厦門大學
XIAMEN UNIVERSITY

微纳尺度精准调控色谱选择性初探

报告人：张 博　厦门大学化学系

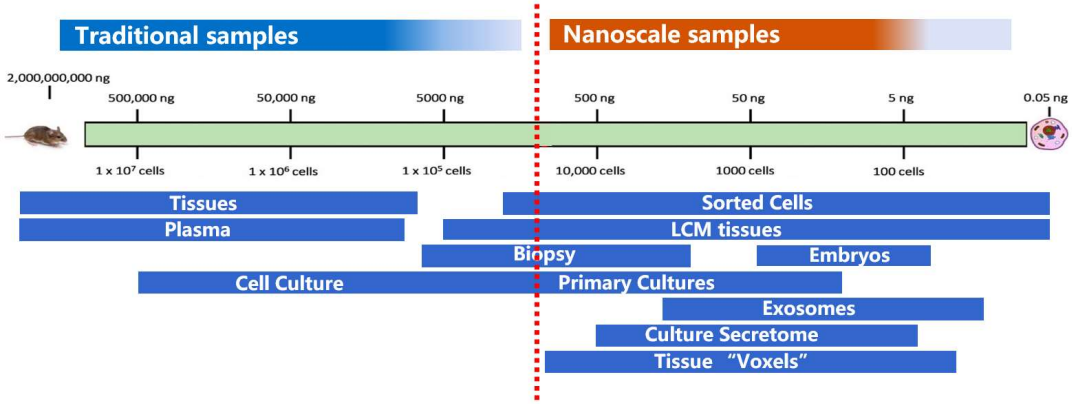
bozhang@xmu.edu.cn

纳升液相色谱

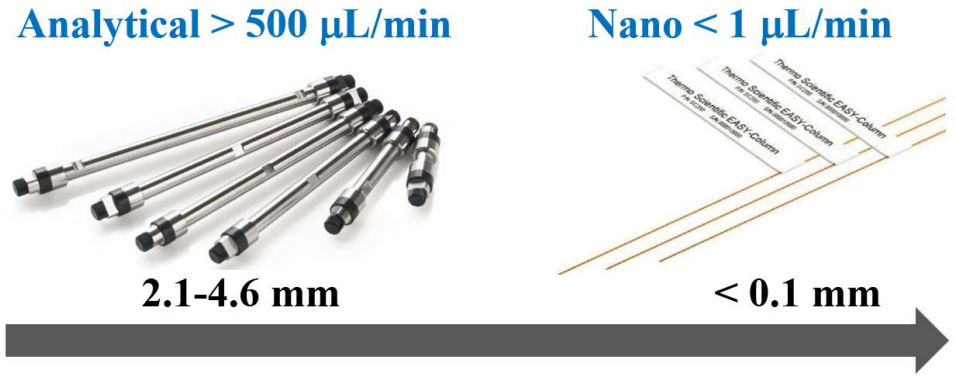
厦門大學 XIAMEN UNIVERSITY

高分辨、高灵敏

✓ **μg-ng级微量样品的分离分析**



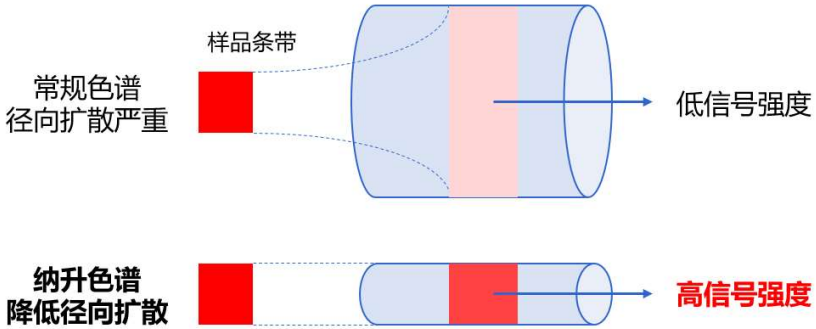
✓ **节约上千倍的流动相消耗**



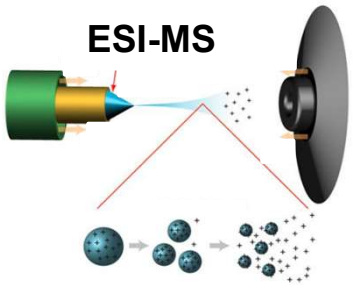
纳升液相色谱

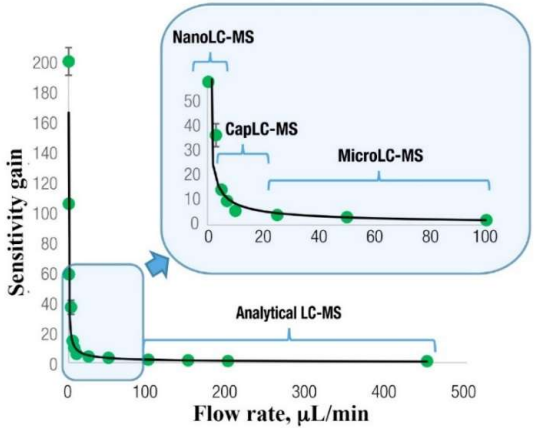
高分辨、高灵敏

✓ **超高检测灵敏度——低径向稀释作用**



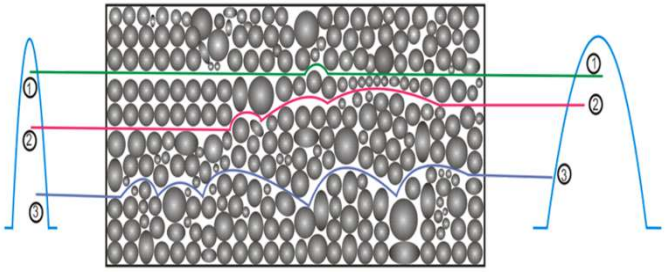
✓ **电喷雾质谱的良好匹配**



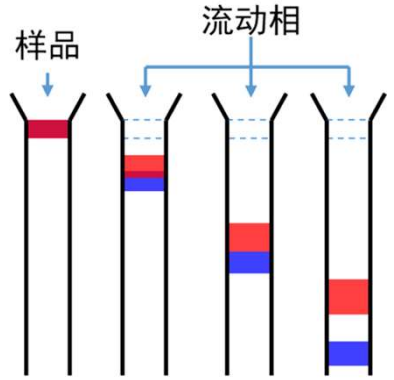


色谱分离过程：动力学 vs 热力学

分离度 $R = \frac{N}{4} \cdot \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha}\right) \cdot \left(\frac{k}{1 + k}\right)$



色谱动力学——分子离散

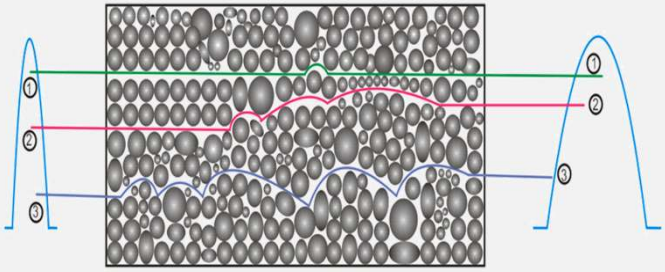


色谱热力学——差速迁移

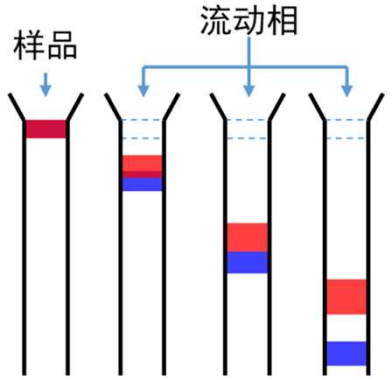
提高色谱分辨率需要同时从 **动力学** 和 **热力学** 两方面入手

色谱分离过程：动力学 vs 热力学

分离度 $R = \frac{N}{4} \cdot \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha}\right) \cdot \left(\frac{k}{1 + k}\right)$



