

纳流液相分离与电感耦合等离子体质谱联用技术研究新进展

丁芳芳^{1,2}, 朱 珏¹, 郭 睿¹, 张 博^{1*}

(1. 厦门大学化学化工学院, 福建 厦门 361005; 2. 浙江省食品药品检验研究院, 浙江 杭州 310051)

摘要 高效微纳液相分离技术如纳流液相色谱、毛细管电泳、微芯片色谱/电泳等与电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)检测技术联用,既具有前端分离技术高选择性、高灵敏度、快速、低样品消耗的特点,又结合了后端ICP-MS检测分辨率高、动态范围宽、可绝对定量等优势,正在发展成为一种重要的高内涵联用分析手段。该文对近年来纳流液相分离与ICP-MS联用装置的发展作一系统介绍,对其在化学与生物化学分析等领域的应用予以综述,并展望了该联用技术的发展前景。

关键词 纳流液相分离 液相色谱-质谱联用 接口技术 电感耦合等离子体质谱 综述

中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-8713 (2019) 02-0132-11

Recent advances in hyphenation of nanoflow liquid phase separation with inductively coupled plasma mass spectrometry

DING Fangfang^{1,2}, ZHU Jue¹, GUO Rui¹, ZHANG Bo^{1*}

(1. College of Chemistry & Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China; 2. Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310051, China)

Abstract : High-performance nanoflow liquid-phase separation techniques such as nanoflow liquid chromatography (nanoLC), capillary electrophoresis (CE), and microchip chromatography and electrophoresis (chip-ICP-MS) have been hyphenated with inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) extensively. This hyphenation combines the excellent characteristics of the front-end separation technology, such as high selectivity, sensitivity, and speed, and low sample consumption, and the advantages of back-end ICP-MS, such as high resolution, wide dynamic range, and absolute quantification capability. Thus, such hyphenation is becoming an increasingly important analytical tool. Herein we systematically introduce the recent development of hyphenated nanoLC, CE, and chip-ICP-MS, review its application in chemical and biochemical analysis, and discuss potential future developments of hyphenating these technologies.

Key words : nanoflow liquid chromatography; liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) hyphenation; interface technology; inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS); review

近年来,分析科学研究越来越关注微纳尺度样品检测。20世纪80年代出现的硬电离技术电感耦

合等离子体质谱(ICP-MS),因其检出限低、通量高、动态范围宽等特点,正逐步成为微纳尺度分析中不

收稿日期 2018-11-22

* 通讯联系人, Tel: (0592) 2188691, E-mail: bozhang@xmu.edu.cn.

基金项目 国家自然科学基金(21475110, 21535007, J1310024); 厦门市科技计划项目(3502Z20173019); 中央高校基本科研业务费(20720160051).

Foundation item : National Natural Science Foundation of China (Nos. 21475110, 21535007, J1310024); Xiamen Municipal Science and Technology Plan Project (No. 3502Z20173019); Fundamental Research Funds for Central Universities of China (No. 20720160051).

可或缺的元素分析工具。ICP 离子源温度高达 6 000~10 000 K^[1], 足以使样品中化学键断裂, 同位素离子化成为带正电的阳离子。因此, ICP-MS 对元素的检测与所处分子环境无关, 受基体影响小, 常用于获取金属和部分非金属元素及其同位素的定量信息, 是目前研究的热点。

随着现代生命科学研究对元素形态分析的关注, 液相分离与 ICP 质谱联用技术的应用也愈加广泛。微量元素的生物活性及毒性不仅与该元素的总量有关, 更依赖于该元素的赋存形态; 同种元素的不同化学形态, 其生物活性和毒性相差甚远, 从而导致不同的环境毒害与生物效应。因此, 微量元素的形态分析变得越发重要, 仅检测微量元素总量已无法满足不断发展的生物化学、毒理学和营养学等领域的研究需要, 还需进一步提供微量元素的形态鉴定及定量信息。

对有限的生物样品中的微量元素进行表征, 需要纳流液相分离技术和元素质谱技术的耦合。纳流液相分离是指体积流量在几十~几百纳升/分钟的液相分离技术, 包括纳流液相色谱 (nanoLC)、毛细管电泳 (CE) 以及微流控芯片 (micro-chip LC, CE)^[2], 其显著区别于经典的高效液相色谱技术通常使用的毫升/分钟的体积流量。由于其极低的体积流量, 纳流液相分离技术一方面能够显著减少样品和溶剂消耗、降低分析成本、减小样品稀释程度、提高分析检测灵敏度, 与微尺度样品有优良的匹配性; 另一方面, 低速、微量的液流输入还能显著降低下游质谱离子源的负担, 因而与质谱检测器有良好的兼容性。纳流液相分离技术与 ICP 质谱分析联用 (见图 1), 既具有前端分离技术高选择性、高灵敏度、快速、低样品消耗的特点, 又结合了后端 ICP-MS 检测分辨率高、动态范围宽、可绝对定量等优势, 正在发展成为一种重要的分析手段。

接口技术是实现液相色谱-质谱联用的关键, 纳

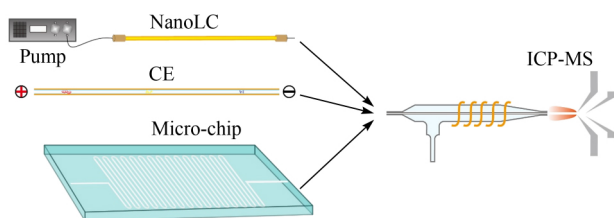


图 1 纳流液相分离与 ICP-MS 联用分析平台

Fig. 1 Hyphenation of nanoflow liquid phase separation techniques with inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS)

流液相分离-ICP-MS 联用平台包括在线联用和离线联用两种方式。离线联用的关键是对已分离样品的高效收集。分离和检测在时空上相对独立, 可同时实现前端液相分离流出物在最佳流速下沉积存储, 后端质谱根据需要选取合适的数据采集速率^[3,4]。与离线联用相比, 在线联用则具有样品损失少、自动化程度高、分析速度快等优点。在线联用需要设计合适的接口, 用于将已分离的样品转移到质谱仪中, 接口装置通常包括雾化器和雾化室两部分, 为了实现稳定的喷雾效果、高效的离子化和尽量小的死体积, 人们不断对接口装置进行创新和改进。

微纳液相分离与 ICP-MS 联用技术, 此前已有多篇综述报道。1997 年, Garraud^[5] 最早综述了微径柱液相分离与原子光谱技术联用; 2007 年, Schaumlöffel^[6] 对 nanoLC 与元素质谱技术联用进行了简短综述; 2014 年, Grotti 等^[7] 对微柱 HPLC 与 ICP-MS 联用做出了系统综述。2010 年, Pröfrock^[8] 对包括毛细管液相色谱、nanoLC、CE 等微尺度分离技术与元素质谱联用在蛋白组领域的应用进行过综述。本文总结了纳流液相色谱、毛细管电泳、微流控芯片等纳流液相分离技术与 ICP-MS 联用装置的基本构造, 介绍了 2010 年以来纳流液相分离技术与 ICP-MS 联用发展新趋势, 就其联用技术新进展及其在各分析领域的应用予以综述, 并对其发展前景进行展望。

