

Nghiên cứu xác định chọn lọc điện hóa axit uric trên điện cực biến tính nano compozit rGO/PDA-Cu/CuNPs

Bùi Thị Phương Thảo¹, Dương Thu Hà², Đỗ Phúc Quân^{2*}, Trần Đại Lâm³

¹ Trường Đại học Công nghiệp Việt Trì

² Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

³ Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Ngày nhận bài 2/11/2018; ngày chuyển phản biện 5/11/2018; ngày nhận phản biện 3/12/2018; ngày chấp nhận đăng 7/12/2018

Tóm tắt:

Điện cực than thủy tinh (GCE) biến tính với graphen oxit khử (rGO), polydopamin (PDA) và hạt nano đồng (GCE/rGO/PDA-Cu/CuNPs) được chế tạo bằng phương pháp điện hóa sử dụng von-ampe vòng (CV) để xác định axit uric (UA). Đặc tính lý hóa của điện cực biến tính được đánh giá bằng phương pháp kính hiển vi điện tử quét (SEM) và CV. Đáp ứng điện hóa von-ampe xung vi phân (DPV) của UA trên điện cực biến tính được thực hiện trong dung dịch đệm 0,1M phốt phát (pH=7) cho thấy mối quan hệ giữa cường độ dòng anốt và nồng độ của UA trong khoảng tuyến tính từ 11,9 đến 393 μM . Điện cực biến tính có thể được áp dụng để xác định điện hóa UA trong các mẫu nước tiểu với độ nhạy và độ tin cậy cao.

Từ khóa: axit uric, graphen oxit, hạt nano đồng, nước tiểu, polydopamin.

Chỉ số phân loại: 2.4

Đặt vấn đề

Axit uric (UA) - một phân tử oxypurin rất quan trọng trong cơ thể và là sản phẩm cuối cùng của quá trình chuyển hóa purin. UA với nồng độ cao trong máu là dấu hiệu của một số bệnh như gút, tăng UA máu và các bệnh liên quan khác [1-3]. Vì vậy, xác định nồng độ UA trong mẫu sinh học đóng một vai trò quan trọng trong phân tích lâm sàng. Trong những năm gần đây, phương pháp phân tích điện hóa để xác định UA đã được các nhà khoa học đặc biệt quan tâm do có độ nhạy cao và quy trình phân tích đơn giản [4]. Tuy nhiên, phân tích điện hóa UA trên điện cực không biến tính gặp nhiều hạn chế như: độ nhạy và độ lặp lại kém, bị ảnh hưởng bởi các hợp chất khác có khả năng oxy hóa điện hóa cùng tồn tại trong mẫu sinh học như axit ascorbic (AA), dopamin (DA). Tín hiệu điện hóa của DA, AA và UA trên điện cực không biến tính thường xen phủ nhau, vì vậy rất khó định lượng chính xác UA. Xu hướng phân tích điện hóa hiện đại xác định UA, DA và AA thường sử dụng điện cực biến tính bằng các vật liệu khác nhau như polyme dẫn [5], hạt nano kim loại [6-10], hoặc vật liệu cacbon cấu trúc nano (ống nano cacbon và graphen) [10, 11], hoặc polydopamin [12] để biến tính bề mặt điện cực.

Trong bài báo này, màng compozit của graphen oxit khử bằng điện hóa (rGO), polydopamin-Cu (PDA-Cu) và hạt nano Cu (CuNPs) được sử dụng để biến tính điện cực than thủy tinh (GCE) nhằm xác định chọn lọc UA và loại

bỏ ảnh hưởng của DA và AA khi có mặt đồng thời trong dung dịch phân tích. Với việc sử dụng màng compozit của polydopamin-Cu và CuNPs đã làm tăng đáng kể độ nhạy và độ chọn lọc của phép phân tích UA.

Thực nghiệm

Hóa chất và thiết bị

Các hoá chất và thiết bị dùng trong nghiên cứu gồm UA, DA, CuCl_2 , bột graphit và các hóa chất vô cơ khác thuộc loại tinh khiết phân tích (Hãng Sigma-Aldrich, Đức). Graphen oxit (GO) được điều chế theo phương pháp Hummer từ bột graphit. Các dung dịch được chuẩn bị dùng nước deion bằng thiết bị Mili-Q (Barnstead, Mỹ). Các phép đo điện hóa được thực hiện trên thiết bị điện hóa đa năng Autolab (AUT302N, AUTOLAB, Eco Chemie B.V., Hà Lan). Bình đo điện hóa gồm điện cực sánh Ag/AgCl (NaCl 3M), điện cực phụ trợ platin, điện cực làm việc là điện cực than thủy tinh có đường kính 2 mm (6.1204.110 GC, Metrohm, Thụy Sĩ). Ảnh SEM và phổ EDS của vật liệu được thực hiện trên máy FE-SEM Hitachi S-4800 (M: x25 - x800.000, d=1 nm, U=0,5-30 kV) được trang bị hệ thống ghi phổ EDS.

