

# 石墨烯-金纳米材料修饰电极用于 *L*-酪氨酸的检测

马勤政<sup>1,2</sup>, 王伟<sup>1,2</sup>, 梁旭婷<sup>1,2</sup>

(1. 河北工业大学电子信息工程学院, 天津 300401; 2. 天津市电子材料与器件重点实验室, 天津 300401)

**摘要** 采用一种绿色简单的电化学方法将还原氧化石墨烯-金纳米复合薄膜共沉积到玻碳电极(GCE)上, 作为传感器用于*L*-酪氨酸(*L*-Tyr)的检测. 采用扫描电子显微镜(SEM)、循环伏安法(CV)和电化学阻抗谱(EIS)对修饰电极进行了表征. 采用差分脉冲伏安法(DPV)研究了0.1 mol/L磷酸盐缓冲溶液中*L*-Tyr在修饰电极上的电化学行为, 发现*L*-Tyr在修饰电极上的伏安响应比裸GCE明显提高. 对复合薄膜的厚度、支撑电解质的pH值、沉积电位和积累时间进行了优化; 在最佳实验条件下, *L*-Tyr的氧化峰电流在0.1~50  $\mu\text{mol/L}$ 及50~1000  $\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内呈现良好的线性关系. 该传感器的检出限为50 nmol/L, 灵敏度为0.553  $\mu\text{A}\cdot\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 具有良好的重复性、稳定性和抗干扰性.

**关键词** 电化学; 还原氧化石墨烯; 金纳米粒子; 共沉积; *L*-Tyr传感器

中图分类号 O657 文献标志码 A doi: 10.7503/cjcu20230521

## Graphene-gold Nanomaterial Modified Electrode for the Detection of *L*-Tyrosine

MA Qinzhen<sup>1,2</sup>, WANG Wei<sup>1,2\*</sup>, LIANG Xuting<sup>1,2</sup>

(1. Hebei University of Technology, School of Electronics and Information Engineering,  
Tianjin 300401, China;

2. Tianjin Key Laboratory of Electronic Materials and Device, Tianjin 300401, China)

**Abstract** Using a green and simple electrochemical method, a reduced graphene oxide-gold nanocomposite thin film was prepared for the detection of *L*-tyrosine (*L*-Tyr). The modified electrode was characterized *via* scanning electron microscopy (SEM), cyclic voltammetry (CV), and electrochemical impedance spectroscopy (EIS). The electrochemical behavior of *L*-Tyr on the modified electrode in 0.1 mol/L phosphate buffer solution was investigated using differential pulse voltammetry (DPV). The results demonstrated a significantly enhanced voltammetric response of *L*-Tyr on the modified electrode compared to a bare glassy carbon electrode (GCE). Optimization of the composite film's thickness, pH of the supporting electrolyte, deposition potential, and accumulation time were carried out. Under the optimal experimental conditions, the oxidation peak current of *L*-Tyr exhibited a good linear relationship within the concentration ranges of 0.1—50  $\mu\text{mol/L}$  and 50—1000  $\mu\text{mol/L}$  using DPV. Moreover, the sensor demonstrated a detection limit of 50 nmol/L, a sensitivity of 0.553  $\mu\text{A}\cdot\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , and displayed excellent repeatability, stability, and anti-interference properties.

**Keywords** Electrochemistry; Reduced graphene oxide; Gold nanoparticle; Co-deposition; *L*-Tyr sensor

石墨烯(GR)是由单层碳原子组成的一种单层二晶格材料, 具有出色的机械强度和硬度、优良的导

收稿日期: 2023-12-25. 网络首发日期: 2024-01-31.

联系人简介: 王伟, 男, 博士, 副教授, 主要从事新型半导体电子材料与器件方面的研究. E-mail: wangwei@hebut.edu.cn

基金项目: 河北省自然科学基金(批准号: F2019202377)资助.

Supported by the Natural Science Foundation of Hebei Province, China(No. F2019202377).

电性能以及较高的电子迁移率, 已经被广泛应用在电子器件、能源存储、生物医疗和传感器等领域<sup>[1-4]</sup>。石墨烯的获取方法有机械剥离法、化学剥离法和化学气相沉积等。其中, 化学剥离法是将氧化石墨烯(GO)还原成石墨烯(rGO), 此方法通常使用还原剂(如柠檬酸)或者电化学还原法来还原GO。这类方法比较简单, 与制备单层GR相比成本更低, 适用于实验室规模的制备。与GR相比, rGO的表面含有一些化学官能团, 使其可与其它分子或者纳米颗粒进行化学反应。这些反应机理可以用于制造特殊的传感器或者催化剂。

金纳米颗粒(Au NPs)是一种具有特殊功能的纳米材料, 在生物传感方面应用广泛。Au NPs可与抗体或抗原等生物性分子特异性结合, 实现对特定生物分子的快速和灵敏性检测。如, German等<sup>[5]</sup>利用AuNPs、聚吡咯(Ppy)和葡萄糖氧化酶(GOx)共同修饰石墨电极, 制备了一种适用于测定人体血清样品中葡萄糖的电流型生物传感器; 其灵敏度为 $31.7 \mu\text{A} \cdot \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ , 检出限为 $0.20 \text{ mmol/L}$ 。

*L*-酪氨酸(*L*-Tyr)于1846年首次在奶酪的酪蛋白中被德国科学家尤斯图斯·冯·李比希男爵(Justus von Liebig)发现。它是用来合成机体蛋白质的氨基酸之一, 也是一种芳香族非必需氨基酸, 对生物体的新陈代谢和生长发育起着至关重要的作用。酪氨酸有2种立体异构体, 即*D*-Tyr和*L*-Tyr, 在生物体内主要以*L*-Tyr的形式存在。*L*-Tyr可以通过食物摄入, 尤其是蛋白质丰富的食物, 也可以在人体肝脏内由苯丙氨酸合成, 它是几种神经递质和激素的前体物质<sup>[6,7]</sup>, 如多巴胺、肾上腺素、甲状腺素和黑色素等。*L*-Tyr也参与人体大部分蛋白质的合成。健康成人体内*L*-Tyr的浓度范围约为 $30 \sim 120 \mu\text{mol/L}$ , 它对维持人体的正常代谢水平起着重要作用, 人体内*L*-Tyr的浓度也与人类的健康息息相关<sup>[8-15]</sup>, 缺乏*L*-Tyr可能会导致发育不良、焦虑、抑郁及易疲劳等症状。

