

# 几种醇类的固态电致化学发光-高效液相色谱检测

于萍<sup>①③</sup>, 叶挺秀<sup>①</sup>, 邱彬<sup>①</sup>, 陈曦<sup>①②\*</sup>

① 食品安全分析与检测技术(福州大学)教育部重点实验室, 福州大学化学系, 福州 350108;

② 厦门大学化学化工学院化学系, 厦门 361005;

③ 福建省计量科学研究院, 福州 350003

\* 通讯作者, E-mail: xichen@xmu.edu.cn

收稿日期: 2009-05-07; 接受日期: 2009-05-18

**摘要** 使用水/油反相微乳法合成包埋联吡啶钌( $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ )的纳米硅球( $\text{RuSiNPs}$ ), 利用 Nafion 材料固定  $\text{RuSiNPs}$  于玻碳电极上, 构筑了  $\text{RuSiNPs}/\text{Nafion}$  复合膜修饰传感电极, 进行了醇类的电致化学发光-高效液相色谱(ECL-HPLC)分离检测. 利用循环伏安等方法考察了  $\text{RuSiNPs}/\text{Nafion}$  复合膜电极的电化学和 ECL 行为, 结果表明包埋在硅球里的  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  较好地保持了原有的光学和电化学性质. 研究了实验条件对其 ECL 的影响, 通过 HPLC 条件的优化建立了利用  $\text{RuSiNPs}/\text{Nafion}$  固态 ECL 进行醇类样品的分离检测方法, 所提出方法对甲醇、乙醇、丙醇和丁醇的检测下限分别为  $6.7 \times 10^{-5}$ ,  $8.2 \times 10^{-5}$ ,  $3.9 \times 10^{-4}$  和  $4.2 \times 10^{-4}$  mol/L. 方法被初步应用于一些啤酒样品中醇的检测.

## 关键词

电致化学发光  
联吡啶钌  
钌纳米硅球  
HPLC  
醇

## 1 引言

在电致化学发光(ECL)研究中, 联吡啶钌( $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ )具有水溶性好, 试剂稳定, 氧化还原可逆, 发光效率高, 可电化学再生及激发态寿命长等优点, 而被广泛应用于流动体系如液相色谱和毛细管电泳的分离检测<sup>[1~3]</sup>. 但在 HPLC-ECL 检测应用中, 较昂贵的  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  作为反应试剂被大量消耗, 导致环境的污染和较高的分析成本. 近年来,  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  及其衍生物在电极表面的固定化成为 ECL 研究的重要方向, 已有一些修饰固定  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  化合物方法的研究报道, 包括: (1) 通过非共价<sup>[4]</sup>或共价相互作用吸附衍生化的  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  化合物于电极表面<sup>[5]</sup>; (2) 采用层层组装技术将  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  固定于负电荷的纳米颗粒; (3)  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  包埋于溶胶-凝胶薄膜材料<sup>[6,7]</sup>; (4)  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  作为添加剂制备玻碳电极<sup>[8]</sup>; (5)  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  包埋于固

定在电极表面的阳离子交换膜, 如: Nafion 膜<sup>[9,10]</sup>等方法. 这些方法虽然可以获得较稳定 ECL, 但是固定在电极表面的  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  数量有限, 因而限制了其灵敏度的提高. 纳米材料的应用为某些发光物质在纳米颗粒里富集, 进而提高检测方法的灵敏度提供了一个有效的途径. 利用纳米硅球表面的羟基与  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  静电吸附作用富集并包埋在网状结构的硅球里, 获得的联吡啶钌纳米硅球( $\text{RuSiNPs}$ )有效地提高了发光试剂  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  的浓度, 通过在 ITO 电极的固定, 甚至可实现  $\text{RuSiNPs}$  ECL 强度的可视化<sup>[11]</sup>.

