

# 铜配位功能化多糖构筑的电化学传感器 对手性色氨酸的识别

闫思梦,牛小慧,李红霞,王坤杰

(兰州理工大学 石油化工学院,甘肃 兰州 730050)

**摘要** 通过聚乙烯亚胺(PEI)使海藻酸钠(SA)质子化以及防止SA发生团聚,与金属离子Cu(II)通过配位键结合形成复合材料(PEI-SA-Cu(II))。通过扫描电镜(SEM)、红外光谱(FT-IR)、X射线衍射(XRD)对复合材料进行表征,通过电化学对L/D-Trp进行电化学识别。结合差分脉冲伏安法(DPV)数据可以看出,复合材料对于色氨酸具有较好的识别效果。

**关键词** 海藻酸钠;手性识别;配位结合

**中图分类号** O646

**文献标识码** A

开放科学(资源服务)标识码(OSID)



## Recognition of Chiral Tryptophan by an Electrochemical Sensor Constructed by Polysaccharides Functionalized with Polyethyleneimine

YAN Simeng, NIU Xiaohui, LI Hongxia, WANG Kunjie

(School of Petrochemical Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China)

**Abstract** Polyethyleneimine(PEI) is used to protonate sodium alginate(SA) and prevent SA from agglomerating, and combine with metal ions Cu(II) through coordination bonds to form a composite material(PEI-SA-Cu(II)). The composite materials were characterized by scanning electron microscopy(SEM), infrared spectroscopy(FT-IR), and X-ray diffraction(XRD), and L/D-Trp was electrochemically identified by electrochemistry. Combined with the differential pulse voltammetry(DPV) data, it can be seen that the composite material has a better recognition effect for tryptophan.

**Key words** sodium alginate; chiral recognition; coordination

### 0 引言

通俗来讲,手性就像我们的左右手一样,互成镜像却不能完全重合,分子的手性通常是由碳原子所连接的四个基团互不相同所引起的<sup>[1]</sup>。对于不同构型的氨基酸,具有不同甚至相反的药理和生物活性,其中一种对于人体是有利的,另外一种可能是无用或者有害的。L-色氨酸作为天然存在的氨基酸,是人体必需的八种氨基酸之一,无法通过自身合成,只能从食物中摄取获得,对人体的生长发育及新陈代谢起着重要的作用<sup>[2]</sup>。D-色氨酸主要存在于植物或者微生物中,对于人体既无毒也不起到促进作用<sup>[3]</sup>。对于不同构型的手性分子

收稿日期:2021-05-27

基金项目:国家自然科学基金项目(22065021, 21867015)资助

通信作者:王坤杰,男,汉族,博士,教授,硕士生导师,研究方向:储能材料、生物材料化学,E-mail:wangkj80@163.com。

其主要是化学活性不同,物理性质相似,因此如何区别与分离是一个巨大的挑战。随着学者对于手性识别的研究,目前识别方法主要有色谱法、光谱法、质谱法和传感器法<sup>[4-7]</sup>。传感器法中的电化学手性传感器法以其识别迅速、价格低廉、操作简单等优点成为手性识别的研究热点。对于电化学手性传感器法最重要的步骤是制备电化学手性平台,因此如何选取高效的手性材料是人们一直面临的问题<sup>[8]</sup>。

多糖作为一种天然存在的大分子,具有手性位点较多、易于衍生、量多易得等优点而受到广泛关注<sup>[9]</sup>。吴<sup>[10]</sup>等用环糊精作为手性选择剂,石墨烯作为电化学放大信号对组氨酸进行识别;郭等<sup>[11]</sup>通过金-硫键结合巯基- $\beta$ -环糊精( $\beta$ -CD-SH),构建了一种新型的电化学传感器。由于环糊精的“杯环结构”使得发生手性识别需要严格的条件,被识别分子的疏水基要能够与环糊精的洞穴大小相匹配,形成包合物。由于环糊精的识别要求较为严格,可以选择结构较为简单以及手性位点较多的多糖作为手性选择指示剂<sup>[12]</sup>。由于多糖的导电能力较差,在进行电化学识别时电化学信号较弱,所以通常加入导电能力较强的物质增加其电化学信号<sup>[13]</sup>。

