

УДК 535.376:541.138

ЕЛЕКТРОХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНЦІЯ У ВОДНИХ РОЗЧИНАХ РУБРЕНУ ТА 9,10-ДИФЕНІЛАНТРАЦЕНУ, ІНКОРПОРОВАНИХ В ЛЕНГМЮР-БЛОДЖЕТТІВСЬКІ ШАРИ

© 2007 Білаш О.М., Кукоба А.В.*

Вперше досліджена у водних розчинах електрохемілюмінесценція (ЕХЛ) водонерозчинних електрохемілюмінофорів, інкорпорованих в Ленгмюр-Блоджеттівські нанощари на поверхні прозорих електродів з індій-олов'яного оксиду (ІТО). Вивчено вплив на електрохімічні та ЕХЛ-властивості модифікованих електродів режиму електролізу, концентрації сореагенту та кількості моношарів. Показано, що за допомогою розробленого методу модифікації електродів можливо залучити до ЕХЛ-аналізу водних розчинів велику кількість відомих ефективних водонерозчинних електрохемілюмінофорів.

Рідиннофазна електрогенерована хемілюмінесценція (ЕХЛ) є високочутливим аналітичним методом, що поєднує селективність сучасних електрохімічних аналітичних методик з чутливістю класичного люмінесцентного аналізу. ЕХЛ-аналіз, що вперше виник в апротонних розчинниках, зараз застосовується до практично важливих біомедичних об'єктів у водному середовищі. ЕХЛ аналітичні маркери широко використовуються в найбільш чутливих різновидах імунохімічного та генетичного аналізів [1-3]. З метою збільшення селективності та відтворюваності ЕХЛ-детектори та сенсори інтегруються в хроматографічні та мікрофлюїдні аналізатори [4, 5], при цьому зменшуються їхні розміри, а для виготовлення залучаються сучасні нанотехнології, зокрема використовують квантові точки та модифікацію електродної поверхні ЕХЛ-сенсора нанощарами [4 - 6].

Технології Ленгмюра-Блоджетт (ЛБ) та Шафера дозволяють досить просто формувати на водній поверхні (субфазі) впорядковані рідиннокристалічні моношари поверхневоактивних речовин та переносити їх без суттєвих ушкоджень на поверхню електрода. До цих моношарів можливо інкорпорувати інші необхідні молекули, зокрема, електрохемілюмінофори. Переважна більшість досліджень рідиннофазної ЕХЛ проведена у неводних розчинах з водонерозчинними електрохемілюмінофорами, що практично виключає застосування останніх у ЕХЛ-аналізі водних розчинів, а це є актуальним для біомедицини, екології, фармації та ін. Тому метою нашої роботи було вивчення ЕХЛ у водних розчинах водонерозчинних електрохемілюмінофорів шляхом інкорпорування останніх в ЛБ-шари та їх перенесення методом ЛБ та Шафера на поверхню робочого електрода ЕХЛ-сенсора [7]. Для дослідів були використані такі відомі водонерозчинні електрохемілюмінофори як тетрафенілтетрацен (рубрен) та 9,10-дифенілантрацен (ДФА).

Експериментальна частина

Для створення ЛБ-плівок використовували поліметилметакрилат (ПММА) з молекулярною масою 100 000 виробництва фірми «Aldrich». Вибір у якості матриці ПММА серед інших відомих ленгмюрогенних сполук пов'язаний з високими показниками поверхневої концентрації інкорпорованих молекул рубрену. Так, проведені нами флуоресцентні дослідження виявили, що до ЛБ-плівки з ПММА без порушень моношару може бути інкорпоровано в 2,5 разів більше молекул рубрену, ніж у матрицю з такої класичної ленгмюрогенної сполуки, як стеаринова кислота.

