

# 基于 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 印刷电极的电致化学发光传感器的研制

林振宇, 陈金花, 孙建军, 陈国南\*

福州大学化学化工学院, 福建 福州 350002

**摘要** 利用丝网印刷技术制备了基于  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  (钉联吡啶) 的印刷电极电致化学发光传感器, 这种传感器具有制作简单、成本低、重现性好、对草酸盐的响应范围宽、检测限低等优点。详细研究了电极的制作方法以及发光试剂的固定化。在最优条件下, 在 pH 6.0 的  $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  磷酸盐缓冲液中, 利用所研制的 ECL 传感器测定  $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ , 线性响应范围为  $3.0 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 检测限为  $1.2 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $S/N = 3$ )。根据同样的原理也可以用来测定其他的成分, 如氨基酸, TprA(三丙胺), NAD(烟酰胺腺嘌呤二核苷酸)等物质。同时应该指出的是如果使用丝网印刷机器进行印刷的话, 电极的重现性和稳定性还可以进一步提高。

**主题词** 印刷电极(SPE); 电致化学发光;  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ ;  $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$

**中图分类号:** O644.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0593(2006)11-1996-04

## 引言

丝网印刷电极因其独特的性能, 如制作简单, 可批量制备, 价格低廉, 便于携带, 易微型化和集成化等, 近年来备受关注。虽然已有关于印刷电极传感器的报道<sup>[1-4]</sup>, 但大部分报导都是基于电化学检测, 电化学检测在实际样品的检测过程中受电化学活性物质的干扰比较严重<sup>[5, 6]</sup>。

电致化学发光(ECL)是通过在电极上直接或间接发生的电化学反应而产生的一种化学发光。因为电致化学发光是在化学发光和电化学基础上发展起来的一种分析技术, 它不但保留了化学发光分析和电化学分析所固有的优点, 同时还具有其自身的优点, 如所发生的化学发光反应易于控制、方法更灵敏、更具有选择性、可以获得更多的化学信息等<sup>[7, 8]</sup>。 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  是最常用的电致化学发光试剂之一, 其反应前后的化学形态和性质基本上不变, 是一个可逆的过程。所以通常是将  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  或其衍生物固定到电极上制作成传感器。如 Wang 等发现  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  能够被 K10 粘土胶体稳定吸收, 所得的胶体制成薄膜被两个相反极性的 ITO(indium tin oxide)电极作用下可以发出波长为 610 nm 的光, 在碱性草酸盐溶液中, 当在  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  修饰电极上加上正电压时可以产生 ECL<sup>[9, 10]</sup>, 但这些方法存在电极制作比较困难, 成本高, 重现性低等缺点。

到目前为止, 据作者所知, 还没有关于基于  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$

的印刷电极在电致发光检测方面应用的报道。本文的目的在于研制基于  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  印刷电极的电致发光传感器, 并将其用于  $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$  的测定。

## 1 试验部分

### 1.1 仪器与试剂

ECL 的检测是利用本实验室自己组装的电致化学发光检测系统进行的, 它由一台 CHI 660A 电化学工作站(上海辰华仪器公司), BPCL 超微弱发光分析仪(中国科学院生物物理所研制), 电化学检测池以及用来控制和采集数据的电脑构成, 其示意图如图 1 所示。该系统具有仪器结构简单和控制方便等特点。电解池使用三电极系统: 工作电极为印刷电极, 对电极为铂丝, 参比电极为 Ag/AgCl 电极。

$\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}\text{Cl}_2$  和 Nafion 试剂购自 Adrich 公司。其他试剂均为分析纯。水为二次蒸馏水。

### 1.2 印刷电极的制备

将 PVC(Polyvinyl chloride)薄片用  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{HNO}_3$  以及  $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaOH}$  清洗处理后晾干待用。将 0.5 g 的石墨粉以及适量的发光试剂 [ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ ] 与 1 mL 的  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的醋酸纤维素(溶剂为  $V_{\text{丙酮}} : V_{\text{环己酮}} = 1 : 1$ ) 溶胶混合均匀, 得到碳质印刷浆液。利用 250 目的丝网印刷版将其印刷到 PVC 薄片上, 干燥过夜就得到印刷电极。然后在电极的一端连接一导线, 在另外一端预留 4 mm × 5 mm 的活性部位后