*L*-Tyr广泛应用在医药、食品、饲料和化工等行业, 它是多肽类激素、抗生素和黑色素等医药产品的制备原料, 在临床上常作为苯丙酮尿症患者的营养补充剂以及治疗意识障碍和焦虑症的辅助药物。因此, 建立一种简单、可靠、灵敏和快速的检测手段非常重要。传统的*L*-Tyr检测方法有分光光度法、高效液相色谱法、化学发光法、毛细管电泳法、气相色谱法和荧光法等<sup>[16-21]</sup>, 这些方法不仅费时费力, 且抗干扰性差。电化学检测方法因具有高灵敏度、低检出限以及快速响应的优点而被广泛应用于多种分析物的分析测试中。目前, 石墨烯-金纳米材料的制备大多是在氧化石墨烯和氯金酸的混合物中加入强还原剂, 在高温下进行还原, 该过程不仅费时费力, 并且还原过程中使用的部分试剂毒性较大, 对环境的污染也较严重。本文采用一种绿色合成的方法, 通过电化学共沉积的方式制备了电化学还原氧化石墨烯-金纳米(ERGO-Au NPs)复合材料修饰的玻碳电极, 并作为传感器用于*L*-Tyr的检测; 采用CV法、EIS和SEM对修饰电极表面进行了表征。实验结果表明, 该电化学传感器对*L*-Tyr显示出良好的选择性和稳定性。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

氧化石墨烯(纯度99%), 购自深圳市国恒科技有限公司; KCl, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>和Ru(NH<sub>3</sub>)<sub>6</sub>Cl<sub>3</sub>均为分析纯, 购自上海麦克林生化科技股份有限公司; Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, NaOH, K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>和HAuCl<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O均为分析纯, *L*-Tyr(纯度99%), 购自上海国药集团化学试剂有限公司。用Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>和NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>制备了pH=3.0~10.0的0.1 mol/L磷酸盐缓冲溶液(PBS)作为实验的支撑电解质, 同时制备了pH=9的0.1 mol/L的碳酸盐缓冲溶液(CBS)。其它试剂均为分析纯, 实验使用去离子水(电阻率为 $18.25 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ )。所有实验均在室温下进行。

CHI 660E型电化学工作站, 上海辰华仪器有限公司; S-4800型扫描电子显微镜, 日本Hitachi公司; Ultimate 3000型高效液相色谱仪, 美国赛默飞世尔科技有限公司; ES-E120B型分析天平, 天津市德安特传感技术有限公司; PHS-3C型pH计, 上海佑科仪器仪表有限公司; 电化学实验采用传统的三电极体系: 工作电极为裸玻碳电极或者修饰的玻碳电极(GCE,  $\Phi=3.0 \text{ mm}$ ), 参比电极为Ag/AgCl(3 mol/L KCl)电极, 工作电极为铂丝电极, 上海辰华仪器有限公司。

## 1.2 实验过程

依次用 300 和 50 nm 的  $\text{Al}_2\text{O}_3$  抛光 GCE 表面, 并将 GCE 分别放入蒸馏水和无水乙醇中各超声清洗 3 min, 超声清洗完成后均用蒸馏水冲洗 GCE 表面, 最后用  $\text{N}_2$  气吹干. 将 GO 加入 pH=9 的 0.1 mol/L CBS 缓冲液中搅拌均匀后超声处理 45 min, 形成均匀的 GO 分散液, 再将  $\text{HAuCl}_4$  溶液滴加到 GO 分散液中, 充分搅拌后形成含有 1 mg/mL GO 和 0.24 mmol/L  $\text{HAuCl}_4$  的混合溶液. 对于混合溶液使用 CV 法, 扫描区间为 -1.5~0.6 V, 扫描速率为 50 mV/s, 循环 5 个周期制得 ERGO-Au NPs 复合薄膜. 石墨烯-金属材料的电化学共还原需要在含有 GO 和金属的前驱体混合溶液中进行. 由于金属离子与 GO 的交联作用, 带正电的金属阳离子的加入会导致 GO 在溶液中团聚, 如  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$ , 而使用金属阴离子则不会产生团聚<sup>[22]</sup>. 将制备的修饰电极记作 ERGO-Au NPs-GCE, 作为对比还制备了 ERGO 修饰的 GCE, 记作 ERGO-GCE. 图 1(B) 示出了 GCE 在 GO 和  $\text{HAuCl}_4$  混合溶液中进行电化学共还原制备 ERGO-Au NPs 复合薄膜时的 CV 曲线, 与图 1(A) 所示单独还原 GO 时的 CV 曲线存在明显不同. 图 1(B) 的还原电流比图 1(A) 的高 3 倍多, 表明 Au NPs 的存在增强了 GCE 的导电能力, 并且在图 1(B) 中 +0.2 V 处可以观察到 Au 的还原峰, 在 -1.4 V 处存在比图 1(A) 更加明显的 GO 还原峰, 表明 Au NPs 在一定程度上促进了 GO 的还原.

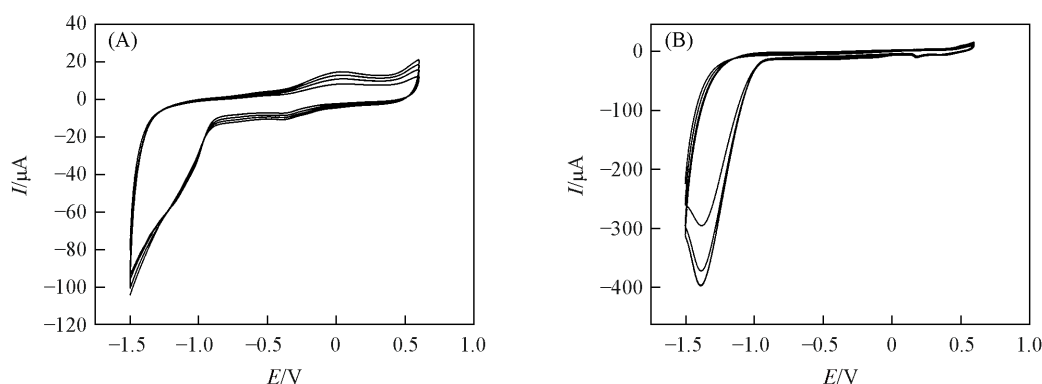


Fig. 1 CVs for the electrolysis of 1 mg/mL GO(A) and 1 mg/mL GO+0.24 mmol/L  $\text{HAuCl}_4$ (B) in 0.1 mol/L CBS

