

基于低共熔策略合成碳纳米聚合物用于多种生物小分子的同时电化学检测

韦朝鲜^{1,2}, 李南盛², 庞元昊², 张云^{1,2}, 金文英², 袁亚利^{1,2}

(1. 桂林理工大学广西电磁化学功能物质重点实验室,
2. 化学与生物工程学院, 桂林 541004)

摘要 将基于低共熔策略合成的导电聚合材料聚3,4-乙烯二氧噻吩(PEDOT)与金纳米颗粒(Au NPs)结合, 构建了一种新型的电化学传感平台, 用于生物小分子抗坏血酸(AA)、多巴胺(DA)和尿酸(UA)的同时测定. 对PEDOT和Au NPs复合修饰的玻碳电极(PEDOT-Au/GCE)进行了形貌、性能和有效面积表征. 结果表明, 该电极可实现对AA, DA和UA高灵敏、高稳定性的同时检测, 证明PEDOT-Au NPs具有良好的电催化活性. 在最优实验条件下, 混合溶液中AA, DA和UA的浓度分别在100~1000, 50~500和22.5~225 $\mu\text{mol/L}$ 范围内与峰电流呈现良好的线性关系, 检出限分别为21, 0.38和0.016 $\mu\text{mol/L}$. 在血清中存在其它活性小分子时, 该电化学传感平台对AA, DA和UA具有较高的特异性, 且对血清样本中AA, DA和UA的加标回收测定具有较好的回收率.

关键词 低共熔策略; 聚3,4-乙烯二氧噻吩(PEDOT); 电化学传感器; 生物小分子

中图分类号 O657.1 文献标志码 A doi: 10.7503/cjcu20240103

Synthesis of Carbon Nanopolymers Based on Deep Eutectic Strategy for Simultaneous Electrochemical Detection of a Variety of Biological Small Molecules

WEI Chaoxian^{1,2}, LI Nansheng², PANG Yuanhao², ZHANG Yun^{1,2},
JIN Wenying², YUAN Yali^{1,2*}

(1. Guangxi Key Laboratory of Electrochemical and Magneto-chemical Functional Materials,
2. College of Chemistry and Bioengineering, Guilin University of Technology, Guilin 541004, China)

Abstract A conductive polymer material poly(3,4-ethylene dioxythiophene)(PEDOT) was synthesized based on a deep eutectic strategy and combined with gold nanoparticles (Au NPs) to construct a novel electrochemical sensing platform to realize the simultaneous determination of a variety of small biological molecules [ascorbic acid (AA), dopamine (DA), uric acid (UA)]. The morphology, performance and effective area of glassy carbon electrode modified by PEDOT and Au NPs (PEDOT-Au/GCE) were characterized. The experimental results show that the modified electrode can achieve simultaneous detection of AA, DA and UA with high sensitivity and high stability, proving that the PEDOT-Au NPs complex has good electrochemical catalytic activity. Under optimal experimental conditions, the concentration and peak current value of AA, DA and UA in mixed solution show a good linear relationship in the concentration ranges of 100—1000, 50—500 and 22.5—225 $\mu\text{mol/L}$, respectively, with the separate detection limits of 21, 0.38 and 0.016 $\mu\text{mol/L}$. In addition, the electrochemical sensing platform has a high specificity for AA, DA, and UA in the presence of other active small molecules in serum. This method is applied for

收稿日期: 2024-03-04. 网络首发日期: 2024-05-20.

联系人简介: 袁亚利, 女, 博士, 教授, 主要从事荧光及电化学传感方面的研究. E-mail: thanksin2013@163.com

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 22364011)资助.

Supported by the National Natural Science Foundation of China(No.22364011).

the recovery determination of AA, DA and UA in serum samples.

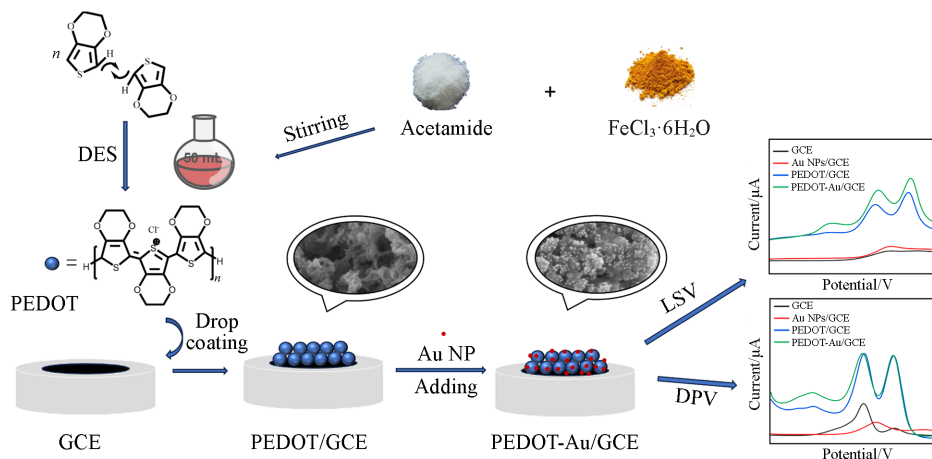
Keywords Deep eutectic strategy; Poly(3,4-ethylene dioxythiophene) (PEDOT); Electrochemical sensor; Small biological molecule

抗坏血酸(AA)、多巴胺(DA)和尿酸(UA)是人体代谢过程中重要的生物小分子^[1],可通过其浓度评估生物体内代谢和生物学功能,了解生物体整体的健康状况. AA是一种水溶性维生素,如含量过高预示可能患有糖尿病,而缺乏则可能导致贫血、牙龈出血等症状^[2]. DA是一种重要的神经递质,具有调节肌肉协调、情感调节以及记忆形成等生理功能^[3]. 临床上对DA的监测主要用于帕金森病、注意力缺陷/多动障碍^[4]、成瘾行为^[5]及其它神经系统疾病的诊断和治疗. UA为嘌呤代谢、经肾脏排泄的有机产物,其水平升高与痛风症、尿酸性肾病^[6]以及心血管疾病等密切相关^[7]. 因此,探索快速准确检测AA, DA和UA的新方法极为重要. 目前最常用于生物小分子同时检测的方法有质谱法^[8]、光谱法^[9]和电化学方法^[10]等,其中,电化学方法具有灵敏度高、成本低廉及检测速度快等优势^[11],已用于多种生物小分子的同时检测^[12-14],但对于多种活性小分子的高灵敏同时检测依然存在一定的挑战.

