

# 毛细管电泳非接触电导分离检测 金属氧化物纳米粒子

管 了<sup>1</sup>, 王立新<sup>2</sup>, 傅崇岗<sup>1\*</sup>

(1. 聊城大学 化学化工学院, 聊城 252059; 2. 聊城大学 传媒技术学院, 聊城 252059)

**摘 要:** 采用毛细管电泳非接触电导检测技术, 以碳酸钠-碳酸氢钠为缓冲体系, 同时分离测定了纳米二氧化钛和三氧化二铝两种金属氧化物的悬浮粒子。考察了缓冲溶液种类、浓度及 pH 对分离效果的影响, 探讨了激发频率、激发电压对检测信号信噪比的影响。在最佳分离检测条件下, 不同粒径的二氧化钛和三氧化二铝悬浮粒子在 8 min 内可实现完全分离。所选择的最佳条件为: ① pH 10.5 缓冲溶液为 5 mmol · L<sup>-1</sup> 碳酸钠和碳酸氢钠混合溶液; ② 分离电压 20 kV; ③ 进样条件 20 kV, 6 s; ④ 激发频率 460 kHz; ⑤ 交流激发电压 4 V (给出最高的 S/N 比值)。

**关键词:** 毛细管电泳; 非接触电导检测; 纳米粒子; 金属氧化物

中图分类号: O657.8

文献标志码: A

文章编号: 1001-4020(2009)02-0131-03

## Separation and Inspection of Nanoparticles of TiO<sub>2</sub> and Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> by Capillary Electrophoresis with Non-contact Conductivity Detection

GUAN Liao<sup>1</sup>, WANG Li-xin<sup>2</sup>, FU Chong-gang<sup>1\*</sup>

(1. School of Chem. and Chem. Eng., Liaocheng University, Liaocheng 252059, China;

2. School of Media and Communication Technology, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China)

**Abstract:** Separation and inspection of nanoparticles of TiO<sub>2</sub> and Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> in a mixed suspension were performed simultaneously by capillary electrophoresis with non-contact conductivity detection. Various factors, including kinds and concentration of buffer solutions and pH of solution influential to the efficiency of separation, were scrutinized and effects of excitation frequency and alternating current excitation voltage on the signal to noise ratio of measuring signal were also studied. Nanoparticles of TiO<sub>2</sub> and Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> of different grain size in a suspension were completely separated within 8 min under the following optimized conditions: ① buffer solution: 5 mmol · L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> and NaHCO<sub>3</sub> mixed solution of pH 10.5; ② separation voltage: 20 kV; ③ sample introduction at 20 kV for 6 s; ④ excitation frequency: 460 kHz; ⑤ AC excitation voltage: 4 V, giving highest value of S/N ratio.

**Keywords:** Capillary electrophoresis; Non-contact conductivity detection; Nanoparticles; Metal oxides (e. g. TiO<sub>2</sub> and Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)

毛细管电泳由于其高效、快速和样品用量少等特点, 已成为一种应用广泛的液相分离分析技术。

收稿日期: 2008-04-01

**基金项目:** 国家自然科学基金(No. 20675036), 山东省自然科学基金(Y2006B04), 山东省教育厅科技计划项目(J05C08)山东省“泰山学者”建设工程专项经费。

**作者简介:** 管 了(1979—), 女, 山东青岛人, 硕士研究生, 主要从事毛细管电泳研究。

\* 联系人

但在纳米粒子的分离分析方面研究较少, 目前已见报道的有无机胶粒及有机胶粒, 分离的粒径范围从几十纳米到几微米, 包括二氧化钛<sup>[1]</sup>、三氧化二铝<sup>[1]</sup>、三氧化二铁<sup>[1]</sup>、二氧化硅<sup>[2]</sup>、金粒子<sup>[3]</sup>和聚苯乙烯胶粒(PS)<sup>[4-5]</sup>等。但大多采用紫外检测器, 由于受散射效应和光窗易玷污等的影响, 其结果的重现性尚不理想。本工作利用毛细管电泳非接触电导检测技术(CE-CCD), 建立了一种直接分离分析纳米粒子的方法。该方法不仅具有样品用量少、仪器

结构简单、操作费用低、环保等优点外,而且由于电极与溶液不直接接触,克服了传统电导检测电极易玷污、极化的缺点,具有良好的检测重现性。

## 1 方法原理

在水溶液中,金属氧化物纳米粒子表面电荷主要是电离作用产生的。表面的电荷一方面使纳米粒子的电泳成为可能,另一方面由于粒子表面电荷的相互排斥作用,阻碍了粒子的团聚。当毛细管的有效长度、总长以及操作条件(电压、缓冲液等)恒定时,由于不同纳米粒子的粒径和表面电荷密度不同,在迁移过程中其电泳淌度相同。因此,选择合适条件可实现纳米粒子的完全电泳分离。

