

分析测试

# 基于磷酸基团接枝的 $\text{Ca}^{2+}$ 响应检测 芯片制备及其性能研究

孙杨, 刘壮\*

(四川大学化学工程学院, 四川 成都 610065)

**摘要:**提出了一种基于石英晶体微天平(QCM)快速检测水体系中  $\text{Ca}^{2+}$  的新方法,采用磷酸基团( $-\text{PO}_3\text{H}_2$ )为识别单元,通过两步温和反应将 $-\text{PO}_3\text{H}_2$ 基团修饰于QCM晶片的 $\text{SiO}_2$ 表面,形成了可对 $\text{Ca}^{2+}$ 选择性络合的APTES-3PPA分子刷层。通过红外光谱、X射线光电子能谱验证了在QCM晶片表面选择性分子刷的成功形成。实验结果表明,该 $\text{Ca}^{2+}$ 敏感的QCM( $\text{Ca}^{2+}$ -QCM)芯片可对10~40 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$ 产生线性响应,能在105 s左右达到响应平衡。

**关键词:**磷酸基团;钙离子;QCM芯片;快速检测

中图分类号:TB34

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2025)12-0235-04

DOI:10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2025.12.041

## Construction of calcium ion-sensitive chip grafted with phosphonic acid groups and performance study

SUN Yang, LIU Zhuang\*

(School of Chemical Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, China)

**Abstract:**This study proposes a novel method for the rapid detection of  $\text{Ca}^{2+}$  in water system through using a Quartz Crystal Microbalance (QCM), which takes phosphonic acid groups ( $-\text{PO}_3\text{H}_2$ ) as recognition units. Phosphonic acid groups are modified onto the surface of QCM chip through two mild reaction steps, forming a molecular brush layer capable of selectively complexing with  $\text{Ca}^{2+}$ . The formation of the molecular brush on the QCM chip surface is verified through infrared spectroscopy and X-ray photoelectron spectroscopy. Experimental results demonstrate that this  $\text{Ca}^{2+}$ -sensitive QCM ( $\text{Ca}^{2+}$ -QCM) chip exhibits a linear response to  $\text{CaCl}_2$  in a concentration ranging from 10 to 40 mmol/L, and can reach response equilibrium in approximately 105 seconds.

**Key words:**phosphonic acid group; calcium ion; QCM chip; rapid detection

钙离子( $\text{Ca}^{2+}$ )是重要的生物标志物,其浓度变化与肌肉收缩、神经传导等生命活动密不可分<sup>[1]</sup>。饮用水中 $\text{Ca}^{2+}$ 的浓度增加会影响水的口感以及导致泌尿系统结石风险增加<sup>[2]</sup>,通过检测 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度,能够及时发现水质问题,确保饮用水符合相关标准,保障人体健康<sup>[3]</sup>。此外, $\text{Ca}^{2+}$ 还是水体环境中的重要组成成分,是评估水体健康状况的参考指标<sup>[3]</sup>。因此,实现实时、快速检测 $\text{Ca}^{2+}$ 对于健康管理、环境监测等方面具有重要意义。

目前 $\text{Ca}^{2+}$ 检测方法包括比色法<sup>[4]</sup>、荧光法<sup>[5]</sup>和原子吸收法<sup>[6]</sup>等。这些方法大多存在操作烦琐、样品需前处理、检测周期长、无法进行实时现场监测等问题。近年来,以石英晶体微天平(quartz crystal

microbalance, QCM)为基础构建的QCM芯片因操作简便、响应迅速等优势,正受到越来越多的关注,其检测原理是通过在具有压电效应的石英作为原材料制备的QCM晶片上构建对待测物质具有特异性的活性层<sup>[7]</sup>,当目标物质吸附于QCM晶片表面时,QCM晶片的振荡频率( $\Delta f$ )会出现减小, $\Delta f$ 与QCM晶片表面负载的质量( $\Delta m$ )具有线性相关性,可用Sauerbrey方程<sup>[8]</sup>表示:

$$\Delta f = - [(2f_0^2)/(A\sqrt{\rho\mu})] \Delta m$$

其中 $f_0$ 为QCM晶片的基频, $\Delta m$ 是晶片表面发生吸附时负载吸附物质的质量, $A$ 、 $\rho$ 和 $\mu$ 分别代表了QCM晶片的有效活性层面积、密度和剪切模量。

