

无机离子的毛细管电泳分析及其在土壤上的应用

李立平 张佳宝 邢维芹 朱安宁 冯杰

(中国科学院南京土壤研究所 南京 210008)

摘要 毛细管电泳用于溶液中无机离子的分析具有分离性能高、分离速度快、分析费用低、操作简单等优点,但精确性稍低。通过各种校准方法可部分地克服这一缺点。毛细管电泳极高的分离性能和极快的分离速度使土壤养分快速以至准实时分析成为可能,但其在土壤无机离子分析上的研究仍显不足,目前需要解决的问题之一是提高样品的前处理速度及对磷的提取能力。这些问题的解决将有利于提高土壤养分分析效率,促进毛细管电泳法在土壤养分分析方面的应用。

关键词 毛细管电泳;无机离子;分析;土壤;应用

中图分类号 S151.9

毛细管电泳 (Capillary electrophoresis, CE) 分离分析技术是分析科学在高效液相色谱之后又一重大发展。毛细管电泳仪的主要组成 (图 1) 包括一根内径在 25 ~ 100 μm 、长度在 100 cm 以内的毛细管、一个高压电源 (0 ~ 30 kV) 和位于毛细管末端的检测器。仪器运行时高压电源向毛细管两端施加高压电作为驱动力,样品中的带电组分在电场的作用下在毛细管内运动,各组分由于淌度 (Mobility) 和分配行为的差异到达毛细管末端的时间不同,从而实现分离,组分经过位于毛细管末端的检测器时形成与组分浓度成比例的信号,从而实现定量测定。常用检测器有紫外检测器 (UV)、二极管阵列检测器 (DAD)、激光诱导荧光检测器 (LIF)、电导检测器 (CD) 等。

毛细管电泳的主要优点有: 极高的分离性能,其每米的理论塔板数为几十万到 100 万以上,远高于离子色谱。超微量进样,其进样量为纳升级。

快速简便。毛细管区带电泳适用于小离子的测定,其峰容量是离子色谱法的 10 倍,如可在 30 s 内完成对样品中硝酸根和亚硝酸根的测定^[1]。毛细管电泳仪的结构及操作也比离子色谱简单。试剂消耗少,维持费用低,对环境污染少。相对于离子色谱,其所用毛细管的价格远低于色谱柱。

由于毛细管壁在重复测定之间不能保持相同的状态^[2],导致电渗流发生变化^[3],因此两次测定之间同一离子的迁移时间的重现性^[3]变差。这是毛细管

电泳测定无机离子精确性低于离子色谱的主要原因。此外,与离子色谱相比,毛细管电泳还有以下缺点: 浓度灵敏度低,毛细管电泳的选择性范围有限,选择性只能由背景电解质的组成控制^[3]。

根据样品待测组分在背景缓冲液中所受的作用力的不同,毛细管电泳又可分为不同的类型,无机离子的分析常采用毛细管区带电泳 (Capillary Zone Electrophoresis, CZE)。毛细管区带电泳指的是用不加修饰的熔融石英毛细管,并且毛细管中的缓冲液和电极槽中的缓冲液相同的电泳方式。在外加电压的作用下,样品中的不同离子在毛细管中形成不同的类似活塞状的区带,不同离子形成的区带与其淌度有关。离子淌度越大,其区带越靠近毛细管的检测器端,并且区带较窄。

毛细管电泳分析的目标物质范围很广,其分析目标多种多样,包括蛋白质、糖、DNA 测序、手性分离、单细胞分析^[4]、有机污染物^[5]、无机离子分析,同一元素不同价态离子的分离^[6,7]等,并且可做到无机阴离子、羧酸、芳香酸的一次性分离^[8]。对低分子量离子的毛细管电泳分析是上世纪 90 年代初发展起来的一个应用领域,已有多篇文章报道了对标准溶液及简单样品,如自来水^[9]、造纸废液^[10]、雨水^[11]、尿液^[12,13]、土壤的水提取液的分析效果,被测定的离子包括氯、硫酸根、硝酸根、磷酸氢根和碳酸根,钾、钠、钙等。

