

DOI: 10.13208/j.electrochem.140436

Artical ID:1006-3471(2014)06-0538-04

Cite this: *J. Electrochem.* 2014, 20(6): 538-541

Http://electrochem.xmu.edu.cn

# Nafion/硫堇/铂纳米线复合电极的 葡萄糖电催化活性

林玉萍, 林幼秀, 周 倩, 唐点平\*

(福州大学 化学学院, 纳米医药及纳米生物传感研究所, 福建 福州 350108)

**摘要:** 利用吸附在玻碳基底 Nafion 膜的负电性磺酸基与正电荷硫堇(Thi)相互作用, 将电子媒介体固定电极表面, 通过铂纳米线(PtNW)与硫堇间的键合作用及铂纳米线强吸附效应把葡萄糖氧化酶(GOD)固定于玻碳基底上, 制得高灵敏电流型葡萄糖生物传感电极. 通过循环伏安法考察了电极的电化学特性, 研究了该铂纳米线生物传感电极的葡萄糖电催化性能. 结果表明, 该传感电极对葡萄糖有良好的电催化活性, 线性响应范围  $1.0 \times 10^{-5} \sim 6.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 检测限  $3.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ . 该传感电极制备简单、灵敏度高、重现性好.

**关键词:** 葡萄糖氧化酶; 铂纳米线; 硫堇; 生物传感器; 电催化

**中图分类号:** O657.1

**文献标识码:** A

葡萄糖酶传感电极采用纳米材料为载体可增加酶的负载量和稳定性<sup>[1-3]</sup>, 从而提高酶电极的检测灵敏度. 通过组装, 利用电荷吸附及铂纳米线强吸附效应, 将葡萄糖氧化酶固定于电极表面, 制得电流型葡萄糖生物传感电极. 利用正电荷硫堇与负电荷 Nafion 膜相互作用, 将电子媒介体固定于电极表面, 通过硫堇分子的氨基基团与铂纳米线的共价键合, 将葡萄糖氧化酶组装于硫堇的表面, 制得 Nafion/硫堇/铂纳米线复合膜电极, 并研究葡萄糖电催化氧化.

## 1 实验

### 1.1 试剂与仪器

CHI 430D 电化学工作站 (上海辰华仪器), KQ218 超声波清洗器, 电子天平. 使用透射电子显微镜(TEM, HITACHI H-600)表征铂纳米线.

Nafion-117(5%乙醇溶液, Fluka), 葡萄糖氧化酶(GOD, Sigma), 硫堇(Thi), 葡萄糖、氯铂酸、KCl、CH<sub>3</sub>COOH、NaAc、CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH 等试剂均为分析纯. 实验用水为二次蒸馏水.

### 1.2 多臂交联铂纳米线

多臂交联铂纳米线制备参照文献<sup>[4]</sup>: 将 27 mg H<sub>2</sub>PtCl<sub>6</sub>·6H<sub>2</sub>O 溶解于 20 mL 去离子水中, 充分搅拌 20 min, 然后加入 1.0 mL HCOOH, 该混合物

室温搁置 72 h, 即得多臂交联的铂纳米线(PtNW).

### 1.3 葡萄糖生物传感电极

葡萄糖生物传感电极如图 1 所示. 玻碳基底( $\phi = 2 \text{ mm}$ )经 Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 粉抛光成镜面, 依次用乙醇和纯净水超声洗涤, 自然晾干.

将 10  $\mu\text{L}$  Nafion 乙醇溶液 (0.5%, by mass)滴涂于预处理玻碳基底, 室温自然晾干. 又将 10  $\mu\text{L}$  硫堇水溶液( $0.5 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )滴于 Nafion 修饰玻碳电极, 室温搁置 2 h, 水洗, 再滴入 10  $\mu\text{L}$  铂纳米线溶液, 室温放置 4 h, 即得 PtNW/Thi/Nafion/GC 电极. 然后将该电极浸泡于葡萄糖氧化酶(GOD)溶液中, 4  $^{\circ}\text{C}$  保存过夜, 水洗, 置于 4  $^{\circ}\text{C}$  的冰箱中保存待用(GOD/PtNW/Thi/Nafion/GC 电极).

