

灵芝酸 A 分子印迹聚合物电化学传感器的制备及应用

Preparation and analytical application of molecularly imprinted polymer electrochemical sensor for ganoderic acid A

黄桂珍¹汪庆祥²陈金美²HUANG Gui-zhen¹ WANG Qing-xiang² CHEN Jin-mei²詹峰萍² 魏 岚¹ 郑婉榕¹ZHAN Feng-ping² WEI Lan¹ ZHENG Wan-rong¹

(1. 闽西职业技术学院, 福建 龙岩 364021; 2. 闽南师范大学化学化工与环境学院, 福建 漳州 363000)

(1. Minxi Vocational & Technical College, Longyan, Fujian 364021, China; 2. College of Chemistry, Chemical Engineering and Environment, Minnan Normal University, Zhangzhou, Fujian 363000, China)

摘要:目的:建立一种简单、快速的灵芝酸 A(GAA)分析方法。方法:以 GAA 为模板分子,以邻苯二胺为功能单体,在玻碳电极上采用循环伏安法电聚合制备能特异性识别 GAA 的分子印迹聚合物(MIP)。采用红外光谱、扫描电镜、电化学方法对 MIP 的结构、形貌和电化学行为进行表征。以 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 为活性指示剂,考察传感器对 GAA 的分析性能。采用一步电聚合方法可在电极表面制备多孔 GAA 分子印迹聚合物。结果:在 1.0 pmol/L~1.0 $\mu\text{mol/L}$ 范围内, $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 的电化学信号与 GAA 浓度对数呈良好的线性关系,检测限为 0.21 pmol/L。灵芝粉乙醇和水溶解液中 GAA 测定值分别为 1.15 nmol/L 和 3.00 pmol/L。结论:该分子印迹电化学传感器可用于灵芝粉浸出液中 GAA 的快速、灵敏检测。**关键词:**分子印迹聚合物;电化学传感;灵芝酸 A;邻苯二胺;灵芝粉

Abstract: **Objective:** Construction of a simple and rapid method for the analysis of ganoderic acid A (GAA). **Methods:** The molecular imprinted polymer (MIP) that can specifically recognize ganoderic acid A (GAA) were prepared by cyclic voltammetric deposition using GAA as template molecule and o-phenylenediamine as functional monomer. The structure, morphology and electrochemical behavior of MIP were

characterized by infrared spectroscopy, scanning electron microscopy and electrochemical methods. Using $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ as the active indicator, the analytical performance of the sensor for GAA was investigated. Porous MIP for GAA can be prepared on the electrode surface by one-step electropolymerization. **Results:** The results of quantitative analysis showed that the electrochemical signal of $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ had a good linear relationship with the logarithm of GAA concentration in the range of 1.0 pmol/L~1.0 $\mu\text{mol/L}$, and the detection limit was 0.21 pmol/L. The measured values of GAA in ethanol and water-soluble solution of Ganoderma lucidum powder were 1.15 nmol/L and 3.00 pmol/L, respectively. **Conclusion:** The MIP-based GAA electrochemical sensor can be used for the rapid determination of GAA in extract solution of Ganoderma lucidum powder.

Keywords: molecularly imprinted polymer; electrochemical sensing; ganoderic acid A; O-phenylenediamine; ganoderma lucidum powder

灵芝是一种具有抗肿瘤、调节免疫、防艾滋病病毒、抗氧化、延缓衰老等多种作用的药用真菌^[1-3],其药理作用主要归因于灵芝中含有的多种三萜类化学成分和多糖等。灵芝酸 A(GAA)作为灵芝的主要活性成分之一,表现出显著的抗肿瘤、护肝及抗癌作用^[4],GAA 含量直接影响灵芝的药用价值,因此建立一种简单、快速的 GAA 分析方法对评价灵芝品质具有重要意义。

目前,GAA 的检测方法有分光光度法^[5-7]、离子色谱法^[8-9]、高效液相色谱法^[10-12]等。但上述方法存在操作繁琐、成本高昂及分析时间长等问题。相比之下,分子印

基金项目:福建省教育厅中青年项目(编号:JZ181047);福建省自然科学基金(编号:2021J01989)

作者简介:黄桂珍(1981—),女,闽西职业技术学院讲师,硕士。
E-mail:83697166@qq.com

收稿日期:2022-07-15 **改回日期:**2022-09-16

迹聚合物(MIP)基传感技术具有选择性强、化学性质稳定、对环境的耐受性好和制备简单、造价低廉等优点。与电化学技术相结合得到分子印迹电化学传感器不仅操作简单、成本低廉、选择性较好,而且能获得高的灵敏度^[13-15]。MIP 基电化学传感器目前已被广泛用于药物分子^[16]、环境污染物^[17]、生物分子^[18]的检测。然而,截至目前,关于 GAA 的分子印迹电化学传感器的研究尚未见报道。邻苯二胺(OPD)易发生聚合反应,适用于一步电合成聚邻苯二胺超薄膜,并且在不添加交联剂和致孔剂的情况下即可与模板分子产生作用,是电化学传感器中实现非共价分子印迹最常用的单体之一,且具有选择性和响应时间短的特点^[19-21]。

