

氧化石墨烯修饰 再生碳纤维微电极的新方法

程寒^{1,2} 李元¹ 李梅¹ 戴梦¹ 谷飞¹ 鲍昌昊¹ 黄蓉萍¹ 马静芳¹

(1 中南民族大学 药学院,武汉 430074;2 民族药国家实验教学示范中心 中南民族大学,武汉 430074)

摘要 采用电沉积法将氧化石墨烯修饰到已被五羟色胺(5-HT)毒化的碳纤维电极表面制得再生碳纤维电极,用循环伏安法(CV)和差分脉冲伏安法(DPV)研究了多巴胺(DA)在该再生电极上的电化学反应,并优化了氧化石墨烯的电沉积时间及电压。结果表明:在 20 mmol/L pH 为 7.2 的 Tris-HCl 缓冲溶液中,该再生电极对多巴胺、去甲肾上腺素具有良好的电学响应。在优化条件下,利用 DPV 测定,DA 的氧化峰电流与其在 0.1~100 $\mu\text{mol/L}$ 呈良好的线性关系,检测下限达 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 。

关键词 碳纤维电极;五羟色胺;氧化石墨烯;再生电极;多巴胺

中图分类号 O657.1 文献标识码 A 文章编号 1672-4321(2018)01-0020-05

A New Method for Regeneration of Carbon Fiber Microelectrodes by Modification with Graphene Oxide

Cheng Han^{1,2}, Li Yuan¹, Li Mei¹, Dai Meng¹, Gu Fei¹, Bao Changhao¹, Huang Rongping¹, Ma Jingfang¹

(1 College of Pharmaceutical Sciences, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074, China; 2 National Demonstration Center for Experimental Ethnopharmacology Education, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074, China)

Abstract Deteriorated carbon fiber microelectrodes was regenerated by graphene oxide using electrodeposition method, and the electrochemical behaviors of dopamine (DA) solution on the regenerated electrode was investigated by cyclic voltammetry (CV) and differential pulse voltammetry (DPV). The electrodeposition time and voltage of graphene oxide were also optimized. The results showed that in pH 7.2, 20 mmol/L Tris-HCl buffer solution, the regenerated electrode showed excellent electrochemical performance for DA and NE. Under the optimized condition, the concentration of DA showed good linear relationships with the oxidation peak current in the range of 0.1~100 $\mu\text{mol/L}$, with the limits of detection of 0.1 $\mu\text{mol/L}$.

Keywords carbon fiber microelectrodes; 5-hydroxytryptamine; graphene oxide; regeneration electrode; dopamine

五羟色胺(5-HT)是一种重要的杂环胺神经递质,可参与消化系统、睡眠和体温等多种生理功能的调节^[1],揭示体内神经递质五羟色胺的变化与病理病症之间的关系至关重要^[2]。在电化学检测中,因 5-HT 及其氧化活性产物在电极表面存在不同程度的吸附^[3],易形成绝缘膜而降低电极的灵敏度,对被 5-HT 毒化的电极进行活化非常重要^[4]。多巴胺是下丘脑和

脑垂体腺中的一种关键神经递质,其浓度受精神因素影响,神经末梢的促性腺激素释放激素(GnRH)和多巴胺间存在着轴突联系并相互作用,多巴胺有抑制 GnRH 分泌的作用^[5]。目前,多巴胺常见的检测方法有分光光度法、液相色谱法、荧光法、极谱法、伏安法和电化学法^[6]。其中电化学法测定多巴胺具有简便、快速、灵敏、仪器价格低廉等优点。

收稿日期 2016-09-23

作者简介 程寒(1980-)女,副教授,博士,研究方向:药物分析研究, E-mail: chenghan@mail.scuec.edu.cn

基金项目 国家自然科学基金资助项目(21205144);中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(CZZ16004);中南民族大学学术团队资助项目(XTZ15013);中南民族大学大学生创新创业训练计划(201710524029)

