

• 研究论文 •

新型石墨烯/金/功能导电高分子/过氧化氢生物传感器的制备及应用

夏前芳 黄颖娟 杨雪 李在均*

(江南大学化学与材料工程学院 无锡 214122)

摘要 石墨烯材料和酶的固定对石墨烯基生物传感器性能及应用至关重要。金电极依次放入氧化石墨(0.05 mg/mL)和氯金酸(0.05 mmol/L)溶液中进行控制电位电解, 循环以上操作 20 次后, 转移至 2,5-二(2-噻吩)-1-对苯甲酸吡咯单体溶液采用循环伏安法进行电聚合形成含有羧基的导电高分子膜, 然后以 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)/N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)为活化剂将辣根过氧化物酶共价键合在修饰电极表面制备过氧化氢生物传感器。研究表明, 交替电沉积得到的石墨烯/金纳米复合材料分散性好, 所制备的生物传感器对过氧化氢的氧化还原过程有显著的催化作用。过氧化氢浓度在 2~200 nmol/L 之间传感器的电流响应与浓度呈线性关系, 相关系数(R^2)为 0.9996, 方法的检测限是 0.67 nmol/L ($S/N=3$), 灵敏度明显优于现有文献报道。此外, 共价键合方式固定酶使传感器的稳定性和方法的重现性大大提高。5 nmol/L 的过氧化氢溶液测定 20 次, 相对标准偏差为 1.2%。在 4 °C 下储藏 3 个月传感器电化学响应变化值少于 3%。该方法已成功应用于牛奶样品中痕量过氧化氢的测定。

关键词 石墨烯; 纳米金; 功能导电高分子; 生物传感器; 过氧化氢

Preparation and Its Application of Novel Graphene/Gold/Functional Conducting Polymer/Hydrogen Peroxide Biosensor

Xia, Qianfang Huang, Yingjuan Yang, Xue Li, Zaijun*

(School of Chemical and Materials Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122)

Abstract Immobilizations of the graphene-based materials and enzyme are very important to electrochemical properties and use of the biosensor. In this work, a 0.05 mg/mL of graphite oxide and 0.05 mmol/L of chlorauric acid were in sequence electrodeposited on the surface of gold electrode with potentiostatic electrolysis. After above procedure was repeated for 20 cycles, 2,5-di-(2-thienyl)-1-pyrrole-1-(*p*-benzoic acid) was electropolymerized on the modified electrode by cyclic voltammetry and finally formed functional conducting polymer film containing carbonyl groups on surface of the graphene/gold nanocomposite. To prepare hydrogen peroxide biosensor, the horseradish peroxidase was subsequently connected covalently to the film with 1-ethyl-3-(3-dimethyl-aminopropyl)carbodiimide (EDC)/N-hydroxysuccinimide (NHS) as activator. Research results indicated that the graphene/gold nanocomposite obtained using alternating electrodeposition has excellent dispersivity. The biosensor based on the material offers remarkable catalysis performance to the redox of hydrogen peroxide on the electrode surface. Current response of the sensor increases linearly with the increasing concentration of hydrogen peroxide over the range from 2 nmol/L to 200 nmol/L, with a correlation coefficient (R^2) of 0.9996. The detection limit was found to be 0.67 nmol/L (S/N

* E-mail: zaijunli@263.net

Received November 1, 2011; accepted April 12, 2012.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21176101), the National Science and Technology Support Plan (No. 2011BAK10B03), Qing Lan Project, the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (No. Y4100729) and Zanyu Science Foundation of Zhejiang ZanYu Technology Limited Company.

国家自然科学基金(No. 21176101)、国家科技支撑计划(No. 2011BAK10B03)、浙江省自然科学基金(No. Y4100729)、江苏省“青蓝工程”和浙江赞宇基金资助项目。

=3). The sensitivity is more than other sensor reported in the literatures. In addition, covalent immobilization of the enzyme results in increasing the stability and reproducibility of the sensor. The relative standard deviation is 1.2% for determination of 5 nmol/L hydrogen peroxide for 20 times. After the sensor was stored at 4 °C for three months, its change value of the response is lower than 3%. The proposed method has been successfully applied to detect trace hydrogen peroxide in milk sample.

Keywords graphene; gold nanoparticles; functional conducting polymer; biosensor; hydrogen peroxide

石墨烯是单层碳原子紧密堆积形成的六方蜂巢状晶格结构的晶体^[1], 它独特的二维结构使其具有优异的电学、热学、力学及化学性质^[2,3], 但石墨烯片层间存在较大的范德华力, 易发生堆积和聚集, 从而限制了它在许多方面的应用. 为了解决以上问题, 人们采用在石墨烯片层间掺入金等纳米粒子, 不仅有效地避免石墨烯片层因聚集而重新回到石墨晶体, 而且大大改善了石墨烯材料的电子导电性^[4,5]. 最近, 石墨烯/金复合材料在生物传感器中的应用受到广泛关注^[6-8].

