

界面可控硫醇 SAMs 纳米金修饰金电极的 电化学行为研究

汪海燕^{1*}, 杨绳岩^{1,2}, 王世君³

(1. 巢湖学院 化学与生命科学学院, 安徽 巢湖 230038; 2. 厦门大学 化学系, 福建 厦门 361005; 3. 安徽大学 化学化工学院, 安徽 合肥 230039)

摘要: 在裸金电极上自组装不同比例的 4,4'-二甲基联苯硫醇(MTP) 和硫辛酸(TA) 混合液, 形成自组装膜(MTP + TA/Au SAMs), 再修饰纳米金, 制得纳米金混合巯基修饰金电极(AuNPs /MTP + TA/Au)。研究了纳米金混合巯基修饰金电极的电化学行为和阻抗行为, 结果表明电极表面 pH 值的改变对电极表面的电子转移有重要影响。对葡萄糖传感器的制备条件、测定条件、抗干扰能力等进行了讨论, 结果表明修饰电极的微结构和微环境有必要进一步研究。

关键词: 电化学; 硫醇; 自组装膜; 交流阻抗谱; 循环伏安法

中图分类号: O657.1; TQ921.2 文献标识码: A 文章编号: 1004-4957(2012)07-0868-05

doi: 10.3969/j.issn.1004-4957.2012.07.020

Study on Electrochemical Behavior of Controllable Interface Alkanethiols Self-assembled Monolayers and Au Nanoparticles Modified Gold Electrode

WANG Hai-yan^{1*}, YANG Sheng-yan^{1,2}, WANG Shi-jun³

(1. Department of Chemistry and Life Science, Chaohu College, Chaohu 230038, China; 2. Department of Chemistry, Xiamen University, Xiamen 361005, China; 3. School of Chemistry and Chemical Engineering, Anhui University, Hefei 230039, China)

Abstract: The self-assembled monolayers(SAMs) of 4,4'-bis(methanethiol) biphenyl(MTP) and 6-thioctic acid(TA) were covalently combined on to a bare gold electrode to make self-assembled monolayers(TA + MTP/Au SAMs). It was then dipped into gold nanoparticles solution for a certain time to prepare the AuNPs/MTP + TA/Au electrode. The electrochemical behaviors of the modified electrode were investigated by cyclic voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy. The results showed that the acidity variation of the electrode surface had an important influence on the electron transfer. The preparation conditions, determination conditions and anti-interference ability of glucose sensor were discussed, which showed that it was necessary to further study the microstructure and microenvironment of the modified electrode.

Key words: electrochemistry; alkanethiols; self-assembled monolayers; impedance spectroscopy; cyclic voltammetry

将硫醇自组装到金电极表面形成的单分子层膜(Self-assembled monolayers, SAMs) 因具有优良的稳定性和有序性, 而受到人们越来越多的关注^[1-3]。金纳米粒子不仅具有一般纳米粒子的特性, 而且能引起电流响应信号的放大^[4-6]。文献[7]利用双组分巯基化合物, 采用自组装方法制备纳米金密度可控修饰电极, 结果表明修饰上的纳米金颗粒类似纳米电极。对于纳米材料修饰电极的研究, 许多研究者只注重研究纳米颗粒的性质, 而对修饰电极上纳米颗粒所处的微环境、微结构对电极电化学行为的影响尚未见报道。笔者前期^[8]研究了巯基化合物的结构对纳米金修饰效果的影响。本文通过修饰带有官能团的巯基化合物(如硫辛酸、硫辛胺等), 研制微结构和微环境可控的纳米材料修饰电极, 考察了微结构和微环境对修饰电极电化学行为的影响。应用循环伏安法及交流阻抗谱研究了修饰电极在 [Fe

收稿日期: 2012-03-04; 修回日期: 2012-05-02

基金项目: 安徽省高等学校省级自然科学研究一般项目(KJ2011B104)

