

兼具传像功能的锌离子传感器的初步研究

汪 舰^{1,2}, 王丽莉²

1. 河南理工大学物理化学学院, 河南 焦作 454000

2. 中国科学院西安光学精密机械研究所, 瞬态光学与光子技术国家重点实验室, 陕西 西安 710119

摘要 将 1-(2-吡啶偶氮)-2-萘酚(PAN)和荧光试剂罗丹明 B(RB)联合作为指示剂, 再通过碱性催化的溶胶凝胶法将指示剂固定在与传像光纤相联结的自聚焦透镜端面上, 成功制备了一种具有传像功能的荧光锌离子传感探头。与改进的金相显微镜和激光器相联接, 可同时实现对锌离子浓度的检测和样品外貌的观测。此系统在锌离子浓度为 $0.1 \sim 1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 存在较好的线性关系, 且系统传像的分辨率为 $18.73 \text{ lp} \cdot \text{mm}^{-1}$ 。此种具有传像功能的传感器在生物检测方面有较强的应用潜力。

关键词 锌; 光纤传感; 传像

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2011)11-3145-04

引言

锌离子作为人体中含量丰富的过渡金属, 是人体不可缺少的重要元素, 对人体的正常生理过程发挥着重要作用。锌是人体中 100 多种酶的组成部分, 促进机体的生长发育和组织再生, 能够保护皮肤健康, 维护机体的免疫功能, 对于神经传递起着重要的作用^[1, 2]。因此, 锌离子浓度的检测尤为重要。尽管人们进行了大量的实验, 但由于锌离子检测手段的限制, 锌离子在神经生物学中的作用还不是十分清楚。因此, 寻找一种简便的实时测定锌离子浓度的方法就很有意义。

近年来, 光纤传感器以其重量轻, 抗电磁干扰, 体积小, 可远端测量, 高灵敏性等特点得到了广泛的应用^[3]。以流动池为基础的光纤化学传感器在锌离子的测量方面得到了广泛的应用^[4-7]。这种传感器具有结构简单, 可微量分析的特点, 而且通过更换传感膜, 可对不同的物质进行检测。Araujo 等^[4]成功的将这种方法应用于多种药品中锌含量的测定。在检测锌离子的过程中, 多采用 1-(2-吡啶偶氮)-2-萘酚(PAN)或 4-(2-吡啶偶氮)间苯二酚(PAR)等作为指示剂, 当 PAN 或 PAR 锌离子接触后, 会发生络合现象, 从而发生颜色的变化。因为这些指示剂不具有荧光, 所以人们必须根据指示剂对光强吸收的变化来测定锌离子的浓度, 这就在一定程度上限制了它的应用范围。例如, 人体等一些难以到达的区域的实时检测, 这种方法是无法完成的。而荧光光纤传感器就

可以解决这样的难题。然而, 在检测过程中还要解决另一个难题是, 由于锌的最外层电子是 10 电子的闭壳结构, 可用的荧光指示剂有限, 所以对锌离子的监测就比较困难^[8]。以喹啉^[9]、荧光素^[10, 11]、香豆酮与苯并唑等^[12, 13]这些荧光团为基础, 人们不断的对锌离子的荧光探针进行改进, 以增强其荧光性和对锌离子的选择性。但是, 这些荧光物质都是非常昂贵的。

在本工作中选用了最普通的荧光试剂罗丹明 B 与螯合试剂 PAN 联合作为指示剂, 根据这两种指示剂的光谱特征, 对锌离子浓度进行检测。实验中还采用碱性催化法制备的溶胶凝胶膜将指示剂固定在自聚焦透镜的一个端面上, 再将自聚焦透镜的另一端与传像光纤束相结合, 制备出具有传像功能的锌离子传感探头, 并应用改进的金相显微镜与之相匹配, 形成一套可视化的锌离子传感系统。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

AvaSpec-2048-USB2 光纤光谱仪(荷兰), JACSCO V-570 紫外-可见近红外分光光度计(日本分光公司), NJF-1 金相显微镜(宁波永新光学股份有限公司), 水为二次去离子水。其他所用试剂均为分析纯。

