

液晶材料在化学与生物传感器中的应用

周瑾艳, 谭慧, 杨胜园, 吴朝阳*

(湖南大学化学化工学院, 化学生物传感与化学计量学国家重点实验室, 湖南长沙 410082)

摘要: 液晶分子是介于液态和晶态之间一种高分子有序材料, 有不完整的取向长程有序性和位置有序性。研究者们把这种光学特性应用到生物传感领域, 开辟了新型的传感技术—液晶生物传感器。该文综述了液晶分子的特性和基于液晶分子作为“敏感元件”的化学和生物传感器研究进展。液晶分子的这种新应用, 对发展快速、简单的生物传感器, 有可预见的良好前景。

关键词: 液晶分子; 取向有序; 化学生物传感器

Liquid crystal applied in chemical sensors and biosensors

Zhou Jin-yan, Tan Hui, Yang Sheng-yuan, Wu Zhao-yang*

(State Key Laboratory of Chemo/Biosensing and Chemometrics, College of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China)

Abstract: As a state of matter that has properties between those of a conventional liquid and those of a solid crystal, liquid crystal (LC) has an incomplete long-range order of orientation and position of orderliness. The researchers have applied LC to the biosensing field, opened up a new type of sensing technology – liquid crystal sensing technology. In this article, we reviewed the characteristics of LC and the most recent discovery of their use as "sensing elements" in chemical sensors and biosensors. This new application of LC as tools in the development of fast and simple biosensors is envisaged to gain more importance in the foreseeable future.

Key words: liquid crystal; orientational order; chemical sensors and biosensors

0 引言

今天,液晶显示器无处不在。手表、计算器、计量器、电脑、电视等的显示器件中都有它的身影。从被偶尔发现到普及应用于电子工业,仅仅数载时光。70年代,集成电路的出现极大地推动了液晶在显示器件中的高速发展。同时,液晶液被成功应用到温度传感器、水流计、压力分布计等计量仪表中。作为特殊的“敏感元件”,液晶分子近年来也被引入传感器领域,尤其是生命科学研究中,用于构建液晶生物传感器,初露锋芒。

1 液晶分子概述

1.1 液晶分子的发现

1888年,奥地利科学家Friedrich Reinitzer(1857–1927)在研究中不经意发现了一种奇怪的有机化合物^[1],它有两个熔点。把它的固态晶体加热到145℃时,便熔成带有彩色的液体,只不过是浑浊的,而一切纯净物质熔化时却是透明的。如果继续加热到175℃时,它似乎再次熔化,色彩消失,变成清澈透明的液体。1920年,德国物理学家O.Lehmann(1855–1922)把处于“中间地带”的浑浊液体叫做液晶(Liquid Crystal,简称

LC)^[2]。它好比是既不象马,又不象驴的骡子,所以有人称它为有机界的骡子。液晶自被发现后,人们并不知道它有何用途,直到 1968 年,人们才把它作为电子工业上的材料。

1.2 液晶分子的分类

液晶分子依其排列方式主要分为三种:向列型(nematic)、层列型(smectic)、胆固醇型(cholesteric),如图 1。



图 1 三种液晶分子排列示意图

Fig.1 Schematic arrangement of liquid crystal

的不同,液晶分子也可以分为:热致型液晶(thermotropic)、溶致型液晶(lyotropic)。

热致型:热致型液晶主要根据温度的变化产

向列型:液晶分子长轴方向有序,方向有序的距离约数千埃。

层列型:液晶分子除了方向一致性外,还具有层状结构,层与层之间可以相互移动。

胆固醇型:液晶分子不具层状结构,液晶分子方向沿螺旋轴形成连续扭转的方向变化并与螺旋轴垂直。

除了依分子排列方式分类外,根据生成方法

生不同的液晶相。当温度从低温上升时,固态晶格结构消失而形成分子有序的排列,如图 2。

溶致型:溶致型液晶存在于溶液体系中,当



图 2 热致型液晶随温度排列示意图

Fig.2 Schematic arrangement of thermotropic liquid crystal with the temperature

溶质与溶剂在适当的比例时,双亲性溶质在溶剂中形成特殊的排列结构而产生液晶相,通过改变溶液的浓度以产生不同的液晶相结构。例如十二烷基硫酸钠族的磺酸盐等的肥皂水溶液均具有液晶性,当肥皂水溶液浓度高时,则会出现多种双折射性的中间相,可粗分浓度低时出现 Middle 相(又称 Hexagonal 相),及浓度高时的 Lamella 相(又称 Neat 相),如图 3。

1.3 液晶分子特性

液晶分子是介于液态和晶态之间一种高分子有序材料,有不完全的取向长程有序和位置有

序,既有液体一样的流动性,也有类似晶体的各向异性。其主要特性就是光学各向异性,或称双折射性(birefringence),即:自然光通过偏振片变成线性偏振光,当线性偏振光通过各向异性的液晶后,发生双折射分解为寻常光(O-ray)和异常光(E-ray),寻常光的偏振方向垂直其前进方向和光轴构成的平面并与波阵方向平行,异常光的偏振方向平行于前进方向和光轴构成的平面并与波阵方向平行(图 4)。

液晶分子的折射率为 n_e 和 n_o , n_e 定义为偏振方向与液晶光轴方向相平行时所测得的折射率;

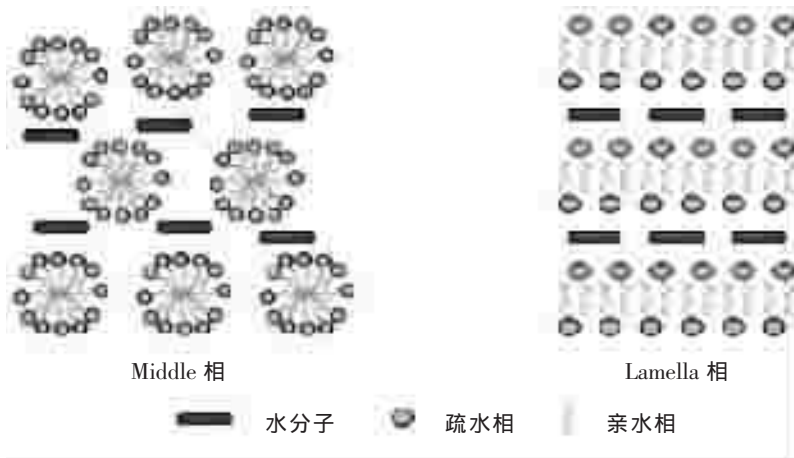


图 3 肥皂水溶液形成的溶致型液晶分子排列示意图
Fig.3 The arrangement diagram of lyotropic liquid crystal formed soap solution

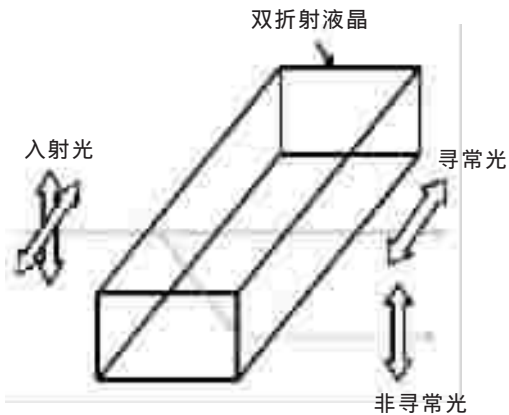


图 4 入射光进入双折射晶体中发生偏光示意图
Fig.4 Incident was polarized into the birefringent crystal

n_o 定义为偏振方向与液晶光轴方向相垂直时所测得的折射率,一般定义液晶折射率异向性 $\Delta n = n_e - n_o$ 。若 $n_e > n_o$, 则 $\Delta n > 0$, 此时将液晶称为正型液晶;若 $n_e < n_o$, 则 $\Delta n < 0$, 此时将液晶称为负型

液晶(如图 5)。

若光是斜向入射,则其折射率(n_{eff})符合下列公式:

$$\frac{1}{n_{eff}^2(\theta)} = \frac{\cos^2\theta}{n_o^2} + \frac{\sin^2\theta}{n_e^2}$$

其中, θ 为入射光与液晶光轴的夹角, 因而, 不同方向的入射光, 对双折射的液晶介质, 就会有不同的折射率, 相对来说也会有不同的相位延迟($\Delta\varphi$):

$$\Delta\varphi = \frac{2\pi}{\lambda} \int (n_{eff} - n_o) dz$$

通过不同的相位延迟参数改变达到入射光偏振状态, 在检偏片调节下可使入射光穿过或不穿过检偏片形成亮态或暗态。

1.4 液晶配向的方法

液晶生物传感器原理主要是基于上述液晶分子的特性, 通过处理基底诱导液晶发生向列变

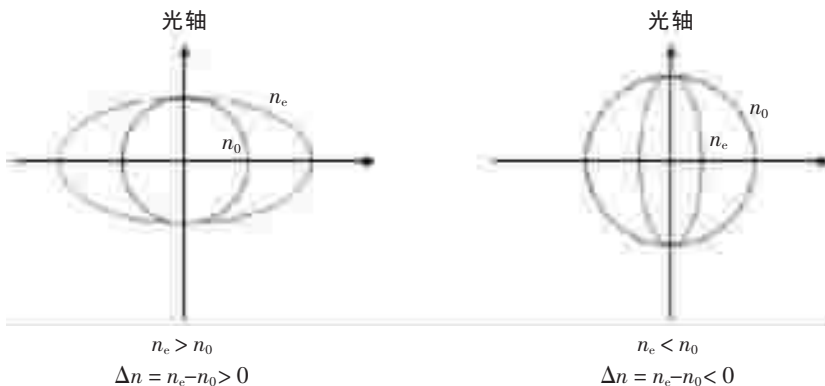


图 5 液晶的双折射率异向性图
Fig.5 The birefringence of liquid crystal anisotropy

化,调变偏光图像亮暗强度。因此,内部液晶分子的排列结构,直接影响传感器的性能,而要控制液晶分子排列的好坏,则取决于液晶配向技术^[3]。液晶配向主要是利用基板表面的配向处理,形成薄膜的配向层,并借由液晶分子间的范德华力、偶极间引力、氢键等相互作用力^[4],使得液晶分子呈现有序排列。

液晶生物传感器的研究中,使得液晶分子排列整齐的配向方法主要有两种^[5~6]:物理方法:即摩擦配向法(也是构建液晶显示器件的主要方法)和化学法。

1. 摩擦法(rubbing)是传统的液晶配向方法。原先平滑的表面经摩擦后产生定向的沟槽或刮痕,液晶分子在沟槽诱导下按一定方向排列,而达到配向效果,液晶长轴排列方向平行于摩擦方

向^[7~8]。这种方法操作简单,技术成熟,使用范围广,可连续生产。但这种传统的摩擦法也存在如静电干扰、摩擦绒布掉毛、灰粒吸附等不足,这些都将严重影响配向效果。

早在 1995 年, Kim 等^[9]利用扫描原子力显微镜(SFM)研究了摩擦配向过程。研究发现,随着摩擦强度(rubbing strength, RS)的增强,所获得的沟槽越深(如图 6)。同年, Huang^[10]也研究发现了通过摩擦烷基链的聚酰亚胺膜能有效诱导液晶分子整齐排列。随后, Abbott 小组^[11]用机械摩擦法使 BSA 组装膜诱导液晶分子排列,而构建良好的 BSA 液晶传感器。在此基础上,该小组^[12]又研制出 IgG 液晶传感器,液晶分子在摩擦后的 BSA 膜上成有序排列,通过交联剂作用,交联上 IgG 后,打乱了液晶的有序性,而达到检测 IgG 的效果。

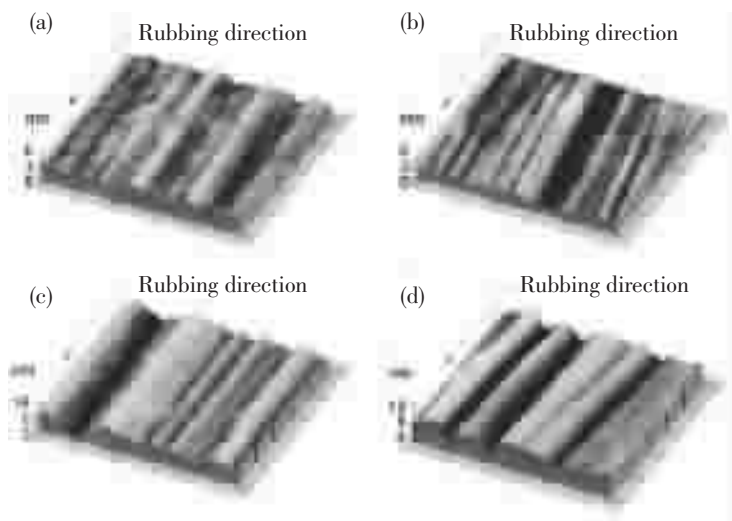


图 6 不同摩擦强度下摩擦基底的 SFM 图像^[9]

Fig.6 A sequence of SFM images showing the effect of increasing rubbing strength (RS)^[9]

此小组的一系列研究成果开启了液晶生物传感技术的新篇章。

2. 化学法配向制程主要原理在于通过在基底表面构筑有序的纳米沟槽结构,液晶分子在这些纳米结构上有序排列。文献报道的基底修饰方法有:喷金法^[13~14],DNA 杂交法^[15~16],分子印迹法^[17~18],分子组装法^[19~24](单分子组装、混合分子组装)等。

喷金法:通过在干净玻片基底上有角度地喷射一层金(如图 7),金膜在基底上成波浪状分布,峰高大小分布在 2~100 nm 范围内。液晶分子在

这种特殊表面呈有序分布。通过自组装将生物分子固定在这种起伏的表面,生物分子有效埋埋起伏的金膜,而使液晶出现偏光现象,达到检测生物分子的目的。

DNA 杂交法:这种修饰方法主要借助 DNA 杂交前后的组装密度的变化。单链 DNA(ss-DNA)修饰的基底表面,组装密度小,液晶分子(15~20 Å)在与 ss-DNA(68 Å)空间相互作用下,整齐排列。这时,ss-DNA 充当着液晶垂直配向膜(如图 8a)。然而,当 DNA 杂交后,分子组装密度增大,DNA 分子自由空间减小,渗透到其间的液

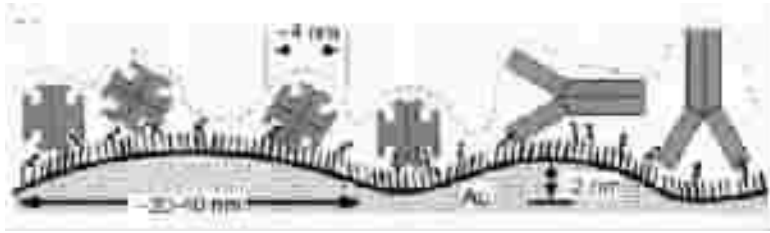


图 7 波浪状金膜上组装生物分子诱导液晶排列^[13]

Fig.7 Schematic illustration of the change in surface roughness caused by the binding of biomolecules to ligands hosted within a SAM of molecules supported on a gold film^[13]

晶也减少,这就实现了液晶从垂直到平行排列的转化(图 8b)。

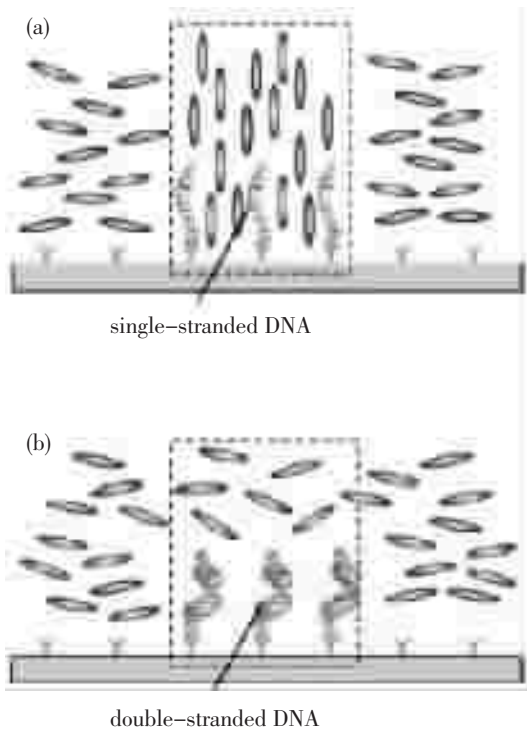


图 8 DNA 杂交对液晶取向排列的影响^[15]

Fig.8 The effect of DNA hybridization to liquid crystal orientation^[15]

分子印迹法:分子印迹法是基于模板分子(印迹分子)与聚合物单体接触时形成多重作用点,通过聚合过程这种作用就会被记忆下来,当模板分子除去后,聚合物中就形成了与模板分子空间构型相匹配的具有多重作用点的空穴,这样的空穴将对模板分子及其类似物具有选择识别特性^[17]。Abbott 小组^[18]借用这种原理,在基底表面印迹免疫结合物,使表面成间隔空腔结构。如图 9 所示,在凹槽型模板上固定生物素标记的 BSA,再与抗-BSA 的 IgG 免疫结合后,印迹到金

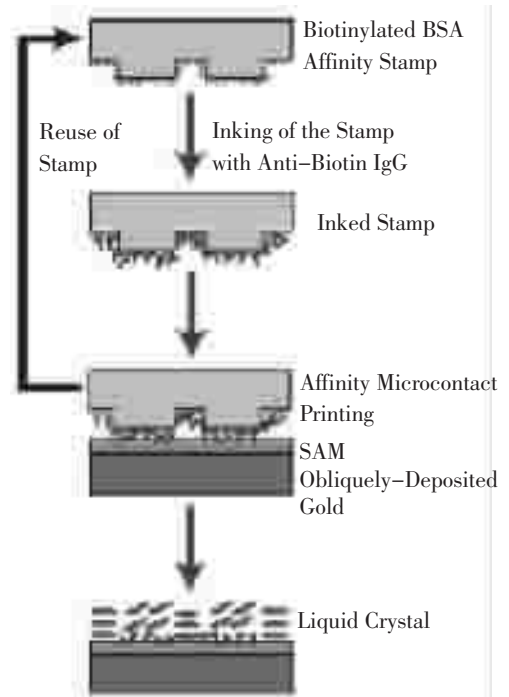


图 9 分子印迹-液晶传感器原理^[18]

Fig.9 The principle of Molecular Imprinting - Liquid Crystal Sensors^[18]

表面,基底表面形成凹槽结构,液晶在这层印迹膜上定向排列。

分子组装法:通过对基底组装本身对液晶有诱导效应的有机分子,以达到配向效果。这些分子有些单独使用即可达到配向作用,如 DMOAP (N,N-二甲基-N-十八烷基-3-氨基三甲基硅烷)^[19~22];而有些则需要不同分子混合组装^[23~24]。DMOAP 结合到玻片基底后,有一条长链状的烷基链,此结构使得液晶分子依长链状方向排列,而成垂直配向结果。利用此方法构建 DNA 液晶传感器,此方法取得良好的信噪比,并具有 DNA 无损性。

Shah 等^[23]通过不同 pH 的硅烷试剂修饰液

晶盒的上下玻片,使得液晶在不同 pH 下呈现不同的排列方式。研究发现,液晶在 $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{10}\text{SH}$ 修饰的基底上,平行于金沉积表面,而在 $\text{HO}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_{10}\text{SH}$ 修饰的基底,垂直与基底表面。他们推测这是由于随着基底修饰膜 pH 的增加,液晶分子与羧基的氢键作用受到抑制,而造成液晶排列方式的改变。

2 液晶生物传感器在生命科学中的应用

液晶分子作为一种良好的敏感材料,是基于它对外界刺激物(如电场或磁场)的快速反应。而且,由于各向异性,有序排列的液晶会被引入的抗体分子或细胞打乱。而这种排列上的变化可通过光学信号传达,初始状态的任何变化与引入物的性质和浓度有关,这正是液晶可用于生物传感器的原理。

由 1.2 可知,液晶可分为热致型液晶(如 5CB)和溶致型液晶。热致型液晶用于生物传感器中,其优势在于能与小分子(如蛋白质)兼容,但不能在水相中进行。此外,热致型液晶具有一定的毒性。溶致型液晶虽然无毒,且能与水兼容,但操作困难且只能用于大分子检测,如整个细胞。

2.1 免疫分析

早在 1998 年,Abbott 与合作者开辟了液晶用于检测生物分子的新领域^[13]。在随后的报道中,Abbott 小组研究了关于金-硫醇自组装膜对液晶锚定作用^[25]。研究旨在确定能否通过液晶 5CB 排列的扰乱程度来定量结合的 IgG。5CB 在 24 °C~35 °C 范围内表现出液晶特性,在液晶生物研究领域,被最常使用。IgG 结合在自组装膜上,两片修饰有自组装膜的基底玻片面对面地组成液晶盒,中间留有约 10 mm 的间隙。5CB 加热到液态,通过毛细管作用力被注射到液晶盒中,待冷却到液晶相,即可用偏光显微镜观察它的偏光信号。实验证实了结合的蛋白质与液晶偏光信号之间的联系,为后来的液晶传感器用于定量检测生物分子奠定了基础。

上述研究结果也间接证实了同一实验小组 2001 年的报道^[26]。通过摩擦 BSA 标记的生物素膜,产生纳米微结构,对 5CB 起定向作用。这种配向方法为 BSA 标记的生物素与其抗生物素 IgG 之间的免疫反应提供一种良好的检测手段。低

浓度的 IgG 对液晶均一排列产生轻微的扰乱,而高浓度时,扰乱程度加大,也就表明,液晶受扰乱程度与结合 BSA 的 IgG 量有关。该小组进一步研究发现^[24],如同基底表面形貌对于 5CB 的影响,IgG-抗体复合物对液晶 5CB 的响应取决于该复合物的结构。然而,根据一定的结构,对 IgG-抗体复合物进行结构修饰会限制 5CB 定向排列的能力。

2.2 蛋白质分析

Luk 等^[27-28]精心设计了优良的组氨酸激酶液晶传感器。在三(乙二醇)烷基硫醇修饰的基底上固定 His-tag MEK 酶,捕获抗-MEK IgG 与之结合,免疫蛋白复合物修饰的基底改变液晶排列状态,实现对 His-tag MEK 酶的检测。在他们随后的研究中又发现了一有趣的事实:5CB 的光学信号与蛋白质共价键合在金表面的排列状态有关。

Guzman 2005 年研究了在液晶溶液中随机分散和有序分布的纳米颗粒对其影响^[29]。对于高浓度的纳米粒子,各向异性的液晶 5CB 保持了单域取向,但对周期性吸附的纳米粒子则不尽相同。这些纳米级粒子大小与蛋白质和病毒分子相当。此研究通过正交偏光状态下的偏光图像确定了纳米颗粒对液晶畴结构的影响。由此,也考察了液晶生物传感器的敏感性。

传统的蛋白质分析主要依靠于紫外和可见吸收光谱分析。Xue 和 Yang^[30]报道了一种准确、可靠的液晶蛋白分析法。该方法可用于检测浓度非常低的 IgG, BSA, 抗 IgG 的 FITC 和抗生物素的 FITC (5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 6.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 0.37 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。但是这种方法只能提供一个简单的肯定或否定的回答。

2.3 核酸分析

Kim 和合作者们研究了 DNA 芯片上 DNA 杂交所引起液晶向列变化^[15]。该小组证实了 DNA 杂交引起 5CB 各向异性的变化通过肉眼可测。Lai 等的研究开启了 DNA 无损检测的大门^[19]。他们在 TEA/DMOAP 修饰的基底表面,制成 DNA 芯片。DNA 即可诱导液晶 5CB 发生向列变化,偏光图像由黑暗转为明亮,且 DNA 固定区和无 DNA 区现象差别显著。更重要的是,该方法不会破坏固定上的核酸链,将液晶溶液清洗掉,DNA

单链仍可与目标链杂交,通过荧光信号可证明。Andrew 和 Daniel 结合了阳离子表面活性剂(OTAB),构建了 DNA 液晶传感器^[16]。通过二次诱导,实现对 DNA 的低浓度检测,检测下限可达 50 fmol,且能很好的区别一个碱基错配的 DNA。

2008 年, Lockwood^[31]报道了单分子磷脂在液晶-水相界面中的特殊作用。寡肽聚合膜在液晶-水相界面,有选择的实现磷脂的传递。从液晶 5CB 的光学定向信号即可看出水相到液晶相的传递。据此推断,通过酶动力传递特定磷脂,可间接测定酶活力。同小组^[32]也报道了关于在 5CB-水相交界面上的单分子磷脂与蛋白质之间的相互作用。只有特定的蛋白质才能引起 5CB 光学信号的变化。

2.4 溶致型液晶的运用

除了 5CB,研究者们还发现了一种特殊的聚合物分散型液晶—一种溶致型液晶相^[33]。色甘酸磷酸钠盐-DSCG 溶于不同的多羟基水化物中,被水乳胶包裹,呈现表面活性剂性质,与同浓度的热致型液晶相比,双折射性更强。这种聚合物液晶被用于药物传递检测中。

使用热致型液晶时,配体和受体需要在液晶加入前结合,而溶致型液晶则可先让配体与液晶相达到平衡,加入受体后,液晶向列变化。这样使得实验能在生理条件进行(如体液或细胞液中)。

Abbott 小组^[12]2002 年运用月桂酸钾酯/正癸醇和水的混合物制得溶致型液晶,以检测 IgG。2006 年,该小组^[34]在进一步研究中发现一种新的液晶: β -氨基酸的螺旋低聚体。这种短的 β -多肽在水中能构成溶致型液晶,这样大大扩展了液晶生物传感技术的应用领域。Woolverton 的研究^[35]也提出了一种简单、有效的溶致型液晶传感器,用于检测微生物。病原体存在下,免疫复合物的加入打乱了 DSCG 的有序性。这种快速的变化有望实现液晶生物传感技术的在线实时监测。

3 液晶生物传感器的展望

从最初化学家们的好奇发现,到现在液晶显示器的大批量生产,液晶分子引领了现代工业技术的新潮流。同时,它对外界刺激(电场或磁场)的高灵敏性与现代集成电路的高速发展,给电子工业带来一场空前的革命。

随着近年来科学家们对液晶用于生物分析领域的极大关注,液晶似乎又开启了它应用领域的巨大篇章。尽管液晶生物传感器的研究还处于初级阶段,但发展势态良好。在短短一代人的时间里,液晶生物传感器就已被用于病原体检测、重大疾病诊断、基因组学分析等领域。随着科学技术之间的相互渗透,酶联免疫法、SPR、荧光分析等方法与液晶生物传感技术相结合,可以发展更灵敏更快速的传感器,且可望实现液晶传感器的微型化和自动化。便携式液晶传感仪用于疾病诊断可使病人无需在医院漫长的等待,在家即可自我检测。如同对集成电路工业的推动一样,液晶液将给基因组学的发展带来又一次风暴。

参考文献

- [1] 王新久.液晶光学与液晶显示[M].北京:科学出版社,2006.1~20.
- [2] Demus D. 100 Years liquid crystal chemistry[J]. Mol. Cryst. Liq. Cryst.,1988, 165: 45~84.
- [3] Shoichi Ishihara. How far has molecular alignment of liquid crystals been elucidated[J]. IEEE/OSA Journal of display Technology, 2005, 1(1):30.
- [4] Scheidt K A, Johnston J N, Willis M C. Rubbing-Induced Molecular Reorientation on an Alignment Surface of an Aromatic Polyimide Containing Cyanobiphenyl Side Chains[J]. J. Am. Chem. Soc, 2001, 123(12): 5 678~5 776.
- [5] Castellano J A. Surface anchoring of liquid crystal molecules on various substrates[J]. Mol. Cryst. Liq. Cryst., 1983, 94(12):33~36.
- [6] Robert W F, Patel J S. Chemically induced high-tilt surfaces for liquid crystals[J]. Appl. Phys. Lett., 1987, 50 (20):1 426~1 428.
- [7] Berreman D W. Solid Surface Shape and the Alignment of an Adjacent Nematic Liquid Crystal[J].Phys. Rev. Lett., 1972, 28(26):1 683~1 686.
- [8] Berreman D W. Alignment of Liquid Crystal by Grooved Surfaces[J].Mol. Cryst. Liq. Cryst., 1973, 23(26):215.
- [9] Kim Y B, Park S Y, Choi J W, et al. Rubbed polyimide films studied by scanning force microscopy [J]. Appl. Phys. Lett., 1995, 66 (17):2 218~2 219.
- [10] Huang J Y, Li J S, Chen S H. Rubbing-Induced Molecular Alignment on a Rubbed Alkyl-Branched Polyimide Film[J]. Mol. Cryst. Liq. Cryst., 1995, 270(8): 77~84.
- [11] Kim S R, Shah R R, Abbott N L. Orientations of Liquid

- Crystals on Mechanically Rubbed Films of Bovine Serum Albumin: A Possible Substrate for Biomolecular Assays Based on Liquid Crystals[J]. *Anal. Chem.*, 2000, 72(19): 4 646~4 653.
- [12] Kim S R, Abbott N L. Manipulation of the Orientational Response of Liquid Crystals to Proteins Specifically Bound to Covalently Immobilized and Mechanically Sheared Films of Functionalized Bovine Serum Albumin [J]. *Langmuir*, 2002, 18(13): 5 269~5 276.
- [13] Gupta V K, Skaife J J, Abbott N L, et al. Optical Amplification of Ligand-Receptor Binding Using Liquid Crystals [J]. *Science*, 1998, 279:2 077~2 080.
- [14] John A Van Nelson, Seung-Ryeol Kim, Nicholas L Abbott. Amplification of Specific Binding Events between Biological Species Using Lyotropic Liquid Crystals[J]. *Langmuir*, 2002, 18(13): 5 031~5 035.
- [15] Hak-Rin Kim, Jae-Hoon Kim, Tae-Sun Kim, et al. Optical detection of deoxyribonucleic acid hybridization using an anchoring transition of liquid crystal alignment [J]. *Applied Physics Letters.*, 2005, 87 (14): 143 901~143 903.
- [16] Andrew D Price, Daniel K Schwartz. DNA Hybridization-Induced Reorientation of Liquid Crystal Anchoring at the Nematic Liquid Crystal/Aqueous Interface [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, 130(26): 8 188~8 194.
- [17] Haupt K, Mosbach K Mosbach. Molecularly Imprinted Polymers and Their Use in Biomimetic Sensors [J]. *Chem. Rev.*, 2000, 100(7): 2 495~2 504.
- [18] Matthew L Tingey, Sean Wilyana, Edward J Snodgrass, et al. Imaging of Affinity Microcontact Printed Proteins by Using Liquid Crystals [J]. *Langmuir*, 2004, 20(16): 6 818~6 826.
- [19] Siok Lian Lai, Shisheng Huang, Xinyan Bi, et al. Optical Imaging of Surface-Immobilized Oligonucleotide Probes on DNA Microarrays Using Liquid Crystals [J]. *Langmuir*, 2009, 25(1): 311~316.
- [20] Deny Hartono, Wei Jie Qin, Kun-Lin Yang, et al. Imaging the disruption of phospholipid monolayer by protein-coated nanoparticles using ordering transitions of liquid crystals[J]. *Biomaterials*, 2009, 30 (12): 843~849.
- [21] Lelidis I, Öedman C. Influence of substrate nature and growth conditions on the morphology of thin DMOAP films[J]. *Liquid Crystals*, 2003, 30(6): 643~649.
- [22] Karabert M S, Osmanagic E, Musevic I. Surface anchoring of nematic liquid crystal 8OCB on a DMOAP silanated glass surface [J]. *Liquid Crystals*, 2006, 33 (5): 581~585.
- [23] Shah R R, Abbott N L. Using Liquid Crystals To Image Reactants and Products of Acid-Base Reactions on Surfaces with Micrometer Resolution [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 1999, 121(49): 11 300~11 310.
- [24] Skaife J J, Abbott N L. Influence of Molecular-Level Interactions on the Orientations of Liquid Crystals Supported on Nanostructured Surfaces Presenting Specifically Bound Proteins[J]. *Langmuir*, 2001, 17(18): 5 595~5 604.
- [25] Skaife J J, Abbott N L. Quantitative interpretation of the optical textures of liquid crystals caused by specific binding of immunoglobulins to surface-bound antigens [J]. *Langmuir*, 2000, 16(7): 3 529~3 536.
- [26] Kim S R, Abbott N L. Rubbed Films of Functionalized Bovine Serum Albumin as Substrates for the Imaging of Protein-Receptor Interactions Using Liquid Crystals[J]. *Adv. Mater.*, 2001, 13 (19): 1 445~1 449.
- [27] Luk Y Y, Tingey M L, Dickson K A, et al. Imaging the binding ability of proteins immobilized on surfaces with different orientations by using liquid crystals [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, 126(29): 9 024~9 032.
- [28] Luk Y Y, Tingey M L, Hall D J, et al. Using Liquid Crystals to Amplify Protein-Receptor Interactions: Design of Surfaces with Nanometer-Scale Topography that Present Histidine-Tagged Protein Receptors [J]. *Langmuir*, 2003, 19(5): 1 671~1 680.
- [29] Guzman O, Abbott N L, Pablo J J. Quenched Disorder in a Liquid-Crystal Biosensor: Adsorbed Nanoparticles at Confining Walls [J]. *J. Chem. Phys.*, 2005, 122(18): 184 711~184 711-10.
- [30] Xue C Y, Yang K L. Dark-to-bright optical responses of liquid crystals supported on solid surfaces decorated with proteins[J]. *Langmuir*, 2008, 24 (2): 563~567.
- [31] Lockwood N A, Gupta J K, Abbott N L. Self-assembly of amphiphiles, polymers and proteins at interfaces between thermotropic liquid crystals and aqueous phases[J]. *Surf. Sci. Rep.*, 2008, 63(2): 255~293.
- [32] Park J S, Teren S, Tepp W H, et al. Formation of oligopeptidebased polymeric membranes at interfaces between aqueous phases and thermotropic liquid crystals [J]. *Chem. Mater*, 2006, 18(26): 6 147~6 151.
- [33] Simon K A, Sejwal P, Gerech R B, et al. Water-in-Water Emulsions Stabilized by Non-Amphiphilic Interactions: Polymer-Dispersed Lyotropic Liquid Crystals [J]. *Langmuir*, 2007, 23 (3): 1 453~1 458.

[34] Pomerantz W C, Abbott N L, Gellman S H. Lyotropic Liquid Crystals from Designed Helical beta-Peptides[J]. J. Am. Chem. Soc., 2006, 128(27): 8 730~8 731.

[35] Woolverton C J, Gustely E, Lanfang L, et al. Liquid crystal effects on bacterial viability[J]. Liq. Cryst., 2005, 32 (4): 417~423.

