

徐艺凤, 徐承娥, 熊海涛. 聚鲁米诺修饰复合电极电化学发光分析法测定豆类样品中钼(VI)含量[J]. 食品工业科技, 2024, 45(5): 205–211. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023030272

XU Yifeng, XU Cheng'e, XIONG Haitao. Electrochemiluminescence Determination of Mo(VI) Content in Beans Based on Polyluminol Composite Modified Electrode[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(5): 205–211. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023030272

· 分析检测 ·

聚鲁米诺修饰复合电极电化学发光分析法 测定豆类样品中钼(VI)含量

徐艺凤, 徐承娥, 熊海涛*

(陕西理工大学化学与环境科学学院, 陕西汉中 723001)

摘要: 本研究基于 Mo(VI) 对鲁米诺电还原发光信号的增敏作用, 结合石墨烯与带正电荷的纳米金((+)AuNPs) 电信号放大作用, 建立了一种灵敏且准确检测豆类种子中 Mo(VI) 含量的电化学发光新方法。采用滴涂法先将 Nafion-石墨烯修饰于玻碳电极表面, 再通过静电组装及电化学聚合技术依次将(+)AuNPs、鲁米诺修饰于电极表面, 从而制得 Nafion-石墨烯/(+)AuNPs/聚鲁米诺复合修饰电极。通过循环伏安法与电化学发光技术对复合修饰电极进行了初步表征, 并对测定 Mo(VI) 的实验条件进行了优化。结果表明, 在饱和硼砂缓冲溶液、电位扫描速率 100 mV/s、富集时间 13 min 等优化实验条件下, Mo(VI) 浓度在 $5.0 \times 10^{-9} \sim 1.0 \times 10^{-6}$ mol/L 范围内与复合修饰电极表面增敏的电还原发光信号呈现良好的线性关系, 检出限 (3σ) 与相对标准偏差分别为 2.1×10^{-9} mol/L 及 2.4% ($C=1.0 \times 10^{-7}$ mol/L, $n=11$)。应用该方法测定了黄豆与绿豆中 Mo(VI) 的含量, 回收率在 91.42%~108.0% 之间。该方法简单、经济, 有望应用于其它豆类种子中 Mo(VI) 含量的准确检测。

关键词: 聚鲁米诺, 电化学聚合, 电化学发光, 黄豆, 绿豆, Mo(VI)

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)05-0205-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023030272



本文网刊:

Electrochemiluminescence Determination of Mo(VI) Content in Beans Based on Polyluminol Composite Modified Electrode

XU Yifeng, XU Cheng'e, XIONG Haitao*

(School of Chemical and Environmental Sciences, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723001, China)

Abstract: In this study, based on the sensitization effect of Mo(VI) on luminol electroreduction luminescence signals, combined with the amplifying effect of graphene and positively charged gold nanoparticle ((+)AuNPs), a novel electrochemiluminescence method for sensitive and accurate detection of Mo(VI) content in legumes seeds was established. The Nafion-graphene/(+)AuNPs/polyluminol composite modified electrode was firstly prepared by the drip coating method, and then (+)AuNPs and luminol were modified on the surface of the Nafion-graphene composite electrode by electrostatic assembly and electrochemical polymerization technology. The composite modified electrode was characterized by cyclic voltammetry and ECL technology, and the experimental conditions for determination of Mo(VI) were optimized. The results showed that the optimal experimental conditions for the determination of Mo(VI) were saturated borax buffer solution, potential scanning rate of 100 mV/s and concentrated time of 13 minutes. Under the selected conditions, the concentration of Mo(VI) was well linear with the enhancement of electroreduction luminous signal in the range of $5.0 \times 10^{-9} \sim 1.0 \times 10^{-6}$ mol/L. Detection limit of the method and relative standard deviation (RSD) was 2.1×10^{-9} mol/L (3σ , $C=1.0 \times 10^{-7}$ mol/L, $n=11$) and 2.4%, respectively. This method had been applied to the detection of Mo(VI) content from soybean and mung beans. The recovery rate was between 91.42% and 108.0%. This proposed method is simple and

收稿日期: 2023-03-28

基金项目: 国家级大学生创新创业训练计划(202110720022); 陕西理工大学人才启动项目(SLGRC07)。

作者简介: 徐艺凤(2000-), 女, 本科, 研究方向: 电化学发光分析, E-mail: 1350095149@qq.com。

* 通信作者: 熊海涛(1979-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 生物电分析化学, E-mail: xhtao2008@126.com。

economical, and is expected to be applied to the accurate determination of Mo(VI) content in other beans seeds.

Key words: polyluminol; electrochemical polymerization; electrochemiluminescence; soybean; mung bean; Mo(VI)

钼是人体所必需的 14 种微量元素之一。尽管其在人体内的含量较低,但却在人体生命过程中具有重大作用,能够维持人体正常的新陈代谢。大量研究表明^[1-2]:人体缺乏钼将会导致肝癌、乳腺癌、鼻咽癌、胃癌、龋齿、肾结石等多种疾病发生,也会加重心肌损伤,甚至造成心肌坏死。另外,钼的缺乏也会导致人体生长发育迟缓,智能异常等。然而,过量的钼则会损伤血细胞,致使心血管疾病,影响人体发育等^[3-4]。因此,发展一种灵敏度高且选择性好的测定微量钼的方法是有着十分重要的意义。目前,对 Mo(VI)的检测方法有分光光度法^[5-6]、原子吸收光谱法^[7-8]、原子发射光谱法^[9-10]、原子荧光光谱法^[11-12]、化学发光分析法^[13-14]、荧光光谱法^[15-16]及溶出伏安法等^[17-18],但是这些方法存在着灵敏度较低、操作繁琐、仪器昂贵或污染环境等缺点。