## 2 结果与讨论

### 2.1 修饰电极的表征

金属在酸性溶液中会形成表面氧化物, 在 CV 曲线上会有其氧化还原特征峰, 此方法已经被广泛应用于不同金属的电化学分析中<sup>[23]</sup>. 利用 CV 法研究了 ERGO-Au NPs-GCE 在 0.5 mol/L  $\text{H}_2\text{SO}_4$  溶液中的电化学行为, 扫描区间为 -0.5~1.6 V, 扫描速率为 50 mV/s. 由图 2 可见, CV 曲线包含酚羟基的氧化还原峰(峰 I), 还有 1 个 Au 的特征峰(峰 II). 这表明通过电化学方法同时还原了石墨烯和金, 与文献[22]报道的结果基本一致, 初步证明已制得 ERGO-Au NPs 复合薄膜.

采用扫描电子显微镜观察了 ERGO-GCE 和 ERGO-Au NPs-GCE 的表面形貌. 由图 3(A) 可见 ERGO 膜褶皱的纹理, 表明产生了较大的有效表面积, 可能更有利于 *L*-Tyr 在修饰电极表面的吸附. 图 3(B) 显示 ERGO 薄膜上均匀分布着直径约 20 nm 的 Au 颗粒, 也表明采用电化学共沉积方法制得了 ERGO-Au NPs 复合薄膜.

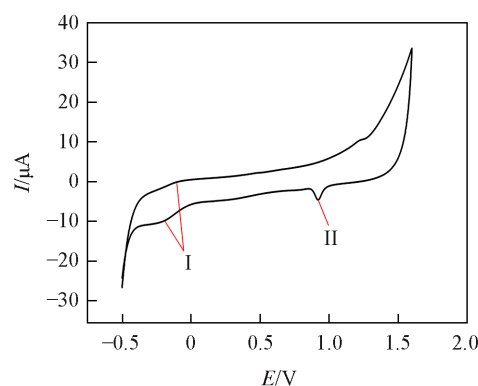


Fig. 2 CV of ERGO-Au NPs-GCE in 0.5 mol/L  $\text{H}_2\text{SO}_4$  solution

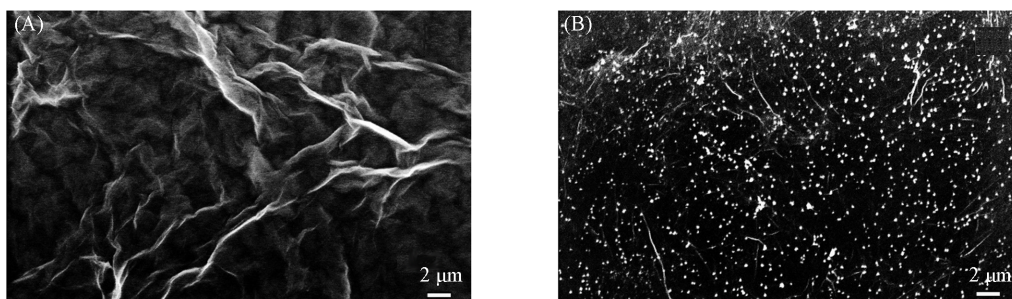


Fig. 3 SEM images of ERGO(A) and ERGO-Au NPs composite(B) films

## 2.2 修饰电极的电化学行为

通过 CV 法和 EIS 研究了 GCE 及改性 GCE 的电化学行为. 图 4(A) 示出了 GCE, ERGO-GCE 和 ERGO-Au NPs-GCE 在 5 mmol/L  $K_3Fe(CN)_6$  溶液中以 0.1 mol/L KCl 为支撑电解质的 CV 曲线, 可以看出  $K_3Fe(CN)_6$  在 GCE 上有 1 对明显的氧化还原峰, 阳极峰电位  $E_{pa}=0.267$  V, 阴极峰电位  $E_{pc}=0.184$  V, 峰电位差  $\Delta E=83$  mV, 阳极峰电流  $I_{pa}=45.94$   $\mu$ A. 其它两种改性电极与裸 GCE 相比, 阳极峰电位负移, 阴极峰电位正移, 峰电位差减小, 阳极峰电流增大. ERGO-GCE 的  $\Delta E=81$  mV,  $I_{pa}=51.64$   $\mu$ A. 差别最明显的是 ERGO-Au NPs-GCE,  $\Delta E=77$  mV,  $I_{pa}=58.4$   $\mu$ A, 增加约 30%, 阴极峰电流  $I_{pc}=59.2$   $\mu$ A,  $I_{pa}/I_{pc}\approx 1$  说明改性电极的导电性和电催化活性更好,  $K_3Fe(CN)_6$  探针在改性电极上的可逆性更高, 可能是因为 ERGO-Au NPs 复合薄膜的存在增强了 GCE 的电导率和探针/电极界面的电子转移能力<sup>[24]</sup>.

图 4(B) 示出了 GCE, ERGO-GCE 和 ERGO-Au NPs-GCE 在 5 mmol/L  $Ru(NH_3)_6Cl_3$  溶液中的 CV 曲线. 可见, 带有正电荷的探针分子  $Ru(NH_3)_6^{3+}$  在 GCE 上同样有一对明显的氧化还原峰,  $E_{pa}=-0.106$  V,  $E_{pc}=-0.185$  V,  $\Delta E=79$  mV,  $I_{pa}=47.71$   $\mu$ A. ERGO-GCE 的  $E_{pa}=-0.106$  V,  $E_{pc}=-0.186$  V. ERGO-Au NPs-GCE 的  $E_{pa}=-0.105$  V,  $E_{pc}=-0.185$  V. 但是, 2 种改性电极的阳极峰电流分别增至 54.76 和 62.10  $\mu$ A. 这可能是由于修饰电极的表面带有负电荷, 在静电场力作用下更利于  $Ru(NH_3)_6^{3+}$  探针的吸附, 从而促进了探针分子在电极表面的氧化还原反应的进行.

