

反相毛细管电色谱中两种电渗流测定方法的比较

尤慧艳^{1,2}, 梁 振², 张玉奎^{*2}

(1. 大连大学环境与化学工程学院, 辽宁大连 116622;

2. 中国科学院大连化学物理研究所国家色谱研究分析中心, 辽宁大连 116011)

摘 要:在毛细管电色谱中电渗流的测定方法有许多种,常用的是示踪剂法。本文将硫脲示踪剂法和迭代分析法测定的电渗流结果加以对比分析,结果表明:在不同有机调节剂体积分数、不同电压、不同电解质浓度下,虽然用两种方法测得的电渗流随诸因素的变化规律符合电渗流变化的一般规律,但强极性硫脲分子存在电迁移现象,使测得的电渗流较真实值有所偏离。偏离的大小随有机调节剂体积分数、电解质浓度等实验条件变化。

关键词:毛细管电色谱;电渗流;硫脲

中图分类号:O657.8

文献标识码:A

在毛细管电色谱(CEC)中,中性溶质靠电渗流(EOF)的驱动作用在毛细管柱内完成输运过程,对于带电溶质,电渗流不仅影响其分离选择性,也影响到整个分析速度,因此电渗流对于 CEC 分析方法的建立,以及溶质的输运动力学研究皆具有非常重要的意义。

不同性质色谱固定相的内部结构和表面特征不同,其电渗流的产生机理和变化规律也有所不同。Horvath 等^[1-4]已对 CEC 中电渗流的理论和实践做过大量的研究工作,Rathore 等^[5]综述了 CEC 柱中填充多孔填料时电渗流变化的理论特征,此外,对于电渗流随有机调节剂、pH、电解质浓度等流动相性质变化规律的研究及应用也有相应报道^[6-20],但是其原理和机制的研究尚不完善^[9]。

CEC 与高效液相色谱(HPLC)类似,其死时间或电渗流的测定有多种方法,进样脉冲检测采用示踪剂是常用的方法。在反相 CEC 中,宏观电渗流一般采用在固定相表面无保留的中性溶质(如硫脲)作为示踪剂进行测定。不同结构和性质的示踪剂的测定结果有时差别较大,说明这种方法存在一定的缺陷,至少有些结果与实际情况不相符合。我们曾以色谱热力学为基础,结合反相色谱中同系物溶质所遵从的同系线性规律,通过迭代分析的方法测定了电渗流^[21]。

本文将详细研究硫脲示踪剂法和迭代分析法测定的电渗流,通过改变影响电渗流的各种因素,进一步对两种测定方法加以比较。

在 CEC 中,电渗流通常可表示为:

$$u_{eo} = \frac{E\epsilon\zeta}{4\pi\eta} = \frac{U\epsilon\zeta}{4L\pi\eta} \quad (1)$$

其中

$$\zeta = \frac{\delta\sigma}{\epsilon\epsilon_0}, \delta = \frac{\sqrt{\epsilon\epsilon_0 RT}}{\sqrt{2CF^2}}$$

式中, E 为电场强度, U 为分离电压, L 为毛细管总长, ϵ 为溶剂介电常数, ϵ_0 为真空介电常数, ζ 为 Zeta 电位, η 为流动相粘度, δ 为双电层厚度, σ 为毛细管内壁表面电荷超量, C 为电解质浓度, F 为法拉第常数。

由式(1),可以看到影响电渗流的各种因素。本文将用硫脲示踪和迭代分析两种方法从有机调节剂浓

收稿日期:2007-10-29

修回日期:2008-01-31

基金项目:国家自然科学基金(No. 20605023);辽宁省博士后基金(No. 2006921042)

