

一种在弱酸性介质中有电化学发光性能的 鲁米诺衍生物^①

顾 希 丁一 沈宗璇 屠一锋^②

(苏州大学化学化工学院, 分析化学研究所 江苏省苏州市苏州工业园区
苏州大学独墅湖校区 215123)

摘 要 报道了一种鲁米诺的衍生物-3-(1-乙酰丙酮偶氮) 苯二甲酰肼在酸性介质中的电化学发光行为, 该化合物与鲁米诺类似, 发生两步电化学氧化反应, 但其氧化电位较鲁米诺低约 0.5V, 在氧化铟锡玻璃电极上具有良好的电化学发光性能, 有效地避免了氧化铟锡玻璃电极本身的发光干扰。不仅在碱性介质中具有较高的电化学发光效率, 而且在酸性介质中也产生较稳定的电化学发光, 在 $1.0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ 以上浓度, 电化学发光强度与浓度有良好的线性关系。

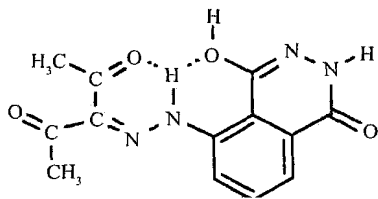
关键词 电化学发光, 酸性介质, 鲁米诺衍生物, 3-(1-乙酰丙酮偶氮) 苯二甲酰肼, 氧化铟锡玻璃电极。

中图分类号: O657.14 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-8138(2006)04-0778-04

1 前言

电化学发光(Electrochemiluminescence, ECL) 分析是一种十分灵敏的分析方法^[1,2], 鲁米诺作为电化学发光分析中常用的发光试剂已有很多文献报道, 但其存在的最主要的局限性是其发光反应必须在碱性介质中发生^[3], 这对应用电化学发光分析于生物催化体系的检测是十分不利的, 因为几乎所有的酶催化反应的最适酸度是在弱酸性至近中性条件。

本文研究了一种鲁米诺的衍生物 3-(1-乙酰丙酮偶氮) 苯二甲酰肼 (Phthalhydrazidylazoacetylacetone, PHAA) 的电化学发光性能, 该化合物于 1986 年由 Thankarajan 等首先报道^[4], 其后于 1998 年 Roda 等报道利用该化合物在碱性介质中与过氧化氢反应产生的化学发光可用于对由幽门螺旋菌引起的慢性胃炎、消化道溃疡以至胃癌进行诊断^[5], 此检测是基于幽门螺旋菌产生尿酶分解尿酸而改变介质酸度从而使发光强度改变而实现的。该化合物分子结构为:



是鲁米诺经重氮化后与戊二醇反应合成的衍生物, 我们在合成此化合物的基础上, 研究了其在 ITO 电极上的电化学发光行为, 研究结果表明 PHAA 在 ITO 电极上表现出优异的 ECL 性能, 尤其是该化合物在弱酸性和中性介质中具有良好的电化学发光性能, 为实现生物反应的电化学发光检

① 本文系国家自然科学基金资助(20275025)

② 联系人, 电话: (0512) 67178568; 传真: (0512) 65101162; E-mail: tuyf@suda.edu.cn

作者简介: 顾希(1981—), 男, 江苏省太仓市人, 硕士研究生, 从事电化学发光分析研究。

收稿日期: 2006-02-18; 接受日期: 2006-03-16

测提供了一条新的更为有利的途径。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

GSZF-2 单光子计数器(天津港东科技发展有限公司);CHI660a 电化学工作站(上海辰华仪器公司);DETA 320 酸度计(瑞士 METTLER 公司);ITO(氧化铟锡玻璃)电极或 Pt 电极为工作电极, SCE 电极或银丝为参比电极, 铂丝为辅助电极。

PHAA 在苏州大学有机合成重点实验室合成并表征, 其余试剂均为分析纯, 实验用水为二次亚沸蒸馏水。

2.2 实验方法

电极预处理: ITO 玻璃在无水乙醇中超声波洗涤 2min, 再用亚沸水超声波洗涤 2min; Pt 电极先在金相砂纸上打磨平整后, 再用 Al_2O_3 抛光处理, 然后在无水乙醇中超声波洗涤 2min, 再用亚沸水超声波洗涤 2min。

电化学工作站采用阶跃恒电位电解方式工作, 工作参数包括上、下限电位及恒电位时间均根据实验需要设定。单光子计数器在进行域值校正后可有效地消除背景光的干扰, 提高信噪比。

吸取适量不同浓度的 PHAA 储备溶液和缓冲溶液或 NaOH 溶液转移到电解池中, 施加阶跃电压, 记录光信号, 考察相关因素影响。

3 结果与讨论

3.1 电极的选择

在酸性及中性介质中, 以 Pt 电极为工作电极, PHAA 无电化学发光发生, 仅在碱性介质中施加较高阶跃电位(上限电位 $\geq 0.8\text{V}$)时, 才能观测到电化学发光现象。而以 ITO 电极为工作电极时, PHAA 在酸性、中性和碱性介质中均有电化学发光发生, 碱性体系中在相同条件下其发光强度远大于以 Pt 电极为工作电极时的发光强度, 本文选择 ITO 为工作电极进行研究。

