

文章编号: 1000-7032(2018)07-1024-05

CdSe/ZnS 电化学发光法测定去甲肾上腺素

田 利*, 赵 越, 汪雪融, 吴可欣, 齐艳娟, 李天娇, 陈瑞战

(长春师范大学 化学学院, 吉林 长春 130032)

摘要: 以巯基丙酸为稳定剂制备了水溶性 CdSe/ZnS 量子点, 并采用滴涂法制备了 CdSe/ZnS 修饰的金电极 (CdSe/ZnS/GE), 研究其电化学发光 (ECL) 性质, 考察了 pH、CdSe/ZnS 浓度、扫描速度、静置时间等实验条件对 ECL 强度的影响。结果表明, 在碱性溶液中, 去甲肾上腺素 (NE) 在鲁米诺溶液中对 CdSe/ZnS 的电化学发光信号有明显的增敏作用, 由此建立了一种检测去甲肾上腺素的新方法。当去甲肾上腺素的浓度 (C_{NE}) 在 $2.3 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-8}$ mol/L 范围内时, 去甲肾上腺素的浓度与相对电化学发光强度呈现良好的线性关系。线性回归方程为 $\Delta I_{ECL} = 118.788C_{NE} - 15.333$ ($R = 0.9944$), 最低检测限 ($S/N = 3$) 为 0.33×10^{-8} mol/L。

关键词: 巯基丙酸; CdSe/ZnS 量子点; 电化学发光; 去甲肾上腺素

中图分类号: O657 文献标识码: A DOI: 10.3788/fgxb20183907.1024

Electrochemiluminescent Determination of Norepinephrine by CdSe/ZnS Quantum Dot Modified Gold Electrode

TIAN Li*, ZHAO Yue, WANG Xue-rong, WU Ke-xin, QI Yan-juan, LI Tian-jiao, CHEN Rui-zhan

(College of Chemistry, Changchun Normal University, Changchun 130032, China)

* Corresponding Author, E-mail: tianli308cc@163.com

Abstract: Mercaptopropionic acid capped CdSe/ZnS quantum dots (QDs) were synthesized in aqueous solution. The CdSe/ZnS QDs modified gold electrode was prepared. The electrochemical luminescence of this modified electrode was studied. Several experiment factors, such as pH of buffer solution, the concentration of CdSe/ZnS QDs, scan rate and rest time were selected. The results show that the CdSe/ZnS modified electrode has an obvious ECL signal of luminol systems in alkaline media, and norepinephrine can enhance electrochemical luminescence (ECL) signal of the luminol system. Based on these, a novel electrochemical luminescence method for the determination of norepinephrine was developed. Under the optimum conditions, ECL intensities had good linearity with the concentration of norepinephrine and the linear range was widely extended from $2.3 \times 10^{-5} - 1.0 \times 10^{-8}$ mol/L. The linear regression equation is $\Delta I_{ECL} = 118.788C_{NE} - 15.333$, and the correlation coefficient was 0.9944. The detection limit is 0.33×10^{-8} mol/L.

Key words: mercaptopropionic acid; CdSe/ZnS quantum dot; electrochemical Luminescence (ECL); norepinephrine (NE)

收稿日期: 2017-11-16; 修订日期: 2017-12-21

基金项目: 吉林省教育“十三五”科学技术研究项目

Supported by Education “13th Five-Year” Science and Technology Research Project of Jilin Province

1 引言

去甲肾上腺素(Norepinephrine, NE),也称正肾上腺素,是人体内的一种重要的神经递质。人体内 NE 的含量变化反映着肢体神经系统植物交感神经的活动状况,可用于治疗低血压、低血糖、心脑血管等疾病,因此在临床和医学基础研究中具有重要意义^[1-3]。目前测定 NE 含量的方法主要有荧光光谱法^[4]、高效液相色谱-串联质谱联用法^[5-6]、毛细管电泳法^[7]、电化学法^[8-10]等。电化学发光法作为一种新兴的分析技术,在药物分析中具有极高的灵敏度。同时该方法与上述方法相比具有仪器操作简便、进样量少、检测限低等优良特性^[11-18]。据我们所知,目前尚未见基于量子点的电化学发光分析法测定 NE 含量的报道。

