

# Mb/AuNPs/MWCNTs/GC 电极对 $\text{H}_2\text{O}_2$ 电催化性能的研究

黄郑隽<sup>1</sup>, 彭花萍<sup>1\*</sup>, 查代君<sup>2</sup>, 刘爱林<sup>1</sup>, 陈伟<sup>1</sup>, 林新华<sup>1</sup>, 游勇基<sup>1,3\*</sup>

(1. 福建医科大学药学院药物分析系, 福建 福州 350004; 2. 南昌大学高等研究院, 江西 南昌 330031;  
3. 福建省药品检验所, 福建 福州 350001)

**摘要:** 采用还原法制备了 AuNPs/MWCNTs 复合材料,并构建了氧化还原蛋白质的固定化和生物传感界面 AuNPs/MWCNTs/GC 电极. 以肌红蛋白(Myoglobin, Mb)为例,研究了固定化蛋白质在 AuNPs/MWCNTs/GC 电极上的直接电化学. 结果表明,AuNPs/MWCNTs 复合材料不仅能有效地促进 Mb 与电极表面的直接电子转移,而且能很好地保持固定化 Mb 的生物催化活性. Mb/AuNPs/MWCNTs/GC 电极对  $\text{H}_2\text{O}_2$  具有良好的电催化还原性能,其线性响应范围为  $1 \sim 138 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,检测限为  $0.32 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $S/N=3$ ),并具有较低的米氏常数( $0.143 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ). 该电极操作简单,响应迅速,稳定性和重现性好,有望用于蛋白质的固定化及第三代生物传感器的制备.

**关键词:** 肌红蛋白; AuNPs/MWCNTs; 直接电化学; 生物传感器

**中图分类号:** O657.1

**文献标识码:** A

由于蛋白质的氧化还原中心深埋在蛋白质壳内,与电极间的直接电子传输非常困难. 并且蛋白质分子在电极表面容易失活和变性,不能保持长期稳定性,这给直接电化学的研究以及第三代传感器的研制带来了很大的障碍<sup>[1]</sup>. 纳米材料如碳纳米管(Carbon Nanotubes, CNTs)及其复合材料具有良好的导电性、生物兼容性及大的比表面积等特点,已被广泛应用于生物分子的有效固定及第三代生物传感器的制备<sup>[2-5]</sup>. 此外,纳米金(Au Nanoparticles, AuNPs)和生物分子之间具有特异结合力,它可以与蛋白质、凝集素和生物素中的一 $\text{NH}_2$ 结合,从而吸附更多的蛋白质,作为生物分子载体提高生物传感器的灵敏度<sup>[6-7]</sup>. 本文将碳纳米管和纳米金的优越性相结合,采用原位化学还原法制备了 AuNPs/MWCNTs 纳米复合材料,并将其用于氧化还原蛋白质的高效固定. 以 Mb 为例,构建了 Mb/AuNPs/MWCNTs/GC 电极传感界面,并研究了固

定化 Mb 的直接电化学及电催化性能.

## 1 实验

### 1.1 试剂与仪器

多壁碳纳米管(Multi-Walled Carbon Nanotubes, MWCNTs, 深圳纳米港),聚乙烯亚胺(PEI, 50%, by mass, 平均分子量  $\sim 1200$ , Sigma),马心肌红蛋白(Sigma),氯金酸( $\text{HAuCl}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , Sigma),硼氢化钠( $\text{NaBH}_4$ , 98%, Sigma),  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30%, by mass)由上海试剂公司提供. pH 7.0 的磷酸盐缓冲溶液(PBS,  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )用二次蒸馏水配制.

三电极体系: Ag/AgCl 参比电极( $3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  KCl),铂丝对电极,玻碳电极( $\phi = 3 \text{ mm}$ )基底工作电极. 表征复合材料的形貌表征使用 Quanta 200 F 环境扫描电镜(美国, FEI 公司). Autolab PG-STAT30 工作站(荷兰, Eco Chemie 公司)测试复合电极电化学性能.