研究工作利用 Nafion 材料固定合成的  $\text{RuSiNPs}$  于玻碳电极上, 构筑了以  $\text{RuSiNPs}/\text{Nafion}$  为工作电极的薄层流动电解池, 并进行了醇类的 ECL-HPLC 分离检测. 实验考察了利用  $\text{RuSiNPs}/\text{Nafion}$ -玻碳修饰电极( $\text{RuSiNPs}/\text{Nafion}$ -GCE), 甲醇、乙醇、丙醇和

丁醇等醇类的 ECL 的发光行为; 通过 HPLC 条件的优化建立了利用 RuSiNPs/Nafion 修饰电极进行醇类样品的 HPLC-ECL 分离检测方法. 研究表明, 所提出方法对甲醇、乙醇、丙醇和丁醇的检测下限分别为  $6.7 \times 10^{-5}$ ,  $8.2 \times 10^{-5}$ ,  $3.9 \times 10^{-4}$  和  $4.2 \times 10^{-4}$  mol/L, 并初步应用于啤酒样品中乙醇含量的检测.

## 2 实验部分

### 2.1 实验试剂及仪器

三联吡啶氯化钌六水合物 ( $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), Nafion 和 Triton X-100 购买于 Aldrich (Milwaukee, WI, USA), 各类醇标准品购 Merck 公司 (Darmstadt, Germany), 其他所有化学药品均为分析纯试剂. 四甲氧基硅烷 (TEOS) 购自武汉大学新硅材料有限公司 (武汉, 中国). 实验用水经过 Millipore 系统 (Millipore Co., USA) 纯化. 系列浓度的各类醇标准液使用相应的醇标准品并利用 15 mmol/L 磷酸盐缓冲溶液 (PBS, pH 6.5) 稀释配制而得. 检测含 METH 的样品时, 使用相同的磷酸盐缓冲溶液.

电化学研究及 ECL 电压控制使用 CHI 830 型电化学分析工作站 (CHI 公司, 中国上海), 采用三电极体系: RuSiNPs/Nafion-GCE 为工作电极, 铂电极为辅助电极, 参比电极选用 Ag/AgCl 电极. 薄层电解流动池的主体是两片 Diflon 块构成, 中间由厚度为 50  $\mu\text{m}$  的聚四氟乙烯膜片分开, 薄层池的体积约 1.5  $\mu\text{L}$ , 其构造示意如图 1. ECL 信号通过化学发光仪 (瑞迈公司, 西安). 醇类的分离在岛津 LC-10A (Shimadzu, Japan) 进行, 分离柱为 5  $\mu\text{m}$  PRP-1 (2.1  $\times$  150 mm), 流动相为 15 mmol/L 的 PBS (pH 6.5), 流速为 0.8 mL/min. 柱后 pH 调节使用化学发光仪自带的蠕动泵, 溶液为 0.1 mol/L 的氢氧化钠-磷酸二氢钠 ( $\text{NaOH}-\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , pH 12.0) 缓冲溶液, 控制流速 0.3 mL  $\cdot$  min $^{-1}$ . 联吡啶钌纳米硅球 (RuSiNPs) 形貌的 TEM 表征使用 TECNAI F30 场发射透射电子显微镜 (300 kV, Philips-FEI, Holland), 其荧光特性通过 F-4500 型荧光分光光度计 (Hitachi, Japan) 进行考察.

### 2.2 RuSiNPs/Nafion 修饰电极的制备

依据水/油反相微乳法合成 RuSiNPs<sup>[12]</sup>. 7.5 mL 环己烷, 1.70 mL 曲通-X100, 1.80 mL 正己醇, 400  $\mu\text{L}$

