

基于四苯乙烯自聚集膜增强电化学发光 灵敏检测溶解氧

张霖琳, 包欣京, 鲁理平*

(北京工业大学 环境与能源工程学院, 北京 100124)

摘要: 该文发展了一种基于四苯乙烯(TPE)在电极表面自聚集增强鲁米诺电化学发光信号的新技术, 并实现了溶解氧的定量测定。将TPE分子修饰至金电极表面, 在室温下形成多孔隙、无定形的聚集态自组装薄膜, 有效增加了电极比表面积与孔隙的协同作用, 高效捕获氧气分子 O_2 与超氧阴离子自由基 $O_2^{\cdot-}$, 使鲁米诺的电化学发光信号得到显著增强。TPE修饰电极具有较高的稳定性与较好的重现性。利用氮气排除氧气, 可改变鲁米诺电化学发光强度, 进而测定溶液中溶解氧的含量。研究显示, 通氮时间(1~6 min)与溶解氧浓度在1.63~0.190 mg/L范围内呈良好线性关系, 相关系数(r^2)为0.990 9, 溶解氧初始浓度的最低检出限为1.89 mg/L。方法操作简单、检测快速、信号变化灵敏, 为溶解氧的灵敏检测提供了新方法。

关键词: 鲁米诺; 四苯乙烯(TPE); 溶解氧检测; 电化学发光(ECL)

中图分类号: O657.1; O613.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2020)05-0662-06

Detection of Dissolved Oxygen Using an Electrochemiluminescence Based on Tetraphenylethylene Self-assembled Film Amplification

ZHANG Lin-lin, BAO Xin-jing, LU Li-ping*

(College of Environmental & Energy Engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China)

Abstract: In this paper, a new luminol electrochemiluminescence signal enhancement technique based on tetraphenylethylene (TPE) modified electrode was developed for the determination of dissolved oxygen in solution. TPE molecules were modified on the surface of gold electrode to form porous and amorphous self-assembled films at room temperature. Oxygen molecules and superoxide radical $O_2^{\cdot-}$ were efficiently captured due to the synergistic effect between the enlarged specific surface area of the electrode and the pores, thus the electrochemiluminescence intensity of luminol solution was enhanced. TPE modified electrode exhibited high stability and good reproducibility. The ECL intensity of luminol was changed by adding nitrogen to remove oxygen at different times, then the concentration of dissolved oxygen in the solution could be calculated quantitatively. Results showed that there was a good linear relationship between nitrogen duration (1-6 min) and concentration of dissolved oxygen in the range of 1.63-0.190 mg/L with a correlation coefficient (r^2) of 0.990 9. The detection limit for initial concentration of dissolved oxygen was 1.89 mg/L. With the advantages of convenience, rapidness, sensitivity, the method provides a new approach for the detection of dissolved oxygen.

Key words: luminol; tetraphenylethylene (TPE); dissolved oxygen detection; electrochemiluminescence (ECL)

氧气是绝大部分动植物必不可少的生存物质之一, 因此氧传感器的发展对于生命体系科学研究与环境监测具有重要意义。作为衡量水体自净能力的指标, 溶解氧(Dissolved oxygen, DO)的检测一直是人们所关注的重点。有机污染物产生的过量溶解氧是造成水体失去自净能力的原因之一^[1], 而溶解氧含量过低, 则会影响水中动植物的正常生理生化功能, 甚至因缺氧而死亡。因此溶解氧传感器的开发对于水产养殖业、自来水厂、污水处理厂、海洋及湿地研究起到了至关重要的作用。溶解氧的检测方

收稿日期: 2019-12-17; 修回日期: 2020-02-20

基金项目: 国家自然科学基金(21876005); 北京市高水平创新团队建设计划(IDHT20180504)

* 通讯作者: 鲁理平, 博士, 教授, 研究方向: 环境毒理, E-mail: lipinglu@bjut.edu.cn

法有碘量法^[2]、荧光分光光度法^[3-5]、电化学分析法^[6-7]等。

电化学发光 (Electrochemiluminescence, ECL) 也称电致化学发光, 是化学发光与电化学二者相结合的产物。与其他方法相比, 电化学发光法具有操作简单、无光漂白、光散射干扰与背景干扰值低等优点^[8]。鲁米诺是目前应用最广泛的电化学发光试剂之一, 增敏鲁米诺电化学发光信号的新方法研究对于发展其实际应用具有重大价值^[9-11]。

