

# [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 02123900.2

[43] 公开日 2002 年 12 月 25 日

[11] 公开号 CN 1387036A

[22] 申请日 2002.7.9 [21] 申请号 02123900.2

[71] 申请人 中国科学院长春应用化学研究所

地址 130022 吉林省长春市人民大街 159 号

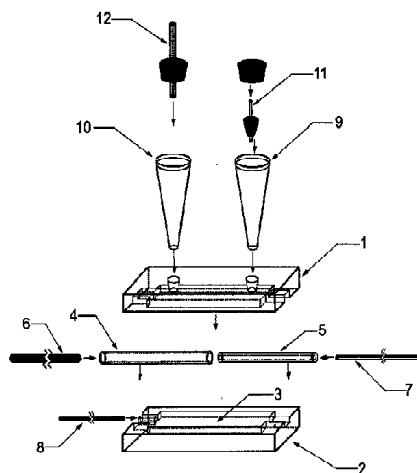
[72] 发明人 汪尔康 杨秀荣 刘继峰 严吉林

权利要求书 2 页 说明书 4 页 附图 3 页

[54] 发明名称 毛细管电泳与流动注射通用型电化学发光流通检测池

[57] 摘要

本发明属于毛细管电泳与流动注射通用型电化学发光流通检测池的设计。流通检测池由两片光学玻璃,采用化学腐蚀和粘合方法制作而成,呈一芯片式长方体形结构,流通通道两端通过两个移液管头安装发光试剂贮池和废液池,工作电极采用铂圆盘电极,电泳分离毛细管与流动注射流通管可以方便更换,因此根据实验需要,流通检测池可以在毛细管电泳和流动注射分析方式之间随意切换。该流通检测池结构合理,操作方便,通用性强,用于毛细管电泳和流动注射分析时检测灵敏度达  $10^{-9} - 10^{-8}$  mol/L 水平,分离效率达 52 000 - 105 000/米理论塔板数,浓度线性响应范围均大于三个数量级,连续进样分析所得响应信号的相对标准偏差小于 2.5%。



ISSN 1008-4274

1、一种毛细管电泳与流动注射通用型电化学发光流通检测池，由玻璃材质的盖板和底板组成，其盖板和底板上中心位置相对应地有流通通道，该通道的两端有工作电极安装槽、参比电极安装槽和毛细管安装槽，上述流通通道和各安装槽均为长方形；

盖板上相对流通通道的位置上有两个贯通圆孔，分别插设溶液贮池和废液池；溶液贮池底部安装一橡胶垫并插入一毛细导管，使溶液贮池与流通通道相连通；

工作电极引导管和毛细管引导管用环氧树脂固定在底板上的工作电极安装槽和毛细管安装槽内并调至准直，将盖板与底板粘合固定，工作电极和毛细管分别插入对应的引导管中粘合固定，参比电极插入参比电极安装槽中粘合固定。