《化学传感器》征订启事

《化学传感器》是经国家科委批准,由中国仪器仪表学会主办的专业科技刊物,1981年创刊,国内外公开发行人,国内统一刊号 CN 32-1406/TP,国际标准刊号 ISSN 1008-2298。本刊的主要任务是交流有关化学传感器的研制、理论研究、在各个领域的应用、仪器及与微机联用技术等方面的学术论文、促进化学传感器在各生产科技部门的普及与推广应用。是冶金、地质、卫生防疫、环境保护、食品检验、生理医学、化工、农业、国防、科研、大专院校等一切从事化学分析、工业过程控制与自动检测的科技工作者的理想工具,得力助手。得到了广大化学分析科技工作者及有关大专院校师生的热情支持和好评。

本刊每年出版四期,每期定价 5.00 元、全年 20.00 元(内含邮费),欢迎单位及个人订阅。本刊各期刊物尚有少量库存,需要者可来函补订。

邮局汇款:225500 江苏省姜堰市八二二信箱《化学传感器》编辑部 收

银行汇款:收款单位:江苏江分电分析仪器有限公司(注明汇款用途)

开户银行:中国银行姜堰市支行 帐号:17417408091001

电话:0523-88819706 传真:0523-88819768

http://www.jiangfen.com.cn E-mail:chxj.jy@public.tz.js.cn

本刊已参加“全国非邮报刊联合征订”,并入编《全国非邮发报刊联合征订目录》。联订服务部在国际互联网上的网站现已开通(网址:www.lhzd.com),《联订目录》及本刊均已上网,欢迎上网查阅期刊、下载“电子订单”并订阅期刊。

《化学传感器》编辑部

基于卟啉衍生物的荧光分子探针研究进展

方正辉^{1,2*}, 靳 珍², 万其中^{2*}, 张晓兵²

(1. 岳阳职业技术学院, 湖南岳阳 414000)

(2. 湖南大学化学化工学院, 化学/生物传感与计量学国家重点实验室, 湖南长沙 410082)

摘要: 卟啉(H₂TPP)化合物具有非常好的光学性质,如好的光稳定性,高的荧光量子产率、大的 Stokes 位移、相对长的激发(> 400 nm)和发射(> 600 nm)波长(长的激发发射波长能大大降低背景荧光的影响)等,是一类理想的荧光基团。这些优点使得卟啉及其衍生物适合用做设计新的荧光探针的潜在荧光基团,基于卟啉衍生物的荧光分子探针已成为近期国际分析化学研究热点之一。该文对卟啉衍生物荧光分子探针在生物分子、气体小分子、阳离子、阴离子以及中性分子的分析方面的应用进行简单综述。

关键词: 卟啉; 荧光基团; 荧光探针; 综述

Current development of fluorescent probes based on porphyrin derivatives

Fang Zheng-hui^{1,2*}, Jin Zhen², Wan Qi-zhong^{2*}, Zhang Xiao-bing²

(1. Yueyang Vocational Technical College, Yueyang 414000, China)

(2. State Key Laboratory of Chemo/Biosensing and Chemometrics, College of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China)

Abstract: Porphyrins are attractive candidates of fluorescent probes owing to their good photophysical properties such as strong fluorescence, large Stokes shifts and relatively long excitation (> 400 nm) and emission (> 600 nm) wavelengths that minimize the effects of the background fluorescence. This paper simply reviewed the applications of porphyrin derivatives based fluorescent probes in analysis of biological molecules, gas molecules, cations, anions and neutral molecules.

Key words: porphyrins; fluorophore; fluorescent probes; review

0 引言

荧光分析法具有较高的灵敏度,一般比分光光度法高2~3个数量级,且具有选择性高,方法简便,取样量少等优点,近年来得到迅速发展。可用于测定的无机物、有机物、生物物质和药物等数目剧增,使荧光分析越来越成为分析工作者必须掌握的一种重要的分析手段^[1]。

卟啉化合物广泛存在于自然界的生命体中,如血红蛋白、肌红蛋白、叶绿素、维生素 B₁₂、细胞色素 P-450 等物质都具有卟啉骨架结构。卟啉

(Porphyrin)是卟吩(Porphine)外环带有取代基的同系物和衍生物的总称。卟吩是由4个吡咯环和4个次甲基桥联起来的18 π 电子的大环共轭结构,具有平面分子结构和芳香性,不同的卟吩分子其平面性不同,共轭程度也不同。其结构见图1中的化合物1。从图中可以看出,其结构具有以下几个特点:1)卟吩分子中4个吡咯环的8个 β 位和4个中位(meso-)的氢原子均可被其它基团所取代,生成各种各样的卟吩衍生物,即卟啉^[2]。2)当卟吩环中的两个吡咯上的氢原子被金属离子取代时,形成金属卟啉,现在卟啉几乎与所有的

* 通讯联系人, E-mail: fangzh007@126.com; qizhong123456@yahoo.com.cn

金属离子都能形成配合物,因此,配合物的种类繁多。3)卟啉是两性化合物,其中两个吡咯环上的氮原子可接受质子,又可以给出质子。4)卟吩的骨架是很容易变形的,其分子构型与四个中位(meso-)的取代基有关。卟吩由于没有取代基而近于平面结构,而四取代的卟啉,与其分子平面呈现出不同程度的偏离,如四苯基卟啉(化合物

2)。卟啉若与较大的金属离子形成配合物后,则本来为平面的大环将会发生扭曲。由于卟啉化合物具有上述的光物理特性,它的激发和发射波长均在可见光区,具有较高的摩尔吸光系数,其分子结构易于修饰,且具有较大的 Stokes 位移,这有利于减少荧光背景的影响^[3-4],而且金属卟啉又表现出不同于卟吩的荧光性质,因此,卟啉类

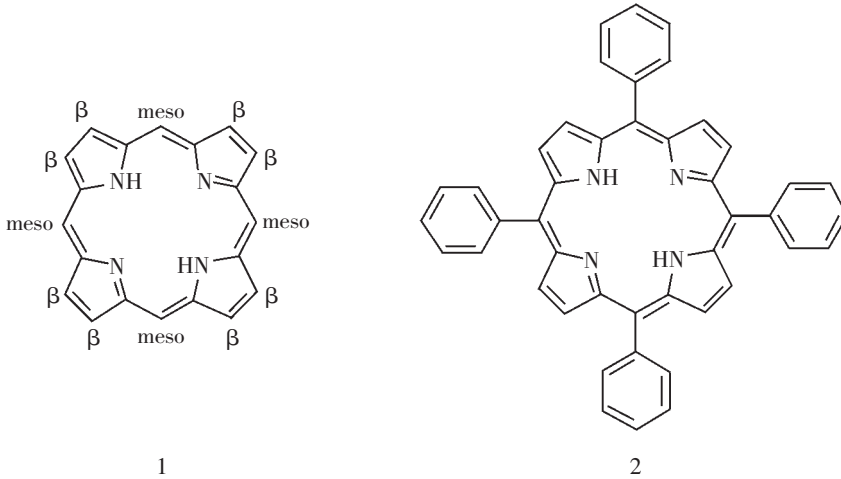


图 1 卟啉的分子结构
Fig.1 Structure of porphyrin

化合物已在荧光传感领域得到了广泛的应用^[5]。

1 卟啉探针用于生物分子的检测

卟啉是生物体内血红蛋白、细胞色素和酶的辅基,具有特殊的生物活性,因此能与氨基酸、核酸和蛋白质等生物大分子相互作用。已有报道卟啉已成功用于部分 DNA、RNA、蛋白质和氨基酸的检测。1996 年, Takahata 小组^[6]利用有些生物分子能把没有荧光的金属卟啉中的金属离子拉出来而发出卟啉荧光现象检测 L-半胱氨酸和谷胱甘肽。在这个基础上, Yang 等^[7]利用一个组氨酸可以络合两个锌卟啉的性质,巧妙设计了一个锌卟啉-苾复合物。利用加入组氨酸前后,分别表现为苾的单体和二聚体荧光性质的不同实现了组氨酸的检测。钿卟啉在除氧条件下能嵌插到双链 DNA 的 GC 富集区后,室温下磷光增强,与时间分辨技术联用,可作为 DNA 检测探针^[8]。Gurrieri 小组^[9]在 1999 年成功地研制出了检测 DNA 分子的新方法,他们把水溶性的四磺酸基卟啉阴离子通过静电作用与带正电的聚赖氨酸组

装成超分子体系,在组装的过程中,卟啉的荧光大大猝灭,而当有 DNA 存在时,带负电的 DNA 分子把卟啉置换出来,使体系荧光恢复。光谱法研究四氨基苯基卟啉和四甲基吡啶基卟啉与核酸的作用表明,卟啉与核酸摩尔比(R)大于 0.25 时,由于超螺旋结构的形成,核酸对卟啉的 Soret 带有减色效应、对荧光有熄灭效应,并增强四氨基苯基卟啉的共振光散射信号,但对四甲基吡啶基卟啉的共振光散射无影响;而当 R 小于 0.25 时,则生成新的荧光复合物^[10],利用此作用,可测定 DNA 和 RNA。2008 年,杨荣华等^[11]利用钴卟啉能够与自由基卟啉形成基态复合物而能够猝灭其荧光而加入能够与钴卟啉强相互作用的蛋白质又能破坏这种复合物的原理,成功用于牛血清蛋白和人血清蛋白的检测。

2 卟啉探针用于气体小分子的检测

卟啉自由碱具有很强的荧光,而金属卟啉的荧光却相对较弱,但恰恰由于金属的引入,使很多含氮、氧、硫等气体小分子能从卟啉平面的上

下两个方向与卟啉环中的金属形成络合物,减弱金属与卟啉的相互作用,从而使卟啉的荧光逐渐恢复,因此可以利用卟啉荧光恢复来检测气体小分子。目前已有报道卟啉荧光探针可用于氧气、氯化氢、二氧化碳、一氧化氮、二氧化氮、氨气等气体的检测。2001年, Richardson等^[12]利用溶胶-凝胶技术包裹四取代卟啉化合物成功实现了对NO₂的检测,与多层LB膜固定方法相比,该方法灵敏度增强了1400%。杨荣华等^[13]报道了全-(2,6-二-O-异丁基)β-环糊精对固定于PVC膜中的meso-四(4-甲氧基苯基)卟啉(TMOPP)有明显的荧光增强效应,且该荧光可被溶液中的CO₂可逆猝灭。TMOPP受紫外光照激发后能发出紫色荧光,但与水溶液中CO₂作用后形成不发荧光的配合物。在pH为9.0条件下与空白溶液和CO₂水溶液接触后的发射荧光光谱(423 nm激发)显示,随着CO₂溶液体积分数的增加,敏感膜的荧光强度逐渐减小,可用于CO₂含量的测定。Amao^[14]小组把四(五氟苯基)铂卟啉固定到聚三氟乙基甲基丙烯酸酯膜中来测氧,该探针不仅响应快速,且稳定耐用。环境要求空气中氯化氢气体的体积分数应在5×10⁻⁶以下,因此,对荧光探针检测限要求较高,目前,检测空气中氯化氢的荧光探针已经取得较大进展。主要采用烷氧基四苯基卟啉和羟基四苯基卟啉作为检测氯化氢的荧光探针。质子化卟啉的荧光性质与自由碱卟啉差别很大,利用这个现象,发展了基于卟啉的氯化氢气体荧光探针,1995年 Nakagawa^[15]把卟啉固定到亲酯性的硅树酯中,制成了对氯化氢气体响应的荧光探针。Baron^[16]和 Smith^[17]也做过类似的工作,成功地检测了大气中氯化氢气体的含量。

3 卟啉探针用于阳离子的检测

荧光法在灵敏度、选择性、检测下限、以及响应时间等方面都远远优于光度法,而且不同金属离子对不同自由碱卟啉的荧光猝灭程度相差较大,因此,基于卟啉的金属阳离子荧光探针得到了广泛的研究。1964年, Fack^[18]根据金属卟啉络合物在Soret带附近摩尔吸光系数可达3×10⁵~5×10⁵,预言了卟啉类化合物作为金属高灵敏试剂的应用前景。其后又有几个小组报道了用不同卟啉衍生物在不同条件下光度法测定Cu²⁺, Pb²⁺,

Cd²⁺等^[19]。即使在荧光法的应用较光度法广泛的今天,仍不时有一些基于卟啉分光光度法测金属离子的报导出现。

卟啉可以与金属阳离子配位形成金属卟啉。而且金属卟啉与自由碱卟啉的吸收光谱和发射光谱又完全不一样,因此,利用不同的卟啉化合物就能直接测定金属离子。翁彦琴等^[20-21]分别设计了对称的四(4-二(2-吡啶基)氨基苯基)-锌卟啉和5-(4-二(2-吡啶基)氨基苯基),5,10,15-三(4-甲氧基苯基)锌卟啉。由于高浓度卟啉与金属卟啉能够自猝灭和二(2-吡啶基)氨基与Cu²⁺2:1络合的特性,铜离子的加入使得荧光探针分子团聚形成网状或线状聚合物,锌卟啉荧光猝灭。张晓兵等^[22]设计合成了一个新的卟啉二聚物,并首次将其用作测定Hg²⁺的光化学传感器的荧光载体,这种卟啉二聚体由于具有两个卟啉环而相对于单卟啉来说对汞离子有更好的荧光响应特性。该传感器对汞离子在较宽的线性范围内有响应,在较宽的pH范围内几乎不受pH的影响,在碱金属离子、碱土金属离子、及常见过渡金属离子存在下对汞离子有非常好的选择性。

文献中已有不少报道利用卟啉的金属化来检测金属离子,但是与开链配体相比,卟啉环的金属化过程比较慢。基于此,张晓兵等利用卟啉仅作为荧光团,设计并合成了含有2-(氧甲基)吡啶的化合物,用作锌离子荧光探针的研究。该探针在无催化剂条件下,通过荧光比率法实现对锌离子的检测^[23]。荧光比率法是通过比较两个荧光发射峰的比率来实现对金属离子的检测的,这样有利于增加响应范围,减少环境因素的影响。2009年,张晓兵等^[24]又设计合成了一个卟啉-萘酰亚胺杂交体的比率性荧光探针用于水相中Hg²⁺的检测及活细胞中Hg²⁺的荧光成像研究。探针的两个荧光基团具有相同的激发波长范围(410~420 nm),不同的发射波长,且两个荧光发射峰之间的位移较宽(125 nm),有效的避免了基于波谱移动的比率型探针常具有的发射峰波谱重叠的缺陷,特别适合用于生物样品(如细胞)中Hg²⁺比率型荧光成像研究。

时至今日,已有报道卟啉可以用于Zn²⁺、Cd²⁺、Li⁺、Cu²⁺、Na⁺、Co²⁺、Pd²⁺、Hg²⁺以及H⁺的检测等。在荧光分析法越来越成熟的今天,人们研制

出对更多金属阳离子有更高选择性和更低检测下限的荧光探针,并将其制作成简易传感器,用于实际样品检测分析。如今,人们多将这些荧光探针用于细胞中某种金属阳离子的检测,进一步与生物结合,逐渐实现在体内检测的现实意义。

4 卟啉探针用于阴离子的检测

金属卟啉中心络合的金属离子往往还能与阴离子形成络合物而使其自身的光学性质发生改变,基于这个原理分析工作者发展了很多测阴离子的探针,但是这些探针多是基于光吸收信号变化的^[25~28]。卟啉环上含有丰富的氮原子,稍加修饰(如氮原子质子化)就可以对某些阴离子产生识别。1992年,Shionoya^[29]设计合成了一种新型卟啉衍生物,他们用该衍生物作为荧光分子探针对 F⁻进行检测,得到令人满意的结果。该文章通过设计合成一种与阴离子有强结合作用的卟啉衍生物,为卟啉在阴离子荧光探针方面的发展进行探索,为卟啉研究提出了一个新的方向。Zhang 等^[30]通过把四苯基卟啉质子化(H₄TPP²⁺)就制成了对 Cl⁻响应的荧光探针。Cl⁻的加入使 651 nm 的荧光强度降低,而使 683 nm 的荧光强度升高,通过拟合曲线, H₄TPP²⁺与 Cl⁻形成了 1:2 的络合物。扩展卟啉有更大的空间和更多的有机胺基团,不需要质子化就可以直接对阴离子进行识别,在这个方面研究较多^[31~32],大部分还是基于光吸收信号变化。

5 卟啉探针用于中性物质的检测

四苯基卟啉由于自身不带特殊基团,因而与一些中性物质的作用较弱,所以直接用它来单独检测中性化合物是不现实的,但如果让它与一些大分子作用形成超分子体系,改变检测环境,增强卟啉对中性物质的荧光检测信号,从而实现卟啉化合物对一些中性分子的检测。2000年,杨荣华等^[33]基于蒽与 H₂TPP 之间的荧光能量转移现象,制备出高灵敏的单质碘荧光分子探针,该荧光探针比传统荧光探针的灵敏度提高近一倍。同年,他们^[34]还研究了烷基化 β-环糊精与 H₂TPP 的包络作用,并研制了基于荧光增强的脂肪胺光化学荧光探针。后来他们^[35]又以 H₂TPP 为荧光载体研制了基于荧光增强的 Tween-60 光化学荧光

探针,除 Tween-80 外,其它表面活性剂及离子对测量无干扰。2006年,李广涛教授小组^[36]用小分子或大分子表面活性剂把一系列卟啉或金属卟啉成功掺杂到硅薄膜中并用于检测 TNT、DNT 等爆炸物的微量蒸汽。2007年,该组又利用溶胶凝胶化学和简单、低廉的电纺丝技术将卟啉掺杂纳米复合物制成了大比表面积、良好气体渗透性的荧光纳米纤维膜并实现了对微量爆炸物蒸汽的低浓度检测^[37]。

6 结束语

综上所述,可以看出,卟啉化合物已在生物分子、气体小分子、阳离子、阴离子以及中性物质荧光探针方面得到很大发展。卟啉类化合物在荧光分析中的应用正处于快速的发展之中,前景喜人。当然,也还有不少工作有待今后研究,探索对更广泛的样品进行测定的可能性,研究其作为重金属离子、DNA 荧光探针在临床分析中的实际应用等。可以期望,随着卟啉类衍生物的不断出现,其在荧光分析中的应用将会得到进一步的发展。

参考文献

- [1] 陈国珍, 黄贤智, 许金钩, 等. 荧光分析法[M]. 北京: 科学出版社, 1990.
- [2] 刘育, 尤长城, 张衡益. 超分子化学[M]. 天津: 南开大学出版社, 2001. 131.
- [3] Grigg R, Amilaprasadh Norbert W D J. The proton-controlled fluorescence of aminomethyltetraphenylporphyrin-tin (IV) derivatives[J]. Chemical Communications, 1992, (18): 1 298~1 299.
- [4] Abad S, Kluciar M, Miranda M A, et al. Proton-induced fluorescence switching in novel naphthalimide-dansylamide dyads [J]. The Journal of Organic Chemistry, 2005, 70(25): 10 565~10 568.
- [5] Purrello R, Gurrieri S, Lauceri R. Porphyrin assemblies as chemical sensors[J]. Coordination Chemistry Reviews, 1999, (190-192): 683~706.
- [6] Takahata K, Igarashi S. Spectrofluorimetric determination of 10⁻⁷ M levels of thiol compounds using silver (I)-5,10,15,20-tetrakis (4-sulfophenyl)porphine complex [J]. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1996, 44(1): 226~228.
- [7] Yang R H, Wang K M, Long L P. SeIecive optode membrane for histidine based on fluorescence enhancement of

- meso-meso-linked porphyrin dimer [J]. *Analytical Chemistry*, 2002, 74(5): 1 088~1 096.
- [8] Diaz-Garcia M E, Roza-Fernandez M. Room temperature phosphorescent sensing probe for detection of DNA. *Proceeding of SPIE-International Society for Optical Engineering*, 1995, 2631: 29~36.
- [9] Purrello R, Gurrieri S, Lauceri R. Porphyrin assemblies as chemical sensors[J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 1999, (190-192): 683~706.
- [10] Gurrieri S, Alifi A, Bellacchio E. Spectroscopic characterization of porphyrin supramolecular aggregates on poly-lysine and their application to quantitative DNA determination [J]. *Inorganica Chlmica Acta*, 1999, 286 (2): 121~126.
- [11] Long L P, Jin J Y, Zhang Y, et al. Interactions between protein and porphyrin-containing cyclodextrin supramolecular system: A fluorescent sensing approach for albumin[J]. *Analyst*, 2008, 133(9): 1 201~1 208.
- [12] Worsfold O, Dooling C M, Richardson T H, et al. Nitrogen dioxide sensing characteristics at elevated temperature of sol-gel glass thin films containing substituted porphyrin dyes[J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2001, (11): 399~403.
- [13] 杨荣华. 光化学传感器超分子识别体系及新生液滴测量技术的研究[湖南大学博士学位论文][D]. 长沙: 湖南大学化学化工学院, 2000.
- [14] Amao Y, Miyashita T, Okura I. Platinum tetrakis (pentafluorophenyl) porphyrin immobilized in polytrifluoroethylmethacrylate film as a photostable optical oxygen detection material [J]. *Journal of Fluorine Chemistry*, 2001, 107(1): 101~106.
- [15] Nakagawa K, Kitagawa T, Sadaka Y. An optochemical HCl gas sensor using 5,10,15,20-tetrakis (3',5'-di-tert-butyl, 4'-hydroxyphenyl)porphin-ethylcellulose composite films [J]. *Sensors and Actuators B*, 1998, 52 (1-2): 10~14.
- [16] Baron M G, Narayanaswamy R, Thorpe S C. Hydrophobic membrane sensors for the optical determination of hydrogen chloride gas [J]. *Sensors and Actuators B*, 1996, 34 (1-3): 511~515.
- [17] Smith V C, Richardson T, Anderson H L. Optical detection of chlorine gas using LB films of a zinc porphyrin dimer[J]. *Supramolecular Science*, 1997, 4(3-4): 503~508.
- [18] Fack J E. *Porphyrins & MetalloPorPhyrins*[M]. New York: Elsevier, 1964.
- [19] Biesaga M, Pyrzynska K, Trojanowicz M. Porphyrin in analytical chemistry[J]. A review. *Talanta*, 2000, 51(2): 209~224.
- [20] Weng Y Q, Teng Y L, Yue F, et al. A new selective fluorescent chemosensor for Cu (II) ion based on zinc porphyrin-dipyridylamino[J]. *Inorganic Chemistry Communications*, 2007, 10(4): 443~446.
- [21] Weng Y Q, Yue F, Zhong Y R, et al. A copper (II) ion-selective on-off-type fluoroionophore based on zinc porphyrin-dipyridylamino [J]. *Inorganic Chemistry*, 2007, 46(19): 7 749~7 755.
- [22] Zhang X B, Guo C C, Li Z Z, et al. An optical fiber chemical sensor for mercury ions based on a porphyrin dimer [J]. *Analytical Chemistry*, 2002, 74(4): 821~825.
- [23] Li C Y, Zhang X B, Dong Y Y, et al. A porphyrin derivative containing 2-(oxymethyl)pyridine units showing unexpected ratiometric fluorescent recognition of Zn²⁺ with high selectivity[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2008, 616: 214~221.
- [24] Li C Y, Zhang X B, Qiao L, et al. Naphthalimide-porphyrin hybrid based ratiometric bioimaging probe for Hg²⁺: Well-resolved emission spectra and unique specificity[J]. *Analytica Chemistry*, 2009, 81: 9 993~10 001.
- [25] Barker S L R, Shortreed M R, Kopelman R. Utilization of lipophilic ionic additives in liquid polymer film optodes for selective anion activity measurements [J]. *Analytical Chemistry*, 1997, 69(6): 990~995.
- [26] Zhang W, Rozniecka E, Malinowska E, et al. Optical chloride sensor based on dimer-monomer equilibrium of indium (II) octaethylporphyrin in polymeric film[J]. *Analytical Chemistry*, 2002, 74(17): 4 548~4 557.
- [27] Lee C, Lee D H, Hong J I. Colorimetric anion sensing by porphyrin-based anion receptors [J]. *Tetrahedron Letters*, 2001, 42(49): 8 665~8 668.
- [28] Zhang Y, Li M X, Lü M Y, et al. Anion chelation-induced porphyrin protonation and its application for chloride anion sensing[J]. *The Journal of Physical Chemistry A*, 2005, 109(33): 7 442~7 448.
- [29] Shionoya M, Furuta H, Lynch V, et al. Diprotonated sapphyrin: A fluoride selective halide anion receptor[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1994, 114 (14): 5 714~5 722.
- [30] Zhang Y, Li M X, Lü M Y, et al. Anion chelation-induced porphyrin protonation and its application for chloride anion sensing[J]. *The Journal of Physical Chemistry A*, 2005, 109(33): 7 442~7 448.

- [31] Sessler J L, Camiolo S, Gale P A. Pyrrolic and polypyrrolic anion binding agents [J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2003, 240(1-2): 17~55.
- [32] Sessler J L, Davis J M. Sapphyrins: Versatile anion binding agents [J]. *Account Chemical Research*, 2001, 34(12): 989~997.
- [33] Yang R H, Wang K M, Xiao D, et al. Development of an iodine sensor based on fluorescence energy transfer[J]. *The Analyst*, 2000, 125(8): 1 441~1 445.
- [34] Yang R H, Wang K M, Xiao D, et al. A host-guest optical sensor for aliphatic amines based on lipophilic cyclodextrin[J]. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 2000, 367(5): 429~435.
- [35] Yang R H, Wang K M, Xiao D, et al. A selective optical chemical sensor for the determination of tween-60 based on fluorescence enhancement of tetraphenylporphyrin [J]. *Analytical Chimica Acta*, 2002, 404(2): 205~211.
- [36] Tao S Y, Li G T, Zhu H S. Metalloporphyrins as sensing elements for the rapid detection of trace TNT vapor [J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2006, 16(46): 4 521~4 528.
- [37] Tao S Y, Li G T, Yin J X. Luorescent nanofibrous membranes for trace detection of TNT vapor [J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2007, 17(26): 2 730~2 736.

《化学传感器》编辑部声明

凡向本刊所投稿件,视为作者将该论文的复制权、发行权、信息网络传播权、翻译权、汇编权等权利转让给本刊。本刊已加入中国学术期刊网络出版总库、万方数据数字化期刊群,被中国期刊全文数据库、中国核心期刊(遴选)数据库收录。凡被本刊录用的稿件将同时通过因特网进行网络出版或提供信息服务。稿件一经刊用,付给作者的稿酬包括印刷版、光盘版和网络版等各种使用方式著作权使用费。

纳米材料在适体传感器中的应用研究进展

徐 凤, 常艳兵, 张银烽, 陶满兰, 杨云慧*
(云南师范大学化学化工学院, 云南昆明 650092)

摘 要: 由于纳米材料具有大的比表面积、良好的生物相容性、优良的电子传递能力,其在适体传感器领域有广泛的应用。将纳米材料应用于适体传感器能提高适体传感器的灵敏度以及实现高通量检测。该文主要从纳米材料在适体传感器中的应用和基于纳米材料的适体传感器的发展前景两方面进行综述。

关键词: 纳米材料; 适体传感器; 进展

The research prospect of the application of nanomaterials in aptamer biosensors

Xu Feng, Chang Yan-bing, Zhang Yin-feng, Tao Man-lan, Yang Yun-hui*
(College of Chemistry and Chemical Engineering, Yunnan Normal University, Kunming 650092, China)

Abstract: Due to the large specific surface area, fine biocompatibility and good electron transfer capacity, nanomaterials have been used in the designing of the aptamer sensors extensively. To apply nanomaterials in aptamer sensors can increase its sensitivity and high-throughput detecting become possible. This paper has reviewed the application of nanomaterial in aptamer sensors and its probable prospects and development.

Key words: nanomaterials; aptamer sensors; development

0 引言

纳米材料是指材料的基本单元大小限制在1~100 nm范围的材料。由于其尺寸小而具有的量子效应、表面效应和宏观量子隧道效应等特性,因此纳米材料在催化、磁介质、生物医药和生物电分析领域等方面有着广阔的应用前景^[1]。经过近几十年的研究,已经制备出了各种形貌的纳米材料,比如纳米颗粒^[2]、纳米管^[3]、纳米线^[4]、纳米棒^[5]、纳米带^[6-7]等。

适体是由25~80个碱基组成的能与蛋白质、多肽、金属离子、小分子等特异性结合的寡核苷酸DNA或RNA链。自从1990年Gold^[8]和Ellington^[9]等实验室各自独立地建立自己的核苷

酸文库并创立一种从超过10¹⁵个核苷酸分子文库里筛选出能与配体专一、高效结合的DNA或RNA片段的指数级富集的配基系统进化技术(SELEX)以后,适体的合成与研究引起了越来越多的科研工作者的关注。适体的出现弥补了传统免疫反应的不足,也为传统免疫传感器注入了新的活力。

由于纳米材料在比表面和结构上的重要特性,其研究和开发在近年来得到迅速发展,特别在适体生物传感器的研制方面有广泛的应用。纳米材料在适体传感器中的应用主要有两方面:①将纳米材料修饰到电极表面用于适体分子的固定;②纳米材料作为标记物用于检测。该文将从这两方面来综述纳米材料最近几年在适体传感器中

基金项目: 国家自然科学基金项目(No.20865006)、云南省自然科学基金项目(No.2006B0028M)、云南省教育厅自然科学基金(No.07Z10087)

* 通讯联系人, Tel:0871-5516061, E-mail: yyhui2002@yahoo.com.cn

的应用。

1 纳米材料在适体传感器中的应用及研究进展

1.1 纳米材料作为固定材料修饰电极表面

由于纳米材料具有比表面积大,电化学窗口宽,电子传递能力高而广泛应用于电极修饰。将纳米材料修饰到适体传感器的表面主要有两个方面的作用:提高适体分子的固定量和增大电化学信号。

1.1.1 利用金纳米颗粒固定适体

随着生物化学合成技术的发展,目前可以通过商业途径购买到按要求修饰的合成寡核苷酸,修饰方式主要是在适体 DNA 的末端连接含硫化合物,再通过这一基团将适体固定在纳米金颗粒表面。Chen^[10]等研制了一种使用表面增强的拉曼散射光谱来检测腺苷的适体传感器。先将金包被的银溶胶固定到金片表面,然后将一段标记了巯基的捕获探针修饰到传感器表面,再将抗腺苷的适体与标记有四甲基罗丹明的 DNA 的混合物修饰到传感器上,最后将腺苷滴到传感器上,由于

腺苷与腺苷适体的特异性结合导致传感器上标记四甲基罗丹明的 DNA 释放到拉曼散射的培养基上,这样就产生了拉曼散射增强的信号,实现了对腺苷的检测。该传感器的检测线性范围是 $2.0 \times 10^{-8} \sim 2.0 \times 10^{-6}$ mol/L, 检测下限为 1.0×10^{-8} mol/L。

Kang 等^[11]还采用纳米金和壳聚糖的混合物修饰电极表面来改善电极的导电性,开发了一种抗体作为捕获探针,适体作为检测探针,亚甲基蓝作为电活性物质的凝血酶电化学适体传感器(结构如图 1)。该传感器的检测下限为 0.5 nmol/L, 检测线性范围为 1~60 nmol/L。

Li 等^[12]将固定到玻碳电极上的金纳米颗粒作为固定带巯基的适体的一个平台,采用 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 作为检测探针来检测传感器界面电子的转移量。凝血酶的量与电极表面电子转移量在凝血酶浓度为 0.12~30 nmol/L 成线性关系。该小组考察了三种不同的适体与凝血酶之间的结合与分解速率,并证实了将金纳米颗粒沉积到玻碳电极作为固定适体的平台可以提高传感器的检测灵敏度。Feng 等^[13]设计了一种检测腺苷的非

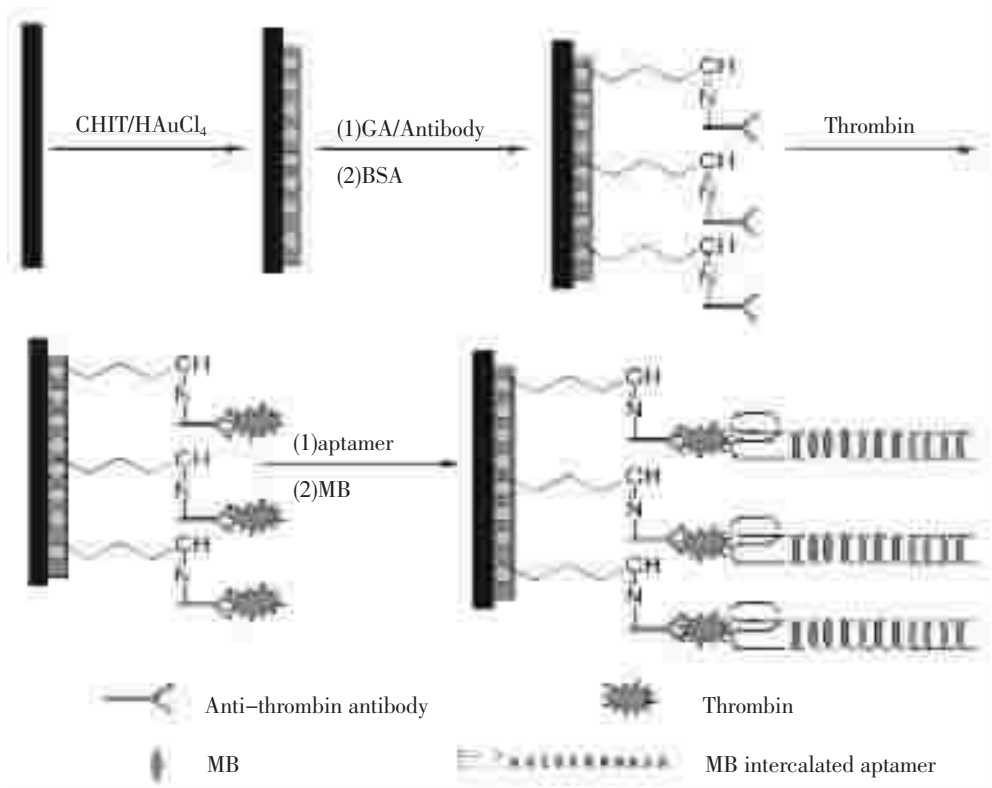


图 1 传感器制备流程图^[11]

Fig.1 Schematic representations of the principle for the sensing steps^[11]

标记型适体传感器,采用 1,6-硫醇将金纳米颗粒固定到金电极表面,固定的金纳米颗粒能提高电极表面俘获探针的量,采用亚甲基蓝作为检测探针来检测腺苷的量。该传感器检测范围宽,灵敏度高,传感器使用超过十次后信号仍能保持到原有信号的 90%。Zhao 等^[14]设计了一种新型的检测茶碱的 RNA 适体传感器。该小组首先通过电沉积使玻碳电极表面生成金纳米颗粒,然后探针 RNA 通过巯基组装到金纳米颗粒上。该小组用阿霉素作为电化学检测探针,通过阿霉素在电极表面的氧化还原情况检测茶碱的浓度,线性范围为 2.0~50.0 $\mu\text{mol/L}$,检测下限为 1.2 $\mu\text{mol/L}$ 。Suprun^[15]等利用生物素亲和素技术将适体固定到已用金纳米颗粒修饰的丝网印刷电极上面,用溶出伏安法在一定电位下将金纳米颗粒氧化为金的氧化物,通过检测金的氧化物的量来测定电极上凝血酶的含量。该方法的检测下限达 10^{-9} mol/L,线性范围为 10^{-8} ~ 10^{-5} mol/L(溶液中), 2×10^{-14} ~ 2×10^{-11} mol/L(电极上)。

1.1.2 利用磁性纳米颗粒固定适体

Kawde^[16]等首次证实了核酸适体可以用于电化学检测蛋白质。该小组首先将生物素标记的抗溶菌酶适体结合到链霉亲和素化的纳米磁珠上,然后再加靶蛋白溶菌酶,由于溶菌酶适体和溶菌酶的特异性结合导致纳米磁珠上溶菌酶适体的解离,用磁性分离从磁珠上解离的溶菌酶适体,最后通过计时电位溶出法检测溶菌酶适体的量来测定溶菌酶的浓度,该方法对溶菌酶的检测