目前, 石墨烯材料和酶的固定多采用物理吸附法. 通常是先采用 Hummer 法合成氧化石墨, 再将氧化石墨超声分散在水中制成氧化石墨烯分散液, 然后与金属前驱体混合, 加入硼氢化钠等强还原剂使氧化石墨烯和金属前驱体原位还原制备出石墨烯/金属复合材料, 复合材料在稳定剂作用下重新分散于水以后滴涂于电极表面^[9,10]. 滴涂法耗时较多, 需要使用有毒化学试剂, 所得产品分散性差, 且涂层粗糙, 厚度难以精确控制, 导致材料的电催化性能下降. 最近, 研究人员提出了一种新的电化学方法. 将电极置入氧化石墨烯和氯金酸的混合溶液, 采用循环伏安扫描一次完成复合材料的制备和固定^[10]. 方法具有简单、快速和绿色等特点, 但由于氧化石墨与贵金属前驱体之间易发生氧化还原反应^[11], 混合溶液易变质, 从而使电极表面修饰层粗糙. 壳聚糖是一种生物质材料, 它优异的成膜能力常被用于物理吸附法中酶在电极表面的固定^[12]. 但这种物理吸附法所固定的酶易脱落, 生物传感器的稳定性和重现性难以满足实际工作对检测准确性的要求. 另外, 壳聚糖等非导电性材料的使用也会使电极的电化学响应的灵敏度下降. 为了解决这一问题, 人们尝试利用氧化石墨烯含有丰富羧基的特点, 以 EDC/NHS 为活化剂将酶共价键合在修饰电极表面^[13], 但氧化石墨烯导电性差, 所制备的传感器分析性能并不理想^[13,14].

我们首次在金电极表面采用电化学法合成石墨烯/金/功能导电高分子复合膜, 以 EDC/NHS 为活化剂将辣根过氧化物酶与复合膜上的羧基共价键合而制备过氧化氢生物传感器. 研究表明, 石墨烯/金复合膜的分散性好, 显著改善了生物传感器对过氧化氢的氧化还原反应

的电催化作用. 方法在灵敏度、稳定性和重现性方面优于现有大多数文献报道, 已成功应用于牛奶样品中痕量过氧化氢的测定.

1 实验部分

1.1 主要试剂及仪器

氯金酸、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)、*N*-羟基琥珀酰亚胺(NHS)和四丁基高氯酸铵(TBAP)购于 Alfa Aesar 公司; 辣根过氧化物酶(HRP)购于 Sigma 公司; 氧化石墨烯由天然鳞片石墨采用 Hummers 法合成^[15]; 磷酸缓冲溶液(PBS, pH 7.4)由 2.0 mmol·L⁻¹的 KH₂PO₄·12H₂O 和 K₂HPO₄·2H₂O 配制而成; 实验用水均为二次蒸馏水, 由普通蒸馏水再经高纯石英亚沸蒸馏器蒸馏制得. 其它试剂均为分析纯, 购于上海国药集团化学试剂有限公司.

S4800 型扫描电镜, 日本日立公司; FTLA 2000 型傅立叶红外, 加拿大 ABB Bomen 公司; D8 Advance 型 X-射线衍射仪(以 Cu K α 为辐射源), 德国 Bruker AXS 公司; HR800 型拉曼光谱仪, 法国 Jobin-Yvon 公司; CHI660D 电化学分析仪, 上海辰华.

1.2 合成 2,5-二(2-噻吩)-1-对苯甲酸吡咯

在 250 mL 圆底烧瓶中, 依次加入 9.6 mL 噻吩、5.5 mL 丁二酰氯、16 g 无水氯化铝和 100 mL 二氯甲烷, 18~20 °C 下搅拌 4 h 后倒入冰水中, 加入 5 mL 浓盐酸后, 过滤, 并用 75 mL 饱和 NaHCO₃ 洗涤, 然后真空干燥制得 1,4-二噻吩-1,4-丁二酮. 称取 1,4-二噻吩-1,4-丁二酮 1.25 g 于 100 mL 三口烧瓶中, 加入 0.66 g 对氨基苄腈、1.03 g 对甲苯磺酸和 15 mL 甲苯, 在氮气保护下回流 0.5 h, 然后减压蒸馏除去甲苯, 采用硅胶层析柱(以二氯甲烷为洗脱液)纯化, 流出液经减压蒸馏去除二氯甲烷后得白色固体—1-苄腈基-2,5-二噻吩-1-吡咯. 在 250 mL 三颈烧瓶中, 加入 1-苄腈基-2,5-二噻吩-1-吡咯 2.73 g、氢氧化钾 1.0 g、30 mL 乙氧基乙醇-水(*V*:*V*=5:1)溶液中, 加热回流 5 h, 用浓盐酸酸化至 pH 3, 然后冷却、过滤、重结晶得黄色针状晶体—2,5-二(2-噻吩)-1-对苯甲酸吡咯(DPB). 红外(IR)分析结果(KBr):

