

基于功能化边缘改性石墨烯表面修饰的葡萄糖 电化学生物传感器的构筑

马晓楠¹, 孙敢超¹, 魏晓博¹, 黄理本², 史培明², 刘慧燕^{1*}, 方海田^{1*}

(1. 宁夏大学食品科学与工程学院, 宁夏银川 750021) (2. 慧传科技(珠海)有限公司, 广东珠海 519060)

摘要: 为了实现对葡萄糖的快速、高灵敏检测, 该研究采用二维碳基纳米材料功能化边缘改性石墨烯(FG)作为导电载体, 葡萄糖氧化酶(GOx)作为生物识别分子, 构建了检测葡萄糖的高性能电化学生物传感器(GCE/FG/GOx/CS)。实验采用循环伏安法(CV)和电流-时间曲线法(i-t), 探讨了GCE/FG/GOx/CS电极的电化学传感性能。结果表明, 该传感电极具有良好的电传感性能, 对葡萄糖具有较高的检测灵敏度($46.85 \mu\text{A} \cdot \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{cm}^{-2}$)和较宽的线性检测范围($0.05 \sim 1.60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), 检测限低至 $2.37 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。此外, 该电极还具有良好的选择性、重现性($n=7$, 相对标准偏差RSD=2.05%)、循环稳定性和贮存稳定性(一周后响应电流保持率为97.09%)。用于实际饮料样品中葡萄糖含量的测定, 其加标回收率为98.5%~104.4%。该方法操作简便、选择性好、灵敏度高, 为实现食品中葡萄糖含量的快速检测提供了理论依据。

关键词: 生物传感器; 电化学分析; 葡萄糖; 改性石墨烯

文章编号: 1673-9078(2026)4-303-312

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.4.0211

Construction of an Electrochemical Biosensor for Glucose Based on Functionalized Edge-modified Graphene Surface Modification

MA Xiaonan¹, SUN Ganchao¹, WEI Xiaobo¹, HUANG Liben², SHI Peiming², LIU Huiyan^{1*}, FANG Haitian^{1*}

(1. School of Food Science and Engineering, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

(2. Huichuan Technology (Zhuhai) Co. Ltd., Zhuhai 519060, China)

Abstract: To achieve rapid and highly sensitive detection of glucose, two-dimensional carbon-based nanomaterials functionalized edge-modified graphene (FG) were used as a conductive carrier and glucose oxidase (GOx) as a biorecognition molecule to construct a high-performance electrochemical biosensor for glucose detection (GCE/FG/GOx/CS). The electrochemical sensing performance of GCE/FG/GOx/CS electrodes was investigated using cyclic voltammetry and time-current methods. The sensing electrodes showed good electrochemical performance, high sensitivity ($46.85 \mu\text{A} \cdot \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{cm}^{-2}$), and a wide linear detection

引文格式:

马晓楠, 孙敢超, 魏晓博, 等. 基于功能化边缘改性石墨烯表面修饰的葡萄糖电化学生物传感器的构筑[J]. 现代食品科技, 2026, 42(4): 303-312.

MA Xiaonan, SUN Ganchao, WEI Xiaobo, et al. Construction of an electrochemical biosensor for glucose based on functionalized edge-modified graphene surface modification [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(4): 303-312.

收稿日期: 2025-02-18; 修回日期: 2025-04-07; 接受日期: 2025-04-09

基金项目: 研究生科技创新项目(CXXM2024-29); 珠海市产学研合作项目(NO.2220004002701); 宁夏回族自治区重点研发计划项目(2024BEE02021); 银川市科技计划项目(2023NYHZC01)

作者简介: 马晓楠(1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 电化学生物传感器性能研究, E-mail: maxiaonanxw@163.com

通讯作者: 刘慧燕(1977-), 女, 硕士, 副教授, 研究方向: 食品加工与储藏、果蔬采后生物学与保鲜技术、农产品生物加工技术, E-mail: liuhy@nxu.edu.cn; 共同通讯作者: 方海田(1978-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品生物技术、微生物资源开发与利用、健康食品生物制造, E-mail: fanght@nxu.edu.cn

range (0.05~1.60 mmol·L⁻¹) for glucose, with a detection limit as low as 2.37 μmol·L⁻¹. In addition, the electrode showed good selectivity, reproducibility ($n=7$, relative standard deviation RSD=2.05%), cycling stability, and storage stability (97.09% retention of response current after one week). The recoveries were 98.5%~104.4% for glucose determination in actual beverage samples. The method is simple, highly selective, and sensitive, providing a theoretical basis for the rapid detection of glucose content in food.

Key words: biosensors; electrochemical analysis; glucose; modified graphene

在过去几年中,临床诊断、制药研究和食品行业质量监测的发展突显了对快速准确检测葡萄糖浓度的更有效方法的需求^[1]。在食品工业领域中,由于全球经济一体化,确保食品的安全和质量已成为人们关注的重要问题。葡萄糖是食品的重要水解产物,其浓度大小可作为质量和过程控过程中酵母的底物^[2]。目前,测定葡萄糖的方法有高效液相法、气相色谱法、分光光度比色法、电化学分析法等,其中,电化学分析法因其反应快、准确度高、成本低、便携性好等诸多优点而被广泛应用于葡萄糖检测中^[1,3]。该方法一般是通过在电极表面修饰葡萄糖氧化酶(Glucose Oxidase, GOx)获得对目标分析物具有优异选择性和高灵敏度的葡萄糖生物传感器,但由于GOx直接接触修饰电极会导致酶的活性降低,并且酶的电催化活性中心处于大分子内部,会影响电子转移速度^[3,4]。因此,需要选择一种具有良好生物相容性的纳米材料用于修饰电极表面,增加电极表面积,使得电极表面与酶的结合位点增多,进一步提高传感器的灵敏度^[5]。

石墨烯(Graphene, GR)是最主要的碳基纳米材料,由单层碳原子组成,呈蜂窝状晶格结构^[6,7]。这种材料是由研究人员Geim和Novoselov于2004年开发出来的^[5-9]。因其结构独特,比表面积大,生物相容性好,电学特性优异,对内/外化学物理刺激的反应能力强,在生物传感领域中处于材料科学的前沿,显示出巨大的潜力^[8,9]。但是,石墨烯片层之间的范德华力过强,导致其极易在自身的 π - π 作用下发生堆叠或团聚,从而难以在溶剂中均匀、稳定地分散,这限制了石墨烯的优良性能^[10]。因此,在不牺牲石墨烯结构完整性的情况下对石墨烯进行改性是获得具有良好生物相容性石墨烯材料的一种优异的方法。通过在石墨烯的边缘引入官能团,可以在保持石墨烯主体结构完整的同时赋予石墨烯新的特性。Bake等^[11]使用石墨粉末作为原材料,使用液体球磨技术制备边缘改性的石墨烯。将石墨粉末球磨并剥离成石墨烯片,同时由于高边缘反应性,在新鲜剥离的石墨烯的边缘处化学氧化。这些边缘修饰的石墨烯表现出良好的分散稳定性、高导电性和令人满意的电化学性能,在柔性传感器、抗静电薄膜等许多领域具有实际应用价值^[12]。然而,石墨的

