

文章编号: 1000-5013(2012)05-0528-07

掺杂石墨烯分子印迹传感器对色氨酸的手性识别

周丰, 连惠婷, 曹学功, 刘斌

(华侨大学 材料科学与工程学院, 福建 厦门 361021)

摘要: 以掺杂了石墨烯纳米片的壳聚糖为功能基体, *L*-色氨酸为模板分子, 利用恒电位沉积法制备对 *L*-色氨酸具有手性识别功能的分子印迹传感器. 采用扫描电子显微镜(SEM)、X 射线衍射(XRD)、傅里叶变换红外光谱(FTIR)等方法表征印迹膜的形成过程. 探讨印迹传感器的电化学性能, 并优化了最优检测条件. 研究表明: 石墨烯掺杂量为 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 沉积时间为 300 s, 工作电压为 +0.85 V, 溶液 pH 值为 6 时, 所制备的石墨烯-壳聚糖印迹传感器具有良好的手性识别性能, 且对 *L*-色氨酸的浓度线性响应范围为 $0.17 \sim 25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 检测限($S/N=3$)达 $0.04 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

关键词: 石墨烯; 分子印迹传感器; 手性识别; 色氨酸

中图分类号: O 657.1

文献标志码: A

色氨酸(Trp)是人体必需氨基酸之一, *L/D*-色氨酸(*L/D*-Trp)具有不同的药理作用和用途. *L*-色氨酸(*L*-Trp)可用于治疗失眠、焦虑、情绪低落和月经前综合征, 但服用非光学纯的 *L*-Trp 会引发嗜酸粒细胞增多-肌痛综合征^[1]. *D*-色氨酸(*D*-Trp)可作为非营养性甜味剂, 饲料添加剂、植物生长剂, 在医药行业中, *D*-色氨酸是抗癌剂和免疫抑制剂的重要合成前体^[2]. 对色氨酸的手性分离分析, 主要采用高效液相色谱^[3-5]、毛细管电泳^[6-7]和配体交换色谱^[8]等方法. 这些方法存在分析时间长、仪器昂贵、灵敏度较低等缺点, 因此, 研究一种简单、快速、低成本和高灵敏度的检测方法是十分必要的. 电化学传感器以灵敏度高、响应速度快、小型化等特点, 多用于痕量分析^[9], 分子印迹技术具有高效, 专一性选择识别能力、构效预知性等优势^[10-12], 广泛应用于诸多领域^[13], 将分子印迹与传感器技术结合, 旨在对手性氨基酸进行识别与检测. 但前期实验发现, 壳聚糖印迹膜传感器对色氨酸的手性识别灵敏度较低, 而石墨烯是现有材料中导电速率最快的材料^[14], 同时具有大的比表面积和其他优异的物理、化学性质^[15-17], 可应用于制备敏感分子器件领域以提高其灵敏度^[18]. 因此, 本文制备了掺杂石墨烯分子印迹手性传感器, 以实现对手性色氨酸的快速选择性检测.

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

1) 仪器. CHI630a 型电化学工作站(美国 CH Instruments 公司); CHI660D 型电化学工作站(上海辰华仪器公司); S-4800 型扫描电子显微镜(日本日立公司); X'Pert ProMPD 型 X 射线衍射仪, (荷兰 PA Nalytical 公司); Nexus-470 傅里叶变换红外光谱仪(美国 Nicolet 公司); Milli-Q 超纯水仪(美国 Millipore 公司). 实验采用三电极体系: 工作电极为玻碳电极(直径 3 mm)或其修饰电极, 辅助电极为铂丝电极; 参比电极为饱和甘汞电极(SCE).

2) 试剂. 石墨烯纳米片(GNS, 福建厦门凯纳石墨烯技术有限公司), 壳聚糖(CS, 脱乙酰度 $\geq 75\%$ 美国 Sigma-Aldrich 公司); *L/D*-色氨酸, 苯丙氨酸, 酪氨酸、丝氨酸等氨基酸(上海国药集团化学试剂有

收稿日期: 2012-04-18

通信作者: 刘斌(1963-), 男, 教授, 主要从事电化学传感器的研究. E-mail: bliu@hqu.edu.cn.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20955001, 21175049); 福建省自然科学基金计划资助项目(2011J01049); 中央高校基本科研业务费专项基金资助项目(10QZR13)

