

2006-05-28

An Electro-driving High Efficiency,Continuous,No-damage Focusing Electrophoresis Concentration Device

Hua-shui LIN

Liang-ge CHEN

Run-xiang ZHANG

Fan LUO

Wei-ling HU

Zhao-wu TIAN

Recommended Citation

Hua-shui LIN, Liang-ge CHEN, Run-xiang ZHANG, Fan LUO, Wei-ling HU, Zhao-wu TIAN. An Electro-driving High Efficiency,Continuous,No-damage Focusing Electrophoresis Concentration Device[J]. *Journal of Electrochemistry*, 2006 , 12(2): 144-147.

DOI: 10.61558/2993-074X.1712

Available at: <https://jelectrochem.xmu.edu.cn/journal/vol12/iss2/4>

This Article is brought to you for free and open access by Journal of Electrochemistry. It has been accepted for inclusion in Journal of Electrochemistry by an authorized editor of Journal of Electrochemistry.

一种电驱动高倍率、连续、无损伤浓缩装置的研究

林华水*, 陈良格, 张润香, 罗 凡, 胡维玲, 田昭武

(厦门大学化学化工学院化学系, 固体表面物理化学国家重点实验室, 福建 厦门 361005)

摘要: 提出使用膜聚焦浓缩方法并建立电驱动高倍率、连续、无损伤装置. 分别以溴酚蓝、荧光素钠溶液为浓缩对象进行测试. 该实验装置达近 2 个数量级浓缩效果, 并可根据需要放大, 成为有规模产量的生产设备, 也可微型化, 成为结构简单小巧、可以装配到电泳、色谱、质谱或光谱等分离分析仪器的零部件, 或集成在芯片上, 成为芯片实验室的预浓缩元件.

关键词: 浓缩装置; 电泳; 离子交换膜

中图分类号: TQ 016.5

文献标识码: A

许多化工产品的生产工艺最后几乎都和浓缩有关, 特别是近几十年来, 随着生物工程、合成制药的迅速发展, 许多贵重生化产品 (如氨基酸、多肽、蛋白质、酶、激素、维生素、多糖、脂类、核酸等) 往往须在提取后结晶前预先浓缩^[1-2]. 通常的加热蒸发会使许多生化产品破坏; 而离子交换或吸附方法浓缩效率不高, 操作烦琐; 超滤法只能截留大分子的产物. 另外, 有关复杂基体中极微量物质的分离和检测一直是分析化学中的一个突出问题. 如何提高微量物质的检测限, 主要有以下两种方法: (1) 提高测试仪器的灵敏度, 这将使仪器成本更加昂贵; (2) 样品浓缩预处理. 就目前处理技术而言, 已能达到事半功倍的目的, 因而更有发展空间, 并已应用于毛细管电泳^[3] (包括电泳芯片)、流动注射分析^{[4][5]}、微流控芯片^[6]等诸多方面. 本文作者于田昭武提出聚焦电泳方法^[7]之后, 设计了一种适宜于荧光计的现场浓缩方法和装置, 从而把聚焦电泳应用到现有的荧光分析检测^[8]. 本文进一步运用该聚焦电泳方法, 设计了具有高倍率、连续 (或间断) 对浓缩对象无损伤的浓缩装置, 浓缩效果近 2 个数量级, 并可根据需要予以放大, 成为有规模产量的生产设备, 也可已将它微型化, 成为结构简单、小巧、可以装配到电泳、色谱、质谱或光谱等分离分析仪器的零部件, 或集成在芯片上, 成为芯片实验室的预浓缩元件.

1 工作原理

电驱动浓缩装置如图 1 示意. 其中包括两个独立的电解槽, 中间由一根玻管 (内径 0.8 cm) 连接, 玻管的一端拉成锥形 (管口直径 0.5 mm). 电解槽与锥形管口连接处有一小孔相通, 其上以一离子交换膜隔开. 锥形口与膜接触面下方有一导出管 (内径约为 0.5 mm 的玻璃毛细管), 其管口接上一段硅橡胶管, 并以螺旋夹夹紧. 离子交换膜的选择由浓缩对象决定, 如果浓缩的是阴离子, 要用阳离子交换膜, 若浓缩的是阳离子, 则须用阴离子交换膜. 以浓缩阴离子为例, 据图 1, 通电后阳离子即在电场的驱动下穿过阳离子膜达到阴极槽, 而阴离子不能穿过阳离子膜, 只能在小孔处不断聚集从而达到浓缩的目的.