1.2 方法

首先取 3.010 g 的 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 配制成 100 mL 的储备液, 然后用 EDTA 对其进行标定^[14]。实验中所用的

收稿日期: 2011-01-27, 修订日期: 2011-03-20

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(60437020), 国家高科技研究和发展项目(863 计划)项目(2007AA032452)资助

作者简介: 汪 舰, 1981 年生, 河南理工大学物理化学学院讲师 e-mail: jianwang@hpu.edu.cn; submitart@yahoo.cn

锌离子溶液均是将其储备液进行稀释。溶胶凝胶膜的制备方法如下：取 1.1 mL 四甲基氢氧化铵(25%水溶液)，8.0 mL 乙醇，0.5 mL 3-氨丙基三乙氧基硅烷(APTES)和 1.5 mL 正硅酸乙酯(TEOS)于圆底烧瓶中，混合后在室温下搅拌，反应 4 个时，制备出透明的溶胶体。另外再配制 $1.88 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ PAN 乙醇溶液和 $1 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ RB 乙醇溶液，按一定的体积比混合后在 50 °C 的烘箱中烘干，然后加入 100 μL 溶胶液体混匀后制备敏感膜。

1.3 传感探头的制备和光学系统的组装

首先取一个长 5.5 mm，直径 2.0 mm 的自聚焦柱透镜，此自聚焦透镜为 1/2 截距，能够使它的一个端面前的物体在另一个端面成倒立的实像，其数值孔径高达 0.45。为了使传感膜能够很好地与自聚焦透镜结合在一起，要先将自聚焦的一个端面羟基化，过程如下：将 15 mL 的浓硫酸逐渐加入 5 mL 的 30 Wt% 双氧水中，混合均匀后，将自聚焦透镜的一个端面浸在其中 15 min，然后用去离子水清洗后烘干。将掺杂有指示剂的溶胶液体铺在自聚焦透镜的表面，干燥一天以上，形成稳定的锌离子敏感膜，随后，将自聚焦透镜的另一个端面与传像光纤束通过特殊的管子紧密相连，这样就制备了一根完整的光纤传像传感探头，详细结构如图 1 左边部分所示。光纤传像束含有 9 000 像素，每个像素 16 μm ，因为是聚合物光纤，所以柔软不易折断。

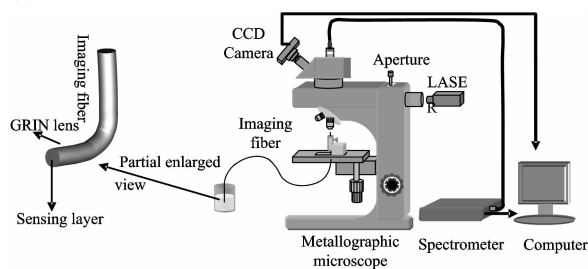


Fig. 1 Instrument for Zn(II) measurement and imaging

如图 1 所示，左边部分为传感探头的端面放大图片，其余部分为光学系统的示意图。主要由 CCD 相机，传感探头，改进的金相显微镜，光谱仪和激光器组成。传感探头的远端(自传感膜端)置于待测样品的表面或溶液中，近端置于显微镜的物镜下。在测量样品中锌离子的浓度时，先打开激光器，发出一束波长为 532 nm 的激光，通过光阑调节光斑大小，光束照射在二向色镜上，然后经过物镜聚焦后射入光纤传像束，最后激发自聚焦透镜表面膜中的荧光物质，产生荧光，荧光再通过自聚焦透镜、传像光纤束、显微镜物镜、二向色镜、滤光片、传光光纤，最后被光谱仪测量。因为传感膜发出的荧光强度与溶液中的锌离子浓度有关，从而获得锌离子的浓度信息。滤光片的作用主要是滤掉光纤表面及其他界面反射回来的激光信号，从而使光谱仪检测荧光信号。实验中所用滤光片允许(570±15)nm 的光通过，其余可见光波长截止。在观察样品的表面形貌时，需要在样品的表面照射白光，同时通过转换开关阻挡激光进入光学系统，样品的像通过自聚焦透镜、传像光纤束、显微镜物镜、二向色镜，进入 CCD 相机。这样，物体的像就可以被清晰的观察到。