自组装法 (Self-assembling, SA) 是一种常见的电极修饰方法, 即物质在固/液界面上自组装成高度有序单分子层的一种化学修饰电极的方法^[12]。近年来, 研究人员开发了许多不同的有机分子自组装修饰电极^[13-16], 结果显示有机分子可在电极表面自组装形成多孔的 3D 框架结构, 这种多孔结构的比表面积较大, 孔隙对气体的吸附选择性较高。自组装膜是分子通过非共价键相互作用自发吸附在固/液或气/固界面, 具有清晰的微结构、良好的选择性、较高的热力学稳定性^[17]。

四苯乙烯 (TPE) 是一种典型的非共平面分子, 其分子骨架含有 4 个高度扭曲的苯环, 在固体状态下能够形成多螺旋桨型的分子结构^[18-19], 且在室温下易形成聚集态薄膜。与平面结构相比, 3D 分子构型在固态时形成的聚集态更加松散且无定形^[20]。基于此, 本文将非共平面结构的 TPE 修饰至金电极表面, 并利用鲁米诺电化学发光机理成功制备出电化学发光氧气传感器, 实现了溶解氧的定量检测。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

CHI660a 电化学分析仪 (上海辰华仪器有限公司); MPI-E 型电致化学发光分析系统多功能化学发光检测仪、MPI-E 型电致化学发光分析系统电化学分析仪 (西安瑞迈分析仪器有限公司); KQ-400KDE 型高功率数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); 分析电子天平 (瑞士梅特勒-托利多仪器公司)。氯化钠 (NaCl)、十二水合磷酸氢二钠 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)、氯化钾 (KCl)、铁氰化钾 ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$)、亚铁氰化钾 ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$)、丙酮 (天津市福晨化学试剂厂); 二水合磷酸二氢钠 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)、浓硫酸 (H_2SO_4)、四氢呋喃 (THF)、乙醇 (北京化学试剂有限公司); 鲁米诺 (上海 BBI 生命科学有限公司); 四苯乙烯 (TPE, 上海九鼎化学科技有限公司); 上述试剂均为分析纯。氧化铝抛光粉末 (Al_2O_3 , 天津艾达恒晟科技发展有限公司); 高纯氮气 (N_2 , 北京城信顺兴气体原料销售有限公司)。实验用水均为超纯水 (Milli-Q Advantage A10 Water Purification System, $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$)。

本文所涉及的电化学实验三电极体系均为: 铂丝为对电极, 饱和 Ag/AgCl 电极为参比电极, 修饰金圆盘电极 (直径 2 mm) 为工作电极 (上海辰华仪器有限公司)。

1.2 工作电极预处理

依次使用 0.5、0.05 μm 氧化铝粉末在水润湿的抛光布上对金电极进行抛光处理后, 再依次用水、乙醇、水进行超声处理, 时间分别为 3 min。用氮气吹干超声过的金电极后, 在 0.5 mol/L 硫酸溶液中循环伏安扫描预处理, 电位范围为 $-0.2 \sim +1.5 \text{ V}$, 扫描速率为 100 mV/s。最后用丙酮对金电极进行超声处理, 时间为 3 min, 并用氮气吹干备用。

1.3 修饰电极的制备

预处理后的金电极表面分别滴加 5、10、20、30、40、60、80、100 mmol/L TPE 溶液 5 μL (该溶液由 THF 配制), 室温下静置成膜, 得到不同浓度 TPE 修饰的金电极, 记为 TPE/Au。

1.4 鲁米诺电化学发光实验

铂丝为对电极, Ag/AgCl 电极为参比电极, 修饰电极为工作电极, 检测底液为 100 $\mu\text{mol/L}$ 鲁米诺溶液 (该溶液由 0.1 mol/L PBS 溶液配制)。电化学参数设置为: 电位范围: $-0.5 \sim +0.6 \text{ V}$; 扫描方向: 正; 扫描速率: 100 mV/s, 光电倍增管高压: 600 V。

2 结果与讨论

2.1 实验原理及可行性研究

如图 1 所示, 将 TPE 溶液滴涂至裸金电极表面, 室温下静置形成稳定的自组装聚集态薄膜。由于 TPE 分子为非共面分子, 其在固态状态下形成具有大量孔隙的分子薄膜, 这些孔隙可以高效地捕捉氧

