

DOI: 10.13208/j.electrochem.140438

Artical ID:1006-3471(2015)01-0053-05

Cite this: *J. Electrochem.* 2015, 21(1): 53-57

Http://electrochem.xmu.edu.cn

铁酞菁/氮掺杂石墨烯复合物的电化学传感研究

肖静婧, 徐慧颖, 徐 莉, 刘宝红*

(复旦大学 化学系, 聚合物分子工程国家重点实验室, 上海 200433)

摘要: 本文用快速简便的方法制备了铁酞菁/氮掺杂石墨烯(FePc/N-G)修饰电极, 用于定量检测半胱氨酸. 采用电化学方法对修饰电极的性能进行了表征, 结果表明, 氮掺杂石墨烯负载铁酞菁修饰电极对半胱氨酸具有更宽的线性响应范围和较高的灵敏度.

关键词: 铁酞菁; 氮掺杂石墨烯; 半胱氨酸; 电化学传感

中图分类号: O646

文献标识码: A

生物硫醇(如半胱氨酸)在许多生物过程如氧化还原平衡、细胞生长和分解代谢等都起着重要作用^[1]. 由于可保持蛋白结构, 硫醇被用作癌症的指标^[2], 还可作为抗毒素、抗氧化剂及有机体内自由基清除剂, 在预防和治疗放射性伤害等方面有不可替代的作用^[3-6]. 半胱氨酸作为组成蛋白质的 20 多种氨基酸之一, 是唯一具有活性巯基的氨基酸, 表现为许多重要生物分子的前躯体, 在蛋白质合成等方面起着重要作用^[7]. 因此, 高效准确地检测半胱氨酸含量在生物化学和临床医学等领域具有重要意义.

目前, 常用于检测小分子硫醇的方法有高效液相色谱、气相色谱、离子交换色谱、电泳技术、质谱法及荧光法等, 这些方法都具有较高的灵敏度和选择性, 但均需较复杂的前处理(如分子衍生化等), 对实现快速实时检测有很大的应用局限^[8-10]. 而化学修饰电极可实现快速、灵敏、准确、高选择性的检测. 氧化石墨烯(GO)、有孔的氧化镍(NiO)等都被用于硫醇的检测^[11-12]. 大环共轭 π 体系的金属酞菁类化合物可在最小的调整能量下进行氧化还原^[13], 具有优异的电催化性能. 用钴酞菁、铁酞菁及其衍生物修饰电极的硫醇检测已有报道^[13-15]. 例如 Bedioui 等人用聚四氨基钴酞菁(Poly-cobalt Tetraamino-Phthalocyanine)修饰玻璃碳圆盘电极检测 2-巯基乙醇等硫醇物质, 但检测电位及响应电流不佳. 石墨烯由于其大的比表面积、良好的机

械性能、高的导电性, 已广泛应用于电化学传感材料. 而氮掺杂石墨烯由于引入氮原子的孤对电子, 形成离域共轭体系, 可进一步增强电化学催化性能^[16].

本文采用简单的超声混合法将铁酞菁负载于氮掺杂石墨烯上, 通过透射电子显微镜(TEM)及能量色散谱仪(EDS)观察、表征 FePc/N-G 复合物. 将该复合材料修饰于玻碳基底表面, 实现了碱性条件下半胱氨酸的高灵敏度定量检测.

1 实验

1.1 试剂与仪器

氢氧化钠 (NaOH); N,N-二甲基甲酰胺 (DMF); 氮掺杂石墨烯 (N-G, 含氮量 3% ~ 5%, by atom); 半胱氨酸 (97%, by mass, Sigma-Aldrich); 铁酞菁 (FePc, > 90%, by mass, Sigma-Aldrich). 以上试剂未提纯处理, 且溶液均由去离子水配制. 透射电子显微镜 (加速电压 200 kV, Tecnai, FEI); X 射线能谱仪 (X-Max T80, Oxford Instruments); CHI 630B 电化学工作站 (上海辰华).