下限为 7 nmol/L。

1.1.3 利用碳纳米管固定适体

杨佳等^[17]用碳纳米管负载钌联吡啶衍生物标记的凝血酶适体 II,根据钌联吡啶衍生物的电化学发光信号强度的改变采用夹心法检测凝血酶的浓度,该方法的检出限为 1.3×10^{-12} mol/L。且在对凝血酶浓度为 1.0×10^{-10} mol/L 的情况下进行平行测定,其相对标准偏差为 5.0%。李延^[18]用单壁碳纳米管负载凝血酶的第二段适体和钌联吡啶的复合物构成电化学发光检测探针检测凝血酶,该传感器检测的线性范围为 1.0×10^{-14} ~ 1.0×10^{-11} mol/L,检测下限为 3.0×10^{-15} mol/L,且在凝血酶的浓度为 5.0×10^{-13} mol/L 的情况下进行 11 次平行测定的相对标准偏差为 5.3%。

1.2 纳米材料作为标记物进行检测

1.2.1 以金纳米颗粒为标记物

Wang 等^[19]设计了一种电化学发光适体传感器来检测腺苷的浓度。该组将金纳米颗粒与电化学发光物质钌联吡啶形成的络合物标记作为传感器的发光平台,将二茂铁标记的腺苷适体作为发光强度控制开关,通过传感器的发光强度来检测腺苷的浓度。郑静等^[20]将凝血酶的第二段适体用金胶标记后作为检测信标,采用夹心法通过检测信标金胶上的核苷酸链与另一段标记有金胶的互补链进一步杂交而实现金的选择性富集,金的富集可实现信号扩增而大大提高了传感器的灵敏度。该传感器的结构示意图见图 2,此方法对凝血酶的检测下限达 4.52×10^{-15} mol/L,且在对凝

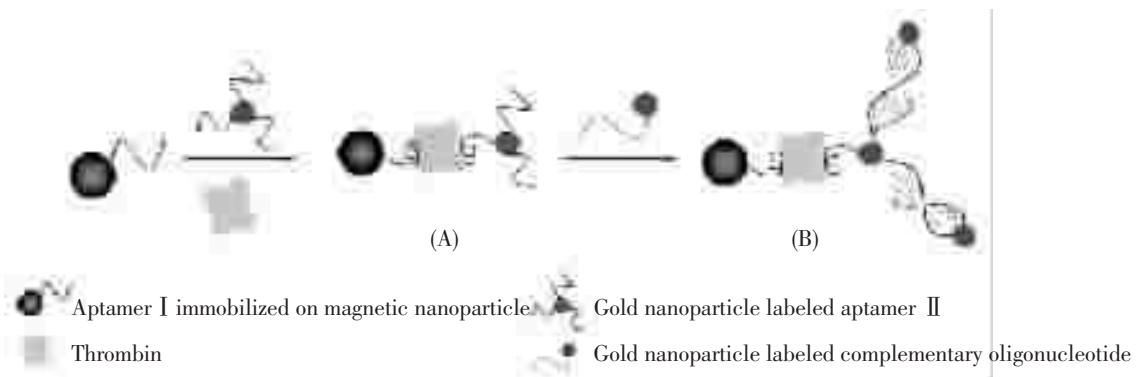


图 2 凝血酶适体生物传感器示意图^[20]

Fig. 2 Schematic illustration of the thrombin aptasensor^[20]

(A) Fabrication of the sandwich format by magnetic nanoparticle labeled aptamer I, thrombin and gold nanoparticle labeled aptamer II; (B) enrichment of gold nanoparticles through the hybridization with the complementary oligonucleotide

血酶浓度为 7.47×10^{-14} mol/L 的情况下平行测定 8 次,其相对标准偏差为 3.0%。

Wang 等^[21]利用凝血酶为模型设计了一种利用金纳米颗粒和适体组合的适体传感器,原理是将用染料标记的 DNA 和标记有金纳米颗粒的适体杂交,利用金纳米颗粒的荧光淬灭程度实现凝血酶的检测,该组设计了三种模型并认为通过自组装将适体和金纳米颗粒固定到电极上是最好的模型。Wang 等^[22]将纳米颗粒和适体相结合采用表面等离子共振的方法灵敏的检测了人类免疫球蛋白 E (IgE)。该传感器利用了金纳米颗粒对检测信号的放大作用,检测下限为 1 ng/mL。Zheng 等^[23]同时利用了磁性纳米颗粒和金纳米颗粒开发了一种快速高效灵敏检测凝血酶的适体传感器。该文用磁性纳米颗粒固定适体,用金纳米颗粒标记互补核苷酸链,将适体与互补核苷酸的杂交体系作为探针,由于凝血酶的引入,导致探针结构破坏,标记金纳米颗粒的互补核苷酸被释放出来,再将游离出来的金纳米颗粒氧化为 AuCl_4^- ,最后用差分脉冲法检测 AuCl_4^- 的信号来检测凝血酶的浓度。该方法的优越性在于能简单快速而灵敏的检测凝血酶并由于不需要标记凝血酶而可以用于复杂体系真实样品的检测。

1.2.2 以量子点为标记物

Yang 等^[24]利用 CdSe 量子点标记凝血酶第二段适体,采用夹心法依次将凝血酶的第一段适体、凝血酶、标记量子点的第二段适体固定到金电极表面,然后在硝酸溶液中用方波溶出伏安法来检测 Cd^{2+} 的浓度来测定凝血酶的浓度,且该传感器在凝血酶浓度为 1 pmol/L 时平行测定相对标准偏差为 9.3%。Huang^[25]等设计了一种采用量子点电化学发光检测凝血酶的适体传感器。首先将巯基标记的凝血酶第一段适体固定到金电极上,然后将目标物凝血酶结合到适体 1 上,接着向电极上滴加用生物素标记的凝血酶适体 2,这样电极上就形成了适体 1/凝血酶/适体 2 的夹心结构。最后将链霉亲和素标记的量子点被加到电极上与适体 2 形成生物素-亲和素体系,量子点的发光强弱反应了电极上凝血酶的浓度,该传感器检测的线性范围为 $0 \sim 20 \mu\text{g/mL}$,且该传感器选择性好,性能稳定。

2 展望

纳米材料是一种性能优异的功能材料,应用开发的前景十分广阔。将纳米材料应用于适体传感器为适体传感器的发展提供了巨大的空间。与传统的传感器相比,基于纳米材料的适体传感器具有超高的灵敏度和良好的选择性,且可实现高通量的实时检测分析。但是由于一些纳米材料合成困难以及适体的筛选耗时,筛选过程复杂等不利因素制约了基于纳米材料的适体传感器的发展。随着纳米技术和传感器技术的发展,如何将纳米科学和适体传感器有机的结合,如何利用纳米材料的特殊性能来提高适体传感器的检测灵敏度和检测通量是科研工作者努力的方向和研究的热点,也是适体传感器发展的新方向之一。

参考文献

- [1] Kerner E H. Dynamical Feynman's Theorem [J]. Phys. Rev. Lett., 1959, 2(4): 152~153.
- [2] Nelson E J, Samulski E T. Preparation of CdS nanoparticles within an ordered polypeptide matrix [J]. Mater. Sci. Eng. C, 1995, 2(3): 133~140.
- [3] Iijima S. Helical microtubules of graphitic carbon [J]. Nature, 1990, 347(11): 56~58.
- [4] Liu J, Lin Y H, Liang L, et al. Templateless assembly of molecularly aligned conductive polymer nanowires: a new approach for oriented nanostructures [J]. Chem. Euro. J., 2003, 9(3): 605~611.
- [5] Könekamp R, Word R C, Dostmailov M, et al. Pentagonal ZnO nanorods [J]. Phys. Status Solidi (RRL), 2007, 1(3): 101~103.
- [6] Pan Z W, Dai Z R, Wang Z L. Nanobelts of semiconducting oxides [J]. Science, 2001, 291(5 510): 1 947~1 949.
- [7] Xu L, Su Y, Cai D, et al. Synthesis and photoluminescence properties of CdS nanobelts [J]. Mater. Lett., 2006, 60(11): 1 420~1 424.
- [8] Tuerk C, Gold L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase [J]. Science, 1990, 249(4 968): 505~510.
- [9] Ellington A D, Szostak J W. In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands [J]. Nature, 1990, 346(6 287): 818~822.
- [10] Chen J W, Liu X P, Feng K J, et al. Detection of adenosine using surface-enhanced Raman scattering based on

- structure-switching signaling aptamer[J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2008, 24(1): 66~71.
- [11] Kang Y, Feng K J, Chen J W, et al. Electrochemical detection of thrombin by sandwich approach using antibody and aptamer[J]. *Bioelectrochem.*, 2008,73(1): 76~81.
- [12] Li X X, Shen L H, Zhang D D, et al. Electrochemical impedance spectroscopy for study of aptamer-thrombin interfacial interactions [J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2008, 23 (11): 1 624~1 630.
- [13] Feng K J, Sun C H, Kang Y, et al. Label-free electrochemical detection of nanomolar adenosine based on target-induced aptamer displacement [J]. *Electrochem. Commun.*, 2008, 10(4): 531~535.
- [14] Zhao G C, Yang X. A label-free electrochemical RNA aptamer for selective detection of theophylline [J]. *Electrochem. Commun.*, 2010, 12(2): 300~302.
- [15] Suprun E, Shumyantseva V, Bulko T, et al. Au-nanoparticles as an electrochemical sensing platform for aptamer-thrombin interaction [J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2008, 24(4): 825~830.
- [16] Kawde A N, Rodriguez M C, Lee T M H, et al., Label-free bioelectronic detection of aptamer-protein interactions [J]. *Electrochem. Commun.*, 2005, 7(5): 537~540.
- [17] 杨佳. 基于适体均相电化学发光法检测凝血酶的研究[D]. 陕西: 陕西师范大学, 2008.
- [18] 李延. 电化学发光 DNA 和适体生物传感器的研究[D]. 陕西: 陕西师范大学, 2008.
- [19] Wang X Y, Dong P, He P G, et al. A solid-state electrochemiluminescence sensing platform for detection of adenosine based on ferrocene-labeled structure-switching signaling aptamer [J]. *Anal. Chim. Acta.*, 2010, 658 (2): 128~132.
- [20] 郑静, 冯婉娟, 黄翠华, 等. 利用互补核酸杂交富集金胶实现信号扩增的电化学凝血酶蛋白生物传感器研究[J]. *高等学校化学学报*, 2007, 28(12): 2 274~2 279.
- [21] Wang W J, Chen C L, Qian M X, et al. Aptamer biosensor for protein detection using gold nanoparticles [J]. *Anal. Biochem.*, 2008, 373(2): 213~219.
- [22] Wang J L, Munir A, Li Z H, et al. Aptamer-Au NPs conjugates-enhanced SPR sensing for the ultrasensitive sandwich immunoassay [J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2009, 25 (1): 124~129.
- [23] Zheng J, Cheng G F, He P G, et al. An aptamer-based assay for thrombin via structure switch based on gold nanoparticles and magnetic nanoparticles [J]. *Talanta*, 2010, 80(5): 1 868~1 872.
- [24] Yang H, Ji J, Liu Y, et al. An aptamer-based biosensor for sensitive thrombin detection [J]. *Electrochem. Commun.*, 2009, 11(1): 38~40.
- [25] Huang H P, Zhu J J. DNA aptamer-based QDs electrochemiluminescence biosensor for the detection of thrombin[J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2009, 25(4): 927~930.

声表面波 NO₂ 传感器的研究进展

秦墨林^{1*}, 潘勇¹, 曹丙庆¹, 赵建军¹, 李冬梅²

(1. 防化研究院, 北京 102205)

(2. 中国科学院微电子研究所, 北京 100029)

摘要: NO₂ 是一种主要的大气污染物, 同时对人体健康也有较大的危害, 针对其进行检测的传感器的研究和开发就显得十分重要。声表面波气体传感器具有便携性、快速响应、高灵敏度、高稳定性、低成本等特点, 引起了国内外相关研究者的广泛关注。简要介绍了声表面波(SAW)气体传感器工作的基本原理、传感器敏感膜与 NO₂ 气体的作用机理以及 SAW-NO₂ 气体传感器的两种结构类型, 综述了 SAW-NO₂ 气体传感器常用的几种敏感膜材料, 并对 SAW-NO₂ 气体传感器的发展趋势做了展望。

关键词: 声表面波; NO₂ 传感器; 延迟线; 谐振器; 敏感膜

Research development of surface acoustic wave sensors for NO₂ gas detection

Qin Mo-lin^{1*}, Pan Yong¹, Cao Bing-qing¹, Zhao Jian-jun¹, Li Dong-mei²

(1. Research Institute of Chemical Defence, Beijing 102205, China)

(2. The Institute of Microelectronics of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100029, China)

Abstract: NO₂ pollutes the air seriously and is harmful to man's health. It is urgent and important to develop sensors for NO₂ detection. Surface acoustic wave gas sensors have been studied widely because they have advantages of small size, fast response, high sensitivity, good stability and low cost. The principle of SAW gas sensors and the mechanism of reaction of sensitive film and NO₂ gas is introduced. Two sorts of structure of SAW-NO₂ sensor and several sensitive film materials are reviewed. The development trends of SAW-NO₂ sensors are discussed.

Key words: surface acoustic wave(SAW); NO₂ sensors; delay line; resonator; sensitive film

0 引言

NO₂ 是一种主要的大气污染物, 空气中的 NO₂ 大多是由化工燃料(煤、燃油等)燃烧、汽车尾气排放和化工生产产生的。NO₂ 可以通过和空气中的水汽或其它物质反应产生酸雨、烟雾等许多污染环境的物质, 也是破坏臭氧层的主要因素之一^[1]。同时, NO₂ 对粘膜刺激性很强, 除与血红蛋白结合外, 对心、肝、肾、造血组织等器官都有影响, 对人体的呼吸器官有强烈刺激作用, 使肺功能受到损害, 严重危害人们的生存与健康^[2]。因此, 针对 NO₂ 气体检测的传感器的研究和开发就

显得十分重要。

从传感器的原理来分, 检测 NO₂ 的传感器类型主要有电阻式半导体气体传感器^[3-5]、电位型气体传感器^[6]、光纤气体传感器^[7-9]、压电晶体微天平传感器^[10]、声表面波(Surface Acoustic Wave, SAW)气体传感器^[11]等。其中, 声表面波气体传感器具有便携性、快速响应、高灵敏度、高稳定性、低成本等特点^[12], 引起了国内外相关研究者广泛的关注。

1 SAW-NO₂ 气体传感器及其检测原理

SAW-NO₂ 气体传感器是通过 NO₂ 的吸附对 SAW 的扰动导致的参数变化进行检测的。声表面

波是一种能在压电基片表面产生和传播的弹性波,具有多种形态,用于气体传感器的一般是瑞利(Rayleigh)波。瑞利波是一种椭圆偏振的声波,能量主要集中在约1个波长深的表面层内,对传播路径上的表面扰动非常敏感。当位于SAW传播路径上的感测区吸附NO₂后,其质量负载、电导率、弹性模量、介电常数等参数随之发生变化,导致SAW的能量和波速发生改变,通过测量SAW的频率、相位或者差损等的变化,根据测量结果变化的趋势和大小不同,就可以实现对NO₂的检测^[13]。

将延迟线镀上具有良好选择性的敏感膜,可以改善SAW气体传感器的选择性和吸附力,能够显著提高检测速度和灵敏度。在传统的SAW传感器用于化学毒剂检测时,一般采用聚合物或者有机大分子为敏感膜材料。通过膜分子与毒剂分子之间的氢键作用、溶解效应或者分子印迹作用等产生明显的吸附效果,使延迟线的质量负载发生变化,导致SAW的传播速率和频率发生改变,用来实现对毒剂的检测^[14~16]。

一般来说,采用SAW传感器用来检测工业有毒有害气体等无机小分子,检测原理主要是通过敏感膜电导率的变化,使SAW的传播速率、频率等发生改变来进行检测。质量负载和弹性模量的变化也会对SAW的传播速度产生一定的影响,根据传感器的结构设计和敏感膜材料的区别,不同的影响因素会占到主导地位。于海燕等^[17]采用YZ-LiNbO₃为压电基片,利用旋涂的方法在SAW器件的延迟线通道上制备了酞菁铜掺杂的聚乙烯吡咯烷酮敏感薄膜,提高酞菁铜在聚合物中的比例可以明显地提高薄膜的电导率,通过对SAW传感器在未沉积薄膜、沉积PVP薄膜以及沉积酞菁铜掺杂的聚合物薄膜后引起的中心频率偏移说明,延迟线涂覆导电聚合物薄膜后电导率的变化是传感器中心频率漂移的主要因素。A. J. Ricco等^[18]在LiNbO₃基底上设计了SAW双通道延迟线结构的传感器,通过真空升华的方法在其中一条延迟线上镀上酞菁铅薄膜,另一条延迟线用来对温度和压力进行补偿。酞菁铅的电导率随着NO₂的浓度变化而发生改变,控制传感器的工作温度为80℃,经过实验证明,传感器在进行检测NO₂时,频率的变化主要是由敏感膜酞

菁铅的电导率变化引起的。

2 SAW-NO₂ 气体传感器的结构类型

利用SAW技术制作的NO₂传感器根据使用器件的类型可以分为延迟线型SAW传感器和谐振器型SAW传感器。延迟线型SAW传感器是在压电基片两端采用蒸发、溅射等方法镀制2个叉指换能器(Interdigital Transducer, IDT),分别通过逆压电效应和压电效应能够实现电-声和声-电转换。SAW在两个IDT之间的部分称作延迟线,上面涂覆有对NO₂气体敏感的膜材料。目前的延迟线型SAW-NO₂传感器一般设计成双通道的结构,一条通道的延迟线镀上敏感膜材料用来检测气体,另一条为空白,作为对温度、湿度、压力等参数变化引起的信号改变进行补偿,从而提高检测的准确度和适应性,如图1所示。谐振器型SAW传感器器件是将1个或2个IDT置于1对反射栅阵列组成的腔体中构成的。谐振器结构采用1个IDT时,为单端对谐振器;采用2个IDT时,为双端对谐振器,这是目前SAW-NO₂传感器的常用结构。与延迟线型SAW器件类似,谐振器型SAW器件一般也设计成双通道结构,如图2所示。谐振器型SAW-NO₂气体传感器为了满足镀膜的需要,在镀有IDT和反射栅的石英晶体表面制备一层传导层,在传导层表面镀制敏感膜,如M. Penza等^[19]制备SAW-NO₂气体传感器时使用ZnO材料在LiTaO₃表面溅射了一层厚度为1.2 μm的传导层,在提供了镀膜区域的同时,增大了机电耦合系数,提高了检测灵敏度。

比较SAW传感器的延迟线和谐振器两种芯片结构类型,延迟线结构设计简单,制作相对容

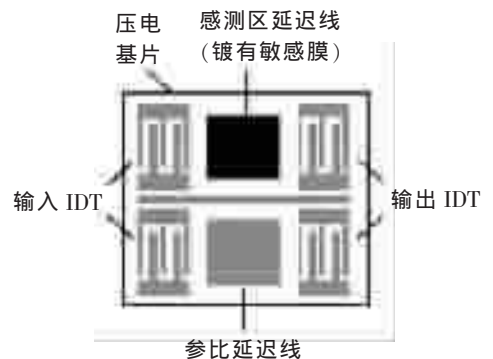


图1 双通道延迟线型SAW器件结构示意图

Fig.1 Schematic structure of a dual delay line SAW device

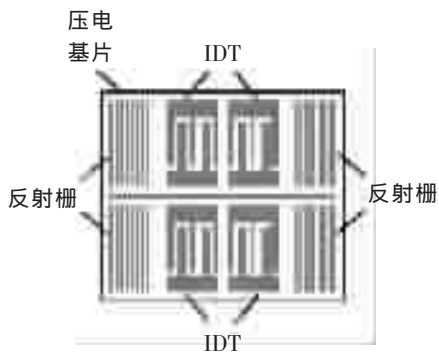


图2 双通道谐振器型 SAW 器件结构示意图

Fig.2 Schematic structure of a dual two-port SAW resonator

易, 可以提供较大的空白薄膜区域用来镀膜, 但是插入损耗较大, 品质因子(Q 值)相对较低, Q 值一般低于 1 000。谐振器型的结构复杂、制作起来难度较大, 但是具有插入损耗小、Q 值较高、尺寸小等特点, 两者相比各有优缺点, 在制备工艺允许的条件下, 采用谐振器型 SAW 传感器能达到的 NO₂ 气体检测指标更高, 具有更好的应用前景。

3 SAW-NO₂ 传感器敏感膜材料

目前, 用于 SAW-NO₂ 传感器的敏感膜材料主要有金属氧化物半导体、有机化合物半导体、碳纳米管及聚合物纳米纤维等。

3.1 金属氧化物半导体

金属氧化物半导体用于 SAW 气体传感器, 其响应信号来源于对待检测物的吸附所引起的传感器敏感膜电学性质、质量负载等因素的改变, 致使检测 SAW 传播速度和振荡频率发生变化。研究得比较多的有 WO₃、SnO₂、In₂O₃ 等, 金属氧化物半导体材料一般用溅射法或者真空蒸发法成膜。WO₃ 是一种 N 型半导体, NO₂ 在 WO₃ 表面不仅存在大量的物理吸附, 还存在很强的化学吸附, WO₃ 与 NO₂ 作用引起自身导电率下降, 致使 SAW 速度发生变化^[20]。使用金属氧化物半导体作为 SAW-NO₂ 传感器的敏感膜材料, 一般需要对敏感器件进行加热, 这样吸附和解析就能在较高温度下进行, 使得响应信号增强, 检测速度加快。M. Penza 等^[21]利用反应射频溅射技术, 在 128°YX-LiNbO₃ 压电层延迟线上沉积 WO₃ 气敏涂层, 在 100~250 °C 的工作区间检测了 0~200

mg/m³ 的 NO₂, 并对 CO 和 CH₄ 两种主要干扰气体进行了检测, 结果表明, 干扰气体不会影响到传感器对 NO₂ 的检测。

S. J. Ippolito 等^[21]为了提高选择性和灵敏度, 在 ZnO/XZ LiNbO₃ 基底上分别镀上一层纳米级厚度的 InO_x 薄膜, 由于 InO_x 涂层高度一致的纳米结构表面形貌, 使得 ZnO 的表面积有了很大的提高, 对浓度为 4.25 mg/m³ 的 NO₂ 进行检测, 产生了 91 kHz 的正向频移, 实现了增大灵敏度的目的。但由于该传感器的工作温度区间为 100~273 °C, 致使功耗过大, 限制了其应用, 因此, 还需要做进一步的改进。

3.2 有机半导体

有机半导体材料主要有酞菁类、卟啉类、卟吩类、TCNQ 等, 其中研究得最多的是酞菁类材料, 如酞菁铜、酞菁铅等^[23-25]。酞菁环骨架是 4 个吡咯环通过 4 个 N 原子桥连构成, 形成了 8 个碳原子和 8 个氮原子交替的 16 元环结构。其中 16 个 π 电子与中心金属的两个 d 电子构成 18 电子的大 π 键共轭体系, 这种大环结构使酞菁具有导电性, 是酞菁具有气敏性的主要原因。酞菁结构具有极高的化学修饰性, 大环中空穴的直径为 2.7×10⁻¹⁰ m, 可容纳铁、铜、铝、镍、钙等许多金属元素形成金属酞菁配合物(MPc)。酞菁周边的 4 个苯环上共有 16 个氢原子, 它们可以被各种原子或基团所取代, 形成酞菁的各种衍生物。

金属酞菁粉末一般是通过真空蒸发的方法沉积于延迟线上。A. Rügemer 等^[26]分别采用酞菁铜和酞菁铅作为 SAW-NO₂ 传感器敏感膜材料, 采用真空蒸发的方法, 在温度为 370 °C, 压力为 5×10⁻⁷ mba, 速度为 1.5 nm/min 的实验条件下, 在 LiNbO₃ 基底上沉积得到了厚度为 15 nm 的薄膜, 酞菁铅薄膜的沉积条件与之接近, 但是沉积速度要稍小一点。以 SAW 传感器敏感膜吸附 NO₂ 后导致 SAW 能量差损的变化作为检测指标。为了加快敏感膜对 NO₂ 的吸附和解吸附, 提高检测速度, 通过加热使检测器的工作温度保持在 110 °C, 检测浓度为 mg/m³ 级的 NO₂, 响应时间一般为几分钟, 检测浓度低于 0.2 mg/m³ 的 NO₂, 响应时间则要半小时以上。

对于酞菁化合物的衍生物, 以 LB 膜技术进行镀膜, 更容易控制膜层的厚度, 得到纳米级厚

度的敏感膜。B. Holcroft 等^[27]以酞菁的衍生物四(4-叔丁基)二氯硅酞菁(ttbSiPcCl_2)为敏感膜材料,利用 LB 膜技术将其涂在一条延迟线上,另一条为空白延迟线做参比,制成双通道延迟线传感器,与非 LB 膜技术成膜制作的同类传感器相比,可在更低的温度下达到同样的最小检测限。Chen Yuquan 等^[28]采用酞菁铜的衍生物四磺酸酞菁铜作为敏感膜材料,利用 LB 膜技术在延迟线上镀膜,制成双通道 SAW- NO_2 传感器。当 NO_2 的浓度小于 24 mg/m^3 时, NO_2 的浓度与频移值成线性关系,该传感器在室温下工作,灵敏度约为 $64 \text{ Hz}/(\text{mg/m}^3)$,在达到最小检测限时,检测的响应时间为 10 min ,恢复时间为 40 min 。

3.3 聚合物纳米纤维及碳纳米管

将聚合物纳米纤维和碳纳米管归为一类,主要考虑其具有的纳米尺寸及高比表面积。聚合物纳米纤维具有较大的比表面积,其 π 键共轭结构使其具有一定的导电性,将其用做 SAW 传感器的敏感膜材料检测气体,由于其吸附气体产生氧化还原性作用,使自身的电导率等物化参数发生变化,引起 SAW 频率信号的改变,最常用的是聚吡咯纳米纤维。

Laith Al-Mashat 等^[29]以 FeCl_3 为氧化剂,双吡咯为引发剂,合成了平均直径为 18 nm ,长度为微米级的聚吡咯纳米纤维。将聚吡咯纳米纤维分散在 $\text{ZnO}/36^\circ\text{YX LiTaO}_3$ 材料表面,制成了双通道 SAW 谐振型气体传感器。在室温下对 4.2 mg/m^3 的 NO_2 进行了检测,SAW 频率变化为 4.5 kHz ,达到最大响应 90%的时间为 133 s ,恢复 90%的时间为 298 s 。不过,在对更高浓度的 NO_2 进行检测时,响应值会不稳定,可能是因为过多的 NO_2 分子与聚吡咯络合,导致 π 键共轭结构发生了一定的破坏而造成的。虽然 NO_2 会对敏感膜造成破坏性的影响,不过放置在空气中一段时间后,经过解吸附的过程,敏感膜会恢复到原来的状态,对 NO_2 的检测响应具有重现性。

碳纳米管是理想的一维材料,具有比表面积大、尺寸小、力学性能好、随直径和手性不同呈现金属或半导体的导电性等优良性能。由于比表面积大,碳纳米管对一些气体分子具有很强的吸附能力;吸附的气体分子与半导体碳纳米管相互作用,改变了它的费米能级,从而引起碳纳米管宏

观电阻发生较大改变,据此即可检测气体。因此,碳纳米管可以用来制作气体传感器。相比金属氧化物半导体传感器需要加热,碳纳米管能在室温下对气体进行检测就具有了很大的优势。2000 年 J. Kong 等^[30]在分散有催化剂的 SiO_2/Si 基片上制得了单壁 P 型半导体碳纳米管。测量了碳纳米管在不同气体环境中导电性的变化,发现在 400 mg/m^3 的 NO_2 环境下单壁碳纳米管(single walled carbon nanotubes, SWCNTs)的导电性增强了 3 个数量级,而在 1% 的 NH_3 环境下其导电性则下降了 2 个数量级,提出碳纳米管可以用于检测气体,此后将碳纳米管用于气体传感器的敏感膜材料得到了广泛的关注和研究。

M. Penza 等^[19]将质量分数为 75% 的单壁碳纳米管掺杂于花生酸镉制成复合敏感膜材料,利用 LB 膜技术将其涂覆于 $\text{ZnO}/36^\circ\text{YX LiTaO}_3$ 材料表面,制备成双通道 SAW 谐振型传感器,在对 $2\sim 20 \text{ mg/m}^3$ 的 NO_2 进行了检测的过程中,同时对敏感膜的电导率和 SAW 的相位变化进行了测量,认为纳米复合敏感膜电导率的变化是 SAW 的速度和相位产生变化的最主要原因。

将碳纳米管作为 SAW 传感器的敏感膜材料,已有了不少的报道,现有研究表明基于碳纳米管的 SAW 气体传感器可以检测 NO_2 、 SO_2 、 NH_3 和 O_2 等多种气体分子^[31~33]。碳纳米管作为一种无机物,相比聚合物纳米纤维稳定性更好,因而制成的敏感膜使用寿命更长,具有更大的应用价值。

3.4 小结

SAW- NO_2 传感器的敏感膜材料从金属氧化物半导体、有机半导体发展到碳纳米管、纳米纤维,存在增大比表面积,提高吸附能力以增强灵敏度的发展趋势,使用金属氧化物半导体和有机半导体两类敏感膜材料制作的传感器一般都需要加热,工作温度在 100°C 以上;使用碳纳米管、聚合物纳米纤维作为敏感膜材料,实现了室温检测,并且灵敏度有了一定的提高。所以,通过对敏感膜材料的结构设计或者掺杂改性,提高 SAW- NO_2 传感器对 NO_2 的响应值,增大薄膜的比表面积,使其针对 NO_2 有更大的特异选择性,是 SAW- NO_2 传感器敏感膜材料的发展方向之一。

4 展望

SAW-NO₂ 传感器与其它的 NO₂ 传感器相比,具有更高的分辨率和灵敏度。但是从目前的研究来看,还存在稳定性不够,受环境温湿度、振动影响比较大的问题,这需要从器件的设计上进行改进。对于其它气体干扰产生的误报漏报问题,则需要通过对敏感膜材料的筛选、改性来提高对 NO₂ 检测的灵敏度和选择性识别,另外,通过多通道不同敏感膜探头进行同时检测,利用软件进行模式识别,能够进一步提高检测的准确度和可靠性。虽然目前的 SAW-NO₂ 传感器要实现实用化还存在一定的问题,但就其本身的特点和相关报道来看,这一领域的研究是极具价值的,应用前景也是相当广阔的。

参考文献

- [1] 金兴良,李伟,孙大海,等. 二氧化氮化学膜传感器[J]. 传感技术学报, 2001, 14 (4): 259~264.
- [2] 徐向荣. 氧化物的危害及其卫生检验方法[J]. 职业与健康, 1999, 15 (2): 22~23.
- [3] Barazzouk S, Tandon R P, Hotchandani S. MoO₃-based sensor for NO, NO₂ and CH₄ detection [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2006, 119 (2): 691~694.
- [4] 刘凤敏,陈丽华,全宝富. In₂O₃ 基 NO₂ 气体传感器的研究[J]. 微纳电子技术, 2007, 44 (7/8): 312~314.
- [5] Tetsuya Kidaa, Aya Nishiyamab, Masayoshi Yuasa, et al. Highly sensitive NO₂ sensors using lamellar-structured WO₃ particles prepared by an acidification method[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2009, 135(2): 568~574.
- [6] Hibino T, Kuwahara Y, Otsuka T, et al. NO_x detection using the electrolysis of water vapour in a YSZ cell[J]. Solid State Ionics, 1998, 107 (3-4): 213~216.
- [7] 彭勇. 高灵敏度光纤气体传感器的研究[J]. 大连海事大学学报, 2005, 31 (3): 87~89.
- [8] 金兴良,荆森,周凯,等. 溶胶-凝胶薄膜光纤传感器法测定空气中二氧化氮 [J]. 分析化学, 2005, 33 (9): 1 215~1 218.
- [9] Shin-Ichi Ohira, Eranda Wanigasekara, Dmitry M Rudkevich, et al. Sensing parts per million levels of gaseous NO₂ by a optical fiber transducer based on calix [4] arenes[J]. Talanta, 2009, 77 (5): 1 814~1 820.
- [10] Masanobu Matsuguchi, Yoshito Kadowaki, Masanori Tanaka. A QCM-based NO₂ gas detector using morpho-
line-functional cross-linked copolymer coatings[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2005, 108(1-2): 572~575.
- [11] Holger Becket, Schickfus Manfred von, Siegfried Hunklinger. A new sensor principle based on the reflection of surface acoustic waves [J]. Sensors and Actuators A: physical, 1996, 54 (1-3): 618~621.
- [12] 袁小平. 国外声表面波传感器开发情况[J]. 压电与声光, 1995, 17 (4): 6~10.
- [13] Hank Wohltjen. Mechanism of Operation and Design Considerations for Surface Acoustic Wave Device Vapour Sensors[J]. Sensors and Actuators, 1984, 5 (4): 307~325.
- [14] 伍智仲,王艳武,潘勇,等. SAW 技术在化学战剂检测中的研究进展[J]. 化学传感器, 2005, 25(4): 14~20.
- [15] 曹丙庆,潘勇,赵建军,等. 分子印迹聚合物在化学传感器中的应用及其制备 [J]. 高分子通报, 2007, (8): 34~43.
- [16] 曹丙庆,潘勇,赵建军,等. 对-叔丁基杯[4]芳烃衍生物自组装分子在声表面波传感器中检测有机磷的研究[J]. 应用化学, 2008, 25 (10): 1 176~1 180.
- [17] 于海燕,谢光忠,吴志明,等. 导电聚合物薄膜声表面波传感器敏感特性研究 [J]. 传感器与微系统, 2007, 26 (2): 53~55.
- [18] Ricco A J, Martin S J, Zipperian T E. Surface acoustic wave gas sensor based on film conductivity changes[J]. Sensors and Actuators, 1985, 8 (4): 319~333.
- [19] Penza M, Aversa P, Cassano G, et al. Layered SAW gas sensor with single-walled carbon nanotube-based nanocomposite coating [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2007, 127 (1): 168~178.
- [20] 黄忠宇,孙良彦,平田光寿. NO₂ 高选择性气敏元件及其表面修饰[J]. 传感技术学报, 1993, 6 (4): 10~13.
- [21] Penza M, Vasanelli L. SAW NO_x gas sensor using WO₃ thin-film sensitive coating [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 1997, 41 (1-3): 31~36.
- [22] Ippolito S J, Kandasamy S, Kalantarzadeh K, et al. Highly sensitive layered ZnO/LiNbO₃ SAW device with InOx selective layer for NO₂ and H₂ gas sensing[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2005, 111-112 (1): 207~212.
- [23] Beck K, Kunzelmann T, Schickfus M von, et al. Contactless surface acoustic wave gas sensor [J]. Sensors and Actuators A: Physical, 1999, 76 (1-3): 103~106.
- [24] Nieuwenhuizen M S, Nederlof A J. A silicon-based SAW chemical sensor for NO₂ by applying a silicon nitride passivation layer [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 1992, 9 (3): 171~176.