Chế tạo vật liệu GO

GO được tổng hợp từ bột graphit sử dụng phương pháp Hummer [13]. Quy trình điều chế GO tóm tắt như sau: graphit (1 g), natri nitrat (NaNO_3 , 0,5 g) và axit sunfuric đặc (H_2SO_4 98%, 23 ml) được lấy vào bình 500 ml giữ ở 5°C,

*Tác giả liên hệ: Email: doquan@vnu.edu.vn

Electrochemical determination of uric acid on rGO/PDA-Cu/CuNPs nanocomposite modified electrodes

Thi Phuong Thao Bui¹, Thu Ha Duong²,
Phuc Quan Do^{2*}, Dai Lam Tran³

¹Viet Tri University of Industry

²University of Science, Vietnam National University, Hanoi

³Graduate University of Science and Technology,
Vietnam Academy of Science and Technology

Received 2 November 2018; accepted 7 December 2018

Abstract:

A glassy carbon electrode (GCE) modified with reduced graphene oxide (rGO), polydopamine (PDAs), and copper nanoparticles (GCE/rGO/PDA-Cu/CuNPs) was successfully fabricated by the electrochemical method using cyclic voltammetry (CV) for selective determination of uric acid (UA). Physicochemical characteristics of modified electrodes were evaluated by means of scanning electron microscopy (SEM) and CV. Electrochemical measurements by pulse differential voltammetry (DPV) of UA on the modified electrode were performed in the 0.1M phosphate buffer solution (pH 7); the results showed a relationship between the intensity of the anode current and the UA concentrations within the linear range from 11.9 to 393 μ M. The modified electrode can be applied for electrochemical determination of the UA in urine samples with high sensitivity and reliability.

Keywords: copper nanoparticles, graphene oxide, polydopamine, uric acid, urine.

Classification number: 2.4

khuyến trong 5 phút. Thêm từng lượng nhỏ KMnO_4 (3 g) vào bình trên. Hỗn hợp phản ứng được giữ ở 5°C trong vòng 2h, sau đó tăng dần nhiệt độ đến 35°C và khuấy hỗn hợp tại nhiệt độ này trong 30 phút. Thêm 46 ml nước deion vào hỗn hợp và gia nhiệt đến 98°C, khuấy tiếp trong vòng 30 phút. Cuối cùng, 140 ml nước deion và 10 ml dung dịch H_2O_2 10% được thêm vào hỗn hợp. Màu của dung dịch phân tán chuyển từ đen sang vàng chanh. Sản phẩm tổng hợp được lọc và rửa lại bằng dung dịch HCl (5% theo khối lượng) và nước deion. GO thu được từ quá trình tổng hợp trên được sấy khô ở 60°C trong 12h.

Chế tạo điện cực biến tính GCE/rGO/PDA-Cu/CuNPs

Điện cực GCE dùng trong nghiên cứu được đánh bóng bằng bột nhôm oxit cỡ hạt 0,3 μ m. Sau đó rửa điện cực bằng cồn tuyệt đối và nước deion, rung siêu âm trong 30 giây trong nước deion để loại bỏ các tạp chất bám trên bề mặt điện cực. Điện cực GCE sau đó được làm sạch bằng quét von-ampe vòng (CV) ở thế từ -0,6 đến 0,8 V với 6 vòng quét, tốc độ quét 100 mV/s trong dung dịch H_2SO_4 1M. Khả năng hoạt động điện hoá của điện cực sau khi làm sạch được kiểm tra khả năng điện hoạt bằng CV trong dung dịch gồm ferroxianua 1 mM và KCl 0,1M ở thế từ -0,3 đến 0,5 V với tốc độ quét 100 mV/s. Lấy 3 μ l dung dịch GO (1 mg/ml) phân tán trong nước deion phủ lên bề mặt điện cực GCE. Khử điện hóa GO trong dung dịch NaCl 0,5M bằng phương pháp CV trong khoảng thế từ -1,5 đến +0,5 V với 10 vòng quét thế, tốc độ quét 100 mV/s. Điện cực GCE/GO sau khi khử điện hóa được ký hiệu là GCE/rGO. Màng PDA-Cu được tổng hợp lên GCE/rGO dùng phương pháp CV trong khoảng thế từ -0,3 đến +0,5 V, tốc độ quét 10 mV/s với số vòng quét CV khảo sát từ 2 đến 12 vòng. Dung dịch điện phân gồm DA 10 mM và CuCl_2 thay đổi từ 10 đến 40 mM. Điện cực GCE/rGO/PDA-Cu tiếp tục được kết tủa hạt nano đồng bằng CV trong dung dịch chứa Cu^{2+} với nồng độ 3 mM trong H_2SO_4 0,1M với 10 vòng quét ở khoảng thế từ -0,5 đến +0,7 V, tốc độ quét 50 mV/s. Điện cực biến tính được ký hiệu là GCE/rGO/PDA-Cu/CuNPs. Phương pháp DPV được sử dụng để đánh giá đáp ứng điện hoá của các điện cực biến tính. Các điện cực biến tính được rửa bằng nước deion và dùng để khảo sát và xác định UA trong mẫu nước tiểu.

