

基于电纺碳纳米纤维材料的阿托品固态电化学发光传感器

杨秀云^{1,2} 徐春荧^{1,2} 袁柏青¹ 由天艳^{*1}

¹(中国科学院长春应用化学研究所电分析化学国家重点实验室, 长春 130022)

²(长春理工大学化学与环境工程学院, 长春 130021)

摘 要 将电纺碳纳米纤维(CNF)掺杂于吸附有三联吡啶钌[Ru(bpy)₃²⁺]的 Nafion 聚合物膜中,制成固态电化学发光(ECL)传感器,并将其用于对阿托品的检测。实验表明,CNF 的加入能够增强 Ru(bpy)₃²⁺/阿托品体系的电化学和 ECL 信号,且 Ru(bpy)₃²⁺在膜中的电化学反应受扩散控制。在最佳实验条件下,ECL 强度与阿托品浓度在 $1 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-4}$ mol/L 范围内呈良好的线性关系,其线性回归方程为 $\log I = 6.7408 + 0.8148 \log C$ ($n=8$), $r=0.9967$; 检出限为 1×10^{-7} mol/L ($S/N=3$)。考察了此传感器的重现性,对 1×10^{-5} mol/L 阿托品重复检测 7 次,ECL 强度的 RSD 为 2.86%。此传感器的稳定性结果令人满意。将此方法用于尿样中阿托品的检测,回收率在 81%~88% 之间。

关键词 电纺;碳纳米纤维;三联吡啶钌;纳芬(Nafion);电化学发光;阿托品;化学修饰电极

1 引 言

三联吡啶钌[Ru(bpy)₃²⁺]电化学发光(ECL)不论在水相还是在非水溶液中都具有很高的发光效率^[1],且具有灵敏度高、线性范围宽、装置简单以及稳定性好等优点^[2]。因此,它已被作为一种有力的分析工具,用于草酸^[3]、胺类^[4]、氨基酸^[5]、NADH^[6]及 DNA^[7]等的检测。然而,传统的溶液相 Ru(bpy)₃²⁺-ECL 消耗大量昂贵的发光试剂,使其应用受到了限制^[8]。

与溶液相 ECL 相比,将 Ru(bpy)₃²⁺固定到电极表面不仅能减少发光试剂的消耗,还能简化实验设计,实现小型化^[9]。目前,固定 Ru(bpy)₃²⁺的方法主要有:溶胶-凝胶法^[10]、静电吸附法^[11]、层层自组合法^[12]和朗格缪-布拉格(Langmuir-Blodgett)法^[13]等。Nafion 作为一种离子交换剂和膜材料,已被广泛地用于固定 Ru(bpy)₃²⁺。但是,纯 Nafion 膜的结构很致密,且电子在膜中的转移速率相对较慢,这就限制了它在分析方面的应用^[14]。为了解决这个问题,人们已经尝试向 Nafion 膜中掺杂不同的材料,例如,碳纳米管(CNT)^[12]、石墨烯^[15]、硅纳米粒子^[16]、金纳米粒子^[17]、铂纳米粒子^[18]和 TiO₂^[20]等。

碳纳米纤维(CNF)因其独特的催化性能、优良的电导性及化学稳定性^[20],已经被广泛用于锂离子电池^[21]、生物传感器^[22]、催化剂的载体^[23]等方面的研究。但基于 CNF 的 Ru(bpy)₃²⁺ 固态 ECL 传感器的研究还未见文献报道。

本研究将电纺 CNF 掺杂到 Nafion 膜中,并将其修饰到碳糊电极(CPE)表面,然后固定 Ru(bpy)₃²⁺,制成 CNF/Nafion/Ru(bpy)₃²⁺/CPE 固态 ECL 传感器。此固态传感器与 Nafion/Ru(bpy)₃²⁺/CPE 固态 ECL 传感器相比,显示了优越的电化学和 ECL 行为。此传感器还被用于对阿托品的检测,得到了较满意的结果。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

