

基于石墨烯/金纳米粒子/碳化钛复合材料构建双室酶生物燃料电池 自供能葡萄糖生物传感器

李世宣¹, 蒙化¹, 尹学虎¹, 易锦飞¹, 马丽红¹,
张艳丽¹, 王红斌¹, 杨文荣^{1,2}, 庞鹏飞¹

(1. 云南民族大学, 云南省教育厅功能纳米材料化学生物传感科技创新团队, 昆明 650504;

2. 澳大利亚迪肯大学生命与环境科学学院, 吉朗 3217)

摘要 基于酶生物燃料电池(EBFCs)构建的自供电电化学传感装置具有结构简单、易于小型化及无需外部电源等优势, 在生物传感、环境监测和临床诊断等领域具有潜在的应用前景. 本文利用石墨烯/金纳米粒子/碳化钛(rGO/AuNPs/Ti₃C₂)纳米复合材料修饰玻碳电极(rGO/AuNPs/Ti₃C₂/GCE)作为EBFCs阴极, 在其表面进一步固定葡萄糖氧化酶(GOx), 制得EBFCs生物阳极, 进而通过组装EBFCs生物阳极和阴极构建了双室酶生物燃料电池自供能葡萄糖生物传感器(EBFCs-SPGB). 当阳极室存在目标物葡萄糖时, 生物阳极表面固定的GOx发生酶促反应, 催化葡萄糖产生电子并经外电路到达阴极, 导致阴极表面Fe(CN)₆³⁻发生还原反应, 从而产生电化学响应信号. rGO/AuNPs/Ti₃C₂纳米复合材料具有优异的导电性、生物相容性和大的比表面积, 其协同效应可显著提高GOx负载量和有效促进电子在电极表面的传递. 构建的EBFCs-SPGB最大功率输出信号与葡萄糖浓度在0.3~10 mmol/L范围内呈良好的线性关系, 检出限为0.1 mmol/L(S/N=3), 可用于人体血清样本中葡萄糖浓度的检测分析.

关键词 葡萄糖; 纳米复合材料; 酶生物燃料电池; 自供电电化学传感器

中图分类号 O657.1

文献标志码 A

doi: 10.7503/cjcu20240301

A Double-Chamber Enzymatic Biofuel Cells-based Self-powered Glucose Biosensor Based on Graphene/Gold Nanoparticles/Titanium Carbide Nanocomposite

LI Shixuan¹, MENG Hua¹, YIN Xuehu¹, YI Jinfei¹, MA Lihong¹, ZHANG Yanli^{1*},
WANG Hongbin¹, YANG Wenrong^{1,2}, PANG Pengfei^{1*}

(1. Functional Nanomaterial-based Chemical and Biological Sensing Technology

Innovation Team of Department of Education of Yunnan Province,

Yunnan Minzu University, Kunming 650504, China;

2. School of Life and Environmental Sciences, Deakin University, Geelong 3217, Australia)

收稿日期: 2024-06-24. 网络首发日期: 2024-08-21.

联系人简介: 张艳丽, 女, 博士, 教授, 主要从事化学与生物传感方面的研究. E-mail: ylzhang@ymu.edu.cn

庞鹏飞, 男, 博士, 教授, 主要从事电化学生物传感方面的研究. E-mail: pfpang@aliyun.com

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 21565031, 21665027)、云南省科技厅应用基础研究基金(批准号: 202001AT070012)和云南民族大学研究生科研创新基金(批准号: 2024SKY135)资助.

Supported by the National Natural Science Foundation of China(Nos.21665027, 21565031), the Applied Basic Research Project of Yunnan Provincial Science and Technology Department, China(No.202001AT070012) and the Graduate Scientific Research Foundation of Yunnan Minzu University, China(No.2024SKY135).

Abstract Enzymatic biofuel cells (EBFCs)-based self-powered sensing device has the advantages of simple structure, easy miniaturization, and no need for external power supply. It exhibits potential application prospects in clinical diagnosis, environmental monitoring, biosensing, and other fields. Graphene/gold nanoparticles/titanium carbide (rGO/AuNPs/Ti₃C₂) nanocomposite modified glassy carbon electrode (GCE) was used as cathode of EBFCs (rGO/AuNPs/Ti₃C₂/GCE). The bioanode of EBFCs was prepared *via* immobilization of glucose oxidase (GOx) on the surface of rGO/AuNPs/Ti₃C₂/GCE. A double-chamber enzymatic biofuel cells-based self-powered glucose biosensor (EBFCs-SPGB) was constructed by combining as-prepared bioanode and cathode in supporting electrolyte separated with a Nafion membrane. In the presence of target glucose, the GOx fixed on the surface of the bioanode promotes an enzymatic reaction. The electrons generated by catalyzing glucose transferred to the cathode through an external circuit, resulting in a reduction reaction on the cathode surface and generating an electrochemical response signal. Due to the excellent conductivity, biocompatibility, and large specific surface area of rGO/AuNPs/Ti₃C₂ nanocomposite, the synergistic effect of nanocomposite can significantly increase loading amount of GOx and effectively promote electron transfer on the electrode surface. The maximum power output signal of the constructed EBFCs-SPGB shows a good linear relationship with glucose concentration in the range of 0.3–10 mmol/L, with a detection limit of 0.1 mmol/L (S/N=3), which can be applied to analysis of glucose concentration in human serum samples.