3.2 ITO 电极上 PHAA 的伏安性能及电化学发光性能

经选择, 以 ITO 为工作电极, 在 $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-HCl}$ 缓冲溶液中 PHAA 具有良好的伏安性能, 其循环伏安曲线见图 1, 由图 1 可见, PHAA 发生两步电化学氧化反应, 电位分别约 0.1V 和 0.6V, 较鲁米诺的电化学氧化电位低约 0.5V^[6], 而由于 ITO 电极在电位高于约 1.0V 时有自身发光现象^[7,8], 因此用于研究鲁米诺的电化学发光时只能采用较低的氧化激发电位, 即只能利用第一步氧化反应, 虽然也能产生一定强度的发光信号, 但效率较低, 而对于 PHAA, 由于其氧化电位较低, 因此当阶跃电位达到 0.7V 时, 即可保证实现 PHAA 的第二步氧化反应, 因此有较高的发光效率。循环伏安过程对应的发光强度见图 2, 由图 2 可见, 在伏安扫描过程中当电位达到 PHAA 的第二步氧化电位时即产生电化学发光, 而当逆向扫描至电位低于此氧化电位时, 电化学发光即不再发生, 实验结果显示 PHAA 在 ITO 电极上的电化学发光是基于其第二步氧化而发生的, 而且由于 PHAA 的氧化电位较低, 因此可以避免 ITO 自身发光的干扰。

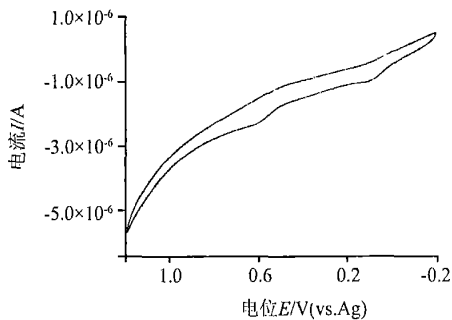


图 1 PHAA 在 ITO 电极上的循环伏安曲线

3.3 发光强度与阶跃电位的关系

在进行 PHAA 的电化学发光研究过程中, 采用阶跃方式^[9]进行电化学氧化激发其电化学发光, 所选择的阶跃电位周期为 5s, 其中前 4s 处于电位下限, 后 1s 阶跃至上限电位, 采用阶跃方式的优点是在下限电位(选择为 0V)时, PHAA 不发生电化学反应, 当电位上升时, PHAA 因氧化激发而发光, 因电位处于上限电位的时间较短而处于下限电位的时间较长, 因此有足够的时间保证通过扩散作用使溶液中的 PHAA 到达电极表面以补充在氧化时所消耗的量, 故能够得到较稳定的发光信号。在酸性体系中当阶跃电位的上限电位 ≥ 0.6 V 时, 有电化学发光发生, 当上限电位达到 0.7V 以上时, 发光强度达到最大且较稳定。

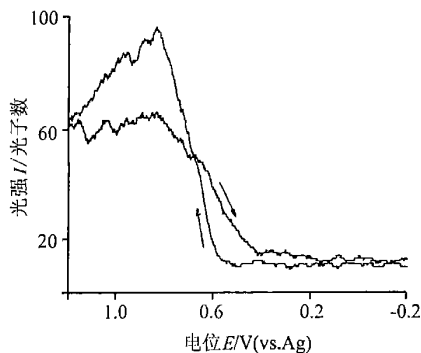


图 2 PHAA 在循环伏安过程中的电化学发光行为

3.4 发光强度和 pH 值的关系

在不同酸度条件下 PHAA 的发光强度见图 3, 由图 3 可见, PHAA 的电化学发光以在碱性溶液中较为强烈, 且发光强度随碱性增加而增强, 这一点与鲁米诺是相似的, 但与鲁米诺明显不同的是, 鲁米诺在 $\text{pH} < 8$ 的介质中电化学发光强度非常低, 以同样的实验设备根本无法记录到其发光信号, 而 PHAA 在中性乃至酸性介质中仍然有可测的电化学发光产生, 尤其是在酸性体系中, 在 $\text{pH} 4.2$ 的 $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-HCl}$ 缓冲体系中, 可以得到较显著的电化学发光信号, 因而为在酸性介质中应用电化学发光的研究提供了很好的基础, 在鲁米诺及其衍生物的电化学发光研究中, 类似的实验现象尚未报道过。

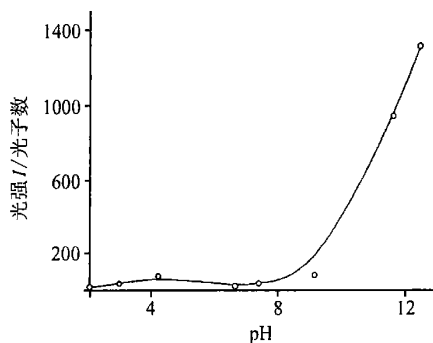


图 3 不同酸度介质中 PHAA 的 ECL 强度
 $C_{\text{PHAA}} = 5 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$, 上限电位 1.0V。

