

纳米金/Nafion/多壁碳纳米管组装电化学 传感器测定槐米中芦丁

李小蓉*, 闫浩, 郭惠*, 龙旭, 刘江涛, 李治, 季丹丹
(陕西中医药大学药学院, 咸阳 712046)

[摘要] **目的:** 采用 Nafion-多壁碳纳米管(MWNTs)修饰玻碳电极,通过恒电位法在其表面电沉积纳米 Au,研制一种新型的、灵敏的芦丁电化学传感器,并用于实际样品中芦丁含量的测定。**方法:** 运用电化学阻抗谱(EIS)和循环伏安法(CV)研究传感器在铁氰化钾-亚铁氰化钾体系中的电化学行为,以探究传感器的电化学性能。采用 CV 法研究芦丁在传感器表面的电化学行为,并优化影响传感器性能的多个因素。采用差分脉冲伏安法(DPV)对芦丁的含量进行测定。**结果:** 当纳米 Au 的沉积电位为 -0.25 V ,沉积时间为 20 s ,缓冲溶液的 pH 为 3.0 ,碳纳米管的用量为 $6\text{ }\mu\text{L}$ 时,芦丁检测的灵敏度最高。该条件下,芦丁浓度在 $5.0 \times 10^{-9} \sim 7.0 \times 10^{-7}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 与还原峰电流呈良好的线性关系,检出限为 $3.6 \times 10^{-9}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。**结论:** 该传感器制作简单,导电性能优良,稳定性好,对芦丁的检测具有较高的灵敏度和较低的检出限。将其用于槐米样品中芦丁含量的测定,回收率介于 $97.6\% \sim 104.4\%$,为芦丁含量的测定提供了一种新的方法,为中药材的质量控制提供了一种新的思路。

[关键词] 电化学传感器;多壁碳纳米管;纳米金;Nafion;芦丁

[中图分类号] R284.2;R289;R22;R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)10-0156-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20201015

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200207.1908.011.html>

[网络出版时间] 2020-02-10 09:10

Detection of Rutin in Sophorae Immaturus Flos with Electrochemical Sensor Assembled with Gold Nanoparticles/Nafion/Multi-wall Carbon Nanotube

LI Xiao-rong*, YAN Hao, GUO Hui*, LONG Xu, LIU Jiang-tao, LI Zhi, JI Dan-dan
(College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China)

[Abstract] **Objective:** A new-type electrochemical sensor was developed by electrodepositing gold nanoparticle on the surface of glassy carbon electrode (GCE) modified by Nafion-multi-wall carbon nanotube (MWNTs) by the potentiostatic method, and used for the detection of rutin in practical samples. **Method:** The electrochemical properties of the sensor in potassium ferricyanide-potassium ferrocyanide system were studied by electrochemical impedance spectroscopy and cyclic voltammetric method, in order to explore the electrochemical performance of the sensor. The electrochemical behavior of rutin on the surface of the sensor was studied by the cyclic voltammetric method, and the factors affecting the performance of the sensor were optimized. The content of rutin was determined by differential pulse voltammetric methods. **Result:** The optimized conditions were -0.25 V of the deposition potential of gold nanoparticle, 20 s of the deposition time, $\text{pH } 3.0$, and $6\text{ }\mu\text{L}$ of $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ carbon nanotube. Under the conditions, a good linear relationship between reduction peak current and rutin concentration was obtained from 5.0×10^{-9} to $7.0 \times 10^{-7}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, and the detection limit was $3.6 \times 10^{-9}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

[收稿日期] 20190920(016)

[基金项目] 陕西中医药大学学科创新团队建设项目(2019-PY02);陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2019JQ-874);陕西省教育厅项目(19JK0232);陕西省高校科协青年人才托举计划项目(20170406);陕西中医药大学自然科学基金培育基金项目(2016PY19)

[通信作者] *李小蓉,硕士,副教授,从事纳米材料的电化学生物传感器的研究工作,Tel:029-38185165,E-mail:lxrmail1979@126.com;

*郭惠,教授,博士,从事天然药物化学研究,E-mail:guohui@sntcm.edu.cn

Conclusion: The developed sensor has a good electrical conductivity and stability, and is highly sensitive and simple for the detection of rutin, with a low detection limit. It has been successfully applied to the detection of rutin in *Sophorae Immaturus Flos* with the recoveries between 97.6% and 104.4%, which provides a new method for the determination of rutin and a new idea for the quality control of Chinese medicinal materials.

