

亲水相互作用色谱法分析金属、 卤化物和无机离子

作者

Anne Mack、Adam Bivens
安捷伦科技公司

摘要

本应用简报介绍了如何使用亲水相互作用色谱 (HILIC) 分离各种无机离子。以往的高极性化合物分析仅限于几种特定的分析方法，如离子交换 (IEX) 法和离子色谱 (IC) 法。随着先进 HILIC 化学键合相的发展（如 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 和 InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5），现在可以在标准 HPLC 上采用水-乙腈梯度保留并分析离子物质。

前言

无机离子的分析是许多实验室的核心功能，但不易通过反相色谱法实现。这是由于高极性离子在相对非极性的化学键合相上的保留特性较差。多年来，离子交换 (IEX) 和离子色谱 (IC) 一直是唯一的选择，尽管它们的分析时间更长、对专门仪器的要求更高。

随着更先进的亲水相互作用色谱 (HILIC) 化学键合相的发展，这项技术能够分析各种高极性化合物（包括无机离子）。与 IEX 和 IC 方法相比，HILIC 还具有几项独特的优势：

- 可以在单次进样中同时分析阳离子、阴离子和极性中性化合物
- 采用标准的水-乙腈洗脱液，无需任何强酸或碱性添加剂
- 系统无需再生、抑制器或洗脱液发生器
- HILIC 可使用更高效的硅胶型基质取代聚合物树脂

除这些优势以外，Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 和 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 使用 2.7 μm 表面多孔颗粒填料，可实现 UHPLC 水平的效率和分离度，不会产生较高反压。

实验部分

试剂与化学品

所有试剂均为 ACS 级或更高等级。HPLC 级乙腈购自 Honeywell (Muskegon, MI, USA)。水的净化处理由 EMD Millipore Milli-Q Integral 系统 (Darmstadt, Germany) 完成。试剂级甲酸 (FA, 部件号 G2453-85060) 来自安捷伦科技公司。甲酸铵和无机离子标准品购自 Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA)。

仪器和材料

- Eppendorf 移液器和连续分液器
- Agilent InfinityLab 溶剂瓶，棕色，1000 mL (部件号 9301-6526)
- Agilent InfinityLab Stay Safe 溶剂瓶安全盖，GL45，3 口，1 个放空阀 (部件号 5043-1219)
- 样品瓶，螺口，棕色，带书写签，经认证，2 mL，100/包。(部件号 5182-0716)
- 安捷伦固定螺口盖，带 PTFE/红色硅胶隔垫 (部件号 5190-7024)
- 安捷伦样品瓶内插管，250 μL ，去活玻璃，带聚合物支脚 (部件号 5181-8872)
- Agilent InfinityLab Quick Connect 快速连接接头和 Quick Turn 接头 (部件号 5067-5957 和部件号 5067-5966)
- 低扩散工具包 (部件号 5067-5963)

仪器

本研究采用配备 Agilent G4218A ELSD 的 Agilent 1260 二元液相色谱系统。为最大程度减小系统扩散，所有连接毛细管长度均较短，内径为 0.12 mm。采用 Agilent OpenLab 软件控制系统并处理数据。

样品前处理

将无机离子作为盐进行分析，将其溶于水中，并单独进样而不经进一步的样品前处理。

流动相前处理

根据所需浓度称取甲酸铵，并与水混合。然后用甲酸将洗脱液的 pH 调节至 3。HPLC 级乙腈直接使用，无需进一步前处理。

注：甲酸铵缓冲液可能随时间延长而降解，因此建议每次混合的洗脱液不超过 1 L 并经常更换。

盐标样

盐溶液	浓度
氯化钙	2.4 mmol/L (0.4 mg/mL)
溴化锂	5.0 mmol/L (0.4 mg/mL)
氯化镁	3.0 mmol/L (0.3 mg/mL)
溴酸钾	2.1 mmol/L (0.3 mg/mL)
碘化钾	2.7 mmol/L (0.5 mg/mL)
磷酸钾	2.5 mmol/L (0.3 mg/mL)
溴化钠	3.4 mmol/L (0.3 mg/mL)
氯酸钠	3.4 mmol/L (0.4 mg/mL)

