可视移动中和反应界面离线富集-毛细管电泳法 检测电镀废水中痕量重金属离子

范银苹^{1,2}, 李 杉^{1*}, 樊柳荫^{2*}, 曹成喜²

(1. 华南理工大学生物科学与工程学院, 广东 广州 510006; 2. 上海交通大学生命科学技术学院, 上海 200240)

摘要:建立了一种可视化的、利用移动中和界面离线富集-毛细管电泳检测电镀废水中痕量重金属离子的新方法。在该富集系统中,阳极电解液为 2.1 mmol/L HCl-98 mmol/L KCl-痕量重金属离子,阴极电解液为 4.0 mmol/L NaOH-96 mmol/L KCl,界面向阴极移动,分离电压为 180 V,阴极电解液和阳极电解液的流速均为 1 mL/min。富集后凝胶中的金属离子浓度用毛细管电泳检测,标准曲线在实验浓度范围内均有良好的线性关系($r \geq 0.9985$),预富集倍数达 80 ~ 150 倍,Cu(II)、Zn(II)、Ni(II)、Mg(II)、Ca(II)、Cr(III)和 Fe(III)的检出限分别为 0.163、0.256、0.077、0.153、0.203、0.062 和 0.142 mg/L,均明显低于国家规定标准;日内和日间精密度的均小于 7.42%。所建方法已成功用于实际电镀废水样品中痕量重金属离子的富集和检测。

关键词:毛细管区带电泳;移动中和界面;样品富集;痕量分析;重金属离子;电镀废水

中图分类号:O658

文献标识码:A

文章编号:1000-8713(2012)08-0827-05

Trace analysis of heavy metal ions in electroplate waste water by capillary electrophoresis with visual offline sample stacking via moving neutralization boundary

FAN Yinping^{1,2}, LI Shan^{1*}, FAN Liuyin^{2*}, CAO Chengxi²

(1. School of Bioscience and Bioengineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China;

2. School of Life Science and Biotechnology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

Abstract: A moving neutralization boundary (MNB) was developed as a novel model of visual offline sample stacking for the trace analysis of heavy metal ions (HMIs) by capillary zone electrophoresis (CZE). In the stacking system, the motion direction of MNB to cathode was used with 2.1 mmol/L HCl-98 mmol/L KCl-trace metal ions in the anodic solution and 4.0 mmol/L NaOH-96 mmol/L KCl in the cathodic solution. The voltage was constant at 180 V and the flow rate of the anolyte and catholyte was 1 mL/min. The metal ions in the gel after stacking were detected by capillary electrophoresis. The calibration curves showed good linear relationship ($r \geq 0.9985$) in the concentration range used in the experiments. The pre-concentration factors were up to 80 - 150 and the limits of detection (LODs) were 0.163, 0.256, 0.077, 0.153, 0.203, 0.062 and 0.142 mg/L for Cu(II), Zn(II), Ni(II), Mg(II), Ca(II), Cr(III) and Fe(III), respectively, obviously lower than the national standards. The intra-day and inter-day assay precisions were good (the relative standard deviations (RSDs) less than 7.42%). Finally, the developed method has been successfully used for the stacking and the detection of heavy metal ions in electroplate waste water.

Key words: capillary zone electrophoresis (CZE); moving neutralization boundary; sample stacking; trace analyses; heavy metal ions; electroplate waste water

* 通讯联系人: 李 杉, 副教授, 硕士生导师, 主要研究方向为生物化学与分子生物学. E-mail: shanli@sctu.edu.cn.

樊柳荫, 副教授, 硕士生导师, 主要研究方向为生物分离与分析. Tel: (021)34205820, E-mail: lyfan@sjtu.edu.cn.

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(21035004).

