

利用基于分子印迹聚合物膜的表面等离子体共振传感器检测 TNT

鲍涵^①, 韦天新^{①*}, 李秀丽^①, 赵哲^②, 崔和^②, 张鹏^{③*}

① 北京理工大学原子分子簇科学教育部重点实验室, 北京 100081;

② 中国舰船研究院, 北京 100192;

③ 中国海军装备研究院, 北京 100073

* 联系人, E-mail: txwei@bit.edu.cn

2011-07-24 收稿, 2011-11-17 接受

国家自然科学基金(20771015)和高等学校学科创新引智计划(B07012)资助

摘要 利用以分子印迹聚合物(MIP)膜作为识别单元的表面等离子体共振(SPR)传感器, 对2,4,6-三硝基甲苯(TNT)进行了检测. 通过热引发聚合反应, 在SPR传感芯片的裸金表面合成了TNT印迹聚合物膜. 采用乙腈/乙酸(9:1,V/V)混合有机溶剂可以快速将TNT模板分子洗脱下来, 表现为SPR共振角偏移了0.7°. 吸附实验结果表明, TNT分子的最低检测限可达 1×10^{-8} mol/L, 并且在 $1 \times 10^{-8} \sim 1 \times 10^{-5}$ mol/L浓度范围内SPR共振角度的变化($\Delta\theta$)与TNT浓度的负对数(-lg [TNT])成线性关系. 选择性研究表明, 该SPR传感器对于浓度为 1×10^{-4} mol/L的TNT结构类似物2,4,5-三硝基甲苯和1,3,5-三硝基-1,3,5-六氢化三嗪(RDX)没有响应. 研究结果说明, 结合了MIP的SPR传感器对TNT的检测具有高灵敏度、强选择性和长久稳定性的优点.

关键词

TNT 检测

表面等离子体

共振传感器

分子印迹聚合物膜

近年来, 出于国家安全、人类健康以及环境保护的迫切需要, 硝化炸药的检测越来越受到人们的关注^[1]. 2,4,6-三硝基甲苯(TNT)是一种为人们所熟知的爆炸物, 被广泛应用于和平工业生产和军事行动及恐怖活动中. 检测 TNT 的方法很多, 包括荧光法^[2,3,4]、红外光谱法^[5]、发光法^[6]、免疫化学法^[7]、电化学法^[8,9]等. 其中, 基于免疫分析来检测 TNT 的方法是最灵敏的^[10,11], 但是这种方法耗时且不稳定, 因此不适合用来进行现场检测. 因此, 发展一种能够快速、灵敏地检测 TNT 的新方法非常重要. 表面等离子体共振(SPR)传感器由于体积小、易携带, 而成为最有应用前景的方法之一. 最近, Kawaguchi 等人^[12]报道了一种基于抗原与抗体相互作用的 SPR 传感器. Riskin 等人^[13]开发了一种二苯胺交联的复合物, 利用 SPR 传感器实现了 TNT 的超灵敏度检测.

表面等离子体共振是一种存在于金属薄膜和电介质界面的量子光电现象, 它对于位于传感界面几百纳米范围内的折射率变化非常敏感^[14]. SPR 传感器可将这一变化转化为光学信号. 因此, SPR 传感器成为了一种表征和定量研究表面分子相互作用的有力工具. 利用各种识别单元, 人们在 SPR 传感平台上实现了对各种化学和生物物质的检测^[15].

分子印迹聚合物(MIP)通过模拟抗体和酶的行为, 能够对目标分子进行高选择性地识别, 在传感器中可以作为分子的识别单元^[16,17]. 由于分子印迹聚合物制备简单、化学性质稳定并且成本低, 因此在 TNT 的检测中获得了很好的应用^[8,18,19]. 在本研究中, 我们力图通过在 SPR 芯片表面合成分子印迹聚合物膜的方法来发展一种检测 TNT 的新型 SPR 传感器. 将 MIP 对模板分子的特异性识别能力与 SPR 传感特性

结合在一起, 将为 TNT 及其相关化合物提供一种灵敏度高, 选择性强并且成本较低的理想检测手段.