QCM芯片是一种质量敏感的检测元件,检测精

收稿日期:2025-01-17;修回日期:2025-10-06

基金项目:国家自然科学基金项目(21776182)

作者简介:孙杨(1999-),女,硕士生;刘壮(1987-),男,博士,教授,博士生导师,研究方向为智能材料和膜器件通讯联系人,liuz@scu.edu.cn。

度可达到纳克级,研究人员已开发出用于检测空气湿度<sup>[9]</sup>以及以胆红素<sup>[10]</sup>为代表的生物大分子的 QCM 芯片。但设计一种检测小分子物质而无需任何外加信号放大的 QCM 芯片仍极具挑战。

生物体中存在大量含磷酸基团的化合物,磷酸基团对  $\text{Ca}^{2+}$  具有高亲和力,能与  $\text{Ca}^{2+}$  发生配位络合<sup>[11]</sup>,该过程发生在细胞增殖、神经元传导等许多生理活动中<sup>[12]</sup>。本研究通过共价修饰的方法将  $-\text{PO}_3\text{H}_2$  修饰于 QCM 晶片表面,在其表面形成可特异性络合  $\text{Ca}^{2+}$  的分子刷,从而实现了对  $\text{Ca}^{2+}$  的实时、快速高灵敏检测。本文中利用 QCM 芯片研究了  $\text{Ca}^{2+}$  和  $-\text{PO}_3\text{H}_2$  之间的相互作用,实验结果表明,该 QCM 芯片能有效检测  $\text{Ca}^{2+}$ ,且对  $\text{Ca}^{2+}$  表现出良好的选择性。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

3-氨基丙基三乙氧基硅烷 (APTES)、2-吗啉乙磺酸 (MES)、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺 (EDC)、*N*-羟基丁二酰亚胺 (NHS)、3-磷酸基丙酸 (3PPA)、氯化钙 ( $\text{CaCl}_2$ )、氯化钾 (KCl)、氯化钠 (NaCl)、乙二胺四乙酸二钠盐二水合物 ( $\text{EDTA}-2\text{Na}$ ),上海泰坦科技股份有限公司生产;无水甲醇 ( $\text{H}_2\text{O} \leq 100 \times 10^{-6}$ ),上海阿拉丁生化科技股份有限公司生产;氢氧化钠,成都市科隆化学品有限公司生产;镀  $\text{SiO}_2$  的 QCM 晶片,购买自瑞典佰欧林科技有限公司。

恒温恒湿箱 (CL1300),上海一恒科学仪器有限公司;水浴振荡器 (SHZ-B),常州冠军仪器制造有限公司;X 射线光电子能谱仪,英国 KRATOS 公司;红外光谱仪 (IS50),赛默飞世尔科技公司;石英晶体微天平 (QSense Explorer),瑞典佰欧林科技有限公司;Millipore Elix-10 纯水系统,Millipore 公司。

### 1.2 QCM 芯片敏感分子刷的制备

#### 1.2.1 硅烷偶联剂氨基化 QCM 晶片表面

无水甲醇 (体积分数 50%)、3-氨基丙基三乙氧基硅烷 (体积分数 47.5%)、纯水 (体积分数 2.5%) 组成的溶液在室温下搅拌 4 h,使 APTES 中  $\text{Si}-\text{OCH}_2\text{CH}_3$  水解成  $\text{Si}-\text{OH}$ <sup>[13]</sup>。随后取上述溶液按一定比例以无水甲醇稀释,将 Air Plasma 处理 5 min 后的 QCM 晶片 ( $\text{SiO}_2$ ) 浸入体积分数为 0.047 5% 的 APTES 溶液中,室温静置反应 30 min。反应结束后取出用甲醇充分冲洗, $\text{N}_2$  干燥后,放入烘箱中  $110^\circ\text{C}$  下固化 30 min,并于真空中保存备用。

