滤纸存储试剂在分析化学中的应用

郑虎祥[1,3],毕连花[2,3],孟 启[1],方海林[3],范大和[3],王 伟[3]
(1.常州大学 石油化工学院,江苏 常州 213164;
2.扬州大学 化学化工学院,江苏 扬州 225002;
3.盐城工学院 化学与生物工程学院,江苏 盐城 224051)

摘要:滤纸是一种生物和化学实验室里的常用材料,由纯纤维素制成,通常被用来做过滤或者色谱分析。滤纸经过进一步的修饰与表面处理后被广泛应用于生物医学、传感器、微流控、环境保护等领域,并展示了很好的应用前景。简要综述了滤纸在分析化学中的应用,着重介绍了滤纸存储试剂作为外标和内标在分析化学中的应用。

关键词:滤纸;内标;外标;综述
中图分类号:O652.9 **文献标识码**:C **文章编号**:1671-5322(2011)01-0025-05

滤纸是一种生物和化学实验室里的常用材料,多由纯纤维素制成,通常被用来做过滤或者色谱分析。滤纸的制作过程通常是:(1)过滤由纤维素、胶体填充颗粒和可溶性高聚物组成的液态稀悬浮物质;(2)晾干或机器烘干后整形;(3)表面处理[1]。由于滤纸是纤维材质制成品,因此它的表面有无数小孔可供液体以及体积较小的固体粒子通过,而体积较大的固体粒子则不能通过。这种性质可以实现混合在一起的液态及固态物质分离。

滤纸经过进一步的修饰与表面处理后被广泛应用于生物医学、传感器、微流控、水处理等领域[2-5]。具有如下优点:(1)滤纸可以被印刷、附载和浸染上油墨、化学试剂和生物分子等,且干燥的滤纸能够吸收比本身质量更多的溶液,并且在干燥后,所有的不易挥发性组分能保留在滤纸上[6];(2)基于滤纸的分析器件为一次性的、制作方便,试剂消耗量低;(3)滤纸具有毛细作用,基于滤纸的分析器件可以无需压力泵等外力的作用实现物质的分离。

1 滤纸在分析化学中的应用

生物体液的分析在人类健康的监测领域有着很重要的意义[7],但是常规分析方法在一些偏远地区、紧急情况或者家庭医疗保健中无法应用,因为常规分析方法所需的设备比较昂贵并且需要专业人员来实施[8]。基于滤纸的生物分析器件具有使用方便、成本低和消耗试剂量小等优点,因此,它能替代常规分析器件[9]。光刻胶、聚二甲基硅氧烷(PDMS)和石蜡等物质被用来在滤纸表面构建微流管道,用于制作各种分析器件[10-15]。Martinez等[5]研究了一种将修饰化滤纸和疏水性掩膜结合起来,制作可控性好,具有毫米级微管道和存储试剂功能的微反应器件。应用该微反应器件对人体尿液中的葡萄糖和蛋白质进行了同时检测。通过光刻胶技术在滤纸表面构建疏水性的"墙"来限定区域,制成图案化的微反应器。该反应器可以通过在特定区域滴加特定试剂来衍生成特定物质的检测器件,并且可以多种物质一起检测,而整个检测所消耗的试剂量极少。当被测物质受到粉尘污染或者组成很复杂时,该微检测器件也能很好地对其进行检测,因为滤纸的毛细作用可以将复杂物质进行分离,颗粒物质不会沿着管道移动,不会到达检测区域,对检测不会造成影响。

为了对被测物质更好地进行定量分析,在基于滤纸的比色分析法中,许多科研工作者使用照相设备或者扫描仪等记录颜色强度[16]。但一些照相设备如手机照相和便携式扫描仪在灵敏度和选择性上不如传统的分析仪器。所以,需要一种