### 1.4 性能检测

由工作电极、Ag/AgCl 参比电极、铂丝对电极在 2 mL 醋酸缓冲溶液(pH 5.5,  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 含  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  KCl 支持电解质)组成三电极体系测试其室温葡萄糖循环伏安曲线, 扫描速率  $50 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ , 电位范围  $-0.5 \sim 0.1 \text{ V}$ .

## 2 结果与讨论

### 2.1 多臂交联铂纳米线的表征

图 2 为多臂交联铂纳米线的 TEM 照片. 由照片可以看出, 铂纳米线多臂交联, 并呈现出“星”样

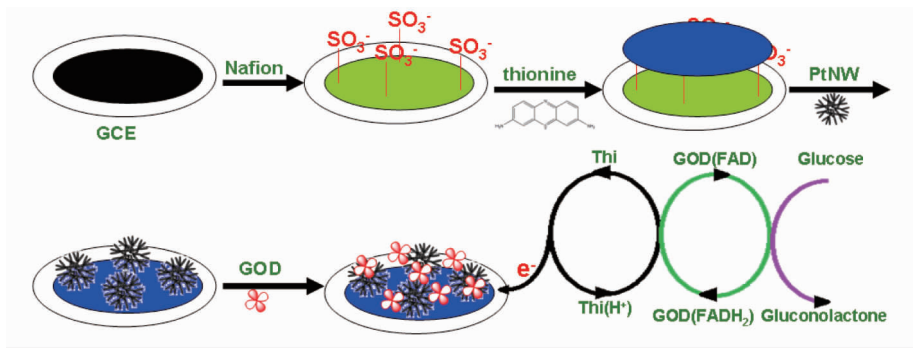


图 1 GOD/PtNW/Thi/Nafion/GC 电极及葡萄糖氧化机理的示意图

Fig. 1 Schematic illustration in electron transfer pathway of GOD/PtNW/Thi/Nafion/GC electrode toward glucose

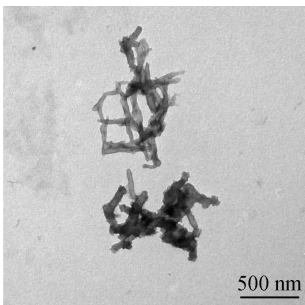


图 2 铂纳米线的 TEM 照片

Fig. 2 TEM image of the as-synthesized PtNW

的结构. 多臂交联铂纳米线为生物分子的固定提供更大的比表面积.

2.2 电极电化学特性

不同修饰电极在 0.1 mol·L<sup>-1</sup> HAc-NaAc (pH 5.5) 缓冲溶液中, -0.5 ~ 0.1 V 电位范围内的循环伏安曲线如图 3 所示. 可以看出, Nafion/GC 电极 (曲线 a) 上, 无明显的氧化还原峰, 吸附于玻碳基底的 Nafion 膜阻碍了电子的传输. 当硫堇吸附于 Nafion 膜表面后, 呈现了一对明显的氧化还原峰 (曲线 b), 峰电位  $E_{pa} = -183\text{ mV}$ ,  $E_{pc} = -223\text{ mV}$ ,  $\Delta E_p = 40\text{ mV}$ ,  $i_{pa}/i_{pc} \approx 1$ , 表明硫堇是一对良好的电子媒介体, 有利于电子的传递. 更有意义的是, 当铂纳米线被组装到硫堇表面, 其在氧化峰电位记录的电流大大增加 (曲线 c). 这归因于铂纳米线有良好的导电性及大比表面积, 在电极表面可能形成一种三维的网状结构, 更利于电子的传递. 葡萄糖氧化酶是一种生物大分子, 导电能力较弱, 覆盖在电极表面, 部分阻碍电子的传递速率, 使其电极峰电流减小 (曲线 d). 固定的葡萄糖氧化酶堵塞了修饰电极表面孔径通道, 增大了电子通过膜的阻

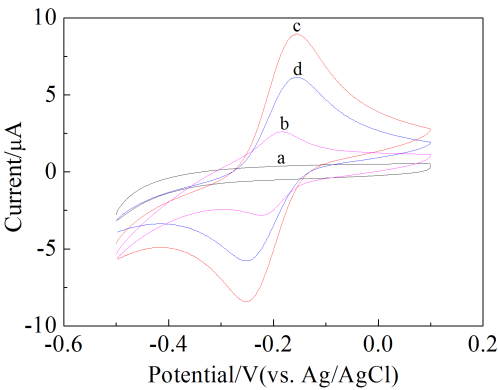


图 3 不同修饰电极在 0.1 mol·L<sup>-1</sup> HAc-NaAc (pH 5.5) 缓冲溶液的循环伏安曲线: Nafion/GC (a), Thi/Nafion/GC (b), PtNW/Thi/Nafion/GC (c), GOD/PtNW/Thi/Nafion/GC (d) 扫描速率: 50 mV·s<sup>-1</sup>

