

doi:10.11918/j.issn.0367-6234.2015.06.007

场流分离的发展及在环境领域中的应用

孙 凯, 张笑颜, 李哲煜, 杜 爽

(城市水资源与水环境国家重点实验室(哈尔滨工业大学), 150090 哈尔滨)

摘 要:场流分离作为色谱技术的一个分支领域,在分离大分子物质、粒径为1 nm~100 μm的颗粒物及胶体粒子等方面具有独特的优势.介绍了场流分离的原理及其4种分离方法,即热场流分离、沉降场流分离、流场流分离及电场流分离;总结了这4种方法的研究现状,特别论述了场流分离在环境领域的应用,同时指出了现有场流分离方法在小型化与商业化方面急需解决的瓶颈.作为一种独特的微流体分离方法,场流分离能够与多种分析监测技术联用,并且随着声、光、磁学器件集成技术的快速发展,场流分离必将成为极具发展潜力的便携式分离分析仪器,为环境原位分析提供更有力的工具.

关键词:场流分离;环境应用;纳米颗粒物;胶体粒子

中图分类号: X132;O657 **文献标志码:** A **文章编号:** 0367-6234(2015)06-0038-07

Field-flow fractionation: fundamental advances and applications in the environment

SUN Kai, ZHANG Xiaoyan, LI Zheyu, DU Shuang

(State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment(Harbin Institute of Technology), 150090 Harbin, China)

Abstract: Field-flow fractionation, hold great promises as a branch of chromatography to improve separation of macromolecules, particles and colloids ranging from 1 nm up to100 μm. This paper presents the concept, theory and varieties of field-flow fractionation, including thermal field-flow fractionation, sedimentation field-flow fractionation and electrical field-flow fractionation, and also gives a better understanding of how to utilize these technologies as well as to provide appropriate technical solutions to environmental issues. Our argument also raises the bottleneck in miniaturization and commercialization of filed-flow fractionation. Furthermore, field flow fractionation, couple with many analytical techniques, can be adapted to a wide range of applications. With the development of integration techniques in acoustics, optics and magnetics, a portable field-flow fractionation instrument which serves the environmental monitoring will come true.

Keywords: field-flow fractionation; environmental application; nanoparticles; colloids

从复杂的混合物中分离特定的目标物一直是生物医学检测、环境分析、食品检测、高分子合成等领域面临的难题.环境领域中,为研究污染物的形态与毒性,需要从天然水体、土壤样品中分离与富集目标物,然而痕量物质及纳米颗粒物等的分离与富集一直是检测领域的瓶颈.场流分离(field flow fractionation, FFF)使用液体作为分离相,减

少了样品与固定相的相互作用,成功实现了复杂物质中大分子、颗粒物及胶体等的分离,并提高了分离精度.

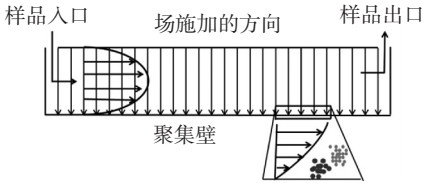
本文阐述了场流分离的概念、原理、分类及其应用,特别论述了场流分离在环境领域中的应用及其发展前景,对于促进场流分离在环境领域的应用具有重要意义.

1 场流分离的概念及原理

场流分离的概念由美国犹他大学 Giddings 教授在 1966 年首次提出.近 60 年来,场流分离技术不断发展,已经成为色谱家族的一个分支^[1].

收稿日期: 2014-04-10.
基金项目: 城市水资源与水环境国家重点实验室(哈尔滨工业大学)开放基金资助项目(2011TS02).
作者简介: 孙 凯(1972—),男,教授,博士生导师.
通信作者: 孙 凯, ksun@hit.edu.cn.

场流分离原理如图 1 所示,通过施加垂直于载流液流动方向的场,如热场、沉降场、流场或电场,使不同物理化学性质的样品在纵向分别达到不同的平衡位置,进而将混合物分离. 这些性质包括样品的粒径、水力学半径及其热扩散系数和电泳迁移率、样品的质量或分子质量、密度、多孔性等^[2].场流分离流路的厚度一般为 50~250 μm ,宽度为几个 cm ,长度为几十 cm 至 1 m ^[2].