气分子 O_2 与超氧阴离子自由基 $O_2^{\cdot-}$, 而 $O_2^{\cdot-}$ 为鲁米诺电化学发光反应中重要的共反应剂, 其数量多少与鲁米诺的 ECL 信号强度成正比关系。通过控制向鲁米诺电化学发光检测底液通入氮气排除氧气的目的。

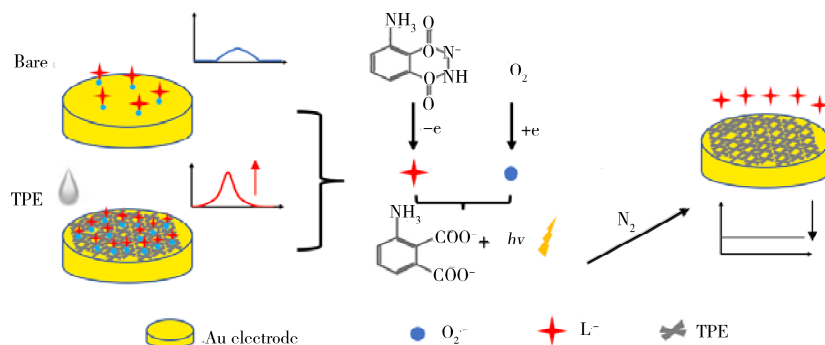


图 1 基于 TPE 修饰电极放大鲁米诺电化学发光信号检测溶解氧的方法示意图

Fig. 1 Schematic representation for detection of dissolved oxygen based on TPE modified electrode amplified luminol electrochemiluminescence intensity

2.2 TPE/Au 电化学阻抗

考察了 TPE/Au 及 Au 电极的电化学阻抗曲线(见图 2)。通常电化学阻抗低频区的线性部分可反映电解液中物质的扩散过程; 而在高频区产生的半圆曲线则可反映电极表面的电荷转移过程, 半圆部分的直径大小即为电极表面电荷转移电阻(Ret) [21], 其半圆越大, 则电子转移电阻越大。由图 2 可知, 裸金电极的 Ret 值约为 400 Ω , 与之相比, TPE/Au 的 Ret 值约为 4 000 Ω , 此结果表明 TPE/Au 表面的电子传递性能受到一定的阻碍。上述研究表明 TPE/Au 增强鲁米诺 ECL 强度并非由于金电极表面导电性变化所致, 而是 TPE 自聚集形成的 3D 多孔隙薄膜增强了鲁米诺电化学发光强度。

2.3 TPE 修饰量的优化

电极表面 TPE 的修饰量是影响鲁米诺电化学发光强度的重要因素。分别将 0、5、10、20、30、40、60、80、100 mmol/L 的 TPE 滴至裸金电极表面, 检测其在 100 $\mu\text{mol/L}$ 鲁米诺溶液中的 ECL 信号, 结果如图 3 所示。结果显示, TPE 浓度在 0~20 mmol/L 内, 鲁米诺电化学发光强度随着其浓度的增加而逐渐增强, 且在 20 mmol/L TPE 时发光强度达到最大, 这是由于 TPE 分子在此浓度下自组装聚集成稳定的 3D 薄膜, 且浓度越高, TPE 分子聚集形成的孔隙越多, 吸附的 O_2 与 $O_2^{\cdot-}$ 越多, 导致鲁米诺电化学发光强度增强。此后, 继续增加 TPE 浓度, 电化学发光强度减小, 且在 100 mmol/L 时降至最低。这是由于当 TPE 浓度过高时, 其自身分子过多, 堆积叠加增多, 表面空隙减小, 阻碍了对 O_2 与 $O_2^{\cdot-}$ 的吸附, 导致电化学发光强度的下降。因此实验选择 20 mmol/L TPE 作为修饰电极的最佳浓度。