限公司)。实验中其他所用试剂除特殊说明均为分析纯,实验用水为 Milli-Q 超纯水仪所制备的超纯水。

1.2 壳聚糖-石墨烯贮备液配制

准确称量 0.38 g 壳聚糖粉末,用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 溶解,然后用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 溶液调节至 pH 值为 5.0,配制成 $7.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的壳聚糖储备液;取 0.01 g 石墨烯纳米片加入 10 mL 的壳聚糖储备液中,超声 1 h,将其分散均匀,制得壳聚糖-石墨烯储备液,置于 4°C 冰箱冷藏室贮存。沉积液为含有 $1.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ L-色氨酸的壳聚糖-石墨烯的储备液。

1.3 L-色氨酸分子印迹电化学手性传感器的制备

将玻碳电极(GCE)分别用 4#,5#,6# 的金相砂纸打磨,以获得抛光镜面,用水清洗;然后,依次在 1:1 的 HNO_3 溶液和水中各超声清洗 5 min。将处理好的电极作为工作电极,置于含 $1.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ L-色氨酸的壳聚糖-石墨烯储备液中进行恒电位沉积,沉积电位为 -1.1 V ,沉积时间为 300 s。取出,淋洗晾干,并将 L-色氨酸-壳聚糖-石墨烯复合物修饰的电极置于 10 mL 的 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 溶液(含 100 μL 乙醇)中恒电位诱导洗脱 1 000 s,洗脱模板分子。然后置于 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ H_2SO_4 质子化交联 10 min,淋洗、晾干。即可制得对 L-Trp 具有特异性识别位点的印迹手性传感器(MIP/GCE)。除不含模板分子的传感器外,其他非印迹传感器(NIP/GCE)的制备条件同印迹传感器的制备流程相同。

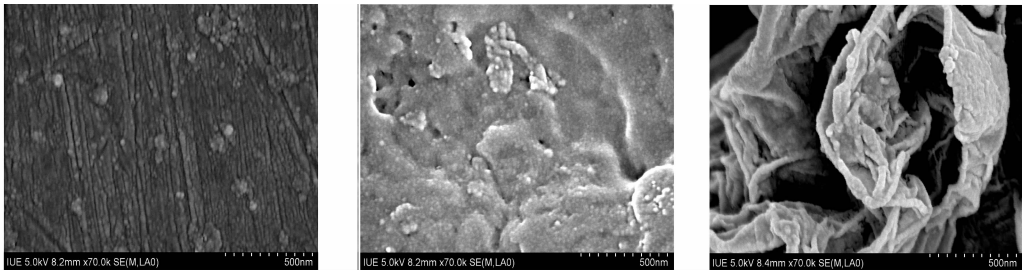
1.4 印迹传感器的电化学响应

采用微分脉冲伏安法(DPV)和安培计时法优化实验条件,并测试传感器的性能。DPV 扫描范围为 $0.4 \sim 1.1 \text{ V}$ (vs. SCE,下同),电位增量为 4 mV,振幅为 50 mV,脉冲宽度为 200 ms,脉冲周期为 50 ms。安培计时法工作电压为 $+0.85 \text{ V}$,支持电解质为 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaCl,连续加入 L/D-色氨酸溶液,进行定量分析。电化学交流阻抗谱(EIS)实验在含 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 的 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KCl 溶液中进行,测试电压为 $+0.23 \text{ V}$,频率为 $0.1 \sim 1.0 \times 10^5 \text{ Hz}$,使用 Zview 软件拟合所得的数据,并模拟出实验所制备的传感器的等效电路图。

2 结果与讨论

2.1 电极修饰过程的表征

2.1.1 电极表面形貌的扫描电镜(SEM)表征 通过扫描电镜(SEM)可对电极表面进行形貌分析,如图 1 所示。从图 1 可知:为裸玻碳电极(图 1(a)),电极表面呈平整刚性结构;通过电沉积的方法修饰了壳聚糖聚合物膜(图 1(b)),其表面呈现伸缩结构^[19];掺杂了石墨烯纳米片后,可观察到被壳聚糖附着的石墨烯片层结构,电极表面的空间立体感增强(图 1(c))。



(a) 裸 GCE

(b) CS/GCE

(c) CS-GNS/GCE

图 1 电极表面的 SEM 图

Fig. 1 SEM images of the electrode surface

2.1.2 电极修饰过程的 XRD 表征 通过 XRD 可对电极表面修饰物质进行物相分析,如图 2 所示。从图 2 中曲线 a 可知:电极表面修饰了壳聚糖后,分别在 10.1° 和 20.5° 出现了壳聚糖的特征峰^[20]。从图 2 中曲线 b 可知:当电极表面修饰了壳聚糖石墨烯(NIP)纳米聚合物膜时,衍射峰发生位移,从 10.1° 移到 12.5° ,在 $2\theta=26.4^\circ$ 出现了石墨烯的 X 射线特征衍射峰^[21],层面间距约为 3.6 nm。 26.4° 处较宽的衍射峰表明石墨烯纳米片在堆砌的方向上呈无定型结构^[22]。说明壳聚糖-石墨烯复合物形成了新的晶型结构,石墨烯纳米片外围被壳聚糖包裹着。从图 2 中曲线 c 可知: $2\theta=28.3^\circ$ 对应着 L-色氨酸(L-Trp-CS-GNS)的衍射特征峰,L-色氨酸同时成功地共沉积到电极表面。实验结果显示:通过电沉积方法,可以直