研究拟以 OPD 作为功能单体,采用一步电化学聚合在玻碳电极表面制备一层能特异性识别 GAA 的 MIP 膜,用于 GAA 的快速、灵敏检测,为灵芝粉浸出液中 GAA 检测及灵芝粉品质评价提供新的技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

OPD 和 GAA:分析纯,上海源叶生物科技有限公司;
木犀草素:分析纯,上海麦克林生化科技有限公司;
绿原酸、盐酸多巴胺、冰醋酸和醋酸钠:分析纯,上海阿拉丁生化科技有限公司;
试验用水均为去离子水。

1.2 仪器与设备

扫描电子显微镜(SEM):S-4800 型,日本 Hitachi 公司;
电化学工作站:CHI-650D 型,上海辰华仪器有限公司;
超声波清洗器:KQ52200E 型,上海超声仪器有限公司;
电子天平:AL224CN 型,奥豪斯仪器有限公司;
恒温培养摇床:20140639 型,上海苏坤实业有限公司;
傅里叶变换红外光谱仪(FTIR):NICOLETiS10 型,美国赛默飞世尔科技公司;

三电极系统:玻碳电极(GCE,直径 3 mm)为工作电极,Ag/AgCl 为参比电极,铂柱电极为对电极,上海辰华仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 前驱溶液的制备 称取 1.0 mg (0.2 mmol) GAA 和 1.3 mg (1.2 mmol) OPD,加入到 2 mL HAc-NaAc (pH 5.2)缓冲液中,配制成含有 0.1 mmol/L GAA 和 0.6 mmol/L OPD 的混合溶液。搅拌 2 min 后得到均匀溶液后,将混合溶液超声反应 1 h,随后通入氮气 10 min 以除去溶液中的氧气,得到 MIP 电聚合制备前驱液,密封备用。上述过程中不加入 GAA 模板分子,得到非印迹聚

合物(NIP)制备前驱液,用于对照试验。

1.3.2 MIP/GCE 的电化学制备 首先,将玻碳电极(GCE)依次在 0.05 μm 和 0.3 μm Al_2O_3 粉浆中打磨,再用去离子水冲洗电极表面吸附的 Al_2O_3 颗粒,随后置于超纯水中超声 5 min 除去电极表面杂质,通氮气吹干,得到干净的基底 GCE。将 GCE 置于 MIP 前驱液中,采用循环伏安法(CV)在 0~0.8 V 电位范围内扫描 30 圈。随后,将其转移到 0.1 mol/L NaOH 中,在 -1~1 V 电位窗口条件下扫描 50 圈,将电极上的模板分子、未聚合的物质以及其他杂质洗脱出来,最后用超纯水冲去 MIP 电极表面的 NaOH 以及剩余杂质,即制得 MIP/GCE,烘干备用。相似地,将不含 GAA 的 NIP 前驱液替换 MIP 前驱液,采用相同电聚合和洗涤步骤制备 NIP 修饰电极(NIP/GCE)。

1.3.3 GAA 在 MIP/GCE 的吸附和电化学测试 将 MIP/GCE 浸入不同浓度的 GAA 溶液中,在 77 r/min 转速下吸附 50 min,随后用去离子水淋洗,去除电极表面非特异性吸附的 GAA 分子,从而得到 GAA 吸附电极(GAA/MIP/GCE)。将 GAA/MIP/GCE 置于 0.1 mmol/L 的 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 溶液中进行循环伏安扫描(CV)和电化学阻抗法(EIS)表征。CV 扫描范围 -0.2~0.6 V,扫描速率 100 mV/s。EIS 频率范围 0.1 Hz~100 kHz,振幅 5 mV。同样以 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 为指示探针,采用微分脉冲伏安法(DPV)进行定量分析,DPV 参数:电位区间 -0.1~0.5 V、脉冲幅度 0.05 V、脉冲宽度 0.05 V。采用同样方法考察 NIP/GCE 对 GAA 的识别性能。基于 OPD 聚合膜的 GAA 分子印迹电化学传感器构建如图 1 所示的示意图。

1.3.4 试验条件优化 为达到传感器对 GAA 最佳的分析性能,从 OPD 电化学聚合扫描圈数、模板分子 GAA 洗脱圈数和 GAA 吸附时间进行试验条件优化。具体方法:将 GCE 置于 OPD 和 GAA 混合溶液中进行电化学聚合,

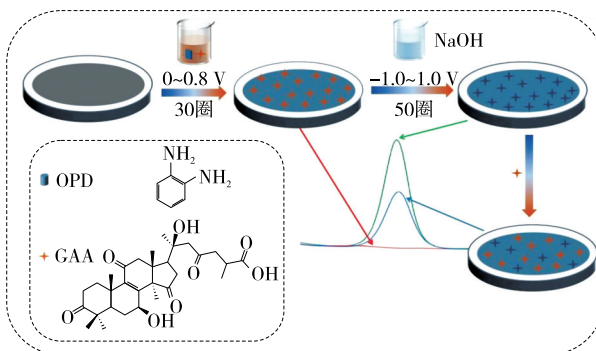


图 1 GAA 分子印迹电化学传感器构建示意图

Figure 1 Schematic diagram for the construction of molecular imprinted polymer-based electrochemical sensor for GAA

