一种新型酶生物燃料电池阳极构建及性能研究

邹琼^{†,a} 刘娟^{†,a,b} 朱刚兵^a 张小华^a 陈金华^{*,a}

(^a 湖南大学化学化工学院 化学生物传感与计量学国家重点实验室 长沙 410082)

(^b 湖南有色金属研究院 长沙 410015)

摘要 通过酸化碳纳米管(CNTs)和 β -环糊精(β -CD)之间的范德华力作用,实现CNTs的 β -CD功能化。 β -CD具有内腔疏水、外壁亲水的环状结构,其内腔容易与二茂铁(Fc)形成稳定的主客体包合结构,实现Fc在碳纳米管上的高效固载;再将CNTs- β -CD-Fc复合物与葡萄糖氧化酶(GOD)混合,采用戊二醛实现酶分子间的交联,形成GOD/CNTs- β -CD-Fc复合物,然后将其涂覆到玻碳电极(GC)上,得到一种新型的酶生物燃料电池阳极(GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC)。采用同步热分析法、傅里叶变换红外光谱和透射电子显微镜对所制备的CNTs- β -CD-Fc复合物进行了表征,采用循环伏安法研究了GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC电极对葡萄糖氧化的催化性能。结果表明:在同等实验条件下,没有固载Fc的GOD/CNTs- β -CD/GC电极基本无催化电流,而GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC电极表现出比GOD/CNTs-Fc/GC电极更为优越的电催化性能。进一步以GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC电极或GOD/CNTs-Fc/GC电极为酶阳极,商用催化剂E-TEK Pt/C电极(E-TEK Pt/C/GC)为阴极,构建葡萄糖/氧气生物燃料电池(EBFC),结果表明前者的最大功率密度($33 \mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$, 0.18 V)几乎是后者的三倍($11.7 \mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$, 0.16 V)。通过记录开路电位随时间的变化研究了EBFC的稳定性,以GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC电极为阳极的EBFC在连续工作9 h后仍保留了92%的开路电位,表明该电池具有良好的连续工作稳定性。我们提出的这种新型生物燃料电池阳极的构造方法,为构建高性能、高稳定性的葡萄糖/氧气EBFC提供了新的思路。

关键词 碳纳米管; 二茂铁; β -环糊精; 葡萄糖氧化酶; 生物燃料电池

Construction and Performance of a New Bioanode for Biofuel Cells

Zou, Qiong^{†,a} Liu, Juan^{†,a,b} Zhu, Gangbing^a Zhang, Xiaohua^a Chen, Jinhua^{*,a}

(^a State Key Laboratory of Chemo/Biosensing and Chemometrics, College of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan University, Changsha 410082)

(^b Hunan Research Institute for Nonferrous Metals, Changsha 410015)

Abstract Acid-treated carbon nanotubes (CNTs) were functionalized by β -cyclodextrin (CD) through the van der Waals force between them. It is well-known that CD is toroidal in shape with a hydrophobic inner cavity and a hydrophilic exterior. Based on the recognition of CD to ferrocene (Fc), a water-soluble complex, CNTs- β -CD-Fc, was prepared. Glucose oxidase (GOD) was mixed with CNTs- β -CD-Fc and crosslinked with glutaraldehyde to form enzyme polymer. Then the GOD/CNTs- β -CD-Fc composite was coated on the glassy carbon (GC) electrode and the GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC bioanode was obtained. The prepared CNTs- β -CD and CNTs- β -CD-Fc were characterized by thermal gravimetric analysis, Fourier transform infrared spectroscopy and transmission electron microscopy. The electrocatalytic properties of the GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC bioanode towards glucose oxidation were investigated by cyclic voltammetry. The results showed that under the same experimental conditions, the GOD/CNTs- β -CD/GC electrode (without Fc) had almost no catalytic currents for glucose oxidation and the GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC bioanode had higher electrocatalytic activity towards glucose oxidation than the GOD/CNTs-Fc/GC electrode. The long-term cycle stability of the developed GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC bioanode was also evaluated by cyclic voltammetry and the results showed that the GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC bioanode had much better stability than the GOD/CNTs-Fc/GC electrode. Taking the commercial E-TEK Pt/C modified GC electrode as the cathode, the maximum power density of the glucose/O₂ biofuel cell (EBFC) based on the GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC anode was $33 \mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ (at 0.18 V), almost 3 times higher than that of the EBFC based on the GOD/CNTs-Fc/GC anode ($11.7 \mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ at 0.16 V). The stability of the developed EBFC was also investigated by monitoring the change of the open circuit potential (OCP) of EBFC. After continuous operation for 9 h, the developed EBFC (the GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC electrode as the bioanode) remained 92% of initial OCP, suggesting the good operating stability. The proposed strategy for bioanode preparation may provide a new way for the development of glucose/O₂ EBFC.