球磨剥离和石墨烯的氧化同时进行,不可避免地导致质量不可控以及尺寸和厚度的高度离散。因此,以可控的方式制备高质量的具有高导电性的边缘修饰的石墨烯仍然具有挑战性。

该研究目的是研制一种高性能的石墨烯电极(GCE/FG/GOx/CS),该电极具有快速的电子转移能力,可用于高灵敏度的葡萄糖检测。在该研究中,首先采用了一种简单、可控的方法制备了分散稳定性好、电导率高的功能化边缘改性石墨烯(Edge-modified Graphene, FG)。以商业化的高导电性多层石墨烯为前驱体,通过机械破碎在石墨烯边缘引入活性位点,为后续的氧化处理提供了条件,然后在温和的介质中通过控制氧化制备了边缘改性石墨烯。然后,将制备出来的边缘改性石墨烯修饰在玻碳电极(Glassy Carbon Electrode, GCE)表面,提高了电极的电子转移能力。最后,将GOx滴涂在修饰电极上,构建了一种具有快速电子转移能力的石墨烯电极(GCE/FG/GOx/CS)。在这种传感电极中,GOx作为生物识别分子,FG作为表面修饰载体,壳聚糖(CS)作为外保护膜。最后,对该电极进行了详细的电化学性能研究之后,发现该修饰电极具有较宽的线性范围、较低的检测限和高的检测灵敏度。

1 材料与方法

1.1 原料

葡萄糖、果糖、乳糖、盐酸(Hydrochloric Acid, HCl)、65 wt.%硝酸(Nitric Acid, HNO₃)、氢氧化钠(Sodium Hydroxide, NaOH)、氯化钠(Sodium Chloride, NaCl)、高锰酸钾(Potassium Permanganate, KMnO₄)、氯化钾(Potassium Chloride, KCl)、磷酸二氢钠(Sodium Dihydrogen Phosphate, NaH₂PO₄)、磷酸氢二钠(Dibasic Sodium Phosphate, Na₂HPO₄)、壳聚糖(Chitosan, CS)、柠檬酸(Citric Acid, CA)、抗坏血酸(Ascorbic Acid, AA)和尿酸(Uric Acid, UA),购自中国国药集团化学试剂有限公司;葡萄糖氧化酶(Glucose Oxidase, GOx),购自中国北京索莱宝科技有限公司;高导电石墨烯粉末(High Conductivity Graphene Powder, HE-1),购于中国德阳碳烯科技有限

公司。支持电解质为含 0.1 mol·L⁻¹ KCl 的磷酸盐缓冲溶液 (Phosphate Buffered Solution, PBS) (pH 值 7.0)。

1.2 主要仪器设备

CHI-660E 电化学工作站, 中国上海辰华仪器有限公司; Thermofisher Nexsa X 射线光电子能谱仪, 赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司; Nicolet iS50 傅立叶变换红外光谱仪, 赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司。ZEISS Sigma300 扫描电子显微镜 (SEM), 中国卡尔蔡司股份有限公司; U8010/JEOL JEM-F200 透射电子显微镜 (TEM), 日本日立公司。

1.3 实验方法

1.3.1 功能性边缘改性石墨烯的制备

FG 采用化学边缘功能化法制备^[10], 具体方法如下: 将 5 g HE-1 装入高速通用粉碎机, 间隔粉碎 5 min (重复 4 次), 制备出小尺寸石墨烯 (Smashed Graphene, SG)。然后, 将 0.5 g SG 和 0.1 g KMnO₄ 依次加入到 100 mL 质量分数 65% (m/m) HNO₃ 溶液中, 并在 50 °C 下磁力搅拌 24 h 进行化学氧化, 以确保石墨烯薄片层的均匀氧化。得到的产物在 8 000 r·min⁻¹ 转速下离心 10 min, 离心后的沉淀物用去离子水多次冲洗以去除残留的 KMnO₄ 和酸, 随后在 70 °C 的真空干燥箱中彻底干燥 24 h, 最后制得了完全氧化的 FG。

1.3.2 葡萄糖电化学生物传感器的制备

GCE 基底电极使用氧化铝浆料 (粒度: 50 nm) 在麂皮上打磨 5 min, 对电极表面进行物理清洁。然后, 用去离子水冲洗电极, 冲洗完毕后在 1:1 (V/V) 乙醇 / 水溶液中进行超声处理, 以清除附着在电极表面的氧化铝颗粒, 最后将其干燥以备进一步使用。下一步,

首先配制 5 mL 0.02 wt.% CS (1 wt.% 乙酸溶液) 溶液, 然后, 加入 20 mg 的 FG, 超声波分散 1 h, 得到均匀的混合物。制备电极时, 在 GCE 电极表面滴 10 μL FG 溶液, 在室温下干燥。最后, 取 10 μL GOx 滴涂在 GCE/FG 电极上, 待其干燥后在 GCE/FG/GOx 电极表面滴加 10 μL 0.5 wt.% CS, 形成均匀的保护层。得到碳基改性电极 GCE/FG/GOx/CS, 如图 1 所示。

1.3.3 电化学测试

工作电极的 CV 曲线是在 5 mmol·L⁻¹ K₃[Fe(CN)₆]/K₄[Fe(CN)₆] 的 0.1 mol·L⁻¹ KCl 溶液中获得, 电位范围为 -0.2~0.8 V, 扫描速度为 50 mV·s⁻¹。葡萄糖电化学响应的测量电位设定在 -0.8 V 和 0 V 之间。传感器的动力学表征通过 CV 进行, 扫描速率设定为 25、50、75、100、125、150、175 和 200 mV·s⁻¹, 测量电位设为 0.45 V。具体来说, 采用 i-t 法评估 GCE/FG/GOx/CS 电极的线性电流响应, 即每隔 50 s 向氧气饱和的 0.1 mol·L⁻¹ PBS (pH 值 7.0) 溶液中滴加一定体积的 20 mmol·L⁻¹ 葡萄糖溶液, 同时以 300 r·min⁻¹ 的恒速搅拌 PBS 溶液。