1 纳流液相分离与 ICP-MS 的联用

纳流液相分离通常在 100 μm 内径以下的石英毛细管或微流控芯片通道内进行, 流量范围多为 50~500 nL/min。而常规 ICP-MS 样品引入系统一般包括气动雾化器和双程雾化室两部分, 雾化器适用流量约为 1 mL/min, 且雾化室死体积较大 (40~100 cm^3), 会导致谱带展宽^[9]。因此, 纳流分离与 ICP-MS 联用要解决的是洗脱液流速与雾化器消耗量匹配的问题, 需要设计合适的接口用于纳流液相分离和 ICP-MS 联用。纳流液相分离与 ICP-MS 接口的设计可追溯至 1995 年, 最早由 Olesik 等^[10] 提出 CE 与 ICP-MS 联用。经过二十多年的发展, 已出现数十种类型的接口, 其中有的接口已实现商业化。按接口结构, 可主要划分为两大类: 鞘液接口和无鞘液接口。

鞘液接口是最早实现商业化的接口类型, 其特点在于通过引入鞘液, 提高总样品流量使其与雾化

器消耗量匹配。为降低稀释效应影响,鞘液接口多基于微流消耗量的气动雾化器。目前主要有两种类型:雾化器/雾化室式接口、直接注射式接口。

微流雾化器一般分为两种类型:同心式雾化器和非同心式雾化器。随着研究的不断发展,微型同心雾化器接口样品提取量可低至 $3 \sim 7 \mu\text{L}/\text{min}$ ^[9]。通过降低同心雾化器中央毛细管尺寸或减小出口气孔内径,能有效提高雾化器雾化效率,但会降低雾化器耐盐性。因此,出现了气相和液相结构上相互独立的非同轴式雾化器,非同轴式雾化器包括错流式、并行路径式等,解决了耐盐性问题,但气溶胶均一度不够好,雾化效率不够高。

常规的雾化器/雾化室式接口的样品传递效率较低(通常 2%~20%),会导致样品浪费和记忆效应的产生。直接注射式接口(DIN)的出现,解决了样品传递效率的问题。DIN接口的喷头固定在等离子体后几个毫米的位置^[11],不使用喷雾室的基础上,样品传递效率可达到 100%。DIN接口缺点在于价格昂贵,操作复杂且较为脆弱,因此出现了 DIN 和高效雾化室(HEN)结合构建的直接注射高效雾化接口(DIHEN)^[12],该接口综合了 DIN 样品传递效率高和 HEN 气溶胶液滴粒径分布窄且均匀的特点,通过内接毛细管(内径 $20 \mu\text{m}$,外径 $90 \mu\text{m}$)设计^[13],有效降低 DIHEN 的死体积。为克服 DIHEN 雾化器喷嘴易堵塞的缺陷,出现了可拆卸式 DIHEN (d-DIHEN)^[14,15],可随时更换堵塞或熔融的毛细管,从而降低成本。

随着分析检测对仪器的灵敏度要求越来越高,无鞘液接口由于不存在任何稀释效应而逐渐受到青睐。相比于鞘液接口,无鞘液接口因其易堵塞或断流,设计难度较大。接口设计多基于纳流消耗量的雾化器^[16],通过进一步降低喷雾毛细管的内径和壁厚,以及气体出口部分的面积,并在其后连接更低死体积的单程雾化室,适用流量可低于 $500 \text{ nL}/\text{min}$ 。

2 纳流液相分离与 ICP-MS 联用研究新进展

2.1 CE-ICP-MS 接口技术

CE 技术是以石英毛细管为分离通道,高压直流电场为驱动力,依据样品各组分在电迁移行为上的差异而实现分离的分析方法。通常,毛细管电泳的电渗流流速在 $0.1 \sim 1.0 \mu\text{L}/\text{min}$ 。CE-ICP-MS 联用装置需要满足以下条件:(1)提供稳定的电流和

电连接;(2)CE/MS 接口流速与 CE 毛细管中电渗流的速度相容;(3)避免因 CE 毛细管两端压力差引起的层流^[17]。迄今为止,主要有鞘液接口、无鞘液接口和其他接口技术。

2.1.1 鞘液接口技术

鞘液接口是最早建立且实现商品化的 CE-ICP-MS 接口技术。通过引入鞘液,提高总样品流速使其与雾化器流速匹配,同时能有效克服因气动雾化在毛细管出口端产生的负压,避免层流的产生。

用于 CE-ICP-MS 联用的各类商品化接口,目前已得到了广泛应用。CETAC 公司设计的 CEI-400 型接口^[18],在自吸模式下,适应流速约为 $5.4 \mu\text{L}/\text{min}$ ^[19]。用于粉煤灰和鲨鱼肝中 As、Se 元素形态分析时,检出限分别达到 $0.6 \sim 1.8 \text{ ng}/\text{mL}$ 和 $0.5 \sim 1.4 \text{ ng}/\text{mL}$ ^[20]。Agilent 公司的 CE-ICP-MS 联用仪(Agilent 7500ce)搭配 Mira Mist CE 雾化器(Burgener Research Inc. 加拿大)和 Scott-type 雾化室,用于环境中稳定存在的氧化态 Np(IV)和 Np(V)形态分析时,检出限分别为 1×10^{-9} 和 $5 \times 10^{-10} \text{ mol}/\text{L}$ ^[21]。另一种商品化 MicroMist 雾化器(GE, 澳大利亚)也被用作 CE-ICP-MS 连接接口,通过两种不同电泳方法考察了 4 种有机锡化合物与人血清白蛋白相互作用^[22],测得结合常数的 RSD 值为 6.0%~8.3%,表明该 CE-ICP-MS 联用装置的准确度高。经过多年的发展,商品化鞘液接口的易用性和准确度已得到广泛认可。

商品化 CE-ESI-MS 喷雾接口^[23,24](G1607A, Agilent, USA)也被用作 CE-ICP-MS 的雾化器。CE 流出物与鞘液在 CE 毛细管出口端直接混合并喷雾,有效避免了雾化之前产生死体积,用于 10 种含 As 化合物中 As 元素的形态分析时,检出限低至 $19 \sim 65 \text{ fg}$ ^[25]。进一步优化后,在 CE-ESI-MS 雾化器后端接自制的 DIHEN 雾化室(见图 2),有效提高了样品传递效率,且装置易于搭建,检出限低至 $0.11 \mu\text{g}/\text{L}$ ^[26]。

2010 年以来,一些课题组对 CE-ICP-MS 联用装置进行了新的技术探索。Fujii 等^[27]发展了一种高效同轴雾化接口,如图 3 所示。该接口装置包括 3 层套管雾化器、微体积雾化室以及一根固定在雾化室内的石英毛细管作为液流通路,3 层管路的设计有效提高了装置的耐盐性^[28]。此后,该课题组^[29]对装置进行了改进,将液流通路毛细管内径逐渐减小,使得尖端外径为 $20 \mu\text{m}$,尖端壁厚 $< 8 \mu\text{m}$ 。

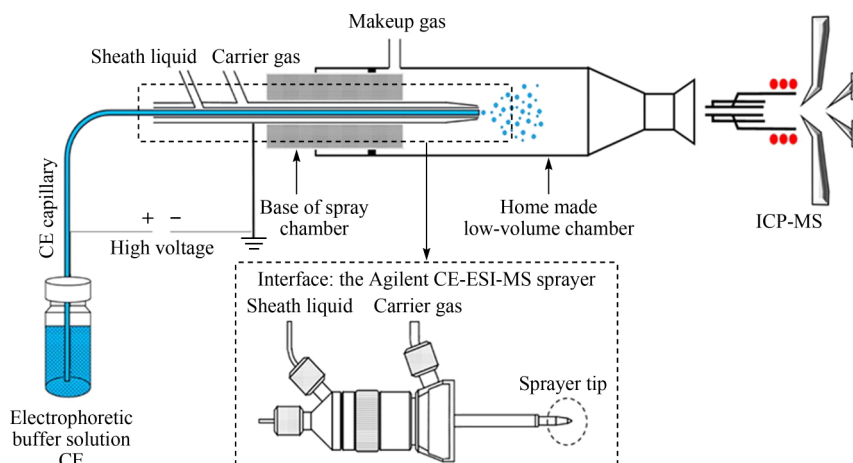


图 2 基于商品化 CE-ESI-MS 雾化器的 CE-ICP-MS 接口^[26]