1.2 电极制备

取 0.3 μm 及 0.05 μm 的 Al_2O_3 粉末悬浮液依次抛光玻碳基底 ($\phi = 3.5 \text{ mm}$), 并在去离子水、无水乙醇、去离子水中依次超声清洗 3 次, 氮气吹干.

采用优化后配比将 0.5 mg N-G 及 0.1 mg FePc 加入 600 μL DMF, 超声 1 h 得 FePc/N-G 分散液. 取 2.5 μL 修饰于预处理玻碳基底上, 红外灯烤干

(FePc/N-G/GC 电极).

1.3 电化学表征

以饱和甘汞(SCE)为参比电极、铂为对电极,在 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 溶液中组成三电极体系进行电化学测试,实验体系通氮除氧.

2 结果与讨论

2.1 铁酞菁/氮掺杂石墨烯表征

铁酞菁/氮掺杂石墨烯(FePc/N-G)、未负载的氮掺杂石墨烯(N-G)的 TEM 照片如图 1 所示.从 A 图可以看出氮掺杂石墨烯表面负载着铁酞菁的微小颗粒,FePc/N-G 的 EDS 分析(C 图)证实了该复合材料中铁、氮元素的存在,进一步证明通过简单的超声混合,可利用铁酞菁和氮掺杂石墨烯间的 π - π 相互作用,将铁酞菁负载到氮掺杂石墨烯上.

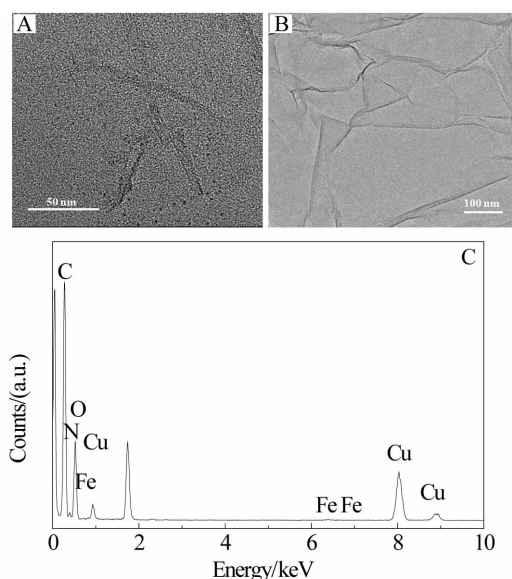


图 1 铁酞菁/氮掺杂石墨烯(A)和氮掺杂石墨烯(B)复合物的 TEM 谱图;C. 铁酞菁/氮掺杂石墨烯的 EDS 谱图

Fig. 1 TEM images of FePc/N-G (A) and N-G hybriide (B); C. EDS image of FePc/N-G hybriide

2.2 半胱氨酸在铁酞菁/氮掺杂石墨烯修饰电极上的电化学氧化研究

图 2A 所示为铁酞菁修饰电极(FePc/GC 电极)、氮掺杂石墨烯修饰电极(N-G/GC 电极)及复合物 FePc/N-G/GC 电极在氮气饱和的 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 溶液中的循环伏安曲线.从对比中可以看出,氮掺杂石墨烯电极对半胱氨酸基本无电化学