根据 i-t 结果拟合 GCE/FG/GOx/CS 传感电极的线性方程, 确定线性检测范围, 并根据公式 (1)、(2) 进一步计算传感器的灵敏度 (S) 和检测限 (LOD)^[13,14]。

$$S = \frac{i}{A}$$
(1)

$$LOD = \frac{k \times S_b}{i}$$
(2)

式中:
i——传感器线性方程的斜率;
A——电极的表面积 (7.065 mm²);
S_b——十组空白 PBS 溶液电信号的标准偏差;
k——置信水平, k=3。

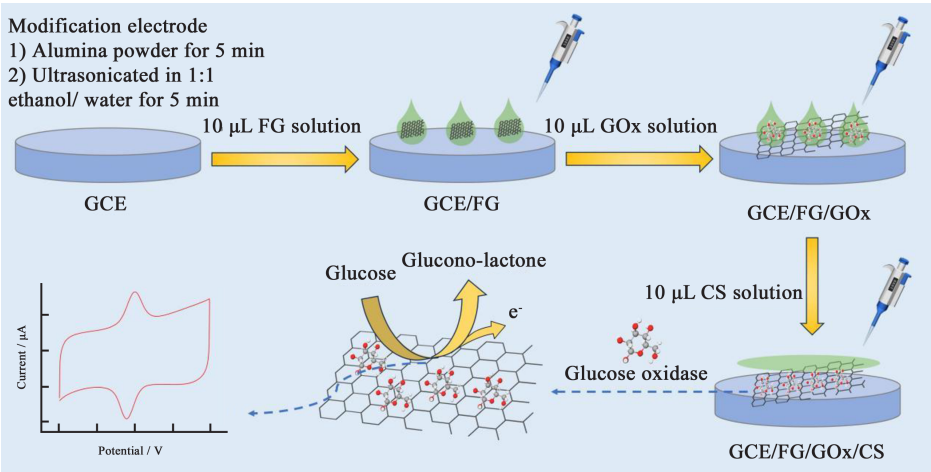


图 1 GCE/FG/GOx/CS 电化学生物传感器的制备示意图

Fig.1 Schematic of the preparation of GCE/FG/GOx/CS electrochemical biosensors

1.3.4 数据分析

数据采用 Origin 2023 (美国 OriginLab 有限公司) 进行数据分析和绘图处理。

2 结果与讨论

2.1 表征材料

使用 SEM 和 TEM 对功能化边缘改性石墨烯 FG 的形态进行了研究。见图 2a~2c, FG 表层在 1 μm 、500 nm 和 200 nm 放大倍率下的 SEM 图像显示出显著的二维褶皱片层结构, 这种结构降低了表面自由能并使其稳定^[15]。图 2d~2f 中的 TEM 图像则更清晰地显示了 FG 内部的透明薄层结构, 这一结果与 GO 的电子显微镜结果相似, 证明了 FG 作为 GR 衍生物的成功合成。值得注意的是, 修饰后的 FG 具有优异的快速电子传递能力和较高的结构完整性, 使其能够平铺在 GCE 电极表面^[12]。这种结构有利于通过范德华力与电极建立牢固的连接, 增强 GCE/FG/GOx/CS 电极对葡萄糖的电化学响应^[16]。

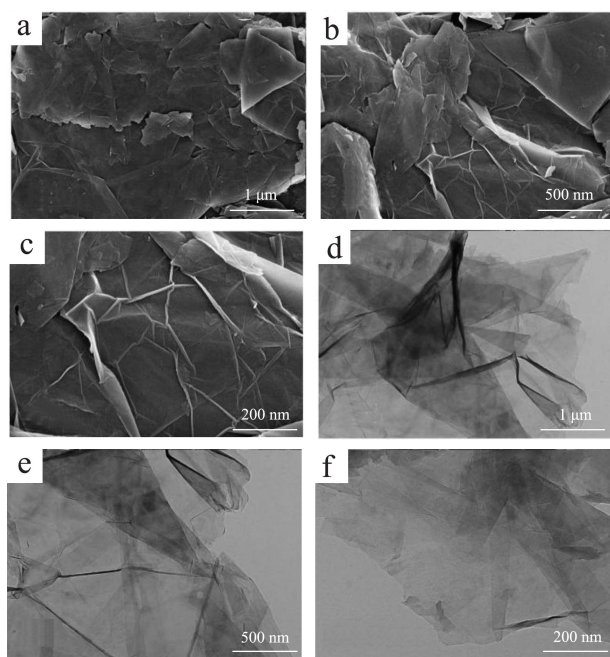
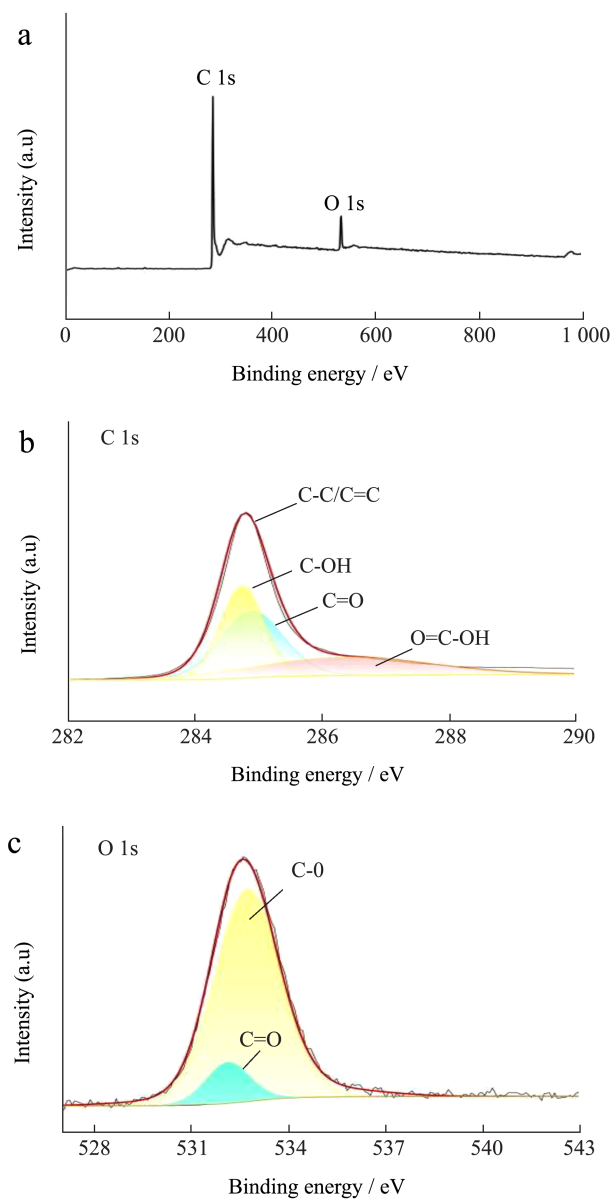