Fig. 2 CE-ICP-MS interface based on commercial CE-ESI-MS sprayer^[26]

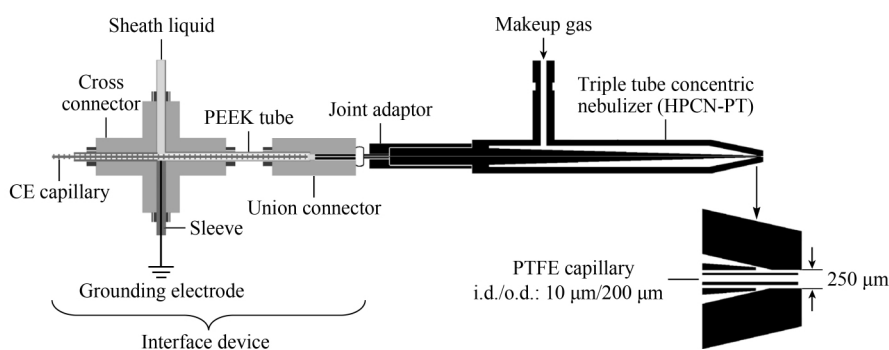


图 3 基于 3 层套管结构的高效同轴雾化接口^[27]

Fig. 3 High performance concentric nebulizer based on triple tube configuration^[27]

PEEK : polyetheretherketone ; PTFE : polytetrafluoroethylene ; HPCN-PT : high performance concentric nebulizer with the PTFE tube.

将其用于双链 DNA 的定量分析^[27] ,在液流速率为 10 μL/min ,雾化气流速为 1 L/min 时 ,基于流式聚焦效应 ,产生更稳定的气溶胶 ,生成的初级气溶胶平均粒径为 3.4 μm ,磷的检出限和绝对检出限分别达到 3.7 μg/kg 和 0.6 pg (相当于 6 pg DNA)。

另一种基于流式聚焦的雾化平台与上述设计类似^[30] ,采用十字连接器 ,四端分别连接分离毛细管、铂电极和喷雾气 (Ar) ,最后一段通过毛细管连接到雾化器内 ,其后连接单通道喷雾室 ,Cr (III) 、Cr (VI) 和总 Cr 的检出限分别为 0.1、0.2 和 0.03 μg/L。

2.1.2 无鞘液接口技术

无鞘液接口一般将 CE 出口毛细管直接与 ICP-MS 雾化器相连 ,不通过鞘液来抵消雾化器吸力 ,因而不存在稀释效应 ,但设计难度较大。Yang 等^[31] 设计的无鞘液式 CE-ICP-MS 接口 ,如图 4 所示。将毛细管装入一个不锈钢管套中 ,利用不锈钢管形成电流回路 ,管后连接蠕动泵 1 ,再与一个三通相连 ,

三通的另两个通路分别与蠕动泵 2 和质谱检测器连接。这个设计的显著优势在于可以隔离雾化气和 CE ,使雾化气的吸力作用不影响 CE 分离 ,同时 ,接口死体积降至 5 nL 以内。但此装置需要使用两个蠕动泵 ,进行多次驱动和暂停来完成一次分析 ,操作较繁琐 ;且在暂停时 ,不可避免地会有已分离组分的扩散和返混 ,降低 CE 分离效率。

Cheng 等^[32] 成功设计了一种带尖端的可拆卸雾化器接口 (d-CMN) ,用于 CE-ICP-MS 联用。该接口由雾化器主体、带尖端的石英毛细管和聚四氟乙烯适配器组成 ,自吸流速低至 4.77 μL/min ;内插的石英毛细管尖端处内径为 30 μm ,壁厚 5 μm ,雾化器气孔直径为 200 μm。由于文丘里效应 (Venturi effect) ,有利于在低载流流速下形成均一且稳定的气溶胶 ,用于碘化物和碘酸盐分析时 ,绝对检出限达到 0.20 和 0.29 fg ,可拆卸式设计使得毛细管堵塞或损坏时易于替换 ,大大改善了接口的可操作性

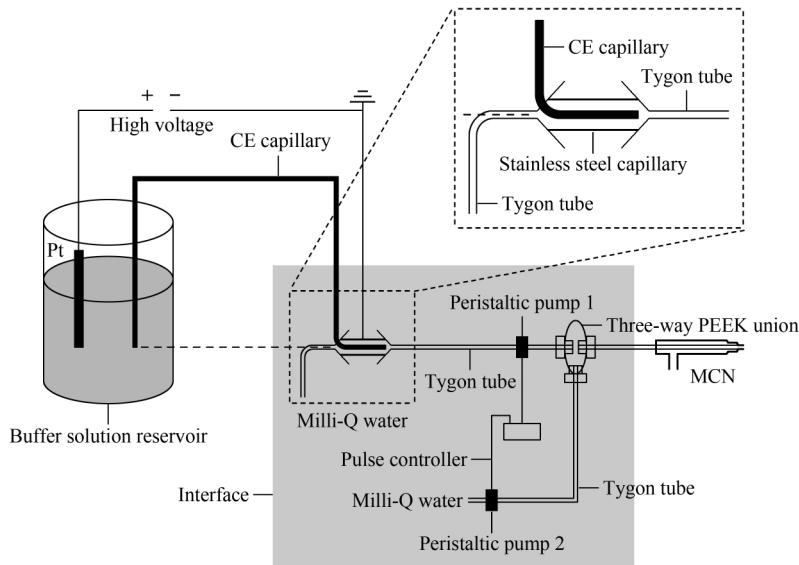


图 4 无鞘液式 CE-ICP-MS 接口^[31]
 Fig. 4 Sheathless interface for CE-ICP-MS^[31]

和寿命。

2.1.3 其他接口技术

氢化物发生 (HG) 进样技术, 是利用能产生初生态氢原子的还原剂, 将样品溶液中的待测元素还原为沸点较低的挥发性化合物, 进而在载气的携带下进入质谱检测器进行检测的技术。采用氢化物发生进样技术, 分析物的传输效率接近 100%, 并且还能实现目标分析物与复杂样品基体的分离, 为某些重要元素 (As、Sb、Bi、Ge、Sn、Pb、Se、Hg 等) 的形态分析提供了一种优良的途径。但目前, 该技术的局限性在于在通入氢气和衍生化过程中, 过量的氢气会导致 CE 背压升高, 不利于分离; 且装置结构复杂只适用于少数几种元素的分析, 因而应用范围相对较窄, 近年来并没有新的研究报道。此前, Magnuson 等^[33-34] 报道了两种 CE-HG-ICP-MS 接口, 利用多个蠕动泵将 CE 和 HG 系统分隔开, 避免硼氢化钠-酸还原体系产生的大量氢气影响 CE 分离。另外一种设计简单的 CE-HG-ICP-MS 接口, 采用低死体积气旋雾化室分离气液两相, 同时减少氢气产生并降低稀释效应^[35]。