1 实验

1.1 SPR 光谱的检测

本研究采用实验室自行搭建的 SPR 光谱仪(如图 1 所示). 从 He-Ne 二极管激光器光源(632.8 nm, 5 mW)发出的光, 经由斩波器、偏光镜后进入样品池. 样品池中包含一个 Kretschmann 构型的 LaSFN9 玻璃直角棱镜, 该棱镜通过匹配油与一个 LaSFN9 玻璃片(2.5 cm×3.0 cm)结合. 以此玻璃片为基片, 在上面镀一层 47 nm 厚的金膜. 利用一个“O”型橡胶环, 将一个自制流通池(0.8 mL)紧密覆盖在玻璃片的金膜上. 通过蠕动泵, 使样品溶液以 0.5 mL/min 的流速注入流通池中. 整个样品池被安装在一个圆形转台上. 从样品池反射出来的光通过一个硅光电二极管检测器进行测量. 该检测器由第二个转台进行控制, 并且使检测器与棱镜的转速比为 2:1. 所有实验数据通过自行研发的软件进行采集和分析.

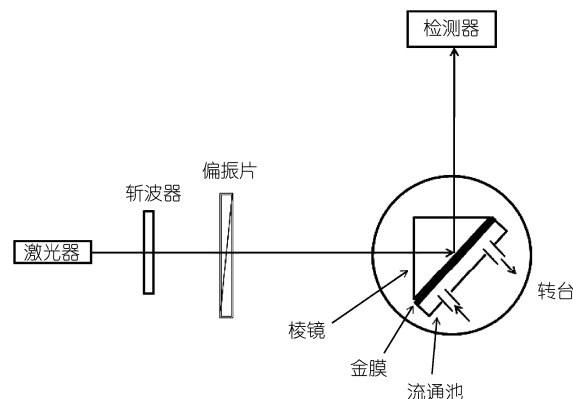


图 1 实验室自行搭建的 SPR 传感器的示意图

1.2 TNT-MIP 膜及非印迹聚合物膜(NIP)的制备

采用热聚合的方法在 SPR 基片的裸金表面制备分子印迹聚合物膜的方法按照文献[20]所述, 并在此基础上做了一些改进, 制备原理见图 2. 首先, 将模板分子 TNT(0.025 mol/L)和功能单体丙烯酸(AA, 0.15 mol/L)溶解于 3 mL 的乙腈溶剂中, 使模板分子和功能单体进行 2 h 的预反应. 然后, 将交联剂乙二醇二甲基丙烯酸酯(EGDMA, 0.2 mol/L)和热引发剂