横向为载流体流动方向,纵向为分离场施加方向

图 1 场流分离原理示意

场流分离模型主要有标准模式和空间型洗脱模式.标准模式又称布朗模式,适用于粒径为 1~1 000 nm 的样品;空间型洗脱模式适用 1~100 μm 的样品.标准模式的主要分离过程为:1)样品随载流液进入分离通道内,由于位于上下壁的液体与两壁的摩擦作用,速度远小于其他位置.而中间所受的阻力小,速度最大,整体形成了抛物线形.2)在载流液流动垂直方向上施加纵向分离场.纵向场中,粒子受外力作用的同时,还受因布朗运动引起的扩散作用,在两者的平衡下,大粒子距离聚集壁要近于小粒子,从而不同尺寸的粒子在不同的纵向高度形成粒子团并依次排开;3)粒子团在层流的推动作用下最终实现在横向上的分离,小粒子移动速度快,先被洗脱出来,大粒子移动速度慢,后被洗脱出来.相比于标准模式,空间型洗脱模式将粒子的扩散作用忽略,粒子在纵向场方向仅受由聚集壁诱导产生的升力与外场力作用并达到平衡状态,该模式中大粒子相对聚集壁的距离要大于小粒子,从而大粒子颗粒先被洗脱出来.

场流分离的应用范围非常广泛,与色谱相比对大分子聚合物(包括蛋白质、糖类、合成大分子)、胶体粒子、工程纳米颗粒物质、腐殖质等物质的分离有独特的优势.对于颗粒物质,场流分离能够以高分辨率分离所有胶体尺寸的粒子,即1~1 000 nm ,从而奠定了场流分离在分离分析技术中无可代替的作用.对于大分子物质,场流分离与色谱相比的主要优势在于流路中不需要有固定相,从而避免了样品被固定相吸附而减少^[3-4];特别是对于易损坏的样品,如蛋白质聚合体、超分子组装体、全细胞,由于场流分离没有固定相,不会导致样品与固定相

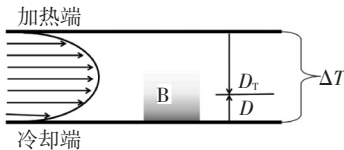
相互作用而破坏形貌^[5-6];此外,样品在没有固定相的流路中,受到的剪切力远远小于在有固定相中的流动,使得一些易变形的样品如蛋白质组不会受到剪切力影响^[7-8].与色谱相比,场流分离可以同时分离不同的物质,色谱则需根据分离不同物质选取相应的洗脱液,从而实现了不同物质同时分离.与微量进样著称的毛细管分离相比,场流分离可以分离较大的样品,为后续检测提供了充足的进样量.场流分离与多种检测器的集联较灵活,目前使用较多的为紫外检测和动态光散射,部分研究者将 TEM、AFM 与场流分离耦合分析粒子的形貌^[9],与 ICP-MS 耦合分析了粒子的化学组成等^[10-11].目前,场流分离技术已经广泛应用于食品^[12]、医疗及环境等领域中^[13-15].

2 流场分离的分类及应用

广泛应用的场流分离技术主要包括热场流分离(thermal field-flow fractionation, ThFFF)、沉降场流分离(sedimentation field-flow fractionation, SdFFF)、流场流分离(flow field-flow fractionation, FFFF)、电场流分离(electrical field-flow fractionation, EIFFF).

2.1 热场流分离(ThFFF)

热场流分离技术原理如图 2 所示.在流路上端加热使上端温度升高,下端则通过冷却形成纵向温度梯度,根据物质在不同的温度条件下质量扩散系数不同,待分离的溶解物或者悬浮物在热扩散作用下,向温度低的一端聚集,从而实现了物质的分离.热场流分离中,载流液多为有机溶剂,因为热扩散作用在有机溶剂中比较大,热驱动力较强,精度也比水作为载流液高.当载流液为有机溶剂时,分离精度可达 10 nm ,载流液为水时分离精度仅为 50 nm .由于亲水性聚合物在水中的保留时间非常短,热场流分离技术很难在短时间内分离亲水性聚合物,此技术更适合分离颗粒物质及亲脂聚合物.对于溶解的聚合物主要根据分子质量不同分离,直链长度和支链长度对分离没有影响^[16].