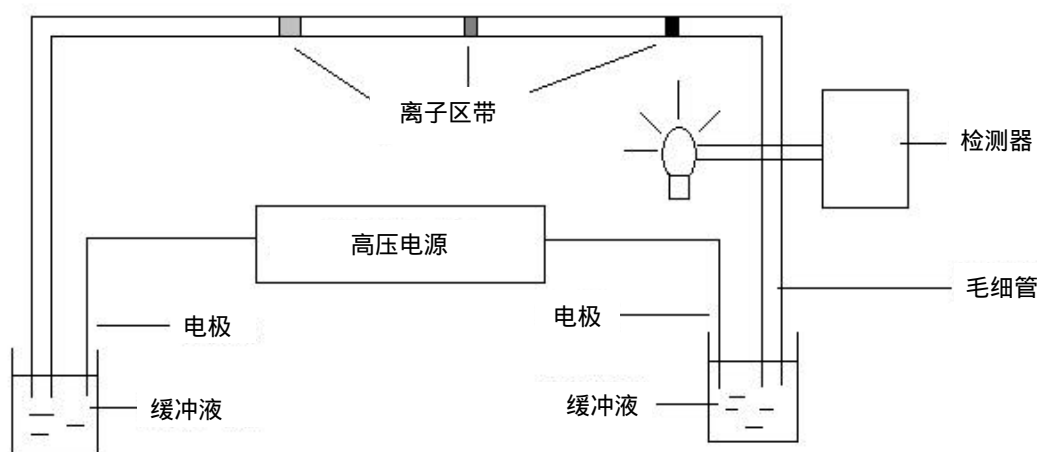


图 1 毛细管电泳仪示意图

Fig. 1 Schematic map of a capillary electrophoresis

1 无机离子分析

1.1 阴离子

1.1.1 电渗流 (Electroosmotic Flow, EOF) 及改变电渗流方向的方法 分析无机离子常用的是不加修饰的熔融石英毛细管空管, 熔融石英毛细管在碱性和微酸性 ($\text{pH} > 2.5$) 溶液中表面的硅羟基电离成 SiO^- , 因此表面带负电而形成双电层, 溶液中出现大量带正电的阳离子, 在电场的作用下, 阳离子向负极运动, 毛细管中的缓冲液分子在大量阳离子的推动下也向负极运动, 这种运动称为电渗流。而阴离子在电场中朝向正极运动, 因此电渗流的方向与阴离子的电泳方向相反。在中性和碱性条件下, 电渗迁移率介于高迁移率阴离子如氯、硫酸根和低迁移率阴离子如乙酸根、丁酸根之间, 造成迁移率大的阴离子向阳极移动, 而迁移率小的阴离子随着电渗流向阴极移动, 因此迁移率小的阴离子出峰时间长或无法出峰, 在阳极端难以同时检测。因此, 为了达到在阳极端可检测到迁移率不同的阴离子的目的, 必须采取措施改变电渗流方向。改变电渗流方向的方法有多种, 其中在无机离子分析中最常用的是在电解质溶液中加入电渗流改性剂 (Electroosmotic Flow Modifier, OFM)。

常用的电渗流改性剂是阳离子表面活性剂, 一般为长链季铵盐。电渗流改性剂可与管壁的负电荷结合, 使管壁形成不带电荷的状态, 从而使电渗流逆向, 使迁移率小的阴离子可在较短时间内到达检测器, 使阴离子得到快速分离。已见报道的电渗流

改性剂主要为长链烷基季铵盐, 如十六烷基三甲基溴化铵 (CTAB)、十四烷基三甲基溴化铵 (TTAB)、溴代十六烷吡啶、溴代十四烷吡啶等, 而以长链烷基季铵盐最常用^[14]。如果想除去电渗流改性剂中阴离子对测定的影响, 可通过离子交换的方法用 OH^- 代替其中的溴。电渗流改性剂的效果随季铵盐碳链的加长而增加。CTAB、TTAB、十二烷基三甲基溴化铵 (DTAC) 三者的最佳改性浓度分别为 0.05、0.5、3.5 mmol/L^[15]。

此外, 降低温度、降低 pH 值 (对阴离子型电解质而言) 及增大电解质浓度均有利于抑制电渗流。1.1.2 间接紫外检测 间接紫外检测法是无机离子分析中最常用的检测方式。选择这一方法的原因是大多数无机离子在紫外区没有吸收或吸收很弱, 不利于定量测定。间接紫外法进行检测即在电解质溶液中加入具有很强紫外吸收的物质, 作为背景物质 (Background electrolyte, BGE), 背景物质的淌度应与被检测物质相近。当样品中的分析离子在电场作用下被分离形成区带时, 不吸光的待测阴离子会部分或全部地取代了吸光的背景阴离子, 形成负吸收峰, 经过转换, 负峰变成正峰, 从而实现分析阴离子的紫外检测。

阴离子的背景电解质有铬酸盐、芳香羧酸、钼酸根或磷酸等。不同背景电解质的对比表明, 铬酸根适合于迁移率大的无机阴离子, 如硝酸根、硫酸根、氯和溴等。用铬酸盐作背景物质时, 常用的检测波长为 254 nm。