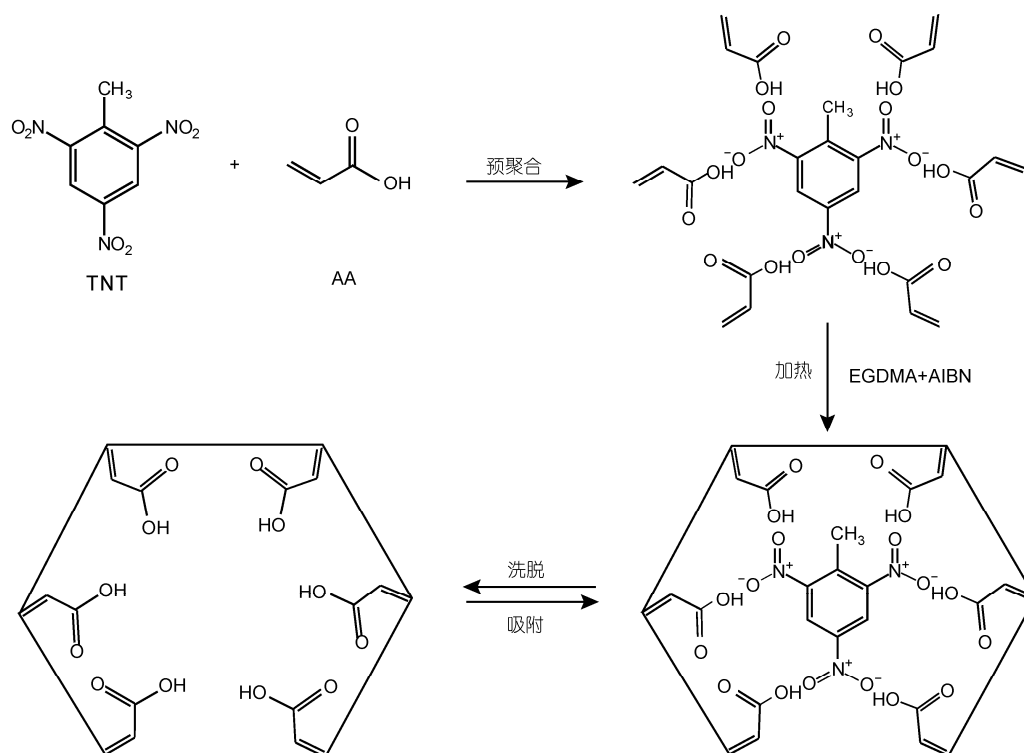


图 2 TNT 印迹聚合物膜的制备原理

偶氮二异丁腈(AIBN, 0.012 g/mL)加入预聚合溶液中进行 10 min 的超声处理. 接下来, 用氮气对混合溶液除氧 10 min, 然后将溶液滴在一块经过三甲基氯硅烷预处理的载玻片上. 随后, 立刻将 SPR 基片金膜一面朝下覆盖在载玻片上并用夹子夹紧. 将封口膜夹在载玻片和基片中间作为间隔. 将此反应装置置于氮气氛围中, 在 60°C 条件下进行 5 h 的热聚合反应. 作为参比, 在相同实验条件下制备了不含模板分子 TNT 的 NIP 膜. 用乙腈和乙醇溶剂对 SPR 芯片表面的印迹膜冲洗几次, 然后用氮气吹干.

2 结果与讨论

为了在 TNT 分子印迹聚合物膜中形成识别位点, 需要在聚合反应后将印迹膜上的模板分子洗脱. 考虑到功能单体 AA 与模板分子 TNT 之间是通过非共价键的作用力结合在一起的, 因此我们采用乙腈和乙酸的混合溶剂作为洗脱液. 在洗脱实验中, 分别向样品池中注入 5 mL 体积比为 9:1, 8:2 和 7:3 的乙腈/乙酸混合溶剂. 每种溶剂的注入时间为 10 min, 然后置换为乙腈溶剂并对 SPR 光谱进行测量以评估洗脱效果. 图 3 显示了采用 9:1 的乙腈/乙酸溶剂洗脱前和洗脱后的 SPR 角度反射率光谱图. 其中, 共振角发生了明显偏移, 从 68.9° 移动到 68.2°, 造成这一现象的主要原因是 TNT 模板分子被洗脱后导致印迹膜的折射率降低. 在随后的洗脱实验中, 随着洗脱液中乙酸比例的增加, SPR 共振角度不再发生变化, 这表明 9:1 是洗脱液中乙腈/乙酸的最佳体积比, 该洗脱液能够将 TNT 模板分子快速而彻底地洗脱下来. 另外,

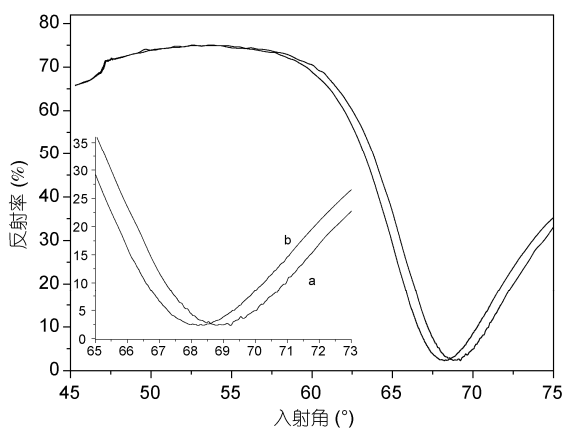


图 3 TNT 的分子印迹聚合物膜在洗脱前(a)和洗脱后(b)于乙腈溶液中检测的 SPR 角度反射率光谱图
洗脱液为乙腈/乙酸(9:1, V/V)混合溶剂, 插图为共振角的局部放大图

交联剂的用量对于模板分子的洗脱效率非常关键. 我们发现, 在本实验中交联剂与模板分子的摩尔比为 8:1 时, 模板分子洗脱效率最高. 当这一比例大于 8:1 时, 洗脱后 SPR 共振角度的偏移小于 0.1°, 这意味着 TNT 分子不易被除去. 当这一比例低于 8:1 时, 虽然模板分子很容易被洗脱, 但是分子印迹聚合物膜的稳定性开始下降.