* 通讯作者: 汪海燕, 硕士, 讲师, 研究方向: 电分析化学, Tel: 13696782926, E-mail: haiyan681108@163.com

(CN)₆]^{4-/-3-} 溶液中的电化学行为, 结果表明电极表面 pH 值的改变, 对电极表面的电子转移有重要影响。利用官能团的键合作用, 通过控制微环境研制出具有优异性能的新型葡萄糖传感器。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

HAuCl₄ (上海试剂厂); 4, 4'-二甲基联苯硫醇 (MTP, 实验室合成); 硫辛酸 (TA, Aldrich 公司); 氯化六氨合钨 (上海宝曼生物科技有限公司); 其余试剂为分析纯, 实验用水为二次石英重蒸水。阻抗实验所用溶液为 2.0 mmol/L [Fe(CN)₆]^{4-/-3-} + 0.5 mol/L KCl + 10 mol/L PBS (pH 7.0)。

Nicolet Nexus 870 型傅立叶红外仪, M283 电化学系统 (PARC, EG&G, USA), DMX-500 型核磁共振仪 (Bruker Avance, 德国), 电化学交流阻抗仪为 CHI604 (上海辰华仪器公司), Zeta Sizer 3000HS 纳米粒度测量仪 (英国马尔文公司), 所用的玻璃仪器均在二次水多次洗涤后使用。

1.2 实验过程

1.2.1 4, 4'-二甲基联苯硫醇 (MTP) 的合成^[9] 称取 2.3 g 硫脲于 50 mL 三口瓶中, 加入 95% 的乙醇 20 mL, 充分回流至溶液透明后加入 2.5 g 联苯二氯苯, 反应迅速析出大量白色物质。将经冷却、过滤后的白色产物转入三口瓶, 加入 20 mL KOH 溶液 (含 KOH 9.6 g), 白色物质溶解。110 °C 回流 9 h 后反应液略呈淡黄色。合成路线如下:



反应液冷却后, 用稀硫酸酸化, 出现大量白色絮状物, 有臭味。抽滤、干燥后以二氯甲烷重结晶。由 Nicolet Nexus 870 型傅立叶红外仪得 IR 谱 (图 1), 其中 3 028.12 cm⁻¹ 为苯环上的 C—H 伸缩振动峰, 1 495.32 cm⁻¹ 为苯环的骨架伸缩振动峰, 2 549.91 cm⁻¹ 为 SH 的伸缩振动峰, 2 922.95 cm⁻¹ 为 CH₂ 的 C—H 伸缩振动峰, 1 400.98 cm⁻¹ 为 —CH₂ 的变角振动峰。通过 DMX-500 型核磁共振仪测定 MTP 的 ¹H NMR。其中 7.46、7.30 ppm 为苯环上的 H, 3.71 ppm 为 —CH₂ 上的 H, 1.71 ppm 为 —SH 上的 H。积分高度比为 2 : 2 : 2 : 1。IR 谱图和核磁共振谱有力证明了产物为目标产物 MTP。

1.2.2 纳米金的制备 纳米金溶胶参照文献 [10] 制备, 利用 3000HS 型纳米粒度测量仪对金纳米粒子的粒径进行表征, 其平均粒径约为 8.7 nm (图 2A)。由其放大 20 万倍的透射电镜图 (图 2B) 可以看到, 纳米金分散性很好且颗粒粒径分布均匀。

1.2.3 AuNPs/MTP + TA/Au 电极的制备 按文献处理好 Au 盘电极^[11-12], 依次用无水乙醇和水超声波清洗, 然后在室温下浸泡于不同比例的 MTP 和 TA 的乙醇溶液中 (巯基化合物总浓度为 1 mmol/L), MTP 和 TA 自组装到电极表面。取出电极, 依次用无水乙醇和水淋洗后, 分别浸泡于上述金溶胶中一定时间, 取出电极, 经水淋洗干净后, 置于水中保存。TA 与 MTP 的摩尔比分别为 0、5、10、20, 对应混合溶液中自组装制备的修饰电