图 2 FG 的 SEM 电子显微镜照片 (a、b、c) 和 TEM 电子显微镜照片 (d、e、f)

Fig.2 SEM electron micrographs (a, b, c) and TEM electron micrographs (d, e, f) of FG

使用 XPS 技术分析了 FG 的元素组成和官能团变化。如图 3a 中的 XPS 全谱所示, FG 主要由 C 和 O 元素组成, 表明 FG 具有丰富的含氧官能团。从图 3b 中的 C1s 反向卷积谱可以看出, 官能团 C-C/

C=C、C-OH、C=O 和 O=C-OH 分别对应于 C1s 反向卷积谱中 284.8、285.9、287.3 和 289.1 eV 处的结合能。O1s 反向卷积谱中的官能团 C-O 和 C=O 如图 3c 所示。从 C1s 和 O1s 的 XPS 反向卷积光谱可以看出, FG 中含有大量典型的化学官能团 (如羧基和羟基等), 这些含氧官能团的存在使 GOx 能够有效地吸附在电极表面, 从而实现对葡萄糖的高性能传感^[17,18]。FG 的傅立叶变换红外光谱见图 3d, 在 1 048 cm^{-1} 和 1 630 cm^{-1} 处有典型的特征峰, 这是由于 C-O 和 C=C 键的伸缩振动所致。此外, 含氧官能团在 1 385 cm^{-1} (C-O-C)、1 575 cm^{-1} (C-O-H) 和 1 730 cm^{-1} (C=O) 处的伸缩振动导致曲线吸收峰发生变化, 这与文献报道的改性石墨烯的傅立叶变换红外光谱分析结果一致, 再次证明了 FG 的成功合成^[12,19]。



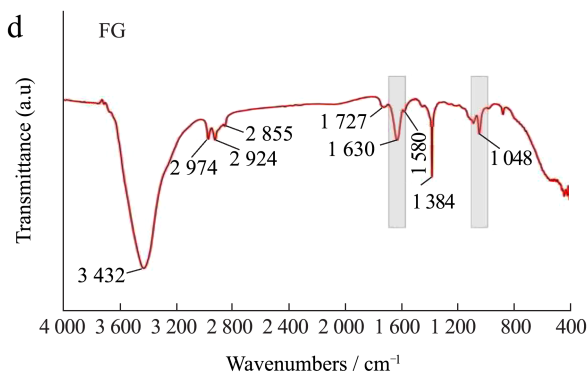


图3 FG 表征图

Fig.3 FG characterization diagram

注：注：(a) FG 的 XPS 全光谱；(b) 相应化学成分的 C1s 光谱；(c) 相应化学成分的 O1s 光谱；(d) FG 的傅立叶变换红外光谱。

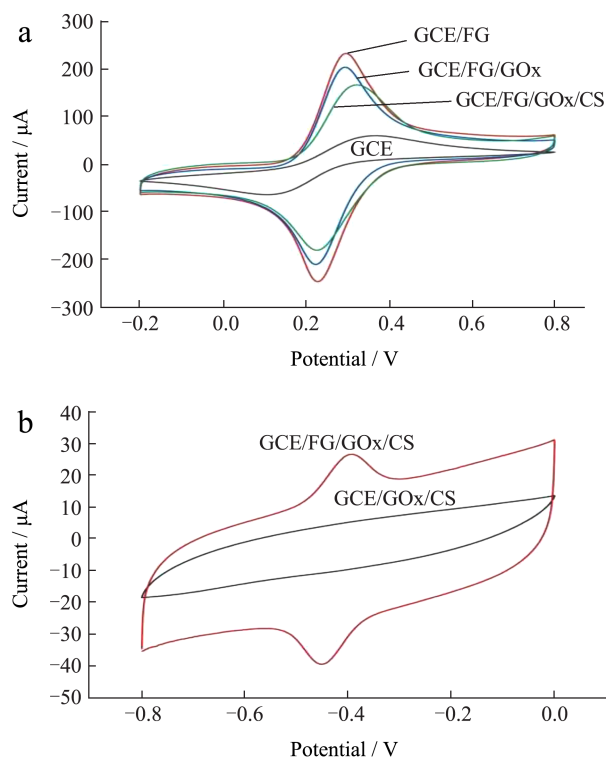


图4 不同修饰电极的 CV 图

Fig.4 CV diagrams of different modified electrodes

注：(a) 在含有 0.1 mol·L⁻¹ KCl 的 5 mmol·L⁻¹ K₃[Fe(CN)₆]/K₄[Fe(CN)₆] (1:1) 溶液中不同修饰电极的 CV 图；(b) 不同修饰电极在含有 1 mmol·L⁻¹ 葡萄糖的 0.1 mol·L⁻¹ PBS (pH 值 7.0) 溶液中的电化学响应 CV 图。

2.2 GCE/FG/GOx/CS碳基电极的电化学行为

使用循环伏安法 (CV) 对不同修饰电极的导电性

能进行了研究。如图 4a 所示，是自组装裸 GCE 电极、GCE/FG 电极、GCE/FG/GOx 电极和 GCE/FG/GOx/CS 电极在含有 0.1 mol·L⁻¹ KCl 的 5 mmol·L⁻¹ K₃[Fe(CN)₆]/K₄[Fe(CN)₆] (1:1) 溶液中的 CV 图。结果表明，裸 GCE、GCE/FG、GCE/FG/GOx 和 GCE/FG/GOx/CS 传感电极显示出典型的氧化还原峰，具有良好的导电性能。与裸 GCE 电极相比，FG 的峰值电流达到 232.3 μA，表明 FG 具有良好的导电性能，能有效提高电子转移率。相比之下，GCE/FG/GOx 和 GCE/FG/GOx/CS 的峰值电流分别降低到 203.6 和 166.4 μA，这可能是由于非导电生物大分子 GOx 和 CS 阻碍了电子的快速转移。

不同修饰电极对葡萄糖的电化学响应如图 4b 所示，GCE/GOx/CS 传感系统没有出现氧化还原峰，这可能是由于 GOx 的氧化还原活性位点 (FAD) 被深埋于导电能力不良的糖蛋白壳中，在裸 GCE 电极上无法实现直接电化学行为导致^[20]。与之相比，GCE/FG/GOx/CS 出现了一对显著的氧化还原峰，这是由于 FG 具有大量的含氧官能团和较大的比表面积，可以促进电子从 GOx 的氧化还原中心 (FAD) 到裸 GCE 电极的快速转移所致。