CHI800 循环伏安分析仪(上海辰华仪器公司);ECL 信号用 MIP-A 型毛细管电泳电化学发光检测仪(西安瑞迈电子科技有限公司);酸度计(上海理达仪器厂);采用三电极系统:以 CNF/Nafion/Ru(bpy)₃²⁺/CPE 或 Nafion/Ru(bpy)₃²⁺/CPE 为工作电极,铂丝为对电极,Ag/AgCl(饱和 KCl)为参比电极。

2010-08-25 收稿;2010-11-10 接受

本文系国家自然科学基金(No. 20875085)和中科院知识创新工程重要方向性项目(No. KJCX2-YW-H11)资助

* E-mail: youty@ciac.jl.cn

三联吡啶钌 $[\text{Ru}(\text{bpy})_3 \cdot \text{Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ (Aldrich 公司);阿托品硫酸盐(天津一方科技有限公司);5% Nafion、石墨粉(Fluka 公司);液体石蜡(北京化工厂);电纺碳纳米纤维(Φ : 200~400 nm;长几十微米,江西师范大学);磷酸盐缓冲溶液(PBS)。所有试剂均为分析纯。实验用水为二次去离子水,并储存于 4 °C 的冰箱中。

2.2 固态 ECL 传感器的制备

取石墨粉与液体石蜡以质量比 7:3 均匀混合在研钵中,然后填入到 $\Phi 500 \mu\text{m}$ 的吸液管中(高度为 1 cm),插入铜丝充当导线。将制备好的碳糊电极在称量纸上打磨光滑,然后用水冲洗干净。称取 1.0 mg CNF 置于 5 mL 烧杯中,加入 2 mL 水,充分搅拌,直至得到黑色悬浮液为止。将 5% Nafion 与无水乙醇(1:24, V/V)混合,得到 0.2% Nafion 溶液。将水、CNF 悬浮液和 0.2% Nafion 以不同的比例混合(总体积不变),并取适量混合液修饰到碳糊电极表面,于室温下干燥,得到 CNF/Nafion/CPE。将此修饰电极浸入到盛有 1.0 mmol/L $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 溶液的烧杯中放置 1 h,取出后再用水将电极冲洗干净,得到 CNF/Nafion/ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ /CPE 固态 ECL 传感器。按照相同的方法,制备了 Nafion/ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ /CPE 固态 ECL 传感器,作为对比。所有的电极都在室温条件下保存,待用。

2.3 实验方法

以 0.1 mol/L PBS 为支持电解质,用循环伏安(CV)方法考察阿托品在 CNF/Nafion/ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ /CPE 及 Nafion/ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ /CPE 上的电化学行为,同时用 MIP-A 型毛细管电泳电化学发光检测仪记录 ECL 信号。

3 结果与讨论

3.1 电化学和 ECL 行为研究

通过静电作用,带有正电荷的 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 很容易吸附到修饰有 Nafion 膜的电极表面。所有信号都在电极达到稳定状态后记录。从图 1 可见,在 1.05~1.20 V 之间,Nafion/ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ /CPE 上出现一对氧化-还原峰,这是 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 的特征氧化-还原峰,其 $i_{\text{pa}1} = 0.4739 \mu\text{A}$, $i_{\text{pc}1} = 0.3213 \mu\text{A}$ 。而在相应的 ECL 曲线(曲线 1')上,却未观察到 ECL 信号。这是因为电极表面积非常小(500 μm^2),吸附到 Nafion 膜中的 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 的量也很少,因此观察不到 ECL 信号的产生。而在修饰了 CNF 后,CNF/Nafion/ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ /CPE 上所产生的 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 的氧化峰和还原峰的峰电流都增大,其 $i_{\text{pa}3} = 3.279 \mu\text{A}$, $i_{\text{pc}3} = 1.995 \mu\text{A}$ (曲线 3),且 $i_{\text{pa}3}/i_{\text{pa}1} \approx 7$,而且在相对应的 ECL 曲线上,观察到一个小的 ECL 信号($I_3' = 20 \text{ a.u.}$,曲线 3')。这说明,CNF 的加入显著提高了 Nafion 膜中电子的转移速率。当向缓冲溶液中加入阿托品后,由于阿托品发生了催化氧化,氧化峰电流明显增加,而还原峰电流下降,CNF/Nafion/ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ /CPE(曲线 4)的氧化峰电流为 $i_{\text{pa}4} = 4.583 \mu\text{A}$,Nafion/ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ /CPE(曲线 2)氧化峰电流为 $i_{\text{pa}2} = 0.4896 \mu\text{A}$,且 $i_{\text{pa}4}/i_{\text{pa}2} \approx 9$ 。从相对应的 ECL 曲线上可见,在 CNF/Nafion/ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ /CPE(曲线 4')上的 ECL 信号($I_4' = 2600 \text{ a.u.}$)是 Nafion/ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ /CPE(曲线 2')上 ECL 信号($I_2' = 500 \text{ a.u.}$)的 5 倍。这说明 CNF 的加入能够加快 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 与阿托品之间的 ECL 反应速率。