直至所得的 CV 曲线趋于稳定,考察 OPD 在 GCE 表面聚合是否达到饱和;将聚合后的电极在 0.1 mol/L NaOH 空白液中进行不同圈数 CV 扫描用于 GAA 洗脱,在 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 溶液中进行电化学检测,当 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 峰电流达到最大稳定值,验证 GAA 已洗脱完全;进一步将洗脱后的电极在 GAA 溶液中吸附不同时间,考察其在 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 溶液中的电化学响应,当信号降到最低,验证 GAA 与 MIP 吸附达到平衡。

2 结果与分析

2.1 电聚合过程

图 2(a)为 GCE 在含 NIP 前驱液中连续电聚合 30 圈的 CV 图。聚合第一圈时,0.48 V 处出现一个不可逆的氧化峰,对应于 OPD 上的氨基被氧化成带正电荷的自由

基的不可逆过程^[22-23]。随着扫描圈数的增加,该氧化峰强度逐渐下降,说明有不导电产物吸附在 GCE 表面,抑制了后续聚合吸附过程。当聚合至 30 圈时,该氧化峰趋于消失,表明 GCE 表面已完全被 OPD 聚合膜覆盖。而当电解液为 MIP 前驱液时[图 2(b)],同样观察到 0.48 V 附近有一不可逆氧化峰,证实了该峰来自于 OPD 的氧化。随着扫描圈数的增加,该峰逐渐降低,说明不导电聚合产物吸附在电极表面。该结果也表明 GAA 的存在不会影响 OPD 的电化学聚合过程。值得注意的是,在相同的电聚合扫描圈数下,NIP 前驱液的峰信号强度均低于 MIP 的峰信号强度。这可能是因为电聚合成膜的过程中,由于 MIP 前驱液中的 GAA 与 OPD 通过氢键作用掺入聚合膜中,降低了 OPD 聚合膜的致密度,从而有利于后续的 OPD 在电极表面的扩散和氧化。

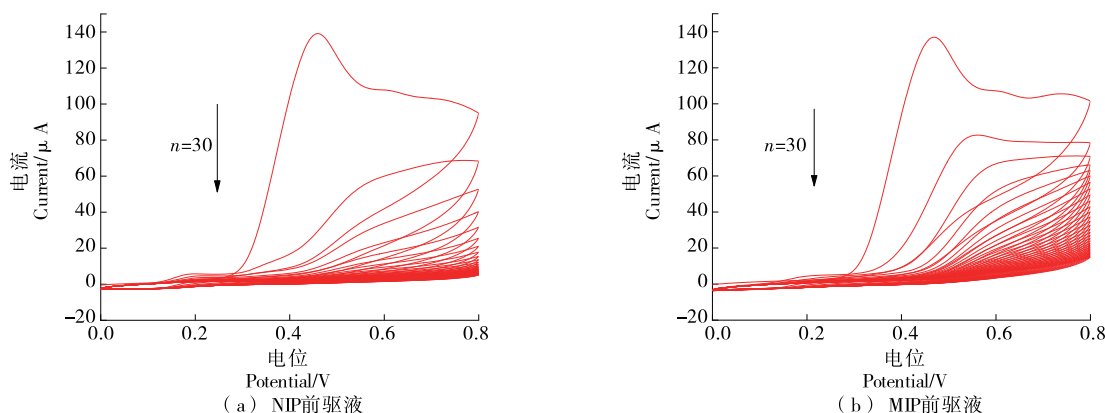


图 2 GCE 在 NIP 和 MIP 前驱液中连续扫描的 CV 曲线

Figure 2 Successive CV curves of GCE in precursor solution of NIP and MIP

2.2 MIP 物化表征

2.2.1 SEM 表征 由图 3 可知,经电化学聚合的 NIP 和 MIP 在电极表面均呈无规则颗粒状材料,且覆盖了整个电极表面。NIP 表面光滑,而 MIP 材料表面具有大量孔洞。该差异表明,印迹模板分子 GAA 可有效从 MIP 中洗脱出来,并在 MIP 膜上留下与 GAA 分子匹配的“孔穴”。

2.2.2 FT-IR 表征 采用 FT-IR 对 NIP 和 MIP 的化学结构进行表征,结果(如图 4 所示)显示 NIP 和 MIP 的特征吸收带完全一致,表明二者的化学结构相同。在

3 430 cm^{-1} 附近的宽吸收带和 1 650 cm^{-1} 处的吸收峰归属于 N—H 收缩振动和弯曲振动^[24]。2 947 cm^{-1} 和 2 882 cm^{-1} 归属于饱和的 C—H 振动吸收峰^[25]。1 430 cm^{-1} 的吸收峰归因于苯环上 C—C 骨架的伸缩振动^[26]。1 043 cm^{-1} 处的吸收峰对应于聚合物中的 C—N 收缩振动。851 cm^{-1} 处的吸收峰表明存在吩噻结构。上述结果证实电化学合成的 MIP 为在吩噻的主链上具有苯环和噻环结构头尾相连的聚合物。

