

黄嘌呤分子印迹电化学微传感器的响应特性

王小莉, 连惠婷, 孙向英, 刘斌

(华侨大学 材料科学与工程学院, 福建 厦门 361021)

摘要: 在碳纤维电极上,通过循环伏安法直接制备以吡咯为功能单体,黄嘌呤为模板分子的分子印迹聚合物膜,考察基于此印迹膜的电化学微传感器对黄嘌呤的响应特性.实验结果发现:该印迹膜有利于黄嘌呤在微电极上的氧化,其电极反应是单电子过程,具有良好的特异识别性;黄嘌呤浓度在 $4.0 \sim 60 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.08 \sim 2.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 与其氧化峰峰电流有很好的线性关系,检测限达 $0.25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$.动力学和热力学实验数据表明:印迹膜微传感器对黄嘌呤响应速度较快,模拟 Langmuir 模型拟合计算的动力学速率常数是 0.24 min ,小于玻碳印迹膜传感器的 0.71 min ,印迹因子为 14.1 ,稍大于玻碳印迹膜传感器的 9.0 ,远远高于对其他常见共存物和结构相似物的识别.

关键词: 分子印迹聚合物; 电化学传感器; 黄嘌呤; 吡咯; 响应特性; 吸附特性

中图分类号: O 631

文献标志码: A

黄嘌呤(xanthine,简称XA)是嘌呤代谢产物尿酸的主要来源之一^[1-2],而人体血液中尿酸含量过高是许多疾病的征兆^[3];黄嘌呤还是多种疾病发病机制中的重要因素,体液中生物嘌呤含量的变化直接反映了体内免疫系统和机能的变化^[4-5].因此,快速准确检测黄嘌呤对疾病的预防具有重要的意义^[6-7].目前,文献报道的黄嘌呤检测方法主要有荧光光谱法、高效液相色谱法和毛细管区带电泳法等^[8-13].黄嘌呤具有电活性,而响应速度快、灵敏度高和操作简便的电化学传感器也常用于黄嘌呤的检测^[5,14-15].分子印迹电化学传感器(MIECS)因其兼具分子印迹技术(MIT)对目标分子的特异识别性^[16-18]和电化学检测技术的优点,即高选择性、高灵敏度、低成本、易于微型化和自动化^[19-20],特别是在具有高传质速度和信噪比^[21]的微电极体系中,用于黄嘌呤的快速灵敏检测更有发展力.本课题组以碳纤维电极为基体电极,构建了一种基于聚吡咯印迹膜的黄嘌呤分子电化学微传感器.该微传感器对黄嘌呤显示了较好的灵敏度和选择性,可以用于血液中微量黄嘌呤的准确测定.为了更好地改善微传感器的性能以拓展其应用,研究印迹膜微传感器对黄嘌呤的响应特性,深入探讨其作用机制是非常有必要的.因此,本文重点研究印迹膜微传感器对微量黄嘌呤分子的电化学响应机制和热力学吸附特性.

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

1) 仪器. 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); Nexus-470 傅里叶变换红外光谱仪(美国 Nicolet 公司). 实验采用三电极体系:工作电极为碳纤维圆盘电极(直径 $5 \mu\text{m}$)、玻碳电极(直径 3 mm)及其修饰电极;辅助电极为铂丝电极;参比电极为银/氯化银电极(Ag/AgCl).

2) 试剂. 吡咯(Py, 99%),多巴胺(DA, 分析纯),比利时 Acros Organics 公司;黄嘌呤(XA),上海沃凯化学试剂有限公司;次黄嘌呤(HXA),尿酸(UA),抗坏血酸(AA),鸟嘌呤(Gua),肌酐(Cr),铁氰化

收稿日期: 2013-04-24

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, 21275059);福建省自然科学基金计划资助项目(2011J01049, 2012J01044);中央高校基本科研业务费专项基金资助项目(JB-ZR1215)

钾,亚铁氰化钾,均为上海国药集团化学试剂有限公司.实验中所用水均为 Milli-Q 系统提供的超纯水(美国 Millipore 公司,18 MΩ·cm⁻¹).

1.2 吡咯-黄嘌呤贮备液配制

电聚合贮备液含 Py(20 mmol·L⁻¹)+XA(2.5 mmol·L⁻¹)+KCl (100 mmol·L⁻¹),在氮气氛围下磁力搅拌 5 min 配制而成.