图 1 中, 两电极室间的通道—锥形管因其管口较小, 故管中的传质过程可忽略扩散和对流, 只考虑一维电迁移过程, 因此, 总的工作电流密度 I 由下式表示:

$$I = F E \sum_i z_i u_i c_i \quad (1)$$

式中 F 为法拉第常数, z_i 为 i 离子的价数, E 为电场强度, u_i 为 i 离子的淌度, c_i 为 i 离子的浓度. 对被浓缩离子, 其迁移量 (即浓缩量):

$$Q_i = F E |z_i| u_i c_i t = \kappa_i I t \quad (2)$$

式中 κ_i 为被浓缩离子的迁移数. 为提高浓缩

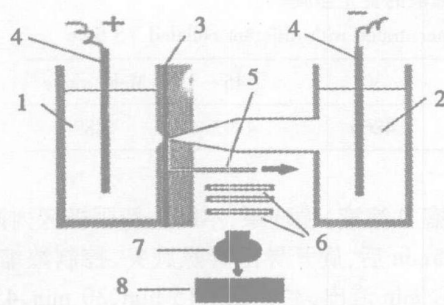


图 1 电驱动浓缩装置示意图

Fig 1 Scheme of the electro-driving concentration device
1) anode region, 2) negative polarity zone, 3) ion membrane, 4) electrode, 5) concentrated tube, 6) contrastive tubes, 7) digital camera, 8) computer

量,必须提高 t_c 。本实验中,电场中被迁移的阴离子主要是被浓缩阴离子以及少量的缓冲溶液阴离子(阴极缓冲溶液选用大分子难溶解的电解质配制),阳离子为钠离子。因 u_{Na^+} 与 u_c 一般相差不大,而 $z_c \approx 5$ (如荧光素钠的二价阴离子),因此 t_c 在总迁移量中占有较大的分量。在电场力驱动下,聚集于阳离子膜位置附近的阴离子聚集量随通电时间、电流的增加而增加。当浓缩达一定程度后,由于溶液比重增大,浓溶液会自动沉入导出管。控制导出管端的螺旋夹使浓缩液以一定的流速流出。由于浓缩过程阴极区(特别是锥形管口)的阴离子

降低较快,必须不断地更新阴极液。解决的方法是采用较大的阴极室并搅拌阴极液。若浓缩时间较长,阳极溶液的缓冲能力会下降,当 pH 8 时,必须更换新的阳极溶液。

2 实验仪器与试剂

仪器:

Nikon coolpix5000 数码相机;高压恒流电源(自制):恒电流 0~5mA,输出电压 0~1000V;

Spectrophotometer (HITACHI, Ltd TOKYO, Japan) 荧光计。

溶液:

A. 1.0×10^{-3} mol/L KH_2PO_4 + 3.5×10^{-3} mol/L Na_2HPO_4 + 1.0×10^{-3} mol/L Na_2SO_4 , 用 NaOH 调节 pH 值到约为 9.0 (阳极缓冲溶液);