响应信号,而铁酞菁电极的响应电流也十分微弱,将两者混合后修饰的电极对半胱氨酸的响应信号大大增强,在 -0.11 V 左右有明显氧化峰.这可能是由于单纯的铁酞菁与电极表面间的电子传递很大程度上依赖于电极表面的光滑度,一般纯金属酞菁做电化学传感时会使用玻璃碳圆盘电极(Vitreous Carbon Disk Electrode)^[15,17],这种电极较普通的玻碳电极表面更平整,以利金属酞菁与电极表面的接触与电子传递,因此直接用铁酞菁修饰的玻碳电极传感效果并不理想.而将铁酞菁负载于氮掺杂石墨烯上,借助基质良好的导电性大大提高了体系的电子传递速率,使其不易受到外界条件的干扰,显著提高了传感体系的响应信号及重现性.此外,氮掺杂石墨烯大的比表面积也使得材料分散性好,FePc/N-G 的活性位点增多,并得到更有效的利用.图 2B 为 FePc/N-G/GC 修饰电极在氮气饱和的 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 溶液中,不同半胱氨酸含量下的循环伏安曲线.当溶液中不存在半胱氨酸时,FePc/N-G/GC 的循环伏安中可观察到两对氧化还原峰,分别在 -0.65 V 和 -0.11 V 附近,对应 Fe(II)/Fe(I)和 Fe(III)/Fe(II)两对电对^[18].随着底液中半胱氨酸浓度的增大,Fe(III)/Fe(II)电对位置附近的氧化峰电流也逐渐增大,证实了该电极对半胱氨酸有较好的电化学响应.同时说明在该体系中半胱氨酸的氧化和 Fe(III)Pc/Fe(II)Pc 相关^[19],即 Fe(II)Pc 先被氧化成 Fe(III)Pc,随后将待测物半胱氨酸氧化,并重新产生 Fe(II)Pc.

图 3A 给出 FePc/N-G/GC 电极在含 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 半胱氨酸的 NaOH 溶液($0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)中的循环伏安曲线,随着扫速增大,其峰电流值不断增大,且峰电流值与扫速平方根呈线性关系(图 3B),这说明半胱氨酸的电化学氧化受扩散控制.

2.3 半胱氨酸定量检测

FePc/N-G/GC 电极对不同浓度半胱氨酸的计时安培电流曲线如图 4A 所示.从图中可以看出,当半胱氨酸浓度达到 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, i - t 曲线上可观察到明显的电化学响应信号.约 5 s 可达稳态电流的 90%,响应迅速,说明在 FePc/N-G/GC 电极上可实现半胱氨酸的快速电化学氧化,从而实现其浓度的快速检测.在半胱氨酸浓度 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \sim 14 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内,电流与浓度呈线性关系(图 4B),线性方程: $i(\mu\text{A}) = 0.007C(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}) - 2.7$,线性相关系数 0.998,灵敏度 $76.9 \mu\text{A} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,

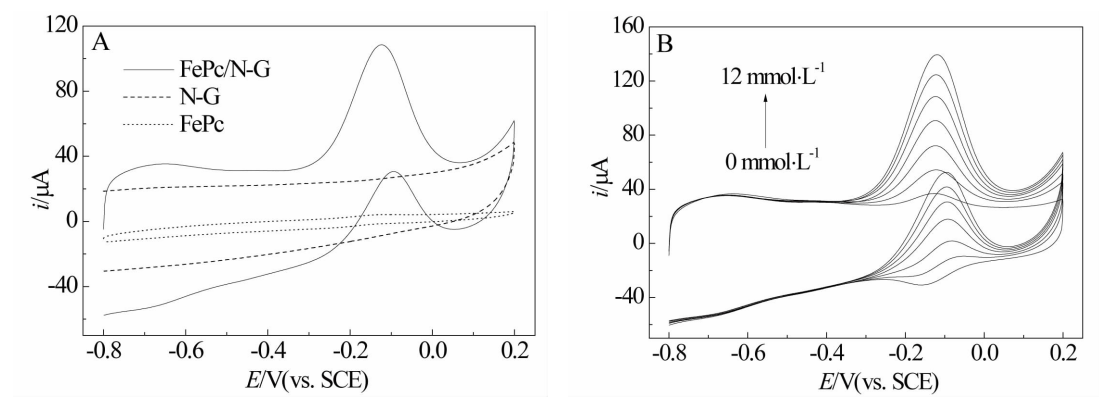


图 2 A. 在含 8 mmol·L⁻¹ 半胱氨酸的 0.1 mol·L⁻¹ NaOH 溶液中 FePc/GC、N-G/GC、及 FePc/N-G/GC 电极的循环伏安曲线；
B. 0.1 mol·L⁻¹ NaOH 溶液中 FePc/N-G/GC 电极在不同浓度半胱氨酸下的循环伏安曲线 $C_{\text{L-cysteine}}/(\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1})$: 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12; 扫描速率: 100 mV·s⁻¹