2、如权利要求 1 所述的检测池，其特征在于，所述工作电极引导管为对电极。

3、如权利要求 1 所述的检测池，其特征在于，所述毛细管引导管为电泳高压电场接地电极。

4、如权利要求 1 所述的检测池，其特征在于，所述盖板与底板用环氧树脂粘合固定。

5、如权利要求 1 所述的检测池，其特征在于，所述工作电极和毛细管用氰基丙烯酸粘合固定。

6、如权利要求 1 所述的检测池，其特征在于，所述参比电极为 Ag 丝。

7、如权利要求 1 或 6 所述的检测池，其特征在于，所述参比电极用环

氧树脂粘合固定在参比电极安装槽中。

## 毛细管电泳与流动注射通用型电化学发光流通检测池

技术领域：本发明属于流动体系电化学发光流通检测池的设计，

背景技术：三联吡啶钌[Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>]具有性质稳定，电化学发光效率高，可选择性地与草酸盐、氨基酸、烷基胺、肽等物质反应，因此 Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup> 电化学发光成为高效液相色谱、流动注射等流动体系应用广泛的检测方法 [W.-Y. Lee, *Mikrochim. Acta* 127 (1997) 19-39; R. D. Gerardi, N. W. Barnett, S. W. Lewis, *Anal. Chim. Acta* 378 (1999) 1-41; K. A. Fährnich, M. Pravda, G. G. Guilbault, *Talanta* 54 (2001) 531-559; A. W. Knight, *Trends in Anal. Chem.* 18 (1999) 47-62]。近几年，电化学发光检测方法开始应用于毛细管电泳分析[G. A. Forbes, T. A. Nieman, J. V. Sweedler *Anal. Chim. Acta* 347 (1997) 289-293; J. A. Dickson, M. M. Ferris, R. E. Milofsky, *J. High Resol. Chromatogr.* 20 (1997) 643-646; Hendrickson, H. P., Anderson, P., Wang, X., Pittman, Z., Bobbitt, D. R., *Microchem. J.* 65 (2000) 189-195.]。目前高效液相色谱和流动注射电化学发光分析系统中应用的检测池均是由商品化的电化学薄层安培检测池改装而成的薄层电化学发光流通检测池，而且高效液相色谱和流动注射两种分析方法可通用一种流通池，因此使用方便，流通池体积一般在 1.5-150 μL 之间[L. L. Shultz, J. S. Stoyanoff, T. A. Nieman, *Anal. Chem.* 68 (1996) 349-354; W.-Y. Lee, *Mikrochim. Acta* 127 (1997) 19-39; W.-Y. Lee, T. A. Nieman, *Anal. Chem.* 67 (1995) 1789-1796; M. M. Collinson, R. M. Wightman, *Anal. Chem.* 65 (1993) 2576-2582; X. Chen, M. Sato, *Anal. Sci.* 11 (1995) 749-754; Y.-T. Hsueh, S. D. Collins, R. L. Smith, *Sensors and Actuators*

B 49 (1998) 1-4], 毛细管电泳分析中的样品进样量一般小于 10 nL, 所以难以直接应用类似高效液相色谱和流动注射分析中使用的薄层电化学发光流通检测池进行检测, 而需要新型的设计, 对于毛细管电泳电化学发光分析体系。目前尚未有一种结构明确的、可将分离毛细管和检测器方便安装在一起的电化学发光检测池的设计, 已报道的工作中, 一般采用两种方式进行毛细管电泳电化学发光检测, 一是将毛细管、电极、发光试剂贮池安装在各自独立的部件上, 然后毛细管与工作电极在显微镜下调节准直, 用粘合树脂原位固定, 再安装一个柱后发光试剂贮池, 使毛细管和工作电极界面位于其中; 二是使用一混合套管, 使分离毛细管伸入其中, 用一微量注射泵将  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  溶液输送至毛细管和工作电极界面, 进行电化学发光检测。但是这两种方式存在如下缺点: 第一种检测方式中, 由于发光试剂贮池蒸发以及毛细管电泳流出物的稀释作用导致  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  溶液浓度在实验过程中难以保持一致, 而且  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  分解以及电化学反应产物在检测区域的积存等因素对检测信号的重现性和灵敏度会造成不利影响; 第二种检测方式中, 虽然可以保证检测区域的  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  溶液在实验过程中保持新鲜和浓度恒定, 但是仪器装置比较复杂。我们曾经发明了一种毛细管和工作电极安装更换方便, 检测灵敏度和重现性良好的毛细管电泳柱端电化学发光检测池 (专利申请号: 01133351.0), 如果能有一种流动体系通用的电化学发光检测池, 则可以极大方便  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  电化学发光检测在分析科学中的应用。

发明内容: 本发明的目的是设计一种结构微型化的毛细管电泳与流动注射通用型  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  电化学发光流通检测池, 工作电极采用铂圆盘电极, 电泳分离毛细管与流动注射样品进样毛细管可方便更换, 因此根据实验需要, 流通检测池可以在毛细管电泳和流动注射分析方式之间任意切换。

本发明设计的流通检测池由两片光学玻璃，采用化学腐蚀和粘合方法制作而成，外观呈一芯片式长方体形结构，检测池中心腐蚀出流通通道，并在通道两端通过安装两个移液管头，分别作为发光试剂贮池和废液池。

具体实施方式：本发明的实施方案结合附图描述如下，附图一为毛细管电泳与流动注射通用型  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  电化学发光流通检测池制作示意图，图中 1，盖板；2，底板；3，流通通道；4，工作电极引导管；5，毛细管引导管；6，工作电极；7，毛细管；8，参比电极；9，溶液贮池；10，废液池；11，导管；12，出口管。