* E-mail: chenjinhua@hnu.edu.cn; Tel.: 0086-0731-88821961; Fax: 0086-0731-88821848

Received March 15, 2013; published June 13, 2013.

[†] These authors contributed equally to this work

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21275041), Hunan Provincial Natural Science Foundation of China (No. 12JJ2010), the Specialized Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education (No. 20110161110009), and Program for Changjiang Scholars and Innovative Research Team in University (No. IRT1238).

项目受国家自然科学基金(No. 21275041)、湖南省自然科学基金(No. 12JJ2010)、高等学校博士学科点专项科研基金(No. 20110161110009)和长江学者和创新团队发展计划(No. IRT1238)资助。

with good performance and high stability.

Keywords carbon nanotubes; ferrocene; β -cyclodextrin; glucose oxidase; biofuel cells

1 引言

生物燃料电池(BFC)是一种利用生物催化剂将化学能直接转化为电能的装置. 常用的生物催化剂有微生物、细胞器(如线粒体)和酶^[1-3]. 其中酶生物燃料电池(EBFC)的能量输出相比另外两种 BFC 要高很多, 成为 BFC 研究的热点. 由于酶种类多、易提取且催化条件温和, 与传统的燃料电池相比, EBFC 具有燃料来源广泛, 价格低廉和能够在温和环境中工作(温度为 20~40 °C, 中性 pH)等优点. 尤其是葡萄糖/氧气 BFC 可以利用人体血液中的葡萄糖和氧气作为 BFC 的阳极和阴极底物输出电流, 有望用于如心脏起搏器等低能耗小型设备的内置电源^[4,5]. 然而, 由于酶的有效固定量有限、酶与电极间电子传递不畅、酶容易失活且存在泄漏等问题, EBFC 也存在功率密度低, 寿命短等缺点. 因此, 加快酶与电极间的电子传递、固定更多的酶且同时保持酶活性成为当前 EBFC 研究的重点^[6,7].

当酶的催化活性中心与电极之间的距离足够短时, 可以通过两者之间的快速电子通道实现直接电子转移^[5]. 然而酶的催化活性中心一般被酶的蛋白质外壳深深地包埋, 与电极之间的直接电子转移效率非常低. 因此, 在 EBFC 中引入电子转移中间体来促进酶催化活性中心与电极之间的电子转移, 成为改善 EBFC 输出功率的一个重要手段^[6,8]. 目前, EBFC 阳极大部分是以葡萄糖氧化酶(GOD)为催化剂, 二茂铁及二茂铁衍生物等为电子转移中间体. 二茂铁又叫双环戊二烯基铁, 是一种具有芳香性质的有机过渡金属化合物, 具有低毒性、疏水性和良好的氧化还原可逆性, 广泛应用于 EBFC 和生物传感. 早期的 EBFC 一般是将二茂铁(Fc)衍生物(如羧基二茂铁)直接分散在电解质溶液中^[9,10], 这样不仅不利于 EBFC 的实际应用, 而且成本较高. 近年来也有采用物理吸附、包合和共价交联等方法将 Fc 衍生物固定在电极表面, 从而提高中间体利用率^[11-13]. 但 Fc 衍生物制备过程复杂, 且单纯的 Fc 由于其较强的疏水性限制了其在水溶液中的应用. 环糊精(CD)与 Fc 可以形成稳定的主客体包合物正好解决了 Fc 水溶性不好这一问题.

CD 是由 6, 7 或者 8 个(α -, β -或者 γ -CD)葡萄糖单体组成的低聚糖, 具有内腔疏水而外壁亲水特征的环型结构^[14]. CD 具有很高的分子选择性, 很多有机、无机及生物客体分子能够与环糊精的内腔形成稳定的主-客体包合结构^[15-20]. 已有报道表明 Fc 能与 β -CD 形成 1:1 的包合物, 同时该包合物具有良好的电化学可逆性和电化学稳定性, 是优异的电化学探针. 由于 β -CD 外壁亲水, 具有较好的水溶性且对环境友好, β -CD-Fc 包合物具有良好的生物相容性, 能够为酶提供一个良好的微环境, 因而在生物传感中得到广泛应用^[15,21,22].