接在电极表面简单合成 *L*-色氨酸-壳聚糖-石墨烯复合膜。

2.1.3 电极修饰过程的 FTIR 表征 利用傅里叶变换红外光谱,研究修饰膜的形成过程及复合物分子之间的相互作用,如图 3 所示.从图 3 中曲线 a 可知:3 400 cm⁻¹ 处的宽峰是壳聚糖残糖基上的 O—H 的伸缩振动吸收峰与 N—H 伸缩振动吸收峰重叠形成的多重吸收峰,较宽的吸收峰还说明壳聚糖存在分子内和分子间氢键^[23].1 641,1 535 cm⁻¹ 分别为壳聚糖中酰胺键中的 C=O 双键和氨基中的 N—H 键特征吸收峰^[24].

从图 3 曲线 b 可知:石墨烯-壳聚糖(NIP)复合物沉积到电极表面时,C=O 键和 N—H 键特征峰分别从 1 641 cm⁻¹ 位移到 1 629 cm⁻¹,以及 1 535 cm⁻¹ 位移到 1 521 cm⁻¹ 处,NIP 可能发生氢键作用^[25].从图 3 曲线 c 可知:加入模板分子后,在指纹区 743 cm⁻¹ 处为 *L*-色氨酸特征吸收峰,并且 3 400 cm⁻¹ 处的峰变得尖锐,*L*-色氨酸-壳聚糖-石墨烯聚合物膜中,壳聚糖的活性官能团羟基、氨基,可以和色氨酸中的羧基、氨基形成氢键作用^[26],从而导致峰形的变化和位移.由红外数据得出,*L*-色氨酸-壳聚糖-石墨烯复合物存在氢键相互作用.

2.1.4 电极修饰过程的电化学交流阻抗表征 在含 5 mmol · L⁻¹ [Fe(CN)₆]^{3-/4-} 的 0.1 mol · L⁻¹ KCl 溶液中,裸玻碳电极和修饰不同聚合物膜后的交流阻抗谱图,如图 4 所示.从图 4 可知:玻碳电极表面通过电沉积修饰了壳聚糖膜(曲线 b)和 *L*-色氨酸-壳聚糖-石墨烯聚合物膜(*L*-Trp-CS-GNS/GCE, 曲线 d)后,阻抗值明显增大,分别为 220.6,238.8 Ω,大于裸电极(曲线 a)的 *R*_{et} 172.7 Ω.这两种修饰膜阻碍了界面电子在电极表面的传递,导致阻抗变大.以掺杂石墨烯的壳聚糖溶液所制备形成的 NIP 膜电极的 *R*_{et} 为 142.7 Ω(曲线 c),说明石墨烯随电沉积过程沉积到电极表面,有利于界面电子传输.*L*-色氨酸-壳聚糖-石墨烯聚合物膜经电位诱导洗脱去 *L*-色氨酸模板分子后,在膜上留下了相应的印迹孔穴,更有利于 [Fe(CN)₆]^{3-/4-} 探针在膜电极界面传质,所以相应的阻抗值变小(*R*_{et} = 53.6 Ω, 曲线 e),明显小于 NIP 电极的阻抗值.内插图为等效电路模型,说明印迹膜符合电子元件模型.

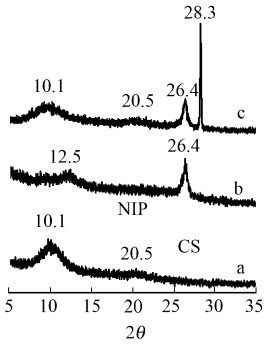


图 2 修饰电极的 X 射线衍射谱
Fig. 2 XRD patterns of modified electrodes

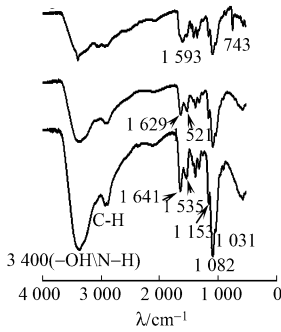


图 3 修饰电极的傅里叶变换红外光谱
Fig. 3 FTIR spectra of modified electrodes

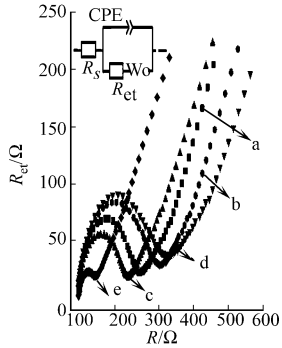


图 4 修饰电极的交流阻抗谱
Fig. 4 Electrochemical impedance spectroscopy of modified electrodes