本发明设计的流通检测池由两片光学玻璃组成，分为流通检测池盖板（1）和底板（2），将盖板和底板包裹一层透明胶带，用刀片在胶带上划出流通通道设计图案、工作电极安装槽设计图案、参比电极安装槽设计图案和毛细管安装槽设计图案等，其中流通通道设计图案位于盖板和底板表面的中心位置，工作电极安装槽设计图案、参比电极安装槽设计图案和毛细管安装槽设计图案分别位于流通通道设计图案的两端，各种设计图案均为长方形，盖板和底板腐蚀后制作出流通通道（3），流通通道（3）两端是工作电极安装槽、毛细管安装槽和参比电极安装槽，玻璃板用水洗净，晾干，盖板在流通通道两端钻两个圆孔，通过两个塑料移液管头，分别作为  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  溶液贮池（9）和废液池（10）， $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  溶液贮池（9）底部安装一橡胶垫，并插入一毛细管作为导管（11），使贮池（9）与流通通道（3）相连通，工作电极引导管（4）和毛细管引导管（5）用环氧树脂固定在底板（2）上的工作电极安装槽和毛细管安装槽内并调至准直，工作电极引导管（4）同时作为对电极，毛细管引导管（5）作为电泳高压电场接地电极使用，用环氧树脂将盖板（1）与底板（2）粘合固定，工作电极（6）和毛细管（7）分别插入对应的引导管中用氰基丙烯酸粘合剂固定，Ag 丝参比

电极（8）插入安装槽中，用环氧树脂固定。

采用毛细管电泳分析方式时，流通通道（3）内加入  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  溶液， $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  溶液贮池（9）底部安装一橡胶垫，并插入导管（11）以连通  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  溶液贮池（9）和流通通道（3），毛细管引导管（5）内安装电泳分离毛细管（7），贮池（9）中的  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  溶液流入流通通道内（3），流经分离毛细管和工作电极界面，即检测区域，到达废液池（10）， $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  溶液贮池（9）中定时加入新鲜的  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  溶液，废液池（10）清空，因此在毛细管电泳实验过程中，检测区域的  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  溶液呈流动状态，保持新鲜，提高了检测灵敏度和重现性。采用流动注射分析方式时，用丙酮溶解除去用于固定分离毛细管（7）和引导管（5）的氰基丙烯酸粘合剂，取下分离毛细管后，毛细管引导管（5）内安装流动注射进样毛细管，作为流动注射进口， $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  溶液贮池（9）和废液池（10）上部用橡胶垫密封，其中废液池中的橡胶垫插入一导管（12），作为流动注射体系出口。

本发明设计的毛细管电泳与流动注射通用型  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  电化学发光流通检测池结构合理，操作方便，通用性强，用于毛细管电泳和流动注射分析皆具有较高的检测灵敏度。附图 2 是毛细管电泳分析  $1.0 \times 10^{-6}$  mol/L 三丙胺和  $1 \times 10^{-4}$  mol/L 脯氨酸的数据图，检测限分别达  $1.4 \times 10^{-9}$  mol/L， $1.6 \times 10^{-7}$  mol/L，分离效率达 52 000/米，105 000/米理论塔板数，附图 3 之（1）（2）（3）是流动注射分析不同浓度的草酸钠，三丙胺和脯氨酸得到的数据图，检测限分别达  $4.4 \times 10^{-8}$  mol/L， $1.5 \times 10^{-8}$  mol/L 和  $3.1 \times 10^{-8}$  mol/L，毛细管电泳和流动注射分析所得到的浓度线性响应范围均大于三个数量级，连续进样分析所得响应信号的相对标准偏差小于 2.5%，以上这些分析指标均优于文献报道的水平。