碳材料是地球上一种非常重要的导电材料,它不仅形成非常坚硬的金刚石,还能形成非常软的石墨烯。2004 年 Geim 等^[7,8]首次用机械剥离法发现了新型碳材料——石墨烯,它仅有单原子厚度,是世界上最薄的材料^[9],被认为是富勒烯、碳纳米管(CNT)、石墨的基本单元结构^[10],具有优良的导电性能^[11]和永不消失的导电率^[12]及成本低廉等,在电子、信息、能源、材料和生物医药等领域应用广泛^[13]。氧化石墨烯是石墨烯的重要衍生物,由于其在单层碳原子构成的二维空间无限延伸的表面含有大量可修饰的基团^[14],它具有优越的吸附性能,能与许多金属和金属氧化物复合得到性能优异的复合材料^[15]。用氧化石墨烯修饰电极可使用滴涂法^[16]和电沉积法,与滴涂法相比,电沉积法是一种较为新颖的修饰石墨烯的方法^[17],它在相对简单的条件下可获得直径小、灵敏度高的电极^[18]。

本实验采用电沉积法在被 5-HT 毒化的电极表面修饰氧化石墨烯导电层,使被毒化的碳纤维电极的电化学性能再生,并优化了电沉积电压和时间,考查了再生电极的稳定性,并对活化后的碳纤维电极进行了电化学性能研究,证明该再生电极对多巴胺具有良好的电化学响应。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

碳纤维(直径 6 μm , 吉林市神舟碳纤维有限责任公司), 石墨烯水分散液(0.5 mg/mL, XF NANO), 无水乙醇(分析纯, 天津医药公司), 多巴胺(DA, Sigma), 去甲肾上腺素(NE, Sigma), 抗坏血酸(AA, 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司), DA, NE, AA 均用无水乙醇作为溶剂配成 10 mmol/L 的母液备用。五羟色胺(5-HT, Sigma) 用 0.1 mol/L 的 HClO_4 配置成 1 mmol/L 的母液, 置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 的冰箱冷藏室中保存, 使用时用 Tris-HCl 缓冲溶液稀释到所需的浓度。碳粉导电胶(自制), AB 胶(广东爱必达胶黏剂有限公司), 实验用水为二次去离子水。

倒置显微镜(XD-RFL, 宁波舜宇仪器), 化学工作站(CHI660D, 上海辰华), 酸度计(FE20K 型, 瑞士梅特勒-托利多集团), 电化学实验采用双电极系统: 碳纤维微电极为工作电极, Ag/AgCl 为参比电极。

1.2 碳纤维微电极的制作

在酒精灯火焰上控制玻璃毛细管(内径 1 mm), 使其尖端内径约 20 μm , 碳纤维(直径 6 μm , 长约 15 mm)和铜丝(直径 0.2 mm, 长约 10 cm)用碳粉导电胶

粘连, 将碳纤维从玻璃毛细管另一端穿入至露出玻璃毛细管尖端外约 2 mm, 用 AB 胶将玻璃毛细管末端封住, 粘胶固化后固定铜丝, 再将玻璃毛细管尖端置于酒精灯外焰约 0.5 s, 玻璃迅速熔封, 露出的碳纤维在酒精灯外焰上小心烧蚀, 在倒置显微镜下测量电极长度, 至露出的碳纤维长度 100~200 μm 即为碳纤维微电极(CFME)。

1.3 石墨烯修饰的碳纤维微电极的制作

取适量的氧化石墨烯分散液于试管中, 将已制作好的碳纤维微电极和 Ag/AgCl 参比电极放入氧化石墨烯中, 在 +1.2 V 下电沉积适当时间, 即在碳纤维超微电极表面构建了石墨烯修饰层, 取出用超纯水冲洗、晾干, 即得修饰好的电极。

2 结果与讨论

2.1 碳纤维微电极的毒化和活化

将一根洁净的碳纤维微电极先在 100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ DA 溶液中进行差分脉冲扫描, 再置于 100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 5-HT 溶液中进行循环伏安扫描 10 次, 扫描速度为 100 mV/s, 扫描范围 -0.1~0.7 V, 结果见图 1。

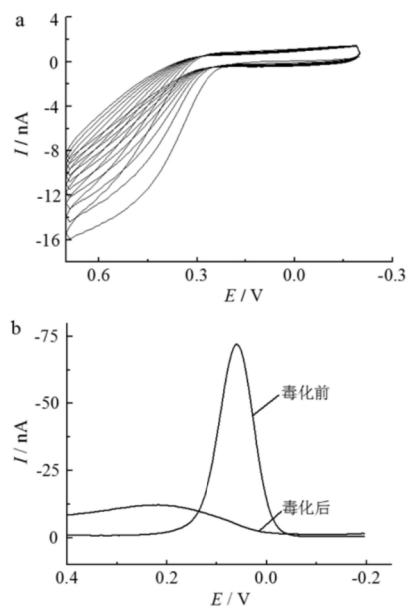


图 1 碳纤维微电极的循环伏安图(a)和差分脉冲图(b)