3430~3190 (OH), 1660 (C=O), 1510, 1417 (C—S) cm^{-1} ;
核磁共振分析结果(^1H NMR): 6.50~6.53 (m, 4H), 6.89
(dd, $J=3.6, 5.0$ Hz, 2H), 7.16 (dd, $J=3.8, 4.6$ Hz, 2H),
7.38 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.69 (d, $J=5.2$ Hz, 2H).

1.3 制备过氧化氢生物传感器

将 1 mm 金电极依次用 0.3 μm 和 0.05 μm 氧化铝粉末抛光至镜面, 洗去表面污物, 移至超声水浴中清洗 3 min, 再用无水乙醇清洗 3 min. (1) 将处理后的金电极浸入 0.05 mg/mL 氧化石墨烯分散液中, 控制电位在 -1.2 V 处电沉积 50 s, 取出电极, 用水洗涤, 室温干燥后放在 0.05 mmol/L 的氯金酸溶液中, 控制电位在 -0.25 V 处电沉积 50 s, 取出电极, 用水洗涤, 室温干燥. 按以上电沉积操作 20 个循环制得石墨烯/金修饰电极. (2) 将修饰电极置入 3 mL 含有 DPB (1 mmol/L) 和 TBAP 的二氯甲烷溶液 (0.1 mol/L) 中, 控制电位在 $0\sim 1\text{ V}$ 之间采用循环伏安法进行扫描, 扫描六次后得石墨烯/金/功能导电高分子复合膜修饰电极. (3) 将此修饰电极用 20 mmol/L EDC/NHS 溶液活化 4 h, 然后在 10 mg/mL HRP 中浸泡 24 h 制备出过氧化氢生物传感器. 将制备好的过氧化氢生物传感器在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 储藏备用 (见图 1).

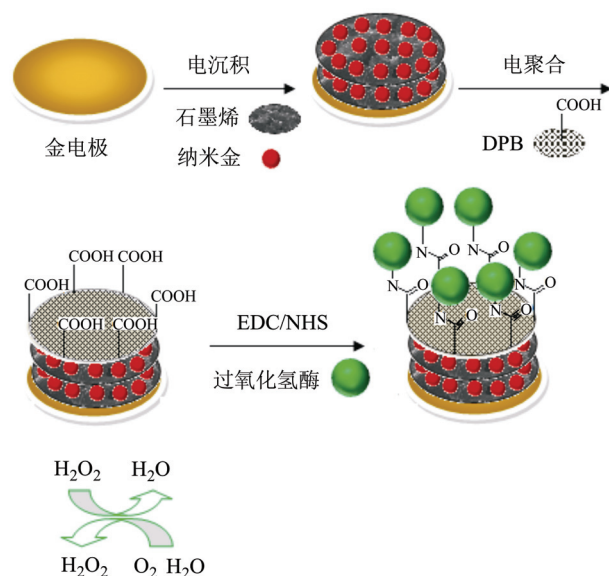


图 1 传感器的制备过程

Figure 1 Procedure for preparation of the sensor

1.4 电化学测试

采用三电极体系(裸金电极或修饰电极为工作电极, 银/氯化银标准电极为参比电极和铂丝为辅助电极), 以 1.0 mmol/L $\text{FeCN}_6^{3-/4-}$ 的磷酸缓冲溶液(pH 7.4)为测试底液, 分别采用循环伏安(电压: $-0.2 \sim 0.6$ V, 扫描速度: 100 mV/s)和交流阻抗(频率: $1 \sim 10^5$ Hz, 交流微扰信号幅度: 5 mV, 直流偏置电压: 0.3 V)研究电极的电化学

特性.