Phân tích mẫu nước tiểu

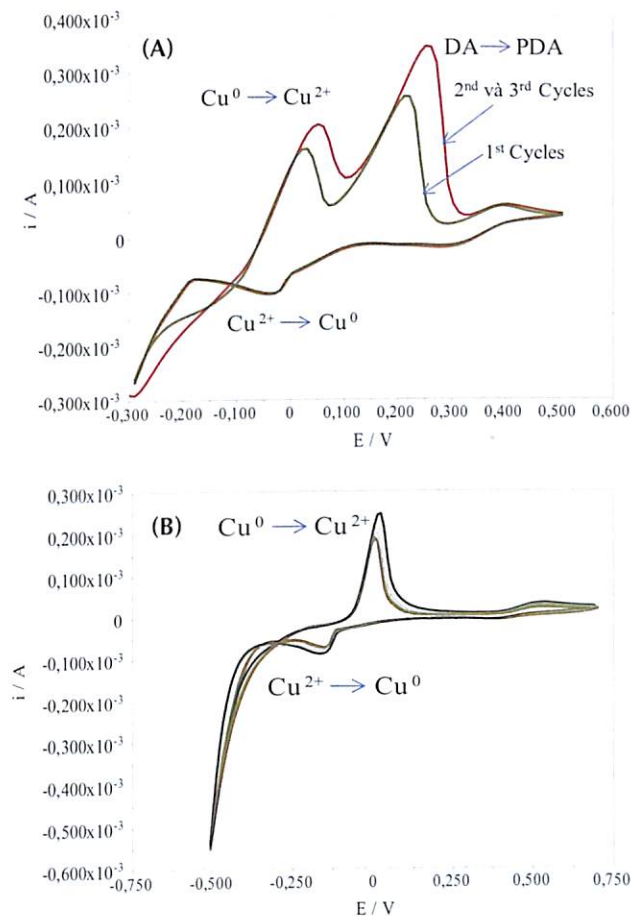
Mẫu nước tiểu lấy trong 24h được trộn đều bằng rung siêu âm trong 15 phút, sau đó đem pha loãng với đệm PBS pH=7 theo tỷ lệ nước tiểu:đệm PBS là 3:500 và tiến hành xác định UA theo phương pháp thêm chuẩn. Nồng độ UA trong dung dịch thêm chuẩn là 10^{-3} M.

Kết quả và thảo luận

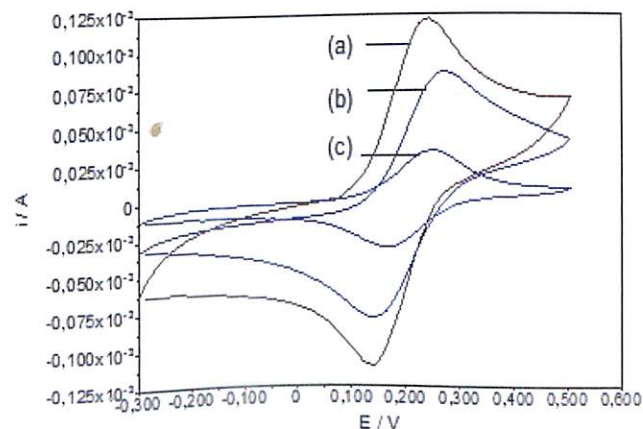
Tổng hợp điện hóa điện cực biến tính GCE/rGO/PDA-Cu/CuNPs

Kết quả tổng hợp điện hóa PDA-Cu trên điện cực GCE/rGO bằng CV trên hình 1A cho thấy, có sự xuất hiện 2 pic anốt tại thế 0,0 và 0,25 V tương ứng với quá trình oxy hóa của Cu^0 thành Cu^{2+} và DA thành PDA. Khi quét thế theo chiều catốt có pic khử tại thế -0,04 V ứng với quá trình khử của Cu^{2+} thành Cu^0 . Quá trình kết tủa CuNPs trên điện cực GCE/rGO/PDA-Cu trong hình 1B cho thấy, chỉ xuất hiện cặp tín hiệu oxy hóa khử của Cu^{2+} . Như vậy, PDA không tham gia vào quá trình oxy hóa điện hóa. Để so sánh khả năng điện hoạt của các điện cực biến tính bằng vật liệu khác nhau, dùng phương pháp khảo sát CV trong dung dịch $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ cho thấy cường độ dòng oxy hóa khử của $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ giảm dần theo thứ tự GCE/rGO > GCE/rGO/PDA-Cu/CuNPs > GCE/rGO/PDA-Cu. Mặc dù điện cực GCE/rGO

có khả năng điện hoạt cao nhất, nhưng do độ ổn định và độ chọn lọc điện hóa với chất phân tích thấp nên không được sử dụng trong xác định UA. Vì vậy, GCE/rGO/PDA-Cu/CuNPs được lựa chọn để xác định UA.