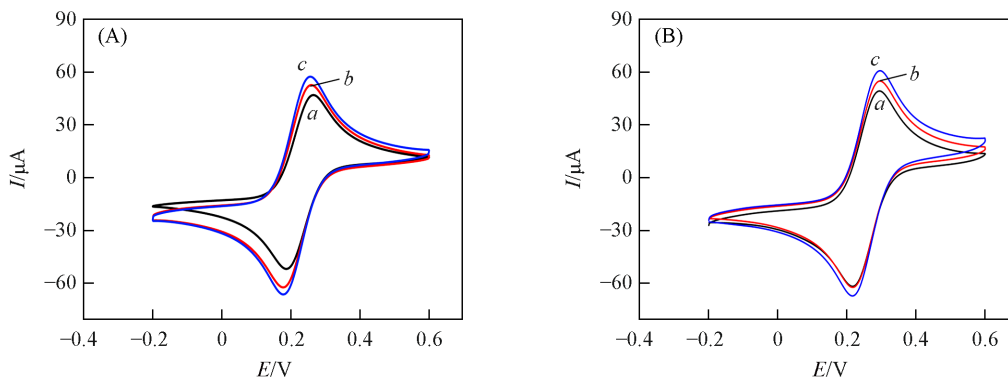


Fig. 4 CVs in 0.1 mol/L KCl containing 5 mmol/L  $K_3Fe(CN)_6$ (A) and 5 mmol/L  $Ru(NH_3)_6Cl_3$ (B) on a bare GCE(a), ERGO-GCE(b) and ERGO-Au NPs-GCE(c)

Zeta 电位可以用于描述纳米材料表面的电荷状态<sup>[25]</sup>, 实验测试了 ERGO 和 ERGO-Au NPs 的 zeta 电位. 如表 1 所示, ERGO 和 ERGO-Au NPs 的 zeta 电位分别为 -16.77 和 -26.36 mV, 表明 ERGO-Au NPs 具有更高的稳定性. 这可能是因为在碱性条件下由于 Au—O 的存在使得 Au NPs 带有负电荷, 从而增强了材料的稳定性<sup>[26]</sup>.

Table 1 Zeta potential values of ERGO and ERGO Au NPs

Sample	Zeta potential/mV	Standard deviation/mV
ERGO	-16.77	0.827
ERGO-Au NPs	-26.36	1.325

EIS 可以用于研究电极表面的化学反应过程. 图 5 示出了裸 GCE 和改性 GCE 的阻抗谱图, 奈奎斯特图半圆对应的是高频部分, 代表的是电荷转移过程; 直线对应的是低频部分, 代表的是扩散过程<sup>[27]</sup>. 奈奎斯特图半圆的直径和电极表面的电子转移电阻( $R_{ct}$ )的值相等. 从图 5 可以看出, 裸 GCE 的  $R_{ct}$ =361  $\Omega$ , ERGO-GCE 和 ERGO-Au NPs-GCE 的  $R_{ct}$  分别为 144 和 98  $\Omega$ . 由于石墨烯和金纳米粒子具有优异的电化学性能, 制备的 ERGO-Au NPs 复合薄膜具有更小的电子转移电阻. 因而具有更强的导电能力, 促进了探针分子的电荷转移. 此结果与循环伏安测试所得结论一致.

为了进一步表征修饰电极, 采用 Randles-Sevcik 方程<sup>[28]</sup>研究了裸 GCE, ERGO-GCE 和 ERGO-Au NPs-GCE 的电化学活性面积(ECSA).

$$I_p = 2.69 \times 10^5 n^{3/2} AD^{1/2} cv^{1/2} \quad (1)$$

式中:  $I_p$  为阳极峰值电流;  $n$  是被转移的电子数;  $A$  ( $\text{cm}^2$ ) 为电极的电化学活性表面积;  $D$  为  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  的扩散系数;  $c$  为  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  的浓度 (5 mmol/L),  $v^{1/2}$  为扫描速率的平方根. 根据式(1)通过  $I_p$ - $v^{1/2}$  曲线的斜率来计算 ECSA. 图 6 示出了 5 mmol/L  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  溶液中 GCE, ERGO-GCE 和 ERGO-Au NPs-GCE 在不同扫描速率下 (10~120 mV/s) 的循环伏安图. 通过计算得出裸 GCE, ERGO-GCE 和 ERGO-Au NPs-GCE 的 ECSA 分别为 0.062, 0.078 和 0.089  $\text{cm}^2$ . 与裸 GCE 相比, ERGO-GCE 和 ERGO-Au NPs-GCE 的 ECSA 分别增加了 26% 和 44%, 这得益于石墨烯和金纳米粒子具有较大的比表面积.

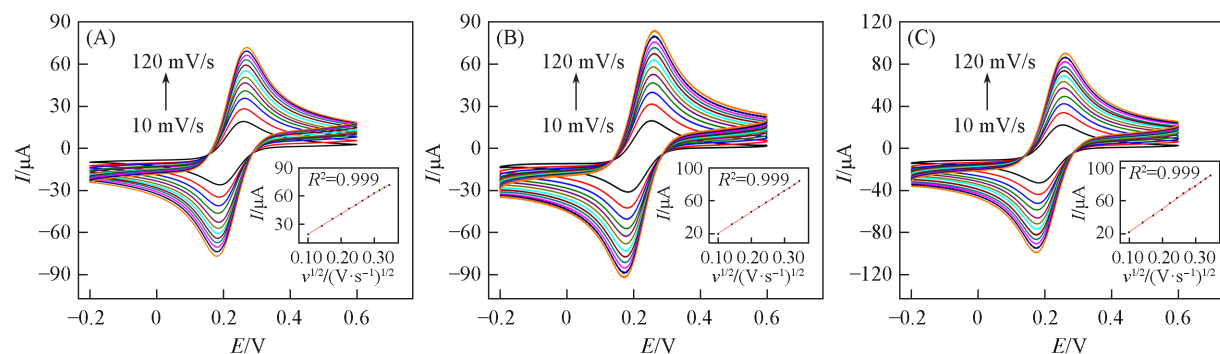


Fig. 6 CVs of bare GCE(A), ERGO-GCE(B) and ERGO-Au NPs-GCE(C) at different scan rates

The insets show the relationship between the oxidation peak current and the square root of the scanning rate.