1.1.3 影响阴离子分析的因素 缓冲液的

pH : pH 影响阴离子的有效迁移率和电渗迁移率^[15] ; 选择适当的 pH 可改善弱酸根离子的分离。pH 对强酸根离子的分离影响不大, 对弱酸根的迁移时间有较大影响, 随 pH 升高, 弱酸根电离度、有效迁移率增加。在铬酸根作背景电解质的电泳系统中, 最易受 pH 变化影响的离子是碳酸根, 其 $pK_{a2} = 10.25$, 当缓冲液的 pH 高于这一数值时, 碳酸根即发生二级解离, 出峰提前到磷酸根以前, 否则, 则在磷酸根之后出峰。此外, 在铬酸根系统中, 增加工作缓冲液中碱液的数量也有助于电渗流改性剂 CTAB 的溶解。淌度差异: 如果被检测离子的淌度大于背景电解质, 则峰形前伸; 相反则峰形拖尾。二者的淌度差异过大则有可能不能形成规则的峰形, 不能实现定量检测。对于以铬酸根为背景电解质的检测系统, 磷酸根和碳酸根通常会出现拖尾现象, 而明显的峰形前伸现象则很少发生。背景物质及其浓度: 背景物质的种类影响选择性分离度, 而浓度则影响检测限与线性范围。增加背景电解质的浓度可大大提高分析的线性范围^[16]。背景物质浓度增加, 有些分离不好的离子的分离状况可能会有所改善。

有机溶剂: 有机溶剂对迁移时间和分离选择性有一定的影响^[15]。为改善分离, 可试验加入甲醇、乙腈或乙醇, 有机溶剂占工作缓冲液的比例一般在 20% 以内。由于有机溶剂的极性差, 加入有机溶剂后会导致电流减小, 出峰时间延长。电压影响: 分离电压增大, 离子的出峰时间缩短; 此外, 电压也会对峰形产生影响: 电压增大, 同一浓度的同一离子的峰面积变小, 峰形变瘦, 峰面积/峰高比值变小, 这种变化对迁移率小的离子更加明显。

另外, 检测灵敏度与波长有关, 波长越短越灵敏。

1.2 阳离子

1.2.1 络合 由于各金属离子的淌度差异小, 形成的区带不易分开, 因此阳离子测定中加入络合剂以增大其淌度差异^[17]。最常用的络合剂有 EDTA 和 α -羟基异丁酸 (α -HIBA), 其他络合剂有乳酸、琥珀酸、酒石酸、柠檬酸。阳离子的络合有两种形式:

在线络合: 即在工作缓冲液中加入络合剂, 进样后络合剂和阳离子在毛细管内形成络合物。在线络合适用于络合反应较弱、络合反应可快速达到平衡的阳离子。在这种络合方式中, 只有部分阳离子被络合, 常用间接紫外法检测。离线络合: 如果络合物在 CE 条件下很稳定, 则适合采用离线络合,

即在测定前在样品中加入过量络合剂, 络合反应在样品进入毛细管测定前已经完成。离线络合中如果络合离子的比例较大, 则有可能适合采用紫外检测。

离线络合应满足以下条件: 配位体应与大多数阳离子反应, 并能抑制阳离子原有性质。络合物应有高吸光值、高溶解性和低的电负性以减少被管壁吸附。测定过程中络合物应可与未发生络合反应的络合剂分离。

加入冠醚可加大阳离子淌度的差异, 如加入 18-冠-6 可实现铵和钾的分离。

1.2.2 检测 最常见的检测方法是紫外-可见检测。对于无机阳离子来说, 它们的吸光值较低, 因此间接紫外检测比较常用。紫外吸光试剂包括 Cu(II) 盐^[18]、铬酸根、芳胺和杂环化合物, 如苄胺、4-甲基苄胺, 二甲基苄胺、咪唑^[19]、*p*-甲苯胺、嘧啶、肌氨酸酐、麻黄碱等。芳胺的有效淌度随 pH 的下降而增加, 因此改变 pH 可改变峰形和分离度。采用胺类背景时, 多选酸性分离条件, 如 pH 4 ~ 5。已有用甲苯胺作背景物质, 在 7 min 内对 27 种金属阳离子分离的报道^[4]。

如果络合反应中的络合剂含有生色团或荧光团, 则可用直接紫外和荧光法检测。含有芳环的络合剂如 8-羟基奎宁-5-磺酸盐 (HQS), 4-(2-吡啶偶氮)间苯二酚、2,2'-二羟基偶氮苯-5,5'-二磺酸等, 可同时用于直接紫外检测, 其他可用于直接紫外检测的络合剂还有 Cu(II)络合物、-二酮、环己二胺四乙酸 (CyDTA), -四(4-羧基苯)吡吩, 乙二胺四乙酸 (EDTA) 等。如 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Co^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 都可与氰化物络合。在 EDTA 存在时, Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 与邻菲罗啉络合, 可直接检测。

最近有人用阳离子染料作为背景物质实现了对阳离子的测定。Johns 等^[20]用 5 mmol/L 橘红作为背景物质对同一溶液中的碱金属、碱土金属过渡元素和镧系元素进行了测定。由于橘红的摩尔吸光系数很高, 因此检测限较低。