收稿日期:2010-01-17
作者简介:郑虎祥(1986-),男,江苏常州人,助教,硕士生,主要研究方向为分析化学。

万方数据

高灵敏度和高选择性的检测器来满足对生物样品中含量较低物质的检测需求。电化学检测(ECD)是一种很好的替代方法,因为其具有设备体积小、利于便携化、试剂消耗低、高灵敏度和高选择性等优点[17-22]。Whitesides 等[23]首次提出了"μPED"的概念,即基于滤纸微流控分离及电化学检测器件。"μPED"包含基于滤纸的通过影印或者激光打印技术制作成的微流管道和具有三电极的丝网印刷电极(SPCE)。"μPED"适用于对溶液中多种物质(如重金属和葡萄糖等)进行定量分析。实验所测物质无需通过压力泵等外力来驱动,而是依靠滤纸的毛细作用,并且滤纸表面修饰出的微反应区域可以用来存储试剂,对试剂进行预处理或者分离。通过在电极表面修饰葡萄糖氧化酶,应用安培法对人体尿液中的葡萄糖进行分析,结果具有很高的灵敏度和准确度。应用"μPED"对含有 Pb(Ⅱ)和 Zn(Ⅱ)的混合溶液中的 Pb(Ⅱ)进行选择性检测时,被检测溶液通过滤纸的毛细作用,不断地流过电极表面,因此电极表面溶液不断地更新,加强了阳极溶出伏安实验中电极表面被测物质的沉积效率,增强了检测的灵敏度和可靠性。Henry 等[24]也研究了一种基于滤纸的微流控电化学检测器件。用光刻法在滤纸表面构建微流管道,并且利用丝网印刷电极技术在滤纸表面直接制作电极,应用此器件基于酶联反应原理已成功地对生物样品中的葡萄糖、乳酸和尿酸(UA)等物质进行了电化学检测。

Rafaela 等[25]研究了一种基于滤纸分离及电化学检测物质的方法,将条状或图案化修饰的滤纸作为"色谱柱",用于分离物质。将用作分离的滤纸以及集成有电极和微反应池的聚酯薄膜结合起来,一个多功能的分离及检测器具就做成了,该检测器具可以用于现场分析或者临床分析。研究者设计了2种模型,其中简单模型的分离及检测装置是由 60 mm×6 mm 的试纸条和一个集成有三电极系统的聚酯薄膜组成。2 μL 的抗坏血酸(AA)和 UA 混合样品滴加在滤纸条特定的位置,实验时将滤纸条的一端浸入洗脱液中,由于滤纸的毛细效应,洗脱液沿着滤纸向上流动,流经点样点时,样品会溶解于洗脱液中,样品在滤纸条上的流动速度取决于其在溶剂中的溶解度和对极性滤纸纤维素的吸附作用。因此,不同样品到达电化学检测区域的时间不同,从而达到分离及检测的目的。

2 滤纸存储试剂在分析化学中作为外标和内标的应用

2.1 滤纸存储试剂在分析化学中作外标的应用

比色分析法被广泛地应用于重金属[26-27],蛋白质[28-29]和其他化学物质[30]的检测。Wang 等[16]研究了一种在试纸条上集成同步外标,用于对蛋白质进行半定量比色检测的方法。亲水性滤纸在比色测定中被用作微流器件,为了确保多条分支具有同等的微流动性,本研究对滤纸条采用了"树形"设计。研究中通过对牛血清蛋白(BSA)的比色测定来验证这种方法的可行性,比色测定的结果可通过裸眼得出,并且与仪器测试的结果是一致的。该测试器件可以与图片传输设备结合起来作为远程监测系统,可应用于临床诊断、食品监控和环境分析。

研究者制作树形滤纸条的方法是将滤纸裁剪成具有7条分支(3 mm×45 mm)和一条主干(8 mm×55 mm)的树形片状,将其浸入 250 mmol/L 柠檬酸盐缓冲溶液(pH 1.8)中,然后将纸片在 25 ℃的条件下干燥 20 min。再将 0.5 μL 乙醇溶解的 9 mmol/L 溴酚蓝(BPB)溶液和 0.5 μL PBS 缓冲溶液的溶解 BSA 溶液分别滴加在距离分支底部 5 mm 和 20 mm 处。其中 6 组不同浓度的 BSA 溶液分别滴加在左边 6 条分支上,而一组溶解于尿液中的 BSA 滴加在右边的一条分支上。然后,将此纸片在 25 ℃的条件下干燥 10 min。整个过程如图 1 所示[16]。

检测过程是将上述滴加了试剂的树形滤纸条的主干部分浸入在 6 mL 蒸馏水中,30 min 后,可以通过裸眼来进行半定量判断或者通过照相得到图片在计算机上通过相应的图片分析软件与标准样品图片的色差进行分析,可以得出 BSA 溶液的浓度。