*通讯联系人:张玉奎,男,院士,博士生导师,研究方向:色谱基础理论及新技术开发应用。

度、电压以及电解质浓度等方面考察其对电渗流的影响。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

CEC 仪由紫外检测仪 (美国,Linear) 和高压电源 (美国, Glassman) 等构建, HPLC 微流泵 (美国, Frank)。

乙腈、硫脲、丙苯、丁苯、戊苯、己苯、庚苯、辛苯为色谱纯,购自 Sigma 公司 (USA); 硼砂、甲苯、乙苯均为分析纯。

1.2 毛细管填充柱

A:内径 75 μm , 外径 360 μm , 填料有效长度为 20 cm, 总长为 35 cm, 内填 3 μm Synchropak ODS (SynChrom Inc., USA)。B:内径 50 μm , 外径 360 μm , 填料有效长度为 50 cm, 总长为 65 cm, 内填 3 μm Synchropak ODS (SynChrom Inc., USA), 优尼特通微技术有限公司制。

2 结果与讨论

2.1 有机调节剂对电渗流测定的影响

一般认为,有机调节剂对电渗流的影响主要由两方面因素决定。首先,有机调节剂的加入对流动相粘度产生影响。有机调节剂(如乙腈等)的粘度一般较低,起到增加电渗流的作用;另一方面,有机调节剂的加入将使反相固定相表面更易被流动相浸润,双电层厚度发生变化,Zeta 电位增大,电渗流增加。实际上有机调节剂的加入不仅会影响到以上两种因素,因为有机调节剂的介电常数与水相比相对较小,因此对于溶质的溶剂化层及固定相表面的性质也会产生影响。

CH_3CN 分别与 $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 水溶液以不同体积比混合作为流动相,保持 $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 水溶液浓度不变 (0.4 mmol/L), 分离硫脲、甲苯、乙苯、丙苯、丁苯、戊苯、己苯、庚苯、辛苯混合样品。在 ODS 柱 A 上测定各组分的保留时间,通过迭代求解,计算得到死时间 t_{0n} ,同时采用硫脲得到的死时间 t_{0s} ,采用两种不同方法得到的在不同有机调节剂体积分数下的电渗流结果如图 1 所示。

由图 1 知,随着有机调节剂体积分数的增加,电渗流呈柱间增加的趋势,且两条线的变化趋势一致,但在不同体积分数时的变化率有一定差别。相对而言,对硫脲的迁移速率影响的变化率更大。这主要是因为随着有机调节剂体积分数的降低,流动相极性增加,不同极性的溶质在流动相和固定相间的分配将发生变化。由于硫脲的极性大于苯同系物,其保留因子的减小会更加明显。另外,有机调节剂体积分数的改变,也影响到分子表面溶剂化层的带电性质。随着有机调节剂体积分数的降低,分子间的取向力增大,硫脲的溶剂化层的电性更加明显,而对于苯同系物,此影响相对较小,这也进一步证实了硫脲或其它极性 CEC 示踪剂在 CEC 中的迁移特征。

由于图 1 中的两种电渗流差并不能完全真实的反映硫脲分子的迁移速率。其实际迁移速率要更快一些,为了进一步说明硫脲分子在固定相上的保留,在不加电场的情况下,采用微柱 HPLC 的方法进行实验研究,得到表 1 的结果。

将表 1 中的死时间计算结果与实测结果相比可以看出,在 ODS 柱上硫脲有弱的保留作用。在施加电压的情况下,由于固定相表面双电层的极化作用,甚至可能使这种保留进一步加大。

2.2 不同电压下两种方法测定的电渗流的比较

在不同的电压下进行实验,采用两种不同方法测得的电渗流,结果如图 2~4 所示。

在流动相中有机相体积分数很高 (95 %乙腈) 的条件下,两种不同方法测得的电渗流都与电压呈较好的线性关系且得到的结果有较好的重合。在流动相中有机相体积分数较高 (80 %乙腈) 的条件下,两种不

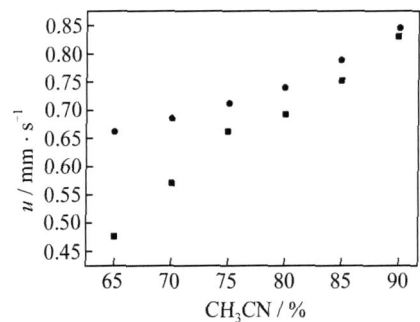


图 1 有机调节剂体积分数对电渗流的影响
Fig.1 Effect of volume fraction of organic modifier on EOF
• Results from thiourea; ■ Results from linear regression of benzene homologue.