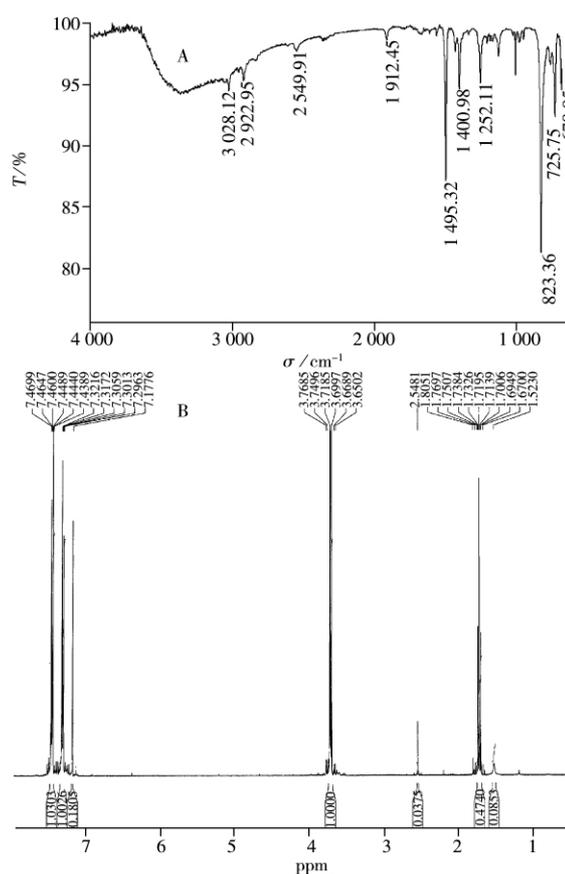


图 1 4, 4'-二甲基联苯硫醇的红外光谱 (A) 与核磁共振谱 (B)

Fig. 1 IR (A) and ¹H NMR (B) spectra of 4, 4'-bis(methanethiol) biphenyl (MTP)

极分别表示为 Au0、Au5、Au10、Au20，吸附纳米金后修饰电极分别表示为 AuNPs/Au0、AuNPs/Au5、AuNPs/Au10、AuNPs/Au20。

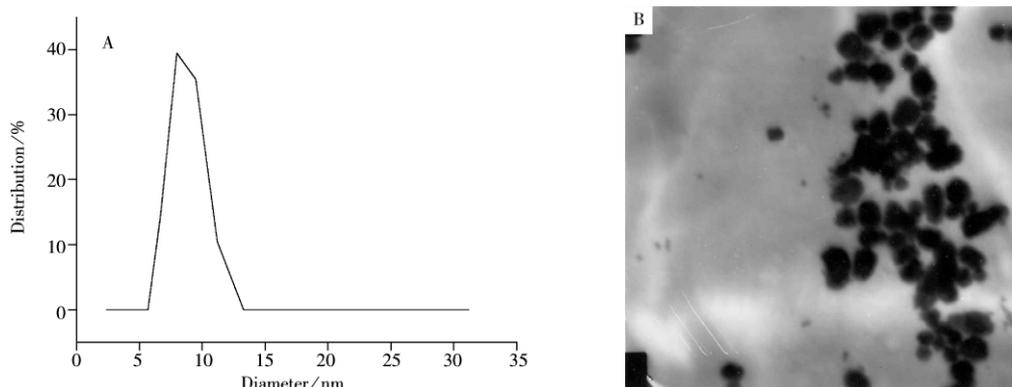


图 2 金纳米微粒的粒径分布 (A) 和透射电镜 (B) 图

Fig. 2 Size distribution (A) and TEM image (B) of gold nanoparticles

1.3 实验方法

电化学实验采用三电极体系：纳米金修饰电极为工作电极，Ag/AgCl (3 mol/L KCl) 为参比电极，铂丝为对电极。阻抗实验条件为：交流微扰幅度 10 mV，直流电压固定为 240 mV ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ 的式电位)，频率范围为 0.01 ~ 100 000 Hz。所有数据采集与记录均由微机控制自动完成，并通过测试软件进行数据转换，用绘图软件 (Origin) 绘制实验图谱。

