

NO₂⁻ 的芯片毛细管电泳-修饰碳糊电极电化学检测

魏培海¹, 李关宾², 陈立仁¹

(1. 中国科学院兰州化学物理研究所, 甘肃 兰州 250013; 2. 山东大学化学与化工学院, 山东 济南 250100)

摘要 制备了3-巯丙基三甲氧基硅烷-铜(MPTMS-Cu)/MCM-41分子筛修饰碳糊电极,研究了该修饰电极对NO₂⁻电化学还原的电催化作用,分析了修饰物含量、溶液pH对电化学反应的影响。以该电极为检测电极,设计制作了芯片毛细管电泳-电化学检测系统,探讨了NO₂⁻的芯片毛细管电泳检测方法。以50 mmol/L醋酸钠(pH 5.8)为电泳缓冲液、分离电压为-1.6 kV时,检测可在40 s内完成。纯水中NO₂⁻检测的线性浓度范围为10.0~5 000.0 μmol/L,检出限为4.0 μmol/L。

关键词 芯片毛细管电泳;修饰碳糊电极;NO₂⁻;电化学

中图分类号:O658 文献标识码:A 文章编号:1000-8713(2005)03-0258-03

Microchip Capillary Electrophoresis-Electrochemical Detection of Nitrite Using A Modified Carbon Paste Electrode

WEI Peihai¹, LI Guanbin², CHEN Liren¹

(1. Lanzhou Institute of Chemical Physics, The Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China;
2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Shandong University, Jinan 250010, China)

Abstract: Carbon paste electrode modified with 3-mercaptopropyltrimethoxysilane copper (MPTMS-Cu) encapsulated in molecular sieve MCM-41 was prepared. The electrocatalytic behavior of the modified electrode towards the reduction of nitrite was studied in detail, including pH-dependence and composition-dependence studies. A microchip capillary electrophoresis-electrochemical detection system with the modified carbon paste as electrode was fabricated. The application of the system for the detection of nitrite is discussed. The detection was finished within 40 s under the following conditions: 50 mmol/L sodium acetate buffer at pH 5.8, -1.6 kV running voltage. The peak current was linear with the concentration of nitrite over 10.0 μmol/L - 5.0 mmol/L and the detection limit was 4.0 μmol/L in pure water.

Key words: microchip capillary electrophoresis; modified carbon paste electrode; nitrite; electrochemistry

亚硝酸盐常被用作食品防腐剂,但如果在人体中的含量过高会导致糖尿病和一系列神经紊乱症状的发生^[1],因此食品中NO₂⁻的检测受到越来越广泛的重视^[2]。NO₂⁻还是一种常见的污染物,水、土壤及其他环境样品中NO₂⁻的测定是十分重要的环境质量检测指标^[3]。文献[4]报道可以通过测定NO₂⁻来间接测定NO,进而研究NO合成酶的活性。因此,确立快速准确的NO₂⁻测定方法十分必要。还原-比色法^[5]、气相色谱法^[6]、液相色谱法^[7]、离子色谱法^[8]和电化学法^[9]常被用于NO₂⁻的检测。以芯片毛细管电泳为核心技术的芯片实验室已成为21世纪最重要的前沿技术之一^[12],它具有样品微

量、分析速度快等特点,在生化分析、药物筛选、临床诊断、基因分析等方面具有广泛的应用前景。Lunte等^[13]采用该技术,利用NO₂⁻在碳纤维电极上的电化学氧化,建立了间接测定NO的分析方法,但电极的安装比较困难。

本文制备了3-巯丙基三甲氧基硅烷-铜(MPTMS-Cu)/MCM-41分子筛修饰碳糊电极,测定了NO₂⁻在该电极上的电化学响应。设计制作了芯片毛细管电泳-电化学检测系统,其中电极引导管可实现检测电极的准确、快速的安装。以该修饰碳糊电极为检测电极,建立了NO₂⁻的芯片毛细管电泳-电化学分析方法,考察了NO₂⁻检测的线性浓度

收稿日期 2004-04-16

作者简介:魏培海,男,博士,副教授,现工作于山东教育学院。

通讯联系人:陈立仁,男,研究员,博士生导师,主要从事分离与分析研究,Tel (0931)4968261。

基金项目:山东省优秀中青年科学家奖励基金资助课题(No. 97243127)。

范围和检出限。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

3-巯丙基三甲氧基硅烷、氰化亚铜($\text{Cu}(\text{CN})_2$)、石墨粉、矿物油(Aldrich 公司);亚硝酸钠、醋酸钠、Tris-HCl(Sigma 公司)。试剂为分析纯,溶液由高纯水($18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$)配制。