图 2 是 CNF/Nafion/ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ /CPE 在 0.1 mol/L PBS 中,不同扫速下的循环伏安曲线。在扫速范围为 0.08~0.3 V/s 时,氧化峰电流与扫速的平方根成正比,其线性回归方程 $y = 7.4377 + 31.0297 v^{1/2}$ ($n=6$), $r=0.9984$,说明膜中静电吸附的 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 在电极表面的电化学反应受扩散控制。在纯 Nafion 膜^[20]、

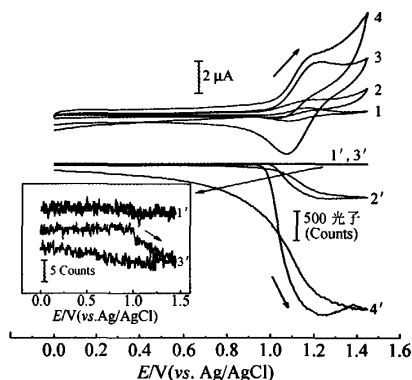


图 1 不同电极的循环伏安及相应的 ECL 曲线

Fig.1 CVs and corresponding ECL-potential curves at different electrodes

1. Nafion/ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ /CPE+0.1 mol/L PBS; 2. 1+1.0 mmol/L 阿托品; 3. CNF/Nafion/ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ /CPE+0.1 mol/L PBS; 4. 3+1.0 mmol/L 阿托品的 CV 曲线。(1', 2', 3', 4' 与 1, 2, 3, 4 相对应的 ECL 曲线)。CVs and corresponding ECL-potential curves of a Nafion/ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ /CPE (1, 2, 1', 2') and a carbon nanofibers (CNF)/Nafion/ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ /CPE (3, 4, 3', 4') in absence (1, 3, 1', 3') and presence (2, 4, 2', 4') of 1.0 mmol/L atropine in 0.1 mol/L PBS. 1.0 mmol/L 阿托品 (Atropine), 0.1 mol/L PBS (pH = 8.0); v : 0.1 V/s; 光电倍增管 (Photoelectric multiplier (PMT)): 600 V.

CNT/Nafion 聚合膜^[14]、PSS/Nafion 聚合膜^[25]以及 Graphene/Nafion 聚合膜^[15]中,也观察到了类似的现象。

3.2 CNFs 含量的影响

在含有 1.0 mmol/L 阿托品的 PBS(pH 8.0)中,考察了 Nafion 膜中 CNF 的含量对传感器 ECL 强度的影响,如图 3 所示。实验中,溶液的总体积为 10.0 μL ,固定 Nafion 的体积(2.0 μL),改变 CNF 用量。从图 3 可见,随 CNF 含量的增加,ECL 强度增大;当 CNF 含量 >0.2 g/L 时,ECL 强度出现了下降趋势。本研究选择膜中 CNF 的最佳含量为 0.2 g/L。

3.3 CPE 表面修饰溶液的体积的影响

考察了滴在 CPE 表面上的 CNF/Nafion 修饰溶液的体积对传感器 ECL 强度的影响(图 4)。从图 4 可见,当修饰液体积 <3.0 μL 时,ECL 强度随着体积的增加而逐渐增强;修饰液体积 >3.0 μL 时,ECL 强度逐渐下降。本研究选择滴在 CPE 上的修饰液体积为 3.0 μL 。