收稿日期: 2012-04-01

环境污染的危害越来越引起人类的关注。在各种环境公害中,重金属污染引起的疾病不胜枚举,如日本水俣病是由甲基汞中毒所致,日本富山市骨痛病是由炼锌厂排出的废水中带来的痕量镉的污染所致^[1]。因此,痕量重金属的检测具有重要的意义。

金属的分析分离检测方法很多,如原子吸收光谱法(AAS)^[2]、原子荧光光谱法(AFS)^[3,4]、电感耦合等离子质谱法(ICP-MS)^[5-7]、离子色谱法(IC)^[8,9]和免疫测定法^[10]等。这些方法因存在操作过程繁杂费时、所需样品量大、检测灵敏度较低、费用过高等问题使得其应用有限。

毛细管电泳法(CE)是一种简单、高效的分离分析技术,目前已广泛应用于各种金属离子的分离与检测^[11-13]。然而,由于该方法存在样品进样体积小、光程短等问题,导致其检测灵敏度较低。2003年,Terabe等^[14,15]发展了乙二胺四乙酸(EDTA)扫集技术用于提高CE检测重金属离子的灵敏度。Yan等^[16]于2004年建立了浊点萃取预浓缩-CE分析重金属离子的方法。2005年,Tan等^[17]利用场放大进样技术大幅度提高了重金属离子的检测灵敏度。2006年,Petr等^[18]将等速电泳方法用于CE分析中重金属离子的富集。近来,Gutz等^[19]发展了电化学富集检测痕量重金属离子的方法。Kuban等^[20]提出了电隔膜萃取-CE检测痕量重金属离子的方法。

近年来,Cao等^[21-29]提出了系统的移动反应界面(MRB)的概念、理论和方法。其中的移动中和界面(MNB)的概念^[24,29]不仅可以应用于等电聚焦、滴定这些基础研究^[21,24,28,30],还可应用于提高CE检测痕量酸性的^[31,32]、两性的(多肽和蛋白质)^[32,33]和碱性的^[32,34]物质的灵敏度。2012年,Cao等^[35]利用MNB建立了一种可视化的离线富集金属离子的新技术,并阐明了其富集机理。本文在文献^[35]的基础上,对该富集技术进行了方法验证并将其应用于电镀废水中金属离子的检测,成功实现了废水中6种金属离子的富集和检测,富集倍数达80~150倍。该方法直观、简单、操作成本低,可用于废水中痕量重金属离子的定性、定量检测。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂及溶液

本实验所用预富集装置为实验室自制,该装置详见文献^[24]。装置的实物图如图1所示。蠕动泵(HL-2,上海嘉鹏科技有限公司)分别将阳极电解液和阴极电解液泵入到凝胶管阳极端和阴极端以及阳

极电极管和阴极电极管中,电极管中的电极通过导线与直流电源相连。电场由DYY-4C型电泳仪电源(北京六一仪器厂)提供。凝胶管的上方固定一高分辨率数码照相机以记录界面移动和颜色变化。CE分析在P/ACETM MDQ CE系统(Beckman Coulter Co., USA)上进行,所用毛细管为长61.2 cm,有效长度51.2 cm,内径75 μm (河北永年光谱仪器有限公司)。

图1 MNB离线富集重金属离子装置实物图

Fig. 1 Photo of the device used for the stacking of heavy metal ions via moving neutralization boundary

1. anolyte tank; 2. catholyte tank; 3. peristaltic pump; 4. white light plate; 5. direct-current power supply; 6. digital camera; 7. electrode; 8. useless water tank; 9. glass tube; 10. four-way-pipe.

Na_2EDTA 、 NaOH (优级纯,GR)、 NaAc 、 HCl (GR)、 KCl (GR)、 $\text{C}_6\text{H}_5\text{-COOH}$ 、邻苯二甲酸氢钾(PT)和无水乙醇购自上海化学试剂公司。中性红(生物染色剂,BS)、琼脂糖(生化试剂级,BR)、 $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 CaCl_2 、 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 购于国药集团化学试剂有限公司。 HAc 购自上海凌峰试剂化学试剂有限公司。未标记试剂均为分析纯(AR)。超纯水由商业超纯水系统(SG Wasseraufbereitung und Regenerierstation GmbH, Germany)过滤得到。