#### 1.2.2 EDC/NHS 介导偶联 APTES 功能化的 QCM 晶片和 3-磷酸基丙酸

配置 pH 5.5, 0.1 mol/L 的 2-吗啉乙磺酸 (MES) 缓冲液,其中含有 EDC 75 mg, NHS 45 mg,加入适量 3-磷酸基丙酸 (3-PPA),预先活化 2 h,随后将 APTES 修饰后 QCM 晶片 ( $\text{SiO}_2$ -APTES) 浸入溶液中,室温密闭反应 24 h,反应完成后用二次纯水洗涤并干燥,保存备用,并将该样品记为  $\text{SiO}_2$ -APTES-3PPA。

### 1.3 $\text{Ca}^{2+}$ -QCM 敏感分子刷的表征

利用红外光谱仪和 X 射线衍射光谱仪对 QCM 芯片表面分子刷层 (图 1) 的组成分别进行定性和定量分析。

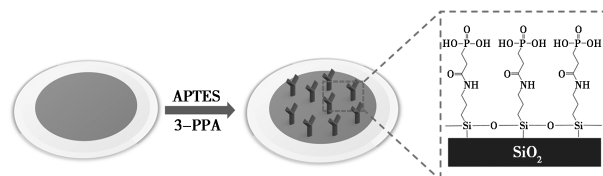


图 1  $\text{Ca}^{2+}$ -QCM 芯片表面修饰的分子刷层

### 1.4 QCM 芯片的检测性能

将 QCM 芯片放入 QSense 流动模块中,利用蠕动泵将测试溶液注入流动池中 (设置流速为  $100 \mu\text{L}/\text{min}$ ),用软件实时记录晶片频率变化。检测过程中,先通入二次纯水,待频率稳定后以此作为背景扣除后,通入一定浓度的氯化钙溶液,待频率稳定记录数值,取出 QCM 晶片,在 1 mol/L  $\text{EDTA}-2\text{Na}$  溶液中浸泡 10 min,取出后用大量二次纯水清洗, $\text{N}_2$  吹干后再次用于上述测试中。

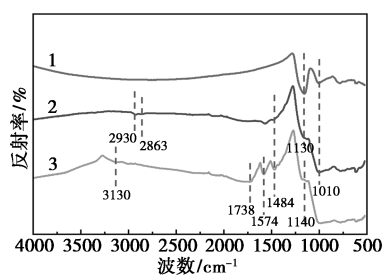
## 2 结果与讨论

### 2.1 $\text{Ca}^{2+}$ -QCM 芯片表面分子刷的表征

#### 2.1.1 红外光谱图分析

图 2 是 QCM 晶片表面修饰 APTES 前后的红外光谱图,曲线 2 中  $2930$ 、 $2863 \text{ cm}^{-1}$  出现的红外吸收峰分别来自于 APTES 中丙基链  $-\text{CH}_2-$  的不对称和对称伸缩振动吸收峰<sup>[14]</sup>;  $1574 \text{ cm}^{-1}$  处吸收峰来自于 QCM 芯片表面 APTES 的端基  $-\text{NH}_2$  弯曲振动吸收峰,而  $1484 \text{ cm}^{-1}$  处的吸收则是  $\text{NH}_3^+$  的弯曲振动吸收峰,这是由于样品暴露于空气中,水分子与表面  $-\text{NH}_2$  发生结合从而使  $-\text{NH}_2$  质子化<sup>[15]</sup>; 曲线 2 中  $1130$ 、 $1010 \text{ cm}^{-1}$  附近出现的吸收峰来自于  $\text{Si}-\text{O}-\text{Si}$  的不对称伸缩振动吸收峰。曲线 3 是  $\text{SiO}_2$ -APTES 表面修饰磷酸基羧酸的红外光谱图,APTES

氨基化 QCM 晶片表面后,表面存在大量的  $-\text{NH}_2$ , 3PPA 分子链一侧的端基  $-\text{COOH}$  与  $-\text{NH}_2$  进行脱水缩合形成酰胺键从而将磷酸基团修饰于 QCM 晶片表面。曲线 3 中  $3\ 130$ 、 $1\ 587\ \text{cm}^{-1}$  附近红外吸收峰来自于酰胺键中  $\text{N}-\text{H}$  的伸缩振动吸收峰,  $1\ 738\ \text{cm}^{-1}$  归因于酰胺键中  $\text{C}=\text{O}$  振动吸收峰,  $1\ 468\ \text{cm}^{-1}$  附近的吸收峰为  $\text{C}-\text{N}$  伸缩振动吸收峰,  $1\ 140\ \text{cm}^{-1}$  附近的吸收峰则来自于  $\text{P}=\text{O}$  的振动吸收峰。因此,红外光谱的结果可说明在 QCM 晶片表面成功接枝了  $\text{SiO}_2-\text{APTES}-3\text{PPA}$  分子刷,得到了  $\text{Ca}^{2+}$ -QCM 芯片。