表 1 微柱 HPLC 上硫脲保留时间和同系线性规律得到的死时间对比(柱 A)
Table 1 Comparison of dead time obtained by thiourea and homologous series method
on micro-HPLC (column A)

CH ₃ CN (%)	Pressure (psi)	Dead time <i>t</i> ₀ (min)	Retention time from thiourea (min)
70	750	23.15	23.61
70	900	20.81	22.65
70	1200	13.67	13.78
90	1200	8.44	8.48

同方法测得的电渗流也与电压呈较好的线性关系且得到的结果基本重合。而在流动相中有机相体积分数较低(60 %乙腈)的条件下,两种不同方法测得的电渗流也能够与电压呈较好的线性关系,但两者的斜率有些不同,这一差别可能由两方面因素引起。

如果认为固定相表面双电层的极化作用很弱,对于苯同系物而言,其迁移主要受电渗流的推动作用,电渗流随电场强度的增加而呈线性增加,即由苯同系物测得的电渗流为真实电渗流。而采用硫脲作为电渗流示踪剂时,硫脲溶剂化层与硫脲分子的结合不很紧密,随着电压的增加,溶剂化双电层的极化作用呈非线性变化,这一变化尽管不很大,却在图 4 中体现为斜率小的变化。另一方面,随着电压的增加,固定相表面双电层也将产生一定的极化作用,使固定相与苯同系物相互

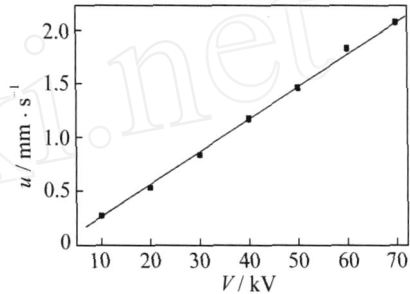


图 2 95 %乙腈条件下电渗流随电压变化曲线(柱 B)
Fig. 2 Effect of high voltage on EOF in 95 % acetonitrile (column B)
• Results from thiourea; ■ Results from linear regression of benzene homologue.

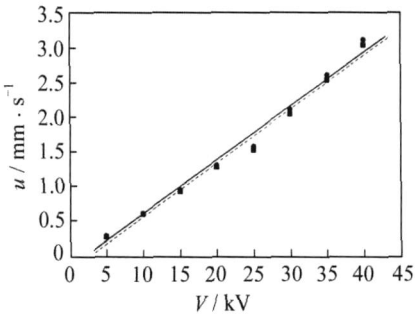


图 3 80 %乙腈条件下电渗流随电压变化曲线(柱 A)
Fig. 3 Effect of high voltage on EOF in 80 % acetonitrile (column A)
• Results from thiourea; ■ Results from linear regression of benzene homologue.

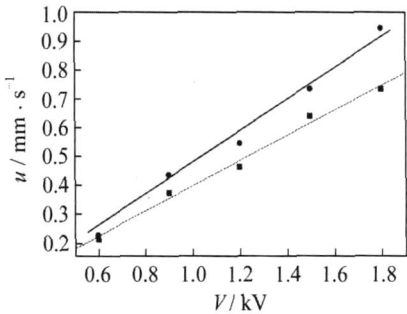


图 4 60 %乙腈条件下电渗流随电压变化曲线(柱 A)
Fig. 4 Effect of high voltage on EOF in 60 % acetonitrile (column A)
• Results from thiourea; ■ Results from linear regression of benzene homologue.