本设计中,在树形滤纸条上直接集成了外标,这样做的优点是样品和标准溶液的反应同时进行,可以减少环境因素(温度、压力、湿度等)对实验的影响,并且对实验的半定量分析可以直接进行[31]。本研究对滤纸条采用了"树形"的设计,是为了确保多条分支具有同等的微流动性和同时进行多组分分析。如图 1 所示,树形滤纸条具有 7 条分支,这样,6 种不同浓度的样品溶液和标准溶液的检测可同时进行,且检测结果方便采集和分析。检测是基于蛋白质与BPB非特异性结合的

万方数据

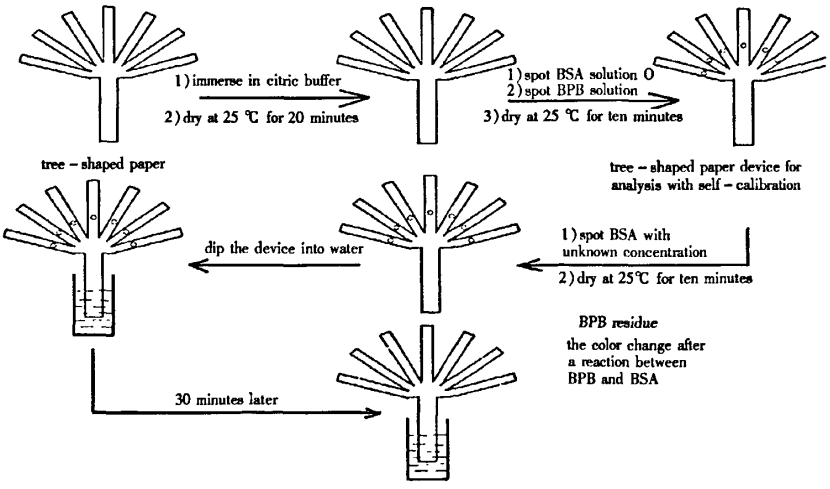

图 1　集成有外标的树形滤纸条的制作流程图

Fig. 1　Diagram of the procedure for tree - shaped device with self - calibration for detection

原理。在酸性条件下，BPB 可以和 BSA 结合形成稳定的蓝色物质。当洗脱液（蒸馏水）流经滤纸条上的 BPB 点时，BPB 会溶解于洗脱液中，并且随着洗脱液向上方流动，流经 BSA 点时生成蓝色的点，蓝点的色差对应不同浓度的 BSA。过量的 3PB 被“冲洗”至滤纸条的末端，这样也避免了对蓝点色差分析的影响[5,32-34]。

在实际样品的检测中，同步外标的方法得到了验证，左边 6 条滤纸条上的样品浓度依次从 0 -2.5 mg/mL 范围内增加，最右边的试纸条上滴加的是已知浓度的 BSA 标准样品。结果可通过裸眼对比颜色的差异并与标准曲线对照，半定量地得到 BSA 含量。

这种检测蛋白质的方法具有如下优点：(1) 具有同步外标，一步检测，降低了系统误差，一次性实现多组半定量检测；(2) 树形滤纸条为一次性的，制作方便，试剂消耗量低；(3) 实验用的洗脱液便宜、易于得到，且与常规液相色谱所用的有机洗脱液相比更环保；(4) 只需要少量的样品（μL 级别）；(5) 检测操作不需要专业的人员和复杂的仪器。

2.2　滤纸存储试剂在分析化学中作内标的应用

圆滤纸片存储试剂在检测中作为内标的应用的工作前面已有报道[35]。Fang 等[6] 研究了一种一步检测地表水中铅离子的方法。将 SPCE 和圆滤纸片结合起来，在圆滤纸片上存储了缓冲溶液和含有标准 Zn(Ⅱ) 的内标物以及电解溶液 Bi(Ⅲ)，当样品滴加到电极的表面，即可进行一步法检测地表水中 Pb(Ⅱ) 的含量。