2 结果与讨论

2.1 石墨烯/金纳米复合材料

氧化石墨烯浓度不仅影响分散液的稳定性和电极上石墨烯修饰层的厚度。我们采用扫描电镜分别考察了金电极在不同浓度的 0.005, 0.01, 0.05, 0.1 和 0.5 mg/mL 的氧化石墨烯溶液中的电沉积行为。结果显示, 氧化石墨烯的浓度对石墨烯修饰层的厚度有较大影响。氧化石墨烯浓度过低(0.005 和 0.01 mg/mL)电极表面仅有一些零星的石墨烯片, 浓度较大(0.1 和 0.5 mg/mL)将导致石墨烯片发生明显的聚集现象, 石墨烯层厚度增加。此外, 0.5 mg/mL 氧化石墨烯溶液稳定性较差, 电沉积几次后溶液中有明显的沉淀产生。当氧化石墨烯浓度为 0.05 mg/mL 时电极表面被单层石墨烯片完全覆盖。另外, 我们还考察了氯金酸浓度(包括 0.005, 0.01, 0.05 和 0.1 mmol/L 的氯金酸)对修饰层中金的粒径、密集程度和厚度的影响。随着前驱体氯金酸浓度的增加, 金纳米的数量迅速增多, 且粒径也明显变大。以 0.005 和 0.01 mmol/L 的氯金酸作前驱体, 修饰层中金纳米粒子较少, 对石墨烯片层的分散效果欠佳。但氯金酸的浓度达到 0.01 mmol/L 时, 电极表面被单层的金粒子均匀修饰, 粒径约 10 nm。为了获得良好的分散性, 0.05 mg/mL 氧化石墨烯和 0.05 mmol/L 的氯金酸溶液被选择为前驱体制备石墨烯/金纳米复合材料。

扫描电镜(SEM)、X-射线衍射(XRD)和拉曼光谱被用于表征所制备的石墨烯/金纳米复合材料的表面形貌和结构。结果表明, 金纳米粒子呈球状, 较均匀分散于石墨烯片层间, 平均粒径在 10 nm 左右(图 2)。XRD 图中包含 5 个特征峰, 分别对应金纳米粒子的(111), (200), (220), (311)和(222)晶面。拉曼光谱图展现出石墨烯材料典型的特征 D 峰和 G 峰, 其 I_D/I_G 的增加说明碳原子混乱程度较高^[16]。综合以上表征结果, 可以确定我们的合成方法可以制备分散均匀的石墨烯/金纳米复合材料。

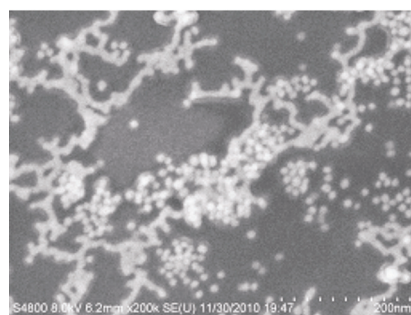


图2 石墨烯/金纳米复合材料的 SEM

Figure 2 SEM of graphene/gold nanocomposites

2.2 功能导电聚合膜

共价键合方式可将酶牢固地固定在电极表面, 这对提高生物传感器的稳定性至关重要. 在酶的共价键合方式中, 羧基是最为有效的连接基团. 为此, 我们将修饰了石墨烯/金纳米复合材料的金电极置入 2,5-二(2-噻吩)-1-对苯甲酸吡咯单体溶液, 控制电位在 0.0~1.0 V 之间进行循环伏安扫描. 图 3 显示, 2,5-二(2-噻吩)-1-对苯甲酸吡咯单体在 0.9 V 发生了氧化反应, 随后电聚合并固定于电极表面, 所形成的含有羧基的导电聚合膜在 +0.56/+0.9 V 出现一对氧化-还原峰. 随着扫描次数的增加(图 3 中, 从内向外分别是: 每一、第二、第三、第四、第五和第六次循环), 氧化还原峰电流迅速增加, 这表明我们所制备的功能导电膜具有良好的导电性.