毛细管电泳非接触电导检测池的结构见图 1(a)。2 个长度均为 1 mm 的管状电极,分别作为激励电极和检测电极,相隔距离  $d$ (mm),并紧套在内外半径分别为  $r_{\text{内}}(\mu\text{m})$  和  $r_{\text{外}}(\mu\text{m})$  的毛细管上,分别与激励信号源和检测电路相连接。接地铜片用来阻止两电极之间在毛细管以外空间的直接电容耦合。图 1(b)是检测池的等效电路图,其中,  $G$  为两电极间的样品溶液的电导,  $c$  为两电极与样品溶液间以毛细管管壁为介质的耦合电容。在两电极间施加高频正弦激励电压时,由于毛细管管壁的电容耦合作用,样品溶液中便会出现高频电流信号,其大小与样品的电导率成正比。而待测样品的电导率与其浓度成正比,因此,测量检测池中高频电流及其变化便可得到样品溶液的组成。由于质量相差悬殊,同等电荷的纳米粒子其电导要远小于缓冲液中的同离子,因而在无接触电导检测器上会产生倒峰,而且纳米粒子的质荷比越小,检测灵敏度越高。

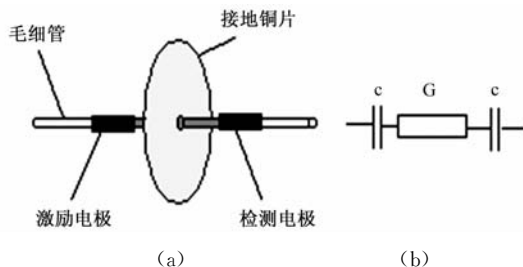


图 1 毛细管电泳检测池结构(a)及等效电路图(b)

Fig. 1 Schematic diagram of the CCD cell (a) and its simplified equivalent circuit (b)

## 2 试验部分

### 2.1 仪器与试剂

自组装毛细管电泳非接触电导检测装置,由

0~±30 kV 高压电源、弹性石英毛细管(74.5 cm×50 μm×375 μm,有效长度 30 cm)、电容耦合非接触电导检测器(自制)组成。pH 211 型精密酸度计,SK 3200LH 型超声波清洗器。

pH 10.5 缓冲溶液:5 mmol·L<sup>-1</sup> 的碳酸钠和碳酸氢钠混合溶液。

试验所用试剂均为分析纯,试验用水为 3 次去离子水。二氧化钛粉末平均粒径为(30±6) nm,γ-三氧化二铝粉末平均粒径为(300±6) nm。

### 2.2 金属氧化物悬浮液的配制

利用毛细管电泳法分离测定纳米粒子首先要保持纳米粒子的稳定分散。由于纳米二氧化钛和γ-三氧化二铝的粒径小,表面自由能高,处于热力学不稳定状态,因此极易团聚。为此,试验采用碱性缓冲液(pH 10.5)配制金属氧化物悬浮液,在碱性条件下,纳米粒子表面均带负电荷,由于静电斥力,阻止了纳米粒子的团聚;试验前悬浮液用超声波分散 15 min,可保持悬浮液至少稳定 1 h 以上。

### 2.3 试验方法

每改变一次运行缓冲溶液都依次用 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 氢氧化钠溶液、3 次去离子水和运行缓冲溶液冲洗毛细管 5 min,然后再用运行缓冲溶液冲洗平衡 10 min。试验采用高压进样(20 kV,6 s),每次进样时,首先将试样用超声波摇匀,防止颗粒团聚。每天测定样品后都需用缓冲溶液冲洗毛细管 5 min,用 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 氢氧化钠溶液冲洗 2 min,用 3 次去离子水冲洗 15 min。非接触电导检测器输出的信号由记录仪记录。

## 3 结果与讨论

### 3.1 缓冲溶液及 pH 值的选择

试验考察了磷酸二氢钾-磷酸氢钾和碳酸钠-碳酸氢钠两种缓冲溶液。结果表明:二氧化钛和三氧化二铝两种粒子在磷酸二氢钾-磷酸氢钾缓冲溶液中的分离度较差,响应信号很小。这可能是由于在磷酸二氢钾-磷酸氢钾缓冲溶液中,两种纳米粒子的胶团结构相近所致。而在碳酸钠-碳酸氢钠缓冲溶液可获得较好的分离和检测效果。由此可见,可利用不同类型的缓冲溶液作为提高分离度的一种手段。

试验考察了在 pH 9.0~11.7 范围内,pH 值对分离效果的影响。当 pH 为 10.5 时,二氧化钛和三氧化二铝两种金属氧化物纳米粒子可实现基线分

离。在碱性条件下分离两种金属氧化物纳米粒子可以有效防止在毛细管壁的吸附,这是由于在碱性条件下,毛细管壁与粒子表面均带负电荷,相互间存在排斥力,从而避免粒子在迁移过程中吸附于毛细管壁<sup>[6]</sup>。

