

离子色谱的最新进展

朱 岩

(浙江大学化学系,浙江 杭州 310028)

摘 要:综述离子色谱近来的最新进展,并从电化学技术的应用,新型固定相技术等几个方面进行了讨论。

关键词:离子色谱;进展;电化学

中图分类号:O658

文献标识码:A

文章编号:1671-8798(2003)S0-0109-04

在常用四大类色谱技术中,离子色谱一直列第三位,虽然从来没有被列为热门技术,但它的发展速度却一直名列前茅,并且在越来越广泛的领域得到应用。经过了近30年的发展,离子色谱技术随着应用需求的推动,发展势头越来越强劲。2002年国际离子色谱代表人物 P.R.Haddad 获得 Martin 色谱科学金奖,2003年的无试剂离子色谱(Reagent Free Ion Chromatography)获得美国匹次堡会议(Pittcon)金奖,就是很好的例子。

1 电化学技术的应用

在近年的离子色谱发展过程中,其重点之一是围绕着电化学技术,而电化学技术主要从两个方面着手,其中一项以水的电解技术为基础,最先提出并在离子色谱中得到应用是厦门大学田昭武院士^[1,2]。而另一项技术是由美国 Iowa 州立大学 D.C.Johnson 所提出的脉冲安培检测技术^[3,4],随着脉冲安培检测技术的完善并与高效的树脂柱结合,建立了可以用于糖类、氨基酸、抗生素等大量生物化合物生物液相。

1.1 电解技术

水通过电解在阳极产生氢离子和氧气,而在阴极产生氢氧根离子和氢气是一个非常传统的概念,但如何利用电解所产生的氢离子或氢氧根离子于离子色谱中,是一直直到离子色谱出现了10多年以后才开始研究,随着田昭武院士将电解技术离子的定向运行规律运用于离子色谱的技术器中^[1,2],一系列电解新技术出现在离子色谱领域,它们包括以下几个方面。

1.1.1 电解抑制器

最早期厦门大学所提出的抑制器采用柱状电极,再生液室比较大^[1,2],抑制器在使用之前需要加硫酸。戴安公司在1992年将电解技术用于平板膜抑制器上,使抑制器只要通过水就能够进行工作,从而使抑制不加必再加再生液,通过淋洗液检测的回路就可以进行工作,这种抑制器称为自再生抑制器。经过10年的发展,电解技术的抑制器已经日趋成熟,成为一种最通用的离子色谱抑制器。

1.1.2 电解淋洗液发生器

通过电解和膜技术,在线接入离子色谱的流路,并对离子色谱氢氧根淋洗进行纯化的技术,最先由 P.K.Dasgupta 提出^[5-7]。1998年戴安公司将这一技术商品化,采用特定的淋洗罐,在流路中通入水,就能够产生氢氧化钾淋洗液,称这一技术为“只加水”技术。电解淋洗液发生器,通过泵入纯水,就能够产生淋洗液,

收稿日期:2003-09-30

作者简介:朱 岩(1965—),男,教授,浙江杭州人,主要从事离子色谱分析方法的研究。

极大地方便了离子色谱用户,也使氢氧根淋洗液在线发生不易带入碳酸根离子,而且通过控制电流就能够控制淋洗液的浓度,可以很方便地实现梯度淋洗。

1.1.3 离子回流

最先发明离子色谱的 H.Small 在 1998 年将电解淋洗液发生和抑制两者结合起来,提出了离子回流(Ion Reflux)技术^[8,9],该技术巧妙地应用了树脂的导电性和电解过程两边分别产生氢离子和氢氧根离子,从而使离子色谱分离只要纯水就可以实现分离。

1.1.4 连续再生捕获柱

为了清除在淋洗液中的痕量杂质如氢氧根中痕量碳酸根,将电解、树脂及膜技术结合,组成可以连续再生捕获柱,大大提高了淋洗液的纯度和方便了用户。

1.1.5 无试剂离子色谱

将电解抑制、淋洗液发生和连续再生捕获三个技术结合,即戴安公司推出的无试剂离子色谱技术,该技术获得 2003 年美国匹次堡会议(Pittcon)金奖。

1.2 脉冲安培检测

安培检测是对易于氧化-还原的物质进行测定,糖类、氨基酸及含硫化合物在一些贵金属表面会产生电化学催化氧化(特别在碱性条件下),因此,在合理的施加电位的条件下,这些脂肪族化合物就可以直接用金电极或铂电极测定,但问题是这类化合物一旦发生了氧化还原后,其氧化中间产物会积聚在电极的表面,必须要将电极清洗后才能再进行电化学氧化,而在液相色谱中要经常性地对电极清洗几乎是不可能。脉冲安培检测器,最初是 D.C.Johnson 提出^[3,4],其原理是在一个常规的施加电位下,对样品进行检测外,再外加一下比较高和比较低的电位对电极进行清洗,因此只对施加电位下进行信号采集。循环往复确保样品的信号采集和电极的连续清洗。