D_T 为热扩散系数, D 为样品 B 的质量扩散系数.阴影区域为样品 B 的浓度区域,渐变的阴影区域表示分离物的浓度由低到高,温度低的一侧为聚集壁^[17]

图 2 热场流分离原理示意

Giddings 在 1969 年成功利用热场流分离技术将相对分子质量从 3 600~860 000 的聚苯乙烯样品分离,这对于凝胶色谱是非常困难的^[18]. 1986 年,Giddings 在盐湖城创立的 FFFractionation 公司(现为 Postanova Analytics),实现了热场流分离技术的商业化,T100 型装置中流路长度为 47 cm、宽 2 cm、厚 127 μm^[2]. 与尺寸排阻色谱(size exclusion chromatography, SEC)相比,热场流分离技术无法分离摩尔质量小于 10⁴ g/mol 的聚合物^[19],但是当摩尔质量处于 10⁴~10⁵ g/mol 时,热场流技术与尺寸排阻色谱的分离效果相同;当摩尔质量大于 10⁵ g/mol 时,热场流分离的分离效果则远好于尺寸排阻色谱;摩尔质量大于 10⁶ g/mol 时,用尺寸排阻色谱已经无法分离这些聚合物,而热场流分离依然可以分离这些大摩尔质量的物质^[20]. 相比聚合物而言,共聚物的支链多,与液相色谱的固定相之间存在较强的极性作用,而热场流分离可以凭借热扩散系数不同分离多种共聚物.

热场流分离主要用于分离大分子聚合物、颗粒物及细菌^[21-22]. Runyon 等^[17]将热场流分离与多角度光散射及准弹性光散射耦合,对苯乙烯-丙烯酸共聚物进行相对分子质量分析. Janca 等^[23]在上下端温度差为 33 ℃ 的条件下,成功分离了表皮葡萄球菌.

2.2 沉降场流分离(SdFFF)

沉降场纵向施加的为离心力,依靠不同粒径的粒子受到的离心力不同,将不同粒径的物质分开.FFFractionation 公司的 S101 型号是专为沉降场流分离设计的,分离的最小粒径可达 50 nm.

沉降场在环境领域中应用非常广泛,尤其是分离水中的胶体物质. 早在 1982 年, Galdwell 等^[24]用沉降场成功分离了河水中的胶体粒子,并实现了相同粒径胶体粒子的富集.1993 年, Reshmi 等^[25]将沉降场流分离与荧光光谱检测联用,在长 93.1 cm、宽 2 cm、厚度为 28.9 μm 的流路中,分离了不同尺寸的细菌,并分别测得其密度及质量,从而得出了菌的数量.

重力场流分离是沉降场流分离的一种,颗粒物在重力作用下向聚集壁聚集,在载流液的流动下将不同粒径的物质分开,重力场流分离仅适用大颗粒物.张学军等^[26-27]致力于各种场流分离的制作,在重力场流分离方面做了重点研究,成功分离了中药散剂和小麦粉等样品.

2.3 流场流分离(FIFFF)

流场流分离是 Giddings 在 1976 年提出的,是

场流分离家族中分离粒径范围最宽、应用最广泛的一种方法,分离范围在 2 nm~100 μm.图 3 为流场流分离结构示意图,垂直于流路的纵向流穿过渗透膜产生纵向流场,使溶液中的待分离物质向聚集壁移动,在聚集壁上方不同尺寸的粒子受流场力与扩散作用而达到平衡,再由载流液将不同粒径的样品分开.为了保证纵向流在流出时不会将待分离物质带出,在流路下方有一层半透膜,如图 3 所示.

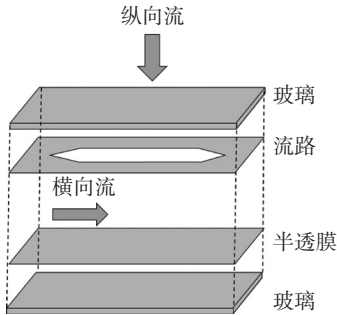


图 3 FIFFF 分离通道的结构示意图^[28]

半透膜的选择是流场流分离的重要环节,既能让待分离物质在上面聚集、分离,又可以使载流液通过.目前有很多厂家生产各种不同滤膜,可以根据被分离物质不同选用特定的膜,具体见表 1.

表 1 常用物质的膜及厂家

膜成分	厂家	样品类型
聚碳酸酯	Amicon	蛋白质 ^[29]
PTGC(产品名称)	Millipore	蛋白质 ^[29-30]
再生纤维素	Rhone. Poulenc/ Amicon	蛋白质、病毒 ^[31]
醋酸纤维素	Osmonics	腐殖酸 ^[32]
PLGC(产品名称)	Millipore	蛋白质、细菌 ^[33]

1977 年,Giddings 等^[34]第一次基于流场流分离原理实现了蛋白质的分离与表征.1986 年, FFFractionation 生产了以流场流分离为原理的 F1000 仪器装置.从此,流场流分离在不同领域广泛应用.流场流分离能够与多种检测器耦合实现物质的分离分析. Dula 等^[35]将 FIFFF 与 ICP-MS 集联分离市政废水中的复杂腐殖酸及胶体有机物,根据粒子尺寸不同、扩散系数的差别测量分子质量,最小分子质量为 3 790 u,并测得了腐殖酸及胶体有机物易吸附的重金属元素;流场流分离与紫外检测、荧光检测联用,实现了自然水体胶体粒子的元素追踪^[36-37].Ham 等^[38]用此技术分离了水体中天然有机物(natural organic matter, NOM),并研究了样品在固液界面上的转化与沉积.