Для формування і перенесення на електроди ЛБ-шарів використовували ЛБ-ванну типу LT-102 виробництва «Microtestmachines Co.». Рубрен або ДФА виробництва фірми «Aldrich» і ПММА розчинювали у хлороформі кваліфікації «хч» до концентрації 1мМ і краплинами наносили на різні ділянки водної поверхні ЛБ-ванни до утворення розрідженого шару з поверхневим тиском 8-10 мН/м. Утворений на поверхні водної субфазі моношар переводили з розрідженого до конденсованого стану методом механічного стиснення зі швидкістю 3см/хв. Моно-

* Харківський національний університет радіоелектроніки 61166, Україна, м. Харків, пр. Леніна, 14
E-mail: rzh@kture.kharkov.ua

шари переносили на поверхню ІТО-електродів при поверхневому тиску 20 мН/м методом Шафера.

Для досліджень використовували скляні електроди розміром 25x15x1,5 мм з одностороннім покриттям оптично-прозорою ІТО-плівкою електропровідністю 20÷30 Ом/см. Електрод маскувався фторопластовою плівкою таким чином, що з розчином контактувала лише ділянка розміром 5x15 мм.

Електрохімічні властивості ІТО-електродів, модифікованих ЛБ-плівками з інкорпорованими електрохемілюмінофорами, досліджувалися методом циклічної вольтамперометрії з лінійною розгорткою потенціалу (ЦВАМ). Електроліз модифікованих ІТО-електродів проводили виключно при позитивних значеннях електродних потенціалів, що вимірювались відносно водного насиченого хлорсрібного електрода порівняння (Ag/AgCl). Одночасно з електрохімічними дослідженнями проводили ЕХЛ-вимірювання в координатах «потенціал електрода – інтенсивність емісії ЕХЛ». Для досліджень використовувався розроблений авторами аналітичний комплекс «ЕЛАН-2» [8], в якому реєстрація ЕХЛ здійснювалась фотоприймачем «ФЭУ-140», мультитрубовий фотокатод якого безпосередньо контактував зі скляним корпусом ЕХЛ-ячейки.

Для запобігання фотодеструкції інкорпорованих в ЛБ-шари електрохемілюмінофорів модифіковані електроди зберігалися від моменту виготовлення до часу експериментальних досліджень в темряві. Монтаж модифікованих електродів у вимірювальну ЕХЛ-ячейку здійснювався максимально швидко при актинічному освітленні. Всі дослідження модифікованих електродів проводились у темряві в захисній атмосфері високочистого аргону.

Перед та після досліджень електрохемілюмінесцентних властивостей обов'язково проводили контрольні вимірювання інтенсивності ЕХЛ досліджуваного розчину на ІТО-електроді, що не мав інкорпорованих електрохемілюмінофорів. Ці вимірювання свідчили про відсутність помітного випромінювання (на рівні чутливості фотоприймача), що підтверджувало відсутність впливу на результати ЕХЛ-досліджень залишкових концентрацій електрохемілюмінофорів у модельному розчині, спричинених, наприклад, технологічною пам'яттю устаткування.

Електрохімічні та електрохемілюмінесцентні властивості експериментальних зразків ІТО-електродів, модифікованих ЛБ-плівками з інкорпорованими електрохемілюмінофорами, досліджувалися у модельних водних розчинах, до складу яких входив індиферентний фоновий електроліт LiClO₄ (виробник «Fluka») та сореагент трипропіламін (виробник «Fluka»). Трипропіламін (ТПА) вступає у швидку хімічну реакцію з електрогенерованими на модифікованому електроді катіон-радикалами електрохемілюмінофорів, що призводило (після ланцюга перетворень) до ефективного електронного збудження та люмінесценції відповідних електрохемілюмінофорів, тобто до ЕХЛ-процесу. Фактично сореагент в модельних розчинах виконував функцію потенційного аналіту ЕХЛ-сенсора. Для приготування розчинів використовували бідистильовану воду.

Результати та обговорення

Для початкових досліджень застосовували ІТО-електроди, модифіковані десятима ЛБ-шарами. На рис. 1 наведені результати дослідження експериментальних зразків модифікованих ЛБ-шарами електродів, які повністю підтвердили одну з головних наших ідей – можливість емісії ЕХЛ від інкорпорованого в ЛБ-шарах електрохемілюмінофору. Як видно з рис. 1, фотострум фіксувався при потенціалах, характерних для процесу електрохімічного окислення використаного в досліді електрохемілюмінофору – рубрену. Ще однією особливістю цього експерименту є те, що вперше нами була отримана ЕХЛ водонерозчинного електрохемілюмінофору в воді. Як виявилось, потенціали окислення рубрену в воді та диметилформаміді практично співпадають.

