

酪氨酸分子印迹电化学传感器的制备及性能

陈丹, 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: 采用恒电位沉积法,制备以 *L*-酪氨酸为模板分子,壳聚糖为功能基体的分子印迹电化学传感器.实验结果表明:在优化的制备和测试条件下,所制得的印迹传感器对 *L*-酪氨酸具有良好的特异识别性能,印迹因子达 3.34;在 pH 值为 6.0,0.1 mol·L⁻¹ 的磷酸盐缓冲溶液中,*L*-酪氨酸的微分脉冲伏安氧化峰峰电流与浓度在 4.0×10⁻⁷~1.0×10⁻⁴ mol·L⁻¹ 范围内呈良好的线性关系,检出限为 2.0×10⁻⁷ mol·L⁻¹.将该传感器用于人血清中酪氨酸含量的测定,平均回收率为 89.50%~99.67%.

关键词: *L*-酪氨酸;分子印迹;电化学传感器;壳聚糖

中图分类号: O 657.1; TP 212.2

文献标志码: A

酪氨酸(Tyr)是肾上腺激素、去甲肾上腺激素和多巴胺等用于调节情绪的生物信号分子的重要母体之一.如果人体缺乏酪氨酸,就会出现代谢异常、智力低下、抑郁等疾病^[1-2],而过量酪氨酸摄入则会使姊妹染色单体发生改变^[3].因此,建立准确、灵敏测定酪氨酸的方法具有重要意义.检测酪氨酸的方法主要有高效液相色谱法^[4]、毛细管电泳法^[5]、气相色谱法^[6]、紫外可见吸光光度法^[7]、荧光光度法^[8-9]等.酪氨酸具有电活性,灵敏快速的电化学传感器法也常用于酪氨酸的检测^[10-15].这些方法虽然展现出较高的灵敏度及较好的选择性,但在对实际样品中酪氨酸的准确快速检测仍存在局限.分子印迹电化学传感器(MIECS)因兼具分子印迹技术(MIT)对目标分子的特异识别性^[16-19]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^[20-21],有望改善其他方法的不足之处,实现酪氨酸的便携、快速、准确测定.基于此,本文结合电化学的高灵敏度优势和分子印迹技术的高选择性特点,采用恒电位沉积得到复合物膜电极,选用适宜的洗脱剂洗脱去模板分子得到酪氨酸分子印迹电化学传感器,并优化其电沉积时间、洗脱剂、洗脱时间等实验条件.

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

1) 仪器. CHI660D 型电化学工作站,上海辰华仪器有限公司;三电极系统:玻碳电极及其修饰膜电极为工作电极,铂丝电极为对电极,饱和甘汞电极(SCE)为参比电极;S-4800 型扫描电子显微镜,日本日立公司;PARSTAT2273 型高级电化学工作站,美国 Princeton Applied Research 公司.

2) 试剂.壳聚糖(CTS),AR 级,德国 Sigma Aldrich;*DL*-丝氨酸(*DL*-Ser),BR 级,上海丽珠东风生物技术有限公司;*L*-酪氨酸(*L*-Tyr)、*L*-苯丙氨酸(*L*-phe)、*L*-色氨酸(*L*-Trp)、多巴胺(DA)、抗坏血酸(AA)、尿酸(UA),均为 BR 级,国药集团化学试剂有限公司;人血清(Human serum),华侨大学校医院提供;实验用水均为 Milli-Q 系统提供的超纯水,美国 Millipore 公司,18 MΩ·cm.

1.2 酪氨酸分子印迹电化学传感器的制作方法

将 0.350 0 g CTS 溶解于稀 HCl 中,以 NaOH 溶液调节 pH 值至 5.7,配制成 7.0 g·L⁻¹ CTS 溶

收稿日期: 2013-12-20

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, 2013J01047);中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(JB-ZR1215)