另一方面, CNTs 以其高化学稳定性、高比表面积和优异的电子传递特性等而在 EBFC 和生物传感中应用广泛^[11,12,23]. 但是, 据我们所知, 目前还没有 β -CD 在生物燃料电池方面应用的报道.

基于如上所述, 本文利用 β -CD 与酸化碳纳米管(CNTs)之间的范德华力作用^[24], 实现 CNTs 的 β -CD 功能化. 进而利用 β -CD 对 Fc 分子的主-客体分子选择性, 将 Fc 高效固定到 CNTs- β -CD 上. 然后将 CNTs- β -CD-Fc 与 GOD 混合, 通过 GOD 分子间的戊二醛(GA)交联, 形成 GOD/CNTs- β -CD-Fc 复合物(图 1). 然后以玻碳电极(GC)为基体电极制备了 GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC 催化电极, 考察了该电极对葡萄糖氧化的催化性能. 进一步以 GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC 电极为酶阳极, 商业 E-TEK Pt/C 催化剂修饰的 GC 电极为阴极, 构建 EBFC, 并对其性能进行了研究. 基于 β -CD 优异的生物相容性和对 Fc 的主客体作用、以及 GOD 分子交联网络的固定化作用, 本文提出的酶阳极将具有优良的葡萄糖氧化催化性能和稳定性, 为构建高性能、高稳定性的葡萄糖/氧气 EBFC 提供了新的思路.

图 1 GOD/CNTs- β -CD-Fc 复合物的制备

Figure 1 Schematic diagram for the preparation of the GOD/CNTs- β -CD-Fc complex

2 结果与讨论

2.1 电极材料的表征

图 2 为 N_2 气氛中, 纯 ao-CNTs (a) 和 CNTs- β -CD (b) 在 $10\text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温速率下的热分析曲线. 从图 2 中可以看出, 在 298~1050 K 的温度区间内, ao-CNTs 的质量损失为 10.0 wt%; 而 CNTs- β -CD 的质量损失为 25.4 wt%, CNTs- β -CD 在温度升高到 500 K 左右出现明显的质量损失, 与纯 β -CD 在此温度区间发生热分解的起始温度一致^[25], 表明 β -CD 已成功修饰到 ao-CNTs 表面. 通过 ao-CNTs 和 CNTs- β -CD 在 1050 K 时质量损失的差别, 可以估算出 CNTs- β -CD 样品中 β -CD 的质量分数约为 15.3 wt%.

同时, 还采用傅里叶变换红外光谱对上述材料进行了表征. 图 3A 是纯的 β -CD (a) 和 CNTs- β -CD (b) 的红外光谱图. 从图 3 中可以看到 CNTs- β -CD 上能够找到 β -CD 在 1030 cm^{-1} (来自 C—C 和 C—O 的伸缩振动)、 1420 cm^{-1} (来自 C—H 的弯曲振动) 及 1641 cm^{-1} (来自吸

图2 ao-CNTs (a)和 CNTs- β -CD (b)的热重分析曲线

Figure 2 The thermal gravimetric analysis results of ao-CNTs (a) and CNTs- β -CD (b) at $10\text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$ in nitrogen atmosphere

附或结晶水中 $\text{H}-\text{O}-\text{H}$ 的弯曲振动)处的吸收峰^[26], 这证明 β -CD 已经成功地修饰到 CNTs 表面. 图 3B 是纯的 Fc (a)和 CNTs- β -CD-Fc (b)的红外光谱图. 从图 3 中可以看到 CNTs- β -CD-Fc 上能够找到新出现的 Fc 在 816 cm^{-1} (来自茂环上的 $\text{C}-\text{H}$ 弯曲振动)^[27]处的特征吸收峰, 而

图3 (A) 纯 β -CD (a), CNTs- β -CD (b)和(B)纯 Fc (a), CNTs- β -CD-Fc (b)的红外光谱图

Figure 3 The FTIR spectra of (A) pure CD (a), CNTs- β -CD (b) and (B) pure Fc (a), CNTs- β -CD-Fc (b)

在 CNTs- β -CD 的光谱图上却没有, 这表明 Fc 已经通过 β -CD 和 Fc 间的主-客体包络作用成功修饰到 CNTs- β -CD 上.