2.4 电场流分离(EIFFF)

电场流分离的纵向场为电场,如图 4. 根据粒子的电泳淌度或粒子表面的电荷不同实现不同物

质的分离^[39], 分离精度可达 20 nm. 1972 年, Caldwell 等^[40]第一次基于电场理论将蛋白质分离. 由于待分离物质主要靠电场分离, 施加电压时需考虑电极是否需要与待分离物质及缓冲液隔离. 如果施加电压大, 会引起电解, 在电极上产生气泡; 如果电压过低, 则分离场强度不够, 无法将粒子分开. Giddings^[41]早期选用具有弹性、柔软的聚酯薄膜将溶液与电极分开, 两电极的间距为 5.08 cm, 施加电压为 25 V 左右. 由于此技术电压施加在流路外的绝缘膜上, 分离效果不佳, 电场流分离技术因此停滞了 20 年.

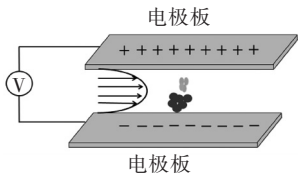


图 4 电场流分离的装置原理^[41]

1993 年, Caldwell 等^[42]首次用坚硬光滑的石墨作为电极, 流路厚度 178 μm , 将施加电压降至 2 V. 由于施加电压小, 用普通干电池即可代替传统电源, 这为电场流分离的小型化提供了新的方向. 在电场流的装置中, 石墨电极与流路中的液体接触会产生双电层, 使得系统施加的电场强度远大于分离电场强度, 所以, 一直以来只能对有效电场进行估算. Gale 等^[43]针对该难题用顺态电峰值精确计算了有效电场. 不久, 提出对电极施加交流电压, 以解决双电层分离电场损失问题. 由于施加电压方向的改变, 双电层没有充分的时间形成, 大大提高了分离电场的效率^[44-48]. 电场流分离现已小型化, 流路缩小到长 5.1 cm、宽 0.5 cm、厚 30 μm ^[49]. 如果想进一步将电场流分离装置小型化, 需要检测单元的小型化, 这是电场流分离实现进一步小型化亟待解决的问题.

3 场流分离在环境领域中的应用

19 世纪 80 年代末, Giddings 课题组就指出, 场流分离, 特别是沉降场分离技术, 在环境中具有广泛的应用前景^[50]. Giddings 等将场流分离与多种检测器集联, 分离分析了环境中多种样品, 主要是水体中的颗粒物包括纳米颗粒物、胶体物质及腐殖质.

Barman^[51]用流场流分离技术分离了地表煤颗粒和石灰石颗粒物, 并用激光光散射法分析了颗粒物的粒径和尺寸分布. Beckett 等^[50]用沉降场流分离分析了 Yarra River 中直径为 0.1~0.5 μm 的颗粒物质. 在分离过程中, 由于颗粒物在水体中

的分散效果差, 分离受到限制, 需要根据不同的被分离物, 选取相应的表面活性剂. 例如, 粘土样品使用的分散剂主要是聚合物表面活性剂, 其主要成分为聚丙烯酸铵^[2].

近年来, 由于纳米材料的广泛应用已通过生产、使用、废弃等环节进入环境中, 可能对生态环境和人体健康产生潜在的危害, 所以, 环境中的纳米颗粒物特别是工程纳米颗粒 (engineered nanoparticles, ENPs) 备受关注. 例如纳米银具有抗菌作用, 尤其是粒径在 100 nm 以下的抗菌性更好, 在污水处理、医用绷带、婴儿奶嘴、食物储存器中广泛使用. Bolea 等^[52]将 FIFFF 与 ICP-MS 联用, 分离了 10~80 nm 的纳米银, 并对其进行了定量分析. Kim 等^[53]将沉降场流分离与 ICP-MS 联用, 将 65~110 nm 的纳米 TiO_2 颗粒分离, 然后用 ICP-MS 分别测量了不同粒径的浓度, 并精确得出 TiO_2 颗粒尺寸分布.