收稿日期: 2005-09-16, 修订日期: 2006-01-08

基金项目: 国家自然科学基金(20175005)资助项目

作者简介: 林振宇, 1976 年生, 福州大学化学化工学院研究生 \* 通讯联系人

其余部分用环氧树脂绝缘保护。然后在电极活性部位表面滴加  $10 \mu\text{L}$   $0.1\%$  的 Nafion(高氟化树脂)乙醇溶液,自然凉干。

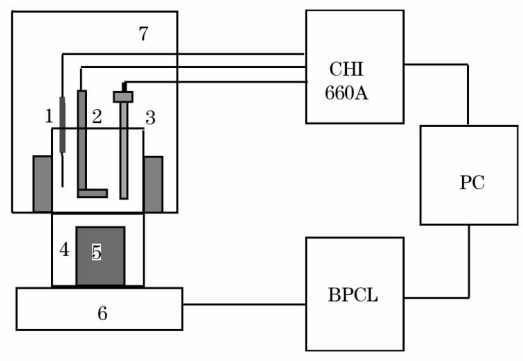


Fig. 1 Experimental setup for ECL

1: Counter electrode; 2: Working electrode; 3: Reference electrode; 4: Jacket for localization; 5: Photomultiplier tube; 6: Base frame; 7: Detection chamber; BPCL: CL detector; PC: Computer controller and data processing system

印刷电极(SPE)是一平面电极,如果用于电化学安培检测,印刷电极放置的方向对测试结果基本无影响,若用于电致化学发光检测,为了使光信号最大限度地被检测到,必须使电极的活性部位正对 PMT,所以需要考虑电极的形状。由于本实验过程中所使用仪器的 PMT 在反应池的下部,所以印刷电极被折成“L”型,使电极的反应活性部分直接正对 PMT。印刷电极示意图如图 2 所示。

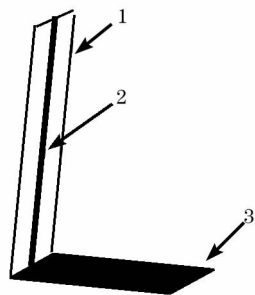


Fig. 2 The schematic diagram of the SPE

1: PVC board; 2: Connect wire; 3: Active part of SPE

### 1.3 分析方法

配置  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的草酸盐储备液,在使用时取出少许用缓冲液稀释到所需浓度,然后取出  $5 \text{ mL}$  放入反应池中。在印刷电极上施加恒电位( $1.55 \text{ V}$ ),记录体系的空白及样品的电致化学发光强度,并根据增强的电致化学发光强度对样品进行定量分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 印刷电极制作方案的选择

纤维素的含量对电极性能有很大的影响,含量过高,电极电阻大,响应不灵敏;含量过低,粘性小,电极易碎裂,性能不稳定,使用寿命短。本实验选择  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的醋酸纤维

素(溶剂为  $V_{\text{丙酮}} : V_{\text{环己酮}} = 1 : 1$ )配制成溶胶。

印刷浆液组成不同,电极性能也有明显差异。碳质印刷浆液过于粘稠,不仅不利于电极形成,而且工作面积不易固定;如碳质印刷浆液过于稀薄,电极的导电性不好。因此,本实验以  $0.5 \text{ g}$  研细的石墨粉(直径大约为  $2.5 \mu\text{m}$ )与  $1 \text{ mL}$  上述溶胶配制成碳质印刷浆液。

印刷电极在  $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  溶液(含  $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的  $\text{KCl}$ )中的循环伏安图如图 3 所示。

