

尿酸在聚瓜氨酸修饰电极上的电化学测定

朱琪, 龙亚楠, 陈美凤, 吕惠萍, 马心英*
(菏泽学院化学化工学院, 山东 菏泽 274015)

摘要:采用循环伏安法(cyclic voltammetry, CV)将瓜氨酸(citrulline, Cit)聚合在玻碳电极上,得到了聚瓜氨酸修饰电极(polycitrulline modified glassy carbon electrode, PCit/GCE),并对尿酸(uric acid, UA)在PCit/GCE上的电化学行为进行研究,发现UA在PCit/GCE上的氧化峰电流与裸玻碳电极相比明显增大,灵敏度明显提高。UA的氧化峰电流与其浓度呈正比,线性范围为 $2.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-4}$ mol/L,检出限为 8.0×10^{-7} mol/L。在测定实际样品的尿酸含量实验中,回收率为99.7%~104.1%,结果满意。

关键词:瓜氨酸;修饰电极;尿酸;循环伏安法

中图分类号:O657.14

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2024)01-0243-04

DOI:10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2024.01.045

Electrochemical determination of uric acid on polycitrulline modified electrode

ZHU Qi, LONG Ya-nan, CHEN Mei-feng, LV Hui-ping, MA Xin-ying*
(College of Chemistry and Chemical Engineering, Heze University, Heze 274015, China)

Abstract: Citrulline is polymerized on a glassy carbon electrode through the cyclic voltammetry process to obtain a polycitrulline modified glassy carbon electrode (PCit/GCE). The electrochemical behaviors of uric acid on PCit/GCE are investigated. It is observed that the oxidation peak current of uric acid on PCit/GCE electrode exhibits a notable enhancement compared to that on the unmodified glassy carbon electrode, leading to a remarked improvement in sensitivity. The concentration of uric acid in the range of $2.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-4}$ mol·L⁻¹ exhibits a robust linear correlation with its oxidation peak current. Additionally, the method achieves a low detection limit of 8.0×10^{-7} mol·L⁻¹. In the determination of actual samples, the recovery rate falls within the range of 99.7% to 104.1%, showing a satisfactory result.

Key words: citrulline; modified electrode; uric acid; cyclic voltammetry

尿酸(2,6,8-三羟基嘌呤)是嘌呤代谢的终产物,存在于人体的尿液和血清中,它在人体血液中的含量反映了人身体健康的状况^[1-3]。在痛风、白血病、尿毒症及心血管等疾病发病的情况下,人体血液中尿酸水平就会异常^[3-5]。因此,在临床诊断中,准确测定人体内尿酸含量至关重要。目前,用于测定尿酸的技术包括色谱法^[6-7]、荧光法^[8-10]、比色法^[11-13]和电化学方法^[14-18]等,由于电极修饰方法和技术手段的不断发展,电化学分析法已经具备了一些引人注目的优势,包括仪器设备简单易用、测试灵敏度高、检测速度快以及结果准确可靠等特点。聚瓜氨酸是一种拥有较好催化性的电极表面修饰材料^[19-21],本实验运用循环伏安法把瓜氨酸修饰到电极表面,制备出聚瓜氨酸修饰电极,并用于尿酸的测定。这一方法具备良好的线性关系、简便易行的操作步骤、敏感的检测性能、较低的成本投入以及相对迅速的检测速度。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

电化学工作站 CHI660E(上海辰华仪器有限公司);

超声波清洗器 KH-100DB(昆山市超声仪器有限公司);SYZ-550 石英亚沸高纯水蒸馏器(金坛市江南仪器厂);蔡司 Gemini SEM 300 场发射扫描电子显微镜。

瓜氨酸(阿拉丁试剂上海有限公司);尿酸(上海麦克林生物化学有限公司);磷酸盐缓冲溶液(PBS)是由 0.2 mol/L Na₂HPO₄(分析纯)和 0.2 mol/L NaH₂PO₄(分析纯)配制。实验用水为二次蒸馏水。

1.2 聚瓜氨酸修饰电极的制备

把少量的氧化铝粉末放在湿润的麂皮上,将电极在麂皮上打磨后,用水冲洗干净,随后,用硝酸(V:V=1:1)、无水乙醇和二次蒸馏水依次对电极进行 30 s 的超声波清洗,每次超声处理后都用水冲洗,在红外灯下进行干燥。接下来,将处理好的电极放置于 pH 为 7.0 的 1.0×10^{-4} mol/L 瓜氨酸溶液中,采用循环伏安法,电位范围设置为-2.0~2.2 V,扫描速度为 20 mV/s,扫描 10 段之后,取出冲洗。