2.2 实验条件优化

2.2.1 电沉积时间的选择 印迹膜的厚度影响着模板分子的结合位点数量和结合速率,采用恒电位沉积方法制备分子印迹聚合物的过程中,印迹膜的厚度可以由沉积时间控制.通过改变电沉积时间,观察 *L*/*D* 色氨酸在印迹膜上的氧化峰电流比值(*I*_{*L*-Trp}/*I*_{*D*-Trp})的变化情况,结果如图 5 所示.从图 5 可知:沉积时间较短时,形成的印迹膜较薄,相应的在膜上形成的印迹位点也较少,对 *L*-色氨酸的特异性吸附不明显,膜上的非特异性吸附占据主导作用 *I*_{*L*-Trp}/*I*_{*D*-Trp} 较小,识别能力较差;当沉积时间相应延长后,膜的厚度增加,共沉积到电极上的 *L*-色氨酸分子数量增多,膜上印迹位点相应增加,此时对 *L*-色氨酸的特异性吸附作用大于对 *D*-色氨酸的非特异性作用 *I*_{*L*-Trp}/*I*_{*D*-Trp} 增大,识别能力提高;但沉积时间太长时,厚膜不利于 *L*-色氨酸进出膜上印迹位点的通道,影响模板分子的完全洗脱和再次识别 *I*_{*L*-Trp}/*I*_{*D*-Trp} 又降低,影响印迹膜对 *L*-色氨酸在印迹膜上的对映识别作用.因此,最佳沉积时间选择为 300 s.

2.2.2 石墨烯掺杂量的选择 壳聚糖中石墨烯的掺杂量影响印迹膜上印迹位点数量,以及对目标检测物的灵敏度,如图 6 所示.图 6 可知:过多或过少的石墨烯都会削弱印迹传感器对色氨酸的手性识别作

用. 这是因为石墨烯加入量较少时,电沉积修饰到电极上的石墨烯的量也少,印迹膜的空间比表面积没有显著增大,形成对色氨酸的手性识别作用不明显;随着掺杂量的增加,印迹膜的表面明显增大,石墨烯的2D结构也便于模板分子的洗脱及与印迹位点的再结合,因此手性识别能力增强, I_{L-Trp}/I_{D-Trp} 提高;当掺杂量达 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,所制备的L-色氨酸印迹传感器对L/D-色氨酸($10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)响应的比值最大 $I_{L-Trp}/I_{D-Trp}=2.3$,手性识别最为明显;但石墨烯加入量多时,阻碍了壳聚糖与L-色氨酸的印迹位点的形成;当掺杂量达到 $1.5\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, I_{L-Trp} 变得很小. 因此本实验选择最佳掺杂量为 $1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$.

2.2.3 pH值对L-色氨酸测定的影响 采用DPV,测试MIP/GCE对不同pH值的NaCl介质中L-色氨酸($10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的响应,如图7所示. 从图7可知:当pH值由3增至6时,响应电流随之增大,并在pH=6时达最大值,随着pH值进一步增至9时,电流响应却逐渐减小. 这是因为色氨酸的等电点为pH=5.89,当pH<5.89时,色氨酸发生质子化而带正电;pH>5.89时,色氨酸失去质子而带负电. 印迹聚合物膜中壳聚糖也是带正电荷,更易于带负电的色氨酸相结合,但当溶液中pH值超过6时,溶液中的OH⁻负离子会与带负电荷的色氨酸分子产生竞争作用,导致色氨酸分子到达电极印迹膜表面的难度加大,响应的电化学氧化峰电流也减小. 所以,选择pH=6的NaCl溶液作为分析检测的介质.