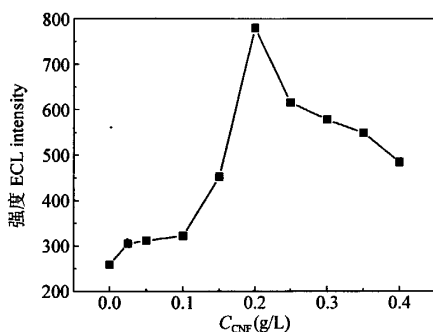


图 3 CNF 含量对传感器 ECL 强度的影响

Fig.3 Effect of CNF amount in composite films on ECL intensity

其它条件同图 1(Other conditions are the same as in Fig.1)。

3.4 pH 值的影响

图 5 是修饰电极在含有 0.2 mmol/L 阿托品的 PBS 中,pH 值从 5.0~10.0 变化时对 ECL 强度的影响。在 pH=5.0~8.0 时,ECL 强度随 pH 值增高而增大;当 pH=8.0~10.0,ECL 强度反而降低。这说明 ECL 强度与阿托品的质子化程度有关。在低 pH 值时,阿托品容易发生质子化,因此不利于 ECL 反应的发生,产生很低的 ECL 强度;而当 pH >8.0 时,溶液中的 OH^- 的浓度增大,导致 OH^- 和 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$ 的副反应产生,从而使得阿托品的 ECL 强度降低^[15]。因此,缓冲溶液的 pH 值选择 8.0。

3.5 线性范围、检出限和重现性

在最优化条件下,将该传感器用于对阿托品的 ECL 检测。结果表明,ECL 强度与阿托品浓度在

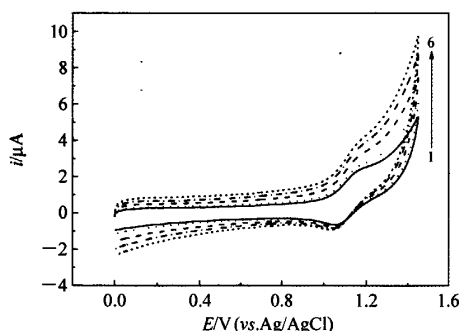


图 2 扫速变化对氧化峰电流的影响

Fig.2 Effect of scan rates on i_p

v : (1) 0.08; (2) 0.1; (3) 0.15; (4) 0.2; (5) 0.25 and (6) 0.3 V/s. CNF/Nafion/ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ /CPE; 0.1 mol/L PBS (pH=8.0)。

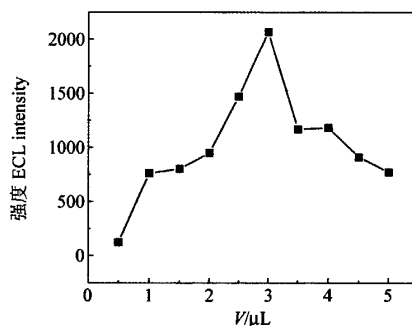


图 4 电极表面修饰溶液的体积对传感器 ECL 强度的影响

Fig.4 Effect of volume of CNF/nafion composite solution dropped on electrode on ECL intensity

其它条件同图 1(Other conditions are the same as in Fig.1)。

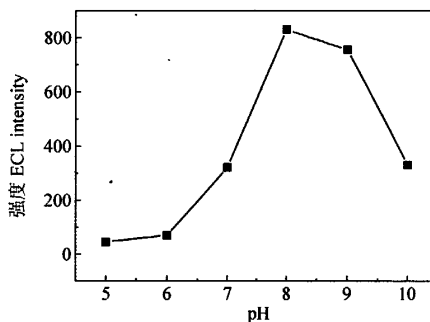


图 5 pH 值对传感器 ECL 强度的影响

Fig.5 Effect of pH on ECL intensity

0.2 mmol/L 阿托品 (Atropine), 其它条件同图 1(Other conditions are the same as in Fig.1)。

$1 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-4}$ mol/L 范围内呈良好的线性关系, 其线性回归方程为 $\log I = 6.7408 + 0.8148 \log C$ ($n=8$), $r=0.9967$, 检出限为 1×10^{-7} mol/L ($S/N=3$)。可见, 利用 CNF/Nafion/Ru(bpy)₃²⁺/CPE 固态 ECL 传感器得到的检出限比较低。另外, 本 ECL 传感器还具有较宽的线性范围。