2.2 nanoLC-ICP-MS 接口技术

相比 CE-ICP-MS 联用, nanoLC-ICP-MS 接口装置更为简单。部分基于微流雾化器的商品化 CE-ICP-MS 接口在 nanoLC-ICP-MS 联用中已得到广泛应用。

nDS-200 型纳流雾化器的出现^[16], 首次实现了

无鞘液式 nanoLC-ICP-MS 联用。其后, Rappel 等^[36] 又改进设计了新型的纳流雾化器 nDS-200e, 以内径 20 μm、外径 90 μm 的薄壁石英毛细管取代空心石英针头, 有效降低背压, 减少堵塞现象, 样品适应流速范围更宽 (50~4 000 nL/min); 还可通过不同尺寸雾化器及雾化室结构的设计, 构建鞘液或无鞘液接口。Holste 等^[37] 利用十通阀, 在上述 nanoLC-ICP-MS 联用装置基础上增加了在线预清洗步骤: 用于分析镧系元素标记的多肽时, 先进行 6 min 预清洗, 背景金属信号值降至样品峰高 0.44%, 多肽回收率得到显著提高。

对于自行构建的 nanoLC-ICP-MS 联用平台, 在元件方面有了更自由的选择, 普遍采用自制的纳流液相色谱柱。本小组在微柱制备方面有较好的积累, 基于单颗粒柱塞法不仅能够制备用于 nanoLC、CEC 的毛细管微柱^[38-42], 还尝试了短柱床^[43]、超长柱长^[44]、多级柱床^[45]、多检测点微柱^[46] 等多种柱型, 为 nanoLC-ICP-MS 联用提供了丰富选择。这一单颗粒柱塞法已被同行用于 CE-ESI-MS 联用^[43], 并在最近也应用到了 nanoLC-ICP-MS 联用中^[47-48]。

Cheng 等^[32] 基于先期设计的无鞘液式 CE-ICP-MS 可拆卸雾化器接口, 最近还开展了 nanoLC-ICP-MS 研究^[47]。由于该装置显著降低的死体积 (60 nL), 他们采用毛细管色谱柱获得了亚砷酸盐、砷酸盐、甲基砷酸盐、二甲基砷酸盐高分辨分离与高

灵敏检测。在最新的工作中, Cheng 等^[48] 进一步改进了装置设计, 发展了共轴双层毛细管结构 (见图 5) 将毛细管填充色谱柱作为内毛细管直接引入至雾化器中, 外毛细管作为载气引入通道。这一接口不仅使得死体积最小化, 还可以相对独立地分别优化雾化效率和样品传输效率, 从而在纳流液相色谱条件下获得高灵敏度、高分辨率和低检测限。相比于商品化的雾化器, Cheng 等^[48] 发展的雾化装置不仅制作简单、快速, 且重现性好、成本低廉, 具有显著优势。

喷头毛细管相连, 生成 40~50 μm (33~65 pL) 大小的液滴, 然后引入到 ICP 炬中检测。此装置适合在低损耗条件下的微量样品引入, 样品引入效率达 100% 检出限低至 fg 级。缺点在于商品化的液滴生成装置死体积较大 (50 nL), 如果能与微流控芯片技术结合, 将显著减小样品死体积, 提高检测分辨率。

2.3 微流控芯片 ICP-MS 接口技术

微流控芯片是利用微机电加工 (MEMS) 技术在玻璃、硅、石英和有机高分子聚合物等基片表面, 构

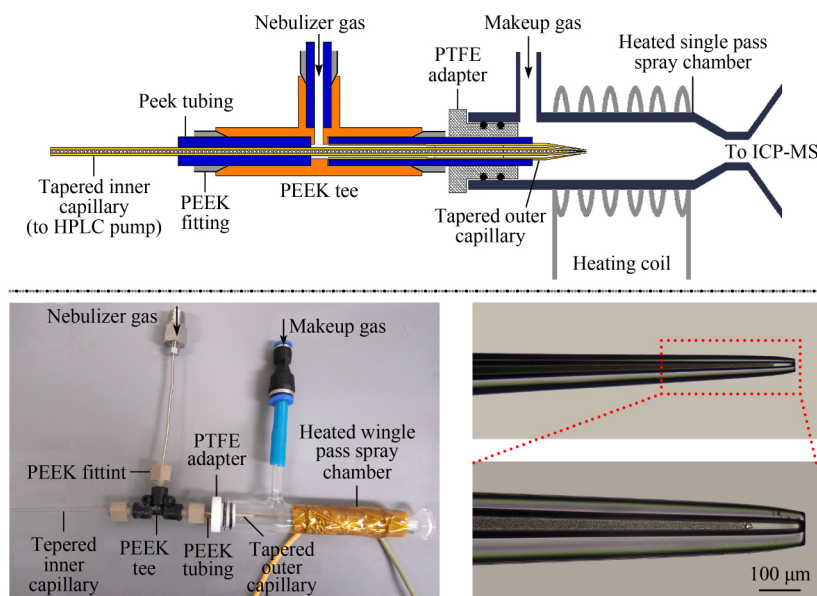


图 5 基于毛细管柱直接插入式雾化器的 nanoLC-ICP-MS 接口^[48]
 Fig. 5 An in-column high-pressure nebulizer-based nanoLC-ICP-MS interface^[48]

不同于传统的连续流雾化装置, Groh 等^[49] 提出单分散微液滴 (MDMD) 样品引入接口, 如图 6 所示。将纳流液相流出物直接与内径 30 μm 的压电

建微管道、微阀、微泵等分析单元和系统, 完成进样、样品预处理、生物或化学反应、分离和检测等操作, 具有低样品消耗、高通量、易于集成化等优势^[50], 是化学与生化分析的优良工具。

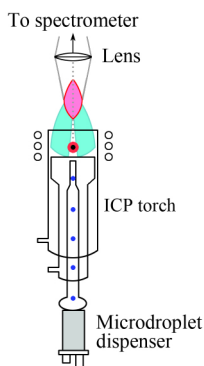


图 6 基于单分散微液滴样品引入接口的 nanoLC-ICP-MS 联用装置^[49]

Fig. 6 Monodisperse microdroplets-based nanoLC-ICP-MS interface^[49]

芯片电泳 (MCE) 与常规毛细管电泳相比, 体积小、分析路径短、样品谱带展宽效应弱, 分析速度更快。而且, 通过芯片多通道设计或者芯片并联, 更容易实现多通道/多维分离, 可以大大提高分析通量; 特别是芯片与 MS 接口技术的发展将大大促进 MCE-MS 联用技术的发展。MCE-ICP-MS 联用的方法主要分为两类: 一类是将 ICP 源和 CE 微芯片整合在一起; 另一类是将毛细管喷雾器附加在 CE 微芯片内。对于前者, 目前已有报道利用低流速的商品化喷雾器^[51, 52] 或可拆卸的微流喷雾器^[32, 53] 作为接口, 这些接口装置对于大多种元素的检测, 检出限可达 ppm 级, 已用于实际样品的检测。而后的

应用更有利于装置的微型化,对于这种附加终端毛细管喷雾器的接口,需考虑两个重要因素:一是连接处的死体积,另一个是通道间的对准。液接型无鞘液接口虽然对准容易,但死体积大,因此很少使用。而鞘液型接口由于其对样品的稀释作用会导致灵敏度降低。总体而言,MCE-ICP-MS接口技术还不成熟,但由于芯片电泳具有分离时间短、样品消耗少、高通量的优点,这种接口技术已逐渐成为研究的热点。