在环境领域中, 胶体粒子是污染物主要的载体, 广泛存在于土壤和污水中, 可以吸附病原体、磷、持久性有机物等, 因此, 研究胶体粒子的迁移转化非常重要. 早在 1992 年, Beckett 等^[54]用流场流分离测定了造纸废水中有机物的分子量分布, 并指出与 SEC 相比, FIFFF 不易吸附被分离物质. Gimbert 等^[55]在 2005 年将沉降场与紫外检测技术耦合, 分离并分析了土壤中的胶体物质. 传统的膜过滤一般选用 0.45 或 0.2 μm 的膜, 只能分离亚微米级的物质和大分子物质, 会忽略 0.2 μm 以下悬浮微粒的重量; 采用沉降场流分离土壤悬浮物及胶体物质, 将大分子物质和小于 0.2 μm 以下的颗粒物分开, 成功地取代了传统的膜过滤. 2013 年, Saito 等^[56]对花岗岩地区的地下水进行分析, 用 FIFFF 分离地下水中胶体, 用 UV 检测器测定胶体中的有机物质, 并用 ICP-MS 测定胶体中的金属元素. 结果表明, 镧系中的 La、Ce、Eu、Lu, 锕系中的 U 和 Th 以及重金属 Cu、Zn、W 更易与胶体物质结合.

腐殖质类物质是较为关注的天然有机污染物, 疏水污染物更易与腐殖质类物质吸附, 进而在地下水及土壤中迁移转化, 所以, 分离并分析腐殖质对于污染物迁移转化的研究有重要意义. 与色谱相比, 场流分离对于分离腐殖质的优势在于其流路与被测物质的接触面积小, 避免了小颗粒物质与接触面的吸附^[20]. 与尺寸排阻色谱相比, 腐殖质不会因吸附或排阻的作用而改变原有在环境中的状态^[56]. 目前, 流场流分离方法已成功分离了天然水中的富里酸和腐殖酸^[57-58].

4 场流分离在环境领域中的展望

场流分离发展至今,在一些方面取得了突破性成果,但仍存在着缺点与不足。首先,场流分离技术并不能将胶体物质与工程纳米颗粒物分离开,因为场流分离原理主要是根据物质的物理性质将不同粒径样品进行分离,这大大增加了检测的难度。其次,场流分离受样品尺寸限制,且要为检测提供足够的样品量,尤其是多检测表征,所以,分离流路很难缩短,分离装置较大,不利于便携原位检测。虽然在实验室中将场流分离不断地小型化,尚不能实现商业化。此外,场流分离方式尚不能实现连续流分离,限制了其在环境、医药等领域对特定物质的富集。

场流分离作为分离精度高、速度快、对样品的物化性质改变小的一种分离方法,被广泛认识与应用。目前,场流分离能够分离环境中的多种样品,随着研究的深入,还可以进一步富集环境中的微量物质,以便痕量检测。近年来,环境中的突发事件日益频繁,对便携式仪器提出了迫切需求,将场流分离系统小型化是未来场流分离技术的发展方向。多种场流分离模式中,最有望实现小型化、便携化的是电场流分离。近年来,材料科学、超微细加工方法与集成技术、新兴检测技术的迅速发展为电场流的发展提供了新的指引方向。首先,在电极材料选择方面,目前采用的石墨电极导电效率高,但是由于材料不透明,严重限制了电场流分离时的实时检测,使电场流的分离原理与实验无法相互验证;同时,无法用荧光染料等作为载体观察漏液、死体积等。所以,寻找新的透明电极材料代替石墨电极是促进电场流分离检测分析的功能化以及小型化的关键。例如,选择石墨烯作为电极既保证了高的导电效率,又具有优良的光学透过率,同时降低了尺寸与重量。其次,在分离单元的结构方面,场流分离单元结构复杂,组装繁琐,由于人为因素的介入,增加了分离单元被污染的可能性,也增加了漏液的风险性,导致实验结果的不确定性。Vykoukal 等^[59]用双向电泳与场流分离结合技术从脂肪组织中富集了干细胞。将 Lab-on-a-Chip 的多功能集成与场流分离结合,既可以解决死体积、漏液等问题,也可以开发一次性集成芯片,降低芯片成本,减小样品交叉污染带来的干扰;更重要的是,减少了人为因素的介入,提高了实验结果的可重复性。此外,在检测方面,目前与场流分离集联的检测器体积较大,不便于便携化。日渐成熟的非接触电导检测方法因为采用电检测,