作为电化学与化学发光相结合的产物,电化学发光分析法具有二者的共同优点,如灵敏度高、可控性强、分析速度快、发光信号易于检测等,其经常与纳米材料相结合,能进一步提高该方法的分析特性,并拓宽其应用范围^[19-20]。近些年,也有利用电化学发光分析法测定 Mo(VI)的文献报道^[21-22],其主要是基于在 Mo(VI)能被电还原为 Mo(III),该低价态 Mo 能将电解液中的溶解氧还原生成超氧负离子自由基($O_2^{\cdot-}$),而鲁米诺能与 $O_2^{\cdot-}$ 与产生显著的化学发光反应。但是这两种检测 Mo(VI)含量的电化学发光分析法中,前者因为采用了碳糊修饰电极,使得其制备方法繁琐、费时且重现性较差^[21],而后者则采用了流动注射进样技术,导致实验过程中的试剂消耗较大^[22]。另外,这两种方法因均没有结合信号放大技术而导致方法的灵敏度均不是很理想。

石墨烯(Graphen)是由多个碳原子通过共价键合连接而形成的一种具有二维蜂窝状晶格的纳米材料^[23],由于其资源丰富,比表面积大,具有优良的电子传递与物理化学性质等特性而受到广泛的关注,且已经被大量应用于电化学发光生物传感领域^[24-25]。另一方面,AuNPs 因优异的导电性能、量子尺寸效应、良好的生物相容性及易于修饰等特性而与石墨烯相结合成复合纳米材料来进行协同信号放大,并进行高灵敏度电化学发光分析^[26-27]。已报道的文献中,大多使用电沉积法^[28-29]与水热合成法^[29-30]来制备石墨烯-AuNPs 复合纳米材料。但是这两种制备方法通常存在着操作繁琐或浪费试剂等不足。截止至目前为止,还没有文献报道将带正电荷的 AuNPs(+)AuNPs)通过静电作用组装于 Nafion-Graphen 表面以进行电化学传感分析。

本文首先利用静电作用将(+)AuNPs 组装于带负电荷的 Nafion-Graphen 修饰电极表面,然后再将

鲁米诺电聚合于 Nafion-Graphen/(+)AuNPs 双纳米材料功能化的修饰电极表面。由于 Mo(VI)的电还原产物 Mo(III)对鲁米诺的电还原发光信号具有增敏作用^[21-22],从而建立了一种高灵敏型测定 Mo(VI)含量的电化学发光分析新方法。该方法利用双纳米材料协同增敏效应与聚鲁米诺的优良电化学发光特性,使得该方法灵敏度较高且节省试剂,以期实现对常见的两种豆类样品中 Mo(VI)含量的灵敏、准确检测。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

铁氰化钾、硼砂、氯化钾、盐酸 成都化学试剂厂;氢氧化钠、硫酸 西安化学试剂厂;钼酸铵 南京全隆生物技术有限公司,主要用来配制 Mo(VI)储备液;无水乙醇 天津市富宇精细化工有限公司;鲁米诺与半胱胺 西格玛奥德里奇贸易有限公司;115 型 Nafion 美国杜邦公司; N,N -二甲基甲酰胺(DMF) 上海阿拉丁生化科技股份有限公司;石墨烯 南京先丰纳米材料科技有限公司;三羟甲基氨基甲烷(Tris) 武汉德晟生化科技有限公司;氯金酸 山东天铭生物科技发展有限责任公司;除盐酸、硫酸为 98% 化学纯,其它均为 98% 的分析纯;所用水均为高纯水。

CHI600D 型电化学工作站 上海辰华仪器有限公司;IFFM-E 型流动注射化学发光分析仪 西安瑞迈分析仪器有限公司;KQ5200DE 型超声波清洗仪 江苏省昆山市超声仪器有限公司;JEM-2100 型透射电子显微镜 日本电子株式会社;90P1us PALS Zeta 电位分析仪 美国布鲁可海文仪器公司北京办事处;三电极系统 自制工作电极—Nafion-Graphene/(+)AuNPs 修饰玻碳电极,参比电极—饱和甘汞电极或 AgCl/Ag 电极,对极为铂丝电极。

1.2 实验方法

1.2.1 溶液的制备 2.0 mg/mL 石墨烯(Graphen,用 DMF 溶解);Tris-HCl 缓冲溶液(10 mmol/L Tris-HCl,0.1 mol/L NaCl,pH7.4); 1.0×10^{-3} mol/L Mo(VI)储备液。

1.0×10^{-2} mol/L 鲁米诺储备溶液:准确称取 0.1172 g 的鲁米诺,先用 2.0 mL DMF 溶解,然后用 0.05 mol/L H_2SO_4 稀释定容到 100 mL 容量瓶中,将溶液转移至棕色瓶中并置于暗处保存。

Nafion-Graphene 混合溶液的制备:将 2.0 mg/mL 石墨烯分散液与 0.2% Nafion 的乙醇溶液以 1:1 (V/V)混合,将该混合溶液在超声(功率 100 W)振荡分散 1 h,即得到 Nafion-Graphene 混合溶液。

1.2.2 (+)AuNPs 的制备及表征 参考文献 [31-32],并稍作修改:将 40 mL $HAuCl_4$ (0.01 mol/L)溶液置于 100 mL 的烧杯中,加入 0.4 mL 半胱胺溶液

(0.20 mol/L), 室温下充分搅拌约 30 min。然后, 继续向烧杯中加入 10 μL NaBH_4 溶液(0.01 mol/L), 将烧杯置于暗处搅拌 15 min。观察溶液变成酒红色停止加热。最后, 将制备完成的(+)AuNPs 溶液使用 0.22 μm 的滤膜进行过滤, 转移至 100 mL 容量瓶中, 避光保存于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱。