极化作用机理发生小的变化反映为苯同系物得到的 t_0 值随电压的变化也呈微小的非线性,这在实验误差范围内可能不能够明显地体现出来,但是由于硫脲与苯同系物的分子结构差别较大,同样的作用较明显,这样固定相极性的微小变化因两种溶质分子结构的差别而被放大,反应为两条直线斜率的变化。

2.3 电解质浓度不同时两种方法测定的电渗流的比较

采用硼砂缓冲溶液,在不同的离子强度下进行实验,有机调节剂的体积分数固定在 80 %。选择实验条件时,有机调节剂体积分数不能太高,否则会造成电解质溶解度降低,可测的电解质浓度范围缩小。在 ODS 柱 A 上采用两种不同方法测得了电渗流速率,图 5 给出了电渗流随硼砂浓度变化的结果。

由图 5 可见,随着电解质浓度的增加,电渗流降低,特别是以硫脲测定的电渗流降低更大。电解质浓度改变对电渗流的影响主要起因于其对双电层性质的影响。随着流动相离子强度的增加,电解质间形成

离子对的几率增大,使表面电荷超量减小,同时对双电层起到压缩作用,对应的电势也将降低,使电渗流相应减小。对于硫脲分子,与有机调节剂对电渗流的影响同理,由于其受到两种作用的共同影响,因此较苯同系物法回归得到的电渗流有更大的变化。

3 结论

在反相 CEC 中,硫脲常被用作电渗流标记物,但在应用中有时会得到有悖于实际的结果^[22]。以苯同系物为溶质通过回归的方法测定电渗流具有坚实的热力学基础。

本文中通过将两种测定方法得到的电渗流加以对比分析,并采用 HPLC 的方法进行验证,结果表明:在不同有机调节剂体积分数、不同电压、不同电解质浓度下,用两种方法测得的电渗流随诸因素的变化规律均符合电渗流变化的一般规律。强极性硫脲分子不仅在 ODS 固定相上有弱的吸附,其溶剂化层的电荷取向也可能导致其在柱过程中的泳动,使测得的电渗流较真实值有所偏离。偏离的大小随有机调节剂体积分数、电解质浓度等实验条件变化。

尽管采用同系物进行电渗流测定得到的结果更接近于真实值,但过程及计算较为复杂,在对电渗流的要求不很严格的情况下,采用硫脲作为示踪剂一般也能够达到要求。

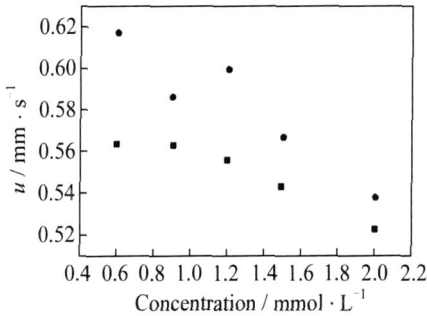


图 5 电解质浓度与电渗流的关系曲线
Fig.5 Effect of concentration of tetraborate on EOF
• Results from thiourea; ■ Results from linear regression of benzene homologue.

参考文献:

[1] Stahlberg J.J. Chromatogr. A[J],2000 ,887 :187.

[2] Rathore A S. Horvath C.J. Chromatogr. A[J],1996 ,743(2) :231.

[3] Rathore A S. Electrophoresis[J],2002 ,23(22-23) :3827.

[4] Rathore A S,Horvath C. Anal. Chem. [J],1998 ,70(15) :3271.

[5] Rathore A S,Horvath C.J. Chromatogr. A[J],1997 ,781 :185.

[6] Tsuda T. Anal. Chem. [J],1987 ,59(3) :521.

[7] Wan Q. Anal. Chem. [J],1997 ,69(3) :361.

[8] Wan Q.J. Chromatogr. A[J],1997 ,782 :181.

[9] Orlando L ,Sánchez M ,Ever P H ,Michael L ,Wolfgang L ,Ernst K. Electrophoresis[J],2003 ,24(3) :390.

[10] Poppe H. Anal. Chem. [J],1992 ,64(17) :1908.

[11] Knox J H.J. Chromatogr. A[J],1994 ,680(1) :3.

[12] Choudhary G,Horvath C.J. Chromatogr. A[J],1997 ,781 :161.

