

白坚木皮醇分子印迹电化学传感器的构建

王芳^{1,2}, 刘子超¹, 张鑫^{2,3}, 郅浩然¹, 胡培毅¹, 白玉洁¹, 郭建峰^{1,2*}

(1. 中北大学化学工程与技术学院, 山西太原 030051) (2. 中国露酒植物提取与健康山西省重点实验室, 山西汾阳 032200) (3. 山西杏花村汾酒厂股份有限公司, 山西汾阳 032200)

摘要: 以白坚木皮醇为模板分子, 邻苯二胺为功能单体, 在纳米金/羧基化碳纳米管/壳聚糖修饰的玻碳电极表面采用电聚合合法合成分子印迹膜, 制备出白坚木皮醇分子印迹电化学传感器。扫描电镜观测传感器不同修饰阶段的形貌特征, 发现各修饰材料均修饰在电极表面。循环伏安法、差分脉冲伏安法分析其电化学特性, 表明纳米金和羧基化碳纳米管复合材料共同作用显著提高了电极分析的灵敏度。对分子印迹传感器的制备条件和检测条件进行了优化, 得出模板分子与功能单体的最佳摩尔比为 1:10, 最佳电聚合圈数为 25 圈, 最佳电聚合速度为 100 mV/s, 最适洗脱时间为 12 min, 检测最适吸附时间为 8 min, 吸附溶液最佳 pH 值为 7。在最优实验条件下, 分子印迹传感器的峰电流与白坚木皮醇的浓度呈良好的成线性关系, 具有较低检测限, 加标回收率在 97.44%~106.19% 之间。该法具有良好的选择性、重现性和稳定性, 拓展了电化学传感器在食品和医药领域的研究。

关键词: 白坚木皮醇; 电化学; 纳米材料; 分子印迹; 传感器

文章编号: 1673-9078(2023)08-296-303

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.8.0895

Construction of Molecularly Imprinted Electrochemical Sensor for Quebrachitol

WANG Fang^{1,2}, LIU Zichao¹, ZHANG Xin^{2,3}, QIE Haoran¹, HU Peiyi¹, BAI Yujie¹, GUO Jianfeng^{1,2*}

(1. School of Chemical Engineering and Technology, North University of China, Taiyuan 030051, China)

(2. Shanxi Provincial Key Laboratory of Chinese Liqueur Plant Extraction and Health, Fenyang 032200, China)

(3. Shanxi Xinghuacun Fenjiu Factory Co. Ltd., Fenyang 032200, China)

Abstract: A molecularly imprinted electrochemical sensor was prepared using quebrachitol as the template molecule and *o*-phenylenediamine as functional monomer via electropolymerization on the surface of a glassy carbon electrode modified with nanogold particles/carboxylated carbon nanotubes/chitosan to form a molecularly imprinted film. Scanning electron microscopy examination of the morphology characteristics of the sensor at different modification stages revealed that all the modification materials were modified on the electrode surface. The electrochemical properties of the sensor were studied by cyclic voltammetry and differential pulse voltammetry, and it was found that the combination of nanogold and carboxylated carbon nanotubes composites could significantly improve the sensitivity of the electrode. The preparation and detection conditions of the molecularly imprinted sensor were optimized, and the results showed that the optimal molar ratio of the template molecule to functional monomer was 1:10, the optimal number of electropolymerization cycles was 25 cycles, and the optimal electropolymerization speed was 100 mV/s, the optimal elution time was 12 min, the optimum adsorption time was 8 min, and the optimum pH of the adsorption solution was 7. Under the optimal experimental conditions, the peak current of the molecularly imprinted sensor had a good linear relationship with the concentration of quercetinol, the detection limit was relatively low, with the recovery rate for the spiked sample in the range of 97.44%~106.19%. The method has good selectivity, reproducibility and stability, which expands the research of

引文格式:

王芳, 刘子超, 张鑫, 等. 白坚木皮醇分子印迹电化学传感器的构建[J]. 现代食品科技, 2023, 39(8): 296-303

WANG Fang, LIU Zichao, ZHANG Xin, et al. Construction of molecularly imprinted electrochemical sensor for quebrachitol [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(8): 296-303

收稿日期: 2022-07-16

基金项目: 山西省重点研发计划项目 (201903D221068; 201803D421017)

作者简介: 王芳 (1976-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 天然产物提取与精制, E-mail: wangfang136@126.com

通讯作者: 郭建峰 (1975-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 天然产物提取与精制, E-mail: jianfengGuo@nuc.edu.cn

electrochemical sensors in the fields of food and medicine.

Key words: quebrachitol; electrochemistry; nanometer material; molecularly imprinted; sensor

白坚木皮醇,即左旋肌醇甲醚、2-甲氧基-L-(-)-肌醇(Quebrachitol, QCT),是一种广泛存在于植物中的天然光学活性肌醇,具有自由基清除、治疗骨质疏松、减少胃损伤和抗糖尿病等多种生物活性^[1-4]。作为手性合成起始材料,可广泛应用于制备多种有价值的旋光性肌醇衍生物,在生物、医药方面受到越来越多的关注^[5]。白坚木皮醇在自然界中有5种不同的几何同分异构体^[6],但它们的药效学、药动学和毒理学可能存在很大的差异。目前检测的方法包括气相色谱法、高效液相色谱法-二极管阵列法、高效液相色谱法-蒸发光散射法等^[7,8]。以上方法显示出高灵敏度和准确性,但也存在一些限制,如需要繁琐的提取和纯化步骤、昂贵的仪器和耗时的衍生化过程,以及不能分辨旋光性^[9,10]。因此,灵敏、方便且能特异性的区分左旋结构的白坚木皮醇的分析方法仍然是生物分析和生产提取的关键挑战。