聚3,4-乙烯二氧噻吩(PEDOT)是一种具有良好导电性的聚合物,自20世纪80年代末被发现以来, PEDOT即已应用于电池、超级电容器和电致变色器件等领域^[15,16],并拓展到电化学传感方面^[17]. PEDOT的合成方法主要包括水基合成^[18]、声化学合成^[19]、微波辅助化学氧化^[20]或辐射聚合^[21]等,这些方法操作复杂或产物中杂质较多,无法简易得到形貌和纯度较好的PEDOT材料. 直接对单体EDOT进行电化学聚合也是制备PEDOT的常用方法,但EDOT在水中的溶解性较差,故电聚合主要在非水有机环境中进行. 有些反应利用乙腈和碳酸亚丙酯等有机溶剂,会对人体或环境造成危害^[22,23];有些反应在离子液体、表面活性剂参与下进行,前者价格昂贵、黏度高,后者会掺杂到PEDOT膜上或吸附在金属电极表面,并在电聚合过程中降解,增加了副产物的生成并降低了聚合反应的电流效率^[24].

为了解决上述问题,本文引入低共熔剂(DES)参与合成,基于低共熔策略绿色高效合成高质量的PEDOT. 低共熔策略是通过混合不同化合物形成DES,从而降低熔点的方式,可以提高材料的离散性、降低熔点、改进材料的物理性质,从而简化材料合成过程^[25]. 如Sirvio等^[26]采用氯化胆碱-尿素的生物基DES作为预处理介质合成纤维素纳米纤维,避免了复杂的纯化过程. 目前,单一PEDOT修饰电极存在出峰效果较差、稳定性不好等缺点^[27,28],通常使用其复合材料以有效提高灵敏度、选择性和稳定性. 金纳米粒子(Au NPs)作为常见的电极修饰材料,具有良好的电催化性能、生物相容性和生物可降解性^[29],已经应用于DNA^[30]、蛋白质^[31]和多种生物小分子^[32]的检测和分析. Au NPs通常通过自组装或共价键合等方法修饰在电极表面或与材料复合. 电沉积也可用于修饰Au NPs,该方法简单易行,但无法对Au NPs的形貌进行有效调控,缺乏如手性等特殊功能^[33].

本文基于低共熔策略合成PEDOT,以自组装的方式修饰Au NPs,构建PEDOT和Au NPs复合材料



Scheme 1 Schematic of PEDOT-Au/GCE and the electrochemical sensing of AA, DA and UA in a mixed solution

修饰的电极(PEDOT-Au/GCE), 实现了对 AA, DA 和 UA 的同时检测(Scheme 1). 该合成方法以有机分子 3,4-乙烯二氧噻吩(EDOT)为模板, 利用简单高效的 DES 制备方法, 可以得到具有优异导电性、多孔、高比表面积的导电聚合物材料 PEDOT. 同时, 由于采用 DES 作为反应介质, 具有环保、无毒性等优点. PEDOT 复合 Au NPs 后, 可获得更好的电化学催化性能. 在 PEDOT-Au 修饰的电极上, AA, DA 和 UA 的氧化峰可被很好地分离和识别, 且检测结果具有较高的灵敏度和特异性.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

乙酰胺(A. R. 级, 纯度 99%)、六水合三氯化铁(A. R. 级, 纯度 98%)、柠檬酸钠(A. R. 级, 纯度 98%)、三水合亚铁氰化钾(A. R. 级, 纯度 99.99%)、铁氰化钾(A. R. 级, 纯度 ≥ 99.5)、盐酸多巴胺(DA, 纯度 98%)、对乙酰氨基酚(APAP, 纯度 99.0%)、牛血清白蛋白(BSA, 分子生物学级), 抗坏血酸(AA)、尿酸(UA)、色氨酸(Trp)、半胱氨酸(Cys)、尿素(Urea)、果糖(Fru)、葡萄糖(Glu)、核黄素(Rf)和 3,4-乙烯二氧噻吩(EDOT)均为分析纯, 阿拉丁有限公司; 氯金酸(A. R. 级), 购于天津市光复精细化工研究所; 左旋多巴(L-Dopa, 纯度 99%), 上海麦克林生化科技股份有限公司; 人工脑脊液(ACSF, 无菌), 飞净生物科技有限公司.

CHI-660E 型电化学工作站, 上海市辰华仪器有限公司; SU 5000 型扫描电子显微镜(SEM), 日本 Hitachi 公司; ZS90 型全自动 zeta 电位分析仪, 英国马尔文仪器有限公司; Nicolet iS10 型傅里叶变换红外光谱仪(FTIR), 美国赛默飞世尔科技有限公司; TU-1901 型紫外分光光度计, 北京普析通用仪器有限公司.

1.2 实验过程

1.2.1 PEDOT 的制备 参照文献[34]方法进行实验. 称取 3.4998 g 乙酰胺和 4.002 g 六水合三氯化铁, 在 60 °C 下反应 30 min 后, 冷却至室温即得到 DES. 边搅拌边将 225 μ L EDOT 缓慢滴加到 DES 中, 反应 6 h 后, 加入甲醇终止反应. 将所得产物离心洗涤, 直到上层清液为无色透明. 将所得固体干燥后即得 PEDOT.

1.2.2 Au NPs 的制备 参照文献[35]方法制备 Au NPs. 取 1 mL 25 mmol/L HAuCl₄ 溶液加入 98 mL 水中, 剧烈搅拌并煮沸. 然后迅速加入 1 mL 70 mmol/L 柠檬酸钠, 溶液立即从浅黄色变成酒红色, 继续搅拌并煮沸 10 min, 即制得 Au NPs.

1.2.3 PEDOT-Au NPs/GCE 的制备 取 6 μ L PEDOT 悬浮液滴加在抛光洗净的 GCE 表面, 干燥后, 再滴加 6 μ L 稀释后的 Au NPs 并干燥. 最后, 滴加 6 μ L Nafion 溶液, 彻底干燥后即得到 PEDOT-Au NPs/GCE.

1.2.4 电化学检测 循环伏安法(CV)测试在 1 mmol/L 的 K₃[Fe(CN)₆] 溶液中进行, 电势范围 -0.2~0.6 V, 扫描速率 100 mV/s. 在 5 mmol/L 的 K₃[Fe(CN)₆] 溶液中, 通过电化学阻抗谱(EIS)分析电极的阻抗水平, 频率范围 0.1~10000 Hz. 线性扫描伏安法(LSV)和差分脉冲伏安法(DPV)测试均使用磷酸盐(PBS)缓冲溶液(0.1 mol/L, pH=7.0). LSV 曲线记录电势范围 -0.2~0.5 V, 扫描速率 0.1 V/s. DPV 曲线记录的阶跃电位为 4 mV, 幅值 50 mV, 脉宽 0.06 s, 采样宽度 0.02 s, 脉冲周期 0.5 s.

