

DOI: 10.13208/j.electrochem.130437

Artical ID:1006-3471(2014)06-0521-06

Cite this: *J. Electrochem.* 2014, 20(6): 521-526

Http://electrochem.xmu.edu.cn

表面分子印迹磁性纳米粒子的制备及其 血红蛋白传感应用

黄春芳^{1,2}, 姚桂红¹, 邱建丁^{1*}

(1. 南昌大学化学系, 江西 南昌 330031; 2. 井冈山大学化学化工学院, 江西 吉安 343009)

摘要: 以 Fe_3O_4 磁性纳米粒子为载体、多巴胺(DA)为功能单体、血红蛋白(Hb)为模板分子, 用氯铂酸氧化 DA 生成聚多巴胺(PDA), 同时氯铂酸还原为铂纳米粒子(PtNPs), 与 Hb 一起负载于 Fe_3O_4 纳米粒子表面, 洗脱 Hb 后合成了表面分子印迹磁性纳米粒子(印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$). 将印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$ 修饰于磁性玻碳基底表面, 制得印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$ 修饰电极. 实验结果表明, 印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$ 具有良好的水溶性, 粒径分布均匀, 生成的 PtNPs 具有良好的导电性和刚性. 用印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$ 构建的传感器对 Hb 具有良好的识别性, 在 $0.14 \sim 2.7 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ Hb 浓度范围与交流阻抗变化值呈良好的线性关系, 检出限($S/N=3$)为 $0.05 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$.

关键词: 分子印迹聚合物; 磁性纳米粒子; 多巴胺; 血红蛋白; 电化学传感器

中图分类号: O657.1

文献标识码: A

分子印迹聚合物 (Molecularly Imprinted Polymers, MIPs) 中的印迹腔与模板分子在空间结构和官能团上相互匹配可与模板分子形成多重作用位点, 并可与目标分子特异性结合. MIPs 克服了生物分子稳定性较差、价格昂贵、不易大规模生产的缺点, 可替代生物分子构建传感器^[1]. 目前, MIPs 传感器大都只能检测小分子分析物, 对蛋白质、多肽和 DNA 等生物大分子的检测还不多见^[2-3]. 故有必要研究适用于生物大分子的印迹技术并构建基于 MIPs 的生物大分子传感器^[4-5].

近年来, 以纳米材料为载体的表面分子印迹技术逐渐受到重视. 表面分子印迹纳米粒子的印迹位点处于纳米粒子表面, 其模板分子易洗脱, 传质速率快, 结合容量高, 使表面分子印迹技术特别适合用于蛋白质、多肽和 DNA 等生物大分子的印迹^[6]. 但多数生物大分子与印迹聚合物结合时并不能产生可测量的信号, 故表面印迹纳米粒子用于生物大分子的传感分析还不多见^[7-8]. 磁性 Fe_3O_4 纳米粒子具有制备方法简单、超顺磁性强、低毒、生物相容性好等优点, 已广泛用作表面分子印迹的载体^[9-10]. 磁性表面分子印迹纳米粒子集合了分子印迹聚合物和磁性纳米材料的优势, 常用于从复

杂基质中选择性识别、分离和富集分析物, 是印迹技术发展的重要方向^[11-12]. 多巴胺(Dopamine, DA)有良好的生物相容性和氧化聚合能力, 生成的聚多巴胺(Polydopamine, PDA)含有羟基、氨基和苯环等多种官能团, 可牢固地粘附于各种无机或有机材料表面, 是一种良好的分子印迹单体^[13-14]及制备蛋白质、多肽和 DNA 等生物分子印迹聚合物的重要功能单体.

本文以血红蛋白(Hemoglobin, Hb)为模型蛋白、 Fe_3O_4 NPs 为载体、多巴胺为功能单体, 在氯铂酸的氧化作用下, 多巴胺聚合为 PDA, 氯铂酸被原位还原为铂纳米粒子(Platinum Nanoparticles, PtNPs), 与 Hb 一起固定于 Fe_3O_4 NPs 表面, 去除 Hb, 合成了表面分子印迹磁性纳米粒子(印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$), 在外磁场作用下, 将其固定于磁性玻碳电极 (Magnetic Glassy Carbon Electrode, MGCE) 表面, 构建灵敏且选择性检测 Hb 的生物传感器.