液滴微流控基于两相不混溶的流体生成微小液体单元,通过分裂、融合、混合、分选、存储和编码等操作实现微小样品单元的精密操控,是新一代的微流控技术。我们曾进行过该主题的综述^[54, 55]。

最近,Verboket等^[56]报道了基于液滴微流控芯片与ICP-MS联用的技术,液滴切割是在流式聚焦(flow-focusing)构型的PDMS微流控芯片孔道内进行。在样品通道的末端两个分支孔道内引入不相溶的油相(PFH),油相将样品液流切成纳升级的液滴单元,样品以微液滴的形式收集并能保证无扩散的储存和转移,最后通过膜去溶装置蒸发去除油相,再引入ICP-MS中分析检测。该方法可实现单细胞中的元素分析,但该报道中并未涉及样品引入前端的高效分离装置。

由于其微纳尺度的分辨率,液滴微流控技术能够与纳流液相分离很好地匹配^[57-59]。我们在早期的工作中尝试了纳流液相分离与液滴微流控芯片的耦合^[60]。将纳流液相色谱分离后的样品以纳升级液滴的方式存储下来,这样一方面保存了液相色谱所获得的分离度,同时也使得样品能够相对独立地进入第二维毛细管电泳,并实现色谱与电泳的分别优化。事实证明,液滴微流控是一种高效的微纳尺

度二维分离解决方案,适合微小尺度样品的二维分离分析^[61]。在后续的工作中^[62],我们将液滴微流控技术结合我组建立的单颗粒塞微柱制造技术^[38-40],构建了基于纳流液相色谱-毛细管电泳的二维微纳分离平台,以人尿液蛋白质组体系为分析对象,我们获得了12 000的高峰容量。可以期待,液滴微流控技术与ICP-MS技术的结合将为高分辨和高灵敏度的生物医学研究,如金属蛋白组学,提供全新的分析工具。

2.4 离线联用技术

纳流液相分离与ICP-MS离线联用也正在引起研究者的关注。离线联用将分离与检测过程在时空上分隔开来,能够分别同时满足分离与检测的最优化。激光烧蚀电感耦合等离子体质谱(LA-ICP-MS)^[63]、基底辅助激光解吸电感耦合等离子体质谱(SALDI-ICP-MS)^[64, 65]等新型ICP-MS技术的出现,为离线联用提供了可能。将经过纳流液相色谱或电泳分离后的组分,以连续流或液滴流的方式,收集到合适的靶板上,蒸发、导入到上述ICP-MS平台上检测。这类方法更易于操控样品,不需额外设计接口,初次MS检测没有消耗完的珍稀样品,还可储存以待下次分析。

Tomalova等^[64]将CE分离后的样品收集到特制的聚乙烯对苯乙二醇(PETG)靶板上,PETG作为辅助基质,有利于样品充分的熔融、解离,以实现后端ICP-MS对元素的定量分析。后来,他们改进该方法^[65]在PETG靶板上预先溅射了10 nm厚的金涂层,用于金属硫蛋白(MTs)分析,能同时满足后端MALDI-MS和ICP-MS两种检测方式的实现(见图7)。目前,离线联用技术的精确度、灵敏度不够高^[66],还有待发展。

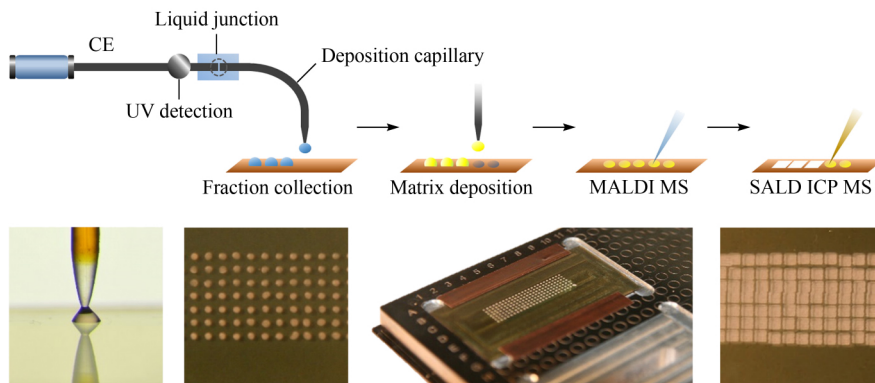


图 7 基于离线接口的 CE-MALDI-MS/ICP-MS 离线联用装置^[65]
 Fig. 7 Off-line interface for CE-MALDI-MS and CE-ICP-MS^[65]

3 纳流液相分离与 ICP-MS 联用技术的应用

随着联用接口技术的日趋丰富与成熟,微纳液相分离-ICP-MS 联用技术已成为现代化学与生化分析中有力的研究工具。由于能够跟踪被测元素在不同形态下的信号变化,该技术的应用范围涉及生命体系、水、土壤等环境监测以及新材料与新能源等领域。它不仅可以分析金属配位络合物的元素形态,进行元素形态的确认和定量分析,还能够解析重金属或过渡金属与有机物反应和迁移的化学机理、毒性机理,这些研究为疾病诊断、药物开发、食品监测、环境风险评估等提供了重要依据。

3.1 蛋白质分析与生物学中的应用

蛋白质组学研究在临床检验、生物医药等领域起着关键作用,其中蛋白质的定量分析对于肿瘤标志物测定、临床疾病的诊断和治疗、蛋白质和多肽药物的质量控制等具有重要意义^[67]。ICP-MS 是检测生物系统中微量和痕量元素的理想工具,不仅灵敏度高、特异性好,而且测量时不易受基体的干扰。生命体系中 ICP-MS 的研究主要面向:以非共价键偶联的金属蛋白质组,如 Cu、Zn、Cd、Fe 等;以共价键偶联的杂原子蛋白组,如 P、S、Se、I 等;加入元素标记的非金属蛋白组,如 I、Hg、镧系金属标记等^[68]。

2012 年,Timerbaev 等^[69]对 CE-ICP-MS 在抗癌药物与金属蛋白质组形态分析中的应用进行了综述,研究金属基抗癌药在血液中富集、运输、转移至癌细胞及在癌细胞内的作用过程。Aleksenko 等^[70]采用 CEI-100 接口作为 CE-ICP-MS 连接装置,研究了体外细胞内条件下含钆抗癌药物血清蛋白加合物的形态。Nguyen 等^[71,72]利用 Mira-Mist 接口分离了脂质体包裹顺铂和蛋白质结合顺铂中的游离顺铂,检出限可低至 29 ng/mL。生物体内的溶菌酶含量与乳腺癌息息相关^[73],Fu 等^[74]采用 Gd³⁺ 标记技术,结合自制的 CE-ICP-MS 接口用于生物体内溶菌酶的定量分析,检出限低至 3.89 amol,同样的装置用于钬标记的 3 种 β -CMs 多肽的定量分析时,检出限可达 1.79~2.13 amol^[75]。

3.2 纳米材料分析中的应用

纳米材料具有异于常规材料的物理化学性质(如高比表面积、粒径调控荧光、电子隧道效应等)^[76,77],由于这些特殊的物理化学性质,纳米材料在光学、电子、生物、医药等领域具有重要的应用价

值^[78,79]。目前,纳米材料作为药物载体、催化剂、分子诊断标记物等已经得到实际的应用^[80],主要应用于抗菌剂、医药、生物传感器等产品中^[81-83]。这些应用使纳米材料跟人体密切接触并被释放到环境中^[84,85],因此纳米材料的健康效应以及环境安全性引起了人们的关注。