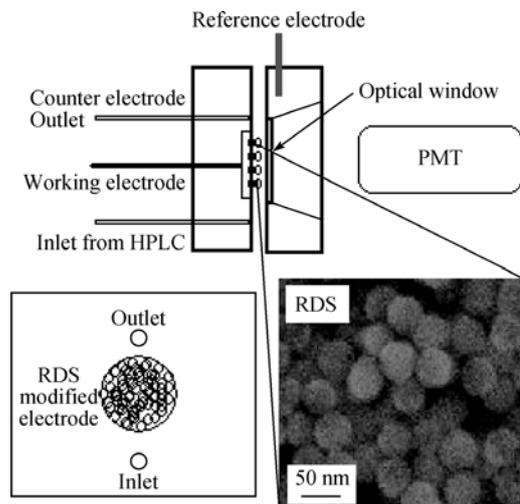


图 1 HPLC 应用的 ECL 流动池示意图

20 mmol/L  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ , 100  $\mu\text{L}$  TEOS 和 60  $\mu\text{L}$  25% 氨水混合溶液搅拌 24 h, 然后加入 2 mL 丙酮以获得 RuSiNPs 沉淀. 经过离心分离后的 RuSiNPs, 依次使用丙酮、乙醇和水洗涤干燥后储存于冰箱内待用. 制备 RuSiNPs/Nafion-GCE 时, 玻碳电极 GCE ( $\phi$  5 mm) 依次用 0.3 和 0.05  $\mu\text{m}$   $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$  磨光, 每次磨光后用超纯水冲洗和超声, 最后用氮气流吹干. 配置 5 mg/mL RuSiNPs-0.2% Nafion 乙醇悬浮液, 并移取 2  $\mu\text{L}$  悬浮液滴至玻碳电极表面后, 60 $^\circ\text{C}$  下烘干 24 h.

### 2.3 样品的制备和处理

用 0.45  $\mu\text{m}$  孔径的微孔滤膜 (Millipore Co., USA) 对几种进口啤酒样品进行真空过滤以除去气泡. 准确移取过滤后样品 0.50 mL 并用 15 mmol/L 的 PBS (pH 6.5) 稀释至 50.0 mL. 取 20  $\mu\text{L}$  所得溶液, 注入 HPLC 系统进行分离分析 (图 1).

## 3 结果与讨论

### 3.1 钌纳米硅球的形貌以及荧光特性

RuSiNPs 尺寸和粒径的均匀性影响其光谱和电化学性能, 控制所制备的 RuSiNPs 粒径的均匀性是提高 ECL 检测稳定性和灵敏度的关键步骤之一. 通过 TEM 对所合成的 RuSiNPs 形貌进行表征. 由图 2 可以看出, 所制备的 RuSiNPs 具有很好的分散性, 并且尺寸均匀, 其直径约  $(58 \pm 8)$  nm. 分别进行悬浮液

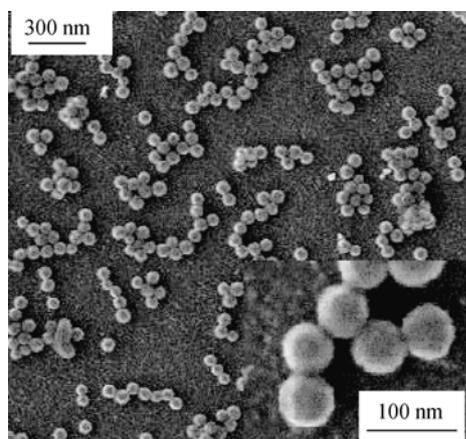


图 2 RuSiNPs 的 TEM 形貌

和固定在 Nafion 膜中 RuSiNPs 的荧光光谱测定, 结果显示它们的最大发射波长分别是 594 和 589 nm, 与水溶液中  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  的最大荧光发射波长(600 nm)相比, 最大发射波长只有 6 和 11 nm 的蓝移, 表明包埋于纳米硅球中的  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  能很好地保持其原有的光化学特性.

### 3.2 RuSiNPs 修饰电极的电化学和 ECL 特征

利用循环伏安(CV)方法考察包埋于纳米硅球中的  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  的电化学行为. 由图 3-2 可见, 0.10 mol/L  $\text{NaOH-Na}_2\text{HPO}_4$  缓冲溶液中(pH 10.0), RuSiNPs/Nafion-GCE 的氧化峰位于 1.07 V, 相应的还原峰位于 1.00 V. 而在水溶液中,  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  的氧化峰为

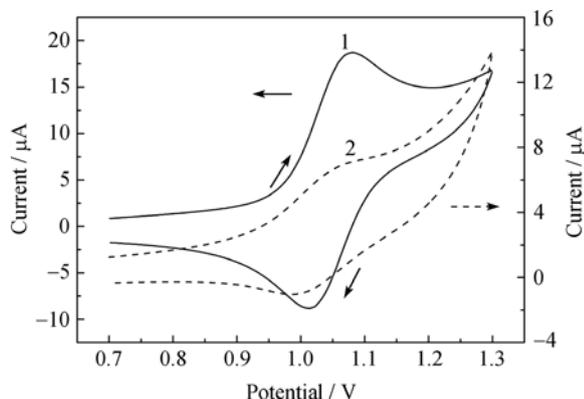


图 3  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  和 RuSiNPs/Nafion-GCE 的循环伏安响应  
1. 0.5 mmol/L  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ ; 2. RuSiNPs/Nafion-GCE.