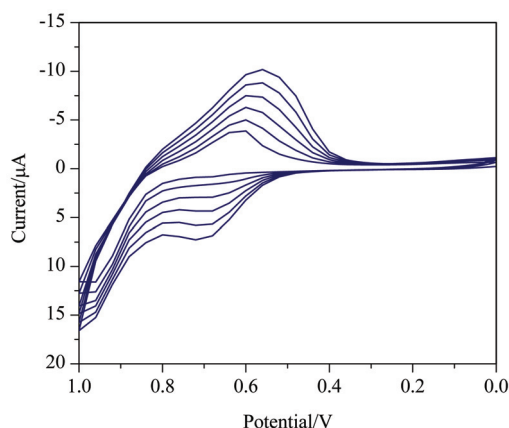


图 3 功能导电膜的制备过程

Figure 3 Preparation process of functional conducting polymer film

2.3 修饰电极的电化学性质

采用电化学交流阻抗和循环伏安法研究了裸电极(a)以及分别修饰了石墨烯(b)、石墨烯/金(c)、石墨烯/金/功能导电高分子(d)和石墨烯/金/功能导电高分子/HRP 修饰电极(e)的电化学性质, 结果列于图 4. 从图 4 可知, $\text{FeCN}_6^{3-/4-}$ 在裸的金电极表面发生可逆的氧化还原反应, 它的循环伏安曲线上出现一对氧化还原峰. 当电极表面修饰石墨烯后, 由于石墨烯良好的导电性和较大的表面积对氧化还原有一定催化作用, 石墨烯修饰电极的交流阻抗明显下降, 而循环伏安图上氧化还原峰电流增加. 在石墨烯片层中渗入导电良好的金纳米粒子, 进一步改善了电极的导电性和电催化性能, 导致石墨烯/金修饰电极的阻抗进一步降低和氧化还原峰电流的增加. 尽管功能性导电高分子膜具有较好的导电性, 但它的导电性不及石墨烯和金纳米粒子, 这使石墨烯/金/功能导电高分子修饰电极的阻抗略有增加, 其氧化还原峰电流也有所降低. 由于 HRP 对 $\text{FeCN}_6^{3-/4-}$ 的氧化还原没有

任何催化作用, 它对修饰层的电子转移起到一定阻碍作用, 从而导致石墨烯/金/功能导电高分子/HRP 修饰电极的阻抗明显增加和峰电流的进一步下降.

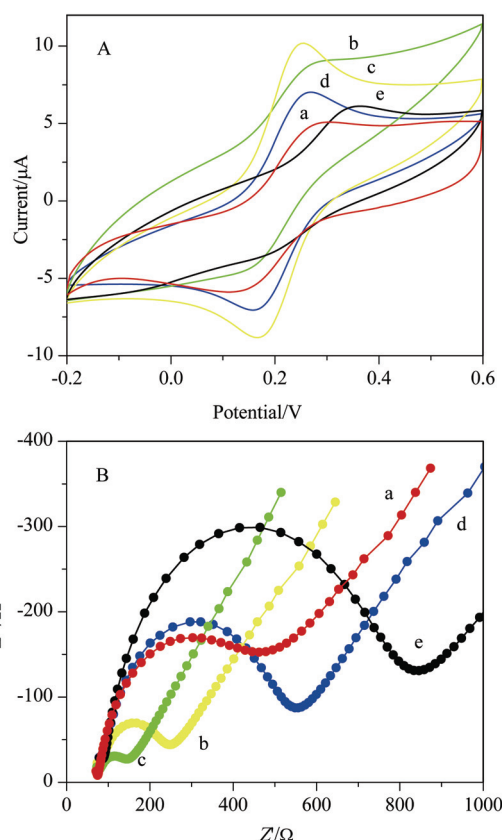


图 4 修饰电极的循环伏安(A)和交流阻抗图(B)

Figure 4 Cyclic voltammograms (A) and electrochemical impedance spectra (B) of the modified electrodes

为了检验传感器(石墨烯/金/功能导电高分子过氧化氢生物修饰电极)的电化学稳定性, 我们将电极进行了重复扫描, 结果表明循环扫描 100 次电流响应基本上没有改变, 这说明修饰材料均被很好地固定在电极表面, 没有出现脱落和渗漏现象(见图 5A). 可见, 传感器具有优良的电化学稳定性. 另外, 我们还考察了扫描速率的影响. 图 5B 显示, 电流响应随扫描速率的增大而迅速增大, 但峰电位基本保持不变. 峰电流(I_p)与扫描速率的平方根成线性关系($v^{1/2}$, $\text{V}^{1/2} \cdot \text{s}^{-1/2}$), 其回归方程是: $I_p = 0.5591v^{1/2} + 0.6691$ ($R^2 = 0.9999$)和 $I_p = -0.5715C - 0.1114$ ($R = 0.9993$), 这表明电极表面发生的电化学反应是受扩散控制的可逆电化学反应.