2 结果与讨论

2.1 材料的表征

由图 1(A) 的紫外-可见吸收光谱可见, 合成的 Au NPs 在 520 nm 附近有等离子体共振吸收峰^[36,37], 动态光散射图表明其粒径约为 28.2 nm, 且分布峰较为尖锐^[38], 证明合成的 Au NPs 粒径大小较均匀. 图 1(B) 为 PEDOT 的 FTIR 谱图, 可以观察到典型 PEDOT 的指纹峰, 包括 688.1 和 921.3 cm^{-1} 处 C—S—C 的平面内振荡和对称伸缩峰, 1141.9, 1053.4 和 1094.5 cm^{-1} 处 C—O—C 的不对称和对称伸缩峰, 1406.7 和 1523.7 cm^{-1} 处 C—C 的不对称和对称伸缩峰^[34,39], 表明 PEDOT 已合成.

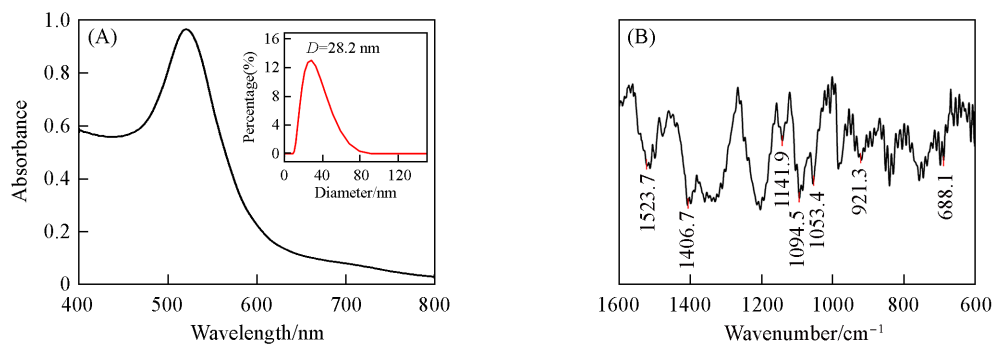


Fig. 1 UV-Vis spectrum of Au NPs(A) and FTIR spectrum of PEDOT(B)

Inset in (A): dynamic light scattering of Au NPs.

图2为Au NPs的TEM照片和PEDOT、PEDOT-Au NPs的SEM照片. 图2(A)显示Au NPs为近球形, 分散性很好且粒径均一. 所合成的PEDOT为疏松多孔结构[图2(B)], 具有较大的比表面积, 与文献[34]报道相符. 与Au NPs复合后, 由图2(C)可见Au NPs均匀地分散在PEDOT表面, 形成的PEDOT-Au NPs复合材料仍保留有明显的孔洞结构, 说明Au NPs的复合对PEDOT的结构无太大影响.

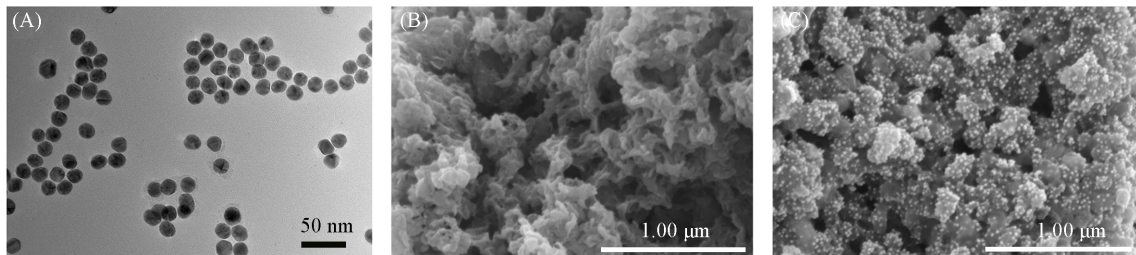


Fig. 2 TEM image of Au NPs(A) and SEM images of PEDOT(B) and PEDOT-Au NPs(C)

2.2 电化学表征

图3(A)为不同修饰电极在铁氰化钾溶液中的CV曲线图. 可见, 与GCE和PEDOT/GCE相比, PEDOT-Au/GCE的峰电流显著增大, 且氧化还原峰电位更趋近于0 V, 这是由于PEDOT材料具有优异的导电性能和比表面积, 有效提升了电活性物质在修饰电极表面的电子转移性能. PEDOT-Au/GCE的峰电流略大于PEDOT/GCE, 表明Au NPs与PEDOT的复合也有益于物质分子在电极表面氧化还原反应的进行. 而单独的Au NPs修饰到GCE上后, 峰电流比GCE降低, 推测是由于没有疏松多孔的PEDOT作基底, Au NPs会团聚在GCE表面. 团聚的Au NPs的导电和催化能力较弱, 导致峰电流降低. 为进一步证明Au NPs与PEDOT已复合, 在0.5 mol/L H₂SO₄中对PEDOT-Au/GCE进行循环伏安测试, 结果如图S1(见本文支持信息)所示. 在1.4和-0.94 V处分别出现Au单质的特征氧化峰和还原峰, 证明Au NPs确已修饰.

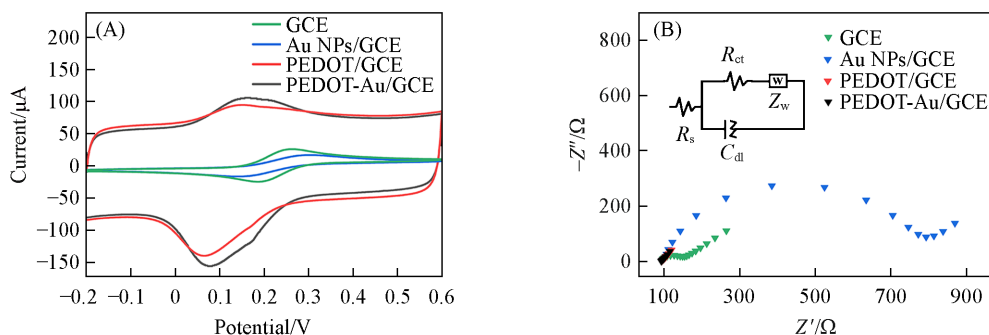


Fig. 3 CVs(A) and EIS(B) curves of GCE, Au NPs/GCE, PEDOT/GCE and PEDOT-Au/GCE in [Fe(CN)₆]^{3-/4-}

Inset of (B): randles equivalent circuit.

图3(B)为不同修饰电极的电化学阻抗谱图,半圆部分直径的大小为电极的电荷转移电阻(R_{ct}).通过软件拟合计算得知, PEDOT-Au/GCE ($R_{ct}=18.48\ \Omega$)和 PEDOT/GCE ($R_{ct}=27.96\ \Omega$)均具有比 GCE ($R_{ct}=57.54\ \Omega$)更低的电荷转移电阻.这也证明 PEDOT-Au NPs 和 PEDOT 具有优良的导电性能,且前者修饰的电极略优于后者修饰的电极,与图3(A)的 CV 结果相符,也证明 PEDOT-Au NPs 已复合.同样地, Au NPs/GCE 的阻抗($R_{ct}=670.2\ \Omega$)明显比 GCE 大得多,可能是由于团聚的 Au NPs 有较大的电荷转移电阻所致.