色谱动力学——分子离散

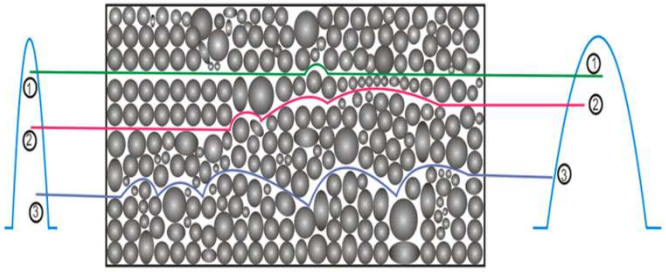


色谱热力学——差速迁移

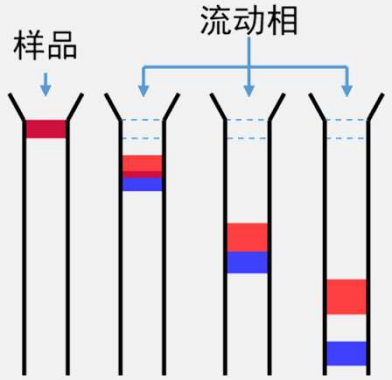
提高色谱分辨率需要同时从 **动力学** 和 **热力学** 两方面入手

色谱分离过程：动力学 vs 热力学

分离度 $R = \frac{N}{4} \cdot \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha}\right) \cdot \left(\frac{k}{1 + k}\right)$