1.3 黄嘌呤分子印迹电化学微传感器的制备

1) 黄嘌呤分子印迹膜微电极(MIPs/CFME)的制备.将碳纤维微电极(CFME)在 0.05 μm 的 Al₂O₃ 泥浆抛光打磨成镜面,并在超声清洗仪中分别用 1:1 的 HNO₃,无水乙醇,二次水超声清洗 2 min 后备用.将预处理过的 CFME 作为工作电极,置于上述电聚合贮备液中,利用循环伏安法(CV),在 0~1.1 V(vs,Ag/AgCl,下同)电位区间内以 10 mV·s⁻¹扫描 5 圈电聚合制得复合膜修饰电极(XA-PPy/CFME).取出后用水淋洗并置于 0.2 mol·L⁻¹的 Na₂HPO₄ 溶液中磁力搅拌 10 min 以洗脱掉模板分子,晾干 15 min,再用二次水淋洗,即制得保留有 XA 分子构型空穴的分子印迹膜微电极.

2) 玻碳电极(MIPs/GCE)的制备.除电聚合采用 50 mV·s⁻¹的扫描速率,电聚合圈数为 10 圈之外(制备与微电极上同样厚度的膜),与碳纤维微电极的制备方法相同.

3) 黄嘌呤分子非印迹膜微电极(NIPs/CFME 和 NIPs/GCE)的制备.除不含模板分子外,其他条件同分子印迹膜微电极的制备.

1.4 实验方法

1.4.1 电化学方法 室温下,利用循环伏安法(CV)、微分脉冲伏安法(DPV)在 0.3~1.0 V 电位范围内检测 0.2 mol·L⁻¹磷酸盐缓冲溶液(PBS,pH=7.0)中的黄嘌呤,以优化实验条件和测试传感器的性能.CV 的扫描速率为 50 mV·s⁻¹;DPV 的脉冲幅度为 0.05 V,脉冲周期为 0.02 s,脉冲宽度为 0.05 s.电化学阻抗谱(EIS)实验在含有 5 mmol·L⁻¹[Fe(CN)₆]^{3-/4-} 电化学探针的 0.1 mol·L⁻¹ KCl 溶液中进行,频率范围为 0.01~1.0×10⁵ Hz.

1.4.2 傅里叶变换红外光谱表征 将 NIP/PPy 和 XA/PPy 分别电聚合于 ITO 玻璃表面,二次水淋洗后,用镊子将膜揭下来,转入真空干燥箱中干燥 48 h 后取出.采用 KBr 压片后,在 Nexus-470 型傅里叶变换红外光谱仪上进行测试.

1.4.3 扫描电镜表征 将 PPy_{NIP}和 PPy_{MIP}分别电聚合于金片基底表面后,于真空干燥箱中干燥 48 h 后取出.在加速电压为 5.0 kV 下,通过 S-4800 型扫描电子显微镜(SEM)观察各样品的表面形貌.

2 结果与讨论

2.1 微传感器的修饰膜表征

2.1.1 CFME 表面扫描电子显微镜(SEM)形貌分析 采用扫描电子显微镜(SEM)对 CFME 表面修饰膜的形貌进行分析,结果如图 1 所示.

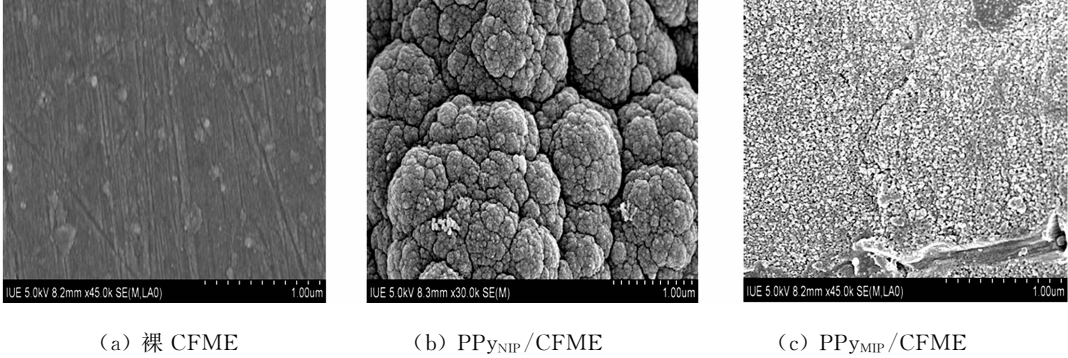


图 1 电极表面不同修饰膜的 SEM 图

Fig. 1 SEM images of CFME surface modified with different material

从图 1 可知:裸电极表面呈平整刚性的结构(图 1(a));通过电聚合的方法,修饰上非印迹聚吡咯膜后(图 1(b)),其表面可以观察到致密的薄膜结构;当模板分子 XA 从 XA-PPy 复合物膜中洗脱后,印迹

敏感膜表面呈现了明显的疏松多孔结构,有利于模板分子进出印迹空穴,到达印迹位点(图 1(c)).