2.3 修饰电极有效表面积的计算

修饰电极有效表面积的计算过程是采用 CV 法扫描复合材料修饰电极,其它条件不变,在 0.01~0.11 V/s 范围内改变扫描速率,根据扫描速率与峰电流的线性关系,即 Randles-Sevcik 公式^[40]得出有效电极表面积:

$$I_p = 2.69 \times 10^5 n^{3/2} A D^{1/2} v^{1/2} c$$

式中: I_p 是电化学反应峰电流; n 是转移电子数; A 是电极有效表面积; D 是电化学反应物的扩散系数; v 是扫描速率; c 是电化学反应物的浓度. Randles-Sevcik 公式揭示了电化学反应峰电流与扫描速率、电极表面积、电化学反应物的扩散系数和浓度之间的关系.具体而言,在 1 mmol/L $K_3[Fe(CN)_6]$ 体系中,转移电子数 n 、电化学反应物的扩散系数 D 和电化学反应物的浓度 c 是固定值 ($n=1$, $D=7.6 \times 10^{-6}\ \text{cm}^2/\text{s}$, $c=0.001\ \text{mol/L}$), 电极表面积 A 为唯一变量,故由此公式即可计算出修饰电极表面积.由 PEDOT-Au/GCE, PEDOT/GCE, Au NPs/GCE 和 GCE 在不同扫速下的 CV 曲线可得到扫速与峰电流的线性拟合图(图 S2, 见本文支持信息),由拟合线性的斜率计算得出 4 种电极的有效比表面积分别为 4.92×10^{-4} , 4.07×10^{-4} , 4.09×10^{-5} 和 $1.09 \times 10^{-4}\ \text{cm}^2$.此外,这 4 种电极均符合峰电流与扫描速率的算术平方根呈线性关系,说明该过程是扩散控制的反应. PEDOT-Au NPs 具有的显著电活性面积,可为 AA, DA 和 UA 的氧化引入更多的活性位点,促进这 3 种物质的检测.这一结论与上述 CV 表征和 EIS 表征中的结论相符.

2.4 方法的可行性分析

在实验条件下分别使用 PEDOT-Au/GCE, PEDOT/GCE 和 GCE 通过 DPV 和 LSV 两种方法测定 AA, DA 和 UA 混合溶液.图4(A)为不同修饰电极在混合溶液中的 DPV 曲线图.可以看出, GCE 直接对混合溶液进行检测时, DA 和 UA 分别在 0.18 和 0.31 V 附近有氧化峰,但峰电流值均较低,且 AA 出峰难以辨别. PEDOT/GCE 测试结果中 AA, DA 和 UA 分别在 -0.03, 0.18 和 0.3 V 附近出峰,其氧化峰电位区分明显,且对应的峰电流均有明显增强. PEDOT-Au/GCE 的测试结果与 PEDOT/GCE 相比, AA 峰电流明显增强.图4(B)为不同修饰电极在混合溶液中的 LSV 曲线图,类似地,材料经修饰后检测效果较好,其中 PEDOT-Au/GCE 的峰电流比 PEDOT/GCE 增强明显.由图4可见, DPV 对 AA, DA 和 UA 检测的氧化峰形更好,区分效果更明显,故选择 DPV 进行后续实验.此外,为了探索 PEDOT-Au/GCE 的稳定性,对测试前后的电极在铁氰化钾溶液中进行 CV 测试(图 S3, 见本文支持信息),结果显示测试前后的 CV 曲线基本重合,表明电极的稳定性较好.

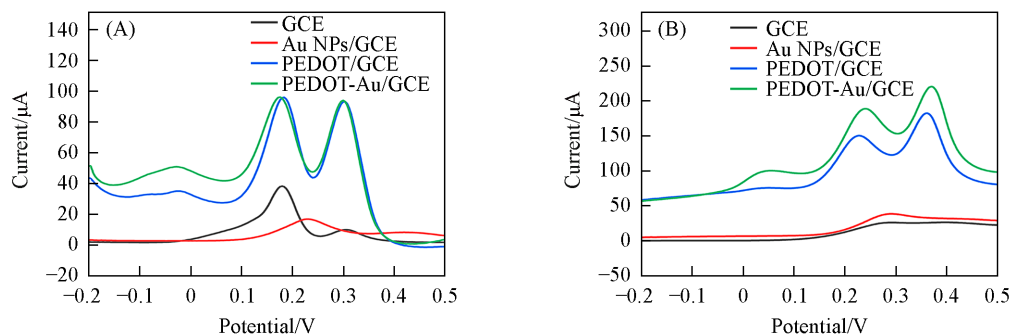


Fig. 4 DPV(A) and LSV(B) curves on GCE, Au NPs/GCE, PEDOT and PEDOT-Au/GCE in 0.1 mol/L PBS containing 500 $\mu\text{mol/L}$ AA, DA and UA in a mixed solution

以上结果表明, 基于低共熔策略合成的 PEDOT 具备良好的导电能力和催化性能, 能够催化 AA, DA 和 UA 的电化学氧化反应, 且能够显著扩大它们之间的峰电位分离, 增强灵敏度. 加入 Au NPs 的 PEDOT-Au NPs 复合材料修饰电极具有更大的优势. 因此, PEDOT-Au/GCE 能够用于 AA, DA 和 UA 的电化学高灵敏度同时检测.

2.5 实验条件的优化

为了提高 AA, DA 和 UA 同时检测的效率, 考察了 PEDOT 反应时间、反应搅拌速率、修饰浓度、Au NPs 修饰用量以及体系 pH 值对传感体系的影响, 通过实验优化得到其最佳的检测性能.