Fig. 2 Cyclic voltammograms of FePc/GC (dotted line), N-G/GC (dashed line) and FePc/N-G/GC (solid line) electrodes in 0.1 mol·L⁻¹ NaOH solution containing 8 mmol·L⁻¹ L-cysteine (A); Cyclic voltammograms of FePc/N-G/GCE in 0.1 mol·L⁻¹ NaOH solution in the presence of various concentrations of L-cysteine (B, $C_{\text{L-cysteine}}/(\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1})$: 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12; scan rate: 100 mV·s⁻¹)

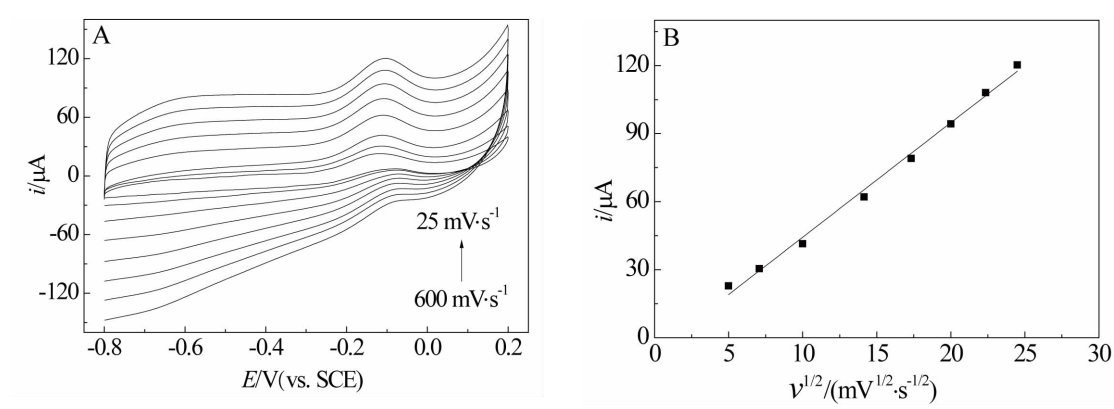


图 3 A. FePc/N-G/GC 电极在 4 mmol·L⁻¹ 半胱氨酸的 NaOH 溶液 (0.1 mol·L⁻¹) 中不同扫速下的循环伏安曲线 ($v/(\text{mV}\cdot\text{s}^{-1})$: 25, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600); B. 相应 $i-v^{1/2}$ 曲线

Fig. 3 A. CV curves of FePc/N-G/GC electrode in 0.1 mol·L⁻¹ NaOH with 4 mmol·L⁻¹ L-cysteine at different scan rates ($v/(\text{mV}\cdot\text{s}^{-1})$: 25, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600); B. the corresponding $i-v^{1/2}$ curve

检测限为 25 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. 该传感器相较于报道的类似材料具有制备简单、线性范围宽等优势,灵敏度也与文献值相当^[13, 15]. FePc/N-G/GC 电极重现性较好,采用不同的修饰电极对 2 mmol·L⁻¹ 半胱氨酸进行电化学测试,响应信号的相对标准偏差为 3.9%. 将该传感器进一步用于实际样品分析,在稀释后的健康人体尿样中加入已知浓度的半胱氨酸,可得到相应的电流响应信号,回收率为 93%~127%. 说明该传感器抗干扰能力较强,条件优化后

可用于实际样品中半胱氨酸含量的测定.