Vuorinen 等^[21]用非接触电导检测法对无机阳离子进行了检测, 检测器置于毛细管卡盒内, 同时紫外检测器也可正常工作, 对大多数阳离子检测限可达 0.5 mg/L。输入信号的振幅、背景电解质的电导和电极距离是影响检测的最主要因素。对于大多数无机阴阳离子, 检测限在 7 ~ 30 μ g/L 之间。

1.3 阴阳离子同时测定

即在一次分离中既能测出阴离子, 也能测出阳

离子浓度的测定方式。常用方法有两种，即两端电压进样和阳离子负电化。

1.3.1 两端电压进样 将毛细管两端同时插入样品液中，在毛细管两端加电压，样品中阳离子将进入毛细管向阴极运动，阴离子进入毛细管向阳极运动。之后再将毛细管的两端插入缓冲液中，加上分离电压，位于毛细管两端的阴阳离子分别向毛细管的另外一端运动。与传统的毛细管电泳测定阳离子和阴离子时检测窗口位于靠近毛细管一端不同，阴阳离子同时测定时检测窗口的位置更接近毛细管的中部。在分离电压作用下，阴阳离子在运动了接近相等的距离后到达检测窗口，从而实现阴阳离子的同时测定^[22-24]。

1.3.2 阳离子负电化 阴阳离子也可通过加入络合剂的方法同时测定。加入适当络合剂（如2,6-吡啶二羧酸，PDC），使阳离子与络合剂相结合，带上负电荷，也形成阴离子，这样就可同一缓冲液实现同时测定^[25]。Kuban等^[26]，在6 min内同时检测19种阴阳离子，金属阳离子与EDTA络合形成阴离子，与阴离子同时测定。背景电解质是5 mmol/L铬酸根、缓冲液中还含有3 mmol/L硼酸根、35 μmol/L CTAB，pH = 8。检测限和RSD以阳离子为高。阴离子出峰在先，阳离子在后，但阳离子的峰形差。

阴阳离子的同时测定使毛细管电泳测定一个样品的时间进一步缩短，并且测定成本也大大降低。

1.4 测定结果校准

间接检测定量的线性范围通常比直接检测低，分离的重现性也可能不好^[4]。原因之一是不同离子的淌度不同，因此在检测器前的保留时间不同。所以，可通过对峰面积进行校准提高重现性^[27]。已有报道的校准方法有以下3种：标准加入法：即在样品中加入浓度已知的离子，根据其峰面积的变化来校准其他离子的峰面积^[28]。双加入法：其实质也是标准加入法。即在测定一定数量的样品后，加测一个含量很高的标准和一个含量很低的标准，测定结束时分别把高浓度标准的峰尖和低浓度标准的峰尖用两根曲线连起来，分别求出两条曲线的方程，再对样品测定峰面积进行校准^[29]。迁移时间校准法：用以下公式进行：

$$A_{\text{norm},i} = A_{\text{obs},i} / t_{m,i}$$

式中： $A_{\text{norm},i}$ 为校准后*i*离子的峰面积； $A_{\text{obs},i}$ 为离子的测定峰面积； $t_{m,i}$ 为离子的迁移时间。

同时在样品中加入一个标准离子，对其峰面积

也用同样方法进行校准。做标准曲线时，用每一个离子的峰面积与标准离子面积之比对该离子浓度作图^[27]。

此外，还可通过及时更换缓冲液和充分洗涤毛细管方法提高测定结果的重现性^[4]。

2 土壤分析

目前国内土壤无机N、P、K的分析仍以传统的分别提取、分别测定为主，每种提取液通常只能测定一种离子，因此测定速度慢，试剂消耗量大，向环境中排放的化学物质数量大，影响了分析结果从实验室走向应用，导致人们对土壤养分信息的掌握水平很低，大面积的土地只能获得极少量的数据。

毛细管电泳在土壤无机离子分析上的应用将在很大程度上克服传统方法的缺点，提高人们对土壤养分状况的认识水平。已有一些文献报道了应用毛细管电泳测定土壤提取液中的无机阴阳离子（表1）。

2.1 待测液的获得

已有报道的获取待测液的方法基本可以分为3类：用水在静止状态下长时间浸泡土壤^[2,30]，之后将混合物离心，上清液作为待测液。浸泡时间在10 h以上。用各种方法直接获得土壤溶液，如将田间湿土直接离心^[31]，或在田间埋设陶土管，通过抽吸或自然渗漏的方法获取土壤溶液^[29]；在土壤中加入提取剂，短时间振荡后过滤，O' Flaherty等^[27]所用的振荡时间为5 min。已报道的浸提法中所用的提取剂都是纯水，只有O' Flaherty等^[27]对土壤的稀醋酸铵溶液的毛细管电泳分析作了初步探索。