[Key words] electrochemical sensor; multi-wall carbon nanotubes; gold nanoparticles; Nafion; rutin

芦丁又名芸香苷、紫槲皮苷,是存在于多种中药材中的一种黄酮类化合物,且含量一般较多。芦丁作为一种黄酮类化合物,可作为中药的有效成分,在临床疾病治疗中起着不可替代的作用。芦丁具有较多方面的药理作用,如其具有良好的抗病毒活性^[1]、抗自由基活性;研究发现芦丁在治疗心脑血管疾病、肾脏疾病^[2]中及抗肿瘤^[3]等方面也表现出其较大的可能性。因而,近年来,更多含有芦丁的制剂被开发并逐步应用于临床,而制剂中芦丁的含量在保证药品质量方面具有重要的作用。目前芦丁的检测方法主要有高效液相色谱法(HPLC)^[4-5],毛细管电泳法^[6],电化学法^[7],荧光分析法^[8]等。其中电化学分析法以其响应速度快、操作简便、分析成本低等广受分析化学领域青睐。

在电化学领域,纳米材料经常被用于修饰电极表面,以提高电极的电催化性、导电性以及选择性^[9-10]。碳纳米管以其较低的成本、优良的导电性及催化作用已被广泛应用于电极修饰^[11-12]。金属纳米包括贵金属纳米(Au, Ag, Pt等),过渡金属纳米(Ni, Cu, Pb等),金属氧化物纳米(Fe_3O_4 , CuO)等。其中贵金属纳米Au以其突出的导电性、稳定性被广泛应用^[13-14]。关于芦丁电化学传感器的研究也经历了较长的时间,并取得了一定的进展,但检测方法的灵敏度和选择性方面仍存在的问题。目前芦丁传感器研究的方向主要是采用新的材料或新的方法以提高检测的灵敏度及选择性。而新材料中纳米材料的应用较多,如ZnO纳米^[15]、碳纳米管^[16]、石墨烯^[17]和 Co_3O_4 纳米^[18]等。尚永辉等^[16]采用多壁碳纳米管修饰碳糊电极,研究了芦丁的电化学行为,对芦丁进行了电化学检测,并在此基础上研究了芦丁与DNA的相互作用。谢丹等^[17]采用滴涂法将石墨烯滴在Au电极表面,并以邻氨基酚为功能单体,芦丁做为模板分子,研制了一种分子印迹膜电化学传感器,实现了对芦丁的电化学检测。

大量实验研究显示,许多纳米材料之间、或纳米材料与其他导电材料之间具有协同作用,利用这一特点制备的复合材料与单一组分相比,会改善原有材料的性能,不仅能够结合各个组分的优势,还能在

协同作用之下显示出更为优越的性能,可进一步提高传感器的响应性能^[19-20]。基于此,本文利用纳米材料之间可能存在的协同关系,采用多壁碳纳米管(MWNTs)和纳米Au复合材料修饰电极,构建了一种导电性能较好、灵敏度高的电化学传感器,该传感器对芦丁有良好电化学响应,可用于实际样品槐米中芦丁的检测,效果理想,为中药中芦丁的检测提供了一种新的思路。

1 材料

CHI660E 电化学工作站(上海辰华仪器有限公司);SG8200H 型超声波清洗机(上海冠特超声仪器有限公司,40 kHz,500 W);pHS-3C 型精密 pH 计(上海日岛科学仪器有限公司);电化学测试运用经典的三电极体系,工作电极为不同材料修饰的玻碳电极(GCE),铂片电极为对比电极,饱和甘汞电极为参比电极。

MWNTs(中国科学院成都有机化学有限公司,纯度 99%),芦丁对照品(北京索莱宝生物科技有限公司,批号 804D0210,纯度 $\geq 98\%$);槐米(*Sophorae Immaturus Flos*)购自陕西兴盛德药业有限责任公司,经陕西中医药大学李敏教授鉴定为正品;0.1% 氯金酸(上海化学试剂有限公司,分析纯);Nafion(1% 乙醇溶液,Aldrich);铁氰化钾、亚铁氰化钾、甲醇、无水乙醇、硫酸锌、磷酸二氢钾(天津市天力化学试剂有限公司,分析纯);硝酸钠(西安化学试剂厂,分析纯);氯化钾(天津市盛奥化学试剂有限公司,分析纯);实验所用其他试剂均为分析纯,实验用水均为二次蒸馏水。