2.1.2 修饰膜的傅里叶变换红外光谱分析 采用傅里叶变换红外光谱 (FTIR) 对黄嘌呤印迹聚合物膜 (XA/PPy)、空白聚合物膜 (NIP/PPy) 的结构及膜中模板分子与功能单体之间的相互作用进行分析. NIP/PPy 膜 (a) 和 XA/PPy 聚合物膜 (b) 的 FTIR 谱图,如图 2 所示.

从图 2 可知:在 NIP/PPy 膜谱带中,1 560,1 450 cm^{-1} 的峰属于吡咯环中 C=C 的变形振动,1 304,1 040 cm^{-1} 的峰为 =C-H 平面变形振动吸收峰,1 150 cm^{-1} 的峰为 C-N 的伸缩振动吸收峰,与文献[22]中聚吡咯膜的 FTIR 相符.图 2 的内插图是 XA 的 IR 谱图.从图 2 还可知:1 654 cm^{-1} ,1 698 cm^{-1} 处出现黄嘌呤的 -C=O 的特征振动吸收峰,538,498 cm^{-1} 处出现嘌呤环的平面弯曲振动吸收峰.在 XA/PPy 聚合物膜的谱带中,与上述 XA 的特征峰相比较,黄嘌呤的 -C=O 的特征振动吸收峰蓝移至 1 657,1 700 cm^{-1} 处,嘌呤环的平面弯曲振动吸收峰蓝移至 542,501 cm^{-1} [23]. PPy 在指纹区 772,875,967 cm^{-1} 处的特征峰,在 XA/PPy 聚合物膜的谱带中则分别红移至 768,854,959 cm^{-1} ,说明 XA 与 PPy 已经成功共聚合至电极表面. XA 各吸收峰不同程度的蓝移和 PPy 特征峰的轻微红移,表明 PPy 和 XA 的结合不是简单的物理作用,而是在形成聚合物膜时,两者产生了一定的静电作用和氢键效应.这不仅会对结合原子的振动频率产生影响,还会对整个分子链的振动频率产生影响,从而导致峰的位移.

2.2 印迹微传感器的电化学响应特性

2.2.1 微传感器的伏安响应 非印迹微传感器 (NIPs/CFME-a) 和印迹微传感器 (MIPs/CFME-b) 对 5.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ XA 的微分脉冲伏安曲线 (DPVs),如图 3 所示.从图 3 可知:XA 在印迹微传感器 MIPs/CFME 上的氧化峰的 E_p 值为 684 mV,相对于在非印迹微传感器 NIPs/CFME 的 744 mV,负移了 60 mV,且印迹膜微传感器对 XA 的响应约是非印迹膜的 3 倍.说明印迹膜不仅可结合更多的 XA 分子,而且催化 XA 在微电极表面上的氧化反应,有利于提高检测 XA 的灵敏度.

2.2.2 微传感器的电化学交流阻抗谱 在含有 5 mmol $\cdot \text{L}^{-1}$ $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 的 0.1 mol $\cdot \text{L}^{-1}$ KCl 溶液中,修饰不同聚合物膜的微电极的电化学交流阻抗谱,如图 4 所示.从图 4 可知:相比于裸电极的 0.11 M Ω ,CFME 表面采用电聚合修饰聚吡咯印迹膜 PPy_{MIP} 和聚吡咯非印迹膜 PPy_{NIP} 后,其阻抗值均明显增大,分别为 0.88,1.73 M Ω .这是因为修饰膜的形成阻碍了 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 分子到达电极表面,使阻抗值变大. XA-PPy 聚合物膜经磁力搅拌洗脱移去模板分子 XA 后,在修饰膜上留下了相应的印迹空穴,有利于探针分子到达电极表面,促进界面电子的传递.

2.2.3 微传感器的 pH 值响应 为了解溶液中质子是否参与反应,考察同一浓度的 XA 在 0.2 mol $\cdot \text{L}^{-1}$,pH 值为 5.0~9.0 的 PBS 缓冲溶液中的电化学行为,如图 5 所示.从图 5 可知:随着 pH 值的升高,XA 的氧化峰电流 (I_p) 先增后减;当 pH=7.0 时,XA 的 I_p 最大,而 XA 的 E_{pa} 则逐渐负移.这说明 XA 的氧化过程可能是一个去质子化的过程,较高的 pH 值能够促进去质子化的作用. XA 的氧化峰电位 (E_{pa}) 与底液的 pH 值在 5.0~9.0 之间呈现良好的线性关系.其线性方程为 $E_{pa}(\text{mV}) = 823.1 -$