液. 将 0.018 2 g *L*-Tyr 溶解于 HCl 溶液中, 配制成 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ *L*-Tyr 溶液. 取 2.00 mL *L*-Tyr 与 8.00 mL CTS 搅拌混匀, 配制成含 $0.02 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ *L*-Tyr, $5.6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ CTS 的混合电沉积底液, 置于 4°C 冰箱中避光保存备用. 圆盘玻碳电极依次用不同粒径 Al_2O_3 泥浆仔细打磨抛光, 再依次经 1:1 HNO_3 、二次蒸馏水超声清洗各 3~5 min 至电极表面呈疏水镜面, 室温下自然晾干. 将以玻碳电极为工作电极的三电极系统移入上述配制的酪氨酸壳聚糖混合电沉积底液中, 在 -1.1 V (vs. SCE) 恒电位下沉积一定时间后, 取出工作电极, 并用少量二次蒸馏水淋洗后晾干, 即制备出壳聚糖-酪氨酸聚合膜修饰电极. 将电极置于 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 和无水乙醇的混合溶液中, 施加 $+1.0 \text{ V}$ 电压以洗脱去模板分子, 制备成保留有酪氨酸分子空穴的分子印迹电极 (MIP/GCE).

非印迹膜对照电极 (NIP/GCE) 的制备. 除电沉积液中不含模板分子外, 其他制备过程及条件与印迹电极的制备相同.

1.3 实验方法

1.3.1 电化学方法 以 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 值为 6.0 的磷酸盐缓冲溶液 (PBS) 为支持电解质, 采用微分脉冲伏安法 (DPV) 进行扫描, 考察工作电极在 $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ *L*-Tyr 溶液中的电化学响应. 电位扫描范围为 $0.4 \sim 1.0 \text{ V}$, 扫描速度为 $50 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$, 脉冲幅度为 0.05 V , 脉冲周期为 0.02 s , 脉冲宽度 0.05 s , 灵敏度为 1.0×10^{-6} . 记录 *L*-Tyr 在工作电极上的氧化峰电流与电位的关系曲线.

电化学阻抗谱 (EIS) 实验是在含有 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 电化学探针的 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KCl 溶液中进行, 频率范围为 $1 \times 10^{-2} \sim 1 \times 10^5 \text{ Hz}$.

1.3.2 扫描电镜表征 将 CTS, *L*-Tyr_{NIP} 和 *L*-Tyr_{MIP} 分别电沉积于金片基底表面后, 真空干燥 48 h. 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 *L*-Tyr 在复合膜修饰电极上的电化学响应

为了验证实验中酪氨酸分子能与壳聚糖一同沉积至电极表面并经 DPV 扫描溶出, 考察 CTS-Tyr 复合膜修饰电极与 CTS 修饰电极在 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 值为 6.0 的 PBS 溶液中的 DPV 响应, 结果如图 1 所示. 由图 1 可知: 相对于 CTS/GCE 的 DPV 曲线, CTS-Tyr/GCE 的 DPV 曲线在 0.762 V 处有一个较强的酪氨酸特征氧化峰; 而内插图为 MIP/GCE 在含 $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ *L*-Tyr 溶液中 DPV 曲线, 酪氨酸的氧化峰出现在 0.720 V . 两者氧化峰电位基本一致, 可确定酪氨酸分子可与壳聚糖共同沉积至电极表面, 并能通过 DPV 检测出来. 同时, 溶液中的酪氨酸氧化峰电位较之膜上的负移了 42 mV , 可知印迹电极表面印迹位点的存在更有利于 *L*-Tyr 在电极表面的氧化.

2.2 实验条件的优化

2.2.1 电沉积时间的选择 电沉积时间不同, 则印迹膜厚度不同, 膜厚度随沉积时间增加而变大. 不导电的印迹膜越薄, 目标分子通过界面的电荷转移阻碍越小, 则其对目标物质的响应越灵敏; 印迹膜越厚, 虽然灵敏度下降, 但是其膜上印迹位点增加, 印迹膜对目标物质结合量也增加. 采用恒电位沉积法, 得到电沉积时间不同的印迹膜电极. 根据洗脱模板分子后得到的印迹膜电极对同一浓度 *L*-Tyr 溶液的 DPV 响应峰电流大小, 来获得最佳电沉积时间. 实验结果表明: 电沉积时间小于 100 s 时, 随沉积时间增加, 响应电流逐渐增加; 沉积时间为 100 s 时, 响应峰电流达到最大; 而沉积时间大于 100 s 时, 由于圆盘电极表面积有限, 膜太厚不利于膜中心 *L*-Tyr 的进出, 影响模板分子的完全洗脱及再次识别, 所以响应峰电流反而减少. 因此, 100 s 为最佳电沉积时间.

