

文章编号:1006-3471(2003)02-0203-08

荧光特性双层自组装膜电极及电化学性能研究

孙向英^{*1,2}, 刘斌¹, 江云宝²

(1. 华侨大学材料科学与工程学院, 福建 泉州 362011; 2. 厦门大学化学系, 福建 厦门 361005)

摘要: 以半胱氨酸为中介, 利用荧光试剂 1-萘胺二乙酸钠(NADA)和 DL-半胱氨酸(Cys)的静电吸引作用, 将荧光试剂 NADA 间接组装在金电极表面, 形成自组装双层膜电极 NADA/Cys/Au, 该双层膜电极对金属离子具有荧光识别和电化学传感功能. 本文着重研究了双层膜电极 NADA/Cys/Au 的电化学性能, 并将其用于超痕量铜离子和镍离子的电化学分析连续测定.

关键词: 荧光试剂; 自组装; 电化学

中图分类号: O 646

文献标识码: A

自组装膜(SAMs)是构膜分子通过分子间及其与基体材料间的物理化学作用而自发形成的一种热力学稳定, 排列规则的单(或多)层分子膜, 该单层膜具有均匀一致, 高密堆积和低缺陷等特性; 并可按预先设计, 通过精确的化学控制, 获得赋有超分子结构的特定功能及界面性质, 这为研究表面及界面现象提供了理想方法且在材料防腐等方面有潜在的应用前景. 由于SAMs结合了LB膜的分子有序性和化学吸附的稳定性, 再加上其本身的一些特性(如针孔现象, 离子门作用等)使其作为传感膜而具有独特的优势. 另外, SAMs还因其纳米级结构而可作为光电装置的元件, 且可制作成阵列传感器. 正因为如此显著的特点以及广泛的应用前景, SAMs已成为化学工作者研究的热点之一^[1~5]. 目前, 自组装作为传感器的应用主要用于电分析传感^[6~8], 但在荧光传感领域的应用却鲜见报道.

基于氨基酸对金属离子具有强的络合作用, 我们将羧酸基团引入到荧光体 1-萘胺分子中而合成了荧光试剂 1-萘胺二乙酸钠(1-NADA), 并以半胱氨酸为中介, 将 NADA 通过与半胱氨酸的静电作用间接组装到金电极表面, 避免了荧光体与金属电极直接接触而导致的荧光猝灭, 构筑一新型可再生式光电传感和超分子识别体系. 该体系对金属离子不仅能产生荧光传感, 还可用于电化学传感识别. 本文着重对自组装双层膜电极 NADA/Cys/Au 的电化学性能进行研究, 并将其用于超痕量铜离子和镍离子的电分析测定. 实验结果表明, 电极组装双层膜后, 测定金属离子的灵敏度大大提高. 此研究成果为制备新型光电传感器提供了一条捷径.

收稿日期:2002-11-21

* 通讯联系人, TEL:(86-595)2693548, 2691192 E-mail:liumy@hqu.edu.cn

国家自然科学基金(20175020), 德国 Volkswagen 基金(I 77/072)资助

1 实验部分

1.1 仪器

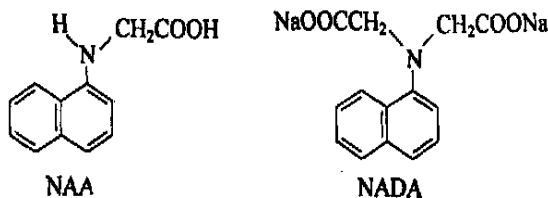
电化学综合分析仪 BAS-100B(美国 BAS), 荧光分光光度计 F-4500(日本 Hitachi), Milli-Q 基础型(美国 Millipore 公司)纯化水系统.

1.2 试剂

1) 1-萘胺二乙酸钠(NADA)的合成: 适量 1-萘胺与氯乙酸加热回流 1 h 后, 有紫色结晶析出, 用 6 mol/L NaOH 溶解晶体, 过滤, 滤液用活性炭脱色, 再用无水乙醚萃取 3 次, 水层用 1:1 稀盐酸调至 pH=5 左右, 得大量沉淀, 用无水乙醚洗涤沉淀, 并用 95% 乙醇重结晶 3 次, 即得产物 1-萘胺乙酸(NAA)^[9], 用红外光谱和核磁共振进行表征. ¹HNMR 数据如下: (500 Hz) (DMSO) (1×10^{-6} (ppm)): 12.50 (COOH-H), 8.122 - 8.106 (1H, d), 7.779 - 7.762 (1H, d), 7.449 - 7.421 (2H, m), 7.279 - 7.248 (1H, t), 7.146 - 7.130 (1H, d), 6.352 - 6.337 (1H, d), 3.979 (2H, s), 3.348 (s, N-H).