海藻酸钠(SA)是从海带或马尾藻中提取出来的一种多糖高分子聚合物,为白色或者黄色粉末<sup>[14]</sup>。海藻酸钠含有较多的羧基以及羟基,能很好的与金属离子形成配位,从而达到作为手性选择剂的要求<sup>[15-17]</sup>。但是由于多糖易于团聚,所以可以添加分散剂。聚乙烯亚胺(PEI)是一种比较常用的分散剂,可以有效解决多种材料的分散问题<sup>[18,19]</sup>,在本实验中选择用 PEI 分散多糖。

本实验以海藻酸钠-铜(SA-Cu(II))作为电化学手性识别平台,制备复合材料 PEI-SA-Cu(II)。海藻酸钠本身所具有的羧基可通过配位识别不同异构体的氨基酸,由于本身存在团聚效应,多糖导电能力较差,所以添加金属离子形成配位,从而增加识别能力,对于色氨酸进行识别。

## 1 实验部分

### 1.1 实验试剂与仪器

聚乙烯亚胺(PEI, 600.99 M.W. 上海麦克林生化科技有限公司);海藻酸钠(SA, 上海麦克林生化科技有限公司);氯化铜( $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , AR, 天津市凯信化学工业有限公司); $\alpha$ 氧化铝抛光粉( $0.3 \mu\text{m}$ , 北京精科科仪科学仪器有限公司)。

电化学工作站(CHI660E, 上海辰华仪器有限公司);玻碳电极(3 mm, 上海兢翀电子科技发展有限公司);分析天平(ESJ182-4, 沈阳神宇龙腾天平有限公司);恒温磁力搅拌器(85-2A; 金坛市亿能实验仪器厂);傅里叶红外光谱仪(IEC/EN 60825-1:2007);真空干燥箱(GZX9140MBE; 上海一恒科学仪器有限公司);X射线衍射仪(PANalytical);扫描电子显微镜(JSM-6701F; 日立公司)。

### 1.2 实验过程

1.2.1 PEI-SA 的制备。准备 1 mg/mL 的 SA 溶液,将 SA 溶于蒸馏水,超声至 SA 完全溶解。将 10 mL、1 mg/mL 的 PEI,加入到 20 mL、1 mg/mL 的 SA 溶液中,搅拌下反应 24 h,将所得反应液冷冻干燥,得到白色固体。

1.2.2 PEI-SA-Cu(II)的制备。重复上述步骤,制备 PEI-SA 的复合材料溶液,将 50 mL、1 mg/mL 的产物与 5 mL、1 mg/mL 的  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  溶液混合后机械搅拌 30 min,将所得溶液冷冻干燥,得到淡蓝色固体产物。即为所需复合材料。

1.2.3 电化学手性平台的构建。裸玻碳电极(GCE),用三氧化二铝( $\text{Al}_2\text{O}_3$ )抛光粉在麂皮上打磨抛光,然后用蒸馏水冲洗干净,在红外灯下干燥。然后在玻碳电极上滴涂 10  $\mu\text{L}$  的 PEI-SA-Cu(II)分散液,在红外灯下晾干备用。以饱和甘汞电极作为参比,将其置于 50 mM 不同异构体的氨基酸的  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$  溶液中进行电化学测试。利用差分脉冲伏安法(DPV)测试其电化学的识别能力。所用电化学工作站为三电极工作站<sup>[20]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 SEM 图