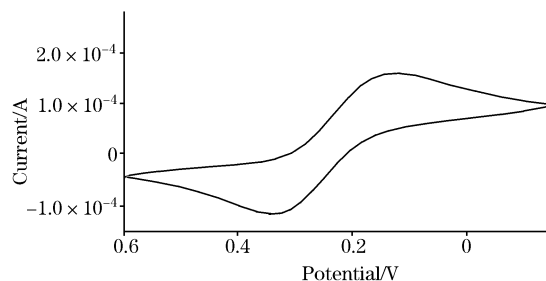


Fig. 3 CV (Chemiluminescence) curve of  $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  with the SPE without CL reagent.  $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{KCl}$  acts as support electrolyte; scan rate:  $10 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$

从图 3 可知  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  在印刷电极上是一个准可逆过程,这说明电极具有较好的电化学特性。同时 CV 图型显现出 S 型,这是微电极上所表现出的电子转移特性,这是因为电极表面是粗糙并且多孔的,所以印刷电极的表面也可以看作是微电极阵列。

### 2.2 发光试剂的固定化

发光试剂的加入量对电极的检测性能也有很大的影响,加入量太少,所检测到的光信号太弱,加入量太多,光信号较强,因为本底信号太强,使得检测的信噪比下降,方法的灵敏度低。本文通过试验确定在每  $1 \text{ mL}$  的印刷浆液中加入  $0.1 \text{ mg}$  的发光试剂。

按上述方法制作的印刷传感器,在溶液中发光试剂容易泄漏,因为  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$  很容易溶解在水中。Nafion 试剂是一种阳离子交换树脂,通常用于电极表面的修饰,它可以固定阳离子,又可以让小分子透过。所以在电极表面覆盖一层 Nafion 薄膜,可以防止发光试剂的泄漏。覆盖层如果太厚会妨碍待测试剂扩散到电极的表面,使得电极的响应时间变长,如果太薄又无法使发光试剂固定。实验发现用  $10 \mu\text{L}$  的  $0.1\%$  的 Nafion 乙醇溶液可以达到较好的效果。Nafion 覆盖前后的 ECL 曲线如图 4 所示。从图中可以看出,覆盖 Nafion 薄膜后的 ECL 比较稳定,发光强度相对低一点。

### 2.3 印刷电极的 ECL 性能表征

按照上述方法制作的印刷电极,将其置入  $\text{pH} 7.4$  的磷酸盐缓冲溶液中,通过线性伏安扫描法(LSV)研究其 ECL 性能,结果如图 5 所示。图中 a 是不含发光试剂的印刷电极在含  $4 \times 10^{-6} \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+} \text{Cl}_2$  的  $\text{pH} 7.4$  的磷酸盐缓冲溶液中进行线性扫描得到的 ECL 曲线, b 是本文所制作的传感器在上述空白缓冲液中得到的 ECL 曲线。从图中可以看出,曲线 a 和通常使用玻碳电极得到的曲线基本相同,

但是曲线 *b* 不同。2 条发光曲线的起峰电位基本相同, 曲线 *a* 在 1.22 V 左右达到最高峰, 而曲线 *b* 在 1.2~1.65 V 之间有一个平台, 然后发光逐渐增强, 在 1.91 V 左右达到最高峰。这主要是因为由于发光试剂被固定在印刷电极中, 氧化产生的  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$  无法及时快速扩散。

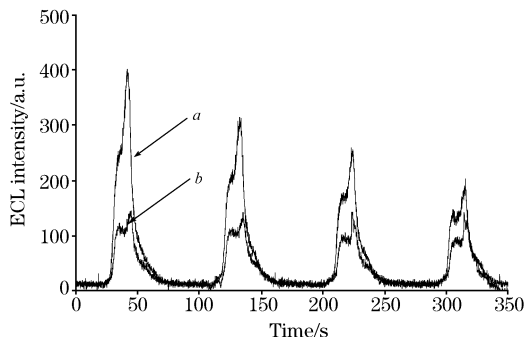


Fig. 4 ECL emission from the SPE modified with Nafion in phosphate buffer solution (pH 7.4) under continuous LSVs

*a*: The SPE was not covered by Nafion;

*b*: The SPE was covered by Nafion. Scan range: 0.8~2.2 V;  
Scan rate: 50  $\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$