色谱动力学——分子离散

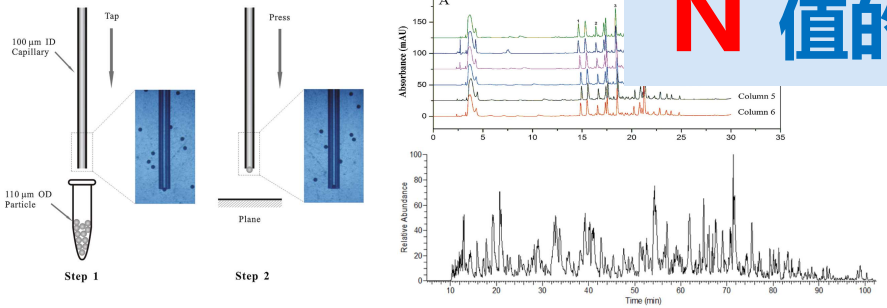


色谱热力学——差速迁移

提高色谱分辨率需要同时从 **动力学** 和 **热力学** 两方面入手

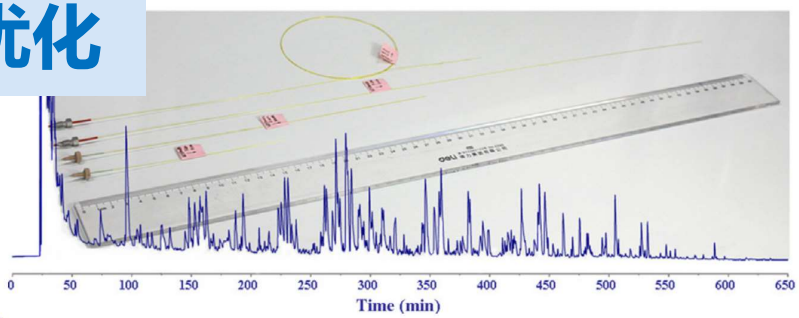
前期工作：动力学方面

N 值的优化



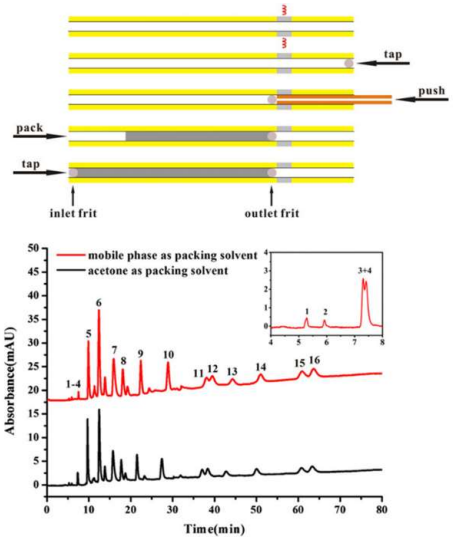
“即插即用”色谱柱快速制备

J. Chromatogr. A, **2014**, 1325, 109



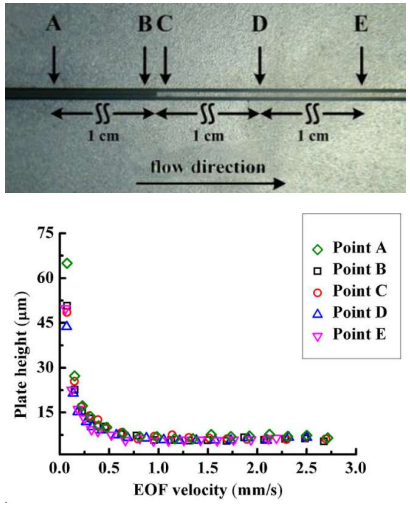
面向复杂样品分离的超长色谱柱

Anal. Chim. Acta, **2014**, 852, 267-273



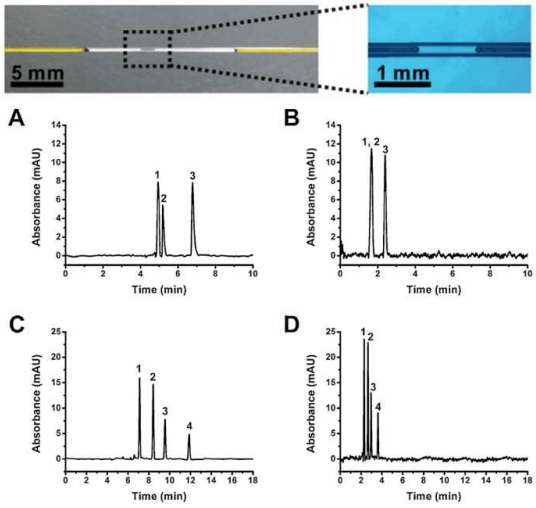
毛细管电色谱技术

J. Chromatogr. A, **2013**, 1272, 136



检测窗口技术研究

J. Chromatogr. A, **2014**, 1362, 225

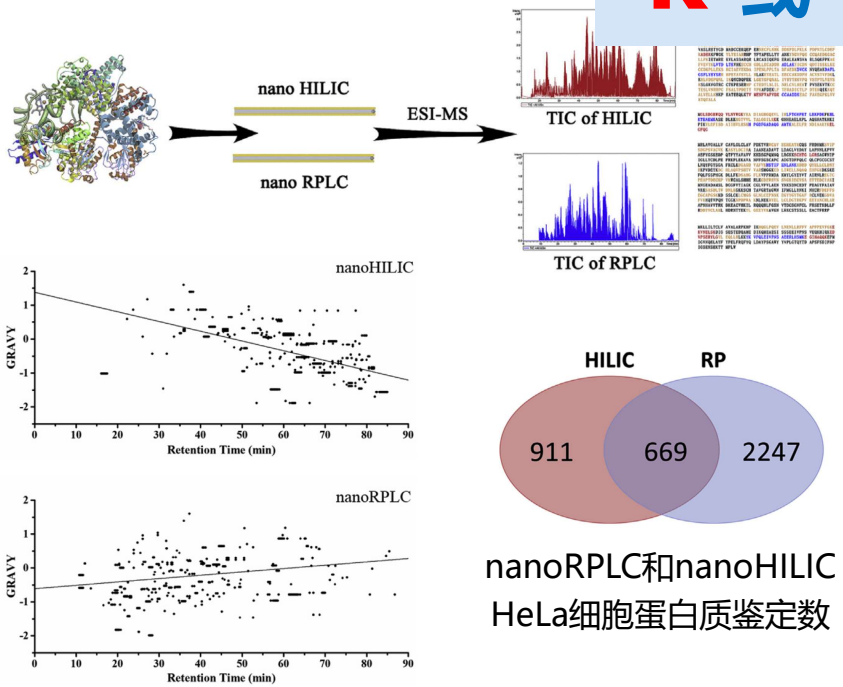


复杂柱床色谱柱制造

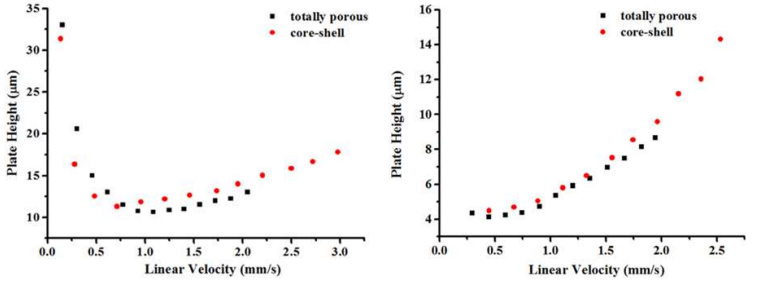
J. Chromatogr. A, **2014**, 1349, 90

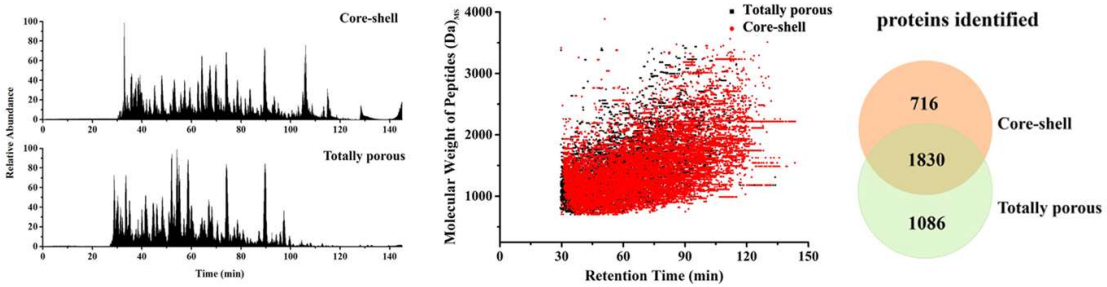
前期工作：热力学方面

k 或 α 值的优化



nanoRPLC和nanoHILIC
HeLa细胞蛋白质鉴定数





RPLC模式/HILIC模式蛋白组学分离能力系统性对比

Anal. Chim. Acta, **2019**, 1062, 147

核壳/全多孔填料动力学与保留特性系统性对比

J. Chromatogr. A, **2021**, 1648, 462218

1. 单纯的高柱效难以无限提高鉴定数

2. 互补的色谱选择性可显著提高覆盖率

如何调控色谱选择性

高维度数分子

疏水相互作用

亲水相互作用

偶极相互作用

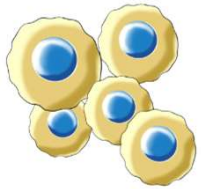
氢键

体积排阻

……

复杂性高

性质跨度大

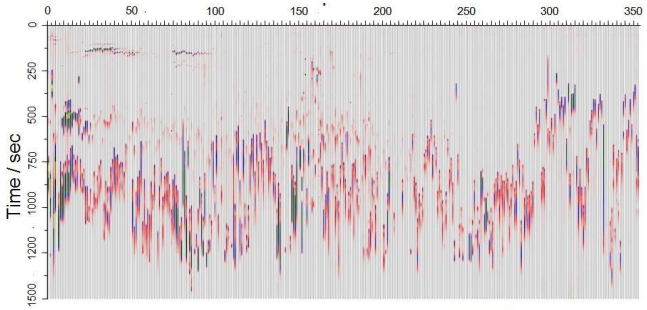


Cells or Tissue

Protein Mixture

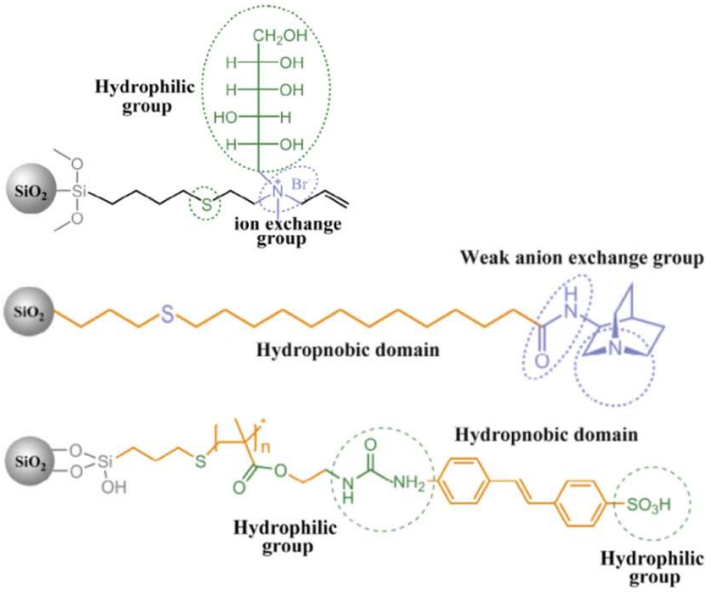
Digestion into Peptides

如何组合多种相互作用以实现宽范围选择性调控?