- [25] Schickfus M von, Stanzel R, Kammereck T, et al. Improving the SAW gas sensor: device, electronics and sensor layer [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1994, 19 (1-3): 443~447.
- [26] Rügemer A, Reiss S, Geyer A, et al. Surface acoustic wave NO₂ sensing using attenuation as the measured quantity [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1999, 56 (1-2): 45~49.
- [27] Holcroft B, Roberts G G. Surface Acoustic Wave Sensors Incorporating Langmuir-Blodgett Films [J]. *Thin Solid Films*, 1988, 160 (1-2): 445~452.
- [28] Chen Yuquan, Zhang Wuming, Li Guang. SAW gas sensor with proper tetrasulphonated phthalocyanine film[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1994, 20(2-3): 247~249.
- [29] Laith Al-Mashat, Henry D Tran, Wojtek Wlodarski, et al. Polypyrrole nanofiber surface acoustic wave gas sensors [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2008, 134 (2): 826~831.
- [30] Kong J, Franklin N R, Zhou C W, et al. Nanotube molecular wires as chemical sensors [J]. *Science*, 2000, 287 (5 453): 622~625.
- [31] Penza M, Antolini F, Antisari M Vittori. Carbon nanotubes as SAW chemical sensors materials [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2004, 100 (1-2): 47~59.
- [32] Paolo Bondavalli, Pierre Legagneux, Didier Pribat. Carbon nanotubes based transistors as gas sensors: State of the art and critical review[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2009, 140 (1): 304~318.
- [33] Penza M, Antolini F, Antisari M Vittori. Carbon nanotubes as SAW chemical sensors materials [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2004, 100 (1-2): 47~59.

聚邻氨基苯甲酸/纳米金复合膜电化学免疫传感器 用于水体中大肠杆菌的检测

符莹, 张新爱, 滕瑛巧, 刘慧杰, 张文*, 金利通
(华东师范大学化学系, 上海 200062)

摘要: 以聚邻氨基苯甲酸/纳米金复合膜 (poly-o-ABA/AuNP) 为基底固载大肠杆菌抗体制备了一种新型的电化学免疫传感器。利用大肠杆菌与抗体之间的免疫反应构建了三明治夹心结构, 以对苯二酚为电子媒介体, 通过辣根过氧化物酶 (HRP) 催化 H_2O_2 产生的响应电流对大肠杆菌进行检测。结果表明, 在优化的实验条件下, 该传感器的响应电流与大肠杆菌的浓度在 $1.0 \times 10^3 \sim 1.0 \times 10^7$ cfu/mL 范围内呈良好的线性关系, 检测限为 2×10^2 cfu/mL。经过预富集过程, 该方法成功实现了对河水中大肠杆菌的检测。

关键词: 聚邻氨基苯甲酸; 纳米金; 大肠杆菌; 电化学免疫传感器

Development of an electrochemical immunosensor for E.coli based on poly-o-ABA/AuNP

Fu Ying, Zhang Xin-ai, Teng Ying-qiao, Liu Hui-jie, Zhang Wen*, Jin Li-tong
(Department of chemistry, East China Normal University, Shanghai 200062, China)

Abstract: A new electrochemical immunosensor was constructed by chemical depositing poly-o-ABA/AuNP on the surface of glassy carbon electrode (GCE) for E. coli detection in water. A sandwich-type protocol was utilized to detect the electrochemical signals derived from the carried horseradish peroxidase (HRP) toward the reduction of H_2O_2 using the hydroquinone as electron mediator. Under optimal conditions, the response currents were proportional with logarithmic value of E. coli from 1.0×10^3 to 1.0×10^7 cfu/mL, with a detection limit of 2×10^2 cfu/mL. The proposed immunosensor was also successfully applied for real sample detection.

Key words: poly-o-ABA; gold nanoparticles; E.coli; electrochemical immunosensor

0 引言

大肠杆菌是水体污染程度的重要指示菌, 是肠道中最普遍、数量最多的一类细菌。当大肠杆菌由粪便尤其是肠道病患者粪便或医院污水污染的水源排放后, 它可引发伤寒、痢疾、霍乱等肠道疾病流行^[1]。存在于溪流、河水、湖泊等与人类生活密切相关的环境中的大肠杆菌已经成为人类病原存在的一个重要指标, 是环境保护、食品卫生、饮水卫生和流行性病学领域中最重要研究对象之一。因此, 水体中大肠杆菌的检测研究

对环境卫生以及流行病学等方面都具有十分重要的意义^[2-4]。

大肠杆菌的传统检测方法包括多管发酵法、滤膜法、荧光法、生物检测法等。这些方法准确度高, 但是存在检测周期长、程序复杂、所需试剂繁多等缺点, 已经不能满足现代检测需要。电化学免疫传感器具有简单、灵敏、快速等独特的优点, 近年来受到了人们的广泛关注^[5-6]。该文发展了一种具有低耗、高灵敏度、高选择性等特性的电化学免疫传感器实现了对水体中大肠杆菌的快速检测。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

CHI 660 电化学分析系统(CHI, 美国);S4800 型扫描电子显微镜(SEM, Hitachi, 日本)。

多克隆 E.coli 抗体 (北京宝赛生物科技有限公司, 中国); 辣根过氧化酶标记的大肠杆菌抗体 (ab20425, Abcam, 英国); 大肠杆菌菌种(华东师范大学生命科学学院, 中国); 其余试剂如牛血清白蛋白(BSA, Sigma, 美国)等均为分析纯, 实验用水为二次蒸馏水, 所有实验均在室温下操作。

1.2 免疫传感器的制备

玻碳电极(抛光后)分别在 $-0.10 \sim 1.35$ V 电位下和 1.0 mmol/L HAuCl_4 溶液中, $-0.04 \sim 0.93$ V 电位下和 50 mmol/L 邻氨基苯甲酸溶液中进行循环伏安扫描制得 poly-o-ABA/AuNP 修饰电极, 然后在此电极上滴加 $10 \mu\text{L}$ 新配制的 0.40 mol/L 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺基 (EDC) 和 0.10 mol/L N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)混合溶液并活化 40 min。PBS 淋洗后, 加入 $10 \mu\text{L}$ $100 \mu\text{g/mL}$ 的大肠杆菌抗体, 用 $10 \mu\text{L}$ 1.0 mol/L 乙醇胺和 $10 \mu\text{L}$ 1.0% BSA 来封闭未结合的羧基以避免非特异性吸附。再加入 $10 \mu\text{L}$ 大肠杆菌标准溶液, 温育 1 h。最后, 将 $10 \mu\text{L}$ $100 \mu\text{g/mL}$ 辣根过氧化酶标记的大肠杆菌抗体滴加在电极表面反应 1 h, 用 PBS 清洗。

1.3 测试方法

三电极系统中以甘汞电极为参比电极, 铂丝电极为辅助电极, 研制的免疫传感器为工作电极。电极在 5.0 mL 1.0 mmol/L 对苯二酚溶液中, 以 -0.40 V \sim 1.00 V 的电位范围进行循环伏安扫描, 电流稳定后加入 $50 \mu\text{L}$ 0.48 mol/L 的 H_2O_2 , 通过响应电流的大小来检测大肠杆菌的浓度。

2 结果与讨论

2.1 修饰电极的扫描电子显微镜(SEM)图谱表征

图 1 为 poly-o-ABA/AuNP 修饰电极的 SEM 图谱。可以观察到聚邻氨基苯甲酸的纤维和多孔结构以及分布于其中的金纳米粒子^[7]。

2.2 修饰电极的电化学阻抗谱(EIS)表征

由图 2 知: 相对于裸玻碳电极, AuNPs 修饰电极的阻抗明显减小, 说明 AuNPs 有效地促进了

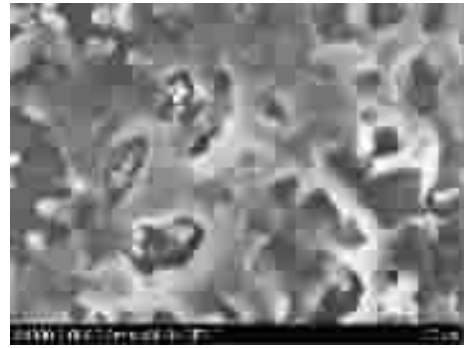


图 1 poly-o-ABA/AuNP 修饰电极的 SEM 图
Fig.1 Scanning electron micrograph of poly-o-ABA/AuNP modified GCE

电子的传递。而 poly-o-ABA 修饰电极的阻抗明显增大, 表明 poly-o-ABA 的导电性比较差, 阻碍了电子的传递^[8-9]。在图 2 的曲线 d 中, poly-o-ABA/AuNP 修饰电极的阻抗介于纳米金与聚邻氨基苯甲酸之间。依次加上大肠杆菌抗体、大肠杆菌、辣根过氧化酶标记的抗体后, 阻抗值逐渐增加, 证明大肠杆菌抗体、大肠杆菌和辣根过氧化酶标记的抗体均被固载到 poly-o-ABA/AuNP 修饰电极上^[10-12]。

2.3 免疫传感器上酶的电化学行为

图 3 为在免疫传感器中分别加入 $10 \mu\text{L}$ 大肠杆菌抗体和 $10 \mu\text{L}$ 辣根过氧化酶标记抗体并培养 1 h, 再放入 10 mL 1.0 mmol/L 对苯二酚的 PBS 溶液, 检测得到循环伏安图 (a)。加入 1.6 mmol/L 的 H_2O_2 后, (b) 中响应电流增加, 显示出明显的电催化过程。

2.4 大肠杆菌的检测原理

图 4 为 poly-o-ABA/AuNP 免疫传感器的工作原理。反应体系包括典型的夹心免疫反应过程和特异性反应的电化学检测。该传感器在 1.0 mmol/L 对苯二酚存在下, 通过辣根过氧化酶催化底物 H_2O_2 实现了对大肠杆菌的检测。

2.5 实验条件的优化

该实验研究了 H_2O_2 浓度对电流响应的影响。由图 5 知: 在 1.0 mmol/L 对苯二酚存在的条件下, 当 H_2O_2 浓度在 0.0 至 4.8 mmol/L 范围内时, 响应电流与 H_2O_2 浓度呈线性关系。所以在免疫检测中, 选择 4.8 mmol/L 的 H_2O_2 作为检测底液的浓度。

考察了该传感器在 pH5.5 到 pH8.5 的范围

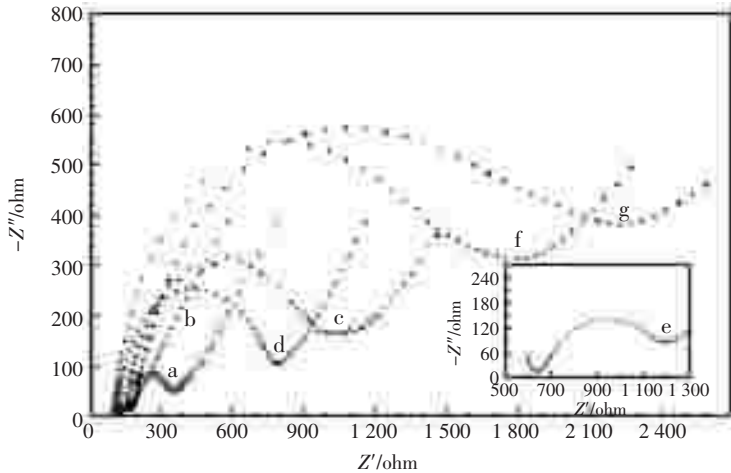


图2 (a)裸玻碳电极;(b)AuNPs 玻碳电极;(c)poly-o-ABA 玻碳电极;(d)poly-o-ABA/AuNP 玻碳电极;(e)抗体/poly-o-ABA/AuNP 玻碳电极;(f)大肠杆菌/抗体/poly-o-ABA/AuNP 玻碳电极;(g)辣根过氧化酶标记抗体/大肠杆菌/抗体/poly-o-ABA/AuNP 玻碳电极在 10 mmol/L $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ (0.010 mol/L pH7.0 PBS, 0.10 mol/L KCl)中的电化学阻抗谱

Fig.2 EIS of different electrodes in the presence of 10 mmol/L $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ solution (0.010 mol/L pH7.0 PBS, 0.10 mol/L KCl): (a) bare GCE; (b) AuNPs modified GCE; (c) poly-o-ABA modified GCE; (d) poly-o-ABA/AuNP modified GCE; (e) anti-E.coli/ poly-o-ABA/AuNP modified GCE; (f) E.coli/anti-E.coli/ poly-o-ABA/AuNP modified GCE; (g) HRP-anti-E.coli/E.coli/anti-E.coli/poly-o-ABA/AuNP modified GCE

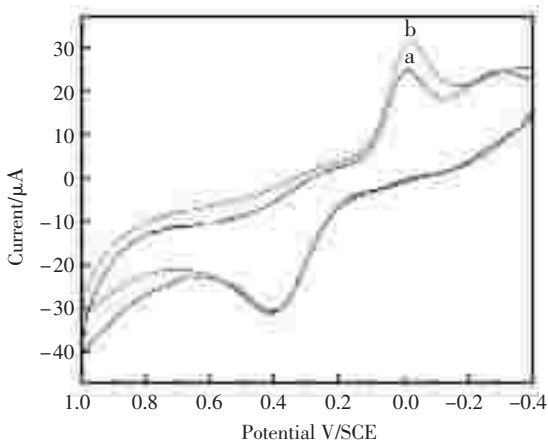


图3 在免疫传感器中加入 (a)1.0 mmol/L 对苯二酚;(b) 1.0 mmol/L 对苯二酚和 1.6 mmol/L H_2O_2 的循环伏安图
Fig.3 Cyclic voltammogram of HRP-anti-E.coli/E.coli/anti-E.coli/poly-o-ABA/AuNP modified GCE containing (a)1.0 mmol/L hydroquinone; (b)1.0 mmol/L hydroquinone and 1.6 mmol/L H_2O_2

的检测底液中对大肠杆菌的检测,结果表明在 pH7.0 时响应电流最大,因此选择 7.0 为检测的最优 pH 值。反应时间是影响催化反应的一个重要因素,响应电流随免疫反应的时间的增加而增大,实验中在 60 min 时达到平衡,所以选择培养

时间为 60 min。

2.6 免疫传感器对大肠杆菌的检测

由图 6 知,免疫传感器检测大肠杆菌的线性范围为 $1.0 \times 10^3 \sim 1.0 \times 10^7$ cfu/mL,线性回归方程为 $I(\mu\text{A}) = -0.38 + 0.22 \log C_{\text{E.coli}}$ 。对于浓度为 1.0×10^4 cfu/mL 的大肠杆菌,每组数据测定三次,RSD 为 4.5%,检测限为 2×10^2 cfu/mL。

2.7 选择性实验

在大肠杆菌(1.0×10^4 cfu/mL)溶液中,加入枯草杆菌(1.0×10^5 cfu/mL)、酵母菌(1.0×10^5 cfu/mL)、放线杆菌(1.0×10^5 cfu/mL)作为干扰物,用相同的实验步骤考察免疫传感器对大肠杆菌的响应电流。实验结果显示响应电流没有显著增加,表明该免疫传感器具有良好的选择性。

2.8 河水中大肠杆菌的检测

将 1.0 L 的河水用孔径为 $0.45 \mu\text{m}$ 的滤纸过滤,富集得到的大肠杆菌溶液溶解于 5.0 mL PBS (0.1 mol/L, pH7.4)中,运用该实验中的方法对大肠杆菌进行检测,结果显示大肠杆菌的浓度为 50 cfu/mL,与平板计数法(52 cfu/mL)得到的结果一致。

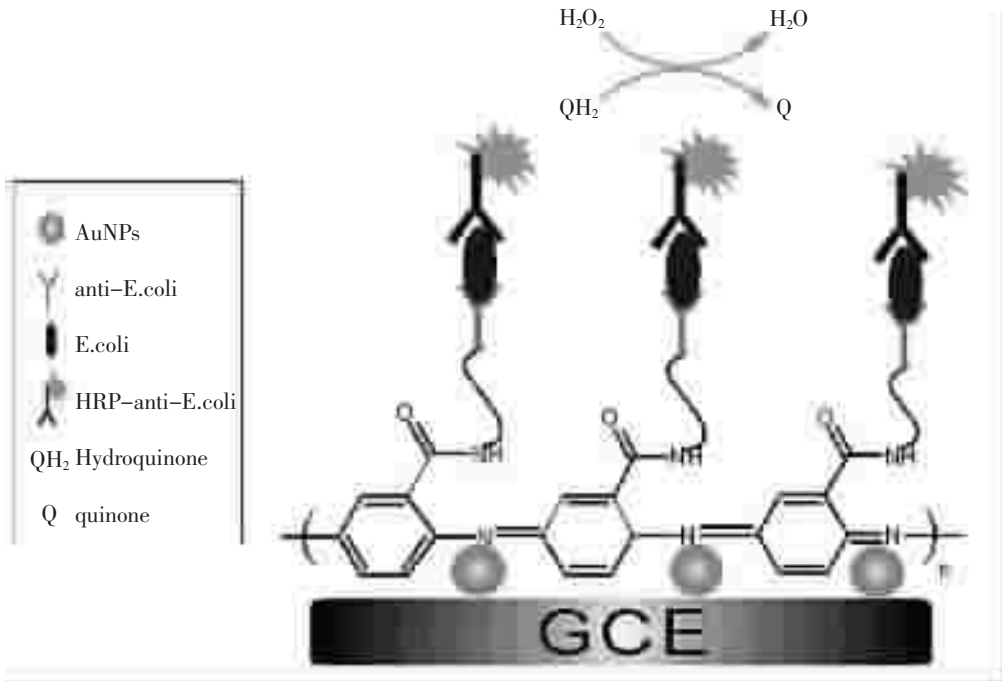


图 4 基于 poly-o-ABA/AuNP 修饰玻碳电极的免疫传感器工作原理

Fig.4 Schematic of the amperometric immunosensor based on poly-o-ABA/AuNP modified GCE

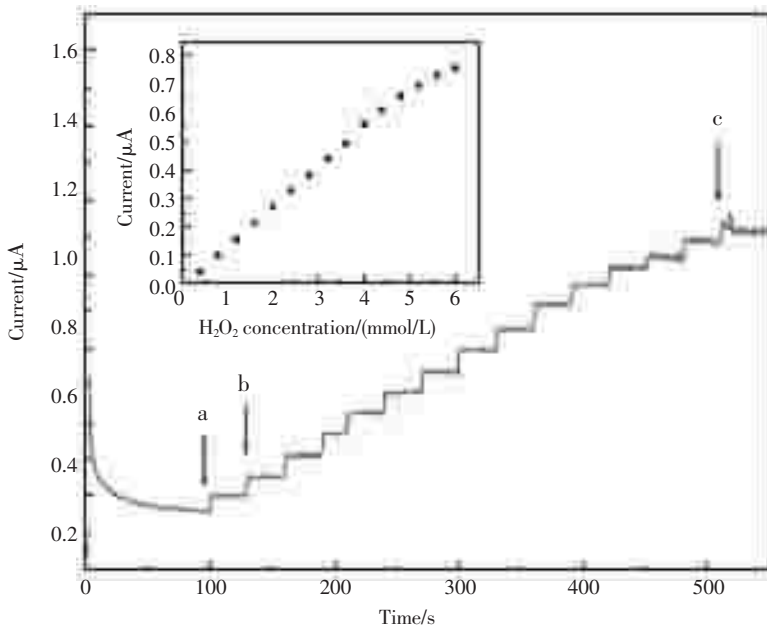


图 5 H_2O_2 浓度对辣根过氧化酶标记抗体修饰的 poly-o-ABA/AuNP 修饰电极的影响

(a) 0.4 mmol/L; (b) 0.8 mmol/L; (c) 6.0 mmol/L 的 H_2O_2 在基底中的电流响应, 插图为响应电流与 H_2O_2 浓度的线性图

Fig.5 Response currents of HRP-anti-E.coli/poly-o-ABA/AuNP modified GCE in (a) 0.4 mmol/L; (b) 0.8 mmol/L; (c) 6.0 mmol/L H_2O_2 ; Insert shows the calibration plot between the response current and H_2O_2 concentration

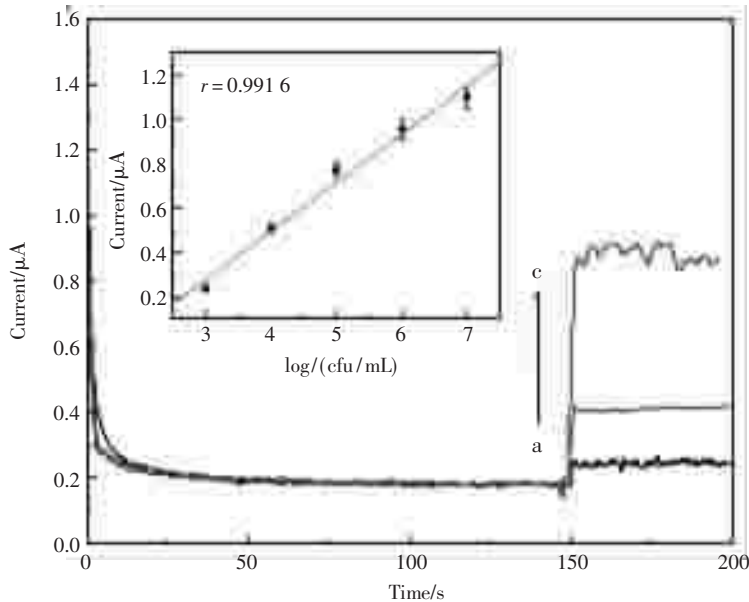


图6 (a)0.0 cfu/mL; (b) 1.0×10^3 cfu/mL; (c) 1.0×10^5 cfu/mL的大肠杆菌在免疫传感器上的电流响应; 插图为响应电流与大肠杆菌的浓度对数的线性关系图

Fig.6 Response currents of the immunosensor toward the (a) 0.0 cfu/mL; (b) 1.0×10^3 cfu/mL; (c) 1.0×10^5 cfu/mL of E.coli. Insert shows the calibration plot between the response current and the logarithmic value of E.coli concentration

3 结论

该实验采用 poly-o-ABA/AuNP 制备出新型的免疫传感器,并将其应用于河水中大肠杆菌的检测。该传感器检测河水中的大肠杆菌具有灵敏度高、选择性好的优点,在饮用水和食品安全检测等方面有很好的应用前景。

参考文献

- [1] 刘亚军,黄晶晶,程欲晓. Tyr/MWNTs-Chit/GCE 生物传感器的制备及其在快速检测大肠杆菌中的应用[J]. 化学传感器,2008,28(2):20~26.
- [2] Zhang X A, Zhang W, Jin L T, et al. Development of an electrochemical immunoassay for rapid detection of E. coli using anodic stripping voltammetry based on Cu@Au nanoparticles as antibody labels[J]. Biosens. Bioelectron, 2009,24(7):2 155~2 159.
- [3] 张文,唐辉,金利通. 纳米二氧化锡电极的制备及其用于水体中大肠杆菌的快速计数研究 [J]. 化学学报, 2005,63(14):1 313~1 317.
- [4] 刘慧杰,张文,金利通. 基于 Fe_3O_4 @Au 复合纳米粒子标记抗体免疫分析方法用于检测水体中的大肠杆菌 [J]. 分析化学,2009,37(A03):283~284.
- [5] Michael S W. Electrochemical Immunosensors for the Simultaneous Detection of Two Tumor Markers[J]. Anal. Chem,2005, 77(5):1 496~1 502.
- [6] 左国防,王小芳. 基于纳米材料的电化学生物传感器研究进展[J]. 化学传感器,2009,29(4): 25~31.
- [7] Carolin T, Christopher M A B. Electrosynthesis and properties of conducting polymers derived from aminobenzoic acids and from aminobenzoic acids and aniline[J]. Synthetic. Met., 2001,123 (1):1~9.
- [8] Benyoucef A, Huerta F, Ferrahi M I. Voltammetric and in situ FT-IRS study of the electropolymerization of o-aminobenzoic acid at gold and graphite carbon electrodes: Influence of pH on the electrochemical behaviour of polymer films [J]. J. Electroanal. Chem,2008,624(1-2): 245~250.
- [9] Sema D Ç, Hayati F, Reat A. Use of an o-aminobenzoic acid-functionalized XAD-4 copolymer resin for the separation and preconcentration of heavy metal(II) ions[J]. Anal. Chim. Acta,2004, 505(1):15~24.
- [10] Ren X M, Pickup P G. An impedance study of electron transport and electron transfer in composite polypyrrole+ polystyrenesulphonate films [J]. J. Electroanal. Chem, 1997,420(1-2): 251~257.
- [11] Ruan C M, Yang L J, Li Y B. Immunobiosensor Chips for Detection of Escherichia coli O157:H7 Using Electrochemical Impedance Spectroscopy [J]. Anal. Chem, 2002, 74(18): 4 814~4 820.
- [12] Kanika S, Md A R, Jung I S. An amperometric immunosensor for osteoproteogelin based on gold nanoparticles deposited conducting polymer[J]. Biosens. Bioelectron.,2008,23(11): 1 595~1 601.

基于壳聚糖-硅溶胶复合膜固载甲苯胺蓝及纳米金的新型电流型过氧化氢生物传感器的研究

孙妮, 李文娟, 袁若*, 柴雅琴

(西南大学化学化工学院, 重庆市分析化学重点实验室, 重庆 400715)

摘要: 该文基于有机-无机复合膜和纳米技术研制了一种新型的高灵敏度的电流型过氧化氢(H_2O_2)生物传感器。首先将壳聚糖(CS)和氨丙基三乙氧基硅烷(APTES)交联制得复合膜(CSHMs),并以该膜固载甲苯胺蓝(TB)和纳米金(GNPs),然后将HRP与CSHMs-TB-GNPs混合滴涂在玻碳电极的表面,最后在其表面吸附一层Nafion保护膜,制得Nafion/CSHMs-TB-GNPs-HRP/GCE修饰电极。Nafion膜可以减少HRP的泄漏,同时增强了传感器的抗干扰能力。用紫外吸收光谱法分析了修饰膜成分的组成,用循环伏安法对修饰电极进行了表征,并用计时电流法对 H_2O_2 传感器的性能进行了研究。实验结果表明,在最佳实验条件下, H_2O_2 浓度在 $7.0 \times 10^{-7} \sim 2.3 \times 10^{-3}$ mol/L范围内与其还原峰电流呈现良好的线性关系,检测下限为 2.4×10^{-7} mol/L(信噪比3)。

关键词: 过氧化氢生物传感器; CSHMs; 甲苯胺蓝; 纳米金

A novel amperometric hydrogen peroxide biosensor based on TB and GNPs as well as silica sol-gel/CS film as immobilization matrix

Sun Ni, Li Wen-juan, Yuan Ruo*, Chai Ya-qin

(Chongqing Key Laboratory of Analytical Chemistry, College of Chemistry and Engineering, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: A novel method based on inorganic-organic hybrid composite film fabrication and nano-technique was exploited to develop a highly sensitive amperometric hydrogen peroxide (H_2O_2) biosensor. In this method, the hybrid films(CSHMs) are prepared by cross-linking chitosan (CS) with 3-aminopropyltriethoxysilane (APTES), which can be readily used as an immobilization matrix to co-entrap mediator and enzymes. In the meantime, gold nanoparticle (GNPs) were immobilized into CSHMs via the widely present amino groups in CSHMs and toluidine blue conjugation. A model enzyme, HRP, was mixed with the CSHMs-TB-GNPs solution and cast on the surface of glass carbon electrodes. Finally, the resulting CSHMs-TB-GNPs-HRP/GCE electrode was covered by a thin layer of Nafion to avoid the loss of HRP in determination and to improve the anti-interferent ability. The electrode was denoted as Nafion/CSHMs-TB-GNPs-HRP/GCE. UV-visible spectroscopies were used to determine the composition of the film. The characteristic of the resulting biosensor was characterized by cyclic voltammetry and chronoamperometry. The linear range for the determination of H_2O_2 is from 7.0×10^{-7} to 2.3×10^{-3} mol/L with a detection limit of 2.4×10^{-7} mol/L at 3σ .

Key words: hydrogen peroxide biosensor; CSHMs; TB; gold nanoparticles

0 引言

在生物传感器的构建中,关键技术之一就是如何将生物活性分子稳定、高活性地固定到电极表面^[1-2]。壳聚糖(CS)是一种天然多糖,具有生物降解性、无毒性及良好的生物相容性^[3]等诸多优点,在生物传感器中已经被广泛用做酶的固载基质^[4-6]。在该实验中,用一种硅烷偶合剂氨丙基三乙氧基硅烷(APTES)交联壳聚糖,形成的杂化复合材料可以克服纯粹溶胶凝胶衍生的硅酸盐材料的脆度和皱缩度,而且可以提供一个适中的疏水环境以便染料分子的固定,并且允许分析物透过该材料^[7]。同时酶可以包裹到复合材料中而不需共价结合,因此可以保持其良好的生物活性。

然而,壳聚糖复合膜导电性差,这是其在生物传感器应用中的一个重要问题。鉴于纳米材料优异的电子传输能力,可以采用纳米材料包括纳米颗粒、纳米管、量子点和纳米线等来提高壳聚糖复合膜的导电性。由于纳米金具有易制备、生物兼容性好,比表面积大和能提供一个与酶蛋白本身相似的环境等优点,已经被用来固载葡萄糖氧化酶^[8]、辣根过氧化物酶^[9]和抗体^[10],同时保持这些生物大分子的活性。故该实验中,选择纳米金(GNPs)来改变其导电性。

在该实验中,尝试联合壳聚糖/硅溶胶凝胶复合物(CSHMs)和纳米颗粒的优点来研究酶的电化学和电催化性能。纳米金用来改变导电性,甲苯胺蓝作为电子媒介体,壳聚糖复合膜作为生物分子的固载基质,Nafion用来防止酶和甲苯胺蓝的泄露。选用辣根过氧化物酶为模板酶蛋白,将其混入CSHMs-TB-GNPs溶液中,并将其滴涂在玻碳电极上,制备了Nafion/CSHMs-TB-GNPs-HRP/GCE生物传感器。利用紫外吸收光谱分析修饰膜的组成,用循环伏安和计时电流法表征传感器性能。该实验所构建的传感器对过氧化氢响应快,为生物传感器的发展提供了一个有前途的平台。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

CHI 660A型电化学工作站(上海辰华仪器公司),电化学反应池为三电极体系:修饰了酶膜的

玻碳电极为工作电极,铂丝电极为对电极,饱和甘汞电极(SCE)为参比电极。Lambda 17 UV-VIS 8500 (PE Co, USA)紫外分光光度计(300~750 nm)。GNPs的粒径由H-600透射电子显微镜(TEM, 日立公司)测定。辣根过氧化物酶(HRP, 250 U/mg),氨丙基三乙氧基硅烷,壳聚糖, Nafion, 氯金酸和柠檬酸钠均购自美国Sigma公司,甲苯胺蓝购自上海化学试剂公司, H₂O₂ (30%, 水溶液)购自重庆化学试剂公司,其它试剂均为分析纯试剂,实验用水为二次蒸馏水。用柠檬酸钠还原氯金酸水溶液制备纳米金(粒径约为16 nm)^[11]。

1.2 酶电极的制备

玻碳电极(GCE, $\phi = 4$ mm)依次用0.3 μm 、0.05 μm 的Al₂O₃粉末进行抛光。抛光后所得电极依次用乙醇、二次蒸馏水进行超声清洗5 min。

将APTES与0.1%的CS在HCl的作用下,在室温条件下交联反应2 h,即制得CSHMs。取10 μL CSHMs储备液, 10 μL HRP (pH7.0, 2 mg/mL HRP), 10 μL GNPs及5 μL 1.0 mmol/L的TB充分混合。然后取8 μL 该混合液滴涂在洁净的玻碳电极表面,在冰箱放置过夜成膜,取出后用PBS冲洗,放置晾干,然后在电极表面滴涂2.0 μL 0.25% Nafion封闭CSHMs-TB-GNPs-HRP膜层,最终制得Nafion/CSHMs-TB-GNPs-HRP/GCE修饰电极。修饰好的电极置于冰箱(4 $^{\circ}\text{C}$)中保存。

按照同样的方法制备对比实验所需的Nafion/HRP-TB-CSHMs/GCE修饰电极和Nafion/GNPs-TB-CSHMs/GCE修饰电极。图1为电极制备示意图。

2 结果与讨论

2.1 紫外吸收光谱

图2所示是(a)CS溶液,(b)硅溶胶,(c)CSHMs,(d)GNPs,(e)GNPs和CSHMs的混合溶液,(f)HRP,GNPs和CSHMs的混合溶液的紫外吸收光谱图。从(a)(b)(c)可以看出,当将CS溶液加入硅溶胶后,峰形几乎没有变化,表明在CS溶液中硅溶胶可以保持其化学性能不变。曲线(d)在524 nm处有一处强吸收峰,该峰为GNPs的特征吸收峰。当GNPs与CSHMs混合后的曲线(e)表明GNPs和CSHMs之间发生了相互作用^[12],并

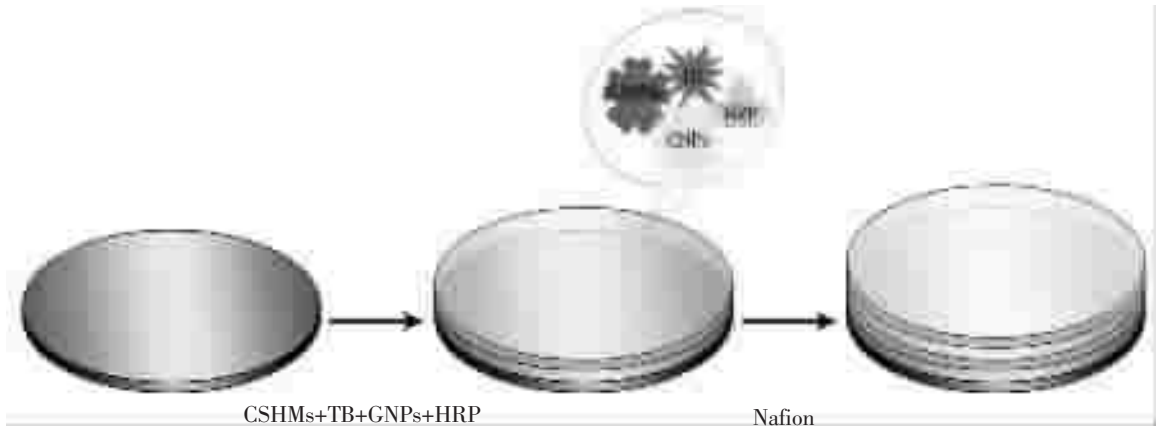


图 1 电极制备示意图

Fig.1 Schematic illustration of the preparation process of enzyme electrode

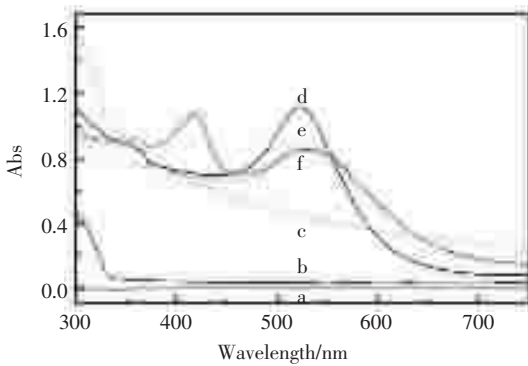


图 2 紫外吸收光谱图

Fig.2 UV-Vis absorption spectra of (a) CS solution, (b) sol-gel solution, (c) CSHMs, (d) GNPs, (e) CSHMs mixed with GNPs, (f) CSHMs mixed with HRP and GNPs

且使 GNPs 的表面发生了变化, 从而引起光谱图上的变化。HRP 加入 GNPs 和 CSHMs 的混合溶液中以后 (f), 在大约 416 nm 处有一个强烈的吸收峰, 此峰是 HRP 的特征吸收峰, 表明在混合溶液中 HRP 可以保持其本身的结构和生物活性。从图 2 可以得到以下结论: CSHMs、GNPs 及 HRP 可以彼此混合, 并且保持它们各自的化学性能, 为实验的准备工作提供了可行性依据。