2 结果与讨论

2.1 AuNPs/MTP + TA/Au 电极在 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ 溶液中的电化学行为

由于纳米金只能吸附在 MTP 另一端的巯基，所以纳米金在 SAMs 上的密度主要取决于 MTP 在单分子层的比例，即纳米金的密度随着 $c_{\text{TA}} / (c_{\text{MTP}} + c_{\text{TA}})$ 的变化而变化。将 a~d 修饰电极在 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ (PBS 7.0) 溶液中进行循环伏安 (CV) 扫描，如图 3A 所示，随着混合溶液中 TA 浓度的增大， $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ 的氧化还原峰电流逐渐减小，峰电位差逐渐增大，这与电极表面纳米金密度的减小一致。MTP + TA/Au SAMs (TA/MTP = 5) 由于未吸附纳米金，电极表面修饰的 MTP + TA 完全阻碍了 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ 电对的还原，故无氧化还原峰。

2.2 AuNPs/MTP + TA/Au 电极在 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ 溶液中的阻抗测试

采用交流阻抗法进一步研究 a~d 电极在 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ 溶液中的电化学性能， $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ 在氧化还原反应过程中在电极表面进行电子交换的能力如图 3B 所示，插图为等效电路图，其中 C_d 为双电层电容， R_Ω 为溶液电阻， R_s 为串联电阻。电极的交流阻抗谱^[13-14] (Nyquist 图) 由实部和虚部组成：

$$Z = Z_{\text{Re}} + Z_{\text{Im}}。其中，Z_{\text{Re}} = R_B = R_\Omega + \frac{R_s}{A^2 + B^2}，Z_{\text{Im}} = \frac{1}{\omega C_B} = \frac{B^2 / (\omega C_d) + A / (\omega C_s)}{A^2 + B^2}，式中 A = (C_d / C_s) +$$

1， $B = \omega R_s C_d$ ， ω 为频率， C_s 为假电容。通过不同的 ω 值绘制 Z_{Im} 对 Z_{Re} 的图，可得 Nyquist 图。

低频区： $\omega \rightarrow 0$ ，可得关系式： $Z_{\text{Im}} = Z_{\text{Re}} - R_\Omega - R_{\text{ct}} + 2\sigma C_d$ 。

在 Nyquist 图上电极的交流阻抗谱为一条直线，斜率为 1。

高频区：Warburg 阻抗变得不重要，可得关系式： $(Z_{\text{Re}} - R_\Omega - \frac{R_{\text{ct}}}{2})^2 + Z_{\text{Im}}^2 = (\frac{R_{\text{ct}}}{2})^2$ 。

电荷传递电阻 R_{ct} 反映的是在一定电位下，电极过程中电荷穿过电极和电解质溶液两相界面的难易程度，表现为半圆半径。由图 3B 可见，随着 TA 在混合溶液中的比例增大，高频区的半圆直径不断增大，表明电极的电阻依次增大，这是由于纳米金不能吸附在 TA 表面，导致电极表面纳米金的密度减小，降低了电极表面的电子传递能力。交流阻抗谱图说明了不同电极的表面修饰效果，所得结果与循环伏安法的结果一致。