研究者制作存储试剂的圆滤纸片的方法是将 whatman NO. 1 滤纸小心的裁剪成直径为 7 mm 左右的圆片（图 2）[6]。因为这样大小的圆片刚好覆盖在 SPCE 电极区域的表面。当样品滴加到 SPCE 表面，由于 SPCE 表面是疏水性的，所以滴加的样品溶液的量就取决于圆滤纸片的面积。如果圆滤纸片的直径过大，检测就需要更多量的样品溶液；如果直径过小，SPCE 电极区域就不能完全的接触样品溶液，液体的量被滤纸限定了，这样就不能保证三电极系统完全地浸入溶液中工作。将 10 μL 的 0.1 mol/L 醋酸盐缓冲液（pH 4.5）滴在圆滤纸片上，在 25 ℃下晾干后，连续地用 10 μL 的 60×10^{-9} 的 Zn(Ⅱ) 溶液和 10 μL 的 500×10^{-9} Bi(Ⅲ) 溶液处理。这样就保证了在样品溶液加入后，检测溶液具有合适的 pH 值和准确的 Zn(Ⅱ) 和 Bi(Ⅲ) 浓度。在进行电化学检测之前，将圆滤纸片精确地放置在电极区域表面，以便滤纸能够完全的覆盖在 SPCE 的三电极表面。

本研究中的检测是通过方波伏安法（SWASV）实现的，依靠原位电镀铋膜，通过内标的方法可以测定微量的铅。当 10 μL 样品溶液滴加在覆盖在 SPCE 电极上的圆滤纸片上，电化学检测可以直接实现，10×10^{-9} Pb(Ⅱ) 可以被灵敏地检测出，但是在没有圆滤纸片的情况下，同样浓度的 Pb(Ⅱ) 无法得到信号。

万方数据

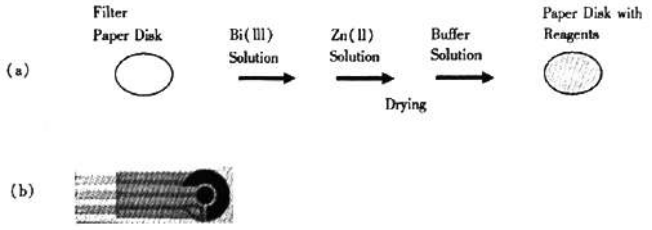

图2　储存了反应试剂的圆滤纸片的制作(a)和实验用丝网印刷电极(b)

Fig. 2　Schematic of preparation of paper disk impregnated with reagents (a) and screen - printed carbon electrode (b).

这种检测Pb(Ⅱ)的方法具有如下优点:(1)检测时不再需要标准品对照;(2)圆滤纸片为一次性的、低消耗和方便制作;(3)预先存储了内标物,避免了系统误差;(4)检测时,只需要少量的样品(μL级别);(5)检测操作不需要专业的人员和复杂的仪器。

3　总结及展望

滤纸经过进一步修饰和表面处理后被广泛应用于生物医学、传感器、微流控、水处理等领域。基于滤纸的检测器件具有便宜、方便制作和试剂消耗量低等优点,并且可以被应用于科技欠发达地区、现场分析和临床应用,检测操作不需要专业的人员和复杂的仪器[36-39]。基于圆滤纸片的分析器件给我们提供了一种低消耗和简单快捷的分析方法。同时,其对分析仪器的集成化、微型化与便携化的发展也具有重要意义。相信随着研究的不断深入及相关技术的不断发展,滤纸在分析化学中的应用技术将日趋成熟,在生化分析、临床分析和环境分析等研究领域发挥重要的作用。

参考文献:

[1] Pelton R. Bioactive paper provides a low - cost platform for diagnostics[J]. TrAC - Trend. Anal. Chem. ,2009,28(8):925 -941.

[2] Martinez A W , Phillips S T , Whitesides G M, et al. Diagnostics for the developing world: microfluidic paper - based analytical devices[J]. Anal. Chem. ,2010,82:3 - 10.

[3] Zhao W, Ven den Berg A. Lab on paper[J]. Lab Chip, 2008,8:1 988 - 1 991.

[4] Maruo Y Y, Akaoka K, Nakamura J. Development and performance evaluation of ozone detection paper using azo dye orange I: Effect of pH[J]. Sens. Actuators B, 2010,143:493 - 497.

[5] Martinez A W, Phillips S T, Butte M J, et al. Patterned paper as a platform for inexpensive, low - volume, portable bioassays[J]. Angew. Chem. Int. Ed. , 2007,46:1 318 - 1 320.