介质: 0.05 mmol/L  $\text{NaOH-Na}_2\text{HPO}_4$  (pH 10.0), 电压扫描速度: 60 mV/s

1.09 V, 相应的还原峰位于 1.02 V (图 3-1), 氧化还原峰电位相差都为 70 mV 左右. CV 研究结果表明, 包埋于纳米硅球中的联吡啶钌保持着较好的电化学可逆特性, 该特性保证了 RuSiNPs/Nafion-GCE 在 ECL 传感检测应用中的可逆性.

利用 RuSiNPs/Nafion-GCE 分别考察了含有 1.0 mmol/L 甲醇、乙醇和丙醇在 0.05 mmol/L  $\text{NaOH-Na}_2\text{HPO}_4$  缓冲溶液的 ECL 行为. 研究结果显示(图 4), 以 60 mV/s 电压速率时, 在 1.1 V 左右, RuSiNPs/Nafion-GCE 获得最强的 ECL; 体系中加入甲醇或乙醇, 其 ECL 强度明显增强, 并且甲醇的增强效应明显强于乙醇的影响. 醇类对水溶液中  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  ECL 影响的反应机理研究已有过报道<sup>[13]</sup>, 一般认为在  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  被氧化的同时, 醇类也被氧化并生成  $\text{RCH}_2\text{O}\cdot$  自由基, 而 ECL 通常是一种自由基的反应过程,  $\text{RCH}_2\text{O}\cdot$  的出现有助于激发态  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+*}$  的生成. 与乙醇相比较, 甲醇中  $-\text{CH}_3$  推电子能力强于  $\text{CH}_3\text{CH}_2-$  和更长碳链的烷基, 该特性有利于  $\text{CH}_3\text{O}\cdot$  的生成与稳定, 从而使得在所有醇类的 ECL 中, 甲醇的发光强度最强.

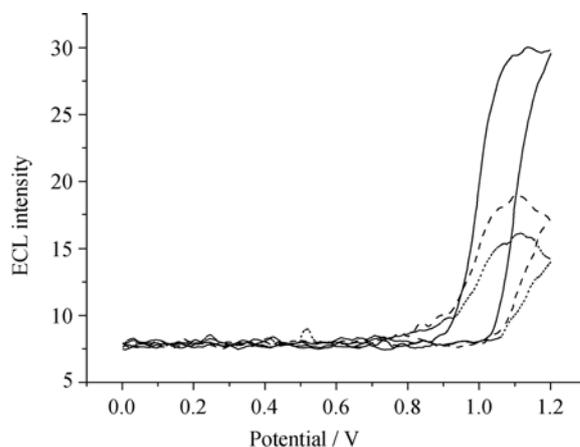


图 4 循环电位扫描下的醇类化合物在 RuSiNPs/Nafion-GCE 上的 ECL

(—) 甲醇, (---) 乙醇, (····) 丙醇.

介质条件和电压扫描速度同图 3, 各醇的浓度: 1.0 mmol/L

### 3.3 RuSiNPs/Nafion 的条件优化及修饰 GCE 电极评价

由于 Nafion 良好的导电性和化学惰性, 利用

Nafion 进行电化学活性物质的固定以及电极表面的修饰已有很多报道<sup>[14-16]</sup>. 研究利用将 RuSiNPs 固定和修饰在 GCE 表面, 由于 Nafion 的用量影响 RuSiNPs 包埋和电极的电子传导能力, 太少量的 Nafion 限制 RuSiNPs 的包埋数量, 不利于测定灵敏度的提高, 而太多的 Nafion 使用, 将增加传感膜层的厚度, 增加响应时间. 实验结果表明, GCE 表面滴覆 2.0  $\mu\text{L}$  的 Nafion 浓度从 0.05% 增加到 0.5%, 醇类的 ECL 强度稳定不变, 实验选择 Nafion 的浓度为 0.2%. 另外 Nafion 修饰膜中 RuSiNPs 的量会影响 ECL 信号. 实验结果显示, RuSiNPs 浓度的提高将增加包埋于 Nafion 中 RuSiNPs 量, 有助于 ECL 强度的提高, 但 RuSiNPs 浓度超过 1.2 mg/mL 时, ECL 信号的波动明显增加. 因此实验选择用以修饰 GCE 的 RuSiNPs 浓度为 1.0 mg/mL.