用移液器取 8.0 μL AuNPs 胶体并滴于铜网(300 目)表面, 于密闭的培养皿中过夜晾干, 再于透射电子显微镜(TEM)下进行表征。另外, 实验还利用 Zeta 电位仪测定 AuNPs 胶体表面的电荷。

1.2.3 Nafion-石墨烯/(+)AuNPs/聚鲁米诺修饰电极的制备与表征 首先, 将玻碳电极打磨抛光, 依次用无水乙醇与超纯水超声清洗。取 8 μL 上述 1.2.1 所制得的 Nafion-Graphene 混合溶液, 滴加在预处理好的玻碳电极表面, 晾干后继续滴加 10 μL 上述 1.2.2 所制得的(+)AuNPs 于 Nafion-Graphene 修饰电极表面进行静电组装, 30 min 之后用高纯水冲洗三次。接着, 将 Nafion-Graphene/(+)AuNPs 修饰电极置于含有 1.0×10^{-5} mol/L 鲁米诺的硫酸溶液中, 设置扫速为 100 mV/s, 施加 -0.2~1.2 V 的电位, 进行 10 圈的循环扫描, 扫描结束后取出, 用饱和硼砂缓冲溶液淋洗电极表面至少 3 次, 得到聚鲁米诺(Ployluminol)复合物膜修饰电极, 即 Nafion-Graphene/(+)AuNPs/Ployluminol 修饰电极, 其制备过程如图 1 所示。

分别将裸玻碳电极(GCE)、Nafion-GCE、Graphene-GCE 及 Nafion-Graphene/(+)AuNPs 修饰电极作工作电极(参比电极与对极见 1.1)插入到含有 5.0 mmol/L $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 与 0.10 mol/L KCl 的溶液中(pH7.4), 设定电位扫描速率为 100 mV/s, 在 -0.20~0.60 V 电位范围内利用电化学工作站进行电化学表征。

1.2.4 样品预处理 各准确称取 1.0000 g 黄豆与绿豆种子于两只瓷坩埚中, 置于马费炉中 600 $^{\circ}\text{C}$ 灰化 3 h 至灰白色, 待温度降至 150 $^{\circ}\text{C}$ 取出并冷却至室温, 加入适量 4.0 mol/L HNO_3 溶液使处理后的样品

溶解, 再加入适量 1.0 mol/L NaOH 溶液调节 pH 至 10, 过滤掉不溶物。最后, 将其加水定容至 100 mL 容量瓶, 作为分析样品储存备用。

1.2.5 电化学发光检测实验方法 在三电极系统中, 先将刚修饰好的聚鲁米诺复合物膜修饰电极置于 3.0 mL 饱和硼砂中, 开启电化学工作站与化学发光分析仪, 设定负高压为 700 V, 于 -1.0~-0.1 V 电位范围内进行循环伏安扫描, 然后记录循环伏安曲线(CV)与电化学发光信号(I_0), 用缓冲溶液淋洗三次。随后, 滴加 10 μL 不同浓度 (5.0×10^{-9} 、 8.0×10^{-9} 、 1.0×10^{-8} 、 3.0×10^{-8} 、 5.0×10^{-8} 、 7.0×10^{-8} 、 1.0×10^{-7} 、 5.0×10^{-7} 、 8.0×10^{-7} 及 1.0×10^{-6} mol/L)的 Mo(VI) 溶液于电极表面并富集 13 min, 再用饱和硼砂溶液冲洗电极 3 次, 采用循环伏安进行表征并利用化学发光分析方法对电化学发光信号进行测试, 记录相应的 CV 曲线及电化学发光信号(I_t), 以相对电化学发光信号($\Delta I = I_t - I_0$)进行样品的定量分析。

1.3 数据处理

每一组实验平行测定三次, 将所得数据利用 Excel 2016 软件求算相应的平均值 $\pm$ 标准偏差, 再用 Origin 8.0 软件进行作图处理。

2 结果与分析

2.1 带正电荷 AuNPs 的表征

AuNPs 的 TEM 图如图 2 所示, 实验所合成的 AuNPs 呈球形颗粒, 且分散性较好, 其粒径约为 30~33 nm, 这与文献报道基本一致^[31]。另外, 其 Zeta 电位测定值为 +32.0 mV, 说明该 AuNPs 表面的正电荷密度较高。这也为实验中(+)AuNPs 能轻易通过静电组装而修饰于 Nafion 修饰电极表面提供了可能。

2.2 Nafion-Graphene/(+)AuNPs 修饰电极的电化学表征

由图 3 可知, 在裸 GCE 上, 氧化还原峰呈标准可逆特征(曲线 a); 经 Nafion 修饰后, 其相应峰电流发生显著下降(曲线 b), 这可能是由于自身显负电性