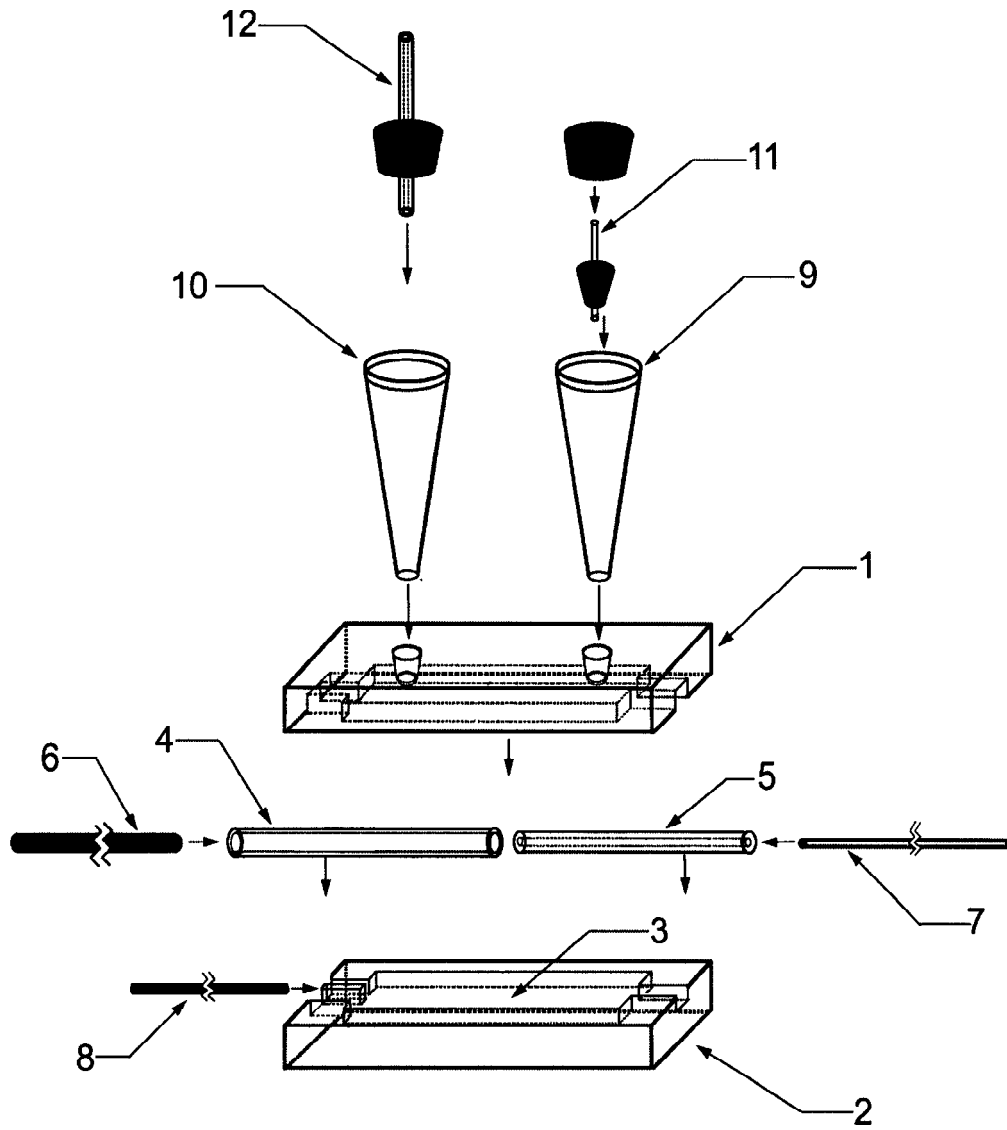


图 1



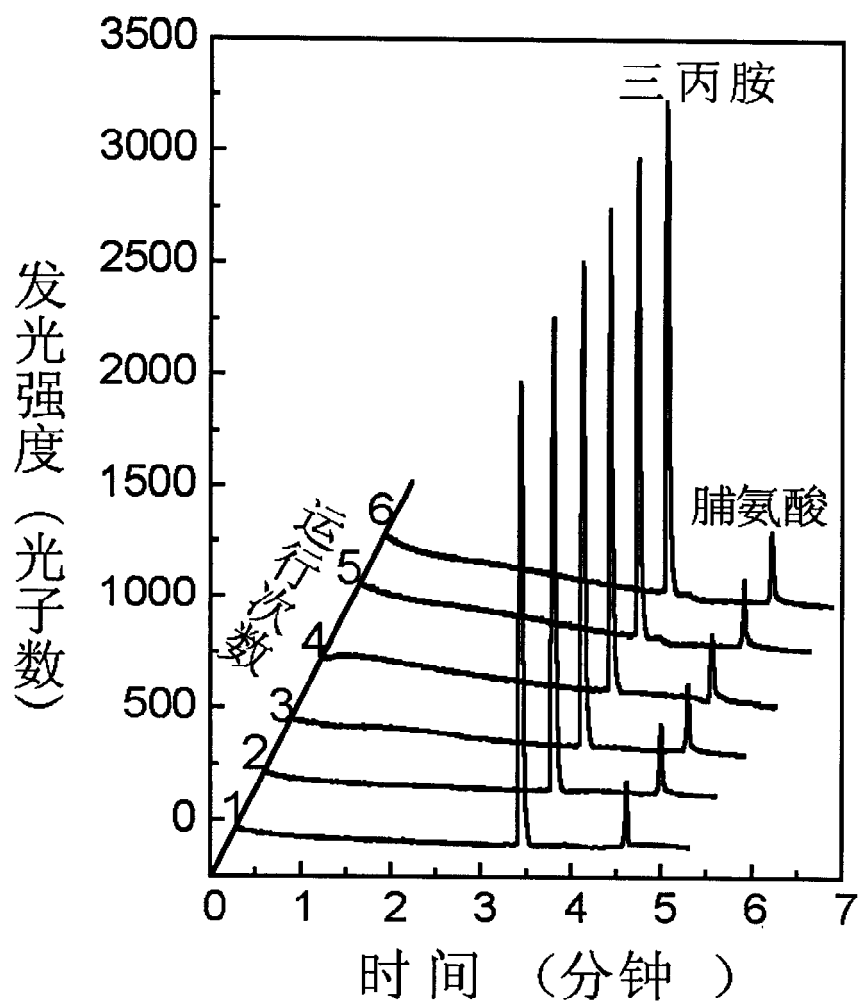