2 结果与讨论

2.1 指示剂的应用原理

罗丹明 B 是一种常用的荧光试剂，螯合试剂 PAN 是一种金属指示剂和过渡金属的光谱分析试剂，常用作光度法和萃取光度法测量 Al^{3+} ， Zn^{2+} ， Cu^{2+} ， Fe^{3+} 等。本实验采用两种试剂联合使用的方法，对锌离子进行检测。在绿色激光的作用下，在传感膜中的罗丹明 B 发出的荧光经过上述的光学系统后，经测定为 569 nm，也就是说，在整个实验过程中，分析荧光强度时所观测的峰值均在 569 nm。图 2 展示了 PAN 和 PAN-Zn 配合物的吸收光谱。从图上可以看到，PAN 在 530 nm 以下具有一定的吸收作用，当 PAN 与锌离子络合后，吸收范围明显扩大，从 530 nm(图 2 中的谱线 3)扩大到 595 nm(图 2 中的谱线 2)，这一范围包含了我们检测的罗丹明 B 荧光的峰值 569 nm(图 2 中的谱线 1)。也就是说，PAN-Zn 络合物全部或部分地吸收了罗丹明 B 的荧光，当溶液中锌离子浓度变大时，与锌离子络合的 PAN 分子就越多，吸收强度也就越大，所检测到的荧光强度也就越小，它们之间具有某种特定的关系，从而可以实现对锌离子的检测。

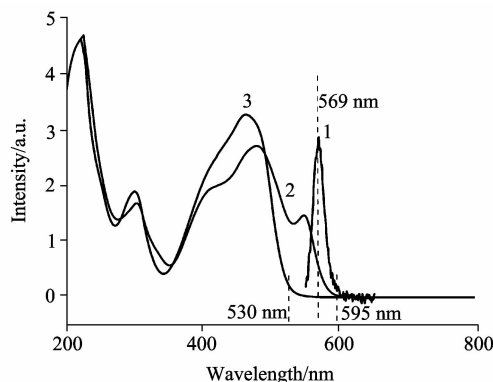


Fig. 2 Absorption spectra of PAN (3) and PAN-Zn complex (2); the fluorescence of RB through the filter detected by spectrometer (1)

2.2 指示剂的用量

在制备传感膜前，先要将一定量的 $1.88 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ PAN 乙醇溶液和 $1 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ RB 乙醇溶液混合，如果 PAN 所占比例太大，由于 PAN 吸收作用太强，造成荧光强度太弱，不利于检测。当 RB 所占比例太大时，由于 PAN 的吸收作用不明显，会造成检测的灵敏度降低。实验中发现，当 PAN 与 RB 质量比接近 15/1 时，检测效果较好。所以，取 400 μL 的 $1.88 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ PAN 乙醇溶液和 50 μL 的 $1 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ RB 乙醇溶液相混合烘干后，加入 100 μL 的溶胶液体制备传感探头。对锌离子进行检测。

2.3 标准曲线的测定

用去离子水对传感探头进行多次清洗后，在配制的标准锌离子溶液中测定其光谱信息。如图 3 所示，荧光强度随着 Zn(II) 浓度的增大而降低。在锌离子浓度为 0.1~1 mmol · L⁻¹ 时，存在较好的线性关系。线性回归方程为 $F = 1.003 7$

$-0.1124[\text{Zn}(\text{II})]$, 相互关系系数为 0.990 6。检出限为 $0.04 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 锌离子。以 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的锌离子为标准, 在外加离子引起 5% 误差的范围内测定了探头的选择性。此探头可以承受的外加干扰如下: 500 倍的 NO_3^- , Cl^- , AC^- , 20 倍的 Ba^{2+} , Ca^{2+} ; Al^{3+} , Ag^+ 。

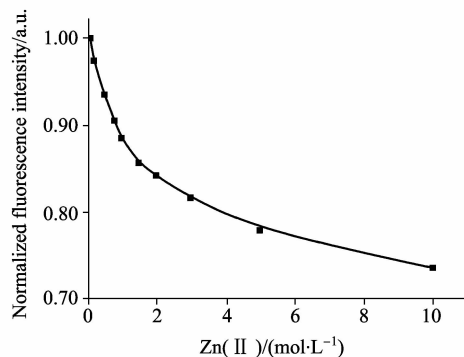


Fig. 3 Response curve of the sensor to Zn(II)