通过这些方法获得的待测液一般都需要经孔径为0.50 μm或更细的滤膜过滤才能测定。

2.2 检测条件

常用的检测方式仍是间接紫外检测法。由于电渗流改性剂长链季铵盐的溶解性较小，因此较高浓度下会出现缓冲液混浊或电渗流改性剂沉淀现象，根据我们的经验，可加入一定量的乙醇或碱液来解决这一问题。

2.3 分析过程的自动化

带有自动进行盘的毛细管电泳仪本身就是一套流动分析装置。如果将样品的自动称量和提取设备嫁接在毛细管电泳仪前，则会实现土壤样品的自动分析。已经有人在这方面进行了有益的探索。Arce等^[32]在毛细管电泳仪前接一土壤自动提取和加样装置，这一装置主要由以下几部分组成：加入提取剂

表 1 文献报道的毛细管电泳法测定土壤无机离子的结果

Table 1 Capillary electrophoresis of inorganic ions in soil

吸光离子	被测定离子	样品	测定结果	迁移时间 (min)	内径 (μ m)	管长 (cm)	波长 (nm)	文献
阴离子-铬酸根; 阳离子-咪唑	NO_3^- 、 NO_2^- 、 PO_4^{3-} ; K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+}	阴离子: 4 g 土加 10 ml 水; 阳离子: 1 g 土加 10 ml 水, 手摇 5 min 过滤, 待测	r^2 0.9978, 硝酸根测定结果与其他方法相近, 阳离子、磷酸根与其他方法有较大差异	阴离子 <1.6; 阳离子 <0.7	阴离子 -75; 阳离子 -50	阴离子 -55; 阳离子 -35	阴离子 -254; 阳离子 -214	27
安息香酸根	磷酸根	土: 水比=1:0.5, 静止提取 12 h 后离心获得上清液待测	LOD=0.4 mg/L, 所有样品中均检测到 P	<3.5	75	60	254	28
阴离子: 均苯四酸根阳离子: 米吐尔	阴离子: Cl^- 、 SO_4^{2-} 、 NO_3^- ; 阳离子: NH_4^+ 、 K^+ 、 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Al^{3+}	通过真空抽吸获得土壤水, 待测	RSD: NH_4^+ 、 Na^+ 12%; 其他 <6%。 r^2 0.9935。线性范围: NH_4^+ 、 Mg^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Al^{3+} : <10 mg/L, 其他: >30 mg/L	阴离子 <5; 阳离子 <3.6	75	44	280	29
均苯四酸根	Cl^- 、 SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 F^- 、 PO_4^{3-}	10 g 土 (<2 mm), 加入 50 ml 水, 静止提取 16 h, 过滤, 待测	6 个样品中有 5 个未测到 PO_4^{3-} , 磷酸根严重拖尾	<5.5	50、75	50	250	30
铬酸根	As	田间持水量的土壤离心 2 h 获得土壤溶液, 再对土壤溶液离心, 待测	r^2 0.9978	<4	50	72	254	31
铬酸根	Cl^- 、 SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 NO_2^-	1 g 样品加入 10 ml 提取剂, 搅拌 15 min 过滤, 待测	$r=0.999$, LOD=0.09 ~ 0.14 mg/L, RSD<2.5%	<5	原文未提供	原文未提供	265	32
咪唑	NH_4^+ 、 K^+ 、 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Mn^{2+}	先用硝酸处理土壤, 之后用 0.01 mol/L HCl 提取, 混合物离心, 上清液过滤后待测	测定结果与原子吸收相近 (原子吸收未测定 NH_4^+), 两种方法均未测定 Zn	<9	75	57	214	37
铬酸根	As、Se、Sb、Te	10 g 土加 50 ml 水, 振荡 2 h, 过滤, 待测	RSD<10%, LOD=13~3900 μ g/L, r^2 0.9911	<5	75	60	254	38
米吐尔	Al^{3+}	20 g 土加入 50 ml 水, 振荡 1 夜, 离心、过滤, 待测; 用陶土头抽吸的方法获得土壤溶液测定	LOD=0.12 mg/L	约 4.5	75	44	220	39

装置、电磁搅拌装置、插入提取液-土壤混合物吸取滤液的探头(含有滤膜)、输液臂及清洗装置。输液臂末端有一根长针和一根短针, 长针用于向毛细管电泳仪样品盘上的样品瓶中加入提取液, 短针用于吸出多余液体。土样的称量仍由人工完成。整个装置通过电脑控制。相邻样品提取中间仪器可自动对装置进行洗涤。分析一个样品需要 10 min。

2.4 存在问题

2.4.1 测定精度仍需提高

研究发现, 毛细管电泳测定标样时精度较高, 重复间相对误差在 0.5% 以内, 但对样品测定时精度下降。造成这一结果的原因可能是与标准离子溶液相比, 土壤提取液的组成复杂。土壤纯水提取液经过滤膜过滤后的除过无