为了进一步研究分子印迹膜对 TNT 的识别能力, 我们对其进行了吸附实验. 我们将浓度范围在 10^{-8} ~ 10^{-5} mol/L 之间的一系列浓度的 TNT 乙腈溶液, 以 0.5 mL/min 的流速依次注入流通池中. 为了达到吸附平衡, 每个浓度的 TNT 溶液注入的时间为 900 s, 然后注入乙腈溶剂对薄膜进行冲洗, 时间为 300 s. 如图 4(a)所示, 随着吸附液中 TNT 浓度的增加, SPR

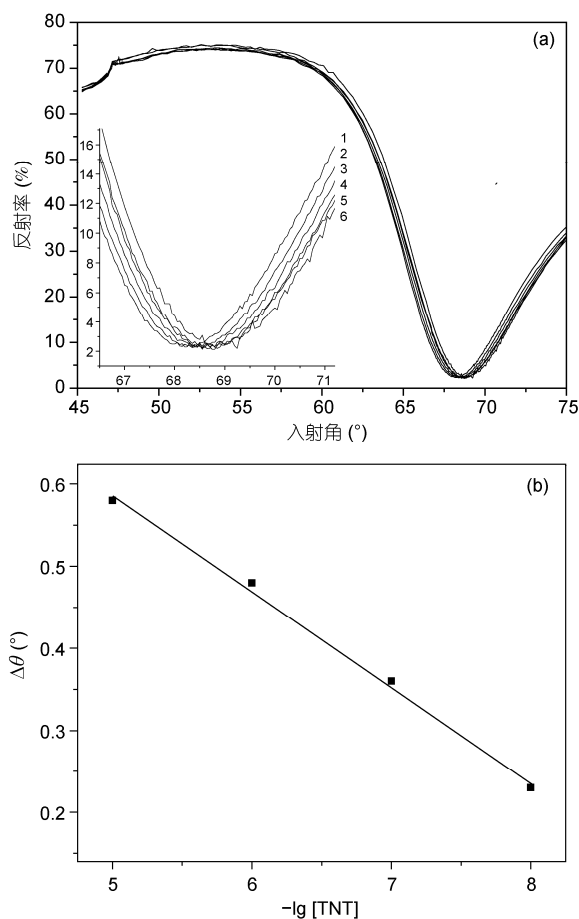


图 4 TNT 分子印迹聚合物膜与不同浓度 TNT 乙腈溶液发生吸附反应的 SPR 光谱图(a)及吸附反应后共振角的变化($\Delta\theta$)与 TNT 浓度的负对数的关系图(b)
(a)曲线 1, 洗脱后; 曲线 2~5, 1×10^{-8} , 1×10^{-7} , 1×10^{-6} , 1×10^{-5} mol/L; 曲线 6, 洗脱前. 插图为共振角的局部放大图

共振角逐渐增大, 这表明 TNT 分子被识别位点捕获. 我们将吸附后共振角度的变化($\Delta\theta$)对 TNT 吸附液浓度的负对数($-\lg[\text{TNT}]$)作图. 如图 4(b)所示, 在 10^{-8} ~ 10^{-5} mol/L 浓度范围内通过拟合得到一条直线($R^2 = 99.49\%$). 结果表明, 传感芯片对 TNT 具有很好的吸附能力和较低的检测限. 在对非印迹聚合物膜进行的参比实验中, 当 TNT 吸附液的浓度为 10^{-8} ~ 10^{-3} mol/L 时, SPR 光谱图没有发生明显的变化, 表明非印迹聚合物膜与 TNT 之间没有发生特异性和非特异性的结合. 另外, 重复性实验发现分子印迹聚合物膜具有很好的重现性和稳定性, 使用 10 次以上仍无信号衰减.

为了评估 SPR 传感器的选择性, 我们选择了与 TNT 分子结构相似的化合物, 2,4,5-三硝基甲苯(2,4,5-TNT)和 1,3,5-三硝基-1,3,5-六氢化三嗪(RDX)(分子结构式见图 5), 将这两种化合物的 1×10^{-4} mol/L 乙腈

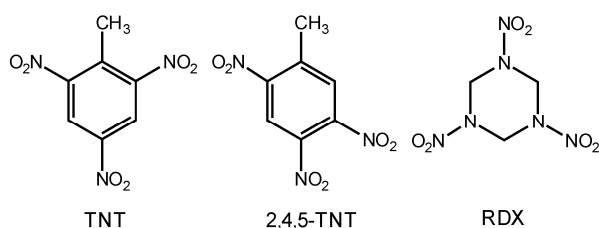


图 5 TNT 及其结构类似化合物的化学结构式

溶液分别注入到样品池中进行吸附反应实验. 结果如图 6 所示, 这两种吸附液流过 SPR 芯片后共振角没有发生明显变化(小于 0.1°). 结果表明, TNT 分子印迹膜对模板分子 TNT 具有非常好的选择性.