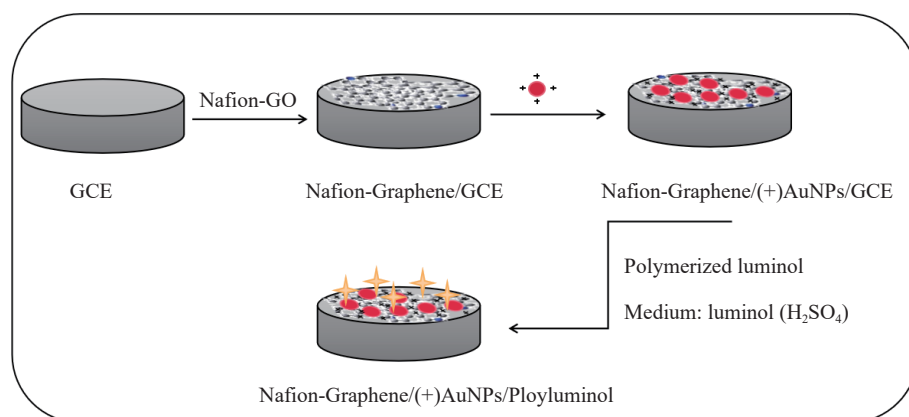


图 1 聚鲁米诺复合修饰电极的制备示意图

Fig.1 Preparation illustration of polyluminol composite modified electrode

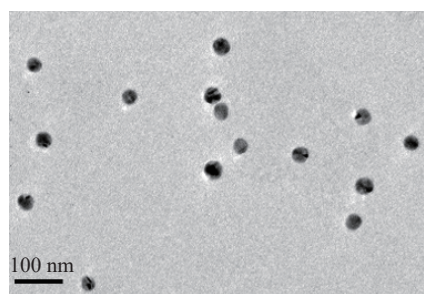


图2 (+)AuNPs的TEM图

Fig.2 TEM image of (+)AuNPs

的 Nafion(阳离子交换树脂)与同样带有负电荷的 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 难以相互作用甚至产生强大的排斥;待滴涂 Nafion-Graphene 混合液后,其峰电流虽有增大,但却变得不可逆(曲线 c,对应的氧化峰-还原峰电位差 $\Delta E=125 \text{ mV}$,远超可逆电化学响应 $\Delta E<59.2 \text{ mV}$),这主要是由于石墨烯具有较大的表面积与良好的导电性能所致;之后将 (+) AuNPs 修饰在 Nafion-Graphene 修饰电极上,表现出更强的峰电流(曲线 d),该现象可能是由于:带正电荷的纳米金进一步增大了该电极的有效电活性面积,与此同时 Nafion-Graphene 修饰电极表面的负电特性变为部分正电荷特性,从而能通过静电作用使带负电荷的 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 探针更有效地扩散到电极表面,导致修饰电极表面的氧化还原电流再次增大。以上现象表明 Nafion-Graphene/(+)AuNPs 作为修饰材料时,电极表面的电子传导效率得到一定程度的提高。

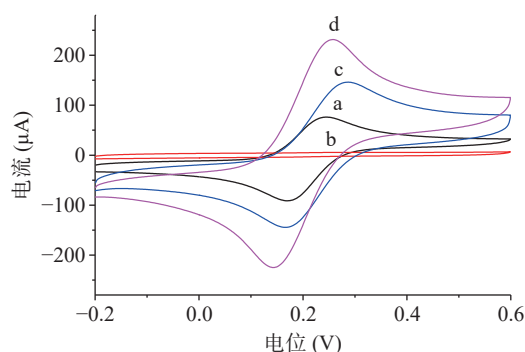


图3 不同修饰电极在 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 电解液中的循环伏安图
Fig.3 Cyclic voltammograms of different modified electrodes in $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ electrolyte

注: a: Bare GCE; b: Nafion/GCE; c: Nafion-Graphene/GCE; d: Nafion-Graphene/(+)AuNPs/GCE。

2.3 不同修饰电极表面的电化学行为及电化学发光行为研究

为了深入研究这种复合物的电化学发光特性,在 $-1.0 \sim -0.1 \text{ V}$ 电位范围内,分别记录了在饱和硼砂介质中,聚鲁米诺修饰电极加入一定量 $\text{Mo}(\text{VI})$ 前后的电化学行为及电化学发光响应。由图 4A 可知,将 Nafion-Graphene/(+)AuNPs 依次涂层在裸电极上后,其呈现出较弱的电化学响应(曲线 a);随后,将鲁米诺电聚合于该修饰电极,电化学响应有所升高

(曲线 b);加入一定浓度的 $\text{Mo}(\text{VI})$ 于该修饰电极表面 15 min 后,这时的电化学响应增强(曲线 c)。这可能是由于鲁米诺电聚合于修饰电极表面后,在碱性介质中能够发生电化学反应,而当 $\text{Mo}(\text{VI})$ 作用在该聚鲁米诺复合修饰电极上后,其能被电还原为 $\text{Mo}(\text{III})$, $\text{Mo}(\text{III})$ 则还原溶解氧产生大量的超氧负离子自由基,该自由基进一步与聚鲁米诺反应而使发光反应进一步得到促进,这与文献 [21] 检测原理基本相一致。实验同时也考察其电化学发光行为,观察图 4B 可知, Nafion-Graphene/(+)AuNPs 修饰电极(曲线 a)没有氧化峰出现,这是由于此时不存在可以产生发光反应的信号物质;而聚合鲁米诺之后,此时的修饰电极(曲线 b)在 -0.70 V 左右对应的 ECL 信号为 895 a.u.,这可能是在碱性的介质中,聚鲁米诺自身作为发光物质能够进行发光反应;待富集 $1.0 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$ 的 $\text{Mo}(\text{VI})$ 于 Nafion-Graphene/(+)AuNPs/Polyminol 修饰电极表面 15 min 后,此时修饰电极(曲线 c)在 -0.70 V 左右时,相对与曲线 b,发光信号增大到约 2300 a.u.,这是可能因为在碱性环境中,聚鲁米诺复合物膜的弱电化学发光信号可以被 $\text{Mo}(\text{VI})$ 的还原产物 $\text{Mo}(\text{III})$ 强烈的、选择性的增敏。该现象与上述电化学行为一致。因此,本工作建立的基于电聚合鲁米诺分子在石墨烯与 (+)AuNPs 双复合纳米材料修饰电极表面,并将其应用于 $\text{Mo}(\text{VI})$ 含量的灵敏型电还原化学发光新方法是可行的。