二维色谱技术

- 仪器结构复杂、操作困难
- 需根据不同固定相分别优化条件



混合模式固定相

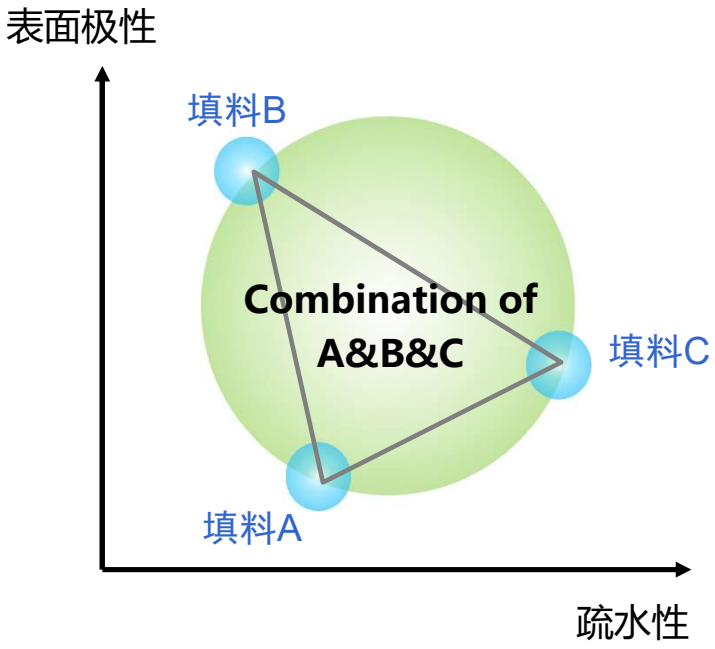
- 固定相化学难以灵活微调
- 需从头设计结构、开发键合工艺

TrAC, **2016**, 80, 495

Anal. Chem., **2019**, 91, 240

如何调控色谱选择性

新策略：精准编辑色谱柱床



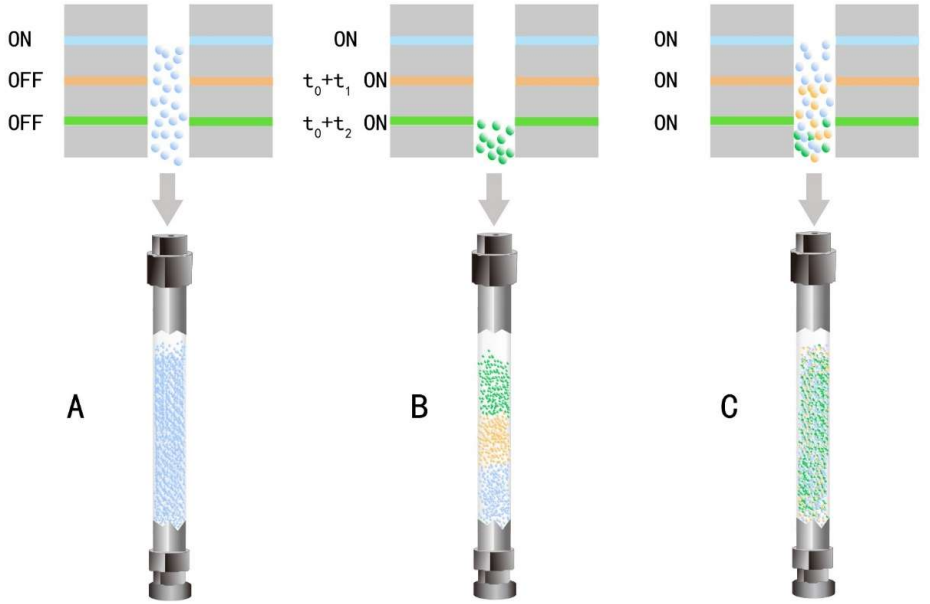
精准编辑单一选择性的色谱填料

实现大范围、多维度的选择性调控

Open-source platform for various phases

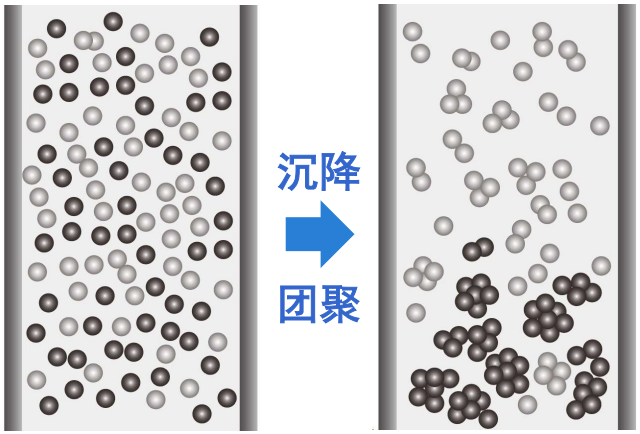
Sequential packing for multi-phase

Programmed packing for DIY selectivity



高自由度、定制化的色谱柱

如何精准编辑色谱柱床

