

# TiO<sub>2</sub> - CdTe 电化学发光法测定利巴韦林

吴可心, 田利\*, 胡玥, 王月, 陆娟

(长春师范大学 化学学院, 吉林 长春 130032)

**摘要:** 将碲化镉量子点(CdTe)与二氧化钛(TiO<sub>2</sub>)的复合物修饰至玻碳电极表面, 构建了TiO<sub>2</sub>-CdTe/GCE电化学发光传感平台, 并对其电化学发光性质进行研究。在含有联吡啶钌和三正丙胺的碱性缓冲溶液中, TiO<sub>2</sub>-CdTe/GCE产生很强的电化学发光信号, 随着利巴韦林的加入, 该体系的电化学发光信号发生明显猝灭, 据此建立了一种新的利巴韦林含量的检测方法。在优化实验条件下, 利巴韦林在 $3.9 \times 10^{-4} \sim 3.9 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内, 其浓度的对数与相对电化学发光强度呈现良好的线性关系, 检出限为 $1.3 \times 10^{-10} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。对注射液中利巴韦林含量进行测定, 回收率为96.6%~101%, 结果满意。

**关键词:** TiO<sub>2</sub>-CdTe复合物; 联吡啶钌; 电化学发光; 利巴韦林

**中图分类号:** O657.3; TQ460.72 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2019)08-1000-05

## Determination of Ribavirin by Electrochemical Luminescence with TiO<sub>2</sub> - CdTe

WU Ke-xin, TIAN Li\*, HU Yue, WANG Yue, LU Juan

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

**Abstract:** A novel electrochemical luminescence method was established for the detection of ribavirin based on a TiO<sub>2</sub>-CdTe glassy carbon electrode(GCE). The TiO<sub>2</sub>-CdTe/GCE electrochemical luminescence(ECL) sensor platform was constructed by immobilizing a CdTe-TiO<sub>2</sub> complex onto the surface of glassy carbon electrode, which ECL properties were studied. The TiO<sub>2</sub>-CdTe/GCE exhibited an efficient and stable ECL signal in alkaline buffer solution containing Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup> and tripropylamine(TprA). The ECL signal was obviously quenched when a certain amount of ribavirin was added. Thus, a new detection method for ribavirin was established. Under the optimized conditions, the ECL signal intensity depends linearly on the logarithm of ribavirin concentration in the range of  $3.9 \times 10^{-4} \sim 3.9 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , and the detection limit( $S/N=3$ ) was  $1.3 \times 10^{-10} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ . The method was successfully applied in the detection of ribavirin in injection with recoveries of 96.6% - 101%.

**Key words:** TiO<sub>2</sub>-CdTe complex; Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>; electrochemical luminescence; ribavirin

利巴韦林化学名为1-P-D-呋喃核糖基-1H-12, 4, -三氮唑-3-羧酰胺, 属于广谱抗病毒药物<sup>[1]</sup>, 常温条件下较稳定, 易溶于水, 适用于呼吸道病毒引起的肺炎、皮肤疱疹性病毒感染和支气管炎等炎症。在1981年针鼻剂、原料药、针剂等已获得生产资格, 现有10多种药剂类型, 临床应用较为广泛<sup>[2]</sup>。药剂中利巴韦林的定量分析方法有方波吸附溶出伏安法<sup>[3]</sup>、免疫分析法<sup>[4]</sup>、电泳法<sup>[5]</sup>、流动注射发光法<sup>[6]</sup>、分光光度法<sup>[7]</sup>、高效液相色谱法<sup>[8-9]</sup>、高效液相色谱-串联质谱法<sup>[10-13]</sup>。目前, 尚未见基于量子点的电化学发光法测定利巴韦林含量的报道。

电化学发光(ECL)作为一种新型的电化学及发光分析方法, 具有灵敏度高、背景低、快速简单等优点<sup>[14]</sup>, 广泛应用于食品和环境监测、生物免疫分析、医疗诊断等方面, 成为体外诊断的重要方法<sup>[15-16]</sup>。本文以联吡啶钌和三正丙胺的ECL信号为检测信号, 利巴韦林为检测物质, 构建了二氧化钛-碲化镉(TiO<sub>2</sub>-CdTe)的ECL传感平台, 考察了在联吡啶钌体系中, 该修饰电极阳极的ECL行为。利巴韦林对阳极的ECL行为有一定的猝灭作用, 据此, 建立了一种测定利巴韦林含量的新方法。