RuSiNPs-GCE 的稳定性可以通过重复地检测修饰电极的 ECL 强度变化获得. 在静态溶液中, 使用 CV 电压扫描(0.4 V 到 1.2 V)方式, 考察经过 100 次扫描后的 ECL 响应变化, 结果表明扫描前后的 ECL 变化率为 1.8%(图 5). 实验进一步考察了在流动状态下 ECL 强度的变化情况, 在 NaOH-Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 缓冲溶液中, 经过一周每天 6 h 的连续实验, ECL 的强变化为 3.8%, 显示了修饰电极良好的使用寿命和重现性. 在 Nafion-RuSiNPs 修饰的 GCE 中, 由于 Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup> 是一种稳定的化学发光试剂, 它的光化学特性保证其化学发光长时间稳定; Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup> 和 SiNPs 之间强的相互

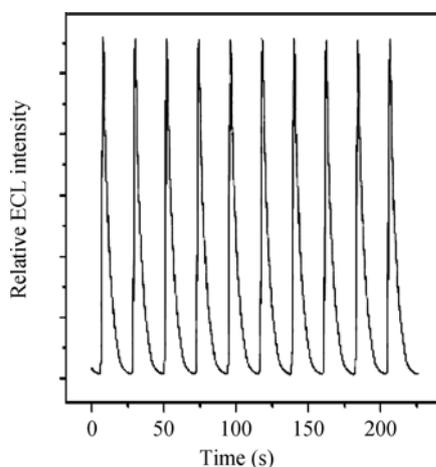


图 5 RuSiNPs-GCE 在静态 CV 扫描时的 ECL 信号  
介质条件和电压扫描速度同图 3

作用, 使得 SiNPs 为 Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup> 的富集提供了合适的环境, 并明显增加 Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup> 浓度; 聚合电解质 Nafion 能促使 Nafion-RuSiNPs 膜很好地吸附于 GCE 表面, 这些因素使得 RuSiNPs-GCE 显现出很好的稳定性和长期使用寿命.

### 3.4 实验条件对醇类 HPLC-ECL 的影响

实验结果表明, 在流动体系中醇类在 RuSiNPs-GCE 上 ECL 的行为受流动相 pH 值、流速、电解电压以及支持电解质浓度等因素的影响.

前期的研究结果表明, 介质的 pH 值对醇类的 ECL 有明显的影响. 由于碱性介质有利于 RCH<sub>2</sub>O·自由基的生成, 较强的碱性介质可以获得较强的 ECL 信号, 在 Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>-KOH-KCl 流动体系中, pH 为 12 时 ECL 的发光强度最大<sup>[13]</sup>. 实验考察了在 7.0-13.0 范围内介质的 pH 值对甲醇在 RuSiNPs 上 ECL 的影响. 实验发现 pH 值从 7.0 增加到 10.0 时, ECL 信号显著增加, pH 值的进一步增加导致 RuSiNPs 本底发光的增加, 也提高了背景 ECL 信号的变动, 是测定的重现性变差. 介质的 pH 为 10.0 时, ECL 可以获得最佳的信噪比. 另一方面, 实验还比较了具有相同 pH 值的硼酸-氯化钾-氢氧化钠, 氨基乙酸-氯化钠-氢氧化钠, 磷酸氢二钠-氢氧化钠和氯化钾-氢氧化钠缓冲体系中, 甲醇在 RuSiNPs 上 ECL 的变化情况, 结果表明除氨基乙酸-氯化钠-氢氧化钠体系由于氨基酸在碱性介质中也有很强的 ECL 造成很高的背景信号外, 其他种类的介质对甲醇的 ECL 影响不是非常的明显. 实验选用磷酸氢二钠-氢氧化钠缓冲溶液为实验介质. 体系中适当浓度的电解质将提高体系的电子传导能力, 有利于检测灵敏度的提高. 研究表明, 当 NaOH-Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 浓度增加至 0.09 mol/L 时, ECL 强度基本上保持不变. 考虑较高浓度的电解质将可能带入较多杂质, 在 HPLC 柱后 pH 调节流动溶液中, 选用 NaOH-Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 的浓度为 0.20 mol/L.

