

巯基-β-环糊精/石墨烯复合膜电极 对多巴胺的电化学行为研究

龚霞¹, 马建国^{2*}, 毛燕妮², 刘淑娟², 赵晓蕊¹, 熊友发¹

(1. 江西农业大学 理学院, 江西 南昌 330045; 2. 东华理工大学 化学生物与材料科学学院, 江西 抚州 344000)

摘要: 利用 β-环糊精的 C(6) 位羟基合成的巯基-β-环糊精(β-CD-SH) 和石墨烯的混合物在金电极上制备复合修饰膜, 用循环伏安法研究复合膜对多巴胺(DA) 的电化学行为, 实验结果表明, 在 pH = 4.00 的磷酸盐缓冲溶液中, 氧化峰电流的变化与 DA 浓度在 0.11 ~ 135 μmol/L 范围内呈良好线性关系, 相关系数达 0.991, 检出限为 1.1×10^{-7} mol/L。用于模拟样品中 DA 的测定, 回收率为 98.2% ~ 101.3%, 效果较好。

关键词: 巯基-β-环糊精; 石墨烯; 电化学行为; 多巴胺

中图分类号: TQ035 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2286(2012)06-1291-05

A Study on Electrochemical Behaviors of Thiol-β-Cyclodextrine /Graphene Composite Film Modified Electrode for Dopamine

GONG Xia¹, MA Jian-guo^{2*}, MAO Yan-ni²,
LIU Shu-juan², ZHAO Xiao-rui¹, XIONG You-fa¹

(1. Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 2. College of Biochemistry and Materials Science, East China Institute of Technology, Fuzhou 344000, China)

Abstract: A derivative of thiol group of β-cyclodextrin (β-CD-SH) was synthesized via replacing C(6) hydroxyl group on β-cyclodextrin. Furthermore, a kind of new composite film modified gold electrode was prepared by β-CD-SH combined with graphene. Then its electrochemical behaviors towards the oxidation of dopamine (DA) were investigated. The results showed that the composite film modified electrode could reduce the oxidation overpotential of DA in pH = 4.00 phosphate buffer solution (PBS), the peak current of oxidation was proportional to the concentration of DA, and a good linear relation from 0.11 ~ 135 μmol/L ($r = 0.991$) with a detection limit of 1.1×10^{-7} mol/L was obtained. When the method was applied to determining DA in simulated samples, a good recovery of 98.2% - 101.3% was obtained.

Key words: Mono-6-thiol-β-cyclodextrine; graphene; electrochemical behaviors; dopamine

β-环糊精(Cyclodextrin, 简称 CD) 是直链淀粉在由芽孢杆菌产生的环糊精葡萄糖基转移酶作用下生成的环状低聚糖, 其含有 7 个 D-吡喃葡萄糖单元, 以 1,4-糖苷键结合而成。由于其具有腔内疏水、腔外亲水的特殊结构, 使其可以作为主体分子, 包结许多无机、有机和手性客体分子, 形成主-客体分子或超分子配合物^[1-3]。

石墨烯(简称 GNs) 是碳原子紧密堆积成单层二维蜂窝状晶格结构的一种碳质新材料, 它具有比碳

收稿日期: 2012-10-12

基金项目: 江西省自然科学基金(2010GZH0011) 和江西省教育厅项目(GJJ11488) 资助

作者简介: 龚霞(1974—), 女, 副教授, 博士生, 主要从事分析化学、环境化学研究, E-mail: 1220250173@qq.com; *

通讯作者: 马建国, 副教授, 博士, E-mail: mjgyh8125@163.com。

纳米管更为优异的电学性质、超大的比表面积、透光性和化学稳定性以及可加工性,并且避免了碳纳米管研究和应用中难以逾越的手性控制、金属型和半导体型分离以及催化剂杂质等难题,因而成为更好的光电多功能修饰材料,在构建微型化、多功能化和性能优异的生物传感器件方面具有广阔的前景^[4-7]。

