

默克純水報 H₂O 教室

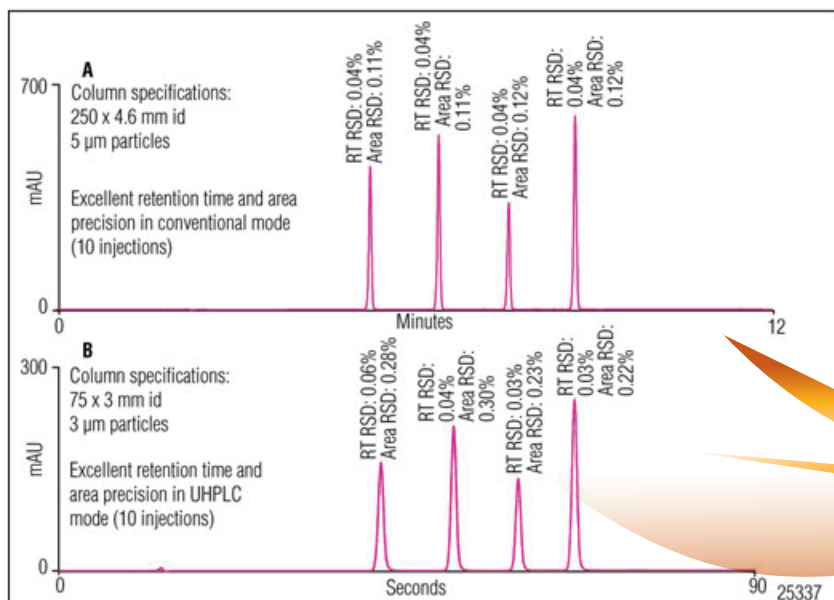
親愛的純水用戶：

您好。

在上一期純水報中，我們討論純水的正確使用觀念。包括純水的儲存、水質的偵測方式、超純水的取用方式等等，這些皆會影響到實驗的結果與品質。純水的正確使用觀念非常重要，即使水系統產製高品質超純水，若無正確的用水觀念，仍可能達不到實驗或研究的預期果效。

此期純水報，我們將為您介紹近年來很重要的一項分析技術：UHPLC。相較於一般的 HPLC，UHPLC 有更高的解析度與更快的分析速度。但因其靈敏度高，更需要高品質的超純水來做其分析使用。本期純水報將探討水中污染物質可能對 UHPLC 造成的影響。

非常感謝您的閱讀，也希望此篇文章對您的實驗有很大的幫助！



第十九期

「UHPLC 的純水品質需求及水中污染物質對分析結果可能的影響」¹

2014. 07. 18

UHPLC 概述

如何在不犧牲分離效果的情況下增加速度，一直是 HPLC 效能改善的首要考量。由 van Deemter 方程式推測得知，管柱中填充的分子越小，樣品的產量及分離效果越高。然而，管柱中的分子變小，意味著系統壓力需提高。從 1970 年代至 2004 年，因為 HPLC 的系統能提供的壓力最多只有 6000 psi，其效能便會受到限制。這樣的壓力限制，只允許管柱中最小填充 3 μm 以上的分子，HPLC 的運作速度及分離效能亦無法很高。

1990 年中期，Dr. James Jorgensen 及其同事的先驅研究發現，在非常高的系統壓力下管柱填充分子大小 2 μm 之無孔矽分子時，仍可達到非常好的分離效能及很快的分離速度。此即 ultra-high-performance LC (UHPLC) 技術的開始。2004 年，Waters 公司推出首台 UHPLC 系統，稱為 Acquity UltraPerformance Liquid Chromatography (UPLC)，可在管柱填充 2 μm 的小分子條件下，系統仍可加壓至 15,000 psi。

使用小分子填充管柱有幾個好處。因填充小分子可提供較好的分離結果級較高的靈敏度，此層析儀的解析度便提高了。相較於 5 μm 分子，填充 2 μm 的小分子在管柱中可增加約 70% 的解析度及 3 倍的效率，故成為快速分析複雜化合物的理想方法。填充小分子亦可使分析時間縮短，可用較高流速或較短管柱來分析。事實上，使用較短的管柱可以達到 10 倍的分析速度並提高樣品的產量。使用 2 μm 分子來填充管柱尚有其他好處：