1 实验

1.1 试剂与仪器

血红蛋白(Hb, 日本化工), 多巴胺(DA, Alfa

Aesar), 氯铂酸和十二烷基硫酸钠 (Sodium Dodecyl Sulfonate, SDS) 等均为分析纯, 未经纯化. 溶液均用 Millipore 超纯水 (电阻率 $\geq 18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$) 配制. 磷酸缓冲溶液 (PBS) 由 NaH_2PO_4 和 Na_2HPO_4 配制 ($0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaOH 或 H_3PO_4 调节 pH 值).

Autolab PGSTAT30 电化学工作站 (荷兰 Eco Chemie), UV-2450 紫外光谱仪 (日本 Shimadzu), Quanta 200F 扫描电子显微镜 (美国 FEI), KQ5200DE 型数控超声波清洗器. 三电极系统由自制的磁性玻碳 (MGCE) 修饰电极、饱和甘汞参比电极 (SCE) 和铂丝辅助电极组成.

1.2 Fe_3O_4 磁性纳米粒子

按文献^[15]将 1.35 g 六水合三氯化铁溶解于 40 mL 乙二醇溶液中, 然后加入 1.0 g 聚乙二醇和 3.6 g 三水合醋酸钠. 将该混合溶液超声 1 h, 又持续搅拌 1 h 使反应物溶解. 再将该混合物溶液转移至聚四氟乙烯高压釜中, 于 180°C 加热 6 h. 产品分别用乙醇和超纯水洗三次, 真空干燥箱于 60°C 干燥 12 h, 密封保存.

1.3 磁性表面分子印迹纳米粒子

将 20 mg Fe_3O_4 、20 mg DA 和 2 mg Hb 溶于 20 mL PBS ($10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 6.98) 缓冲溶液, 4°C 加入 2.1 mL 2% 氯铂酸, 机械搅拌 30 min, 又继续室温搅拌 2 h. 用外磁场收集该反应产物, 超纯水洗 3 次以除去未反应物, 即得 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs-Hb}$ 复合物. 用 10% SDS 溶液洗脱该复合物的 Hb, 超纯

水洗三次, 制得能选择识别 Hb 的表面分子印迹磁性纳米粒子 (印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$), 将其分散于 PBS 缓冲溶液, 4°C 保存备用 (图 1A). 以相同方法制备不加 Hb 的表面非分子印迹磁性纳米粒子 ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$).

1.4 磁性玻碳修饰电极

按文献^[16]取适量碳糊填入聚四氟乙烯管 (内径 3 mm, 长 50 mm), 在管的一端插入一根铜棒, 在管的另一端约 2 mm 处放入一块圆形磁铁 (直径 3 mm, 厚 2 mm), 再嵌入一块直径 3 mm、厚 2 mm 的玻碳, 该玻碳与磁铁紧密相连, 玻碳边缘用胶密封, 即制得磁性玻碳电极 (MGCE) (图 1B). 将 $10 \mu\text{L}$ 印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$ 悬浮液滴加于 MGCE 表面, 在磁场作用下, 印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$ 可被固定于电极表面. 制得印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}/\text{MGCE}$, 用 PBS 缓冲溶液清洗, 4°C 保存备用. 相同方法制得 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}/\text{MGCE}$ 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs-Hb}/\text{MGCE}$.

1.5 电化学测量

将印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}/\text{MGCE}$ 浸泡于 Hb 溶液 15 min, 使 Hb 与磁性表面分子印迹纳米粒子的印迹腔结合, 用 PBS 缓冲溶液清洗电极表面, 除去未进入印迹腔的 Hb. 测试该电极在 pH 7.0 的 PBS 缓冲溶液 (含 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KCl) 的循环伏安曲线以及在含 $5.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-3-}$ 电化学探针的 PBS 缓冲溶液的交流阻抗谱图. 测试前溶液通