收稿日期: 2019-03-07; 修回日期: 2019-03-20

基金项目: 吉林省教育厅“十三五”科研规划项目(JJKH20181173KJ); 长春师范大学研究生创新基金项目(csexxy2018037)

\* 通讯作者: 田利, 博士, 教授, 研究方向: 纳米电化学、生物传感器, E-mail: tianli308cc@163.com

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

MPI-B 型多参数化学分析测试系统(西安瑞迈分析仪器公司); CHI600C 电化学分析仪(上海辰华仪器公司); 采用三电极体系: 玻碳电极(GCE)或  $\text{TiO}_2$ -CdTe 修饰电极为工作电极, 铂电极为辅助电极, Ag/AgCl 电极为参比电极。

联吡啶钌、二氧化钛、利巴韦林、三正丙胺均购于阿拉丁试剂公司, 碲化镉(实验室自制), 其他所用试剂均为分析纯, 实验用水均为二次蒸馏水。

联吡啶钌储备液: 称取 0.074 8 g 联吡啶钌于烧杯中, 用水将其溶解后, 转移至 10 mL 容量瓶中定容, 并置于 4 °C 冰箱中保存。利巴韦林标准液: 称取 0.004 9 g 利巴韦林粉末, 用少量水将其溶解后定容至 10 mL 容量瓶, 置于 4 °C 冰箱中保存备用。

### 1.2 $\text{TiO}_2$ -CdTe 修饰电极的制备

将玻碳电极用不同粒度的  $\text{Al}_2\text{O}_3$  抛光粉打磨, 用水彻底清洗电极表面残留的抛光粉后, 用水超声清洗电极 5 min, 氮气吹干备用。

取 0.5 mg  $\text{TiO}_2$  粉末分散于 1 mL CdTe(经过表征, 可作为后续研究使用)量子点溶液中, 超声 30 min, 得到均匀分散的  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$   $\text{TiO}_2$ -CdTe 混合悬浮液。用微量注射器移取 5  $\mu\text{L}$  上述悬浮液滴涂于经预处理的电极, 在红外灯下烤干, 即制得  $\text{TiO}_2$ -CdTe/GCE 作为工作电极。用同样方法制备  $\text{TiO}_2$ /GCE、CdTe/GCE 用于比较实验。

### 1.3 实验方法与条件

电化学发光是采用三电极体系在 MPI-B 型多参数化学分析测试系统上进行。参数设置: 扫描电位范围: 0~1.4 V, 扫描速率为 0.1 V/s, 放大级数为 3 级, 光电倍增管高压为 600 V。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同修饰电极在联吡啶钌溶液中的 ECL 响应

图 1 为 4 种不同修饰电极(GCE、 $\text{TiO}_2$ /GCE、CdTe/GCE 和  $\text{TiO}_2$ -CdTe/GCE)在联吡啶钌体系中的 ECL 响应情况。从图中可以看出, 4 种不同修饰电极均产生 ECL 信号, 在 1.3 V 左右达到最大值。通过比较不同修饰电极的 ECL 响应强度,  $\text{TiO}_2$ -CdTe/GCE(d) 的 ECL 信号最强, 其发光强度是裸 GCE(a) 的 4.4 倍, 是  $\text{TiO}_2$ /GCE (b) 的 2 倍, 是 CdTe/GCE (c) 的 1.4 倍。这说明 CdTe 量子点和  $\text{TiO}_2$  对联吡啶钌体系均有一定的增敏作用, 并且形成复合物后由于它们的协同作用及纳米  $\text{TiO}_2$  大的比表面积, 增大了对 CdTe 量子点的承载量, 提高了电子传输能力, 使 ECL 的响应信号进一步增强。因此, 本实验采用  $\text{TiO}_2$ -CdTe/GCE 作为工作电极。