根据上面 CV 实验结果(图 3), 可以推断醇类在 RuSiNPs 上 ECL 的施加电压必须大于 1.1 V. 在流动体系中, 在施加电压为 1.2 V 时, 醇类在 RuSiNPs 上可获得稳定和较强的 ECL 信号.

### 3.5 醇类 HPLC-ECL 响应及其样品检测

实验选用甲醇、乙醇、2-甲基乙醇、正丙醇、2-

甲基丙醇、正丁醇和正戊醇为代表性醇类, 利用 PRP-1 分离柱进行分离和 ECL 检测. 通过流动相成分和流速的条件优化, 发现流动相为 15 mmol/L 的 PBS(pH 6.5), 流速为 0.8 mL/min 时, 以上 7 种醇类能够得到良好的分离(图 6). 调整柱后 0.20 mol/L NaOH-Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 的流速, 以获得适合 ECL 检测的 pH 值. 实验发现控制 NaOH-Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 的流速为 0.3 mL/min 时, 色谱柱的流出液和 NaOH-Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 混合后的 pH 值在 10 左右, 该条件下可以获得最佳醇类 ECL 信号. 在所选定的最佳实验条件下, 获得 7 种醇类化合物的检出限分别为甲醇  $6.7 \times 10^{-5}$  mol/L, 乙醇  $8.2 \times 10^{-5}$  mol/L、2-甲基乙醇  $4.2 \times 10^{-4}$  mol/L、正丙醇  $3.9 \times 10^{-4}$  mol/L、2-甲基丙醇  $4.4 \times 10^{-4}$  mol/L、正丁醇  $4.2 \times 10^{-4}$  mol/L 和正戊醇  $8.8 \times 10^{-4}$  mol/L,

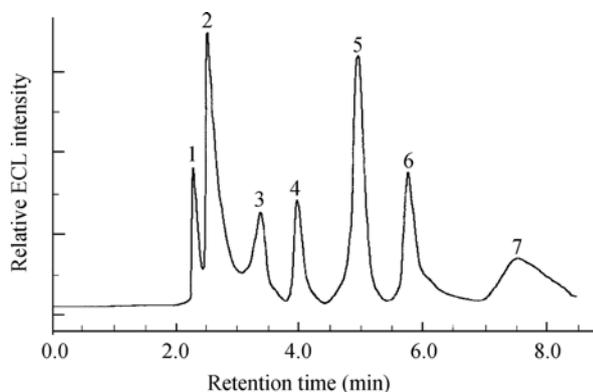


图 6 7 种醇的 HPLC 分离和 ECL 响应

1. 甲醇, 2. 乙醇, 3. 2-甲基乙醇, 4. 正丙醇, 5. 正丁醇, 6. 2-甲基丙醇, 7. 正戊醇.

实验条件: 工作电极, RuSiNPs/Nafion-GCE; 参比电极, Ag/AgCl; 施加电压, +1.3 V; PRP-1 分离柱; 流动相, 15 mmol/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (pH 6.5); 流速, 0.8 mL/min; 柱后 pH 和电解质浓度调节液: 0.1 mol/L NaOH-Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 12.0; 流速, 0.3 mL/min; 各种醇浓度: 甲醇, 1.0 mmol/L; 正丁醇, 8.0 mmol/L, 其他醇类均为 2.0 mmol/L

表 1 啤酒样品中乙醇含量的检测结果 ( $n=5$ )