近年来,巯基类化合物在金属纳米粒子表面的修饰已经成为交叉学科研究领域中的一个非常活跃的课题^[8-9]。 β -CD 作为第二代超分子主体化合物的代表具有很好的分子识别能力,将其衍生物修饰在纳米粒子表面形成功能单分子层后可以影响甚至控制粒子的性质。本文利用巯基官能团对 β -环糊精的 C(6) 位羟基进行了取代改性,合成了 C(6) 位巯基- β -环糊精(简称 β -CD-SH),以增强其电子传递能力和水溶性。 β -CD-SH 能够与金电极表面很好的形成 Au-S 键,构成具有良好稳定性、致密性、有序性的自组单分子层。通过研究该复合电极对多巴胺的电化学行为,以期获得一种具有灵敏度高和电催化性能良好的电化学分析方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

CHI660D 电化学工作站(上海辰华仪器公司),三电极体系:金盘电极为工作电极,饱和甘汞电极(SCE)为参比电极,铂片电极为辅助电极;傅里叶-红外光谱仪(Nicolet5700,美国热电公司,光谱范围 $7\ 800 \sim 350\ \text{cm}^{-1}$,分辨率为 $0.09\ \text{cm}^{-1}$,快速扫描 $65\ \text{次/s}$ 。KBr 压片制样)。 β -环糊精(中国医药集团上海化学试剂公司);多巴胺(上海盈元化工有限公司);盐酸多巴胺针剂(江苏亚邦强生药业有限公司, $10\ \text{mg/mL}$);石墨粉(中国医药集团上海化学试剂公司,光谱纯);对甲苯磺酰氯(中国医药集团上海化学试剂公司);硫脲(上海试剂一厂);其他试剂均为分析纯,实验用水均为二次蒸馏水。

1.2 试验设计

1.2.1 石墨烯的制备^[10-11] 先利用改进 Hummers 方法制备氧化石墨烯(GO),具体方法如下:在冰水浴下, $1\ \text{g}$ 石墨粉、 $0.5\ \text{g}$ 硝酸钠加入到 $23\ \text{mL}$ 浓硫酸中,搅拌,反应 $30\ \text{min}$,然后分批加入 $3\ \text{g}$ 高锰酸钾($0.3\ \text{g/min}$),至其完全溶解再将水浴温度缓慢升高至 $30\ ^\circ\text{C}$,反应 $30\ \text{min}$ 。缓慢加入 $50\ \text{mL}$ 水,搅拌,并逐渐升温至 $98\ ^\circ\text{C}$,加入 $3.5\ \text{mL}$ 过氧化氢(30%)和 $16.5\ \text{mL}$ 水,反应 $15\ \text{min}$,将反应混合物离心分离,分别用 3% 盐酸和水洗涤后真空干燥,得到 GO,将 $100\ \text{mg}$ GO 分散于 $100\ \text{mL}$ 水中,超声 $1\ \text{h}$,升温至 $80\ ^\circ\text{C}$,然后滴加 $2\ \text{mL}$ 水合肼,回流 $24\ \text{h}$ 后,过滤,产物依次用甲醇和水冲洗多次, $60\ ^\circ\text{C}$ 下真空干燥,即得石墨烯(GNs)。