本文以3-巯基丙酸为稳定剂,合成了水溶性核壳型 CdSe-ZnS 量子点,并将其修饰到金电极表面,研究了在鲁米诺存在的情况下,该电极的 ECL 行为。NE 对阳极的 ECL 行为有明显的增敏作用,并且 ΔECL 与 NE 的浓度呈现明显的线性关系,据此建立了一种测定 NE 含量的新方法。

2 实验

2.1 仪器与试剂

MPI-B 型多参数化学分析测试系统(西安瑞迈分析仪器有限公司),RF-5301PC 双波长荧光分光光度计(日本岛津),TU-1901 双光束紫外-可见分光光度计(北京普析)。采用三电极体系:金电极或 CdSe-ZnS 量子点修饰的金电极作为工作电极,铂电极作为辅助电极,Ag/AgCl 电极作为参比电极。

氯化镉、硒粉(Se)、硼氢化钠(NaBH_4)、3-巯基丙酸(MPA)、去甲肾上腺素、鲁米诺购于阿拉丁公司,醋酸锌、氢氧化钠购于北京化工厂,水为二次蒸馏水。

2.2 CdSe/ZnS 量子点的合成

在装有 2 mL 冰水的三颈瓶中,依次加入 0.3 mmol/L 的硒粉和过量的硼氢化钠,在氮气氛围中搅拌直至得到无色透明的 NaHSe 。将 0.2 mmol/L 氯化镉溶于 100 mL 蒸馏水中,加入 80 μL MPA,用 1 mol/L NaOH 将 pH 调至 9.0 左右,然后将 NaHSe 迅速倒入 CdCl_2 溶液中,回流加热 6 h,得到 CdSe 量子点溶液。

将 0.036 4 g $\text{Zn}(\text{OAc})_2$ 溶于 100 mL 蒸馏水中,

加入 120 μL MPA,用 1 mol/L NaOH 将 pH 调至 9.0,得到乳白色的 $\text{Zn}(\text{OAc})_2$ 溶液,同时配制一定浓度的 Na_2S 溶液,并将 $\text{Zn}(\text{OAc})_2$ 溶液和 Na_2S 溶液快速注入 CdSe 溶液中,回流加热 6 h,将所得溶液离心纯化,即得到 CdSe/ZnS 量子点溶液。

2.3 CdSe/ZnS 修饰电极的制备

将金电极在不同粒度的 Al_2O_3 粉末上抛光成镜面后,分别在二次蒸馏水、无水乙醇中超声清洗 5 min, N_2 吹干备用。将纯化后的 CdSe/ZnS 量子点溶液超声 0.5 h 后,使用微量注射器移取 10 μL CdSe-ZnS 量子点溶液均匀滴涂到金电极表面,置于暗处自然晾干,即制得 CdSe/ZnS 量子点溶液修饰的金电极(CdSe/ZnS/GE),作为工作电极。

2.4 实验方法

紫外吸收光谱实验的波长扫描范围为 350 ~ 600 nm,荧光光谱实验的激发波长为 306 nm,波长扫描范围为 450 ~ 620 nm,狭缝宽度为 2.5 nm。

电化学发光实验在 MPI-B 型多参数化学分析测试系统上进行,三电极体系为:以 CdSe/ZnS/GE 作为工作电极,铂电极为对电极,Ag/AgCl 电极为参比电极。参数设置:光电倍增管高压为 700 V,扫描速率为 0.1 V/s,扫描范围为 0 ~ 1.2 V,溶液测定前用氮气除氧 15 min。

3 结果与讨论

3.1 CdSe/ZnS 量子点的光学性质

将上述方法制备的 CdSe/ZnS 量子点溶液用二次蒸馏水稀释,分别取适量进行光谱表征,如图 1 所示。图 1(a)为 CdSe/ZnS 量子点的紫外-吸收光谱,从图中可以看出 CdSe/ZnS 量子点在 506 nm 处

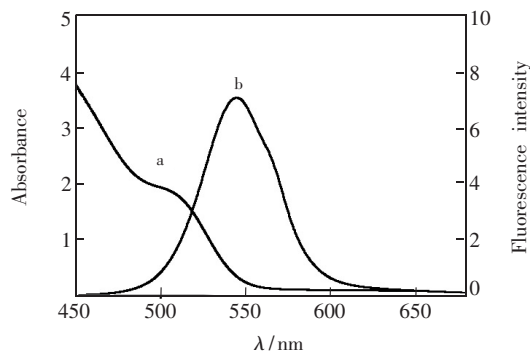


图1 CdSe-ZnS 量子点的紫外-吸收光谱(a)和荧光光谱图(b)