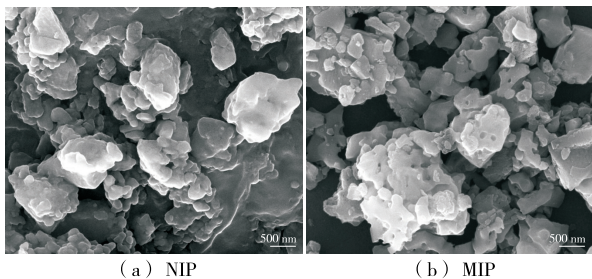


图 3 NIP 和 MIP 的 SEM 图

Figure 3 SEM images of NIP and MIP

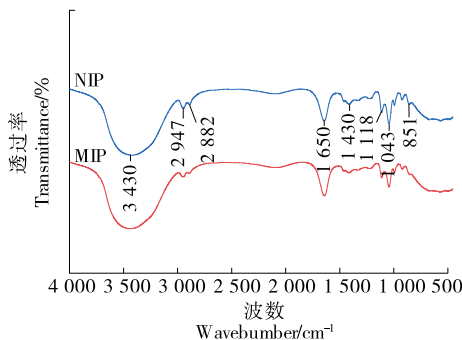


图 4 NIP 和 MIP 的 FT-IR 图

Figure 4 FTIR spectra of NIP and MIP

2.3 不同修饰电极的电化学表征

使用 CV 法和 EIS 法,在 0.1 mmol/L 的 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 溶液中对不同修饰电极进行电化学表征,结果如图 5 所示。由图 5 (a) 可以看出, $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 在裸 GCE 上有一对可逆的氧化还原峰(曲线 a),表明 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 在裸 GCE 表面发生很好的电子转移过程。而 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 在电聚合后的 GAA/MIP 复合修饰电极上的氧化还原峰完全消失(曲线 b),是因为电极上覆盖了一层致密且不导电的绝缘聚合膜,阻碍了 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 与基底电极的接触。当去除 GAA 模板分子后, $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 在电极上又重新出现一对明显的氧化还原峰(曲线 c),表明 GAA 分子可以有效地从 MIP 膜中洗脱,并留下空腔,成为 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 扩散到 GCE 表面的通道。对 OPD-MIP

重新吸附 GAA 的电极,发现 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 的氧化还原信号相比吸附前有明显减弱(曲线 d)。该试验表明, GAA 洗脱后的空腔构象与 GAA 功能基团相匹配,可用于 GAA 的吸附识别,重新占据 MIP 膜上空腔位点,导致 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 的 CV 信号减弱。

由图 5(b)可知,裸 GCE 上只有很小的电荷转电阻 (R_{ct}) (曲线 a),表明 GCE 具有很好的导电能力。聚合后的 GAA/MIP 修饰电极 R_{ct} 值最大(曲线 b),电极表面覆盖了一层致密不导电的聚合物。在洗脱后的 MIP/GCE 上 R_{ct} 值降低(曲线 c),是因为 GAA 模板分子被去除形成空腔,导电性增强。当在 GAA 溶液中重新结合后,形成复合物,阻碍了 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 靠近电极表面,所对应的 R_{ct} 值有所升高(曲线 d),说明 MIP 电极对 GAA 具有识别能力。

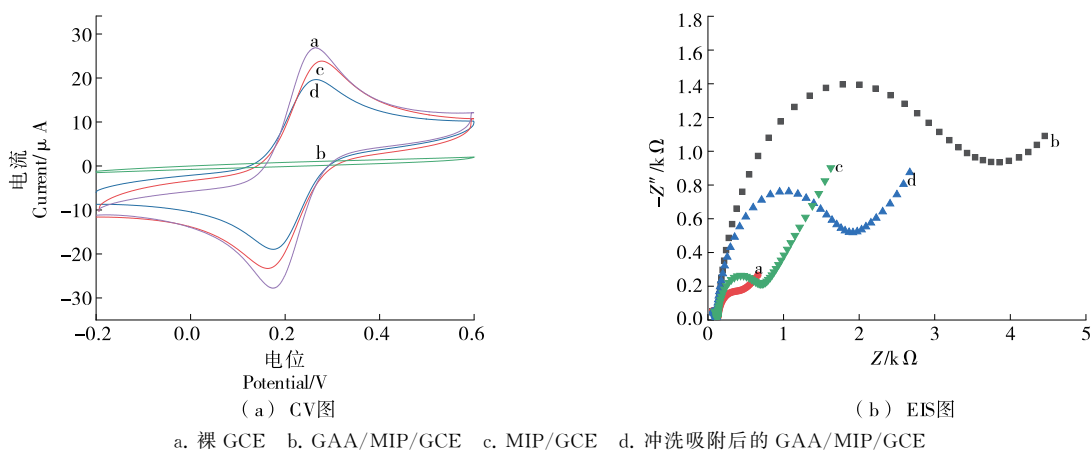


图 5 不同修饰电极在 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 的 CV 图和 EIS 图
Figure 5 CV curve and EIS curve of different modified electrodes in $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$