1.2.2 巯基- β -环糊精的制备^[12] 首先将 $45.0\ \text{g}$ β -环糊精和 $11.7\ \text{g}$ 对甲苯磺酰氯加入到 $1\ 080\ \text{mL}$ 二次蒸馏水中。搅拌 $2 \sim 3\ \text{h}$ 后,加入 $2.5\ \text{mol/L}$ 的 NaOH 水溶液 $180\ \text{mL}$,继续搅拌约 $30\ \text{min}$,过滤去除不溶的物质。滤液中加入约 $54.0\ \text{g}$ NH_4Cl ,调节 pH 为 8 左右。将该溶液置于冰箱中,在 $4\ ^\circ\text{C}$ 下静置 $12\ \text{h}$ 。有大量白色沉淀产生,过滤,得到白色固体。用二次蒸馏水多次洗涤后,对产物加以重结晶提纯,得到白色片状晶体,在 $55\ ^\circ\text{C}$ 下真空干燥,即得单-6-氧-磺酰基- β -CD(β -CD-OTs)。然后,分别称取 $2.0\ \text{g}$ β -CD-OTs 和 $2.2\ \text{g}$ 硫脲,依次加入到混合甲醇溶剂中(甲醇:水 = $80:20$),加热回流 $2\ \text{d}$,减压蒸除溶剂,在剩下的固体中加入 $30\ \text{mL}$ 甲醇,搅拌 $1.5\ \text{h}$,浸泡 $1\ \text{d}$ 后,减压抽滤得到白色固体。将白色固体溶于 $140\ \text{mL}$ 10% 的 NaOH 溶液中,在 $50\ ^\circ\text{C}$ 下恒温搅拌 $5\ \text{h}$,再用 10% 的 HCl 溶液调节 pH 约为 2,加入 $10\ \text{mL}$ 的三氯乙烯,搅拌回流 $1\ \text{d}$,至白色固体析出,将过滤得到的白色固体在 $50\ ^\circ\text{C}$ 下真空干燥,即得巯基- β -环糊精(β -CD-SH)。

1.2.3 β -CD-SH/GNs 复合膜修饰电极的制备 金电极的预处理:先将金电极在浓硫酸与过氧化氢($3:1$, H_2O_2 , 30%)的混合溶液中浸泡 $30\ \text{min}$,以活化电极,然后用 Al_2O_3 粉浆打磨、抛光,再分别用硝酸(体积比为 $1:1$)、无水乙醇、二次蒸馏水超声清洗各 $5\ \text{min}$ 。最后用二次蒸馏水冲洗干净,氮气吹干。

β -CD-SH/GNs 复合膜修饰电极的制备:分别称取 $10\ \text{mg}$ 的 β -CD-SH 和 GNs 于二次蒸馏水中,超声分散均匀,得到浓度为 $1.0\ \text{mg/mL}$ 均匀分散液,将金电极置于该溶液中,静置 $1\ \text{d}$,使 β -CD-SH/GNs 自组装到金电极上,用二次蒸馏水冲洗,氮气吹干,备用。

1.3 实验方法

取一定量的 DA 溶液加入 $25\ \text{mL}$ 容量瓶中,用 $\text{pH} = 4$ 的 PBS 缓冲溶液稀释,定容,摇匀。转移至

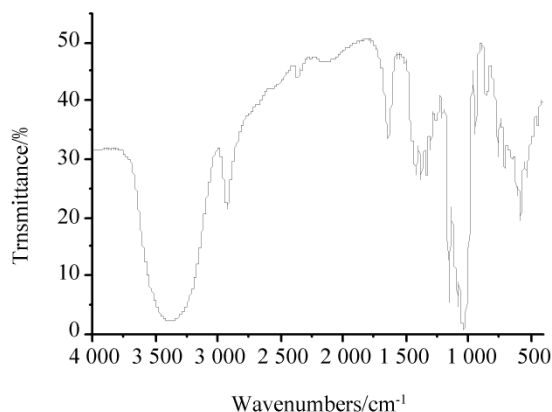
图1 β -CD-SH 的红外光谱

Fig. 1 The infrared spectrogram (IR) of the β -CD-SH

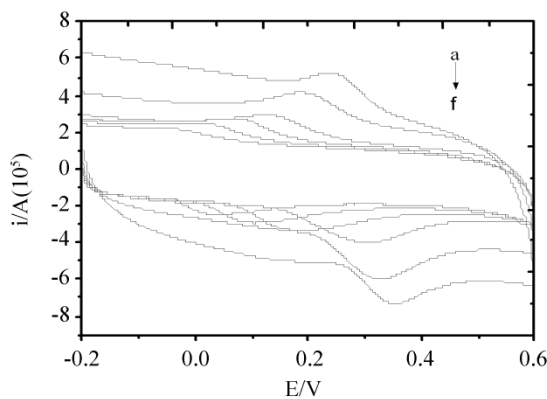


图2 不同 pH 值 PBS 溶液中的循环伏安图

(a - f: pH = 3.00 ~ 8.00)