Keywords Glucose; Nanocomposite; Enzymatic biofuel cell; Self-powered electrochemical sensor

自供电电化学生物传感器(SPEB)作为一种新兴的电化学检测技术,在生化分析和检测领域受到广泛的关注^[1,2].与传统的由电池或外部电源驱动的三电极电化学传感器不同,自供电电化学生物传感器采用基于燃料电池的两电极系统,该系统可产生与目标物浓度相关的电输出信号.在各种燃料电池中,酶生物燃料电池(EBFCs)是构建自供电电化学生物传感器的一种有效方法,EBFCs利用酶的催化活性将生物能转化为电能^[3,4].酶生物燃料电池基自供电电化学生物传感器(EBFCs-SPEB)通过将生物传感设备与能量供应装置结合,仅需一个生物阳极和一个生物阴极即可构建电化学传感器,具有仪器装置简单、便携和优异的抗干扰性能等特点^[5,6].因此,EBFCs-SPEB已被用于免疫分析^[7,8]、生物分子识别^[9]、药物释放^[10,11]、环境监测^[12-15]、食品安全^[16-19]和神经化学传感分析^[20]等领域.石墨烯纳米材料因其优异的导电性和良好的生物相容性而成为构建EBFCs器件具有竞争力的优选材料,通过形态调控、杂原子掺杂、表面功能化及材料复合,利用电极修饰材料可提高酶-电极界面生物电催化反应效率和实现EBFCs的高性能^[21,22].

糖尿病是一种以血液中葡萄糖浓度升高为特征的代谢性疾病,影响着全球超过4亿患者的健康^[23].高水平的血糖症状可导致患者出现如肾衰竭、心血管疾病、失明及中风等多种症状^[24,25].糖尿病的根本目前仍是世界性的医学难题,因此做好糖尿病前期预防和并发症的监测,控制和监测病人血糖浓度成为了解糖尿病进展的重要手段.过去10年中,用于糖尿病监测的葡萄糖生物传感器在非酶葡萄糖传感器、可穿戴电化学传感器等方面取得了巨大的进步^[26,27],但电化学葡萄糖酶生物传感器在实时跟踪和动态监测葡萄糖方面仍具有相当大的发展和应用潜力^[28-31].结合EBFCs无需外部电源、易于小型化和使用生物能源的特点,构建新型自供电电化学葡萄糖传感器是糖尿病治疗中可穿戴无创葡萄糖传感器一个新的发展方向.

本文以石墨烯/金纳米粒子/碳化钛(rGO/AuNPs/Ti₃C₂)纳米复合材料修饰电极作为EBFCs阴极,在其表面进一步固定葡萄糖氧化酶(GOx),制得EBFCs生物阳极,通过组装EBFCs生物阳极和阴极构建了双室酶生物燃料电池自供电葡萄糖生物传感器(EBFCs-SPGB).当阳极室存在目标物葡萄糖时,生物阳极表面固定的GOx发生酶促作用,催化葡萄糖分子产生电子并经外电路到达阴极,引起阴极表面发生还原反应,从而产生电化学响应信号.由于rGO/AuNPs/Ti₃C₂纳米复合材料具有优异的导电性、生物相容性和大的比表面积,可显著提高GOx负载量和稳定性,其协同效应促进了电子在电极表面的传递,进而提高检测葡萄糖的灵敏度,有望发展成为一种新的可穿戴无创葡萄糖电化学传感器.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

葡萄糖氧化酶(GOx, $\geq 10^5$ units/g), 上海 Sigma-Aldrich 公司; 钛碳化铝(Ti_3AlC_2 , 纯度 80%, 400 目), 江苏先丰纳米材料科技有限公司; 氧化石墨烯(GO), 苏州恒球科技有限公司; 聚二烯二甲基氯化铵(PDDA, $M_w=2 \times 10^5$)、二甲亚砜(DMSO)、Nafion 全氟化树脂(Nafion, 纯度 5%)、尿酸(UA)、多巴胺(DA)和抗坏血酸(AA), 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 氯金酸($\text{HAuCl}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)、硼氢化钠(NaBH_4)和葡萄糖(glucose), 上海国药集团化学试剂有限公司; 氢氟酸(HF, 体积分数 50%), 上海阿达玛斯试剂有限公司; Nafion N117 质子交换膜(直径 3 cm), 美国杜邦公司. 其它所用试剂均为分析纯, 使用前未经进一步纯化, 溶液采用去离子水配制. 葡萄糖溶液使用前于 4 °C 冰箱保存过夜, 使葡萄糖分子结构充分转变为 D-葡萄糖.

Autolab PGSTAT302N 型电化学工作站, 瑞士万通中国有限公司; UV-2600i 型紫外-可见分光光度计(UV-Vis), 日本岛津公司; Sigma 300 型场发射扫描电子显微镜(SEM), 德国 Zeiss 公司; JEM-2100 型透射电子显微镜(TEM), 日本电子株式会社; Thermo Scientific 型射线光电子能谱仪(XPS), 美国默赛飞世尔科技公司; Bruker D8 ADVANCE A25 型 X 射线衍射仪(XRD), 德国 Bruker 公司; TGL-16G 型高速离心机, 上海安亭科学仪器厂; Xinyi-10 型真空冷冻干燥机, 宁波新艺超声设备有限公司.

1.2 实验过程

1.2.1 rGO/AuNPs/ Ti_3C_2 复合材料的制备 采用石墨烯表面原位生长法制备 rGO/AuNPs 复合物^[32]. 称取 30 mg GO 置于 60 mL 水中, 超声分散 2 h, 再加入 400 μL 20% (质量分数) PDDA, 形成均匀悬浮液; 加入 1.5 mL HAuCl_4 溶液(1 mg/mL)并搅拌 20 min; 然后, 再加入 600 mg NaBH_4 , 搅拌混合液 48 h, 得到黑色沉淀. 沉淀经过滤、洗涤, 于 65 °C 真空干燥 12 h, 得到亲水性 rGO/AuNPs 复合物.