3 结 论

采用简便的方法将 FePc/N-G 复合纳米材料修饰于玻碳电极表面,制备半胱氨酸传感电极. FePc/N-G/GC 电极的半胱氨酸传感电流 i 与其浓度 C (50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ~14 mmol·L⁻¹) 呈线性关系, $i(\mu\text{A}) = 0.007C(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}) - 2.7$, 线性相关系数 0.998, 优于 FePc/GC 修饰电极,表明氮掺杂石墨烯载体负载催化剂可有效提高对半胱氨酸的电化学传感性能.

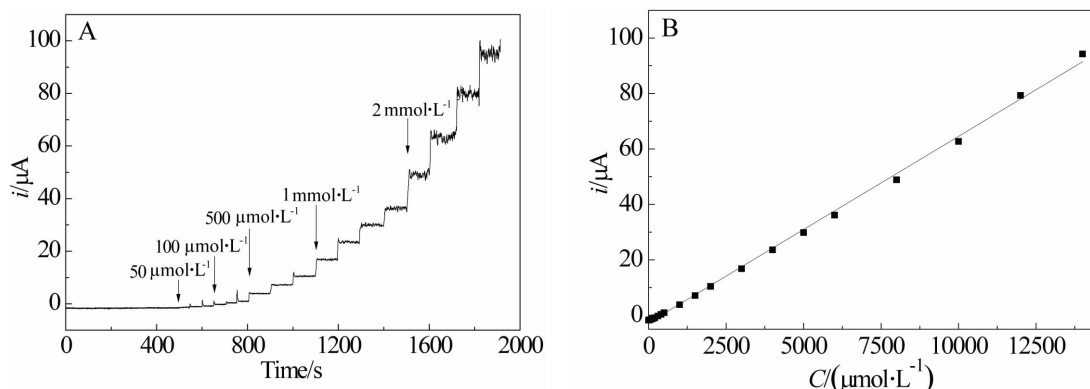


图 4 FePc/N-G/GC 电极的半胱氨酸电流-时间响应曲线(A)及相应 i - C 曲线(B)

Fig. 4 Amperometric response of FePc/N-G/GC electrode to successive additions of L-cysteine (A); the calibration curve of oxidation current and concentration of L-cysteine at $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOH at FePc/N-G/GCE

参考文献 (References):

