IC 技术多年来一直鲜有新意, 使人们对 IC 的认识多停留在作为一项无机离子特别是阴离子分析的工具上。而事实上, IC 不仅可以解决常规无机阴、阳离子的有效分析, 同时还可以解决有机酸、有机胺、糖类、氨基酸等大量用高效液相色谱(HPLC)无法或难以解决的药物分析。另外, 需要进一步指出的是, 相对于 HPLC 的有机相体系和气相色谱(GC)的气相体系, IC 所使用的水相淋洗液与生物样品的水溶液体系更兼容。近期有关市场的调查(Chromatography market profile: ion chromatography, LCGC North America, 2011, 29: 214)结果也说明 IC 在有关通用和环境分析方面应用的比例在不断减少, 而在药物、农业、食品及化工方面的应用却在不断增加。而在理论上, 著名分析化学家 Haddad 教授 2008 年在其综述文章(*J Chromatogr A*, 2008, 1184: 456~473)中讨论了 IC 的最新发展, 除了对 IC 的固定相、微型化、色谱峰容量的扩展及联用技术讨论之外, 特别加上“Ion chromatography and bioanalysis — two different worlds?”一个章节, 认为目前特别受关注的生物标志物如多肽、蛋白质、糖蛋白、寡糖、多糖及核酸等样品的分离与传统 IC 分离小分子样品没有实质的差异, 而存在的最大问题是上述生物样品均缺乏有效的特征紫外吸收, 无法用常规的紫外检测器进行检测。可否采用毛细管离子色谱(CIC)来解决这些问题? CIC 是目前 IC 技术的前沿研究领域, 可以视为与纳升级液相色谱(nano-LC)对等的 IC 系统, 具有样品和淋洗液消耗少、质量灵敏度高、易于和质谱(MS)、原子发射光谱(ICP)联用等优势。具有分析技术风向标之称、目前世界上最大的国际分析仪器展——美国匹兹堡展销会, 在 2011 年 3 月 14~17 日的展销会期间首次安排了半天的 CIC 专场讨论会。CIC 通常是指分离柱内径在 0.1~0.5 mm 的 IC 系统。分离柱尺寸的降低要求其他关键部件作相应的改动, 而这些改动不是简单的降低机械尺寸, 它需要结构性和整体性的改动, 属于再创造。下文就近期 CIC 几大关键部件技术的新进展作一介绍。

1 高压微泵

CIC 系统要求的流量范围为 0.5~20 L/min。尽管能提供 L/min 级流量的机械泵已经商品化, 但其价格极其昂贵且体积庞大, 无法得到普及。有必要发展基于新原理的微型泵。尽管目前报道的微泵种类有十几种, 但绝大多数微泵的输出压力很低, 仅适用于低压体系。而其中由 Zhang 等提出的热膨胀高压泵(thermal expansion pump, TEP)因具有极高的输出压力而成功地应用于毛细管液相色谱(CLC)分析系统。TEP 是利用液体受热膨胀原理实现对微量液体的驱动, 通过调控泵体加热速度可以很好地调控输出压力和流量, 具有结构简单、输出压力高等优点。并联多个泵体可以提高输出流量, 同时亦可以实现不同类型液流的驱动和混合, 最终实现色谱分析的梯度洗脱模式。尽管 TEP 最初的应用是在 CLC, 但 CIC 应是其另外一个潜在的应用体系。事实上, 若 TEP 仅驱动纯水, 并配合后续要介绍的微型淋洗液发生器应用于 CIC, 则在 TEP 泵体设计、后续流量控制等方面较应用于 CLC 更为简单和可靠。详见: *Anal Chem*, 2010, 82: 842~847。

2 毛细管离子色谱高压电致淋洗液发生器

电致淋洗液发生器(electrodialytic eluent generator, EDG)是基于电渗析技术、可在线将纯水转化为 IC 所需要的淋洗液的一种装置。传统的 EDG 均为单膜型结构,其缺点是产生的淋洗液含有大量的电解气、功能单一(单个装置仅能产生一种淋洗液)。Dasgupta 等报道了一种双膜型结构的微型 EDG(μ EDG)。该结构总体为三明治结构,中间通道为淋洗液通道而两侧为再生液通道。阴、阳两电极分别放置于两侧再生液通道,与中间的淋洗液通道分别由阴离子微球和阳离子微球隔开。由于电极与淋洗液通道不直接接触,产生的淋洗液不含电解气而无需使用任何脱气装置。该结构的第二个特点在于离子交换微球的使用。离子交换微球的厚度远大于传统的离子交换平板膜,这决定了微球能够承受更大的柱压强。微球属于点密封(类似于高压机械泵的单向阀),这比传统的离子交换平板膜的面密封显然更有利于系统的制作和密封。这些对于制作微型高压器件(如色谱系统)非常有利。另外,双膜型 μ EDG 为多功能型,理论上该设备可产生任何离子型的淋洗液。双膜型 μ EDG 的一个拓展应用就是在线电致引入光学或电化学检测所需要的柱后衍生试剂。相对于传统的膜引入法和三通混合法,该装置一方面不会对淋洗液进行稀释,同时衍生试剂是从垂直于原淋洗液液流方向上引入,因而可以实现与淋洗液内目标样品高效的自然混合。需要指出的是,上述双膜型 μ EDG 在产生小分子型淋洗液时的电流效率可接近于 100%,但产生有机大分子淋洗液(如荧光素钠)的电流效率很低甚至无法产生。这主要是由于有机大分子在所使用的离子交换微球(苯乙烯-二乙烯基苯基质)上有强烈的吸附,所施加的电场对其无法实现有效的调控和洗脱。若更换其他的亲水性基质,电致产生有机大分子淋洗液的电流效率或许会显著提高。详见: *Anal Chem*, 2010, 82: 3981 ~ 3984。