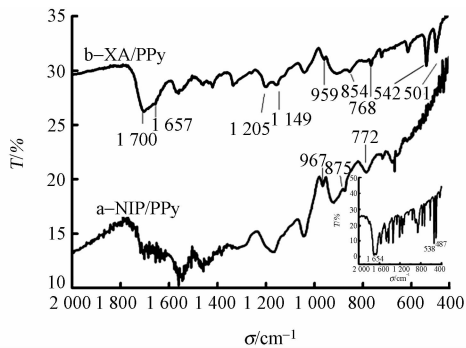


图 2 CFME 表面修饰膜的 FTIR 谱图

Fig. 2 FTIR spectra of modified membrane on CFME

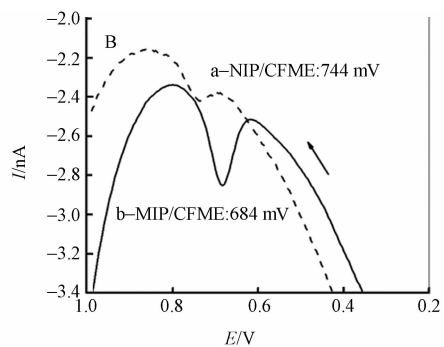


图 3 微传感器对 XA 的微分脉冲伏安曲线

Fig. 3 DPV response of XA on microsensor

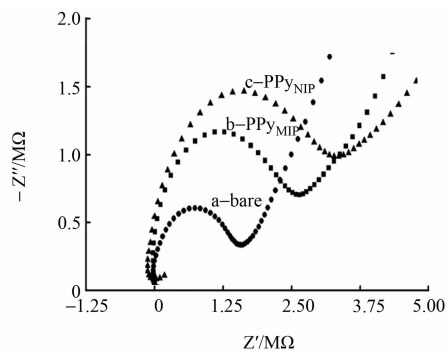
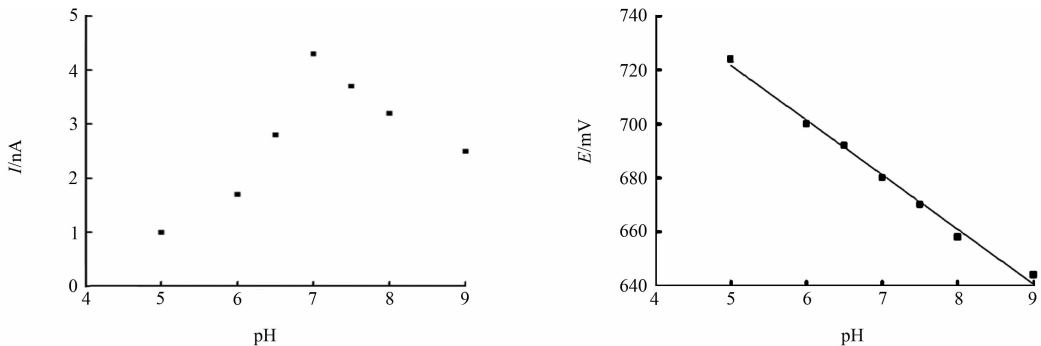


图 4 不同修饰电极的电化学交流阻抗谱

Fig. 4 Electrochemical impedance spectroscopy of different modified CFMEs

20.3pH, 相关系数为 0.991 7. E_{pa} 随着 pH 值的增大而线性减小, 其斜率为 -20.3, 该值与 25℃ 时等电子等质子传递的 RT/F 理论值 59/2 很接近, 说明 XA 的氧化反应为单电子过程^[24].



(a) XA 峰电流与溶液 pH 值 (b) XA 峰电位与溶液 pH 值

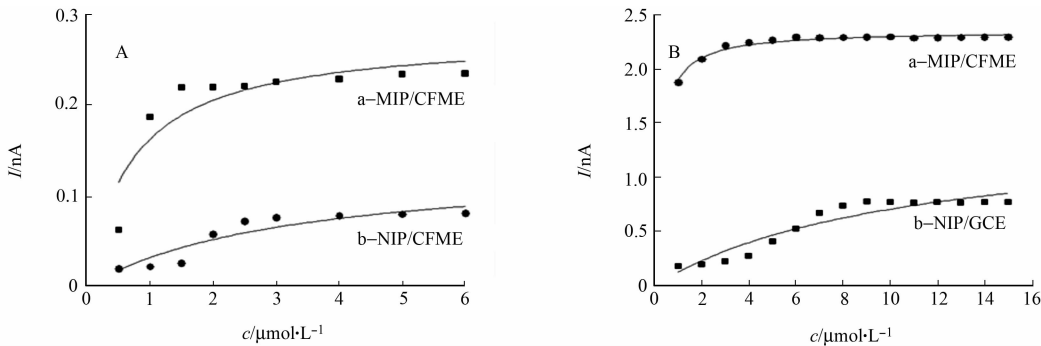
图 5 不同 pH 值缓冲溶液中 XA 在印迹微传感器上的电化学行为

Fig. 5 Electrochemical behavior of XA at molecularly imprinted microsensor in different pH buffer solutions