图 4 分别为 CNTs- β -CD (A), CNTs-Fc (B), CNTs- β -CD-Fc (C)和 GOD/CNTs- β -CD-Fc (D)的 TEM 照片. 在图 4A 和图 4C 中, ao-CNTs 外壁包了一层薄膜, 二者形貌相似, 表明 Fc 的引入不会改变 CNTs- β -CD 的形貌. 而图 4B 的 ao-CNTs 外壁基本没有薄膜包裹, 可知图 4A 和 4C 中的薄膜主要来自于 β -CD 的包裹, 表明在 CNTs- β -CD 和 CNTs- β -CD-Fc 样品中 β -CD 已成功修饰到 ao-CNTs 表面, 这与前面的热重分析和红外分析结果一致. 图 4D 为加入 GOD 后的 TEM 图, 该图显然比图 4A~4C 模糊, 这是由于 GOD 导电性不佳引起的.

图4 CNTs- β -CD (A), CNTs-Fc (B), CNTs- β -CD-Fc (C) 和 GOD/CNTs- β -CD-Fc (D)的 TEM 照片

Figure 4 TEM images of CNTs- β -CD (A), CNTs-Fc (B), CNTs- β -CD-Fc (C) and GOD/CNTs- β -CD-Fc (D)

2.2 酶电极对葡萄糖的电催化氧化性能

图 5 是 GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC 电极(A), GOD/CNTs-Fc/GC 电极(B)和 GOD/CNTs- β -CD/GC 电极(C)分别在不含葡萄糖(曲线 b)和含葡萄糖(曲线 a)的 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS 缓冲液(pH 7.0)中的循环伏安(CV)曲线. 从图 5 可以发现, 当加入葡萄糖后, 三种酶电极的氧化电流密度均增大, 这表明电极上都发生了典型的 GOD 电催化葡萄糖氧化反应. 我们将在 CV 正扫过程中 0.4 V 电位下, 电极在含葡萄糖($50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)溶液相对于不含葡萄糖溶液时电流密度的增加值定义为催化电流密度(Δi). 由图 5 可见, GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC 电极的 Δi 值为 $0.422\text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$, 分别是 GOD/CNTs-Fc/GC 电极(0.134

$\text{mA}\cdot\text{cm}^{-2}$)和 GOD/CNTs- β -CD/GC 电极($0.013 \text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$)的 3.14 倍和 32.4 倍, 这也比其他已报道的固定化 Fc 生物阳极高^[28]. 从中我们还可以看出, 当电极表面没有电子转移中间体 Fc 存在时, GOD 对葡萄糖氧化的催化作用很弱(图 5C). 充分说明了 Fc 作为电子转移中间体改善酶活性中心与电极间的电子传递作用. 另一方面,

图 5 GOD/CNTs- β -CD-Fc 电极(A), GOD/CNTs-Fc 电极(B)和 GOD/CNTs- β -CD 电极(C)在含 $50 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖(a)和不含葡萄糖(b)的 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS 缓冲液(pH 7.0)中的 CV 曲线; 扫速: $10 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$
Figure 5 Cyclic voltammograms of the GOD/CNTs- β -CD-Fc (A), GOD/CNTs-Fc (B) and GOD/CNTs- β -CD (C) electrodes in $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS (pH 7.0) buffer solutions with $50 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ glucose (a) and without any glucose (b) at $10 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$

GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC 电极对葡萄糖催化氧化性能明显优于 GOD/CNTs-Fc/GC 电极, 表明 β -CD 修饰的 CNTs 对 Fc 的固定化具有很好的促进作用. 主要原因可能是 β -CD 容易与 Fc 形成 1:1 的主客体包合物, 即每一个 β -CD 能够包含一个 Fc 分子, 在 ao-CNTs 表面修饰大量 β -CD 能够在很大程度上增加 Fc 的负载量; 同时 β -CD 是一种生物相容性极好的生物材料, 更有利于维持酶在电极表面的活性. 值得注意的是, 本文中 GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC 电极的 Δi 是已知文献^[29]报道 ($0.25 \text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$, 扫速为 $10 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$, 葡萄糖浓度为 $100 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 同为把 Fc 固定在电极上)的 1.26 倍. 这表明利用 β -CD 修饰的 CNTs 来固定 Fc 能明显促进 GOD 催化葡萄糖氧化性能, 在 EBFC 中将有很好的应用前景.