3 可精确测量溶液内电解质电量的检测器

Yang 等发现上述双膜型 μ EDG 的电流-电压($I-V$)曲线与半导体电路中 P-N 结的 $I-V$ 曲线非常相似。众所周知, P-N 结在正向电压下为发光二极管,在反向电压下为光电二极管。既然双膜型 μ EDG 的 $I-V$ 曲线与 P-N 结类似,那么它是否具有与 P-N 结类似的功能?也就是说,双膜型 μ EDG 在正向电压下为 EDG,而在反向电压下能否也表现为一个类似于光电二极管的检测器?基于该考虑,他们发展了一种全新的检测模式——电荷检测器(charge detector, CHD)。上述双膜型 μ EDG 通过电极极性切换即可变成 CHD。对两个电极施加恒定的直流电压,当中间通道有离子型样品存在时,在电场作用下,阳离子穿过阳离子微球进入阴极区,而阴离子穿过阴离子微球进入阳极区。在此过程中就会产生脉冲电流。对应的脉冲信号对时间积分即为离子型样品的电量。CHD 的发现是对“法拉第杯”概念的一个很好的完善。法拉第曾提出一个“法拉第杯”的概念,也就是设想一种装置可以像水杯那样度量气体或液体中的目标组分电量。气体测量中的“法拉第杯”早已经问世,但适用于溶液的“法拉第杯”却始终没有出现。库仑计可以说是最接近度量溶液中样品电量的“法拉第杯”,但事实上,库仑计不适用于氧化电势高于或还原电势低于水的离子型样品,如 Na_2SO_4 。CHD 信号响应是基于离子电迁移而非电解,可以适用于溶液内所有离子型化合物的电量测定。相对于传统的电导检测器,CHD 的特点表现在: 1. 在很大程度上消除了样品的逐个校准过程。由于其独特的信号响应原理,当被测样品价态一致时,校准一个样品离子即可适用于其他同价态的离子。2. 对弱电解质具有较强的响应。而这些弱电解质在电导检测器上的响应很弱或没有响应。3. CHD 还可拓展用于色谱-质谱在线接口的在线除盐,使其能很好地适用于生物样品分析。目前关于 CHD 的研究完全处于起步阶段,还有诸多问题期待深入研究,相信不久的将来,CHD 检测器会为测定离子型化合物提供一种新的选择。详见: *Anal Chem*, 2010, 82: 951 ~ 958; *Anal Chem*, 2011, 83: 1015 ~ 1021。

4 新型低阻抗电容耦合非接触电导检测器(C^4D)

C^4D 完全消除了传统接触型电导检测器(CD)电极易污染的弊端。但传统 CD 设计中管壁电容阻抗过高,严重制约了 C^4D 的检测灵敏度。通常的方法是尽可能采用与毛细管外径适配的管式电极、使用薄壁石英毛细管等,但这些改进的效果非常有限。基于在特定频率下电容和电感阻抗相位相反的原理,Shen 等提出了一种非常巧妙的解决方法:将 C^4D 串联一个压电石英晶体谐振器(等效于一个电感)。当施加频率与谐振器的共振频率一样时,管壁电容阻抗可完全被谐振器电感阻抗所抵消,此时系统阻抗主要是检测池的溶液阻抗,故可最终实现检测灵敏度的显著提高。该系统特别适合于高背景电导的 CIC 系统。通过将两个与毛细管外径适配的管式电极直接套在毛细管分离柱上,可以实现在柱检测(on-column),可最大限度地减小柱外扩散。在非抑制模式下分析无机金属阳离子,采用该新型 C^4D 所得的检出限较传统 CD 设计下降约一个数量级,显示出很好的性能。详见: *Talanta*, 2011, 84: 42 ~ 48。