[6] Fang H L, Zheng H X, Ou M Y, et al. One - step sensing lead in surface waters with screen printed electrode[J]. Sens. Actuators B,待发表.

[7] Mabey D, Peeling R W, Ustianowski A, et al. Diagnostics for the developing world[J]. Nat. Rev. Microbiol. ,2004,2:231 - 240.

[8] Daar A S, Thorsteinsdottir H, Martin D K, et al. Top ten biotechnologies for improving health in developing countries[J]. Nat. Genet. , 2002,32:229 - 232.

[9] Sia S K, Linder V, Parviz B A, et al. An integrated approach to a portable and low - cost Immunoassay for resource - poor settings[J]. Angew. Chem. ,2004,116:504 - 508.

[10] Sia S K, Linder V, Parviz B A, et al. Aportable and low - cost immunoassay for resource - poor settings[J]. Angew. Chem. Int. Ed. , 2004,43:498 - 502.

[11] Martinez A W, Philips S T, Whitesides G M,et al. 3D microfluidic devices fabricated in layered paper and tape[J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA,2008,105:19 606 - 19 611.

万方数据

[12] Bruzewicz D A, Reches M, Whitesides G M. Low - cost printing of poly(dimethylsiloxane) barriers to define microchannels in paper[J]. Anal. Chem. ,2008,80:3 387 - 3 392.

[13] Carrilho E, Martinez A W, Whitesides G M. Understanding wax printing: A simple micropatterning process for paper - based microfluidics[J]. Anal. Chem. ,2009,81:7 091 - 7 095.

[14] Lu Y, Shi W, Jiang L, et al. Rapid prototyping of paper - based microfluidics with wax for low - cost, portable bioassay [J]. Electrophoresis, 2009,30:1 497 - 1 500.

[15] Carrilho E, Philips S T, Vella S J, et al. Paper microzone plates[J]. Anal. Chem., 2009,81:5 990 - 5 998.

[16] Wang W, Wu W Y, Wang W, et al. Tree - shaped paper strip for semiquantitative colorimetric detection of protein with self - calibration[J]. J. Chromatogr. A, 2010,1217:3 896 - 3 899.

[17] Wang J. Electrochemical biosensors: Towards point - of - care cancer diagnostics[J]. Biosens. Bioelectron, 2006,21: 1 887 - 1 892.

[18] Holcomb R E, Kraly J R, Henry C S. Electrode array detector for microchip capillary electrophoresis[J]. Analyst,2009, 134:486 - 492.

[19] Matson W R, Langlais P, Volicer L, et al. n - Electrode three - dimensional liquid chromatography with electrochemical detection for determination of neurotransmitters[J]. Clin. Chem., 1984,30:1 477 - 1 488.

[20] Alvarez - Icaza M, Bilitewski U. Mass production of biosensors[J]. Anal. Chem., 1993,65:525A - 533A.

[21] Martin R S, Gawron A J, Lunte S M, et al. Dual - electrode electrochemical detection for poly(dimethylsiloxane) - fabricated capillary electrophoresis microchips[J]. Anal. Chem. ,2000,72:3 196 - 3 202.

[22] Jiang L, Lu Y, Dai Z, et al. Mini - electrochemical detector for microchip electrophoresis[J]. Lab Chip,2005,5:930 - 934.

[23] Nie Z H, Nijhuis C A, Gong J L, et al. Electrochemical sensing in paper - based microfluidic devices[J]. Lab Chip, 2010,10:477 - 483.

[24] Dungchai W, Chailapakul O, Henry C S. Electrochemical detection for paper - based microfluidics[J]. Anal. Chem., 2009,81:5 821 - 5 826.

[25] Carvalhal R F, Kfouri M S, Piazetta M H d O, et al. Electrochemical detection in a paper - based separation device[J]. Anal. Chem., 2010,82:1 162 - 1 165.

[26] Zhao Y, Zhang X B, Han Z X, et al. Highly sensitive and selective colorimetric and off - on fluorescent chemosensor for Cu^{2+} in aqueous solution and living cells[J]. Anal. Chem., 2009,81:7 022 - 7 030.

[27] Knecht M R, Sethi M. Anal. Bio - inspired colorimetric detection of Hg^{2+} and Pb^{2+} heavy metal ions using Au nanoparticles[J]. Bioanal. Chem. ,2009,394:33 - 46.