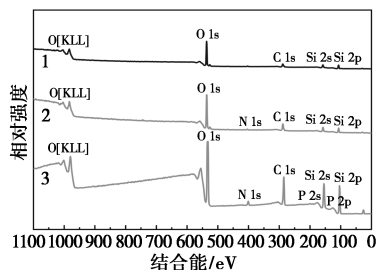


1— $\text{SiO}_2$ ; 2— $\text{SiO}_2-\text{APTES}$ ; 3— $\text{SiO}_2-\text{APTES}-3\text{PPA}$

图 2 QCM 晶片表面依次修饰 APTES 和 3PPA 后的全衰减反射红外光谱图

### 2.1.2 XPS 分析

如图 3 所示为不同样品表面 XPS 全谱图,对比空白 QCM 晶片的 XPS 全谱,在修饰 APTES 后,  $\text{SiO}_2-\text{APTES}$  全谱图中出现了来自 APTES 端基  $-\text{NH}_2$  的 N 元素,其原子分数占比为 2.33% (表 1),说明 APTES 成功修饰至 QCM 晶片表面。P2s 和 P2p 特征峰说明经过接枝后 QCM 晶片表面出现了 P 元素,P 元素占比在 1.26% (表 1),而这一特征元素是来自接枝在  $\text{SiO}_2-\text{APTES}$  表面的 3PPA,由此可说明通过酰胺化反应成功将 3PPA 修饰到 QCM 晶片表面。



1— $\text{SiO}_2$ ; 2— $\text{SiO}_2-\text{APTES}$ ; 3— $\text{SiO}_2-\text{APTES}-3\text{PPA}$

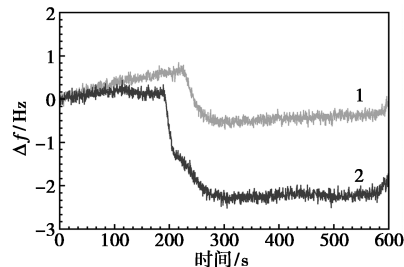
图 3 QCM 晶片表面依次修饰 APTES 和 3PPA 的 X 射线光电子能谱图

表 1 不同样品 XPS 的原子分数

	Si	O	C	N	P
$\text{SiO}_2$	67.05	32.94	—	—	—
$\text{SiO}_2-\text{APTES}$	18.54	45.02	34.11	2.33	—
$\text{SiO}_2-\text{APTES}-3\text{PPA}$	22.89	49.57	23.54	2.74	1.26

## 2.2 $\text{Ca}^{2+}$ -QCM 芯片对 $\text{Ca}^{2+}$ 的响应

利用 QCM 检测改性修饰的  $\text{Ca}^{2+}$ -QCM 芯片是否对含有  $\text{Ca}^{2+}$  的溶液产生响应。如图 4 所示是空白 QCM 芯片和  $\text{Ca}^{2+}$ -QCM 芯片在分别通入 35 mmol/L 的  $\text{CaCl}_2$  溶液时所产生的频率变化,空白 QCM 芯片在  $\text{CaCl}_2$  溶液中产生了频率的变化,这可能是由于当溶液从纯水变为含有离子的溶液时,晶片受到溶液密度等因素的影响产生了频率变化。由于经过改性后的  $\text{Ca}^{2+}$ -QCM 芯片表面存在能够与  $\text{Ca}^{2+}$  相互作用的  $-\text{PO}_3\text{H}_2$  基团,当含有  $\text{Ca}^{2+}$  溶液流经晶片表面时,  $\text{Ca}^{2+}$  会吸附在晶片表面,从而在相同浓度的  $\text{CaCl}_2$  溶液中所产生的频率变化表现出比空白 QCM 晶片更明显的频率变化,因此修饰后的 QCM 晶片能对  $\text{Ca}^{2+}$  进行响应,成功制备了  $\text{Ca}^{2+}$  敏感的 QCM 芯片。