将上述合成的 NAA 再与过量氯乙酸的氢氧化钠溶液回流, 回流过程中不断补充 30% NaOH 溶液以保持反应液 pH=9. 待 NAA 反应完全后, 将反应液用活性炭脱色, 用 1:1 稀盐酸酸化至 pH=2, 得到粘稠状物质, 再加入乙醇钠溶液, 析出肉色沉淀, 纯化干燥, 即为 1-萘胺二乙酸钠. 用红外光谱和核磁共振进行表征. ¹HNMR 数据为: (500 Hz) (D₂O): 8.259 - 8.244 (1H, d), 7.918 - 7.902 (1H, d), 7.573 - 7.535 (3H, m), 7.439 - 7.423 (1H, t), 7.081 - 7.067 (1H, d), 3.896 (4H, s).

NAA 及 NADA 结构式如下列所示:



2) DL-半胱氨酸(上海朝阳中学化工厂), 其余试剂均为分析纯. 所用水为 Mill-Q 高纯水.

1.3 自组装膜电极的制备

1) 半胱氨酸/金电极(Cys/Au)的制备

将金电极依次用 1.0 μm , 0.3 μm , 0.05 μm Al₂O₃ 粉末抛光成镜面, 经超声波清洗后, 于 1 mol/L H₂SO₄ 溶液中循环伏安扫描至稳定, 二次水冲洗后, 在含有 0.1 mol/L DL-半胱氨酸的磷酸盐缓冲液(pH=5.7)中浸泡 3h, 取出后再用二次水冲洗以除去电极周围吸附物, 氮气吹干即得 Cys/Au 电极.

2) NADA/Cys/Au 电极的制备

将上述制得的 Cys/Au 电极置于 0.5 mol/L HCl 中浸泡 10 min 以酸化, 经酸化处理过的电极用高纯水冲洗后, 在 pH=5~6 的 0.01 mol/L NADA 中浸泡 1 h, 二次水冲洗, 氮气吹干, 该双层膜电极即组装完毕, 避光保存. 实验证明, 经多次重复交替浸泡所得到的多层膜并不稳

定,以双层膜效果最好.

3) 组装电极的电化学和荧光光谱测定

所有电化学实验均在 BAS-100B 电化学综合仪上进行. 采用三电极体系, 自组装膜电极或裸金电极为工作电极, 铂电极为对电极, Ag/AgCl 为参比电极(文中所标电位均相对此电极而言).

荧光光谱测定: 将自组装电极固定在比色皿中, 调整角度使之与 F-4500 荧光分光光度计的激发入射光成 50° 左右, 以保证最大发射, 最小干扰. $\lambda_{ex} = 320 \text{ nm}$, 激发和发射狭缝均为 5 nm.

2 实验结果与讨论

2.1 半胱氨酸在金电极上自组装的电化学表征

分别以 Cys/Au 和裸 Au 为工作电极, 在 0.05 mol/L NaB₄O₇-NaOH-CH₃CHO 底液中进行循环伏安扫描, 结果如图 1 所示.

图中在 0.63 V 附近两种电极均显示出金的还原峰, 但在 +0.93 V 附近, Cys/Au 电极则出现一不可逆氧化峰, 而且该峰随同一底液中半胱氨酸浓度的增加而增高(图 2). 作者认为, 此峰乃是半胱氨酸分子中硫的不可逆氧化峰. 据文献[10], 金电极浸泡在半胱氨酸中发生如下吸附作用:



其中 R 代表氨基酸功能团. 吸附在金电极上的半胱氨酸于正电位的作用下, 发生如式(2)的反应, 从而在 CV 图中出现 +0.93 V 附近的氧化峰. 图 1 和图 2 表明, 半胱氨酸已牢固组装在 Au 电极表面.