在 pH 10.5 缓冲溶液的条件下,分别考察了 2.5, 5.0, 10.0, 15.0 mmol · L<sup>-1</sup> 碳酸钠-碳酸氢钠对纳米粒子分离度的影响。结果表明:当缓冲溶液浓度较小时,由于胶团结构的原因,分离效果较差;增大缓冲溶液浓度,可有效改善峰形,提高了分离度,增大了仪器噪声,但延长了分析时间。试验选择 pH 10.5 的 5 mmol · L<sup>-1</sup> 碳酸钠-碳酸氢钠缓冲溶液。

### 3.2 分离电压的选择

按试验方法,考察了分离电压在 10~30 kV 范围内对分离检测效果的影响。分离电压较小时,峰形较宽,分析速度慢,而且重现性不好;提高分离电压可以有效提高分离度,缩短分析时间。但分离电压太高,电泳电流很大,峰形又将变宽,可能是产生的焦耳热较多,导致粒子的布朗运动加剧,使区带增宽。另外太高的分离电压也使检测噪声变大,权衡多种因素,试验选择 20 kV 作为分离电压。

### 3.3 进样条件的选择

采用电压驱动进样,在一定的驱动电压下,进样量决定于进样时间。在确定了电泳介质和分离电压的情况下,试验了进样时间 2~10 s 对样品检测结果的影响。结果发现:进样时间短,进样量少,有利于样品的分离,但进样时间太短则减小了样品的重现性,加大了偶然误差;进样时间长,进样量增多,但电泳峰展宽,样品的分离度明显变差。综合考虑灵敏度、重现性和分离度,试验选择 20 kV 电压下进样 6 s 作为进样条件。

### 3.4 激发频率的选择

试验了 330~500 kHz 的激发频率( $f$ )对检测信号的影响见图 2。

由图 2 可看出:激发频率对信噪比的影响是很复杂的。低频率(<380 kHz)时检测信号较小,同时噪声信号也很小,但在此范围内,信噪比随频率的增加而降低。之后信噪比随激发频率的增加而增加,当激发频率为 460 kHz 时达到最大信噪比。之后再增加激发频率,信噪比反而减小。这可能与线路中存在寄生电容有关。试验选择 460 kHz 作为激发频率。

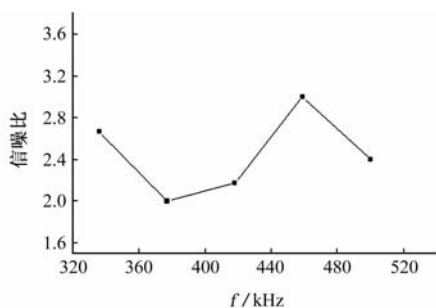


图 2 不同激发频率对信噪比的影响

Fig. 2 Effect of excitation frequency on signal-to-noise ratio

### 3.5 交流激发电压的选择

在最佳试验条件下,考察了 3~6 V 的交流激发电压对检测信号的影响。试验结果表明:电压越高,检测信号也越大,但增大检测电压,由于两电极间可能存在漏电流,使得噪声也有明显增加。试验发现:当激发电压为 4 V 时,检测信号有最佳的信噪比。

### 3.6 试验结果

在试验条件下,得到  $2.00 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  纳米二氧化钛和  $2.00 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  三氧化二铝两种金属氧化物的悬浮粒子的分离谱图(图 3)。由图 3 可以看出:二氧化钛粒子的粒径比三氧化二铝小,迁移时间短,出峰快,但由于其电导与背景电解质的差别较小,因而前者的峰高低于后者。8 min 内可实现二氧化钛和三氧化二铝悬浮粒子完全分离。

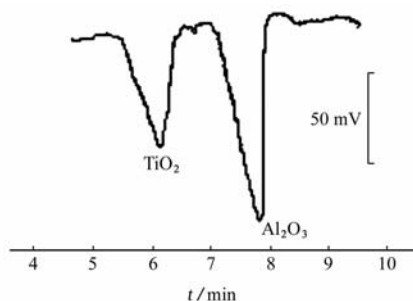


图 3 二氧化钛和三氧化二铝混合悬浮液的电泳谱图

Fig. 3 Electropherogram of a mixture containing TiO<sub>2</sub> and Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticle

采用毛细管电泳非接触电导检测法,在合适的电泳操作条件下,可以实现纳米二氧化钛和三氧化二铝两种金属氧化物的悬浮粒子的分离和检测,为纳米粒子的表征又提供了一种新的表征手段。试验条件稍作改变还可将该技术用于细菌、细胞等分离检测,在病原体鉴别、疾病诊断等方面具有良好的应用前景。