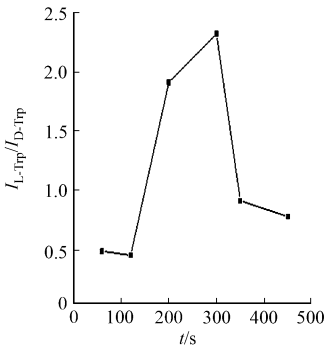


图5 电沉积时间对印迹膜的手性性能识别的影响

Fig. 5 Impact of electrodeposition time on enantioselective performance of MIP membranes

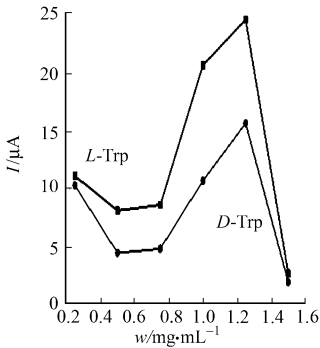


图6 不同掺杂量的石墨烯/壳聚糖的电化学响应

Fig. 6 Impact of different amount of GNS on electrochemical performance

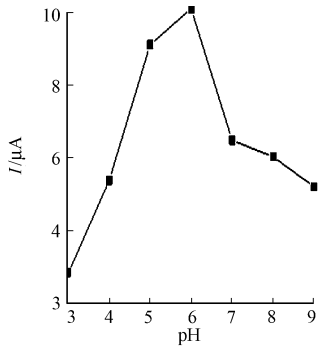


图7 pH值对印迹电极电流强度的影响

Fig. 7 Effect of pH values on intensity of MIP/GCE current

2.3 印迹传感器对映选择性地识别色氨酸

利用DPV响应电流的大小,来反映印迹传感器的特异性识别效果. 将最佳条件下所制备的L-色氨酸印迹传感器,分别浸入含等浓度的L-色氨酸、D-色氨酸的溶液中吸附30 min,然后置于空白的NaCl中考察DPV响应信号,在相同条件下制备非印迹传感器,进行比较实验,如图8所示. 从图8可知:L-色氨酸印迹传感器对L-色氨酸的吸附量(曲线a)约为对D-色氨酸(曲线b)吸附量的2.3倍;而非印迹电极对L/D-色氨酸(曲线d,e)而言,在氧化峰电流上没有明显差异,同时吸附到电极表面的色氨酸的量也远远小于印迹电极的吸附的量. 说明印迹膜上形成的印迹孔穴相对L-色氨酸分子,无论从空间结构的大小,还是功能基团结合的位置上,它们都是互补的. 印迹膜对D-色氨酸的吸附主要是由于膜上的非特异性吸附作用. 而在非印迹膜上由于没有形成特定的选择性识别位点,对L/D色氨酸的响应没有明显差别,说明不具有特异性手性识别性能. 实验结果反映了L-色氨酸印迹膜传感器对L/D-色氨酸有较好的手性识别作用.

同样,阻抗谱的阻抗值变化也可反映印迹膜的手性识别,将L-色氨酸印迹膜电极与等浓度的L/D-色氨酸吸附后,再进行交流阻抗谱表征,如图9所示. 从图9可知:其阻抗值分别变为89.6,81.8 Ω,曲

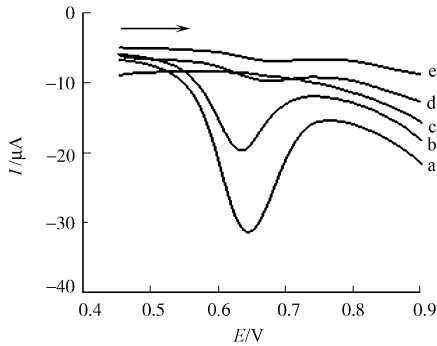


图8 L/D-色氨酸在印迹/非印迹电极上的DPVs响应

Fig. 8 DPV responses of L/D-Trp on MIP/GCE or NIP/GCE

线 *f, g* 是与 *L/D*-色氨酸吸附后的阻抗图, 它们均比洗脱后的印迹膜电极(曲线 *e*, $R_{et} = 53.6 \Omega$) 的阻抗大. 这说明与 *L/D*-色氨酸吸附后, 印迹膜上的印迹孔穴被色氨酸分子占据, 从而阻碍了探针进出膜的孔穴, 阻抗变大. 因为印迹膜对 *L*-色氨酸的空间互补性更强, 结合能力更大, 所以曲线 *f* 阻抗值较大.