注：盐溶液必须考虑溶解度的问题，以免形成不溶性盐（如磷酸钙）。

仪器条件

参数	值
HPLC 条件	
色谱柱	Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z, 2.1 \times 100 mm, 2.7 μm (部件号 685775-924) Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5, 2.1 \times 100 mm, 2.7 μm (部件号 685775-601) Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC, 2.1 \times 100 mm, 2.7 μm (部件号 695775-901T)
流速	0.40 mL/min
柱温	30 °C
进样量	1 μL
流动相 A	100 mM 甲酸铵水溶液, pH = 3
流动相 B	乙腈
ELSD 条件	
温度	40 °C
压力	3.5 psi
数据采集速率	30 Hz

选择性比较

三种 InfinityLab Poroshell 120 HILIC 固定相对无机离子表现出差异极大的选择性。

表 1. 无机离子浓度及 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC 固定相之间的相应保留特性

分析物*	浓度	Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 保留时间	Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 保留时间	Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC 保留时间
氯离子 (Cl^-)	6.0 mmol/L (0.21 mg/mL)	4.37	3.62	0.97
氯酸根离子 (ClO_3^-)	3.4 mmol/L (0.28 mg/mL)	1.08	0.89	0.62
溴离子 (Br^-)	5.0 mmol/L (0.40 mg/mL)	2.26	1.55	0.69
溴酸根离子 (BrO_3^-)	2.1 mmol/L (0.27 mg/mL)	2.66	2.27	0.86
碘离子 (I^-)	2.7 mmol/L (0.34 mg/mL)	0.94	0.75	0.56
磷酸二氢根离子 (H_2PO_4^-)	2.5 mmol/L (0.24 mg/mL)	8.40	8.79	6.05
锂离子 (Li^+)	5.0 mmol/L (0.034 mg/mL)	6.34	5.26	3.39
钠离子 (Na^+)	3.4 mmol/L (0.078 mg/mL)	6.15	6.65	4.21
钾离子 (K^+)	2.7 mmol/L (0.11 mg/mL)	5.35	9.40	4.55
镁离子 (Mg^{2+})	3.0 mmol/L (0.072 mg/mL)	10.20	8.09	6.19
钙离子 (Ca^{2+})	2.4 mmol/L (0.096 mg/mL)	10.73	8.55	6.48