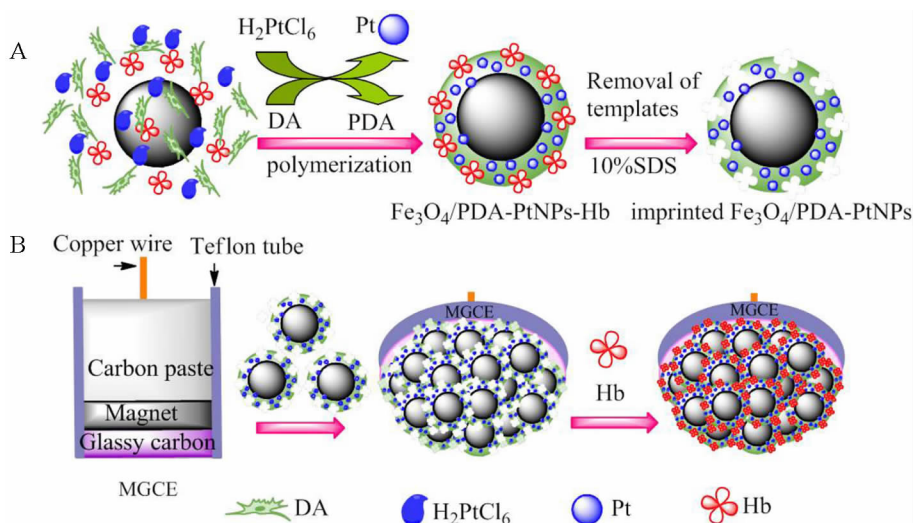


图 1 印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$ (A)及印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}/\text{MGCE}$ (B)制备及检测 Hb 的示意图

Fig. 1 Schematic illustration for preparation of imprinted $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$ (A) and imprinted $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}/\text{MGCE}$ for detection of Hb (B)

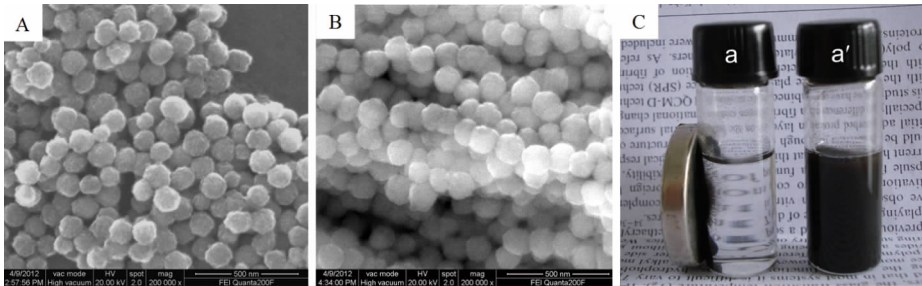


图 2 Fe_3O_4 (A)和印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$ (B)扫描电镜照片,印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$ 有(a)和无(a')外加磁场时的照片(C)
Fig. 2 SEM images of Fe_3O_4 (A) and imprinted $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$ (B), (C) is the photo of imprinted $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$ under magnetic field (a) and without magnetic field (a')

氮气 15 min 除去溶解氧。

2 结果与讨论

2.1 扫描电镜表征

Fe_3O_4 和印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$ 的扫描电镜形貌如图 2 所示. Fe_3O_4 纳米粒子表面粗糙,平均粒径在 80~120 nm(图 2A). Fe_3O_4 表面发生聚合反应,洗脱模板分子后生成印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$ (图 2B),其表面更加光滑,粒径增加至 90~140 nm. 印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$ 在外磁场的作用下迅速吸附于磁铁一侧的试管壁上(图 2C-a). 无外加磁场时,印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$ 在水溶液中均匀分散(图 2C-a'). 这表明,印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$ 具有很好的磁性分离能力,通过简单的磁性分离/固定技术就可实现印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$ 在 MGCE 表面的有效固定.

2.2 X 射线能谱分析

印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$ 的 X 射线能谱分析(EDS)如图 3 所示. 谱图中存在着 Pt、Fe、C、O、N 等元素的谱峰,表明还原性的 DA 与氯铂酸发生氧化聚合反应,生成 PDA 并负载于 Fe_3O_4 NPs 的表面上. 氯铂酸被原位还原成铂纳米粒子(PtNPs)^[17],并嵌于 PDA 印迹膜中. PtNPs 对 PDA 可能起着支撑和固化的作用,使 PDA 官能团的分布及空间结构不因洗脱模板分子后而发生变化,维持着印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$ 印迹腔的良好结构,确保印迹腔对模板分子的优异识别作用.