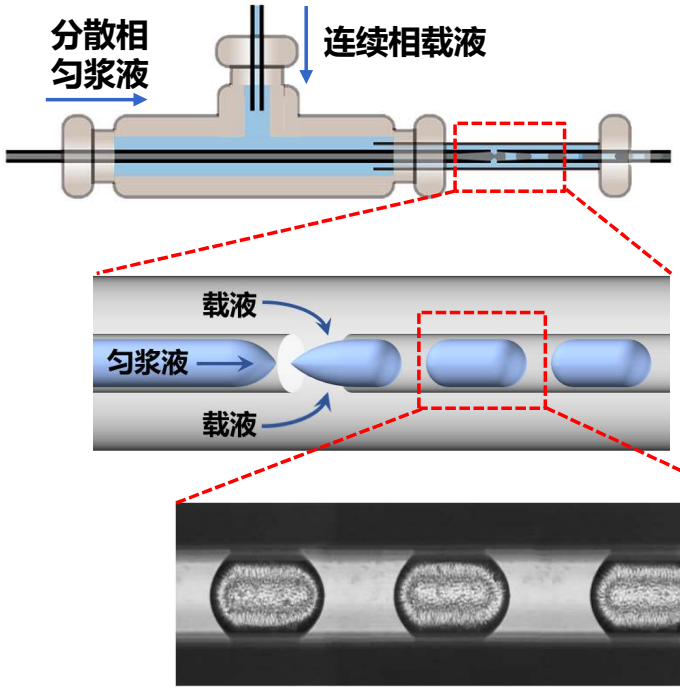


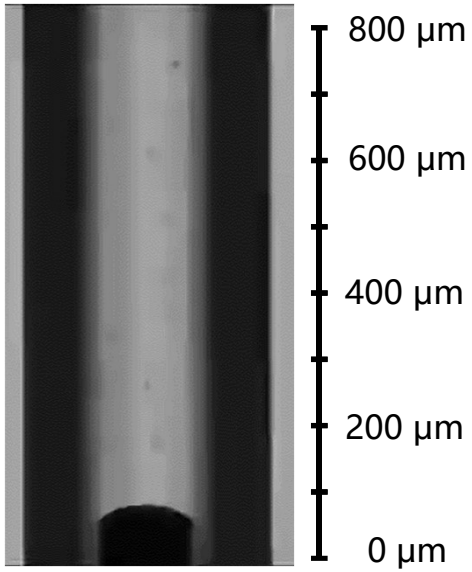
传统匀浆填充

- 匀浆液快速沉降和团聚
- 不同性质填料的沉降速率差异显著

重现性差、柱效差

精准编辑工具：微液滴





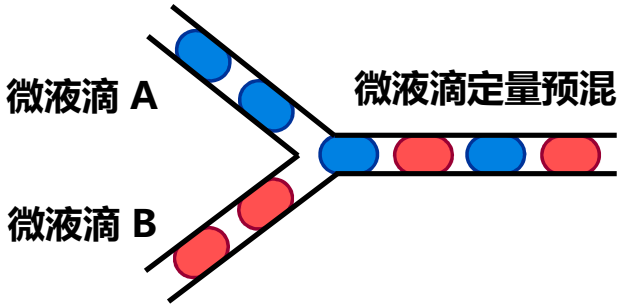
皮升级微流体匀浆罐封装　　**柱床逐层精准组装**

- 微流体内部对流保证填料的均匀分散
- 有效避免团聚，更均匀的柱床结构

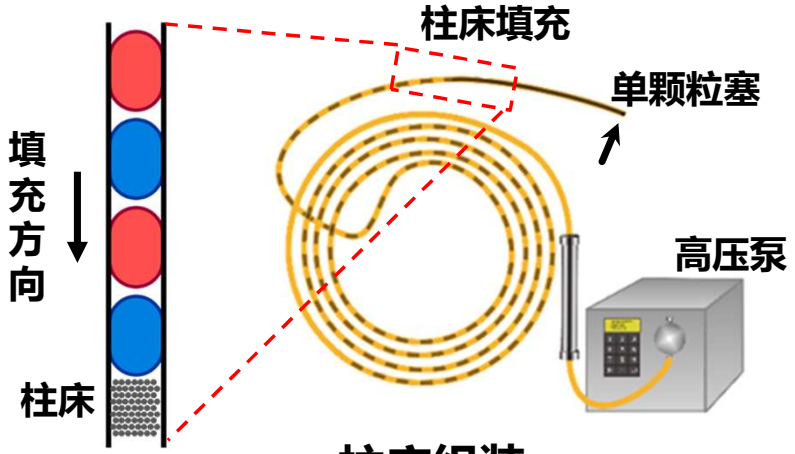
Anal. Chem., **2021**, 93, 8450

基于微液滴的色谱选择性精准编辑

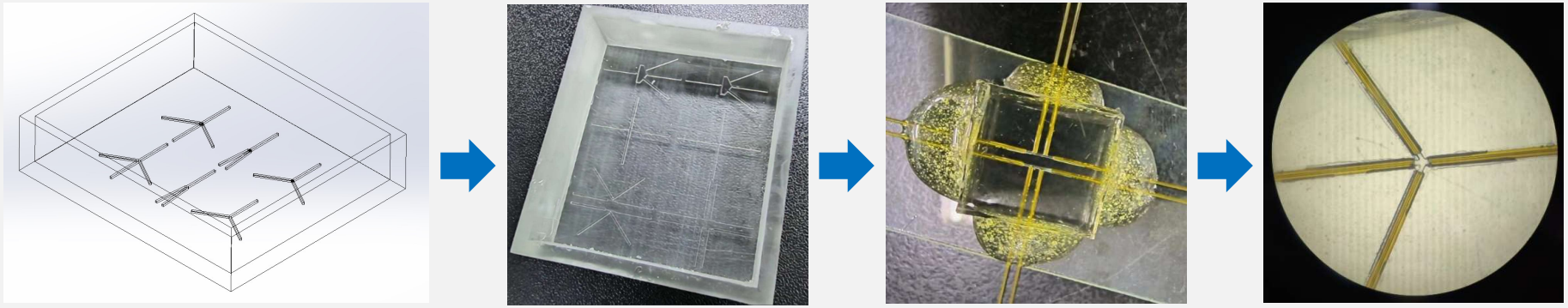
精准编辑工具：微液滴



液滴预混合



柱床组装



基于3D打印的微液滴混合芯片

unpublished data

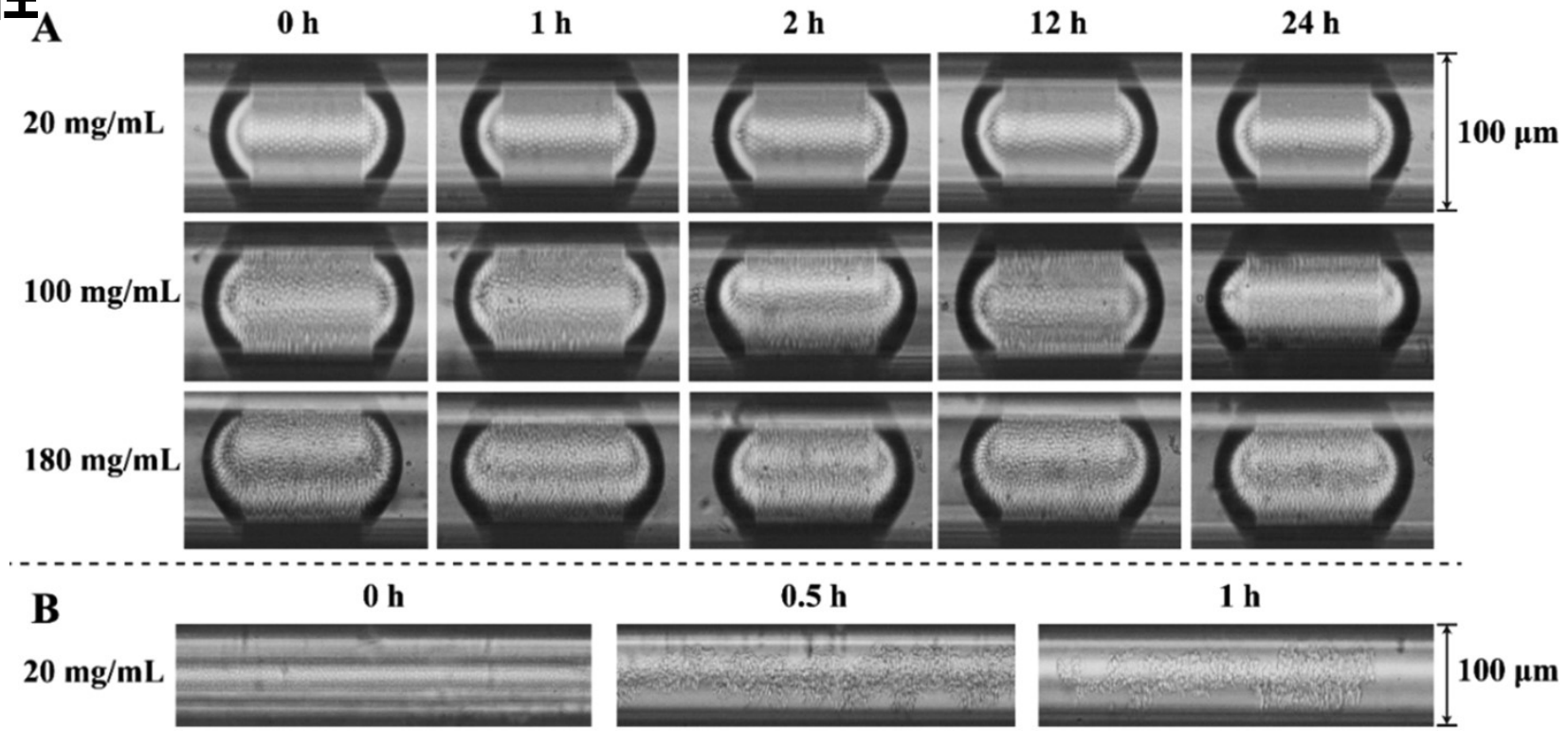