MPTMS-Cu/MCM-41 的制备:将 0.2 g MCM-41 分子筛(本实验室制备)加入到 0.25 mol/L MPTMS 的氯仿溶液中,室温下搅拌 12 h。过滤后用氯仿洗去多余的 MPTMS,干燥后得到 MPTMS/MCM-41。取 0.1 g MPTMS/MCM-41 加到 250 mL 0.1 mol/L $\text{Cu}(\text{CN})_2$ 四氢呋喃溶液中,室温下搅拌 48 h,过滤和洗涤后真空干燥 12 h,备用。

所有电化学实验均以 Ag-AgCl 为参比电极、Pt 丝为辅助工作电极,在 M263 综合电化学测试仪(美国 EG&G PAR 公司)上完成。毛细管电泳实验的进样电压和分离高压由微电流直流高压电源(山东省化工研究院仪器仪表室)提供。全部实验在 25 °C 条件下进行。

1.2 碳糊电极的制备

将 0.2 g 石墨与 0.1 mL 矿物油调成糊状,压入内径为 1.0 mm 的玻璃管中,在另一端插入铜丝作为电极引线,构成碳糊电极(CPE),电极表面用硫酸纸轻轻打磨光滑。保持石墨和修饰物总量为 0.2 g,用 0.1 mL 矿物油调成糊状,同法制备 MPTMS-Cu/MCM-41 含量(质量分数)分别为 2%、5%、10%、15%、20% 和 30% 的碳糊电极。毛细管电泳-电化学检测系统中的碳糊电极由内径 0.2 mm、外径 0.9 mm 的玻璃管制成。

1.3 芯片毛细管电泳-电化学检测系统

以透明胶片为曝光模具,采用化学刻蚀技术,在玻璃板($76.2 \text{ mm} \times 25.4 \text{ mm} \times 1.20 \text{ mm}$)上刻出宽 100 μm 、深 30 μm 的沟槽。将该玻璃板与另一片同样大小的无沟槽玻璃板高温烧结在一起,制成毛细管芯片(见图 1)。其分离管道为 7.0 cm, T 型进样管道臂长均为 1.5 cm。在距分离毛细管端口 0.2 mm 处,用环氧树脂粘接一内径为 1 mm 的玻璃管,作为电极安装引导管。将电极插入到引导管中,在电极表面与分离毛细管出口之间放置一片厚度为 20 μm 的硫酸纸,轻轻推压电极的另一端,同时用环氧树脂将电极粘接在固定座上。在检测池内置入 Ag-AgCl 参比电极,并将 Pt 丝作为辅助电极,构成芯片毛细管电泳-电化学检测系统。

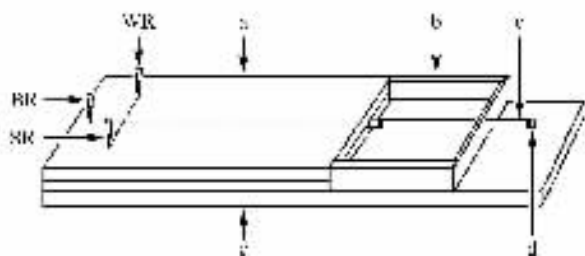


图 1 芯片毛细管电泳系统结构示意图

Fig.1 Layout of the microchip electrophoresis system

BR : buffer reservoir ; SR : sample reservoir ; WR : sample waste reservoir ; a : microchip ; b : electrochemical detection reservoir ; c : guiding tube ; d : working electrode ; e : glass plate base.