首先, 对 PEDOT 的反应时间和反应搅拌速率两个因素进行了优化. 固定反应时间为 4 h, 分别在转速为 200, 400 和 600 r/min 的条件下合成 PEDOT, 并分别修饰到 GCE 表面测定小分子混合溶液. 由图 S4(见本文支持信息)可见, 200 r/min 条件下合成的 PEDOT 的 DPV 曲线中 DA 和 UA 出峰电位较近, 难以区分, 这是因为转速过低使得反应时界面的物质交换缓慢, 影响了 PEDOT 聚合物的形成和生长, 导致材料性能较差^[33]. 从 400 和 600 r/min 转速下合成材料的电化学检测结果可以看出, 600 r/min 转速下合成的 PEDOT 的性能更好, 其原因可能是较高的搅拌速度促进了界面物质交换和局部温度升高, 有助于 PEDOT 聚合物的形成和生长. 转速超过 600 r/min 后仪器稳定性降低, 故选择 600 r/min 为最佳转速. 图 S5(见本文支持信息)为 4 h 和 8 h 合成的 PEDOT 修饰电极的电化学检测结果, 可见 4 h 条件下合成材料的检测性能更佳; 合成 8 h 得到的结果较差, 可能是由于反应时间过长, 导致 PEDOT 聚合物过度生长, 影响其形貌和有效电活性面积, 进而导致性能有所降低. 故选择合成 PEDOT 的最佳条件为 600 r/min 下反应 4 h.

对 PEDOT 的修饰量进行了优化. 在 GCE 上分别修饰 6 μ L 浓度为 1.0, 1.5 和 2.0 mg/mL 的 PEDOT, 烘干后滴加 6 μ L 相同浓度的 Au NPs. 不同用量 PEDOT 修饰的电极在混合溶液中的测试结果如图 S6(见本文支持信息)所示. 结果表明, 当 PEDOT 浓度从 1.0 mg/mL 增加到 1.5 mg/mL 时, 峰电流增大, 主要是因为随着 PEDOT 用量的增加, 相应的有效电活性面积也增大, 提供了更多的反应活性位点. 而浓度继续增加时, 峰电流反而降低. 这可能因为过量的 PEDOT 团聚堆积在电极表面, 掩盖了反应活性位点, 使得有效电活性面积减小, 进而导致峰电流下降. 因此, PEDOT 的最佳修饰浓度为 1.5 mg/mL.

对 Au NPs 修饰的用量进行了优化. 分别取 6 μ L 不同稀释倍数的 Au NPs 溶液修饰在 PEDOT/GCE 上, 烘干并用于测定, 结果如图 5 所示. 当 Au NPs 浓度从原液稀释 0.05 倍增加到 0.2 倍时峰电流增加, 这是因为在一定范围内, 随着 Au NPs 修饰量的增加, 有利于电子转移和催化反应的进行. 而 Au NPs 浓度继续增加, 电流反而下降, 可能因为当 Au NPs 浓度过高时, 颗粒发生聚集, 从而降低电极表面的可用活性位点和电荷传输速率, 进而影响电极性能. 故实验选择稀释 0.2 倍作为 Au NPs 的最佳浓度.

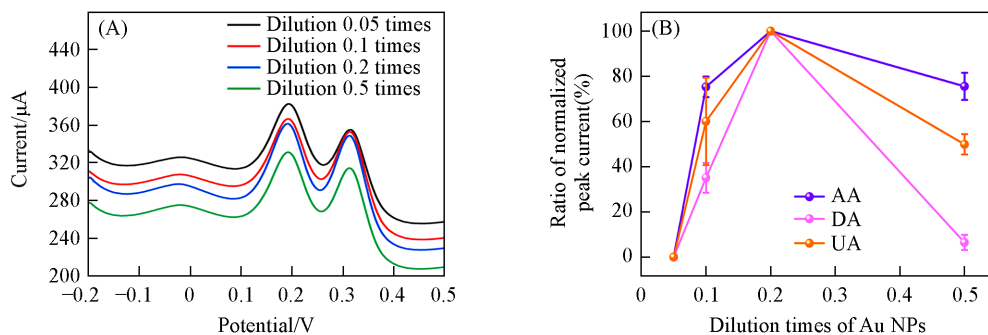


Fig. 5 DPV curves(A) and normalized peak current response(B) on PEDOT-Au/GCE with different dilution times of Au NPs in mixed solution of AA, DA and UA

为了考察 pH 值对反应体系的影响, 配制一系列不同 pH 值(5, 6, 7, 8)的小分子混合溶液进行实验. 由图 6 可见, 在 pH<7 时, AA, DA 和 UA 的出峰非常微弱或者几乎不出峰; 当 pH>7 时, 3 种分子虽

然均出现相应的氧化峰,但是电流强度要远低于pH=7的情况.这一方面是因为在不同的pH条件下,被检测分子的氧化还原特性会发生变化,从而影响其在电极表面的电化学反应;另一方面,不同pH值还会影响PEDOT和Au NPs的电化学催化活性和稳定性.因此,结合实验结果,选择pH=7作为同时检测3种小分子的最优pH值.

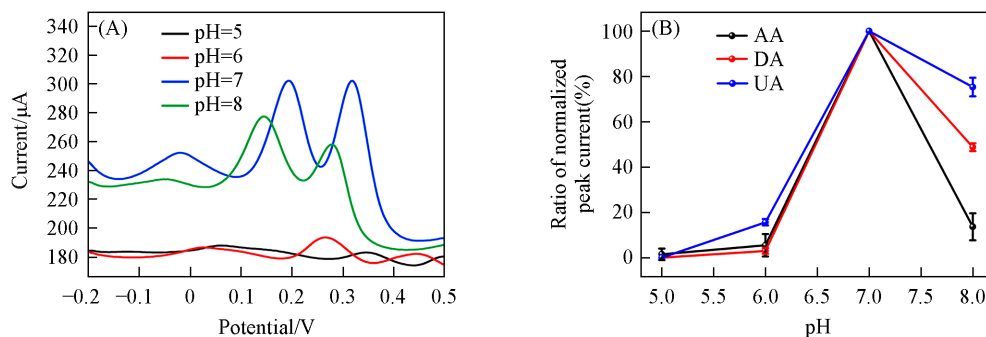


Fig. 6 DPV curves(A) and normalized peak current response(B) on PEDOT-Au/GCE in mixed solution of AA, DA and UA at different pH values

2.6 PEDOT-Au/GCE对AA, DA和UA的同时检测

在最优实验条件下,以PEDOT-Au/GCE为工作电极分别对AA, DA和UA进行测定,所得线性结果如图7所示.结果表明,在一定范围内对AA, DA和UA进行测定,均能得到较好的线性结果,其线性范围分别为75~1500, 15~1500和2.5~300 μ mol/L.其中,DA的线性有两段,推测原因如下:当DA浓度较低时, PEDOT-Au NPs复合材料上有足够多的活性位点,可以快速消耗DA.这种现象可归因于扩散控制过程.而当DA浓度较高时,由于其反应产物会吸附在催化剂表面,堵塞活性位点,导致PEDOT-Au NPs复合材料上的活性位点变得不足以快速消耗DA,此时转变为反应控制过程^[41,42].因此,产生了两段线性范围.