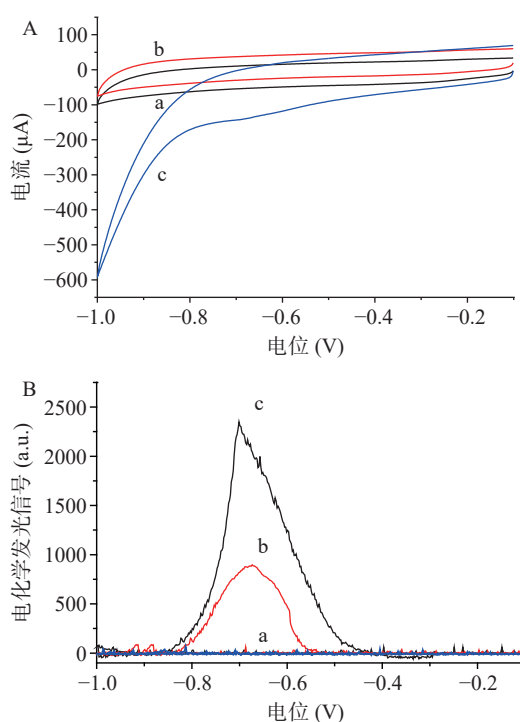


图4 不同修饰电极的循环伏安曲线图(A)与电化学发光信号—电位曲线图(B)

Fig.4 Cyclic voltammograms (A) and ECL signal-potential curves (B) of different modified electrodes

注: a: Nafion-Graphene/(+)AuNPs/GCE; b: Nafion-Graphene/(+)AuNPs/Polyminol/GCE; c: Nafion-Graphene/(+)AuNPs/Polyminol/GCE 中加入 $\text{Mo}(\text{VI})$ (浓度 $1.0 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$)。

2.4 实验条件的优化

2.4.1 电化学发光反应介质的选择 反应介质对 Mo(VI)增敏聚鲁米诺弱的电还原化学发光强度及稳定性有较大的影响。为此,实验分别考察了饱和硼砂溶液等四种反应介质对 Nafion-Graphene/(+)AuNPs/Ployminol 修饰电极表面电化学发光分析特性的影响。表 1 显示,在保持其它实验条件相同的情况下,0.1 mol/L NaHCO₃ 反应介质中所呈现出的电化学发光信噪比(S/N)最小(1.02),而在饱和硼砂缓冲溶液中,Mo(VI)对修饰电极表面的聚鲁米诺的电化学发光反应电化学发光信号最稳、增敏最强且信噪比最大(5.58)。这可能是由于随着 pH 增加,体系的背景信号增大而导致电化学发光信号的信噪比降低。因此,选用饱和硼砂缓冲溶液为反应介质。

表 1 反应介质的影响
Table 1 Influence of reaction medium

介质	饱和硼砂 缓冲溶液	Na ₂ CO ₃ (0.1 mol/L)	NaHCO ₃ (0.1 mol/L)	NaOH (0.1 mol/L)
信噪比S/N	5.58	1.31	1.02	2.41

注: Mo(VI)浓度: 1.0×10^{-7} mol/L; 扫描电位范围: -1.0~0.1 V; 鲁米诺浓度: 1.0×10^{-5} mol/L。

2.4.2 Mo(VI)的富集时间对修饰电极表面电化学发光增敏的影响 初步研究表明, Nafion-Graphene/(+)AuNPs/Ployminol 修饰的复合电极与 Mo(VI)相互作用的时间不同,所产生的电化学发光强度不同。为此,本实验考察了 5~20 min 之间, Mo(VI)与复合修饰电极作用后的电化学发光强度变化情况。由图 5 可知,当二者作用 13 min 后,体系的增敏的电化学发光强度达到最大,再延长相互作用时间,增敏的电化学发光信号基本保持不变。这说明 Nafion-Graphene/(+)AuNPs/Ployminol 修饰电极对 Mo(VI)有一定的富集作用,且一定浓度的 Mo(VI)可以在 13 min 内于修饰电极表面达到富集平衡。因此,实验选择 Mo(VI)的最佳富集时间为 13 min。

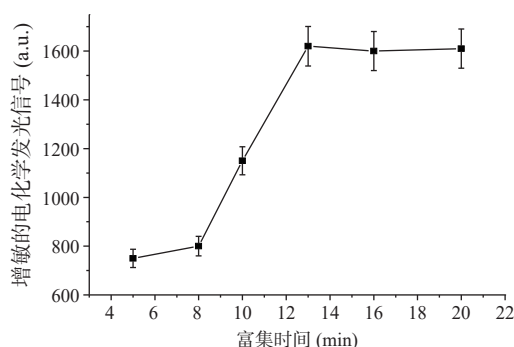


图 5 不同富集时间对修饰电极电化学发光强度的影响

Fig.5 Effect of different concentrated time on the enhancing ECL intensity of the modified electrode

注: 反应介质: 饱和硼砂, 图 6 同; 电位扫描速率: 100 mV/s。

2.4.3 扫描速率对修饰电极表面电化学发光信号增敏的影响 在上述优化的实验条件下,本实验在不同

的扫描速率(40~150 mV/s)下,测定了加入少量 Mo(VI)前后 Nafion-Graphene/(+)AuNPs/Ployminol 修饰电极表面的电化学发光强度。图 6 结果表明,在 40~100 mV/s 扫描速率范围内,随扫描速率的增大,Mo(VI)对修饰电极表面的聚合鲁米诺的电化学发光增敏程度也逐渐增强;当扫描速率超过 100 mV/s 时,电化学发光强度却呈现出下降的趋势。这说明中速的电位扫描速率更有利于 Mo(VI)对该修饰电极表面聚鲁米诺电还原发光反应的增敏效应。这可能是由于在过慢或过快的电位扫描速率条件下,电化学反应速率与随后的化学发光反应速率不匹配所致。故实验选择最佳扫描速率为 100 mV/s。