2.3 紫外光谱分析

印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$ 的紫外可见光谱图如图 4 所示. 由图可知, Fe_3O_4 NPs 在 200~800 nm 范围无明显的特征吸收峰 (a),而 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs-Hb}$ 在 406 nm 和 280 nm 处有明显吸收(d),这两个吸收峰分别对应于 PDA 和 Hb 的特征吸收峰

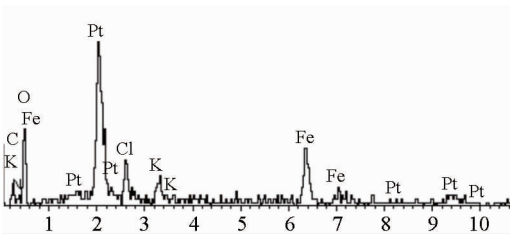


图 3 印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$ 的 EDS 谱图
Fig. 3 EDS data of imprinted $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$

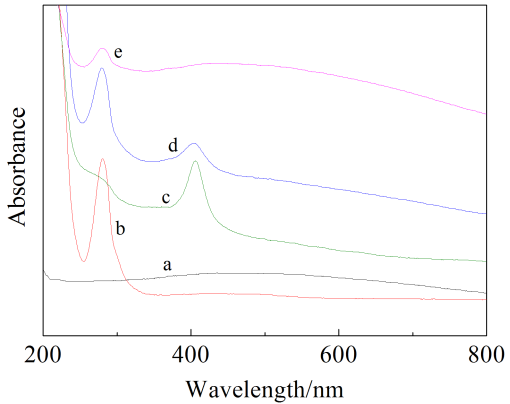


图 4 Fe_3O_4 (a)、PDA(b)、Hb(c)、 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs-Hb}$ (d)和印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$ (e)的紫外可见光谱图
Fig. 4 UV-vis spectra of Fe_3O_4 (a), PDA (b), Hb (c), $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs-Hb}$ (d) and imprinted $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$ (e)

(b、c), 这表明 DA 在 Fe_3O_4 NPs 表面发生氧化聚合时与 Hb 形成复合物并粘附于 Fe_3O_4 NPs 表面. 洗脱 Hb 后所得的产物印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$ 仅在 280 nm 处有明显吸收峰(e),表明已制得印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$. PDA 有良好的生物相容性,含有羟基、氨基、苯环、氮杂环等功能基团,并以多重氢键和疏水作用与模板分子 Hb 相互作用,使固定化

的 Hb 可以很好地保持其三维构象。

2.4 电极的电化学性能

$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs-Hb}/\text{MGCE}$ 的循环伏安曲线有明显的氧化还原峰(图 5A-a),表明本印迹方法能很好保持印迹蛋白质的二级结构。此外,PtNPs 的优良导电性也促进了蛋白质与电极间的电子传递。当模板分子 Hb 从 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs-Hb}$ 印迹腔中洗脱,印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}/\text{MGCE}$ 无明显的氧化还原峰(图 5A-b)。洗脱可将 Hb 从印迹腔中有效地去除,这为样品 Hb 分子的特异性识别检测提供了可能。

图 5B 给出了 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs-Hb}/\text{MGCE}$ 的交流阻抗谱图。由图可见,蛋白质导电性差,阻碍了电极表面的电子传递,其在高频部分呈现较大半圆,阻抗值较大(图 5B-a);洗脱 Hb 后,印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}/\text{MGCE}$ 在高频部分的半圆减小,阻抗值降低(图 5B-b);当印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}/\text{MGCE}$ 重结合 Hb($2.7 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)后,高频部分半圆增大,阻抗值增加(图 5B-c)。 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}/\text{MGCE}$ 没有加入 Hb,其 PtNPs 间距较小,更有利于电子的传递,故高频区的半圆较小,阻抗值较低(图 5B-d)。这表明所构建的印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}/\text{MGCE}$ 可选择性识别 Hb。