2.4 系统传像能力的鉴定

应用此系统观察样品的形貌时, 必须在外面上加上一个光源照明, 如果是观察人体内部器官或其他难达到的地方, 可在传像束周围束缚传光束进行照明。在进行观察前, 要先调节金相显微镜上的开关, 以切断激光器的激发光源, 并使样品反射的光线进入 CCD 相机。实验中, 选用了 16 倍的目镜和 4 倍的物镜进行观察。图 4 所示, 是通过传感探头观察到的标准鉴别率板。从图上可以看到, 通过系统可以观察到鉴别率板上的第 8 组图, 而这一组的每条线宽为 $26.7 \mu\text{m}$, 也就是说其分辨率为 $18.73 \text{ lp} \cdot \text{mm}^{-1}$ 。整个系统的分辨率主要受传像光纤的限制, 因为传像光纤单根光纤的直径为 $16 \mu\text{m}$, 如果采用单丝直径更细的光纤, 则会提高整个系统的分辨率。

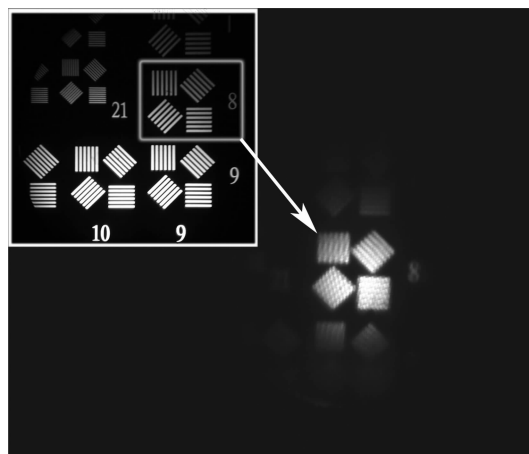


Fig. 4 Visual image of a standard resolution target (group 8) obtained through the sensor. The inset figure is the standard resolution target captured directly from the microscope

3 结 论

报道了一种新型的锌离子传感器。这种传感器将极其常用的荧光试剂 RB 和螯合剂 PAN 联合使用作为指示剂, 价格便宜且易于获得。通过碱性催化法制备的溶胶固定在 GRIN 端面, 制成锌离子敏感的传感探头。再次, GRIN 和传像光纤束以及改进的金相显微镜等光学系统的配套应用, 使整个系统不仅具有了锌离子检测的功能, 而且还具有了传像的功能。此系统在锌离子浓度为 $0.1 \sim 1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 有较好的线性关系, 系统的分辨率为 $18.73 \text{ lp} \cdot \text{mm}^{-1}$ 。该系统为人体内部等生物体器官, 以及一些常规器具难以达到的地方的锌离子检测提供了一定的可能性, 具有较好的应用前景。

References

- [1] Jiang P J, Guo Z J. Coordination Chemistry Reviews, 2004, 248(1-2): 205.
- [2] Rastegarzadeh S, Rezaei V. Sensors and Actuators B: Chemical, 2008, 129(1): 327.
- [3] ZHAO Yan-jie, WANG Chang, LIU Tong-yu, et al(赵燕杰, 王 昌, 刘统玉, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2010, 30(10): 2857.
- [4] Jeronimo P C A, Araujo A N, Montenegro M. Sensors and Actuators B-Chemical, 2004, 103(1-2): 169.
- [5] de Oliveira W A, Narayanaswamy R. Talanta, 1992, 39(11): 1499.
- [6] Malcik N, Oktar O, Ozser M E, et al. Sensors and Actuators B-Chemical, 1998, 53(3): 211.
- [7] Albero M I, Ortuno J A, Garcia M S, et al. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2002, 29(5): 779.
- [8] Godwin H A, Berg J M. Journal of the American Chemical Society, 1996, 118(27): 6514.
- [9] Liu Y, Zhang N, Chen Y, et al. Organic Letters, 2007, 9(2): 315.
- [10] Burdette S C, Frederickson C J, Bu W M, et al. Journal of the American Chemical Society, 2003, 125(7): 1778.
- [11] Woodrooffe C C, Lippard S J. Journal of the American Chemical Society, 2003, 125(38): 11458.
- [12] Ohshima A, Momotake A, Arai T. Tetrahedron Letters, 2004, 45(51): 9377.
- [13] Taki M, Wolford J L d, O'Halloran T V. Journal of the American Chemical Society, 2004, 126(3): 712.
- [14] Rastegarzadeh S, Rezaei V. Sensors and Actuators B-Chemical, 2008, 129(1): 327.