收稿日期:2012-02-25,修订日期:2012-04-10 \* 通讯作者, Tel: (86-591) 22862016, E-mail: penghuaping2006@126.com; youyij@sina.com

国家863计划资助项目(No. 2008AA02Z433),国家自然科学基金资助项目(No. 20975021, No. 81171668),福建省高校产学研科技重点项目(No. 2010Y4003),福建省自然科学基金资助项目(No. 2010J06011),福建医科大学校重大项目(No. 09ZD013),福建省教育厅科技项目(No. JA10126, No. JA11110)和福建医科大学博士启动基金(No. 2011BS005)资助

## 1.2 Mb/AuNPs/MWCNTs/GC 的制备

将 2.0 mL 混酸处理的 MWCNTs ( $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 置于圆底烧瓶, 加入 1.0 mL  $1.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  PEI 水溶液, 超声振荡 10 min. 在  $80^\circ\text{C}$  水浴下, 滴加 1.0 mL  $\text{HAuCl}_4$  ( $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 继续搅拌 30 min. 多次离心清洗, 即得 AuNPs/MWCNTs 纳米复合物. 用  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 PBS (pH 7.0) 溶液重新分散至 1.0 mL. 将玻碳基底 ( $\phi = 3 \text{ mm}$ ) 依次用  $1.0 \mu\text{m}$ ,  $0.3 \mu\text{m}$  和  $0.05 \mu\text{m}$  的  $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$  悬浊液在麂皮上抛光, 再依次用  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  硝酸、无水乙醇和二次水超声清洗 3 min, 氮气吹干. 将 Mb 溶于 pH 7.0 的 PBS ( $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 溶液配成浓度为  $5.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的溶液. 将 0.5 mL Mb 溶液与上述 1.0 mL AuNPs/MWCNTs 悬浮液混合均匀, 取  $6 \mu\text{L}$  混合液滴涂到 GC 基底,  $4^\circ\text{C}$  晾干即得 Mb/AuNPs/MWCNTs/GC.

Mb/MWCNTs 和 AuNPs/MWCNTs 等修饰电极也采用类似方法制备, Mb 溶液、纳米材料溶液的浓度及用量均与制备 Mb/AuNPs/MWCNTs/GC 的一致.

## 2 结果与讨论

### 2.1 AuNPs/MWCNTs 复合材料 SEM 表征

图 1 所示为 MWCNTs 和 AuNPs/MWCNTs 复合材料的 SEM 照片. 从照片可知, MWCNTs 表面光滑平整, 直径为  $40 \sim 60 \text{ nm}$  (图 1A). 负载 AuNPs 纳米粒子后, MWCNTs 表面变得粗糙, 由图 1B 可见大量 Au 纳米粒子均匀地负载于 MWCNTs 表面, 且背景区域没有分散的 Au 纳米粒子, 表明 AuNPs/MWCNTs 纳米复合材料制备成功.

### 2.2 Mb/AuNPs/MWCNTs/GC 电极的电化学性能

图 2 给出了不同修饰电极在  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  PBS 溶液  $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$  扫描速率的循环伏安曲线. 从图中可以看出, AuNPs/MWCNTs/GC 电极无明显的氧化还原峰 (曲线 a), Mb/MWCNTs/GC 电极仅有一对较小的氧化还原峰 (曲线 b). 然而, Mb/AuNPs/MWCNTs/GC 电极有一对明显的氧化还原峰 (曲线 c), 氧化峰电位  $-202 \text{ mV}$ , 还原峰电位  $-310 \text{ mV}$ , 该氧化还原峰来源于 Mb 中亚铁血红素辅基的  $\text{Fe(III)}/\text{Fe(II)}$  氧化还原, 与文献报道一

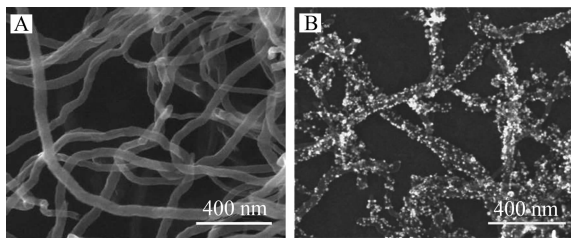


图 1 MWCNTs(A) 和 AuNPs/MWCNTs 复合材料(B) 的 SEM 照片

Fig. 1 SEM images of MWCNTs (A) and AuNPs/MWCNTs nanocomposite (B)