1.3 实验方法

采用三电极体系,以 GCE 电极或 PCit/GCE 作为工作电极,Ag/AgCl 电极为参比电极,铂丝电极为

收稿日期:2023-08-28;修回日期:2023-11-05

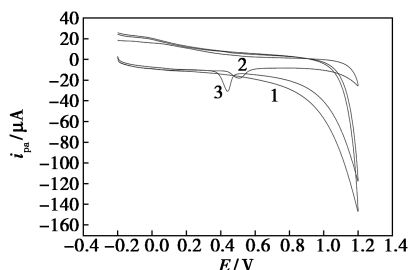
作者简介:朱琪(1987-),女,硕士,实验师,研究方向为电化学分析及检测;马心英(1971-),女,硕士,教授,研究方向为电化学分析及生物传感器的研究,通讯联系人,263867584@qq.com。

对电极,用循环伏安法对溶液进行测定,定量分析。

2 结果与讨论

2.1 UA 的电化学行为

图 1 为 PCit/GCE 测定空白溶液、GCE 测定 UA 溶液、PCit/GCE 测定 UA 溶液的 CV 曲线叠加图,在图中可以观察到 UA 在 GCE 上的氧化峰电流较小, $i_{pa} = -7.24 \mu A$, $E_{pa} = 0.50 V$, 在修饰电极上的氧化峰电流比较大, $i_{pa} = -20.58 \mu A$, $E_{pa} = 0.44 V$ 。修饰电极上 UA 的氧化峰电流是 GCE 上的 2.84 倍,并且峰电位向负方向偏移,这种现象表明,在 UA 电化学氧化过程中,聚瓜氨酸修饰膜表现出一定的催化效应,增大了氧化反应的电子传递速率。

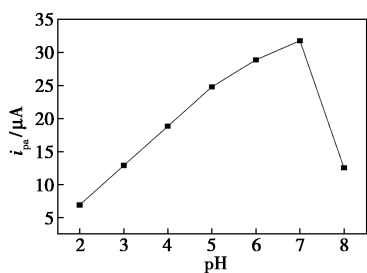


1—PCit/GCE 测定空白溶液;2—GCE 测定 UA 溶液;
3—PCit/GCE 测定 UA 溶液

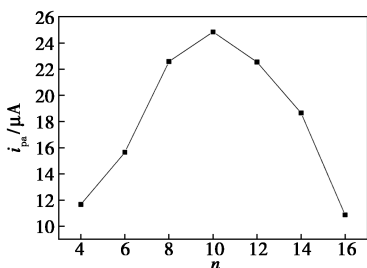
图 1 溶液测定的 CV 曲线叠加图

2.2 PCit/GCE 最佳聚合条件

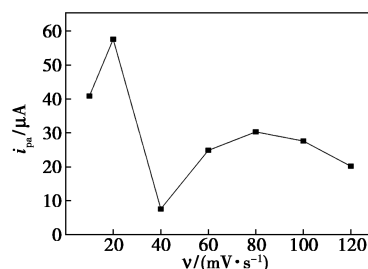
研究表明,瓜氨酸聚合溶液的酸碱度、扫描速率、聚合段数以及电位范围都会显著影响 PCit/GCE 修饰电极的催化性能,所以首先对聚合条件进行优化选择。如图 2 所示,当瓜氨酸溶液的浓度为



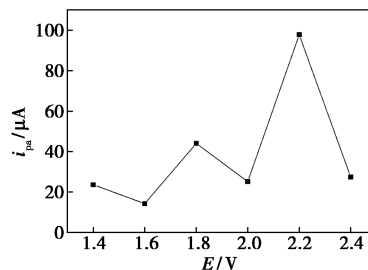
(a) 聚合 pH 的影响



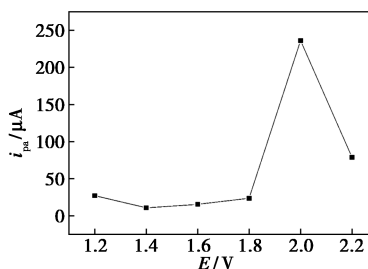
(b) 聚合段数的影响



(c) 聚合扫描速率的影响



(d) 聚合高电位的影响



(e) 聚合低电位的影响

图 2 PCit/GCE 最佳聚合条件

$1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$, 溶液的 $\text{pH} = 7.0$, 聚合段数 $n = 10$, 扫速 $v = 20 \text{ mV/s}$, 高电位为 2.2 V , 低电位为 -2.0 V 时, UA 在 PCit/GCE 上的氧化峰电流最大。