2.2 扫速对修饰电极性能的影响

图 3 是修饰电极在 pH7.0 PBS 中, 不同扫速下的循环伏安图。从图中可以看出, 该传感器的循环伏安表征呈现一对可逆的氧化还原峰, 表明掺杂在 CSHMs 复合膜中的 TB 有效的固定在了

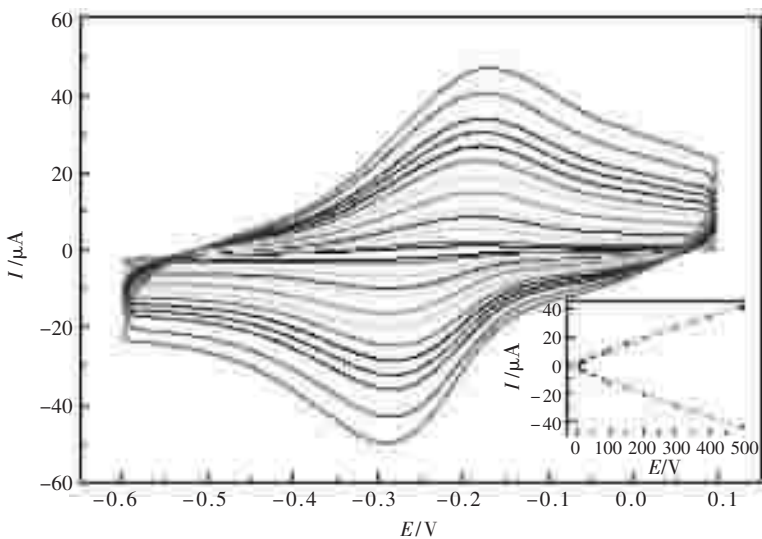


图 3 扫速对生物传感器的影响

Fig.3 CVs of the biosensor at various scan rates (from inner to outer curves: 10, 20, 50, 80, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500 mV/s) in 0.1 mol/L pH7.0 PBS. The inset shows the linear relationship of peak currents and scan rates

玻碳电极表面,促进了电子的传输。且在 10~500 mV/s 扫速范围内,氧化还原峰电流与扫速成线性关系,表明该修饰电极在 PBS 中的电化学过程是受表面控制的。

2.3 修饰电极的电化学特征

图 4 是该生物传感器 (Nafion/HRP-GNPs-TB-CSHMs/GCE) 在 pH7.0 PBS 中,加入不同浓度 H_2O_2 时的循环伏安图。(a)为修饰电极在未加入 H_2O_2 时的循环伏安图。当加入 0.35 mmol/L H_2O_2 后,电极的催化还原电流明显增大(曲线 b),加入 1.05 mmol/L H_2O_2 后,催化还原电流继续增大(曲线 c),表明固载在 CSHMs 膜上的 TB 是一种有效的电子媒介体,可以在 HRP 生物活性中心与电极表面传输电子,同时还表明 CSHMs 复合膜可以保持 HRP 的生物活性。

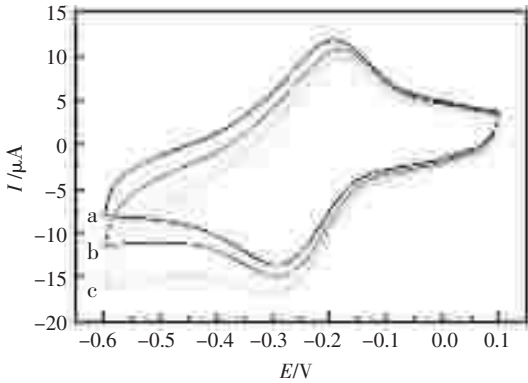


图 4 Nafion / HRP-GNPs-TB-CSHMs / GCE 修饰电极对 H_2O_2 的催化反应图

Fig.4 CVs of the biosensor at scan rate of 100 mV/s in 0.1 mol/L PBS (pH7.0) without H_2O_2 (a), with 0.35 mmol/L H_2O_2 (b) and 1.05 mmol/L H_2O_2 (c)

2.4 对比实验

图 5 是在最佳实验条件下,当连续加入不同浓度 H_2O_2 时,不同的修饰电极对 H_2O_2 的电流-时间曲线。其中 (a)Nafion/GNPs-TB-CSHMs/GCE, (b)Nafion/HRP-TB-CSHMs/GCE, (c)Nafion/HRP-GNPs-TB-CSHMs/GCE。从图中可以看出 (a) Nafion/GNPs-TB-CSHMs/GCE 对 H_2O_2 几乎没有发生催化还原反应。(b)Nafion/HRP-TB-CSHMs/GCE 修饰电极有微小的电流响应,表明电子媒介体 TB 在电极表面和 HRP 生物活性中心进行了电子的传递。比较这 3 支修饰电极的电流响应,(c)Nafion/HRP-GNPs-TB-CSHMs/GCE 电流响应最灵敏,并且响应电流远远大于另外两支修饰电

极,表明纳米金能大大的促进电子转移,进而提高灵敏度。此外,纳米金具有生物相容性,酶可以稳固的吸附在纳米金的表面。另外,固载了纳米金的 CSHMs 复合膜呈网状结构,可以增加酶的吸附量,增强传感器的响应。

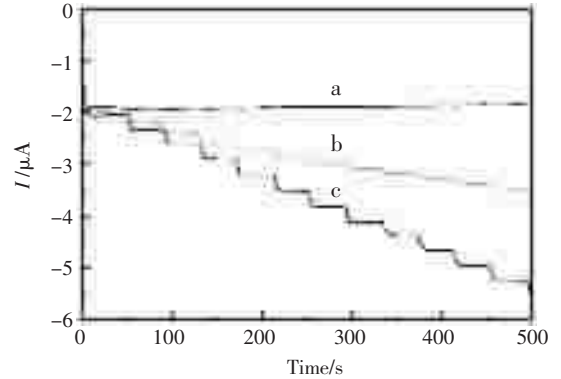


图 5 不同修饰电极对 H_2O_2 的电流响应

Fig.5 The chronoamperometry response at applied potential of -0.4 V with injection of 3.5×10^{-4} mol/L H_2O_2 into 5 mL of stirring pH7.0 PBS for (a) Nafion/GNPs-TB-CSHMs/GCE, (b)Nafion/HRP-TB-CSHMs/GCE and (c) Nafion/HRP-GNPs-TB-CSHMs/GCE modified electrode, respectively

2.5 传感器对过氧化氢的电化学响应

图 6 是在最佳实验条件下,Nafion/HRP-GNPs-TB-CSHMs/GCE 修饰电极的电流响应图及相应的标准曲线。从图中可以看出, H_2O_2 浓度在 $7.0 \times 10^{-7} \sim 2.3 \times 10^{-3}$ mol/L ($r=0.998$) 范围内与其还原峰电流成良好的线性关系,检出限为 2.4×10^{-7} mol/L (信噪比 3)。

2.6 传感器的重现性、稳定性及选择性

该酶修饰电极对浓度 0.02 mmol/L 的 H_2O_2 平行测定 10 次,所得相对标准偏差 (RSD) 为 3.4%,说明此酶生物传感器重现性良好。将该酶生物传感器在 4°C 的冰箱中放置 1 周后对相同浓度的底物响应可保持为初始时的 90%,4 周后可保持 81%,说明此电极稳定性良好。

该实验考察了可能对此生物传感器工作存在干扰的物质如 L-赖氨酸、L-亮氨酸、葡萄糖、乳酸、和乙醇等,发现均无明显干扰,说明此 H_2O_2 生物传感器具有较好的选择性。这些应当归功于 Nafion 膜对电活性物质有良好的抗干扰能力。

3 结论

该实验成功制备了一种新型的过氧化氢生

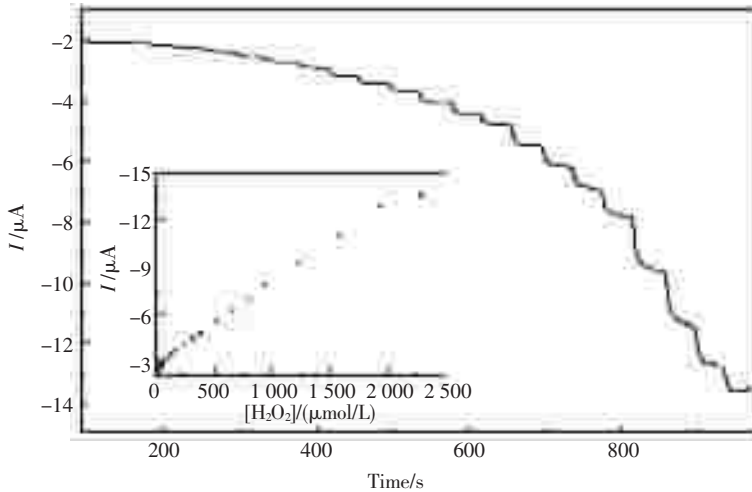


图 6 生物传感器对连续加入不同浓度 H_2O_2 的计时安培电流图

Fig.6 Amperometric response of the biosensor to H_2O_2 at -0.4 V upon successive additions of $1.4 \mu\text{mol/L}$ (110~190 s), $7.0 \mu\text{mol/L}$ (230~310 s), $14.0 \mu\text{mol/L}$ (350~430 s), $35.0 \mu\text{mol/L}$ (470~550 s), $70.0 \mu\text{mol/L}$ (590~670 s), $140 \mu\text{mol/L}$ (710~830 s), $350 \mu\text{mol/L}$ (870~990) in the time intervals of 40 s

物传感器。实验证明,CSHMs 复合膜可以有效的将电子媒介体和酶固定到电极表面。与 Nafion/GNPs-TB-CSHMs/GCE 和 Nafion/HRP-TB-CSHMs/GCE 修饰电极相比,Nafion/HRP-GNPs-TB-CSHMs/GCE 修饰电极响应电流灵敏度较高,线性范围宽,检测下限低,具有良好的选择性,重现性和稳定性。

参考文献

- [1] Zhang S, Wright G, Yang Y. Materials and techniques for electrochemical biosensor design and construction [J]. Biosens Bioelectron, 2000, 15(5-6): 273~282.
- [2] Wu X J, Choi M M F. Spongiform immobilization architecture of ionotropy polymer hydrogel coentrapping alcohol oxidase and horseradish peroxidase with octadecylsilica for optical biosensing alcohol in organic solvent [J]. Anal Chem, 2004, 76(15): 4 279~4 283.
- [3] Schulz B, Riedel A, Abel P V. Amperometric glucose biosensor based on situ electropolymerized polyaniline/poly(acrylonitrile-co-acrylic acid) composite film [J]. J Mol Cat B, 1999, 7(2): 85~87.
- [4] Puig-Lleixa C, Jimenez C, Bartroli J. Acrylated polyurethane-photopolymeric membrane for amperometric glucose biosensor construction [J]. Sens Actuators Chem, 2001, 72(1): 56~62.
- [5] Wang B, Zhang J, Cheng G, et al. Amperometric enzyme electrode for the determination of hydrogen peroxide based on sol-gel/hydrogel composite film [J]. Anal Chim Acta, 2000, 407(1-2): 111~118.
- [6] Kros A, Gerritsen M, Sprakel V S I, et al. Silica-based hybrid materials as biocompatible coatings for glucose sensors [J]. Sens Actuators, 2001, 81: 68~75.
- [7] Jaafar A, Musa A, Lee Y H, et al. Chitosan-based tyrosinase optical phenol biosensor employing hybrid nafion/sol-gel silicate for MBTH immobilization [J]. Talanta, 2006, 70(2): 527~532.
- [8] Zhang S, Wang N, Niu Y, et al. Immobilization of glucose oxidase on gold nanoparticles modified Au electrode for the construction of biosensor [J]. Sens Actuators B, 2005, 109(2): 367~374.
- [9] Gu H Y, Yu A M, Chen H Y. Direct electron transfer and characterization of hemoglobin immobilized on a Au colloid-cysteamine-modified gold electrode [J]. J Electroanal Chem, 2001, 516(1/2): 119~126.
- [10] Wang M, Wang L, Wang G, et al. Application of impedance spectroscopy for monitoring colloid Au-enhanced antibody immobilization and antibody-antigen reaction [J]. Biosens Bioelectron, 2004, 19(6): 575~582.
- [11] Garbar K C, Griffith F R, Hommer M B, et al. Preparation and Characterization of Au Colloid Monolayers [J]. Anal Chem, 1995, 67: 735~743.
- [12] Lei C X, Hu S Q, Shen G L, et al. Immobilization of horseradish peroxidase to a nano-Au monolayer modified chitosan-entrapped carbon paste electrode for the detection of hydrogen peroxide [J]. Talanta, 2003, 59: 981~988.

碳纳米管-表面活性剂修饰的 H_2O_2 酶电极

史汶灵, 屈永霞, 范小雪, 张智慧, 黄杉生*
(上海师范大学生命与环境科学学院, 上海 200234)

摘要: 酶在电极上的固定是酶传感器制备中的重要环节,它直接影响酶传感器的检测性能。该文利用静电吸附的自组装法以碳纳米管为载体将酶固定在电极上来制备酶传感器,该酶传感器制备过程简单、稳定性好、组装到电极表面的酶的量多并可保持其生物活性,可检测浓度在 $1.0 \times 10^{-6} \sim 5.4 \times 10^{-5}$ mol/L 范围内的 H_2O_2 ,最低检测限为 5.3×10^{-7} mol/L。这种制备方法为检测农药残留生物传感器的制备提供了一种新的方法。
关键词: 农药; 碳纳米管; 酶生物传感器; 检测

A H_2O_2 enzyme biosensor modified by carbon nanotubes and surfactant

Shi Wen-ling, Qu Yong-xia, Fan Xiao-xue, Zhang Zhi-hui, Huang Sha-sheng*
(Life and Environmental College, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China)

Abstract: Immobilization of enzyme on the electrodes surface is an important process in the preparation of the sensor because it impact directly on the performance of the sensor. In this paper, we immobilized enzyme on the electrode using the carbon nanotubes as carrier materials based on electrostatic adsorption. These sensors showed good stability because a lot of enzyme can immobilize on the electrode surface and maintain its biological activity. The method showed good linearly for $1.0 \times 10^{-6} \sim 5.4 \times 10^{-5}$ mol/L H_2O_2 with a detection limit of 5.3×10^{-7} mol/L under the optimal conditions. This proposed method can provide a new approach for detecting pesticide.

Key words: pesticides; carbon nanotubes; biosensor; detection

0 引言

酶生物传感器用于环境中农药残留的检测,因其具有高度的选择性、结构简单、检测速度快、成本低,利于在线、可应急监测而引起人们的越来越关注。纳米材料制备技术、生物技术的发展为扩展生物传感器的应用范围、提高其灵敏度、微型化打下了坚实的基础,极大地促进了酶生物传感器的研究与应用^[1-3]。

酶生物传感器用于检测农药残留的原理主要有两种:(1)利用酶的催化放大作用和免疫分析的高特异性,酶催化底物发生相应的水解、氧化或还原反应,形成具有电活性的产物,进而采用不同的电分析方法进行测定^[4];(2)利用农药与

酶结合来抑制酶的活性,农药的浓度与酶被抑制的活性成一定的数学关系,从而实现农药残留量的检测^[1]。作为生物传感器关键组成物-活性酶的固定技术将直接影响传感器的稳定性、灵敏度、响应时间和使用寿命等。当前国内外对酶的固定技术进行了广泛的研究,并取得了许多重要进展^[5]。

酶的固定化技术指的是通过某些方式使酶和载体结合,使酶被集中或限制,使之在一定空间范围内进行催化反应。目前酶的固定方法主要有吸附法^[6]、共价键结合法^[7]、凝胶/溶胶^[8]、交联法^[9]及自组装法^[10]等方法。

基于带相反电荷胶体微粒的层层 (lay-by-lay) 自组装法,由于其具有成膜的有序性,可在分

子水平上控制膜的厚度等优点,引起人们广泛的关注。层层自组合法是生物传感器研究中一个很重要的生物分子固定化技术,利用该方法酶分子和媒介体可共同固定到电极表面,易于消除干扰,而且生物传感信号可以放大,酶分子仍然具有其活性^[5]。

碳纳米管被发现以来,由于其具有很好的电化学和化学稳定性、良好的导电性、大的比表面积和优良的电催化性能,能促进电活性物质的电子传递等优点。碳纳米管还可作为固定酶的载体材料,使人们对碳纳米管在电化学中的应用产生了极大的兴趣^[11~14]。但采用共价键合法或交联法用碳纳米管作为固定酶的载体材料时,需要对碳纳米管要用强酸(硫酸和硝酸)进行预处理,并且其与酶交联时间久。在对碳纳米管进行强酸氧化过程中,也许会使碳纳米管的结构、长短、或者电子特性发生难以预料的改变,而且碳纳米管难溶于许多溶剂中也给碳纳米管-酶传感器的发展带来困扰^[15]。

该文描述了一种新的方法来制备酶传感器。将碳纳米管溶解在表面活性剂中,使其表面带有正/负电荷。根据酶的等电点,改变溶液的 pH 值来使酶带有相反的电荷,再通过自组合法,制备出新的酶传感器。这种方法简单,不需对碳纳米管进行酸化。而且酶的活性稳定,为制备检测农药残留的生物传感器提供了一种新的方法。

1 实验部分

1.1 主要仪器

CHI 600 电化学工作站(上海辰华仪器有限公司),采用三电极系统,铂丝电极作辅助电极,饱和甘汞(SCE)电极为参比电极,铜电极为工作电极;pH 计(6219 型,上海任氏电子有限公司)。每次测试前试液均通氮气除氧 10 min,实验中保持氮气氛围。所有电化学实验均在室温(25 °C)下进行。

1.2 试剂及溶液

碳纳米管:(MWNTs, $\phi < 10$ nm; 长度 0.5 ~ 500 μm ; 纯度 > 95%, 比表面积约为 300 m^2/g , 深圳市纳米港有限公司)。

葡萄糖氧化酶(GOD, 上海生工):10 mg/mL; 磷酸缓冲溶液(PBS):用 0.1 mol/L Na_2HPO_4 和 0.1 mol/L NaH_2PO_4 配制。十六烷基溴化钠(CTAB,

0.85 mg/mL)所有的化学试剂均为分析纯。实验用水为二次蒸馏水。

1.3 酶-碳纳米管-表面活性剂修饰玻碳电极的制备

先将玻碳电极(GC, 直径为 4 mm)分别用 6 号砂纸、0.3 μm 、0.1 μm 和 0.05 μm Al_2O_3 抛光粉抛光至镜面,然后分别在无水乙醇和二次蒸馏水中超声清洗各 3 min。再分别用 2 mol/L NaOH,1:1 HNO_3 无水乙醇和水超声清洗。

GOD-MWNTs-CTAB-GC 修饰电极的制备:将 30 mg/mL 的碳纳米管分散在 30 mL 的 CTAB (1.0%)水溶液中,超声分散 5 min,制备成黑色的碳纳米管悬浊液(1 mg/mL),以 4 000 r/min 离心 30 min,去除少量的比较长的碳纳米管,得到上层 CTAB-MWNTs 溶液。移取 10 μL 的 CTAB-MWNTs 溶液滴加在干净的 GC 电极表面,室温下挥发至干。再将 CTAB-MWNTs-GC 浸泡在 GOD (10 mg/mL 的 pH7.0 PBS)中 2.5 h,取出,用二次水彻底冲洗干净,保存在 4 °C 下, pH7.0 PBS 溶液中。

2 结果与讨论

2.1 酶-MWNTs-表面活性剂-GC 电极的电化学性质

将 MWNTs 溶解于 CTAB 水溶液中,制备 MWNTs-CTAB-GC 电极,使 MWNTs 表面带有正电荷,而 GOD 等电点是 4.2,在 pH7.0 PBS 中荷负电,再利用 LBL 的方法制备 GOD-MWNTs-CTAB-GC 修饰电极。

图 1 为不同修饰电极在 pH7.0 的 PBS 中的循环伏安曲线。曲线 b 是 MWNTs-CTAB-GC 电极,在 -0.36 V 处有一对很小的肩峰;曲线 a 是 GOD-MWNTs-CTAB-GC 电极在相同的扫描电位下,-0.36 V 处的肩峰依然存在,说明此峰是 CTAB 所产生的,另外还出现了一对明显的氧化还原峰, $E_{\text{pa}} = -0.434$ V, $E_{\text{pc}} = -0.487$ V, $\Delta E_p = 53$ mV,说明此峰是 GOD 在电极表面发生直接电化学所产生的。

2.2 GOD-MWNTs-CTAB-GC 电极扫速与峰电流的关系

图 2 是 GOD-MWNTs-CTAB-GC 修饰电极的循环伏安曲线与扫速的关系,随着扫描速度的

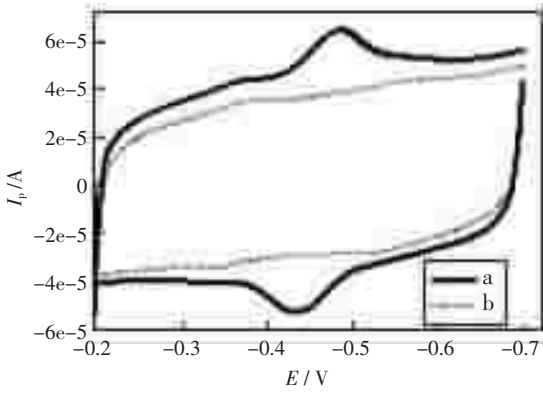


图 1 GOD-MWNTs-CTAB-GC(a), MWNTs-CTAB-GC(b), 在 0.1 mol/L PBS (pH7.0) 中的循环伏安曲线
扫速: 100 mV / s

Fig.1 Cycle voltammograms of different modified electrodes in 0.1mol/L PBS (pH7.0)

GOD-MWNTs-CTAB-GC(a), MWNTs-CTAB-GC(b), Scan rates: 100 mV / s

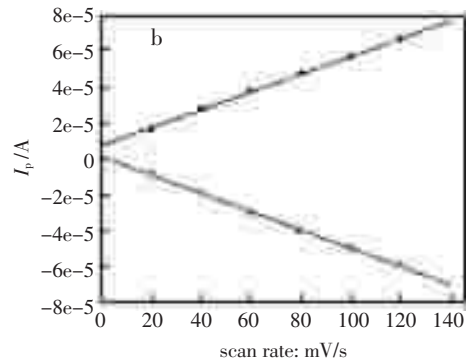
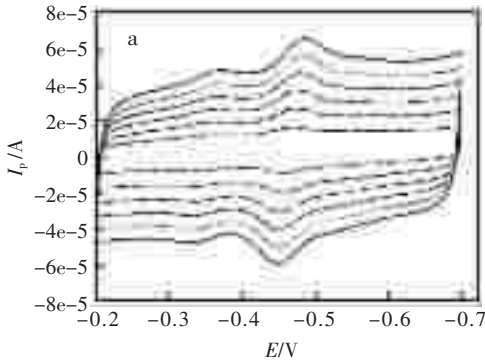


图 2 (a) GOD-MWNTs-CTAB-GC 修饰电极在 0.1 mol/L PBS (pH7.0) 中的循环伏安曲线; (b) 氧化峰电流与还原峰电流与扫描速度的关系。扫速: 20, 60, 80, 100, 120 mV/s

Fig.2 (a) Cycle voltammogram of different scan rate in 0.1 mol/L PBS (pH7.0); (b) Relation of oxidation and reduction current peaks and scanning rate
Scan rate: 20, 60, 80, 100, 120 mV/s

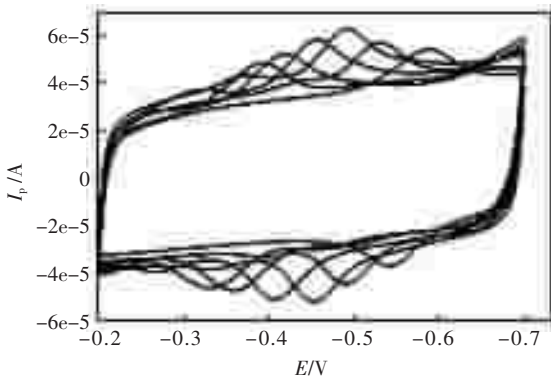


图 3 GOD-MWNTs-CTAB-GC 在 pH=4.5, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.3 PBS 中的循环伏安曲线

Fig.3 Cycle voltammogram of different at GOD-MWNTs-CTAB-GC electrode

增加, 峰电位差保持一个常数, 约 56 mV, 阳极峰电流和阴极峰电流与扫描速度呈线性关系, 说明电极是受电化学反应控制的。

2.3 pH 的选择

实验比较了 GOD-MWNTs-CTAB-GC 电极在各种不同 pH 值的 0.1 mol/L PBS 缓冲溶液中的电化学响应(图 3)。实验发现修饰电极的氧化还原峰电位随着 pH 的增大而负移, 峰电流随着 pH 的增大先增大后减小, 在 pH7.0 的 PBS 中峰电流较高, 氧化还原峰形较好, 故实验选择 pH7.0 的 PBS 溶液。

2.4 MWNTs 用量的选择

实验考查了 GOD-MWNTs-CTAB-GC 修饰电极的响应电流与 MWNTs 用量的关系 (图 4)。响应电流随着 MWNTs 用量的增大而增大, 当用

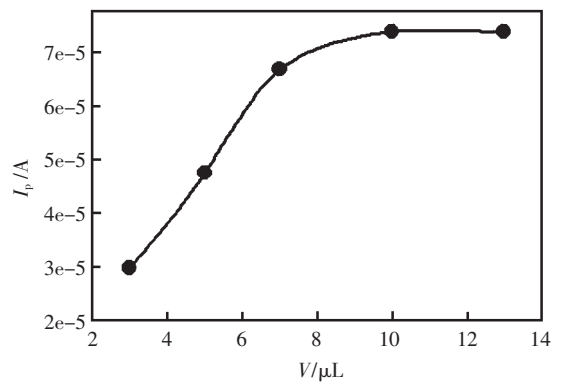


图 4 MWNTs 用量的影响

Fig.4 Effect of concentration of MWNTs

量超过 $10 \mu\text{L}$ 时响应电流达到了一个平台,可能是在不断增加 MWNTs 用量的过程中,电极上的活性位点也增加,从而导致响应电流也增高;但当 MWNTs 浓度再增大时,电极表面上的 MWNTs 膜达到了饱和,所以响应电流不再增加,所以实验中选择 $10 \mu\text{L}$ 的 MWNTs-CTAB 溶液。

2.5 浸泡时间的选择

实验考察了 MWNTs-CTAB-GC 分别浸泡在 GOD 中 0.5 h、1.0 h、2.0 h、2.5 h 和 3.0 h 时电极的循环伏安曲线,结果见图 5。刚开始响应电流随着浸泡在 GOD 中时间的增长而明显增大,当浸泡时间为 2.5 h 时,响应电流不再增大,故实验中选择浸泡时间为 2.5 h。

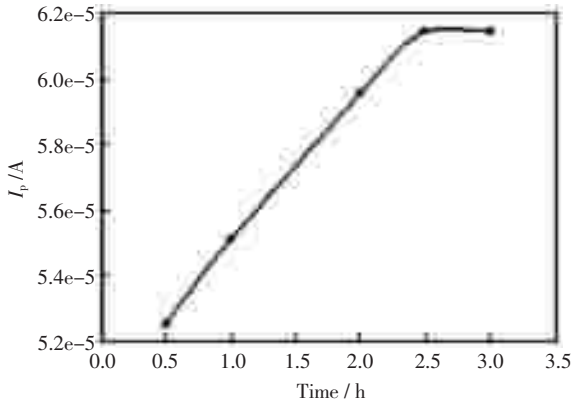


图 5 浸泡时间的影响
Fig.5 Effect of soaking time

2.6 计时安培法检测 H_2O_2

在优化实验条件下,用 GOD-MWNTs-CTAB-GC 修饰电极,以安培法来检测 H_2O_2 ,结果见图 6。 H_2O_2 浓度在 $1.0 \times 10^{-6} \sim 5.4 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 内与响应电流呈线性关系,最低检测限为 $5.3 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$ (3 倍信噪比)。

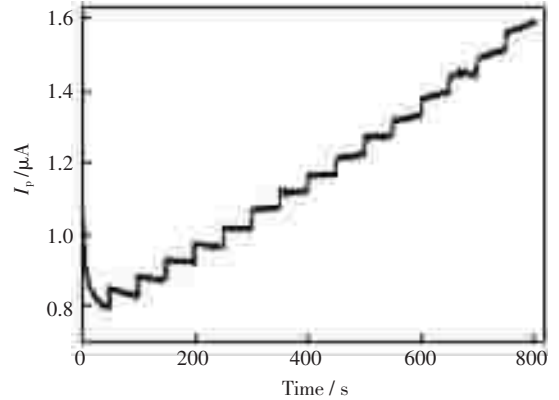


图 6 GOD-MWNTs-CTAB-GC 修饰电极检测 H_2O_2 的安培响应

Fig.6 Determination of H_2O_2 by GOD-MWNTs-CTAB-GC electrode

2.7 回收率的测定

在一定浓度医用消毒水中,以上述电极方法进行 H_2O_2 含量测定。逐次加入 $2 \mu\text{L}$ 0.005 mol/L H_2O_2 标准溶液,测定其回收率,结果列入表 1。测定的回收率在 95%~104% 之间。

表 1 样品的检测 ($n=5$)

Tab.1 The determination results of samples ($n=5$)

试样 Sample	测定值 Detection/ $(\mu\text{mol/L})$	加入量 Addition/ $(\mu\text{mol/L})$	测定总量 Found/ $(\mu\text{mol/L})$	回收率 Recovery/%
1	9.8	1.0	11.2	104
2	9.8	2.0	11.2	95
3	9.8	3.0	12.5	98
4*	0	10	9.8	98
5*	0	12	11.5	96

(试样 1,2,3 为实际样品,4*,5* 为模拟样品)

3 结论

该文基于目前酶传感器制备技术基础上,研究了一种新的酶固定方法。实验证明,该方法不需对碳纳米管进行酸化、操作简单、步骤少、酶固定后电极的稳定性高并提高了检测的响应电流,

为制备检测农药残留的生物传感器提供了一种新的方法。

参考文献

- [1] 罗启枚,王辉宪,刘登友,等. 农药残留检测生物传感器酶固定技术研究进展[J]. 化学传感器,2007,27(3):

- 17~22.
- [2] 李颖娇,张荣全,叶非.生物传感器在农药残留分析中的应用[J].农药科学与管理,2003,24(8):11~13.
- [3] 袁永海,李建平.电化学生物传感器在农药检测中的应用[J].分析测试学报,2006,25(5):121~127.
- [4] 焦奎,张书圣.酶联免疫分析技术及应用[M].化学工业出版社,2004,200~203.
- [5] 董绍俊,车广礼,谢远武.化学修饰电极[M].科学出版社,2003,503~509.
- [6] 阳明辉,李春香,杨云慧,等.基于静电吸附多层膜固定酶的过氧化氢生物传感器的研究 [J]. 化学学报, 2004,62(5):502~507.
- [7] 王富科. α -2 淀粉酶固定化的研究[J]. 安徽农业科学, 2008,36(21):8 872~8 873.
- [8] 黄超伦,修荣,董秋香,等.凝胶酞氢酞 PVC 涂膜曲马多选择电极的研制[J]. 分析测试学报,2005,24(4):35~38.
- [9] 张璐,张耀东,漆红兰.多壁碳纳米管修饰酶电极测定马拉硫磷[J]. 电化学,2007,13(4):431~435.
- [10] 温金凤,朱爱花,崔胜云.亚硒酸钠在 L-2 半胱氨酸自组装类生物膜修饰电极上的电化学行为[J].2009, 37(12):1 771~1 775.
- [11] Liu G D, Lin Y H. Biosensor based on self-assembling acetylcholinesterase on carbon nanotubes for flow injection/amperometric detection of organophosphate pesticides and nerve agents [J]. Anal. Chem, 2006,78: 835~843.
- [12] Liu G D, Riechers S L, Mellen M C, et al. Sensitive electrochemical detection of enzymatically generated thiocholine at carbon nanotube modified glassy carbon electrode [J]. Electrochemistry Communications,2005,7: 1 163~1 169.
- [13] Cai C X, Chen J. Direct electron transfer of glucose oxidase promoted by carbon nanotube [J]. Electrochemistry,2004, 10: 159~167.
- [14] Davis J J, Coles R J, Hil H A O. Protein electrochemistry at carbon nanotube electrodes [J]. J. Electroanal. Chem., 1997,440(1-2); 279~282.
- [15] Yan X B, Chen X J, Tay B K, et al. Transparent and flexible glucose biosensor via layer-by-layer assembly of multi-wall carbon nanotubes and glucose oxidase [J]. Electrochemistry Communications,2007,9: 1 269~1 275.

SAW-SXFA 传感器检测有机磷化合物的研究

潘勇^{1*}, 何世堂^{2*}, 刘岩¹, 王文², 王艳武¹, 刘明华²

(1. 防化研究院, 北京 102205)

(2. 中国科学院声学研究所, 北京 100080)

摘要: 以六氟异丙醇基聚硅氧烷(SXFA)为检测有机磷化合物的敏感膜材料制备出了 SAW-SXFA 传感器,对传感器检测甲基磷酸二甲酯(DMMP)的稳定性进行了介绍;通过在不同温度下传感器对 DMMP 的检测,探讨了环境温度因素对检测产生的影响,并对 SAW-SXFA 的主要检测性能进行了测试。

关键词: 声表面波(SAW); SXFA; 有机磷; 检测

Study of SAW-SXFA gas sensor in the detection of organophosphorus compounds

Pan Yong^{1*}, He Shi-tang^{2*}, Liu Yan¹, Wang Wen², Wang Yan-wu¹, Liu Ming-hua²

(1. Research Institute of Chemical Defence, Beijing 102205, China)

(2. Institute of Acoustic, Chinese Academy of Science, Beijing 100080, China)

Abstract: Surface acoustic wave(SAW) sensor which could be used to detect organophosphorus compounds was prepared with fluoroalcoholpolysiloxane (SXFA) as sensitive material. The stability of the SAW-SXFA sensor in the detection of DMMP was introduced. Through the detection under different temperature, the influence of the environment factor was studied, and the main performances were evaluated.