- [1] Ruiz-Diaz J, Torriero A, Salinas E, et al. Enzymatic rotating biosensor for cysteine and glutathione determination in a FIA system[J]. *Talanta*, 2006, 68(4): 1343-1352.
- [2] Obirai J, Nyokong T. Thiol oxidation at 2-mercaptopyrimidine-appended cobalt phthalocyanine modified glassy carbon electrodes[J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2007, 600(2): 251-256.
- [3] Silva F, Silva M, Lima P, et al. A very low potential electrochemical detection of L-cysteine based on a glassy carbon electrode modified with multi-walled carbon nanotubes/gold nanorods[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2013, 50: 202-209.
- [4] Stone C, Cardoso M, Davis J. A mechanistic evaluation of the amperometric response of reduced thiols in quinone mediated systems[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2003, 491(2): 203-210.
- [5] Pereira-Rodrigues N, Cofre R, Zagal J, et al. Electrocatalytic activity of cobalt phthalocyanine CoPc adsorbed on a graphite electrode for the oxidation of reduced L-glutathione (GSH) and the reduction of its disulfide (GSSG) at physiological pH[J]. *Bioelectrochemistry*, 2007, 70(1): 147-154.
- [6] Hayes J, McLellan L. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress[J]. *Free Radical Research*, 1999, 31(4): 273-300.
- [7] Baldrianova L, Agrafiotou P, Svancara I, et al. The determination of cysteine at Bi-powder carbon paste electrodes by cathodic stripping voltammetry [J]. *Electrochemistry Communications*, 2008, 10(6): 918-921.
- [8] Bayle C, Siri N, Poinot V, et al. Analysis of tryptophan and tyrosine in cerebrospinal fluid by capillary electrophoresis and "ball lens" UV-pulsed laser-induced fluorescence detection[J]. *Journal of Chromatography A*, 2003, 1013(1/2): 123-130.
- [9] Lima P, Santos W, Oliveira A, et al. Electrocatalytic activity of 4-nitrophthalonitrile-modified electrode for the L-glutathione detection[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2008, 47(4/5): 758-764.
- [10] Chwatko G, Bald E. Determination of cysteine in human plasma by high-performance liquid chromatography and ultraviolet detection after pre-column derivatization with 2-chloro-1-methylpyridinium iodide[J]. *Talanta*, 2000, 52(3): 509-515.
- [11] Yuan B, Zeng X, Xu C, et al. Electrochemical modification of graphene oxide bearing different types of oxygen functional species for the electro-catalytic oxidation of reduced glutathione original[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2013, 184: 15-20.
- [12] Pang H, Shi Y, Du J, et al. Porous nickel oxide microflowers synthesized by calcination of coordination microflowers and their applications as glutathione electrochemical sensor and supercapacitors[J]. *Electrochimica Acta*, 2012, 85: 256-262.
- [13] Zagal J, Griveau S, Silva J, et al. Metallophthalocyanine-based molecular materials as catalysts for electrochemical reactions[J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2010, 254(23/24): 2755-2791.
- [14] Zagal J, Griveau S, Santander-Nellia M, et al. Carbon nanotubes and metalloporphyrins and metallophthalocyanines-based materials for electroanalysis[J]. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, 2012, 16(7/8): 713-740.
- [15] Griveau S, Gulppi M, Pavez J, et al. Cobalt phthalocya-

- nine-based molecular materials for the electrocatalysis and electroanalysis of 2-mercaptoethanol, 2-mercaptoethanesulfonic acid, reduced glutathione and l-cysteine [J]. *Electroanalysis*, 2003, 15(9): 779-785.
- [16] Tu W, Lei J, Jian G, et al. Noncovalent assembly of Pick et-Fence porphyrins on nitrogen-doped carbon nanotubes for highly efficient catalysis and biosensing[J]. *Chemistry-A European Journal*, 2010, 16(13): 4120-4126.
- [17] Griveau S, Gulppi M, Bediouia F, et al. Electropolymerized cobalt macrocomplex-based films for thiols electro-oxidation: Effect of the film formation conditions and the nature of the macrocyclic ligand[J]. *Solid State Ionics*, 2004, 169(1/4): 59-63.
- [18] Lezna R, Juanto S, Zagal J. Spectroelectrochemical studies of tetrasulfonated metallophthalocyanines adsorbed on the basal plane of graphite in the presence of cysteine[J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 1998, 452(2): 221-228.
- [19] Ozoemena K, Nyokong T. Comparative electrochemistry and electrocatalytic activities of cobalt, iron and manganese phthalocyanine complexes axially co-ordinated to mercaptopyridine self-assembled monolayer at gold electrodes[J]. *Electrochimica Acta*, 2006, 51(13): 2669-2677.

Electrochemical Detection of L-cysteine Based on Iron Phthalocyanine/Nitrogen-Doped Graphene Modified Electrodes

XIAO Jing-jing, XU Hui-ying, XU Li, LIU Bao-hong*

(*Department of Chemistry, and State Key Lab of Molecular Engineering of Polymers, Fudan University, Shanghai 200433, China*)

Abstract: In this study, we report a facile method to develop FePc/N-G hybrid modified electrode for the detection of L-cysteine. The electrochemical sensor was characterized by cyclic voltammetry and amperometric response. The sensor exhibited a wider linear range with rapid response which has outperformed pure FePc/GCE, highlighting the important role of nitrogen doped graphene as substrate for improving the electrochemical response property.

Key words: iron phthalocyanine; nitrogen-doped graphene; L-cysteine; electrochemical sensor