利用 HF 刻蚀法制备单层 Ti_3C_2 纳米片^[33,34]. 称取 2 g Ti_3AlC_2 前驱物置于 HF 溶液中, 于 60 °C 搅拌 48 h, 用去离子水和乙醇多次洗涤, 离心分离, 产物在 60 °C 下真空干燥 12 h, 得到多层 Ti_3C_2 . 之后, 进行插层、分层处理, 称取 0.25 g 多层 Ti_3C_2 加入 10 mL DMSO 溶液中, 室温下搅拌 18 h; 产物经 8000 r/min 转速离心 10 min, 用去离子水洗涤; 再将沉淀置于 70 mL 去离子水中, 在流动氮气氛围中超声处理 6 h, 以 3500 r/min 转速离心 1 h, 得到黑色上层清液, 经冷冻干燥, 得到单层或少层 Ti_3C_2 纳米片.

称取一定质量的 rGO/AuNPs 和 Ti_3C_2 纳米片置于去离子水中, 在流动氮气中超声 0.5 h, 得到分散均匀的 rGO/AuNPs/ Ti_3C_2 纳米复合材料, 于 4 °C 避光储存, 备用.

1.2.2 生物阳极和阴极的制备 使用前将玻碳电极(GCE, 直径为 3 mm)依次用粒度为 0.3 和 0.05 μm 的 Al_2O_3 粉在抛光布上打磨抛光, 再依次用水、乙醇、水超声清洗, 氮气吹干, 备用.

移取 10 μL 1 mg/mL rGO/AuNPs/ Ti_3C_2 悬浮液滴涂于 GCE 表面, 室温下晾干, 得到 rGO/AuNPs/ Ti_3C_2 /GCE 修饰电极. 再移取 10 μL 10 mg/mL GOx 溶液(0.01 mol/L PBS 缓冲液, pH=7.4)滴涂于修饰电极表面, 于 4 °C 孵育 12 h, 得到 GOx/rGO/AuNPs/ Ti_3C_2 /GCE. 最后, 在电极表面涂覆 4 μL 0.5% Nafion 溶液(水/乙醇体积比为 1:1), 于 4 °C 干燥得到生物阳极 Nafion/GOx/rGO/AuNPs/ Ti_3C_2 /GCE, 使用前用 0.1 mol/L PBS 缓冲液(pH=7.4)淋洗.

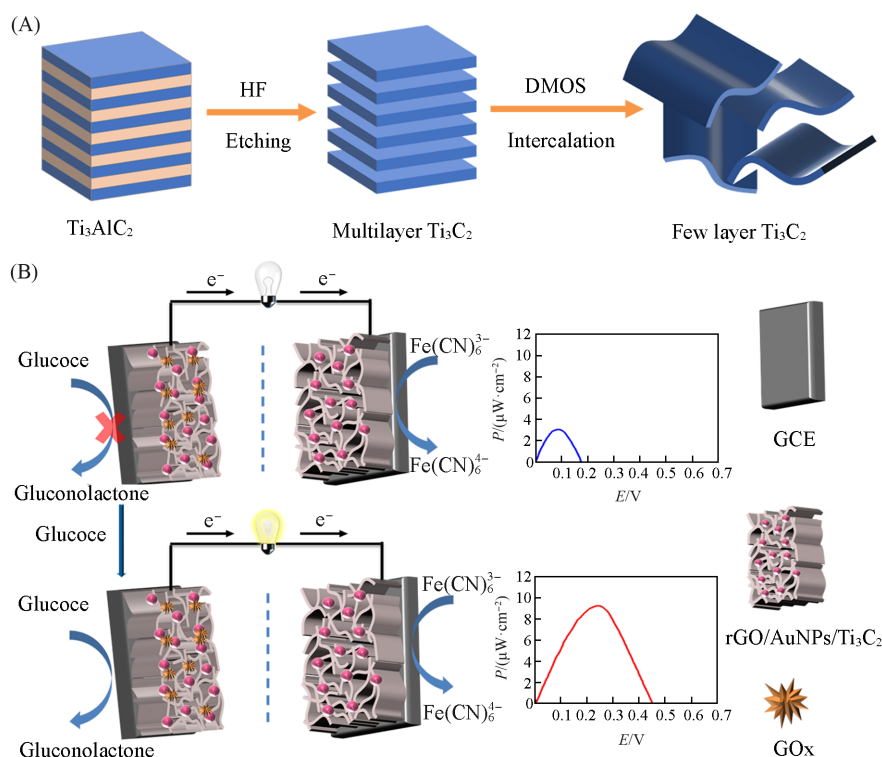
阴极 Nafion/rGO/AuNPs/ Ti_3C_2 /GCE 的制备过程同上, 仅不修饰固定 GOx.

1.2.3 SPGB 的制备 以 Nafion N117 膜为隔膜, 室温下将生物阳极(Nafion/GOx/rGO/AuNPs/ Ti_3C_2 /GCE)和阴极(Nafion/rGO/AuNPs/ Ti_3C_2 /GCE)组装成双室自供能电化学传感器. 首先预处理 Nafion N117 膜, 将其依次用 H_2O_2 (5%)、去离子水、 H_2SO_4 (1 mol/L)、去离子水(80 °C)处理 2 h, 储存于去离子水中. 阳极室为 0.1 mol/L PBS 缓冲液(pH=7.0, 含有不同浓度的葡萄糖), 阴极室为 15 mmol/L $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 溶液. 葡萄糖溶液在使用前置于 4 °C 冰箱中变旋过夜, 使其 α 和 β 异构体达到稳定平衡状态, 于 4 °C 保存, 备用. 通过电化学工作站测量 SPGB 的极化曲线, 计算其输出功率.