凝胶电泳富集实验所用溶液:(1)金属离子标准溶液:50 mmol/L CuCl_2 , 100 mmol/L NiCl_2 , 200 mmol/L ZnSO_4 , 500 mmol/L CaCl_2 , 500 mmol/L MgCl_2 , 100 mmol/L FeCl_3 , 30 mmol/L CrCl_3 , 1 mol/L NaOH , 1 mol/L HCl 和2 mol/L KCl 母液,其中 NaOH 和 HCl 溶液的浓度在使用之前需进行滴定,其他溶液在使用前稀释至所需浓度。(2)琼脂糖凝胶溶液:1%琼脂糖-4.0 mmol/L NaOH -96 mmol/L KCl -一滴0.1%中性红溶液。(3)阴极电

解液:4.0 mmol/L NaOH-96 mmol/L KCl。(4) 阳极电解液:有两种,第一种用于方法验证,其组成为 2.1 mmol/L HCl-相应浓度的金属离子溶液-相应浓度的 KCl 溶液,离子强度为 100 mmol/L;另一种用于实际电镀废水经 5 倍体积稀释后样品的富集,其配制方法为 5 倍体积稀释的电镀废水用 1 mol/L HCl 调 pH 至 2.67,离子强度为 100 mmol/L。

金属离子 EDTA 配合物标准溶液:50 mmol/L EDTA-40 mmol/L 乙酸-乙酸钠溶液 (pH 5.37)-10 mg/L 苯甲酸(内标)-不同浓度的不同金属离子溶液 (0.08、0.1、0.3、0.5、0.8、1.0 和 2.5 mmol/L $[\text{Cu-EDTA}]^{2-}$, 0.2、0.5、0.8、1.0、2.0、4.0 和 6.0 mmol/L $\text{Zn}(\text{II})$, 0.05、0.08、0.1、0.3、0.5、0.8、1.0 和 2.0 mmol/L $\text{Ni}(\text{II})$, 0.3、0.5、0.8、1.0、3.0、6.0、9.0 和 12.0 mmol/L $\text{Ca}(\text{II})$, 0.3、0.5、0.8、1.0、2.0、4.0、6.0 和 8.0 mmol/L $\text{Mg}(\text{II})$, 0.01、0.02、0.05、0.1、0.5、1.0、1.5 和 2.0 mmol/L $\text{Cr}(\text{III})$, 0.1、0.3、0.5、0.8、1.0、2.0、4.0 和 6.0 mmol/L $\text{Fe}(\text{III})$)。

1.2 实验

1.2.1 移动中和界面富集重金属离子

先在玻璃管内注入上述配制好的琼脂糖凝胶溶液。连接管路,固定刻度尺在凝胶玻璃管下方,将阴极电解液和阳极电解液通过蠕动泵注入至玻璃管的两端。施加 180 V 电压后,每隔相应时间用数码相机和刻度尺记录界面移动的距离。

1.2.2 CE 标准曲线

为了对富集前和富集后废水中金属离子进行定量,以便计算富集倍数,制作了 7 种金属离子的标准曲线。先用 50 mmol/L EDTA-40 mmol/L 乙酸-乙酸钠溶液 (pH 5.37) 冲洗毛细管,然后将上述配制好的金属离子 EDTA 配合物标准溶液进样 ($3\,447.38\text{ Pa} \times 5\text{ s}$)。毛细管两端电压为 -25.9 kV ,检测波长为 200 nm,毛细管温度设置为 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

1.2.3 富集后凝胶中金属离子浓度的测定

为了确定富集后凝胶中金属离子的浓度,实验结束后迅速将琼脂糖凝胶从玻璃管中取出,加入 50 mmol/L EDTA-40 mmol/L 乙酸-乙酸钠溶液 (pH 5.37) 及适量的 100 mg/L 苯甲酸(苯甲酸最终质量浓度为 10 mg/L) 加热溶解,最后定容至凝胶体积的 10 倍,然后进行 CE 检测。