Fig.1 Cyclic voltammetry (a) and DPV curves (b) of carbon fiber microelectrode

如图 1 所示, 电流随扫描次数增加而迅速减小, 说明 5-HT 对电极表面有严重的毒化作用。将毒化后的电极在 100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ DA 中差分脉冲扫描, 毒化前后电极在 DA 溶液中差分脉冲图见图 2。由图 2 可见, 毒化后的电极在多巴胺中氧化峰电流远远小于毒化前, 说明 5-HT 对电极表面有严重的毒化作用。

2.2 石墨烯电沉积电压对再生电极电化学性能的影响

取适量的氧化石墨烯分散液于试管中,将已制作好的碳纤维微电极和银电极放入氧化石墨烯分散液中,分别在 0.6 V, 1.2 V, 1.8 V 的初始电压下电沉积 200 s,取出后在超纯水中冲洗,晾干,再在 100 $\mu\text{mol/L}$ DA 溶

液中进行差分脉冲扫描,检测并记录其电化学响应,结果见图 2。如图 2 所示:在初始电压 1.2 V 的条件下电极电镀效果较好,初始电压过小活化效果不明显,初始电压过高峰电流增幅不大,峰型变宽而且峰电位有所改变,故选择 1.2 V 为最佳电镀初始电压。

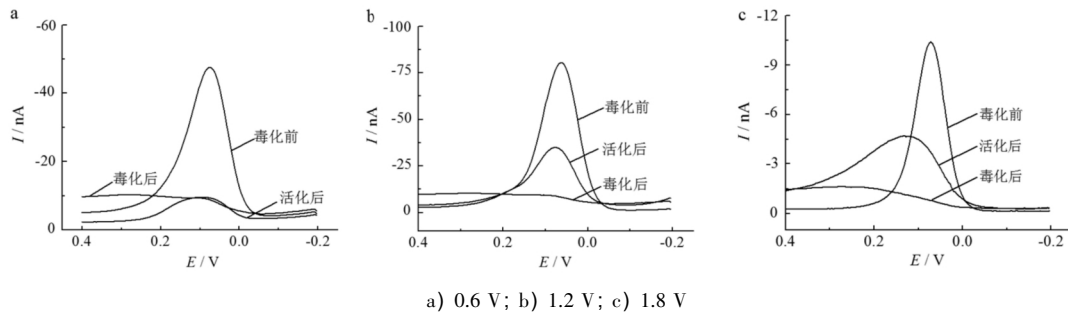


图 2 碳纤维微电极在不同初始电压下的活化效果

Fig.2 Activation effect of carbon fiber microelectrode under different initial voltages

2.3 石墨烯电沉积时间对再生电极电化学性能的影响

取适量的氧化石墨烯分散液于试管中,将已制作好的碳纤维微电极和银电极放入氧化石墨烯中,在 1.2 V 下电沉积一定时间,即在碳纤维超微电极表面构建了石墨烯修饰层,取出用超纯水冲洗,晾干,即得修饰好的电极。将修饰电极在 100 $\mu\text{mol/L}$ DA 中进行差分脉冲扫描,检测再生电极的电化学性能,记录伏安响应信号,分析得出最佳的石墨烯电沉积时间,结果见图 3。

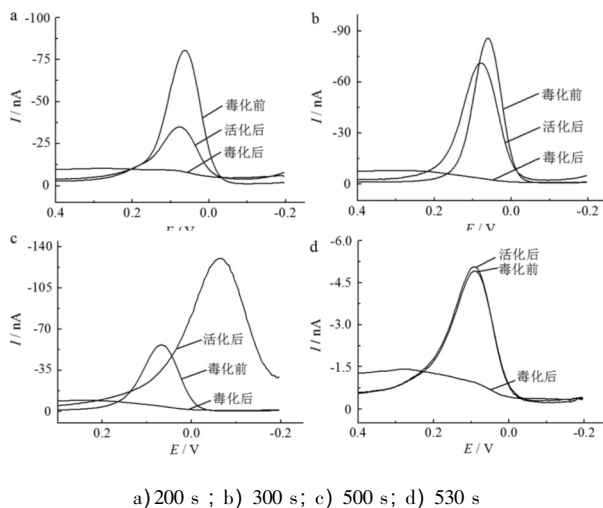


图 3 碳纤维微电极在不同电沉积时间的电化学行为

Fig.3 Electrochemical behavior of carbon fiber microelectrode at different electrodeposition time

