

PACS 78.60.FI
УДК 543.4

СЕНСИБИЛИЗАЦИЯ ЭЛЕКТРОГЕНЕРИРОВАННОЙ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ПОЛУПРОВОДНИКОВЫМИ КВАНТОВЫМИ ТОЧКАМИ

Ю. Т. Жолудов, Е. М. Белаш, А. В. Кукоба, Н. Н. Рожицкий

Харьковский национальный университет радиоэлектроники,
лаборатория Аналитической оптохемотроники,
61166, г. Харьков, пр. Ленина 14, тел./факс (057)7020369, e-mail: yurets_z@rambler.ru

СЕНСИБИЛИЗАЦИЯ ЭЛЕКТРОГЕНЕРИРОВАННОЙ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ПОЛУПРОВОДНИКОВЫМИ КВАНТОВЫМИ ТОЧКАМИ

Ю. Т. Жолудов, Е. М. Белаш, А. В. Кукоба, Н. Н. Рожицкий

Аннотация. В работе рассмотрена возможность сенсibilизации электрогенерированной хемилюминесценции полупроводниковыми квантовыми точками с целью повышения чувствительности детектирования веществ в растворах. На примере определения аминокислоты триптофана показано, что сенсibilизация электрохемилюминесцентного сигнала квантовыми точками CdSe/ZnS позволяет повысить чувствительность анализа на три порядка.

Ключевые слова: электрохемилюминесцентный анализ, квантовые точки, сенсibilизация

СЕНСИБІЛІЗАЦІЯ ЕЛЕКТРОГЕНЕРОВАНОЇ ХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНЦІЇ НАПІВПРОВІДНИКОВИМИ КВАНТОВИМИ ТОЧКАМИ

Ю. Т. Жолудов, О. М. Білаш, А. В. Кукоба, М. М. Рожицький

Анотація. В роботі розглянута можливість сенсibilізації електрогенерованої хемілюмінесценції напівпровідниковими квантовими точками з метою підвищення чутливості детектування речовин у розчинах. На прикладі визначення амінокислоти триптофану показано, що сенсibilізація електрохемілюмінесцентного сигналу квантовими точками CdSe/ZnS дозволяє підвищити чутливість аналізу на три порядки.

Ключові слова: електрохемілюмінесцентний аналіз, квантові точки, сенсibilізація

SENSITIZATION OF ELECTROGENERATED CHEMILUMINESCENCE WITH SEMICONDUCTOR QUANTUM DOTS

Yu. T. Zhuludov, O. M. Bilash, A. V. Kukoba, N. N. Rozhitskii

Abstract. In this work the possibility of electrogenerated chemiluminescence sensitization with semiconductor quantum dots for the purpose of increasing sensitivity of substances detection in solution is considered. Using amino acid tryptophan as a test analyte it was shown that sensitization of electrochemiluminescent signal with CdSe/ZnS quantum dots increases its detection sensitivity by three orders of magnitude.

Keywords: electrochemiluminescent assay, quantum dots, sensitization

В последнее время электрогенерированная хемилюминесценция (ЭХЛ) стала важным методом детектирования в аналитической химии жидких сред. ЭХЛ представляет собой люминесценцию, возникающую при релаксации электрон-возбужденных молекул, образовавшихся при электрохимически инициированных реакциях. Метод электрогенерированной хемилюминесценции обладает рядом преимуществ по сравнению с аналогами, объединяет в себе достоинства электрохимического и хемилюминесцентного метода анализа и при этом лишен их недостатков.

В ряде аналитических ЭХЛ-реакций, особенно в случае использования реакций с сореагентами, возбужденный аналит испускает кванты света достаточно большой энергии (например, люминесцирующие аминокислоты) [1]. При этом возникают сложности, связанные как с реабсорбцией аналитического сигнала компонентами исследуемой системы, так и с реализацией метода анализа — необходимостью использования кварцевой оптики и фотоприемников, чувствительных к ультрафиолету. На рис. 1 приведены спектры флуоресценции одного из важных для биомедицинских применений класса аналитов — люминесцирующих аминокислот фенилаланина, тирозина и триптофана в воде. Как видно из рисунка, даже триптофан, имеющий наименьшую энергию возбуждения, обладает эмиссией преимущественно в ближней ультрафиолетовой области спектра.