2.4 传感器对过氧化氢的响应

过氧化氢生物传感器在空白和含过氧化氢的 PBS (pH 7.4)溶液中的循环伏安曲线列于图 6A. 从图 6A 中我们发现过氧化氢生物传感器在空白的 PBS 溶液中没有出现明显的氧化还原峰, 但加入过氧化氢后在

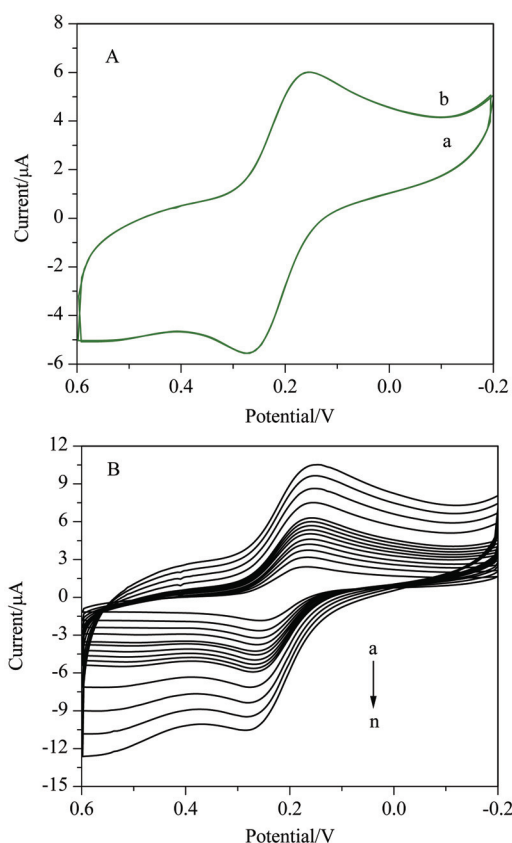


图5 (A)传感器在第一次(a)和第100次(b)扫描的循环伏安图, (B)传感器在不同扫描速率下的循环伏安图(a→n: 扫描速率分别为10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250和300 mV/s)

Figure 5 (A) Cyclic voltammograms of the sensor at the first (a) and the 100th (b). (B) Cyclic voltammograms of the sensor at 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250 and 300 mV/s (a→n)

-0.4 V/+0.2 V 处分别出现了明显的还原峰和氧化峰。由于过氧化氢的还原峰电流明显高于氧化峰, -0.4 V 被确定为测定电压。另外, 为了证实过氧化氢生物传感器中酶的作用, 我们还按 1.3 节的所述方法制作了另一无酶传感器, 图 6B 是无酶传感器在空白和含过氧化氢的 PBS 溶液的循环伏安图。图 6B 显示, 无酶传感器在所扫描的电压范围内对过氧化氢没有明显的电化学响应。这说明过氧化氢酶在生物传感器对过氧化氢的氧化还原过程中发挥了决定性的重要作用。由于酶催化作用的高度专一性, 过氧化氢生物传感器的电化学响应也是有选择性的。

2.5 分析特性

配制一系列含有不同浓度的过氧化氢 PBS 溶液, 以过氧化氢生物传感器为工作电极在电化学工作站上按 1.4 节的实验方法分别测定它们的循环伏安曲线, 然后以加入过氧化氢前后 -0.4 V 处还原峰电流的增加值

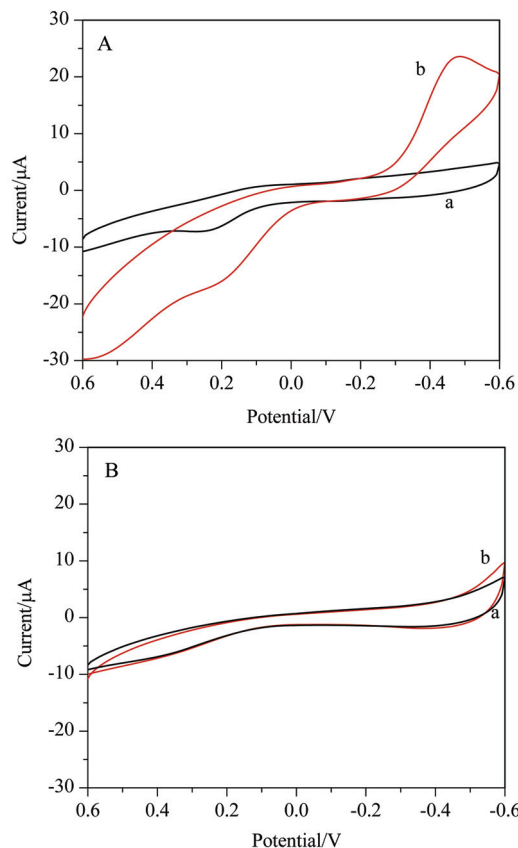


图6 有酶传感器(A)和无酶传感器(B)在空白(a)和含有过氧化氢的 PBS (b)中的循环伏安图

Figure 6 Cyclic voltammograms of the enzyme sensor (A) and nonenzyme sensor (B) in blank (a) and containing hydrogen peroxide PBS (b)