B. 1.0×10^{-3} mol/L $C_6H_5NO_2$ (阴极缓冲溶液,调节 pH 6~7);

C. 1.0×10^{-5} mol/L 溴酚蓝溶液 (用 B 溶液配制);

D. 1.0×10^{-7} mol/L 荧光素钠溶液 (用 B 溶液配制)。

3 实验、结果与讨论

3.1 溴酚蓝溶液浓缩结果

按图 1 装置,阳极室加入 A 溶液,阴极室装入 1.0×10^{-5} mol/L 溴酚蓝溶液 (C 溶液)。排除气泡

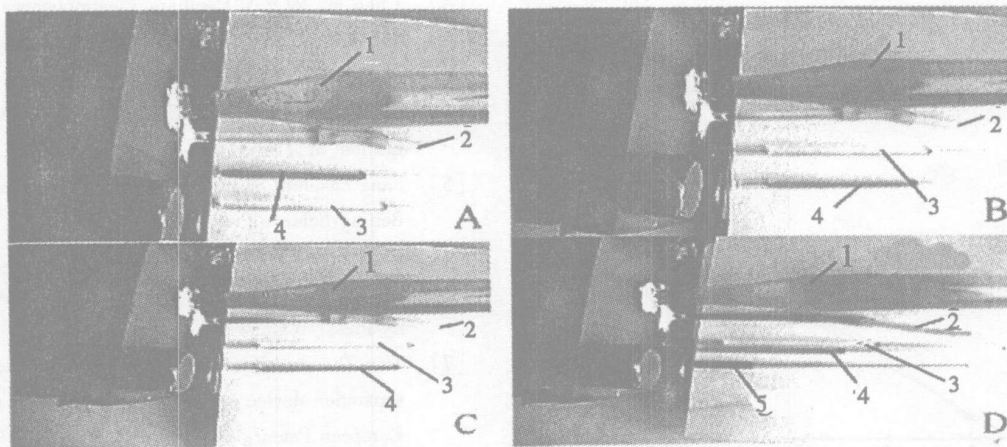


图 2 溴酚蓝溶液的浓缩过程

Fig 2 Concentrated processes of the bromophenol blue 1) electrophoresis tube, 2) eduction tube, 3) ~5) contrastive tubes: concentrated time/min: A) 0 (beginning), B) 40, C) 50, D) 70, the concentration of the bromophenol blue mol/L L^{-1} 1.0×10^{-5} (3), 1.0×10^{-4} (4), 1.0×10^{-3} (5)

表 1 不同时段收集的荧光素钠浓缩液的荧光强度

Collection time/min	0	15	30	45	Mean value
Fluorescence intensity/A. U.	4912	4886	4866	4892	4889

(包括导出毛细管), 导出毛细管口硅橡胶用螺旋夹夹紧. 另取 3 段与导出毛细管同型号毛细管 (长约为 2 cm) 分别注入 B 溶液配制的 1.0×10^{-5} mol/L、 1.0×10^{-4} mol/L、 1.0×10^{-3} mol/L 溴酚蓝标准溶液 (编号分别为 3、4、5), 端口胶封, 作比色管. 恒电流 $300 \mu\text{A}$ (电压 $\sim 50\text{V}$), 连续通电浓缩过程拍摄的照片见图 2 照片显示, 随着浓缩时间的延长, 锥形口与膜接触处的溴酚蓝溶液颜色越来越变深, 并沉入下方的导出管, 导出液的浓度越来越高, 最后其浓度接近 5 号管 (1.0×10^{-3} mol/L), 浓缩效果近 2 个数量级.

3.2 荧光素钠溶液连续浓缩实验

1) 荧光素钠溶液标准工作曲线

用 B 溶液 (1.0×10^{-3} mol/L) 配制系列荧光素钠溶液 (1.0×10^{-5} mol/L, 7.5×10^{-6} mol/L, 5×10^{-6} mol/L, 2.5×10^{-6} mol/L, 5×10^{-7} mol/L, 2.5×10^{-7} mol/L, 1.0×10^{-7} mol/L, 调节 pH 6 ~ 7). 荧光计激发波长 $E_x = 491\text{nm}$, 发射波长 $E_m = 512\text{nm}$, 狭缝为 2.5 nm. 测试结果如图 3 所示, 可见荧光素钠在检测浓度范围内其 $C \sim F$ 呈线性关系.