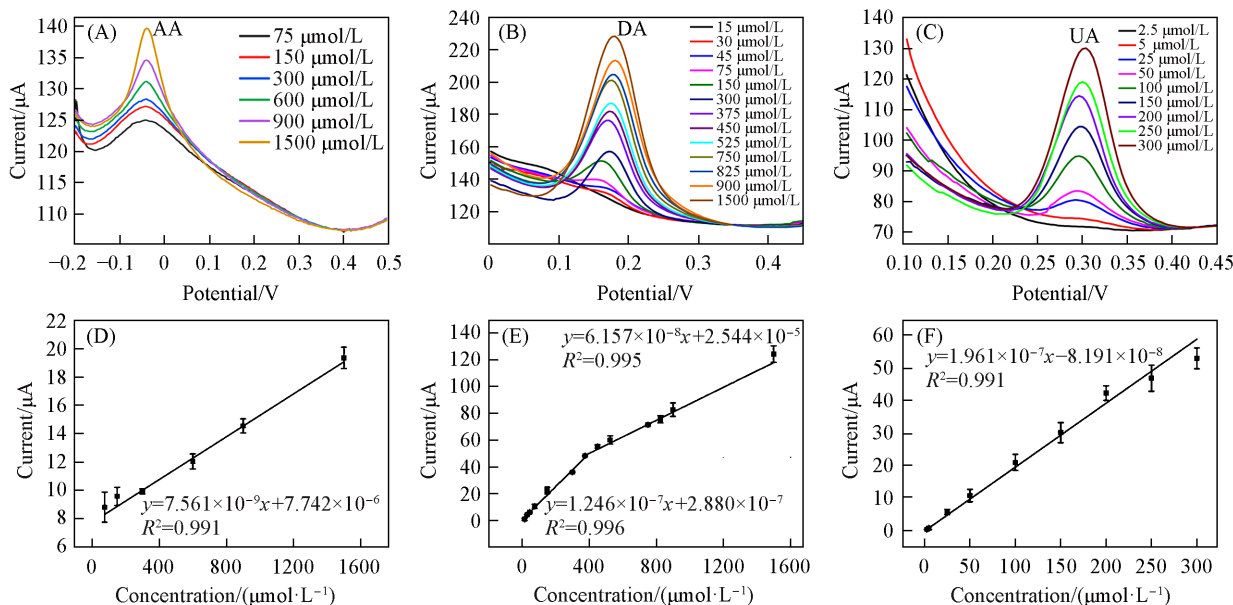


Fig. 7 DPV curves of different concentrations of AA(A), DA(B), UA(C) and linear relationship between the amperometric responses and concentrations of AA(D), DA(E), UA(F) on PEDOT-Au/GCE

对一系列浓度AA, DA和UA混合溶液进行了同时检测,结果如图8所示.结果表明,在一定范围内(AA: 100~1000 μ mol/L, DA: 50~500 μ mol/L, UA: 22.5~225 μ mol/L), AA, DA和UA浓度均与峰电流值呈现良好的线性关系,表明得到的修饰电极可实现对3种小分子的同时检测.

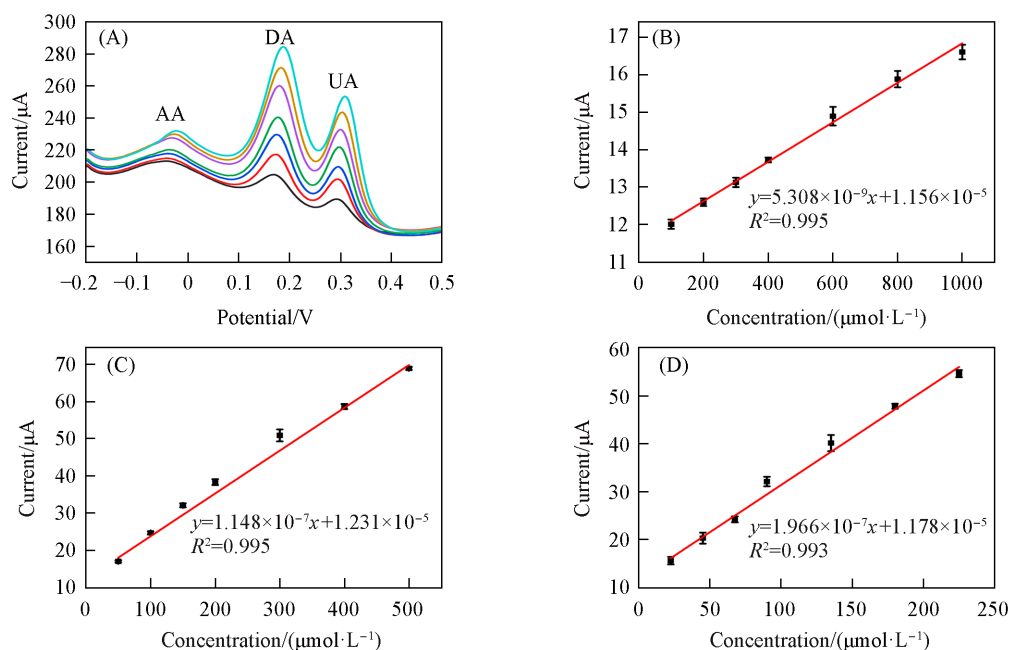


Fig. 8 DPV curves of different concentrations of AA, DA, and UA in mixed solution(A) and linear relationship between the amperometric responses and concentrations of AA(B), DA(C), and UA(D) on PEDOT-Au/GCE

2.7 稳定性和特异性

为了探究传感器的稳定性,以DA为检测物,对PEDOT-Au/GCE进行了稳定性测试.结果如图9(A)所示,电极放置224 h后,电流信号仍保持在初始的85%,表明该传感平台具有良好的稳定性.为了探究该传感器是否能够不受干扰物质的影响,将PEDOT-Au/GCE用于测定血清中常见的其它物质,包括蛋白和药物小分子(所有测试物质浓度均为500 μmol/L),对比数据如图9(B)~(D)所示.可