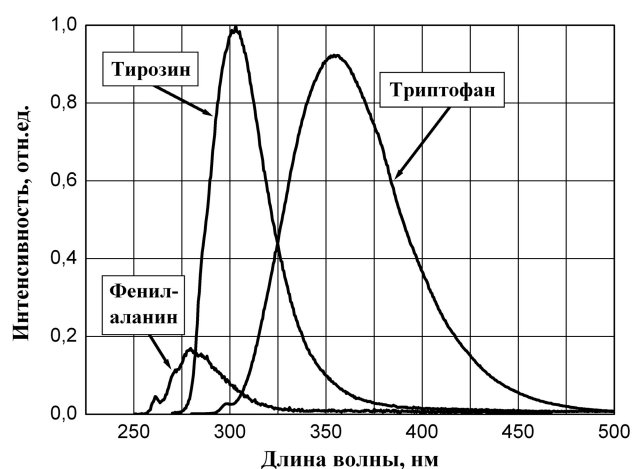


Рис. 1. Нормированные спектры флуоресценции фенилаланина, тирозина и триптофана в водном растворе с учетом их квантового выхода (квантовый выход тирозина 13 %)

Технические трудности анализа решаются за счет удорожания аналитической системы, но сложности, связанные с потерей сигнала в самом растворе, далеко не всегда легко разрешимы. При хемилюминесцентном анализе такая проблема решается применением сенсibilизаторов — веществ, перепоглощающих энергию возбужденного аналита и трансформирующих ее с высокой эффективностью в излучение более длинноволнового диапазона. При этом большинство применяемых сенсibilизаторов (органические люминофоры) являются электрохимически активными веществами [2]. Их использование приводит к частичной потере информации об электрохимическом поведении аналита, а при вовлечении в ЭХЛ-реакцию — к полной потере полезного сигнала из-за прямого ЭХЛ-возбуждения сенсibilизатора.

Таким образом, актуальной является проблема электрохимически инертных сенсibilизаторов с высоким квантовым выходом люминесценции. Одними из перспективных кандидатов на роль таких сенсibilизаторов являются полупроводниковые квантовые точки (КТ). Проведенные нами исследования показали, что ряд полупроводниковых КТ с широкой оболочкой практически не обладают электрохимической активностью и не вступают в ЭХЛ-реакции. При этом они обладают высоким квантовым выходом флуоресценции, зависящим от размера спектром возбуждения и высокой экстинкцией. Такие структуры являются идеальными сенсibilизаторами для применения в ЭХЛ-анализе.

В данной работе изучены характеристики квантовых точек CdSe/ZnS и их применение в качестве сенсibilизаторов для прямого ЭХЛ-определения триптофана в водной среде. Проведенные электрохимические исследования триптофана в водной среде показали, что только его катионная форма является электрохимически активной (известно, что в зависимости от pH среды аминокислоты могут существовать в форме аниона, катиона или цвиттер-иона [3]). Результаты окисления триптофана на неподвижном электроде методом циклической вольтамперометрии и на вращающемся дисковом электроде приведены на рис. 2. Соответствующий пик тока окисления триптофана появляется только при подкислении раствора. В нейтральной и щелочной среде электрохимическое окисление триптофана в доступной

области потенциалов не наблюдается. Катионная же форма триптофана, которая существует в кислой среде, необратимо окисляется при потенциале 1,32 В относительно нас. Ag^+/AgCl электрода сравнения.