2 结果与讨论

2.1 NO_2^- 在修饰碳糊电极上的电化学还原

图 2 中曲线 1、2 分别是未修饰碳糊电极在加入 1.0 mmol/L NO_2^- 前后的循环伏安曲线。由图 2 可以看出,曲线没有明显变化,表明未修饰碳糊电极对 NO_2^- 没有电化学响应。图 2 中曲线 3、4 分别是修饰碳糊电极(MPTMS-Cu/MCM-41 的质量分数为 10%)在加入 1.0 mmol/L NO_2^- 前后的循环伏安曲线,从中可看到在 -95 mV 附近均出现一个还原峰,峰电流差 $\Delta i_p = 530 \text{ nA}$,说明该修饰碳糊电极对 NO_2^- 的电化学还原具有催化作用,这可能是由修饰物中 $\text{Cu}(\text{II})$ 转化为 $\text{Cu}(\text{I})$ 引起的。

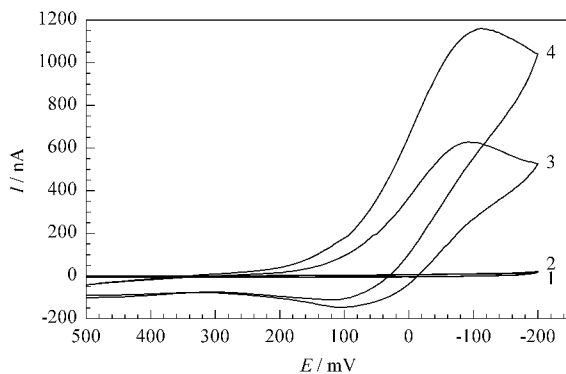


图 2 碳糊电极(1、2)和修饰碳糊电极(3、4)的循环伏安曲线

Fig.2 Cyclic voltammograms of CPE (curves 1 and 2) and modified CPE (curves 3 and 4)

Solutions : 1 and 3, 0.1 mol/L sodium acetate (pH 5.8) ; 2 and 4, 1.0 mmol/L nitrite, 0.1 mol/L sodium acetate (pH 5.8). Scan rate : 50 mV/s.

图 3 是在连续加入 NO_2^- 时修饰电极的电流-时间曲线。从图 3 中可以看出电极的电流响应迅速,并具有良好的连续响应能力,还原电流与 NO_2^- 的浓度呈线性关系,表明该电极可以用于 NO_2^- 的恒电位检测。

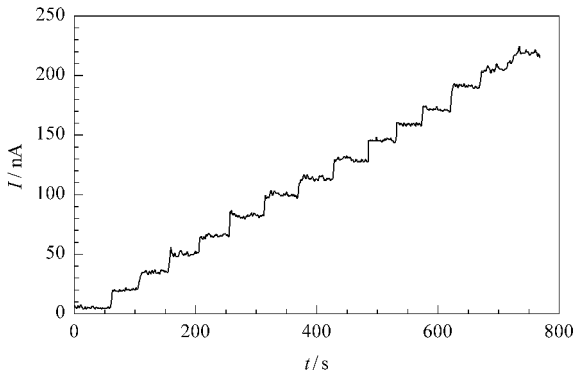


图 3 修饰碳糊电极的电流-时间曲线

Fig. 3 Current-time curve obtained with modified CPE

Concentration of successive addition : 50.0 $\mu\text{mol/L}$ nitrite ;
solution : 0.1 mol/L sodium acetate (pH 5.8) ; stirring speed :
200 r/min ; potential : -0.1 V.

2.2 电泳条件的确立

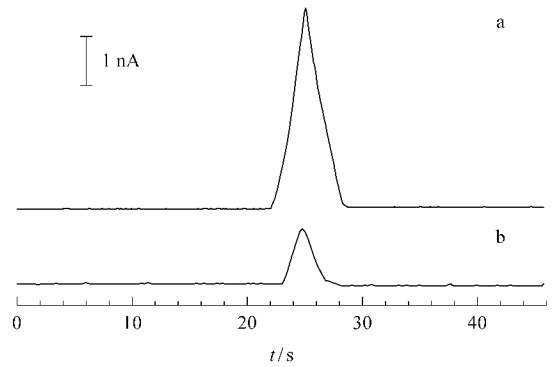
固定进样时间 2 s, 改变进样电压、分离电压和检测电位, 测定 1.0 mmol/L NO_2^- 溶液的电泳图。结果发现, 在进样电压为 -1.0 kV、分离电压为 -1.6 kV、检测电位为 -0.1 V 时, 可以得到理想的电泳曲线。

为了确定实验所用电泳缓冲溶液的 pH 值, 测定了不同 pH 值缓冲溶液条件下 0.1 mmol/L NO_2^- 的电泳图。结果发现, 在 pH 小于 5.0 时, 电泳峰高随着 pH 值的增加而逐渐增大, pH 为 5.0 ~ 8.0 时达到最大。但电流的大小随 pH 变化不明显; 只有当 pH 超过 9.0 时, 电流才会迅速降低。这可能是由于在 pH 比较大时, MPTMS-Cu 受 OH^- 的影响发生羟基化反应, 稳定性降低, 造成电极电催化性能减弱。在 pH 小于 4.0 时, 保留时间(t_R)随着 pH 的减小而增大, 在 pH 大于 4.5 时趋于恒定。本文选择 pH 5.8 的电泳缓冲溶液。