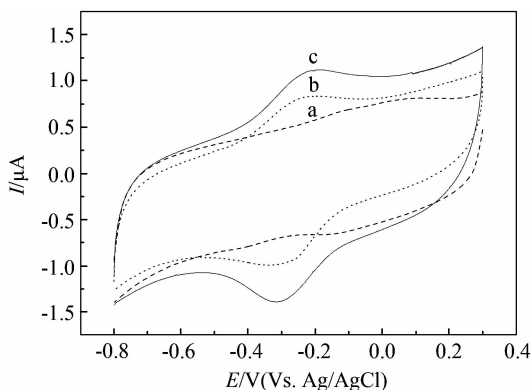


图 2 AuNPs/MWCNTs/GC (a), Mb/MWCNTs/GC (b) 和 Mb/AuNPs/MWCNTs/GC(c) 电极在  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  pH 7.0 PBS 溶液中, 扫描速率  $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$  下的循环伏安曲线

Fig. 2 Cyclic voltammograms of AuNPs/MWCNTs/GC (a), Mb/MWCNTs/GCs (b) and Mb/AuNPs/MWCNTs/GC (c) electrodes in  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  and pH 7.0 PBS solution at  $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$

致<sup>[8]</sup>. Mb/AuNPs/MWCNTs/GC 电极峰电流显著增强, 可能是由于导电良好的复合材料为 Mb 提供了更多的生物活性吸附位点, 且金纳米粒子利于 Mb 分子定向, 缩短了包埋于蛋白质分子内部的电活性中心与电极间的距离, 加快了 Mb 活性中心与电极表面之间的电子传递速率<sup>[7,9]</sup>.

Mb/AuNPs/MWCNTs/GC 电极在 PBS 中不同扫速下循环伏安曲线如图 3 所示. 从图中可以看出, 在  $0.05 \sim 1.0 \text{ V} \cdot \text{s}^{-1}$  的扫速范围, Mb 的氧化还原峰电流与扫描速率成正比 (图 3 插图), 且氧化峰和还原峰电位基本不变, 表明 Mb 在电极表面的电化学反应受表面控制<sup>[10]</sup>. 据 Laviron's 公式  $I_p = n^2 F^2 \nu I A / 4RT$ <sup>[11]</sup>, 可估算出电极表面覆盖度  $\Gamma$  为  $1.05 \times 10^{-10} \text{ mol} \cdot \text{cm}^{-2}$ , 为单层 Mb 吸附 ( $1.58 \times$

$10^{-11} \text{ mol} \cdot \text{cm}^{-2}$ )<sup>[12]</sup> 的 6.6 倍,说明该复合材料可吸附大量 Mb 分子. 当峰电位差  $n\Delta E_p < 200 \text{ mV}$  时,电极反应可视为可逆反应,由 Laviron's 方程  $k_s = nFQv/4RT$ <sup>[13]</sup> 可得 Mb 的异相电子转移速率常数  $k_s$  约为  $2.1 \text{ s}^{-1}$ ,大于 NiO 纳米粒子固定 Mb ( $0.34 \text{ s}^{-1}$ )<sup>[14]</sup>、半胱氨酸固定 Mb ( $0.93 \text{ s}^{-1}$ )<sup>[13]</sup> 和蛋白丝膜固定 Mb ( $1.34 \text{ s}^{-1}$ )<sup>[15]</sup> 的  $k_s$ ,说明该复合材料对 Mb 有更强的吸附能力和生物相容性,可促进 Mb 活性中心与电极表面间的电子快速传递.