电化学传感器具有快速响应、使用方便、仪器简单等优点,越来越多地用于痕量药物分析^[11-13]。已有多项研究应用石墨烯、多壁碳纳米管、纳米金粒等修饰玻碳电极用作开发痕量药物检测的传感器^[14-16]。其中,碳纳米管因具有优异的电化学行为、高化学稳定性、生物相容性和高比表面积而受到广泛关注^[17,18]。壳聚糖(CS)与多孔纳米材料的化学结合产生了新的特征和功能,可以控制最终材料的组成成分、尺寸大小、形态特征、表面积和表面化学,提高电化学传感技术纳米材料的电传感能力^[19]。纳米金粒子(AuNPs)可以通过放大电极表面、增强电活性物质之间的电子转移过程和催化电化学反应来提高电化学传感器的灵敏度^[20,21]。

分子印迹聚合物(Molecular Imprinting Polymers, MIPs)是一种通过在模板分子周围聚合功能单体和交联剂而开发的人工仿生抗体,与抗体、酶和适配体相比,它具有更经济、更稳定的优点^[22-25]。戴芳芳等^[26]以邻氨基酚为功能单体,以间苯氧基苯甲酸为模板分子,采用循环伏安法在玻碳电极(GCE)表面聚合形成可用于检测间苯氧基苯甲酸的分子印迹膜,结合电化学技术用于水中间苯氧基苯甲酸的检测研究,该传感器可30 s准确完成对环境中间苯氧基苯甲酸的检测。An等^[27]以甲基丙烯酸(MAA)为功能单体,三聚氰胺为模板分子,采用电聚合法在铁基有机骨架化合物MIL-53(Fe)和普鲁士蓝修饰的电极上合成了具有特定识别位点的三聚氰胺分子印迹聚合物薄膜。该MIP传感器具有良好的重现性和稳定性,可实现低成

本、高效地用于液态牛奶样品中三聚氰胺的实际分析。因此,本实验结合MIP和电化学传感器技术构建一种高度特异性且灵敏的方法来检测白坚木皮醇。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

CHI660E 电化学工作站,上海辰华仪器公司; ZEISS MERLIN Compact 扫描电子显微镜,德国蔡司公司; 410HT 超声波清洗机,深圳市洁拓超声波清洗设备有限公司; E27 红外干燥灯,深圳市光轩科技有限公司; 电化学测量采用三电极系统:工作电极为玻碳电极(GCE)(直径3 mm),对电极为铂电极,参比电极为Ag/AgCl电极(3 mol/L KCl)。

羧基化多壁碳纳米管,南京先丰纳米材料科技有限公司; 氯金酸(分析纯),国药集团化学试剂有限公司; 白坚木皮醇(色谱纯),上海安谱实验科技股份有限公司; 邻苯二胺(o-PD),上海易恩化学技术有限公司其他试剂均为分析纯,实验用水为去离子水。PBS缓冲溶液使用 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 配制,并使用 H_3PO_4 调节pH值。

1.2 实验方法

1.2.1 羧基化多壁碳纳米管/壳聚糖复合材料的制备

将5 mg 羧基化多壁碳纳米管(MWCNTs-COOH)细粉分散在含有0.5 mg CS的5 mL醋酸溶液(1%, V/V)中。样品超声处理120 min后,得到均质化羧基化多壁碳纳米管/壳聚糖纳米复合材料,4℃保存备用。

1.2.2 白坚木皮醇分子印迹电极及非印迹电极的制备

将玻碳电极采用粒径为1.0、0.5、0.3、0.05 μm 的氧化铝粉末打磨,再在乙醇和超纯水中超声洗涤后,用 N_2 吹干。取10 μL 羧基化多壁碳纳米管/CS纳米复合材料滴涂在电极表面,在红外灯下干燥后,制备得到MWCNTs-COOH/CS/GCE电极。将MWCNTs-COOH/CS/GCE电极置于0.5 mol/L H_2SO_4 的1 mmol/L氯金酸(HAuCl_4)溶液中,在-0.2~1.2 V的电位区间内进行循环伏安扫描,扫描速度为50 mV/s,扫描圈数为7圈,扫描完成后将电极使用乙醇和二次蒸馏水洗净,然后用氮气吹干后制得电极AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE。将该电极置于含有 1.5×10^{-5} mol/L邻

苯二胺 1×10^{-7} mol/L 白坚木皮醇和 1 mol/L KCl 的 0.1 mol/L pH 值 7 PBS 溶液中, 然后通过循环伏安法 (CV) 进行电聚合, 电位区间为 -0.1~1 V, 扫描速度为 100 mV/s, 扫描圈数为 25 圈, 在电极上形成白坚木皮醇印迹膜。将聚合后的电极置于甲醇-乙醇混合溶液 ($V/V=2/3$) 中洗脱 12 min, 去除模板分子, 即获得白坚木皮醇分子印迹电化学传感器 (MIPs/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE)。非印迹电化学传感器 (NIPs/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE) 按上述同样步骤制备, 但不加白坚木皮醇。

1.2.3 电化学测试

在含有作为支持电解质的 0.1 mol/L KCl 和作为氧化还原探针的 5×10^{-3} mol/L $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 溶液中对电极进行循环伏安法和差分脉冲伏安法 (DPV) 测试^[28], 实验电位范围分别为 0~1 V 和 -0.2~0.6 V, 扫描速率为 100 mV/s。