2 结果与讨论

2.1 SPGB的设计原理

基于rGO/AuNPs/Ti₃C₂复合材料和酶生物燃料电池(EBFCs)构建自供能葡萄糖生物传感器(SPGB)的原理如Scheme 1所示. Ti₃AlC₂前驱物经过HF刻蚀,得到二维手风琴状结构的多层Ti₃C₂,再经插层、分层处理,得到二维单层或少层结构的Ti₃C₂纳米片[Scheme 1(A)].将rGO/AuNPs/Ti₃C₂复合物悬浮液滴涂于GCE表面,再依次修饰GOx和Nafion,得到Nafion/GOx/rGO/AuNPs/Ti₃C₂/GCE生物阳极.与生物阳极制备过程相比,阴极Nafion/rGO/AuNPs/Ti₃C₂/GCE未修饰GOx.将生物阳极和阴极在室温下组装构建了双室SPGB,中间以Nafion N117膜为隔膜.由于rGO/AuNPs/Ti₃C₂复合物优异的导电性和生物相容性,可显著提高GOx的负载量,并保持酶的活性,呈现出良好的电催化性能和协同效应,有效促进了电子在电极表面的传递.当阳极室存在葡萄糖时,生物阳极表面发生酶促反应:GOx(FAD)+Glucose→GOx(FADH₂)+Gluconolactone+2H⁺+2e⁻.GOx特异性催化葡萄糖分子产生电子并经过外电路到达阴极,使Fe(CN)₆³⁻发生还原反应:Fe(CN)₆³⁻+e⁻→Fe(CN)₆⁴⁻,从而产生电信号.当存在不同浓度葡萄糖时,SPGB会产生不同大小的功率密度信号,从而实现葡萄糖的定量检测[Scheme 1(B)].



Scheme 1 Schematic illustration of fabrication process of Ti₃C₂(A) and principle of EBFCs-SPGB for glucose detection(B)

2.2 电极修饰材料的表征

利用扫描电子显微镜(SEM)和透射电子显微镜(TEM)对材料的形貌和尺寸进行了表征.由Ti₃AlC₂前驱物和多层Ti₃C₂的SEM照片(见本文支持信息图S1)可见,Ti₃AlC₂呈质地紧密块状结构,不利于电子传递、复合材料制备和生物酶的负载.经HF刻蚀后,得到了二维手风琴状结构的多层Ti₃C₂[见本文支持信息图S1(B)].图1(A)和(B)为多层Ti₃C₂经插层、分层后Ti₃C₂的SEM和TEM照片,可观察到Ti₃C₂明显的单层或少层结构,具有较大的比表面积.图1(C)和(D)为rGO/AuNPs的SEM和TEM照片,可见,rGO具有典型的褶皱结构,AuNPs分散于rGO表面,平均粒径为15 nm.图1(E)和(F)为rGO/AuNPs/Ti₃C₂的SEM和TEM照片,通过对比rGO/AuNPs和rGO/AuNPs/Ti₃C₂的SEM照片[图1(C)和(E)]和TEM照片[图1(D)和(F)],后者中可观察到Ti₃C₂片层结构,表明Ti₃C₂与rGO/AuNPs成功复合.

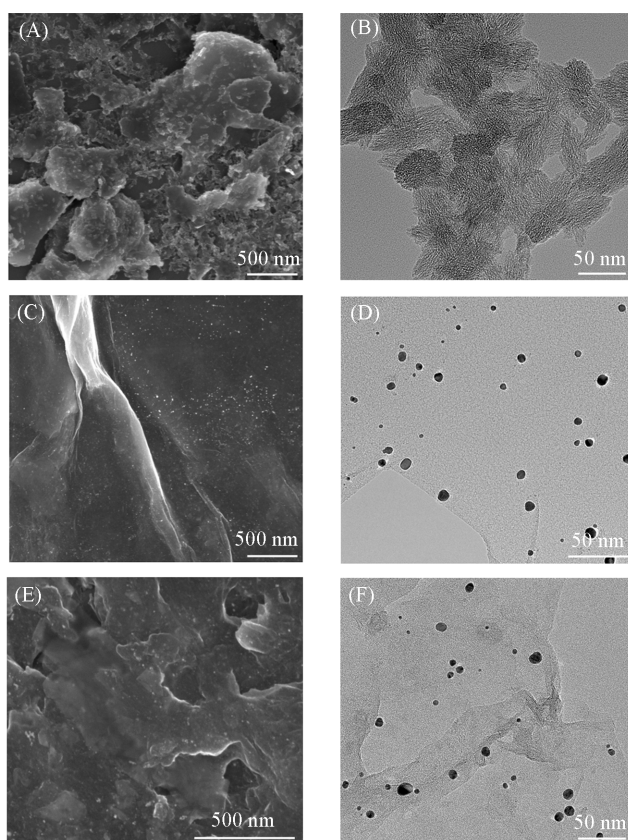


Fig. 1 SEM and TEM images of Ti_3C_2 (A, B), rGO/AuNPs (C, D) and $\text{rGO}/\text{AuNPs}/\text{Ti}_3\text{C}_2$ (E, F)

$\text{rGO}/\text{AuNPs}/\text{Ti}_3\text{C}_2$ 中不同元素的EDS能谱图(见本文支持信息图S2)表明,复合材料中存在C, Ti, Au, O和F 5种元素,且各元素分布均匀.以上结果表明, $\text{rGO}/\text{AuNPs}/\text{Ti}_3\text{C}_2$ 复合纳米材料已成功制备.