机离子, 其中应该还有大量其他物质, 这些物质在分离过程中与毛细管壁和缓冲液组分作用, 导致测定结果的重现性变差。这是阻碍毛细管电泳用于土壤提取液测定的主要障碍。

2.4.2 没有与毛细管电泳的快速测定相匹配的土壤测定液快速获得方法

传统的土壤养分提取都是在土样中加入一定浓度的提取剂(浓度大多在 0.1 ~ 2 mol/L 之间)后振荡(时间通常为 30 min)过滤获得待测液, 但在已有的土壤中无机离子的毛细管电泳测定报道中, 成功的提取都是以水作为提取剂, 并且时间都很长。长时间的提取使测定时间延长, 不利于土壤养分的快速测定, 而短时间的提取可能存在养分提取不完全的可能。常规方法中使用的提

取剂浓度由于离子浓度过高,不适合毛细管电泳方法使用。因此,研究提取时间和方法对土壤养分的提取量的影响,寻找快速提取方法,达到既能较充分地提取土壤养分,又能在一定程度上节约提取时间,是充分发挥毛细管电泳在土壤养分分析上的潜力的必须步骤。根据我们的试验,应选择以碳酸根、乙酸根为阴离子的提取剂,选择这类提取剂时不会影响氯、硫酸根、硝酸根的提取,浓度在 0.001 ~ 0.002 mol/L 之间,已有人使用了 0.002 mol/L 的 KCl 作提取剂^[32]。此外,纯水提取 P 的能力很弱^[33],振荡 60 min 时,提取 P 的数量为 Olsen 法的 29% 左右^[34],120 min 时,提取数量为后者的 49% 左右^[35],而静止提取时 P 常达不到毛细管电泳的检测限^[29,30]。因此探讨一定浓度的稀电解质溶液对土壤养分的提取及在毛细管电泳测定中的应用将有一定的意义。如果不能提高提取液中 P 的浓度,则用毛细管电泳法分析土壤 P 是不合适的。

2.4.3 系统研究不足 相对于传统土壤养分分析方法,土壤养分毛细管电泳分析的研究尚处于起步阶段,仍有很多问题值得研究。毛细管电泳的优点,如需样量极小,在土壤养分分析中如果得以充分发挥,必将大大增加提高人们所掌握的土壤养分含量状况信息的数量,使与之相关的施肥、环保等行业得到很大促进。此外,像土壤性质对测定结果的影响,测定结果与常规方法及植物对养分的吸收的相关性等也值得研究。

3 展望

虽然毛细管电流与离子色谱相比有很多优点,但其缺点也是明显的。毛细管电泳法检测目标物质的原理是同一缓冲液中不同离子运动速率的差异,这是不同离子在同一缓冲液中形成不同离子区带的基础。同样,由于不同离子运动速率的差异,其形成的区带的宽度不同,单位体积缓冲液中离子的数量不同,造成了先期到达的离子区带“紧实”,峰形尖削,而后面到达的离子形成的区带不明显,单位体积缓冲液中离子的数量小,因此当这种“松散”区带经过检测窗口时需要的时间长,峰矮而胖,与基线的界限不明显,造成待测物质的检测不准确甚至困难。因此,在毛细管区带电泳法间接检测测定无机离子时存在着离子之间的“歧视”效应(Discrimination Effect)(这里的歧视效应的提法是对原有歧视效应概念^[36]的扩充),那些与背景电解质

淌度差异大的离子难于准确定量,即使能够定量,其线性范围也小于与背景电解质淌度差异小的离子。这种“歧视”表现的另一方面是峰形的差异。

由于毛细管电泳对不同离子分析存在的“歧视”效应,其可精确分析的离子数量也受到了限制。一般情况下,用铬酸根作背景电解质时毛细管电泳可分析土壤提取液中的溴、氯、硫酸根、亚硝酸根、硝酸根、磷酸根,对于出峰时间晚于磷酸根的离子,分析已经比较困难。

由于以上原因,在土壤分析领域,将毛细管电泳法看作离子色谱的代用品是不科学的。从现在看来,毛细管电泳和离子色谱应占据土壤离子分析的两个不同的领域。对于精度要求高的分析,可选择离子色谱,而对于精度要求低的分析,应选择毛细管电泳。相对于离子色谱,毛细管电泳最大的优点就是其分析成本较低,这一优点在一定程度上弥补了其精度稍低的缺点。由于毛细管电泳具有以上两个优点因此适合于分析大量土壤样品的要求,在一定程度上适合于精准农业对大量土壤养分信息的需求。而离子色谱与毛细管电泳相比,由于其高昂的仪器费用、分析费用而难以用于精准农业中土壤养分信息的采集。