2.4 安培计时测量

以 $\text{pH} = 6$ 的 0.1 mol/L NaCl 溶液为支持电解质溶液, 利用安培计时法快速检测 *L/D*-色氨酸在 *L*-色氨酸印迹薄膜上的响应, 结果如图 10 所示. 从图 10 可知: 在一定的浓度范围内时, *L/D*-色氨酸的电流响应值都会随着响应溶液的加入而出现阶梯状的递增, 但在加入等浓度的 *L/D*-色氨酸时, *L*-色氨酸的加入引起的电化学信号递增量要大于加入 *D*-色氨酸所引起的递增量. 溶液中 *L*-色氨酸通过印迹孔穴在电极表面上发生响应, 而 *D*-色氨酸分子与 *L*-色氨酸分子空间三维取向不同, 存在着空间位阻, 导致了 *D*-色氨酸分子扩散到电极膜上的数量不多, 以非特异性吸附为主, 所以 *D*-色氨酸的响应信号低很多. 而相同条件下制备的非印迹电极上, 由于没有印迹位点, 与模板分子 *L*-Trp 为非特异性识别作用. 图 10 中: 曲线 *c, d*, 分别为 *L*-Trp 和 *D*-Trp 在非印迹电极上的电流响应. 它们的电流变化的几乎没有差别. 与印迹电极相比, 所得到的电流信号也较小. 加入不同浓度 *L/D*-Trp 时, 在印迹和非印迹电极上产生的电流响应转化成三维柱形图, 如图 11 所示. 在加入同一浓度色氨酸溶液时, 产生的电流响应 $a > b > c = d$. 说明印迹电极对 *L*-色氨酸具有手性选择识别能力. 随着加入溶液中色氨酸的浓度不断加大, 当浓度大于 $25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 响应电流不再随着色氨酸的加入增大反而有所降低, 这是由于印迹孔穴逐渐被 *L*-色氨酸填充, 吸附趋于饱和, 响应电流趋于稳定, 如图 12 所示. 在 $0.17 \sim 25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内, *L*-色氨酸浓度与响应电流之间呈现良好线性关系, 线性回归方程为 $(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}), I_a = 9.53C_{L\text{-Trp}} - 0.0828, R^2 = 0.9984$, 定量检出下限($S/N = 3$)为 $0.04 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

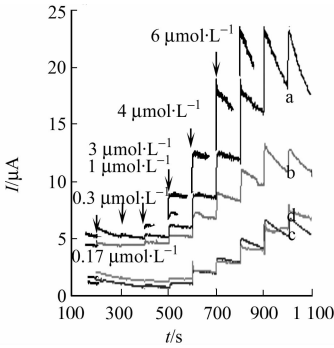


图 10 安培计时电流响应图

Fig. 10 Typical current response (*i-t*) of MIP/GCE and NIP/GCE

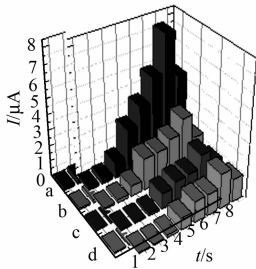


图 11 *L/D*-色氨酸在印迹和非印迹电极上的电流比例关系

Fig. 11 Current ratio of *L/D*-Trp at the MIP/GCE and NIP/GCE

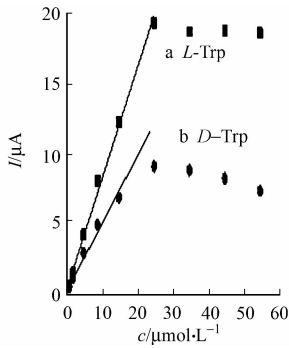


图 12 *L/D*-色氨酸在印迹电极上的校正曲线

Fig. 12 Calibration curve for *L/D*-Trp at MIP/GCE

2.5 *L*-色氨酸印迹电极的选择性

利用安培计时法, 考察 *L*-色氨酸传感器对其他氨基酸的抗干扰性, 待基底电流稳定后, 再加入 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 *L*-色氨酸, 得到电流变化明显的阶梯状曲线, 如图 13 所示. 从图 13 可知: 待电流稳定后, 再依次加入等浓度的 *L*-酪氨酸、*L*-丝氨酸、*L*-苯丙氨酸、*D*-色氨酸, 发现丝氨酸和苯丙氨酸的加入均没有引起电流的变化. 但 *L*-酪氨酸和 *D*-色氨酸的加入则引起较为明显的电流变化, 这是因为 *D*-色氨酸与 *L*-色氨酸结构相似性产生竞争性结合, 而酪氨酸与色氨酸发生电化学氧化的峰电位接近. 两者所引起的电流变化量比 *L*-色氨酸的小得多, 表明所制备的传感器具有较好的抗干扰性. 再次加入 *L*-色氨酸时, 其

电流变化虽依然比其他氨基酸明显,但比第一次的信号减小了很多,说明其他氨基酸虽然没有发生电化学反应响应,但也有可能进行非特异性吸附或竞争性占据印迹位点,阻碍模板分子与印迹位点的结合。