### 2.3 L-Tyr 在修饰电极上的电化学响应

通过线性扫描伏安法(LSV)研究了对 L-Tyr 在不同电极上的电化学氧化行为. 图 7 示出了裸 GCE (谱线 a)、ERGO-GCE (谱线 b) 和 ERGO-Au NPs-GCE (谱线 c) 在含有 1 mmol/L L-Tyr 的 0.1 mol/L PBS 缓冲液中的 LSV 曲线, L-Tyr 在裸 GCE 上的氧化峰电位为 0.7 V, 对应的阳极峰电流为 23.8  $\mu\text{A}$ , ERGO-GCE 和 ERGO-Au NPs-GCE 的阳极峰电流明显增大, 且氧化峰电位负移. ERGO-Au NPs-GCE (谱线 c) 的氧化峰电位为 0.62 V, 阳极峰电流为 54  $\mu\text{A}$ , 是裸 GCE 阳极峰电流的 2.27 倍. 以上结果表明, ERGO-Au NPs 复合薄膜的存在更加有效地催化了 L-Tyr 的氧化, 可能是因为石墨烯和金纳米具有较大的比表面积以及更高的电导率, 有利于 L-Tyr 的吸附氧化, 从而显著提高了电极的表面活性.

### 2.4 实验参数的优化

2.4.1 ERGO-Au NPs 复合薄膜的厚度 考察了 ERGO-Au NPs 复合薄膜厚度对 L-Tyr 电化学氧化的影响. 实验采用共沉积的方式合成 ERGO-Au NPs 复合材料, 在阴极扫描过程中石墨烯和金纳米颗粒共沉

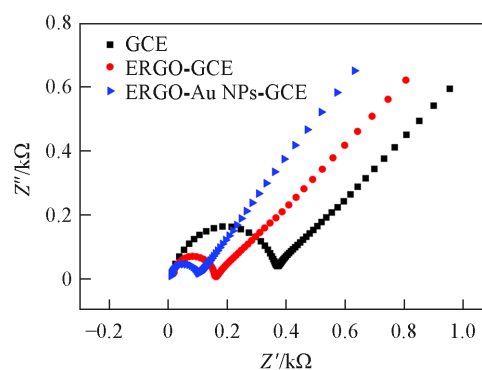


Fig. 5 Nyquist plots of bare GCE, ERGO-GCE and ERGO-Au NPs-GCE in a 5 mmol/L  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  solution

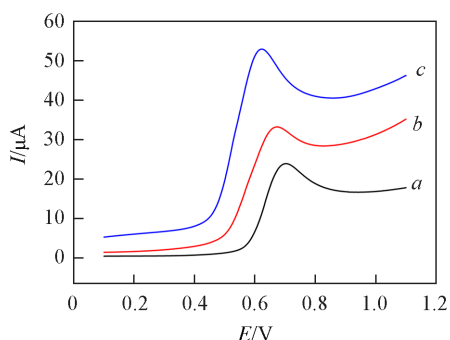


Fig. 7 LSVs of bare GCE(a), ERGO-GCE(b) and ERGO-Au NPs-GCE(c) in 0.1 mol/L PBS containing 1 mmol/L *L*-Tyr

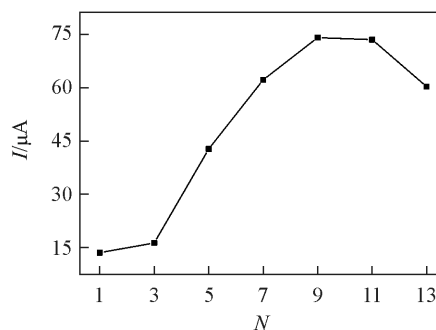


Fig. 8 Relationship between the number of CV cycles for the co-deposition of graphene and gold and the oxidation peak current

积到玻碳电极表面(图1),沉积膜的厚度通过CV循环圈数( $N$ )来控制.图8示出了氧化峰电流与循环圈数的关系.可见,随着循环圈数的增多, $L$ -Tyr的氧化峰电流逐渐增加,在 $N=9$ 时达到最大,循环圈数继续增加电流减小,可能是复合薄膜过厚导致电子传递速率降低.因此,实验选择 $N=9$ 作为最佳循环圈数.

2.4.2 pH值 pH值的大小对 $L$ -Tyr的氧化有显著影响<sup>[29]</sup>.图9示出了 $L$ -Tyr在不同pH值(3.0~10.0)的0.1 mol/L PBS缓冲液中的电化学行为.曲线a显示了溶液pH值对氧化峰电流的影响,可见随着溶液pH减小氧化峰电流呈增大趋势,在pH=3时氧化峰电流达到最大值,由于 $L$ -Tyr的等电点在5.6附近,当溶液pH减小时可能因为氨基的质子化,使得 $L$ -Tyr带有正电荷<sup>[30]</sup>,从而促进 $L$ -Tyr在修饰电极表面的吸附.因此,将pH=3作为最佳pH值.此外,随着pH值的增大, $L$ -Tyr的阳极峰电位( $E_{pa}$ )负移,表明 $L$ -Tyr的氧化过程伴随有质子的转移.曲线b显示阳极峰电位( $E_{pa}$ )与pH值之间呈线性关系,线性回归方程为 $E_p = -0.055\text{pH} + 0.957 (R^2 = 0.995)$ ,方程斜率为55 mV/pH,接近理论值59 mV/pH(Nernstian theoretical)<sup>[31]</sup>.根据以下公式:

$$dE_p/d\text{pH} = -2.303mRT/(nF) \quad (2)$$

计算得出 $m/n=0.965$ ,近似等于1,表明在 $L$ -Tyr氧化反应过程中转移的电子数与质子数相等,且数量为1,此结果与文献[32]报道一致. $L$ -Tyr的电化学氧化反应机理见Scheme 1.