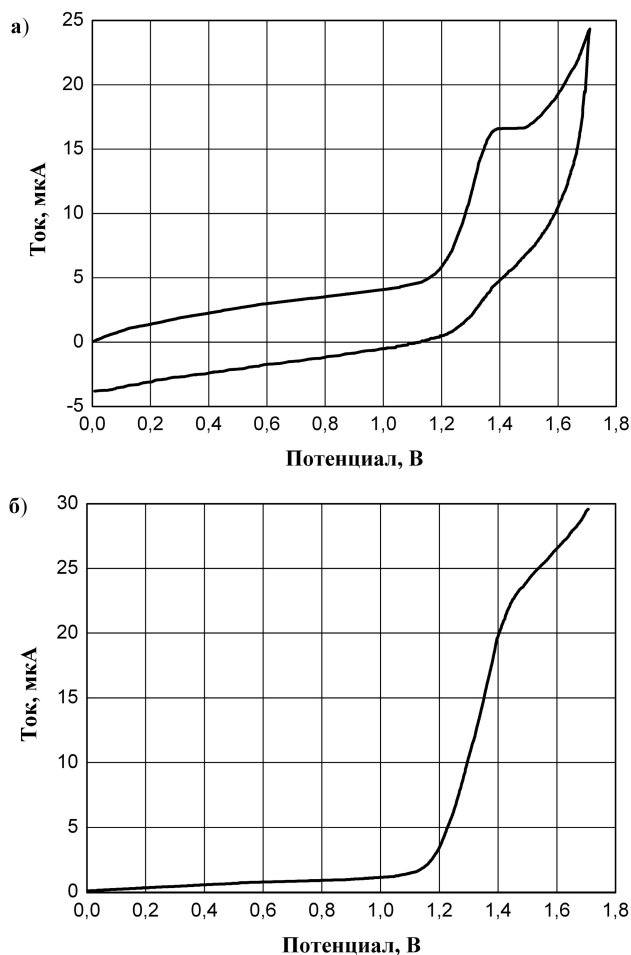


Рис. 2. Анодные вольтамперограммы 1мМ триптофана в воде при добавлении 1мМ HClO_4 на стеклоглеродном дисковом электроде \varnothing 2мм, фоновый электролит 0,1М NaClO_4 : а) на неподвижном электроде, скорость сканирования потенциала $V=100\text{мВ/с}$; б) на вращающемся дисковом электроде (ВДЭ), $V=20\text{мВ/с}$, скорость вращения $n=2000\text{об./мин}$

Поскольку в водной среде область доступных электродных потенциалов сильно ограничена из-за разложения самой воды, то для возбуждения ЭХЛ-реакции необходим химический сореагент. Его роль сводится к формированию сильного донора электронов при окислении. Донор электронов необходим для экзоэнергетической реакции с окисленными молекулами аналита, что приводит в электронному возбуждению последних. В литературе известен достаточно широкий перечень таких

соединений, наиболее распространенными из которых являются трипропиламин, оксалат, персульфат. Спектральный анализ раствора триптофана в воде (рис. 3) позволяет оценить длину волны 0–0 перехода в 310 нм, что соответствует энергии возбуждения более 4 эВ. При потенциале окисления 1,32 для получения возбужденного состояния триптофана требуется донор электрона, потенциал восстановления которого будет по крайней мере ниже $-2,68\text{ В}$ ($1,32\text{ В} - 4\text{ В}$). Именно эту энергию и должен дать сореагент при рекомбинации образовавшегося донора электрона с окисленной молекулой триптофана.

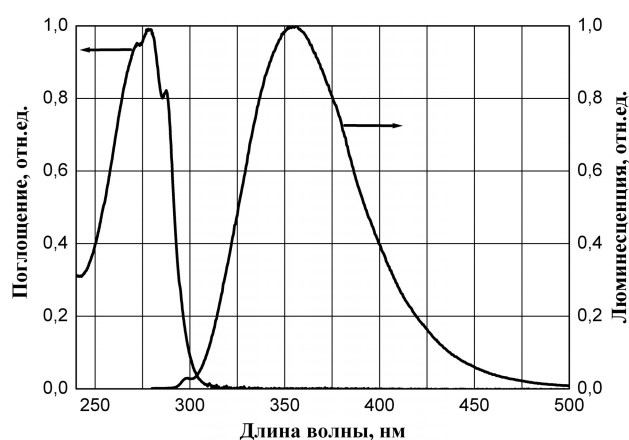


Рис. 3. Нормированные спектры поглощения и флуоресценции раствора триптофана в ДМФА

В данной работе в качестве сореагента использовалось соединение тетрафенилборат натрия (ТФБН), ЭХЛ-реакции с участием которого ранее описывались [4]. Наиболее распространенный сореагент трипропиламин не может использоваться в существенно кислой среде, так как он, как и триптофан, гидролизуется до соответствующего катиона, что приводит к резкому снижению эффективности ЭХЛ [5].

Предварительное исследование водного раствора фонового электролита (0,1 М NaClO_4), подкисленного 1 мМ HClO_4 , и сореагента (1 мМ ТФБН) показало отсутствие регистрируемого свечения при сканировании потенциала рабочего электрода в анодной области.

При добавлении в раствор триптофана сореагента ТФБН (1мМ) возникает интенсивная ЭХЛ (рис. 4). Как видно из приведенных данных, появление электрохимического тока окисления триптофана (вторая волна) полностью совпадает с началом ЭХЛ. Первая волна

тока на рис. 4 связана с окислением самого сореагента на электроде и не сопровождается ЭХЛ. Относительно низкая интенсивность регистрируемого свечения может быть объяснена значительным поглощением коротковолновой ЭХЛ триптофана (см. рис. 3) стеклом электрохимической ячейки, а также достаточно низкой чувствительностью используемого фотоприемника (ФЭУ-140) в этом спектральном диапазоне и реабсорбцией излучения самим триптофаном.