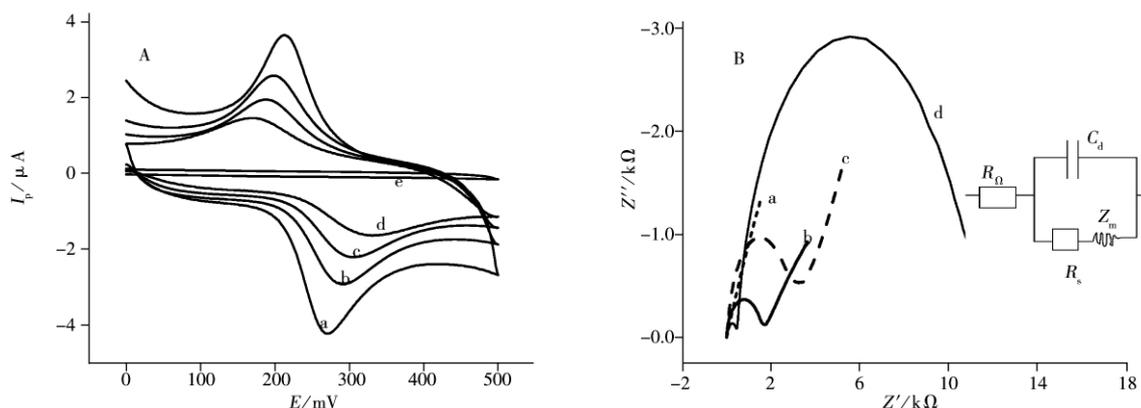


图 3 不同电极的循环伏安图 (A) 与交流阻抗谱图 (B)

Fig. 3 Cyclic voltammograms (A) and electrochemical impedance spectra (B) of different electrodes 2 mmol/L $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ + 0.1 mol/L KCl solution; a. AuNPs/Au0, b. AuNPs/Au5, c. AuNPs/Au10, d. AuNPs/Au20, e. MTP + TA/Au SAMs (TA/MTP = 5); A: scan rate: 0.05 V/s; B: frequency range: 0.01 - 10^5 Hz, potential: 0.24 V; insert: illustration for the equivalent circuit diagram

2.3 修饰电极在不同 pH 值溶液中的峰电位差 (ΔE_c)

硫辛酸的一个端基是巯基, 可以吸附到金电极表面, 另一端基是羧基, 具有酸性, 改变溶液 pH 值可以改变电极表面的微环境。裸金电极和修饰电极在不同 pH 值的 2 mmol/L $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ 溶液 (含 0.1 mol/L KCl) 中循环伏安峰电位差的变化见表 1。从表 1 可以看出: 随着 pH 值增大, 裸金电极的氧化峰和还原峰电位差基本保持不变; 而对于纳米修饰电极, 随着硫辛酸在 SAMs 中比例的增大, 峰电位差逐渐增大, 且在相同 pH 值的溶液中, 氧化峰与还原峰的电位差 (ΔE_c /mV) 逐渐增大, 最大达到 170 mV。这是由于在碱性环境下硫辛酸的 $-\text{COOH}$ 转变为 $-\text{COO}^-$, 而 $-\text{COO}^-$ 对带负电荷的 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ 有排斥作用, 阻碍了氧化还原电对在电极表面的电子转移。为进一步确证, 将 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ 替换为 $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+/2+}$, 在酸性环境下 (pH = 2.0 ~ 6.0) 的实验结果表明, 随着 pH 值的减小, 硫辛酸的 $-\text{COOH}$ 与带正电荷的 $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+/2+}$ 排斥作用增强, 氧化峰与还原峰的电位差逐渐增大, 随着硫辛酸在 SAMs 中比例的增大, 相同 pH 值溶液中氧化峰与还原峰的电位差逐渐增大, 与 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ 在碱性环境中的实验结果相对应。

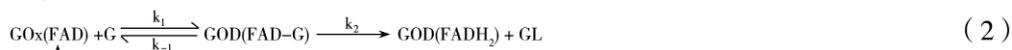
表 1 不同电极在不同 pH 值溶液中的峰电位差 (ΔE_c)Table 1 ΔE_c (mV) of different electrode in different pH value solution

$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$	pH value					$[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+/2+}$	pH value				
	8.0	9.0	10.0	11.0	12.0		6.0	5.0	4.0	3.0	2.0
Bare Au	63	66	65	67	67	Bare Au	64	65	66	66	67
AuNPs/Au5	64	72	74	80	92	AuNPs/Au5	70	74	77	80	81
AuNPs/Au10	65	82	111	130	154	AuNPs/Au10	72	76	79	81	82
AuNPs/Au20	67	89	121	149	170	AuNPs/Au20	74	86	89	92	93