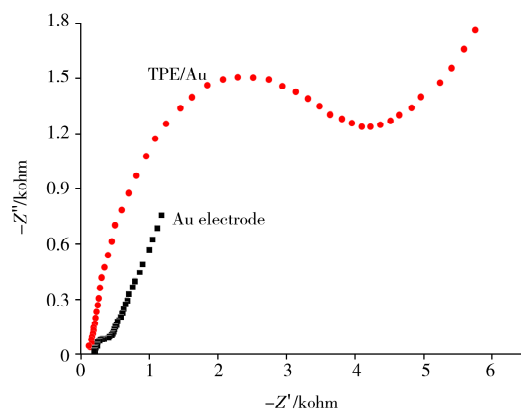


图 2 TPE/Au 及 Au 电极的电化学阻抗图

Fig. 2 ESI curves of TPE/Au and Au electrodes

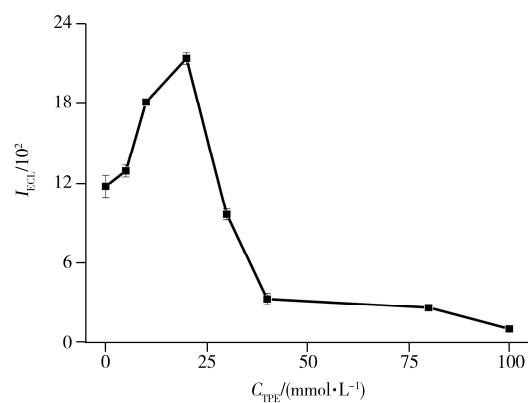


图 3 TPE 浓度对鲁米诺电化学发光强度的影响

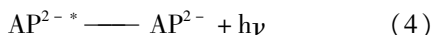
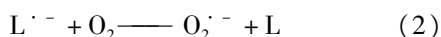
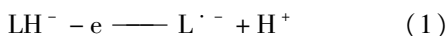
Fig. 3 Effect of TPE concentration on ECL intensity of luminol

此后, 继续增加 TPE 浓度, 电化学发光强度减小, 且在 100 mmol/L 时降至最低。这是由于当 TPE 浓度过高时, 其自身分子过多, 堆积叠加增多, 表面空隙减小, 阻碍了对 O_2 与 $O_2^{\cdot-}$ 的吸附, 导致电化学发光强度的下降。因此实验选择 20 mmol/L TPE 作为修饰电极的最佳浓度。

2.4 TPE/Au 增强鲁米诺电化学发光

2.4.1 鲁米诺发光机制研究 图4a显示了TPE/Au在100 μmol/L鲁米诺溶液中的循环伏安曲线,可明显观察到1对氧化还原峰($E_{pa} = +0.5$ V, $E_{pc} = +0.4$ V),该氧化峰为鲁米诺被氧化为鲁米诺自由基 $L^{\cdot-}$ 所致,还原峰为 $L^{\cdot-}$ 与 $O_2^{\cdot-}$ 相互作用生成二价阴离子3-氨基邻苯二甲酸盐 AP^{2-*} 所产生。当通入氮气15 min后,溶解氧被排除,0.2~0.6 V附近的氧化还原峰消失,CV曲线只在~0.8 V附近显示1个还原峰(图4b),且该峰与TPE的还原峰相似(图4c)。因此,可以断定该峰为TPE的还原峰,通氮除氧后,鲁米诺未能发生氧化还原反应。

在相同实验条件下,使用TPE修饰电极对经氮气处理的鲁米诺进行电化学发光信号检测。由图5可知,鲁米诺在~+0.6 V电压下产生电化学发光,与其电化学反应相对应(图4a)。与未通氮气处理的鲁米诺电化学发光信号相比(图5a),向鲁米诺电解液通氮气15 min后几乎未检出电化学发光信号(图5b),以上结果可证明氧气在鲁米诺电化学发光反应中的关键作用。其电化学发光机理可解释为:鲁米诺阴离子 LH^- 电化学氧化成鲁米诺阴离子自由基 $L^{\cdot-}$,同时溶解氧被还原为 $O_2^{\cdot-}$, $L^{\cdot-}$ 与 $O_2^{\cdot-}$ 反应生成激发态的 AP^{2-*} , AP^{2-*} 由激发态返回基态过程中释放能量,产生发光现象^[22]。该反应过程可用方程式表示为:



2.4.2 TPE/Au 鲁米诺电化学发光信号增强机制 在相同条件下,考察了鲁米诺在Au和TPE/Au电极上的电化学发光强度差异,结果显示,修饰电极的鲁米诺电化学发光强度相比于裸金电极提高了两倍(见图6)。其原因在于多孔隙的TPE分子薄膜捕获了更多的 O_2 与 $O_2^{\cdot-}$ 在电极表面,从而提高了 $O_2^{\cdot-}$ 作为鲁米诺发光共反应剂的效率,因此鲁米诺的电化学发光显著增强。为了排除TPE发光干扰的可能性,使用PBS溶液为电解液,如图6c显示,TPE/Au的电化学发光强度为0,说明单独的TPE分子在此情况下不具备电化学发光,因此排除了TPE本身发光此可能性对实验的干扰。并证明TPE自组装膜是导致鲁米诺电化学发光强度增强的唯一原因。