Як доводить рис. 2, збільшення в десять разів концентрації сореагенту (ТПА) призводить до адекватного росту як фарадеевського струму окислення, так і інтенсивності ЕХЛ. При цьому суттєвих змін форми кривих не відбувається.

Для додаткового підтвердження можливості отримання ЕХЛ у водному розчині водонерозчинних електрохемілюмінофорів нами були досліджені ІТО-електроди, модифіковані ЛБ-шарами ПММА з інкорпорованим ДФА, що теж є водонерозчинним електрохемілюмінофором. Відповідні експериментальні результати наведені на рис. 3, 4. Як і у попередньому випадку,

ЕХЛ реєструється при потенціалах, характерних для електроокислення ДФА до катіон-радикалу.

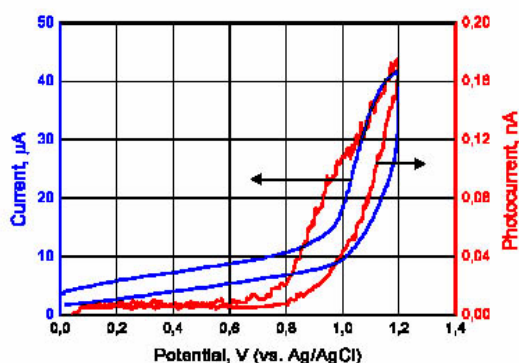


Рис. 1. Анодні вольтамперограма (струм) та відповідна емісія ЕХЛ (фотострум) ІТО-електрода ($S=75\text{mm}^2$), модифікованого ЛБ-плівками з інкорпорованим рубреном в матриці з ПММА (10 шарів). Розчинник — H_2O ; сореагент — 1мМ ТПА; фоновий електроліт 0.1М LiClO_4 ; швидкість розгортки потенціалу $V=100\text{мВ/с}$; напруга на фотоприймачі $U_{\text{ФЕП}}=1400\text{В}$

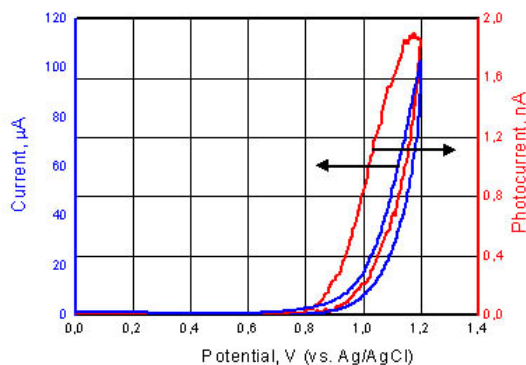


Рис. 2. Анодні вольтамперограма (струм) та відповідна емісія ЕХЛ (фотострум) ІТО-електрода ($S=75\text{mm}^2$), модифікованого ЛБ-плівками з інкорпорованим рубреном в матриці з ПММА (10 шарів). Розчинник — H_2O ; сореагент — 10мМ ТПА; фоновий електроліт 0.1М LiClO_4 ; $V=100\text{мВ/с}$; $U_{\text{ФЕП}}=1400\text{В}$

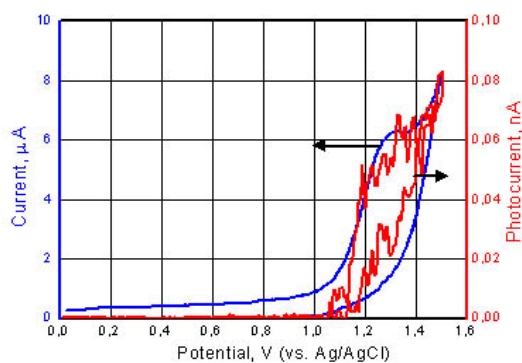


Рис. 3. Анодні вольтамперограма (струм) та емісія ЕХЛ (фотострум) ІТО-електрода ($S=75\text{mm}^2$), модифікованого ЛБ-плівками з інкорпорованим ДФА в матриці з ПММА (10 шарів). Розчинник — H_2O ; сореагент — 1мМ ТПА; фоновий електроліт 0.1М LiClO_4 ; $V=100\text{мВ/с}$; $U_{\text{ФЕП}}=1400\text{В}$