3 结论

本文报道了一种采用 TNT 印迹聚合物膜作为识别原件的新型 SPR 传感器, 该传感器可对 TNT 进行免标记检测, 具有较高的灵敏度和选择性. 这一研究工作不仅为 TNT 的现场监测提供了一种新的方法, 而且对于其他爆炸物的检测也具有很大的应用潜力.

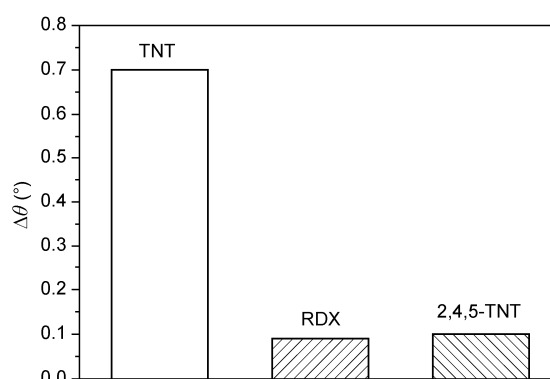


图 6 TNT 分子印迹聚合物膜与 1×10^{-4} mol/L 的 TNT, RDX 和 2,4,5-TNT 吸附液发生吸附反应后的 SPR 共振角度变化

参考文献

- 1 Yinon J. Field detection and monitoring of explosives. *Trends Anal Chem*, 2002, 21: 292-301
- 2 Tu R Y, Liu B H, Wang Z Y, et al. Amine-capped ZnS-Mn²⁺ nanocrystals for fluorescence detection of trace TNT explosive. *Anal Chem*, 2008, 80: 3458-3465
- 3 Yang J, Aschemeyer S, Martinez H P, et al. Hollow silica nanospheres containing a silafluorene-fluorene conjugated polymer for aqueous TNT and RDX detection. *Chem Comm*, 2010, 46: 6804-6806
- 4 Li H H, Lü F T, Zhang S J, et al. Preparation of monolayer-assembled fluorescent film and its sensing performances to hidden nitroaromatic explosives. *Chin Sci Bull*, 2008, 53: 1644-1650
- 5 Pushkarsky M B, Dunayevskiy I G, Prasanna M, et al. High-sensitivity detection of TNT. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 19630-19634
- 6 Sohn H, Sailor M J, Magde D, et al. Detection of nitroaromatic explosives based on photoluminescent polymers containing metalloles. *J Am Chem Soc*, 2003, 125: 3821
- 7 Altstein M, Bronshtein A, Glattstein B, et al. Immunochemical approaches for purification and detection of TNT traces by antibodies entrapped in a sol-gel matrix. *Anal Chem*, 2001, 73: 2461-2467
- 8 Riskin M, Tel-Vered R, Bourenko T, et al. Imprinting of molecular recognition sites through electropolymerization of functionalized Au nanoparticles: Development of an electrochemical TNT sensor based on π -donor-acceptor interactions. *J Am Chem Soc*, 2008, 130: 9726-9733
- 9 Hrapovic S, Majid E, Liu Y, et al. Metallic nanoparticle-carbon nanotube composites for electrochemical determination of explosive nitroaromatic compounds. *Anal Chem*, 2006, 78: 5504-5512

- 10 Wilson R, Clavering C, Hutchinson A. Electrochemiluminescence enzyme immunoassay for TNT. *Analyst*, 2003, 128: 480–485
- 11 Green T M, Charles P T, Anderson G P. Detection of 2,4,6-trinitrotoluene in seawater using a reversed-displacement immunosensor. *Anal Biochem*, 2002, 310: 36–41
- 12 Kawaguchi T, Shankaran D R, Kim S J, et al. Fabrication of a novel immunosensor using functionalized self-assembled monolayer for trace level detection of TNT by surface plasmon resonance. *Talanta*, 2007, 72: 554–560
- 13 Riskin M, Tel-Vered R, Lioubashevski O, et al. Ultrasensitive surface plasmon resonance detection of trinitrotoluene by a bis-aniline-cross-linked Au nanoparticles composite. *J Am Chem Soc*, 2009, 131: 7368–7378
- 14 Homola J, Yee S S, Gauglitz G. Surface plasmon resonance sensors: Review. *Sens Actuator B*, 1999, 54: 3–15
- 15 Homola J. Surface plasmon resonance sensors for detection of chemical and biological species. *Chem Rev*, 2008, 108: 462–493
- 16 Sellergren B. *Molecularly Imprinted Polymers: Man-Made Mimics of Antibodies and their Applications in Analytical Chemistry*. Amsterdam: Elsevier Publisher, 2001
- 17 Haupt B, Mosbach K. Molecularly imprinted polymers and their use in biomimetic sensors. *Chem Rev*, 2000, 100: 2495–2504
- 18 Xie C G, Zhang Z P, Wang D P, et al. Surface molecular self-assembly strategy for TNT imprinting of polymer nanowire/nanotube arrays. *Anal Chem*, 2006, 78: 8339–8346
- 19 Xie C G, Liu B H, Wang Z Y, et al. Molecular imprinting at walls of silica nanotubes for TNT recognition. *Anal Chem*, 2008, 80: 437–443
- 20 Wei Q Q, Wei T X, Wu X G. Ultrasensitive and highly selective detection of testosterone using a surface plasmon resonance sensor combined with molecularly imprinted films. *Chem Lett*, 2011, 40: 132–133