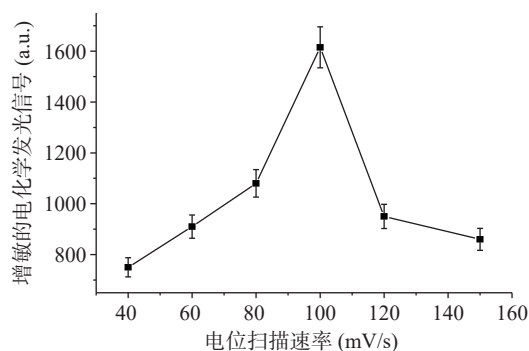


图 6 扫描速率对加入 Mo(VI)增敏的电化学发光强度的影响

Fig.6 Effect of scanning rate on the enhancing ECL intensity of Mo(VI)

注: 富集时间: 13 min。

2.5 Nafion-Graphene/(+)AuNPs/Ployminol 修饰电极测定 Mo(VI)的分析特性

最佳实验条件下,在 5.0×10^{-9} ~ 1.0×10^{-6} mol/L 范围内,修饰电极表面的电化学发光强度随着 Mo(VI)浓度增大而增大,且 Mo(VI)在该浓度范围内与增敏的电化学发光强度(ΔI_{ECL})呈线性相关(如表 2 所示),其回归方程为 $\Delta I_{ECL} = 9.10C + 625.86$ (C 为 Mo(VI)的浓度, nmol/L),相关系数为 0.9958。按三倍标准偏差计算检出限为 2.1×10^{-9} mol/L (3σ , $n=11$)。对浓度为 1.0×10^{-7} mol/L 的 Mo(VI)连续测定 11 次电化学发光信号,所得 RSD=2.4%。该另外,将 Nafion-Graphene/(+)AuNPs/Ployminol 修饰电极保存于饱和硼砂溶液中,在 4 °C 冰箱中放置 2 周后,其电化学发光信号下降低于 10%。该方法与文献报道其它电化学发光分析法检测 Mo(VI)相比,本研究基于 Nafion-Graphene/(+)AuNPs/Ployminol 修饰电极所构建的 Mo(VI)的电还原化学发光检测法,具更高的灵敏度,精密度基本相当。

2.6 共存离子的影响

在最优的实验条件下,按照上述 1.2.5 实验方法,保持相对误差在 5% 以内,考察了干扰组分对浓度为 1.0×10^{-7} mol/L 的 Mo(VI)测定的影响(如图 7 所示)。结果显示,1000 倍的 SO_4^{2-} 、 Cl^- 、 Ca^{2+} 、 K^+ 、 Na^+ 、 F^- 、 Mg^{2+} , 200 倍的草酸与 EDTA 对 Mo(VI)的

表 2 建议方法与文献其它电化学发光检测 Mo(VI)的对比

Table 2 Comparison between the proposed assay and other reported ECL methods for the detection of Mo(VI)

参考文献	线性范围	回归方程	相关系数 (3σ , $n=11$)	检出限 ($C=0.1\ \mu\text{mol}$, $n=11$)	精密度 (%)
本工作	$5.0\times 10^{-9}\sim 1.0\times 10^{-6}\ \text{mol/L}$	$\Delta I_{\text{ECL}}=9.10C+625.86$	0.9958	$2.1\times 10^{-9}\ \text{mol/L}$	2.4
[17]	$5.0\times 10^{-4}\sim 1.0\times 10^{-2}\ \text{g/L}$	$\Delta I_{\text{ECL}}=46.75C-45.5$	0.9920	$1.3\times 10^{-4}\ \text{g/L}$	2.1
[18]	$5.0\times 10^{-7}\sim 5.0\times 10^{-4}\ \text{g/L}$	$\Delta I_{\text{ECL}}=1.21\times 10^6\rho+15.43$	0.9972	$5.3\times 10^{-8}\ \text{g/L}$	2.6

测定不产生干扰; 20 倍的 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 及 Ni^{2+} 则有一定干扰。因此, 在测定实际样品中 Mo(VI) 的含量时, 可以加入适量的 EDTA 对样品中的金属离子进行掩蔽性消除或通过调节样品溶液的 pH 使其沉淀下来, 再进行过滤。

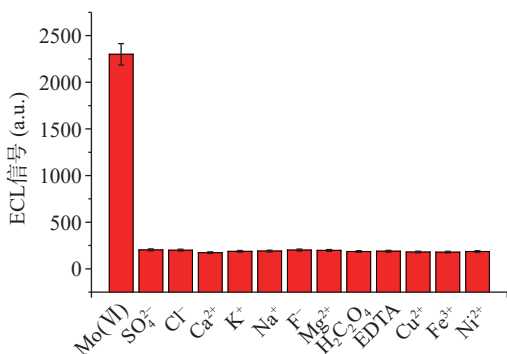


图 7 不同组分在反应体系中的电化学发光响应信号

Fig.7 ECL response signals of different components in the reaction system

2.7 样品测定

按照 1.2.5 实验方法测定样品中 Mo(VI) 含量, 每一组样品平行测定三次。表 3 结果表明: 黄豆和绿豆种子(各做 3 个批次)样品中 Mo(VI) 含量分别为 0.86、1.45 $\mu\text{g/g}$ 。接着, 将所得样品用已知量的 Mo(VI) 标准溶液按照 0.5~1.5 倍试样含量进行加标实验, 测定 Mo(VI) 的回收率, 加标回收率范围为 91.42%~108.0%, RSD 在 2.8%~4.6% 之间, 则表明此方法可以运用于豆类样品中 Mo(VI) 含量的准确测定。

表 3 样品分析结果($n=3$)Table 3 Analysis results of the selected samples ($n=3$)