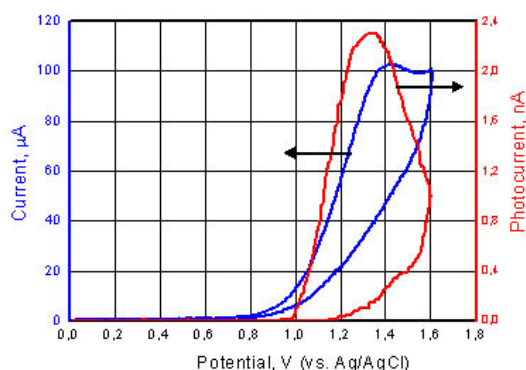


Рис. 4. Анодні вольтамперограми (струм) та відповідна емісія ЕХЛ (фотострум) ІТО-електрода ($S=75\text{mm}^2$), модифікованого ЛБ-плівками ПММА з інкорпорованим ДФА (10 шарів). Розчинник – H_2O ; сореагент – 10мМ ТПА; фоновий електроліт – 0.1М LiClO_4 ; $V=100\text{мВ/с}$; $U_{\text{ФЕП}}=1400\text{В}$

Для пошуку оптимальної концентрації сореагенту в модельному розчині були проведені концентраційні дослідження для ІТО-електрода, модифікованого ЛБ-плівками ПММА з інкорпорованим рубреном. Відповідні концентраційні залежності наведені на рис. 5. Як видно, збільшення концентрації сореагенту призводить до зростання як фарадеєвського струму, так і інтенсивності ЕХЛ. При концентраціях ТПА, більших 4÷5мМ, як крива фарадеєвського струму, так і фотострум, суттєво збільшують свою крутизну, що, вірогідно, вказує на зміни в механізмі ЕХЛ-процесу. Зменшення інтенсивності ЕХЛ при $C_{\text{ТПА}}=50\text{мМ}$ пов'язано зі значним збільшенням рН модельного розчину до $\text{pH}\approx 11$ (за рахунок гідролізу ТПА) і відповідним зниженням ефективності процесу ЕХЛ [9]. Опосередкованим підтвердженням цьому є відсутність відповідного спаду на кривій фарадеєвського струму.

Дуже важливою характеристикою модифікованих ЛБ-шарами електродів є їхня стабільність як під час зберігання, так і під час електролізу. Отримані нами дані свідчать, що досліджені експериментальні зразки можуть досить довго зберігатись в повній темряві при помірних температурах. Зразки, що пролежали в темряві при 8-10°C два місяці, демонстрували ЕХЛ характеристики практично ідентичні свіжевикотвореним. Також стабільною виявилась поведінка зразків під час електролізу в модельних розчинах. Так, ІТО-електроди, модифіковані ЛБ-плівками з інкорпорованим рубреном або ДФА в матриці з ПММА (10 шарів), практично не змінювали свої властивості під час експериментальних досліджень, що дозволяло їх повторно використати в наступних дослідах. Така їхня поведінка, вірогідно, пов'язана якраз з їхньою водонерозчинністю – інкорпоровані рубрен та ДФА не можуть перейти з матриці до водного розчину. Це додатково підтверджується і результатами досліджень флуоресценції модифікованих електродів – часова витримка зразків у бідистильованій воді не зменшила інтенсивності флуоресценції, що вказує на відсутність вимивання електрохемілюмінофорів з матриці ПММА.