1.2.4 沙棘测试样品的预处理

沙棘样品的预处理参考文献^[7], 具体如下: 分别精密称取 2 g 干燥的沙棘叶和沙棘果肉, 进行适当破碎, 加入 30 mL 体积分数为 50% 的乙醇溶液, 在 50 °C 条件下超声 30 min, 抽滤分离过滤液留存, 定容后制得样品检测液。

1.3 数据统计分析

本文中设计的数据统计分析和绘图均采用 Origin 2019 软件完成。

2 结果与讨论

2.1 MIPs/AuNPs/MWCNTs/CS/GCE 的制备与表征

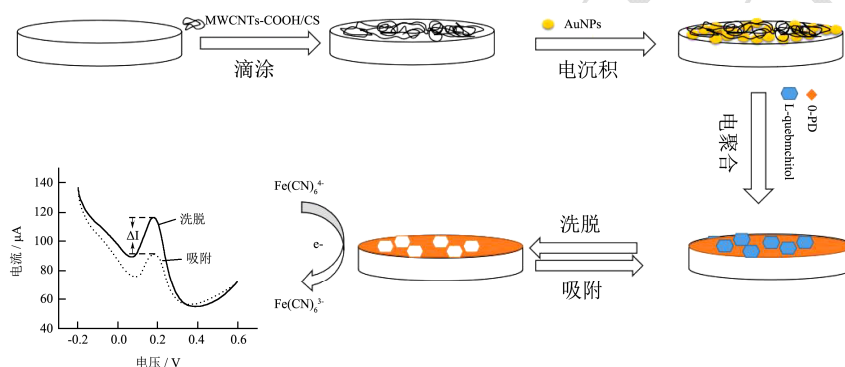


图 1 MIPs/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE 的制备流程图

Fig.1 Flow chart of preparation of MIPs/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE

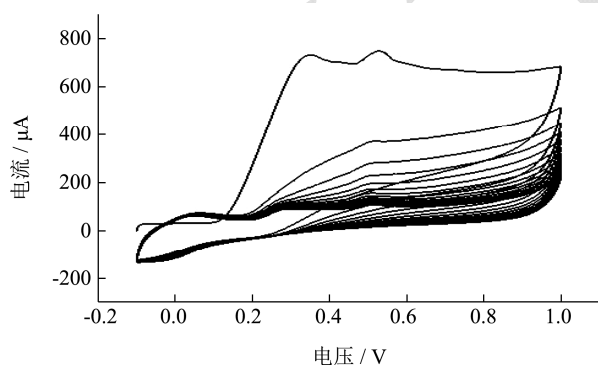


图 2 分子印迹膜在 AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE 上的电聚合过程

Fig.2 Electropolymerization process of molecularly imprinted membrane on AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE

图 1 展示了 MIPs/AuNPs/MWCNTs/CS/GCE 的制备流程, 可概括为以下三个方面: (1) 将 MWCNTs-COOH/CS 复合材料滴涂到电极表面后, 电沉积纳米金粒子, 制备可放大电化学信号并形成高表面积的敏感印迹平台; (2) 在修饰电极上电聚合分子印迹膜; (3) 用甲醇和乙醇组成的洗脱液除去白坚木皮醇模板分

子。在电聚合过程中发现, 在 0.35 和 0.52 V 附近出现邻苯二胺的氧化峰 (图 2), 随着聚合圈数的增加, AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE 电极在聚合溶液中的氧化峰电流越来越小, 直至没有氧化峰。其原因因为邻苯二胺聚合聚合物为非电活性物质, 随着白坚木皮醇分子印迹聚合膜的形成, 分子印迹聚合膜的厚度逐渐增加, 阻碍了修饰电极对电子的传递, 使得峰电流值逐渐减小, 同时也证明了白坚木皮醇分子印迹膜成功修饰在 AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE 电极上。

通过扫描电镜对修饰过程中电极的形貌进行表征分析, 其结果如图 3 所示。从 MWCNTs-COOH/CS/GCE 电极的 SEM 图 (图 3a) 可看出, MWCNTs-COOH 相互交织修饰在 GCE 表面, 其管状结构增加了传感器的比表面积; 电沉积纳米金后制备出 AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE 电极 (图 3b), 从图中可以看出在多壁碳纳米管的表面附着金纳米粒子 (AuNPs), 制备得到 AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE 电极。继续在该电极表面电聚合制备白坚木皮醇 MIP,

聚合后电极表面如图 3c 所示, 在 AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE 表面形成了粗糙的分子印迹聚合膜。

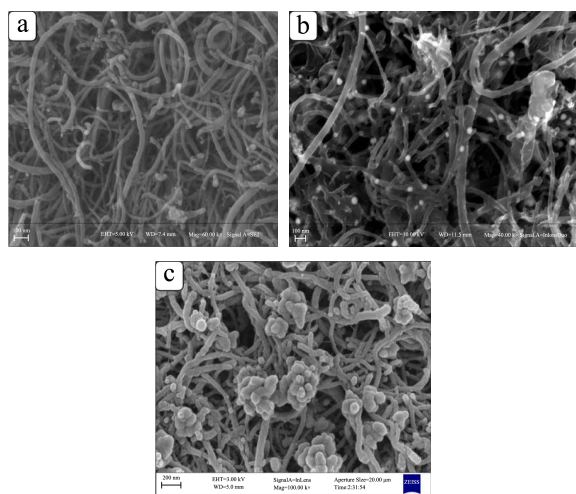


图 3 MWCNTs-COOH/CS/GCE (a), AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE (b) 及 MIP/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE (c) 的 SEM 图