1.2.4 样品预处理

电镀废水取自上海某电镀公司,预处理方法为用 4 层滤纸过滤除去颗粒状物质,并用超纯水稀释至 5 倍体积。

2 结果与讨论

2.1 痕量重金属离子的富集

在文献^[35]中,本研究组已成功建立了利用 MNB 实现金属离子可视化离线富集技术,并对其富集机理进行了探讨,实验结果证实了该技术可实现金属离子的有效预浓缩,但还未用于实际样品测定。本研究中,将该技术用于电镀废水中金属离子的预富集和 CE 检测。图 2 为稀释至 5 倍体积的电镀废水的预富集图。当加上 180 V 电压后, OH^- 带负电荷向阳极移动,金属离子带正电荷移动方向和中和界面一致,向阴极移动并与 OH^- 相遇生成沉淀和沉淀界面 (MPB)。而生成的沉淀又被阳极电解液中向阴极移动的 H^+ 溶解从沉淀中释放出来。释放出来的金属离子又会与 OH^- 相遇生成沉淀,金属离子以游离状态和沉淀状态循环存在,通过控制中和界面的速度,金属离子在中和界面处堆积,从而达到富集痕量重金属离子的目的。图 2 中,电镀废水中的金属离子通过该技术可有效富集,且金属离子富集时间越长,沉淀的颜色越深,其富集倍数越高,这与文献^[35]的结论吻合。

图 2 5 倍体积稀释的电镀废水的富集图

Fig. 2 Experiments on continuous stacking of the electroplate waste water after 5 times diluted by MNB system

Experimental conditions: 6–7 mA of constant current; 180 V of constant voltage; 1.0% agarose gel in the tube; 150 mm $\times$ 3.6 mm glass tube; 1.1 mL/min of flow rate of the anolyte and catholyte. The symbols “+” and “-” indicate the anode and cathode respectively.

为了测定富集后凝胶中金属离子的浓度,将图 2 中 162 min 时的褐色部分切胶,按 1.2.3 节方法处理,再用 CE 测定其中金属离子的浓度。图 3 为所切胶 10 倍体积稀释液的 CE 谱图,表明经 MNB 预富集后,CE 可检测到 6 种金属离子。图 4 为电镀废水 5 倍体积的稀释液直接进样进行 CE 分析的谱图,图 4 中仅有电镀废水中浓度最大的 $\text{Ca}(\text{II})$ 的峰出现。对比图 3 与图 4 可见经 MNB 金属离子得到了有效富集,其不足是经 MNB 预富集后未检测到 $\text{Ca}(\text{II})$, 原因可能是废水经稀释后 $\text{Ca}(\text{II})$ 浓度仍然很高,导致沉淀部分较宽,而 $\text{Ca}(\text{II})$ 位于沉淀部

分的最右端,导致切胶的时候未能将该部分切进去(切胶部分过宽会降低其他金属离子的富集倍数,所以要控制所切胶的宽度)。

图 3 10 倍体积稀释的 MNB 凝胶样品液的 CE 谱图
Fig. 3 Electropherogram of 10 times diluted gel sample obtained by MNB system

Conditions: background buffer, 40 mmol/L HAc-NaAc (pH 5.37); sample injection, 3447.38 Pa×5 s; separation voltage, -25.9 kV; detection wavelength, 200 nm; capillary, 61.2 cm (effective length 51.2 cm to the detector)×75 μm; temperature, 25 ℃.

图 4 5 倍体积稀释的电镀废水的 CE 谱图
Fig. 4 Electropherogram of the electroplate waste water after 5 times diluted

Experimental conditions were the same as those in Fig. 3.

表 1 7 种金属离子的标准曲线、线性范围、相关系数及其预富集后检出限、日间与日内精密度和富集倍数
Table 1 Calibration curves, linear ranges, correlation coefficients (*r*), limits of detection (LODs), relative standard deviations (RSDs), and stacking efficiencies of 7 metal ions by MNB-induced pre-concentration technique