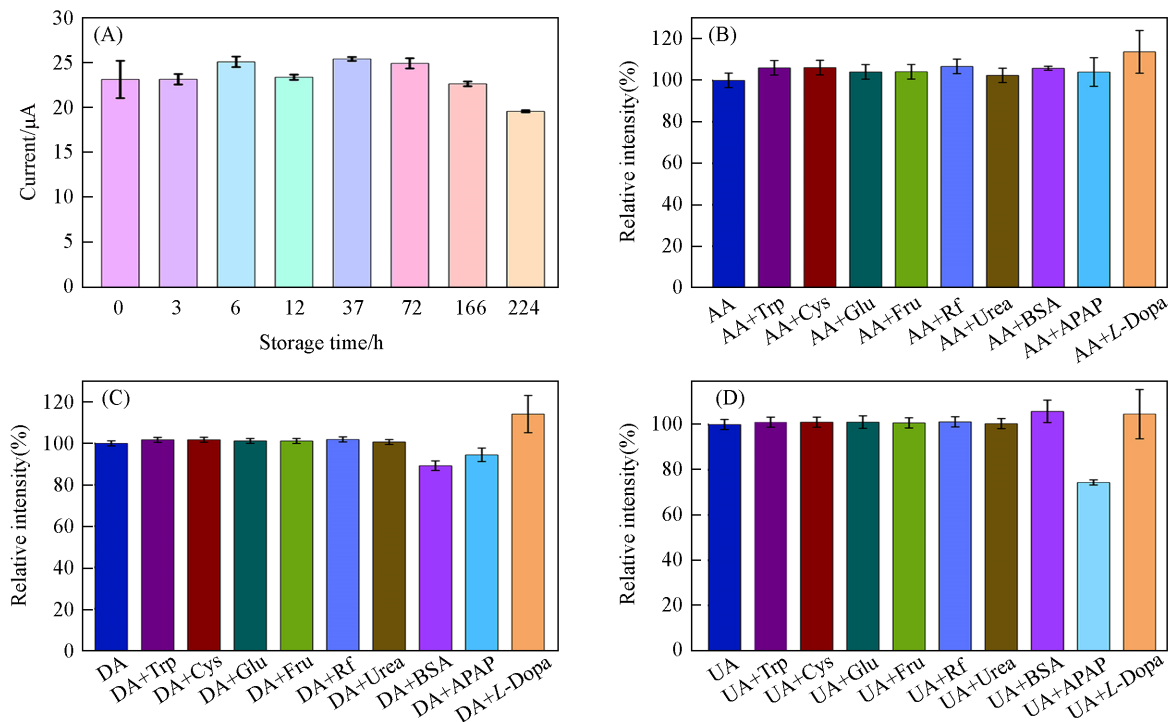


Fig. 9 Response of PEDOT-Au/GCE to 200 μmol/L DA at various storage time(A), selectivity of PEDOT-Au/GCE toward AA(B), DA(C) and UA(D)

见,除了APAP对UA影响略大,该传感器在绝大多数干扰物质中选择性良好。

2.8 实际样品检测

为了评价该电化学传感器的实际应用性,选取人血清样本和人工脑脊液(ACSF)两种样品进行检测。首先将人血清在10000 r/min转速下离心,每次15 min,重复3次。取上层清液,用0.1 mol/L PBS缓冲溶液(pH=7)稀释100倍后备用;将ACSF稀释10倍后使用。如表1所示,在实际样品中未检测到AA, DA和UA。再将不同浓度AA, DA和UA的标准溶液分别加入实际样品中,进行加标回收实验。3种目标物的加标回收率均在85%~110%之间,检测的相对标准偏差(RSD)均在5%以内。此结果表明,构建的传感器具有实际应用的潜力。

Table 1 Results of determination of AA, DA and UA in real samples

Sample	Analyte	Detected/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Added/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Found/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Recovery(%)	RSD(%, n=3)
Serum sample	AA	Not found	200	208.0	104.0	1.96
			700	732.7	104.7	2.26
	DA	Not found	100	96.7	96.7	1.68
			350	333.0	95.1	3.10
	UA	Not found	50	50.2	100.4	0.40
			150	143.5	95.7	4.30
ACSF	DA	Not found	200	170.2	85.1	1.45
			500	508.3	101.2	4.03

2.9 结果比较

为了评估本方法的价值,与其它方法检测结果进行了比较,数据如表2所示。结果表明,本方法具有相对较宽的线性范围和较低的检出限,特别是对UA的检测十分灵敏。

Table 2 Comparison of the determination ability of AA, DA and UA with other reported electrochemical sensors

Electrochemical sensor	Method	Analyte(s)	LOD/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Linear range/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Ref.
g-C ₃ N ₄ /MWNTs-GO	Electrochemistry	AA	96	250—7500	[43]
CuNCs	Fluorescence	AA	41.94	50—1000	[44]
Direct detection	UV-Vis spectrometry	AA	2900	2900—35000	[45]
PEDOT-Au NPs	Electrochemistry	AA	21	100—1000	This work
g-C ₃ N ₄ /MWNTs-GO	Electrochemistry	DA	0.22	2—100	[43]
SiW ₉ M ₃	Colorimetry	DA	5.38	5.38—108	[46]
PEDOT-Au NPs	Electrochemistry	DA	0.38	50—500	This work
g-C ₃ N ₄ /MWNTs-GO	Electrochemistry	UA	1.36	4—200	[43]
PEDOT-Au NPs	Electrochemistry	UA	0.016	22.5—225	This work

3 结 论

以Au NPs和低共熔策略合成的功能材料PEDOT为基底,构建了一种能够稳定地同时测定生物小分子AA, DA和UA的电化学传感平台。利用LSV和DPV研究了AA, DA和UA在PEDOT-Au NPs修饰电极上的电化学行为,并且对实验条件进行了优化。结果表明, PEDOT合成时间为4 h,转速为600 r/min,修饰浓度为1.5 mg/mL的PEDOT,修饰Au NPs浓度为原液浓度的0.2倍,并在pH=7的PBS缓冲液中测定时效果最佳。复合材料修饰电极对AA, DA和UA的测定具有较宽的线性范围和较低的检出限。此外,对稀释的人血清进行了加标回收检测,有比较理想的回收率和标准偏差,表明PEDOT-Au NPs传感器在生物医学样品方面的检测中具有应用潜力。