2.4 模板洗脱圈数和 GAA 吸附时间优化

2.4.1 洗脱扫描圈数优化 在 0.1 mol/L NaOH 中进行 GAA 洗脱的 CV 扫描圈数直接影响传感器 MIP 膜的空腔数量,洗脱圈数太少会导致大量 GAA 模板分子残留在膜内,降低传感器对 GAA 检测的识别能力。由图 6 可知,洗脱圈数为 10~50 圈时,峰电流值随洗脱圈数的增加而增加,说明印迹孔穴逐渐增多。当洗脱圈数达到 50 圈后,峰电流值达到最大值,之后峰电流值不再有明显的变化,说明 GAA 模板分子已从 MIP 膜中洗脱干净。因此,选择 50 圈为最优的 CV 洗脱圈数。

2.4.2 GAA 吸附时间优化 将 GAA 洗脱完全的传感器浸入 0.1 μmol/L GAA 溶液不同时间,然后取出,在 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 溶液中进行扫描,考察不同吸附时间对传感器峰电流的影响。由图 7 可知,峰电流值随吸附时间的增加而减小,当吸附时间增加到 50 min 时电流峰值基本趋于稳定,说明 GAA 在 MIP 膜上的吸附达到平衡,因此 50 min 为传感器吸附 GAA 的最佳时间。

2.5 分析性能

在最佳条件下,将 MIP/GCE 浸入不同浓度 (1.0 pmol/L~1.0 μmol/L) 的 GAA 溶液中吸附 50 min,再在 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 溶液中进行 DPV 扫描,考察分子印

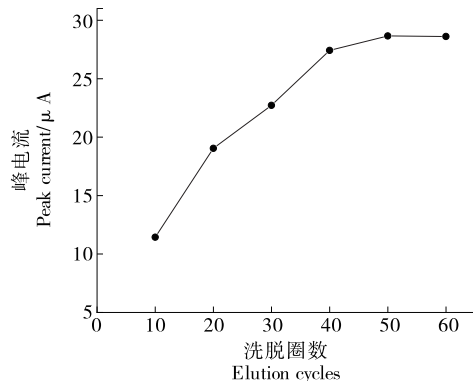


图 6 峰电流与 CV 扫描洗脱圈数关系曲线图
Figure 6 Relationship between peak currents and the CV elution cycles

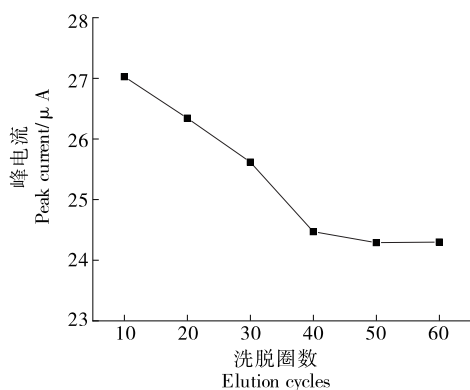


图 7 峰电流与 GAA 吸附时间的关系曲线

Figure 7 Relationship between peak currents and adsorption time of GAA

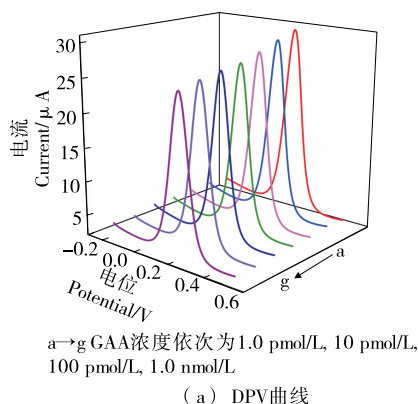


图 8 MIP/GCE 与不同浓度 GAA 吸附后的 DPV 曲线及其峰电流与 GAA 浓度负对数线性关系

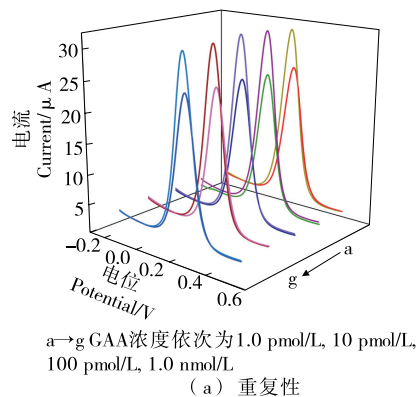
Figure 8 DPVs of MIP/GCE adsorption with different concentration of GAA and the linear relationship between peak current (and negative logarithm of GAA concentration ($-\lg C$))