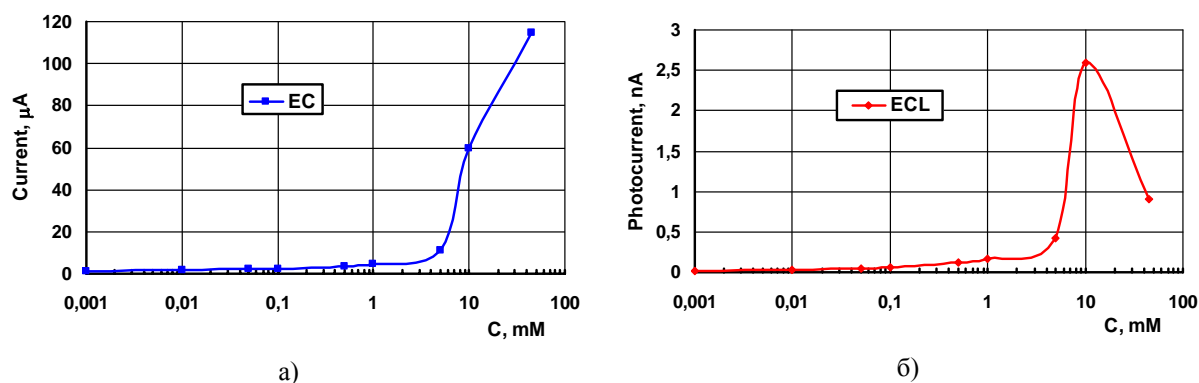


Рис. 5. Залежність максимального струму поляризації (а) та максимальної інтенсивності ЕХЛ (б) ІТО-електрода ($S=75\text{mm}^2$), модифікованого ЛБ-плівками ПММА з інкорпорованим рубреном (10 шарів), від концентрації сореагенту ТПА в H_2O . Фоновий електроліт – 0.1M LiClO_4 ; $V=100\text{mV/s}$; $U_{\text{ФЕП}}=1400\text{В}$

Ще однією важливою характеристикою модифікованих електродів є оптимальна кількість ЛБ-шарів. Починаючи ці дослідження і визначаючи початкову кількість шарів ми виходили з припущення, що моношари будуть мати велику кількість дефектів, а електрохемілюмінофор буде швидко деградувати. Виходячи з необхідності збільшити кількість електрохемілюмінофору та зробити покриття малодфектним, ми визначили початкову кількість у десять ЛБ-шарів. Але, як засвідчили наші подальші дослідження, які підсумовано на рис. 6, ця кількість не є оптимальною. Деградація ЕХЛ ІТО-електродів, модифікованих ЛБ-плівками з інкорпорованими електрохемілюмінофорами, виявилась значно меншою за прогнози, а властивості самих ЛБ-шарів – досить стабільними. Крім того, наявність дефектів в ЛБ-шарах суттєво не впливала на їхні ЕХЛ-властивості (вірогідно ЕХЛ була відсутня тільки у зонах дефектів, де не було електрохемілюмінофору). Таким чином збільшення кількості електрохемілюмінофору на електродній поверхні за рахунок більшої кількості шарів не компенсувало відповідне зниження електропровідності модифікованого електрода, що й призводило, (рис. 6, 7) до зниження як фарадеєвського струму, так, в ще більших масштабах, інтенсивності ЕХЛ. Як видно з рис. 7, крім відповідного зменшення струму та фотоструму, при суттєвому збільшенні кількості шарів мають місце зміни форми

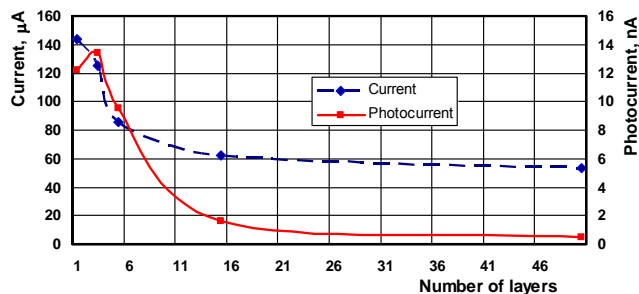


Рис. 6. Залежності струму електролізу та інтенсивності ЕХЛ (фотострум) ІТО-електрода ($S_{\text{ІТО}}=75\text{mm}^2$), модифікованого ЛБ-плівками ПММА з інкорпорованим рубреном, від кількості ЛБ-шарів. Розчинник – H_2O ; сореагент – 10мМ ТПА; фоновий електроліт – 0.1M LiClO_4 ; $V=100\text{mV/s}$; $U_{\text{ФЕП}}=1400\text{В}$

кривих фотострум – потенціал. Таким чином, з огляду на отримані результати, оптимальною для досліджених структур є кількість в один – три ЛБ-шари.