减小了体积与重量;另外,电极与样品之间是非接触的,不会产生相互污染。其较高的分辨率与较低的检出限可以检测粒子分离状态,然后将分开的样品富集待进一步检测,为仪器的便携提供了新的发展方向。场流分离与各种联用技术的结合,以及声、光、磁学器件集成技术的快速发展,将进一步促进场流分离成为更具发展潜力的便携式分离分析仪器,为环境原位分析提供更有利工具。

参考文献

- [1] GIDDINGS C J. United separation science [M]. New York: Wiley-Interscience, 1991.
- [2] SCHIMPF M, CALDWELL K D, GIDDINGS C J. Field-flow fractionation handbook [M]. New York: Wiley-Interscience, 2007.
- [3] BARBARA R, ANDREA Z, PIERLUIGI R, et al. Field-flow fractionation in bioanalysis: a review of recent trends [J]. Analytica Chimica Acta, 2009, 635: 132-143.
- [4] BAALOUSHA M, STOLPE B, LEAD R J. Flow field-flow fractionation for the analysis and characterization of natural colloids and manufactured nanoparticles in environmental systems: a critical review [J]. Journal of Chromatography A, 2011, 1218: 4078-4103.
- [5] WILLIAMS S, LEE D. Field-flow fractionation of protein, polysaccharides, synthetic polymers, and supramolecular assemblies [J]. Journal of Separation Science, 2006, 29(12): 1720-1732.
- [6] LEE H, WILLIAMS S, WAHL K, et al. Analysis of whole bacterial cells by flow field-flow fractionation and matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry [J]. Analytical Chemistry, 2003, 75: 2746-2752.
- [7] JOSEF C J. Applications of field-flow fractionation in proteomics: presence and future [J]. Proteomics, 2007, 7: 2719-2728.
- [8] MESSAUD F A, SANDERSON R D, RUNYON J R, et al. An overview on field-flow fractionation techniques and their applications in the separation and characterization of polymers [J]. Progress in Polymer Science, 2009, 34: 351-368.
- [9] HAGENDORFER H, KAEGLI R, PARLINSKA M, et al. Characterization of silver nanoparticle products using asymmetric flow field flow fractionation with a multidetector approach — a comparison to transmission electron microscopy and batch dynamic light scattering [J]. Analytical Chemistry, 2012, 84: 2678-2685.
- [10] LOHMANN C A, HASELTINE W G, ENGLE J R, et al. A rapid separation method for gel content determination in pressure sensitive adhesive dispersions