研究表明,纳米尺度内,粒径较小的纳米颗粒更容易进入细胞内,从而导致更强的生物活性及生物损伤^[86]。纳米银是应用最为广泛的纳米材料之一,当纳米银的稳定性遭到破坏,纳米银颗粒将发生团聚现象,颗粒粒径增加,部分或全部失去纳米材料的特征性质。颗粒的团聚将影响细胞对颗粒的吸收和吞噬作用^[87],从而影响颗粒的生物可利用性和毒性。近年来,毛细管电泳技术被广泛用于纳米材料的表征^[88-92]。基于斯托克斯效应,不同类型及粒径的多分散球形纳米粒子,因其表面电荷数的差异,可经 CE-ICP-MS 技术实现同步分离与检测。在毛细管电泳过程中加入高浓度表面活性剂作为电解液^[93],还可以有效提高 10 nm 以下纳米粒子的分辨率。该技术相比于透射电镜或动态光散射,准确度更高,可用于复杂基体中纳米粒子的尺寸鉴定,但局限在于其只适用于表面电荷均匀的球形纳米粒子。

ICP-MS 在单颗粒模式下运行,可用于分析稀溶液中的纳米粒子。其原理在于,单个纳米颗粒的离子氛信号与其质量成正比,由此可以推知纳米粒子的尺寸,同时还可以获得颗粒浓度信息。实践中,单颗粒 ICP-MS 的效果与颗粒的驻留时间和信号处理方法密切相关。Franze 等^[94]基于 CE 与单颗粒(SP-ICP-MS)联用,实现了 10~60 nm 金纳米颗粒的分析,然而其驻留时间仍在毫秒水平。最近的工作中,这一研究小组^[95]通过改进信号处理算法,将可分辨的驻留时间缩短到微秒水平,并实现了 20~60 nm 银纳米颗粒的高分辨分离分析。

在设计与研发应用于人体的功能纳米材料时,不可避免地需要评价纳米颗粒与蛋白质的加合物,因而迫切需要能够分辨和表征纳米颗粒-蛋白加合物的分析工具^[96]。Legat 等^[97]基于 CE-ICP-MS 技术以及前期自行开发的数据处理算法^[98],研究了不同形状、尺寸和表面功能化的金纳米粒子与血清蛋白的相互作用行为,通过系统地优化 CE 分离条件,成功获得了游离纳米粒子以及不同纳米粒子-蛋白加合物的基线分离。这一分析策略的实现使得监测与评价生理条件下金纳米颗粒的形态变化成为可

能^[99]。

3.3 环境监测中的应用

由于矿山开采、金属冶炼以及化学电镀、核能产业等的飞速发展,大量的重金属元素被释放到环境中,引起环境污染的加剧。金属元素的生物活性及毒性不仅与元素的总量有关,更依赖于元素的存在形态,ICP-MS 技术有利于在保持元素原有形态下进行定量分析。微纳液相分离与 ICP-MS 联用在环境元素形态分析的研究被广泛用于国家或地区评价体系的构建,为环境风险和生态环境潜在危险性评估提供了重要依据。Zhao 等^[100]利用 CE-ICP-MS 联用技术分离检测天然水中的 Hg(II)、MeHg 和 EtHg,检出限可低至 0.021~0.032 ng Hg/mL, Jiang 等^[101]利用自制的接口技术检测环境样本,如地下水和草本植物中的 As 含量,检出限在 0.9~3.0 ng As/g。核能产业的发展,引起了人们对环境中放射性同位素形态分布的关注,为了解放射性核素的行为,需要准确测定放射性核素和天然配体之间的稳定性和动力学速率常数。Petit 等^[102]采用 CE-ICP-MS 联用技术,通过研究铀(VI)-草酸盐和镧(III)-草酸盐复合电泳迁移率,证明了一种新型镧-草酸复合物 La(Oxa)₃³⁻的稳定存在。德国卡尔斯鲁厄核废料处理研究所的一个小组^[103]对几种核污染高度相关元素 Pu、Np、Fe 进行了研究。痕量浓度的这些元素的氧化-还原形态对于核污染地质化学监测和评价有着重要的参考意义。他们基于高灵敏的扇区(sector field)ICP-MS 与 CE 联用,实现了超低浓度(10⁻⁷ mol/L)的 Pu(III、IV、V、VI)、Np(IV、V、VI)、Fe(II、III)的氧化-还原形态分析,为核污染地质化学研究提供了新的分析策略。同样基于 CE-ICP-MS, Sauge-Merle 等^[104]还进一步研究了人体转铁蛋白与四价 Pu 的结合常数,对深入评价核污染对人体的伤害进行了有益的尝试。除了放射性,铀元素的化学毒性等广泛地威胁着环境安全。在大气中,铀元素主要以双氧铀(UO₂²⁺)的形态存在,在吸入人体后,它会在肾脏和骨骼富集,损害人的健康。基于 CE-ICP-MS, Huynh 等^[105]研究了双氧铀-运输蛋白,他们的研究表明,与胎球蛋白而非血清蛋白的结合是的双氧铀主要运输路径,为铀元素的毒理学研究指明了路径。

3.4 食品分析中的应用

食品安全与功能食品研究已成为全球关注的议题。随着现代工业的快速发展,环境污染、化学合

成品的使用量增加,重金属元素随食物链传递,最易在食品中富集。食品中的污染元素与人类健康密切相关,对食品的质量控制及食品中残留的农药及抗生素类药物检测对人类健康极为重要。Qu 等^[106]采用 α -淀粉酶辅助水相微波提取方法结合 CE-ICP-MS 技术对大米中的 4 种常见形态的砷进行检测,检出限为 0.15~0.27 ng/g。Chen 等^[107]对海鲜中的铅进行形态分析,在 20 分钟内测定蛤和牡蛎组织中的 Pb²⁺、氯化三甲基铅(TML)和氯化三乙基铅(TEL),RSD<5% (n=6),回收率为 91%~104%。Fu 等^[108]成功测定了营养补充剂(吡啶甲酸铬酵母片)中的 Cr(VI)、Cr(III)和吡啶甲酸铬,检出限分别为 0.10、0.18 和 0.20 ng Cr/mL。Fu 等^[109]报道了一种分散式固相萃取法,即在搅拌条件下,将萃取剂直接投入到样品溶液中吸附并富集分析物。使用该方法,他们提取并富集了水样中的 MeHg、EtHg 和 Hg²⁺,并基于 CE-ICP-MS,同步分析了痕量的 MeHg、EtHg 和 Hg²⁺。海产品尤其是贝壳类海产品会富集蛤蚌毒素,并通过食物链传递给人类。Fu 等^[110]通过 Eu³⁺螯合物标记策略实现了蛤蚌毒素的间接检测,方法具有抗干扰性强、稳定性好以及灵敏度高等诸多优势。

4 总结与展望

经过 30 多年的发展,纳流液相分离-ICP-MS 联用已成为重要的分离分析手段,在各个领域均得到广泛的应用。本文综述了近年来纳流液相分离-ICP-MS 联用接口技术的发展及其在化学与生命分析领域的应用。未来的发展趋势,仍将集中在提高液相色谱分离能力、新型接口技术以及应用研究方面。