2 实验方法

2.1 GCE/MWNTs/Nafion/Au 修饰电极的制备
修饰电极制备过程如图 1。将 GCE 在麂皮上用 Al_2O_3 粉充分抛光至镜面,然后用二次蒸馏水冲净,晾干备用。精密称取 MWNTs 1 mg,将其分散于 1% Nafion 溶液中。在 70 kHz 条件下,将此溶液超声 90 min,得到分散均匀的 MWNTs/Nafion 溶液。移取该溶液 6 μ L 滴于处理好的玻碳电极上,自然晾干。然后将该电极浸入 0.1% 氯金酸溶液中,在 -0.25 V 电沉积 20 s,得到 GCE/MWNTs/Nafion/Au

修饰电极。

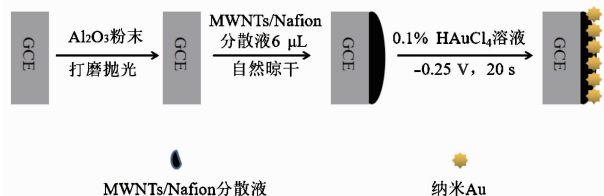


图 1 传感器的制备过程

Fig. 1 Preparation process of the sensor

2.2 修饰电极的电化学表征 以 GCE 为基础,分别构建 GCE/MWNTs/Nafion/Au, GCE/MWNTs/Nafion, GCE/Au 3 种不同的化学修饰电极,以 $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 铁氰化钾 (含 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KCl}$) 溶液为探针通过循环伏安 (CV) 法表征各不同修饰电极的效果,扫描速度为 $0.10 \text{ V} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

2.3 修饰电极阻抗的测定 为了进一步了解各不同修饰电极的导电性能,在 $5.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ K}_3 [\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 和 $5.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ K}_4 [\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (含 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KCl}$) 的溶液中,测定不同电极的阻抗,得到不同修饰电极的电化学阻抗谱 (EIS)。

2.4 实验条件的优化 以 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸盐缓冲溶液 (PBS) 作为电解质溶液, $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 芦丁作为待测液,固定扫描速度为 $0.10 \text{ V} \cdot \text{s}^{-1}$,采用单因素轮换法依次对 PBS 的 pH, 纳米金沉积电位及沉积时间、碳纳米管用量进行选择,以提高传感器的响应性能。

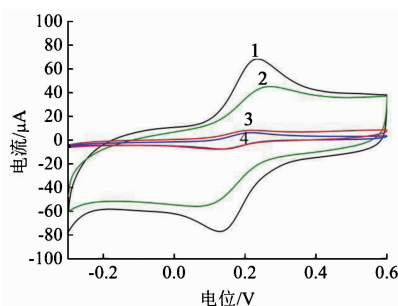
2.5 样品的制备 精密称定槐米 0.1 g , 置于 100 mL 烧杯中,加入甲醇 50 mL 后,称定其质量。然后密封超声处理 ($250 \text{ W}, 25 \text{ kHz}$) 30 min , 放冷,再称重并用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,置于具塞锥形瓶中备用。

2.6 电化学测量 实验中采用三电极体系,以 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PBS 作为底液,在纳米 Au 沉积电位为 -0.25 V , 沉积时间为 20 s , PBS 溶液的 pH 为 3.0 , 碳纳米管的用量为 $6 \mu\text{L}$ 条件下,采用差分脉冲伏安法 (DPV) 测定芦丁含量。

3 结果与讨论

3.1 修饰电极的电化学表征 不同电极在 $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ K}_3 [\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (含 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KCl}$) 溶液中的循环伏安 (CV) 如图 2 所示。曲线 1, 2, 3, 4 分别为 GCE/MWNTs/Nafion/Au 电极, GCE/MWNTs/Nafion 电极, GCE/Au 电极, 裸 GCE 的 CV 图。从图中可以看出,裸 GCE 的峰电流最小; GCE/Au 电极的峰电流较裸 GCE 大,说明纳米 Au 对铁氰

化钾有催化作用,但催化作用较小; GCE/MWNTs/Nafion 电极上峰电流值明显增加,说明和纳米 Au 比较, MWNTs 具有更好的电催化活性和导电性; 而 GCE/MWNTs/Nafion/Au 电极对铁氰化钾的响应最佳。表明和单一的纳米材料相比较,该复合材料的电催化性能更好,充分体现了纳米材料之间良好的协同作用。



曲线 1 ~ 4 的电极分别为 GCE/MWNTs/Nafion/Au, GCE/MWNTs/Nafion, GCE/Au, GCE (图 3 同)