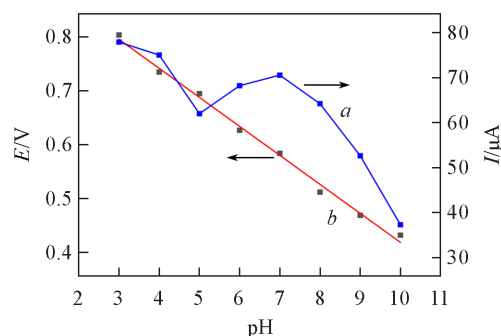
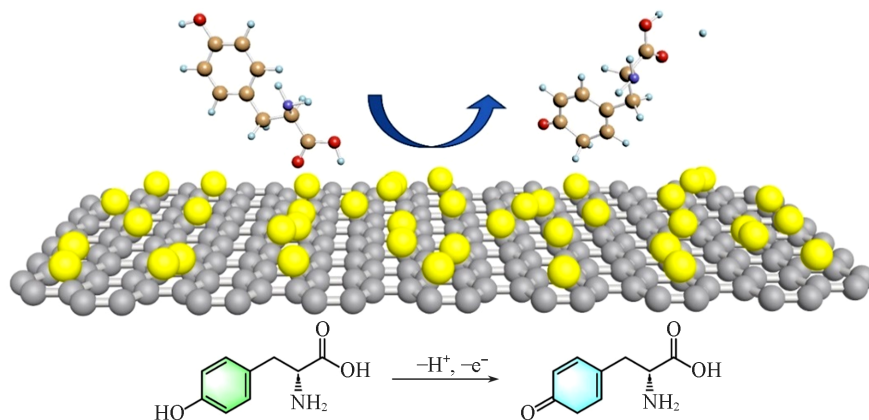


Fig. 9 Relationship between the anodic peak current(a) and anodic peak potential(b) of *L*-Tyr with pH



Scheme 1 Electrochemical oxidation mechanism of *L*-Tyr

2.4.3 沉积电位和积累时间 沉积电位和积累时间也是影响传感器性能的两个重要因素. 实验考察了 0.1~0.5 V 的沉积电位和 10~90 s 的积累时间对 *L*-Tyr 氧化峰电流的影响. 从图 10(A)可以看出, *L*-Tyr 的氧化峰电流在 0.3 V 时达到最大值, 然后随着沉积电位的增大而减小. 图 10(B)显示了积累时间和氧化峰电流的关系, 结果表明积累时间在 50 s 时氧化峰电流达到最大, 50 s 以后氧化峰电流快速下降. 这可能是积累时间过长导致 *L*-Tyr 在电极表面过于饱和. 因此, 选择 0.3 V 和 50 s 作为实验条件.

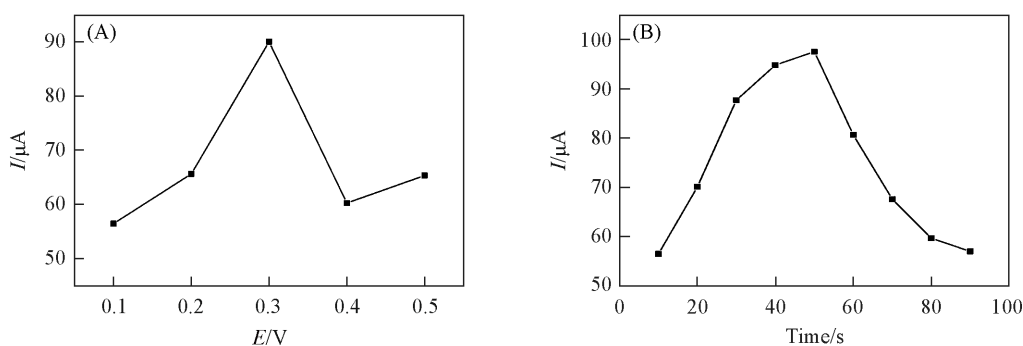


Fig. 10 Relationship between deposition potential(A) and accumulation time(B) with the oxidation peak current

## 2.5 线性范围和检出限

差分脉冲伏安法(DPV)可以有效降低背景电流, 具有灵敏度高、分辨能力强等优点. 因此, 在最佳实验条件下采用 DPV 研究了 *L*-Tyr 传感器的线性范围和检出限. 如图 11(A)所示, 在 0.1~50  $\mu\text{mol/L}$  和 50~1000  $\mu\text{mol/L}$  范围内, 随着 *L*-Tyr 浓度的增大氧化峰电流线性增加. 可能是由于在低浓度 *L*-Tyr 条件下, 复合材料表面的活性位点尚未饱和, 随着浓度的增大反应速率增加得较快. 当 *L*-Tyr 浓度继续增大, 复合材料表面的活性位点达到饱和, 反应速率增加变缓, 所以呈现两段不同的线性关系. 对此范围内的氧化峰电流值进行线性拟合, 结果如图 11(B)所示, 线性回归方程为  $I_p=0.553c-0.675$  ( $R^2=0.986$ ) 和  $I_p=0.061c+26.66$  ( $R^2=0.994$ ). 检出限  $\text{LOD}=3\sigma/M^{[33]}$ ,  $\sigma$  为空白溶液 ( $n=5$ ) 峰值电流的标准差,  $M$  为直线的斜率. 经计算得到检出限约为 0.05  $\mu\text{mol/L}$ . 表 2 比较了不同 *L*-Tyr 传感器的性能. 可见, 与其它修饰电极相比, ERGO-Au NPs-GCE 对 *L*-Tyr 的检测具有较宽的线性范围和较低的检出限.