图 6A 是 GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC 电极(a)和 GOD/CNTs-Fc/GC 电极(b)在含 $50 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖的 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS (pH 7.0)中的线性扫描伏安(LSV)曲线. 从图 6 中可以看出从 0.10 V (vs. SCE)开始发生明显的 GOD 对葡萄糖的催化氧化反应, 然后反应渐渐趋向缓和, 甚至达到平台. 这表明 GOD 催化葡萄糖氧化反应受葡萄糖溶液的扩散控制, 这与文献^[30]报道一致. 同时, 在 0.4 V 处, GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC 电极的电流密度为 $0.0884 \text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$, 是 GOD/CNTs-Fc/GC 电极 ($0.0271 \text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$)的 3.2 倍, 这与 CV 结果基本一致. 同样表明利用 β -CD 修饰的 ao-CNTs 来固定 Fc 能明显促进 GOD 催化葡萄糖氧化性能. 另一方面, 利用长时间循环伏安法表征了 GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC 电极(a)和 GOD/CNTs-Fc/GC 电极(b)的稳定性, 结果如图 6B 所示. 由图 6B 可以看出, GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC 电极在前 250 圈的 i_n/i_1 值(即相应圈数 CV 0.4 V 下的氧化电流密度与第一圈 CV 0.4 V 下的氧化电流密度的比值)缓慢地下降了 14.2%, 然后达到稳定状态. 然而, GOD/CNTs-Fc/GC 电极的 i_n/i_1 值在前 250 圈则只保留了起始值的 33.7%, 其稳定性明显不如 GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC 电极. GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC 电极的优越稳定性主要归因于以下原因: (1) β -CD 内腔对 Fc 的疏水性作用, 使 Fc 通过形成主客体包合结构而稳定地附着在 ao-CNTs 载体上; (2) β -CD 外表面的亲水作用及良好的生物相容性, 能够很好的维持酶在其表面的催化活性; (3)通过 GA 将 GOD 交联形成大的酶网络结构, 使得 GOD 不易泄漏流失.

同时, 我们考察了不同 pH 值对 GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC 电极电催化活性的影响. 图 7 为含有 $50 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖的 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS 缓冲液中 pH 值对 GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC 电极催化电流密度(Δi)的影响的柱状图. 从图 7 中可以看出, 该酶电极在 pH 7.0 的 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS 缓冲溶液中催化活性最高, 这与前人的报道一致^[12]. 因此实验均在此 pH 值条件下进行.

图 6 (A) GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC 电极(a)和 GOD/CNTs-Fc/GC 电极(b) 在含 50 mmol·L⁻¹ 葡萄糖的 0.1 mol·L⁻¹ PBS (pH 7.0) 中的 LSV 曲线, 扫速: 1 mV·s⁻¹; (B) GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC 电极(a)和 GOD/CNTs-Fc/GC 电极(b) 在含 50 mmol·L⁻¹ 葡萄糖的 0.1 mol·L⁻¹ PBS (pH 7.0) 中的长时间循环稳定性, 扫速: 50 mV·s⁻¹

Figure 6 (A) LSV curves of GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC (a) and GOD/CNTs-Fc/GC (b) electrodes in 0.1 mol·L⁻¹ PBS (pH 7.0) with 50 mmol·L⁻¹ glucose at 1 mV·s⁻¹. (B) The long-term cycle stability of the GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC (a), GOD/CNTs-Fc/GC (b) electrodes in 0.1 mol·L⁻¹ PBS (pH 7.0) with 50 mmol·L⁻¹ glucose at 50 mV·s⁻¹

图 7 GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC 电极的 Δi 与溶液 pH 值的关系

Figure 7 The relationship between Δi of GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC electrode and pH value

2.3 EBFC 性能测试

将 GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC 电极(a)和 GOD/CNTs-Fc/GC 电极(b)分别与 E-TEK Pt/C 阴极构建 EBFC, 并对其性能进行测试, 相应的功率密度、输出电流密度与输出电压间的关系曲线(I - V 及 P - V 曲线)如图 8 所示. 由 GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC 电极与 E-TEK Pt/C 电极组成的 EBFC 的开路电位(OCP)为 0.57 V, 短路电流密度为 0.326 mA·cm⁻², 在 0.18 V 处功率密度最大(33 μ W·cm⁻²). 而由 GOD/CNTs-Fc/GC 电极与 E-TEK Pt/C 电极组成的 EBFC 的 OCP 为 0.38 V, 短路电流密度为 0.137 mA·cm⁻², 在 0.16 V 处功率密度最大(11.7 μ W·cm⁻²). 由此可见, 无论是输出功率还是开路电位等, GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC 电极构成的 EBFC 的性能比 GOD/CNTs-Fc/GC 电极构成的 EBFC 都要好, 获得的最大输出功率也优于已报道的一些葡萄糖/氧气 EBFC 的性能^[28,31,32].