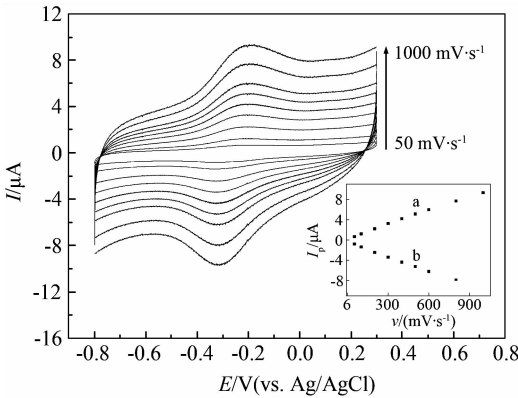


图 3 Mb/Au/MWCNTs/GC 电极在  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  PBS (pH 7.0) 溶液中不同扫速下的循环伏安曲线(扫描速率由内到外分别为 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 800 和  $1000 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ , 插图为氧化(a)还原(b)峰电流与扫描速率的关系曲线)

Fig. 3 Cyclic voltammograms of Mb/Au/MWCNTs/GC electrode in  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  PBS solution (pH 7.0) at various scan rates (from internal to external: 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 800,  $1000 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ , the inset shows the plots of peak current-scan rate)

### 2.3 Mb/AuNPs/MWCNTs/GC 电极的电催化性能

图 4 为 Mb/AuNPs/MWCNTs/GC 电极对在不同  $\text{H}_2\text{O}_2$  浓度下的循环伏安曲线. 从图中看出,无  $\text{H}_2\text{O}_2$  时可观察到一对可逆 Mb 氧化还原峰(曲线 a). 随着  $\text{H}_2\text{O}_2$  浓度增加, Mb 还原峰电流增大,相应的氧化峰电流减小(曲线 b~e),呈现 Mb 对  $\text{H}_2\text{O}_2$  的电催化还原作用<sup>[16]</sup>. 其电催化还原过程如下:

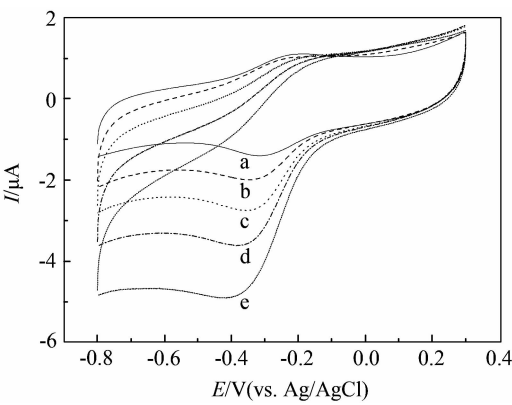
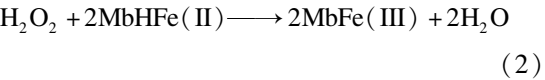
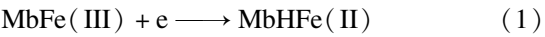


图 4 Mb/Au/MWCNTs/GC 电极在  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 PBS (pH 7.0) 溶液,不同  $\text{H}_2\text{O}_2$  浓度中扫描速率  $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$  的循环伏安曲线  
 $C_{\text{H}_2\text{O}_2}/(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$ : a. 0; b. 20; c. 30; d. 40; e. 60

Fig. 4 Cyclic voltammograms of the Mb/Au/MWCNTs/GC electrode in  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  PBS (pH 7.0) solution at  $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ .  
 $C_{\text{H}_2\text{O}_2}/(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$ : a. 0; b. 20; c. 30; d. 40; e. 60