图 1(a)是 PEI-SA 的 SEM 图,从 SEM 图中可以看出是类似于珊瑚形状的复合物。图 1(b)是 PEI-SA-

Cu(II)的SEM图,加入Cu(II)之后,Cu(II)与PEI-SA通过形成氢键结合形成聚合物,从图中可以看出是具有片层结构的复合物。

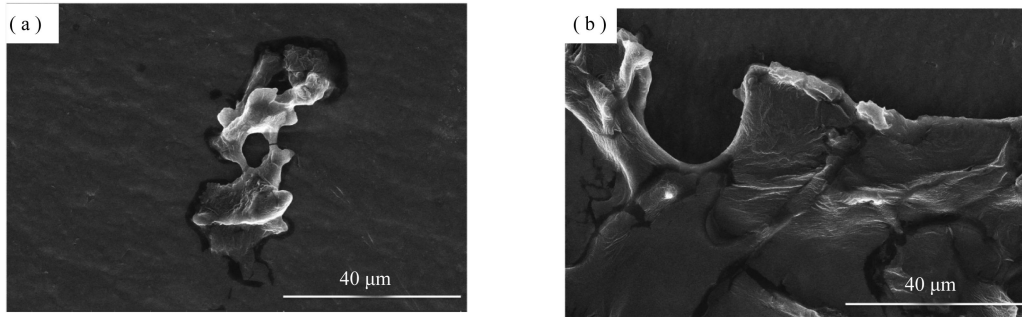


图1 (a) PEI-SA的SEM扫描图;(b) PEI-SA-Cu(II)的SEM扫描图

## 2.2 红外谱图

对于合成的PEI-SA及PEI-SA-Cu(II)进行了FT-IR表征(图2)。对于SA,3420  $\text{cm}^{-1}$ 处出现的特征峰是O-H的伸缩振动峰,2923  $\text{cm}^{-1}$ 处的峰归属于 $-\text{CH}_2$ ,1617以及1414  $\text{cm}^{-1}$ 处的吸收峰是由 $-\text{COO}^-$ 的反对称和对称伸缩振动峰。而在1026  $\text{cm}^{-1}$ 处的峰值归因于C-O-C。在加入PEI之后,SA的特征峰都没有明显的蓝移或者红移,因为PEI只是解决SA进行团聚的问题,在加入氯化铜之后,在700  $\text{cm}^{-1}$ 处有一个弱的吸收峰,是由于铜离子与海藻酸钠的羧基以及羟基配位,形成Cu-O的吸收峰。在加入铜离子以后,在3420  $\text{cm}^{-1}$ 处的特征峰有明显的蓝移,这可能是由于形成配位键造成的。

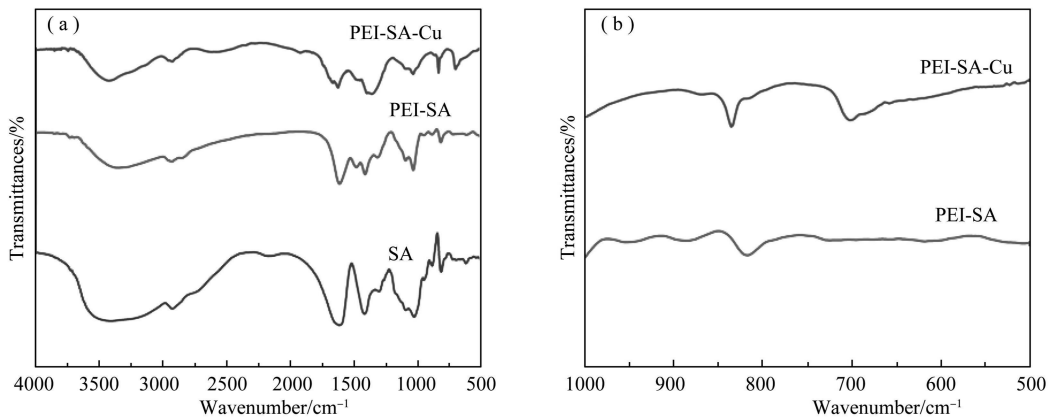


图2 (a) 复合材料的红外谱图;(b) 指纹区放大图

## 2.3 XRD

图3是复合材料的PEI-SA-Cu(II)的XRD谱图,从图中可以看出衍射峰在 $10^\circ$ - $20^\circ$ 的位置有一个明显的大包峰,这是碳的无定型结构的衍射峰。在 $30^\circ$ - $40^\circ$ 有尖锐的出峰,是由于Cu(II)与 $-\text{COO}^-$ 形成配位键所形成的衍射峰。氧化亚铜的出峰在 $36^\circ$ 有尖锐的出峰,本实验是由于Cu(II)与 $-\text{COO}^-$ 发生了配位,所以出现类似于氧化亚铜的出峰。

## 2.4 电化学识别图

对于SA其结构本身就具有大量的羧基以及羟基,对于氨基酸具有一定的识别能力,但是由于多糖本身的导电性较差,易于团聚等的限制,导致其电化学识别的信号较弱,对于氨基酸的识别能力较弱。如图4(a)(b)所示,对于添加了金属离子的复合材料电化学信号较强,对于氨基酸的识别能力较强。由于金属离子的配位能力较强,不仅与SA上面的羧基配位,跟氨基酸上的羧基配位,识别能