图 2

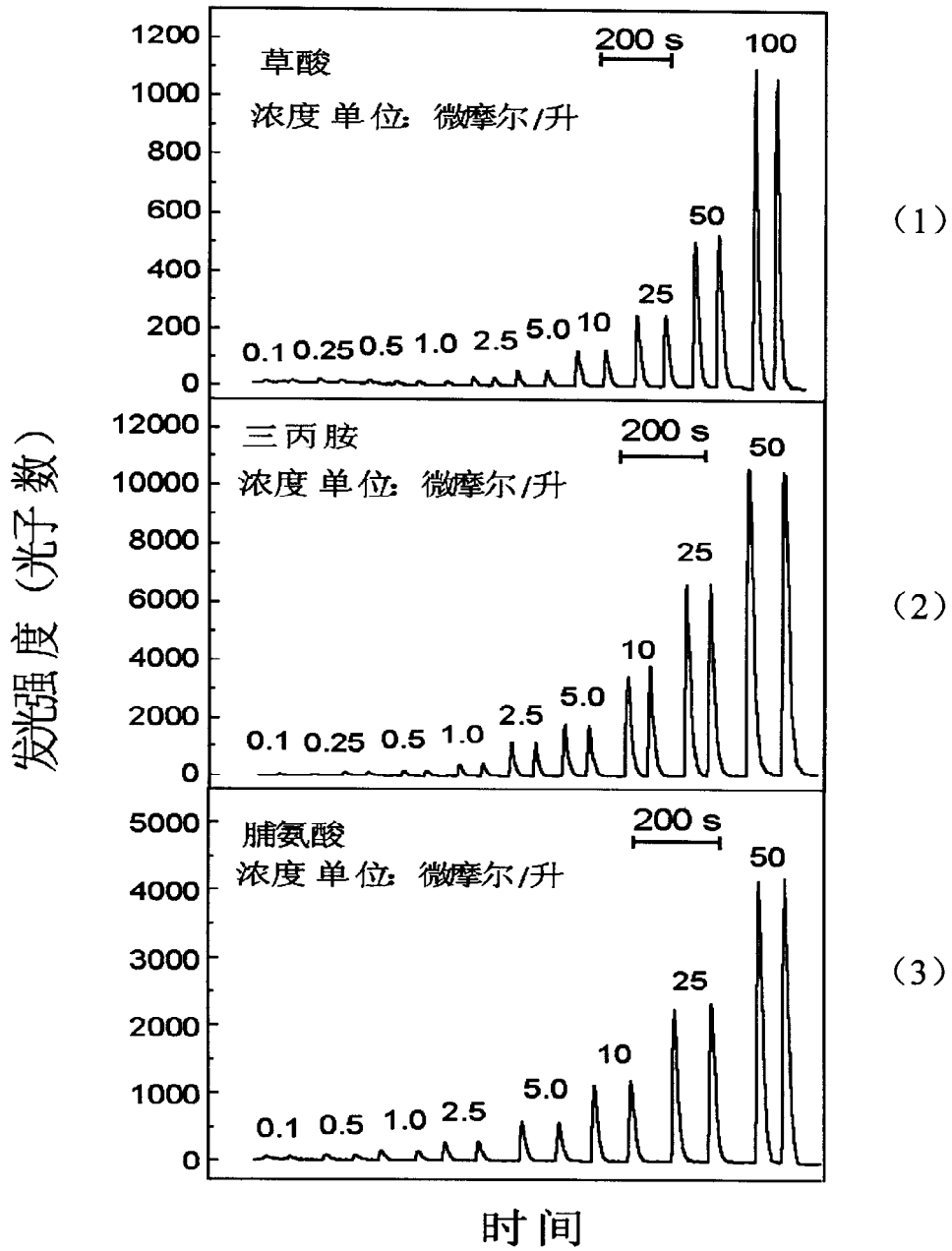


图 3