以不同 MPTMS-Cu/MCM-41 含量的修饰电极为检测电极, 在上述条件下测定 0.1 mmol/L NO_2^- 的电泳图。结果发现, 电泳峰高随着修饰物含量的增加而逐渐增大, 含量为 10% 时获得最大电流, 因此选择修饰物含量为 10% 的修饰电极为检测电极。图 4 是在最佳检测条件下 0.1 mmol/L 和 20.0 $\mu\text{mol/L}$ NO_2^- 的电泳图。由图 4 可以看出检测可在 40 s 内完成。

2.3 部分物质的干扰

在 1.0 mmol/L NO_2^- 溶液中加入不同的化合物, 分别测定 NO_2^- 溶液电泳图的变化, 考察部分物质对 NO_2^- 检测的影响。结果发现, 加入 10.0 mmol/L Cl^- , Br^- , NO_3^- , SCN^- , PO_4^{3-} 和 CO_3^{2-} 时, 峰高和保留时间没有发生明显变化, 说明上述阴离子对 NO_2^- 的检测没有干扰。另外, 抗坏血酸在其

图 4 不同浓度的 NO_2^- 的毛细管电泳图Fig. 4 Electropherograms of NO_2^- in different concentrations

a. 0.1 mmol/L ; b. 20.0 $\mu\text{mol/L}$.

Buffer solution : 50.0 mmol/L sodium acetate (pH 5.8) ;
separation potential : -1.6 kV ; detection potential : -0.1 V.

浓度达到 1.0 mmol/L 时, 仍未影响 NO_2^- 的检测。

2.4 NO_2^- 的芯片毛细管电泳-电化学检测

在纯水中加入不同浓度的 NO_2^- , 测定 NO_2^- 的电泳图, 其浓度 C ($\mu\text{mol/L}$) 在 10.0 $\mu\text{mol/L}$ ~ 5.0 mmol/L 时与峰高 H (nA) 有良好的线性关系, 回归方程为: $H = 0.0412C + 6.05$ ($r = 0.9982$)。另外, 以信噪比为 2 测得 NO_2^- 的检出限为 4.0 $\mu\text{mol/L}$ 。每次实验结束后, 将电极在 0.5 至 -0.2 V 间循环扫描直至电流稳定, 再进行下一次实验。取 0.1 mmol/L NO_2^- 溶液, 连续进样 4 次, 测定峰高的相对标准偏差为 2.6%, 说明方法的重现性良好。

参考文献:

- [1] Eggers N J, Cattle D L. J Chromatogr, 1986, 354 : 490
- [2] Ellis G, Adatia I, Yazdanpanah M, Makela S K. Clin Biochem, 1998, 31(4) : 195
- [3] Frankenberger W T Jr, Mehra H C, Gjerde D T. J Chromatogr A, 1990, 504(2) : 211
- [4] Giovannoni G, Land J M, Keir G, Thompson E J, Heales S J R. Ann Clin Biochem, 1997, 34(2) : 193
- [5] Bae I T, Barbour R L, Scherson D A. Anal Chem, 1997, 69(2) : 249
- [6] Jain A, Smith R M, Verma K K. J Chromatogr A, 1997, 760(2) : 319
- [7] Muscara M N, de Nucci G. J Chromatogr B : Biomed Appl, 1996, 686(2) : 157
- [8] Preik-Steinhoff H, Kelm M. J Chromatogr B : Biomed Appl, 1996, 685(2) : 348
- [9] Chen X H, Ruan C M, Kong J L, Deng J Q. Anal Chim Acta, 1999, 382 : 189
- [10] Macka M, Haddad P R. Electrophoresis, 1997, 18 : 2482
- [11] Morcos E, Wiklund N P. Electrophoresis, 2001, 22(13) : 2763
- [12] Harrison D J, Fluri K, Seiler K, Fan Z H, Effenhauser C S, Manz A. Science, 1993, 261(5123) : 895
- [13] Kikura-Hanajiri R, Martin R S, Lunte S M. Anal Chem, 2002, 74(24) : 6370