Fig. 3 Cyclic voltammograms of Nafion/GCE (a), Thi/Nafion/GC (b), PtNW/Thi/Nafion/GC (c), and GOD/PtNW/Thi/Nafion/GC (d) electrodes in 0.1 mol·L<sup>-1</sup> HAc-NaAc (pH 5.5) at 50 mV·s<sup>-1</sup>

力, 使电极有效截面积减小, 峰电流降低. 以上结果表明, 葡萄糖氧化酶可层层组装于电极表面.

2.3 pH 值

图 4 为在不同 pH 醋酸缓冲葡萄糖 (1.0 mmol·L<sup>-1</sup>) 溶液中 GOD/PtNW/Thi/Nafion/GC 电极的电流响应曲线. 由图可知, 其氧化峰电流先随 pH 增大而升高, 而后逐渐减小, pH 5.5 醋酸缓冲溶液中呈现出最佳电流响应. 这是因为硫堇作为电子媒介体在酸性条件下有利于氧化还原峰的出现, 但过低或过高的 pH 将影响酶的催化活性. 故选取 pH 5.5 醋酸缓冲溶液为宜.

2.4 GOD/PtNW/Thi/Nafion/GC 电极的葡萄糖电催化活性

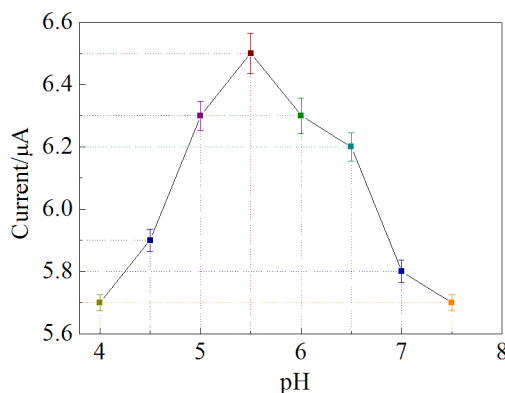


图 4 葡萄糖生物传感电极在不同 pH 的醋酸缓冲葡萄糖 (1.0 mmol·L<sup>-1</sup>) 溶液的电流响应曲线

Fig. 4 Effect of pH of HAc-NaAc on the amperometric response of the developed biosensor (1.0 mmol·L<sup>-1</sup> used in this case)

GOD/PtNW/Thi/Nafion/GC 和 GOD/Thi/Nafion/GC 电极添加 1.0 mmol·L<sup>-1</sup> 葡萄糖前(a、a')后(b、b')的电催化活性,如图 5 所示.从图 5A 可以看出, GOD/Thi/Nafion/GC 电极的葡萄糖电流响应差值为 0.679 μA (5.460 - 4.781 = 0.679 μA). 而 GOD/PtNW/Thi/Nafion/GC 电极因 PtNW 的存在其葡萄糖电催化活性更显著 (9.591 - 6.871 = 2.72 μA, 图 5B). 这可能因 PtNW 增大电极表面的粗糙度为酶提供了更多有效固定位点,同时改善了复合膜导电性,提供电子传递通道,从而提高了电极电化学信号.

## 2.5 酶电极的性能

### 1) 酶线性范围与检测限

图 6 为该传感器对不同葡萄糖浓度的电催化

活性. 在 pH 5.5 醋酸缓冲溶液, 电极的氧化峰电流随葡萄糖浓度增加而升高, 在  $1.0 \times 10^{-5} \sim 6.0 \times 10^{-3}$  mol·L<sup>-1</sup> 浓度范围内, *i*-*C* 曲线保持良好的线性关系, 线性回归方程:  $i_{pa}(\mu A) = 6.47836 + 0.43812 \lg C_{[glucose]}(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$ , 线性相关系数 0.975, 检测下限  $3.0 \times 10^{-6}$  mol·L<sup>-1</sup> (*S*/*N* = 3).