样品	本法 测定值 ($\times 10^{-7}\ \text{mol/L}$)	平均含量 ($\mu\text{g/g}$)	标准 加入量 ($\times 10^{-7}\ \text{mol/L}$)	测得值 ($\times 10^{-7}\ \text{mol/L}$)	回收率 (%)	相对标准 偏差(%)
黄豆	0.90	0.86	0.50	1.37	94.00	3.5
	0.90		1.00	1.98	108.0	2.8
	0.92		1.20	2.09	97.5	3.9
	1.51		0.70	2.15	91.42	3.7
绿豆	1.49	1.45	1.00	2.51	102.0	4.3
	1.51		1.50	2.96	96.67	4.6

3 结论

本文成功制备了 Nafion-Graphene/(+) AuNPs/Ployminol 复合修饰电极, 研究发现在碱性环境中少量的 Mo(VI) 可以极大程度增强电还原发光信号, 基于此本文建立了一种检测 Mo(VI) 的电化学发光测

定新方法。一方面, 由于大多物质在还原条件不与聚鲁米诺产生发光反应, 因而得到较好的选择性。另一方面, 构造的电化学发光检测界面中, 由于利用了石墨烯与带正电荷金纳米粒子的协同放大作用, 再结合上简单的电聚合技术而将电化学发光信号分子(鲁米诺)高效地固定于双纳米复合材料修饰电极表面, 使得该方法操作简单、成本低廉、灵敏度及准确度较高, 检出限低至 2.1 nmol/L, 加标回收率在 91.42%~108.0% 范围内, 能为实际样品中低含量 Mo(VI) 的准确检测提供一定的参考。

参考文献

- [1] 林朋飞, 张晓健, 陈超, 等. 含钼废水处理及饮用水应急处理技术及工艺[J]. 清华大学学报(自然科学版), 2014, 54(5): 613-618. [LIN P F, ZHANG X J, CHEN C, et al. Treatment of molybdenum-containing wastewater and drinking water[J]. Journal of Tsinghua University (Science and Technology), 2014, 54(5): 613-618.]
- [2] 王丁林, 李清清. 婴幼儿配方乳粉中钼含量测定的方法探讨[J]. 中国乳品工业, 2022, 50(10): 55-58. [WANG D L, LI Q Q. Discussion on the determination method of molybdenum content in infant formula milk powder[J]. China Dairy Industry, 2022, 50(10): 55-58.]
- [3] 张木, 胡承孝, 赵小虎, 等. 钼硒互作对小白菜产量及营养品质的影响[J]. 华中农业大学学报, 2013, 32(3): 72-76. [ZHANG M, HU C X, ZHAO X H, et al. Effects of co-applying Mo and Se on yield and quality of Chinese cabbage[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2013, 32(3): 72-76.]
- [4] 李龙杰, 李忠, 李荀. “钼不眠接”——无处不在的钼元素[J]. 大学化学, 2020, 35(11): 62-65. [LI L J, LI Z, LI X. The ubiquitous molybdenum element[J]. University Chemistry, 2020, 35(11): 62-65.]
- [5] 严进. 天然花青素分光光度法测定豆类中的痕量钼(VI)[J]. 化学试剂, 2018, 40(4): 353-356. [YAN J. Determination of trace molybdenum in bean samples with natural anthocyanins spectrophotometry[J]. Chemical Reagents, 2018, 40(4): 353-356.]
- [6] KLOCHKOAL A, BARBALAT D, CHEBOTAREV A, et al. Dispersive liquid-liquid semi-microextraction of molybdenum(VI) with 6,7-dihydroxy-2,4-diphenylbenzopyrylium chloride for its spectrophotometric determination[J]. Journal of the Iranian Chemical Society, 2021, 18(1): 109-115.
- [7] QU W, ZHOU C Y, CAI L L, et al. Study on determination of molybdenum in molybdenum concentrate by atomic absorption spectrometry indirectly[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2017, 37(3): 984-989.
- [8] GURKAN R, KORKMAZ S, ALTUNARY N. Preconcentration and determination of vanadium and molybdenum in milk, vegetables and foodstuffs by ultrasonic-thermostatic-assisted cloud point extraction coupled to flame atomic absorption spectrometry[J]. Talanta, 2016, 155(8): 38-46.