2.3 微印迹传感器的吸附特性

2.3.1 吸附动力学曲线 吸附动力学曲线是用来表征印迹膜的动态吸附性能, 即考察印迹膜传感器对模板分子的响应能力. 将碳纤维印迹膜微传感器 (MIP/CFME)、碳纤维非印迹膜微传感器 (NIP/CFME)、玻碳印迹膜传感器 (MIP/GCE)、玻碳非印迹膜传感器 (NIP/GCE) 分别置于含有 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 XA 溶液中, 观察 XA 的氧化峰电流值 (I) 随吸附时间 (t) 的变化情况, 如图 6 所示.

从图 6 可知: 在 MIP/CFME, MIP/GCE 的曲线中, I 随时间 t 的增加先快速增大而后趋于平缓; 而在 NIP/CFME, NIP/GCE 的曲线中的则没有突增现象, 电流呈现平缓增加. 这是因为印迹膜内存在大量浅位和深位的印迹空穴, 浅位易于与模板分子结合, 所以电流剧增, 而后进入深位结合, 位阻增大, 增势变缓, 而后趋近平衡; 而非印迹膜对模板分子仅有物理吸附、静电作用等非特异性吸附, 且膜的表面积有限, 吸附量小故缓慢达到平衡.



(a) 碳纤维微电极 (b) 玻碳微电极

图 6 膜传感器的吸附动力学曲线

Fig. 6 Adsorption kinetics curves of membrane based sensors

假设传感器对 XA 的结合符合 Langmuir 吸附模型, 将上述传感器的响应采用 Langmuir 动力学方程进行拟合, 即

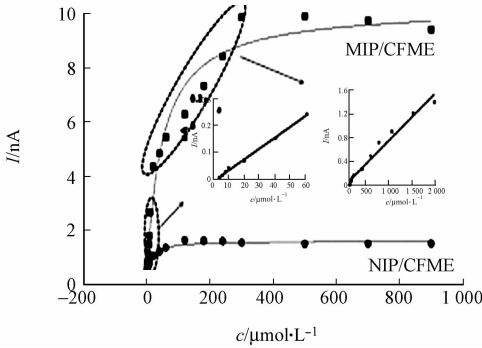
$$I_p = I_{pm} \cdot \frac{t}{k + t} \tag{1}$$

式(1)中: t 为吸附时间; I_p 为传感器对 XA 的响应峰电流值; I_{pm} 为吸附平衡时的响应电流值; k 为动力学速率常数. k 值反映传感器对 XA 的响应能力, 其值越小, 说明响应能力越强, 达到平衡的时间越短.

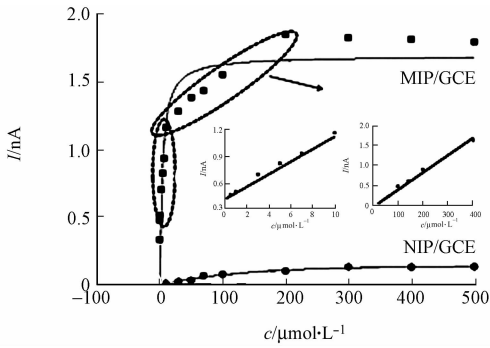
膜传感器对黄嘌呤的吸附动力学曲线的拟合参数, 如表 1 所示. 从表 1 可知: MIP/CFME, NIP/CFME 的 k 值为 0.24, 3.21 min, 都明显小于 MIP/GCE, NIP/GCE 的 0.71, 10.80 min. 这可能是因为 CFME 具有小的 i/R 降和高的传质速度^[21], 从而加快了 XA 到达印迹位点的速率. MIP/CFME 的 k 值明显小于 NIP/CFME 的 k 值, 说明印迹微传感器达到平衡的时间快. 这可能是因为印迹膜上印迹空穴

的存在,使目标分子能快速到达印迹位点;而印迹位点与模板分子的特异识别结合,也使得印迹传感器的平衡时间较短. 同样两种 MIP 膜对 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ XA 的响应最大峰电流值都是相应 NIP 膜的 2 倍,进一步说明了微电极上的印迹膜与常规玻碳电极上的印迹膜一样,对 XA 的识别不是简单的物理吸附,而是存在着印迹位点的特异性识别作用.