1.2.1 脉冲安培检测器

最初的脉冲安培检测采用铂电极,虽然铂电极可以在广泛的 pH 范围内使用,但铂电极稳定性比较差,Dionex 将电极改为金电极并最早将脉冲安培检测器商品化。金电极要求在碱性条件才能实现检测,因此,将脉冲安培检测与碱性条件的阴离子交换分离结合,就可以实现糖类及类似结构的化合物的检测。当然,只要条件设定好,脉冲安培检测器可同时用于直流安培检测。

1.2.2 积分脉冲安培检测器

在测定胺基和含硫化合物时,检测的原理基本上与糖类相似,但这些化合物测定的检测电位比较高,常规脉冲安培检测器测定时往往会产生漂移,因此,D C Johnson 等人^[3,4]在常规脉冲安培检测器的基础上研制了第二代脉冲安培检测器即积分脉冲安培检测器,其特点是保留脉冲安培检测器电极清洗的特点外,对电位和电流进行积分(库仑信号),从而消除了高检测电位所带来的漂移,可以用于包括氨基酸、含硫 生素类化合物的高灵敏检测。

1.2.3 生物液相色谱

脉冲安培检测器解决以往包括糖类、氨基酸及含硫化合物等用常规 HPLC 方法难以解决又是生物体中大量存在的物质分析方法难题,加上惰性的 PEEK 材料,高效的离子交换色谱柱用于蛋白质、多肽、核酸等化合物的分离和检测,及与质谱的联用,建立了一个强大生物分析设备,其特点是既可以用于生物、医学研究的小分子和无机离子的分析,又可以解决大量生物分子和检测,是离子色谱研究一个新领域。

2 新型固定相技术

2.1 羟基选择性接枝型色谱高效离子色谱固定相

HSmall 提出抑制型离子色谱技术开始,人们在理论上认为氢氧根离子是阴离子分析中最理想的淋洗液,但实际氢氧根淋洗液的离子色谱一直到近来才真正发展起来。制约氢氧根淋洗液发展的主要原因是:①氢氧根淋洗液的配制过程中极易带进二氧化碳,从而形成碳酸盐对分析结果产生不利影响;②与碳酸根和碳酸氢根相比,氢氧根只是一种价态的离子,要在合理条件下同时洗脱不同价态的离子,对固定相要求就更高;③

氢氧根的洗脱能力相对比较弱,因此要采用比较高的浓度进行洗脱,对抑制器的要求也就更高。但随着近年来离子色谱技术的发展,特别是无试剂离子色谱的提出、新型固定相的研制和更高水平的抑制技术的发展,羟基选择性离子色谱固定相成为离子色谱固定相发展的一个新方向。

2.2 静电离子色谱和仿生离子色谱

静电离子色谱又称为两性离子色谱,是 W Z Hu(胡文治)等最先提出的^[10,11],它是在反相离子色谱固定相上涂覆的两性离子,利用固定相具有阴阳离子两性的特征,早期的研究认为只要用纯水就可以同时分离不同的离子,但研究发现实际分离过程是同一离子的不同对离子形态也会形成多个色谱峰。为了解决这一问题,静电离子色谱建立了一系列类似于常规离子色谱分离方式,虽然这些分离与常规离子色谱有一些保留方面的差异,但总体而言,静电离子色谱在分离和检测上并没有明显的优势,而涂覆型色谱柱的稳定性和 pH 的适用范围,使静电离子在实际推广上受到很大限制。近年来,静电离子色谱技术向涂覆生物活性材料方向发展,模拟生物膜的交换体系,可望成为仿生离子色谱技术^[12]。

2.3 可变交换容量的固定相

常规的离子色谱树脂离子交换场所为点状的阴、阳离子基团,而新型的离子色谱树脂可以是环状或球状的交换基团,穴状配体(Cryptand)树脂就是一个例子^[13,14],10 前就有人采用穴状配体作为离子色谱固定相,Dionex 将穴状配体键合至树脂填料并商品化^[15]。采用穴状配体阴离子树脂,其最明显的特征是离子交换的保留强度随着对离子的不同而不同,对阳离子的半径越大,树脂的环状阳离子交换基团越易于吸引阴离子,交换强度就越大。利用这类固定相的特点,就可以采用不同的阳离子淋洗液来控制保留的强弱,也可以利用对离子的不同来进行梯度淋洗。这种对离子色谱柱在 1999 年已经由 Dionex 生产和商品化。