图 5 为 Mb/AuNPs/MWCNTs/GC 电极在  $-0.35 \text{ V}$  电位下连续加入  $\text{H}_2\text{O}_2$  的  $I-t$  曲线. 还原峰电流急剧增大直至稳定,达 95% 电流响应时间约为 10 s,表明该电极对  $\text{H}_2\text{O}_2$  有快速的电催化响应. 其线性范围  $1 \sim 138 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,线性回归方程为  $y = 0.0696x - 0.0778 (r = 0.9997)$ ,与 Mb 固定于锆磷酸盐纳米片 ( $0.8 \sim 12.8 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )<sup>[17]</sup>、DNA/Hb/ $\alpha$ -ZrP 膜 ( $0.728 \sim 97.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )<sup>[18]</sup> 以及  $\text{ZrO}_2/\text{DMSO}$  膜 ( $1 \sim 85 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )<sup>[19]</sup> 相比,线性范围更宽. 检测限为  $0.32 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} (S/N = 3)$ ,比文献报道值更低<sup>[20-22]</sup>. 表观米氏速率常数是反应酶—底物反应动力学的速率常数,据 Lineweaver-Burk 方程:<sup>[23]</sup>

$$\frac{1}{I_{ss}} = \frac{K_m^{app}}{I_{max}} \cdot \frac{1}{C} + \frac{1}{I_{max}}$$
 (3)

式中,  $I_{ss}$  为加入底物后稳态电流的大小,  $C$  为溶液中加入底物的浓度,  $I_{max}$  为加入的底物达到饱和状态时的电流值. 估算本实验  $K_m^{app}$  值为  $0.143 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,该值比文献报道的 Mb/ZrO<sub>2</sub>/CS 电极 ( $1.53 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )<sup>[24]</sup>、SWCNTs-CTAB 膜 ( $0.61 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )<sup>[21]</sup> 和 Mb/Ag NPs/GC ( $1.3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )<sup>[25]</sup> 的  $K_m^{app}$  要小很多,表明该复合材料中的 Mb 对  $\text{H}_2\text{O}_2$  有很强的生物亲和力和很高的电催化活性.

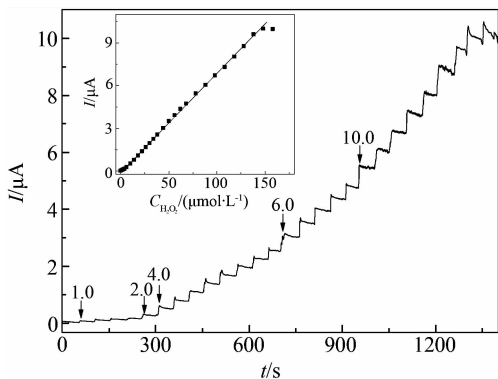


图5 Mb/Au/MWCNTs/GC 电极在  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  PBS (pH 7.0) 连续加入  $\text{H}_2\text{O}_2$  的  $I-t$  曲线 (插图为  $\text{H}_2\text{O}_2$  浓度和电流的标准曲线)

Fig. 5 Amperometric responses of the Mb/Au/MWCNTs/GC electrode at  $-0.35 \text{ V}$  by successive additions of  $\text{H}_2\text{O}_2$  in a stirred  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  PBS solution (pH 7.0) (the inset shows the plot of chronoamperometric current vs.  $\text{H}_2\text{O}_2$  concentration)

## 2.4 Mb/AuNPs/MWCNTs/GC 电极抗干扰性、稳定性和重现性

在  $50.0 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  的 PBS (pH 7.0) 溶液中加入  $\text{CO}_3^{2-}$ 、 $\text{ClO}_3^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{Br}^-$ 、 $\text{I}^-$ 、胆碱、邻苯二酚、尿酸或抗坏血酸 ( $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 后均未观察到明显的干扰。5 次平行测定其相对标准偏差为 3.7%, 3 支电极的  $\text{H}_2\text{O}_2$  电化学响应信号的相对标准偏差为 3.5%。将该电极置于  $4^\circ\text{C}$  下, 4 周后其响应电流仍达 91%。因此, Mb/AuNPs/MWCNTs/GC 电极具有好的重现性与稳定性, 主要是由于该电极为固定化蛋白质的生物活性提供了合适的生物微环境, 且 AuNPs/MWCNTs 复合物对 Mb 良好的亲和力可有效地避免 Mb 从复合膜渗漏。