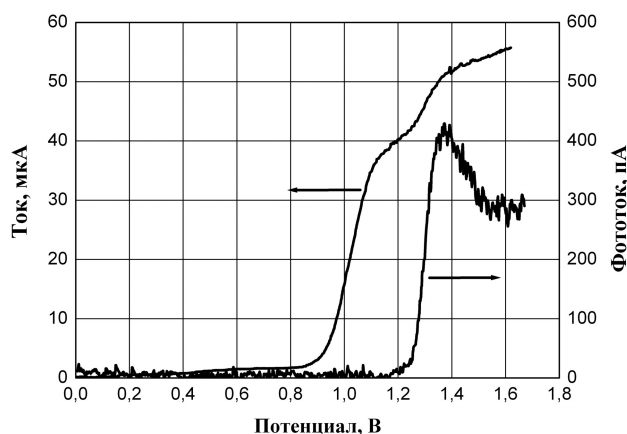
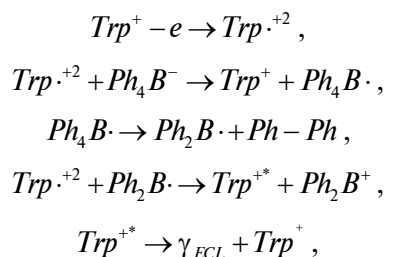


Рис. 4. Анодные вольтамперограмма (ток) и эмиссия ЭХЛ (фототок) 1мМ триптофана в воде при добавлении 1мМ HClO_4 и 1мМ ТФБН на стеклоуглеродном ВДЭ ($\varnothing 2$ мм), фоновый электролит NaClO_4 ($V=20\text{мВ/с}$; $n = 2000\text{об./мин.}$; напряжение на ФЭУ $U_{\text{РМТ}}=1400\text{В}$)

Учитывая данные по механизму генерирования ЭХЛ с участием ТФБН [4], был предложен следующий механизм ЭХЛ триптофана в исследованной системе:



где Trp — молекула триптофана, Ph — фенильный радикал C_6H_5 , γ_{ECL} — квант ЭХЛ.

Для увеличения сигнала ЭХЛ в раствор был добавлен сенсибилизатор — полупроводниковые квантовые точки CdSe/ZnS с органическим покрытием из тиогликолевой кислоты, структура которых приведена на рис. 5. Данные квантовые точки полностью удовлетворяют основным требованиям к ЭХЛ-сенсибилизатору: электрохимическая и химическая инертность в

исследуемой системе, перекрытие спектра поглощения со спектром испускания триптофана (см. рис. 6), испускание света в видимой области спектра, растворимость в воде.

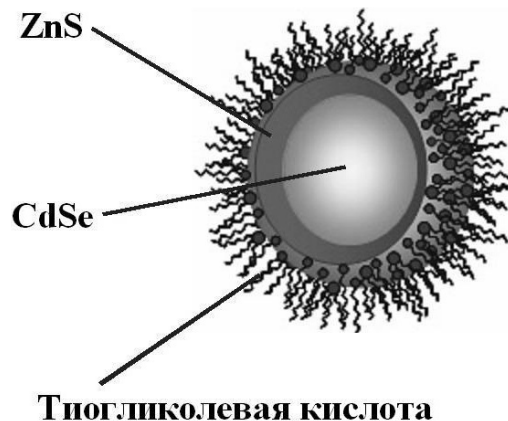


Рис. 5. Схематическое изображение квантовой точки типа ядро/оболочка CdSe/ZnS, покрытой тиогликолевой кислотой

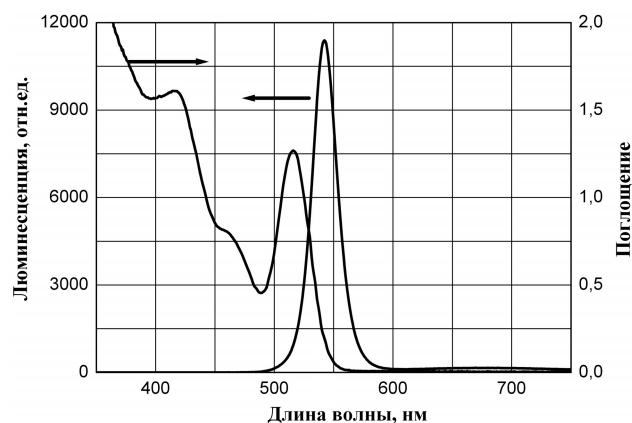


Рис. 6. Спектры поглощения и флуоресценции 0.02 мМ квантовых точек CdSe/ZnS ($d=2,5$ нм) в воде

Спектры люминесценции и поглощения квантовых точек CdSe/ZnS в воде приведены на рис. 6. Полученная ширина спектра флуоресценции на уровне 1/2 от максимума составляет 25 нм, длина волны максимума 542 нм. Также полученные спектры указывают на достаточно низкую дисперсию размеров квантовых точек и малое количество дефектов (поверхностных энергетических состояний). По приведенным спектрам были рассчитаны диаметр ядра квантовых точек ($d=2,5$ нм) и концентрация исходного раствора ($C=0,02$ мМ), используя методику, описанную Пенгом и соавторами [6].