3.5 酸性体系中 ITO 电极上发光强度与 PHAA 浓度的关系

在上述酸性介质中, PHAA 在 ITO 电极上的电化学发光对其浓度有良好的响应, 响应最低浓度为 $5.7 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$, 在 $1.0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ 浓度以上具有线性, 图 4 所示为在 $1.0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ — $1.5 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 浓度范围内的线性响应曲线, 其回归方程为 $I = 14.95 + 19.39 \times 10^6 C$, 线性相关系数为 0.9997。

4 结论

研究结果表明, PHAA 的电化学发光性能与鲁米诺不同, 尤其是其在弱酸性和中性介质中的电化学发光是鲁米诺不具备的, 这一点弥补了鲁米诺电化学发光分析只能应用于碱性介质的限制, 为拓宽电化学发光的应用, 尤其是应用于生物催化体系提供了有利条件。

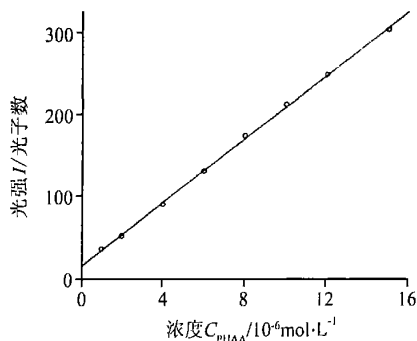


图 4 PHAA 的 ECL 强度与浓度的关系

参考文献

- [1] 徐国宝,董绍俊. 电化学发光及其应用[J]. 分析化学, 2001, **29**(1): 103—108.
- [2] Tanaka M, Kamiya S, Shibue A, Namba K, Ikariyama Y, Aizawa M. Electrochemical Luminescence-Based Homogeneous Immunosensor[J]. *Sensors & Actuators: B. Chemicals*, 1993, **13**(1—3): 184—187.
- [3] Sheng C H, Yang O, Wang C M. Clay-Enhanced Electrochemiluminescence and Its Application in the Detection of Glucose[J]. *J. Electrochem. Soc.*, 1998, **145**(8): 2654—2659.
- [4] Thankarajan N, Krishnankutty K, Srinivasan T K K. Chemiluminescence of 2-(3-Phthalhydrazidylazo)-1, 3-Diketones[J]. *J. Indian Chem. Soc.*, 1986, **63**: 977—979.
- [5] Aldo R, Francesco P, Patrizia P, Mario B, Laura B, Stefania F, Franco B. Development of a Chemiluminescent Urease Activity Assay for Helicobacter Pylori Infection Diagnosis in Gastric Mucosa Biopsies[J]. *Anal. Biochem.*, 1998, **264**(1): 47—52.
- [6] 屠一锋, 黄炳强, 郭文英, 陈瑾. 中性体系中鲁米诺电化学发光行为[J]. 分析化学, 2002, **30**(6): 729—731.
- [7] 王智泳, 郭文英, 狄俊伟, 屠一锋. 鲁米诺在ITO 玻璃上的电聚合及电化学发光性能研究[J]. 分析化学, 2005, **33**(6): 763—766.
- [8] 王智泳, 郭文英, 狄俊伟, 屠一锋. ITO 玻璃上鲁米诺的电化学发光行为研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2005, **25**(10): 1564—1567.
- [9] 屠一锋, 郭文英, 黄炳强, 朱亚一. 影响鲁米诺体系电致化学发光因素的研究[J]. 光谱实验室, 2001, **18**(2): 185—188.

Derivative of Luminol in Possession of Electrochemiluminescence in Acidic Medium

GU Xi DING Yi SHEN Zong-Xuan TU Yi-Feng

(Institute of Analytical Chemistry, College of Chemistry and Chemical Engineering,

Dushu Lake Campus of Suzhou University, Suzhou Industrial Park, Suzhou, Jiangsu 215123, P. R. China)

Abstract A derivative of luminol-phthalhydrazidylazoacetylacetone (PHAA) in acidic medium shows a two-step oxidation reaction on indium tin oxide glass (ITO) electrode with oxidation potential 0. 5V lower than that of luminol, which avoids the self-generating luminescence of ITO electrode under higher potential. In pH4. 2 $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-HCl}$ buffer solution, the linear relation between ECL intensity of PHAA and its concentration higher than $1.0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ was obtained.

Key words Electrochemiluminescence, Acidic Medium, Derivative of Luminol, Phthalhydrazidylazoacetylacetone, Indium Tin Oxide Glass Electrode.

《光谱实验室》实际售价连续3年下降

由于投稿数量不断增加,为了保证出版周期,《光谱实验室》从2006年第1期开始,在2005年的基础上,每期正文增加页码16页,而售价保持不变:

2003年售价:20元/册,页码为160页/册,平均0.125元/页;

2004年售价:25元/册,页码为208页/册,平均0.120元/页。

2005年售价:25元/册,页码为224页/册,平均0.112元/页。

2006年售价:25元/册,页码为240页/册,平均0.104元/页。

因此,实际售价连续3年下降。

《光谱实验室》编辑部