Hình 1. Tín hiệu CV của quá trình tổng hợp điện hóa (A) PDA-Cu và (B) CuNPs.

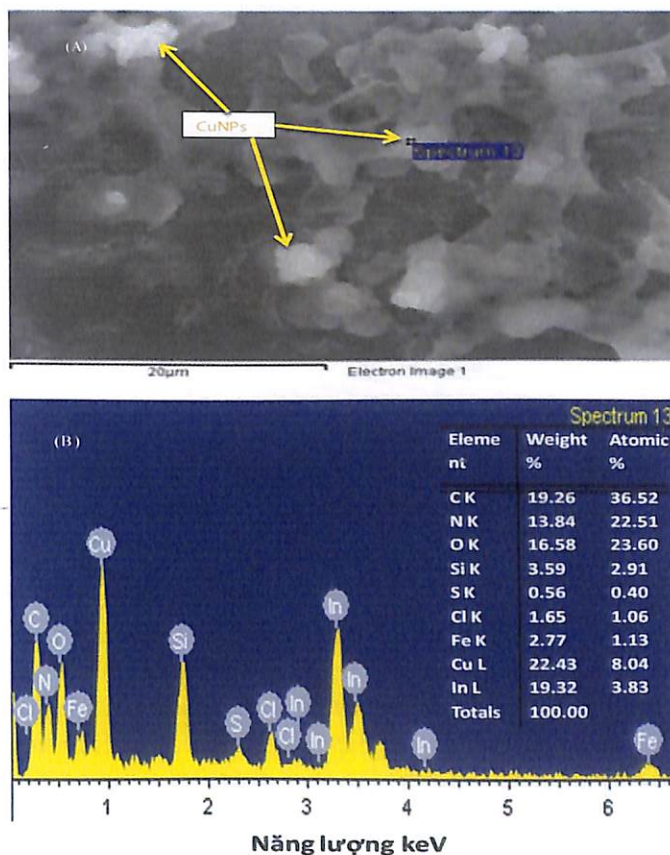


Hình 2. Tín hiệu CV của các điện cực biến tính khác nhau khi đo trong dung dịch $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ 1 mM và KCl 0,1M. (a) GCE/rGO; (b) GCE/rGO/PDA-Cu/CuNPs; (c) GCE/rGO/PDA-Cu.

Vì điện cực biến tính thường có giá trị bề mặt điện hoạt không đúng với diện tích bề mặt vật lý của chúng, nên cần phải xác định giá trị này để làm sáng tỏ thêm về độ nhạy của điện cực biến tính. Bề mặt điện hoạt được xác định từ phương trình Randles-Sevcik [14]:

$$i_{pa} = (2,69 \cdot 10^5) n^{3/2} \cdot A \cdot D^{1/2} \cdot C \cdot v^{1/2} \quad (1)$$

trong đó, i_{pa} là cường độ dòng tại vị trí pic (tương ứng với quá trình oxy hóa); n là số điện tử trao đổi trong phản ứng oxy hóa khử ($n=1$); A (cm^2) là diện tích bề mặt điện hoạt của điện cực; D (cm^2/s) là hệ số khuếch tán của ion $[Fe(CN)_6]^{4-}$ trong dung dịch ($D=6,5 \cdot 10^{-6} cm^2/s$); C là nồng độ mol/ cm^3 của ion $[Fe(CN)_6]^{4-}$ ($1 \cdot 10^{-6} mol/cm^3$) và v (V/s) là tốc độ quét thế vòng tuần hoàn. Từ đồ thị của phương trình biểu diễn sự phụ thuộc tuyến tính i_{pa} và $v^{1/2}$, xác định được diện tích bề mặt điện hoạt của điện cực (hình 2).



Hình 3. (A) Ảnh SEM và (B) phổ EDS của GCE/rGO/PDA-Cu/CuNPs.