2.3 PCit/GCE 的聚合 CV 曲线

PCit/GCE 最佳聚合条件下的聚合 CV 曲线如图 3 所示,分别在 0.36 、 -0.48 V 的位置观察到了氧化峰和还原峰。从图中可以看出,当扫描段数逐渐增大时,峰电流不断增大,增加幅度逐渐变小,结果显示, GCE 电极表面发生了瓜氨酸聚合反应,随着反应的完成,电极表面形成了一层深蓝色薄膜。由图 4 可见,聚瓜氨酸被成功修饰到玻碳电极的表面,形成了褶皱状结构。

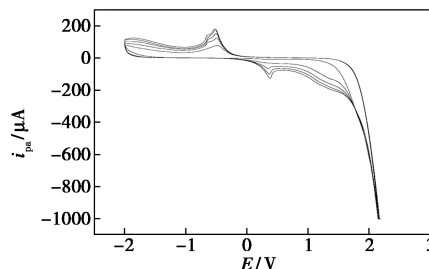
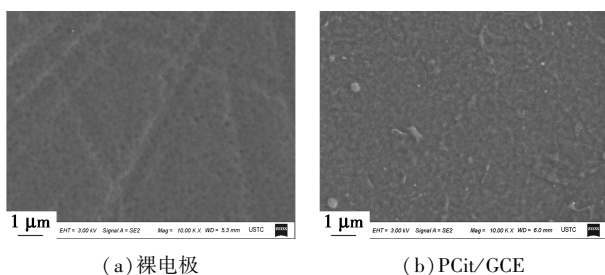


图 3 PCit/GCE 的聚合 CV 曲线

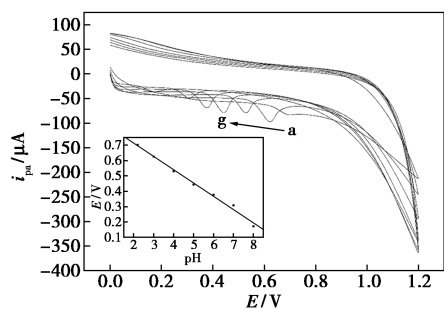


(a) 裸电极 (b) PCit/GCE
图 4 裸电极和 PCit/GCE 扫描电镜图

2.4 测定 UA 的最佳实验条件

2.4.1 UA 溶液的 pH 选择

不同的溶液 pH 对测得的 i_{pa} 有着不同的影响。只改变 UA 溶液的 pH, 其他实验条件不变, $v = 100 \text{ mV/s}$, 电位范围为 $0.0 \sim 1.2 \text{ V}$, 依次进行试验, 实验结果表明, 在 $\text{pH} = 3.0$ 条件下, 氧化峰电流达到最大值, 而随着 pH 升高, 氧化峰数值反而降低 (图 5)。在 $\text{pH} 2.2 \sim 8.0$ 之间, UA 氧化峰电位与 pH 之间显示出良好的线性相关性, 方程为 $E_{pa} = 0.88 - 0.086\text{pH}$, 相关系数 $R = 0.9961$ 。

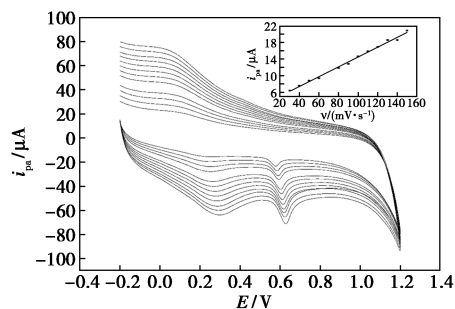


a~g 的 pH 分别为 2.2, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0
内插图为氧化峰电位与 UA 溶液 pH 的线性关系图

图 5 不同 pH 的 UA 溶液在 PCit/GCE 上的 CV 曲线叠加图

2.4.2 测定扫描速率的选择

固定其他测定条件不变, 只改变扫速。由图 6



1~12 的扫速分别为 30, 40, 50, 60, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150 mV/s