样品	检出量(mmol/L)	加入量(mmol/L)	加标检出量(mmol/L)	回收率(%)	含量(%)
1	1.05 ± 0.03	0.50	1.43 ± 0.06	93.2 ± 4.2	4.85 ± 0.15
		1.00	2.13 ± 0.08	96.1 ± 3.8	
2	1.12 ± 0.03	0.50	1.64 ± 0.06	104.3 ± 3.5	5.16 ± 0.13
		1.00	2.17 ± 0.07	102.3 ± 3.3	
3	1.10 ± 0.04	0.50	1.09 ± 0.03	94.5 ± 2.6	5.07 ± 0.18
		1.00	2.05 ± 0.06	95.6 ± 2.9	

它们的线性都落在  $10^{-4}$ ~ $10^{-2}$  mol/L 范围内, 相对标准偏差变动范围为 3.8%~5.3%. 表明该方法对醇类的分离检测具有较好的重现性.

几种市场上购得的进口啤酒样品的 HPLC-ECL 检测结果显示(表 1), 样品中的酒精度和商品外包装上所显示的酒精度不小于 5% 的数值相近, 其含量范围在 4.85%~5.16% 之间. 样品的加标回收率在 93.2%~104.3% 之间, 显示了检测结果较高的确信度. 样品的 HPLC-ECL 图谱(图 7)可以看出, 其色谱图比较简单, 易于进行样品中乙醇含量的检测分析.

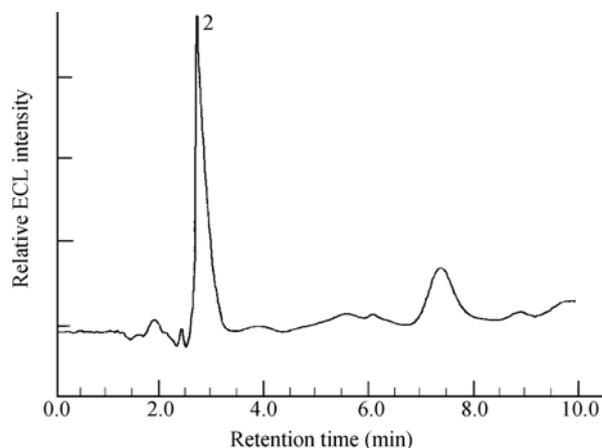


图 7 啤酒样品中乙醇的检出色谱图

实验条件同图 3 所示

## 4 结论

研究工作利用纳米硅球包埋发光试剂 Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>, 并使用 Nafion 有效地固定 RuSiNPs 在玻碳电极上, 所构成修饰电极在醇类 HPLC-ECL 分离分析应用中, 显示出较好的稳定性和灵敏度. 初步的样品检测结果显示, 所提出的方法具有一定的分析应用的潜力.

致谢 本工作得到国家自然科学基金(批准号: 20775064)资助, 特此致谢.