(1)随着色谱仪器与色谱填料技术的不断进步,液相色谱的分辨能力有了很大的提升。但对于高度复杂的生物体系(如蛋白质组)来说,单维液相色谱 1000 多的峰容量仍然显得不足。多维分离可以通过耦合不同的单维分离技术获得更高的分辨率。可以期待,多维分离与 ICP-MS 的联用将能提供更丰富的样品信息。

(2)引入在线富集技术,如 SPE 微柱在线联用或者毛细管柱上富集,将进一步提高液相分离-ICP-MS 联用的选择性和灵敏度,简化基质复杂的生物样品的分析流程,减少样品的损失,提高分析通量。

(3)应用研究的进一步拓展。元素质谱技术

(ICP-MS)和分子质谱技术(ESI-MS、MALDI-MS)是两种互补的质谱技术,元素质谱具有无可比拟的元素定量能力和高灵敏度,而分子质谱能够提供丰富的分子结构信息^[111,112]。元素质谱和分子质谱与前端液相分离的同步联用将有望提供复杂分子体系全面的信息,这样的联用平台将在蛋白质组学、代谢组学等重要生命科学前沿领域发挥重要作用。

参考文献:

- [1] Miclea M, Franzke J. *Plasma Chem Plasma P*, 2007, 27 (2): 205
- [2] Nge P N, Rogers C I, Woolley A T. *Chem Rev*, 2013, 113 (4): 2550
- [3] Pes O, Preisler J. *J Chromatogr A*, 2010, 1217 (25): 3966
- [4] Miernyk J A, Johnston M L. *Seed Development: OMICS Technologies toward Improvement of Seed Quality and Crop Yield*. Netherlands: Springer, 2012
- [5] Garraud H. *Analisis*, 1997, 25 (2): 25
- [6] Schaumlöffel D. *J Trace Elem Med Bio*, 2007, 21 (1): 18
- [7] Grotti M, Terol A, Todolí J L. *TrAC-Trends Anal Chem*, 2014, 61: 92
- [8] Pröfrock D. *Anal Bioanal Chem*, 2010, 398 (6): 2383
- [9] Schaumlöffel D, Ruiz E J, Łobiński R. *Anal Chem*, 2003, 75 (24): 6837
- [10] Olesik J W, Kinzer J A, Olesik S V. *Anal Chem*, 1995, 67 (1): 1
- [11] Shum S C K, Houk R S. *Anal Chem*, 1993, 65 (21): 2972
- [12] Acon B W, Mclean J A, Montaser A. *J Anal At Spectrom*, 2001, 16 (8): 852
- [13] Wind M, Eisenmenger A, Lehmann W D. *J Anal Atom Spectrom*, 2002, 17 (1): 21
- [14] Kahen K, Strubinger A, Chirinos J R, et al. *Spectrochim Acta*, 2003, 58 (3): 397
- [15] Brennan R G, Farmand M, Kahen K, et al. *J Anal At Spectrom*, 2007, 22 (9): 1199
- [16] Giusti P, Lobinski R, Szpunar J, et al. *Anal Chem*, 2006, 78 (3): 965
- [17] Michalke B. *Electrophoresis*, 2010, 26 (7/8): 1584
- [18] Schaumlöffel D, Prange A. *Fresen J Anal Chem*, 1999, 364 (5): 452
- [19] Yeh C F, Jiang S J, Hsi T S. *Anal Chim Acta*, 2004, 502 (1): 57
- [20] Hsieh M W, Liu C L, Chen J H, et al. *Electrophoresis*, 2010, 31 (13): 2272
- [21] Stöbener N, Amayri S, Gehl A, et al. *Anal Bioanal Chem*, 2012, 404 (8): 2143
- [22] Sun J, He B, Liu Q, et al. *Talanta*, 2012, 93 (2): 239
- [23] Dell' Mour M, Koellensperger G, Quirino J P, et al. *Electrophoresis*, 2010, 31 (7): 1201
- [24] Meermann B, Bartel M, Scheffer A, et al. *Electrophoresis*, 2010, 29 (12): 2731
- [25] Liu L, He B, Yun Z, et al. *J Chromatogr A*, 2013, 1304 (16): 227
- [26] Liu L, Yun Z, He B, et al. *Anal Chem*, 2014, 86 (16): 8167
- [27] Fujii S, Inagaki K, Miyashita S, et al. *Metallomics*, 2013, 5 (5): 424
- [28] Fujii S, Inagaki K, Takatsu A, et al. *J Chromatogr A*, 2009, 1216 (44): 7488
- [29] Takasaki Y, Inagaki K, Sabarudin A, et al. *Talanta*, 2011, 87 (2): 24
- [30] Kovachev N, Aguirre M Á, Hidalgo M, et al. *Microchem J*, 2014, 117: 27
- [31] Yang G, Xu X, Wang W, et al. *Electrophoresis*, 2010, 29 (13): 2862
- [32] Cheng H, Yin X, Xu Z, et al. *Talanta*, 2011, 85 (1): 794
- [33] Magnuson M L, Creed J T, Brockhoff C A. *Analyst*, 1997, 122 (10): 1057
- [34] Magnuson M L. *J Anal At Spectrom*, 1997, 12 (12): 689
- [35] Richardson D D, Kannamkumarath S S, Wuilloud R G, et al. *Anal Chem*, 2004, 76 (23): 7137
- [36] Rappel C, Schaumlöffel D. *J Anal At Spectrom*, 2010, 25 (12): 1963
- [37] Holste A, Tholey A, Hung C W, et al. *Anal Chem*, 2013, 85 (6): 3064
- [38] Zhang B, Bergstrom E T, Goodall D M, et al. *Anal Chem*, 2007, 79 (23): 9229
- [39] Zhang B, Liu Q, Yang L J, et al. *J Chromatogr A*, 2013, 1272 (1): 136
- [40] Xiao Z L, Wang L, Liu Y, et al. *J Chromatogr A*, 2014, 1325 (1): 109
- [41] Liu Q, Wang L, Zhou Z H, et al. *Electrophoresis*, 2014, 35 (6): 836
- [42] Yang L J, Xu L J, Guo R, et al. *Anal Chim Acta*, 2018, 1033 (11): 205
- [43] Liu L N, Zhang B, Zhang Q, et al. *J Chromatogr A*, 2014, 1352 (7): 80
- [44] Han J, Ye L Q, Xu L J, et al. *Anal Chim Acta*, 2014, 852 (12): 267
- [45] Liu Q, Yang L J, Wang Q Q, et al. *J Chromatogr A*, 2014, 1349 (7): 90
- [46] Zhang Q, Xu L J, Zhou Z H, et al. *J Chromatogr A*, 2014, 1362 (10): 225
- [47] Cheng H Y, Shen L H, Liu J H, et al. *J Sep Sci*, 2018, 41 (7): 1524
- [48] Cheng H Y, Zhang W W, Wang Y C, et al. *J Chromatogr A*, 2018, 1575 (11): 59
- [49] Groh S, Diwakar P K, Garcia C C, et al. *Anal Chem*, 2010, 82 (6): 2568
- [50] Nge P N, Rogers C I, Woolley A T. *Chem Rev*, 2013, 113 (4): 2550
- [51] Song Q J, Greenway G M, McCreedy T. *J Anal At Spectrom*, 2002, 18 (1): 1
- [52] Song Q J, Greenway G M, McCreedy T. *J Anal At Spectrom*, 2004, 19 (7): 883
- [53] Cheng H, Liu J, Yin X, et al. *Analyst*, 2012, 137 (13): 3111
- [54] Xiao Z L, Zhang B. *Chinese Journal of Chromatography*, 2011, 29 (10): 949
肖志良,张博. 色谱, 2011, 29 (10): 949
- [55] Xiao Z L, Niu M L, Zhang B. *J Sep Sci*, 2012, 35 (10/11): 1284