Fig. 2 Cyclic voltammograms of DA in PBS with different pH

电解池中,以制备好的修饰金电极为工作电极,饱和甘汞电极为参比电极,铂片电极为辅助电极,以 -0.8 V 为起始电位在一定扫速下进行扫描,记录循环伏安(CV)曲线,测定 DA 的峰电位和峰电流值,研究修饰电极对 DA 的电化学行为。

2 结果与讨论

2.1 β -CD-SH 的红外表征

对合成的 β -CD-SH 进行了红外光谱分析,结果如图 1 所示。由图 1 可知,在波数为 580.39 cm^{-1} 处有一个较为明显的,且较宽的巯基弯曲振动峰,在 2580 cm^{-1} 处有一个较微弱的巯基伸缩振动峰,而其他振动峰基本与 β -CD 相对应,说明 β -CD-SH 的改性是成功的。

2.2 支持电解质的选择

分别选择在浓度均为 0.1 mol/L 的 PBS、醋酸盐、Britton - Robison、柠檬酸盐和硼酸盐缓冲溶液等不同的支持电解质中利用循环伏安法考察了 β -CD-SH/GNs 复合膜修饰电极对 $1.0 \times 10^{-4}\text{ mol/L}$ DA 的电催化作用。结果表明,DA 在这几种缓冲溶液中都有一定的电化学响应,其中在 PBS 缓冲溶液中其支持电解质的峰形最好,氧化还原峰电流变化值最大。在 $\text{pH} = 3.00 \sim 8.00$ 范围内的 CV 图如图 2 所示。由图 2 可知, $\text{pH} = 4.00$ 的 PBS 中 DA 的氧化还原峰形较好,背景电流适中。然后经分析氧化峰电流与 pH 值的关系,实验选择 $\text{pH} = 4.00$ 的 PBS 作为测定 DA 的缓冲溶液。

2.3 不同扫描速率的测定

在不同的扫描速率下,研究了 β -CD-SH/GNs 复合膜电极表面的电化学行为,结果如图 3 所示。由图 3 可知,在 $1.0 \times 10^{-4}\text{ mol/L}$ DA 溶液中,峰电流和峰电位均随扫速的增大而增大,这是因为扫描速率越高,峰所对应的电化学反应速率越高,峰电流也越大。实验证明在 $0.02 \sim 0.25\text{ V/s}$ 的扫速范围内,DA 的氧化还原峰电流分别与扫描速率成良好的线性关系,说明 DA 在 β -CD-SH/GNs 修饰电极上的电化学反应是受吸附控制的。但扫速过大,会导致电极因充电电流过大而被击穿,而扫速太低则使峰电流变化微弱^[13]。为了避免扫速过大对测定造成影响,又要使电极对物质的测定有较为明显的氧化还原峰电流,经实验发现扫速为 0.10 V/s 时,修饰电极测定 DA 的氧化还原峰电流明显,出峰稳定,重现性好,且在该扫速下峰电流变化较大,电位差较小,

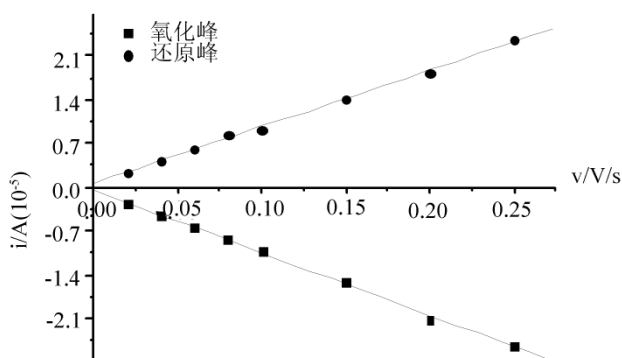


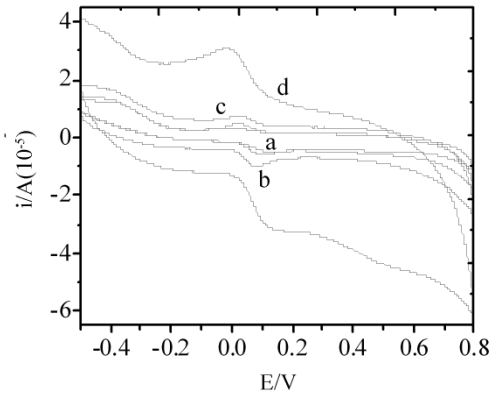
图3 氧化还原峰电流与扫描速率的关系

Fig. 3 Relationship between oxidation and reduction peak current and the scan rates