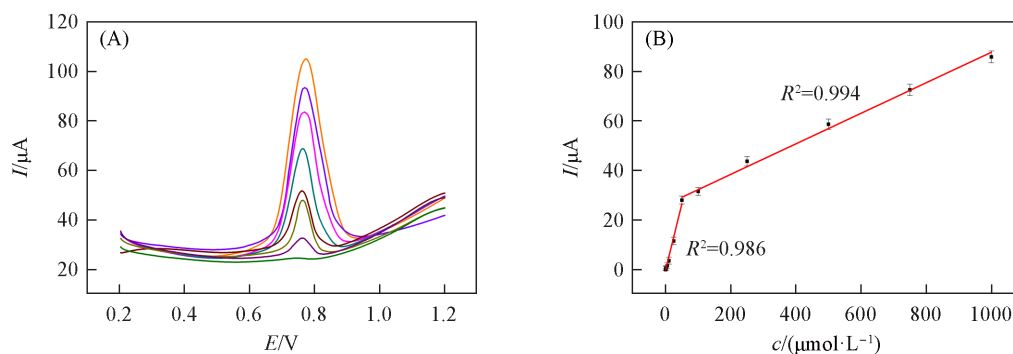


Fig. 11 DPVs of ERGO-Au NPs-GCE in 0.1 mol/L PBS containing different concentrations of *L*-Tyr(A), and linear relationship between the oxidation peak current and the concentration of *L*-Tyr(B)

## 2.6 抗干扰性

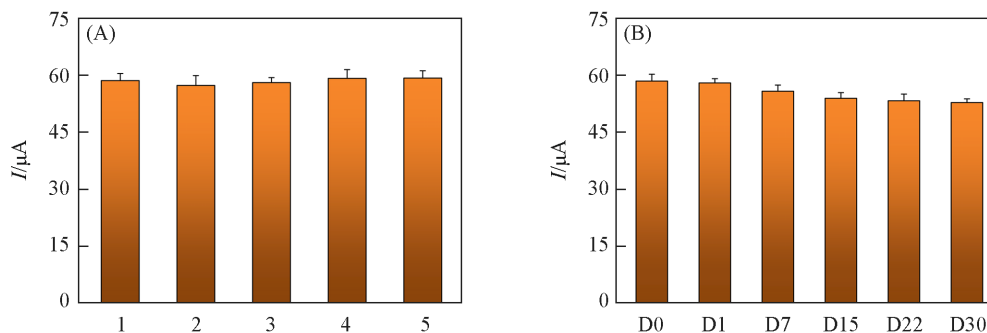
考察了其它可能存在干扰的离子以及生物分子对 *L*-Tyr 检测的影响. 结果表明, 在其它干扰物存在下对于 0.5 mmol/L 的 *L*-Tyr, 含有 50 倍浓度的  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  时对检测电流无明显干扰. 图 12 结果表明, 10 倍浓度的赖氨酸(Lys)、苏氨酸(Thr)、苯丙氨酸(Phe)和抗坏血酸(AA)对 *L*-Tyr 的检测电流的影响都在 10% 以下, 色氨酸(Trp)的影响程度约为 15%, 可能是因为 *L*-Trp 与 *L*-Tyr 的氧化峰电位比较接近所致. 但是, 由于包括 *L*-Tyr 在内的一些氨基酸制剂并不经常含有 Trp, 因此制备的传感器可以用于 *L*-Tyr 的检测.

**Table 2 Comparison of analytical performance for different electrochemical biosensors determining *L*-Tyr**

Electrochemical sensor	Technique	Linear range/( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Detection limit/( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Ref.
SWCNHs/GCE	LSV	2—30	0.4	[34]
Boron-doped diamond	DPV	100—700	1	[35]
Ce-HA/GCE	DPV	0.1—200	$7.2\times 10^{-4}$	[36]
TyO <sub>x</sub> /MWCNT/PSF/GCE	DPV	1.96—394	$3\times 10^{-4}$	[37]
graphene-nanowall/Tafilm	DPV	3—200	0.6	[38]
Nafion/TiO <sub>2</sub> -GR/GCE	DPV	10—160	2.3	[39]
Butyrylcholine/GCE	DPV	4—100	0.4	[8]
UT-g-C <sub>3</sub> N <sub>4</sub> /Ag/GCE	DPV	1—150	0.14	[40]
ERGO-Au NPs/GCE	DPV	0.1—50, 50—1000	0.05	This work

### 2.7 重复性和稳定性

使用5个不同的 ERGO-Au NPs-GCE 电极, 每个电极做5组实验, 测试了 *L*-Tyr 的 DPV 曲线, 结果如图 13(A) 所示, 氧化峰电流几乎相同, RSD<4.5%, 表明 ERGO-Au NPs-GCE 具有良好的重复性. 将制备好的修饰电极置于 4 °C 冰箱中保存, 1 d 后电流几乎没有变化, 7 d 后电流下降了 4.6%, 30 d 后电流下降了 9.7% [图 13(B)], 表明该传感器具有良好的稳定性.



**Fig. 13 Repeatability(A) and stability(B) of the sensors**

### 2.8 实际样品分析

为了评估该传感器在实际测试中的可靠性, 将来自健康志愿者的尿液样本在 Britton-Robinson (BR) 缓冲溶液中进行 1:1 稀释<sup>[41]</sup>, 然后进行回收实验. 同时, 采用传统的 HPLC 方法作为对比, 每个样品测量 3 次, 测试结果列于表 3. 可见, 两种方法对 *L*-Tyr 的测定结果具有一致性, 表明该 *L*-Tyr 传感器可以用于实际样品分析.

**Table 3 Comparison between electrochemical and traditional HPLC methods for detecting *L*-Tyr in urine**

Sample	Added/ ( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Electrochemical method			HPLC method		
		Found/( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	RSD(%)	Recovery(%)	Found/( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	RSD(%)	Recovery(%)
1	1	1.06	1.04	106	1.02	1.13	102
2	5	5.19	1.12	103.8	5.12	1.16	102.4
3	10	10.22	1.07	102.2	10.36	1.12	103.6

## 3 结 论

基于电化学共沉积的方法制备了 ERGO-Au NPs 复合薄膜, 并将其用于修饰 GCE, 开发了一种用于

检测 *L*-Tyr 的传感器, 该方法简单且环保. 通过 SEM 对材料表面形貌进行了表征, 并利用 CV, EIS, LSV 和 DPV 等电化学技术对 *L*-Tyr 进行了检测. 结果表明, 该传感器线性范围广 (0.1~50  $\mu\text{mol/L}$ , 50~1000  $\mu\text{mol/L}$ )、检出限低 (50  $\text{nmol/L}$ ), 且具有良好的稳定性、重复性和抗干扰性.