基于微液滴的色谱选择性精准编辑

厦門大學 XIAMEN UNIVERSITY

微液滴内匀浆稳定性

微液滴内的填料分散

传统匀浆法的填料分散



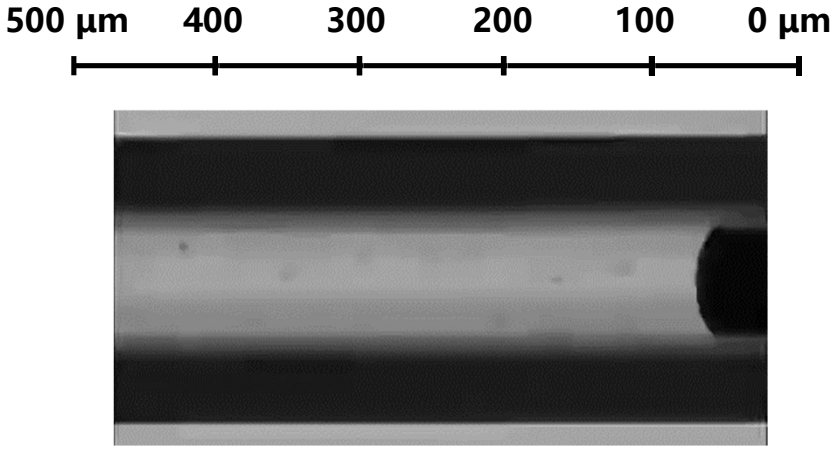
微液滴内部填料在高匀浆浓度下亦能长时间稳定分散

✓ C18固定相 ✓ PS-DVB ✓ 氰基固定相 ✓ 磺酸固定相 ✓ 酰胺固定相 ✓ ……

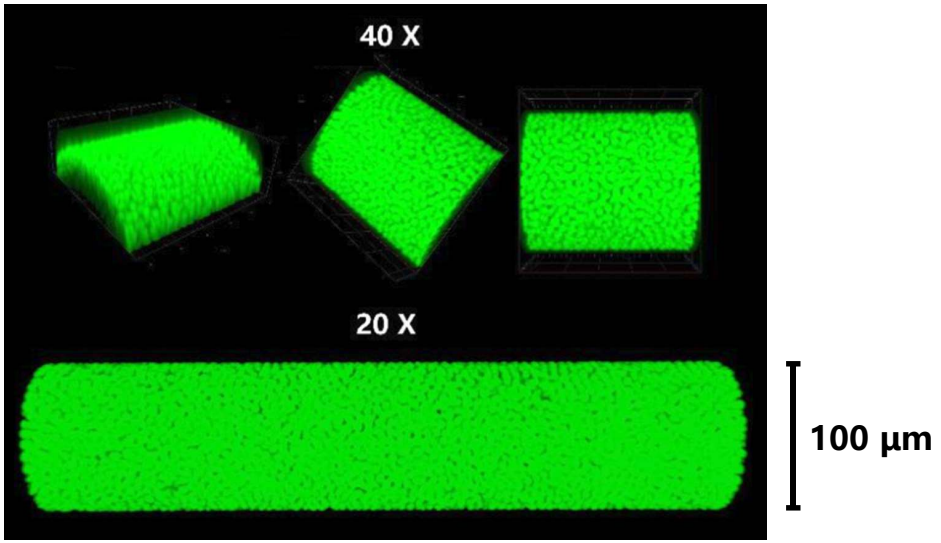
Anal. Chem., **2021**, 93, 8450

基于微液滴的色谱选择性精准编辑

柱床的填充和表征



柱床形成（4倍慢放）



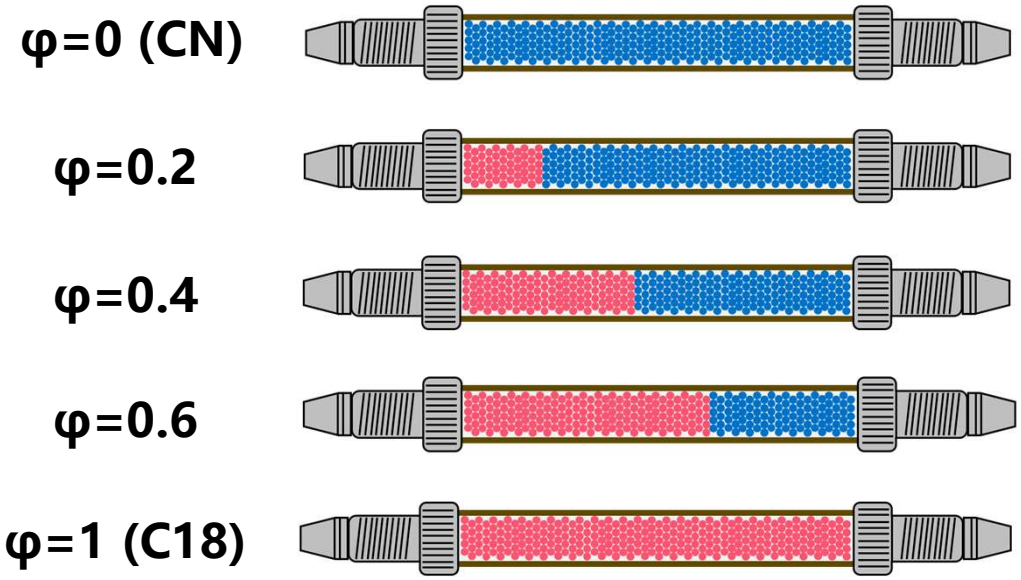
荧光重构柱床的三维形貌

- 以 **50 µm** 的分辨率 **逐层精准组装** 色谱柱床
- 在180 mg/mL的高匀浆浓度下未发现明显的空腔

Anal. Chem., **2021**, 93, 8450