### 2) 稳定性和重现性

GOD/PtNW/Thi/Nafion/GC 电极置于 pH 5.5 醋酸缓冲溶液连续扫描 50 周期, 其峰电流仍为第一周期峰电流 96%. 同一批 GOD/PtNW/Thi/Nafion/GC 电极置于 4 °C 冰箱中保存, 每隔 2 ~ 3 天测定 (1.0 mmol·L<sup>-1</sup> 葡萄糖), 20 天该电极仍维持初次电流的 95% 以上. 不同时间、不同批次电极在同一葡萄糖浓度标准溶液检测, 其峰电流标准偏差 RSD < 8.0%, 该电极有良好的稳定性和重现性.

## 2.6 酶生物传感器的初步应用

为考察该葡萄糖生物传感器对实际样品中葡萄糖检测的可靠性, 将 5 个不同浓度的葡萄糖标准溶液喷洒到空白的新生牛血清中, 制得 20 μmol·L<sup>-1</sup>、100 μmol·L<sup>-1</sup>、0.5 mmol·L<sup>-1</sup>、1.0 mmol·L<sup>-1</sup> 和 5.0 mmol·L<sup>-1</sup> 的葡萄糖样品. 然后利用本文制备的葡萄糖传感器对这些样品中的葡萄糖进行检测, 检测结果分别为: 18.6 μmol·L<sup>-1</sup>、113.8 μmol·L<sup>-1</sup>、0.48 mmol·L<sup>-1</sup>、1.21 mmol·L<sup>-1</sup>、5.45 mmol·L<sup>-1</sup>, 其回收率分别为 93%、113.8%、96%、121%、109%, 表明该传感器能够初步用于复杂样品中葡萄糖的检测.

## 3 结 论

以铂纳米线作固定基质, 硫堇为电子媒介体,

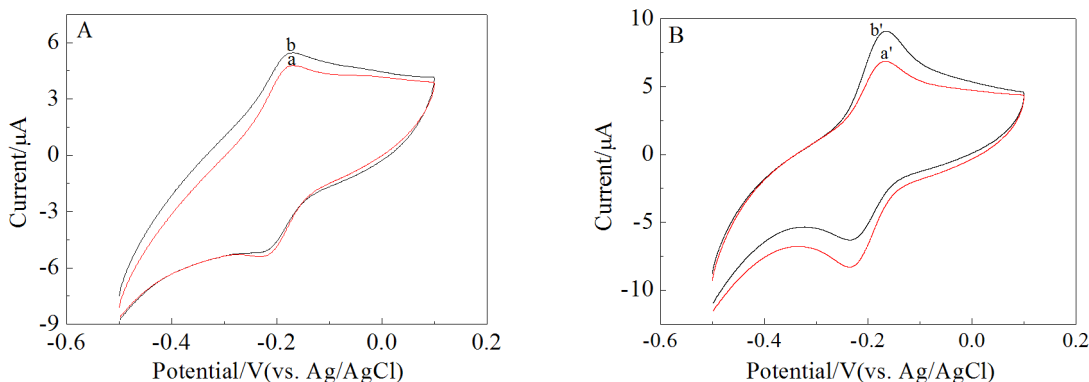


图 5 GOD/Thi/Nafion/GC(A) 和 GOD/PtNW/Thi/Nafion/GC(B) 电极在 pH 5.5 醋酸缓冲溶液的循环伏安曲线  
a, a': 无葡萄糖; b, b': 1.0 mmol·L<sup>-1</sup> 葡萄糖

Fig. 5 Cyclic voltammograms of GOD/Thi/Nafion/GC (A) and GOD/PtNW/Thi/Nafion/GC (B) electrodes in HAc-NaAc at pH 5.5 in the absence (a, a') and presence (b, b') of 1.0 mmol·L<sup>-1</sup> glucose