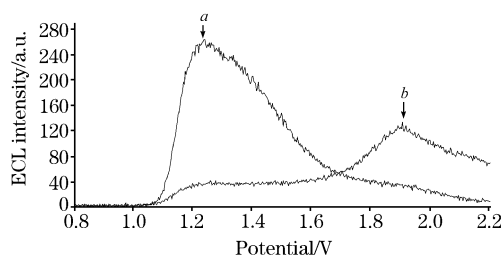
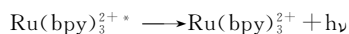
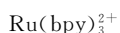
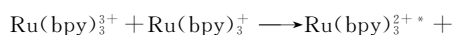
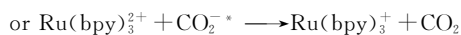
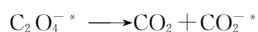
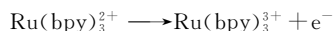


Fig. 5 The ECL intensities-potential curves of different electrodes in 0.2  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  PBS solution (pH 7.4)

*a*: The SPE contains no  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  and the solution contains  $4 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}\text{Cl}_2$ ; *b*: The solution contains no  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  but the SPE contains  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ ; Scan rate: 50  $\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$

## 2.4 用于草酸测定的分析特性

基于  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  的电致化学发光反应测定草酸盐的研究已经有很多报道, 如测定尿中, 血浆中的草酸盐的含量等<sup>[11]</sup>。其检测机理如下<sup>[12]</sup>。



加入不同量的草酸盐可以使  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  的 ECL 强度有不同程度的增加。本文将基于  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  印刷电极的电致化

学发光传感器用于草酸盐的检测。在印刷传感器上施加恒电位(1.55 V), 记录电致化学发光强度增强的量, 以此进行定量分析。

在固定 pH 6.0,  $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$  浓度为  $1.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的条件下, 分别对 BR 缓冲液, PBS 缓冲液以及硼沙缓冲液进行比较, 发现在 PBS 缓冲液中 ECL 背景强度低, 且增强的强度较大, 所以在以下的实验中选择了 PBS 缓冲液。对不同 pH 值的 PBS 缓冲液进行测试, 发现在 pH 5.5~6.2 这个范围内, ECL 增强的强度基本不变, 所以选择了 pH 6.0。在最佳条件下所得到的工作曲线如图 6 所示。利用所研制的 ECL 传感器测定  $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ , 具有很宽的线性响应范围( $3 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 检测限为  $1.2 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $S/N=3$ )。

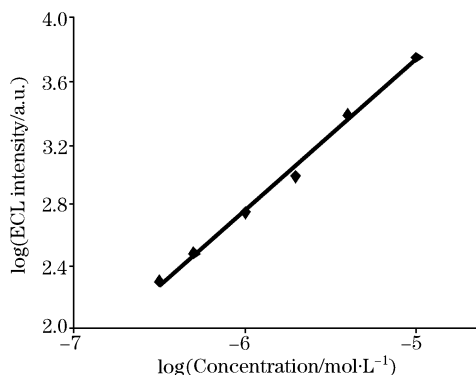


Fig. 6 Log-log plot of the observed ECL intensity vs  $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$  concentration

利用同一批次印刷制作的 9 片电极, 对  $[\text{C}_2\text{O}_4^{2-}] = 1.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的样品进行测定, 结果的 RSD 为 5.1%。利用不同批次制作的 9 片电极对上述样品进行测定, 测定结果的 RSD 为 13.0%。其结果列于表 1。将电极在 4 °C 的环境中保存 1 个月, 电致化学发光的强度下降不超过 5.0%。同时研究发现, 不同的电极扫描速率对发光强度没有影响, 这可能是由于反应物质在电极表面吸附引起的。

Table 1 The found concentration of  $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$  with SPEs

	加入量 / $(10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1})$	测得量 <sup>a</sup> / $(10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1})$	测得量 <sup>b</sup> / $(10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1})$
1	1.0	1.03	1.15
2	1.0	0.96	1.07
3	1.0	1.07	0.81
4	1.0	1.04	1.11
5	1.0	0.97	0.97
6	1.0	0.94	0.94
7	1.0	1.08	1.13
8	1.0	1.05	0.83
9	1.0	0.98	1.12
mean		1.013	1.014
RSD		5.1%	13.0%