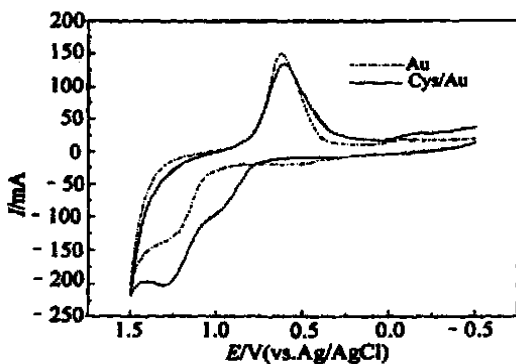


图 1 自组装膜电极(Cys/Au)和裸金 Au 电极在硼砂底液中的循环伏安图

Fig. 1 Cyclic voltammograms of self-assembled membrane electrode(Cys/Au) and bare Au electrode in 0.05 mol/L NaB₄O₇-NaOH-CH₃CHO solution

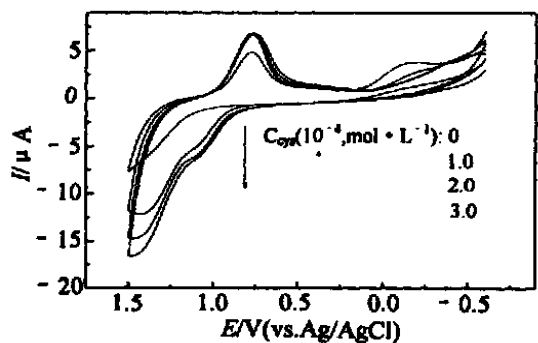


图 2 不同浓度 DL-半胱氨酸在硼砂底液中的循环伏安图

Fig. 2 Cyclic voltammograms for different concentration of DL-Cysteine on bare Au in 0.05 mol/L NaB₄O₇-NaOH-CH₃CHO solution

将同一电极分别浸泡在 0.1, 0.05, 0.01 和 0.001 mol/L 的 DL-半胱氨酸中, 然后于硼砂底液中进行循环伏安扫描, 发现浸泡 0.01 mol/L 的 DL-半胱氨酸的组装电极效果最好, 浸泡时间选择为 3 h.

进一步实验表明, 在同一 DL-半胱氨酸浓度的溶液中 pH 值对电极修饰效果具有很大影响. 当 pH 为 5~6, 组装效果最好, 这与文献[11]的报道是一致的. pH = 5.7 时, DL-半胱氨酸分子以 $\text{-SCH}_2\text{CHNH}_3^+ \text{COOH}$ 状态出现, 有利于组装. 因此, 本文选择 pH = 5.7 的 DL-半胱氨酸溶液进行组装.

据文献[12], 组装物质 DL-半胱氨酸在电极表面的覆盖度可据下列公式计算:

$$= 4RT_i / \nu n^2 F^2$$

其中 $R = 8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$, $F = 96485 \text{ C mol}^{-1}$, T 为温度 (K), ν 为扫描速率 (mV/s), n 为电子转移数, i_p 是氧化峰电流 (A), 依上式, 由本文制备的组装电极其半胱氨酸在电极表面的覆盖度为 $3.1 \times 10^{-14} \text{ mol cm}^{-2}$.

2.2 NADA/Cys/Au 双层膜电极的循环伏安特性

基于静电吸附的交替沉积技术是组装多层膜常用的一种方法^[11]. 将 Cys/Au 电极在 0.5 mol/L HCl 中酸化 10 min, 然后浸泡到 0.01 mol/L, pH = 5~6 的 NADA 溶液中 1 h, 这样基于半胱氨酸和 NADA 之间的静电作用便形成了双层膜电极 NADA/Cys/Au. 图 3 是以 NADA/Cys/Au 和 Cys/Au 分别作为工作电极时, 在 0.0005 mol/L KNO_3 溶液中所获得的循环伏安图. 如图可见, 上述 2 种电极在 +0.63 V 附近均有金离子的还原峰存在, 但与 Cys/Au 电极不同的是, NADA/Cys/Au 电极在 0.37 V 左右还出现一新氧化峰, 而且, 该峰峰电流随着溶液中 NADA 浓度的增加而增高 (图 4), 说明此处 (0.37 V) 出现的氧化峰乃系 NADA 的氧化峰. 图 3 和图 4 结果同时表明, 在 Cys/Au 电极上, 已经组装了 NADA.