2.4 涂覆型高效离子色谱固定相

常规的涂覆型离子柱采用阳离子表面活性剂或阴离子表面活性剂涂覆在反相 HPLC 色谱柱实现,以往这类涂覆型离子色谱柱虽然价格便宜,涂覆可以反复进行,但往往柱效不高(一般在 10 000 至 20 000 塔板数/m 之间),仅为常规反相 HPLC 柱效的 1/5,而交换容量往往偏高,这样的低柱效与普通的离子色谱柱相比并没有任何优势。我们通过改变涂覆方式和涂覆条件,特别是利用了非离子表面活性剂^[16,17],使新型的涂覆型离子色谱柱效达到 70 000 塔板数/m,远远高于目前最好的商品化离子色谱柱,除去抑制器对柱效的影响,这类的柱效基本上与 HPLC 柱相似。虽然涂覆型离子色谱柱还有稳定性问题,但我们有理由相信,寻求一种新的键合途径,可望使离子色谱柱的柱效与常规 HPLC 相一致。

2.5 整体式离子色谱固定相

整体式液相色谱柱是近 10 年液相色谱的一个新热点,它的高效、高速、低压使传统的液相色谱和毛细管电泳及毛细管电色谱又提向一个新的高度。而整体式离子色谱柱在很低的压力下实现分离,可以将离子色谱的流速和效率大大提高,使普通离子色谱分离以分钟为保留时间单位缩短到以秒为时间单位,在不改变离子色谱稳定性前提下,使灵敏度和分离时间缩短至毛细管电泳的水平^[18]。虽然目前整体式离子色谱固定相主要采用商品化反相整体式色谱柱涂覆表面活性为主,但从整体式色谱柱制作过程看,整体式色谱柱更适合于离子色谱柱,整体式离子色谱固定相也是今年 IICS(国际离子色谱学术会议)的重点。

2.6 芯片式离子色谱固定相

与整体式离子色谱柱一样,芯片式离子色谱固定相具有体积小,分离速度快,柱压低和灵敏度高的特点^[19,20],但芯片的制作,以及芯片与常规离子色谱检测的联用,还将是有待解决的问题。

3 其他

3.1 两性离子流动相

在离子色谱的流动相方面,目前离子色谱仍主要以常规无机弱酸盐为主,碳酸根/碳酸氢根淋洗液可以有效控制一价和二价离子的分离,而氢氧根淋洗液随着无试剂推广和新型固定相的出现而越来越普及。总体而言,离子色谱流动相方面的变化不明显。而值得特别提出的是两性离子流动相,由于两性离子通过抑制器后电导接近于零,因此,两性离子可以作用抑制型离子色谱的流动相,但与常规离子流动相相比,两性离子

更接近于中性,这些使原本只能在强酸强碱条件进行的分离可以在中性条件下实现,离子色谱可以采用更高效的硅胶型色谱柱,虽然两性离子流动相在 20 世纪 80 年代已经出现^[21,22],但近年来,我们的研究发现两性离子本身较大分子结构更适合于有机化合物的分离,也将反相 HPLC 柱用于流动相离子色谱(MPIC)分析,甚至可以用抑制电导实现过渡金属的分析。

3.2 离子色谱的最新检测技术

离子色谱新一代的检测,必将与其他更新的分析仪器联用,以解决离子色谱的定性和更高灵敏度的检测,由于离子色谱的抑制器同时也是一个除盐器,使得离子色谱与常规的离子对色谱相比,更宜于与质谱联用^[23]。ICP 及 ICP-MS 作为元素分析仪器,离子色谱则可以很好地将各种形态分离,两者联用可以达到消除基体干扰和实现形态分析的目的。

3.3 离子色谱的最新应用

离子色谱的最新应用主要是以解决传统 GC 和 HPLC 所无法解决的分析难题为主,其特征是可电离、无(或弱)紫外吸收的化合物。由于离子色谱分离常规无机阴、阳离子已经是被广泛认可的分析方法,随着离子色谱固定相水平的提高,检测技术的完善,离子色谱已经应用于:①生物可电解物质;②糖类和氨基酸;③维生素和抗生素;④蛋白质和多肽^[23]。