毛细管电泳在土壤离子分析上应用的另外一个值得注意的优点是其在盐化土壤离子分析中的应用。在毛细管电泳无机离子分析中,不管采用何种背景电解质,各离子的出峰顺序基本上都是溴、氯、硫酸根、亚硝酸根、硝酸根。对于多数盐化土壤,氯和硫酸根的含量都较高。由于毛细管电泳的分析精度与各离子的出峰顺序有关,先出峰的离子测定精度较高,因此,利用毛细管电泳特别有利于氯和硫酸根的测定,这一点对于掌握盐化土壤的盐分状况可能会很有意义。

参考文献

- 1 Melanson JE, Lucy CA. Ultra-rapid analysis of nitrate and nitrite by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 2000, 884, 311 ~ 316
- 2 Fritz JS. Recent developments in the separation of inorganic and small organic ions by capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, 2000, 884: 261 ~ 275
- 3 Pacakova V, Coufal P, Stulik K. Capillary electrophoresis of inorganic cations. *J. Chromatogr. A*, 1999, 834: 257 ~ 275

- 4 陈义. 毛细管电泳技术及其应用. 北京: 化学工业出版社, 2000, 1 ~ 2, 216 ~ 217
- 5 Zhou D, Chen H. Effect of Cr (VI) and p-chloroaniline interaction on their reaction behaviors on soil colloids, *Pedosphere*, 1999, 9 (3): 233 ~ 242
- 6 Chen Z, Naidu R, Subramanian A. Separation of Chromium (III) and Chromium (VI) by capillary electrophoresis using 2,6-pyridinedicarboxylic acid as a pre-column complexation agent. *J. Chromatogr. A*, 2001, 927, 219 ~ 227
- 7 Geiser L, Varesio E, Veuthey J-L. Simultaneous analysis of metabisulfite and sulfate by CE with indirect UV detection. Application to and validation for a pharmaceutical formulation. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2003, 31, 1059 ~ 1064
- 8 Xu J, Chen Z, Yu JC, Tang C. Simultaneous determination of inorganic anions, carboxylic and aromatic carboxylic acid by capillary zone electrophoresis with direct UV detection. *J. Chromatogr. A*, 2002, 942, 289 ~ 294
- 9 刘嘉松. 毛细管电泳技术用于饮用水中常见阴离子的分析. *分析化学*, 1995, 23 (3): 365
- 10 Salomon DR, Romano J. Applications for capillary ion electrophoresis in the pulp and paper industry. *J. Chromatogr.*, 1992, 602: 219 ~ 225
- 11 Fung Y, Lau K. Development and validation of analytical methodology using capillary electrophoresis for separation and determination of anions in rainwater. *Talanta*, 1998, 45: 641 ~ 656
- 12 Wildman BJ, Jackson PE, Jones WR, Alden PG. Analysis of anion constituents of urine by inorganic capillary electrophoresis. *J. Chromatogr.*, 1991, 546: 459 ~ 466
- 13 Olsauskaite V, Paliulionyte V, Padaruskas A. Rapid analysis of cation constituents of urine by capillary electrophoresis. *Clinica Chimica Acta*, 2000, 293: 181 ~ 186
- 14 宋立国, 欧庆瑜, 俞惟乐. 毛细管电泳. 色谱, 1996, 14 (2): 98 ~ 101
- 15 傅小芸, 吕建德, 夏旭建. 电解质溶液组成对低分子量阳离子毛细管电泳分离的影响. *分析化学*, 1997, 25 (6): 704 ~ 707
- 16 Jandik P, Jones WR. Optimization of detection sensitivity in the capillary electrophoresis of inorganic anions. *J. Chromatogr.*, 1991, 546: 431 ~ 443
- 17 Weston A, Brown PR. Factors affecting the separation of inorganic metal cations by capillary electrophoresis. *J. Chromatogr.*, 1992, 593: 289 ~ 295
- 18 Padaruskas A, Olsauskaite V, Paliulionyte V. New electrolyte system for the determination of ammonium, alkali and alkaline earth cations by capillary electrophoresis. *Analytica Chimica Acta.*, 1998, 374: 159 ~ 165
- 19 Pansar-Kallio M, Manninen PKG. Determination of sodium, potassium, calcium and magnesium cations by capillary electrophoresis compared with ion chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 1995, 314: 67 ~ 75
- 20 Johns C, Macka M, Haddad PR. Highly sensitive indirect photometric detection of cations by capillary electrophoresis with the cationic dye chrysoidine. *J. Chromatogr. A.*, 2003, 997: 87 ~ 94
- 21 Vuorinen PS., Jussila M, Siren H, Palonen S, Riekkola M. Integration of a contactless conductivity detector into a commercial capillary cassette. Detection of inorganic cations and catecholamines. *J. Chromatogr. A.*, 2003, 990: 45 ~ 52
- 22 Kuban P, Karlberg B, Kuban P, Kuban V. Application of a contactless conductometric detector for the simultaneous determination of small anions and cations by capillary electrophoresis with dual-opposite end injection. *J. Chromatogr. A.*, 2002, 964: 227 ~ 241
- 23 Padaruskas A, Olsauskaite V, Paliulionyte V. Simultaneous determination of inorganic anions and cations in waters by capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A.*, 1998, 829: 359 ~ 365
- 24 Haumann I, Boden J, Mainka A, Jegle U. Simultaneous determination of inorganic anions and cations by capillary electrophoresis with indirect UV detection. *J. Chromatogr. A.*, 2000, 395: 269 ~ 277
- 25 Soga T, Ross GA. Simultaneous determination of inorganic anions, organic acids and metal cations by capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A.*, 1999, 834: 65 ~ 71
- 26 Kuban P, Kuban P, Kuban V. Simultaneous capillary electrophoretic separation of small anions and cations after complexation with ethylenediaminetetraacetic acid. *J. Chromatogr. A.*, 1999, 836: 75 ~ 80
- 27 O' Flaherty BD, Barry EF, Cholli AL. A rapid soil nutrient