此外,采用XPS和XRD对 $\text{rGO}/\text{AuNPs}/\text{Ti}_3\text{C}_2$ 复合材料的组成和结构进行了表征.图2(A)为复合材料的XPS谱图,可见,该复合纳米材料中含有C, Ti, Au, O和F元素.由高分辨XPS谱图[见本文支持信息图S3(A)~(E)]可见, C_{1s} 分裂为四重峰,分别对应C—Ti(283.7 eV), C=C(284.3 eV), C—O(286.0 eV)和O—C=O(286.7 eV)基团. Ti_{2p} 分裂为三重峰,分别对应 Ti^{2+} (458.4 eV), Ti—O(458.9 eV)和Ti—C(464.2 eV)基团. Au_{4f} 分裂为 $\text{Au}_{4f_{7/2}}$ (83.1 eV)和 $\text{Au}_{4f_{5/2}}$ (86.7 eV)自旋耦合双峰,归因于AuNPs中 Au^0 原子. O_{1s} 分裂为Ti—O(531.2 eV)和C—O(532.8 eV)基团双峰. F_{1s} 单峰来源于HF刻蚀残留.由不同材料在水中分散性照片[见本文支持信息图S3(F)]可见,相比于 Ti_3C_2 (图片a)和 rGO/AuNPs (图片b), $\text{rGO}/\text{AuNPs}/\text{Ti}_3\text{C}_2$ (图片c)由于 π - π 共轭作用和氢键作用,可有效抑制 Ti_3C_2 堆叠,表现出更优异的分散性和稳定性.图2(B)为不同材料的XRD谱图,可见, Ti_3AlC_2 (谱线a)转变为 Ti_3C_2 (谱线b)后,

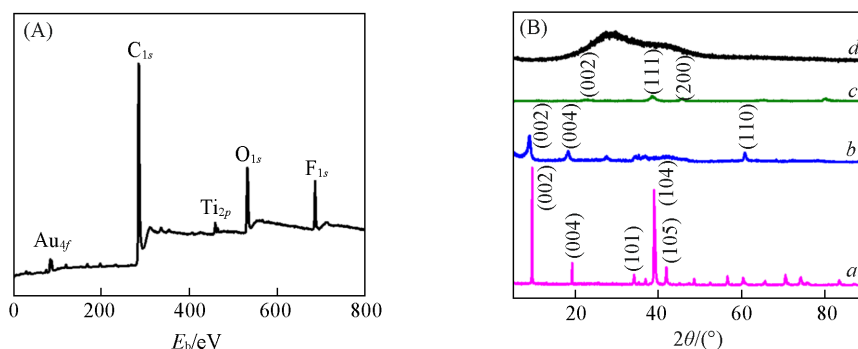


Fig. 2 XPS spectrum(A) and XRD patterns(B) of $\text{rGO}/\text{AuNPs}/\text{Ti}_3\text{C}_2$
a. Ti_3AlC_2 ; b. Ti_3C_2 ; c. rGO/AuNPs ; d. $\text{rGO}/\text{AuNPs}/\text{Ti}_3\text{C}_2$.

原(104)衍射峰消失, (002)峰从 9.6° 移至 7.8° . rGO/AuNPs(谱线c)在 24.8° , 38.2° 和 44.1° 出现石墨烯(002)和AuNPs(111), (200)特征衍射峰. rGO/AuNPs/Ti₃C₂(谱线d)包含了rGO/AuNP和Ti₃C₂衍射峰. 以上实验结果进一步表明, rGO/AuNPs/Ti₃C₂复合材料已成功制备.

2.3 修饰电极的电化学表征

采用循环伏安法(CV)和电化学阻抗谱(EIS)对电极的修饰过程进行了电化学表征, 如图3所示, 通过CV峰电流和EIS中电荷转移阻抗(R_{ct})研究了电极的制备和修饰过程. 由图3(A)可见, 与裸GCE(曲线a)相比, 电极表面分别修饰rGO/AuNPs和Ti₃C₂后, CV峰电流均增大(曲线b和c), 表明rGO/AuNPs和Ti₃C₂均具有良好的导电能力, 有利于电极表面电荷转移. GCE表面修饰rGO/AuNPs/Ti₃C₂复合材料后, CV峰电流进一步增大(曲线d), 可归因于不同材料的协同效应, 提供了更大的比表面积和优异的导电性. 当修饰了GOx和Nafion膜后, CV峰电流依次减小(曲线e和f), 这是由于酶蛋白生物分子和膜导电性较差导致. 由图3(B)可见, EIS谱中不同修饰电极的电荷转移阻抗(R_{ct})的变化规律与CV峰电流相反, 修饰复合材料后, R_{ct} 减小(曲线a~c), 修饰GOx和Nafion膜后, R_{ct} 增大(曲线e和f). 以上实验结果表明, Nafion/GOx/rGO/AuNPs/Ti₃C₂/GCE修饰电极已成功制备.