显示出其该反应的良好可逆性。因而选择测定多巴胺的修饰电极扫描速率为 0.10 V/s。

2.4 不同修饰电极的比较

在 pH = 4.00 的 0.1 mol/LPBS 溶液中,扫速为 0.10 V/s 条件下比较了裸金电极、β-CD-SH 膜修饰电极、GNs 膜修饰电极和 β-CD-SH/GNs 膜修饰电极对多巴胺的电化学行为,由图 4 可以看出,β-CD-SH/GNs 膜修饰电极相对于其它电极而言,其氧化还原峰的峰电流变化较大,说明其对 DA 具有较好的电催化性能。主要由于金电极与 β-CD-SH 上接枝的巯基结合形成的 Au-SH 键比较稳定,而石墨烯的导电性能较强,当 β-CD-SH 与石墨烯进行复合后,相互作用较紧密,由于相互之间的协同作用,从而很大的提高了电极的电催化性能。结果表明,β-CD-SH/GNs 膜修饰电极的氧化还原峰的峰电流比裸金电极的峰电流大了一个数量级,反映了良好的电催化性能。



a. bare glassy carbon electrode; b. β-CD-SH; c. GNs; d. β-CD-SH/GNs.

图 4 不同修饰电极循环伏安图 (v: 0.06 V/s; E: -0.5 ~ 0.8V)

Fig. 4 Cyclic voltammograms of DA at different electrodes

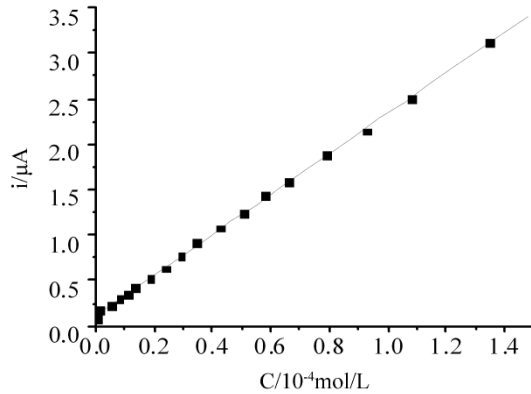


图 5 氧化峰电流与 DA 浓度的关系

Fig. 5 Relationship between oxidation peak current and concentration of DA

2.5 线性范围、稳定性和重现性

利用上述最佳条件,本文还考察了 β-CD-SH/GNs 复合膜电极对 DA 测定的电流 - 浓度关系的电化学行为,如图 5 所示。由图 5 发现 DA 浓度在 0.11 ~ 135 μmol/L 范围内,其氧化峰电流的变化与浓度呈良好线性关系,线性方程为 $i_p = 0.00974C + 1.2387 \times 10^{-7}$,相关系数达 0.991,检出限为 1.1×10^{-7} mol/L。此外,通过实验,在 1.0×10^{-4} mol/L DA 溶液中,用同一支 β-CD-SH/GNs 复合膜电极连续测定 18 次,对 DA 的电流响应波动很小。将电极在缓冲溶液中放置 15 d 后再进行测试,发现电极对 DA 的电流响应减小 9.7%,由此表明该修饰电极具有较好的稳定性和重现性。此外,在 DA 浓度为 1.0×10^{-4} mol/L 的条件下,本文还做了一些干扰离子的检测,结果表明, Ba^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 、 K^+ 、 Na^+ 、 Zn^{2+} 、乳酸、半胱氨酸、柠檬酸对 DA 的测定无明显影响。