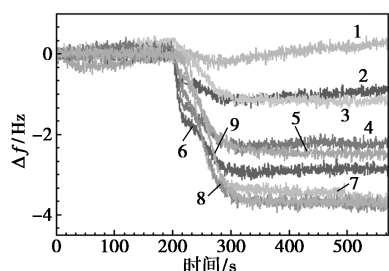


1—空白 QCM; 2— $\text{Ca}^{2+}$ -QCM

图 4 芯片对 35 mmol/L  $\text{CaCl}_2$  的频率响应变化

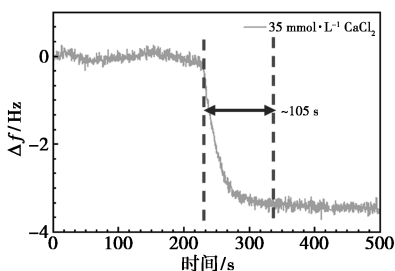
## 2.3 $\text{Ca}^{2+}$ -QCM 芯片对不同浓度 $\text{CaCl}_2$ 的响应测试

对不同浓度  $\text{CaCl}_2$  进行 QCM 测试。从图 5(a) 可以看到,  $\text{Ca}^{2+}$ -QCM 芯片能对浓度为 10 ~ 40 mmol/L 的  $\text{Ca}^{2+}$  产生响应,且对  $\text{Ca}^{2+}$  达到响应平衡的时间非常快,在 105 s 左右即可达到响应平衡的状态[图 5(b)],  $\text{Ca}^{2+}$  浓度增加使更多  $\text{Ca}^{2+}$  吸附于修饰后  $\text{Ca}^{2+}$ -QCM 芯片的表面,呈现出芯片产生的共振频率随  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的增加而逐渐减小,当  $\text{Ca}^{2+}$  浓度增大至 40 mmol/L 时,芯片所能产生的共振响应频率达到最大。将  $\text{Ca}^{2+}$  浓度与其对应产生的共振频率做线性拟合分析[图 5(c)],相关系数  $R^2$  为 0.985 53,这说明  $\text{Ca}^{2+}$  浓度与共振频率表现出高度的线性相关性。

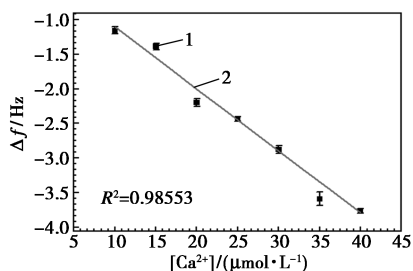


1—5 mmol/L; 2—10 mmol/L; 3—15 mmol/L;  
4—20 mmol/L; 5—25 mmol/L; 6—30 mmol/L;  
7—35 mmol/L; 8—40 mmol/L; 9—45 mmol/L

(a) Ca<sup>2+</sup>-QCM 芯片对不同浓度 CaCl<sub>2</sub> 所产生的响应频率



(b) Ca<sup>2+</sup>-QCM 芯片检测时达到响应平衡的时间



1—Ca<sup>2+</sup>-QCM 芯片共振频率;  
2—Ca<sup>2+</sup>-QCM 芯片共振频率的线性拟合

(c) 不同浓度 CaCl<sub>2</sub> 溶液的响应频率及线性拟合

图 5 Ca<sup>2+</sup>-QCM 芯片的响应性能

表 2 所示是 Ca<sup>2+</sup>-QCM 芯片对于相同浓度的不同离子溶液所产生的频率。从表中可以看到,在离子浓度相同的情况下, Ca<sup>2+</sup>-QCM 芯片对 Ca<sup>2+</sup> 产生的频率变化会明显高于 Na<sup>+</sup> 和 K<sup>+</sup>, 所呈现的信号大小是 Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup> 的 3 倍以上。以上结果说明该 Ca<sup>2+</sup>-QCM 芯片能对 Ca<sup>2+</sup> 具有良好的选择性。

