

EC-Pt/CNTs 葡萄糖氧化酶电极

梁家华, 周春梅, 王红娟*

(华南理工大学化学与化工学院, 广东 广州 510640)

摘要: 采用乙基纤维素 (EC) 和载 Pt 碳纳米管 (CNTs) 导电复合材料固定葡萄糖氧化酶 (GOD) 制备 EC-Pt/CNTs 葡萄糖氧化酶电极. 该电极在 0~4 mmol/L 的浓度范围内检测葡萄糖, 灵敏度为 $0.85 \mu\text{A}/\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 浸泡 18 d 后电极活性仍达 80%, EC-Pt/CNTs 葡萄糖氧化酶电极可望构建葡萄糖传感器.

关键词: 葡萄糖氧化酶; 乙基纤维素; 碳纳米管; 导电复合材料

中图分类号: Q814.2

文献标识码: A

酶生物传感器^[1]是将酶固定在电极表面作为敏感元件. 酶固定化技术^[2]决定了酶生物传感器的灵敏度、稳定性, 固定主要方法有交联法、吸附法和包埋法. 其中以吸附法^[3]最可取, 例如可将葡萄糖氧化酶吸附于碳纳米管, 而后固定在 Nafion 膜上. 但该方法仅利用固定作用较弱的物理吸附, 致使吸附的酶易脱落、电极可逆性差、效率低、电极寿命短.

本文采用纳米 Pt 碳纳米管 (Pt/CNTs) 与乙基纤维素 (EC) 制备导电复合材料, 固定葡萄糖氧化酶, 构成葡萄糖氧化酶电极, 用于葡萄糖的检测. 该导电复合材料具有良好的导电性、机械性能、可控制酶的固定量、酶潜入材料内部, 从而提高电极的稳定性和灵敏度^[4].

1 实验

1.1 电极制备

1) EC-Pt/CNTs 葡萄糖氧化酶电极

将 1 mg 乙基纤维素 (EC)、1 mg Pt/CNTs、0.5 mg GOD 和 2 mg 固体石蜡溶于 2 mL 三氯甲烷, 超声震荡分散 (10 min), 取 10 μL 该分散液滴加于抛光玻碳电极上, 室温干燥, 再用环己烷除去电极上的石蜡, 即得 EC-Pt/CNTs 葡萄糖氧化酶电极.

2) Nafion-Pt/CNTs 葡萄糖氧化酶电极

将 Pt/CNTs 分散在 0.5% Nafion 溶液中形成

分散液 (2 mg/mL), 取 5 μL 分散液滴加在抛光玻碳电极上, 室温干燥. 再滴加 5 μL 葡萄糖氧化酶溶液 (1 mg/mL) 在电极上, 室温干燥, 即得 Nafion-Pt/CNTs 葡萄糖氧化酶电极.

1.2 形貌表征

使用 CSPM-3000 扫描探针显微镜 (本原纳米仪器公司, 配有光学显微镜) 观察电极形貌.

1.3 电化学测试

使用 AUTOLAB PGSTAT 30 电化学测试系统 (荷兰 Eco. Chemie B. V) 作循环伏安和计时安培法测试.

三电极体系: 工作电极 EC-Pt/CNTs 葡萄糖氧化酶电极或 Nafion-Pt/CNTs 葡萄糖氧化酶电极, 参比电极 Ag/AgCl, 对电极 Pt 丝, 支持电解液为 pH = 7 PBS 缓冲溶液, 搅拌速率 100 r/min, 计时安培法测试, 每次实验在磁力搅拌下滴加 0.5 mL (0.08 mmol/L) 葡萄糖溶液.

2 结果与讨论

2.1 电极的形貌

图 1 为两种电极的光学显微镜照片. 可以看出, 在 Nafion-Pt/CNTs (a) 表面, CNTs 的大部分扩散并聚集在基底边缘, 形成突起的圆圈, 这不利于葡萄糖氧化酶的固定, 利用率低; 但用导电复合材