2.6 印迹传感器的稳定性和重现性

将制备的印迹电极在 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ *L*-色氨酸溶液中,吸附 30 min 后,测定其氧化峰电流值。洗脱 *L*-色氨酸后,重复连续使用 10 次,信号变化如图 14 所示。图 14 中:相对标准偏差为 4.9%。每天使用一次,连续使用一周后,对 *L*-色氨酸的电化学响应变为原来的 88%,结果表明印迹传感器具有较好的重现性和稳定性。

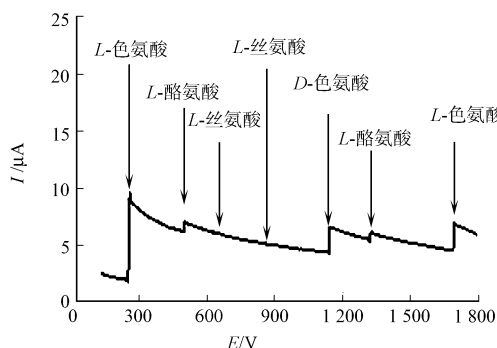


图 13 其他氨基酸的电流响应

Fig. 13 Current responses obtained at the GNS-MIP/GCE for the additions

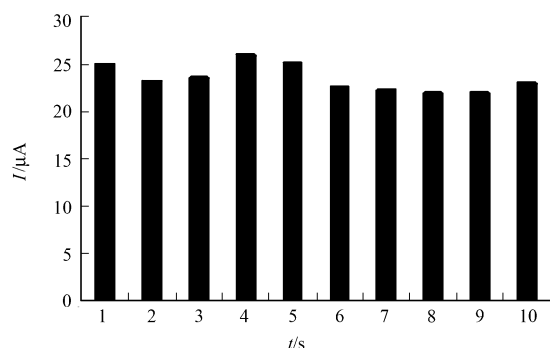


图 14 *L*-色氨酸的响应信号

Fig. 14 Responses of *L*-Trp on the MIP/GCE

3 结束语

采用恒电位沉积技术,壳聚糖为功能基体,在玻碳电极表面制备了掺杂了石墨烯纳米片的 *L*-色氨酸手性印迹传感器。所制备的印迹传感器对 *L*-色氨酸具有手性识别性能,对 *L*-色氨酸的微分脉冲响应峰电流是对同浓度 *D*-色氨酸的 2.3 倍。对结构近似的氨基酸具有较强的抗干扰能力,可应用于色氨酸的快速简便识别。

参考文献:

- [1] 郭智成. 对美国 *L*-色氨酸事件的回顾和思考[J]. 医学与哲学, 2001, 22(8): 60-61.
- [2] 王大慧, 韦萍, 欧阳平凯. *D*-色氨酸研究进展[J]. 化工进展, 2002, 21(2): 103-105.
- [3] 甄乾娜, 黄小兰, 张晓清, 等. 高效液相色谱程序波长紫外检测法同时测定血浆中的色氨酸及其代谢物[J]. Spzz, 2011, 29(5): 435-438.
- [4] Da SILVA M S, VAO E R, TEMTEM M, et al. Clean synthesis of molecular recognition polymeric materials with chiral sensing capability using supercritical fluid technology[J]. Biosens Bioelectron, 2010, 25(7): 1742-1747.
- [5] 马东杰, 许旭, 廉伟, 等. 高效液相色谱法检测胃液中色氨酸和利多卡因[J]. 分析化学, 2009, 37(11): 1617-1621.
- [6] 乔成栋, 宋平顺, 严祥, 等. 5 种生物胺的毛细管胶束电动色谱分离[J]. 分析化学, 2007, 35(1): 95-98.
- [7] BELIN G K, GARTNER V, SEEGER S. Rapid analysis and sensitive detection of *D*, *L*-tryptophan by using shorter capillary column coupled with deep-UV fluorescence detector[J]. J Chromatogr B, 2009, 877(29): 3753-3756.
- [8] YAN Hang-yan, ROW K H. Enantioseparation condition of *D*, *L*-tryptophan using ligand exchange chromatography[J]. Indian J Chem A, 2008, 47(1): 75-80.
- [9] PRIVETT B J, SHIN J H, SCHOENFISCH M H. Electrochemical sensors[J]. Analytical Chemistry, 2008, 80(12): 4499-4517.
- [10] CHEN Yang-ping, LIU Bin, LIAN Hui-ting, et al. Preparation and application of urea electrochemical sensor based on chitosan molecularly imprinted films[J]. Electroanal, 2011, 23(6): 1454-1461.
- [11] 连惠婷, 陈娟娟, 薛燕, 等. 久效磷分子印迹传感器的电化学响应特性[J]. 华侨大学学报: 自然科学版, 2011, 32(2): 182-187.
- [12] 殷静芬, 连惠婷, 孙向英, 等. 尿酸分子印迹电化学传感器的研制及其应用[J]. 华侨大学学报: 自然科学版, 2012, 33(1): 33-38.