图 8 GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC (a)和 GOD/CNTs-Fc/GC 电极(b)与 E-TEK Pt/C 阴极构成的 EBFC 的电流-电压曲线和功率-电压曲线. 扫描速度, 1 mV·s⁻¹

Figure 8 The current-potential and power density-potential results of EBFCs based on the GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC (a) and GOD/CNTs-Fc/GC (b) bioanodes. Scan rate, 1 mV·s⁻¹

图 9 是利用开路电位的稳定性来评估 GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC 电极与 E-TEK Pt/C 电极构成的 EBFC 的稳定性, 从图中可以看出, 在连续工作 9 h 后, 该电池仍保持 92% 以上的开路电位, 优于已报道的相关工作^[33,34], 表明该电池具有优异的连续工作稳定性.

3 结论

利用 β -CD 与 ao-CNTs 之间的范德华力作用, 实现 ao-CNTs 的 β -CD 功能化; 利用 β -CD 的疏水内腔来包合疏水的 Fc, 形成稳定的 β -CD-Fc 主客体包合物. 进一步将其用于 GOD 的固定, 发展了新型的 EBFC 阳极, GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC 电极. CV 结果表明: 与 GOD/CNTs-Fc/GC 电极(0.134 mA·cm⁻²)和 GOD/CNTs- β -CD/GC 电极(0.013 mA·cm⁻²)相比, GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC

图9 GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC 阳极与 E-TEK Pt/C 阴极构成的 EBFC 的稳定性

Figure 9 The stability of the developed EBFC with the GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC as anode and E-TEK Pt/C/GC as cathode

GC 电极($0.422 \text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$)具有更为优异的电化学催化性能. 以 GOD/CNTs-Fc/GC 电极为酶阳极, 商业化的 E-TEK Pt/C 电极为阴极, Nafion 117 膜为隔膜, 构建的 EBFC, 在 0.18 V 处具有最大功率密度($33 \mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$). 与 GOD/CNTs-Fc/GC 电极和 E-TEK Pt/C 电极构建的 EBFC ($11.7 \mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$)相比, 其最大功率密度提高了近 3 倍. 本文所发展的 GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC 酶阳极和制备策略为构建高性能、高稳定性的葡萄糖/氧气 EBFC 提供了新的思路.

4 实验部分

4.1 酶电极的制备

GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC 酶电极的制备过程如下: 参照文献^[35]中方法对多壁碳纳米管(CNTs)进行酸化处理以增加其在水溶液中的分散性, 然后称取 400 mg β -CD 溶解在 100 mL 水中并加入 50 mg 酸化处理后的 ao-CNTs, 超声分散 2 h 、磁力搅拌 12 h 后静置过夜, 过滤, 用水洗涤, 将得到的沉淀物放入真空干燥箱中 40°C 下干燥, 获得 CNTs- β -CD. 称取 120 mg Fc 溶解于无水乙醇中, 再加入 20 mg CNTs- β -CD 复合物, 超声分散 30 min , 室温搅拌 2 天后静置过滤, 用无水乙醇洗涤, 干燥, 得到 CNTs- β -CD-Fc. 为了进行比较, 基于 CNTs 和 Fc 间的 π - π 堆积相互作用, 采用同样的方法制备了未用环糊精修饰的 CNTs-Fc 复合物.

称取 5 mg CNTs- β -CD-Fc 复合物, 超声分散于 1 mL PBS ($0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)溶液中, 然后用微量移液器移取 $200 \mu\text{L}$ CNTs- β -CD-Fc 分散液与 $100 \mu\text{L}$ GOD 溶液($10 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)混合 5 min 后加入 $100 \mu\text{L}$ $2.5 \text{ wt}\%$ GA, 4°C 下反应 2 h , 得到 GOD/CNTs- β -CD-Fc 混合液, 放入冰箱中保存待用. 为了进行比较, 依据上述方法制备了 GOD/CNTs-Fc 混合液和不含 Fc 的 GOD/CNTs- β -CD 混合液.