Использованные квантовые точки являются полностью электрохимически инертными, т.е. не вступают в электродные реакции и не реа-

гируют с электрогенерированными формами компонентов раствора, имеют высокую экстинкцию в диапазоне люминесценции триптофана и эффективно переиспускают поглощенные кванты ЭХЛ последнего в видимой области спектра.

На рис. 7 приведены результаты ЭХЛ триптофана при разных концентрациях с сенсбилизацией квантовыми точками CdSe/ZnS. Как видно из сравнения данных на рис. 7 и рис. 4, интенсивность свечения при прочих равных условиях увеличилась почти на три порядка, что соответствует такому же увеличению чувствительности ЭХЛ детектирования триптофана. Кроме того, в исследованном диапазоне концентраций триптофана 0,15÷1,17 мМ зависимость максимума ЭХЛ от концентрации аминокислоты (рис. 7, вставка) практически линейна ($r=0,997$).

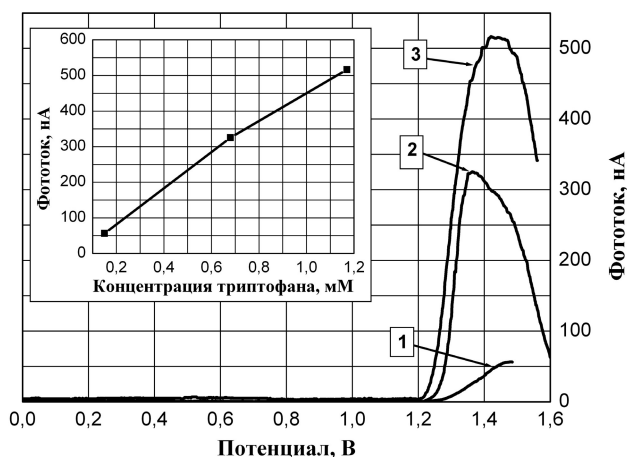


Рис. 7. Зависимость интенсивности ЭХЛ раствора триптофана (1–0,15 мМ, 2–0,68 мМ, 3–1,17 мМ) на стеклоуглеродном ВДЭ Ø2 мм при: $V=20$ мВ/с; $n = 2000$ об/мин; $U_{\text{PMГ}}=1400$ В (раствор: вода + 0,1М NaClO_4 + 1мМ HClO_4 + 0,6мМ ТФБН + 0,02мМ квантовых точек CdSe/ZnS). На вставке приведена зависимость пика ЭХЛ от концентрации триптофана

Таким образом, в работе были изучены характеристики аналитической системы для ЭХЛ-определения триптофана при сенсбилизации квантовыми точками CdSe/ZnS. Показано, что при этом интенсивность регистрируемого оптического аналитического сигнала существенно повышается. Это позволяет рассматривать подобные системы как основу для создания эффективных нанофотонных сенсоров нового поколения.

Данная работа была выполнена при поддержке проекта Украинского научно-технологического центра № 4495.

Список литературы

1. Garcia-Campana A. M., *Chemiluminescence in Analytical Chemistry*. — New York: Marcel Dekker, 2001. — 636с.
2. Білаш О. М., Кукоба А. В., Електрохемілюмінесцентне визначення триптофану// Зб. тез. доп. VIII Української конференції з аналітичної хімії. — Одеса. — 2008. — С. 86–87.
3. Гринштейн Дж., Виноц М., *Химия аминокислот и пептидов*, пер. с англ. — М.: Мир, 1966. — 832с.
4. Belash E. M. and Rozhitskii N. N., The application of electrochemiluminescence method for studying the mechanism of electrode reactions complicated by subsequent chemical stages // *Russ. J. Electrochem.* — 1996. — № 32, P. 1263–1271.
5. Knight A. W. and 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 // *Analyt.* — 1996. — № 121. — P. 101R–106R.
6. Yu W., Qu L., Guo W. et al., Experimental determination of the extinction coefficient of CdTe, CdSe, and CdS nanocrystals // *Chem. Mater.* — 2003. — № 15. — P. 2854–2860.