

微柱液相色谱技术

王玉红^{1,2} 张庆合^{1,3} 苏立强² 张维冰^{2,3} 李彤^{1,3} 张玉奎³

(¹大连依利特分析仪器有限公司 大连 116011)

(²齐齐哈尔大学化工学院 齐齐哈尔 161006)

(³中国科学院大连化学物理研究所 1810 组 大连 116011)

E-mail: i_am_wyh@163.com

摘要 由于微柱液相色谱(μ -LC)具有高检测灵敏度、低溶剂消耗、可以与质谱等多种检测器联用的特点,具有广阔的应用前景。本文对微柱液相色谱技术的最新进展加以系统综述,引文 39 篇。

关键词 微柱液相色谱;泵;检测器

中图分类号 O652.63; O657.7

The Technology of Micro-column Liquid Chromatography

Wang Yuhong^{1,2}, Zhang Qinghe^{1,3}, Su Liqiang², Zhang Weibing^{2,3}, Li Tong^{1,3}, Zhang Yukui³

(¹Dalian Elite Analytical Instruments Company, Limited, Dalian 116011, China)

(²Qiqihaer University, Qiqihaer 161006, China)

(³Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116011, China)

Abstract Micro-column liquid chromatography (μ -LC) plays a complementary role in HPLC, because of several key advantages: the ability to work at very low flow rates, which leads to a significantly lower solvent consumption; the possibility to inject very low sample size; the enhanced detection using concentration-sensitive detectors due to a much lower chromatographic dilution during the separation process (mass sensitivity). These attributes allow the rapid development of μ -LC, especially in combination with mass spectrometry (MS). Recent development of μ -LC including pump, detector and column, are reviewed in this paper, 39 paper are cited.

key words μ -LC; pump; detector

1 引言

微柱液相色谱(μ -LC)是指采用内径为 0.10mm~1.00mm 色谱柱的液相色谱装置。与常规液相色谱相比, μ -LC 可以使用较小颗粒的固定相,具有更高的柱效和更快的分析速度,其总分离效能可达 15 万理论塔板/米以上。此外,固定相和流动相比常规 HPLC 节省 97% 以上,样品消耗减少 90%,环境污染小。 μ -LC 的最佳流量低,易与质谱等多种检测器及多维色谱联用。

对 μ -LC 的研究始于 1967 年,Horvath 等用微柱分离核苷酸取得了较好的结果^[1]。随后,各种不同结构和功能的细内径色谱柱相继被开发和应用^[2,3],并随着精密制造及微加工技术的进步和新材料的不断问世得到了较快的发展。 μ -LC 产业化的关键在于高压微流量定量输液系统和高灵敏检测器检测池的微量化^[4,5]。1976 年,日本 JASCO 公司推出了第一台商品化 μ -LC 仪器,随后,各大色谱仪器公司也相继推出了自己的

产品。Vissers 就 μ -LC 的仪器、检测、应用以及联用技术作过综述^[6,7],对于柱技术、检测技术等也有相关的综述文章发表^[8-12]。本文对近年来 μ -LC 仪器的研究进展加以综述,并展望其发展趋势。

2 微柱液相色谱仪器装置

2.1 泵系统

与常规分离分析系统不同,微型流动分离分析系统的液体流量在 nL/min 级至 μ L/min 级,并要求流量/压力可控、流动相组成和流向可控。目前 μ -LC 多采用螺旋注射泵及往复柱塞泵作为输液源。Zhou 等^[13]设计的微量输液泵,其原理如图 1 所示。这种泵以微型步进电机驱动高精度螺杆,通过柱塞吸入、推出流动相(0.3nL/步),结合系统控制器输流量具有高精度和精密性,重现性较高。利用该装置,采用 Inertsil ODS-3(3 μ m)150mm \times 320 μ m i.d.和 Inertsil ODS-3(5 μ m)

收稿日期:2003-10-24

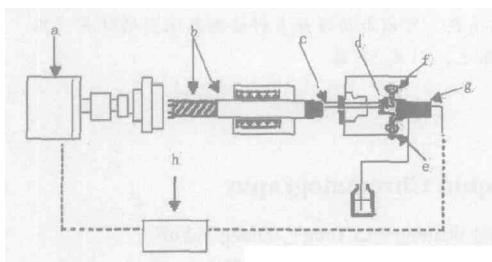
基金项目:国家自然科学基金资助(20105006)课题。

作者简介:王玉红,女,在读硕士研究生,主要从事微柱液相色谱技术及其使用仪器的研究工作。

现代科学仪器 2004 4

13

150mm × 1.0mm i.d.的色谱柱对细胞色素c胰蛋白酶的消化液进行梯度洗脱,取得了非常好的分离效果。关亚风等^[6,14]设计了一种采用电渗流驱动的电渗泵(EOP),其原理如图2所示,可以提供nL~μL/min级的液体流量和0~20MPa的输出压力,流量控制便捷,用140mm × 320 μm i.d.,C₁₈(5 μm)色谱柱分离了萘、葱、菲的混合试样,说明这种泵能应用于反相液相色谱微柱分离^[6]