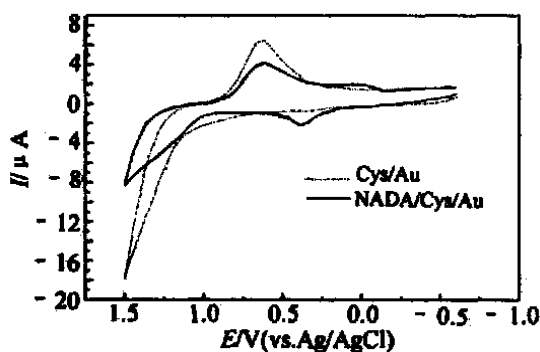


图 3 在 0.0005 mol/L KNO_3 溶液中 Cys/Au 和 NADA/Cys/Au 电极的循环伏安图

Fig. 3 Cyclic voltammograms of Cys/Au and NADA/Cys/Au electrode in 0.0005 mol/L KNO_3 solution

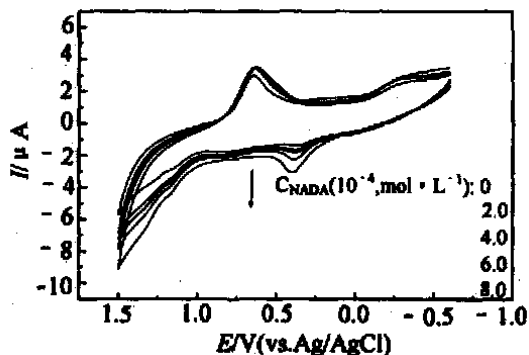


图 4 不同浓度 NADA 在 0.0005 mol/L KNO_3 溶液中的循环伏安图

Fig. 4 Cyclic voltammograms for different concentration NADA on bare Au electrode in 0.0005 mol/L KNO_3 solution

2.3 NADA/ Cys/ Au 电极的荧光光谱

将裸 Au, Cys/ Au 和 NADA/ Cys/ Au 电极分别置于荧光池中, 按上述 (1. 3-3) 方法测定其荧光光谱. 图 5 示出, 对裸 Au 和 Cys/ Au 电极, 均不出现荧光峰, 只有含荧光试剂 (NADA) 的 NADA/ Cys/ Au 电极, 才于 400 nm 左右显示出荧光峰. 这进一步证实: NADA 已经组装到 Cys/ Au 电极上, NADA/ Cys/ Au 组装电极的荧光峰较 NADA 水溶液的荧光峰蓝移, 此可能与 NADA 所处的环境不同, 因而分子间作用力不同所致.

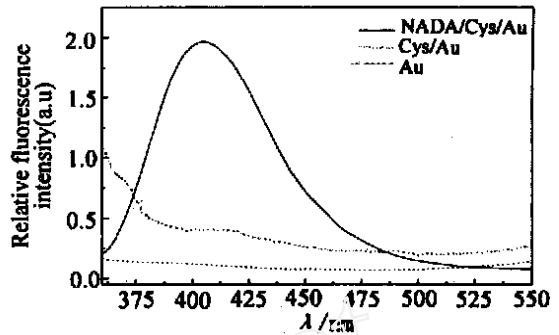


图 5 Au, Cys/ Au, NADA/ Cys/ Au 电极的荧光光谱
Fig. 5 The fluorescence spectra of bare Au, Cys/ Au, NADA/ Cys/ Au electrode

2.4 NADA/ Cys/ Au 自组装条件

1) NADA 浓度

分子的自组装是分子的有序排列, 若组装物质浓度太高, 会使电极上的组装物质排序杂乱无章而影响组装效果; 若浓度太低, 则对上述 NADA/ Cys/ Au 电极而言, 其荧光强度不高, 经实验以 0.01 mol/L NADA 最为合适.

2) 组装时溶液 pH

组装 NADA 的依据是 NADA 与 Cys 间的静电作用, 因此, 必须通过控制 pH 值来调节 DANA 的存在形式, 以期能较好地组装双层膜电极. 本文比较了在不同 pH 值下的修饰效果, 从最终测定的荧光光谱观察, 当以 pH 值为 5~6 的 NADA 溶液组装效果最好.

3) 浸泡时间

将 Cys/ Au 浸泡在 NADA 溶液中若时间过长会导致电极表面的吸附量过大, 使膜不够均匀, 牢固, 经选择, 在 0.1 mol/L NADA 溶液中浸泡 60 min 组装电极效果佳且耗时短.