用 0.3 和 $0.05 \mu\text{m}$ 的 Al_2O_3 粉末将直径为 3 mm 的 GC 电极抛光至镜面, 再用超纯水和无水乙醇超声清洗, 氮气吹干待用. 用微量移液器分别移取 $7 \mu\text{L}$ GOD/CNTs- β -CD-Fc, GOD/CNTs-Fc 或 GOD/CNTs- β -CD 混合液涂滴到电极表面, 放入冰箱中 4°C 下干燥, 制得 GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC, GOD/CNTs-Fc/GC 或 GOD/CNTs- β -CD/GC 电极. 电极在测试之前用超纯水浸洗, 以洗脱未固定的酶.

4.2 材料表征及酶电极对葡萄糖氧化的电催化性能测试

通过傅里叶变换红外光谱仪(FT-IR, Nicolet 6700), 同步热分析仪(TGA, NETZSCH STA 409PC)和透射电子显微镜(TEM, JEM-2100F)对所制备的材料进行了表征.

采用传统三电极体系, 以酶电极为研究电极, Pt 丝为辅助电极, 饱和甘汞电极(SCE)为参比电极, 在 CHI 660D 电化学工作站(上海辰华)上, 采用 CV 和 LSV 方法研究了 GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC, GOD/CNTs-Fc/GC 和 GOD/CNTs- β -CD/GC 电极在 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS (pH 7.0) 中对葡萄糖氧化的电催化性能. 整个电化学测试过程在 $25\pm 2^\circ\text{C}$ 下进行.

4.3 EBFC 的构建及测试

用微量移液器移取 $5 \mu\text{L}$ E-TEK Pt/C ($4 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)涂滴在预处理好的 GC 电极表面, 室温下干燥, 得到 E-TEK Pt/C 电极. 然后, 我们将 GOD/CNTs- β -CD-Fc/GC 电极(或 GOD/CNTs-Fc/GC 电极)浸泡在含有 $50 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖的 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS (pH 7.0)中, 作为 EBFC 的酶阳极; 将上述制备的 E-TEK Pt/C 电极浸泡在氧气饱和的 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS (pH 1.0)中, 作为 EBFC 的阴极, 两电极之间用 Nafion 117 膜隔开, 构建了葡萄糖/氧气 EBFC. 采用 LSV 法和开路电位监测分别评估了所构建 EBFC 的输出电流、功率特性和稳定性.

References

- [1] Arechederra, R.; Minteer, S. D. *Electrochim. Acta* **2008**, *53*, 6698.
- [2] Cooney, M. J.; Svoboda, V.; Lau, C.; Martin, G.; Minteer, S. D. *Energy Environ. Sci.* **2008**, *1*, 320.
- [3] Davis, F.; Higson, S. P. *Biosens. Bioelectron.* **2007**, *22*, 1224.
- [4] Rasmussen, M.; Ritzmann, R. E.; Lee, I.; Pollack, A. J.; Scherson, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 1458.
- [5] Zebda, A.; Gondran, C.; Le Goff, A.; Holzinger, M.; Cinquin, P.; Cosnier, S. *Nat. Commun.* **2011**, *2*, 370.
- [6] Osman, M. H.; Shah, A. A.; Walsh, F. C. *Biosens. Bioelectron.* **2011**, *26*, 3087.
- [7] Rubenwolf, S.; Kerzenmacher, S.; Zengerle, R.; von Stetten, F. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2011**, *89*, 1315.
- [8] Mano, N.; Mao, F.; Heller, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12962.
- [9] Liu, Y.; Dong, S. J. *Biosens. Bioelectron.* **2007**, *23*, 593.
- [10] Wei, W.; Li, P. P.; Li, Y.; Cao, X. D.; Liu, S. Q. *Electrochem. Commun.* **2012**, *22*, 181.
- [11] Bunte, C.; Prucker, O.; König, T.; Rühe, J. R. *Langmuir* **2009**, *26*, 6019.
- [12] Liu, J.; Zhang, X. H.; Pang, H. L.; Liu, B.; Zou, Q.; Chen, J. H. *Biosens. Bioelectron.* **2012**, *31*, 170.
- [13] Willner, I. *Science* **2002**, *298*, 2407.