为纵坐标, 过氧化氢浓度为横坐标绘制工作曲线(图 7)。图 7 显示, 过氧化氢浓度在 2~200 nmol/L 之间生物传感器的电流响应与过氧化氢的浓度呈线性关系, 线性回归方程为: $\Delta I_p (\text{nA}) = 26.638c (\text{nmol/L}) - 1.054$ (ΔI_p 为加入过氧化氢前后 -0.4 V 处峰电流增加值, c 是过氧化氢的浓度), 相关系数(R^2)为 0.9996, 方法的检测限是 0.67 nmol/L ($S/N=3$)。测定 5 nmol/L 的过氧化氢溶液 20 次, 其相对标准偏差为 1.2%。方法的灵敏度明显优于现有的大多数石墨基过氧化氢生物传感器^[17~19]。此外, 我们在 100 nmol/L 的过氧化氢溶液中, 分别加入 5 倍的抗坏血酸、100 倍的葡萄糖、100 倍的谷氨酸及 100 倍的 L-半胱氨酸, 然后测定过氧化氢浓度, 结果表明 -0.4 V 处的电流响应偏差小于 5%, 这显示方法具有较好的选择性。

2.6 重现性和稳定性

分别将不同批次制备的过氧化氢生物传感器置于同一浓度的过氧化氢标准溶液进行检测, 其还原峰电流响应的相对标准偏差($n=5$)小于 1.5%, 表明该传感器有

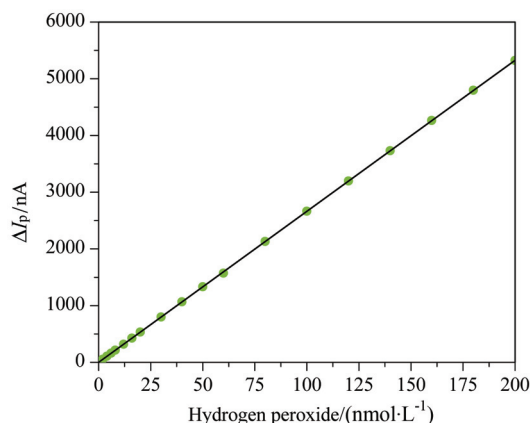


图7 工作曲线

Figure 7 Working curve

较好的重现性. 电极在 4 °C 储藏一定时间, 将其取出后放入含有 20 nmol/L 的过氧化氢 PBS 溶液, 然后按实验方法测定循环伏安还原峰电流, 结果发现该生物传感器储藏 3 个月后其电化学响应变化值少于 3%, 表明该传感器有较好的长期稳定性.

2.7 牛奶样品中过氧化氢的测定

准确移取 0.5 mL 市售牛奶于离心管中, 用医用注射器喷入 1-异辛基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐(一种温控离子液体^[20])的丙酮溶液(2%, w/V) 1.0 mL, 放置 2 min 后, 离心分离, 收集上层清液, 并用双蒸馏水定容至 100 mL 备用. 移取上述样品溶液 1.0 mL 到 20 mL 的 PBS 溶液中, 然后按实验方法操作测定 -0.4 V 处的还原峰电流, 并计算牛奶中过氧化氢的含量, 结果列于表 1. 从表 1 可以看出, 加标回收率在 96.1%~105.0%之间, 说明方法具有较高的准确性.

表1 牛奶样品中痕量过氧化氢的测定结果($n=5$)

Table 1 Results for determination of trace hydrogen peroxide in milk samples

Sample	Added/($\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Found/($\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	RSD/%	Recovery/%
Sample 1	0.0	98.3	1.2	
	100.0	197.2	0.9	98.9
Sample 2	0.0	244.2	1.7	
	100.0	346.1	1.1	101.9
Sample 3	0.0	137.6	2.3	
	100.0	238.4	1.9	100.8
Sample 4	0.0	317.1	1.8	
	100.0	422.0	1.5	104.9
Sample 5	0.0	188.3	2.5	
	100.0	284.4	1.1	96.1

3 结论

交替电沉积是一种简便、绿色和高效的石墨烯复合

材料制备方法, 所得到的石墨烯/金纳米复合膜分散性好, 它对过氧化氢的氧化还原表现出显著的电催化行为, 其传感器灵敏度明显高于现有文献报道的石墨烯基过氧化氢生物传感器; 以 2,5-二(2-噻吩)-1-对苯甲酸吡咯为单体, 通过电聚合方式在电极表面形成一层含有羧基的导电高分子膜, 再以 DHC/NHS 为活化剂将辣根过氧化物酶共价连接在修饰电极上. 酶的固定采用的是共价键合, 使过氧化氢生物传感器在重现性和稳定性方面得到较大提高, 从而为它的实际应用奠定了基础.