2.2.2 吸附等温曲线 制备的印迹传感器($\text{PPy}_{\text{MIP}}/\text{CFME}$, $\text{PPy}_{\text{MIP}}/\text{GCE}$) 与非印迹传感器($\text{PPy}_{\text{NIP}}/\text{CFME}$, $\text{PPy}_{\text{NIP}}/\text{GCE}$)在测定不同浓度的 XA 后,其等温吸附曲线如图 7 所示. 从图 7 可知:XA 在印迹传感器上的 DPV 电化学响应明显大于非印迹传感器,电流随浓度的变化也是先剧增,后变缓,且在 $4.0\times 10^{-6}\sim 6.0\times 10^{-3}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (CFME); $1.0\times 10^{-7}\sim 3.0\times 10^{-4}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (GCE) 浓度内有两段线性响应(图 7 插图),而非印迹传感器依然是变化平缓.



(a) 碳纤维微电极



(b) 玻碳微电极

图 7 膜传感器的吸附等温曲线

Fig. 7 Adsorption isotherms curves of membrane based sensors

将上述 4 种传感器的等温吸附曲线按照 Langmuir 模型进行拟合,拟合方程为

$$I_p = I_{pm} \cdot \frac{c}{k_d + c} \tag{2}$$

式(2)中: c 为平衡浓度; k_d 为解离常数.

膜传感器对黄嘌呤的等温吸附曲线拟合参数,如表 2 所示.从表 2 可知:4 种印迹传感器拟合的相关性都较好.印迹膜的印迹效果,可以用印迹因子 IF 表示,IF 越大,说明印迹膜的识别性强,印迹效果越好. MIP/CFME, MIP/GCE 的 IF 值在 XA 浓度分别为 $0.3, 0.01\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下增长较大,而后因为吸附趋近饱和而变缓.由表 2 数据计算得出 MIP/CFME, MIP/GCE 印迹膜最大 IF 值为 14.1, 9.0, 表明 CFME 与 GCE 上的印迹膜一样比非印迹膜对 XA 具有更好的识别响应,微印迹膜具有良好的印迹效果.即洗脱模板分子后的印迹膜上留下与其空间结构相匹配的识别孔穴,增加了传感膜上与 XA 相互作用的位点;而非印迹膜传感器不存在这样的特异性识别位点,使得印迹膜传感器键合 XA 的能力明显大于非印迹传感器,说明了印迹空穴同样在印迹微传感器对模板分子的选择性识别过程中起到关键性的作用.解离常数 k_d 反映解离反应的快慢, k_d 越小说明解离越慢,解离程度越低,代表膜与分子之间的亲和力越强.表 2 中印迹膜的 k_d 明显小于非印迹膜的,同样说明了印迹膜的特异性识别.

选择性的好坏是衡量传感器的一个非常重要的指标.为了进一步检验 MIP/CFME 微传感器的选择性,对 XA 的一系列结构相似物(次黄嘌呤(HXA)、鸟嘌呤(Gua)、尿酸(UA))和常见共存物(多巴胺(DA)、抗坏血酸(AA)、肌酐(Cr))在印迹微传感器上的响应特性进行研究,结果如图 8 所示.从图 8 可知:印迹微传感器对模板分子 XA 的浓度响应明显灵敏于其他对照物.

表 1 膜传感器对黄嘌呤的吸附动力学曲线拟合参数
Tab. 1 Values of adsorption kinetic model parameters of xanthine on membrane based sensors

膜传感器	R^2	I_{pm}/nA	k/min
MIP/GCE	0.992 2	2 360	0.71
NIP/GCE	0.890 0	1 470	10.80
MIP/CFME	0.901 2	0.28	0.24
NIP/CFMEb	0.842 3	0.14	3.21

表 2 膜传感器对黄嘌呤的等温吸附曲线拟合参数
Tab. 2 Values of adsorption isotherm model parameters of xanthine on membrane based sensors

膜传感器	R^2	I_{pm}/nA	$k_d/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
MIP/CFME	0.985 7	3.96	13.32
NIP/CFME	0.959 6	0.28	44.94
MIP/GCE	0.970 0	1 710	14.73
NIP/GCE	0.971 8	190	49.49