Fig. 1 UV-Vis absorption spectra(a) and fluorescence spectra(b) of CdSe/ZnS QDs

有一个吸收峰。图 1(b) 为 CdSe/ZnS 量子点的荧光光谱, CdSe/ZnS 量子点在 545 nm 处有一明显的荧光发射峰, 半峰宽较窄, 荧光光谱图对称性良好。表明所制备的 CdSe/ZnS 量子点粒径分布均匀。

3.2 不同修饰电极的 ECL 响应

图 2 为不同修饰电极在 pH = 9 的磷酸缓冲溶液与鲁米诺溶液的混合溶液中的 ECL 响应情况。从图中可以看出, CdSe/ZnS 修饰电极(图 2B) 的 ECL 值是裸电极(图 2 A) 的 2 倍, 说明 CdSe/ZnS 成功地修饰到金电极上, 并显示很好的 ECL 响应。加入 1.0×10^{-8} mol/L 的 NE 标准溶液后(图 2 C), 其 ECL 值明显增加, 说明 NE 对该电化学发光体系具有明显的增敏作用, 可以用于后续 NE 含量的测定。

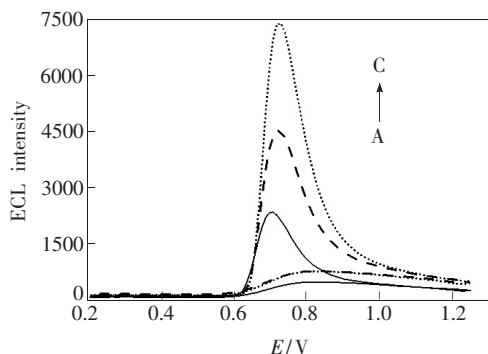


图 2 不同修饰电极的 ECL 响应(A: 裸电极; B: CdSe/ZnS 修饰电极; C: CdSe/ZnS 修饰电极 + 去甲肾上腺素)

Fig. 2 ECL Intensity of different modified electrode (A: bare Au electrode; B: CdSe/ZnS modified Au electrode; C: CdSe/ZnS modified Au electrode + NE)

3.3 实验条件的优化

电化学发光实验对缓冲溶液的酸碱度, CdSe/ZnS 的浓度、扫描速度、静置时间等实验条件进行了优化。

3.3.1 缓冲溶液的酸碱度对 ECL 强度的影响

本实验首先考察了缓冲溶液的酸碱度 (pH = 8 ~ 12) 对 ECL 强度的影响情况。缓冲溶液的酸度范围为 8.0 ~ 10.0, 当缓冲溶液 pH = 9.0 时, ECL 强度达到最大值。因此本实验的最佳酸度值为 9.0。

3.3.2 CdSe/ZnS 的浓度对 ECL 强度的影响

实验考察了 CdSe/ZnS 的浓度对 ECL 强度的影响情况。其中量子点的浓度范围为 $(1.5 \sim 9.0) \times 10^{-6}$ mol/L, 当 $C_{\text{CdSe-ZnS}}$ 为 6.0×10^{-6} mol/L 时, ECL 值达到最大值。因此 CdSe/ZnS 量子点的最佳浓度为 6.0×10^{-6} mol/L。

3.3.3 扫描速度对 ECL 强度的影响

实验考察了扫描速度对 ECL 强度的影响情况, 其中扫描速度的范围为 0.01 ~ 0.2 V/s。当扫描速度为 0.1 V/s 时, 其 ΔECL 值达到最大值。因此本实验的最佳扫描速度为 0.1 V/s。

3.3.4 静置时间对 ECL 强度的影响情况

实验考察了静置时间对 ECL 强度的影响情况, 其中静置时间的范围为 2 ~ 12 min。当静置时间为 8 min 时, 其 ECL 值达到最大值。因此本实验的最佳静置时间为 8 min。