2.3 GCE/FG/GOx/CS传感器的条件优化

如图 5a 所示，在 FG 质量浓度为 2 mg·mL⁻¹ 条件下，研究了 GOx 质量浓度对葡萄糖电化学生物传感器的响应电流的影响。结果表明，当滴涂在传感电极上的 GOx 的质量浓度为 24 mg·mL⁻¹ 时，传感器对葡萄糖的响应电流达到最大值。随着 GOx 质量浓度的进一步增加，GCE/FG/GOx/CS 传感器的响应电流呈下降趋势。这可能是由于 GOx 是生物大分子，过多的 GOx 沉积在 GCE/FG 电极表面时阻碍电子的转移所致^[21]。因此，选择 GOx 为 24 mg·mL⁻¹ 作为实验条件。

如图 5b 所示，在 GOx 为 24 mg·mL⁻¹ 条件下，研究了 FG 质量浓度对葡萄糖电化学生物传感器的响应电流的影响。结果表明，当滴涂在传感电极上的 FG 质量浓度为 4 mg·mL⁻¹ 时，传感器对葡萄糖的响应电流达到最大值。随着 FG 质量浓度的进一步增加，GCE/FG/GOx/CS 传感器的响应电流呈下降趋势。这可能是在初始电极有效表面积固定不变的情况下，随着 FG 质量浓度的增大，电极表面的横向负载率增加，阻碍了电子的转移所致。因此，选择 FG 为 4 mg·mL⁻¹ 作为实验条件。

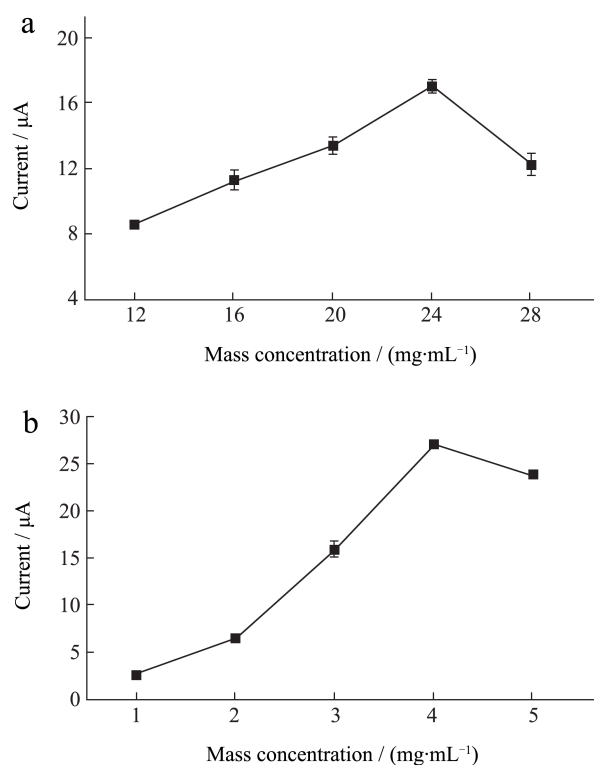


图5 GCE/FG/GOx/CS 生物传感器对 1mmol·L⁻¹ 葡萄糖的电化学响应

Fig.5 Electrochemical response of GCE/FG/GOx/CS biosensor to 1 mmol·L⁻¹ glucose

注：(a) 不同质量浓度 GOx；(b) 不同质量浓度 GOx。

如图6所示,研究了不同pH值的PBS电解质溶液对GCE/FG/GOx/CS传感电极电化学特性的影响。图6a显示,当扫描速率为50 mV·s⁻¹时,随着电解质溶液pH值的增加,阳极氧化峰(E_{pa})和阴极还原峰(E_{pc})的电位均向负电位移动,这突出表明氧化还原反应具有显著的pH值依赖性。此外,氧化峰值电流表现出先增大后减小的趋势,这可能是因为GOx的氧化还原中心(FAD)在低pH值和高pH值下结构发生变化从而导致GOx生物活性降低的影响^[22]。葡萄糖电化学生物传感器的峰值氧化反应电流在pH值为7.0时最高,因此PBS电解缓冲溶液的pH值设定为7.0。

为了进一步研究电化学反应机制,绘制了GCE/FG/GOx/CS传感电极形式电位($E^0 = E_{pa}/2 + E_{pc}/2$)与电解质溶液pH值的函数关系图。如图6b所示,在pH值为5.0~8.5的范围内, E^0 与pH值之间呈现良好的线性关系,氧化峰线性回归方程为 $E^0 = -0.0422 \text{ pH} - 0.0996$ ($R^2 = 0.996$)。计算出的斜率为-42.2 mV·pH⁻¹,与GOx中两个质子(2H⁺)和两个电子(2e⁻)参与氧化还原反应的理论值-58.6 mV·pH⁻¹接近^[22]。根据Nernstian方程可知^[23]:

$$E_p = E_0 - 0.0592 \left(\frac{m}{n} \right) \text{pH} \quad (3)$$

式中:

m ——反应过程中转移的质子数;