Kết quả xác định diện tích bề mặt điện hoạt của điện cực GCE/rGO/PDA-Cu/CuNPs là $21,96 mm^2$. So với diện tích bề mặt điện hoạt của điện cực GCE khi chưa biến tính là $3,14 mm^2$ cho thấy, màng PDA sau khi được phân tán CuNPs đã làm tăng khả năng điện hoạt lên gần 7 lần và vì vậy điện cực biến tính GCE/rGO/PDA-Cu/CuNPs được ứng dụng để phân tích UA.

Ảnh hiển vi điện tử quét (SEM) của vật liệu rGO/PDA-Cu/CuNPs trong hình 3A cho thấy, PDA-Cu tạo composit với rGO và trên bề mặt vật liệu rGO/PDA được tạo thành các hạt kim loại. Sự hình thành hạt nano đồng trên bề mặt sẽ đóng vai trò loại bỏ ảnh hưởng của AA trong quá trình xác định điện hóa của UA [7].

Để làm sáng tỏ thêm sự tồn tại của Cu²⁺ trong màng PDA, kết quả đo phổ EDS cho thấy tín hiệu của Cu xuất hiện tại giá trị năng lượng 0,95 keV và hàm lượng của Cu trong màng PDA chiếm 1,03% theo khối lượng. Tuy nhiên, với việc khử điện hóa trực tiếp của Cu²⁺ thành CuNPs trên PDA-Cu đã tăng hàm lượng phần trăm theo khối lượng Cu lên 22,43%. Như vậy, khả năng xúc tác điện hóa cho phản ứng oxy hóa UA bởi CuNPs được tăng cường rõ rệt.

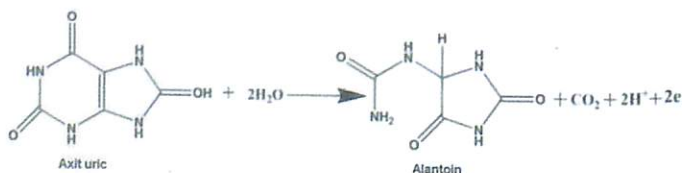
Bảng 1. So sánh đáp ứng của UA với các điện cực GCE/rGO/PDA-Cu/CuNPs với tỷ lệ DA-CuCl₂ khác nhau.

Tỷ lệ DA/CuCl ₂ (mM)	Khoảng tuyến tính (μM)	Độ nhạy (μA/μM)
10/10	11,9-60,2 60,2-224	0,0751 0,0389
10/20	23,4-269	0,0397
10/30	11,9-224 224-393	0,0853 0,0419
10/40	11,9-104 104-186	0,0638 0,0427

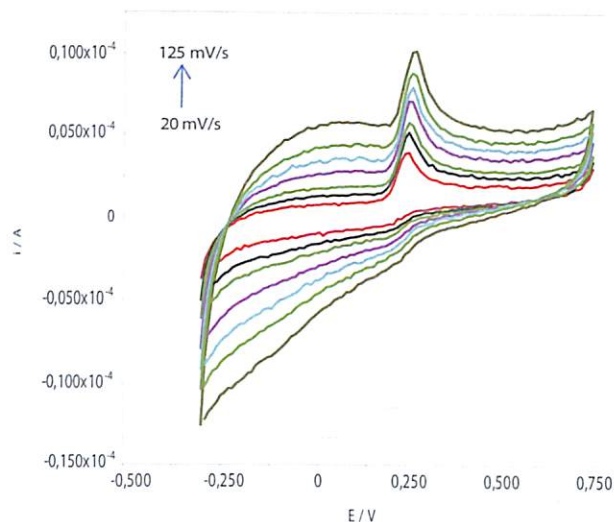
So sánh đặc trưng điện hóa của điện cực GCE/rGO/PDA/CuNPs và điện cực GCE/rGO/PDA-Cu/CuNPs cho thấy, màng PDA khi không có Cu đáp ứng kém hơn về khoảng tuyến tính và độ nhạy đối với UA. Kết quả đo von-ampe xung vi phân (DPV) của UA trên các điện cực chế tạo từ dung dịch DA-CuCl₂ với tỷ lệ mmol khác nhau của DA/Cu²⁺ trong bảng 1 cho thấy, các điện cực có đáp ứng với khoảng tuyến tính khác nhau và với tỷ lệ DA/Cu²⁺ là 10/30 theo mmol cho đáp ứng tốt nhất về khoảng tuyến tính và độ nhạy.

Xác định UA trên điện cực biến tính

Trong phân tích điện hóa đối với UA, quá trình oxy hóa của UA diễn ra theo sơ đồ sau [5, 11]:



Tiến hành đo CV của điện cực GCE/rGO/PDA-Cu/CuNPs trong dung dịch UA cho thấy quá trình oxy hóa khử của UA là bất thuận nghịch. Đường CV trong hình 4 cho thấy pic oxy hóa UA xuất hiện tại thế 0,23 V và không có pic khử. Để xác định hệ vật liệu rGO/PDA-Cu/CuNPs tối ưu dùng trong xác định điện hóa UA, các điều kiện tổng hợp điện hóa gồm thành phần dung dịch điện phân, thời gian tổng hợp PDA-Cu và CuNPs đã được khảo sát.