- and acrylic-based latices for an industrial setting [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2009, 654: 92–96.
- [11] PODA A R, BEDNAR A J, KENNEDY A J, et al. Characterization of silver nanoparticles using flow-field flow fractionation interfaced to inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2011, 1218: 4219–4225.
- [12] LOESCHNER K, NAVRATILOVA J, LEGROS S, et al. Optimization and evaluation of asymmetric flow field-flow fractionation of silver nanoparticles [J]. *Journal of Chromatography A*, 2013, 1272: 116–125.
- [13] RUBSAM H, KROTTENTHALE M, GASTL M, et al. An overview of separation methods in starch analysis; the importance of size exclusion chromatography and field flow fractionation [J]. *Starch*, 2012, 64: 683–695.
- [14] ADITYA N P, VATHSALA P G, VIEIRA V, et al. Advances in nanomedicines for malaria treatment [J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2013, 201/202: 1–17.
- [15] JIMENEZ M S, GOMEZ M T, BOLEA E, et al. An approach to the natural and engineered nanoparticles analysis in the environment by inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. *International Journal of Mass Spectrometry*, 2011, 307: 99–104.
- [16] SCHIMPF M E, GIDDINGS C J. Characterization of thermal diffusion in polymer solutions by thermal field-flow fractionation; effects of molecular weight and branching [J]. *Macromolecules*, 1987, 20(7): 1561–1563.
- [17] RUNYON J R, RATANATHANAWONGS W S. Composition and molecular weight analysis of styrene-acrylic copolymers using thermal field-flow fractionation [J]. *Journal of Chromatography A*, 2011, 1218: 6774–6779.
- [18] GIDDINGS C J. Generation of variance, “theoretical plates,” resolution, and peak capacity in electrophoresis and sedimentation [J]. *Separation Science and Technology*, 1969, 4(3): 181–189.
- [19] GIDDINGS C J, LARELL K S, MARCUS N M. Programmed thermal field-flow fractionation [J]. *Analytical Chemistry*, 1976, 48(11): 1587–1976.
- [20] GAO YU S, CALDWELL K D, MARCUS N M, et al. Extension of thermal field-flow fractionation to ultrahigh (20×10^6) molecular weight polystyrenes [J]. *Macromolecules*, 1985, 18(6): 1272–1277.
- [21] JANCA J. Polarization, steric, and focusing micro-thermal field-flow fractionation principles, theory, instrumentation, and applications in polymers and particles analysis [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2005, 540: 187–196.
- [22] JANCA J. Micro-thermal field-flow fractionation in the analysis of polymers and particles; a review [J]. *International Journal of Polymer Analysis and Characterization*, 2006, 11: 57–70.
- [23] JANCA J, KASPARKOVA V, HALABALOVA V, et al. Micro-thermal field-flow fractionation of bacteria [J]. *Journal of Chromatography B*, 2007, 852: 512–518.
- [24] KARAISKAKIS G, GRAFF K, GALDWELL K D, et al. Sedimentation field-flow fractionation of colloidal particles in river water [J]. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 1982, 12(1): 1–15.
- [25] SHARMA R V, EDWARDS R T, BECKETT R. Physical characterization and quantification of bacteria by sedimentation field-flow fractionation [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, 59(6): 1864–1875.
- [26] 张学军, 左春桢, 文伟力. 重力场流分离技术在中药散剂分离的应用 [J]. *精细化工*, 2006, 23(9): 891–894.
- [27] 张学军. 场流分离技术及应用研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2007.
- [28] GIMBERT L J, ANDREW K N, HAYGARTH P M, et al. Environmental applications of flow field-flow fractionation (FIEFF) [J]. *Trends in Analytical Chemistry*, 2003, 22(10): 615–633.
- [29] LIU M K, LI P, GIDDINGS C J. Rapid protein separation and diffusion coefficient measurement by frit inlet flow field-flow fractionation [J]. *Protein Science*, 1993, 2: 1520–1531.
- [30] BECKETT R, ZHANG J, GIDDINGS C J. Determination of molecular weight distributions of fulvic and humic acids using flow field-flow fractionation [J]. *Environmental Science & Technology*, 1987, 21: 289–295.
- [31] LITZEN A. Effects of temperature, carrier composition and sample load in asymmetrical flow field-flow fractionation [J]. *Journal of Chromatography A*, 1991, 548: 393–406.
- [32] SCHIMPF M E, PETTEYS M P. Characterization of humic materials by flow field-fractionation [J]. *Colloids and Surfaces*, 1997, 120: 87–100.
- [33] LITZEN A, WAHLUND K G. Improved separation speed and efficiency for proteins, nucleic acids and viruses in asymmetrical flow field flow fractionation [J]. *Journal of Chromatography A*, 1989, 476: 413–421.
- [34] GIDDINGS C J, FRANK J Y, MYERS M N. Flow field-flow fractionation as a methodology for protein separation and characterization [J]. *Analytical Biochemistry*, 1977, 81(2): 395–407.
- [35] AMARASIRIWARDENA D, SIRIPINYANOND A, BARNES R M. Trace elemental distribution in soil and compost-derived humic acid molecular fractions and colloidal organic matter in municipal wastewater by flow field-flow fractionation-inductively coupled plasma mass spectrometry (flow FFF-ICP-MS) [J]. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2001, 16: 978–986.
- [36] STOLPE B, GUO L D, SHILLER A M, et al. Size and