[13] Rebscher H ,Pyell U. Chromatographia[J],1994 ,38(11-12) :737.

[14] Dittmann M M ,Roizing G P.J. Chromatogr. A[J],1996 ,744 :63.

[15] Cikalo M G,Bartle K D ,Myers P.J. Chromatogr. A[J],1999 ,836 :35.

[16] Crego A L ,Martinez J ,Marina M L.J. Chromatogr. A[J],2000 ,869 :329.

[17] Banholczar A ,Pyell U.J. Chromatogr. A[J],2000 ,869 :363.

[18] GUAN Yan-hua(关燕华) ,WEI Wei(魏 伟) ,WANG Ru-ji(王如骥) ,LUO Guo-an(罗国安). Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学)[J],1998 ,26(4) :396.

[19] ZHANG Li-hua(张丽华) ,ZOU Han-fa(邹汉法) ,SHI Wei(施 维) ,NI Jian-yi(倪坚毅) ,ZHANG Yu-kui(张玉奎). Chinese Journal of Chromatography(色谱)[J],1998 ,16(2) :106.

[20] YOU Hui-yan(尤慧艳) ,ZHANG Wei-bing(张维冰) ,ZHANG Li-hua(张丽华) ,ZHANG Yu-kui(张玉奎). Journal of Analytical Science(分析科学学报)[J],2007 ,25(3) :435.

[21] YOU Hui-yan(尤慧艳) ,ZHANG Wei-bing(张维冰) ,SHAN Yi-chu(单亦初) ,YAN Chao(阎 超) ,ZHANG Yu-kui(张玉奎). Chinese Journal of Science Technology and Engineering(科学技术与工程)[J],2002 ,3:9.

[22] ZHANG Li-hua(张丽华). Ph. D. Dissertation(博士论文) [D]. Dalian:Dalian Institute of Chemical Physics ,Chinese Academy of Science(中国科学院大连化学物理研究所) ,2000.

Comparison of Electroosmotic Flow Measuring by Two Methods in Reversed Capillary Electrochromatography

YOU Hui-yan^{1,2}, LIANG Zhen², ZHANG Yu-kui^{*2}

(1. Environmental and Chemical Engineering College, Dalian University,
Dalian, Liaoning 116622;

2. National Chromatographic R & A Center, Dalian Institute of Chemical Physics,
The Chinese Academy of Sciences, Dalian, Liaoning 116011)

Abstract: There are many methods in measuring electroosmotic flow. The common one is to use a marker. In this article, the dead time was obtained by two methods. One was by using thiourea as a marker, from linear and the other was regression of benzene homologue. Based on the dead time obtained from these two methods, characteristics of electroosmotic flow in reversed phase capillary electrochromatography were investigated under the conditions of different organic modifier, separating voltage and ionic strength. The results showed that they obeyed the common law, but the thiourea marker had the characteristics of migration and the electroosmotic flow measuring by this method has some weak change due to the different conditions.

Keywords: Capillary electrochromatography; Electroosmotic flow; Thiourea

欢迎购买《邮票上的杰出科学家》等论著

- 1.《邮票上的光谱学和化学史》,周开亿等编,《科学出版社》1991 年出版,16 开,158 页,每册 10 元。
- 2.《邮票上的化学、光学和光谱学史》,周开亿主编,《光谱实验室》2006 年第 1 期彩色抽印本(收藏本),16 开,64 页,每册 30 元。买 3 送 1。
- 3.《邮票上的科学家——佼佼者之路》,周开亿主编,《光谱实验室》2007 年第 1 期彩色抽印本(珍藏本),16 开,196 页,每册 70 元。买 3 送 1。
- 4.《邮票上的杰出科学家》,周开亿主编,《光谱实验室》2008 年第 1 期彩色抽印本(珍藏本),16 开,240 页,每册 90 元。买 5 送 1。

以上各书售价中均含邮寄费。

联系地址:北京市 81 信箱 66 分箱《光谱实验室》编辑部联络处 刘建林,邮编:100095