### 2.2 利巴韦林在 $\text{TiO}_2$ -CdTe/GCE 上的电化学响应

采用循环伏安法和电化学发光法考察了利巴韦林在  $\text{TiO}_2$ -CdTe/GCE 上的电化学性质, 结果如图 2 所示。图 2A 为不同浓度利巴韦林在  $\text{TiO}_2$ -CdTe 修饰电极上的循环伏安曲线, 在 0.85 V 的氧化峰电流强度随着利巴韦林浓度的增加而减小。图 2B 为不同浓度利巴韦林的电化学发光曲线, 随着利巴韦林浓度的增大,  $\text{TiO}_2$ -CdTe/GCE 在联吡啶钌溶液中的 ECL 强度也逐渐减小。这可能是因为利巴韦林和  $\text{TiO}_2$ -CdTe 复合物有一定的相互作用, 使电极表面的电活性物质浓度减小, 从而使电流或 ECL 信号减

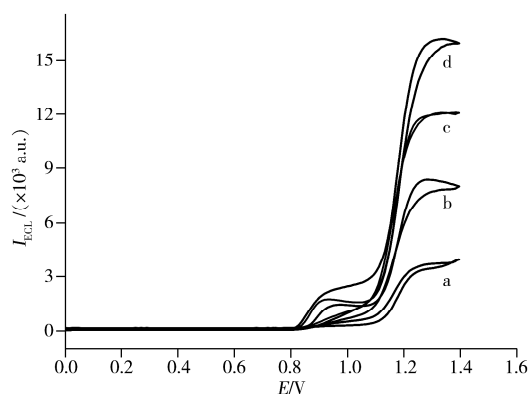


图 1 不同修饰电极的 ECL 响应  
Fig. 1 ECL responses of different modified electrodes  
a. GCE, b.  $\text{TiO}_2$ /GCE, c. CdTe/GCE, d.  $\text{TiO}_2$ -CdTe/GCE;  
 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ :  $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , TPrA:  $12.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  
PBS:  $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , scan rate:  $0.1 \text{ V} \cdot \text{s}^{-1}$

小,由此可见,利巴韦林可以猝灭  $\text{TiO}_2 - \text{CdTe}/\text{GCE}$  在联吡啶钌溶液中的 ECL 响应。因此,本实验利用电化学发光猝灭的特点对利巴韦林含量进行测定。

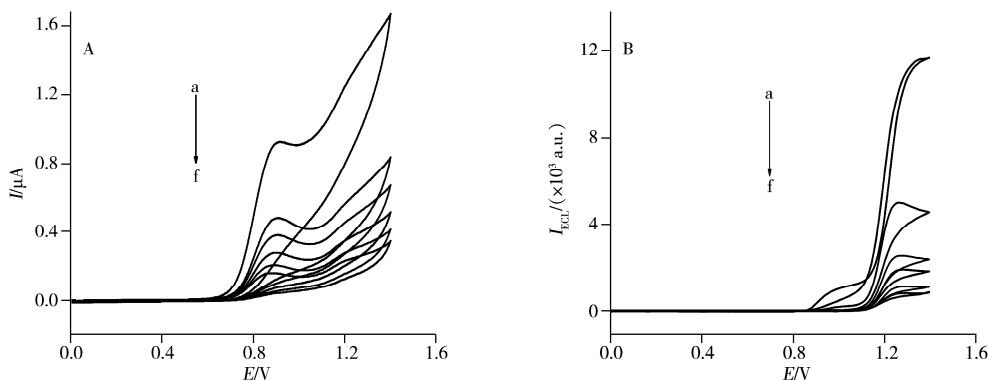


图 2 不同浓度利巴韦林在  $\text{TiO}_2 - \text{CdTe}/\text{GCE}$  上的电化学(A)和电化学发光(B)曲线  
Fig. 2 CV(A) and ECL (B) curves of different concentrations of ribavirin on  $\text{TiO}_2 - \text{CdTe}/\text{GCE}$   
concentration of ribavirin(a-f): 0, 3.9, 7.8, 11.7, 15.6, 19.5  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