n ——反应过程中转移的电子数。

计算得 $\frac{m}{n} \approx 1$,这进一步表明了葡萄糖在GCE/FG/GOx/CS传感电极上的电化学反应是一个等电子和等质子过程。

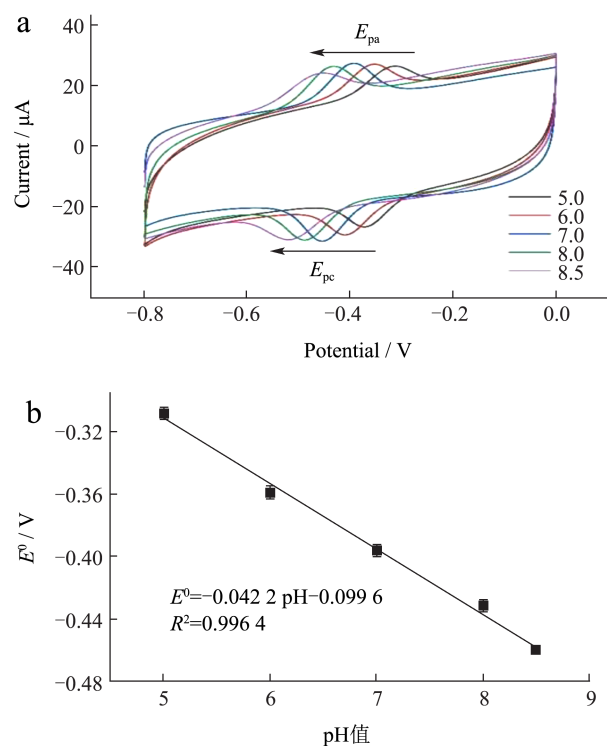


图6 GCE/FG/GOx/CS 改性电极 pH 条件优化

Fig.6 The pH conditions of GCE/FG/GOx/CS modified electrode were optimized

注：(a) GCE/FG/GOx/CS 改性电极在不同pH值的PBS溶液中的CV曲线(扫描速率为50 mV·s⁻¹);(b) 表观电位与pH值的线性关系。

2.4 GCE/FG/GOx/CS传感电极氧化还原峰值电流与扫描速率的关系

扫描速率设定为25至200 mV·s⁻¹,以研究该因素对GCE/FG/GOx/CS传感电极响应电流的影响(图7)。如图7a所示,在25~200 mV·s⁻¹范围内,随着扫描速率的增加,阳极氧化峰电位(E_{pa})和阴极氧化峰电位(E_{pc})均向相反方向轻微移动,导致 ΔE_p 从25 mV·s⁻¹时的52 mV增加到200 mV·s⁻¹时的91 mV ($\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc}$)。由于峰值电位变化极小(vs.Ag/AgCl),因此可以认为GCE/FG/GOx/CS传感电极的氧化还原反应接近于可逆反应的特征电位理论值(59/nmV),即是一种

准可逆电化学过程^[24]。图 7b 展示了氧化还原峰值电流与扫描速率之间的关系。经过调整和优化,氧化峰值电流 (I_{pa}) 和还原峰值电流 (I_{pc}) 与扫描速率之间的线性回归方程如下: $I_{pa}=0.421\ 5v+4.154\ 5$ ($R^2=0.996$), $I_{pc}=-0.423\ 9v-8.27$ ($R^2=0.996$), 表明氧化还原峰值电流与扫描速率之间呈正相关关系。表明在 GCE/FG/GOx/CS 传感电极上,葡萄糖的电化学反应受表面因素的限制^[25]。综上, GCE/FG/GOx/CS 传感电极的氧化还原反应是一种受表面控制的准可逆电化学过程。

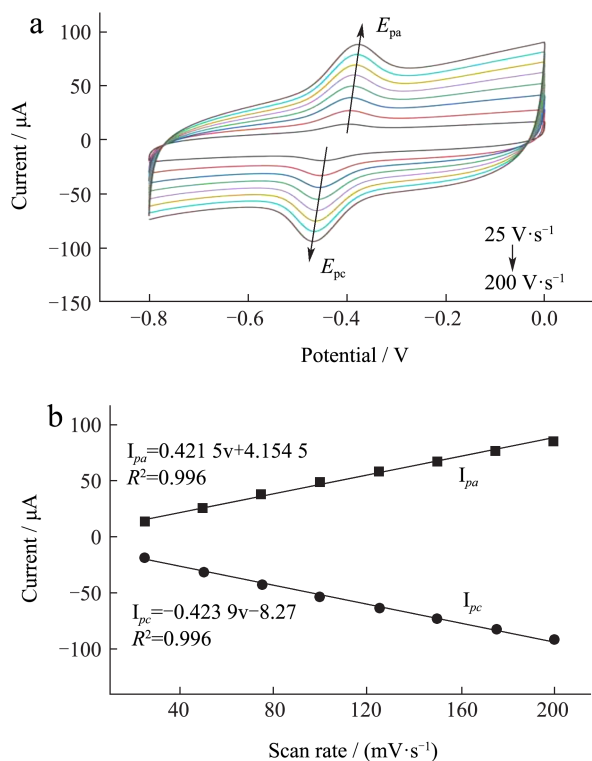


图 7 GCE/FG/GOx/CS 传感系统与扫描速率的关系

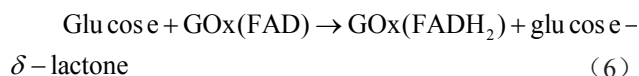
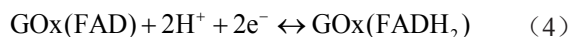
Fig.7 The relationship between GCE/FG/GOx/CS sensing system and scanning rate

注: (a) GCE/FG/GOx/CS 传感系统在 25、50、75、100、125、150、175、200 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ 不同扫描速率下的 CV 曲线; (b) CV 曲线的峰值电流与扫描速率的关系。

2.5 GCE/FG/GOx/CS 传感器在葡萄糖检测中的电催化活性

采用 i-t 法研究了 GCE/FG/GOx/CS 传感器在葡萄糖检测方面的电催化活性。如公式 (4)~(6) 所示,这一过程的特点是双向循环电催化机理。GOx 的直接电化学反应涉及有氧条件下 FAD 和 FADH_2 之间的双向循环催化反应,同时伴随着氧气消耗。向反应溶液中滴加葡萄糖后,生成的 FADH_2 会抑制式 (4),导致电流增加。因此,这一过程反映了葡萄糖与氧气的电催化相互作用,导致传感器的 i-t 曲线出现电流阶跃,

如图 8a 所示^[13,15,26]。



如图 8b 所示, GCE/FG/GOx/CS 传感系统的响应电流与葡萄糖浓度成线性关系,线性检测范围为 $0.05\sim 1.600\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 线性方程为 $I_{(\mu\text{A})}=3.31C_{\text{glucose}}-8.27$, 相关系数 $R^2=0.990$ 。由于葡萄糖浓度与电流水平呈线性相关,因此制备的碳基电极适用于检测葡萄糖。

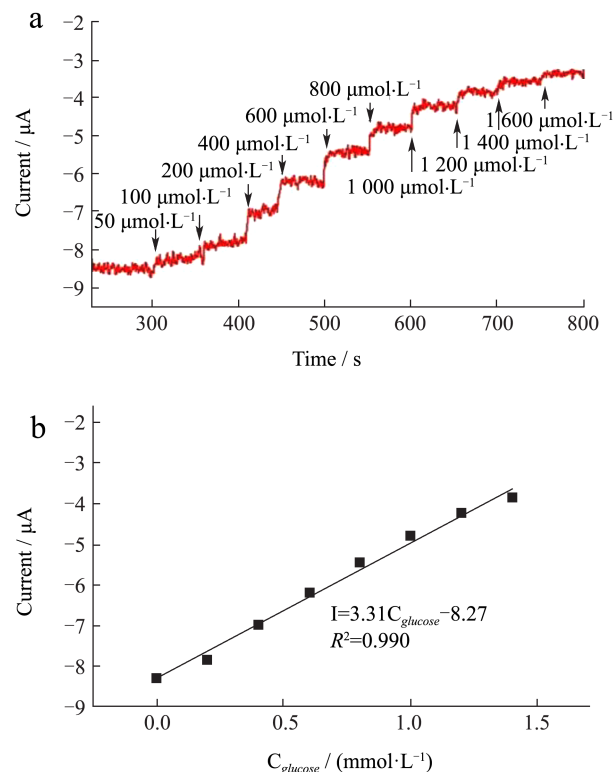


图 8 GCE/FG/GOx/CS 传感系统与葡萄糖浓度的关系

Fig.8 The relationship between GCE/FG/GOx/CS sensing system and glucose concentration