对 1×10^{-5} mol/L 阿托品重复检测 7 次, ECL 强度的 RSD 为 2.9%, 表明这种固态 ECL 传感器具有较好的稳定性。考察了固定在 CNF/Nafion 复合膜中吡啶钉在 1 星期内的稳定性。在此期间, 修饰电极在室温条件下以干燥状态保存, 对 1×10^{-5} mol/L 阿托品的电化学发光响应是原来电化学发光信号的 84%, 结果令人满意。

3.6 尿样检测

将此 ECL 传感器用于尿样中阿托品的检测。尿样取自一名健康女性。采用 $0.22 \mu\text{m}$ 纤维树脂膜过滤尿样, 用 pH 8.0 的 PBS 稀释 50 倍, 降低样品中离子强度的影响; 加入不同浓度的阿托品标准溶液进行标准加入实验。图 6 是含有不同浓度阿托品尿样的 ECL 信号, 其分析结果见表 1。实验表明: 此传感器不受尿样中复杂成分的干扰, 可用于尿样中阿托品的检测。

表 1 尿样中阿托品测定结果

Table 1 Determination results of atropine in urine

样品编号 Samples	加入量 Added ($\mu\text{mol/L}$)	测定值 Found ($\mu\text{mol/L}$)	RSD (%, $n=5$)	回收率 Recovery (%)
2	5	4.04	4.6	81.0
3	40	35.05	2.1	87.6

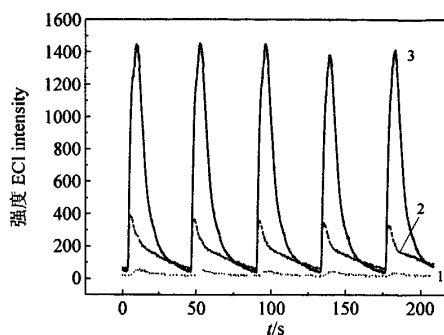


图 6 ECL 传感器对尿样中阿托品的检测

Fig.6 ECL curves for determination of atropine in urine

(1): 空白尿样; (2): 含 5×10^{-6} mol/L 阿托品的尿样; (3): 含 4×10^{-5} mol/L 阿托品的尿样。(1): Blank urine; (2): 5×10^{-6} mol/L atropine spiked in urine (1); (3): 4×10^{-5} mol/L atropine spiked in urine (1).

References

- Vinyard D J, Richter M M. *Anal. Chem.*, **2007**, 79(16): 6404~6409
- Liu X Q, Shi L H, Niu W X, Li H J, Xu G B. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, 46(3): 421~424
- Choi H N, Cho S H, Lee W Y. *Anal. Chem.*, **2003**, 75(16): 4250~4256
- Noffsinger J B, Danielson N D. *Anal. Chem.*, **1987**, 59(6): 865~868
- Brune S N, Bobbitt D R. *Anal. Chem.*, **1992**, 64(2): 166~170
- Lee W Y, Nieman T A. *Anal. Chem.*, **1995**, 67(11): 1789~1796
- Dennany L, Forster R J, Rusling J F. *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125(17): 5213~5218
- Xing B, Yin X B. *Biosens. Bioelectron.*, **2009**, 24(9): 2939~2942
- LI Hai-Juan, HAN Shuang, HU Lian-Zhe, XU Guo-Bao(李海娟, 韩双, 胡连哲, 徐国宝). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2009**, 37(11): 1557~1565
- Wang H Y, Xu G B, Dong S J. *Electroanalysis*, **2002**, 14(12): 853~857
- Wei H, Du Y, Kang J, Wang E K. *Electrochem. Commun.*, **2007**, 9(7): 1474~1479
- Guo Z H, Shen Y, Wang M K, Zhao F, Dong S J. *Anal. Chem.*, **2004**, 76(1): 184~191
- Zhang X, Bard A J. *J. Phys. Chem.*, **1988**, 92(20): 5566~5569
- Guo Z H, Dong S J. *Anal. Chem.*, **2004**, 76(10): 2683~2688
- Li H J, Chen J A, Han S, Niu W X, Liu X Q, Xu G B. *Talanta*, **2009**, 79(2): 165~170
- Bae Y, Lee D C, Rhogojina E V, Jurbergs D C, Korgel B A, Bard A J. *Nanotechnology*, **2006**, 17(15): 3791~3797
- Li J, Huang M H, Liu X Q, Wei H, Xu Y H, Xu G B, Wang E K. *Analyst*, **2007**, 132(7): 687~691
- Du Y, Qi B, Yang X R, Wang E K. *J. Phys. Chem. B*, **2006**, 110(43): 21662~21666
- Choi H N, Lee J Y, Lyu Y K, Lee W Y. *Anal. Chim. Acta*, **2006**, 565(1): 48~55
- Hao C, Ding L, Zhang X J, Ju H X. *Anal. Chem.*, **2007**, 79(12): 4442~4447