Key words: surface acoustic wave; SXFA; organophosphorus compounds; detection

0 引言

作为化学气体传感器的一种,声表面波(SAW)传感器由于其结构紧凑、灵敏度高、稳定性好、体积小、成本低、响应速度快等特点而显示出了突出的性能;同时,声表面波传感器中敏感膜材料对被测化学气体的可逆吸附原理在一些报道中也得到了详细表述^[1-4]。迄今为止,已研制出了 H₂、SO₂、H₂S、NO₂ 等多种声表面波传感器^[5],而决定 SAW 传感器检测效果的是其延迟线上的敏感膜材料,因此,选择、设计特异性的敏感膜材料是研制 SAW 传感器的关键技术,六氟异丙醇基聚硅氧烷(SXFA)就是基于 SAW 化学气体传

感器发展起来,并能够对有机磷化合物进行选择性的敏感膜材料。这种聚合物结构单元上的六氟异丙醇(HFIP)官能团对有机磷化合物具有强氢键作用,可实现对有机磷化合物可逆、选择性的吸附。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

甲苯,分析纯,北京化工厂;无水乙醇,分析纯,北京化工厂;DMMP,99%,防化研究院,GC 分析。

声表面波振荡器,双通道延迟线,中心频率 300 MHz,延迟线面积 4 mm²;频率计,Proteck

C3100 及相应工作站, 韩国。

1.2 SXFA-SAW 传感器敏感膜的制备

以 Piranha 溶液 [$V(\text{H}_2\text{SO}_4):V(\text{H}_2\text{O}_2)=3:1$] 清洗 SAW 金膜延迟线, 除去表面杂质, 用无水乙醇和重蒸水反复冲洗后氮气吹干后, 配制浓度为 0.8 mg/mL 的 SXFA 甲苯溶液, 以溶剂挥发的方法在 SAW 延迟线制备气敏薄膜。

2 结果与讨论

2.1 SXFA-SAW 传感器检测 DMMP 的响应-恢复曲线

传感器稳定 30 min 后, 对浓度为 1.0 g/m^3 的 DMMP 气体进行检测, 以计算机工作站记录传感器响应和恢复频率值, 如图 1。从图中可以看

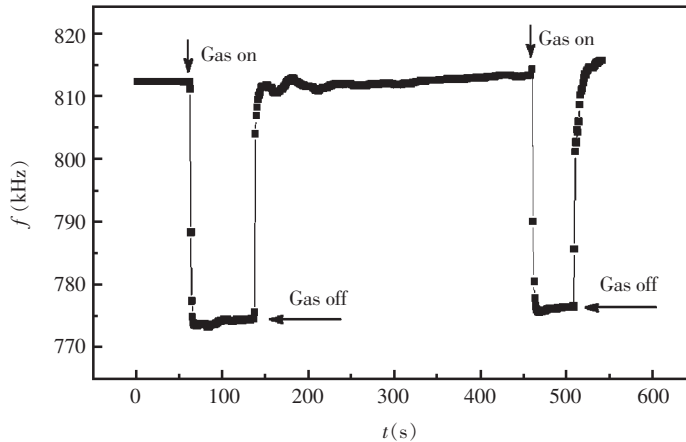


图 1 SAW-SXFA 传感器检测 DMMP 的响应恢复曲线 (DMMP: 1.0 g/m^3 , $24 \text{ }^\circ\text{C}$, $\text{RH}=68\%$)

Fig.1 Typical curve of SAW-SXFA sensor to DMMP

出, 连续两次检测响应恢复数值一致, 对 DMMP 的响应时间短, 频移在 5 s 内达到最大值, 同时, 该传感器恢复速度快, 在 10 s 内恢复到初始值, 显示了传感器对 DMMP 良好的吸附-平衡-解吸过程。

2.2 SXFA-SAW 传感器稳定性研究

在同样的条件下, SAW-SXFA 传感器对浓度为 0.5 g/m^3 的 DMMP 连续检测 10 次, 每次响应时间 1min, 测试 SAW-SXFA 传感器对 DMMP 响应频移的稳定性。结果见表 1。

为了表示数据的离散程度, 常采用极差、平均差、方差和标准差的统计方法进行测度。

2.2.1 SAW-SXFA 传感器极差分析

极差(range)也称全距, 用 R 表示, 它是一组数据的最大值与最小值之差, 即:

$$R = \max(x_i) - \min(x_i) \quad (1)$$

式中, $\max(x_i)$ 和 $\min(x_i)$ 分别表示一组数据的最大值和最小值。极差是描述数据离散程度的最简单测度值, 但它容易受极端值的影响。由于极差只是利用一组数据两端的的信息, 不能反应出中间

表 1 SAW-SXFA 传感器检测同浓度 DMMP 的 10 次重复结果 (DMMP: 0.5 g/m^3 , $13 \text{ }^\circ\text{C}$, $\text{RH}=47\%$)

Tab.1 The stability of SAW-SXFA sensor repeating 10 times

实验次数	最大响应频移 (kHz)
1	28.6
2	23.5
3	26.0
4	29.4
5	25.6
6	23.0
7	23.4
8	28.2
9	24.5
10	28.1

数据的分散状况, 但能够为描述一组数据发分散程度提供必要的参考。

2.2.2 SAW-SXFA 传感器方差与标准差分析

方差(variance)是各变量值与其均值离差平

方的平均数,这是测度数值型数据离散程度的最主要方法。

$$\text{设样该方差为 } s^2, \text{ 则 } s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1} \quad (2)$$

方差的平方根即为标准差 (standard deviation), 其计算公式为:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (3)$$

与方差不同的是,标准差是具有量纲的,它

与变量值的计量单位相同,其实际意义要比方差清楚。

2.2.3 SAW-SXFA 传感器离散系数分析

离散系数(coefficient of variation)也称变异系数,它是一组数据的标准差与其相应的均值之比,是测度数据离散程度的相对指标。通常也称为标准差系数,其计算公式为:

$$v_s = \frac{s}{\bar{x}} \quad (4)$$

离散系数大证明数据的离散程度也就大,离散系数小的说明数据的离散程度也就小。

表 2 SAW-SXFA 传感器稳定性分析

Tab.2 The stability analysis of SAW-SXFA sensor

最大值 (kHz)	最小值 (kHz)	极差(R) (kHz)	平均值 (kHz)	标准差(s) (kHz)	方差 (s ²)	95%的置信区间 (kHz)	离散系数 (v _s)
29.4	23.0	6.4	26.03	2.4	5.78	26.03±1.72	0.092

从数据分析结果来看,95%的置信区间窄,标准差仅为 2.4 kHz,占平均值的 9.2%(即离散系数),因此数据集中趋势好,说明传感器经多次检测后具有良好的稳定性。

2.3 温度对传感器检测 DMMP 的影响

聚合物敏感膜材料随着温度的变化,其物理

性质也会发生改变。如温度升高时,聚合物粘弹性增强,聚合物链空隙增多或变大,同时氢键作用能力减弱等。这些因素最终导致传感器的灵敏度、响应和恢复时间、检测信号的改变。在 DMMP 浓度不变的情况下,温度从 5 °C 升到 45 °C,记录传感器对 DMMP 响应随温度的变化,数据见表 3。

表 3 不同温度下 DMMP 的响应值 (DMMP: 200 mg/m³, RH=50%)

Tab.3 The response value of SAW-SXFA sensor to DMMP at different temperature

温度 T (°C)	响应最大频移 (kHz)	响应到最大频移时间 (s)	恢复时间 (s)	灵敏度 s (kHz·m ³ /g)
5	9.967	342	300	49.835
15	7.677	27	50	38.385
24	5.833	20	37	29.165
30	5.758	9	35	28.790
37	4.762	10	11	23.810
45	4.492	4	10	22.460

从表 3 可见:随着温度的升高,传感器对同浓度 DMMP 的响应频移呈下降趋势,从 5 °C 升到 45 °C,响应频移下降 55%。同时在不同温度条件下,SAW-SXFA 传感器对 DMMP 响应达到最大值所需的时间与温度也有着紧密关系:5 °C 时,传感器响应到最大值的时间需要 342 s 以上,恢复时间也大于 300 s;而到了 45 °C,在 10 s 以内就可以到达响应最大值,而且在 10 s 内可以完全恢复到初始频率,响应与恢复速率是 5 °C 的几十

倍。这一现象表明,随着温度的增加,传感器的响应恢复时间变短。

由此可见,温度对传感器膜的气敏性质影响很大。其原因可以解释为:当温度较低时,DMMP 分子热运动速度慢,动能低,因而 SXFA 膜与 DMMP 分子间的吸附过程慢,表现在响应时间较长;同时也正是由于热运动速度慢和动能低的原因,使得 SXFA 膜与 DMMP 分子一旦产生作用力吸附在一起后,其动能不足以克服二者间作用的

位垒重新回到气相,使得吸附在膜表面的分子多,单位膜面积上分子浓度大,因而响应信号强、恢复速度慢;而在高温条件下情况正好相反,温度升高使得分子动能大、运动速度快,因而缩短了 SXFA 膜与 DMMP 的作用时间,但同时分子也更容易克服作用位垒、逃逸膜表面重新回到气相,所以膜表面单位气体分子浓度低、灵敏度下降、恢复速度快。

2.4 传感器灵敏度的理论分析

GLC 研究证实,分配系数 K 在低浓度气体和温度在相对有限的范围内变化时遵循 Arrhenius

关系式:

$$K = K_0 e^{\frac{-\Delta H_s}{RT}} \quad (5)$$

式中, K_0 : 指前因子,是一个近似值,与温度无关; ΔH_s : 吸附热; R : 气体常数; T : 绝对温度。灵敏度 $s = \Delta f_i / \Delta C_V = K_e \Delta f_s / \rho_s = \alpha K$ (α 为放大因子,主要是由于传感器的响应依赖于聚合物膜量的减少)故可得到关系式为:

$$s = K_0 e^{\frac{-\Delta H_s}{RT}} \quad (6)$$

根据表 4 所示的数据得到相应 Arrhenius 关

表 4 不同温度下传感器检测 DMMP 的灵敏性 (DMMP: 200 mg/m³, RH=50%)

Tab.4 The responses and sensitivities to DMMP under different temperature

温度 T (°C)	响应最大频移 (kHz)	灵敏度 s (kHz·m ³ /g)	LnS	1/ T (K ⁻¹ ·10 ⁻³)
5	9.967	49.835	3.908	3.597
15	7.677	38.385	3.648	3.472
24	5.833	29.165	3.373	3.367
30	5.758	28.790	3.360	3.300
37	4.762	23.810	3.170	3.225
45	4.492	22.460	3.112	3.115

系,如图 2。可以看到,传感器的灵敏性符合 Arrhenius 方程负的温度依赖性,即对 DMMP 的最大响应值随温度(5 °C~45 °C)的上升而下降。

进行检测,分别记录检测结果,如表 5。从表中看

表 5 DMMP 浓度与传感器响应的关系
(13 °C, RH=23%)

Tab.5 The response of SAW-SXFA sensor to DMMP under different concentration

DMMP 浓度 (mg/m ³)	响应频移 (Hz)	恢复频移 (Hz)	恢复率 (%)
0.4	1 283	1 228	95.7
0.6	1 610	1 339	83.2
0.8	1 420	1 347	94.9
1.0	1 320	1 330	98.5
2.1	1 624	1 273	78.4
6.6	3 684	2 942	79.9
7.5	3 845	2 648	68.9
8.5	4 005	2 800	70.0
11.2	5 745	5 209	90.7
13.7	7 348	5 901	80.3

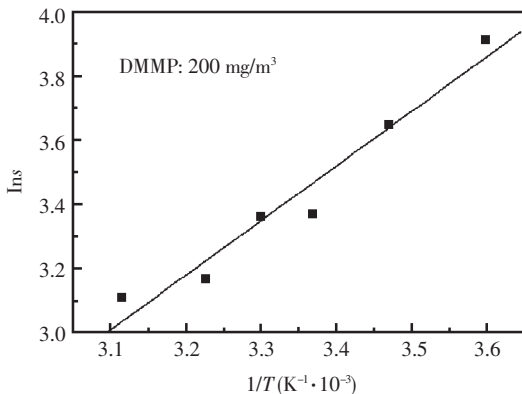


图 2 不同温度下传感器对同浓度 DMMP 检测的灵敏度的 Arrhenius 关系图(线性相关系数 $r=0.978$)

Fig.2 Arrhenius plot of SAW-SXFA sensor sensitivity under different temperature

2.5 SAW-SXFA 传感器对不同浓度 DMMP 的响应

以 SAW-SXFA 传感器对不同浓度的 DMMP

出,当 DMMP 浓度比较高时(浓度 ≥ 1.0 mg/m³),在相同时间内,传感器的响应频移与恢复频移随 DMMP 浓度的增加呈增加趋势,符合固体吸附等温线的规律^[6];但当 DMMP 浓度比较低时(浓度 <

1.0 mg/m³)时,传感器的响应频移与恢复频移随 DMMP 浓度的增加先增加后降低,在 DMMP 浓度为 0.6 mg/m³ 时达到极大值点,与液体吸附等温线类似。因此,可以说,在检测温度范围呈粘液态的 SXFA 既具有固体吸附的性质也具有液体吸附的性质,是两种吸附的综合的结果。

3 结论

该文对以 SXFA 为敏感膜材料检测有机磷化合物的 SAW 传感器进行了深入的研究,所制备的传感器稳定性好,在一定温度范围内能够得到较好的应用,检测的响应时间、灵敏度、恢复速度等参数能够满足有机磷化合物的检测要求,所研制的 SAW-SXFA 传感器对实际样品中有毒有害有机磷化合物的检测具有良好的应用前景。

参考文献

[1] Bertilsson L, Kamloth K P, Lieb H D. Molecular interac-

tion of DMMP and water vapor with mixed self-assembled monolayers studied by IR spectroscopy and SAW devices [J]. *Thin Solid Films*, 1996, (284-285):882~887.

[2] Dominguez D D, Chung R, Nguyen V. Evaluation of SAW chemical sensors for air filter lifetime and performance monitoring [J]. *Sensors and Actuators B*, 1998, 53:186~190.

[3] Martin S J, Ricco A J, Niemczyk T M. Acoustic wave devices for chemical sensing [J]. *Sensor and Actuators*, 1989, 20:253~268.

[4] Wohltjen H. Mechanism of operation and design considerations for surface acoustic wave device vapor sensors [J]. *Sensors and Actuators*, 1984, 5:307~325.

[5] 吴玉锋,田彦文,韩元山,等. 气体传感器研究进展和发展方向[J]. *计算机测量与控制*, 2003, 11:731~738.

碱性品红薄膜光波导传感元件检测二氧化硫气体的研究

沙代提古丽·买合苏提, 海日沙·阿布来提, 阿达成来提·阿不都热合曼, 阿布力孜·伊米提*
(新疆大学化学化工学院, 乌鲁木齐 830046)

摘要: 该文利用碱性品红薄膜作为光波导传感元件的敏感层, 研制出了一种玻璃光波导酸性气体传感元件, 将该元件固定在光波导气体检测系统, 检测了 SO_2 气体。该气体传感元件能够检测浓度为 5×10^{-7} (体积分数) 的 SO_2 气体, 其响应和恢复时间分别为 3 s 和 8 s, 相同浓度的其它酸性气体对检测 SO_2 气体干扰较小。该传感元件具有响应快、可逆性好、容易制备等特点。

关键词: 光波导气敏元件; SO_2 ; 碱性品红; 锡掺杂玻璃光波导

Fuchsin basic thin film optical waveguide sensor for sulfur dioxide detection

Sadatgul Mahsut, Hayrensa Ablat, Adalat Abdurahman, Abliz Ymit*

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Xinjiang University, Urumqi 830046, China)

Abstract: A new method for the detection of sulfur dioxide gas was studied by using a fuchsin basic thin film for the sensitive element of the optical waveguide (OWG) sensor, the OWG sensor was fixed on the gas sensor system to detect sulfur dioxide gas. The results showed that the thin film can detect 5×10^{-7} volume fraction sulfur dioxide gas and the sensor response time and recovery time was 3 s and 8 s respectively, and it had a short response time, high sensitivity, good reversibility, and simple structure and is easily fabricated.

Key words: optical-waveguide gas sensor; SO_2 ; fuchsin basic; tin-diffused glass optical-waveguide

0 引言

随着人们生活水平的提高和对环保的日益重视, 对各种有毒、有害气体的探测, 对大气污染、工业废气的监控以及对食品和人居环境质量的检测都提出了更高的要求^[1]。 SO_2 是具有重要环境意义的气体, 在产生于非铁金属的干式冶炼过程中以及火力发电或各种工业用炉燃料燃烧过程中, 它是造成酸雨和破坏人类生存环境的罪魁祸首, 所以检测 SO_2 的含量对目前控制和防止大气污染显得非常重要^[2-4]。目前检测二氧化硫浓度的方法主要有分光光度法、碘量法、溶液电导法、定电位电解法、非分散红外吸收法、紫外脉

冲荧光法和紫外吸收法等^[5]。由于这些检测方法需要大中型仪器, 并且通过气体富集或浓缩气体等前处理, 不便于现场和在线检测。在光通讯方面应用的光波导器件应用于化学传感器领域的研究引起了关注。近年来, 国内外利用光波导技术, 研制了能够检测痕量挥发性有机气体及酸性气体的光波导气敏传感元件^[6-12]。光波导传感元件具有体积小、灵敏度高、响应快、在常温下操作等特点。

碱性品红 (Fuchsin Basic/ Magenta Red), 主要用于染棉、人造纤维、麦秆、纸张、皮革、羽毛、脂肪等, 也用于喷漆、墨水等。

该文中以碱性品红作为敏感试剂, 利用旋转

甩涂法涂抹在锡掺杂玻璃光波导表面,研制了检测 SO_2 气体的光波导传感元件。

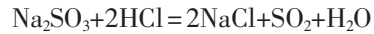
1 实验部分

1.1 碱性品红敏感膜的制备

称取 0.04 g 碱性品红粉末溶解在 10 mL 无水乙醇中并过滤,所得溶液采用旋转甩涂法涂抹在锡掺杂玻璃光波导表面。在 $100\text{ }^\circ\text{C}$ 下干燥 15 min,然后在室温下真空干燥 12 h。匀胶机的转速为 1 500 r/min,时间为 30 s。制备了碱性品红薄膜/Sn 离子掺杂玻璃光波导元件。

1.2 SO_2 气体的制备

在标准体积的容器中称取 0.034 g 无水亚硫酸钠与 1 mL 盐酸反应得到浓度为 1×10^{-2} (体积分数)的 SO_2 气体。反应方程式为:



随后用氮气稀释 SO_2 气体配置所需浓度的气体。然后用二氧化硫气体检测管(日本 GASTEC 公司生产)确认其浓度与计算结果基本一致。

1.3 检测系统

典型的平面光波导是由下包层,导波层(芯层)和上包层(一般是空气)所组成,且导波层折射率略高于下包层和上包层的折射率 ($n_f > n_s > n_c$),这样便可以将光波束缚在光波长数量级尺寸的导波层介质中传播。该文中采用了玻璃载玻片表面掺入深度约为 $1 \sim 2\text{ }\mu\text{m}$ 锡离子 (Sn^{2+} 和 Sn^{4+}),形成折射率略高于基板的锡掺杂导波层元件^[13]。

将碱性品红薄膜作为敏感层固定在锡掺杂玻璃光波导表面并将元件固定在光波导气体传感检测系统(如图 1 所示)进行测试。为了使被测

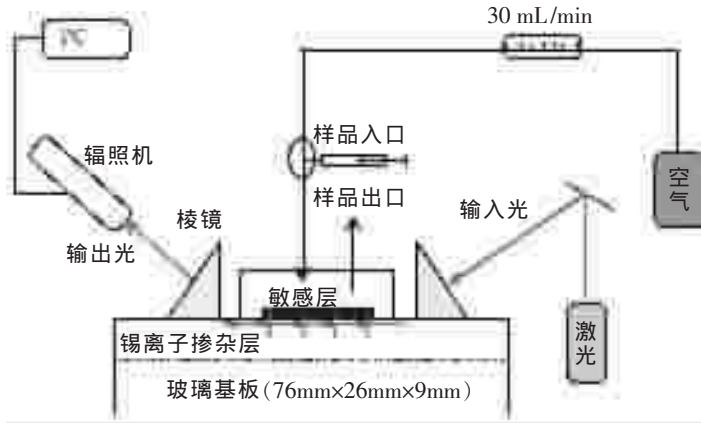


图 1 光波导传感元件检测系统图

Fig.1 Optical Waveguide(OWG) gas sensor system

气体能被敏感层充分吸附,采用体积为 $2\text{ cm} \times 1\text{ cm} \times 1\text{ cm}$ 的流动池,并干燥空气流入流动池的速度控制在 30 mL/min 。利用棱镜耦合法激励导波光(为了能使棱镜紧贴于玻璃光波导,在交界面滴入折射率为 1.74 的二碘甲烷液体)。将波长为 532 nm 的半导体激光作为光源,通过第一个玻璃棱镜输入到玻璃光波导,从第二个棱镜输出导波光,通过辐照计检出输出光强度并用电脑(记录仪)记录光强度随时间的变化数据,整个步骤在室温下进行。

2 结果与讨论

2.1 碱性品红敏感薄膜的光谱

碱性品红薄膜在酸性气体气氛下吸光度变

化图如图 2 所示。薄膜在 567 nm 处有最大吸收

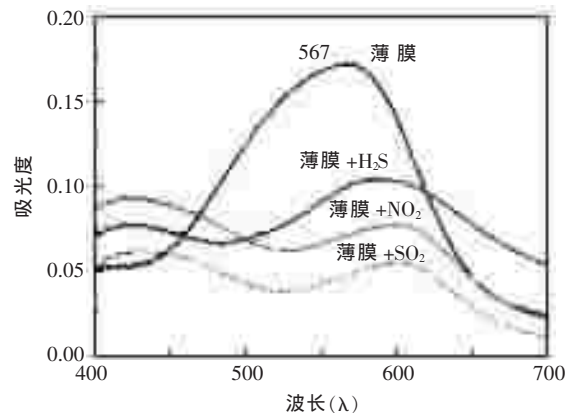
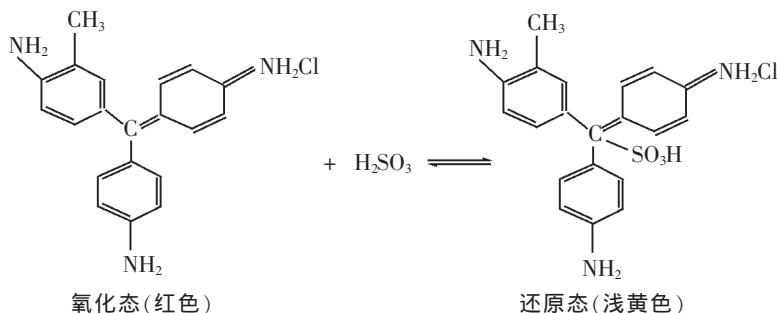


图 2 碱性品红薄膜的吸光度变化图

Fig.2 Absorption changes of the Fuchsin Basic film

特征峰,当碱性品红薄膜暴露于酸性气体时,品红分子被酸性气体还原,颜色变浅黄色,从而薄膜的吸光度(500~600 nm 附近)减少。在光波导传感元件检测系统中,敏感层强烈吸收波长为 532 nm 的附近的倏逝波。所以该研究中,选用波长为 532 nm 的半导体激光作为光源。敏感层与 SO₂ 气体作用时,其颜色变为浅黄色,从而减弱对



碱性品红在氧化态时呈红色,还原态时变为浅黄色^[14]。碱性品红分子中的发色团是



当与酸性介质接触时被还原,其中发色团中 C=C 被断裂,SO₃H 基取代。

碱性品红薄膜及薄膜与 SO₂ 作用后的红外光谱如图 3 所示。由图可以看出,在(图 3 II)中出现碱性品红薄膜的红外光谱特征吸收峰同时,其峰形发生了变化,并在 1 638 cm⁻¹ 处的 C=C 伸缩振动特征吸收峰消失,表明 C=C 断裂并被 SO₃H 基取代,这与实验结果一致。

2.3 敏感元件的响应特性

碱性品红薄膜/Sn 离子掺杂玻璃光波导元件

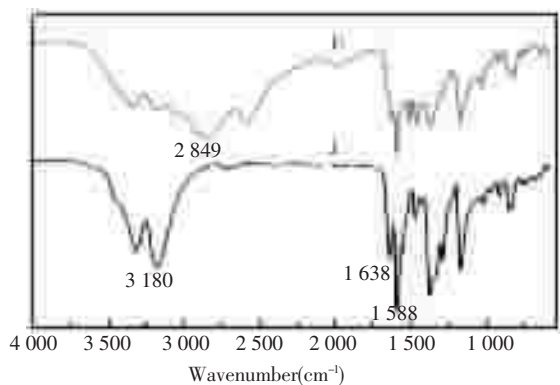


图 3 碱性品红(I),碱性品红薄膜+SO₂(II)的红外光谱
Fig.3 IR spectra of Fuchsin Basic(I), Fuchsin Basic+SO₂(II)

(波长为 532 nm)倏逝波的吸收,最终导致输出光强度增大。薄膜的变色程度是由 SO₂ 气体的浓度决定,所以输出光强度的变化就反映出气体浓度的大小。因此检测出输出光强度,就可以计算出 SO₂ 气体浓度。

2.2 敏感机理

品红与 SO₂(H₂SO₃)的化学反应方程式为:

固定在图 1 所示的测试系统,对浓度为 $5 \times 10^{-7} \sim 4 \times 10^{-4}$ (体积分数)的 SO₂ 气体进行检测,其响应如图 4 所示。空气流入到测定体系的流动池内时输出光强度不发生变化,当一定浓度的 SO₂ 气体随载气流进流动池时,由于敏感层与被测气体发生反应,敏感层被还原而退色(减小对倏逝波的吸收),输出光的强度突然增大。当 SO₂ 气体分子脱离薄膜表面,薄膜(碱性品红分子)被氧化,其颜色由浅黄色又恢复到原来的红色,从而输出光强度也回复到原来的强度。由图 4(a)可见,元件对 SO₂ 气体的响应速度快,浓度为 5×10^{-7} (体积分数)的 SO₂ 气体响应和恢复时间分别为 3 s 和 8 s;传感元件的输出光强度的变化随 SO₂ 气体的浓度增大而变大,SO₂ 气体浓度低时输出光强度的变化小,浓度高时输出光强度变化也大。该传感元件还对相同浓度 5×10^{-6} (体积分数)的 SO₂ 气体进行检测重复性响应(如图 4(b)),在相同条件下对相同浓度的 SO₂ 气体呈现出一定的重现性。

该元件对相同浓度 1×10^{-4} (体积分数)的 SO₂、NO₂ 和 H₂S 等酸性气体的响应如图 5 所示。由于敏感薄膜与 HCl 气体作用时,薄膜表面很快被 HCl 气体破坏,找不到所需要的导波光,无法进行对 HCl 气体的检测。由图可见敏感元件对 SO₂ 气体有较好的响应,其次是 NO₂ 和 H₂S 气体,其原因是:碱性品红在强酸性条件下退色,所以对酸性弱的气体响应较小。碱性品红薄膜在酸性

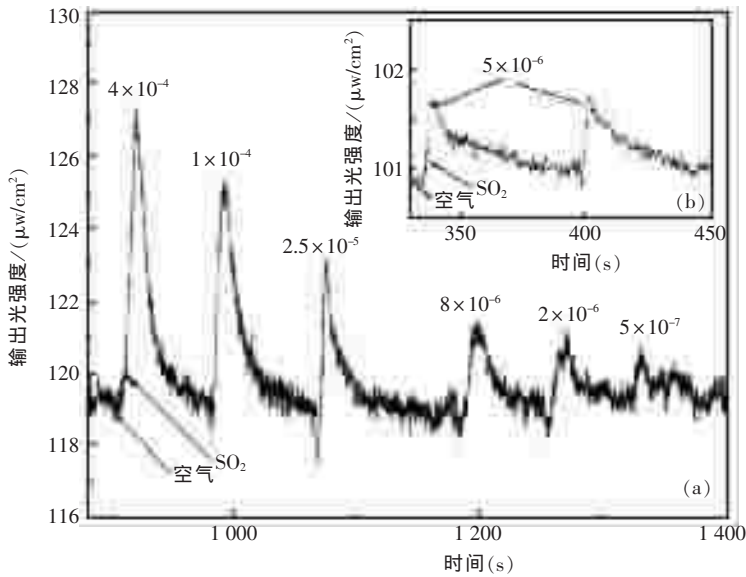


图 4 传感元件的响应曲线

(a)不同浓度的 SO_2 气体的响应曲线;(b)相同浓度的 SO_2 气体重复性响应曲线

Fig.4 Response of the sensor

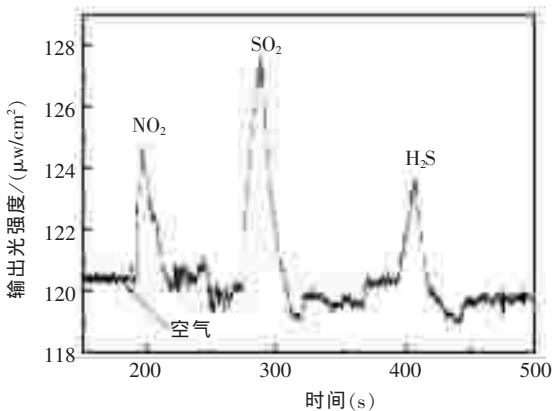
(a) Response of various concentration of SO_2 vapor; (b) Repetitive response of SO_2 gas图 5 敏感元件对浓度为 1×10^{-4} (体积分数) 的酸性气体的响应

Fig.5 Response of OWG sensor to various acidic gases

气体气氛下的吸光度变化 (图 2) 的大小为 $\text{SO}_2 > \text{NO}_2 > \text{H}_2\text{S}$ 。在光波导测试系统中, 薄膜吸光度的微小变化也会导致输出光强度的很大变化。因此该元件对 SO_2 气体的响应最大, NO_2 和 H_2S 等酸性气体也有一定相应。

3 结论

以碱性品红作为敏感试剂, 利用旋转甩涂法将溶液固定在锡掺杂玻璃光波导元件表面, 研制出了检测酸性气体的光波导气敏元件。并用光波

导测试系统对 SO_2 气体进行检测。通过检测碱性品红薄膜与 SO_2 气体作用前后的可见及红外吸收光谱, 对敏感机理进行探讨, 解释了传感元件的响应机理。该传感元件能够检测到浓度为 5×10^{-7} (体积分数) 的 SO_2 气体。

参考文献

- [1] 魏培永, 韩建强. SO_2 气体传感器的新进展[J]. 传感器技术, 2001, 20(3): 1~3.
- [2] Romulo A Ando, Leonardo J A Siqueira, Fernanda C Bazito, et al. The sulfur dioxide-1-butyl-3-methylimidazolium bromide interaction: drastic changes in structural and physical properties [J]. Physical chemistry B, 2007, 111:8 717~8 719.
- [3] Alexander V Leontiev, Dmitry M Rudkevich. Revisiting Noncovalent SO_2 -Amine Chemistry: An Indicator-Displacement Assay for Colorimetric Detection of SO_2 [J]. Journal of the American Chemical Society, 2005, 127: 14 126~14 127.
- [4] 常薇, 郁翠华, 刘斌, 等. 微流动注射荧光检测测定个人二氧化硫暴露量 [J]. 西安工程大学学报, 2008, 22 (3): 336~338.
- [5] 温维丽, 黄济民. 碘量法与非分散红外吸收法测定二氧化硫浓度的对比[J]. 环境研究与监测, 2009, 22(3): 51~53.

- [6] Yimit A, Itoh K, Murabayashi M. Detection ammonia in the ppt range based on a composite optical waveguide pH sensor[J]. *Sensors and Actuators B*, 2003, 88: 239~245.
- [7] Peter J Skrdla, S Scott Saavedra, Neal R Armstrong, et al. Sol-gel-based, planar waveguide sensor for water vapor [J]. *Analytical Chemistry*, 1999, 71: 1 332~1 337.
- [8] Yimit A, Rossberg A G, Amemiya T, et al. Thin film composite optical waveguides for sensor applications: a review[J]. *Talanta*, 2005, 65: 1 102~1 109.
- [9] Qi Zhi-mei, Honma Itaru, Zhou Hao Shen. Fabrication of ordered mesoporous thin films for optical waveguiding and interferometric chemical sensing [J]. *Physical chemistry letters B*, 2006, 110: 10 590~10 594.
- [10] Ablat H, Yimit A, Mahmut M, et al. Nafion Film/K+Exchanged Glass Optical Waveguide sensor for BTX Detection [J]. *Analytical Chemistry*, 2008, 80: 7 678~7 683.
- [11] Kader R, Yimit A, Ablat H, et al. Optical Waveguide BTX Gas Sensor Based on Poly Acrylate Resin Thin Film[J]. *Environ. Sci. Technol*, 2009, 43: 5 113~5 116.
- [12] Abdurahman R, Yimit A, Ablat H, et al. Optical waveguide sensor of volatile organic compounds based on PTA thin film[J]. *Anal. Chim. Acta*, 2010, 628: 63~67.
- [13] Itoh K, Nikura H, Odawara O, et al. Optical Waveguide Properties of Virgin Microscope Slide Glass[J]. *Japanese Journal of Applied Physics*, 1991, 30: 3 416~3 418.
- [14] 陈荣圻. 染料化学 [M]. 北京: 纺织工业出版社, 1989. 39~45.

聚环糊精-碳纳米管有机磷农药生物传感器

杨海朋*, 陈东成, 李春辉, 陈仕国, 戈早川

(深圳大学材料学院, 深圳市特种功能材料重点实验室, 广东深圳 518060)

摘要: 通过环糊精的聚合反应及其对碳纳米管的分散作用制备出不溶于水的聚环糊精-碳纳米管复合导电修饰材料, 把 CNT 的稳定性、导电性和催化活性与环糊精分子的包络作用及生物相容性结合起来, 得到一种可用于制备电化学生物传感器的碳纳米管-聚合物复合材料。在此基础上, 通过优化固定化方法, 在该复合材料上固定乙酰胆碱酯酶, 制备出了灵敏度较高、线性范围较宽的有机磷农药生物传感器, 该传感器可以在 1.0~15.0 mg/L 浓度范围内检测农药甲胺磷的含量, 检测下限为 0.05 mg/L。利用不同扫描速度下的循环伏安数据分析了传感器的电极反应机理, 发现该传感器的电极过程由扩散步骤和电子转移步骤混合控制。

关键词: 生物传感器; 有机磷农药; 固定化酶; 碳纳米管; 环糊精

Electrochemical biosensor based on composite film of poly-cyclodextrin and CNT for detection of organophosphorus pesticides

Yang Hai-peng*, Chen Dong-cheng, Li Chun-hui, Chen Shi-guo, Ge Zao-chuan

(College of Materials Science and Engineering, Shenzhen University, and Shenzhen Key Laboratory of Special Functional Materials, Shenzhen 518060, China)

Abstract: An amperometric biosensor for the detection of organophosphorus pesticides (OPs) was fabricated and tested. The insoluble conducting composite film of poly-cyclodextrin (CDP) containing carbon nanotube (CNT) was synthesized. Cyclic voltammetry measurements in potassium ferricyanide solution (50 mmol/L, and scan rate 50 mV/s) show that the film maintains the distinct physical properties of CNT, such as high electrical conductivity, chemical stability and electrocatalytic activity. Also the film maintains the specialities of β -CD, such as inclusion performance and biocompatibility. The film was used to fabricate organophosphorus pesticides biosensors by immobilizing acetylcholinesterase (AChE). The fabricated biosensors via the composite film of CDP and CNT have many advantages such as electronic activity, good stability, excellent biocompatibility, etc. It could be operated under low voltage. Amperometric measurements were done in acetylthiocholine chloride solution with different concentrations of methamidophos. The biosensors have wide concentration ranges and good sensitivity to methamidophos. The inhibition rates of the sensor increased with the concentration of methamidophos, and the fitting curve of inhibition rates versus the logarithm of concentration is linear over the concentration ranges between 1.0 and 15.0 mg/L with RSD = 0.992. The detection limits to methamidophos of the sensor is calculated to be 0.05 mg/L. Cyclic voltammetry measurements shows a mixed controlled electrode reaction.