*注：具有相同阳离子或阴离子的盐所用的最高浓度

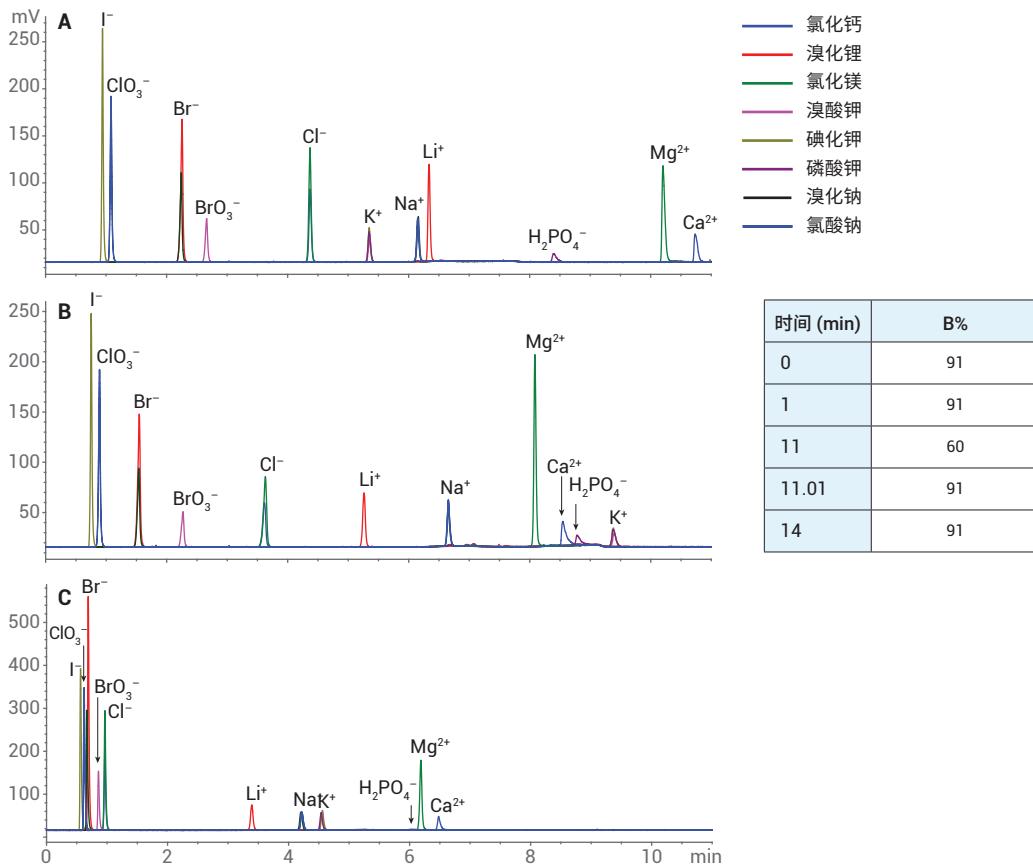


图 1. Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z (A)、HILIC-OH5 (B) 和 HILIC (C) 色谱柱之间选择性的比较

梯度优化

使用两部分梯度对方法进一步优化，以进一步改善分离速度、峰形和关键离子对的分离度。

最佳梯度： Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z	
时间 (min)	B%
0	91
1	91
6	80
11	20
11.01	91
14	91

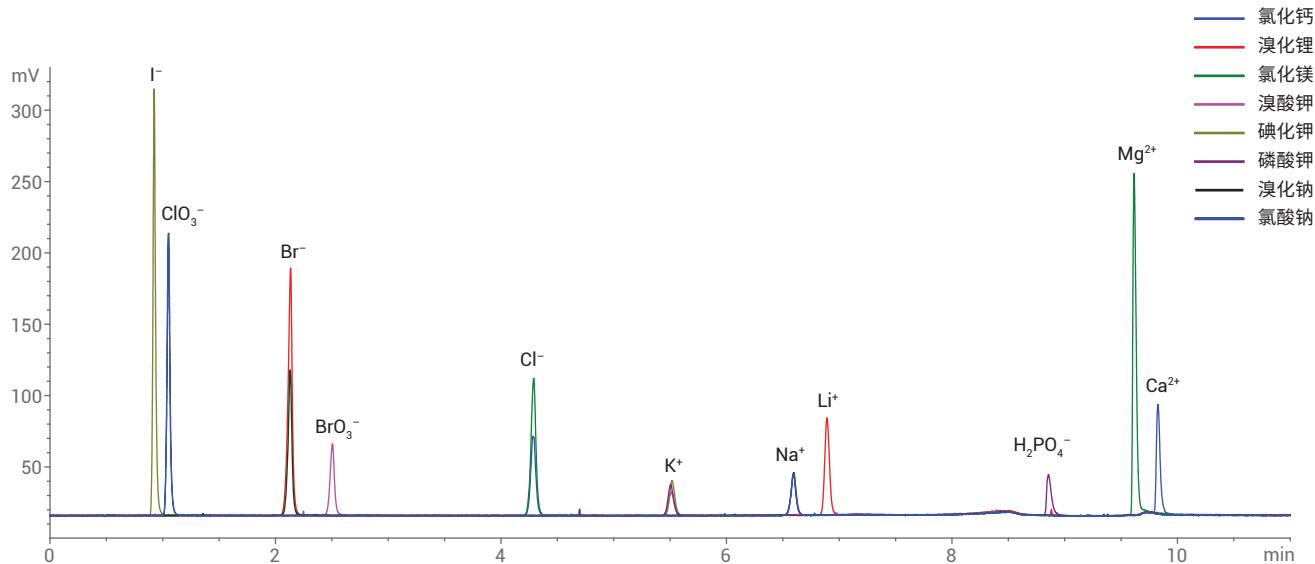


图 2. 无机离子在 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 固定相上经优化后的分离效果

结论

成功开发出一种用于分离无机离子的 HILIC 方法，并将该方法用于快速分离各种目标阳离子和阴离子。采用果聚糖键合相的 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 和采用两性离子键合相的 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 彼此表现出正交选择性。

与硅胶型 HILIC 固定相相比，InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 和 InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 使大多数离子（特别是阴离子）表现出显著改善的保留特性和分离度。

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。