Fig.3 SEM images of MWCNTs-COOH/CS/GCE (a), AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE (b) and MIP/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE (c)

2.2 MIPs/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE 的

电化学表征

采用 CV 和 DPV 法在 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 溶液中研究不同改性电极的电化学行为^[29]。在图 4A 中, 裸电极 GCE 显示了一对清晰对氧化还原峰 (曲线 a)。在修饰 MWCNTs-COOH/CS 复合材料后, 氧化峰电流值较裸电极增加了 $94 \mu\text{A}$ (曲线 b)。而在 MWCNTs-COOH/CS/GCE 电极上沉积 AuNPs 后, 其氧化峰电流值较 MWCNTs-COOH/CS/GCE 电极增加了 $92 \mu\text{A}$ (曲线 c), 表明修饰的二种纳米材料均显著提高了电极的导电性能。通过电聚合在电极表面修饰分子印迹聚合膜后, 电极的氧化峰电流明显降低 (曲线 d)。因为 MIP 是绝缘材料, 阻碍了氧化还原探针与电极表面之间的电子转移。在去除模板 QCT 分子后, 氧化还原峰电流再次增加 (曲线 e)。说明去除模板 QCT 分子后形成了模板形状的印迹位点, 使氧化还原探针 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 能够通过形成的模板孔隙进入电极表面, 从而使氧化还原峰电流值增大。当 MIP/MWCNTs-COOH/CS/GCE 浸入含有 QCT 的溶液吸附一段时间后, 印迹腔可以选择性地重新结合 QCT 分子, 导致电子转移通道堵塞, 氧化还原峰电流再次下降 (曲线 f)。图 4B 通过 DPV 法研究不同修饰的电极得到了相同的结果。

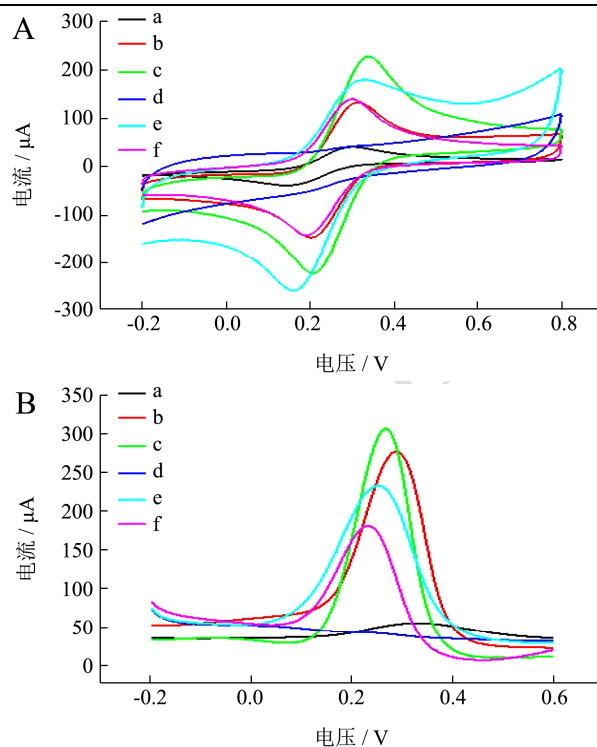
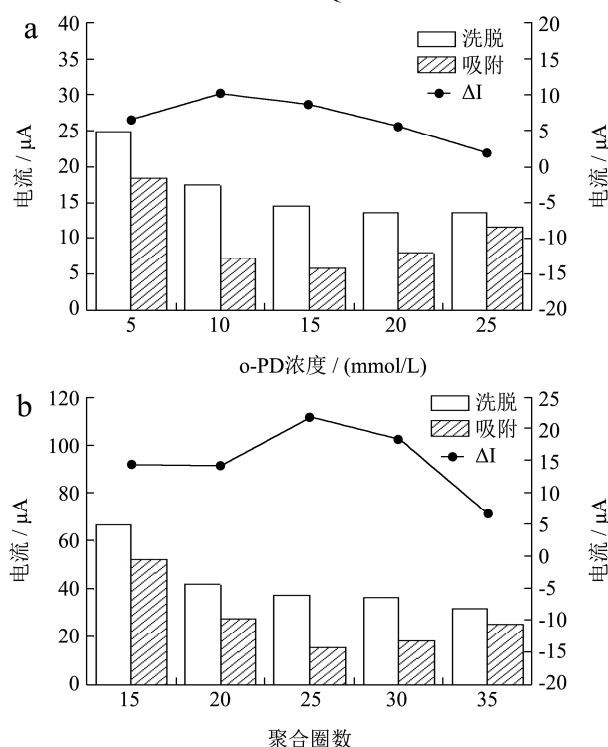


图 4 不同修饰电极的循环伏安图 (A) 和差分脉冲伏安图 (B)

Fig.4 Cyclic voltammograms (A) and differential pulse voltammograms (B) of different modified electrodes

注: (a) 裸电极 GCE; (b) MWCNTs-COOH/CS/GCE; (c) AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE; (d) MIP/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE 模板洗脱前; (e) MIP/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE 模板洗脱后; (f) MIP/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE 吸附 $1 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ QCT。