Key words: biosensor; organophosphorus pesticides(OPs); enzyme immobilization; carbon nanotube (CNT); cyclodextrin

0 引言

有机磷农药作为最常用的一类农药,在各种农作物尤其是瓜果蔬菜中被广泛应用,农药残留通过食物链传导到人体后成为致畸、致癌、致突变等恶性疾病的诱因,危害很大,因此对有机磷农药等的检测需求越来越多。测试的方法主要有仪器分析法、免疫分析法和生物传感器法^[1-2]。目前广泛使用的气相色谱/质谱联用技术(GC/MS)和高效液相色谱(HPLC)等仪器分析方法,尽管能比较准确地检测农药的残留量,但存在设备大、移动性差、分析费用高以及分析周期较长等不足。免疫分析法特异性强,但操作复杂费时。电化学生物传感器的应用为实现农药快速、灵敏和简便的检测提供了可能,已经广泛用于有机磷农药的测定^[1,3-5]。但是电化学生物传感器通常仅在一定的实验条件下使用状态良好,其实际应用的最大问题是稳定性不够好。对于生物传感器而言,制备新型固定化材料和固定化方法,改善传感器的生物敏感膜的性能,增加其稳定性和生物活性,是研制性能优良的生物传感器的关键^[6]。

碳纳米管(CNT)所表现出的许多优良的性能使得对 CNT 的研究成为目前倍受关注的热点课题之一,其在生物传感器领域的应用也不断被拓展^[3,7-8]。例如研究人员把碳纳米管分散于 Nafion^[9-10]、壳聚糖^[11-12]等高聚物的溶液中制备的生物传感器,具有很好的检测灵敏度。然而,能够用于分散碳纳米管的此类高聚物非常有限。该课题利用环糊精作为分散剂来分散 CNT,得到不溶于水的聚环糊精-碳纳米管复合导电膜,并在该膜上固定乙酰胆碱酯酶,制备了既能保持 CNT 优良的导电性能和电催化活性,又能维持很好的稳定性的有机磷农药生物传感器,为其实际应用奠定基础。

1 实验部分

1.1 主要试剂和仪器

试剂:多壁碳纳米管(MWNT),外径 10 nm,纯度 95%(清华大学化工系生产)。乙酰胆碱酯酶(AChE),酶活力为 424 单位/毫克(sigma 公司);氯化硫代乙酰胆碱(sigma 公司)。其它试剂,如 β -环糊精(β -CD)、甲胺磷、浓硝酸、25%戊二

醛(GD)、盐酸、铁氰化钾、无水乙醇等均为分析纯试剂。含四个环糊精分子的预聚环糊精由实验室自制(β -CDP)。

主要仪器:电化学工作站(CHI660C),上海辰华仪器有限公司。

1.2 传感器制备

把碳纳米管放入混酸(浓硫酸和浓硝酸按体积比 3:1)中于 60 °C 回流 4 h 除杂。把 CNT 放入 β -CD 和 β -CDP 的混合溶液超声 10 min。混合液中 CNT 的浓度为 1 mg/mL。

用微量进样器吸取混合液 20 μ L 置于干净的玻璃片上,加入 40 μ L 2.5%戊二醛和 0.2 mol/L 盐酸的等比例混合液。搅拌均匀后,用微量进样器吸取 20 μ L 上述溶液滴到 Pt 电极上,室温下自然晾干后得到聚环糊精-碳纳米管(CDP-CNT)复合膜修饰电极。然后取 5 μ L 乙酰胆碱酯酶溶液(0.1 U/ μ L)和 5 μ L 2.5%的戊二醛溶液滴到已干燥的复合膜修饰电极上,室温下自然晾干,即得到聚环糊精-碳纳米管复合膜有机磷农药生物传感器。

1.3 有机磷农药传感器的性能测试

利用 CHI660C 电化学工作站对制备的传感器进行循环伏安检测。采用三电极系统(参比电极为饱和甘汞电极,对电极为铂丝电极,工作电极为有机磷农药传感器)测量传感器在不同浓度甲胺磷抑制条件下对硫代乙酰胆碱溶液的电流响应曲线。

2 结果讨论

2.1 β -CD 及 β -CDP 对比对修饰电极电化学性能的影响

把不同配比的 β -CD 和 β -CDP 修饰电极置于 50 mmol/L 的铁氰化钾($K_3Fe(CN)_6$)溶液中进行循环伏安测试,所得曲线如图 1 所示。由图可知,2% β -CD 和 5% β -CDP 混合溶液分散 CNT 制备的复合膜修饰电极的氧化-还原峰峰形对称性最好,峰值最大,说明 CNT 在以 2% β -CD+5% β -CDP 为基底组成的复合膜中分散效果最好,其修饰电极电化学性能优异。

2.2 有机磷农药生物传感器的性能检测

2.2.1 循环伏安曲线

把制备好的有机磷农药生物传感器分别放

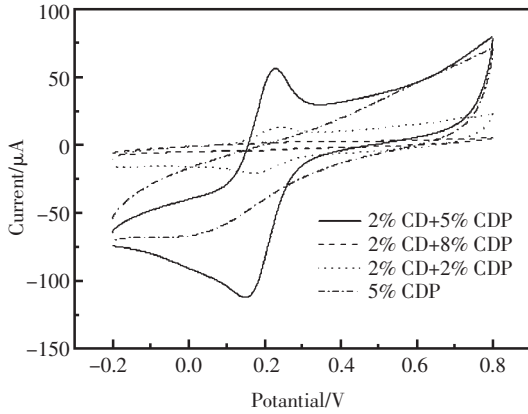


图1 四种不同配比的 β -CD和 β -CDP制成的CDP-CNT复合膜修饰电极在50 mmol/L的铁氰化钾溶液中的循环伏安曲线(扫描速度50 mV/s)

Fig.1 The cyclic voltammetry curves of four different types of modified electrodes: the modified materials on the electrodes are the films prepared via 2% β -CD + 5% β -CDP, 2% β -CD + 8% β -CDP, 2% β -CD + 2% β -CDP, and 5% β -CDP, respectively (50 mmol/L $K_3Fe(CN)_6$ at 50 mV/s)

入磷酸缓冲溶液和0.5 mmol/L氯化硫代乙酰胆碱溶液中进行循环伏安测试,电压扫描范围为-0.4至0.8 V,扫描速度0.1 V/s,扫描结果见图2。由图可见,传感器在不含底物的缓冲溶液中没有明显的氧化还原峰;在含有0.5 mmol/L底物的溶液中,则在0.4 V和0.1 V附近出现明显的氧化还原峰。胆碱在普通电极上的氧化电位为0.8 V左右^[13],而在目前的传感器电极上氧化电位降低为约0.4 V,说明碳纳米管对底物具有良好的电催化活性。

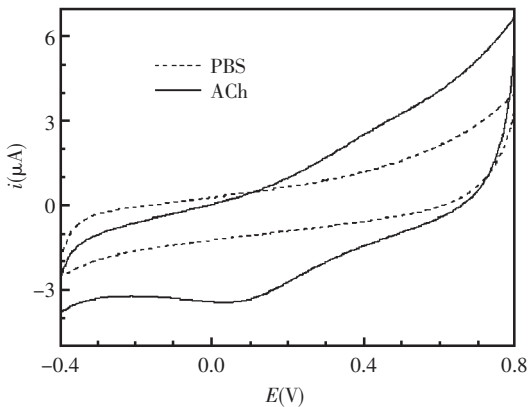


图2 有机磷农药生物传感器在磷酸缓冲溶液和0.5 mmol/L乙酰胆碱溶液中的循环伏安曲线(电压扫描范围为-0.4至0.8 V,扫描速度0.1 V/s)

Fig.2 The cyclic voltammetry curves of the biosensor in 0.5 mmol/L acetylthiocholine chloride solution and in PBS. The scan rate is 0.1 V/s

2.2.2 抑制率曲线的测量

在0.5 V工作电压下,用传感器测定 5×10^{-4} mol/L硫代乙酰胆碱溶液中的电流响应曲线,所得电流为基准电流 i_0 。把制好的传感器在浓度分别为1.0、2.0、4.0、6.0、10.0、15.0 mg/L的甲胺磷溶液里浸泡12 min,分别测定其在相同浓度硫代乙酰胆碱溶液中的抑制电流 i_i 。根据公式 $K = (i_0 - i_i) / i_i \times 100$ 计算抑制率。抑制率-浓度关系曲线示于图3。有机磷的浓度越大,对酶的活性的抑制力就越强,加入相同浓度的乙酰胆碱溶液时产生的响应电流就越小。以有机磷农药浓度的对数为横坐标,抑制率为纵坐标做图,则得到图3中的插图。可见当甲胺磷浓度在1.0~15.0 mg/L范围内时,抑制率与浓度数值的对数呈线性关系,检测范围较文献值更宽^[1]。图中直线部分的拟合线性方程为 $y = 11.8 * \ln(c) + 44.8, r = 0.992 (n = 6)$,方程中 c 是以mg/L为单位的有机磷浓度。理论上的检测限是指10%的抑制率所对应的抑制剂浓度,因此可计算得到该传感器对甲胺磷的检测下限为0.05 mg/L。

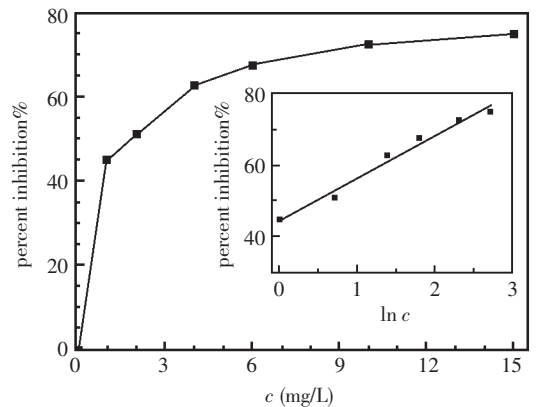


图3 乙酰胆碱酯酶百分抑制率与甲胺磷农药浓度关系图(内置图为抑制率-浓度的对数关系图)

Fig.3 Acetylcholinesterase percent inhibition vs Methamidophos concentrations incubated in phosphate buffer solution. Calibration graph of acetylcholinesterase percent inhibition vs. logarithm of concentration of Methamidophos is shown in the inset

为了研究传感器的工作机理,测定了不同扫描速度下传感器在硫代乙酰胆碱溶液中的循环伏安曲线(电压扫描范围为-0.4至0.8 V,扫描速度从0.01至0.5 V/s),所得结果示于图4A。图中从最内圈的循环伏安曲线开始,所用的扫描速度

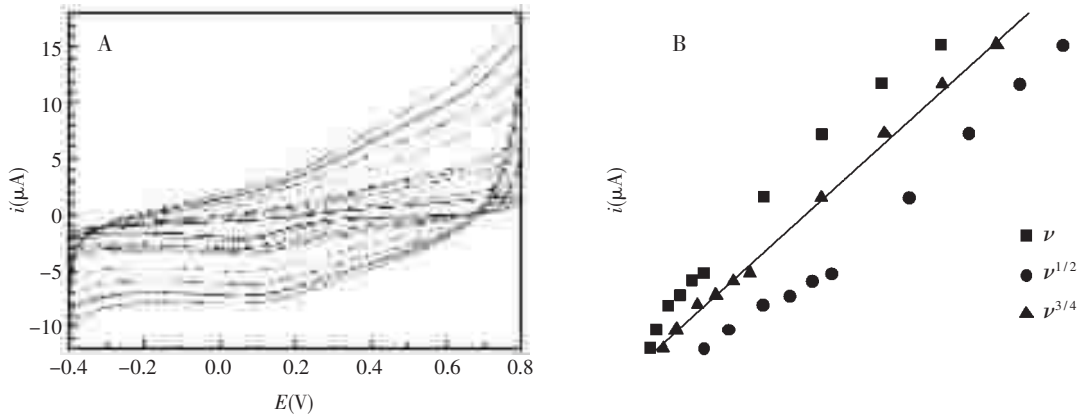


图4 (A) 不同扫描速度下传感器在氯化硫代乙酰胆碱溶液(0.5 mmol/L)中的循环伏安曲线(电压扫描范围为-0.4至0.8 V,扫描速度从内圈到外圈依次为0.01、0.02、0.04、0.06、0.08、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 V/s);(B)不同扫描速度下的循环伏安曲线的峰电流分别对扫描速度(ν)、扫描速度的1/2次方($\nu^{1/2}$)及扫描速度的3/4次方($\nu^{3/4}$)图

Fig.4 (A) Cyclic voltammograms of AChE/CDP/CNT sensor in 0.5 mmol/L acetylthiocholine chloride solution at scan rates of: 0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 V/s; (B) Fitting curves of peak current vs. (i) sweep rate (ν), (ii) the square root of sweep rate ($\nu^{1/2}$) and (iii) the three fourth power of sweep rate ($\nu^{3/4}$)

分别是0.01、0.02、0.04、0.06、0.08、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 V/s。

以各次循环伏安曲线的峰电流分别对 ν 、 $\nu^{1/2}$ 及 $\nu^{3/4}$ 做图,所得曲线示于图4B。根据已有研究结果,如果峰电流对扫描速度成正比,说明电极的电子传递过程受表面反应(电子转移)步骤控制;如果峰电流对扫描速度的1/2次方成正比,说明电极的电子传递过程受扩散步骤控制。由图4B可见,在传感器电极上发生的电极反应与这两种情况都不符合,而是与扫描速度的3/4次方成正比。说明传感器的电子传递过程同时受表面反应和扩散两种电极反应机理控制。通常固定化酶的电极反应都是由扩散控制机理起主要作用。据此可认为,由于碳纳米管的加入,缩短了酶与电极、底物与基础电极之间传递电子的途径,因而扩散步骤的影响减小,从而表现为二者混合控制的电极反应机理。这与纳米铂颗粒掺杂的生物传感器电子传递过程类似^[14]。

3 结论

利用环糊精-预聚环糊精的混合溶液作分散剂来分散CNT,通过预聚环糊精的聚合反应制备出不溶于水的CDP-CNT复合膜,以其作为载体固定乙酰胆碱酯酶,得到了一种灵敏度较高、检

测范围较宽的有机磷农药生物传感器。该传感器可以在1.0~15.0 mg/L浓度范围内检测农药甲胺磷的含量,检测下限为0.05 mg/L。文中还探讨了该传感器的电极反应机理,表明电极的电子传递过程受电子转移步骤和扩散控制步骤两者共同作用。

参考文献

- [1] 张君,王月伶,袁焯斌.可检测有机磷农药残留的丝网印刷酶电极[J].化学学报,2006,64(5):428~434.
- [2] 康天放,刘润,鲁理平,等.再生丝素固定乙酰胆碱酯酶生物传感器[J].应用化学,2006,23(10):1099~1104.
- [3] 肖飞,曲云鹤,卫银银,等.乙酰胆碱酯酶传感器用于有机磷农药检测的研究[J].化学传感器,2008,28:36~41.
- [4] 闵红,曲云鹤,李晓华,等. Au掺杂Fe₃O₄纳米粒子酶传感器的制备及其应用于有机磷农药检测的研究[J].化学学报,2007,65:2303~2308.
- [5] 王丽红,张林,陈欢林.有机磷农药酶生物传感器研究进展[J].化学进展,2006,18:440~442.
- [6] 董绍俊,车广礼,谢远武.化学修饰电极(修订版)[M].北京:科学出版社,2003.501~510.
- [7] 麦智彬,谭学才,邹小勇.基于碳纳米管的化学修饰电极及电化学生物传感器的研究进展[J].分析测试学报,2006,25:120~125.

- [8] Zeng Y L, Huang Y F, Jiang J H, et al. Functionalization of multi-walled carbon nanotubes with poly(amidoamine) dendrimer for mediator-free glucose biosensor[J]. *Electrochemistry Communications*, 2007, 9: 185~190.
- [9] Wang J, Musameh M, Lin Y. Solubilization of carbon nanotubes by nafion toward the preparation of amperometric biosensors [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2003, 125: 2 408~2 409.
- [10] Hrapovic S, Liu Y L, Male K B, et al. Electrochemical biosensing platforms using platinum nanoparticles and carbon nanotubes [J]. *Analytical Chemistry*, 2004, 76: 1 083~1 088.
- [11] Liu Y, Wang M K, Zhao F, et al. The direct electron transfer of glucose oxidase and glucose biosensor based on carbon nanotubes/chitosan matrix[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2005, 21: 984~988.
- [12] Zhang M, Smith A, Gorski W. Carbon nanotube-chitosan system for electrochemical sensing based on dehydrogenase enzymes [J]. *Analytical Chemistry*, 2004, 76: 5 045~5 050.
- [13] Stoytcheva M, Sharkova V, Panayotova M. Electrochemical approach in studying the inhibition of acetylcholinesterase by arsenate (III): analytical characterisation and application for arsenic determination [J]. *Analytica Chimica Acta*, 1998, 364: 195~201.
- [14] Yang H P, Zhu Y F. Glucose biosensor based on nano-SiO₂ and “unprotected” Pt nanoclusters[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2007, 22: 2 989~2 993.

基于卟啉-联吡啶的铜离子荧光化学传感器及其应用研究

林伟琦*

(厦门市产品质量监督检验院, 福建厦门 361004)

摘要: 通过将卟啉衍生物(H_2Pbpy)固定在 PVC 基质中制成 Cu^{2+} 光纤传感器, 该传感器在其它离子共存下对 Cu^{2+} 有很高的选择性。在 pH (6.0~8.0) 时, Cu^{2+} 浓度在 $2.0 \times 10^{-8} \sim 1.0 \times 10^{-5}$ mol/L 时相对荧光强度的对数与 Cu^{2+} 浓度的对数有线性关系, 检测限为 5×10^{-9} mol/L。当 $[Cu^{2+}] < 5 \times 10^{-6}$ mol/L 时, 响应时间小于 5 min。用 0.3 mol/L 的 EDTA(pH9) 和缓冲溶液连续清洗光极膜使之再生。采用了该传感器测定碳酸饮料中 Cu^{2+} 。

关键词: 铜离子; 荧光; 传感器; 碳酸饮料

The development and application of a bipyridine appended porphyrin based fluorescence chemical sensor for Cu^{2+}

Lin Wei-qi*

(Xiamen Products Quality Supervision & Inspection Institute, Xiamen 361004, China)

Abstract: A porphyrin derivative (fluorophore) appended with bipyridine (ionophore) has been applied for preparation of a Cu^{2+} - sensitive optical chemical sensor, which is based on fluorescence quenching of porphyrin derivative entrapped in a poly (vinyl chloride) membrane by the energy transfer process. The sensor exhibits a linear response toward Cu^{2+} in the concentration range $2.0 \times 10^{-8} \sim 1.0 \times 10^{-5}$ mol/L, with a working pH range from 6.0 to 8.0 and a high selectivity. The detection limit is 5×10^{-9} mol/L. The response time for Cu^{2+} is less than 5 min with concentrations lower than 5×10^{-6} mol/L. The optode can be regenerated using 0.3 mol/L EDTA (pH9) and acetate buffer solution. The effect of the composition of the sensor membrane was studied, and the experimental conditions were optimized. The sensor has been used for direct determination of Cu^{2+} in carbonated beverage with satisfied results.

Key words: Cu^{2+} ; fluorescence; sensor; carbonated beverage

0 引言

铜是人体不可缺少的微量元素, 存在于所有器官和组织中, 通常与蛋白质或其它有机物结合, 在许多生理过程起着重要的作用, 如血红素的合成、结缔组织的生长、氧化磷酸化作用等^[1-2]。然而, 当其浓度过大时, 也会引起胆汁排泄铜的功能紊乱, 慢性活动性肝炎, 帕金森综合症, 肾小管中毒等。因此, 探索铜离子的新分析方法特别是痕量分析方法已引起现代分析化学工

作者愈来愈多的注意。

近年来, 利用光纤技术来构建 Cu^{2+} 的光化学传感器已经引起了人们越来越广泛的关注^[3-6], 与传统的 Cu^{2+} 检测方法相比, 光化学传感器具有尺寸小、成本低、不需要基准物质、且信号输出不受电磁场影响等诸多优点。大多数光纤传感器信号输出都是基于固定于不同基质中的敏感物质的吸收或反射信号, 尽管荧光信号在灵敏度上优于吸收和反射信号, 但是基于荧光测量的 Cu^{2+} 的光纤传感器的报道还很少^[7-8]。荧光传感器的敏

感物质通常包括两个部分:荧光基团(控制信号输出)和离子识别基团(选择性的识别金属离子),两部分通过化学键连接起来。由于这两部分之间的光致电子或能量转移^[9-10],当识别基团与某种离子选择性络合,络合作用将诱导荧光基团的荧光性质发生变化。

寻找对 Cu^{2+} 具有高选择性响应的荧光传感器对分析工作者仍是一个非常活跃的研究领域^[11-13]。卟啉是一类在自然界普遍存在的大环类化合物,在生命体的新陈代谢过程中起着非常重要的作用。同时卟啉具有非常好的光化学特性,大的 Stokes 位移,相对长的激发 ($> 400 \text{ nm}$) 和发射 ($> 600 \text{ nm}$) 波长,能将背景荧光的影响降到最小。这些优点使得卟啉成为设计新的荧光分子传感器的潜在荧光基团。该文选择了卟啉枝接联吡啶的化合物(H_2Pbpy)作为 Cu^{2+} 的光纤传感器的敏感物质。其中卟啉作为荧光基团,联吡啶作为识别基团。联吡啶与 Cu^{2+} 络合以后,卟啉激发态电

子可以通过联吡啶转移给 Cu^{2+} ,从而猝灭卟啉的荧光,这为 Cu^{2+} 荧光传感器的构建提供了理论基础。实验结果表明,在 pH (6.0~8.0), Cu^{2+} 浓度在 $2.0 \times 10^{-8} \sim 1.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 之间,荧光强度变化的对数与离子浓度的对数呈线性关系。利用该方法对碳酸饮料中的 Cu^{2+} 进行测定。

1 实验

1.1 试剂

聚氯乙烯(PVC)、癸二酸二辛酯(DOS)、 CuCl_2 购自上海化学试剂公司。四氢呋喃(THF)以二苯甲酮为指示剂,在氩气保护加钠蒸馏除水得到。若没有特别指出,其它试剂均为分析纯且无须进一步纯化。实验用水均为二次蒸馏水。系列的 Cu^{2+} 标准溶液由 $1.0 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$ 的 Cu^{2+} 溶液经 NaOAc-HOAc (pH 为 6.22) 缓冲溶液逐步稀释得到。按照文献方法合成 H_2Pbpy (结构见图 1)。

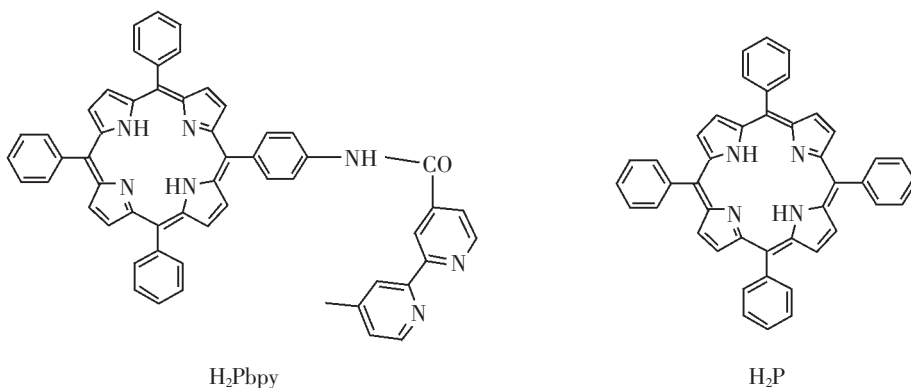


图 1 H_2Pbpy 和 H_2P 的结构式

Fig.1 Structures of porphyrin derivatives and meso-tetraphenylporphyrin

1.2 仪器

所有荧光测量均在 F4600 荧光光谱仪 (HITACHI) 完成,激发和发射狭缝分别为 5.0 nm 和 10.0 nm。紫外吸收光谱在 UV-2450 (SHIMADZU) 完成。使用一个自制的聚四氟乙烯的流通池和一双臂光纤(30+30 石英光纤,直径 6 mm,长 1 m)^[14]用于 Cu^{2+} 测量。激发光通过光纤的一臂进入流通池,而发射光从另一臂进入检测器。将涂有敏感膜的石英玻璃片(直径 10 mm)放入一个带固定螺丝的流通池,并保持敏感膜与溶液接触。样品由蠕动泵(浙江国康仪器公司)输入

流通池。溶液 pH 值用 Mettler-Toledo Delta 320 pH 计测量。

1.3 光极膜的制备

将 1.5 mg H_2Pbpy , 50 mg PVC 和 100 mg 增塑剂溶于 2 mL 新蒸馏的 THF 中制成光极膜溶液。为提高膜的粘附,对石英玻璃片(直径 10 mm,厚 1 mm)进行了活化,先用浓 HNO_3 浸泡 12 h,然后用 3% 的 HF 和 10% 的 H_2O_2 浸泡 30 min,后用蒸馏水和乙醇洗净晾干。滴加 0.1 mL 光极膜溶液于旋转的玻璃片上(600 r/min),使之形成敏感光极膜。放置过夜蒸发除去 THF,形成了一层很薄的

聚合物敏感膜附着在玻璃片上。

1.4 测量过程

将光纤接到光谱仪的检测池上,使其传输激发光和发射光。测量时激发光波长固定在 423 nm。样品溶液以 0.8 mL/min 的速度输入流通池的检测室。每次测量后,依次用 0.3 mol/L 的 EDTA 溶液(pH9)和缓冲溶液(0.1 mol/L NaOAc-HOAc, pH6.22)洗检测池,直至光极膜的荧光强度回到初始时。

1.5 吸收光谱的测定

为了研究响应机理,将 1.0×10^{-5} mol/L H_2Pbpy

的乙醇溶液和等摩尔量的 Cu^{2+} 的水溶液(pH6.22)在室温下混合。记录混合溶液的吸收光谱,并与 H_2P 的乙醇溶液(1.0×10^{-5} mol/L)与空白缓冲溶液(pH6.22)混合溶液的吸收光谱进行比较。

2 结果与讨论

2.1 敏感膜的荧光光谱

敏感膜在 423 nm 波长处激发, Cu^{2+} 的浓度变化引起敏感膜荧光光谱的变化见图 2。荧光光谱记录 λ_{ex} 为 423 nm, 在 600~725 nm 范围内荧光强度的变化。从图 2 可以看出敏感膜荧光发射波

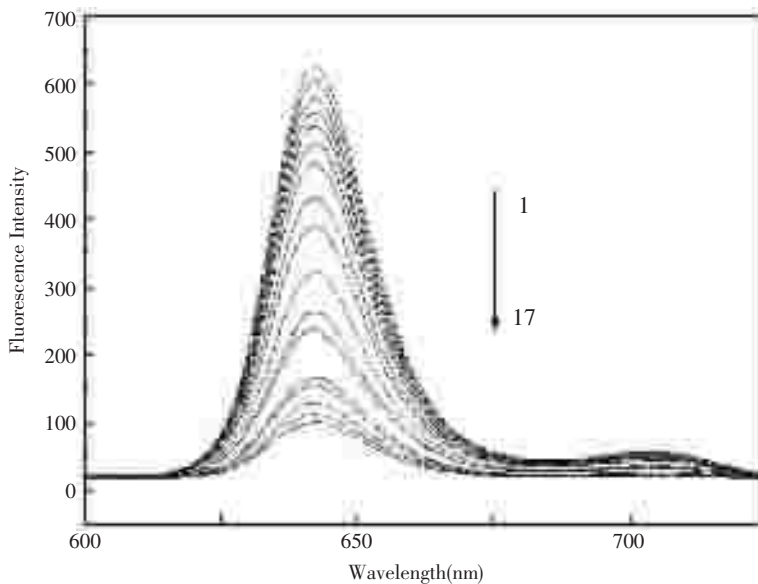


图 2 不同 Cu^{2+} (mol/L)浓度下 H_2Pbpy 敏感膜的荧光光谱

(1) 0; (2) 1.0×10^{-8} ; (3) 2.0×10^{-8} ; (4) 3.2×10^{-8} ; (5) 6.4×10^{-8} ; (6) 1.0×10^{-7} ; (7) 2.0×10^{-7} ; (8) 3.2×10^{-7} ; (9) 6.4×10^{-7} ; (10) 1.0×10^{-6} ; (11) 2.0×10^{-6} ; (12) 3.2×10^{-6} ; (13) 6.4×10^{-6} ; (14) 1.0×10^{-5} ; (15) 2.0×10^{-5} ; (16) 3.2×10^{-5} ; (17) 1.0×10^{-4}
(敏感膜组成: 1% H_2Pbpy , 66% DOS and 33% PVC)

Fig.2 Fluorescence emission spectra of the H_2Pbpy sensing membrane in equilibrium with different concentrations of Cu^{2+}

长在 643 nm,随着 Cu^{2+} 浓度的增加,敏感膜荧光强度逐渐下降,基于此设计出了 Cu^{2+} 光纤传感器。

2.2 膜响应机理

Cu^{2+} 是一种顺磁性物质,能跟荧光物质作用发生光致能量转移或者是光致电子转移,猝灭荧光物质的荧光^[15]。联吡啶络合 Cu^{2+} 使卟啉发生光致电子转移而猝灭卟啉的荧光。为了研究光极膜响应机理,记录了 H_2Pbpy 和 H_2P 加入等摩尔 Cu^{2+} 的吸收光谱变化(图 3)。与四苯基卟啉的吸收光谱比较, H_2Pbpy 的 Soret 吸收由四苯基卟啉的 409 nm 红移至 413 nm,这可能是由于联吡啶基团与

卟啉基团之间有一定的作用造成的。加入等摩尔的 Cu^{2+} 后, H_2Pbpy 的 Soret 吸收峰由 413 nm 蓝移至 410 nm。吸收峰位移值的大小表明了荧光团和被螯合的 Cu^{2+} 之间相互作用的强弱^[14],位移值越大,作用越强。 H_2Pbpy 的 Soret 吸收峰位移了 3 nm,这是由于卟啉基团比较靠近识别基团。而 H_2P 加入等摩尔 Cu^{2+} 后,其吸收光谱几乎没有变化。说明卟啉没有跟 Cu^{2+} 发生作用,这一点也可以由表 1 看出, H_2P 对 Cu^{2+} 没有响应。因此,在当前实验条件下,卟啉基团只是作为报告基团,作为识别基团的是联吡啶部位。

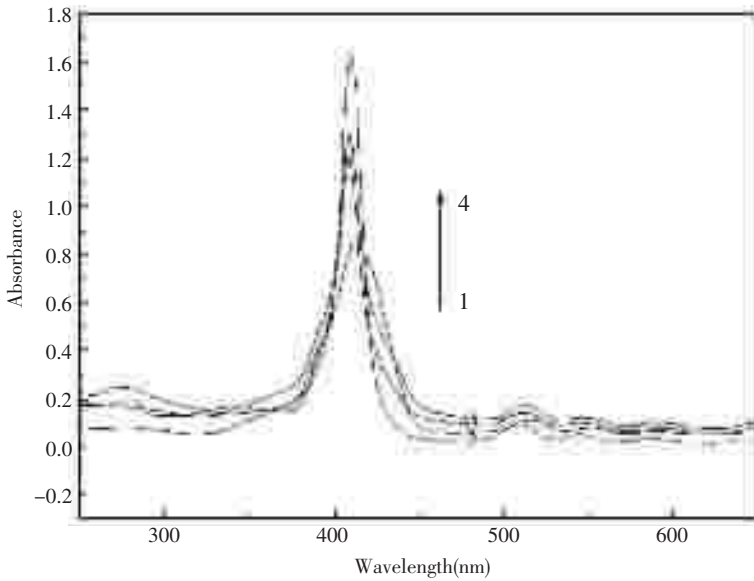


图3 加入等摩尔的 Cu^{2+} , H_2Pbpy ($10 \mu\text{mol/L}$) 和 H_2P ($10 \mu\text{mol/L}$) 的吸收光谱变化
(1) H_2Pbpy 吸收光谱; (2) 加入等摩尔的 Cu^{2+} 后 H_2P 的吸收光谱; (3) H_2P 吸收光谱;
(4) 加入等摩尔的 Cu^{2+} 后 H_2Pbpy 的吸收光谱

Fig.3 Changes in the UV-Vis spectra of H_2Pbpy ($10 \mu\text{mol/L}$) and H_2P ($10 \mu\text{mol/L}$) upon the addition of equivalent molar Cu^{2+}

2.3 膜的优化

使用不同的敏感材料 H_2Pbpy 和 H_2P 与增塑剂 DOS 制成两种不同传感器, 并考察这两种传感器性能, 结果见表 1。

表 1 不同敏感膜对 Cu^{2+} 的响应

Tab.1 The effect of sensing materials on the response behavior of optodes

光极	敏感膜	工作浓度范围 (mol/L)	响应时间 (min)
1	H_2Pbpy	$3.2 \times 10^{-8} \sim 1.0 \times 10^{-5}$	5
2	H_2P	无响应	/

敏感膜成份: 1.3% 敏感物, 65.8% DOS 和 32.9% PVC

由表 1 可以看出, H_2Pbpy 为敏感材料的光极对 Cu^{2+} 都有比较好的响应特性, 而 H_2P 的光极对 Cu^{2+} 没什么响应。这是因为卟啉必须改变构象才能与 Cu^{2+} 络合^[16], 速度很慢, 而联吡啶是一个很好的 Cu^{2+} 络合剂, 速度非常快。因此, 当 PVC 基质中只有卟啉存在时, 不会对 Cu^{2+} 产生响应。

考察了基质中敏感物质含量对传感器性能的影响。结果显示在表 2 中, 发现其测量范围变化比较小, 但是响应时间却是随着敏感材料浓度的降低而拉长, 这可能是由于膜相中的敏感物质浓度过低, Cu^{2+} 需要花更多的时间才能接触到识

表 2 不同 H_2Pbpy 含量的敏感膜对 Cu^{2+} 的响应

Tab.2 The effect of amount of H_2Pbpy on the response behavior of optode

光极	敏感膜组成	工作浓度范围 (mol/L)	响应时间 (min)
	$\text{H}_2\text{Pbpy}:\text{DOS}:\text{PVC}$		
3	0.5:100:50	$2.0 \times 10^{-8} \sim 1.0 \times 10^{-5}$	25
4	1.0:100:50	$1.0 \times 10^{-8} \sim 1.0 \times 10^{-5}$	15
5	1.5:100:50	$2.0 \times 10^{-8} \sim 1.0 \times 10^{-5}$	5
1	2.0:100:50	$3.2 \times 10^{-8} \sim 1.0 \times 10^{-3}$	5

别部位。膜层的敏感物质浓度太高将会引起荧光物质发生自猝灭现象, 使得测量范围变差。结果表明含 1% H_2Pbpy , 66% DOS 和 33% PVC 的光极膜(光极 5)对 Cu^{2+} 有很好的响应。

2.4 pH 影响

固定 Cu^{2+} 浓度在 $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$, 用 0.1 mol/L 的 HCl 或 NaOH 溶液调节 $\text{NaOAc}-\text{HOAc}$ 缓冲溶液到不同的 pH 下, 测得 H_2Pbpy ($\lambda_{\text{ex}} = 423 \text{ nm}$, λ_{em}

= 643 nm)的荧光强度并对 pH 作图(图 4)。pH 在 6.0~8.0 范围内时,荧光猝灭效果最好,pH > 8 和 pH < 5.5 时,猝灭效果都有些减弱。pH < 5.5 的酸性环境中,Cu²⁺不能完全与联吡啶络合。在 pH 为 6.0~8.0 时,Cu²⁺很容易与联吡啶络合,所以荧光猝灭作用最强。而当 pH > 8 时,荧光猝灭效率减弱是因为 Cu²⁺发生部分水解,联吡啶只能与未水解的 Cu²⁺络合。因此,选择 pH 为 6.22 的 NaOAc-HOAc (0.1 mol/L)缓冲溶液作为实验介质。