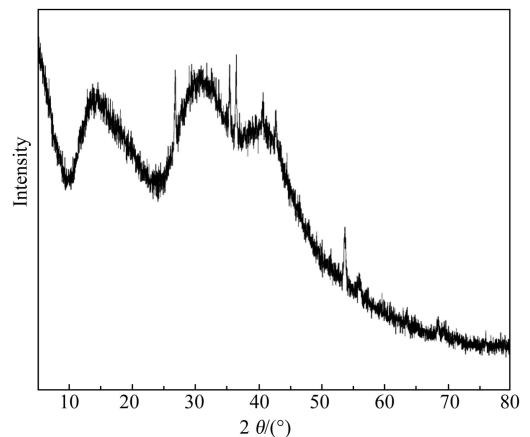


图3 PEI-SA-Cu(II)的XRD谱图

力较强。图 4(c)是 PEI-SA 对于 D/L-Trp 的识别,  $\Delta E = 20$  mV, 具有一定的识别能力, 但是识别能力较弱, 几乎没有。图 4(d)是 PEI-SA-Cu(II) 对于 D/L-Trp 的识别的 DPV 图,  $\Delta E = 132$  mV, 具有较强的识别能力。从图 4 中可以看出。

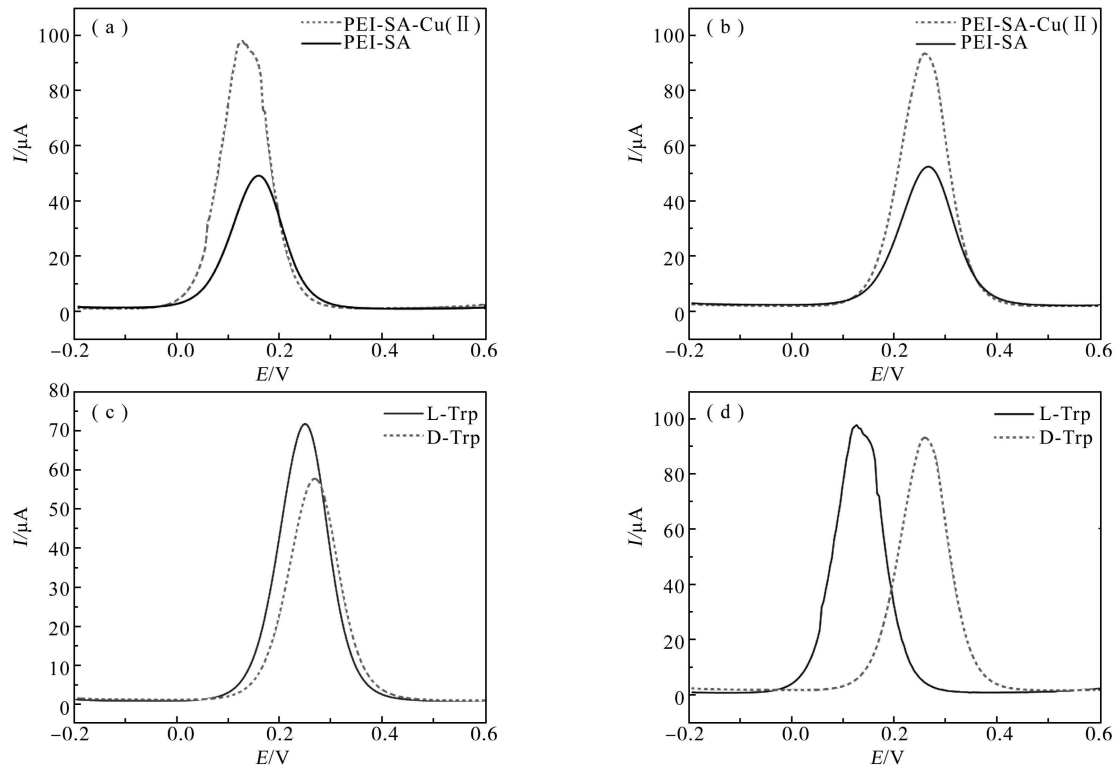


图 4 (a)(b)是复合材料对于不同异构体的识别 (a)L-色氨酸,(b)D-色氨酸;(c)是 PEI-SA 对于 D/L-Trp 的识别;(d)是 PEI-SA-Cu(II) 对于 D/L-Trp 的识别