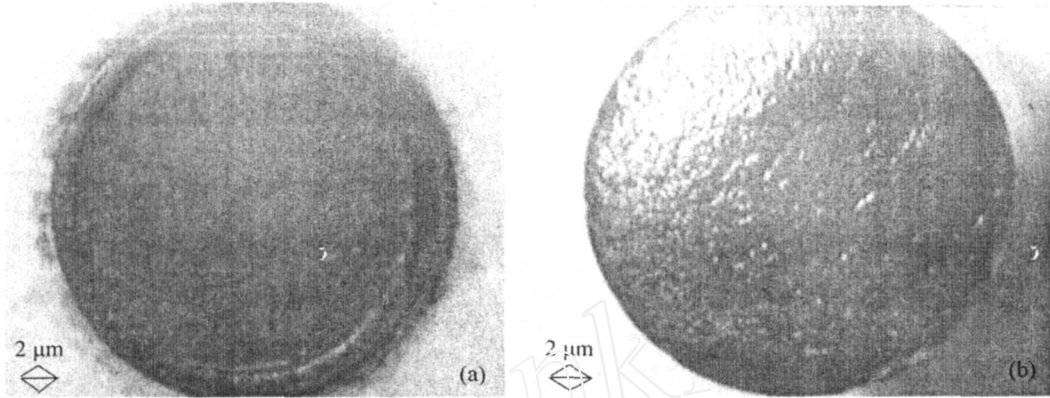


图 1 电极基底表面的光学显微镜照片 a) Nafion-Pt/CNTs固定法, b) EC-Pt/CNTs固定法
 Fig 1 Optical microscope pictures of the electrode base with different immobilization methods
 a) Nafion-Pt/CNTs, b) EC-Pt/CNTs

料基底,酶和复合材料同时固定,由于有石蜡的存在,表面分布均匀,用环己烷洗去石蜡后,碳纳米管可均匀地分布在基底表面,增加材料的导电性,提高了碳纳米管的利用率 (b).

表面有较多的凹凸空隙.可见,当石蜡清除后形成的空隙可使底物分子更易进入膜内,酶与底物(葡萄糖)更易接触发生酶催化反应.此外,这一导电网状结构还能防止酶分子脱落,从而维持电极的活性和稳定性.虽然 Nafion-Pt/CNTs葡萄糖氧化酶电极中也有均匀的凹凸表面,但 CNT大部分聚集在电极边缘,因其中间部分的 CNT较少,且吸附葡萄糖氧化酶的量也较少,易脱落.

图 2和图 3分别示出 EC-Pt/CNTs和 Nafion-Pt/CNTs葡萄糖氧化酶电极的扫描探针显微镜照片.如图, EC-Pt/CNTs葡萄糖氧化酶电极于石蜡洗去前,结构较紧密,表面空穴较少,石蜡清除后,

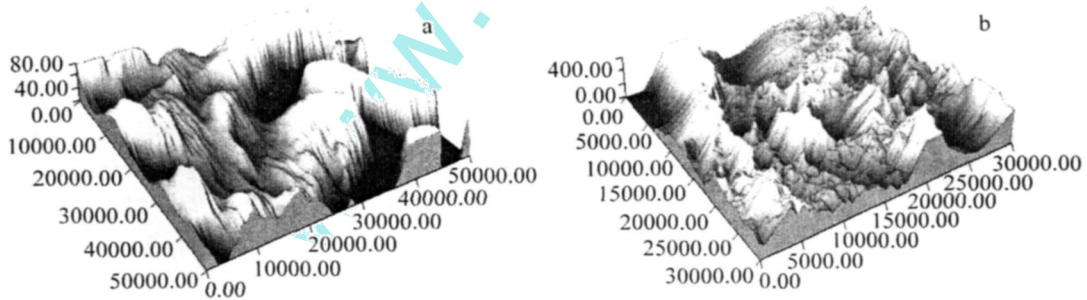


图 2 EC-Pt/CNTs 葡萄糖氧化酶电极清除石蜡前 (a) 和清除石蜡后 (b) 的扫描探针显微镜照片 (单位: $10^{-4} \mu\text{m}$)
 Fig.2 Scanning probe microscope pictures of conducting composite EC-Pt/CNTs electrode with GOD immobilization before (a) and after (b) paraffin washed off