## 参考文献

- 1 Yi C Q, Li P W, Tao Y, Chen X. High-performance liquid chromatographic determination of quinolizidine alkaloids in *radix sophora flavescens* using tris(2,2'-Bipyridyl)ruthenium(II) electrochemiluminescence. *Microchim Acta*, 2004, 147: 237—243
- 2 Sun Y H, Zhang Z J, Xi Z J. Direct electrogenerated chemiluminescence detection in high-performance liquid chromatography for determination of ofloxacin. *Anal Chim Acta*, 2008, 623: 96—100
- 3 Wang J W, Zhang X J, Pi F F, Wang X X, Yang N J. Tris(2,2'-bipyridyl) ruthenium(II)-bisoprolol-based electrochemiluminescence coupled with capillary zone electrophoresis. *Electrochim Acta*, 2009, 54: 2379—2384
- 4 Zhang X, Bard A J. Electrogenerated chemiluminescent emission from an organized (L-B) monolayer of a Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>-based surfactant on semiconductor and metal electrodes. *J Phys Chem*, 1988, 92: 5566—5569
- 5 Greenway G M, Greenwood A, Watts P, Wiles C. Solid-supported chemiluminescence and electrogenerated chemiluminescence based on a tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II) derivative. *Chem Commun*, 2006, 1: 85—87
- 6 Collinson M M, Novak B, Martin S A, Taussig J S. Electrochemiluminescence of ruthenium(II) tris(bipyridine) encapsulated in sol-gel glasses. *Anal Chem*, 2000, 72: 2914—2918
- 7 Choi H N, Cho S H, Lee W Y. Electrogenerated chemiluminescence from tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II) immobilized in titania-perfluorosulfonated ionomer composite films. *Anal Chem*, 2003, 75: 4250—4256
- 8 Shi L H, Liu X Q, Li H J, Xu G B. Electrochemiluminescent detection based on solid-phase extraction at tris(2,2'-bipyridyl) ruthenium(II)-modified ceramic carbon electrode. *Anal Chem*, 2006, 78: 7330—7334
- 9 Oyama N, Anson F C. Catalysis of electrode processes by multiply-charged metal complexes electrostatically bound to polyelectrolyte coatings on graphite electrodes, and the use of polymer-coated rotating disk electrodes in diagnosing kinetic and conduction mechanisms. *Anal Chem*, 1980, 52: 1192—1198
- 10 Khramov A N, Collinson M M. Electrogenerated chemiluminescence of tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II) ion-exchanged in nafion-silica composite films. *Anal Chem*, 2000, 72: 2943—2948
- 11 Lin Z J, Chen X M, Jia T T, Wang X D, Xie Z X, Oyama M, Chen X. Fabrication of a colorimetric electrochemiluminescence sensor. *Anal Chem*, 2009, 81: 830—833
- 12 Zhang L H, Dong S J. Electrogenerated chemiluminescence sensors using Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup> doped in silica nanoparticles. *Anal Chem*, 2006, 78: 5119—5123
- 13 Chen X, Sato M, Lin Y J. Study of the electrochemiluminescence based on tris(2,2'-bipyridine) ruthenium(II) and alcohols in flow injection system. *Microchem J*, 1998, 58: 13—20
- 14 Chen Y T, Jiang Y Y, Lin Z Y, Zhang L, Chen G N. An electrochemiluminescent detector based on multi-wall-carbon-nanotube/Nafion/Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup> composite film modified heated-electrode. *J Nanosci Nanotech*, 2009, 9: 2303—2309
- 15 Chen S M, Chen J Y, Thangannithu R. Electrochemical preparation of brilliant-blue-modified poly(diallyldimethylammonium chloride) and Nafion-coated glassy carbon electrodes and their electrocatalytic behavior towards oxygen and L-cysteine. *Electroanalysis*, 2008, 20: 1565—1573
- 16 Gao W, Xia X H, Xu J J, Chen H Y. Three-dimensionally ordered macroporous gold structure as an efficient matrix for solid-state electrochemiluminescence of Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>/TPA system with high sensitivity. *J Phys Chem C*, 2007, 111: 12213—12219

## Solid-state ECL-HPLC determination of alcohols

YU Ping<sup>1,3</sup>, YE Tingxiu<sup>1</sup>, QIU Bin<sup>1</sup> & CHEN Xi<sup>1,2</sup>

1. Key Laboratory of Analysis and Detection Technology for Food Safety (Fuzhou University), Ministry of Education, Fuzhou 350105, China;

2. Department of Chemistry, College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China;

3. Fujian Research Institute of Metric Science, Fuzhou 350003, China

**Abstract:** Using the water-in-oil microemulsion method, monodispersed nanoparticles are synthesized and applied to immobilize  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  to produce  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ -doped silica nanoparticles (RuSiNPs). Nafion was selected to compose RuSiNPs/Nafion composite film which was immobilized on a glassy carbon electrode to generate a sensing electrode. An electrochemiluminescence-high performance liquid chromatography (ECL-HPLC) approach for alcohol determination was developed using the modified electrode. Based on the cyclic voltammogram and ECL results of the RuSiNPs/Nafion modified electrode,  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  doped in silica nanoparticles retain its original photo- and electrochemical properties. After optimized the experimental conditions, the detection limit was found to be  $6.7 \times 10^{-5}$ ,  $8.2 \times 10^{-5}$ ,  $3.9 \times 10^{-4}$  and  $4.2 \times 10^{-4}$  mol/L for methanol, ethanol, propanol or butyl alcohol, respectively. The proposed ECL approach was used to analyze the ethanol content in beer samples.

**Keywords:** electrochemiluminescence, tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II),  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ -doped silica nanoparticles, HPLC, alcohols