- composition of colloidal organic matter and trace elements in the Mississippi river, pearl river and the northern gulf of Mexico, as characterized by flow field-flow fractionation [J]. *Marine Chemistry*, 2010, 118: 119–128.
- [37] DYCUS P J M, HEALY K D, STEARMAN G K, et al. Diffusion coefficients and molecular weight distributions of humic and fulvic acids determined by flow field-flow fractionation [J]. *Separation Science and Technology*, 1995, 30: 1435–1453.
- [38] HAM Y, KIM Y, YOUNGIL J U, et al. Characterization of natural organic matters using flow field-flow fractionation and its implication to membrane fouling [J]. *Desalination and Water Treatment*, 2013, 51: 6378–6391.
- [39] SOMCHUE W, SIRIPINYANOND A, GALE B K. Electrical field-flow fractionation for metal nanoparticle characterization [J]. *Analytical Chemistry*, 2012, 84: 4993–4998.
- [40] GALDWELL K D, FLOCH KESNER L, MYERS M N, et al. Electrical field-flow fractionation of proteins [J]. *Science*, 1972, 176(4032): 296–298.
- [41] KESNER L F, CALDWELL K D, MYERS M N, et al. Performance characteristics of electrical field-flow fractionation in a flexible membrane channel [J]. *Analytical Chemistry*, 1976, 48(13): 1834–1839.
- [42] GALDWELL K D, GAO Y S. Electrical field-flow fractionation in particle separation. 1. monodisperse standards [J]. *Analytical Chemistry*, 1993, 65: 1764–1772.
- [43] MERUGU S, HLMANSHU J S, GALE B K. A novel method for effective field measurements in electrical field-flow fractionation [J]. *Electrophoresis*, 2012, 33: 1040–1047.
- [44] GALE B K, SRINIVAS M. Cyclical electrical field flow fractionation [J]. *Electrophoresis*, 2005, 26: 1623–1632.
- [45] TASCI T O, JOHNSON W P, FERNANDES D P, et al. Biased cyclical electrical field flow fractionation for separation of sub 50 nm particles [J]. *Analytical Chemistry*, 2013, 85: 11225–11232.
- [46] KANTAK A, MERUGU S, GALE B K. Improved theory of cyclical electrical field flow fractionation [J]. *Electrophoresis*, 2006, 27: 2833–2843.
- [47] TASCI T O, MANANGON E, FERNANDEZ D P, et al. Separation of magnetic nanoparticles by cyclical electrical field flow fractionation [J]. *IEEE Transactions on Magnetics*, 2013, 49: 331–335.
- [48] SANT H J, CHAKRAVARTY S, MERUGU S, et al. Characterization of polymerized liposomes using a combination of dc and cyclical electrical field-flow fractionation [J]. *Analytical Chemistry*, 2012, 84: 8323–8329.
- [49] KANTAK A, MERUGU S, GALE B K. Characterization of a microscale cyclical electrical field flow fractionation system [J]. *Lab on a Chip*, 2006, 6: 645–654.
- [50] BECKETT R, NICHOLSON G, HART B T. Separation and size characterization of colloidal particles in river water by sedimentation field-flow fractionation [J]. *Water Research*, 1988, 22(12): 1535–1545.
- [51] BARMAN B N. Rapid particle size analysis of ground minerals by flow/hyperlayer field-flow fractionation [J]. *Powder Technology*, 1989, 59(1): 53–63.
- [52] BOLEA E, JIMENEZ-LAMANA J, LABORDA F, et al. Size characterization and quantification of silver nanoparticles by asymmetric flow field-flow fractionation coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2011, 401: 2723–2732.
- [53] KIM S T, KIM H K, HAN S H, et al. Determination of size distribution of colloidal TiO_2 nanoparticles using sedimentation field-flow fractionation combined with single particle mode of inductively coupled plasma-mass spectrometry [J]. *Microchemical Journal*, 2013, 110: 636–642.
- [54] BECKETT R, WOOD F J, DIXON D R. Size and chemical characterization of pulp and paper mill effluents by flow field-flow fractionation and resin adsorption techniques [J]. *Environmental Technology*, 1992, 13: 1129–1140.
- [55] GIMBERT L J, HAYCARTH P M, BECKETT R, et al. Comparison of centrifugation and filtration techniques for the size fractionation of colloidal material in soil suspensions using sedimentation field-flow fractionation [J]. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39: 1731–1735.
- [56] SAITO T, SUZUKI Y, MIZUNO T. Size and elemental analyses of nano colloids in deep granitic groundwater: implications for transport of trace elements [J]. *Colloids and Surfaces A*, 2013, 435: 48–55.
- [57] BECKETT R, ZHANG J, GIDDINGS J C. Determination of molecular weight distributions of fulvic and humic acids using flow field-flow fractionation [J]. *Environmental Science & Technology*, 1987, 21(3): 289–295.
- [58] DYCUS P J M, HEALY K D, STEARMAN G K, et al. Diffusion coefficients and molecular weight distributions of humic and fulvic acids determined by flow field-flow fractionation [J]. *Separation Science and Technology*, 1995, 30: 1435–1453.
- [59] VYKOUKAL J, VYKOUAL D M, FREYBERG S, et al. Enrichment of putative stem cells from adipose tissue using dielectrophoretic field-flow fractionation [J]. *Lab on a Chip*, 2008, 8: 1386–1393. (编辑 刘 彤)