- [56] Verboket P E , Borovinskaya O , Meyer N , et al. *Anal Chem* , 2014 , 86 (12) : 6012
- [57] Edgar J , Milne G , Zhao Y , et al. *Angew Chem Int Edit* , 2010 , 48 (15) : 2615
- [58] Li Q , Pei J , Song P , et al. *Anal Chem* , 2010 , 82 (12) : 5260
- [59] Theberge A B , Whyte G , Huck W T S , et al. *Anal Chem* , 2010 , 82 (9) : 3449
- [60] Niu X Z , Zhang B , Marszalek R T , et al. *Chem Comm* , 2009 , 41 (11) : 6159
- [61] Ye L Q , Wu Q S , Dai S M. *Chinese Journal of Chromatography* , 2011 , 29 (9) : 857
叶淋泉 , 吴清实 , 戴思敏 , 等. *色谱* , 2011 , 29 (9) : 857
- [62] Ye L Q , Wang X , Han J , et al. *Anal Chim Acta* , 2015 , 863 (3) : 86
- [63] Yang L , Sturgeon R E , Mester Z. *J Anal At Spectrom* , 2005 , 20 (5) : 431
- [64] Peš O , Jungová P , Vyhnánek R , et al. *Anal Chem* , 2008 , 80 (22) : 8725
- [65] Tomalová I , Foltynová P , Kanický V , et al. *Anal Chem* , 2013 , 86 (1) : 647
- [66] Urgast D S , Feldmann J. *J Anal At Spectrom* , 2013 , 28 (9) : 1367
- [67] Barnidge D R , Goodmanson M K , Klee G G , et al. *J Proteome Res* , 2004 , 3 (3) : 644
- [68] Pröfrock D , Prange A. *Appl Spectrosc* , 2012 , 66 (8) : 843
- [69] Timerbaev A R , Pawlak K , Aleksenko S S , et al. *Talanta* , 2012 , 102 (24) : 164
- [70] Aleksenko S S , Matczuk M , Lu X , et al. *Metallomics* , 2013 , 5 (8) : 955
- [71] Nguyen T T , Østergaard J , Stürup S , et al. *Anal Bioanal Chem* , 2012 , 402 (6) : 2131
- [72] Nguyen T T , Østergaard J , Stürup S , et al. *Anal Bioanal Chem* , 2013 , 405 (6) : 1845
- [73] Zou M , Chen Y , Xu X , et al. *Biosens Bioelectron* , 2012 , 32 (1) : 148
- [74] Yang M , Wu W , Ruan Y , et al. *Anal Chim Acta* , 2014 , 812 : 12
- [75] Yang M , Wang Z , Fang L , et al. *J Anal At Spectrom* , 2012 , 27 (6) : 946
- [76] Mcneil S E. *J Leukocyte Biol* , 2005 , 78 (3) : 585
- [77] Kato Y K , Mann D , Kinkhabwala A , et al. *Nat Nanotechnol* , 2007 , 2 (1) : 33
- [78] Kim J H , Kim J S , Choi H , et al. *Anal Chem* , 2006 , 2 (4) : 317
- [79] Geho D H , Jones C D , Petricoin E F , et al. *Curr Opin Chem Biol* , 2006 , 10 (1) : 56
- [80] Chen X , Schluesener H J. *Toxicol Lett* , 2008 , 176 (1) : 1
- [81] Duan Z Y , Yan W J , Wu Y M , et al. *J Anim Feed Sci* , 2006 , 15 (1) : 121
- [82] Yu K N , Lee S M , Han J Y , et al. *Bioconjugate Chem* , 2007 , 18 (4) : 1155
- [83] Cho K H , Park J E , Osaka T , et al. *Electrochim Acta* , 2006 , 51 (5) : 956
- [84] Blaser S A , Scheringer M , Macleod M , et al. *Sci Total Environ* , 2008 , 390 (2) : 396
- [85] Benn T M , Westerhoff P. *Environ Sci Technol* , 2008 , 42 (11) : 4133
- [86] Liu W , Wu Y , Wang C , et al. *Nanotoxicology* , 2010 , 4 (3) : 319
- [87] Gilbert B , Ono R K , Ching K A , et al. *J Colloid Interf Sci* , 2009 , 339 (2) : 285
- [88] Liu F K , Wei G T. *Anal Chim Acta* , 2004 , 510 (1) : 77
- [89] Carrillocarrión C , Molinermartínez Y , Simonet B M , et al. *Anal Chem* , 2011 , 83 (7) : 2807
- [90] King C , Patri A K , Veenstra T D , et al. *Electrophoresis* , 2010 , 28 (10) : 1518
- [91] Franze B , Engelhard C. *Anal Chem* , 2014 , 86 (12) : 5713
- [92] Liu L , He B , Liu Q , et al. *Angew Chem* , 2015 , 126 (52) : 14704
- [93] Qu H , Mudalige T K , Linder S W , et al. *Anal Chem* , 2014 , 86 (23) : 11620
- [94] Franze B , Strenge I , Engelhard C. *J Anal At Spectrom* , 2017 , 32 (8) : 1481
- [95] Mozhayeva D , Strenge I , Engelhard C. *Anal Chem* , 2017 , 89 (13) : 7152
- [96] Matczuk M , Anecka K , Scaletti F , et al. *Metallomics* , 2015 , 7 (9) : 1364
- [97] Legat J , Matczuk M , Timerbaev A , et al. *Chromatographia* , 2017 , 80 (11) : 1695
- [98] Matczuk M , Legat J , Shtykov S N , et al. *Electrophoresis* , 2016 , 37 (15/16) : 2257
- [99] Matczuk M , Legat J , Scaletti F , et al. *J Chromatogr A* , 2017 , 1499 (5) : 227
- [100] Zhao Y , Zheng J , Fang L , et al. *Talanta* , 2012 , 89 (2) : 280
- [101] Liu L , He B , Yun Z , et al. *J Chromatogr A* , 2013 , 1304 (16) : 227
- [102] Petit J , Aupiais J , Topin S , et al. *Electrophoresis* , 2010 , 31 (2) : 355
- [103] Graser C H , Banik N , Bender K A , et al. *Anal Chem* , 2015 , 87 (19) : 9786
- [104] Sauge-Merle S , Lemaire D , Evans R W , et al. *Dalton Trans* , 2017 , 46 (5) : 1389
- [105] Huynh T S , Bourgeois D , Basset C , et al. *Electrophoresis* , 2015 , 36 (11/12) : 1374
- [106] Qu H , Mudalige T K , Linder S W. *J Agric Food Chem* , 2015 , 63 (12) : 3153
- [107] Chen Y , Huang L , Wu W , et al. *Electrophoresis* , 2014 , 35 (9) : 1346
- [108] Chen Y , Chen J , Xi Z , et al. *Electrophoresis* , 2015 , 36 (9/10) : 1208
- [109] Chen Y Q , Cheng X , Mo F , et al. *Electrophoresis* , 2016 , 37 (7/8) : 1055
- [110] He Y , Mo F , Chen D L , et al. *Electrophoresis* , 2017 , 38 (3/4) : 469
- [111] Yan X W , Li Z X , Liang Y , et al. *Chem Comm* , 2014 , 50 (50) : 6578
- [112] Ruzik L , Kwiatkowski P. *Talanta* , 2018 , 183 (6) : 102