图 2 不同电极上铁氰化钾的循环伏安

Fig. 2 Cyclic voltammograms of $\text{K}_3 [\text{Fe}(\text{CN})_6]$ at different electrodes

3.2 不同修饰电极表面阻抗的测定 不同电极阻抗的测定如图 3。根据阻抗相关原理可知,电化学阻抗谱 (EIS) 中半圆直径的大小即能够表征电极的导电性能,半圆直径越大,阻抗越大,则电极的导电性能越差。从图中曲线可知,纳米材料修饰电极的阻抗小于裸 GCE, 而 GCE/MWNTs/Nafion/Au 电极 (曲线 1) 的阻抗最小,此结果与图 2 分析结果相符合。碳纳米管本身已具有优良导电性, Nafion 试剂使碳纳米管分散较为均匀,在保护电极表面的同时,几乎最大限度发挥玻璃碳电极的导电性能,因此本实验制备的 GCE/MWNTs/Nafion 电极的导电性较好。纳米金作为贵金属虽然有优良的导电性,但其导电性能与其纳米颗粒的形态、大小、厚度均有着紧密的关系。而本实验所采用的沉积条件主要针对 GCE/MWNTs/Nafion 设计,因此有可能造成 GCE/Au 电极导电性较差。GCE/MWNTs/Nafion/Au 电极的导电性最好,说明在所制备的复合材料中, MWNTs 与纳米 Au 两者之间存在较好的协同作用。推测有可能是在此沉积条件下形成的金纳米颗粒大小可以较好落入碳纳米管空格中,增加了电极表面的比表面积,从而使导电性能极大提高。

3.3 芦丁在不同电极上的电化学行为 在同一测定条件下,以 CV 法在相同的参数下测试芦丁在 4 种不同电极上的电化学响应,结果如图 4。和裸

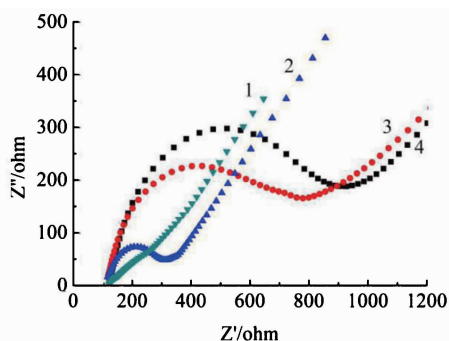


图 3 不同电极的电化学阻抗谱
Fig. 3 Electrochemical impedance spectroscopy of different electrodes

GCE 相比较, 芦丁在 GCE/Au 电极表面的氧化峰电流 (i_{pa}) 和还原峰电流 (i_{pc}) 增加幅度较小; 在 GCE/MWNTs/Nafion 电极表面增加幅度较大, 表明该电极对芦丁的催化作用可观; 而在 GCE/MWNTs/Nafion/Au 电极表面, 电流出现急剧增加的现象, 比 GCE/MWNTs/Nafion 电极提高约 5 倍, 而比裸 GCE 电极提升约 72 倍。这可能是由于 MWNTs 本身具有良好的导电性和较大的比表面积, 使得芦丁的峰电流比裸电极大, 而由于 MWNTs 和纳米 Au 之间具有良好的协同作用, 使得电极的比表面积和反应活性点位进一步增加, 芦丁测定的灵敏度增加较多。说明此纳米复合材料对提升电流值、催化芦丁发生氧化还原反应有较强的作用。因而可认为此纳米复合材料修饰电极对芦丁的电化学响应效果更为理想。

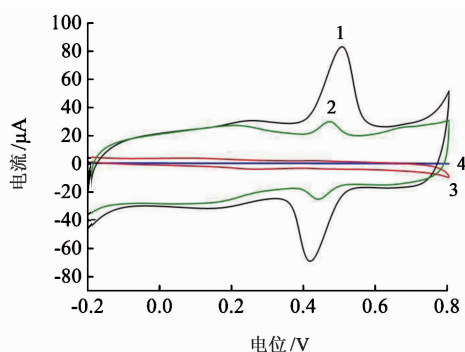
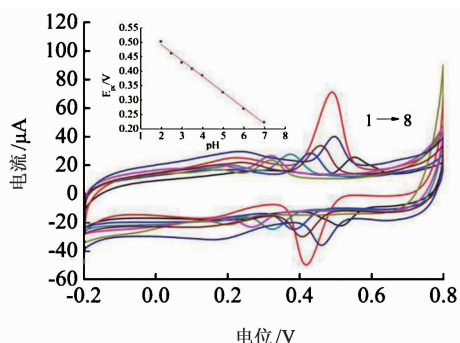