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Cao Y., Fatemi V., Fang S., Watanabe K., Taniguchi T., Kaxiras E., Jarillo-Herrero P., *Nature*, **2018**, 556, 43—50
- [ 2 ] Mi B., *Science*, **2019**, 364, 1033—1034
- [ 3 ] Cheng J., Wan W., Zhu W., *Chin. J. Chem.*, **2016**, 34, 53—58
- [ 4 ] Cheng J., Zhong R., Wan W., Li H., Zhu J., *Nanosci. Nanotechnol. Lett.*, **2017**, 9, 1742—1747
- [ 5 ] German N., Ramanavicius A., Ramanaviciene A., *Electroanalysis*, **2017**, 29, 1267—1277
- [ 6 ] Chow M. S., Eser B. E., Wilson S. A., Hodgson K. O., Hedman B., Fitzpatrick P. F., Solomon E. I., *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131, 7685—7698
- [ 7 ] Dharmaraja J., Balamurugan J., Shobana S., *J. Saudi Chem. Soc.*, **2017**, 21, S67—S76
- [ 8 ] Jin G. P., Lin X. Q., *Electrochem. Commun.*, **2004**, 6, 454—460
- [ 9 ] Silvan J. M., van de Lagemaat J., Olano A., del Castillo M. D., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2006**, 41, 1543—1551
- [ 10 ] Carlsson A., Lindqvist M., *N-S Arch. Pharmacol.*, **1978**, 303, 157—164
- [ 11 ] Meyer J. S., Welch K. M., Deshmukh V. D., Perez F. I., Jacob R. H., Haufrect D. B., Mathew N. T., Morrell R. M., *J. Am. Geriatr. Soc.*, **1977**, 25, 289—298
- [ 12 ] Li C., *Colloids Surf., B*, **2006**, 50, 147—151
- [ 13 ] Hao S., Avraham Y., Bonne O., Berry E. M., *Pharmacol., Biochem. Behav.*, **2001**, 68, 273—281
- [ 14 ] Reinstein D. K., Lehnert H., Wurtman R. J., *Life Sciences*, **1985**, 37, 2157—2163
- [ 15 ] Molnár G. A., Wagner Z., Markó L., Kószegi T., Mohás M., Kocsis B., Matus Z., Wagner L., Tamaskó M., Mazák I., Laczy B., Nagy J., Wittmann I., *Kidney Int.*, **2005**, 68, 2281—2287
- [ 16 ] Lee C. J., Yang J., *Anal. Biochem.*, **2006**, 359, 124—131
- [ 17 ] Letellier S., Garnier J. P., Spy J., Bousquet B., *J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl.*, **1997**, 696, 9—17
- [ 18 ] Alonso M. C. S., Zamora L. L., Calatayud J. M., *Talanta*, **2003**, 60, 369—376
- [ 19 ] Huang Y., Jiang X., Wang, W., Duan J., Chen G., *Talanta*, **2006**, 70, 1157—1163
- [ 20 ] Heinecke J. W., Li W., Daehnke H. L. 3rd, Goldstein J. A., *J. Biol. Chem.*, **1993**, 268, 4069—4077
- [ 21 ] Maher H. M., Alzoman N. Z., Shehata S. M., *Luminescence*, **2007**, 32, 149—158
- [ 22 ] Liu C., Wang K., Luo S., Tang Y., Chen L., *Small*, **2011**, 7, 1203—1206
- [ 23 ] Angerstein-Kozłowska H., Conway B. E., Barnett B., Mozota J., *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.*, **1979**, 1—2, 417—446
- [ 24 ] Jiao X. X., Luo H. Q., Li N. B., *J. Electroanal. Chem.*, **2013**, 691, 83—89
- [ 25 ] Garazhian E., Bojdi M. K., Behbahani M., *Sci. Rep.*, **2023**, 13, 17501
- [ 26 ] Sylvestre J. P., Poulin S., Kabashin A. V., Sacher E., Meunier M., Luong J. H. T., *J. Phys. Chem. B*, **2004**, 108, 16864—16869
- [ 27 ] Pontie M., Thouand G., de Nardi F., Tapsoba I., Lherbette S., *Electroanalysis*, **2011**, 23, 1579—1584
- [ 28 ] Ul Alam A., Qin Y., Howlader M. M. R., Hu N. X., Deen M. J., *Sens. Actuators B*, **2018**, 254, 896—909
- [ 29 ] Varmira K., Mohammadi G., Mahmoudi M., Khodarahmi R., Rashidi K., Hedayati M., Goicoechea H. C., Jalalvand A. R., *Talanta*, **2018**, 183, 1—10
- [ 30 ] Mu S., Li Y., Tang A. G., Xiao L. D., Ren Y. P., *Clin. Chim. Acta*, **2012**, 413, 973—977
- [ 31 ] Zhou C., Liu Z., Dong Y., Li D., *Electroanalysis*, **2009**, 21, 853—858
- [ 32 ] Xu Q., Wang S. F., *Microchim. Acta*, **2005**, 151, 47—52
- [ 33 ] Meti M. D., Abbar J. C., Lin J., Han Q., Zheng Y., Wang Y., Huang J., Xu X., Hu Z., Xu H., *Mater. Chem. Phys.*, **2021**, 266
- [ 34 ] Zhu S., Zhang J., Zhao X. E., Wang H., Xu G., You J., *Microchim. Acta.*, **2014**, 181, 445—451
- [ 35 ] Zhao G. H., Qi Y., Tian Y., *Electroanalysis*, **2006**, 18, 830—834
- [ 36 ] Kanchana P., Navaneethan M., Sekar C., *Mater. Sci. Eng., B*, **2017**, 226, 132—140
- [ 37 ] Phelane L., Gouveia-Caridade C., Barsan M. M., Baker P. G. L., Brett C. M. A., Iwuoha E. I., *Anal. Lett.*, **2020**, 53, 308—321
- [ 38 ] Tian F., Li H., Li M., Li C., Lei Y., Yang B., *Microchim. Acta*, **2017**, 184, 1611—1619
- [ 39 ] Fan Y., Liu J. H., Lu H. T., Zhang Q., *Microchim. Acta*, **2011**, 173, 241—247
- [ 40 ] Zou J., Mao D., Wee A. T. S., Jiang J., *Appl. Surf. Sci.*, **2019**, 467, 608—618
- [ 41 ] Feng D. Q., Liu G., Ma G., Nan Z., Wang W., *Spectrochim. Acta, Part A*, **2019**, 208, 1—6

(Ed.: N, K)