3.4 电化学法及电化学发光法测定去甲肾上腺素 (NE) 的含量

在上述所选的最佳条件下, 以 CdSe/ZnS 修饰电极为工作电极进行 CV 和 ECL 测试, 如图 3 所示。实验结果表明 CV 曲线在 0.147 V 的氧化峰电流随着去甲肾上腺素浓度的不断增加而不断增大, 同时随着去甲肾上腺素浓度的增大, CdSe/ZnS 修饰电极在鲁米诺溶液中的 ECL 强度也逐渐增大。去甲肾上腺素的浓度 (C_{NE}) 与相对电化学发光强度 (ΔI_{ECL}) 在 $2.3 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-8}$ mol/L 浓度范围内呈现良好的线性关系。线性回归方程

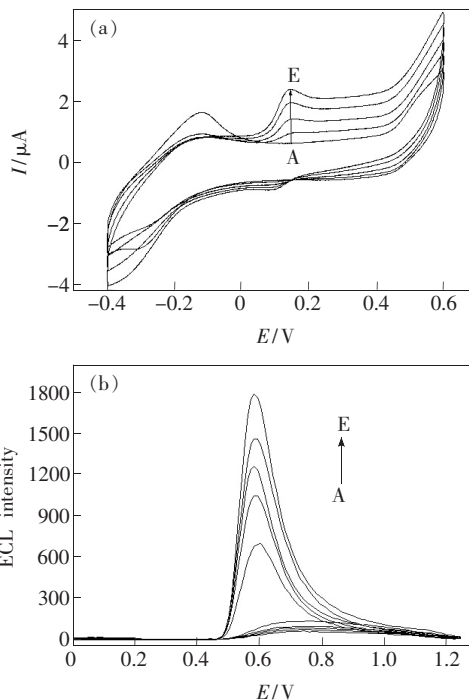


图 3 不同浓度的去甲肾上腺素的电化学 (a) 及电化学发光 (b) 叠加曲线 (A ~ E: $(0 \sim 4.0) \times 10^{-8}$ mol/L)

Fig. 3 CV (a) and ECL (b) spectra of CdSe/ZnS QDs at different concentrations of NE (A ~ E: $(0 \sim 4.0) \times 10^{-8}$ mol/L)

为 $\Delta I_{ECL} = 118.788 C_{NE} - 15.333$ ($R = 0.9944$)。
最低检测限($S/N=3$)为 0.33×10^{-8} mol/L。

3.5 干扰试验

在最佳实验条件下,对 1.0×10^{-8} mol/L NE 标准溶液进行电化学发光测试,在相对误差为 $\pm 5\%$ 以内的情况下,对体系中可能存在的干扰物质进行了测试。结果表明:100 倍的 Mg^{2+} 、 K^+ 、 Al^{3+} 、 Na^+ 、 Ca^{2+} ,50 倍的谷氨酸、色氨酸、甘氨酸等氨基酸,10 倍的葡萄糖、抗坏血酸、尿酸对其均不产生干扰。说明采用电化学发光法测定 NE 的

含量具有很好的选择性。

3.6 实际样品中 NE 的测定

研究了 CdSe/ZnS/GE 对重酒石酸去甲肾上腺素注射液中 NE 含量的测定。准确量取同一空白样品 3 份,按照上述优化的实验条件,加入不同浓度的 NE 标准溶液后做加标回收实验,样品平均测定 5 次,结果发现回收率在 98.2%~104.0% 范围内,RSD 在 1.8%~3.4%,说明该方法可以用于实际样品中 NE 的测定。

表 1 重酒石酸去甲肾上腺素注射液中 NE 含量的测定

Tab.1 Determination of noradrenaline bitartrate injection

样品序号	样品量/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	加标量/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	测得量/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	回收率/%	RSD/%
1	7.6	4.0	11.8	98.2	3.4
2	7.9	4.0	12.1	104	1.8
3	6.8	4.0	11.4	102	2.5

4 结 论

采用水相合成法制备了水溶性 CdSe/ZnS 量子点,制备的 CdSe/ZnS 量子点具有优异的荧光性能。采用滴涂法制备了 CdSe/ZnS 修饰电极 (CdSe/ZnS/GE),研究其电化学发光 (ECL) 性质,