图 4 $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 芦丁在不同电极上的循环伏安
Fig. 4 Cyclic voltammograms of $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ rutin at different electrodes

3.4 实验条件的优化

3.4.1 PBS 缓冲液酸度的选择 芦丁在不同 pH 的 PBS 缓冲溶液的 CV 见图 5。由图可知, 芦丁在不同 pH 情况下的峰电流与峰电位具有一定的规律性, 在此考察还原峰。随着 pH 的变化, 在 GCE/

MWNTs/Nafion/Au 电极上, pH 在 2.0 ~ 3.0 内增加时, 还原峰电流增加迅速, 当 pH = 3.0 时, 还原峰电流达到最大值, 且明显大于其他; 在 pH > 3.0 后, 还原峰电流迅速降低。因此, 本实验选取 PBS pH 3.0 为测定芦丁的最佳条件。图中进一步显示随着 pH 的增大, 峰电位逐渐负移; 内插图表明还原峰电位 E_{pc} -pH 具有良好的线性关系 ($E_{pc} = -0.055 0 \text{ pH} + 0.600 8, r = 0.998 0$), 结合两图能够说明电极反应过程有 H^+ 参与。进一步依据 $E_{pc} = E_0 - 0.059 (m/n) \text{ pH}$ 计算可得 $m/n = 1$, 即可知该电极反应过程为等质子反应过程^[21]。



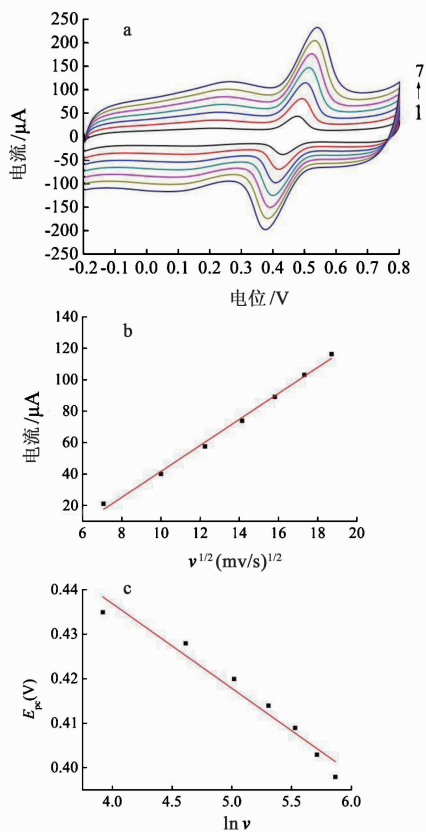
1 ~ 8. 7.0, 6.0, 5.0, 4.0, 3.5, 3.0, 2.5, 2.0; 小图: E_{pc} -pH 的关系

图 5 $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 芦丁在不同 pH 时的循环伏安
Fig. 5 Cyclic voltammograms of $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ rutin at different pH

3.4.2 扫描速度对芦丁电化学行为影响 研究扫描速度对电化学行为的影响是探究电极表面反应机制行之有效的手段之一。本实验以缓冲溶液 PBS (pH 3.0) 为介质, 在 -0.2 ~ 0.8 V 扫描 CV 图, 考察扫描速度分别为 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 $\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$ 时, 对芦丁的氧化还原峰的影响, 以此探究芦丁在 GCE/MWNTs/Nafion/Au 电极表面的反应机制, 结果如图 6。由图 6a 可见, 随着扫描速度增大, 芦丁的氧化峰逐渐正移, 还原峰逐渐负移, 即两峰的电位差 ΔE_p 逐渐变大, 说明芦丁在电极表面的氧化还原反应可逆性逐渐变差, 这一点是不利于测定的; 但氧化峰电流与还原峰电流却逐渐增加, 因此综合考虑, 实验中采用 $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ 进行接下来的测定。

对数据进行分析发现, 扫描速度的平方根 $v^{1/2}$ 与还原峰电流 (i_{pc}) 存在正比例关系 ($i_{pc} = 8.92 v^{1/2} - 39.18, r = 0.998 6$), 如图 6b 所示, 因此芦丁在电极表面的电化学反应是受扩散控制的。另外, 还原峰电位 E_{pc} 与 $\ln v$ 两者之间存在良好线性关系 ($E_{pc} = -0.027 7 \ln v + 0.540 9, r = 0.981 4$)。符合公式^[18]:

$E_{pc} = E^0 - \frac{RT}{\alpha n F} \ln v$, 假定 $\alpha = 0.5$, 可以计算得知 $n \approx 2$, 即可说明在电极表面芦丁的还原反应过程中有两个电子的参与。



1 ~ 7.50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 $\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$
图 6 $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 芦丁在不同扫描速度下的循环伏安 (a), $i_{pc} - v^{1/2}$ 关系 (b) 和 $E_{pc} - \ln v$ 关系 (c)

Fig. 6 Cyclic voltammograms of $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ rutin at different scan rates (a), relationship between reduction peak current with the square root of scan rate (b) and reduction peak potential with scan rate (c)

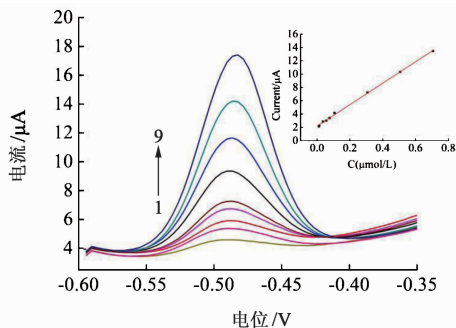
3.4.3 沉积电位的选择 沉积电位的选择直接影响着纳米 Au 颗粒在电极表面的形态、大小, 从而对电流响应产生重大影响, 因而对电位的选择至关重要。实验中采用 CV 法, 在 -0.15 V 到 -0.35 V 的电位范围, 研究电位与芦丁还原电流之间可能存在的联系。结果表明随着沉积电位的降低, 芦丁 i_{pc} 也逐渐增大, 在 -0.25 V 达到最大值, 随着沉积电位的进一步降低, 还原电流又逐渐减小。表明在选择电位范围内 -0.25 V 效果最佳, 故本实验采用 -0.25 V 沉积 Au 制备修饰电极, 并取得较好的结果。

3.4.4 沉积时间的选择 纳米 Au 颗粒具有良好的导电性, 在一定沉积时间内利于提高峰电流, 但是若沉积过久而造成 Au 纳米膜偏厚, 则有可能造成

相反效果, 因此制备修饰电极应将沉积时间考虑在内。本实验采用 CV 法, 分别研究了沉积时间为 10, 15, 20, 25, 30 s 条件下, 所制备电极对芦丁的还原电流的响应情况。结果发现随着沉积时间的延长, 芦丁还原电流逐渐增大, 在 20 s 达到最大值, 随后又逐渐减小。故本实验采用 20 s 沉积 Au 制备修饰电极。

3.4.5 碳纳米管用量的选择 MWNTs 用量是影响修饰膜厚度的主要因素, 与响应电流值存在一定关系。因此对其用量进行考察并选取最佳用量。本实验选择滴涂量为 2, 4, 6, 8, 10 μL 梯度, 考察芦丁还原峰电流与用量的关系。结果表明当碳纳米管的滴涂量为 6 μL 时, 芦丁的响应电流值达到最大, 因此实验中选定 MWNTs 的用量为 6 μL 。

3.5 芦丁的电化学测定 在控制实验条件均为最理想的情况下, 采用 DPV 法对不同浓度的芦丁进行电化学测定。实验中选取芦丁浓度分别为 5.0×10^{-9} , 7.0×10^{-9} , 3.0×10^{-8} , 5.0×10^{-8} , 7.0×10^{-8} , 1.0×10^{-7} , 3.0×10^{-7} , 5.0×10^{-7} , $7.0 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 结果如图 7, 可见在一定范围, 随着芦丁浓度的增加, 电流值也呈现递加的趋势。进行还原峰电流对芦丁浓度的线性拟合, 得到芦丁检测的线性回归方程为 $i_{pc} (\mu\text{A}) = 16.1c (\mu\text{M}) + 1.94$ ($r = 0.9991$), 线性范围为 $5.0 \times 10^{-9} \sim 7.0 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 检出限 ($S/N = 3$) 为 $3.6 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。和其他的已报道的芦丁传感器相比较, 本方法具有较高的灵敏度。



小图. 还原峰电流与芦丁浓度的线性关系; 1 ~ 9. 5.0×10^{-9} , 7.0×10^{-9} , 3.0×10^{-8} , 5.0×10^{-8} , 7.0×10^{-8} , 1.0×10^{-7} , 3.0×10^{-7} , 5.0×10^{-7} , $7.0 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