## 3 结 论

采用简单有效的还原法制备了 AuNPs/MWCNTs 复合材料。该复合材料导电性好, 比表面积大, 为蛋白质分子定向吸附提供了合适的生物微环境, 并促进了 Mb 活性中心与电极表面间的直接电子转移。此外, Mb/AuNPs/MWCNTs/GC 电极对  $\text{H}_2\text{O}_2$  有快速的电催化响应, 且稳定性好, 抗干扰能力强, 其检测线性范围为  $1 \sim 138 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 检测

限为  $0.32 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

## 参考文献 (References):

- [1] Zhang Z, Chouchane S, Magliozzo R S, et al. Direct voltammetry and catalysis with mycobacterium tuberculosis catalase-peroxidase, peroxidases, and catalase in lipid films [J]. Analytical Chemistry, 2001, 74(1): 163-170.
- [2] Wang S G, Zhang Q, Wang R L, et al. Multi-walled carbon nanotubes for the immobilization of enzyme in glucose biosensors [J]. Electrochemistry Communications, 2003, 5(9): 800-803.
- [3] Jha N, Ramaprabhu S. Development of Au nanoparticles dispersed carbon nanotube-based biosensor for the detection of paraoxon [J]. Nanoscale, 2010, 2(5): 806-810.
- [4] Wang J. Carbon-nanotube based electrochemical biosensors: A review [J]. Electroanalysis, 2005, 17(1): 7-14.
- [5] Zhang M G, Gorski W. Electrochemical sensing platform based on the carbon nanotubes/redox mediators biopolymer system [J]. Journal of the American Chemical Society, 2005, 127(7): 2058-2059.
- [6] Jena B K, Raj C R. Electrochemical biosensor based on integrated assembly of dehydrogenase enzymes and gold nanoparticles [J]. Analytical Chemistry, 2006, 78(18): 6332-6339.
- [7] Qiu J D, Peng H P, Liang R P, et al. Facile preparation of magnetic core/shell  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Au}$  nanoparticle/myoglobin biofilm for direct electrochemistry [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2010, 25(6): 1447-1453.
- [8] Laviron E. General expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems [J]. Journal of Electroanalytical Chemistry, 1979, 101(1): 19-28.
- [9] Riskin M, Basnar B, Huang Y, et al. Magnetoswitchable charge transport and bioelectrocatalysis using maghemite-Au core-shell nanoparticle/polyaniline composites [J]. Advanced Materials, 2007, 19(18): 2691-2695.
- [10] Yoon H C, Hong M Y, Kim H S. Functionalization of a poly(amidoamine) dendrimer with ferrocenyls and its application to the construction of a reagentless enzyme electrode [J]. Analytical Chemistry, 2000, 72(18): 4420-4427.
- [11] Laviron E. The use of linear potential sweep voltam-