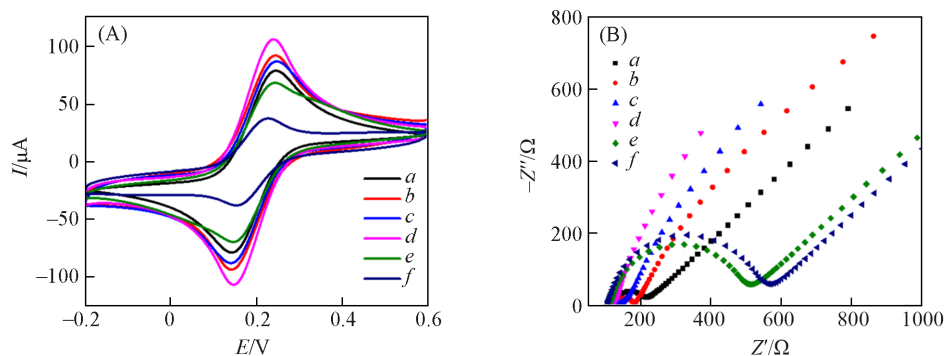


Fig. 3 CV curves(A) and EIS spectra(B) of different modified electrodes

a. GCE; b. rGO/AuNPs/GCE; c. Ti₃C₂/GCE; d. rGO/AuNPs/Ti₃C₂/GCE; e. GOx/rGO/AuNPs/Ti₃C₂/GCE; f. Nafion/GOx/rGO/AuNPs/Ti₃C₂/GCE.

为了验证所构建SPGB的可行性, 测试了其最大功率输出信号(P_{max}), 结果如图4所示. 当不存在葡萄糖时, SPGB电极未发生氧化还原反应, 仅观察到微弱的背景功率输出信号(曲线a); 当存在5 mmol/L葡萄糖时, 阳极发生GOx酶促反应, 产生的电子经外电路传递至阴极, 阴极发生还原反应, P_{max} 信号显著增强(曲线b). 实验结果表明, 构建的SPGB检测原理是可行的.

2.4 实验条件的优化

为了获得最优的检测性能, 对SPGB电极的制备条件和测试条件(rGO/AuNPs与Ti₃C₂物料比、GOx浓度、缓冲液pH和K₃[Fe(CN)₆]浓度)进行了优化(见本文支持信息图S4). 首先, 探究了复合材料中rGO/AuNPs与Ti₃C₂物料比对SPGB最大功率输出(P_{max})的影响, 当rGO/AuNPs与Ti₃C₂物料比为3:1时, 获得最大的 P_{max} 响应值[图S4(A)]. GOx浓度对SPGB检测性能的影响[图S4(B)], 当GOx浓度为10 mg/mL时, P_{max} 响应值达最大. 缓冲液pH值对 P_{max} 响应的影响见图S4(C), 当缓冲液pH=7.0时, P_{max} 响应值达最大. 此外, 对SPGB阴极室K₃[Fe(CN)₆]的浓度进行了优化[图S4(D)], 随电极沉积时间增加, K₃[Fe(CN)₆]浓度为15 mmol/L时, P_{max} 响应值最大. 因此, 实验中选择rGO/AuNPs与Ti₃C₂物料比为3:1, GOx浓度10 mg/mL, pH=7.0 PBS缓冲液以及K₃[Fe(CN)₆]浓度为15 mmol/L作为SPGB电极制备和分析测试的最优实验条件.

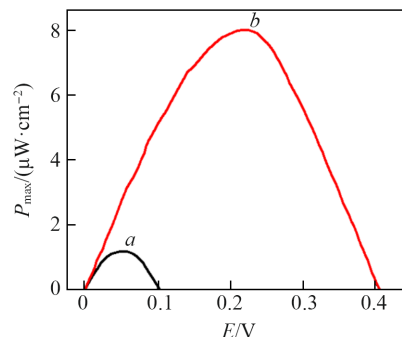


Fig. 4 Maximum power output curve of EBFCs-SPGB in absence(a) and presence(b) of 5 mmol/L glucose

2.5 SPGB的分析性能

在优化的实验条件下,测定了EBFCs-SPGB对不同浓度葡萄糖的最大功率输出信号.如图5(A)所示,随着葡萄糖浓度的增加, P_{\max} 响应信号增大. P_{\max} 信号与葡萄糖浓度在0.3~10 mmol/L范围内呈现良好的线性关系[图5(B)],线性方程为 $P_{\max}=0.85c+3.80$,检出限为0.1 mmol/L($S/N=3$),相关系数 $R^2=0.9871$.表S1(见本文支持信息)对比了SPGB与已报道传感器检测葡萄糖的效果,可见,该SPGB具有线性范围宽和检出限低的优点.本研究为葡萄糖的分析检测提供了一种新的传感分析方法.

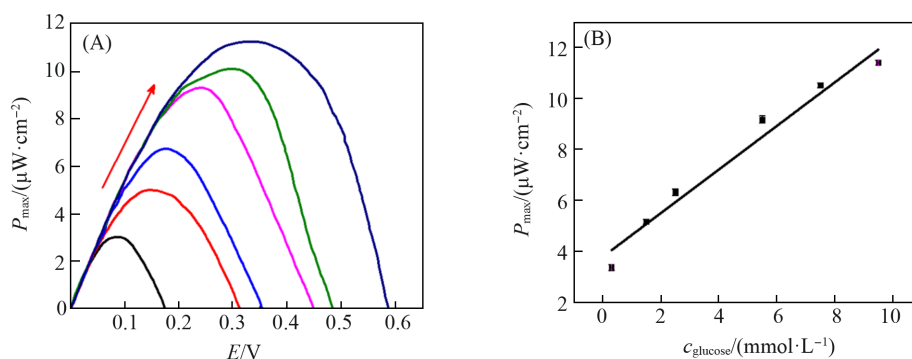


Fig. 5 Maximum power output curves of SPGB to different concentrations of glucose(A) and calibration curve between maximum power output and glucose concentration(B)