内插图为 UA 氧化峰电流与扫速的线性关系图

图 6 UA 在 PCit/GCE 上不同扫速下的 CV 曲线

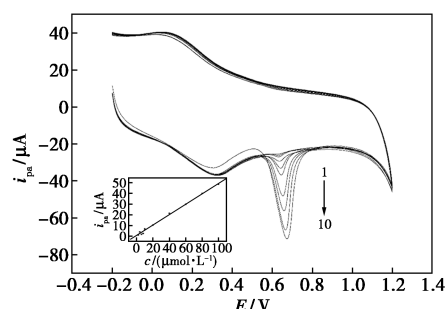
中可以看出, i_{pa} 随着扫速增大变大, 考虑到灵敏度和峰形, 在 $v = 100 \text{ mV/s}$ 时最佳, 故参数 $v = 100 \text{ mV/s}$ 。UA 氧化峰电流随扫描速率线性变化, 方程为 $i_{pa} = 2.71 \times 10^{-6} + 1.18 \times 10^{-7}v (\text{mV/s})$, $R = 0.9971$, 结果表明, UA 在修饰电极上的反应是一个吸附反应, 峰电流由吸附过程所控制。

2.4.3 高低电位的选择

固定其他条件不变, 只改变高电位, 当高电位为 1.2 V 时电流最大; 固定其他条件不变, 当低电位为 -0.2 V 时电流最大, 因此最佳测定电位范围为 $-0.2 \sim 1.2 \text{ V}$ 。

2.5 线性范围及检测限

按照最佳聚合条件制得 PCit/GCE, 在最佳的测定条件下对 UA 溶液进行测定。如图 7 所示, 当 UA 含量增到 $8.00 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$ 时开始出现氧化峰, 在 $2.00 \times 10^{-6} \sim 1.00 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 的浓度范围内, 尿酸氧化峰电流与浓度之间呈显著的线性关系, 方程为 $i_{pa} = 4.37 \times 10^{-7} + 0.49c (\text{mol/L})$, 相关系数为 $R = 0.9975$, 检出限为 $8.00 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$ 。



1~10 的浓度分别为: 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10, 20, 40, 60, 80, 100 $\mu\text{mol/L}$

图 7 最佳实验条件下不同浓度的 UA 在 PCit/GCE 上的 CV 叠加曲线

2.6 电极的重现性

用 PCit/GCE 平行测定 UA 6 次, 得到 CV 叠加曲线 (图 8), 测得 UA 氧化峰的相对标准偏差 $RSD =$

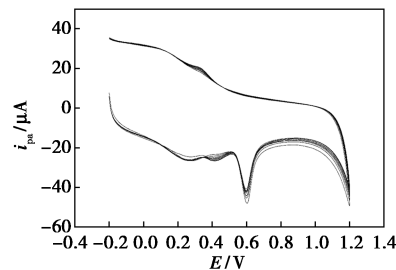


图 8 最佳实验条件下 $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 的 UA 在聚瓜氨酸修饰电极上循环伏安的重现性

3.0% ($n=6$), 表明用 PCit/GCE 测定 UA 的重现性良好。

2.7 干扰实验

在最佳的实验条件下, 加入 100 倍的蔗糖、KCl、NaCl, 50 倍的 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 对 UA 进行干扰测定, 实验结果表明, 相对误差范围在 $\pm 5\%$ 内, 不干扰 UA 的测定, 修饰电极具有良好的选择性。

2.8 样品的测定

取一定量的新鲜尿液, 加入一定量 pH 3.0 缓冲溶液, 配制成 20 mL 的待测液。采用标准加入法进行了回收率测定, 测定结果见表 1。

表 1 尿液样品中的测定结果 ($n=6$)

样品编号	样品测定值/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	加入的标准量/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	样品的测定总量/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	回收率/ %
1	9.86	8.67	18.51	99.7
2	11.26	11.25	22.54	100.2
3	14.75	14.47	29.82	104.1

由表 1 可知, 测得样品的回收率为 99.7% ~ 104.1%。

3 实验结论

通过优化实验条件成功制备了 PCit/GCE, 实验结果显示, 经过修饰的电极对 UA 表现出较好的电催化作用, 尿酸在浓度为 $2.00 \times 10^{-6} \sim 1.00 \times 10^{-4}$ mol/L 的范围内与其氧化峰电流之间呈线性关系, 检出限为 8.00×10^{-7} mol/L。适用于尿酸在实际样品中的测定, 结果满意。这种方法具有简便快速、高灵敏度的特点使其在实际应用方面具有一定的意义。