如图 3 所示:随着电沉积时间的增加,活化电极的电化学响应增加;但电沉积时间超过 500 s 后,活化电极的电化学响应减小,500 s 为最佳电沉积时间。

2.3 活化电极的稳定性

活化后电极在 20 mM Tris-HCl、0.10 mmol/L 的多巴胺溶液中差分脉冲扫描,扫描 1 次后室温放置 1 周再进行第 2 次扫描,连续扫描 5 周,结果见图 4。如图 4 所示,再生后的电极在 DA 溶液中差分脉冲峰电流变化不大,说明再生电极电化学性能较稳定。

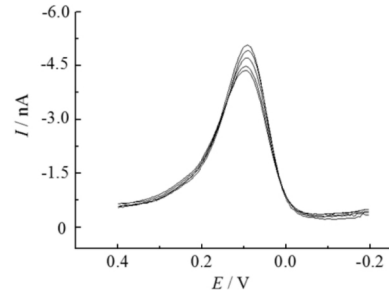


图 4 活化后的电极差分脉冲伏安叠加图

Fig.4 DPV overlay chart of activated electrode

2.4 修饰电极的电化学性能研究

比较电极修饰前,毒化后及活化后在 100 $\mu\text{mol/L}$ NE、1.0 mmol/L AA 溶液中的差分脉冲曲线,结果见图 5。由图 5 分析可知,再生电极对 NE 电化学响应良好,对(抗坏血酸)AA 几乎无响应。由于氧化石墨烯表面结构有环氧基,边缘有羧基,在 pH 7.2 的 Tris-HCl 中,电离带负电荷,NE 在 pH 7.4 的 Tris-HCl 的环境中带正电荷,而 AA 带负电荷,由于异性电荷相吸引,故 NE 聚集在电极附近,氧化还原峰电流提高,同性电荷相斥,带负电荷的 AA 被排斥,在修饰电极上灵敏度降低。

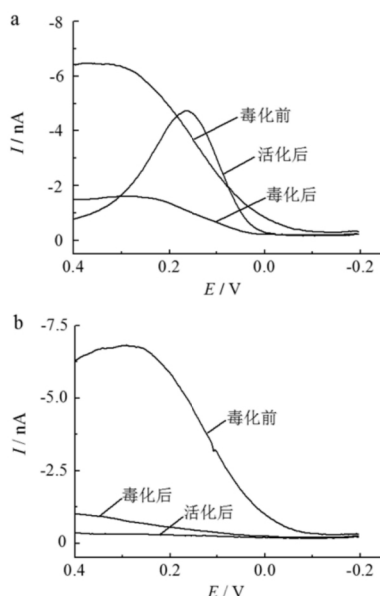


图 5 电极在 $100 \mu\text{mol/L}$ NE(a) 和 1.0 mmol/L AA(b) 溶液中的差分脉曲线

Fig.5 DPV curves of modified electrode in $100 \mu\text{mol/L}$ NE(a) and 1.0 mmol/L AA(b)

2.5 DA 氧化峰电流与扫速的关系

图 6a 为测定活化电极在 $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ DA 溶液中,在不同的扫速下 ($0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 \text{ V/s}$) 的循环伏安图.以扫描速度为横坐标,氧化峰电流为纵坐标绘制工作曲线如图 6b 所示,其氧化峰电流与浓度线性关系良好,回归方程为 $I(\text{A}) = 8.6405v(\text{V/s}) + 0.8038$ 相关系数 $R^2 = 0.9992$,说明氧化石墨烯修饰碳纤维电极上的 DA 的氧化过程受吸附控制.

2.6 工作曲线

考察在 20 mmol/L Tris-HCl (pH 7.2) 缓冲溶液中,用差分脉冲方法测出的氧化石墨烯修饰电极上 DA 溶液的氧化峰电流与浓度 ($0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50, 100 \mu\text{mol/L}$) 关系.结果见图 7.由图 7a 可知,随着 DA 浓度的增加,活化后的电极氧化峰电流也随之增大.以 DA 浓度为横坐标,氧化峰电流(平行测定 3 次取平均值)为纵坐标绘制工作曲线,如图 7b 所示,其氧化峰电流与浓度线性关系良好,回归方程为 $I(\text{A}) = 0.0577c(\mu\text{mol/L}) + 0.56$ 相关系数 $R^2 = 0.9905$.