2.2.2 洗脱剂中无水乙醇含量的选择 壳聚糖在水中溶胀度较大, 显著影响其分离选择性能, 因此必须先设法抑制其溶胀, 维持其印迹空穴的刚性结构^[22]. 研究表明: 壳聚糖具有良好的耐有机溶剂 (如乙醇) 性能^[23], 因此, 采用调节洗脱剂中乙醇的体积分数来调节壳聚糖膜的抗溶胀性能. 为了选得最佳的

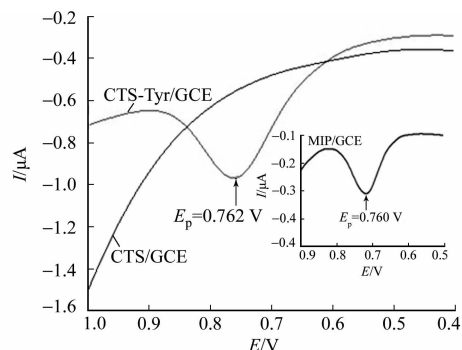


图 1 不同修饰电极的 DPV 电化学响应
Fig. 1 DPVs of different modified electrodes

洗脱剂,考察了 $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NaOH}$ 和不同体积分数的无水乙醇作为洗脱剂时,印迹膜电极对同一浓度 $L\text{-Tyr}$ 溶液的响应峰电流(I)与第一次测定电流(I_0)的百分比随时间的变化.结果表明:当洗脱剂中无水乙醇的体积分数为 0.5% 时,酪氨酸的电化学响应峰电流基本不变;而当无水乙醇的体积分数低于或超过 0.5% 时,响应峰电流在一定程度上会随着时间推移而增加或降低.由此可知,适量的乙醇增强了壳聚糖膜的致密性与稳定性,有利于印迹膜微观构型的维持及印迹膜与目标分子间相互作用的增强.

2.2.3 洗脱时间的选择 印迹电极的制备需经电位诱导洗脱除去膜上的模板分子,留下能与酪氨酸特异性结合的印迹位点.若洗脱时间太短,模板分子未完全洗脱,导致未洗脱掉的模板分子占据一定量的印迹位点,影响印迹膜电极对目标物质的再次识别;若洗脱时间太长,模板分子已完全洗脱,多余的电位诱导时间又会对膜的性质带来不必要的影响.因此,需选择最佳洗脱时间.

洗脱时间对洗脱效果的影响,如图 2 所示.由图 2 可知:当洗脱时间低于 500 s 时,随着洗脱时间增加, $L\text{-Tyr}$ 的 DPV 响应峰电流逐步降低,但还是有信号残留(曲线 a~d),说明未能将 $L\text{-Tyr}$ 从印迹膜上洗脱下来;当洗脱时间达到 500 s 后,电极在 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ pH }6.0\text{ PBS}$ 中的 DPV 曲线(曲线 e)上基本没有 $L\text{-Tyr}$ 的特征峰,表明洗脱剂已将 $L\text{-Tyr}$ 完全洗脱.后续试验中还发现,该印迹膜电极对 $L\text{-Tyr}$ 的响应稳定.因此,认为 500 s 为最适宜的洗脱时间.

将三电极系统在含 $0.02\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ L-Tyr}$ 的壳聚糖混合电沉积液中,于 -1.1 V 恒电位下沉积 100 s ,用少量二次水淋洗后晾干.然后,将制得的聚合膜修饰电极在 $+1.0\text{ V}$ 电位下,于 $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NaOH}$ 和 0.5% 无水乙醇混合液中,恒电位洗脱 500 s ,即制得对 $L\text{-Tyr}$ 具有良好电化学响应的酪氨酸分子印迹电极.