2.5 交流阻抗变化值

图 6A 给出印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}/\text{MGCE}$ 在不同浓度的 Hb 溶液(浸泡 15 min)的交流阻抗谱

图。Hb 浓度增加,进入印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$ 印迹腔中的 Hb 越多,电极表面电子转移的阻碍作用越大,电极阻抗逐增。Hb 浓度($0.14 \sim 2.7 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)与交流阻抗变化值 ΔR ($\Delta R = R - R_0$, R_0 和 R 分别是电极结合 Hb 前后的阻抗值)呈良好的线性关系(图 6B-a),检出限 $0.05 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($S/N = 3$)。而 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}/\text{MGCE}$ 在不同浓度 Hb 溶液中浸泡 15 min,其阻抗值改变不多(图 6B-b),即其非特异性吸附很小。

2.6 选择性

印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}/\text{MGCE}$ 分别置于含相同浓度($1.4 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)的细胞色素 C(Cyt)、过氧化酶(HRP)和肌红蛋白(Mb)溶液的阻抗变化值 ΔR 如图 7 所示。与相同浓度的 Hb 相比,该电极阻抗变化值很小,这 3 种物质均对 Hb 的检测干扰较小,传感器对 Hb 的识别选择性很好。

3 结 论

利用 DA 的聚合性、良好成膜性及氯铂酸的氧化性,制得能特异性识别 Hb 的印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$,方法简单易行。其粒径分布均匀,水溶液性好。生成的 PtNPs 可对 PDA 膜起到支撑作用,有助于增强膜的稳定性,维持印迹空腔的刚性结构,印迹空腔可识别 Hb。通过磁固定技术将印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}$ 方便地固定于 MGCE 表面,制得印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}/\text{MGCE}$ 。Hb 浓度($0.14 \sim 2.7 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)与该电极的交流阻抗变化值 ΔR 呈良好

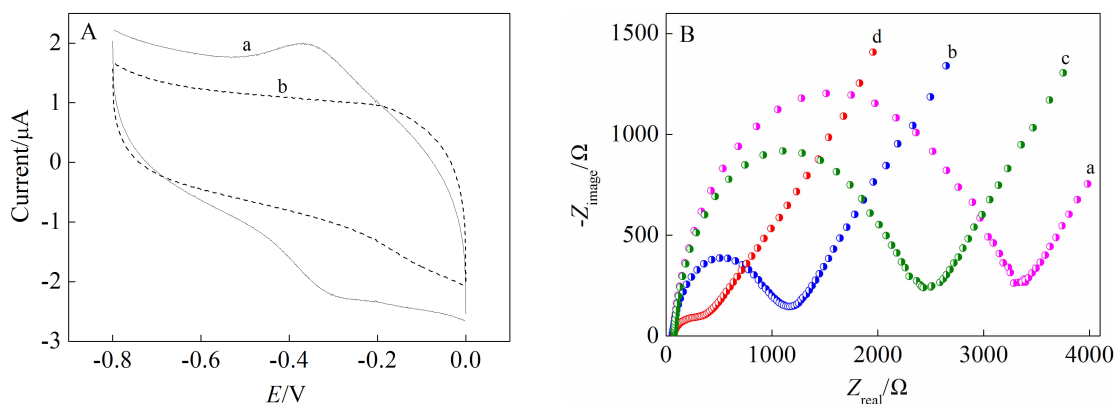


图 5 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs-Hb}/\text{MGCE}$ (a)和印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}/\text{MGCE}$ (b)的循环伏安曲线(A)和 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs-Hb}/\text{MGCE}$ (a), $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}/\text{MIPs}/\text{MGCE}$ (b), 电极(b)重结合 $2.7 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ Hb 后(c)和 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}/\text{MGCE}$ (d)的交流阻抗谱图(B)

Fig. 5 CVs (A) and Nyquist plots (B) of $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs-Hb}/\text{MGCE}$ (a) and imprinted $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}/\text{MGCE}$ (b). Curves c and d are Nyquist plots of imprinted $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}/\text{MGCE}$ after rebinding $2.7 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ Hb and $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}/\text{MGCE}$, respectively