2.5 金属离子在 NADA/ Cys/ Au 组装电极上的特性

前期研究表明, NADA 对过渡金属离子有很好的络合能力, 因此, 上述组装电极可用于过渡金属离子的荧光传感器和电化学识别测定, 本文采用方波伏安法 (OSWV) 试验金属离子在组装电极上的电化学性能, 方波振幅为 25 mV, 方波频率为 14 Hz, 扫描速率为 4 mV/s.

1) Ni^{2+} 在组装电极的吸附

将组装电极 NADA/ Cys/ Au 在 10×10^{-12} g/mL 的 Ni^{2+} 溶液中开路富集, 然后于不含 Ni^{2+} 的 0.001 mol/L 硝酸钾溶液进行 OSWV 测定. 即如图 6 所示, 随着富集时间的延长, Ni^{2+} 溶出峰电流增大, 但如富集时间超过 20 min, 则电极表面的 Ni^{2+} 已达饱和, 本实验选择富集时间为 10 min, 由于溶液的 pH 值对富集过程起着重要的作用, 经筛选将电极浸泡在 pH 为 6 左右的磷酸盐缓冲液中灵敏度最高. 将 NADA/ Cys/ Au 和裸金 Au 电极分别在 10×10^{-12} g/mL 的 Ni^{2+} 溶液 (pH=6) 中浸泡 10 min 后, 在不含 Ni^{2+} 的 0.001 mol/L 硝酸钾溶液进行方波伏安扫描, 结果如图 7 所示, 两相比较, 该组装电极对 Ni^{2+} 测定的灵敏度显然大大提高 (见图 7 中实线).

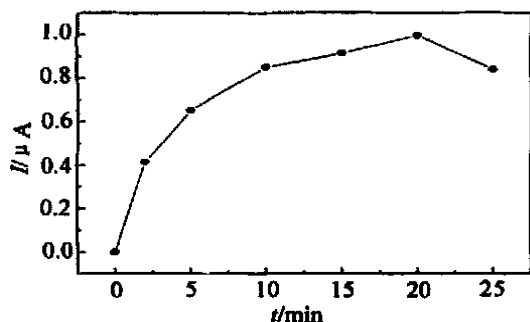


图 6 富集时间对 Ni^{2+} OSWV 溶出峰电流的影响
Fig. 6 Effect of preconcentration time on the OSWV current of Ni^{2+}

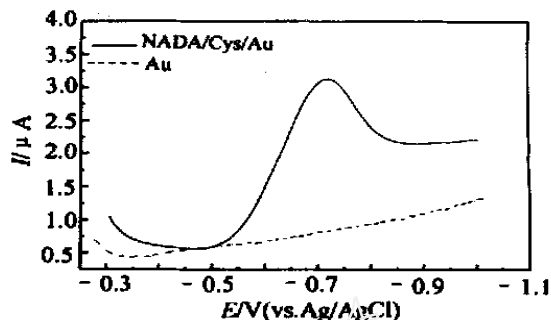


图 7 NADA/Cys/Au 和裸 Au 电极浸泡 10×10^{-12} g/mL Ni^{2+} 后的方波伏安曲线
Fig. 7 OWSA curves for NADA/Cys/Au and bare Au electrode respectively. The electrodes were performed by immersion them into 10×10^{-12} g/mL Ni^{2+} solution for 10 min

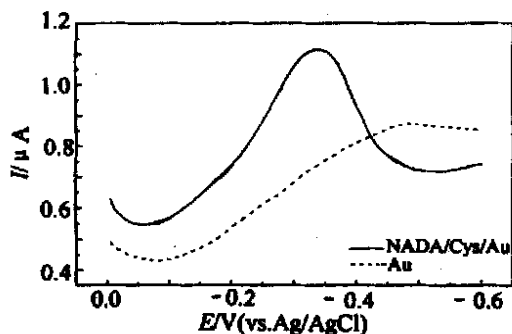


图 8 NADA/Cys/Au 和裸 Au 电极浸泡 1×10^{-12} g/mL Cu^{2+} 后的方波伏安曲线
Fig. 8 OWSA curves for the NADA/Cys/Au and bare Au electrode. The electrodes were performed by immersion them into 1.0×10^{-12} g/mL Cu^{2+} solution for 10 min