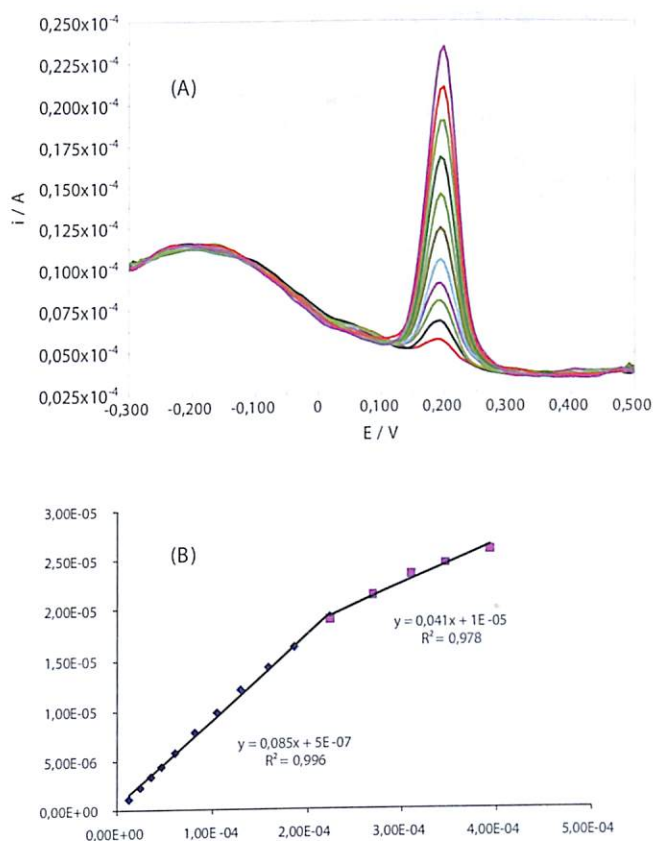


Hình 4. Tín hiệu CV của UA trên GCE/rGO/PDA-Cu/CuNPs với các tốc độ quét thế khác nhau từ 20 đến 125 mV/s.

Bảng 2. So sánh đáp ứng của UA trên các điện cực GCE/rGO/PDA-Cu/CuNPs với số vòng điện phân CuNPs khác nhau.

Số vòng CV tổng hợp điện hóa CuNPs	Khoảng tuyến tính (μM)	Độ nhạy (μA/μM)
5	11,9-60 2-186	0,091 0,0478
10	11,9-224 224-393	0,0853 0,0419
15	11,9-104 104-269	0,0511 0,0292

Điện cực GCE/rGO/PDA-Cu/CuNPs với PDA-Cu được tổng hợp với số vòng CV khảo sát từ 2 đến 12 vòng dùng dung dịch DA-CuCl₂ có tỷ lệ mmol DA/Cu là 10/30 và CuNPs tổng hợp với số vòng điện phân khác nhau cho thấy, hệ vật liệu có thời gian điện phân PDA-Cu với 3 vòng quét thế CV và CuNPs được tổng hợp với 10 vòng CV cho đáp ứng điện hóa với UA có khoảng tuyến tính và độ nhạy tối ưu (bảng 2).

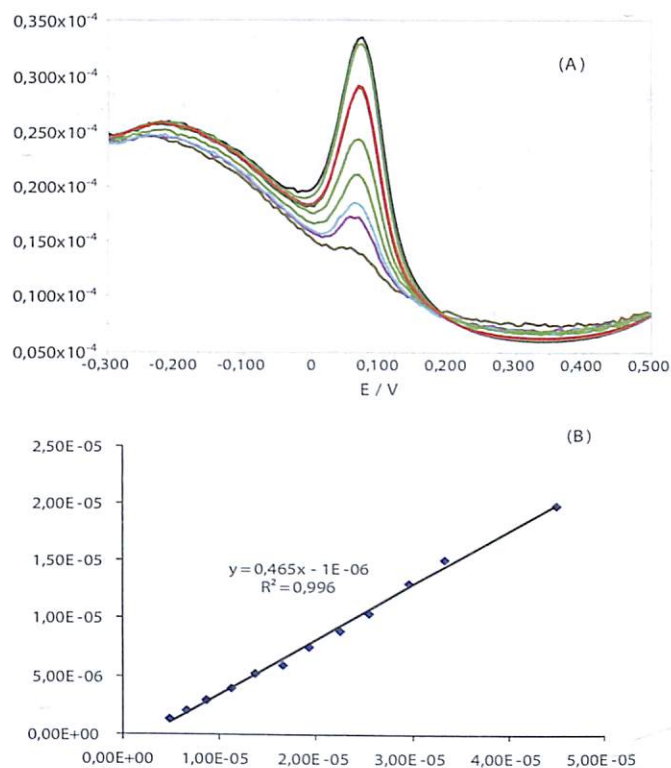


Hình 5. (A) Tín hiệu DPV và (B) đường chuẩn xác định UA trên GCE/rGO/PDA-Cu/CuNPs.