- [13] VASAPOLLO G, DEL SOLE R, MERGOLA L, et al. Molecularly imprinted polymers: Present and future prospective[J]. *Int J Mol Sci*, 2011, 12(9): 5908-5945.
- [14] ZHANG Yuan-bo, TAN Yan-wen, STORMER H L, et al. Experimental observation of the quantum Hall effect and Berry's phase in graphene[J]. *Nature*, 2005, 438(7065): 201-204.
- [15] SHAFRANJUK S E. Electromagnetic properties of the graphene junctions[J]. *European Physical Journal B—Condensed*, 2011, 80(3): 379-393.
- [16] MOROZOV S, NOVOSELOV K, KATSNELSON M, et al. Giant intrinsic carrier mobilities in graphene and its bilayer[J]. *Physical Review Letters*, 2008, 100(1): 16602-16604.
- [17] GEIM A K. Graphene: Status and Prospects[J]. *Science*, 2009, 324(5934): 1530-1534.
- [18] HILL E W, VIJAYARAGAHVAN A, NOVOSELOV K. Graphene Sensors[J]. *Sensors Journal, IEEE*, 2011, 11(12): 3161-3170.
- [19] DEMETGUL C, SERIN S. Synthesis and characterization of a new vic-dioxime derivative of chitosan and its transition metal complexes[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2008, 72(3): 506-512.
- [20] WANG Shao-feng, SHEN Lu, ZHANG Wei-de, et al. Preparation and mechanical properties of chitosan/carbon nanotubes composites[J]. *Biomacromolecules*, 2005, 6(6): 3067-3072.
- [21] LI Waoguo, XU Shudong, TANG Min, et al. Direct electrochemistry of horseradish peroxidase on graphene-modified electrode for electrocatalytic reduction towards H_2O_2 [J]. *Electrochimica Acta*, 2011, 56(3): 1144-1149.
- [22] NETHRAVATHI C, RAJAMATHI M. Chemically modified graphene sheets produced by the solvothermal reduction of colloidal dispersions of graphite oxide[J]. *Carbon*, 2008, 46(14): 1994-1998.
- [23] 蒋挺大. 壳聚糖[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001.
- [24] CAO Xiao-ding, DONG Hua, LI Chang-min, et al. The enhanced mechanical properties of a covalently bound chitosan-multiwalled carbon nanotube nanocomposite[J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2009, 113(1): 466-472.
- [25] WAN Yi, LIN Zhi-feng, ZHANG Dun, et al. Impedimetric immunosensor doped with reduced graphene sheets fabricated by controllable electrodeposition for the non-labelled detection of bacteria[J]. *Biosens Bioelectron*, 2011, 26(5): 1959-1964.
- [26] 农兰平, 黄敏, 庄玉. *L*-色氨酸分子印迹壳聚糖膜的制备及透过选择性[J]. *化学研究*, 2009, 20(3): 15-18.

Enantioselective Recognition of Tryptophan Enantiomers by Graphene Doped Molecularly Imprinted Electrochemical Sensor

ZHOU Feng, LIAN Hui-ting, CAO Xue-Gong, LIU Bin

(College of Materials Science and Engineering, Huaqiao University, Xiamen 361021, China)

Abstract: A novel electrochemical sensor was prepared by graphene-chitosan molecularly imprinted film, which casted on the gassy carbon electrode by electrodeposition, using *L*-tryptophan (*L*-Trp) as the template. The prepared film was investigated by scanning electron microscopy (SEM), fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and X-ray diffraction (XRD). The enantioselective performance and the optimal conditions for *L*-Trp detection were evaluated by electrochemical technique in detail. Under the optimum conditions of $1\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ graphene doping concentration, 300 s electrodepositing time, the prepared sensor showed a excellent chiral recognition to Trp in $\text{pH}=6$ NaCl solution and linearly selective detection of *L*-Trp in the range of $0.17 \sim 25\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ was found, with a limit of detection of $0.04\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ($S/N=3$).

Keywords: graphene; molecularly imprinted sensors; chiral recognition; tryptophan

(责任编辑: 陈志贤 英文审校: 熊兴泉)