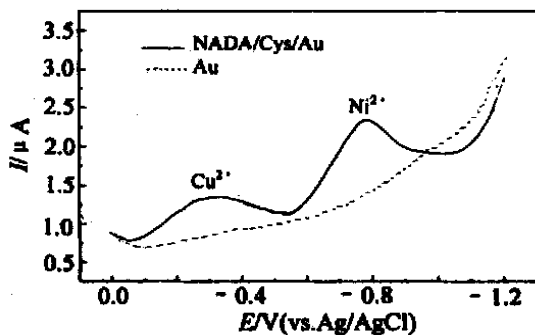


图 9 NADA/Cys/Au 和裸 Au 电极在浸泡 10×10^{-12} g/mL Ni^{2+} 和 1×10^{-12} g/mL Cu^{2+} 后的方波伏安曲线
Fig. 9 OWSA curves for the NADA/Cys/Au and bare Au electrode. The electrodes were performed by immersion them into 1.0×10^{-12} g/mL Cu^{2+} , 10×10^{-12} g/mL Ni^{2+} solution for 10 min

2) Cu^{2+} 在组装电极的吸附

NADA 对铜离子具有更强的络合能力,所以组装电极 NADA/Cys/Au 对 Cu^{2+} 具有更高测定的灵敏度,可测定低至 1×10^{-12} g/mL 的铜离子,图 8 是 NADA/Cys/Au 和裸金 Au 电极分别在含有 1×10^{-12} g/mL 的 Cu^{2+} 溶液中浸泡 10 min 后,在不含 Cu^{2+} 的 $0.0005 \text{ mol/L KNO}_3$ 的方波伏安曲线.图 8 示出,在 -0.32 V 附近出现一铜离子的还原峰,该还原峰与 Ni^{2+} 的还原

峰相差近 0.4 V,彼此不干扰测定.因而,可用于痕量 Cu^{2+} 和 Ni^{2+} 的分别测定和连续测定.如图所见,伏安曲线上两电流峰相隔甚远,此一结果同时说明该自组装膜修饰电极在痕量金属离子的测定方面具有广阔的应用前景.图 9 是 NADA/Cys/Au 电极是在含有 1×10^{-12} g/mL Cu^{2+} , 10×10^{-12} g/mL Ni^{2+} 溶液中浸泡 10 min 于在不含 Cu^{2+} 和 Ni^{2+} 的 0.0005 mol/L KNO_3 溶液中的方波伏安曲线.

2.6 NADA/Cys/Au 吸附 Cu^{2+} 的扫描电镜 SEM 实验

扫描电镜分析发现,如将 NADA/Cys/Au 电极浸泡在含有 Cu^{2+} 的溶液之后,则与浸泡前相比,前者于电镜图(图 10a, b)上出现方状晶体,这应该是铜离子与 NADA 作用所致.作者的前期研究已经得出,NADA 和 Cu^{2+} 溶液发生络合能生成翠绿色方状晶体.而据本文的 SEM 图谱可进一步说明 Cu^{2+} 与组装电极发生作用而被富集到组装电极上.

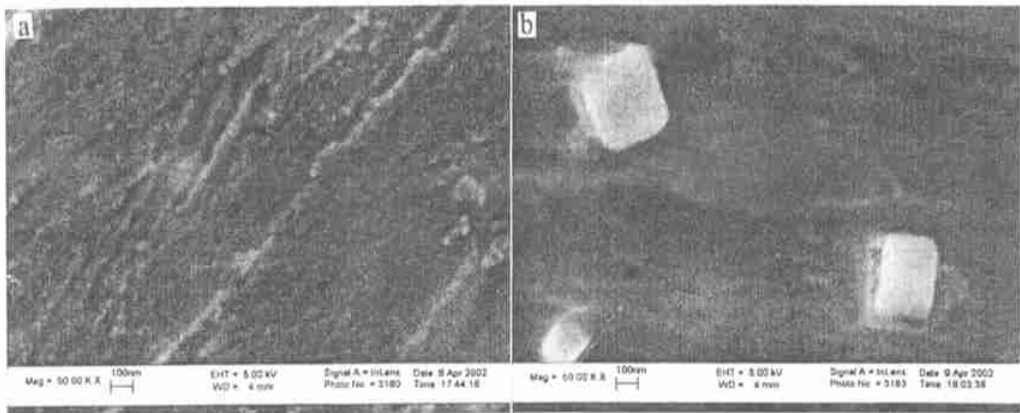


图 10 NADA/Cys/Au 组装电极在浸泡 Cu^{2+} 前(a)后(b)的扫描电镜图

Fig. 10 SEM graphs for the NADA/Cys/Au electrode (a) and the NADA/Cys/Au electrode performed by immersion it into Cu^{2+} solution (b)