<sup>a</sup>: With the SPEs made at the same time;

<sup>b</sup>: With the SPEs made at different times

### 3 结 论

本文所研制的印刷型电致化学发光传感器具有制作方法简单, 成本低和重现性好, 对草酸盐的响应范围宽, 检测限低等优点, 如果扩大电极的活性部位, 检测限还可以进一步降低, 可以用于对实际样品的测定。根据同样的原理也可以

用来测定其他的成分, 如氨基酸, TprA, NAD 等物质。同时应该指出的是如果使用丝网印刷机器进行印刷的话, 电极的重现性和稳定性还可以进一步提高。

由于利用丝网印刷技术可以印刷出只有几微米的电极, 因此实现电极微型化是可能的, 目前我们正准备将这种微型电极应用于毛细管电泳芯片的电致化学发光检测。

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Hart A L, Collier W A. *Sens. Actuators B*, 1998, 53: 111.
- [ 2 ] Ianildo Luiz de Mattos, Lo Gorton Tautgirdas Ruzgas. *Biosens. Bioelectron.*, 2003, 18: 193.
- [ 3 ] Nathan S Lawrence, Li Jiang, Timothy G J, et al. *Anal. Chem.*, 2003, 75: 2054.
- [ 4 ] Abass A K, Hart J P. *Sens. Actuat. B*, 1997, 41: 169.
- [ 5 ] Christophe A Marquette, Loic J Blum. *Anal. Chim. Acta*, 1999, 381: 1.
- [ 6 ] Leca B, Blum L. *J. Analyst*, 2000, 125: 789.
- [ 7 ] CHEN Guo-nan, LIN Zhen-yu(陈国南, 林振宇). *World Science-Technolog, R & D(世界科技研究与发展)*, 2004, 26(4): 66.
- [ 8 ] CHU Hai-hong, QI Ying-ying, XU Yang, et al(储海虹, 齐莹莹, 徐 杨, 等). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2005, 25(5): 675.
- [ 9 ] Chih Sheng Quyang, Chong Mou Wang. *J. Electroanal. Chem.*, 1999, 474: 82.
- [ 10 ] Alice F Martin, Timothy A Nieman. *Biosens. Bioelectron.*, 1997, 12: 479.
- [ 11 ] David R Skotty, Timothy A Nieman. *J. Chromatogr. B*, 1995, 665: 27.
- [ 12 ] Israel Rubinstein, Allen J Bard. *J. Am. Chem. Soc.*, 1981, 103: 5007.

## Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup> Electrochemi-luminescence of Screen-Printed Electrodes for Low Cost Disposable C<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>2-</sup> Sensor

LIN Zhen-yu, CHEN Jin-hua, SUN Jian-jun, CHEN Guo-nan\*

Department of Chemistry, Fuzhou University, Fuzhou 350002, China

**Abstract** The present paper reports the establishment of an electrochemi-luminescence (ECL) sensor by using screen-printed electrodes(SPE) which contain Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>. The method of making the SPE and the fix of Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup> were studied in detail. The characters of the sensor were studied. The sensor has been applied to detect C<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>2-</sup> in solution. Under optimised conditions, at 1.55 V vs Ag/AgCl, in 0.2 mol · L<sup>-1</sup> phosphate buffer solution (pH 6.0), the linear range extends from 3.0 × 10<sup>-7</sup> mol · L<sup>-1</sup> to 1.0 × 10<sup>-5</sup> mol · L<sup>-1</sup>, the detection limit is 1.2 × 10<sup>-7</sup> mol · L<sup>-1</sup> (S/N=3). The sensors have good stability and reproductivity. It should be noted that based on the same principle, the sensors can be applied to detect many other compounds, such as amino acids, TprA and NAD. If the screen machine is used to make the SPE, the reproductivity and stability of the SPEs can be improved further.

**Keywords** Screen-printed electrode(SPE); Electrochemi-luminescence; Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>; C<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>2-</sup>

(Received Sep. 16, 2005; accepted Jan. 8, 2006)

\* Corresponding author