2.4 电极的应用

利用巯基化合物如 TA 或其上的官能团 ($-\text{COOH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 等), 通过控制微环境, 将 DNA、酶或氧化还原蛋白 (如细胞色素 C 等) 通过表面化学反应键合至修饰电极表面, 研制出性能稳定的电化学生物传感器, 进而研究 DNA 等的电化学行为。将 “1.2.3” 方法中新制的电极 AuNPs/Au0 洗净后放入 1 mmol/L 硫辛胺的乙醇溶液中 24 h 后取出, 洗净后放入 2.5% 的戊二醛水溶液约 2 h 后取出, 氮气吹干, 将电极倒置, 在电极表面滴加 1 滴 5 g/L 葡萄糖氧化酶 (GOD), 于 4 °C 冰箱中放置一昼夜后, 用 pH 6.5 的磷酸盐缓冲溶液和含有 0.5% BSA 的 PBS 溶液 (pH 6.5) 淋洗, 制得的修饰电极记为酶电极 (GOx/GD/TN/AuNPs/MTP/裸 Au 电极), 浸入 PBS 溶液 (pH 6.5) 中于 4 °C 冰箱中保存备用。在极化电位 0.4 V, 实验温度 (25 ± 0.5) °C, 旋转速度为 1 000 r/min 时, 以酶电极为工作电极, 向 10 mL 0.1 mol/L PBS 溶液中每次加入 0.2 mL 0.1 mol/L 葡萄糖, 响应电流如图 4 所示。葡萄糖的浓度 ≤ 28 mmol/L 时, 浓度与电流值的增量符合线性回归方程: I_p (nA) = 1.89c (mmol/L) + 3.60, $r = 0.998$, 检出限

(3σ) 为 0.267 mmol/L, 响应电流与文献 [15-16] 报道值近似。取两份 20 mmol/L 葡萄糖溶液, 其中一份通入 O_2 至饱和, 另一份通入 N_2 除去溶解的 O_2 , 用酶电极在上述选定条件下测定两者的响应电流, 发现电流几乎相等, 这是由于金纳米粒子具有良好的电子传递性能, 可作为电极表面酶催化反应的电子转移媒介体。其催化过程如下:



式中 $GO_x(FAD)$ 和 $GOD(FADH_2)$ 分别代表葡萄糖氧化酶的氧化型和还原型; Au^+ 和 Au 分别代表电子转移媒介体的氧化型和还原型; G 和 GL 分别代表葡萄糖和葡糖酸内酯。

由于血液中的抗坏血酸和尿酸有较大的氧化电流而无还原电流(抗坏血酸试剂中因含少量杂质有较小的还原电流), 而葡萄糖具有对称的氧化还原电流, 因而选择在 -0.4 V 电位下测定葡萄糖来提高其抗干扰能力。实验证明, 在 -0.4 V 下检测结果的线性范围和灵敏度均与在 0.4 V 一致。该酶电极对葡萄糖的电催化氧化功能良好, 电极响应迅速, 性能稳定, 且可通过控制氧化电位减小干扰, 满足实际应用的要求^[17]。

参考文献:

- [1] Cui X L, Jiang D L, Li J X, Diao P, Tong R T, Wang X K. *Chem. J. Chin. Univ.* (崔晓丽, 蒋殿录, 李俊新, 刁鹏, 童汝亭, 王心葵. 高等学校化学学报), **1999**, 20(5): 800-802.
- [2] Cossaro A, Mazzarello R, Rousseau R, Casalis L, Verdini A, Kohlmeyer A, Floreano L, Scandolo S, Morgante I A, Klein M L. *Surf. Interfaces*, **2009**, 4: 30-31.
- [3] Toshio N, Ren J J, Zhu K M, Shinshi K, Jin B K. *Anal. Sci. September.*, **2006**, 22: 1261-1264.
- [4] Manso J, Mena M L, Yanez-Sedeno P, Pingarron J. *J. Electroanal. Chem.*, **2007**, 603(1): 1-7.
- [5] Bo Y, Yang Q, Meng Q, Hu Y, Huang S S. *Acta Chim. Sin.* (卜扬, 杨清, 孟琦, 胡赢, 黄杉生. 化学学报), **2010**, 68(7): 672-678.
- [6] Kumar S, Zou S Z. *Langmuir*, **2007**, 23(13): 7365-7371.
- [7] Jin B K, Ding S N, Kiyokazu K, Toshio N. *Chem. Lett.*, **2005**, 34(3): 302-303.
- [8] Wang H Y, Peng Z, Qin G X. *J. Chaohu College*(汪海燕, 彭贞, 秦国旭. 巢湖学院学报), **2011**, 3: 72-74.
- [9] Wang H Y. *Fabrication of Gold Nanoparticles Modified Gold Electrodes and Its Application to Bioelectrochemistry*(汪海燕. 纳米金修饰金电极及其在生物电化学中的应用研究). Hefei: Anhui University, **2007**.
- [10] Zhuo Y, Yuan R, Chai Y Q, Tang D P, Zhang Y, Wang N, Li X L, Zhu Q. *Electrochem. Commun.*, **2005**, 7: 355-360.
- [11] Xu Y Z, Zhang Y R, Zheng J F, Guo C, Niu Z J, Li Z L. *Int. J. Electrochem. Sci.*, **2011**, 6: 664-672.
- [12] Byung-Wook P, Dong-Shik K, Do-Young Y. *Korean J. Chem. Eng.*, **2011**, 1(28): 64-70.
- [13] Bard A J, Faulkner L R. Shao Y H, Zhu G Y, Dong X D, Zhang B L, transl. *Electrochemical Methods Principle and Application*. Beijing: Chemical Industry Press(阿伦. J. 巴德, 拉里. R. 福克纳. 邵元华, 朱果逸, 董献堆, 张柏林, 译. 电化学方法原理和应用. 北京: 化学工业出版社).
- [14] Macdonald J R. *Annals Biomed. Eng.*, **1992**, (20): 289-305.
- [15] Pan D W, Chen J H, Yao S Z, Nie L H, Xia J J, Tao W Y. *Sens. Actuators B: Chemical*, **2005**, 104: 68-74.
- [16] Wang M F, Zhang W, Fang B. *Chin. J. Anal. Chem.* (汪美芳, 张伟, 方宾. 分析化学), **2010**, 1: 125-128.
- [17] Lin Y H, Lu F, Tu Y, Ren Z F. *Nano Lett.*, **2004**, 4(2): 191-195.

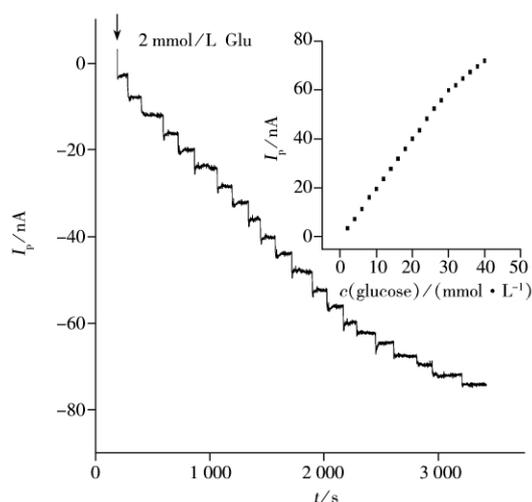


图 4 酶电极对 2 mmol/L 葡萄糖的响应电流

Fig. 4 Response of the modified electrode for 2 mmol/L glucose polarize potential: 0.4 V, temperature: (25 ± 0.5) °C, $r = 1000$ r/min; insert: plot of current vs. glucose concentration