- 21 Ji L W, Yao Y F, Toprakci O, Lin Z, Liang Y Z, Shi Q, Medford A J, Millns C R, Zhang X W. *J. Power Sources*, **2010**, 195(7): 2050~2056
- 22 Huang J S, Liu Y, You T Y. *Anal. Methods*, **2010**, 2(3): 202~211
- 23 van der Lee M K, van Dillen A J, Bitter J H, de Jong K P. *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127(39): 13573~13582
- 24 Downey T M, Nieman T A. *Anal. Chem.*, **1992**, 64(3): 261~268
- 25 Zhang L B, Li J, Xu Y H, Zhai Y M, Li Y H, Wang E K. *Talanta*, **2009**, 79(2): 454~459

A Novel Electrochemiluminescence Sensor Based on Tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(III) Immobilized in Nafion/Electrospun Carbon Nanofibers Composite Films

YANG Xiu-Yun^{1,2}, XU Chun-Ying^{1,2}, YUAN Bai-Qing¹, YOU Tian-Yan^{*1}

¹(State Key Laboratory of Electroanalytical Chemistry, Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022)

²(School of Chemistry and Environmental Engineering, Changchun University of Science and Technology, Changchun 130021)

Abstract A novel electrochemiluminescence (ECL) sensor based on tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(III) ($\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$)/electrospun carbon nanofiber (CNF)/Nafion composite films was demonstrated for the determination of atropine. The voltammetric and ECL behaviors of the presented sensor were investigated. The results indicated that the addition of CNF in the composite films could increase the current and ECL intensity of $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$, and the immobilized $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ performed a diffusion-controlled process. Under the optimal experimental conditions, the proposed ECL sensor gave a wide linear range ($r=0.9967$) from 1×10^{-7} mol/L to 1×10^{-4} mol/L with a detection limit ($S/N=3$) of 1×10^{-7} mol/L for atropine. The relative standard deviation for 1×10^{-5} mol/L atropine is 2.9% ($n=7$), and the present ECL sensor displays outstanding stability. The ECL sensor was also demonstrated for the determination of atropine in human urine sample and satisfactory results were obtained.

Keywords Electrochemiluminescence; Tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(III); Carbon nanofiber; Nafion; Atropine; Modified electrode

(Received 25 August 2010; accepted 10 November 2010)

《工厂化验员速查手册》(第二版)

该手册简明扼要地汇集了工矿企业中化学分析常用有关检测技术图表资料及基本知识。全手册分为十二章:常用玻璃仪器及其他器皿和用品,天平,计量单位与常用理化数据,常见化学物质的物理、化学特性,水、试剂及溶液,标准、检测标准、标准物质和标准样品,取样规则和样品的分解,化学分析方法,分离和富集,误差、数据处理和常用计算公式,仪器分析方法,化验室安全知识。该手册深受工厂化验室及有关的技术人员和化验员欢迎。新版又有新的补充与修订。

该书(ISBN 978-7-122-06758-6)由化学工业出版社出版,李启华、余锦、宋祥江、陈毅芳 编著,定价 38.0 元。