

微孔滤膜的选择对液相色谱仪的影响

李春玲, 王晓佳, 张敏

(中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心 分子细胞技术平台, 上海市 200031)

摘要: 液相色谱广泛应用于生命科学、食品科学、药物研究以及环境研究中。高效液相色谱分析实验中, 为防止颗粒物进入系统发生堵塞或对部件造成磨损, 流动相和样品需经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后才能进入仪器系统。我们通过记录使用两种不同微孔滤膜过滤流动相, 设备的耗材更换频率和部分信号响应的差异情况, 阐明微孔滤膜的选择对高效液相色谱系统维护的重要性; 并通过对滤膜物理性质的分析, 提供了滤膜选择的技术指标。

关键词: 微孔滤膜; 液相色谱; 流动相

The influence of microporous filter membrane for liquid chromatography

Li Chunling, Wang Xiaojia, Zhang Min

(Center for Excellence in Brain Science and Intelligence Technology Molecular and Cellular Biology Core Facility, Shanghai 200031)

Abstract: Liquid chromatography is widely used in life science, food science, drug research, and environmental research. In high-performance liquid chromatography analysis experiments, in order to prevent tiny particulates and impurities from entering the system and causing blockage or wear on components, the mobile phase and sample should be filtered through 0.22 μm microporous filtration membrane. We have discovered that the frequency of consumables replacement and signal responses were influenced by microporous filter membrane with same specification but from different manufacturers. And by analyzing the physical properties of the filter membrane, technical indicators for selecting the filter membrane were provided.

Keywords: microporous filtration membrane; liquid chromatography; mobile phase

1 引言

液相色谱系统由储液器、泵、进样器、色谱柱、检测器、记录仪等几部分组成。储液器中的流动相被高压泵打入系统, 样品溶液经进样器进入流动相, 被流动相载入色谱柱(固定相)内, 由于样品溶液中的各组分在两相中具有不同的分配系数, 使各组分得以分离, 依次从柱内流出, 通过检测器时, 样本浓度被转换成电信号传送到记录仪, 数据以图谱形式输出检测结果。为防止颗粒物进入系统发生堵塞或对部件造成磨损, 流动相和样品需经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后才能上机。在长期实践中, 我们发现, 尽管标注的滤膜孔径相

同，但使用不同厂家的微孔滤膜过滤流动相，设备耗材更换频率有明显的差异；并分析发现为其对部分目标化合物的响应值也有影响。但这些影响需要经过数月的时间才会发现，如何能够更快捷的判断滤膜品质呢？我们测量了这两种滤膜的质量及厚度，发现滤膜的平均密度与耗材更换频率有相关性，为微孔滤膜的选择提供快捷的判断指标。

2 材料与方法

2.1 仪器与耗材

液相色谱仪串联电化学检测器(Thermo Ultimate 3000-ECD)，离心机(Beckman Coulter, Allegra 64R Centrifuge)，微孔滤膜 1(Durapore, 0.22 μ m PVDF Membrane)，微孔滤膜 2(0.22 μ m PVDF Membrane)，天平，卡尺，甲醇（色谱纯），一水合磷酸二氢钠(ACS Grade, VMR)，柠檬酸(ACS Grade, Sigma-Aldrich)，氢氧化钠(Reagent Grade, Sigma)，辛烷磺酸钠(BioXtra Grade, Sigma-Aldrich)，甲醇(HPLC Grade, TEDIA)，乙腈(HPLC Grade, Supelco)，混合对照品(多巴克、多巴胺、五羟吲哚、高香草酸、五羟色胺含量分别为 10ng/mL)。

2.2 实验方法

配置流动相：0.1M 磷酸二氢钠，50mM 柠檬酸，加入 NaOH 调节 pH 至 3.0，200mg/L 辛烷磺酸钠，7% 甲醇，用于液相色谱仪串联电化学检测器(Thermo Ultimate 3000-ECD)；

多巴克、多巴胺、五羟吲哚、高香草酸、五羟色胺的检测：使用微孔滤膜 1 和微孔滤膜 2 过滤的流动相，进行混合对照样品(多巴克、多巴胺、五羟吲哚、高香草酸、五羟色胺含量均为 10ng/mL)的检测，分析目标化合物峰面积；

称重：用电子天平称量单张微孔滤膜 1 和微孔滤膜 2 的重量；

直径和厚度测量：将 50 张微孔滤膜整齐的堆叠后，用卡尺测量滤膜的直径和厚度。

3 结果与讨论

3.1 液相色谱耗材更换或者清洗频率

高效液相色谱系统运行一段时间后，会出现液流不稳、压力升高、部分化合物信号减弱的现象，提示需要进行系统清洗或者耗材更换；我们详细记录了使用微孔滤膜 1 和微孔滤膜 2 过滤流动相后，液相色谱仪耗材的更换频率及自动进样器清洗频率（见表 1）

表 1 液相色谱仪耗材更换/清洗时间间隔记录

耗材名称	耗材更换/清洗时间间隔	
	微孔滤膜 1 过滤流动相	微孔滤膜 2 过滤流动相
单向阀	2 年以上	3 个月
柱前在线过滤器	2 年以上	6 个月
柱后在线过滤器	2 年以上	12 个月
自动进样器清洗	2 年以上	3 个月