注: (a) GCE/FG/GOx/CS 传感系统在连续滴入葡萄糖溶液中的 PBS 溶液中的电流响应; (b) 电流与葡萄糖。

根据公式 (1)、(2) 计算得出 GCE/FG/GOx/CS 传感器的灵敏度和 LOD 分别为 $46.85\ \mu\text{A}\cdot\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{cm}^{-2}$ 和 $2.37\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。为了进一步验证 FG 作为构建电化学生物传感器的导电载体的传感能力,该研究将 GCE/FG/GOx/CS 传感系统与其他已报道的基于酶的葡萄糖电化学生物传感器进行了比较,如表 1 所示:

总之,该研究开发的 GCE/FG/GOx/CS 传感器具有多种优势,包括其相较于部分传感器较宽的线性范围 ($0.05\sim 1.60\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)、较低的 LOD 值 ($2.37\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)

和高的灵敏度 ($46.85\text{ }\mu\text{A}\cdot\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{cm}^{-2}$)。这些特性可能归功于 FG 材料本身的高导电性、结构完整性和大比表面积。此外, FG 和 GOx 中的大量含氧官能团促进了强大的吸附力, 这可能也是该传感器性能优异的重要原因。

2.6 传感器选择性、可重复性和稳定性测试

为了研究 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖和 $100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 电活性干扰物 (果糖、乳糖、UA、CA、AA、NaCl 和 KCl) 对 GCE/FG/GOx/CS 葡萄糖传感器选择性的影响, 进行了一项相关性研究。如图 9a 所示, 这些电

化学干扰引起的电流阶跃效应可以忽略不计, 这表明 GCE/FG/GOx/CS 传感器具有出色的选择性。测量了七个传感器在相同的条件下对 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖的电化学响应, 得出的相对标准偏差 (RSD) 为 2.05%, 显示传感器重现性良好 (如图 9b 所示)。同一传感器在 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS (pH 值 7.0) 溶液中连续进行 50 个循环的 CV 测试后, 电流响应曲线没有发生明显变化。此外, 传感器在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中存放 7 d 后, 其电化学峰值电流是第一天记录的 97.09%。这些结果表明, GCE/FG/GOx/CS 葡萄糖传感电极具有良好的循环和储存稳定性 (如图 9c、9d 所示)。

表 1 葡萄糖传感器性能比较
Table 1 Comparison of the performance of various glucose sensor

Modified electrode	Linear reaction range/(mmol·L ⁻¹)	Sensitivity/($\mu\text{A}\cdot\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{cm}^{-2}$)	LOD/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	References
GCE/ β -CD/MWCNTs/mGOx	0.05~1.15	35.44	0.27	[20]
GCE/G/MWCNTs/AuNPs/GOD	0.30~2.10	29.72	4.80	[27]
GOx/RGO/SiO ₂ /Si	0.29~3.10	0.12	52.60	[28]
rGO/GOx	1.00~25.00	11.20	320.00	[29]
GCE/RGO/MnO ₂ /GOD/Nafion	0.04~2.00	3.30	10.00	[30]
GCE/FG/GOx/CS	0.05~1.60	46.85	2.37	Current study

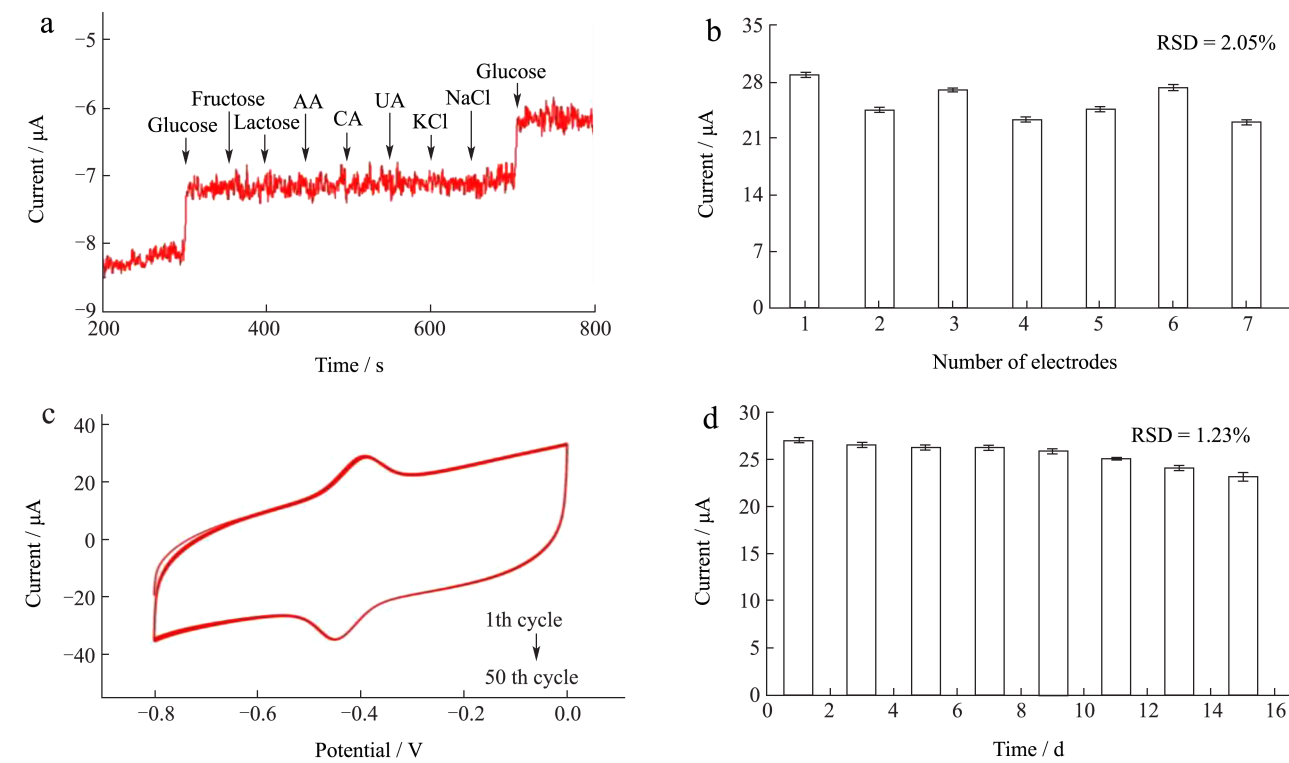


图 9 GCE/FG/GOx/CS 生物传感器的选择性、重现性、长期稳定性

Fig.9 The selectivity, reproducibility and long-term stability of GCE/FG/GOx/CS biosensor were investigated