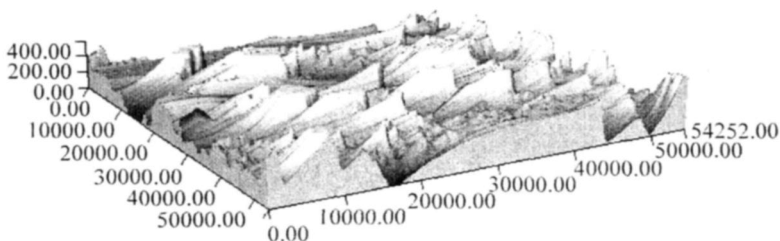


图 3 Nafion-Pt/CNTs 葡萄糖氧化酶电极的扫描探针显微镜照片 (单位: $10^{-4} \mu\text{m}$)
 Fig.3 Scanning probe microscope pictures of Nafion-Pt/CNTs with GOD immobilization

2.2 电极的电化学性能

图 4 示出 EC-Pt/CNTs 和 Nafion-Pt/CNTs 葡萄糖氧化酶电极在 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ K}_3 [\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 溶液中循环伏安曲线. 由图可见, 在 $\text{K}_3 [\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 溶液中, 上述两种电极于 $0.2 \sim 0.4 \text{ V}$ 电位区间均出现一对氧化还原峰. GOD/Nafion-Pt/CNTs 电极的峰电位差 $E_p = 90 \text{ mV}$, 而 GOD/EC-Pt/CNTs 电极的 $E_p = 65 \text{ mV}$, 几乎接近可逆电极的 E_p (59 mV), 可见该电极的可逆性好, 这可能与 Pt/CNTs 均匀分散有关.

2.3 葡萄糖检测

使用 EC-Pt/CNTs 和 Nafion-Pt/CNTs 葡萄糖氧化酶电极检测葡萄糖的计时安培曲线如图 5a 所示. 显然后者的响应电流比前者的高. 图 5b 表示两电极在 $0 \sim 4 \text{ mmol/L}$ 范围内电流 ~ 浓度的线性变化关系. 线性拟合方程分别为: GOD/Nafion-Pt/CNTs 电极 $y = 1.0993x + 0.1405$, 相关系数 R 为 0.9979 , 检测灵敏度 $1.1 \mu\text{A}/\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$; GOD/EC-Pt/CNTs 电极 $y = 0.8507x + 0.0395$, 相关系数 R 为 0.9991 , 灵敏度 $0.85 \mu\text{A}/\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$.

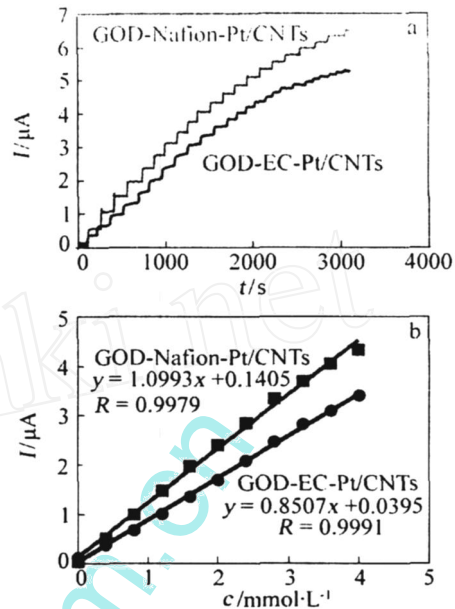


图 5 两种葡萄糖氧化酶电极检测葡萄糖的计时安培曲线 (a) 及其响应电流随浓度变化的线性拟合 (b) 工作电位 0.5 V , 搅拌速率 100 r/min , 测定过程依序改变葡萄糖浓度添加量为 $0.4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$

Fig 5 Chronoamperometric responding curves (a) and linear fit of responding current and concentration (b) with the two glucose oxidation electrodes at working potential of 0.5 V , stirring rate of 100 r/min and glucose concentration increment of $0.4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ during measurement