References

- Li, X. S.; Cai, W. W.; An, J. H.; Kim, S. Y.; Nah, J.; Yang, D. G.; Piner, R.; Velamakanni, A.; Jung, I.; Tutuc, E.; Banerjee, S. K.; Colombo, L.; Ruff, R. S. *Science* **2009**, *324*, 1312.
- Elias, D. C.; Nair, R. R.; Mohiuddin, T. M. G.; Morozov, S. V.; Blake, P.; Halsall, M. P.; Ferrari, A. C.; Boukhvalov, D. W.; Katsnelson, M. I.; Geim, A. K.; Novoselov, K. S. *Science* **2009**, *323*, 610.
- Yan, X.; Cui, X.; Li, L. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 5944.
- Xu, C.; Wang, X.; Zhu, J. W. *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112*, 19841.
- Zhong, Z. Y.; Wu, W.; Wang, D.; Wang, D.; Shan, J. L.; Qing, Y.; Zhang, Z. M. *Biosens. Bioelectron.* **2010**, *25*, 2379.
- Hong, W. J.; Bai, H.; Xu, Y. X.; Yao, Z. Y.; Gu, Z. Z.; Shi, G. Q. *J. Phys. Chem. C* **2010**, *114*, 1822.
- Wan, Y.; Wang, Y.; Wu, J. J.; Zhang, D. *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 648.
- Gu, Z. G.; Yang, S. P.; Li, Z. J.; Sun, X. L.; Wang, G. L.; Fang, Y. J.; Liu, J. K. *Electrochim. Acta* **2011**, *56*, 9162.
- Gu, Z. G.; Yang, S. P.; Li, Z. J.; Sun, X. L.; Wang, G. L.; Fang, Y. J.; Liu, J. K. *Anal. Chim. Acta* **2011**, *701*, 75.
- Wen, Z. L.; Yang, S. D.; Song, Q. J.; Hao, L.; Zhang, X. G. *Acta Phys.-Chim. Sin.* **2010**, *26*, 1570 (in Chinese). (温祝亮, 杨苏东, 宋启军, 郝亮, 张校刚, 物理化学学报, **2010**, *26*, 1570.)
- Liu, C. B.; Wang, K.; Luo, S. L.; Tang, Y. H.; Chen, L. Y. *Small* **2011**, *7*, 1203.
- Chen, X. M.; Wu, G. H.; Chen, J. M.; Chen, X.; Xie, Z. X.; Wang, X. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 3693.
- Yang, Y. C.; Dong, S. W.; Shen, T.; Jian, C. X.; Chang, H. J.; Li, Y.; Zhou, J. X. *Electrochim. Acta* **2011**, *56*, 6021.
- Yang, M. H.; Li, C. X.; Yang, Y. H.; Shen, G. L.; Yu, R. Q. *Acta Chim. Sinica* **2004**, *62*, 502 (in Chinese). (阳明辉, 李春香, 杨云慧, 沈国励, 俞汝勤, 化学学报, **2004**, *62*, 502.)
- Zhu, L. S.; Ai, S. Y.; Yin, H. S.; Zhang, Q. M.; Zhou, Y. L.; Ma, Q.; Liu, T. *Electrochim. Acta* **2011**, *56*, 2748.
- Bo, Y.; Wang, W.; Qi, J.; Huang, S. *Analyst* **2011**, *136*,

- 1946.
- 17 Hummers, W. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 1339.
- 18 Gu, Z. G.; Yang, S. P.; Li, Z. J.; Sun, X. L.; Wang, G. L.; Fang, Y. J.; Liu, J. K. *Anal. Chim. Acta* **2011**, *701*, 75.
- 19 Wang, L.; Liu, S.; Tian, J. Q. *Carbon* **2011**, *49*, 3158.
- 20 Cui, Y. L.; Zhang, B.; Liu, B. Q. *Mikrochim. Acta* **2011**, *174*, 137.
- 21 Zhou, K. F.; Zhu, Y. H.; Yang, X. L.; Luo, J.; Li, C. Z.; Luan, S. R. *Electrochim. Acta* **2010**, *55*, 3055.
- 22 Li, Z. J.; Chen, P. P.; Yu, C. P.; Fang, Y. J.; Wang, Z. Y.; Li, M.; Shan, H. X. *Curr. Anal. Chem.* **2009**, *5*, 324.

(A1111012 Cheng, B.; Lu, Z.)