Preliminary Study of Zinc Ion Sensor with the Function of Imaging

WANG Jian^{1,2}, WANG Li-li²

1. Department of Physics and Chemistry, Henan Polytechnic University, Jiaozuo 454000, China

2. State Key Laboratory of Transient Optics and Photonics, Xi'an Institute of Optics and Precision Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Xi'an 710119, China

Abstract A zinc ion fluorescence sensor with imaging was fabricated by using 1-(2-Pyridylazo)-2-naphthol and fluorescent reagent of rhodamine B together as the indication which was immobilized on an tip of gradient index lens by base catalyzed sol-gel method. Combined with improved metallographic microscope and laser, the measurement of zinc ion concentration and the view of sample morphology could be realized simultaneously by this system. The sensor has the linear range of zinc ion concentration from 0.1 to 1 mmol · L⁻¹. Moreover, it has the capabilities of imaging with the whole system's resolution of 18.73 lp · mm⁻¹. This sensor with the function of imaging has the potential applications in biosensing.

Keywords Zinc; Fiber sensing; Imaging

(Received Jan. 27, 2011; accepted Mar. 20, 2011)

欢迎订阅 欢迎投稿 欢迎刊登广告

《冶金分析》2012 年征订启事

国内统一刊号: CN11-2030/TF

国际 CODEN: YEFEET

国外代号: 1579M

国际标准刊号: ISSN 1000-7571

邮发代号: 82-157

京海工商广字第 8024 号

作为冶金领域中权威的分析技术专业期刊,《冶金分析》的办刊宗旨是为广大冶金分析测试工作者搭建学术交流平台。《冶金分析》由中国钢研科技集团有限公司(钢铁研究总院)和中国金属学会合办,国际钢铁工业分析委员会(ICASI)支持。自 1981 年创刊以来,《冶金分析》以高度的创新精神和严谨的科学态度,动态反映冶金领域分析测试新技术、新方法、先进经验,报导研究成果,发表综述文章,并介绍国内外冶金分析动态等。适合于冶金、矿山、石油、化工、机械、地质、环保、商检等部门技术人员和大专院校师生参考。

《冶金分析》20 世纪 90 年代初期就为美国工程索引 EI 数据库收录,目前被美国《化学文摘》、美国《化学文摘》2009 年引文频次最高的 1000 种期刊表(即千刊表)、美国《剑桥科学文摘》、《日本科学技术振兴机构数据库》、英国《皇家化学学会系列文摘》之《质谱学通讯(增补)》、荷兰《文摘与引文数据库》、美国《乌利希期刊指南》等国际检索系统收录。同时,《冶金分析》是中国科技论文统计源期刊、中国科学引文数据库的核心库期刊、全国中文核心期刊,并为中国期刊网、万方数据网等国内知名数据库所收录。

为了加强国际间学术交流,促进冶金分析测试技术发展,在国际钢铁工业分析委员会(ICASI)的支持下,一批国外知名专家担任本刊编委。本刊将致力于以最快的速度及时发表国内外的最新研究成果。

《冶金分析》为月刊,大 16 开,单期页码为 80 页,定价 15.00 元,全年 12 期,180.00 元。全国各地邮局发行,如有漏订的单位和读者,请直接与编辑部联系。

欢迎订阅! 欢迎投稿! 欢迎刊登广告!

地址: 北京海淀区学院南路 76 号

邮编: 100081

网址: <http://journal.yejinfenxi.cn>

电话/传真: 010-62182398/8330/1064

E-mail: yjfx@analysis.org.cn; yejinfenxi@ncschina.com