(下转第 147 页)

参考文献:

- [1] Cui F L, Fan J, Li W, et al. Fluorescence spectroscopy studies on 5-aminosalicylic acid and zinc 5-aminosalicylate interaction with human serum albumin[J]. J Pharmaceut Biomed, 2004,34:189-197.
- [2] 魏永巨,李克安,童沈阳. 溴甲酚绿与血清白蛋白的结合反应[J]. 分析化学, 1996,24(4):1175-1177.
- [3] 胡秋雯,王春风,李全民,等. 铜(Ⅱ)-茜素红 S 络合物与蛋白质作用的光谱性质及应用研究[J]. 分析测试学报, 2005,24(6):74-77.
- [4] Cui F L, Cui Y R, Luo H X, et al. Interaction of APT with BSA and HSA[J]. Chin Sci Bull, 2006,51(18):2201-2207.
- [5] Cui F L, Fan J, Ma D L, et al. A study of the interaction between a new reagent and serum albumin by fluorescence spectroscopy[J]. Anal Lett, 2003,36(10):2151-2166.
- [6] 陈红旗,马娟,刁雪莲,等. PbS-PAA 复合纳米粒子共振光散射法测定蛋白质[J]. 分析测试学报, 2005,24(6):56-58.
- [7] 江波,胡庆红. 十二烷基苯磺酸钠共振瑞利散射法测定

蛋白质[J]. 分析试验室, 2002,21(3):27-30.

- [8] 陈国珍,黄贤智,许金钩,等. 荧光分析法[M]. 2 版. 北京:科学出版社, 1990:115-128.
- [9] 鄢远,彭学军,许金钩,等. 褶合曲线分析法用于同步荧光光谱法同时测定苯酚和对苯二酚[J]. 分析测试学报, 1995,14(1):1-4.
- [10] Cui F L, Wang J L, Cui Y R, et al. Fluorescence investigation of the interactions between N-(p-chlorophenyl)-N'-(1-naphthyl) thiourea and serum albumin; synchronous fluorescence determination of serum albumin[J]. Anal Chim Acta, 2006,571(2):175-183.
- [11] Xing G W, Li W X, Ye Y H, et al. Enzymatic peptide synthesis in organic solvent with different zeolites as immobilization matrixes[J]. Tetrahedron, 2000,56:3517-3522.
- [12] Park O J, Kim D Y, Dordick J S. Enzyme-catalyzed synthesis of sugar-containing monomers and linear polymers[J]. Biotechnol Bioeng, 2000,70:209-215.
- [13] 王碧君,黄艳. 核苷类抗肿瘤抗病毒药物及其合成的进展[J]. 医药工业, 1987,18(8):378-382.

(上接第 133 页)

参考文献:

- [1] Petersen S L, Ballou N E. Separation of micrometer-size oxide particles by capillary zone electrophoresis[J]. Journal of Chromatography A, 1999,834:445-452.
- [2] Mc Cormick R M. Characterization of silica sols using capillary zone electrophoresis [J]. Liq Chromatogr, 1991,14(5):939-952.
- [3] Schnabel U, Fischer C H, Kenndler E. Characterization of colloidal gold nanoparticles according to size by capillary zone electrophoresis [J]. J Microcolumn, 1997,9(7):529-534.
- [4] Radko S P, Chrambach A. Capillary electrophoresis of subcellular-sized particles[J]. J Chromatogr B, 1999,722:1-10.
- [5] 施良和. 凝胶色谱法[M]. 北京:科学出版社, 1980:335-345.
- [6] 薛艳,杨海鹰,杨永坛. 毛细管区带电泳测定纳米粒子粒径分布的探索[J]. 色谱, 2004,22(2):170-173.

(上接第 137 页)

- [20] Reddy T M, Sreedhar M, Reddy S J. Electrochemical determination of sparfloxacin in pharmaceutical formulations and urine samples using a  $\beta$ -cyclodextrin modified carbon paste electrode[J]. Anal Lett, 2003,36(7):1365-1379.
- [21] Rizk M, Belal F, Ibrahim F, et al. Voltammetric analysis of certain 4-quinolones in pharmaceuticals and biological fluids [J]. J Pharm Biomed Anal, 2000,24(2):211-218.
- [22] Girish K K, Augustine P, Poduval R, et al. Voltammetric studies of sparfloxacin and application to its determination in pharmaceuticals [J]. Pharmazie, 2006,61(4):291-292.
- [23] Cai Y, Zhang Y, Su S, et al. Electrochemical studies oxidation of ciprofloxacin at nano-SnO<sub>2</sub>/PVS modified electrode and its interaction with calf thymus DNA [J]. Front Biosci, 2007,12(1):1946-1955.
- [24] Laviron E. General expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems[J]. J Electroanal Chem, 1979,101:19-28.