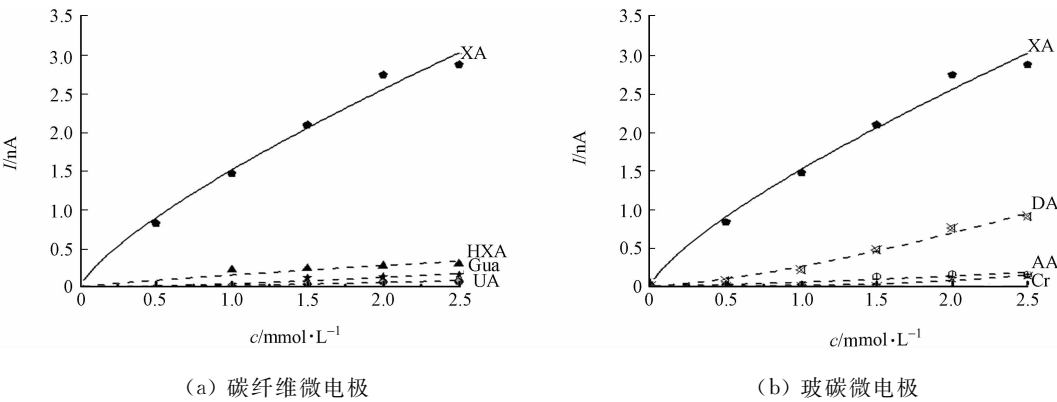


图 8 MIP/CFME 对不同底物分子的吸附等温曲线

Fig. 8 Adsorption isotherm curves of MIP/CFME to different substances

将上述等温吸附曲线按方程(2)进行拟合,拟合所得参数如表 3 所示.

表 3 黄嘌呤印迹微传感器对不同底物分子的等温吸附曲线参数

Tab. 3 Vaules of absorption isotherm model parameters of MIP/CFME to different substances

参数	XA	HXA	Gua	UA	DA	AA	Cr
I_{pm}/nA	8.03	0.87	0.71	0.21	3.34	1.46	0.46
$k_d/\mu mol \cdot L^{-1}$	4.22	7.73	8.01	8.64	5.73	9.12	9.39
R^2	0.991 7	0.833 4	0.922 5	0.891 6	0.933 9	0.644 8	0.876 1

从表 3 可知:在不同底物分子中,黄嘌呤印迹微传感器对模板分子 XA 的 k_d 值最小,亲和力最强.这是因为印迹微传感器对 XA 的识别不是作用力较弱的非特异吸附,而是作用力较强的特异识别作用.从拟合相关系数 R^2 来看,印迹微传感器对模板的拟合相关性最好,符合 Langmuir 吸附模型.这是因为 XA 的结构相比于其他 6 种对照物与印迹空穴最为匹配,更易于与 PPy 印迹膜的结合.印迹传感器上敏感膜对共存物 DA 也有较好的响应,有一定的亲和力,但其 I_{pm} 也仅是 XA 的 2/5,且 DA 的电话性优于 XA.由此说明,所制备的印迹微传感器对模板分子具有良好的特异识别性.

3 结束语

文中研究由分子印迹技术与微电极共同构建的吡咯印迹膜微传感器的电化学和热力学吸附特性.该印迹膜微传感器与常规印迹膜传感器一样符合 Langmuir 吸附模型,对模板分子黄嘌呤具有良好的特异识别性,且具有更快的动力学响应速度,可望应用于微量黄嘌呤的在体快速检测.

参考文献:

[1] SELVARAJU T, RAMARAJ R. Simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and serotonin at poly (phenosafranine) modified electrode[J]. Electrochemistry communications, 2003, 5(8): 667-672.

[2] KALIMUTHU P, JOHN S A. Simultaneous determination of epinephrine, uric acid and xanthine in the presence of ascorbic acid using an ultrathin polymer film of 5-amino-1,3,4-thiadiazole-2-thiol modified electrode[J]. Analytical Chimica Acta, 2009, 647(1): 97-103.

[3] 王长芹, 徐海红, 韩晓刚, 等. 活化玻碳电极直接测定全血中的尿酸[J]. 分析试验室, 2007, 26(1): 27-31.

[4] 张文, 应向阳. 黄嘌呤氧化酶微型生物传感器及其应用的研究[J]. 华东师范大学学报: 自然科学版, 1999(1): 61-66.

[5] 杨运发. 阳极微分脉冲伏安法测定黄嘌呤[J]. 分析化学, 1997, 25(11): 1311-1314.

[6] RUIZ-JIMÉNEZ J, MATA-GRANADOS J M, de CASTRO L, et al. On-line automatic SPE-CE coupling for the determination of biological markers in urine[J]. Electrophoresis, 2007, 28(5): 789-798.

[7] EJAZ A A, MU W, KANG D H, et al. Could uric acid have a role in acute renal failure[J]. Clinical Journal of the American Society of Nephrology, 2007, 2(1): 16-21.

[8] 崔小兵, 李伟, 张科卫, 等. HPLC 测定海龙中次黄嘌呤及黄嘌呤含量[J]. 中国海洋药物, 2006, 25(2): 58-60.