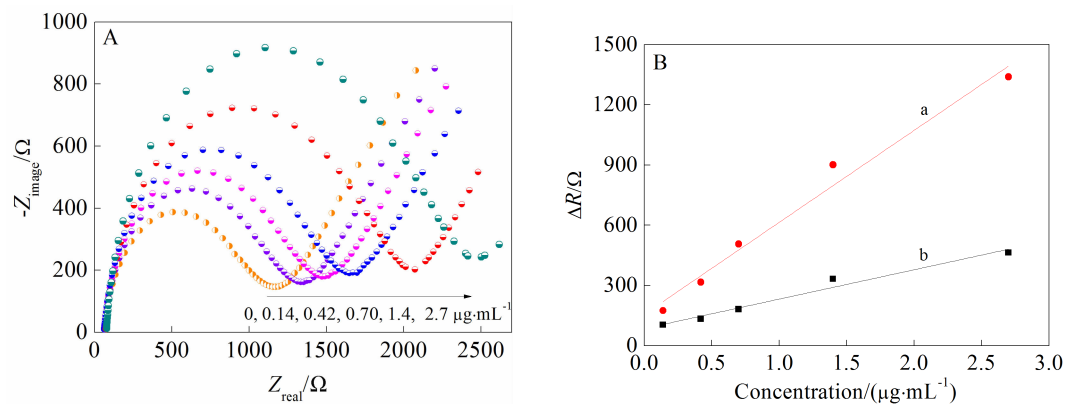


图 6 不同 Hb 浓度印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}/\text{MGCE}$ 交流阻抗谱图 (A) 和印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}/\text{MGCE}$ (a) 与 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}/\text{MGCE}$ (b) 的 $\Delta R-C_{\text{Hb}}$ 曲线 (B)

Fig. 6 A. Nyquist plots of $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs-Hb}/\text{MGCE}$ at different concentrations of Hb; B. Calibration curves for detection of Hb based on imprinted $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}/\text{MGCE}$ (a) and $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}/\text{MGCE}$ (b)

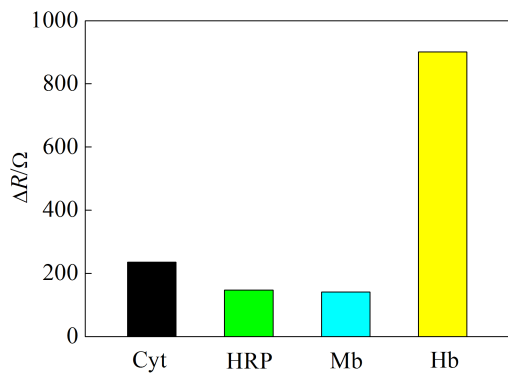


图 7 印迹 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}/\text{MGCE}$ 在 Cyt、HRP、Mb 和 Hb 溶液中的交流阻抗变化值

Fig. 7 Resistance shift of imprinted $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA-PtNPs}/\text{MGCE}$ after incubating in Cyt, HRP, Mb and Hb, respectively

的线性关系,检出限为 $0.05\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($S/N=3$). 该印迹方法为多肽、蛋白质、DNA 等生物分子印迹聚合物的制备及仿生传感提供了新思路.

参考文献(References):

[1] Haupt K, Mosbach K. Plastic antibodies: Developments and applications[J]. Trends in Biotechnology, 1998, 16(11): 468-475.

[2] Li Y, Yang H H, You Q H, et al. Protein recognition via surface molecularly imprinted polymer nanowires[J]. Analytical Chemistry, 2006, 78(1): 317-320.

[3] Riskin M, Tel-Vered R, Willner I. The imprint of electropolymerized polyphenol films on electrodes by

donor-acceptor interactions: Selective electrochemical sensing of N,N'-dimethyl-4,4'-bipyridinium (methyl viologen)[J]. Advanced Functional Materials, 2007, 17(18): 3858-3863.

[4] Ge Y, Turner A P F. Too large to fit? Recent developments in macromolecular imprinting[J]. Trends in Biotechnology, 2008, 26(4): 218-224.

[5] Haupt K. Biomaterials: Plastic antibodies[J]. Nature Materials, 2010, 9(8): 612-614.

[6] Tan C J, Tong Y W. Molecularly imprinted beads by surface imprinting[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2007, 389(2): 369-376.