### 2.5 流程图

如图 5 是合成的流程图。PEI 不仅可以解决 SA 的团聚效应, 在与 SA 复合时, 还使 SA 质子化。加入 Cu(II) 之后, SA 上面的  $-\text{COO}^-$  中的带负电的氧离子通过氢键发生配位, 从而合成所需的复合材料。色氨酸 (Trp) 上具有羧基以及氨基, Cu(II) 可以与其发生配位形成氢键, 从而达到对于色氨酸识别的效果。

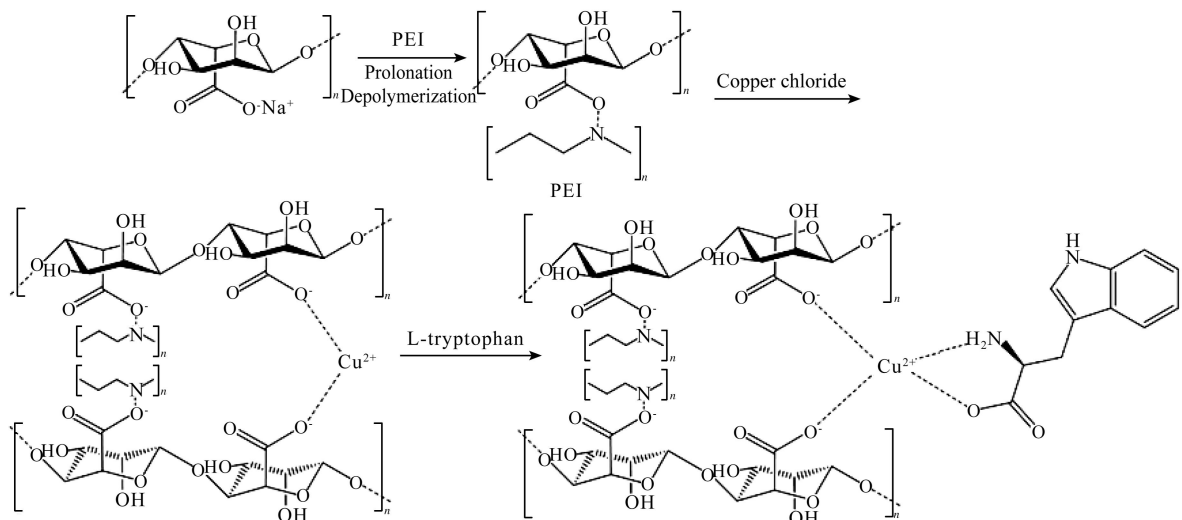


图 5 合成以及识别示意图

### 2.6 扫描速度对峰值电流影响

CV 记录了扫描速率对峰值电流的影响。测试不同扫描速度对于峰值电流的影响主要是为了研究电极

表面的反应过程。从图 6 中可以看出由于复合材料 PEI-SA-Cu(II) 存在电阻,随着扫描速率的增加,阳极峰移至正电位,阴极峰与之相反移至负电位。由于峰值电流与扫描速率的平方根之间具有线性关系,通过这一结论可以得出电极表面的电化学反应是受扩散控制的。

### 3 结论

本文利用聚乙烯亚胺可以阻止海藻酸钠的团聚效应以及使海藻酸钠质子化,添加二价金属离子铜使其通过配位作用形成电化学手性平台,对于色氨酸的不同异构体的一个识别。结果表明多糖本身就具有一定的效果,但是识别能力较弱,加入 Cu(II) 后,电化学信号增强,对于氨基酸的识别能力增强。Cu(II) 与海藻酸钠上面的羧基配位形成氢键,增加了复合材料的导电能力,金属离子与氨基酸形成氢键,使识别能力增加。