参考文献:

- [1] Tian Z W, Hu R Z, Lin H S *et al.* High-performance electrochemical suppressor for ion chromatography[J]. *J. Chromatogr*, 1988, 439: 159.
- [2] 田昭武,胡荣宗,林华水,等. 离子色谱抑制柱[P]. 中国专利:85102998 A, 1986-01-10.
- [3] Johnson DC, LaCourse WR. Liquid chromatography with pulsed electrochemical detection at gold and platinum electrodes[J]. *Anal Chem*, 1990, 62: 589A.
- [4] Johnson DC, Dobberpuhl D, Roberts R, *et al.* Pulsed amperometric detection of carbohydrates, amines and sulfur species in ion chromatography - the current state of research[J]. *J. Chromatogr*, 1993, 640: 79.
- [5] Strong DL, Dasgupta PK, Friedman K *et al.* Electrolytic eluent production and gradient generation in ion chromatography[J]. *Anal Chem*, 1991, 63: 480.
- [6] Strong DL, Joung CU, Dasgupta PK. Electrolytic eluent generation and suppression. Ultralow background conductance suppressed anion chromatography[J]. *J. Chromatogr*, 1991, 546: 159.
- [7] Sjogren A, Boring CB, Dasgupta PK *et al.* Capillary ion chromatography with online high-pressure electrolytic sodium hydroxide eluent production and gradient generation[J]. *Anal Chem*, 1997, 69: 1385.
- [8] Small H, Riviello J. Electrically polarized ion exchange beds in ion chromatography: ion reflux[J]. *Anal Chem*, 1998, 70: 2205.
- [9] Small H, Liu Y, Avdalovic N. Electrically polarized ion-exchange beds in ion chromatography: eluent generation and recycling[J]. *Anal Chem*, 1998, 70: 3629.
- [10] Hu Wenzhi, Toyohide Takeuchi, Hiroki Haraguchi. Electrostatic ion chromatography[J]. *Anal Chem*, 1993, 65: 2204.
- [11] Hu W, Haddad PR. Electrostatic ion chromatography[J]. *Trends Anal Chem*, 1998, 17: 73.
- [12] Hu WZ, Haddad PR, Hasebe K, *et al.* Use of a biomimetic chromatographic stationary phase for study of the interactions occurring between inorganic anions and phosphatidylcholine membranes[J]. *Biophys J* 2002, 83: 3351-3356.
- [13] Chen SJ, Shih JS. The application of cryptand 22 as a bifunctional stationary phase for ion chromatography[J]. *J. Chem Soc*, 1991, 38: 211.
- [14] John DL, Robert GS. Application of macrocyclic ligands to ion chromatography[J]. *J. Chromatogr*, 1991, 546: 73.
- [15] Woodruff A, Pohl CA, Bordunov A, *et al.* Adjustable-capacity anion-exchange separator[J]. 2002, 956: 35.
- [16] Zhu Y, Haddad PR, Fritz JS. Ion chromatography on reversed-phase materials coated with mixed cationic and nonionic surfactants[J]. *J. Chromatogr*, 2003, 985: 359.
- [17] Fritz JS, Zhu Y, Haddad PR. Modification of ion chromatographic separations by ionic and nonionic surfactants[J]. *J. Chromatogr*, 2003, 997: 21.
- [18] Hatsis P, Lucy CA. Improved sensitivity and characterization of high-speed ion chromatography of inorganic anions[J]. *Anal Chem* 2003, 75: 995-1001.
- [19] Murry JP, Breadmore MC, Ton A, *et al.* Ion chromatography on chip[J]. *J. Chromatogr A* 2001, 924: 233.
- [20] Deng G, Collins GE. Nonaqueous based microchip separation of toxic metal ions using 2-(5-brom-2-pyridylazo)-5-(N-propyl-N-sulfo-propylamino)phenol[J]. *J. Chromatogr A*, 2003, 989: 311.
- [21] Zhu Y, Lin YY, Fritz JS, *et al.* Separation of Anions by MPIC with a Novel Cationic/Zwitterionic Eluent and Direct Conductivity[J]. *J. Chromatogr A*. in press
- [22] Zhu Y, Haddad PR, Fritz JS. Zwitterions as eluent component in cation chromatography[J]. in press *Chromatogr A*.
- [23] Sarzanin C. Recent developments in ion chromatography[J]. *J. Chromatogr A*, 2002, 956: 3-13.

(下转第 108 页)