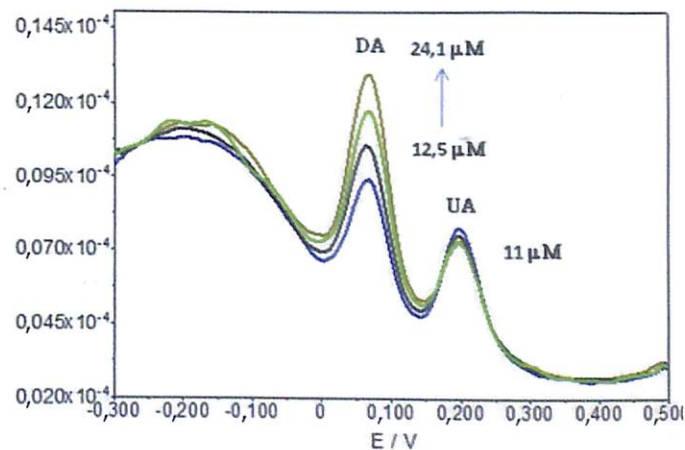
Trên hệ vật liệu đã được tối ưu, tiến hành khảo sát đáp ứng điện hóa DPV của các dung dịch UA có nồng độ khác nhau. Kết quả biểu diễn trong hình 5 cho thấy, pic oxy hóa của UA xuất hiện tại thế 0,19 V và đường chuẩn với 2 khoảng tuyến tính, gồm khoảng tuyến tính từ 11,9 đến 224 μM với độ nhạy 0,0853 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$ và khoảng tuyến tính từ 224 đến 393 với độ nhạy 0,0419 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$. Giới hạn phát hiện LOD của điện cực là 3,9 μM và LOQ là 10,78 μM .

Độ chọn lọc và ổn định điện hóa của UA trên điện cực biến tính

Đáp ứng điện hóa của DA: xác định DPV của DA trên điện cực GCE/rGO/PDA-Cu/CuNPs được biểu diễn trên hình 6. Kết quả khảo sát cho thấy, điện cực đáp ứng với DA trong khoảng nồng độ DA từ 4,9-45,2 μM , với độ nhạy 0,465 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$, hệ số tương quan $R^2=0,996$. Khảo sát sự có mặt đồng thời của DA trong dung dịch khi xác định UA trình bày trên hình 7 cho thấy, DA không gây ảnh hưởng đến kết quả phân tích, do tín hiệu DA và UA được phân tách hoàn toàn với các thế oxy hóa của chúng cách biệt trong khoảng thế ΔE là 120 mV.



Hình 6. (A) Tín hiệu DPV và (B) đường chuẩn xác định DA trên GCE/rGO/PDA-Cu/CuNPs.



Hình 7. Tín hiệu DPV của hỗn hợp UA và DA trên GCE/rGO/PDA-Cu/CuNPs với nồng độ UA 11 μM và DA thay đổi trong khoảng từ 12,5 đến 24,1 μM .

Đáp ứng điện hóa của AA: khảo sát đáp ứng của AA trên điện cực GCE/rGO/PDA-Cu/CuNPs cho thấy không xuất hiện tín hiệu điện hóa của AA. Lý giải cho hiện tượng này là do Cu^{2+} giải phóng từ bề mặt điện cực biến tính sẽ oxy hóa chọn lọc AA trong dung dịch ngay cả khi dung dịch có chứa AA với nồng độ cao [7].

Điện cực GCE/rGO/PDA-Cu/CuNPs có thể sử dụng để xác định UA với 50 lần đo mà không có sự suy giảm tín hiệu

và sai số phép đo trong khoảng tuyến tính nhỏ hơn 5%.

Phân tích mẫu nước tiểu

Kết quả xác định nồng độ UA trong mẫu nước tiểu pha loãng (C_x) bằng phương pháp thêm chuẩn với 6 điểm thêm chuẩn là 16,6 μM , hiệu suất thu hồi đạt 95-97%. Nồng độ của UA trong mẫu nước tiểu ban đầu (C_{UA}) được tính từ nồng độ UA trong mẫu pha loãng nhân với hệ số pha loãng 167 lần ứng với tỷ lệ 3:500 thu được kết quả là 2,766 mM. Tiến hành phân tích tương tự với mẫu nước tiểu lấy từ các tình nguyện viên ở độ tuổi khác nhau, kết quả phân tích thu được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Kết quả xác định UA trong mẫu nước tiểu.