2.6 SPGB的选择性、重现性和稳定性

为了考察EBFCs-SPGB的选择性和抗干扰能力,选择与葡萄糖结构类似的尿酸(UA)、多巴胺(DA)、抗坏血酸(AA)及其混合物作为干扰物进行实验.由图6(A)可见,SPGB仅对葡萄糖(1 mmol/L)呈现出明显 P_{\max} 响应,对于5倍过量的干扰物(5 mmol/L), P_{\max} 响应信号与背景值相当.对于葡萄糖和所有干扰物的混合物,其 P_{\max} 响应值与葡萄糖单独存在时相当.测试了同一批次独立制备的6个SPGB对相同浓度葡萄糖(1 mmol/L)的 P_{\max} 响应信号,结果表明其相对标准偏差 $RSD<4.3\%$ [图6(B)].此外,测试了SPGB对葡萄糖 P_{\max} 响应信号随储存时间的变化(4 °C储存),以考察传感器的稳定性.结果表明,SPGB储存21 d后, P_{\max} 响应值仍保持在初始值的94.1%(见本文支持信息图S5).以上结果表明,所制备的EBFCs-SPGB具有良好的选择性、重现性和稳定性,有望用于实际样品的分析检测.

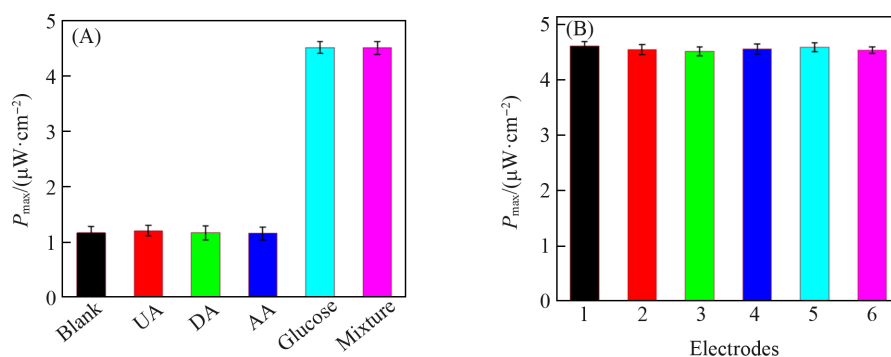


Fig. 6 Selectivity(A) and reproducibility(B) of proposed EBFCs-SPGB

2.7 实际样品的测定

为了验证EBFCs-SPGB的可靠性和准确性,从云南民族大学附属医院采集健康成人血清样本3份,以3000 r/min转速离心分离10 min,移取上清液,用PBS缓冲液($pH=7.0$)稀释50倍后,采用加标回收法测定实际样品中葡萄糖的浓度和回收率,实验结果列于表1.血清样品中SPGB测定结果与葡萄糖氧化酶法测定结果基本一致,相对标准偏差 $RSD=1.9\%~4.6\%$,回收率为96.0%~104.0%,表明构建的EBFCs-SPGB可用于人血清中葡萄糖浓度的分析,且具有良好的准确性.

Table 1 Determination results of glucose in human serum samples($n=3$)

Sample No.	Hospital ^a /(mmol·L ⁻¹)	Added/(mmol·L ⁻¹)	Found/(mmol·L ⁻¹)	RSD(%)	Recovery(%)
1	4.90	0	4.86	4.5	—
		0.5	5.41	3.6	102.0
		1.0	5.87	4.6	97.0
		1.5	6.35	3.4	96.6
2	5.19	0	5.20	1.9	—
		0.5	5.70	4.3	102.0
		1.0	6.19	3.6	98.3
		1.5	6.74	3.7	104.0
3	5.25	0	5.24	4.2	—
		0.5	5.77	2.3	104.0
		1.0	6.21	3.0	96.0
		1.5	6.78	3.3	103.0

^aGlucose oxidase assay results(Automated Biochemical Analyzer BS-400, Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.).

3 结 论

采用石墨烯/金纳米粒子/碳化钛纳米复合材料修饰玻碳电极作为EBFCs阴极,进一步固定GOx制得EBFCs生物阳极,组装EBFCs生物阳极和阴极构建了双室酶生物燃料电池自供能葡萄糖生物传感器.生物阳极表面固定的GOx可催化葡萄糖产生电子,经外电路到达阴极,导致阴极表面发生还原反应,从而产生放大功率输出信号.石墨烯/金纳米粒子/碳化钛复合材料具有优异的导电性、生物相容性和大的比表面积,可显著提高电极表面的GOx负载量和稳定性,其协同效应有效促进了电极表面电子的传递,实现了对血清样品中葡萄糖的准确测定.酶生物燃料电池具有无需外部电源、易于小型化和使用生物能源的特点,构建的新型自供能葡萄糖电化学传感器为糖尿病管理中可穿戴无创葡萄糖传感器提供了一个新的发展方向.

支持信息见 <http://www.cjcu.jlu.edu.cn/CN/10.7503/cjcu20240301>.

