

液相色谱-化学发光检测法的研究进展

郑亭亭

(齐鲁制药有限公司 山东 济南 250000)

摘要: 化学发光是化学反应所释放的能量激发体系中某种化学物质分子而产生的次级光发射。化学发光检测法具有灵敏度高、线性范围宽的优势,因而可以有效的降低噪声,提高信噪比,同时液相色谱具有很强的分离特性,这让液相色谱-化学发光检测法广泛应用于生物医学、临床化学及环境等方面,发挥的作用也越来越凸显。本文着重对液相色谱-化学发光检测近年来的发展情况作具体的分析阐述,期望可以为相关的研究人员提供建设性的意见。

关键词: 液相色谱-化学发光检测法; 鲁米诺化学发光反应; 过氧化草酸酯化学发光反应

近年来,液相色谱-化学发光检测法得到了快速的发展,关于液相色谱-化学发光检测法的研究也越来越多。作为一种新型成熟的痕量超痕量分析技术,其中含有丰富的耦合方式、检测技术、仪器设计等内容,已经成为了一种广泛应用于生物、化学、环境等多方面的成熟技术,相信势必会成为未来诸多临床研究的重点内容。因此,对液相色谱-化学发光检测法的发展现状进行深入的分析研究是十分有必要的。

1 鲁米诺化学发光反应的最新发展

关于鲁米诺化学发光反应的研究也较多,简单来说,鲁米诺在碱性条件下,可以被过氧化氢氧化,而氧化后的产物可以吸收反应放出的热量而处于激发状态,激发态可以发射蓝光后回到基态。禹松林^[1]指出,在鲁米诺化学发光反应中,过氧化氢是一种常用的氧化剂,此反应可以被一系列含有血红素的酶催化。作为经常与液相色谱-化学发光检测法联合检测的技术方法,鲁米诺化学发光反应研究最多的当属 H₂O₂、氢过氧化磷酸甘油酯,鲁米诺-细胞色素 C 与氢过氧化磷酸甘油酯可以发生高选择性化学发光反应。当前大脑及脊髓组织中组胺及 N 甲基组胺成分的获取也常采用鲁米诺化学发光反应进行,其核心原理是利用固定化酶反应器将待测物质转换为 H₂O₂,而后采用化学发光法进行检测。另外,在有机氢过氧化物的检测中,秦绪珍^[2]等人在研究过程中发现,通过设计一种柱后光化学反应器,然后以光诱导某些物质产生氢过氧化物,进而形成活性氧中间产物,将氢过氧化物应用于鲁米诺化学发光反应中,可以间接或直接的测试到某些需要的物质,并对这些物质的产生机理进行分析研究,这种检测方式目前在自来水污染处理及两极污染物处理中发挥出了巨大的优势。值得一提的是,这种检测方式对环境的要求较低,在室温下就可以加以测定,检测限也非常低。除此之外,某些金属离子也可以有效催化或者增敏鲁米诺-H₂O₂的化学发光反应,如 Cu、Fe、Cr、Co 等,鉴于这种特性,可以利用液相色谱-化学发光检测法直接对这些离子进行检测。近年来,相关的研究者指出,Zn、Cd 等离子对鲁米诺化学发光反应会产生抑制作用,这也表明液相色谱-化学发光在 Zn、Cd 的检测中同样适用。而最新的研究已经对 Zn、Cd 及稀土抑制鲁米诺-H₂O₂-Cr 体系化学发光反应原理作了详细的说明与阐述。最值得一提的是,通过反相离子对液相色谱柱后衍生化学发光反应检测法实现了对 Cu、Fe、Cr、Co 等离子的痕量检测,这些研究为后期的液相色谱-化学发光检测均提供了很大的借鉴和指导作用。

2 过氧化草酸酯化学发光反应的最新发展

过氧化草酸酯化学发光反应是一种在荧光化合物存在下由 H₂O₂ 诱导氧化芳香基草酸酯的发光过程。反复的分析研究发现,过氧化草酸酯化学发光反应之所以会发生发光情况,主要与增敏剂的特性有关,且与化学发光反应试剂的种类和性质无关。过氧化草酸酯化学发光反应集中应用于过氧化氢及能产生过氧化氢的物质、荧光化合物及衍生物等物质的检测中。近年来,关于过氧化草酸酯化学发光反应在液相色谱-化学发光检测法中的研究越来越多,并对该反应发生所需要的发光参数、试剂浓度、动力学曲线、pH 值、稳定性与溶解度等作了具体的阐述。

3 电致化学发光反应的最新发展

电致化学发光反应的机理、发生条件、检测技术等相关知识,近年来都得到了详细的介绍和阐述,并且相关的研究者研究出了一种用于反相液相色谱-化学发光检测体系与设备,其中以微计算机控制的方波恒电位器装置最为常见,这种装置可以为电致化学发光反应提供最佳的检测环境和条件,分析原因主要是因为这种装置可以改变激发电位的大小与频率。另外一种常用的装置是鲁米诺电致化学发光检测器,这种装置可以根据样品分子在柱床中替换流动相中的鲁米诺,让某一区间的浓度变小,进而实现降低发光强度的目的。当前,电致化学发光反应的检测对象以硝基苯、甲基苯甲酸、苯甲醛的色谱倒峰及检测限为主。

4 小结

从当前液相色谱-化学发光检测法研究所取得的成效来看,已经有诸多的化学发光检测体系,最为常用的以鲁米诺化学发光反应与过氧化草酸酯化学发光反应为主。作为最灵敏的检测方式之一,液相色谱的实际应用价值越来越凸显,但是,值得注意的是,仍然有一些化学发光反应与色谱体系耦合条件存在争议或缺失,但不可否认的是,液相色谱-化学发光检测法已经成为了当前最具优势和潜力的检测方法。因此,为了进一步拓宽分析物研究范围,仍然需要对液相色谱-化学发光检测法进行深入的分析研究,

参考文献

[1]禹松林,周伟燕,程敬琦,等.3 种化学发光免疫分析法检测系统与同位素稀释液相色谱串联质谱法检测总甲状腺素的一致性评价[J].临床检验杂志,2018,36(12):891-894.

[2]秦绪珍,姜小梅,侯立安,等.超高压液相色谱-串联质谱法检测万古霉素血药浓度及与化学发光法的比较[J].基础医学与临床,2018,38(12):1753-1758.