2.3 酪氨酸分子印迹传感器的修饰膜表征

2.3.1 SEM 表征 采用 SEM 表征可得印迹膜的形貌及微观结构,如图 3 所示.裸金电极表面呈平整

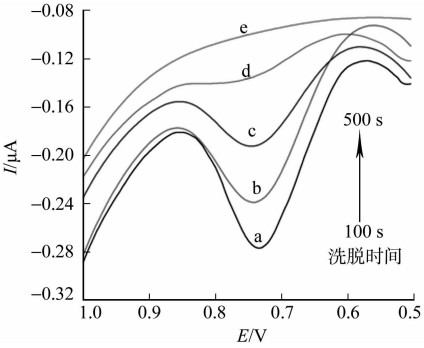
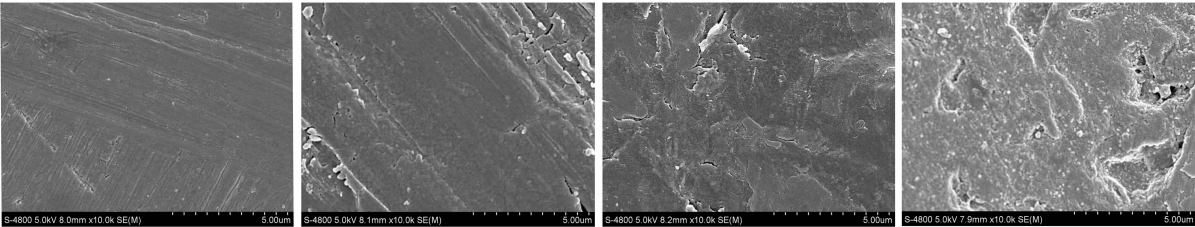


图 2 洗脱时间对洗脱效果的影响
Fig. 2 Impact of different elution time on the elution effect



(a) 裸金 (b) CTS/Au (c) CTS-Tyr/Au (d) MIP/Au
图 3 电极表面不同修饰膜的 SEM 图

Fig. 3 SEM images of Au disk surface modified with different materials

刚性的结构(图 3(a));电沉积上 CTS 后,其表面可以观察到致密的薄膜结构(图 3(b),(c));当 $L\text{-Tyr}$ 从复合物膜中洗脱后,印迹膜表面呈现疏松多孔结构(图 3(d)),有利于模板分子的进出.

2.3.2 EIS 表征 采用 EIS 研究电极表面与溶液之间的电荷转移,不同电极的交流阻抗图谱如图 4 所示.交流阻抗图由预示膜阻抗的高频区半圆(R_p)和溶液扩散电阻的低频区直线(R_s)组成.由图 4 可知:裸电极(曲线 a)的交流阻抗曲线近似为直线,表明此时 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 在裸电极上的反应主要受溶液扩散控制;当电极表面电沉积上 CTS(曲线 c)以及 CTS-Tyr 复合物(曲线 d)后,形成的复合物膜使 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 在电极界面的电荷转移受阻,产生膜阻抗, R_p 值分别增大至 $431.3, 470.5\ \Omega$;而随着酪氨酸的洗脱(曲线 b), R_p 降至 $304.2\ \Omega$,说明洗脱模板分子后,膜上留下的印迹空穴使得 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 到达电极表面变得容易.

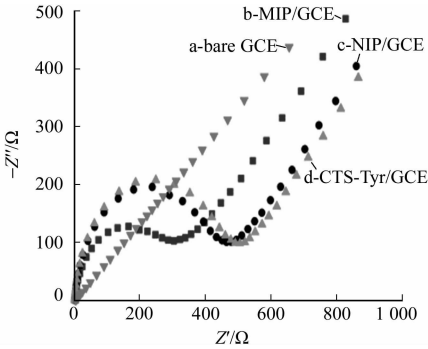


图 4 不同电极的交流阻抗图谱
Fig. 4 EIS of GCE modified with different material

2.4 酪氨酸分子印迹传感器的特异识别性能

2.4.1 抗干扰性能 为了考察所制备的印迹电极抗其他共存物质的干扰性能,参考了血清中几种物质的相对酪氨酸含量,模拟血清中各物质的含量相对于酪氨酸含量的比率,如表 1 所示.测定了当不同浓度倍数的共存物质存在下,印迹电极对浓度为 $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ $L\text{-Tyr}$ 的 DPV 响应峰电流与不存在干扰时的峰电流比值(I/I_0),如图 5 所示.

由图 5 可知:在远超过其理论相对含量的共存干扰存在下,所制得的印迹传感器对同等浓度酪氨酸的电化学响应峰电流变化在可接受的波动范围内.因此,该传感器可以应用于实际样品的检测.