参考文献

- [1] Nancy T E M, Kumary V A. Synergistic electrocatalytic effect of graphene/nickel hydroxide composite for the simultaneous electrochemical determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid [J]. *Electrochimica Acta*, 2014, 133: 233-240.
- [2] Zhou H, Wang W, Li P, et al. Sensitive electrochemical determination uric acid at Pt nanoparticles decorated graphene composites in the presence of dopamine and ascorbic acid [J]. *International Journal of Electrochemical Science*, 2016, 11: 5197-5206.
- [3] Honeychurch K. The determination of uric acid in human saliva by liquid chromatography with electrochemical detection [J]. *Journal of Analytical, Bioanalytical and Separation Techniques*, 2017, 2(1): 1-5.
- [4] Siu Y P, Leung K T, Tong M K H, et al. Use of allopurinol in slowing the progression of renal disease through its ability to lower serum uric acid level [J]. *American Journal of Kidney Diseases*, 2006, 47(1): 51-59.
- [5] Kuwabara M, Kanbay M, Hisatome I. Tips and pitfalls in uric acid clinical research [J]. *Hypertension Research*, 2023, 46(3): 771-773.
- [6] Li X L, Li G, Jiang Y Z, et al. Human nails metabolite analysis: A rapid and simple method for quantification of uric acid in human fingernail by high-performance liquid chromatography with UV-detection [J]. *Journal of Chromatography B*, 2015, 1002(10): 394-398.
- [7] Jen J F, Hsiao S L, Liu K H. Simultaneous determination of uric acid and creatinine in urine by an eco-friendly solvent-free high performance liquid chromatographic method [J]. *Talanta*, 2002, 58(4): 711-717.
- [8] Azmi N E, Rashid A H A, Abdullah J, et al. Fluorescence biosensor based on encapsulated quantum dots/enzymes/sol-gel for non-invasive detection of uric acid [J]. *Journal of Luminescence*, 2018, 202(10): 309-315.
- [9] Qi W, Zhao M, Fu Y, et al. Fluorescent detection of uric acid through photoinduced electron transfer using luminol-terbium (III) nanoparticles synthesized via aggregation-induced fluorescence strategy [J]. *Dyes and Pigments*, 2020, 172: 107797.
- [10] Wang Q, Wen X, Kong J. Recent progress on uric acid detection: A review [J]. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 2020, 50(4): 359-375.
- [11] Lu H F, Li J Y, Zhang M M, et al. A highly selective and sensitive colorimetric uric acid biosensor based on Cu(II)-catalyzed oxidation of 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2017, 244: 77-83.
- [12] Badoei-Dalfard A, Sohrabi N, Karami Z, et al. Fabrication of an efficient and sensitive colorimetric biosensor based on Uricase/Th-MOF for uric acid sensing in biological samples [J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2019, 141: 111420.
- [13] 石睿, 覃秀, 袁春玲, 等. 基于二硫化钼纳米片类过氧化物酶活性比色法测定尿酸 [J]. *分析化学*, 2021, 49(3): 397-406.
- [14] 周颀, 崔媛, 赫春香, 等. 柔性-体化电化学传感器检测汗液的 pH 值及尿酸浓度 [J]. *分析化学*, 2020, (4): 96-102.
- [15] Guo H, Liu B, Pan Z, et al. Electrochemical determination of dopamine and uric acid with covalent organic frameworks and Ox-MWCNT co-modified glassy carbon electrode [J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2022, 648: 129316.
- [16] 田欣雨, 攀雪梅. Nafion-石墨烯-纳米金修饰电极测定尿酸 [J]. *分析仪器*, 2022, (1): 5-7.
- [17] Moallem Q A, Beitollahi H. Electrochemical sensor for simultaneous detection of dopamine and uric acid based on a carbon paste electrode modified with nanostructured Cu-based metal-organic frameworks [J]. *Microchemical Journal*, 2022, 177: 107261.
- [18] Moradpour H, Beitollahi H. Simultaneous electrochemical sensing of dopamine, ascorbic acid, and uric acid using nitrogen-doped graphene sheet-modified glassy carbon electrode [J]. *C-Journal of Carbon Research*, 2022, 8(4): 50.
- [19] Ma X, Lv H, Zhu Q, et al. A novel sensitive electrochemical method for the detection of ractopamine in meat food via polycitrulline-modified electrode [J]. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 2020, 37(9): 1459-1466.
- [20] 邵东旭, 马心英, 信明浩, 等. 聚 L-瓜氨酸修饰电极电化学测定食品中曲酸 [J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(3): 276-280.
- [21] 吕惠萍, 盖文龙, 陈美凤, 等. 苏丹红 I 在聚瓜氨酸修饰电极上的电化学行为及测定 [J]. *现代化工*, 2023, 43(1): 259-262. ■