参 考 文 献

- [1] Zhao C. E., Gai P. P., Song R. B., Chen Y., Zhang J. R., Zhu J. J., *Chem. Soc. Rev.*, **2017**, *46*, 1545—1564
- [2] Gu C. C., Gai P. P., Li F., *Nano Energy*, **2022**, *93*, 106806
- [3] Katz E., Bückmann A. F., Willner I., *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 10752—10753
- [4] Zhang J. L., Wang Y. H., Huang K., Huang K. J., Jiang H., Wang X. M., *Nano Energy*, **2021**, *84*, 105853
- [5] Chen Y. X., Ji W. H., Yan K., Gao J., Zhang J. D., *Nano Energy*, **2019**, *61*, 173—193
- [6] Fu L. Y., Liu J. J., Hu Z. Q., Zhou M., *Electroanalysis*, **2018**, *30*, 2535—2550
- [7] Chen Y. X., Gao J., Yan K., Yao X. L., Liu Y., Zhang J. D., *Sens. Actuators B: Chem.*, **2020**, *316*, 128130
- [8] Gu C. C., Gai P. P., Hou T., Li H. Y., Xue C. H., Li F., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2017**, *9*, 35721—35728
- [9] Hao S., Sun X. X., Zhang H., Zhai J. F., Dong S. J., *J. Mater. Chem. B*, **2020**, *8*, 3393—3407
- [10] Xiao X. X., McGourty K. D., Magner E., *J. Am. Chem. Soc.*, **2020**, *142*, 11602—11609
- [11] Gai P. P., Kong X. K., Zhao S. F., Li F., *Chinese J. Anal. Chem.*, **2020**, *48*(9), 1141—1148(盖盼盼, 孔新珂, 赵仕凡, 李峰. 分析化学, **2020**, *48*(9), 1141—1148)
- [12] Du B. Y., Lu H. X., Zhang Z. W., Wang Y., Hu X. L., Chen Q. C., Song M. L., Liu M. C., *Biosens. Bioelectron.*, **2022**, *216*, 114661
- [13] Wei J., Hu Q. Q., Gao Y., Hao N., Qian J., Wang K., *Anal. Chem.*, **2021**, *93*, 6214—6222
- [14] Du X. J., Jiang D., Liu Q., Hao N., Wang K., *Anal. Chem.*, **2019**, *91*, 1728—1732
- [15] Wu Y. J., Luo D., Yi J. F., Li R., Yang D., Pang P. F., Wang H. B., Yang W. R., Zhang Y. L., *Analyst*, **2024**, *149*, 2621—2628
- [16] Zhang X. L., Wu D., Zhou X. X., Yu Y. X., Liu J. C., Hu N., Wang H. L., Li G. L., Wu Y. N., *TrAC Trends Anal. Chem.*, **2019**, *121*, 115668
- [17] Wang F. T., Wang Y. H., Xu J., Huang K. J., *J. Mater. Chem. B*, **2020**, *8*, 1389—1395
- [18] Yu W., Kong X. K., Gu C. C., Gai P. P., Li F., *Sens. Actuators B: Chem.*, **2020**, *307*, 127618
- [19] Gai P. P., Gu C. C., Hou T., Li F., *Anal. Chem.*, **2017**, *89*, 2163—2169



- [20] Wang F. T., Huang K. J., Hou Y. Y., Tan X. C., Wu X., Yu X. M., Zhou X., *Nanoscale*, **2022**, *14*, 815—822
- [21] Karimi A., Othman A., Uzunoglu A., Stanciu L., Andreescu S., *Nanoscale*, **2015**, *7*, 6909—6923
- [22] Ye J. Q., Lu J. H., Wen D., *Mater. Chem. Front.*, **2023**, *7*, 5806—5825
- [23] Teymourian H., Barfidokht A., Wang J., *Chem. Soc. Rev.*, **2020**, *49*, 7671—7709
- [24] Hardie D. G., *Science*, **2017**, *357*(6350), 455—456
- [25] Wild S., Roglic G., Green A., Sicree R., King H., *Diabetes Care*, **2017**, *27*(5), 1047—1053
- [26] Hwang D. W., Lee S., Seo M., Chung T. D., *Anal. Chim. Acta*, **2018**, *1033*, 1—34
- [27] Saha T., Caño R. D., Mahato K., Paz E. D., Chen C. R., Ding S. C., Yin L., Wang J., *Chem. Rev.*, **2023**, *123*, 7854—7889
- [28] Wang H., Suo J. Q., Wang C. Y., Wang R. W., *Chem. J. Chinese Universities*, **2020**, *41*(8), 1731—1738(王欢, 所金泉, 王春艳, 王润伟. 高等学校化学学报, **2020**, *41*(8), 1731—1738)
- [29] Yin X. H., Yang X. J., Luo D., Zhang Y. L., Wang H. B., Yang W. R., Pang P. F., *J. Instrum. Anal.*, **2023**, *42*(3), 315—322(尹学虎, 杨新杰, 罗丹, 张艳丽, 王红斌, 杨文荣, 庞鹏飞. 分析测试学报, **2023**, *42*(3), 315—322)
- [30] Gogotsi Y., Anasori B., *ACS Nano*, **2019**, *13*, 8491—8494
- [31] Kalambate P. K., Gadhari N. S., Li X., Rao Z. X., Navale S. T., Shen Y., Patil V. R., Huang Y. H., *Trends Anal. Chem.*, **2019**, *120*, 115643
- [32] Wang Y., Zhang S., Du D., Shao Y. Y., Li Z. H., Wang J., Engelhard M. H., Li J. H., Lin Y. H., *J. Mater. Chem.*, **2011**, *21*, 5319—5325
- [33] Xue Q., Zhang H. J., Zhu M. S., Pei Z. X., Li H. F., Wang Z. F., Huang Y., Huang Y., Deng Q. H., Zhou J., Huang Q., Zhi C. Y., *Adv. Mater.*, **2017**, *29*(15), 1604847
- [34] Xu Q., Ding L., Wen Y. Y., Yang W. J., Zhou H. J., Chen X. Z., Street J., Zhou A. G., Ong W. J., Li N. J., *Mater. Chem. C*, **2018**, *6*(24), 6360—6369

(Ed.: N, V, K)