表 1 抗干扰实验溶液配制表

Tab.1 Preparation of mixture solutions in the anti-interence experiment

共存物质	混合溶液/ $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	共存物质	混合溶液/ $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
Non	$10 \times 10^{-5} L\text{-Tyr}$	AA	a. Non+ 1.0×10^{-5} AA
			b. Non+ 5.0×10^{-5} AA
			c. Non+ 1.0×10^{-4} AA
DA		Phe	a. Non+ 1.0×10^{-8} DA
			b. Non+ 1.0×10^{-7} DA
			c. Non+ 1.0×10^{-6} DA
UA		Ser	a. Non+ 1.0×10^{-5} Phe
			b. Non+ 1.0×10^{-4} Phe
			c. Non+ 1.0×10^{-3} Phe
			a. Non+ 1.0×10^{-5} Ser
			b. Non+ 1.0×10^{-4} Ser
			c. Non+ 5.0×10^{-3} Ser

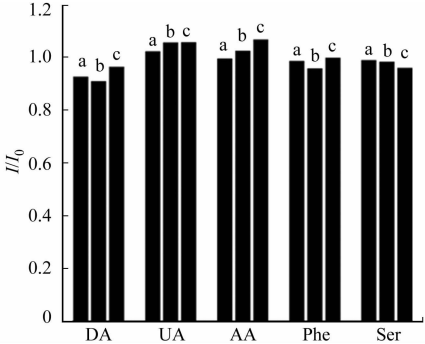


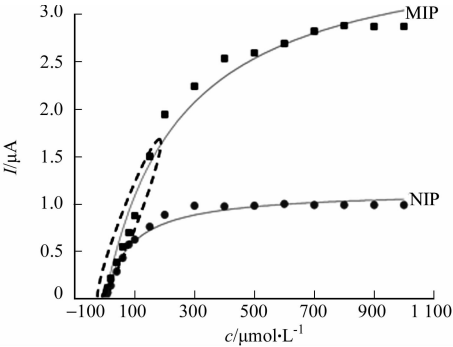
图 5 不同干扰物存在时,印迹传感器对酪氨酸的响应电流变化
Fig.5 I/I_0 of the MIP sensor for $L\text{-Tyr}$ in the presence of dirrerent co-existing substances in blood serum

2.4.2 吸附等温曲线研究及工作曲线 吸附等温线是评价印迹膜亲和性能的主要方法.为了模拟酪氨酸分子印迹电化学传感器吸附酪氨酸分子的等温吸附模型,参考 Langmuir 吸附模型^[26],提出一个适合本体系的拟合公式,即

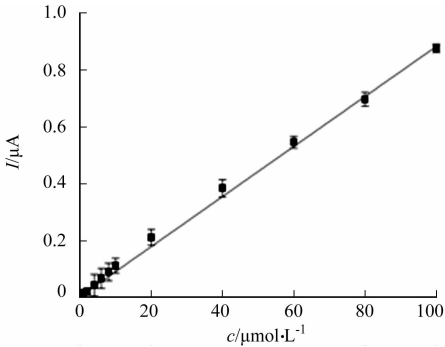
$$I_p = I_{pm} \cdot \frac{c}{k + c} \tag{1}$$

式(1)中: I_p 为分子印迹传感器吸附达到平衡时,印迹膜上的的平衡吸附不同浓度酪氨酸时的响应电流值, μA ; c 为吸附平衡时溶液中酪氨酸的浓度, $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; I_{pm} 为饱和吸附状态下的响应电流值, μA ; k 为吸附平衡解离常数, $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. 而印迹膜的印迹效果,可以用印迹因子 IF 表示,即 $IF = I_{pm}(\text{MIP}) / I_{pm}(\text{NIP})$. IF 越大,说明印迹膜的识别性强,印迹效果越好.

制备 NIP 和 MIP 两种电化学传感器,分别作其对 $L\text{-Tyr}$ 的等温吸附曲线,如图 6 所示.由图 6(a)可知: $L\text{-Tyr}$ 在印迹传感器上的 DPV 响应明显大于非印迹传感器.表 2 为平衡吸附等温曲线参数拟合表.从表 2 的拟合数据可知:饱和状态下的响应电流值 MIP 明显大于 NIP,IF 可达 3.34,表明印迹传感器对酪氨酸具有较好的识别性能.



(a) 等温吸附曲线



(b) 椭圆虚框内的数据线性拟合

图 6 印迹与非印迹传感器对酪氨酸分子的等温吸附曲线

Fig.6 Adsorption isotherm curves of $L\text{-Tyr}$ on MIP and NIP sensors

解离常数 k 反映解离反应的快慢, k 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 明显小于非印迹膜的,同样说明了印迹膜对 $L\text{-Tyr}$ 特异性识别.