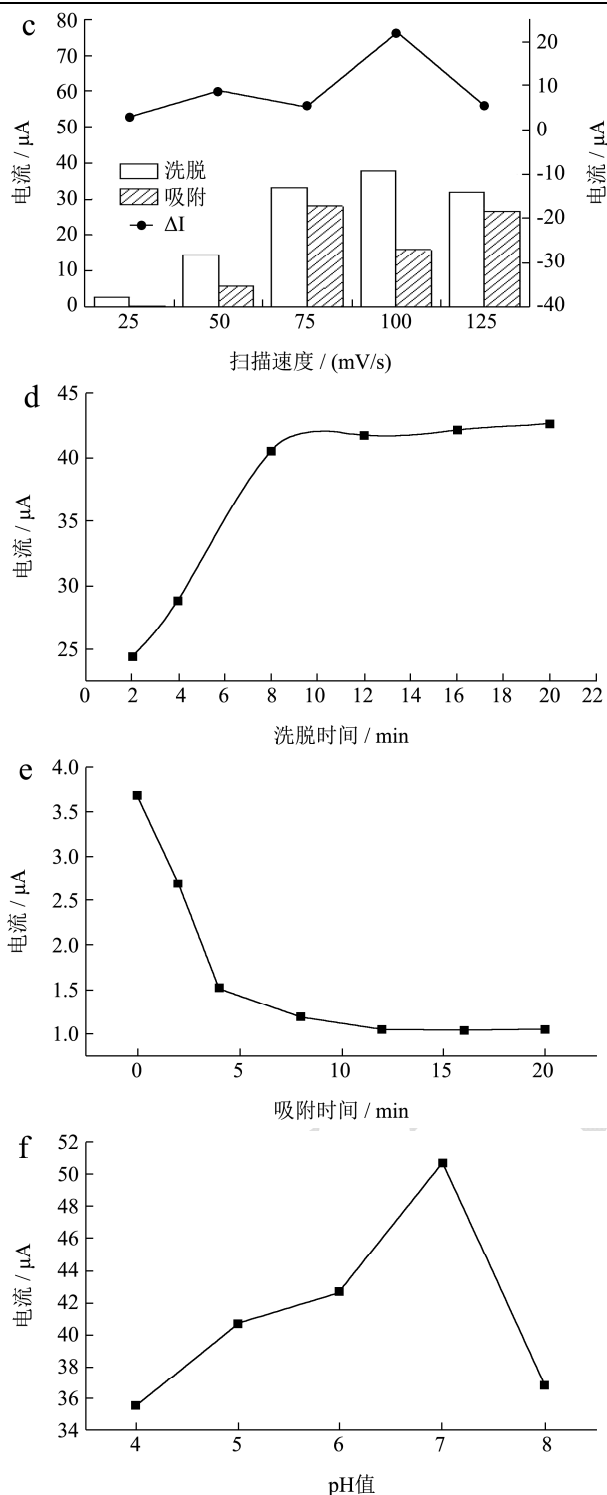


图5 实验条件的优化

Fig.5 Optimization of experimental conditions

注: (a) MIP 合成最优比例; (b) 扫描周期; (c) 扫描速度; (d) 洗脱时间; (e) 吸附时间; (f) 最佳 pH 值。

2.3 分子印迹传感器制备条件的优化

定义一个 ΔI 值, 即洗脱后 MIPs/AuNPs/MWCNTs/CS/GCE 的峰电流值减去同一电极吸附 $1 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$ 白坚木皮醇的峰电流值, 以此表示 MIPs/AuNPs/

MWCNTs/CS/GCE 的吸附能力。模板分子和功能单体的摩尔比会影响分子印迹膜的有效识别位点的数量, 进而决定了 MIP 传感器的灵敏度^[29]。选择 o-PD 作为功能单体, 模板分子白坚木皮醇的浓度定为 $1 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$, 研究了模板分子和功能单体的摩尔比、扫描周期、扫描速率、洗脱时间、吸附时间以及检测 pH 值对 ΔI 的影响, 结果见图 5。图 5a 显示了模板分子与功能单体对白坚木皮醇印迹效率的影响, 结果表明其最适摩尔比为 1:10。扫描周期会影响 MIP 膜的厚度, 过薄的 MIP 膜携带的印迹位点较少, 而过厚的 MIP 膜可能包含过深的 MIP 网络的印迹位点, 从而阻碍模板白坚木皮醇分子的抵达识别位点。图 5b 显示了 MIP 电聚合扫描周期对白坚木皮醇印迹效率的影响。当扫描周期为 25 时获得最大 ΔI 值。MIP 电聚合扫描速率会影响 MIP 薄膜的致密度, 并进一步影响白坚木皮醇向印迹位点的传质过程。从图 5c 中可以看出, 当扫描速率为 100 mV/s 时, 得到最高的 ΔI 值。

白坚木皮醇模板分子的去除是通过将分子印迹电极置于甲醇-乙醇混合溶液 ($V/V=2/3$) 中洗脱一定时间。洗脱时间的优化结果如图 5d 所示, 随着时间的增加, ΔI 值逐渐增大, 到 12 min 后 ΔI 值趋于稳定, 所以选择的最佳洗脱时间为 12 min。吸附时间的优化如图 5e 所示, 随着富集时间的延长, 8 min 后趋于稳定。吸附溶液的 pH 也是影响分子印迹电化学传感器对 QCT 检测的关键因素之一, 实验结果如图 5f 所示, 当吸附溶液的 pH 值为 7 时, 峰电流值最大。