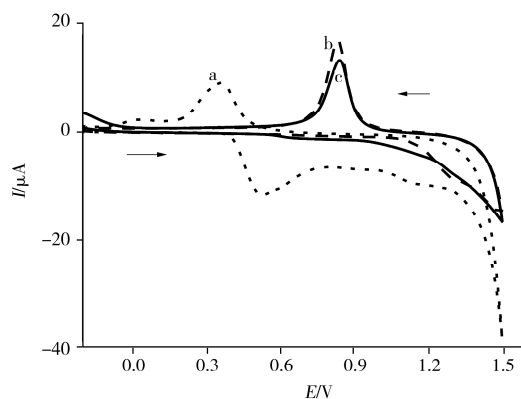


图4 不同条件下,TPE/Au检测100 μmol/L鲁米诺溶液的循环伏安曲线

Fig. 4 CV curves of 100 μmol/L luminol detected by TPE/Au under different conditions a(dot): TPE/Au in 100 μmol/L luminol; b(dash): TPE/Au in 100 μmol/L luminol under N₂, c(solid): TPE/Au in 0.1 mol/L PBS; the arrows indicate electrochemical process

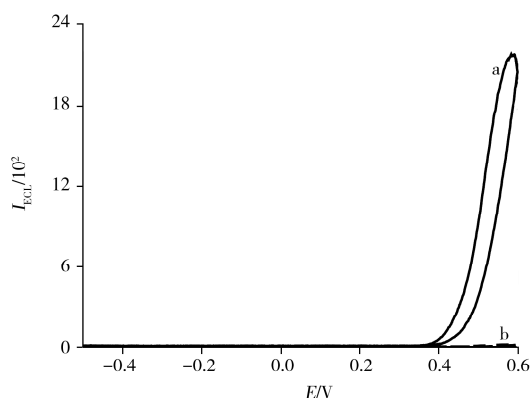


图5 TPE/Au检测鲁米诺的电化学发光曲线图

Fig. 5 ECL curves of luminol detected by TPE/Au a(solid): TPE/Au in 100 μmol/L luminol at atmosphere; b(dash): TPE/Au in 100 μmol/L luminol under N₂ 15 min

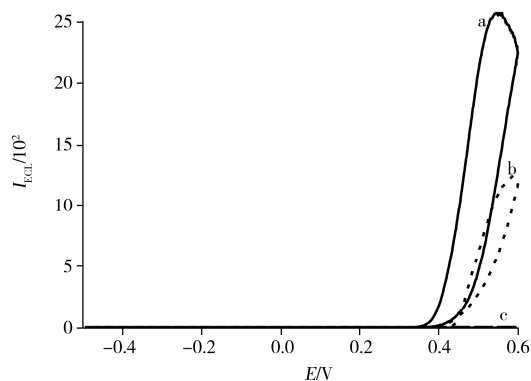


图6 不同电极的鲁米诺电化学发光强度对比图

Fig. 6 Contrast chart of ECL intensities for different electrodes a(solid): TPE/Au in 100 μmol/L luminol; b(dot): Au electrode in 100 μmol/L luminol solution; c(dash): TPE/Au in 0.1 mol/L PBS

2.5 稳定性与重现性

分别连续测定 3 根平行制备的 TPE/Au, 考察了其对于体系鲁米诺电化学发光强度的变化。结果显示, 72 h 后鲁米诺电化学发光强度仅减少 9.1%, 表明 TPE 修饰电极具有较好的稳定性。3 根 TPE 修饰电极的相对标准偏差(RSD)为 2.2%, 表明 TPE 修饰电极具有良好的重现性。

2.6 溶解氧的检测

氧气作为鲁米诺电化学发光的共反应剂, 其浓度的变化直接影响鲁米诺电化学发光的强度^[23]。因此, 可通过向测试底液中通入氮气排除氧气, 根据不同的通氮时长, 测定了不同通氮时间下的鲁米诺电化学发光信号强度, 进而检测溶液中溶解氧的浓度。分别向鲁米诺溶液中通入氮气 0、1、2、3、4、5、6、8、10、13、15、20、25、30 min, 氮气流速约为 0.5 mL/min, 随后立即用 TPE/Au 检测其电化学发光强度, 结果如图 7 所示。与未通氮气相比, 鲁米诺电化学发光强度在 1~6 min 内呈现骤减趋势, 之后, 电化学发光信号呈缓慢下降趋势, 30 min 时电化学发光强度接近于零(图 7 插图)。