2) 荧光素钠溶液浓缩结果与讨论

按图 1 装置, 阳极室加入 A 溶液, 阴极室装入 1.0×10^{-7} mol/L 荧光素钠溶液 (D 溶液), 浓缩电压为 150 V, 恒电流 200 A. 打开连通阴极区的储液

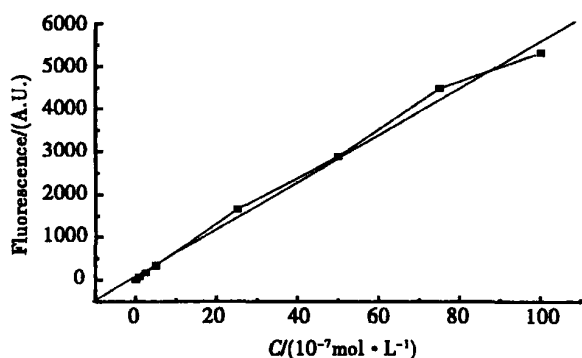


图 3 荧光素钠溶液标准工作曲线

Fig 3 Calibration work curve of the Na-fluorescein

$$F = 56.275C \quad (R = 0.9957)$$

槽 (内盛 D 溶液) 循环泵, 不断更新阴极区内溶液, 浓缩 15min 后, 旋开导出管螺旋夹, 控制浓缩液以 0.1 mL/min 流出, 在 0 min、15 min、30 min、45 min 收集流出液 (每次收集 10 min), 检测条件同上, 结果如表 1.

从分段收集的实验结果可以看出, 各时段收集的浓缩液荧光强度变化很小. 由线性回归方程得浓缩液的平均浓度为 8.6×10^{-6} mol/L, 约为原溶液的 86 倍.

4 结 论

溴酚蓝、荧光素钠浓缩实验表明, 本实验装置在底电压驱动下, 能达到高倍率、连续、无损伤浓缩的目的, 浓缩倍数接近 2 个数量级.

参考文献 (References):

- [1] Chen Laitong (陈来同), Xu Dechang (徐德昌). *Chemicrobiology Technology* [M]. Beijing: Beijing University Press (in Chinese), 2000.
- [2] Zhao Yongfang (赵永芳). *The Principle of Chemicrobiology Technology and its Application*, 3th Edition [M]. Beijing: Science Press (in Chinese), 2001.
- [3] Chen yi (陈义). *Capillary Electrophoresis Technology and its Application* [M]. Beijing: Chemical Industry Press (in Chinese), 2001.
- [4] Ruzicka J, Hansen E H. *Flow Injection Analysis*, 2nd Edition [M], New York, John Wiley & Sons, 1988.
- [5] Fang Zhaolun (方肇伦). *Flow Injection Analysis* [M]. Beijing: Science Press (in Chinese), 1999.
- [6] Fang Zhaolun (方肇伦). *The Preparation Microfluidic Chip and its Application* [M]. Beijing: Chemical Industry Press (in Chinese), 2005.
- [7] Tian Zhaowu, Lin huashui, Zhou Yong. *Electrophoretic separation device and method for using the device* [P]. European Patent: WO0235223. 2006. 118.
- [8] Chen Liangge (陈良格), Lin huashui (林华水), Tian zhaowu (田昭武). *An in-situ electrophoresis device for fluorescence detection* [J]. *Analytical Instrumentation* (in Chinese), 2005, 2: 6 ~ 9.

An Electro-driving High Efficiency, Continuous, No-damage Focusing Electrophoresis Concentration Device

LN Hua-shui^{*}, CHEN Liang-ge, ZHANG Run-xiang, LUO Fan, HU Wei-ling, TAN Zhao-wu

*(Department of Chemistry and State Key Laboratory for Physical Chemistry of Solid Surfaces,
College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian, China)*

Abstract: We presented a membrane focusing concentration method and fabricated an electro-driving high efficiency, continuous, no-damage focusing electrophoresis concentration device. In the concentration experiments of bromophenol blue and Na-fluorescein, the concentrated efficiency of the device reached two orders of magnitude. This device can be magnified to industrial equipment with large output. It also can be miniaturized to small and simple attachment for separated and analytical instrument such as electrophoresis, chromatogram, mass spectrum and optical spectrum. When integrated into chips, it would be a pre-concentrated unit of the lab-on-chip.

Key words: Concentration device, Electrophoresis, Ion exchange membrane

www.cnki.net