利用电化学发光法测定去甲肾上腺素的含量。该方法具有操作简便、进样量少、灵敏度高等特点。考察了 pH、CdSe/ZnS 浓度、扫描速度、静置时间等实验条件对 ECL 强度的影响。建立了一种检测去甲肾上腺素 (NE) 的新方法。

参 考 文 献:

- [1] 刘迪,王彬,张莉,等. 马齿苋中去甲肾上腺素和多巴胺的测定研究 [J]. 食品科技, 2017, 42(8):296-299.
LIU D, WANG B, ZHANG L, *et al.*. Development of methods for quantitation and confirmation of noradrenaline and dopamine in portulacaoleracea L [J]. *Food Sci.*, 2017, 42(8):296-299. (in Chinese)
- [2] 李梅,陈慧,伍雪巍,等. Nafion 修饰碳纤维微电极在抗坏血酸共存下选择性测定去甲肾上腺素 [J]. 分析测试学报, 2016, 35(6):744-747.
LI M, CHEN H, WU X W, *et al.*. Selective Detection of norepinephrine at nafion modified carbon fiber microelectrode in the presence of ascorbic acid [J]. *J. Instrum. Anal.*, 2016, 35(6):744-747. (in Chinese)
- [3] 李荫,谭学才,梁汝萍,等. 基于双层类脂膜的去甲肾上腺素传感器 [J]. 分析测试学报, 2005, 24(1):53-55.
LI M, TAN X C, LIANG R P, *et al.*. Noradrenalin sensor based on bilayer lipid membrane [J]. *J. Instrum. Anal.*, 2005, 24(1):53-55. (in Chinese)
- [4] 赵燕燕,苏芳,王翠玲,等. 同步扫描-双波长荧光分光光度法同时测定三种儿茶酚胺类神经递质 [J]. 理化检验 (化学分册), 2009, 45(5):497-500.
ZHAO Y Y, SU F, WANG C L, *et al.*. Simultaneous determination of 3 catecholamine neurotransmitters by synchronous scanning-dual wavelength fluorospectrophotometry [J]. *PTCA*, 2009, 45(5):497-500. (in Chinese)
- [5] 王泽民,王玉文,伊晶,等. 高效液相色谱-串联质谱联用法测定人血清中去甲肾上腺素、多巴胺和 5-羟色胺含量 [J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(17):2863-2866.
WANG Z M, WANG Y W, YI J, *et al.*. Determination of norepinephrine, dopamine and 5-hydroxytryptamine content in human serum by HPLC-MS/MS [J]. *Chin. J. Health. Lab Tec.*, 2015, 25(17):2863-2866. (in Chinese)
- [6] 雍莉,王宇,邹晓莉,等. HPLC/MS/MS 同时测定血浆肾上腺素、去甲肾上腺素、可的松和氢化可的松的方法建立 [J]. 四川大学学报(医学版), 2014, 45(1):142-146.