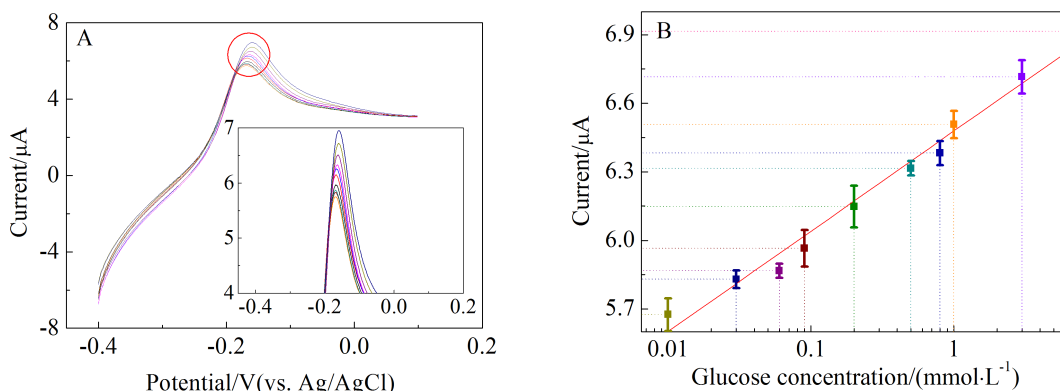


图 6 GOD/PtNW/Thi/Nafion/GC 电极在不同葡萄糖浓度 pH 5.5 醋酸缓冲溶液的线性扫描曲线(A)和  $i$ -C 曲线(B)

Fig. 6 Linear sweep curves of GOD/PtNW/Thi/Nafion/GC electrode toward different concentrations of glucose in HAc-NaAc at pH 5.5 (A), and the corresponding calibration plot (B)

将葡萄糖氧化酶修饰于电极表面, 制得 GOD/Pt-NW/Thi/Nafion/GC 电流型葡萄糖生物传感电极. 铂纳米线增强了电极比表面积和葡萄糖氧化酶负载量, 改善了膜的导电能力, 缩短了电极反应距离, 提高了灵敏度和稳定性. 该电极在  $1.0 \times 10^{-5} \sim 6.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  葡萄糖浓度范围,  $i$ -C 曲线呈线性关系, 线性回归方程:  $i_{\text{pa}} (\mu\text{A}) = 6.47836 + 0.43812 \lg C_{[\text{glucose}]} (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$ , 线性相关系数 0.975, 检测下限  $3.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $S/N = 3$ ). 该电极还可能适用于其他生物酶传感电极的构建.

### 参考文献(References):

[1] Kucherenko I, Didukh D, Soldatkin O, et al. Amperometric

biosensor system for simultaneous determination of adenosine-5'-triphosphate and glucose[J]. Analytical Chemistry, 2014, 86(11): 5455-5462.

[2] Lu J, Drzal L, Worden R, et al. Simple fabrication of a highly sensitive glucose biosensor using enzymes immobilized in exfoliated graphite nanoplatelets Nafion membrane[J]. Chemistry of Material, 2007, 19(25): 6240-6246.

[3] Wang X, Zhang X. Electrochemical co-reduction synthesis of graphene/nano-gold composites and its application to electrochemical glucose biosensor[J]. Electrochimica Acta, 2013, 112: 774-782.

[4] Su B, Tang J, Tang D, et al. Multiarmed star-like platinum nanowires with multienzyme assembly for direct electronic determination of carcinoembryonic antigen in serum[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2011, 30(1): 229-234.

## Nafion/Thionine/Platinum Nanowires-Modified Electrode for Electrocatalyzing Glucose

LIN Yu-ping, LIN You-xiu, ZHOU Qian, TANG Dian-ping\*  
(Institute of Nanomedicine and Nanobiosensing, Department of Chemistry,  
Fuzhou University, Fuzhou 350108, China)

**Abstract:** A new amperometric biosensor based on Nafion, thionine and platinum nanowires was developed for sensitive detection of glucose. Initially, positively charged thionine molecules were immobilized onto the surface of Nafion-modified glassy carbon electrode through the interaction between  $-\text{SO}_3^-$  and  $-\text{NH}_3^+$ , and glucose oxidase was then assembled on the modified electrode by using platinum nanowires as the cross-linkage. The preparation process was characterized by using cyclic voltammetry. Two enzymatic biosensors modified with and without platinum nanowires were used for the detection of glucose, and the improved analytical properties were obtained with platinum nanowires. Experimental results indicated that the as-prepared biosensor exhibited good electrocatalytic response toward glucose in the dynamic range of  $1.0 \times 10^{-5} \sim 6.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  with a detection limit of  $3.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  at  $S/N = 3$ . Moreover, the reproducibility and stability of the biosensor were acceptable.

**Key words:** glucose oxidase; platinum nanowires; thionine; biosensors; electrochemical catalysis