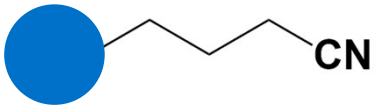
基于微液滴的色谱选择性精准编辑

色谱选择性调控



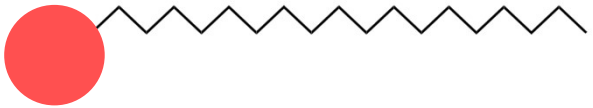
柱床编辑比例

色谱选择性



氰基固定相
强极性、弱疏水保留

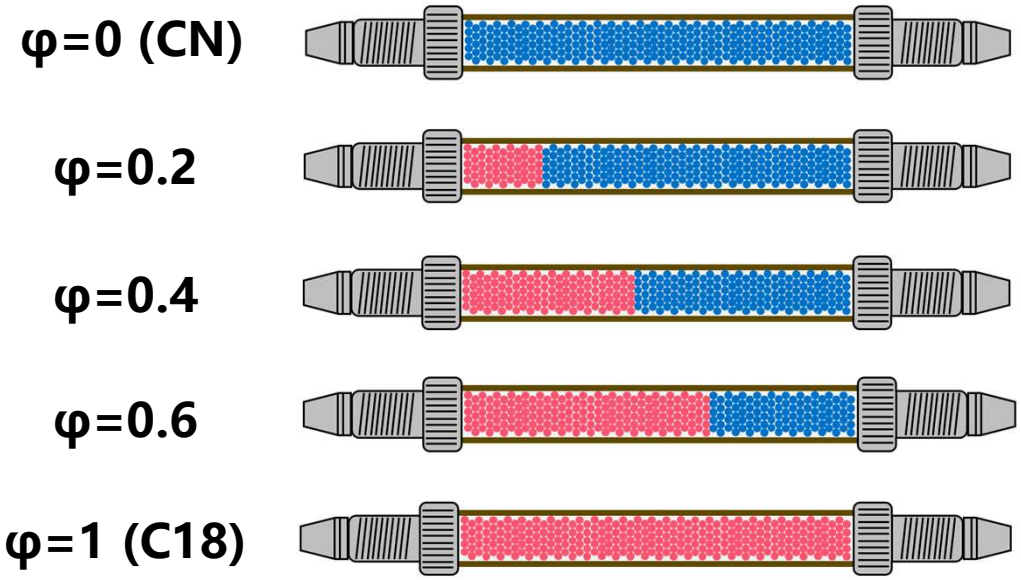
C18固定相
弱极性、强疏水保留

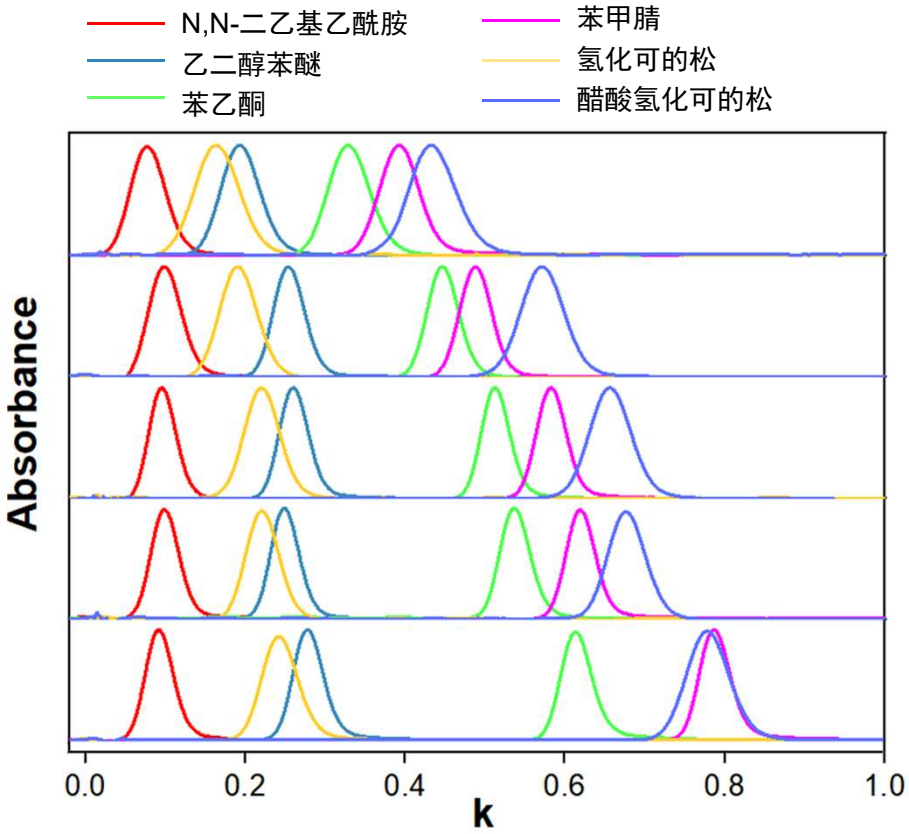


unpublished data

基于微液滴的色谱选择性精准编辑

色谱选择性调控





通过精准编辑色谱柱床实现选择性的调控

unpublished data

基于微液滴的色谱选择性精准编辑

色谱选择性调控

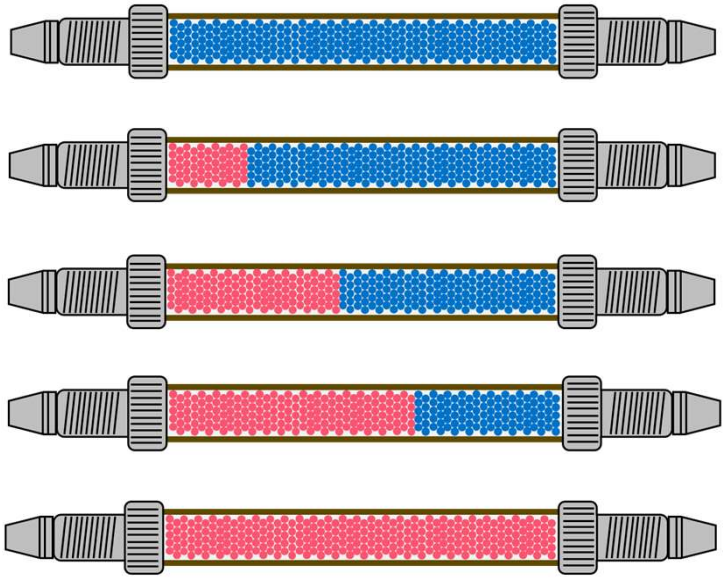
φ=0 (CN)

φ=0.2

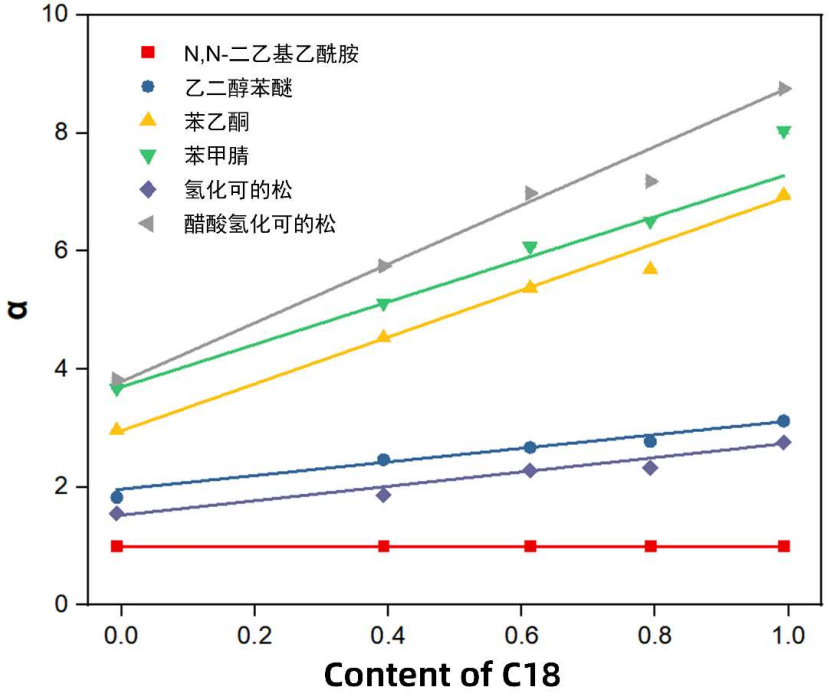
φ=0.4

φ=0.6

φ=1 (C18)