表 2 Ca<sup>2+</sup>-QCM 芯片分别对 20 mmol/L CaCl<sub>2</sub>、NaCl、KCl 产生的响应频率

	CaCl <sub>2</sub>	NaCl	KCl
Δf	-2.23173	0.5776	0.60207

### 3 结论

综上所述,通过两步反应将 PO<sub>3</sub><sup>2-</sup> 基团修饰于镀 SiO<sub>2</sub> 的 QCM 晶片表面,形成了对 Ca<sup>2+</sup> 选择性络合

的分子刷层,得到了可检测 Ca<sup>2+</sup> 浓度的 Ca<sup>2+</sup>-QCM 芯片。通过 FT-IR、XPS 对接枝于 QCM 晶片表面的分子刷进行表征,并利用 QCM-D 测试了 Ca<sup>2+</sup>-QCM 芯片的检测性能。结果表明, Ca<sup>2+</sup>-QCM 芯片能检测 10~40 mmol/L 的 Ca<sup>2+</sup> 浓度,可在 105 s 左右达到响应平衡,在该浓度范围内呈现出与频率的高度相关性。该 Ca<sup>2+</sup>-QCM 芯片对 Ca<sup>2+</sup> 表现出良好的选择性响应,为快速、实时高灵敏检测 Ca<sup>2+</sup> 浓度提供了一个新思路。

### 参考文献

- [1] Alves V S, Alves-Silva H S, Orts D J B, *et al.* Calcium signaling in neurons and glial cells: Role of Cav1 channels [J]. *Neuroscience*, 2019, 421: 95-111.
- [2] Kozisek F. Regulations for calcium, magnesium or hardness in drinking water in the European Union member states [J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2020, 112: 104589.
- [3] Dalmieda J, Kruse P. Metal cation detection in drinking water [J]. *Sensors*, 2019, 19(23): 5143.
- [4] Shen Y, Zhou S, He W, *et al.* Rapid detection of serum calcium based on supramolecular aggregates of a cationic perylene in vitro [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2023, 442: 114771.
- [5] Liu S, Wang H, Cheng Z, *et al.* Hexametaphosphate-capped quantum dots as fluorescent probes for detection of calcium ion and fluoride [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2016, 232: 306-312.
- [6] 张成, 黎隽. 火焰原子吸收分光光度法测定透析液中 K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup> 离子的含量 [J]. *中国医疗器械信息*, 2010, 16(7): 47-49.
- [7] Pohanka M. Quartz crystal microbalance (QCM) sensing materials in biosensors development [J]. *International Journal of Electrochemical Science*, 2021, 16(12): 211220.
- [8] Latif U, Can S, Hayden O, *et al.* Sauerbrey and anti-Sauerbrey behavioral studies in QCM sensors—Detection of bioanalytes [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2013, 176: 825-830.
- [9] Qi P, Xu Z, Zhang T. In situ growth of dopamine on QCM for humidity detection [J]. *Chemosensors*, 2022, 10(12): 522.
- [10] Çiçek Ç, Yılmaz F, Özgür E, *et al.* Molecularly Imprinted quartz crystal microbalance sensor (QCM) for Bilirubin detection [J]. *Chemosensors*, 2016, 4(4): 21.
- [11] Byung-Chul Oh M H K, Yun B S, Choi W C, *et al.* Ca<sup>2+</sup>-inositol phosphate chelation mediates the substrate specificity of β-propeller phytase [J]. *Biochemistry* 2006, 45: 9531-9539.
- [12] Berridge M J. The inositol trisphosphate/calcium signaling pathway in health and disease [J]. *Physiological Reviews*, 2016, 96(4): 1261-1296.
- [13] Hijazi M, Stambouli V, Rieu M, *et al.* Synthesis and characterization of tin dioxide thick film modified by APTES in vapor and liquid phases [J]. *Journal of Materials Science*, 2017, 53(1): 727-738.
- [14] Melania B A R, Monica S, Mihaela K. Reproducible functionalization of silicon substrates intended for biomedical applications [C]. Sinaia, Romania: 2016 International Semiconductor Conference (CAS), 2016: 151-154.
- [15] Pasternack Rm R A S, Chabal Y J. Attachment of 3-(Aminopropyl) triethoxysilane on silicon oxide surfaces: Dependence on solution temperature [J]. *Langmuir*, 2008, 24(22): 12963-12971. ■