- YONG L, WANG Y, ZOU X L, *et al.*. Simultaneous determination of adrenaline, noradrenaline, cortisone and cortisol in plasma with HPLC/MS/MS [J]. *J. Sichuan Univ. (Med. Sci. Ed.)*, 2014, 45(1):142-146. (in Chinese)
- [7] 胡灿, 陈义. 微米级溶解/扩散进样-毛细管电泳快速分离肾上腺素与去甲肾上腺素 [J]. *高等学校化学学报*, 2015, 36(9):1681-1686.
- HU C, CHEN Y. Dissolution/diffusion-based Injection for fast separation of epinephrine and norepinephrine by short capillary electrophoresis [J]. *Chem. J. Chin. Univ.*, 2015, 36(9):1681-1686. (in Chinese)
- [8] 马心英, 李霞, 石春杰. 用银-色氨酸复合膜修饰玻碳电极循环伏安法测定去甲肾上腺素 [J]. *理化检验(化学分册)*, 2012, 48(6):689-695.
- MA X Y, LI X, SHI C J. Cyclic voltammetric determination of norepinephrine with Ag-tryptophan compound film modified glassy carbon electrode [J]. *PTCA*, 2012, 48(6):689-695. (in Chinese)
- [9] 李梅, 陈慧, 伍雪巍, 等. Nafion 修饰碳纤维微电极在抗坏血酸共存下选择性测定去甲肾上腺素 [J]. *分析测试学报*, 2016, 35(6):744-747.
- LI M, CHEN H, WU X W, *et al.*. Selective detection of norepinephrine at nafion modified carbon fiber microelectrode in the presence of ascorbic acid [J]. *J. Instrum. Anal.*, 2016, 35(6):744-747. (in Chinese)
- [10] 刘晓辰, 陈希明, 李晓伟, 等. L-丝氨酸修饰掺硼金刚石薄膜电极检测去甲肾上腺素 [J]. *人工晶体学报*, 2014, 43(9):2281-2285.
- LIU X C, CHEN X M, LI X W, *et al.*. Detection of norepinephrine with l-serine modified boron-doped diamond electrodes [J]. *J. Synth. Cryst.*, 2014, 43(9):2281-2285. (in Chinese)
- [11] 鲁理平, 许来慧, 康天放, 等. 量子点 CdS 电化学发光传感器对 DNA 损伤研究 [J]. *分析化学*, 2013, 41(6):805-810.
- LU L P, XU L H, KANG T F, *et al.*. DNA damage detection by cds quantum dots electrochemiluminescence sensor [J]. *Chin. J. Anal. Chem.*, 2013, 41(6):805-810. (in Chinese)
- [12] 陈哲, 豆兴茹, 葛芝莉, 等. 利用聚丙烯酸钠-Nafion 混合膜增强三联吡啶钌掺杂 SiO₂ 纳米粒的电化学发光信号及其生物标记 [J]. *发光学报*, 2016, 37(3):310-314.
- CHEN Z, DOU X R, GE Z L, *et al.*. Electrochemiluminescence signal enhancement of Ru(bpy)₃²⁺-doped SiO₂ nanoparticles based on sodium polyacrylate-nafion mixing membrane and their bio-labeling [J]. *Chin. J. Lumin.*, 2016, 37(3):310-314. (in Chinese)
- [13] 郭武润, 豆兴茹, 葛芝莉, 等. 三联吡啶钌超分子包合物及其 SiO₂ 复合纳米粒的电化学发光信号放大 [J]. *发光学报*, 2014, 35(5):558-564.
- GUO W R, DOU X R, GE Z L, *et al.*. Electrochemiluminescence signal amplification of Ru(bpy)₃²⁺ supramolecular inclusion and its composite nanoparticles [J]. *Chin. J. Lumin.*, 2014, 35(5):558-564. (in Chinese)
- [14] 田利, 赵越, 齐艳娟. CdSe 量子点修饰电极电化学发光法测定叶酸 [J]. *分子科学学报*, 2017, 33(4):342-346.
- TIAN L, ZHAO Y, QI Y J. Electrochemiluminescent determination of folic acid by CdSe quantum dot modified gold electrode [J]. *J. Mol. Sci.*, 2017, 33(4):342-346. (in Chinese)
- [15] 赵越, 田利, 齐艳娟. 氧化石墨烯/硒化镉修饰电极电化学发光法测定铅(II) [J]. *分析实验室*, 2016, 35(12):1454-1456.
- ZHAO Y, TIAN L, QI Y J. Electrochemiluminescent determination of lead ion by graphene oxide/CdSe quantum dot modified gold electrode [J]. *Anal. Lab.*, 2016, 35(12):1454-1456. (in Chinese)
- [16] DING S N, JIN Y, CHEN X, *et al.*. Tunable electrochemiluminescence of CdSe@ZnSe quantum dots by adjusting ZnSe shell thickness [J]. *Electrochem. Commun.*, 2015, 55:30-33.
- [17] XU H F, LIANG S J, ZHU X, *et al.*. Enhanced electrogenerated chemiluminescence behavior of C₃N₄ QDs@C₃N₄ nanosheet and its signal-on aptasensing for platelet derived growth factor [J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2017, 92:695-701.
- [18] DONG Y P, ZHOU Y, WANG J, *et al.*. Electrogenerated chemiluminescence of quantum dots with lucigenin as coreactant for sensitive detection of catechol [J]. *Talanta*, 2016, 146:266-271.



田利(1973 -),女,吉林长春人,博士,教授,2005年于吉林大学获得博士学位,主要从事纳米电化学和生物传感器方面的研究。

E-mail: tianli308cc@163.com