- metry and of a. c. voltammetry for the study of the surface electrochemical reaction of strongly adsorbed systems and of redox modified electrodes [J]. Journal of Electroanalytical Chemistry, 1979, 100(1/2): 263-270.
- [12] Yamazaki I, Araiso T, Hayashi Y, et al. Analysis of acid-base properties of peroxidase and myoglobin [J]. Advances in Biophysics, 1978, 11: 249-281.
- [13] Zhang H M, Li N Q. The direct electrochemistry of myoglobin at a *DL*-homocysteine self-assembled gold electrode [J]. Bioelectrochemistry, 2001, 53(1): 97-101.
- [14] Moghaddam A B, Ganjali M R, Dinarvand R, et al. Myoglobin immobilization on electrodeposited nanometer-scale nickel oxide particles and direct voltammetry [J]. Biophysical Chemistry, 2008, 134(1/2): 25-33.
- [15] Wu Y H, Shen Q C, Hu S S. Direct electrochemistry and electrocatalysis of heme-proteins in regenerated silk fibroin film [J]. Analytica Chimica Acta, 2006, 558(1/2): 179-186.
- [16] Safavi A, Farjami F. Hydrogen peroxide biosensor based on a myoglobin/hydrophilic room temperature ionic liquid film [J]. Analytical Biochemistry, 2010, 402(1): 20-25.
- [17] Zhang Y, Chen X, Yang W. Direct electrochemistry and electrocatalysis of myoglobin immobilized in zirconium phosphate nanosheets film [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2008, 130(2): 682-688.
- [18] Lu X B, Zhang Q, Zhang L, et al. Direct electron transfer of horseradish peroxidase and its biosensor based on chitosan and room temperature ionic liquid [J]. Electrochemistry Communications, 2006, 8(5): 874-878.
- [19] Zong S Z, Cao Y, Zhou Y M, et al. Reagentless biosensor for hydrogen peroxide based on immobilization of protein in zirconia nanoparticles enhanced grafted collagen matrix [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2007, 22(8): 1776-1782.
- [20] Zhang L, Zhang Q, Li J. Layered titanate nanosheets intercalated with myoglobin for direct electrochemistry [J]. Advanced Functional Materials, 2007, 17(12): 1958-1965.
- [21] Xu H, Xiong H, Zeng Q, et al. Direct electrochemistry and electrocatalysis of heme proteins immobilized in single-wall carbon nanotubes-surfactant films in room temperature ionic liquids [J]. Electrochemistry Communications, 2009, 11(2): 286-289.
- [22] Qiu J D, Cui S G, Deng M Q, et al. Direct electrochemistry of myoglobin immobilized in NiO/MWCNTs hybrid nanocomposite for electrocatalytic detection of hydrogen peroxide [J]. Journal of Applied Electrochemistry, 2010, 40(9): 1651-1657.
- [23] Kamin R A, Wilson G S. Rotating ring-disk enzyme electrode for biocatalysis kinetic studies and characterization of the immobilized enzyme layer [J]. Analytical Chemistry, 1980, 52(8): 1198-1205.
- [24] Zhao G, Feng J J, Xu J J, et al. Direct electrochemistry and electrocatalysis of heme proteins immobilized on self-assembled  $\text{ZrO}_2$  film [J]. Electrochemistry Communications, 2005, 7(7): 724-729.
- [25] Gan X, Liu T, Zhong J, et al. Effect of silver nanoparticles on the electron transfer reactivity and the catalytic activity of myoglobin [J]. ChemBioChem, 2004, 5(12): 1686-1691.

## Electrocatalytic Activities of Mb/AuNPs/MWCNTs/GC Electrode for Hydrogen Peroxide Reduction

HUANG Zheng-jun<sup>1</sup>, PENG Hua-ping<sup>1\*</sup>, ZHA Dai-jun<sup>2</sup>, LIU Ai-lin<sup>1</sup>,  
CHEN Wei<sup>1</sup>, LIN Xin-hua<sup>1</sup>, YOU Yong-ji<sup>1,3\*</sup>

(1. Department of Pharmaceutical Analysis, College of Pharmacy, Fujian Medical University, Fuzhou 350004, China; 2. Institute for Advanced Study, Nanchang University, Nanchang 330031, China; 3. Fujian Provincial Institute for Drug Control, Fuzhou 350001, China)

**Abstract:** A novel matrix, multiwalled carbon nanotubes supported Au nanoparticles composite nanomaterial (AuNPs/MWCNTs) for immobilization of protein and biosensing was designed using a simple and effective one-step *in situ* synthesis route. Using myoglobin (Mb) as a model, the direct electrochemistry of the immobilized proteins on the AuNPs/MWCNTs composite was studied. The results showed that the AuNPs/MWCNTs composite can maintain the bioactivity and facilitate the direct electrochemistry of Mb in the Mb/AuNPs/MWCNTs/GC electrode. Based on the direct electron transfer of the immobilized Mb, the protein electrode exhibited excellent electrocatalytic activity to the reduction of  $\text{H}_2\text{O}_2$  with a linear range from 1 ~ 138  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , low detection limit of 0.32  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $S/N=3$ ) and a low apparent  $K_m^{\text{app}}$  value of 0.143  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ . The simple operation, fast response and well reproducibility of the proposed biosensor indicated its promising applications in protein immobilization and preparation of the third generation biosensors.

**Key words:** myoglobin; AuNPs/MWCNTs composite; direct electrochemistry; biosensor