· 动态 ·

有机酸催化不对称烷基化反应新进展

在有机分子催化的不对称合成领域, 手性有机酸催化和有机胺催化是其中两个非常重要的研究方向. 羰基化合物的 α -烷基化反应是形成碳碳键的重要合成策略. 手性有机胺催化羰基化合物的不对称 α -烷基化反应已经有较多的研究报告, 但是手性有机酸催化的该类反应还很少见. 多样化的催化体系对于合成结构多样性的化合物是非常重要的. 因此, 探讨有机酸催化的不对称 α -烷基化反应具有重要的科学意义.

由西南大学化学化工学院郭其祥教授和彭云贵教授共同担任通讯作者撰写的“The direct asymmetric α -alkylation of ketones by Brønsted-acid catalysis”论文介绍了他们在手性酸催化羰基化合物的不对称直接 α -烷基化方面所取得的研究成果. 该文发表在2012年第51期 *Angew Chem Int Ed* 上. 他们通过合理选择烷基化试剂, 首次实现了手性磷酸催化脂肪酮与活性醇的不对称直接 α -烷基化反应. 这是他们继2009年与中国科学技术大学龚流柱教授合作, 发展了第一例手性酸催化的间接烷基化反应后(*Org Lett*, 2009, 11: 4620), 再次在手性酸催化的不对称烷基化反应方面获得的连续性研究成果.

有机催化的研究热潮从2000年开始兴起, 有机催化羰基化合物的不对称 α -烷基化反应作为有机合成领域最重要的碳碳键形成方式之一从2004年开始被人关注. 在2009年, 活性醇(如二芳基甲醇), 因为其原子经济性和环境友好性(水是唯一副产物), 被作为烷基化试剂应用到手性胺催化醛的不对称 α -烷基化反应中. 从此, 手性胺催化醛的

不对称 α -烷基化反应开始成为研究热点. 但是, 已报道的手性胺在催化脂肪酮与活性醇的不对称 α -烷基化反应中表现出来的立体控制效果并不理想. 因此, 非常有必要发展新的催化体系来实现酮与活性醇的不对称 α -烷基化反应.

理论上, 质子酸可以作为羰基化合物与醇发生 α -烷基化反应的催化剂. 一方面, 质子酸可以促使羰基化合物烯醇化, 从而提高羰基化合物 α -碳的亲核性; 另一方面, 质子酸可以通过质子化醇羟基提高醇化物的亲电性. 基于该思路, 西南大学化学化工学院郭其祥课题组开始寻求手性酸催化羰基化合物与活性醇的不对称 α -烷基化反应的方法学, 并于2009年成功实现了手性酸催化的第一例不对称间接烷基化反应. 在此基础上, 他们通过引入亲电性更强的活性醇烷基化试剂, 成功地实现了手性酸催化酮与活性醇的不对称直接 α -烷基化反应.

该方法的创新之处在于首次实现了手性酸催化酮与醇的不对称直接 α -烷基化反应, 并通过此方法成功合成了具有高光学活性的杂环化合物. 业内专家认为, 该工作表述了有机催化不对称烷基化反应中的挑战性问题: (1) 实现了酮的 α -烷基化; (2) 使用醇作为亲电体; (3) 合成了具有季碳手性中心的化合物; (4) 实现了非对称链状酮的 α -烷基化. 尤其是第(4)点, 专家表示这是“令人激动的结果”.

该研究工作得到了国家自然科学基金(20902074)和中央高校基本科研业务费(XDJK2011C054)资助.

(本刊讯)