图 7 不同浓度芦丁的差分脉冲伏安曲线
Fig. 7 Differential pulse voltammograms of rutin with different concentrations

3.6 重现性、稳定性、干扰性实验 电极的重现性和稳定性也是决定电极应用性能的重要因素, 因而实验中对此进行了考察。每次测定芦丁后将该电极

放在 PBS (pH 3.0) 中,采用循环伏安法在电位区间 -1.0 ~ 1.0 V 扫描 10 圈,以清理电极表面物质。配制 $5.0 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 芦丁,并用所选择电极,用 DPV 法以同样的参数进行 10 次重复测定,得到 RSD 为 3.4%。用相同手法,同时段制作 3 支修饰电极,测定结果的 RSD 为 2.3%,表明该电极的重现性较好。将电极在室温下放置 15 d 后测定,还原电流为最初的 96%。结果显示该电极的稳定性良好。

在实际样品分析中,未知物质的干扰几乎不可避免,故考察了一些可能存在的物质对芦丁含量测定的影响。研究发现,当芦丁 i_{pc} 测量误差小于 5% 时,选取 200 倍无机离子(硝酸根离子、银离子、锌离子等)存在的条件下进行测定,确定基本对测定无影响;另选取一些常见有机物及生物分子,如 100 倍浓度葡萄糖($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$),尿酸(UA),多巴胺(DA)等做测试,同样证明了这些对芦丁测定几乎无干扰。表明该电极的抗干扰能力较强。

3.7 槐米中芦丁的检测 精确移取芦丁提取液 10 μL ,用 pH 3.0 的 PBS 稀释 1 万倍,取稀释液 10 mL,用 DPV 法进行 3 次平行测定,测定结果为 22.8%,符合 2015 年版《中国药典》“按干燥品计算,槐米含无水芦丁($\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$)不得少于 20%”规定。然后向其中加入一定量的芦丁对照溶液,采用 DPV 法测定含量并计算回收率,测定结果如表 1,回收率为 97.6% ~ 104.4%,表明该方法准确度较高,可用于芦丁含量的测定。

表 1 样品中芦丁加标回收率的测定

Table 1 Determination of recovery of rutin in sample

| No. | 加入量/ $\times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ | 测得量/ $\times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ($n = 3$) | 回收率/ % | RSD/ % |
|-----|--|---|-----------|-----------|
| 1 | 0 | 0.757 | - | 2.6 |
| 2 | 2 | 2.708 | 97.6 | 1.7 |
| 3 | 3 | 3.847 | 103.0 | 2.4 |
| 4 | 4 | 4.935 | 104.4 | 2.9 |

芦丁是槐米等中药材的主要成分,具有降低毛细血管通透性、抗氧化、抗炎、抗病毒、抑制醛糖还原酶等作用。因此,对芦丁含量的测定,在槐米等含芦丁类中药材的质量标准方面具有重要意义。本实验以滴涂法制备了简单的碳纳米管-Nafion 修饰电极,通过进一步在碳纳米管-Nafion 上电沉积纳米 Au,构建了 GCE/MWNTs/Nafion/Au 传感器,对芦丁含量进行了检测,检测芦丁的线性范围为 $5.0 \times$

$10^{-9} \sim 7.0 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,检出限为 $3.6 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。对槐米样品中芦丁测定的回收率为 97.6% ~ 104.4%,RSD 为 1.7% ~ 2.9%。表明该传感器制作简单,具有良好的导电性和较大的比表面积,对芦丁有较好的电催化作用。能够检测较宽浓度范围的芦丁,并且灵敏度高,检出限较低,可应用于实际样品中芦丁含量的分析测定。本研究为药物中芦丁含量的测定提供了一种新的方法,为药物的质量控制提供了一种新的技术支持。

[参考文献]

[1] 王艳芳,王新华,朱宇同,等. 芦丁对甲型流感病毒抑制作用实验研究[J]. 中医学杂志,2005,23(5):827.

[2] 苗建红,白静,李响,等. 芦丁对 2 型糖尿病大鼠糖脂代谢及肾功能的影响[J]. 中药药理与临床,2014,30(6):48-51.

[3] 李琪,任立群,王亚帝,等. 芦丁联合奥沙利铂对人胃癌 SGC-7901 细胞增殖及凋亡的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学,2017,22(10):10991105.

[4] 魏梅,朱德全,陈向东,等. 梅花配方颗粒中 4 种黄酮类成分含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(14):49-51.

[5] 彭亮,李诒光,陈杰,等. HPLC 测定不同产地、不同品种绞股蓝中芦丁和槲皮素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(6):45-47.