选择性 α值 与柱床编辑比例 线性相关



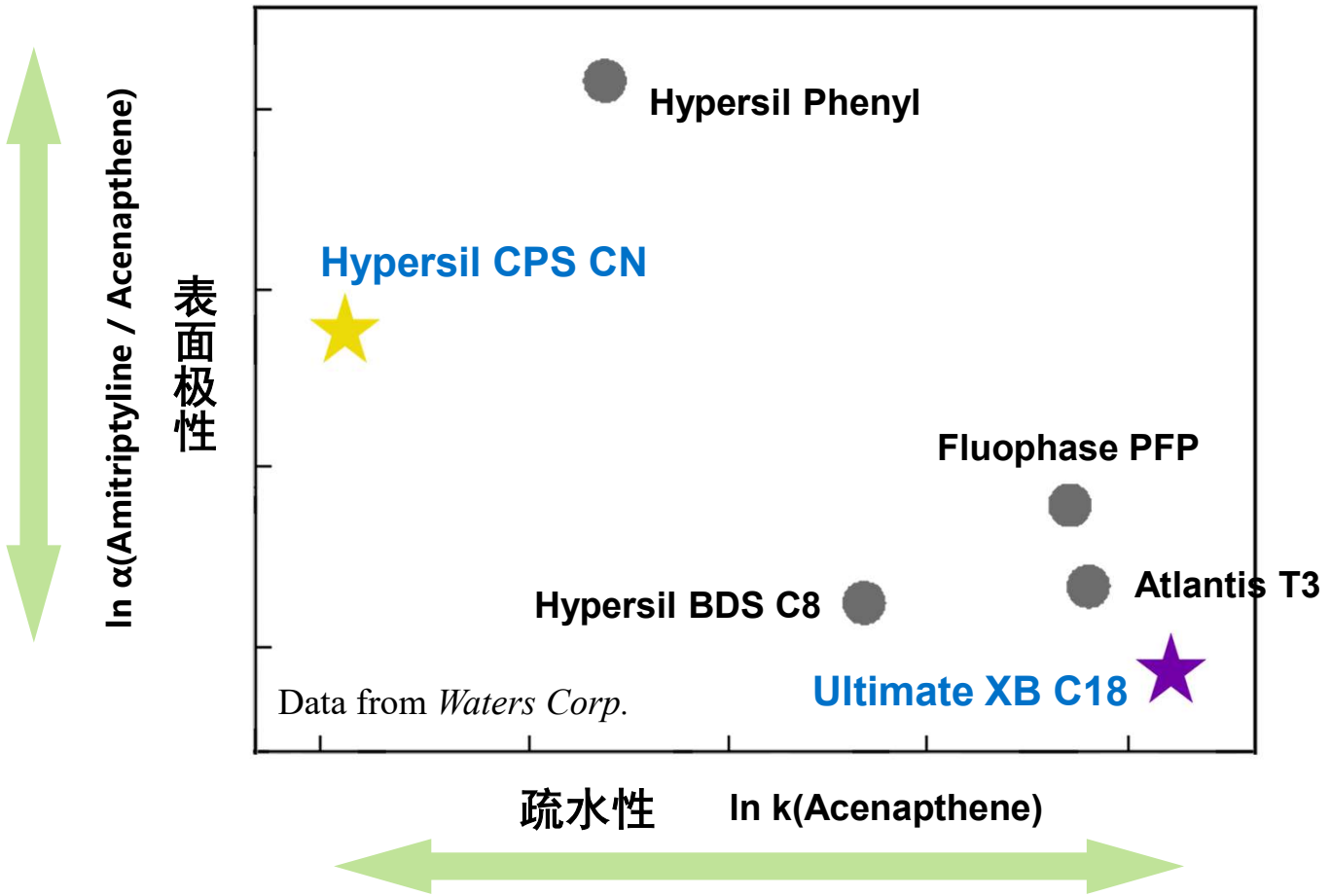
通过精准编辑色谱柱床实现选择性的调控

unpublished data

基于微液滴的色谱选择性精准编辑

多维度选择性评价

主流色谱填料选择性散点分布图



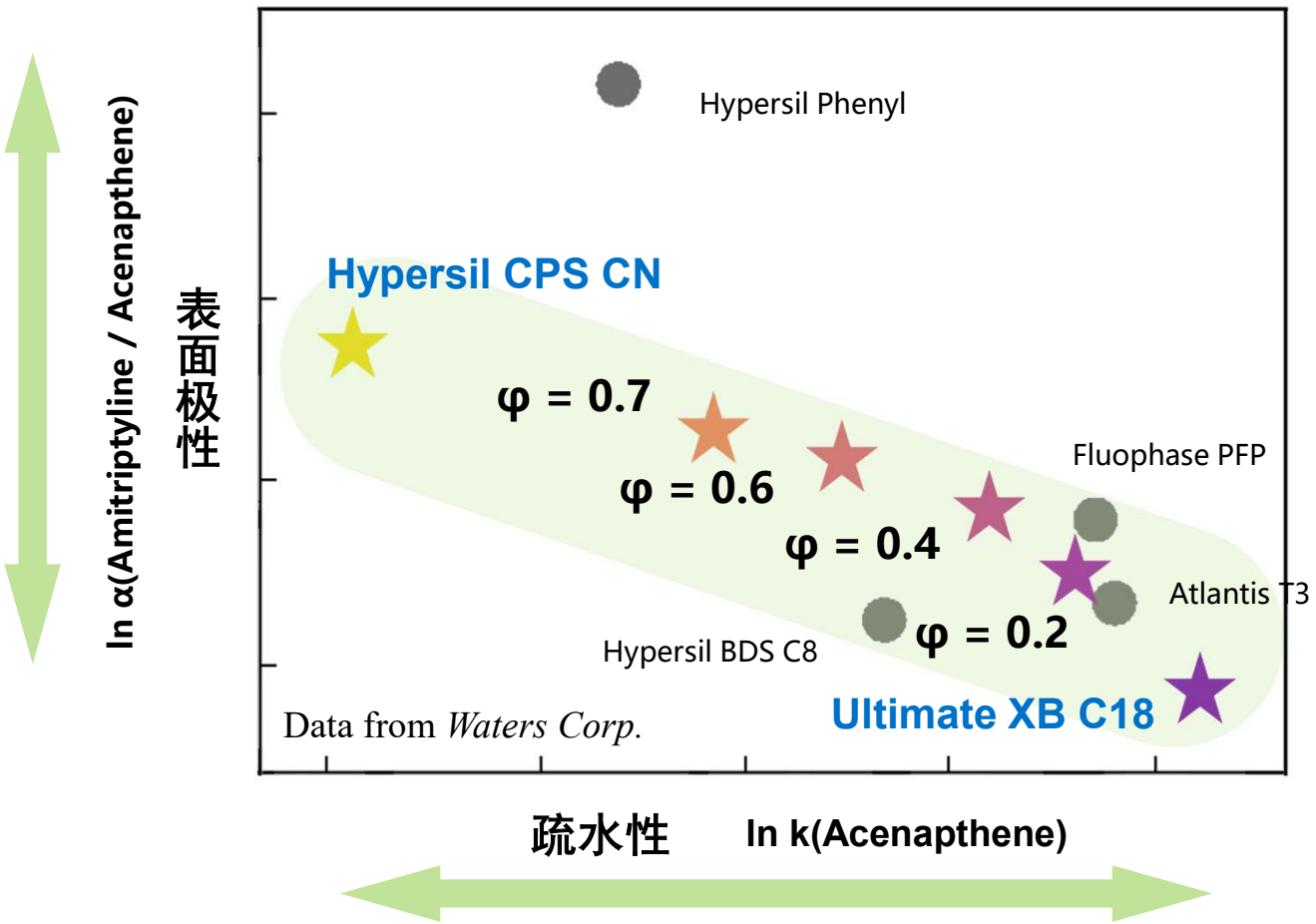
unpublished data

基于微液滴的色谱选择性精准编辑

厦門大學 XIAMEN UNIVERSITY

多维度选择性评价

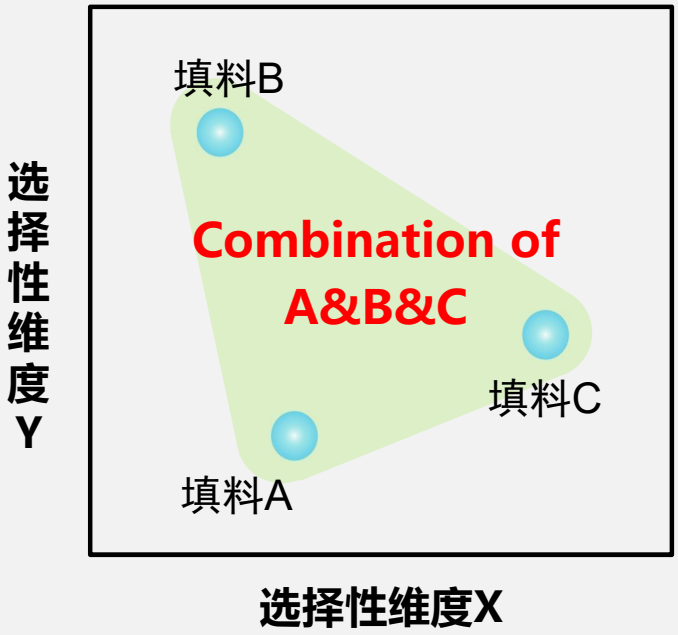
精准编辑柱床实现选择性的连续覆盖



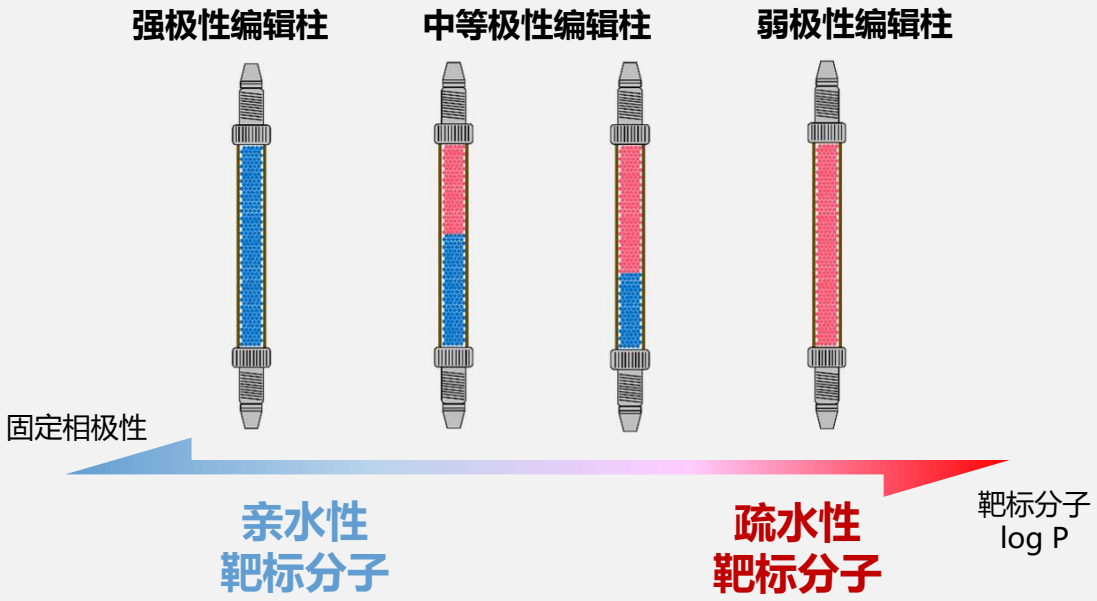
unpublished data

总结与展望

- 通过有限种填料可以实现色谱选择性的连续调控
- 有望实现宽范围、多维度的选择性精准编辑
- 复杂体系个性化分离，目标峰的深度挖掘



多维度选择性精准编辑



色谱柱选择性的宽极性范围连续覆盖

Thanks for your attention

厦門大學化學化工學院
College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University

谱学分析与仪器教育部重点实验室
Key Laboratory of Spectrochemical Analysis & Instrumentation, Ministry of Education

NSFC

中华人民共和国科学技术部
Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China

Email: bozhang@xmu.edu.cn