[9] 李忠琴, 邬敏辰, 许小平, 等. 偶联酶催化分光光度法测定黄嘌呤[J]. 化学通报, 2007, 70(7): 536-540.

[10] 刘磊, 周瑾艳, 楚慧, 等. 基于金沉积质量放大黄嘌呤压电传感技术研究[J]. 分析化学, 2009, 37(A3): 147.

- [11] JAOUDE M A, RANDON J. Chromatographic behavior of xanthenes in aqueous normal phase chromatography using titania stationary phase[J]. *Journal of Chromatography A*, 2011, 1218(5): 721-725.
- [12] SHIHABI Z K, HINSDALE M E, BLEYER A J. Xanthine analysis in biological fluids by capillary electrophoresis [J]. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 1995, 669(1): 163-169.
- [13] LIN Li, SONG Cai-yong, XIE Li-yun, et al. Electrochemical determination of xanthine and hypoxanthine in rat striatum with an acetylene black-dihexadecyl hydrogen phosphate composite film modified electrode by HPLC coupled with in vivo microdialysis[J]. *Microchimica Acta*, 2010, 170(1): 47-52.
- [14] SHAN Dan, WANG Yan-na, XUE Huai-guo, et al. Sensitive and selective xanthine amperometric sensors based on calcium carbonate nanoparticles[J]. *Sensors and Actuators B*, 2009, 136(2): 510-515.
- [15] DEVI R, THAKUR M, PUNDIR C S. Construction and application of an amperometric xanthine biosensor based on zinc oxide nanoparticles-polypyrrole composite film[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2011, 26(8): 3420-3426.
- [16] 周丰, 连惠婷, 曹学功, 等. 掺杂石墨烯分子印迹传感器对色氨酸的手性识别[J]. *华侨大学学报: 自然科学版*, 2012, 33(5): 528-534.
- [17] 孙兆辉, 连惠婷, 孙向英, 等. 石墨烯掺杂对分子印迹电化学传感器的增敏作用[J]. *华侨大学学报: 自然科学版*, 2012, 33(4): 401-407.
- [18] 姜忠义, 吴洪. 分子印迹技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 1.
- [19] PILETSKY S A, TURNER A P F. Electrochemical sensors based on molecularly imprinted polymers[J]. *Electroanalysis*, 2002, 14(5): 317-323.
- [20] BLANCO-LOPEZ M C, LOBO-CASTANON M J, MIRANDA-ORDIERES A J, et al. Electrochemical sensors based on molecularly imprinted polymers[J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2004, 23(1): 36-48.
- [21] 傅业伟, 郑建斌, 傅紫霞. 微伏安电极及其在活体分析中的应用[J]. *分析化学*, 1990, 18(5): 485-492.
- [22] CHANG H, CHUN H Y, YONG F L. Chemical synthesis of coral-like nanowires and nanowire networks of conducting polypyrrole[J]. *Synthetic Metals*, 2003, 139(2): 539-545.
- [23] ARIVAZHAGAN M, JEYAVIJAYAN S. FTIR and FT-Raman spectra, assignments, ab initio HF and DFT analysis of xanthine[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2011, 79(1): 161-168.
- [24] EFIMOV I, PAPADOPOULOU N D, MCLEAN K J, et al. The redox properties of ascorbate peroxidase[J]. *Biochemistry*, 2007, 46(27): 8017-8023.

Response Performance of Molecular Imprinted Polymers Based on Electrochemical Microsensor for Xanthine

WANG Xiao-li, LIAN Hui-ting, SUN Xiang-ying, LIU Bin

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

Abstract: A xanthine (XA) molecularly imprinted polymers (MIPs) were directly prepared on carbon fiber microelectrode (CFME), using pyrrole as function matrix, and xanthine as template molecule by cyclic voltammetry. The response performances of the electrochemical microsensor based on the prepared MIPs were investigated. The MIPs catalyzed the oxidation of XA on CFME which exhibit one electron reaction. Good affinity and excellent specific recognition to xanthine were observed from thermodynamic and kinetic adsorption experiments, and a kinetic constant of 0.24 shows a faster response to xanthine on MIPs/CFME compared to MIPs/GCE (0.71). An Imprinting factor of 14.1 were calculated out by isothermal curve fitting data on MIPs/CFME which is much higher than the recognition of the common coexistence and structural similarities, and shows a good imprinting effect closing to MIPs/GCE (9.0). Two linear response of oxidation peak current of xanthine to concentration were obtained, which ranges from $4.0-60 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ and $0.08-2.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ with a detection limit of $0.25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

Keywords: molecularly imprinted polymers; electrochemical sensor; xanthine; pyrrole; response performance; absorption performance