3 结 论

本文提出了用自组装方法将荧光试剂间接组装在金电极表面,并对 NADA/Cys/Au 双层膜电极的电化学性能进行了研究,该自组装膜电极不仅可用于荧光传感体系,还可用于超痕量 Cu^{2+} , Ni^{2+} 的电化学连续测定.

A Bilayer Self-assembled Membrane Electrode for Fluorescence and Its Electrochemical Characterization

Sun Xiang-ying^{*1,2}, Liu Bin¹, Jiang Yun-bao²

(1. College of Material Sciences and Engineering, Huaqiao University, Quanzhou 362011, China,
2. Department of Chemistry and MOE key Laboratory of Analytical Sciences, Xiamen University,
Xiamen 361005, China)

Abstract : The bilayer membrane was assembled on Au electrode by the electrostatic interaction between the fluorescence reagent 1-naphthylamine diacetate acid (NADA) and DL-Cysteine. The SAMs electrode NADA/Cys/Au can be used as fluorescence and electrochemical sensor for metal ions. This paper states the electrochemical characterization of NADA/Cys/Au and SAMs' application in continuous determination for Cu^{2+} and Ni^{2+} .

Key words : Fluorescence, SAMs, Electrochemistry

References :

- [1] Wu Tao, Zhang Xi. Self-assembled ultrathin films from layered nanoarchitectures to functional assemblies[J]. Chemical Journal of a Chinese Universities, 2001, 22(6) : 1057 ~ 1065.
- [2] Ulman A, Kang J F, Shnidman Y, et al. Self-assembled monolayer of rigid thiols[J]. Reviews in Molecular Biotechnology, 2000, 74 : 175 ~ 188.
- [3] Wink T, Van Zuilen S J, Bult A, et al. Self-assembled monolayers for biosensors[J]. Analyst, 1997, 122 : 43 R ~ 50 R.
- [4] Tan J L, Tien J, Chen C S. Microcontact printing of proteins on mixed self-assembled monolayers[J]. Langmuir, 2002, 18 : 519 ~ 523.
- [5] Gooding J J, Erokhin P, Hibbert D B. Parameters important in tuning the response of monolayer enzyme electrode fabricated using self-assembled monolayers of alkanethiols[J]. Biosensors & Bioelectronics, 2000, 15 : 229 ~ 239.
- [6] Batz V, Schneeweiss M A, Kramer D, et al. Electrochemistry and structure of the isomers of aminothiophenol adsorbed on gold[J]. Electroanalytical Chemistry, 2000, 491 : 55 ~ 68.
- [7] Xu Wei-ping, Li Guang-xian. The research progress of self-assembled membrane[J]. Chemistry (化学通报), 1999, 2 : 21 ~ 25.
- [8] Du Dan, Wang Sheng-fu. Self-assembled supermolecular film modified electrode[J]. Chemical Research and Application, 2001, 13(6) : 617 ~ 622.
- [9] Chen Yun-Ti, Chang Yun-wen. The dissociation constants of N-arylglycines[J]. Acta Chimica Sinica, 1959, 25 : 371 ~ 376.
- [10] Arrigan D W M, Bihan L L. A study of L-cysteine adsorption on gold via electrochemical desorption and copper () ion complexation[J]. Analyst, 1999, 124 : 1645 ~ 1649.
- [11] Brolo A G, Germain P, Hager G. Investigation of the adsorption of L-cysteine on a polycrystalline silver electrode by surface-enhanced raman scattering (SERS) and surface-enhanced second harmonic generation (SE-SHG) [J]. J. Phys. Chem. B, 2002, 106(23) : 5982 ~ 5987.
- [12] Wan Qi-jin, Yang Nian-jun, Ye Yong-kang. Fabrication and electrochemical characterization of L-cysteine self-assembled monolayer on gold electrode[J]. Journal of Hubei Normal University (Natural Science), 2000, 20(4) : 6 ~ 9.