Metal ion	Calibration curve	Linear range/ (mmol/L)	<i>r</i>	LOD/(mg/L) (<i>S/N</i> = 3)	RSD/%		Stacking efficiency
					Intra-day	Inter-day	
Cu(Ⅱ)	<i>y</i> = 1.156 <i>x</i> + 0.007	0.08–2.5	0.9995	0.163	2.02	7.42	113
Zn(Ⅱ)	<i>y</i> = 0.420 <i>x</i> – 0.020	0.2–4	0.9985	0.256	5.91	2.07	148
Ni(Ⅱ)	<i>y</i> = 3.250 <i>x</i> – 0.067	0.05–2	0.9990	0.077	5.29	4.36	102
Ca(Ⅱ)	<i>y</i> = 1.097 <i>x</i> – 0.141	0.3–12	0.9990	0.153	4.35	4.47	125
Mg(Ⅱ)	<i>y</i> = 0.583 <i>x</i> – 0.002	0.3–8	0.9995	0.203	5.45	5.90	150
Cr(Ⅲ)	<i>y</i> = 16.610 <i>x</i> – 0.081	0.01–1.5	0.9995	0.062	6.43	4.51	77.4
Fe(Ⅲ)	<i>y</i> = 7.598 <i>x</i> – 0.079	0.1–6	0.9995	0.142	6.20	4.50	103

y: ratio of peak area of metal complex (e.g. [Cu(Ⅱ)-EDTA]²⁻) to IS (benzoic acid); *x*: concentration of metal complex (e.g. [Cu(Ⅱ)-EDTA]²⁻), mmol/L.

3 结论

本文建立了一种新的可视化的基于移动中和界面离线富集痕量重金属离子并用 CE 检测的方法。

2.2 方法学验证

对该技术进行方法学验证包括线性、专一性、日间精密度、日内精密度及检出限(LOD)和富集倍数,结果如表 1 所示。在表 1 中 7 种金属离子的标准曲线的线性相关系数均在 0.998 5 以上,日内相对标准偏差(RSD)为 2.02%~6.43%,日间 RSD 为 2.07%~7.42%,这表明所选条件下电泳系统稳定,重复性好。当信噪比(*S/N*)为 3 时,Cu(Ⅱ)、Zn(Ⅱ)、Ni(Ⅱ)和 Cr(Ⅲ)的 LOD 分别为 0.163、0.256、0.077 和 0.062 mg/L,明显低于国家工业废水排放标准(Cu(Ⅱ)、Zn(Ⅱ)、Ni(Ⅱ)和 Cr(Ⅲ)的工厂排放标准分别为 0.5、1.5、0.5 和 1.5 mg/L)^[36,37];Fe(Ⅲ)的 LOD 为 0.142 mg/L,明显低于国家生活饮用水标准中的 0.3 mg/L 规定^[38];Ca(Ⅱ)和 Mg(Ⅱ)的 LOD 分别为 0.153 和 0.203 mg/L,明显低于国家生活饮用水标准中 Ca(Ⅱ)和 Mg(Ⅱ)的总值不超过 450 mg/L 的规定^[38]。经 MNB 系统富集后,金属离子的富集倍数可以达到 80~150 倍,富集倍数为预富集后凝胶中金属离子浓度除以富集前用 CE 所测电镀废水中金属离子浓度乘以稀释体积倍数。

2.3 其他

增加凝胶电泳时间和 CE 进样量可以进一步降低 LOD,但是凝胶电泳时间的增加,会导致界面变形,不利于凝胶的切割,会进一步降低实验的精密度;增加 CE 进样量,会导致峰形变宽,分辨率降低,所以最终还是采用文中所用条件。综上所述,该方法具有很好的专一性和精密度,可用于实际样品的富集检测。

该方法新颖、操作简便、富集倍数高,其精密度令人满意。可以与 CE、原子吸收光谱和电感耦合等离子质谱联用,从而进一步提高检测灵敏度。当然,该方法仍存在着一些不足之处,如富集时间太长、通量

太低等,以上不足之处可以通过建立高通量的 MNB 富集装置得以改善。此外,所得金属富集区域凝胶体积太小,对于一些样品用量比较大的分析技术略显不足,因此建立一种能够在短时间内得到较大体积的金属富集区域的 MNB 富集装置很有必要。

参考文献:

- [1] Bishop P L. Pollution Prevention: Fundamentals and Practice. Boston: McGraw Hill Co., Inc., 2000
- [2] Li Y, Yin X B, Yan X P. Anal Chim Acta, 2008, 615: 105
- [3] Shang X H, Zhao Y F, Zhang L, et al. Chinese Journal of Chromatography (尚晓红, 赵云峰, 张磊, 等. 色谱), 2011, 29(7): 667
- [4] Li F, Wang D D, Yan X P, et al. J Chromatogr A, 2005, 1081: 232
- [5] Pang Y H, Liu M Y, Liu S Y, et al. Chinese Journal of Chromatography (庞艳华, 刘名扬, 刘淑艳, 等. 色谱), 2011, 29(10): 1027
- [6] Li B H, Yan X P. Electrophoresis, 2007, 28: 1393
- [7] Zhao Y Q, Zheng J P, Yang M W, et al. Chinese Journal of Chromatography (赵云强, 郑进平, 杨明伟, 等. 色谱), 2011, 29(2): 111
- [8] Jo S H, Lee S Y, Park K M, et al. J Chromatogr A, 2010, 1217: 7100
- [9] Niu L Y, Shen Z G. Chinese Journal of Chromatography (牛立元, 沈振国. 色谱), 2009, 27(6): 829
- [10] Wylie D E, Lu D, Carlson L D, et al. Proc Natl Acad Sci USA, 1992, 89(9): 4104
- [11] Tang M H, Tu C Y, Tao Y, et al. Science and Technology of Food Industry (唐美华, 屠春燕, 陶燕, 等. 食品工业科技), 2011(2): 336
- [12] Lau H F, Quek N M, Law W S, et al. Electrophoresis, 2011, 32: 1190
- [13] Shi M, Gao Q Y, Lu Y C, et al. Journal of China University of Mining & Technology (石美, 高庆宇, 陆永超, 等. 中国矿业大学学报), 2011, 40(2): 305
- [14] Quirino J P, Kim J B, Terabe S. J Chromatogr A, 2002, 965: 357
- [15] Isoo K, Terabe S. Anal Chem, 2003, 75: 6789
- [16] Tang A N, Jiang D Q, Yan X P. Anal Chim Acta, 2004, 507: 199
- [17] Tan F, Yang B C, Guan Y F. Anal Sci, 2005, 21: 955
- [18] Petr J, Gerstmann S, Frank H. J Sep Sci, 2006, 29: 2256
- [19] Lopes F S, Coelho L H G, Gutz I G R. Electrophoresis, 2011, 32: 939
- [20] Kuban P, Strieglerova L, Gebauer P, et al. Electrophoresis, 2011, 32: 1025
- [21] Cao C X. J Chromatogr A, 1998, 813: 153
- [22] Cao C X. Acta Chem Scand, 1998, 52: 709
- [23] Cao C X, Zhu J H, Liu H, et al. Acta Chem Scand, 1999, 53: 955
- [24] Cao C X, Fan L Y, Zhang W. Analyst, 2008, 133: 1139
- [25] Fan L Y, Li C J, Zhang W, et al. Electrophoresis, 2008, 29: 3989
- [26] Jin J, Shao J, Li S, et al. J Chromatogr A, 2009, 1216: 4913
- [27] Zhang W, Chen J F, Fan L Y, et al. Analyst, 2010, 135: 140
- [28] Liang H, Chen Y, Tian L J, et al. Electrophoresis, 2009, 30: 3134
- [29] Cao C X, Zhou S L, He Y Z, et al. J Chromatogr A, 2000, 891: 337
- [30] Yang Q, Fan L Y, Huang S S, et al. Electrophoresis, 2011, 32: 1015
- [31] Breadmore M C, Mosher R A, Thormann W. Anal Chem, 2006, 78: 538
- [32] Breadmore M C, Thabano J R E, Dawod M, et al. Electrophoresis, 2009, 30: 230
- [33] Cao C X, Zhang W, Qin W H, et al. Anal Chem, 2005, 77: 955
- [34] Breadmore M C, Dawod M, Quirino J P. Electrophoresis, 2011, 32: 127
- [35] Fan Y P, Li S, Fan L Y, et al. Talanta, DOI: 10.1016/j.talanta.2012.03.045
- [36] GB 25467-2010
- [37] GB 25466-2010
- [38] GB/T 5749-2006