- [14] Zhang, H. C.; Liu, Z. N.; Xin, F. F.; Hao, A. *Chin. J. Org. Chem.* **2012**, 32, 30. (张华承, 刘召娜, 辛飞飞, 郝爱友, 有机化学, **2012**, 32, 30.)
- [15] Wang, X. L.; Zhang, G. R.; Shi, X. W.; Sun, T. L. *Chem. J. Chin. Univ.* **2000**, 21, 1383. (王晓蕾, 张国荣, 史兴旺, 孙天麟, 高等学校化学学报, **2000**, 21, 1383.)
- [16] Dong, S. J.; Zhang, D. B. *Acta Chim. Sinica* **1988**, 46, 335. (董绍俊, 张东波, 化学学报, **1988**, 46, 335.)
- [17] Sun, T.; Li, J. Y.; Hao, A. *Chin. J. Org. Chem.* **2012**, 32, 2054. (孙涛, 李建业, 郝爱友, 有机化学, **2012**, 32, 2054.)
- [18] Yong, G. P.; Li, G. S.; Zheng, F.; Zhou, H. S. *Chem. J. Chin. Univ.* **2000**, 21, 1124. (雍国平, 李光水, 郑飞, 周会舜, 高等学校化学学报, **2000**, 21, 1124.)
- [19] Zhou, D. X.; Sun, T.; Deng, W. *Chin. J. Org. Chem.* **2012**, 32, 239. (周冬香, 孙涛, 邓维, 有机化学, **2012**, 32, 239.)
- [20] Chen, S. Y.; Zhou, X. T.; Ji, H. B. *Chin. J. Org. Chem.* **2012**, 32, 686. (陈韶云, 周贤太, 纪红兵, 有机化学, **2012**, 32, 686.)
- [21] Luong, J. H.; Brown, R. S.; Schmidt, P. M. *J. Mol. Recognit.* **2004**, 8, 132.
- [22] Zheng, L. Z.; Xiong, L. Y.; Li, J. H.; Li, X. J.; Sun, J.; Yang, S. M.; Xia, J. *Electrochem. Commun.* **2008**, 10, 340.
- [23] Zhao, Y.; Hong, B.; Fan, L. Z. *Acta Chim. Sinica* **2013**, 71, 239. (赵越, 洪波, 范楼珍, 化学学报, **2013**, 71, 239.)
- [24] Wang, Z. H.; Wang, Y. M.; Luo, G. A. *Analyst* **2002**, 127, 1353.
- [25] Zhu, G. B.; Zhang, X.; Gai, P. B.; Zhang, X. H.; Chen, J. H. *Nanoscale* **2012**, 4, 5703.
- [26] Xu, Y. Q.; Tang, J. M.; Zhou, Q.; Qin, Z.; Sun, S. Q. *Chin. J. Anal. Chem.* **2003**, 31, 590. (徐永群, 汤俊明, 周群, 秦竹, 孙素琴, 分析化学, **2003**, 31, 590.)
- [27] Fan, R. L.; Bian, Z. X.; Li, B. G. *Spectrosc. Spect. Anal.* **2003**, 23, 866. (范瑞兰, 边占喜, 李保国, 光谱学与光谱分析, **2003**, 23, 866.)
- [28] Yu, C. M.; Yen, M. J.; Chen, L. C. *Biosens. Bioelectron.* **2010**, 25, 2515.
- [29] Tamaki, T.; Yamaguchi, T. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2006**, 45, 3050.
- [30] Zhao, H. Y.; Zhou, H. M.; Zhang, J. X.; Zheng, W.; Zheng, Y. F. *Biosens. Bioelectron.* **2009**, 25, 463.
- [31] Tan, Y. M.; Deng, W. F.; Li, Y. Y.; Huang, Z.; Meng, Y.; Xie, Q. J.; Ma, M.; Yao, S. Z. *J. Phys. Chem. B* **2010**, 114, 5016.
- [32] Liu, C.; Alwarappan, S.; Chen, Z. F.; Kong, X. X.; Li, C. Z. *Biosens. Bioelectron.* **2010**, 25, 1829.
- [33] Rincón, R. A.; Lau, C.; Luckarift, H. R.; Garcia, K. E.; Adkins, E.; Johnson, G. R.; Atanasov, P. *Biosens. Bioelectron.* **2011**, 27, 132.
- [34] Tanne, C.; Göbel, G.; Lisdorf, F. *Biosens. Bioelectron.* **2010**, 26, 530.
- [35] Deng, C. Y.; Chen, J. H.; Chen, X. L.; Xiao, C. H.; Nie, L. H.; Yao, S. Z. *Biosens. Bioelectron.* **2008**, 23, 1272.

(Qin, X.)