[7] Cai D, Ren L, Zhao H Z, et al. A molecular-imprint nanosensor for ultrasensitive detection of proteins[J]. Nature Nanotechnology, 2010, 5: 597-601.

[8] Zhang W, He X W, Chen Y, et al. Molecularly imprinted polymer anchored on the surface of denatured bovine serum albumin modified CdTe quantum dots as fluorescent artificial receptor for recognition of target protein[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2012, 31(1): 84-89.

[9] Yang W H(杨卫海), Wu Y(吴瑶), Zhang Y(张轶), et al. Preparation and application of core-shell magnetic molecularly imprinted polymer microspheres[J]. Progress in Chemistry(化学进展), 2010, 22(9): 1819-1825.

[10] Lu C H, Wang Y, Li Y, et al. Bifunctional superparamagnetic surface molecularly imprinted polymer core-shell nanoparticles[J]. Journal of Materials Chemistry, 2009, 19(8): 1077-1079.

[11] Qu P, Lei J, Zhang L, et al. Molecularly imprinted magnetic nanoparticles as tunable stationary phase located in microfluidic channel for enantioseparation[J]. Journal of

- Chromatography A, 2010, 1217(39): 6115-6121.
- [12] Kan X, Zhao Q, Shao D, et al. Preparation and recognition properties of bovine hemoglobin magnetic molecularly imprinted polymers[J]. Journal of Physical Chemistry B, 2010, 114(11): 3999-4004.
- [13] Lee H, Dellatore S M, Miller W M, et al. Mussel-inspired surface chemistry for multifunctional coatings[J]. Science, 2007, 318(5849): 426-430.
- [14] Zhou W H, Lu C H, Guo X C, et al. Mussel-inspired molecularly imprinted polymer coating superparamagnetic nanoparticles for protein recognition[J]. Journal of Materials Chemistry, 2010, 20(5): 880-883.
- [15] Deng H, Li X, Peng Q, et al. Monodisperse magnetic single-crystal ferrite microspheres[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2005, 44(18): 2782-2785.
- [16] Peng H P, Qiu J D, Liang R P. Facile synthesis of $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Al}_2\text{O}_3$ core-shell nanoparticles and their application to the highly specific capture of heme proteins for direct electrochemistry [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2011, 26(6): 3005-3011.
- [17] Fu Y, Li P, Xie Q, et al. One-pot preparation of polymer-enzyme-metallic nanoparticle composite films for high-performance biosensing of glucose and galactose[J]. Advanced Functional Materials, 2009, 19(11): 1784-1791.

Preparation of Surface Molecularly Imprinted Magnetic Nanoparticles for Hemoglobin Sensing

HUANG Chun-fang^{1,2}, YAO Gui-hong¹, QIU Jian-ding^{1*}

(1. Department of Chemistry, Nanchang University, Nanchang 330031, China;

2. School of Chemistry and Chemical Engineering, Jinggangshan University, Ji'an 343009, Jiangxi, China)

Abstract: Surface molecularly imprinted magnetic nanoparticles (NPs) were prepared by employing dopamine (DA) as a functional monomer, hemoglobin (Hb) as a template. H_2PtCl_6 as an oxidant triggered DA polymerization on the surface of the Fe_3O_4 NPs. The Hb and the formed platinum nanoparticles (PtNPs) were embedded into the polydopamine (PDA). After removal of the Hb, the surface molecularly imprinted magnetic nanoparticles (imprinted $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA}$ -PtNPs) were formed, and then simply immobilized on the magnetic glassy carbon electrode (imprinted $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA}$ -PtNPs/MGCE) for Hb sensing. The imprinted $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA}$ -PtNPs were demonstrated magnetic spherical shape with good solubility in water and narrow size distribution. The PtNPs embedded in the imprinted coating could effectively promote the conductivity and the mechanical strength of imprinted cavity. In addition, the imprinted $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PDA}$ -PtNPs/MGCE could selectively recognize Hb and was used to detect Hb in the range of $0.14 \sim 2.7 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ with a detection limit of $0.05 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($S/N = 3$).

Key words: molecularly imprinted polymer; magnetic nanoparticles; dopamine; hemoglobin; electrochemical sensor