2.4 MIPs/AuNPs/MWCNTs/CS/GCE 传感器的

峰电流和白坚木皮醇浓度的关系

在最佳实验条件下, 将 MIPs/AuNPs/MWCNTs/CS/GCE 置于不同浓度的白坚木皮醇溶液孵育 12 min 后, 在含 0.1 mol/L KCl 的 $5.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 溶液中进行 DPV 测试。从图 6a 中可以看出, 随着白坚木皮醇浓度的增加, 电流响应逐渐变小。原因是更多的白坚木皮醇分子占据了印迹腔并阻碍了 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 的电子转移。为探究白坚木皮醇浓度与分子印迹电化学传感器的峰电流关系, 定义一个 ΔI 值, 即洗脱后 MIP/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE 的峰电流值减去同一电极吸附不同浓度白坚木皮醇的峰电流值。图 6b 显示随着白坚木皮醇的浓度从 $1.0 \times 10^{-9} \text{ mol/L}$ 增大到 $1.0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$, ΔI 值逐渐增大, 二者有着良好线性关系, 拟合的线性回归方程为:

$$\Delta I = 12.93c + 4.605, R^2 = 0.996 \quad (1)$$

式中:

ΔI ——洗脱后 MIP/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GC 的峰电流与同一电极吸附不同浓度白坚木皮醇后的峰电流的差值, μA ;
 c ——白坚木皮醇浓度, $\mu\text{mol/L}$ 。

公式 (1) 的 $R^2=0.996$, 传感器检测限低至 $1.6\times 10^{-10}\text{ mol/L}$ ($S/N=3$)。在相同条件下, 作为对照, 使用非分子印迹电化学传感器进行检测, 结果表明, NIP/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE 传感器的线性回归方程斜率较小, 线性回归方程为公式 (2):

$$\Delta I=1.35c+2.208, R^2=0.987 \quad (2)$$

式中:

ΔI ——洗脱后 NIP/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE 的峰电流与同一电极吸附不同浓度白坚木皮醇后的峰电流的差值, μA ;
 c ——白坚木皮醇浓度, $\mu\text{mol/L}$ 。

以上结果表明, 与非分子印迹传感器相比, 分子印迹传感器对白坚木皮醇的响应值更高, 因而检测灵敏性更高。

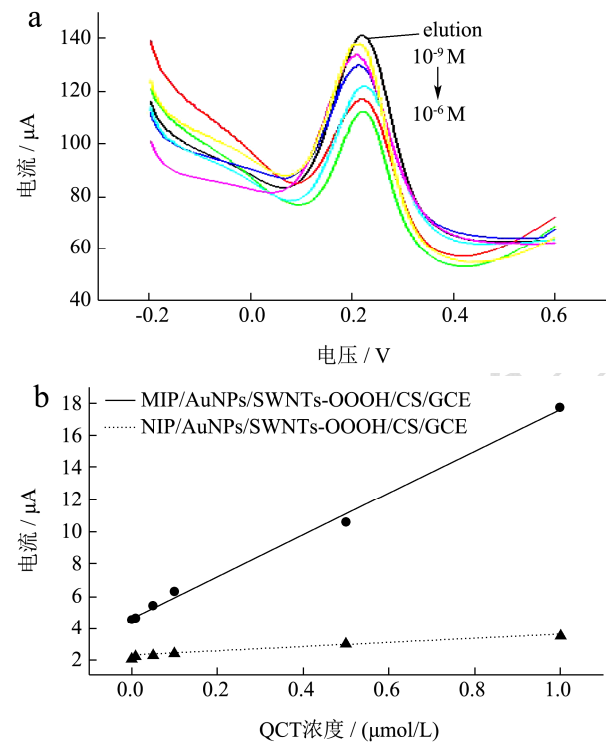


图6 MIP/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE 吸附不同浓度白坚木皮醇后的 DPV 响应图 (a); MIP/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE 和 NIP/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE 吸附不同浓度白坚木皮醇前后峰电流值差值 ΔI 与白坚木皮醇浓度之间的线性关系 (b)

Fig.6 DPV response graph of MIP/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE after adsorption of quercetin at different concentrations (a); MIP/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE and NIP/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS The linear relationship between the difference ΔI of peak current values before and after adsorption of different concentrations of quercetin by/GCE and the concentration of quercetin (b)

2.5 MIPs/AuNPs/MWCNTs/CS/GCE 的选择性、重现性和稳定性分析

性、重现性和稳定性分析

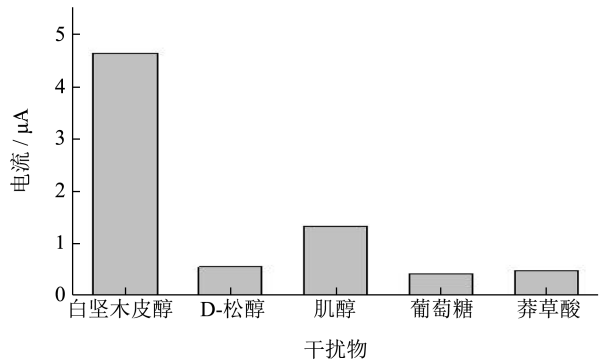


图7 使用差分脉冲伏安法检测 $1.0\times 10^{-8}\text{ mol/L}$ 白坚木皮醇及其结构类似物的电流响应图

Fig.7 The current response of $1.0\times 10^{-8}\text{ mol/L}$ quercetin and its structural analogs detected by differential pulse voltammetry

表1 5 MIP 支/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE 传感器检测 QCT 的结果

Table 1 5 MIP branch/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE sensor detection results of QCT