图 9 MIP 电化学传感器的重复性和稳定性

Figure 9 The repeatability and stability of MIP-based electrochemical sensor

使用 DPV 法对其进行连续检测,并在第 7 天考察其对 1.0 $\mu\text{mol/L}$ GAA 溶液的分析性能。结果如图 9(b)所示, MIP/GCE 连续 6 d 的 DPV 峰电流变化很小;且第 7 天仍能用于 GAA 检测,说明 MIP/GCE 具有良好的稳定性。

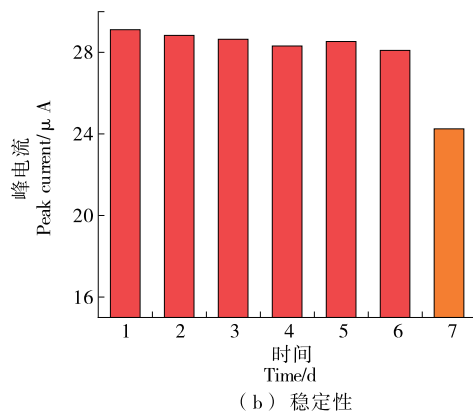
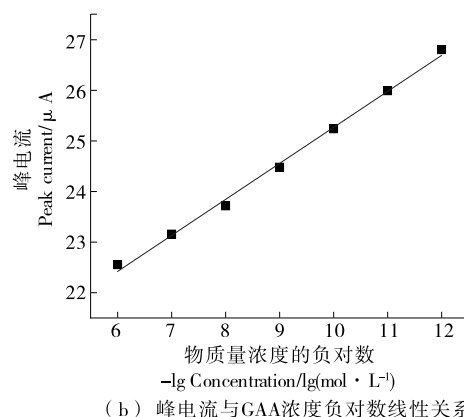
图 10 为分子印迹传感器在不同溶液(浓度均为

迹传感器对 GAA 的分析性能。由图 8(a)可知,随着 GAA 浓度的增加,使所测的峰电流值逐渐降低,表明越来越多的 GAA 目标分子占据了 MIP/GCE 上空腔位点。峰电流值(I_p)与 GAA 浓度负对数($-\lg C$)在 1.0 pmol/L ~1.0 $\mu\text{mol/L}$ 范围内呈良好的线性关系[图 8(b)],其线性回归方程为: $I_p = 18.2 - 0.710 \lg C$, 相关系数 $R^2 = 0.9951$,检出限为 0.21 pmol/L 。

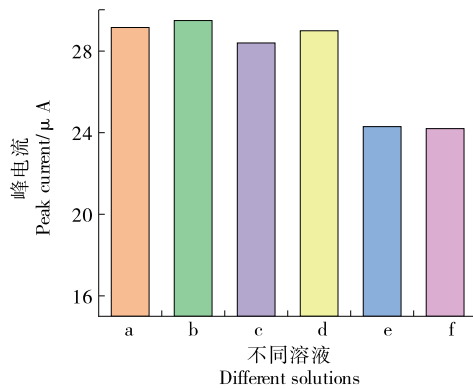
2.6 重现性、稳定性和选择性

平行制备 5 支 MIP/GCE,在相同条件下对 1.0 $\mu\text{mol/L}$ GAA 目标分子进行检测,结果如图 9(a)所示。根据信号变化,求得相对标准偏差(RSD)为 3.3%,表明所制备的传感器具有良好的重现性。

将制备的 MIP/GCE 置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存,每隔 24 h



1.0 $\mu\text{mol/L}$)中浸泡 50 min 后,在 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 中的 DPV 曲线。由图 10 可知, MIP/GCE 在空白液中的信号(曲线 a)与其在绿原酸(曲线 b)、木犀草素(曲线 c)、多巴胺(曲线 d)溶液中浸泡后的信号接近,表明传感器对上述溶液不产生响应。而在 GAA 溶液中浸泡后,信号降低,



a. 空白液 b. 绿原酸 c. 木犀草素 d. 多巴胺 e. GAA 溶液
f. GAA、绿原酸、木犀草素和多巴胺混合溶液

图 10 OPD-MIP 电化学传感器的选择性
Figure 10 The selectivity of OPD-MIP electrochemical sensor

且与在混合溶液中浸泡后的 DPV 峰电流值无明显差异,表明该电化学传感器对 GAA 有良好的选择识别性。

2.7 实际样品的检测

将市场购买的灵芝粉实际样品用水或乙醇作为溶剂分别配制 10 mg/mL 的灵芝液,静置 24 h。离心,取 100 μ L 灵芝液,用 MIP/GCE 进行浸泡吸附,后在 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 中进行检测,根据峰电流值代入线性回归方程计算分析得到相应的 GAA 的浓度。随后在浸出灵芝液中分别加入不同浓度的标准 GAA 溶液进行回收率测定,结果如表 1 所示。结果显示以乙醇为溶剂的浸出浓度为 1.15 nmol/L,而以水为溶剂的浸出浓度仅为 3.00 pmol/L,表明乙醇能更有效地使 GAA 从实际样品中溶解出来。在两种溶剂浸出液中进行标准加入法,得到的回收率分别为 99%~102% 和 98%~101%,说明该方法所制备的分子印迹电化学传感器对 GAA 的检测具