- sensor device based on capillary zone electrophoresis. *J. Environ. Sci. Health*, 2000, A 35 (2): 189 ~ 201
- 28 Ahumada I, Mendoza J, Ascar L. Determination of organic acids and phosphate in soil aqueous extracts by capillary zone electrophoresis. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 1999, 30 (1&2): 213 ~ 220
- 29 Gottlein A, Blasek R. Analysis of small volumes of soil solution by capillary electrophoresis. *Soil Sci.*, 1996, 16 (10): 705 ~ 715
- 30 Zbiral J. Determination of some inorganic anions in soil extracts and atmospheric deposition using capillary electrophoresis. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 1998, 29 (11-14): 1585 ~ 1592
- 31 Naidu R, Smith J, McLaren RG, Stevens DP, Sumner ME, Jackson PE. Application of capillary electrophoresis to anion speciation in soil water extracts: II. Arsenic. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 2000, 64: 122 ~ 128
- 32 Arce L, Rios A, Valcarcel M. Direct multiparametric determination of anions in soil samples by integrating on-line automated extraction/filtering with capillary electrophoresis. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1998, 360: 697 ~ 701
- 33 鲍士旦. 土壤中磷的测定. 见: 史瑞和主编. 土壤农化分析. 第 2 版. 北京: 农业出版社, 1998, 65 ~ 83
- 34 Indiati R, Neri U, Magyar M, Csatho P. Effect of time, fertilizer phosphorus sources, and fertilization systems on phosphorus extractability of two soils from Hungary. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 2002, 33, 545 ~ 560
- 35 Indiati R, Singh BR. Phosphorus extractability of heavily fertilized soils from Norway. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 2001, 32, 1629 ~ 1641
- 36 陈义, 竺安. 高效毛细管电泳的扩散进样. *色谱*, 1991, 9 (6): 353 ~ 356
- 37 Gruenhagen JA, Delaware D, Ma Y. Quantitative analysis of non-UV-absorbing cations in soil samples by high-performance capillary electrophoresis. *Journal of Chemical Education*, 2000, 77 (12): 1613 ~ 1616
- 38 Casiot C, Alonso MCB, Boisson J, Donard OFX, Potin-Gautier M. Simultaneous speciation of arsenic, selenium, antimony and tellurium species in waters and soil extracts by capillary electrophoresis and UV detection. *Analyst*. 1998, 123: 2887 ~ 2893
- 39 Gottlein A. Determination of free Al^{3+} in soil solutions by capillary electrophoresis. *European Journal of Soil Science*, 1998, 49: 107 ~ 112

ANALYSIS OF INORGANIC IONS WITH CAPILLARY ELECTROPHORESIS AND ITS APPLICATION TO SOIL TEST

LI Li-ping ZHANG Jia-bao XING Wei-qin ZHU An-ning FENG Jie

(*Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008*)

Abstract When applied in analyzing inorganic ions in solution, the technology of capillary electrophoresis is high in resolution, fast in separation, low in cost and simple in operation, but low in reproductivity, which, however, can be partly corrected by readjusting composition of the electrolyte solution, rinsing capillaries and some other ways to calibrate the device. The high resolution and rapid separation of capillary electrophoresis makes possible rapid or even real-time analysis of soil nutrition. However, the research on inorganic ion analysis in soil with capillary electrophoresis is still far from enough. The most urgent problems at present are how to speed up pre-treatment of soil samples and improve P extraction capacity. Solution of these problems will raise the efficiency of soil nutrition analysis and help modernize the technology for soil nutrition analysis.

Key words Capillary electrophoresis, Inorganic ions, Analysis, Soil, Application