### 2.3 实验条件的选择

**2.3.1 溶液 pH 值的选择** 考察了溶液 pH 值(5.0~13.0)对 ECL 强度的影响,实验结果见图 3A。当 pH 值在 5.0~11.0 时,随着碱性的不断增强,ECL 强度呈上升趋势,当 pH 大于 11.0 时,ECL 强度呈下降趋势,而当 pH 11.0 时,  $\Delta I_{\text{ECL}}$  达到最大值,因此实验选择 pH 11.0 为最佳 pH 值。

**2.3.2 三正丙胺浓度的选择** 三正丙胺(TprA)作为联吡啶钌的共反应剂,其浓度直接影响 ECL 的强度和检测物的灵敏度。如图 3B 所示,TprA 浓度为 12.0  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时  $\Delta I_{\text{ECL}}$  最大。浓度过低时,联吡啶钌与三正丙胺不能充分反应,ECL 强度较低,当三正丙胺浓度过大时,体系的 ECL 不稳定,导致检测利巴韦林的灵敏度降低。因此,实验选择最佳共反应剂浓度为 12.0  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

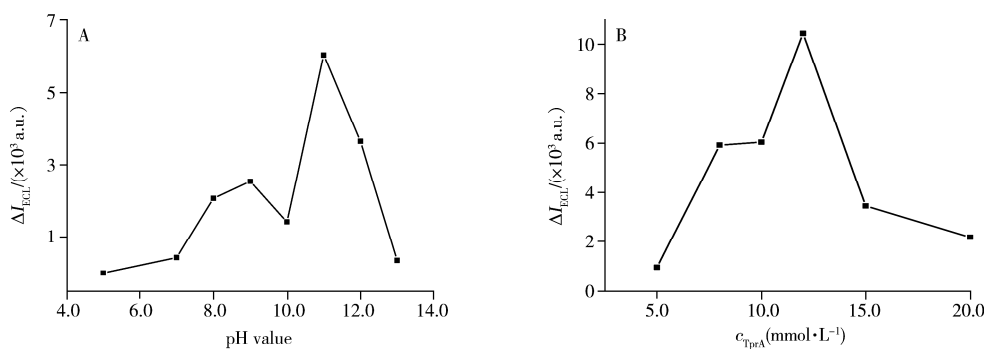


图 3 溶液 pH 值(A)及三正丙胺浓度(B)的影响  
Fig. 3 Effects of pH value and TprA concentration

**2.3.3  $\text{TiO}_2 - \text{CdTe}$  复合物比例的选择**  $\text{TiO}_2$  与 CdTe 的比例对体系的 ECL 有一定的影响,因此实验分别考察了在 1.0 mL CdTe 溶液中含有 0.1、0.3、0.5、0.7、0.9 mg  $\text{TiO}_2$  含量的  $\text{TiO}_2 - \text{CdTe}$  对 ECL 的响应情况。数据显示,随着  $\text{TiO}_2$  的量越大,  $\Delta I_{\text{ECL}}$  越大;  $\text{TiO}_2$  的浓度大于 0.7  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  时,其  $\Delta I_{\text{ECL}}$  值降低。可见,1.0 mL CdTe 溶液中所含  $\text{TiO}_2$  用量对  $\Delta I_{\text{ECL}}$  有较大影响。当  $\text{TiO}_2$  与 CdTe 的用量比为 0.7 : 1.0 ( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 时,  $\Delta I_{\text{ECL}}$  达到最大值。因此该复合物的最佳比例为 0.7 : 1.0 ( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )。

**2.3.4 反应时间的选择** 考察了体系中加入利巴韦林后的反应时间(0.5~10 min)对  $\Delta I_{\text{ECL}}$  强度的影响。反应时间为 0.5~1 min 时,随着反应时间的延长,  $\Delta I_{\text{ECL}}$  增强;当反应时间为 1~10 min,随着反应时间的延长,  $\Delta I_{\text{ECL}}$  值下降。上述数据表明,时间过短或过长均会导致体系 ECL 强度不同程度的降低。当反应时间为 1 min 时,ECL 信号最稳定且  $\Delta I_{\text{ECL}}$  最大。因此实验选择最佳反应时间为 1 min。