a. 微步电动机 b. 高精密螺杆 c. 柱塞 d. 柱塞腔 e. 入口单向阀 f. 出口单向阀 g. 压力传感器 h. 系统控制器

图1 螺旋微量泵原理图

1. 高压直流电源 2. 铂丝 3. 溶剂储蓄池与正极相连 4. 填充柱(三通道) 5. 空心电极与负极相连 6. 液压传感器,气泡去除器 7. 泵出口(与分析柱和进样阀相连)

图2 电渗泵

微流量泵的流速需根据色谱柱规格进行选择。常规柱的流速已确定,微柱的流速则可以根据色谱柱的内径进行换算,换算因子为: $f_{\text{比率}} = d_{\text{微柱}}^2 / d_{\text{常规柱}}^2$,由此即可得到已知内径色谱柱的流速。

2.2 检测系统

一般地,凡是适配于毛细管电泳的检测器都适合μ-HPLC使用。紫外可见、示差折光、荧光、电化学、化学发光、蒸发散射等检测手段均可用于μ-HPLC系统。

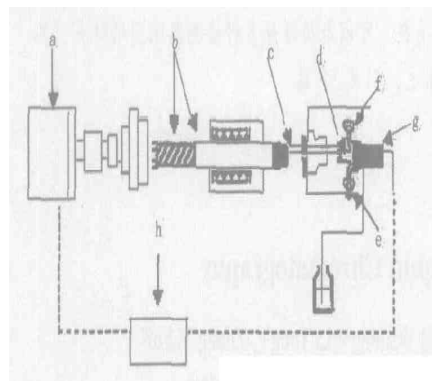
紫外可见(UV-Vis)光谱检测器因其普适性而成为μ-LC系统最常用的检测器。常规HPLC目前使用的检测池体积大多数小于或等于8 μL。为了减小检测池引起的峰展宽,与微柱相适配的池体积应在nL或μL级。μ-LC采用石英毛细管色谱柱时,多为柱上检测方

式。然而柱上检测,因柱内径即光程长度只有0.1mm~0.5mm,检测灵敏度会降低。目前采用的检测池结构主要有三种^[15],如图3所示。

图3A为一般的垂流通池柱上检测形式,通过除去柱尾引出空毛细管外的聚酰亚胺涂层,将透明石英部分作为检测窗口。考察垂流通池时不仅要考虑柱管内径,还要考虑它与入射光之间距离以及入射光斑宽度的影响。垂流通池可使池体积影响降至最低,但由于吸收光程太短,柱上检测灵敏度较低。

图3B为Z形池形式,由Chervet^[16,17]设计。由于其特有的直角结构,有相对较长的吸收光程,所以有较高的灵敏度。对50 μm内径的毛细管,在Z形池光程长5mm的条件下,其检测灵敏度可提高100倍。由于光程增加,对于迁移时间相近的区带,分离度损失严重,并且在检测窗口部分毛细管由于失去了聚丙烯酰胺的保护作用而极易断裂。

图3C为泡形池,具有泡形池的毛细管目前已由安捷伦公司商品化^[18]。由于检测光程的增加,检测灵敏度得到提高,还避免了分散作用的增强。但泡形池的存在会降低分离度和柱效。Mauro^[10]设计了一种体积30nL、光程长12mm的紫外检测池。实验中发现,流通池的连接管采用石英毛细管要比PEEK管的柱外效应小。



3A 垂流通池, 3B Z形池, 3C 泡形池
图3 常用流通池结构

2.3 进样系统

μ-LC的进样量在几个nL到1 μL的范围,因此对于进样死体积有更高的要求。微量进样器的研究也是目前μ-LC的研究热点之一。最近,Valeri等^[19]设计了一种图4所示的交叉结构注射器,进样范围在2~40nL。这种注射器由三根玻璃毛细管和硅树脂管组成。在a管的中间有一个矩形槽(700 μm宽,375 μm深),在b管6mm部分有一个小孔,c管的中间也开一个矩形槽(750 μm宽,350 μm深),将a,b,c三根管子按图示组装好。使小孔与两个矩形槽对准,可实现一次简单进样。