2.7 加样回收实验

在已准确测定的初始浓度分别为 $100, 10, 1 \mu\text{mol/L}$ 的 DA 溶液 10 mL 并分别加入已知浓度 10 mmol/L 的 DA 溶液 $100, 10, 1 \mu\text{L}$,并计算该混合溶液的真实浓度 $c_{\text{真}}$.用氧化石墨烯活化后的电极检测其 3 种浓度 DA 溶液的峰电流,每个浓度平行测定 3

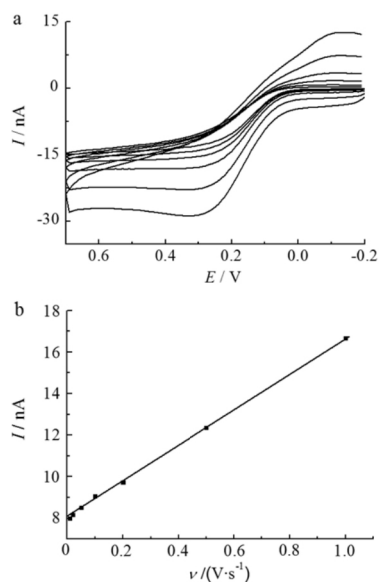


图 6 氧化石墨烯活化电极的循环伏安图(a)及峰电流与扫速的关系(b)

Fig.6 Cyclic voltammograms at carbon fiber electrode modified with graphene oxide (a) and relation curve of peak currents and sweep rate (b)

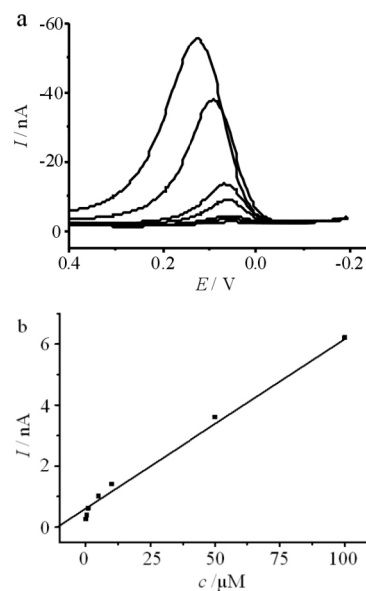


图 7 氧化石墨烯修饰的电极在不同浓度 DA 溶液中的 DPV 曲线(a)及氧化峰电流与 DA 浓度的关系曲线(b)

Fig.7 DPV at carbon fiber nanoelectrode modified with graphene oxide in the different concentration solution of DA (a) and relation curve of oxidation peak currents and concentration of DA (b)

次,通过标准曲线 $I(\text{A}) = 0.0577 c_{\text{测}}(\mu\text{mol/L}) + 0.56$ 计算出检测值的值,通过公式计算加样回收率, $R(\%) = c_{\text{测}} / c_{\text{真}} \times 100\%$,结果如表 1 所示.由表 1 可见,加样回收率均在 $95\% \sim 105\%$,说明在此优化条件下,利用 DPV 测定 DA 结果可靠.

表 1 加样回收数据统计表($n=3$)
Tab.1 Statistical table of recovery test data ($n=3$)

编号	$c_0/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	加样体积 $V/\mu\text{L}$	$c_{\text{真}}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	$c_{\text{测}}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	加样回收率 $R/\%$
1	100	100	198.0	195.7 ± 0.91	98.83 ± 4.57
2	10	10	19.98	20.20 ± 0.95	101.1 ± 4.78
3	1	1	1.999	1.98 ± 0.07	99.13 ± 3.76

2.8 共存物质的影响

考查了生物体内常见的无机离子及有机物对活化电极测定 $100\mu\text{mol/L}$ DA 测定的影响,结果表明: 1.0 mmol/L K^+ , Na^+ , Cu^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- , AA 及 20 mg/L 葡萄糖、核糖核酸、L-半胱氨酸对测定的影响较小,相对误差均控制在 $\pm 5\%$ 以内,说明该方法具有良好的选择性。