### 2.4 干扰实验

在最佳实验条件下,考察了一些药物和体系中可能存在的干扰物质对 3.9  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  利巴韦林标准

液检测时的干扰情况,以体系中含 20 μmol · L<sup>-1</sup> Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup> 和 12.0 mmol · L<sup>-1</sup> TprA 的磷酸盐缓冲液作为空白,加入 3.9 μmol · L<sup>-1</sup> 利巴韦林标准液后的 ECL 作为对比,相对误差小于 5% 范围内,认为无干扰。结果表明,100 倍的 K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、Na<sup>+</sup>、Cl<sup>-</sup>,50 倍的葡萄糖和磺胺-5 甲氧嘧啶,10 倍的抗坏血酸,对其测定结果均不影响。说明该电极的选择性较好。

## 2.5 标准曲线与检出限

在优化实验条件下,考察了不同浓度利巴韦林标准溶液的化学发光信号,并绘制了标准曲线。结果显示,利巴韦林溶液在 3.9 × 10<sup>-4</sup>~3.9 μmol · L<sup>-1</sup> 范围内,其浓度的对数与 ΔI<sub>ECL</sub> 呈现良好的线性关系,线性方程为 ΔI<sub>ECL</sub> = 228.50 lg c + 14 913,线性系数 r = 0.992 4,方法的检出限(S/N = 3)为 1.3 × 10<sup>-10</sup> mol · L<sup>-1</sup>。将本方法与已报道的测定利巴韦林的方法,对其线性范围和检出限进行单位换算后比较(见表 1)。结果显示,该方法具有更宽的线性范围和更低的检出限,适用于利巴韦林的痕量分析。

表 1 不同测定利巴韦林方法的比较  
Table 1 Comparison of different methods for determination of ribavirin

Method	Linear range(μg/mL)	Detection limit (μg/mL)	Reference
HPLC	24~216	8	[17]
HPCE	200~1 000	67	[5]
LC-MS	1.0 × 10 <sup>-2</sup> ~1.5	3.0 × 10 <sup>-3</sup>	[11]
ECL	0.9 × 10 <sup>-4</sup> ~0.9	3.0 × 10 <sup>-5</sup>	The method

## 2.6 TiO<sub>2</sub>-CdTe 修饰电极的稳定性与重现性

在最优化实验条件下,采用 TiO<sub>2</sub>-CdTe/GCE 在含有 3.9 μmol · L<sup>-1</sup> 利巴韦林标准液、2.0 mmol · L<sup>-1</sup> 联吡啶钌和 12.0 mmol/L<sup>-1</sup> TprA 的 PBS(pH 11.0) 缓冲溶液中平行扫描 10 圈,其电化学发光强度基本不变,相对误差为 4.3%。使用 5 支相同的 TiO<sub>2</sub>-CdTe/GCE 检测 3.9 μmol · L<sup>-1</sup> 利巴韦林溶液,测得其相对误差为 3.5%。说明该修饰电极具有较好的稳定性和重现性。

## 2.7 实际样品的分析

取一定量 3 个不同厂家的利巴韦林注射液于 1 000 mL 容量瓶中稀释定容,分别标记样品为 1、2、3,量取一定量的样品,按照上述优化实验条件,每份注射液平行测定 3 次。在上述溶液中加入一定量的利巴韦林标准液进行加标回收实验,每份注射液加标后平行测定 3 次。样品中利巴韦林含量的平均值及加标的回收含量如表 2 所示。结果显示,利巴韦林的原含量为 3.98~4.35 μmol/L,加标回收率为 96.6%~101%,相对标准偏差(RSD)均小于 5%,说明此方法可用于实际样品中利巴韦林含量的测定。

表 2 回收试验结果(n=3)  
Table 2 Results of test for recovery(n=3)

Sample	Original (μmol · L <sup>-1</sup> )	Added (μmol · L <sup>-1</sup> )	Found (μmol · L <sup>-1</sup> )	Average recovery (%)	RSD (%)
1	3.98	0.4	4.23	96.6	3.4
2	4.21	0.4	4.48	97.1	2.8
3	4.35	0.4	4.80	101	1.1