3.2 目标化合物信号响应值比较

不同滤膜过滤流动相，不仅对耗材的使用寿命有影响，我们还观察到，其对部分目标化合物的检测有影响。我们分别在滤膜 1 和滤膜 2 过滤流动相的条件下，检测含有多巴克、多巴胺、五羟吲哚、高香草酸、五羟色胺（10ng/mL）的混合对照品（见图 1），并分析比较不同条件下各组分的峰面积（见表 2），结果表明，多巴克、五羟吲哚、高香草酸检测的峰面积没有明显差异，而多巴胺和五羟色胺的检测在滤膜 2 过滤流动相的条件下，检测到的峰面积明显减少了。

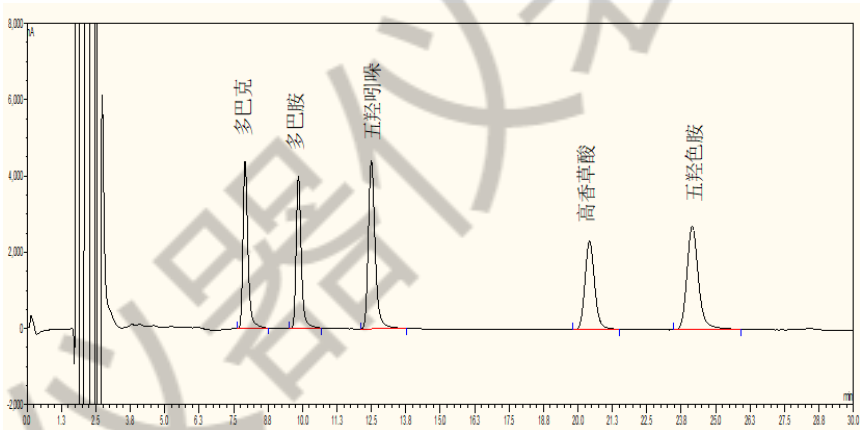


图 1 A

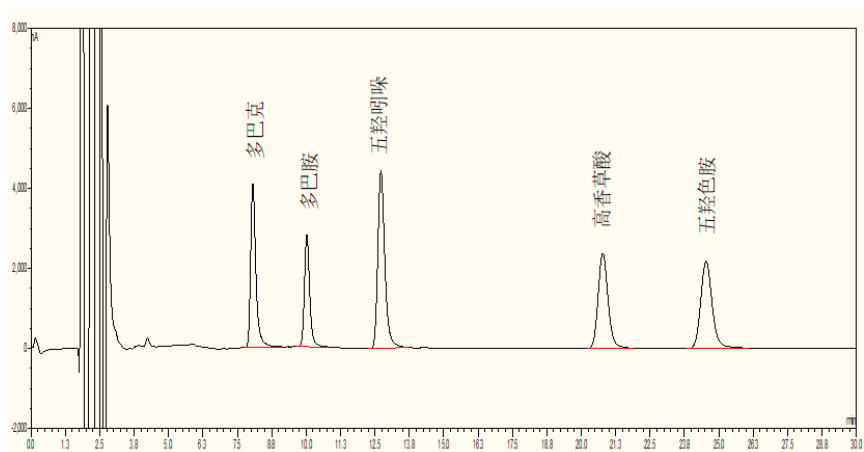


图 1 B

图 1 检测峰图：A 微孔滤膜 1 过滤流动相；B 微孔滤膜 2 过滤流动相，混合对照品 10ng/mL，按照出峰顺序分别为：多巴克、多巴胺、五羟吲哚、高香草酸、五羟色胺

表 2 化合物峰面积比较

化合物名称	峰面积	峰面积
	(微孔滤膜 1 过滤流动相)	(微孔滤膜 2 过滤流动相)
多巴克	919.5777	910.8008
多巴胺	859.2541	621.2724
五羟吲哚	1277.9003	1312.5327
高香草酸	940.47	957.1402
五羟色胺	1315.7226	1049.0501

3.3 滤膜物理性质比较

微孔滤膜的选择对设备耗材的使用寿命和部分化合物的检测都有影响，但其影响可能需要数月之后才会显现，为找到快捷的评判指标，我们对两种滤膜的重量、直径和厚度进行了测量（见表 3）。结果显示，微孔滤膜 1 和 2 的直径和厚度接近，但平均重量有明显的差别，滤膜 1 的平均密度明显大于滤膜 2；提示在厚度相当的前提下，滤膜的平均密度可以作为滤膜的一项评判指标。

表 3 微孔滤膜重量、直径和厚度测量

名称	微孔滤膜 1	微孔滤膜 2
平均重量 (n=3) (mg)	143.9±0.5	65.5±0.3
直径 (mm)	47	50

平均厚度 ($\mu\text{m}/\text{张}$)	110	100
平均密度 (mg/cm^3)	754.6	333.8

4 讨论

通过长期的记录和观察，我们发现使用不同滤膜过滤流动相，对液相色谱仪的耗材使用寿命有明显的影响，也会影响部分化合物的峰面积；其原因可能是部分滤膜平均密度较低，过滤后溶液中仍有部分颗粒物质残留。选择过滤效果更好的微孔滤膜，能减少系统中的微小颗粒。不仅可以降低仪器的维护成本和延长仪器使用寿命，也能维持仪器的稳定状态；对于部分化合物的检测，能增加信号响应值。

参考文献：

[1] (美)施耐德 (Snyder, L.R) 等. 现代液相色谱技术导论：第 3 版. 陈小明等译. 北京：人民卫生出版社，2012：45-46.