表 1 用乙醇或水配制的灵芝液实际样品中 GAA 测定结果

Table 1 Determination results of GAA in real samples prepared with ethanol or water

溶剂	测定值/ (nmol $\cdot$ L $^{-1}$)	加入量/ (nmol $\cdot$ L $^{-1}$)	检出量/ (nmol $\cdot$ L $^{-1}$)	回收率/ %
乙醇	1.15	—	1.13	—
	1.15	0.1	1.25	100
	1.15	1.0	2.17	102
	1.15	10	11.04	99
水	0.003	—	0.002	—
	0.003	0.1	0.104	101
	0.003	1.0	0.983	98
	0.003	10	9.803	98

有较高的准确度,可用于灵芝粉等实际样品的检测。建立灵芝活性成分的快速检测方法,有助于灵芝药材的质量控制与现代剂型的开发。

3 结论

将分子印迹技术和电化学传感器结合,采用电聚合的方法,以邻苯二胺为功能单体,灵芝酸 A 为模板分子,在无需交联剂条件下合成分子印迹聚合物,并利用 IR 和 SEM 对其进行结构和形貌表征。在最佳的试验条件下,以灵芝酸 A 为模板分子,以邻苯二胺为功能单体合成的分子印迹电化学传感器具有良好的重现性、稳定性和选择性,在 1.0 pmol/L~1.0 μ mol/L 范围内,灵芝酸 A 的浓度(mol/L)和峰电流(μ A)有良好的线性关系,拟合线性方程为 $I_p = 18.2 - 0.710 \lg C$,相关系数 $R^2 = 0.995$,检出限为 0.21 pmol/L,在灵芝实际样品检测中其回收率为 98%~102%,具有良好的检测性能。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 20-30.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the people's republic of China: Part one[M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2020: 20-30.
- [2] 刘高强. "瑞草"灵芝之现代研究[J]. 菌物学报, 2020, 39(1): 1-6.
LIU G Q. The modern research on Ganoderma lingzhi (China "Ruicao") [J]. Mycosystema, 2020, 39(1): 1-6.
- [3] 杨晰茗, 徐红艳, 刘已齐, 等. 食用菌多糖调节炎症性肠病研究进展[J]. 食品与机械, 2021, 37(9): 211-217.
YANG X M, XU H Y, LIU S Q, et al. Recent progress on regulation of inflammatory bowel disease by polysaccharides from edible fungi[J]. Food & Machinery, 2021, 37(9): 211-217.
- [4] LIU R M, ZHONG J J. Ganoderic acid Mf and S induce mitochondria mediated apoptosis in human cervical carcinoma HeLa cells[J]. Phytomedicine, 2011, 18(5): 349-355.
- [5] 张忠, 张劲松, 刘艳芳, 等. 分光光度法测定灵芝中总三萜含量方法探讨[J]. 上海农业学报, 2016, 32(1): 61-65.
ZHANG Z, ZHANG J S, LIU Y F, et al. Discussion on the determination of total triterpenoids in Ganoderma lucidum by spectrophotometry[J]. Acta Agriculturae Shanghai, 2016, 32(1): 61-65.
- [6] 刘盛荣, 戴金玉, 张维瑞, 等. 基于不同对照品的灵芝酸紫外及比色法分析[J]. 中国农学通报, 2015, 31(35): 104-109.
LIU S R, DAI J Y, ZHANG W R, et al. Comparative analysis of ganoderic acid in Ganoderma lucidum mycelium and fruit body with the ultraviolet absorption method and colorimetric method using different standards[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2015, 31(35): 104-109.
- [7] 吴禾, 刘晔, 姜华. 紫外分光光度法测定灵芝及调脂灵中总灵芝酸的含量[J]. 解放军药学报, 2006, 22(1): 74-76.