[28] Herland A, Inganas O. Conjugated polymers as optical probes for protein interactions and protein conformations[J]. Macromol. Rapid Commun., 2007,28:1 703 - 1 713.

[29] Leca - Bouvier B, Blum L J. Biosensors for protein detection: A review[J]. Anal. Lett. ,2005,38:1 491 - 1 517.

[30] Li H, Qiu T, Cao Y, et al. Pre - staining paper chromatography method for quantification of gamma - aminobutyric acid [J]. J. Chromatogr. A, 2009,1 216:5 057 - 5 060.

[31] Yager P, Edwards T, Fu E, et al. Microfluidic diagnostic technologies for global public health[J]. Nature, 2006,442: 412 - 418.

[32] Martinez A W, Phillips S T, Carrilho E, et al. Simple telemedicine for developing regions: camera phones and paper - based microfluidic devices for real - time, off - site diagnosis[J]. Anal. Chem. ,2008,80:3 699 - 3 707.

[33] Liang R Q, Tan C Y, Ruan K C. Colorimetric detection of protein microarrays based on nanogold probe coupled with silver enhancement[J]. J. Immunol. Methods, 2004,285:157 - 163.

[34] Yang M H, Wang C C. Label - free immunosensor based on gold nanoparticle silver enhancement[J]. Anal. Biochem., 2009,385:128 - 131.

(下转第 38 页)

万方数据

Effect of TiC Content on the Thermal Conductivity of A1N – TiC Composites

CHENG Wei-hua

(Department of Chemical Engineering, Yancheng College of Textile Technology, Jiangsu Yancheng 224005, China)

Abstract: AlN – TiC composites with microwave attenuation characteristics were made by hot pressed method. The effect of the content of TiC on the composites was investigated by laser thermal conductivity apparatus. The results show that with the increasing of TiC content, thermal conductivity rate decreases gradually, when the w(TiC) come to 50t%, thermal conductivity rate decreases from 102.9 W/(m · K) to 46.6 W/(m · K). In addition, the phase composition and microstructure were also studied.

Keywords: aluminum nitride; titanium carbide; thermal conductivity; hot pressed sintering

(责任编辑:范大和; 校对:张英健)

(上接第29页)

[35] Tan S N, Ge L, Wang W. Paper disk on screen printed electrode for one – step sensing with an internal standard[J]. Anal. Chem., 2010,1 217:3 896 – 3 899.

[36] Von Lode P. Point – of – care immunotesting: approaching the analytical performance of central laboratory methods[J]. Clin. Biochem., 2005,38:591 – 606.

[37] Mabey D, Peeling R W, Ustianowski A, et al. Diagnostics in the developing world[J]. Nat. Rev. Microbiol., 2004,2: 231 – 240.

[38] Daar A S, Thorsteinsdottir H, Martin D K, et al. Top ten biotechnologies for improving health in developing countries [J]. Nat. Genet., 2002,32:229 – 232.

[39] Willis R C. Challenges for clinical diagnostic devices[J]. Anal. Chem., 2006,78:5 261 – 5 265.

Applications of Filter Paper Impregnated with Reagents in Analytical Chemistry

ZHENG Hu-xiang[1,3], BI Lian-hua[2,3], MENG Qi[1], FANG Hai-lin[3], FAN Da-he[3], WANG Wei[3]

(1. School of Petrochemical Engineering, Changzhou University, Jiangsu Changzhou 213164, China;
2. School of Chemistry and Chemical Engineering, Yangzhou University, Jiangsu Yangzhou 225002, China;
3. School of Chemical and biological Engineering, Yancheng Institute of Technology, Jiangsu Yancheng 224051, China)

Abstract: Filter paper is a common material in laboratory, for filtration and chromatographic analysis supports – which are simple materials composed of pure cellulose. Filter paper has been widely applied in the fields of biomedical, sensors and actuators, microfluidics and environmental protection after further modification and suiface treatment, and had a nice prospect. This paper reviewed applications of fiter paper impregnated with reagents as an external and internal standard in analytical chemistry.

Keywords: Filter paper; Internal standard; External standard; Review

(责任编辑:范大和; 校对:张英健)

万方数据