由图 6(b)可知:酪氨酸印迹传感器对 L -Tyr 的响应峰电流在 $4.0\times10^{-7}\sim1.0\times10^{-4}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度范围,呈现良好的线性变化,线性方程为 $I_p=0.008\ 78\ c+0.003\ 52,R^2=0.999\ 1$,定量检出下限达 $2.0\times10^{-7}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

2.5 重现性和稳定性

将所制备的酪氨酸分子印迹电极重复洗脱,测定其对 $1.0\times10^{-5}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ L -Tyr 的电化学响应.结果表明:所得 I_p 的标准偏差为 $0.81\%(n=10)$,说明该传感器重现性较好.每天使用一次该传感器,连续使用一周后, I_p 变化为初始值的 99.76% ,说明该电化学传感器具有较好的稳定性.

2.6 血清样品分析及回收率的测定

自然界中的氨基酸和糖有左旋和右旋,但在生命体中,只有左旋的氨基酸和右旋的糖,即生命体中只有 L -型氨基酸和 D -型糖.

将印迹传感器用于血清样品中 L -Tyr 的测定,采用加标回收法测回收率,结果如表 3 所示.表 3 中: c_d 为样品测定值; c_a 为加入量; c_f 为测得量; η 为回收率.由表 3 可知:MIP/GCE 用于血清样品中 L -Tyr 含量的测定,平均回收率在 $89.50\%\sim99.67\%$ 之间.

表 2 平衡吸附等温曲线参数拟合表

Tab.2 Values of isotherm adsorption model parameters

传感器类型	R^2	$k/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$I_{pm}/\mu\text{A}$	IF
MIP/GCE	0.989 8	87.573 6	3.808 3	3.34
NIP/GCE	0.985 3	250.758 7	1.140 6	

表 3 血清样品中酪氨酸的测定

Tab.3 Determination of the tyrosine in human serum samples

样品	$c_d/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$c_a/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$c_f/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$\eta/\%$
1	52.13	10	9.20	92.00
		20	19.60	98.00
		30	29.75	99.17
2	46.35	10	9.20	92.00
		20	19.52	97.60
		30	29.90	99.67
3	62.83	10	8.95	89.50
		20	19.35	96.75
		30	29.73	99.10

3 结束语

采用分子印迹技术,借助功能基体壳聚糖的电沉积制备了 L -Tyr 分子印迹电极,通过 DPV 法考察其对 L -Tyr 的响应情况.在最佳制备条件下,所构建的印迹膜传感器对 L -Tyr 具有很好的灵敏度和特异识别性,同时也有较低的检测限和较好的重现性及稳定性.印迹膜传感器良好的抗干扰性能,使其成功地应用于血清中 L -Tyr 的测定.实验结果表明:其在临床诊断中,对血清酪氨酸的快捷、准确检测具有潜在的应用价值.

参考文献:

[1] CARLSSON A,LINDQVIST M,ARCH N S. Dependence of 5-HT and catecholamine synthesis on concentrations of precursor amino-acids in rat brain[J]. Pharmacology,1978,303(2):157-164.

[2] BOOMSMA F,MEIRACKER A,SCHALEKAMP M. Contrasting effects of peripheral decarboxylase inhibitors on plasma activity of aromatic- L -amino acid decarboxylase and semicarbazide-sensitive amine oxidase in Parkinson's disease[J]. Life Sci,1995,57(19):1753-1759.

[3] 邹忠梅,喻长远. 人体生命之源(氨基酸)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2000:76-77.

[4] GÖTZE L,HEGELE A,METZELDER S K,et al. Development and clinical application of a LC-MS/MS method for simultaneous determination of various tyrosine kinase inhibitors in human plasma[J]. Clin Chim Acta,2012,413(1/2):143-149.

[5] CHRISTOPHER D A,NICOLAS G,STANISLAV R S. Automated method for analysis of tryptophan and tyrosine metabolites using capillary electrophoresis with native fluorescence detection[J]. Anal Bioanal Chem. 2013,405(8): 2451-2459.

[6] DENG Chun-hui,DENG Yong-hui,WANG Bin,et al. Gas chromatography-mass spectrometry method for determination of phenylalanine and tyrosine in neonatal blood spots[J]. J Chromatogr B,2002,780(2):407-413.

[7] CHRASTIL J. Spectrophotometric determination of tryptophan and tyrosine in peptides and proteins based on new color reactions[J]. Anal Biochem,1986,158(2):443-446.