根据国家水质—溶解氧的测定标准^[24]可知, 在标准大气压下, 室温为 25 °C 时水中饱和溶解氧质量浓度约为 8.26 mg/L。与未通氮气除氧相比, 鲁米诺电化学发光强度在通氮时间为 1~6 min 内所对应的溶解氧质量浓度理论值分别为 1.63、1.40、1.09、0.677、0.388、0.190 mg/L。根据以上数据进行拟合, 得到通氮时间与溶解氧质量浓度在 1.63~0.190 mg/L 范围内呈线性关系, 线性方程为 $y = -0.3043x + 1.9607$, $r^2 = 0.9909$ 。利用此线性关系, 可对体系中的溶解氧质量浓度进行检测, 溶解氧起始浓度最低检出限为 1.89 mg/L。根据我国地表水环境质量标准^[25], I~V 类水中溶解氧标准限值分别为 7.50、6.00、5.00、3.00、2.00 mg/L, 限值均高于实验中最低检出限。

3 结论

本文提出了一种增强鲁米诺的电化学发光, 同时对溶解氧进行定量检测的分析方法。利用具有大量孔隙的 TPE 自组装膜捕捉 O_2 与 $O_2^{\cdot -}$, 提高 $O_2^{\cdot -}$ 促进鲁米诺电化学发光的效率。同时, 通过控制通入氮气排除氧气的的时间, 根据鲁米诺电化学发光强度变化检测溶液中的溶解氧含量。该方法具有操作简便、检测快速、信号灵敏等优点, 为溶解氧的检测提出了新策略。

参考文献:

- [1] Baker D A, Inverarity R. *Hydrol. Process*, **2004**, 18(15): 2927–2945.
- [2] Wong G T F, Li K Y. *Mar. Chem.*, **2009**, 115(1/2): 86–91.
- [3] Bergman I. *Nature*, **1968**, 218(5139): 396.
- [4] McDonagh C, Kolle C, McEvoy A K, Dowling D L, Cafollaa A A, Cullen S J, MacCraith B D. *Sens. Actuators B*, **2001**, 74(1): 124–130.
- [5] Zhang K, Zhang H L, Wang Y, Tian Y Q, Zhao J P, Li Y. *Spectrochim. Acta A*, **2017**, 170: 242–246.
- [6] Stetter J R, Li J. *Chem. Rev.*, **2008**, 108(2): 352–366.
- [7] Xue F, Wei X, Dong J H, Etim II N, Wang C G, Ke W. *J. Mater. Sci. Technol.*, **2018**, 34(8): 93–102.
- [8] Bard A J, Faulkner L R. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. 2nd ed. Shao Y H, Zhu G Y, Dong X D, Zhang B L, transl. Beijing: Chemical Industry Press(阿伦. J. 巴德, 拉里. R. 福克纳. 电化学方法原理和应用. 2 版. 邵元华, 朱果逸, 董献堆, 张柏林, 译. 北京: 化学工业出版社), **2001**.
- [9] Cui H, Wang W, Duan C F, Dong Y P, Guo J Z. *Chem. Eur. J.*, **2007**, 13(24): 6975–6984.
- [10] Xu S J, Liu Y, Wang T H, Li J H. *Anal. Chem.*, **2011**, 83(10): 3817–3823.

(下转第 671 页)

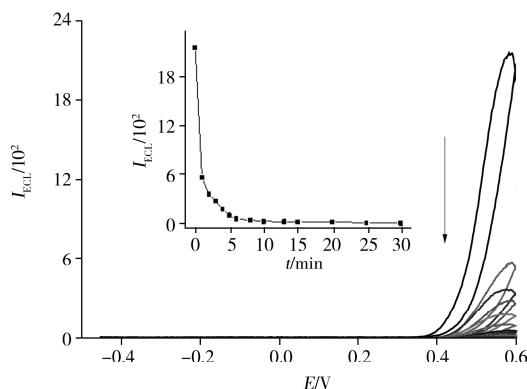


图 7 不同通氮时间下 TPE/Au 的鲁米诺电化学发光强度图

Fig. 7 ECL curves of luminol detected by TPE/Au in different nitrogen duration

insert: line chart of luminol detected by TPE/Au in different nitrogen duration