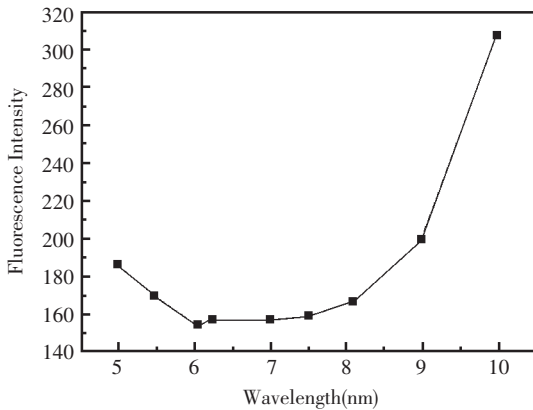


图 4 不同 pH 下对 Cu²⁺的响应(Cu²⁺浓度固定在 1.0×10⁻⁵ mol/L)

Fig.4 Effect of pH on the determination of Cu²⁺ with proposed optode (the concentration of Cu²⁺ was fixed at 1.0×10⁻⁵ mol/L)

2.5 光极膜的响应特性

依据修正的 Stern-Volmer 方程^[14],Cu²⁺浓度在 2.0×10⁻⁸~1.0×10⁻⁵ mol/L 范围内时,log(ΔF/F)和 log[Cu²⁺]呈良好的线性关系,方程为 log(ΔF/F) = 3.499 + 0.595 log [Cu²⁺], 相关系数为 0.998 04 (n=12)。最低检测浓度 5×10⁻⁹ mol/l 由空白值的标准差的三倍计算得到。Cu²⁺与 H₂Pbpy 结合条件稳定常数为 8.55×10⁵ 由实验的荧光数据通过 Stern-Volmer 方程计算得到。Cu²⁺浓度低于 5.0×10⁻⁶ mol/L 时,传感器响应时间小于 5 min。光极膜的稳定性是通过连续测量 Cu²⁺浓度为 5.0×10⁻⁶ mol/L,10 h 内记录 24 次而得到。荧光强度变化相对标准偏差为 2.1%。每次测量后依次使用 0.3 mol/L 的 EDTA (pH = 9.00)和缓冲溶液冲洗检测池使光极膜荧光强度恢复到初始时。光极膜浸泡在二次蒸馏水中贮藏一个月, 荧光强度没有

明显的变化,这表明 H₂Pbpy 在 PVC 膜中是非常稳定的。

2.6 选择性

继续考察了实验室常见的金属离子对 Cu²⁺测定的干扰。固定 Cu²⁺浓度在 5.0×10⁻⁶ mol/L,加入干扰离子,记录加入前后荧光强度的变化。其结果见表 3。大多碱金属和碱土金属离子浓度在小于 1.0×10⁻² mol/L 时对 Cu²⁺测量没有明显的干扰。一些过渡金属离子浓度小于 1.0×10⁻³ mol/L

表 3 其它离子对 Cu²⁺测量的干扰

Tab.3 Interference of different species with the fluorescence determination of Cu²⁺ with the optode

干扰离子	浓度 (mol/L) ^a	荧光强度变化 (ΔF=F ₀ -F) ^b	相对偏差 (%)
Na ⁺	1.0×10 ⁻¹	1.2	0.62
K ⁺	1.0×10 ⁻²	-1.5	-0.77
Li ⁺	1.0×10 ⁻²	2.1	1.08
Mg ²⁺	1.0×10 ⁻²	3.1	1.59
Ca ²⁺	1.0×10 ⁻²	2.5	1.28
Al ³⁺	2.0×10 ⁻²	-4.6	-2.37
Zn ²⁺	1.0×10 ⁻³	-4.7	-2.41
Mn ²⁺	1.0×10 ⁻³	-3.2	-1.65
Cd ²⁺	1.0×10 ⁻³	5.7	2.93
Co ²⁺	1.0×10 ⁻³	-3.6	-1.85
Pb ²⁺	1.0×10 ⁻³	-5.4	-2.78
Fe ³⁺	1.0×10 ⁻⁵	-8.9	-4.58
Ni ²⁺	1.0×10 ⁻³	-5.4	-2.78
Ag ⁺	1.0×10 ⁻³	-4.1	-2.11
Hg ²⁺	1.0×10 ⁻⁵	-9.1	-4.68

^aCu²⁺浓度固定在 1.0×10⁻⁵ mol/L (pH6.22)

^bF₀表示敏感膜只与 5.0×10⁻⁶ mol/L Cu²⁺溶液接触时的荧光强度(F₀=194.5),F表示敏感膜与含有干扰离子的 Cu²⁺溶液接触时的荧光强度

时不会对 Cu²⁺的测量产生干扰,只有 Fe³⁺和 Hg²⁺在浓度大于 1.0×10⁻⁵ mol/L 时有轻微的干扰。

2.7 碳酸饮料中微量铜的测定

取 1 mL 碳酸饮料到 100 mL 容量瓶中,用 0.1 mol/L 的 NaOAc-HOAc (pH6.22)缓冲溶液准确定容到 100 mL。结果与用原子吸收光谱法所测数据作比较,相对误差在 5%内。实验结果(表 4)表明该光纤传感器能够用于实际中测 Cu²⁺。

表 4 测定碳酸饮料中 Cu^{2+}
 Tab.4 Determination of Cu^{2+} of carbonated beverage

样品	光极 5 测定 (mol/L)	原子吸收法测定 (mol/L)	相对误差 (%)
1	$(2.43 \pm 0.08) \times 10^{-7}$	$(2.35 \pm 0.05) \times 10^{-7}$	3.40
2	$(2.86 \pm 0.06) \times 10^{-7}$	$(2.80 \pm 0.05) \times 10^{-7}$	2.10
3	$(4.52 \pm 0.08) \times 10^{-7}$	$(4.32 \pm 0.10) \times 10^{-7}$	4.63

3 结论

通过将卟啉衍生物(H_2Pbpy)固定在 PVC 基质中制成 Cu^{2+} 光纤传感器, 该传感器在其它离子共存下对 Cu^{2+} 有很高的选择性、且响应时间快, 只有 Fe^{3+} 和 Hg^{2+} 在浓度大于 1.0×10^{-5} mol/L 时有轻微的干扰。传感器在 pH 为 6.22, Cu^{2+} 浓度在 $2.0 \times 10^{-8} \sim 1.0 \times 10^{-5}$ mol/l 时相对荧光强度的对数与 Cu^{2+} 浓度的对数有线性关系, 检测限为 5×10^{-9} mol/L。当 $[\text{Cu}^{2+}] < 5 \times 10^{-6}$ mol/L 时, 响应时间小于 5 min。用 0.3 mol/L 的 EDTA 和缓冲溶液连续清洗光极膜使之再生。通过测定碳酸饮料中 Cu^{2+} 证明该方法具有应用的价值。

参考文献

- [1] Radisky D, Kaplan J. Regulation of transition metal transport across the yeast plasma membrane[J]. J. Biol. Chem., 1999, 274(8): 4 481~4 484.
- [2] Rode B M, Suwannachot Y. The possible role of Cu(II) for the origin of life [J]. Coord Chem. Rev., 1999, (190-192): 1 085~1 099.
- [3] Choi S H, Pang K, Kim K, et al. Cu^{2+} Colorimetric Sensing and Fluorescence Enhancement and Hg^{2+} Fluorescence Diminution in "Scorpionate"-like Tetrathienyl-Substituted Boron-Dipyrins [J]. Inorg. Chem., 2007, 46: 10 564~10 577.
- [4] Csokai V, Kadar M, Mai D L H, et al. Synthesis, optical and electroanalytical characterizations of a thiacalix[4] (N-phenylazacrown-5)ether-BODIPY ionophore [J]. Tetrahedron, 2008, 64: 1 058~1 063.
- [5] Gholivand M B, Niroomandi P, Yari A, et al. Characterization of an optical copper sensor based on N,N'-bis(salicylidene)-1,2-phenylenediamine [J]. Anal. Chim. Acta, 2005, 538(1-2): 225~231.
- [6] Safavi A, Bagheri M. Design of a copper(II) optode based

on immobilization of dithizone on a triacetylcellulose membrane[J]. Sens. Actuators B, 2005, 107(1): 53~58.

- [7] Yin J, Guan X, Wang D, et al. Metal-Chelating and Dansyl-Labeled Poly (N-isopropylacrylamide) Microgels as Fluorescent Cu^{2+} Sensors with Thermo-Enhanced Detection Sensitivity[J]. Langmuir, 2009, 25(19): 11 367~11 374.
- [8] Domaille D W, Zeng L, Chang C J. Visualizing Ascorbate-Triggered Release of Labile Copper within Living Cells using a Ratiometric Fluorescent Sensor [J]. J. Am. Chem. Soc., 2010, 132: 1 194~1 195.
- [9] Hennrich G, Walther W, Resch-Genger U, et al. Cu(II)- and Hg(II)-induced modulation of the fluorescence behavior of a redox-active sensor molecule [J]. Inorg. Chem., 2001, 40(4): 641~644.
- [10] Mitchell K A, Brown R G, Yuan D, et al. A fluorescent sensor for Cu^{2+} at the sub-ppm level [J]. J. Photochem. Photobiol. A. Chem., 1998, 115(2): 157~161.
- [11] Mei Y, Bentley P A, Wang W. A selective and sensitive chemosensor for Cu^{2+} based on 8-hydroxyquinoline [J]. Tetrahedron Lett., 2006, 47: 2 447~2 449.
- [12] Wu Q, Anslyn E. Catalytic signal amplification using a heck reaction. An example in the fluorescence sensing of Cu(II)[J]. J. Am. Chem. Soc., 2004, 126(45): 14 682~14 683.
- [13] Royzen M, Dai Z, Canary J W. Ratiometric displacement approach to Cu(II) sensing by fluorescence [J]. J. Am. Chem. Soc., 2005, 127(6): 1 612~1 613.
- [14] Zhang X B, Guo C C, Li Z Z, et al. An optical fiber chemical sensor for mercury ions based on a porphyrin dimer [J]. Anal. Chem., 2002, 74(4): 821~825.
- [15] Krämer R. Fluoreszenz-chemosensoren für Cu^{2+} -ionen: schnell, selektiv und hochempfindlich [J]. Angew. Chem., 1998, 110(6): 804~806.
- [16] Biesaga M, Pyrzynska K, Trojanowicz M. Porphyrin in analytical chemistry [J]. A review. Talanta, 2000, 51(2): 209~224.

以双核有机锡(IV)配合物为中性载体高选择性硫氰酸根电极的研究

董淑玲*, 王秀玲

(苏州科技学院 化学与生物工程学院, 江苏苏州 215009)

摘要: 研究了双核三苄基甲醇锡(IV)哌嗪荒酸酯配合物[Sn(IV)-BTMTP]为中性载体的 PVC 膜阴离子选择性电极。这类电极对硫氰酸根离子呈现出优良的电位响应性能和选择性,并呈现出反 Hofmeister 选择性行为。其选择性序列为: $\text{SCN}^- > \text{I}^- > \text{ClO}_4^- > \text{NO}_2^- > \text{NO}_3^- > \text{Cl}^- > \text{SO}_4^{2-} > \text{AC}^-$, 该电极在 pH=4.0 的磷酸盐缓冲体系中,对 SCN^- 呈超能斯特响应, 响应范围为 $1.0 \times 10^{-1} \sim 3.2 \times 10^{-5}$ mol/L, 斜率为 -72.4 mV/dec, 检出限为 1.28×10^{-5} mol/L。采用交流阻抗及紫外光谱研究了阴离子与载体的作用机理。将该电极用于废水分析, 结果令人满意。
关键词: 双核三苄基甲醇锡(IV)哌嗪荒酸酯; 中性载体; 离子选择性电极; 硫氰酸根

Study on selective thiocyanate electrode based on binuclear tin(VI) complex as neutral carriers

Dong Shu-ling*, Wang Xiu-ling

(Department of Basic Chemistry and Bioengineering, University of Science and Technology of Suzhou, Suzhou 215009, China)

Abstract: A new binuclear tin(VI) complex(bis-tribenzyl-methoxide-tin piperazinylbisdithio carbamate) as neutral carrier for selective thiocyanate PVC membrane electrode was made. It displays an anti-Hofmeister selectivity sequence: $\text{SCN}^- > \text{I}^- > \text{ClO}_4^- > \text{NO}_2^- > \text{NO}_3^- > \text{Cl}^- > \text{SO}_4^{2-} > \text{AC}^-$. The electrode exhibits Supper-Nernstian for SCN^- over a wide concentration range($1.0 \times 10^{-1} \sim 3.2 \times 10^{-5}$ mol/L) with a detection limit 1.28×10^{-5} mol/L and a slope of -72.4 mV/dec in pH4.0 of phosphate buffer solution at 25 °C. The response mechanism is discussed in view of the AC impedance technique and the UV spectroscopy technique. The electrode was successfully applied to the disposal of SCN^- in effluent.

Key words: bis-tribenzyl-methoxide-tin piperazinylbisdithiocarbamate; neutral carrier; ion-selective electrode; thiocyanate

0 引言

硫氰酸根离子(SCN^-)具有重要的生理药理作用,虽无 CN^- 毒性大,但对水生物及人体仍有危害,能抑制人体内碘的转移而引起地方性甲状腺肿^[1],故在环境污染及控制中,对 SCN^- 进行测定和监控,具有重要的意义。近年来,反 Hofmeister 行为的阴离子选择性电极的研究十分活跃,许多金属有机化合物被用作阴离子选择电极中

的电话性物质,由于具有特殊的空间结构及适宜的路易斯酸度,有可能成为优良的电话性物质^[2]。双核锡配合物由于其特殊的空间结构,常被用作选择性电极的载体^[2-3]。该文合成了双核三苄基甲醇锡(IV)哌嗪荒酸酯配合物[Sn(IV)-BTMTP](图 1), 研究发现,以该双核锡配合物为载体的 PVC 膜电极对 SCN^- 有很好的响应。采用紫外光谱和交流阻抗技术研究了电极对 SCN^- 的响应机理。

* 通讯联系人, E-mail: gudongbo66@126.com

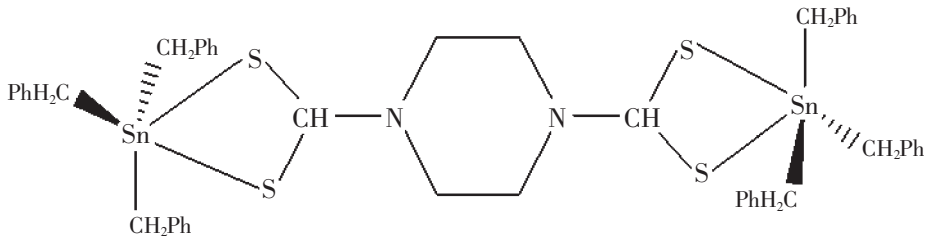


图 1 双核三苄基甲醇锡(IV)哌嗪荒酸酯配合物[Sn(IV)-BTMTP]

Fig.1 Structure of [Sn(IV)-BTMTP] metallic complex

1 实验部分

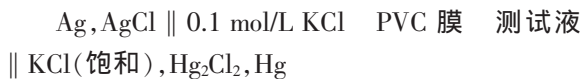
1.1 仪器与试剂

电极电位和 pH 值用 PHS-3C 精密数显酸度计(上海天达仪器有限公司)测定;NHC 元素分析仪(西德 D-6450 型 Heraeus 公司);UV-2550 紫外可见分光光度计(日本岛津公司);IM6e 型交流阻抗测试系统(德国 ZAHNER elektrik 公司);LC-20AT HPLC(日本岛津公司)。

哌嗪荒酸二钠按文献[4]合成;双核三苄基甲醇锡(IV)哌嗪荒酸酯配合物[Sn(IV)-BTMTP]载体按文献[5]制备,产物经元素分析所证实(计算值(%):C50.07, H4.36, N2.66;实测值(%):C49.98, H4.42, N2.74);增塑剂邻硝基苯基辛基醚按文献[6]合成。所用试剂均为分析纯,水为二次去离子水经 KMnO_4 处理重蒸馏。

1.2 电极的制备

按常规方法制备 PVC 膜,装配成 PVC 膜电极^[7],电极膜组成: $m(\text{载体}):m(\text{PVC}):m(\text{邻硝基苯基辛基醚})=5.8:33.6:59.6$ 。电极电位由下列电池测定:



2 结果与讨论

2.1 pH 值对电极性能的影响以及电极的电位响应特性

分别测试了电极在 pH 值为 4.0, 5.0, 6.0 的缓冲溶液中对 SCN^- 离子的电位响应性能, 见图 2。实验结果表明, 在 pH 值 4.0 时电极电位响应的线性范围最宽, 斜率最大。在 pH 值高于 4.0 时, 电极电位响应的线性范围随 pH 值的增加变窄, 斜率下降, 这是由于随着 OH^- 浓度增加, OH^-

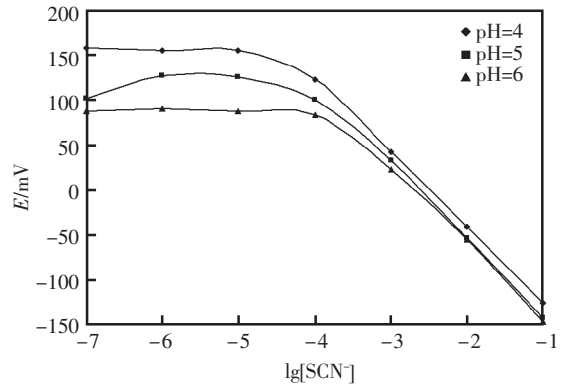


图 2 pH 值对以[Sn(IV)-BTMTP]为载体的 PVC 膜电极电位响应性能的影响

Fig.2 pH effects on potentiometric response characteristics of the electrode incorporating [Sn(IV)-BTMTP] carrier

取代 SCN^- 与中心金属原子作用增强, 对电极产生干扰所致。当 pH 值低于 4.0 时, 游离的 SCN^- 减少可导致电极电位性能显著变差。

pH 为 4.0 的磷酸盐缓冲介质中测定它的电位响应特性, 该电极在 $1.0 \times 10^{-1} \sim 3.2 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 浓度范围内呈现超能斯特响应, 检出限为 $1.28 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$, 斜率为 -72.4 mV/dec 。电极对 SCN^- 的响应时间 $t_{95\%}$ 均小于 10 s。在 pH4.0 条件下对 $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 的 SCN^- 溶液连续测试 10 h, 电极电位读数的标准偏差为 $0.86 \text{ mV}(n=30)$ 。电极在 $1.0 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$ 和 $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 的 SCN^- 溶液中往返多次交替测试 2 h, 电极电位读数的标准偏差为 $0.78 \text{ mV}(n=12)$ 。

2.2 电极的选择性

采用分别溶液法对溶液中一些常见阴离子的选择性系数 $\log K_{\text{SCN}^-, \text{j}^-}^{\text{pot}}$ 进行了测定, 并与文献[8]所报道的以季铵盐 HTOAI 为载体的电极选择性系数进行对照(见表 1), 结果表明: 电极对硫氰酸根离子有较高的选择性, 呈现出明显的反

表 1 双核三苄基甲醇锡(IV)哌嗪荒酸酯载体电极选择性系数

Tab.1 Selectivity coefficient, $\log K_{\text{SCN}^-\text{j}^-}^{\text{pot}}$ for [Sn(IV)-BTMTP] electrode

Carriers	$\log K_{\text{SCN}^-\text{j}^-}^{\text{pot}}$							
	SCN^-	I^-	ClO_4^-	NO_2^-	NO_3^-	Cl^-	SO_4^{2-}	AC^-
[Sn(IV)-BTMTP]	0	-0.75	-1.46	-2.11	-2.22	-2.44	-2.47	-2.67
HTOAI	0	-0.5	1.4	-3.3	-1.9	-3.6	-4.7	—

Hofmeister 响应行为, 其选择序列为 $\text{SCN}^- > \text{I}^- > \text{ClO}_4^- > \text{NO}_2^- > \text{NO}_3^- > \text{Cl}^- > \text{SO}_4^{2-} > \text{AC}^-$ 。

2.3 电极响应机理的研究

实验将载体氯仿溶液及其与 0.1 mol/L 硫氰酸钠水溶液作用后的氯仿溶液作紫外光谱分析(见图 3), 由图 3 可知, 载体与 SCN^- 作用后, 最大吸收波长红移约 6 nm (从 278 nm 位移到 284

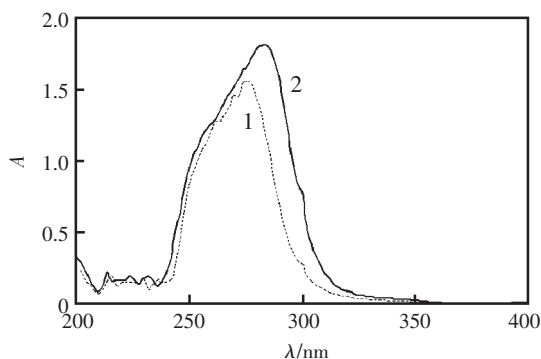


图 3 [Sn(IV)-BTMTP]氯仿溶液与 0.1 mol/L SCN^- 水溶液作用前(1)后(2)的紫外光谱图

Fig.3 UV absorption spectra of chloroform solution of [Sn(IV)-BTMTP] (1) and [Sn(IV)-BTMTP] treated with 0.1 mol/L SCN^- (2)

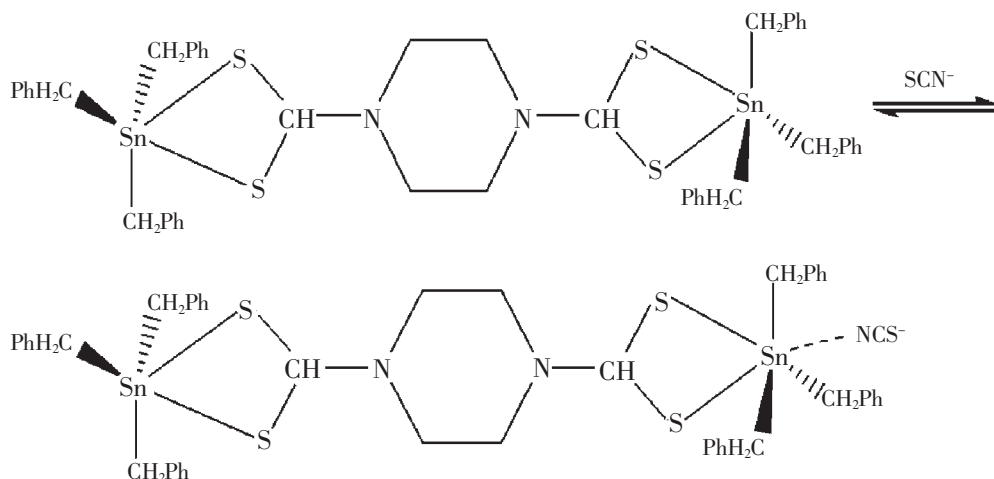


图 4 [Sn(IV)-BTMTP] 与 SCN^- 作用示意图

Fig.4 Suggested coordination scheme of [Sn(IV)-BTMTP] with SCN^-

nm), 且紫外吸收强度也明显增加, 说明载体与 SCN^- 发生了作用。

[Sn(IV)-BTMTP]配合物作为电极膜载体对 SCN^- 呈现出高选择性, 是由于载体本身的结构和中心金属原子与 SCN^- 之间独特的配位作用所致。在双核有机锡配合物中, 两个中心原子锡都为五配位, 为三角双锥构型, 依据皮尔逊软硬酸碱作用原则, 在[Sn(IV)-BTMTP]配合物中锡(IV)与 SCN^- 易于成 Sn-NCS^- 键, 作用结果锡(IV)形成了六配位的八面体结构, [Sn(IV)-BTMTP]配合物与 SCN^- 可能的作用机理如图 4 所示。

2.4 膜交流阻抗行为

在 25 °C, 测试了以[Sn(IV)-BTMTP]配合物为载体的 PVC 膜在含不同浓度的 SCN^- 的磷酸盐缓冲介质(pH4.0)中的交流阻抗谱图(见图 5)。结果表明, 在高频区呈现规则的膜本体阻抗半圆和表面活化超电压阻抗半圆, 在低频区可观察到 Warburg 阻抗。膜本体阻抗随着溶液中 SCN^- 浓度的增加而减少, 当 SCN^- 浓度为 1.0×10^{-5} 、 1.0×10^{-3} 、 1.0×10^{-1} mol/L 时, 其对应的膜本体阻抗分别为

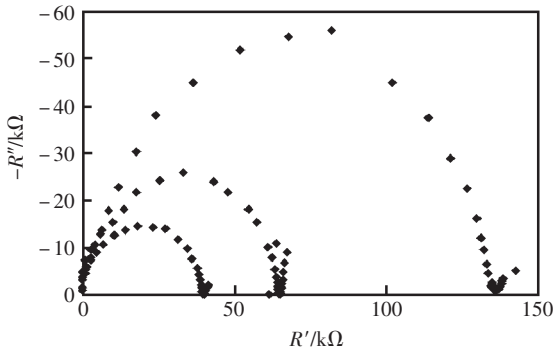


图 5 [Sn(IV)-BTMTP]为载体的 PVC 膜交流阻抗谱图

Fig.5 Impedance plot of PVC membrane with [Sn(IV)-BTMTP] carrier

137.0 kΩ、65.2 kΩ、40.5 kΩ，这表明 SCN⁻参与了传输，且载体携带 SCN⁻通过膜相的传输过程受到扩散控制。

2.5 电极的初步应用

采用该电极测定污水中 SCN⁻含量，所测结果与 HPLC 法测定结果比较(表 2)，两种方法测得表 2 电极方法和 HPLC 方法对废水 SCN⁻的含量 C/(mmol/L)测定结果比较

Tab.2 Comparison of the results of electrode and HPLC method for the detection of SCN⁻ concentration C/(mmol/L) in effluent

方法	样品 1	样品 2	样品 3	样品 4
电极方法*	1.22	1.78	2.02	2.16
HPLC	1.16	1.87	2.12	2.20

* 每个样品测四次，取平均值

样品中 SCN⁻含量基本一致，表明该电极对实际样品中 SCN⁻含量的检测是比较快速而准确的。

参考文献

- [1] 李健群.地方性甲状腺肿与地方性克汀病防治实用技术大全[M]. 北京:中国环境科学出版社,1987. 230.
- [2] 刘冬,陈文灿,沈国励,等.以双核有机锡化合物为载体的 PVC 膜磷酸根离子敏感电极[J].高等学校化学学报,1996,17(10):1 528~1 531.
- [3] 王秀玲,袁若,徐岚,等.基于双核三苯基甲醇锡(IV)对苯二甲酸酯配合物为中性载体的硫氰酸根电极的研究[J].分析测试学报,2004,23(4):29~32.
- [4] Ammann D, Huser M, Kraeutler B, et al. Anion selective of metalloporphyrins in membranes[J].Helv Chim Acta, 1986,69(4):849~854.
- [5] 尹汉东,马春林,王勇,等.双核有机锡(IV)配合物 [Ph₃Sn(CH₃OH)₂O₂CC₆H₄CO₂(CH₃OH).SnPh₃].2CH₃OH 和 [Ph₃SnS₂CN(CH₂CH₂)₂NCS₂SnPh₃].2CH₃OH 的合成、表征和晶体结构[J].化学学报,2002,60(5):897~903.
- [6] Horning E C. Org Synth Coll Vol III [M]. New York: Wiley,1995.140.
- [7] Moody G L, Oke R B, Thomas J D R. As calcium-sensitive electrode based on a liquid ion exchanger in a poly(vinyl chloride) matrix[J]. Analyst, 1970, 95: 910~913.
- [8] Yuan R, Chai Y Q, Liu D, et al. Schiff base complexes of cobalt(II) as neutral carriers for highly selective iodide electrodes[J]. Anal Chem,1993, 65(19): 2 572~2 575.

《化学传感器》征稿启事

《化学传感器》是经国家科委批准,由中国仪器仪表学会主办的专业科技刊物。1981年创刊,国内外公开发行,国内统一刊号 CN32-1406/TP,国际标准刊号 ISSN1008-2298,本刊的主要任务是交流有关化学传感器的研制、理论研究、在各个领域的应用、仪器及与微机联用技术等方面的学术论文,促进化学传感器在各生产科技部门的普及与推广应用。是冶金、地质、卫生防疫、环境保护、食品检验、生理医学、化工、农业、国防、科研、大专院校等一切从事化学分析、工业过程控制与自动检测的科技工作者的理想工具,得力助手。

1 征稿内容

a.化学及生物传感器进展评述;b.化学传感技术基础理论;c.新型敏感材料;d.新型化学传感器研究(离子敏、气敏、光敏、生物敏、温敏、热敏、电化学压电晶体及表面声波、基于微生物技术的薄膜及厚膜传感器等);e.化学传感器在各领域的新应用;f.敏感器件制造技术;g.传感器的信号处理;h.化学传感器的产业化;i.化学传感器测量仪与自动控制系统。

2 投稿须知(为使来稿格式符合国家科技期刊格式标准,特向广大作者提出相关要求,请务必配合)

2.1 来稿一律用电子邮件(附件)发送到 chxj.jy@public.tz.js.cn(同时抄送至 chxj.jy@163.com)。稿件以文本(*.TXT)或WORD(*.DOC)格式存贮发送,邮件中附上作者的详细联系方式和通讯地址。来稿不退,请作者自留底稿。

2.2 请勿一稿两投。编辑部收稿后,10天内发出收稿通知。来稿审阅一般需2个月时间,3个月以上未收到本部的处理意见者,作者可自行改投他刊。

2.3 计量单位一律采用国家法定计量单位。各种符号应符合国家标准(所有的字母和符号必须分清大小写、正斜体、上下角)。

2.4 本刊不发表涉及保密的稿件,涉及者应有单位证明。作者对来稿文责自负。

2.5 稿件要求论点明确、内容充实、条理清楚、术语准确、文字精练、数据可靠、文字、标点使用规范。论文应以第三人称写出,文中不应出现“本文、我们、作者”之类的词语。

2.6 稿中作者不止一位时,请确定一位联系人(姓名右上角加*号),注明地址、邮政编码、电话及E-mail地址。

2.7 基金项目指文章产出的资助背景,项目名称应按国家有关部门规定的正式名称填写;多项基金项目应依次列出,中间用“;”隔开,每个项目后给出编号,用()括起。写在论文首页下方。

2.8 中文题名不应超过20个汉字。并应译成相对应的英文题名,英文题名仅仅第一单词的第一字母大写。

2.9 中国作者的英译名用汉语拼音,姓氏首字母大写;名字首字母大写,双名中间加“-”。不同工作单位的,在姓名的右上角加注阿拉伯数字序号,中间用“,”隔开。所有作者的工作单位,均应包括单位名称(院校给到系),所在省、市名及邮政编码。多作者的工作单位名称之前加与作者姓名序号相同的数字,工作单位的英译文给出全称,不能用缩写词(系名除外)。还应在邮政编码之后加“China”。

2.10 中文摘要为200~300字。摘要的内容应包括目的、方法、结果和结论;综述文章可写指示性摘要。英文摘要应与中文相对应。中文摘要前加“摘要:”;英文摘要前加“Abstract:”。

2.11 关键词:3~8个关键词,中间用“;”隔开。中、英文关键词应一一对应。中文前冠以“关键词:”,英文前冠以“Key words:”。

2.12 文章中的图表及公式

2.12.1 每篇文章的图表一定要有图序、图题、表序、表题,并要有对应的英译文(图释或说明语只标出中文并排在图题之上)。

2.12.2 坐标图四周加方框,纵坐标的标值线在左竖线框内,横坐标在下横线框内。方框的左侧和下侧分别标出该坐标的物理量名称、符号和单位。表格用三线表(只有三条横线,没有竖线)。

2.12.3 公式中的符号第一次出现时,应加注表示的物理意义(物理量符号在式中、图表中、正文中均使用斜体);并应加注单位(单位用正体标出)。

2.13 参考文献

2.13.1 作者,三名以内的,全部列出;超过三名时,只列出三名,中间皆用逗号分开,后面加“等。”。

2.13.2 非正式出版物不宜列入参考文献。“论文集”无出版地,出版者,不可作为参考文献。

2.13.3 参考文献中的作者,应姓在前,名在后,姓后不加逗号,缩写字不加缩写点。

2.13.4 参考文献在正文中标出引用位置。用方括号标在引用词语末的右上方。

2.13.5 参考文献类型及其标识:

2.13.5.1 参考文献类型及其标识:

参考文献类型	专著	论文集	报纸文章	期刊文章	学位论文	报告	标准	专利
文献类型标识	M	C	N	J	D	R	S	P

2.13.5.2 对于专著、论文集的析出文献,其文献类型标识采用单字母“A”;对于其他未说明的文献类型,采用单字母“Z”。

2.13.5.3 对于数据库(database)、计算机程序(computer program)及电子公告(electronic bulletin board)等电子文献类型的参考文献,以下列双字母作为标识:

电子参考文献类型	数据库	计算机程序	电子公告
电子文献类型标识	DB	CP	EB

2.13.5.4 电子文献的载体类型及其标识

对于非纸张型载体的电子文献,当被引用为参考文献时需参考文献类型标识中同时标明其载体类型。请采用双字母表示电子文献载体类型:磁带(magnetic tape)——MT,磁盘(disk)——DK,光盘(CD-ROM)——CD,联机网络(online)——OL,并以下列格式表示包括了文献载体类型的参考文献类型标识:

[文献类型标识/载体类型标识]

如:[DB/OL]——联机上数据库(database online)

[DB/MT]——磁带数据库(database on magnetic tape)

[M/CD]——光盘图书(monograph on CD-ROM)

[J/OL]——网上期刊(serial online)

[EB/OL]——网上电子公告(electronic bulletin board online)

2.13.6 文后参考文献编排格式:(格式中的符号,必须严格使用括号中的符号)

a. 专著、论文集、学位论文、报告

[序号] 作者名(.) 文献题名 {专著([M]); 论文集([C])} (.) 出版地(:) 出版者(,) 出版年(.) 起止页码(.)

[序号] 作者名(.) 文献题名 {学位论文([D]); 报告([R])} (.) 收藏地(:) 收藏者(,) 出版年(.) 起止页码(.)

b. 期刊文章

[序号] 作者名(.) 文章名([J].) 期刊名(,) 年(,) 卷(期)(,) 起止页码(.)

c. 论文集中析出的文献

[序号] 析出文章作者(.) 析出文章名([A].) 原主要责任者(任选)(.) 原文献题名([C].) 出版地(:) 出版者(,) 出版年(.) 析出文献起止页码(.)

d. 报纸文章

[序号] 作者名(.) 文章名([N].) 报纸名(,) 出版日期(版次)(.)

e. 国际、国家标准

[序号] 标准编号(,) 标准名称([S].)

f. 专利

[序号] 专利所有者(.) 专利题名([P].) 专利国别(:) 专利号(,) 出版日期(.)

g. 电子文献

[序号] 作者名(.) 电子文献题名 [电子文献及载体类型标识] (.) 电子文献的出处或可获得的地址(,) 发表或更新日期/引用日期(任选)(.)

本刊地址:江苏省姜堰市八二二信箱(姜堰大道 66 号)

电话:0523-88819706

http://www.jiangfen.com.cn

邮政编码:225500

传 真:0523-88819768

E-mail: chxj.jy@public.tz.js.cn

《化学传感器》编辑部