## 3 结 论

本文采用 CdTe 和 TiO<sub>2</sub> 超声混合得到 TiO<sub>2</sub>-CdTe 悬浮液,用直接滴涂法制备了 TiO<sub>2</sub>-CdTe/GCE。该修饰电极在联吡啶钌和三正丙胺发光体系中产生较强的 ECL 信号,利巴韦林对该体系在阳极的电化学发光信号具有明显的猝灭作用,利用此原理建立了一种测定利巴韦林含量的新方法。采用该修饰电极测定利巴韦林具有较宽的线性范围和较高的灵敏度等优点,为测定利巴韦林含量提供了一种简便、快速、价廉的新方法,对检测利巴韦林具有一定的参考意义。

### 参考文献:

- [1] Hua Y T, Xu Z L, Wang H, Yang Y J, Sun Y M, Shen Y D. *J. Instrum. Anal.* (华彦涛,徐振林,王弘,杨金易,孙远明,沈玉栋.分析测试学报), 2017, 36(7): 921-924.

- [2] Zhou J, Wang M, Yang M R, Tang X Y, Mao X F. *Chem. Reagents* (周剑, 王敏, 杨梦瑞, 汤晓艳, 毛雪飞. 化学试剂), **2016**, 38(1): 1-6, 33.
- [3] Abdel Gaber A A, Ahmed S A, Abdel Rahim A M. *Arab. J. Chem.*, **2013**, 8(1): 15-16.
- [4] Kang J O, Pai C H. *Am. J. Clin. Pathol.*, **1989**, 91(3): 323-326.
- [5] Wang Y Z, Zhang G D, Lv B. *Chin. J. Hosp. Pharm.* (汪永忠, 张国栋, 吕布. 中国医院药学杂志), **2011**, 21(1): 12-13.
- [6] Li Y, Wang S H, Liu H M, Du L Y, Zheng X W. *Chin. J. Spectrosc. Lab.* (李宇, 王术皓, 刘洪海, 杜凌云, 郑行望. 光谱实验室), **2005**, (2): 238-241.
- [7] Lin W Z, Liu Y, Ren B. *Tianjin Pharm.* (林婉贞, 刘怡, 任斌. 天津药学), **2005**, 17(2): 30-31.
- [8] Antonio D, Amedeo D N, Marco S. *J. Pharm. Biomed.*, **2012**, 66(5): 376-380.
- [9] Shao L Z, Yao Y X, Xie M L, Lin F. *J. Instrum. Anal.* (邵琳智, 姚仰勋, 谢敏玲, 林峰. 分析测试学报), **2013**, 32(12): 1448-1452.
- [10] Mu Q E, Zhao Y K. *Pharm. Today* (木其尔, 赵英奎. 今日药学), **2018**, 28(4): 249-251.
- [11] Wu F, Ding L. *Med. Inf.* (吴飞, 丁黎. 医学信息), **2011**, 8: 3532-3533.
- [12] Wang W X. *Shandong Anim. Sci. Veter. Med.* (王维霞. 山东畜牧兽医), **2013**, 7: 8-9.
- [13] Guo L Q, Sun J, Tian G N, Zhang J L, Wang M L, Li K. *J. Instrum. Anal.* (郭礼强, 孙军, 田国宁, 张金玲, 王梅玲, 李凯. 分析测试学报), **2016**, 35(6): 739-743.
- [14] Qi L M, Yuan F, Xu G B. *China Sci.* (启黎明, 袁帆, 徐国宝. 中国科学), **2018**, 48(8): 914-925.
- [15] Liu Z, Qi W, Xu G. *Chem. Soc. Rev.*, **2015**, 44: 3117-3142.
- [16] Xiong H T, Wu Y C, Tang Z H, Pang H X. *J. Instrum. Anal.* (熊海涛, 吴迎春, 唐志华, 庞海霞. 分析测试学报), **2019**, 38(1): 117-121.
- [17] Hao L H, Bi Y F, Guo G F, Liu Z Y, Wan R L. *Chin. J. Veter. Med.* (郝利华, 毕言锋, 郭桂芳, 刘自扬, 万仁玲. 中国兽医杂志), **2013**, 2: 76-79.

(责任编辑: 龙秀芬)