支持信息见<http://www.cjcu.jlu.edu.cn/CN/10.7503/cjcu20240103>。

参 考 文 献

[1] Xing L., Ma Z., *Microchim. Acta*, 2016, 183(1), 257—263

- [2] Santos K. L. B., Bragança V. A. N., Pacheco L. V., Ota S. S. B., Aguiar C. P. O., Borges R. S., *J. Mol. Model.*, **2021**, 28(1), 1
- [3] Costa K. M., Schoenbaum G., *Curr. Bio.*, **2022**, 32(15), R817—R824
- [4] Madras B. K., Miller G. M., Fischman A. J., *Behav. Brain Res.*, **2002**, 130(1/2), 57—63
- [5] Comings D. E., Gade R., Wu S., Chiu C., Dietz G., Muhleman D., Saucier G., Ferry L., Rosenthal R. J., Lesieur H. R., *Mol. Psychiatr.*, **1997**, 2(1), 44—56
- [6] Wang Z., Cui T., Ci X., Zhao F., Sun Y., Li Y., Liu R., Wu W., Yi X., Liu C., *J. Nephrol.*, **2019**, 32(2), 177—187
- [7] Desideri G., Virdis A., Casiglia E., Borghi C., Cicero A. F. G., Muiesan M. L., Rosei E. A., Salvetti M., Ungar A., Rivasi G., *High Blood Press. Cardiovasc. Prevent.*, **2018**, 25(2), 197—202
- [8] Zhao H., Li Y., Zhao H., Zhao Z., Wang J., Zhang R., *J. Colloid Interface Sci.*, **2022**, 613, 285—296
- [9] Heinrich F., Riedel M., Lisdat F., *Electrochem. Commun.*, **2018**, 90, 65—68
- [10] Silva T. A., Khan M. R. K., Fatibello-Filho O., Collinson M. M., *J. Electroanal. Chem.*, **2019**, 846, 113160
- [11] Deng Y. N., Zhang Z. H., Pang Y. H., Zhou X. Y., Wang Y., Zhang Y., Yuan Y. L., *Anal. Chim. Acta*, **2022**, 1227, 340331
- [12] Li Y., Lin X., *Sens. Actuators B: Chem.*, **2006**, 115(1), 134—139
- [13] Sudha V., Senthil Kumar S. M., Thangamuthu R., *Colloid Surf. B-Biointerfaces*, **2019**, 177, 529—540
- [14] Wu P., Huang Y., Zhao X., Lin D., Xie L., Li Z., Zhu Z., Zhao H., Lan M., *Microchem J.*, **2022**, 181, 107780
- [15] Forrest S. R., *Nature*, **2004**, 428, 911—918
- [16] Morales A. M., Lieber C. M., *Science*, **1998**, 279(5348), 208—211
- [17] Teng H., Song J. Y., Xu G. Y., Gao F. X., Luo X. L., *Electrochim. Acta*, **2020**, 355, 136772
- [18] Hung P. S., Wang G. R., Chung W. A., Chiang T. T., Wu P. W., *Nanomaterials-Basel*, **2020**, 10(9), 1722
- [19] Lee S. H., Bang J. H., Kim J., Park C., Choi M. S., Mirzaei A., Im S. S., Ahn H., Kim H. W., *Sens. Actuators B: Chem.*, **2021**, 327, 128924
- [20] Lu Z. Y., Yu Z. H., Dong J. B., Song M. S., Liu Y., Liu X. L., Ma Z. F., Su H., Yan Y. S., Huo P. W., *Chem. Eng. J.*, **2018**, 337, 228—241
- [21] Samsonova L. G., Degtyarenko K. M., Kopylova T. N., Palatova A. V., Kukhta A. V., *Russ. Phys. J.*, **2016**, 59(4), 585—589
- [22] Poverenov E., Li M., Bitler A., Bendikov M., *Chem. Mat.*, **2010**, 22(13), 4019—4025
- [23] Ouyang J. Y., *Acta Phys.-Chim. Sin.*, **2018**, 34(11), 1211—1220
- [24] Wei C. H., Huang X. R., *J. Mol. Liq.*, **2023**, 374, 121269
- [25] Mesquita L. D., Contieri L. S., Sosa F. H. B., Pizani R. S., Chaves J., Vigano J., Ventura S. P. M., Rostagno M. A., *Green Chem.*, **2023**, 25(5), 1884—1897
- [26] Sirvio J. A., Visanko M., Liimatainen H., *Green Chem.*, **2015**, 17(6), 3401—3406
- [27] Zhang X. Y., Lee J. S., Lee G. S., Cha D. K., Kim M. J., Yang D. J., and Manohar S. K., *Macromolecules*, **2006**, 39(2), 470—472
- [28] Zhao Z., Richardson G. F., Meng Q., Zhu S., Kuan H. C., Ma J., *Nanotechnology*, **2016**, 27(4), 042s001
- [29] Xiao Z. R., Meng H., Qin X. F., Sang X. Q., Zhang Y., Yuan Y. L., *Analyst*, **2021**, 146(2), 597—604
- [30] Bhat K. S., Byun S., Alam A., Ko M., An J., Lim S., *Talanta*, **2022**, 244, 123421
- [31] Fu H., Bai Z. Y., Li P., Feng X. Y., Hu X. P., Song X. L., Chen L. X., *Food Chem.*, **2023**, 409, 135292
- [32] Han Z. P., Zhang X. Y., Yuan H., Li Z. D., Li G. Z., Zhang H. Y., Tan Y. Q., *J. Power Sources*, **2022**, 521, 230956
- [33] Wu F. X., Tian Y., Luan X. X., Lv X. L., Li F. H., Xu G. B., Niu W. X., *Nano Lett.*, **2022**, 22(7), 29157—2922
- [34] Cheng W., Liu Y., Tong Z., Zhu Y., Cao K., Chen W., Zhao D., Yu H., *EcoMat*, **2023**, 5(2), e12288
- [35] Zor E., Bekar N., *Biosens. Bioelectron.*, **2017**, 91, 211—216
- [36] Singh M., Kaur R., Singh J., Rawat M., Kaur H., Kumar S., Alahmadi T. A., Alharbi S. A., Wainwright M., Mohamed A., *J. King Saud Univ. Sci.*, **2022**, 34(5), 102059
- [37] Singh J., Roy S., Tran T. T., Akhtar S., Lee E., Kim J., *Surf. Interfaces*, **2023**, 39, 102915
- [38] Gong L., Zhao Q., Wu S., Yin Z. Z., Wu D., Cai W., Kong Y., *Langmuir*, **2021**, 37(49), 14454—14462
- [39] Wang M., Li C. H., Zhou M. L., Xia Z. N., Huang Y. K., *Green Chem.*, **2022**, 24(17), 6696—6706
- [40] Ahmad K., Kumar P., Mobin S. M., *Nanoscale Adv.*, **2020**, 2(1), 502—511
- [41] Jia D. Z., Yang T., Wang K., Zhou L. L., Wang E. H., Chou K. C., Wang H. L., Hou X. M., *J. Alloy. Compd.*, **2024**, 985, 173392
- [42] Hsine Z., Blili S., Milka R., Dorizon H., Said A. H., Korri-Youssoufi H., *Anal. Bioanal. Chem.*, **2020**, 412(18), 4433—4446
- [43] Wang H., Xie A., Li S., Wang J., Chen K., Su Z., Song N., Luo S., *Anal. Chim. Acta*, **2022**, 1211, 339907
- [44] Wang X., Long C. C., Jiang Z. X., Qing T. P., Zhang K. W., Zhang P., Feng B., *Anal. Methods*, **2019**, 11(36), 4580—4585
- [45] Witmer J. R., Wetherell B. J., Wagner B. A., Du J., Cullen J. J., Buettner G. R., *Redox Biol.*, **2016**, 8, 298—304
- [46] Duan X. X., Bai Z. X., Shao X. T., Xu J., Yan N., Shi J. Y., Wang X. H., *Materials*, **2018**, 11(5), 674S

(Ed.: N, K)