- 因圖譜的波峯較高較窄，靈敏度會提高
- 只要使用同種管柱類型，可將標準的 HPLC 方法直接用在 UHPLC 上
- 沖提液的消耗較少，因為平衡及操作的時間降低了

水中污染物質對 UHPLC 可能的影響

會影響 HPLC 的水中污染物質亦會影響 UHPLC，但通常對 UHPLC 的影響程度更大。

顆粒 (particles)

對於管柱填充較小分子的 UHPLC，或管柱直徑較小、流速較高的 UHPLC，水中顆粒污染物質的影響較大。相較於 HPLC，若 UHPLC 管柱中有小分子的顆粒污染物，管柱被阻塞的機率較大。

有機物質污染物

超純水中若含有有機污染物質，可能會對層析分離造成以下數種影響：

- 有機物分子可能會堆積於層析管柱的表面，而減慢樣品及溶劑分子結合在膠體上面的速度。這可能會影響層析的結果，降低解析度，甚至縮短管柱的壽命。
- 沖提液配製的過程中若有有機物質的污染，這些有機物質可能會與樣品分子競爭，而結合在層析膠體上的活性基團。結果會使注射樣品的過程中能結合上去的樣品分子變少，沖提時被釋出的樣品分子亦會變少。因此，若層析法使用的溶劑中有有機污染物質的污染，此方法的靈敏度會降低。
- 有機物質污染物可能會在管柱的上端堆積，並被沖提成為污染峯 (ghost peaks)。若有有機污染物質的量很大，這些有機物甚至會扮演新固定相 (stationary phase) 的角色，造成滯留時間 (retention time) 位移，訊號峯拖尾等等現象。管柱中有機物的堆積亦會造成背壓升高。
- 基於這些因素，精確偵測 HPLC 應用所使用的超純水，其內所含有機物質含量，是很重要的。這項測量可以用線上 TOC 偵測儀達成。

膠體 (colloids)

膠體可能會不可逆的吸附在固定相上，而影響管柱分離的效果。

細菌

細菌可能會堵住管柱並釋放出有機副產物，造成前述有機物質污染物對層析分離的影響。

離子污染物

離子污染物質亦會影響層析的分離。溶液中離子強度若改變，分離的結果可能會受影響，若污染的離子會吸收紫外光 (例如硝酸根離子)，會產生訊號峯而干擾結果的分析。若使用質譜儀偵測，上述污染物產生的化合物會使數據分析變得很困難。

其他種類的污染來源

- 超純水的儲存
超純水的儲存需考量純水儲槽的材質是否容易溶進水中，例如塑膠材質的容器經過一段時間，可能會釋出有機物質和離子，玻璃容器不會釋出那麼多有機物質，但會溶出離子至水中。另外，超純水的儲存過程中有時亦會促進細菌的生長。
- 添加物
添加物如 trifluoroacetic acid (TFA)，常被加入 LC-MS 的溶劑中，以加強離子化的效果。配製緩衝液的鹽類亦常被添加。欲將污染可能降至最低，配製溶劑時應選擇最佳品質的試藥。

選擇適當的超純水系統做為 UHPLC 分析用水

Merck Millipore 有數種產品與方案，能滿足您 UHPLC 實驗應用的需求，不論是 Milli-Q Integral、Milli-Q Advantage、Milli-Q Reference 或 Synergy UV 等機型，皆有完整的純化單元及線上污染物質偵測，能有效去除會影響 UHPLC 實驗的污染物質，符合您實驗低背景值、低污染峯、結果準確的需求。

如何選擇適當的超純水系統做為 UHPLC 的分析應用? 有幾個因素需要考量：

- 分析方法
- 實驗室分析方法所需用水量
- 分析方法的偵測極限 (detection limits)
- 純水系統需做確效與否
- 實驗室純水系統的供水來源
- 實驗室日常所需純水及超純水用量
- 實驗室可擺放純水機台的空間
- 線上即時監控系統: 確保純水品質保持在正常規格範圍內
- 實驗室中是否有其他需要用超純水進行分析的實驗
- 實驗室將來可能的擴展或升級

備註：

1. 資料來源: <http://www.merckmillipore.com/>