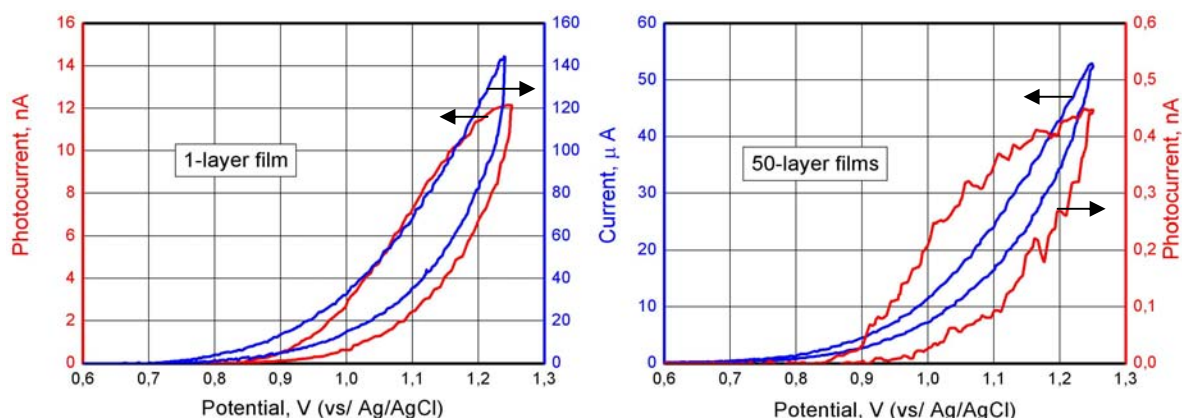


Рис. 7. Анодні вольтамперограми та відповідна їм емісія ЕХЛ (фотострум) ІТО-електродів ($S_{\text{ITO}}=75\text{мм}^2$), модифікованих ЛБ-плівками з інкорпорованим рубреном в матриці з ПММА. Розчинник – H_2O ; сореагент – 10мМ ТПА; фоновий електроліт 0.1М LiClO_4 ; $V=100\text{мВ/с}$; $U_{\text{ФЕП}}=1400\text{В}$

Отримані дані дозволяють спрогнозувати можливість створення аналогічних модифікованих наночастинами електродів з іншими відомими водонерозчинними електрохемілюмінофорами. Все це дасть можливість залучити до ЕХЛ-аналізу водних розчинів велику кількість відомих ефективних електрохемілюмінофорів [10], головною вадою яких дотепер була водонерозчинність. Саме водонерозчинність електрохемілюмінофорів, за нашими даними, робить створені наноструктури більш стабільними під час електролізу у водних розчинах, що суттєво збільшує відтворюваність аналізів.

Проведені дослідження ЛБ-електродів на модельних водних розчинах дозволяють вже зараз створити на їхній основі мікрофлюїдні ЕХЛ-сенсори для аналізу трипропіламіну, інших амінів включно з біологічно значущими сореагентами. Аналітичні можливості системи, що була досліджена, можуть бути використані для виявлення в водних розчинах фемтограмних кількостей конденсованих ароматичних сполук, більшість з яких є досить ефективними електрохемілюмінофорами. Для такого аналізу неводний розчин сполук, що визначаються, необхідно використати для формування ЛБ-шарів ЕХЛ-сенсора.