3 结论

(1)通过制备碳纤维微电极,在 $100\mu\text{mol/L}$ 5-HT 溶液中采用循环伏安法活化 10 圈后,使碳纤维电极表面形成一层绝缘膜,再通过电沉积法修饰石墨烯(0.5 mg/mL)对碳纤维电极进行活化,得出了石墨烯最佳电沉积时间为 500 s ,最佳电镀电压为 1.2 V ,且活化电极的电化学响应增加。

(2)活化电极在 $100\mu\text{mol/L}$ DA 中氧化峰电流与扫速线性关系良好,回归方程为 $I(A) = 8.6405v(V/s) + 0.8038$ 相关系数 $R^2 = 0.9992$,说明氧化石墨烯修饰碳纤维电极上的 DA 的氧化是受吸附控制。

(3)氧化石墨烯修饰电极在 $0.1\sim 100\mu\text{mol/L}$ DA 溶液中,溶液的浓度与氧化峰电流线性关系良好,回归方程为 $I(A) = 0.0577c(\mu\text{mol/L}) + 0.56$,相关系数 $R^2 = 0.9905$ 。该再生电极在检测 DA 溶液的抗干扰能力良好,有望用于活体中 DA 浓度的测定。

参 考 文 献

- [1] 李峡区,杨博,许昌泰.神经递质 5-羟色胺研究现状[J].临床医学工程,2010,17(5):145-147.
- [2] 廖秀军,茅伟明,武文静,等.四磨汤对慢传输结肠 5-羟色胺兴奋性受体的干预研究[J].中华中医药学刊,2013,31(2):355-357.
- [3] 程寒,兰嘉峰,韦光汉,等.单壁碳纳米管的抗污染性能研究及其用于 5-羟色胺检测[J].分析化学,2013,41(4):540-545.
- [4] 丁建华,博传刚,赵荣华.5-羟色胺在胃肠道功能性疾病中的研究现状[J].世界华人消化杂志,2005,20(13):10-24.
- [5] 李凡,舒斯云,包新民等.多巴胺受体的结构和功能[J].中国神经科学杂志,2003,12(83):405-409.
- [6] 柳文华,张兰.5-羟色胺转运体基因多态性与情感障碍关联研究[J].精神医学杂志,2010,23(3):224-227.
- [7] Meyer J C, Geim A K, Katsnelson M I, et al. The structure of suspended graphene sheets [J]. Nature, 2007, 446(7131): 60-63.
- [8] Novoselov K S, Jiang D, Schedin F, et al. Two-dimensional atomic crystals [J]. PNAS, 2005, 102(30): 10451-10453.
- [9] Geim A K. Graphene: status and prospects [J]. Science, 2009, 324(5934): 1530-1534.
- [10] Geim A K, Novoselov K S. The rise of graphene [J]. Nature Mater, 2007, 6: 183-191.
- [11] Chae H K, Siberio D Y, Kim J, et al. A route to high surface area porosity and inclusion of large molecules in crystals [J]. Nature, 2004, 427(6974): 523-527.
- [12] 唐和清,张海燕.氧化石墨烯和石墨烯对离子型染料不同吸附性能研究[J].中南民族大学学报(自然科学版),2014,(2):5-9.
- [13] 袁小亚.石墨烯的纸杯研究进展[J].无机材料学报,2011,10(2):532-564.
- [14] 张瑶琴,爱连锋,王曼曼,等.氧化石墨烯色谱固定相的制备及其在食品中三聚氰胺分析中的应用[J].分析测试学报,2016,35(8):981-986.
- [15] 姜树军,吴卫平,匡培根,等.5-羟色胺含量在丹参改善颞叶缺血大鼠记忆障碍中的变化[J].中华老年心血管病杂志,2000,2(2):4-10.
- [16] 王丹丹,曾延波,刘海涛,等.石墨烯修饰电极分子印迹电化学传感器的研制及其对多巴胺的测定[J].分析测试学报,2013,32(5):581-585.
- [17] 邓妹皓,龚竹青,陈文泪,等.电沉积纳米晶体材料的研究现状与发展[J].电镀与涂饰,2001,20(4):35-39.
- [18] 彭图治,吕红环,朱萍,等.微柱碳纤维电极的分析应用——电化学预处理和一些神经递质的测定[J].生物化学与生物物理进展,1992,03(5):237-239.

(责任编辑 刘 钊)