- WU H, LIU Y, JIANG H. Quantification of ganoderic acids in *Ganoderma lucidum* and *TiaoZhiling* by ultraviolet spectrometry[J]. Pharmaceutical Journal of Chinese People's Liberation Army, 2006, 22(1): 74-76.
- [8] 华丰. 离子色谱法测定灵芝超声水提取物中 4 种代表有机酸的含量[J]. 生物加工过程, 2021, 19(1): 74-78.
- HUA F. Determination of four organic acids in *Ganoderma lucidum* ultrasonic water extract by ion chromatography[J]. Chinese Journal of Bioprocess Engineering, 2021, 19(1): 74-78.
- [9] SUN X L, WEI Y Y, LIU W G, et al. Determination of guanidinoacetic acid in feed by ion chromatography coupled with ultraviolet detection[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2017, 35(10): 1 100-1 104.
- [10] 王文正, 李腾, 李霞. 泰山赤灵芝中灵芝酸和灵芝酸 A 的测定[J]. 安徽农业科学, 2017, 45(33): 123-125.
- WANG W Z, LI T, LI X. Measure of *Ganoderma lucidum* acid and *Ganoderma lucidum* acid A in Taishan *Ganoderma lucidum* [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2017, 45(33): 123-125.
- [11] 黄文康, 黄琴伟, 郭增喜, 等. HPLC 法测定赤芝不同生长期不同部位灵芝酸 A 的含量[J]. 中国食用菌, 2017, 36(1): 56-58.
- HUANG W K, HUANG Q W, GUO Z X, et al. Determination on ganoderic acid A in *ganoderma lucidum* with different growth stages and different parts by HPLC[J]. Edible Fungi of China, 2017, 36(1): 56-58.
- [12] CHENG C R, YANG M, YU K, et al. Identification of metabolites of ganoderic acid d by ultra-performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. Drug Metabolism and Disposition, 2012, 40(12): 2 307-2 314.
- [13] 程寿年, 任书芳, 冯润妍, 等. 分子印迹技术在电化学传感领域的应用研究进展[J]. 分析科学学报, 2021, 37(6): 819-827.
- CHENG S N, REN S F, FENG R Y, et al. Research progress of the molecular imprinting technology in electrochemical sensing [J]. Journal of Analytical Science, 2021, 37(6): 819-827.
- [14] 崔丽伟, 贾馨雅, 刘俊桃, 等. 敌草隆分子印迹电化学传感器的制备及应用[J]. 分析科学学报, 2022, 38(2): 179-184.
- CUI L W, JIA X Y, LIU J T, et al. Preparation of diuron molecularly imprinted electrochemical sensor and its application [J]. Journal of Analytical Science, 2022, 38(2): 179-184.
- [15] WANG S, PAN M F, LIU K X, et al. A SiO_2 @ MIP electrochemical sensor based on MWCNTs and AuNPs for highly sensitive and selective recognition and detection of dibutyl phthalate[J]. Food Chemistry, 2022, 381: 132225.
- [16] WANG Y Y, YAO L, LIU X, et al. $\text{CuCo}_2\text{O}_4/\text{N}$ -Doped CNTs loaded with molecularly imprinted polymer for electrochemical sensor: Preparation, characterization and detection of metronidazole [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2019, 142: 111483.
- [17] ANIRUDHAN T S, ATHIRA V S, SEKHAR V C. Electrochemical sensing and nano molar level detection of Bisphenol-A with molecularly imprinted polymer tailored on multiwalled carbon nanotubes[J]. Polymer, 2018, 146: 312-320.
- [18] ZHANG G H, YU Y, ZHANG L, et al. Precise detection of prostate specific antigen in serum: A surface molecular imprinted sensor based on novel cooperated signal amplification strategy[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2020, 302: 126998.
- [19] BELBRUNO J J. Molecularly imprinted polymers [J]. Chemical Reviews, 2019, 119(1): 94-119.
- [20] ZHANG-PENG X R, WEI H, MA J, et al. Molecularly imprinted flexible sensor based on nitrogen-doped graphene for selective determination of formononetin[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2022, 217: 114805.
- [21] 司凯萌, 张晓静, 彭友元. 基于纳米金—多壁碳纳米管增敏的分子印迹电化学传感器测定叶酸[J]. 化学研究与应用, 2020, 32(12): 2 158-2 164.
- SI K M, ZHANG X J, PENG Y Y. A sensitive molecularly imprinted sensor for folic acid based on molecularly imprinted poly (o-phenylenediamine) and gold nanoparticles/multiwalled carbon nanotubes[J]. Chemical Research and Application, 2020, 32 (12): 2 158-2 164.
- [22] LI J, LIU L L, WANG P G, et al. Potentiometric detection of saccharides based on highly ordered poly (aniline boronic acid) nanotubes[J]. Electrochimica Acta, 2014, 121: 369-375.
- [23] KONG L J, PAN M F, FANG G Z, et al. An electrochemical sensor for rapid determination of ractopamine based on a molecularly imprinted electrosynthesized o-aminothiophenol film[J]. Analytical & Bioanalytical Chemistry, 2012, 404: 1 653-1 660.
- [24] YAN C L, LIU X, ZHANG R X, et al. A selective strategy for determination of ascorbic acid based on molecular imprinted copolymer of o-phenylenediamine and pyrrole [J]. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2016, 780: 276-281.
- [25] 林珊, 袁红梅, 汪东, 等. 苯胺或邻苯二胺/YBCO 杂化材料的性能[J]. 材料工程, 2021, 49(4): 167-172.
- LIN S, YUAN H M, WANG D, et al. Properties of aniline or o-phenylenediamine/YBCO hybrid materials [J]. Journal of Materials Engineering, 2021, 49(4): 167-172.
- [26] 赫春香, 代鑫, 李玉莹, 等. 邻氨基酚—邻苯二胺共聚物/PVC 膜电极直接电位法测定高酸度[J]. 辽宁师范大学学报(自然科学版), 2019, 42(2): 210-214.
- HE C X, DAI X, LI Y Y, et al. Determination of high acidity by potentiometric analysis with a o-aminophenol-copolymer/PVC electrode [J]. Journal of Liaoning Normal University (Natural Science Edition), 2019, 42 (2): 210-214.