- [9] SREENIVASULU V, KUMAR N S, DHARMENDRA V, et al. Determination of boron, phosphorus, and molybdenum content in biosludge samples by microwave plasma atomic emission spectrometry (MP-AES)[J]. *Applied Sciences*, 2017, 7(3): 264–273.
- [10] 杨新能, 陈德, 李小青. 碱熔-电感耦合等离子体原子发射光谱法测定铁矿石中铬铌钨钼锡[J]. *冶金分析*, 2019, 39(12): 55–60. [YANG X N, CHEN D, LI X Q. Determination of chromium, niobium, molybdenum, tungsten, tin in iron ore by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with alkali fusion[J]. *Metalurgical Analysis*, 2019, 39(12): 55–60.]
- [11] 廖朝东, 耿国兴, 陆建平, 等. 正丁醇萃取-原子荧光光谱法间接测定茶叶中的钼[J]. *分析化学*, 2012, 40(6): 964–967. [LIAO C D, GENG G X, LU J P, et al. Indirect determination of molybdenum in tea with N-butyl alcohol extraction by atomic fluorescence spectrometry[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2012, 40(6): 964–967.]
- [12] 李明, 陆丽君, 蔡玉曼, 等. 氢化物发生—原子荧光光谱法测定钨矿石、钼矿石中铋[J]. *分析实验室*, 2014, 33(9): 1092–1096. [LI M, LU L J, CAI Y M, et al. Determination of Sb in tungsten ores and molybdenum ores by hydride generation-atomic fluorescence spectrometry[J]. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 2014, 33(9): 1092–1096.]
- [13] 杨玲娟, 谢天柱, 雷新有. 恒电位电解流动注射化学发光分析法测定钢铁中微量钼[J]. *冶金分析*, 2011, 31(11): 24–28. [YANG L J, XIE T Z, LEI X Y. Determination of micro molybdenum in steel by constant potential electrolysis-flow injection chemiluminescence analysis[J]. *Metalurgical Analysis*, 2011, 31(11): 24–28.]
- [14] 杨玲娟, 顾水英, 葛劲. 植物种子中微量钼的电化学发光分析法测定研究[J]. *安徽农业科学*, 2012, 40(13): 7620–7621, 7624. [YANG L J, GU S Y, GE M. Determination of trace molybdenum in plant seeds by electrochemiluminescence method[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2012, 40(13): 7620–7621, 7624.]
- [15] 朱霞萍, 郭兵, 曾春霖. 水杨基荧光酮荧光猝灭法测定钼原矿中钼[J]. *冶金分析*, 2014, 34(3): 43–47. [ZHU X P, GUO B, ZENG C L. Determination of molybdenum in molybdenum ore by salicylfluorone fluorescence quenching method[J]. *Metalurgical Analysis*, 2014, 34(3): 43–47.]
- [16] WANG X Y, SU Z, LI L, et al. Sensitive detection of molybdenum through its catalysis and quenching of gold nanocluster fluorescence[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2020, 229: 117909–117914.
- [17] ARANCIBIA V, CARLOS R R, MARGARITA E A, et al. Fast and highly sensitive method for molybdenum (VI) determination by catalytic adsorptive stripping voltammetry[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 258(4): 612–620.
- [18] CARLOS R R, MARGARITA E A, ARANCIBIA V. Determination of molybdenum (VI) via adsorptive stripping voltammetry using an ex-situ bismuth screen-printed carbon electrode[J]. *Microchemical Journal*, 2020, 154(5): 104589–104596.
- [19] NIKOLAOU P, VALENTI G, PAOLUCCI F. Nano-structured materials for the electrochemiluminescence signal enhancement[J]. *Electrochimica Acta*, 2021, 388(8): 138586–138599.
- [20] ALEMU Y A, RAMPAZZO E, PAOLUCCI F, et al. Strategies of tailored nanomaterials for electrochemiluminescence signal enhancements[J]. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2022, 61(10): 101621–101630.
- [21] 郑行望, 章竹君, 王琦, 等. 基于电还原鲁米诺电化学发光分析法测定水样中钼(VI)[J]. *分析化学*, 2003, 31(9): 1076–1078. [ZHENG X W, ZHANG Z J, WANG Q, et al. Electrogenerated chemiluminescence determination of molybdenum based on its sensitizing effect in electrochemical reduction luminol[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2003, 31(9): 1076–1078.]
- [22] 杨玲娟, 李晓东, 王晓峰. 流动注射-电化学发光法测定煤灰中痕量钼(VI)[J]. *理化检验(化学分册)*, 2012, 48(7): 753–755, 769. [YANG L J, LI X D, WANG X F. Determination of trace amount of molybdenum (VI) in coal ash by flow injection-electrochemiluminescence[J]. *Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis)*, 2012, 48(7): 753–755, 769.]
- [23] JIN X, FENG C F, DEEPALEKSHMI P, et al. Review on exploration of graphene in the design and engineering of smart sensors, actuators and soft robotics[J]. *Chemical Engineering Journal Advances*, 2020, 4: 100034.
- [24] YANG Y, LIU Q, LIU X P, et al. Multifunctional reduced graphene oxide (RGO)/Fe₃O₄/CdSe nanocomposite for electrochemiluminescence immunosensor[J]. *Electrochimica Acta*, 2016, 190: 948–955.
- [25] YANG M Q, WANG L, LU H Z, et al. Graphene and graphene-like carbon nanomaterials-based electrochemical biosensors for phytohormone detection[J]. *Carbon Letters*, 2023(33): 1343–1358.
- [26] XING B, ZHU W J, ZHENG X P, et al. Electrochemiluminescence immunosensor based on quenching effect of SiO₂@PDA on SnO₂/rGO/AuNPs-Luminol for insulin detection[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 265(7): 403–411.
- [27] DU F K, ZHANG H, TAN X C, et al. Ru(bpy)₃²⁺-Silica@Poly-L-lysine-Au as labels for electrochemiluminescence lysozyme aptasensor based on 3D graphene[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2018, 106(5): 50–56.
- [28] LU L P, GUO L Q, LI J, et al. Electrochemiluminescent detection of Pb²⁺ by graphene/gold nanoparticles and CdSe quantum dots[J]. *Applied Surface Science*, 2016, 388(12): 431–436.
- [29] ZHAO J, DA J, YANG S S, et al. Efficient electrochemiluminescence of perylene nanocrystal entrapped in hierarchical porous Au nanoparticle-graphene oxide film for bioanalysis based on one-pot DNA Amplification[J]. *Electrochimica Acta*, 2020, 332(2): 135389–135395.
- [30] CAO J T, FU X L, LIU F R, et al. Reduced graphene oxide-gold nanoparticles-catalase-based dual signal amplification strategy in a spatial-resolved ratiometric electrochemiluminescence immunoassay[J]. *Analyst*, 2020, 145(1): 91–96.
- [31] QI Y, HE J, XIU F R, et al. A facile chemiluminescence sensing for ultrasensitive detection of heparin using charge effect of positively-charged AuNPs[J]. *Spectrochimica Acta Part A Molecular & Biomolecular Spectroscopy*, 2019, 216: 310–318.
- [32] ZHANG C G, ZHONG Y Y, HE Q Y, et al. Positively charged nanogold combined with expanded mesoporous silica-based immunoassay for the detection of avermectin[J]. *Food Analytical Methods*, 2020, 13: 1–9.