[6] CHEN G, ZHANG J, YE J. Determination of puerarin, daidzein and rutin in *Pueraria lobata* (Wild.) Ohwi by capillary electrophoresis with electrochemical detection [J]. J Chromatogra A, 2001, 923(1):255-262.

[7] 郑艳洁,陈伟,刘爱林,等. 聚刚果红修饰电极直接测定槐米中芦丁[J]. 分析科学学报,2013,29(4):469-472.

[8] 翁文婷,韩吉玉,雷健. 电解刻蚀法制备荧光碳点探针用于测定芦丁片中芦丁[J]. 分析实验室,2018,37(11):1247-1252.

[9] MADURAVEERAN G, SASIDHARAN M, GANESAN V. Electrochemical sensor and biosensor platforms based on advanced nanomaterials for biological and biomedical applications [J]. Biosens Bioelectron, 2018, 103:113-129.

[10] WANG X, NAN F X, ZHAO J L, et al. A label-free ultrasensitive electrochemical DNA sensor based on thin-layer MoS_2 nanosheets with high electrochemical activity [J]. Biosens Bioelectron, 2015, 64:386-391.

[11] NEZHADALI A, SENOBARI S, MOJARRAB M. 1, 4-dihydroxyanthraquinone electrochemical sensor based on molecularly imprinted polymer using multi-walled carbon

- nanotubes and multivariate optimization method [J]. *Talanta*, 2016, 146:525-532.
- [12] WANG Y T, WANG S, LI T, et al. A disposable electrochemical sensor for simultaneous determination of norepinephrine and serotonin in rat cerebrospinal fluid based on MWNTs-ZnO/chitosan composites modified screen-printed electrode [J]. *Biosens Bioelectron*, 2015, 65:31-38.
- [13] WANG M X, SHI Y F, ZHANG Y B, et al. Sensitive electrochemical detection of bisphenol A using molybdenum disulfide/Au nanorod composites modified glassy carbon electrode [J]. *Electroanalysis*, 2017, 29 (11):2620-2627.
- [14] ZHANG R Y, ZHANG Y, DENG X L, et al. A novel dual-signal electrochemical sensor for bisphenol A determination by coupling nanoporous gold leaf and self-assembled cyclodextrin [J]. *Electrochimica Acta*, 2018, 271:417-424.
- [15] 顾玲, 闫璟, 柯苗, 等. 芦丁在聚大黄素/纳米氧化锌修饰碳糊电极上的电化学行为研究 [J]. *化学研究与应用*, 2017, 29(10):1476-1482.
- [16] 尚永辉, 刘彬, 古元梓. 木犀草素在多壁碳纳米管修饰碳糊电极上的电化学行为及其与 DNA 相互作用 [J]. *分析实验室*, 2016, 35(5):549-552.
- [17] 谢丹, 龙立平, 刘蓉, 等. 基于石墨烯分子印迹电化学传感器测定芦丁 [J]. *分析科学学报*, 2017, 33(4):545-548.
- [18] 王明艳, 张东恩, 马卫兴, 等. 新型花状纳米四氧化三钴修饰玻碳电极对芦丁的电催化氧化及其测定 [J]. *分析化学*, 2010, 38(10):1388-1392.
- [19] ZHANG Y, SHOAIB A, LI J J, et al. Plasmon enhanced photoelectrochemical sensing of mercury (II) ions in human serum based on Au@Ag nanorods modified TiO₂ nanosheets film [J]. *Biosens Bioelectron*, 2016, 79:866-873.
- [20] CUI M, HUANG J D, WANG Y, et al. Molecularly imprinted electrochemical sensor for propyl gallate based on PtAu bimetallic nanoparticles modified graphene-carbon nanotube composites [J]. *Biosensors Bioelectron*, 2015, 68:563-569.
- [21] 周艳丽, 申菲菲, 杨志冲, 等. 阿昔洛韦在硼掺杂金刚石电极上的电化学行为及其与 DNA 相互作用的研究 [J]. *分析测试学报*, 2011, 30(10):1148-1152.
- [22] 黄玉斌, 严春荣, 王齐. 半胱氨酸/纳米金修饰电极差分脉冲伏安法测定芦丁 [J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(4):143-147.
- [23] 伍远辉, 刘焱, 罗宿星, 等. 离子液体/氧化石墨烯修饰电极测金樱子中芦丁 [J]. *广州化工*, 2018, 46(17):83-85.

[责任编辑 顾雪竹]