电极编号	峰电流/ μA	RSD
1	4.56	
2	4.59	
3	4.53	4.43%
4	4.62	
5	4.51	

表2 连续7 d 日间 DPV 检测结果

Table 2 Daytime DPV detection results for 7 consecutive days

检测时间/d	峰电流/ μA	RSD
1	4.56	
2	4.54	
3	4.56	
4	4.51	5.44%
5	4.49	
6	4.47	
7	4.41	

为了评估 MIP/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE 传感器的选择性, 通过 DPV 法检测相同浓度条件下的结构类似物: 莽草酸、葡萄糖、肌醇和 D-松醇的电流响应值^[30,31]。图 7 展示了 MIP/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE 浸没在不同干扰物质的溶液中的 ΔI 值。与白坚木皮醇的响应峰电流相比, 干扰物的响应峰电流分别降低了 87.93% (D-松醇)、70.91% (肌醇)、90.73% (葡萄糖)、89.43% (莽草酸), 表明该传感器

对白坚木皮醇分子具有良好的选择性, 其原因为 AuNPs/MWCNTs-COOH 纳米复合材料提供了一个大的表面印迹平台和具有与白坚木皮醇的结构和功能相匹配的高比例印迹空腔。

分子印迹传感器的重现性和稳定性是评价其实用性的重要指标。使用相同的方法制备 5 支修饰电极并分别用来检测 5 个含有 1×10^{-8} mol/L QCT 的样品, 相对标准偏差为 4.43% (表 1)。连续 7 d 检测日间 DPV 值, 每次均在室温下重复检测含 1×10^{-8} mol/L QCT 的样品, 相对标准偏差为 5.44% (表 2)。此外, 传感器存储寿命也是需要考虑的一个重要参数。将 MIP/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE 传感器置于

PBS (pH 值 7.0) 溶液中, 4 °C 保存 30 d, 该传感器仍保持原始响应的 94.3%。从以上结果可知该传感器具有良好的重现性和稳定性。

2.6 沙棘实际样品的检测

为了评估 MIP/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE 传感器的实用性, 将该传感器用于沙棘叶 (干叶) 和沙棘果 (鲜果) 中白坚木皮醇的检测, 检测结果如表 3 所示, 沙棘叶和沙棘果检测液中 QCT 加标回收率在 97.44%~106.19%之间, 沙棘叶和沙棘果 QCT 含量分别为 61.23 mg/g 和 5.3 mg/g, 与文献^[32]报道一致。以上结果表明传感器在实际应用中有着良好的应用前景。

表 3 MIP/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE 传感器对实际样品中 QCT 的检测结果

Table 3 Detection results of QCT in real samples by MIP/AuNPs/MWCNTs-COOH/CS/GCE sensor

样品编号	加入值/(μ mol/L)	理论值/(μ mol/L)	检测值/(μ mol/L)	回收率/%
沙棘叶检测液	0	0	0.46	-
	0.10	0.56	0.55	98.39
	0.20	0.66	0.69	104.68
沙棘果检测液	0	0	0.41	-
	0.10	0.42	0.44	106.19
	0.20	0.43	0.41	97.44

3 结论

本研究中, 构建了一种基于纳米金、羧基化多壁碳纳米管和壳聚糖的新型分子印迹电化学传感器平台, 具有较大的比表面积以及优良的传感器性能。优化了实验条件, 得出模板分子与功能单体的最佳摩尔比为 1:10, 最佳电聚合圈数为 25 圈, 最佳电聚合速度为 100 mV/s, 最适洗脱时间为 12 min, 最适吸附时间为 8 min, 构建出白坚木皮醇分子印迹电化学传感器。在此基础上, 采用简便的电聚合法通过优化制备条件来控制分子印迹膜的厚度, 合成白坚木皮醇分子印迹聚合物, 获得了高特异性分子识别位点。该传感器在 1×10^{-6} ~ 1×10^{-9} mol/L 范围内白坚木皮醇的浓度与响应电流呈良好的线性关系, 检测限低至 1.6×10^{-10} mol/L, 为白坚木皮醇的测定和分子印迹电化学传感器在生物医药分析领域的应用开发了一种新途径。

参考文献

[1] Jeevitha D, Sadasivam K, Praveena R. DFT studies on role of methoxy group in radical scavenging ability of quebrachitol and viscumitol [J]. Indian Journal of Chemistry, Section A. Inorganic, Physical, Theoretical & Analytical, 2017, 56(5): 469-478.

[2] Yodthong T, Kedjarune-Leggat U, Smythe C, et al.

l-Quebrachitol promotes the proliferation, differentiation, and mineralization of MC3T3-E1 cells: Involvement of the BMP-2/Runx2/MAPK/Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2018, 23(12):3086.

[3] T M de Olinda, T L G Lemos, L L Machado, et al. Quebrachitol-induced gastroprotection against acute gastric lesions: Role of prostaglandins, nitric oxide and K⁺/ATP channels [J]. Phytomedicine, 2008, 15(5): 327-333.

[4] Xue Y, Miao Q, Zhao A, et al. Effects of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) juice and L-quebrachitol on type 2 diabetes mellitus in db/db mice [J]. Journal of Functional Foods, 2015, 16: 223-233.

[5] Wang D, Zhang S, Chang Z, et al. Quebrachitol: Global status and basic research [J]. Natural Products and Bioprospecting, 2017, 7(1): 113-122.

[6] 杜垚.荔枝中白坚木皮醇的提取、分离和纯化研究[D].广州: 华南农业大学, 2018.

[7] 陶翠,王捷,姚玉军,等.沙棘中白雀木醇表征方法及其分布规律[J].北京林业大学学报, 2020, 42(1): 121-126.