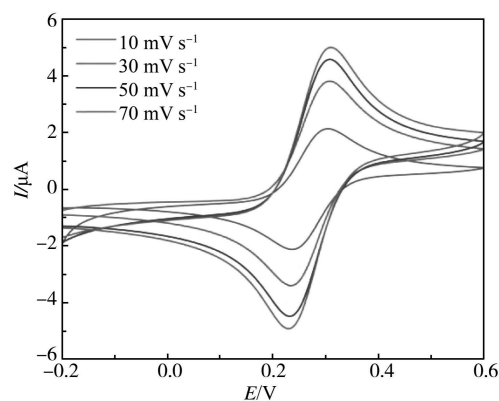


图 6 PEI-SA-Cu(II)/GCE 在扫速为 10、30、50、70  $\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$  的循环伏安图

### 参 考 文 献

- [1] 牛小慧,莫尊理,高虎虎,等.部分手性识别材料在手性电化学传感器中的应用[J].化工新型材料,2017(11):228-231.
- [2] 陈荣庆,刘伟,皮雄娥,等. L-色氨酸的研究进展[J].安徽农业科学,2014(14):4438-4440.
- [3] 李小兰,江敏,阮征,等.色氨酸及其代谢产物 5-HT 对肠道功能的作用综述[J].食品安全质量检测学报,2014(7):1997-2002.
- [4] Berthod A. Chiral recognition mechanisms[J]. Analytical Chemistry, 2006, 78(7):2093-9.
- [5] 翁文,韩景立,陈友遵,等.手性传感器研究进展[J].化学进展,2007,19(11):1820-1825.
- [6] 张亚会,刘刚,徐慧.电化学方法手性识别的研究进展[J].化学通报,2017,80(8):699-707.
- [7] 孔泳,赵倩倩,杨嘉佩,等.手性识别技术研究进展[J].常州大学学报(自然科学版),2021,33(2):24-36.
- [8] 徐航,朱锐,刘玮,等.多糖高级结构解析方法的研究进展[J].药学进展,2015(5):364-369.
- [9] Tao Y, Gu X, et al. Electrochemical enantioselective recognition in a highly ordered self-assembly framework[J]. Anal Chem, 2017, 89(3):1900-1906.
- [10] 吴燕,连惠婷,孙向英,等.石墨烯基环糊精传感器的构建及对组氨酸对映体的电位识别[J].高等学校化学学报,2019,40(2):230-239.
- [11] 郭冬梅,冉佩瑶,王庆红,等.基于巯基- $\beta$ -环糊精手性识别多巴对映体研究[J].化学传感器,2015(2):43-49.
- [12] Feng W, Liu C, Lu S, et al. Electrochemical chiral recognition of tryptophan using a glassy carbon electrode modified with  $\beta$ -cyclodextrin and graphene[J]. Microchimica Acta, 2014, 181(5/6):501-509.
- [13] Wu S, Ye Q, Wu D, et al. Enantioselective Recognition of chiral tryptophan with achiral glycine through the strategy of chirality transfer[J]. Analytical Chemistry, 2020, 92:11927-11934.
- [14] 黄攀丽,沈晓骏,陈京环,等.海藻酸钠的提取与功能化改性研究进展[J].林产化学与工业,2017,37(4):13-22.
- [15] Bao L, Dai J, Yang L, et al. Electrochemical recognition of tyrosine enantiomers based on chiral ligand exchange with sodium alginate as the chiral selector[J]. Journal of the Electrochemical Society, 2015, 162(7):H486-H491.
- [16] Lee W J, Lee Y S, Rha S K, et al. Adhesion and interface chemical reactions of Cu/polyimide and Cu/TiN by XPS[J]. Applied Surface Science, 2002, 205(1-4):128-136.
- [17] Li J, Mei Z, Liu L, et al. Probing defects in nitrogen-doped  $\text{Cu}_2\text{O}$ [J]. Scientific Reports, 2014, 4:7240.
- [18] Eguilaz, Ferreyra, N F, et al. Dispersions of hollow and bamboo-like multiwalled carbon nanotubes in polyethyleneimine: critical analysis of the preparation conditions and applications for electrochemical sensing[J]. Electroanalysis, 2014, 26(11):2434-2444.
- [19] Nomura Y, Iijima M, Kamiya H. Hydrophobic group functionalization of polyethyleneimine for controlling dispersion behavior of silicon carbide nanoparticles in aqueous suspension[J]. Journal of the American Ceramic Society, 2012, 95(11):3448-3454.
- [20] Bao L, Chen X, Yang B, et al. Construction of electrochemical chiral interfaces with integrated polysaccharides via amidation[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2016(1):21710-21720.