[8] 魏薇,王洪鉴,江崇球,等. 新型荧光试剂 1,5-二(4,6-二氯三嗪)-氨基萘与酪氨酸相互作用[J]. 分析化学,2007,35(12):1772-1775.

- [9] ZHU Xia-shi, XU Su-qin. Determination of *L*-tyrosine by β -cyclodextrin sensitized fluorescence quenching method[J]. Spectrochim Acta Part A, 2010, 77(3): 566-571.
- [10] SAUMYA V, PRATHISH K P, RAO T P. In situ copper oxide modified molecularly imprinted polypyrrole film based voltammetric sensor for selective recognition of tyrosine[J]. Talanta, 2011, 85(2): 1056-1062.
- [11] TANG Xiao-feng, LIU Yang, HOU Hao-qing, et al. Electrochemical determination of *L*-tryptophan, *L*-tyrosine and *L*-cysteine using electrospun carbon nanofibers modified electrode[J]. Talanta, 2010, 80(5): 2182-2186.
- [12] JIANG Lin, GU Su-qing, DING Ya-ping, et al. Amperometric sensor based on tricobalt tetroxide nanoparticles-graphene nanocomposite film modified glassy carbon electrode for determination of tyrosine[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2013, 107(1): 146-151.
- [13] SRIVASTAVA, ASHWINI K, GAICHORE R R. Simultaneous determination of *L*-tyrosine and caffeine based on their electrocatalytic oxidation at a 4-tert-butylcalix[6] arene-modified carbon paste electrode[J]. Journal of AOAC International, 2013, 96(1): 133-141.
- [14] GHOREISHI S M, BEHPOUR M, JAFARI N, et al. Electrochemical determination of tyrosine in the presence of dopamine and uric acid at the surface of gold nanoparticles modified carbon paste electrode[J]. J Chin Chem Soc, 2012, 59(8): 1015-1020.
- [15] LIU Xiao, LUO Li-qiang, DING Ya-ping, et al. Simultaneous determination of *L*-cysteine and *L*-tyrosine using Au-nanoparticles/poly-eriochrome black T film modified glassy carbon electrode[J]. Bioelectrochemistry, 2012, 86(2012): 38-45.
- [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): 401-406.
- [18] LIU Bin, WANG Xiao-li, LIAN Hui-ting, et al. Xanthine microsensor based on polypyrrole molecularly imprinted film modified carbon fiber microelectrodes[J]. Anal Biochem, 2013, 440(2): 220-226.
- [19] 姜忠义, 吴洪. 分子印迹技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 1-3.
- [20] PILLETISKY S A, TURNER A P F. Electrochemical sensors based on molecularly imprinted polymers[J]. Electroanalysis, 2002, 14(5): 317-323.
- [21] BKABCI-LOPEZ M C, LOBO-CASTANON M J, MIRANDA-ORDIERES A J, et al. Electrochemical sensors based on molecularly imprinted polymers[J]. TrAC Trends Anal Chem, 2004, 23(1): 36-48.
- [22] 农兰平, 黄敏, 庄玉萍. *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.
- [23] 吴洪, 赵艳艳, 喻应霞, 等. 分子印迹壳聚糖膜分离手性苯丙氨酸[J]. 功能高分子学报, 2007, 19/20(2): 262-266.

Preparation and Properties of Tyrosine Molecularly Imprinted Electrochemical Sensor

CHEN Dan, LIAN Hui-ting, SUN Xiang-ying, LIU Bin

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

Abstract: A novel molecularly imprinted electrochemical sensor was prepared with chitosan as functional matrix and *L*-tyrosine (*L*-Tyr) as template molecule by potentiostatic electrodeposition. According to our experimental results, the molecular imprinted polymer (MIP) sensor with an imprinted factor of 3.34 showed well sensitivity and good selectivity to *L*-Tyr among the structural similarities and co-existences. The oxidation peak currents of differential pulse voltammetry were linear to the concentration of *L*-Tyr in the range from 4.0×10^{-7} to 1.0×10^{-4} mol \cdot L $^{-1}$ with a detection limit of 2.0×10^{-7} mol \cdot L $^{-1}$. Furthermore, the recoveries ranged from 89.50% to 99.67% were obtained when the sensor was applied to real samples analysis.

Keywords: *L*-tyrosine; molecular imprinting; electrochemical sensor; chitosan