Висновки

1. Вперше отримана в водних розчинах достатньо інтенсивна та стабільна ЕХЛ водонерозчинних електрохемілюмінофорів, інкорпорованих в ЛБ-шари.
 2. Виміряні вперше в водних розчинах потенціали окислення рубрену та 9,10-дифенілантрацену, що інкорпоровані в ЛБ-наночасти, практично співпадають з відповідними потенціалами, виміряними в диметилформаміді.
 3. Доведено, що для досліджених структур оптимальною є ЛБ-плівка з 1÷3 моношарів, що включають електрохемілюмінофори.
 4. Визначені оптимальні умови електролізу модифікованих ЛБ-плівками ІТО-електродів.
- Дослідження були проведені за програмою міжнародного проекту GE77 Українського науково-технологічного центру (керівник проекту – проф. Микола Рожицький).

Посилання

1. Blackburn G.F., Shah H.P. et al. Electrochemiluminescence detection for development of immunoassays and DNA-probe assays for clinical diagnostics // Clin. Chem. — 1991. — Vol. 37. — P. 1534-1539.
2. Namba Y., Usami M. et al Highly sensitive electrochemiluminescence immunoassay using the ruthenium chelate-labeled antibody bound on the magnetic micro beads // Analytical Sciences. — 1999. — Vol. 15. — №11. — P. 1087-1094.

3. Obenauer-Kutner L.J., Jacobs S.J. et al. A highly sensitive electrochemiluminescence immunoassay for interferon alfa-2b in human serum // J Immunol Methods. — 1997. — Vol. 206. — №1-2. — P. 25-33.
4. Chen X., Li M.J. et al., Electrochemiluminescence Determination of Nitro Polycyclic-Aromatic Hydrocarbons Using HPLC Separation // Chromatographia. — 2003. — Vol. 58. — P. 571-577.
5. Changqing Y., Peiwei L. et al High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Quinolizidine Alkaloids in Radix Sophora Flavescens Using Tris(2,20-Bipyridyl)Ruthenium(II) Electrochemiluminescence // Microchim. Acta. — 2004. — Vol. 147. — P. 237-243.
6. Wang H., Xu G. et al Electrochemiluminescence of tris(2,2A-bipyridine)ruthenium(II) immobilized in poly(p-styrenesulfonate)-silica-Triton X-100 composite thin-films // Analyst. — 2001. — Vol. 126. — P. 1095-1099.
7. Snizhko D., Kukoba A., Bilash O. Electrochemistry and electrogenerated chemiluminescence in thin film of binary system rubrene/polymethylmethacrylate // 3rd ECHEMS Meeting «Nanosystems and Molecules at Work».- Trest (Czech Republic), June 28 – July 1, 2007.- P17.
8. Belash E.M., Bykh A.I., Kukoba A.V., Rozhitskii N.N., ELAN-2 Apparatus for Homogeneous and Heterogeneous Electrochemiluminescent Analysis // J. Anal. Chem. — 1994. — Vol. 49, N9. — P. 929-931.
9. Knight A.W., Greenway G.M., Relationship between structural attributes and observed electrogenerated chemiluminescence (ECL) activity of tertiary amines as potential analytes for the tris(2,2 – bipyridine)ruthenium(II) ECL reaction – a review // Analyst.— 1996. — Vol. 121. — P. 101-106.
10. Рожицкий Н.Н., Бых А.И., Красноголовец М.А. Электрохимическая люминесценция.- Харьков: ХТУРЭ, 2000.- 320 с.

Поступила в редакцию 8 апреля 2007 г.

Kharkov University Bulletin. 2007. №770. Chemical Series. Issue 15(38). O.M.Bilash, A.V.Kukoba. Aqueous electrochemiluminescence of rubrene and 9,10-diphenylanthracene incorporated into langmuir-blodgett films.

The aqueous electrogenerated chemiluminescence (ECL) of water-insoluble electrochemiluminescers incorporated into Langmuir-Blodgett nanolayers on the surface of transparent indium tin oxide-coated (ITO) electrodes was investigated for the first time. The influence of electrolysis mode, co-reactant concentration and the number of monolayers on electrochemical and ECL properties of modified electrodes were investigated. It was shown that using developed method of electrodes modification it is possible to use a plenty of known water-insoluble electrochemiluminescers for ECL assay of aqueous solutions.