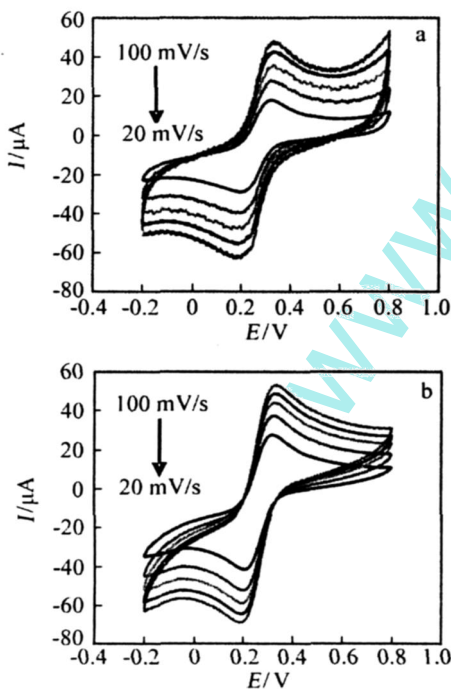


图 4 两种葡萄糖氧化酶电极在铁氰化钾支持电解液中的循环伏安图
a) Nafion-Pt/CNTs 固定法, b) EC-Pt/CNTs 固定法

Fig 4 Cyclic voltammograms of two glucose oxidation electrodes in $\text{K}_3 [\text{Fe}(\text{CN})_6]$ solution at different scan rates a) Nafion-Pt/CNTs, b) EC-Pt/CNTs

2.4 电极的稳定性

图 6 为葡萄糖氧化酶生物电极经 PBS(4) 溶液浸泡后对葡萄糖响应的衰减变化. 图中示出 GOD/Nafion-Pt/CNT 电极经浸泡 10d 左右电极活

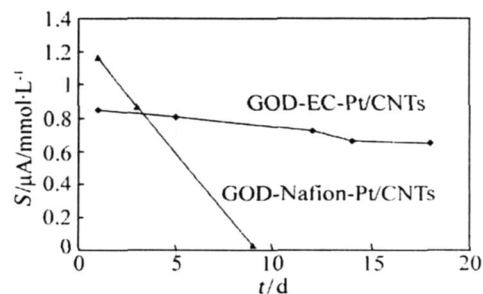


图 6 两种葡萄糖氧化酶的电极检测灵敏度随浸泡时间的变化关系图 电解液: PBS, 4

Fig 6 Relationship between the detecting sensitivity of the glucose oxidation electrodes with different immobilization methods and storage time electrolyte: PBS, 4

性即完全消失,这可能是 Nafion-Pt/CNTs 对 GOD 的弱吸附,在浸泡过程中 GOD 易从电极上脱落;而 EC-Pt/CNTs 电极则因酶可能嵌入该材料,不易流失,经浸泡 18 d 后,活性仍达到 80%。

3 结 论

用 EC-Pt/CNTs 固定 GOD 制备 EC-Pt/CNTs 葡萄糖电极,该电极可逆性好,对葡萄糖检测灵敏度为 $0.85 \mu\text{A}/(\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1})$,电极寿命:浸泡 18 d 电极活性仍达到 80%,并可望以此电极构建葡萄糖氧化酶传感器。

参考文献 (Reference):

[1] Wang Er-kang (汪尔康). The analytical chemistry of 21

century [M]. Beijing: Scientific Publishing Company, 1999. 216-227.

[2] Wu Lin (伍林), Cao Shu-chao (曹淑超), Yi De-lian (易德莲), et al Progress on study of enzyme biosensor [J]. J Transducer Tech, 2005, 24 (7): 4-9.

[3] Liu B H, Hu R Q, Deng J Q. Characterization of immobilization of an enzyme in a modified Y zeolite matrix and its application to an amperometric glucose biosensor [J]. Anal Chem, 1997, 69 (13): 2343-2348.

[4] Zhang Guo-lin (张国林), Pan Xian-hua (潘献华), Kan jin-qing (阚锦晴), et al Studies on conducting composite material-glucose oxidase biosensor [J]. Acta Phys-Chim Sin, 2003, 19 (6): 533-537.

EC-Pt/CNTs Glucose Oxidative Electrode

LIANG Jia-hua, ZHOU Chun-mei, WANG Hong-juan*

(School of Chemistry and Chemical Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: A glucose oxidative electrode (GOD), EC-Pt/CNTs glucose oxidative electrode, was constructed by ethyl cellulose (EC) and Pt/CNTs. The sensitivity of the EC-Pt/CNTs GOD is $0.85 \mu\text{A}/\text{mM}$ in the concentration range of 0 ~ 4 mmol/L of glucose. After dipped in PBS (4) for 18 days, the activity of the EC-Pt/CNTs GOD can reach 80%. It is promising for the EC-Pt/CNTs GOD to be used to construct glucose biosensor.

Key words: glucose enzyme; ethyl cellulose; carbon nanotubes; conducting composite