[8] Xue M, Chen J, Dong X M, et al. Analysis of L-quebrachitol from the waste water of rubber latex serum using hydrophilic interaction chromatography and evaporative light scattering detector method [J]. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 2014, 38(1): 92-96.

- [9] 张尧,桂红星,李积华,等.亲水色谱-蒸发光散射检测器定量分析白坚木皮醇含量[J].分析科学学报,2015,31(3):442-444.
- [10] Li Z Y, Xu H, Wu D, et al. Electrochemical chiral recognition of tryptophan isomers based on nonionic surfactant-assisted molecular imprinting sol-gel silica [J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2018, 11(3): 2840-2848.
- [11] Zabihollahpoor A, Rahimnejad M, Najafpour-Darzi G, et al. Recent advances in electroanalytical methods for the therapeutic monitoring of antiepileptic drugs: A comprehensive review [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2020, 188(1): 113394.
- [12] 彭爱红,彭家伟,陈晓梅.可再生电化学传感器同步检测贝类中痕量铅和镉[J].中国食品学报,2021,21(11):252-260.
- [13] Bollella P, Fusco G, Tortolini C, et al. Beyond graphene: Electrochemical sensors and biosensors for biomarkers detection [J]. Biosensors & Bioelectronics, 2017, 89(1): 152-166.
- [14] Alhans R, Singh A, Singhal C, et al. Comparative analysis of single-walled and multi-walled carbon nanotubes for electrochemical sensing of glucose on gold printed circuit boards [J]. Mater SciEng C Mater BiolAppl, 2018, 90(9): 273-279.
- [15] Zhongc J, Yang B, Jiangx X, et al. Current progress of nanomaterials in molecularly imprinted electrochemical sensing [J]. Critical Reviews in Analytical Chemistry, 2018, 48(1): 15-32.
- [16] Jones C P, Jurkschat K, Crossley A, et al. Multi-walled carbon nanotube modified basal plane pyrolytic graphite electrodes: Exploring heterogeneity, electro-catalysis and highlighting batch to batch variation [J]. Journal of the Iranian Chemical Society, 2008, 5(2): 279-285.
- [17] Yu W L, Tang Y W, Sang Y X, et al. Preparation of a carboxylated single-walled carbon-nanotube-chitosan functional layer and its application to a molecularly imprinted electrochemical sensor to quantify semicarbazide [J]. Food Chemistry, 2020, 333: 127524.
- [18] 赵玲钰,秦思楠,高林,等.磺胺嘧啶分子印迹电化学传感器的制备及其快速检测食品中磺胺嘧啶药物残留[J].食品科学,2018,39(22):319-327.
- [19] Qiu C C, Dong X Q, Ma H Y, et al. Electrochemical behavior and amperometric detection of 4-chlorophenol on nano-Au thin films modified glassy carbon electrode [J]. Electroanalysis, 2012, 24(5): 1201-1206.
- [20] Yu C H, Li L, Ding Y P, et al. A sensitive molecularly imprinted electrochemical aptasensor for highly specific determination of melamine [J]. Food Chemistry, 2021, 363: 130202.
- [21] Xu W Z, Wang Q Q, Huang W H, et al. Construction of a novel electrochemical sensor based on molecularly imprinted polymers for the selective determination of chlorpyrifos in real samples [J]. Journal of Separation Science, 2017, 40(24): 4839-4846.
- [22] Yang S M, Li L L, Zhang X R, et al. Electrochemical determination of thrombin with molecularly imprinted polymers and multiwalled carbon nanotubes [J]. Canadian Journal of Chemistry, 2017, 95(7): 799-805.
- [23] 苏立强,姜国强,于亭亭,等.基于多壁碳纳米管表面印迹的己烯雌酚分子印迹电化学传感器制备及应用[J].环境化学,2020,39(12):3511-3516.
- [24] Chen H C, Luo K, Zhou Q, et al. L-lysine-structure-directed MIL-88A and its application in electrochemical sensing of cholyglycine via molecular imprinting technique [J]. Microchemical Journal, 2020, 158: 105249.
- [25] 王成,郭建良,饶国宁.三硝基甲苯分子印迹电化学传感器的制备和应用[J].化工进展,2020,39(9):3757-3765.
- [26] 戴芳芳,周瑶,马良,等.间苯氧基苯甲酸分子印迹膜的电化学聚合制备及其应用[J].食品科学,2015,36(20):232-238.
- [27] An J X, Li L, Ding Y P, et al. A novel molecularly imprinted electrochemical sensor based on Prussian blue analogue generated by iron metal organic frameworks for highly sensitive detection of melamine [J]. Electrochimica Acta, 2019, 326: 134946.
- [28] Ding S, Lyu Z, Li S, et al. Molecularly imprinted polypyrrole nanotubes based electrochemical sensor for glyphosate detection [J]. Biosensors & Bioelectronics, 2021, 191(12): 113434.
- [29] Gao B W, Liang Z S, Han D X, et al. Molecularly imprinted photo-electrochemical sensor for hemoglobin detection based on titanium dioxide nanotube arrays loaded with CdS quantum dots [J]. Talanta, 2021, 224: 121924.
- [30] 张尧.白坚木皮醇表面印迹材料的制备及其识别特性研究[D].太原:中北大学,2015.
- [31] 王瑜.利用分子印迹技术从天然产物中提取极性有效成分[D].上海:华东理工大学,2011.
- [32] 黄亮亮,吴子辰,王惠聪.植物中白坚木皮醇的分布,生物合成和生物学功能研究进展[J].植物生理学报,2021,57(5): 983-992.