Độ tuổi	C_x của mẫu nước tiểu pha loãng (μM)	C_{UA} của mẫu nước tiểu ban đầu (mM)
< 30 tuổi	15,89	2,65
> 30 tuổi	16,34	2,72
> 50 tuổi	17,08	2,85

So sánh với nồng độ UA được quy định trong nước tiểu từ 1,5-5,9 mM [3], ta thấy nồng độ UA trong nước tiểu lấy từ tình nguyện viên ở các độ tuổi khác nhau đều nằm trong giới hạn cho phép.

Kết luận

Trong nghiên cứu này, điện cực biến tính GCE/rGO/PDA-Cu/CuNPs được chế tạo thành công theo điều kiện đã được tối ưu. Điện cực có đáp ứng chọn lọc và ổn định cao với UA. Khi trong dung dịch có DA và AA thì tín hiệu của DA được tách hoàn toàn và AA không ảnh hưởng đến xác định UA. Điện cực GCE/rGO/PDA-Cu/CuNPs đạt giới hạn phát hiện với UA tại 3,9 μM và tuyến tính trong khoảng 11,9-393 μM . Điện cực đã được ứng dụng xác định UA trong mẫu nước tiểu theo phương pháp thêm chuẩn với kết quả thu được có độ chính xác và tin cậy cao.

LỜI CẢM ƠN

Bài báo này được hoàn thành với sự tài trợ của đề tài nghiên cứu khoa học theo Hợp đồng số 54/HĐ-ĐHCNVT, ngày 30/12/2016 của Trường Đại học Công nghiệp Việt Trì và đồng hỗ trợ của Đề tài độc lập cấp nhà nước mã số ĐTĐL.CN.46-16.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Hyon K. Choi, D.B. Mount, Anthony M. Reginato, American College of Physicians, American Physiological Society (2005), "Pathogenesis of Gout", *Ann. Intern. Med.*, **143**(7), pp.499-516.

[2] S.S. Daskalopoulou, et al. (2004), "Uric acid levels and vascular disease", *Curr. Med. Res. Opin.*, **20**(6), pp.951-954.

[3] L.M. De Lau, et al. (2005), "Serum uric acid levels and the risk of Parkinson disease", *Ann. Neurol.*, **58**(5), pp.797-800.

[4] D. Lakshmi, et al. (2011), "Electrochemical detection of uric acid in mixed and clinical samples: a review", *Electroanalysis*, **23**(2), pp.305-320.

[5] L.T. Guangming Yang, Ya Shi, Suiping Wang, Xuxiao Lu, Huiping Bai, and Yunhui Yang (2009), "Direct determination of uric acid in human serum samples using polypyrrole nanoelectrode ensembles", *Bull. Korean Chem. Soc.*, **30**(2), pp.454-458.

[6] Rajendra N. Goyal, M.O. Aditi Sangal, and Sudhanshu P. Singh (2005), "Differential pulse voltammetric determination of uric acid at nanogold modified indium tin oxyde (ITO) electrode", *Indian Journal of Chemistry*, **44A**, pp.945-949.

[7] S. Hiroaki, H. Ranko, M. Kazuhiro, S. Haruki, and S. Susumu (2011), "Electrochemical selective detection of uric acid using a copper-modified carbon electrode", *Anal. Sciences*, **27**(3), pp.333-335.

[8] X. Wang, et al. (2013), "Simultaneous electrochemical determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid using a palladium nanoparticle/graphene/chitosan modified electrode", *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **695**, pp.10-16.

[9] C.M. Welch, and R.G. Compton (2006), "The use of nanoparticles in electroanalysis: a review", *Anal. Bioanal. Chem.*, **384**(3), pp.601-619.

[10] A. Babaei, D.J. Garrett, and A.J. Downard (2011), "Selective simultaneous determination of paracetamol and uric acid using a glassy carbon electrode modified with multiwalled carbon nanotube/chitosan composite", *Electroanalysis*, **23**(2), pp.417-423.

[11] M.M.I. Khan, A.M.J. Haque, and K. Kim (2013), "Electrochemical determination of uric acid in the presence of ascorbic acid on electrochemically reduced graphene oxide modified electrode", *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **700**, pp.54-59.

[12] M. Zhang, et al. (2012), "A self-assembled polydopamine film on the surface of magnetic nanoparticles for specific capture of protein", *Nanoscale*, **4**(10), pp.3141-3147.

[13] W.S. Hummers, and R.E. Offeman (1958), "Preparation of graphitic oxyde", *Journal of the American Chemical Society*, **80**(6), p.18.

[14] A.J. Bard and L.R. Faulkner (2000), *Electrochemical methods: fundamentals and applications*, Wiley.