2.6 加标回收法测定模拟样品

为进一步检验 β-CD-SH/GNs 复合膜电极的实际应用能力,根据上述实验得出的最佳实验条件,本文以医用盐酸多巴胺针剂为模拟样品,将 1 mL 盐酸多巴胺注射液定容至 100 mL 容量瓶中,再移取 10 mL

表 1 样品分析结果

Tab. 1 Analytical results of samples

样品	初始浓度 $/(10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1})$	加入浓度 $/(10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1})$	实测浓度 $/(10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1})$	回收率/%
1	2.0	1.0	2.96	98.7
2	2.0	2.0	3.98	99.5
3	2.0	4.0	6.08	101.3
4	2.0	6.0	8.06	100.8
5	2.0	8.0	9.82	98.2

定容至 250 mL 容量瓶中,分别取等量样品至电解池中,利用 β -CD-SH/GNs 修饰电极以加标回收法对其进行测定,结果见表 1。该方法样品回收率为 98.2% ~ 101.3%,检测效果良好。

3 结 论

本文利用合成的 β -CD-SH 与石墨烯复合制备了复合膜修饰金电极,能够有效促进 DA 在电极表面氧化还原反应的电子传递速率,对 DA 具有很好的电催化作用,并且灵敏度高、重现性好、稳定性高,为生物分子的电化学检测提供了新的方法。

参考文献:

- [1] Manakker F V, Vermonden T, Nostrum C F V, et al. Cyclodextrin - based polymeric materials: synthesis, properties, and pharmaceutical /biomedical applications [J]. *Biomacromolecules* 2009, 10(12): 3157 - 3175.
- [2] Mendez - Ardoy A, Guilloreau N, Giorgio C D, et al. β -Cyclodextrin - based polycationic amphiphilic "click" clusters: effect of structural modifications in their DNA complexing and delivery properties [J]. *The Journal of Organic Chemistry*, 2011, 76(15): 5882 - 5894.
- [3] Davis M E. The first targeted delivery of siRNA in humans via a self - assembling, cyclodextrin polymer - based nanoparticle: from concept to clinic [J]. *Molecular Pharmaceutics* 2009, 6(3): 659 - 668.
- [4] Han T H, Huang Y K, Tan A T L, et al. Steam etched porous graphene oxide network for chemical sensing [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2011, 133(39): 15264 - 15267.
- [5] Fazel Y, Nikhil K. Graphene - based chemical sensors [J]. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 2012, 3(13): 1746 - 1753.
- [6] Dan Y P, Lu Y, Kybert N J, et al. Intrinsic response of graphene vapor sensors [J]. *Nano Letters* 2009, 9(4): 1472 - 1475.
- [7] Al - Mashat L, Shin K, Kalantar - zadeh K, et al. Graphene/polyaniline nanocomposite for hydrogen sensing [J]. *The Journal of Physical Chemistry C* 2010, 114(39): 16168 - 16173.
- [8] Hofmann A, Schmiel P, Stein B, et al. Controlled formation of gold nanoparticle dimers using multivalent thiol ligands [J]. *Langmuir* 2011, 27(24): 15165 - 15175.
- [9] Bhatt N, Huang P J J, Dave N, et al. Dissociation and degradation of thiol - modified DNA on gold nanoparticles in aqueous and organic solvents [J]. *Langmuir* 2011, 27(10): 6132 - 6137.
- [10] Hummers W S, Offeman R E. Preparation of Graphitic Oxide [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1958, 80(6): 1339 - 1339.
- [11] Guo Y, Guo S, Ren J, et al. Cyclodextrin functionalized graphene nanosheets with high supramolecular recognition capability [J]. synthesis and host - guest inclusion for enhanced electrochemical performance *ACS Nano* 2010, 4(7): 4001 - 4010.
- [12] Liu J, Alvarez J, Ong W, et al. Phase transfer of hydrophilic, cyclodextrin - modified gold nanoparticles to chloroform solutions [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2001, 123(45): 11148 - 11154.
- [13] Zhang Y, Sun X M, Zhu L Z, et al. Electrochemical sensing based on graphene oxide/Prussian blue hybrid film modified electrode [J]. *Electrochim Acta*, 2011, 56(3): 1239 - 1245.