注: (a) GCE/FG/GOx/CS 生物传感器的选择性研究; (b) 不同批次 GCE/FG/GOx/CS 传感电极的重现性; (c) GCE/FG/GOx/CS 传感器在含 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖的 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS 溶液中的循环稳定性; (d) 同一电极的长期储存稳定性。

2.7 实际样品测定

为了验证所开发的 GCE/FG/GOx/CS 生物传感器在食品分析中的实际应用, 该文采用加标回收法检测了市售饮料样品中的葡萄糖含量 (如表 2 所示)。在这项工作中, 除了用 0.1 mol·L⁻¹ PBS (pH 值 7.0) 缓冲溶液稀释外, 没有对样品进行任何预处理。样品的初始浓度由 GB 5009.8-2023 《食品中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖的测定》中的高效液相色谱法获得。结果表明, 在饮料中添加三种不同浓度的葡萄糖, 回收率分别为 104.4%、98.5% 和 102.6% ($n=3$)。综上所述, GCE/FG/GOx/CS 传感系统对实际样品中葡萄糖的测定具有良好的准确性, 有望应用于食品中葡萄糖含量的检测。

表 2 实际样品中的葡萄糖含量

Table 2 Results of glucose content in actual samples				
Sample	Initial concentration/ (mmol·L ⁻¹)	Added/ (mmol·L ⁻¹)	Determined/ (mmol·L ⁻¹)	Recovery /%
1	0.15	0.30	0.47	104.4
2	0.15	0.50	0.64	98.5
3	0.15	1.00	1.18	102.6

3 结论

该文以 GOx 作为生物识别分子, 以二维碳基纳米材料 FG 作为导电载体, 构建了一种能够进行高性能葡萄糖检测的传感电极。研究表明, GCE/FG/GOx/CS 传感电极对葡萄糖具有优异的电传感性能, 对葡萄糖检测的灵敏度为 46.85 $\mu\text{A}\cdot\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{cm}^{-2}$ 和线性检测范围 (0.05~1.60 mmol·L⁻¹), 检测限低至 2.37 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。此外该传感器还对包括葡萄糖检测具有优异的再现性和稳定性, 传感器 4 $^{\circ}\text{C}$ 储存一周后, 响应电流保持率为 97.09%。这些特性可归因于 FG 本身的高结构完整性和高导电性, 表明 FG 作为一种多功能纳米材料, 在开发高性能生物传感器, 尤其是在实际样品检测的工业应用方面具有巨大潜力。

参考文献

[1] CHEN R, GUO C, LAN G, et al. Highly sensitive surface plasmon resonance sensor with surface modified MoSe₂/ZnO composite film for non-enzymatic glucose detection [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2023, 237: 115469.

[2] EMA G, JOSIP R, BOSTJAN G, et al. Highly sensitive and selective graphene nanoribbon based enzymatic glucose screen-printed electrochemical sensor [J]. Sensors, 2022, 22(24): 9590-9590.

[3] MEENAKSHI P, PARTEEK P, KATJA V, et al. Enzyme modified CNTs for biosensing application: opportunities and challenges [J].

Colloid and Interface Science Communications, 2021, 44: 100506.

[4] SIMONA Z D, MAILA B, ALICE S, et al. Glucose micro-biosensor for scanning electrochemical microscopy characterization of cellular metabolism in hypoxic microenvironments [J]. Bioelectrochemistry, 2023, 150: 108343.

[5] SUN G C, WEI X B, ZHANG D P, et al. Immobilization of enzyme electrochemical biosensors and their application to food bioprocess monitoring [J]. Biosensors, 2023, 13(9): 886.

[6] BITA B, ZHENG Y, ANTHONY V, et al. Recent advances in atomic metal doping of carbon-based nanomaterials for energy conversion [J]. Small, 2017, 13(21): 1700191.

[7] RAVINDER K, SANDEEP A, YOUNG S J, et al. Review—recent advances in carbon nanomaterials as electrochemical biosensors [J]. Journal of the Electrochemical Society, 2020, 167(3): 037555.

[8] EDEN M, LUIS B, ALEJANDRO Z, et al. Graphene-based biosensors: going simple [J]. Advanced Materials, 2017, 29(7): 1604905.

[9] ABDULAZEEZ T L. Progress in utilisation of graphene for electrochemical biosensors [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2018, 106: 149-178.

[10] FANG M, HAO Y, YING Z, et al. Controllable edge modification of multi-layer graphene for improved dispersion stability and high electrical conductivity [J]. Applied Nanoscience, 2019, 9(4): 469-477.

[11] BAEK Y J, JEON I, BAEK J. Edge-iodine/sulfonic acid-functionalized graphene nanoplatelets as efficient electrocatalysts for oxygen reduction reaction [J]. Journal of Materials Chemistry, A. Materials for Energy and Sustainability, 2014, 2(23): 8690-8695.

[12] YING T, ZHANG X C, ZHANG H G, et al. Carbon nanotube/polyurethane films with high transparency, low sheet resistance and strong adhesion for antistatic application [J]. RSC Advances, 2017, 7(83): 53018-53024.

[13] HAO Y, FANG M, XU C, et al. A graphene-laminated electrode with high glucose oxidase loading for highly-sensitive glucose detection [J]. Journal of Materials Science & Technology, 2021, 66: 57-63.

[14] LI W, LV S, WANG Y, et al. Nanoporous gold induced vertically standing 2D NiCo bimetal-organic framework nanosheets for non-enzymatic glucose biosensing [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2019, 281: 652-658.

[15] HAN Z P, ZHANG X Y, YUAN H, et al. Graphene oxide/gold nanoparticle/graphite fiber microelectrodes for directing electron transfer of glucose oxidase and glucose detection [J]. Journal of Power Sources, 2022, 521: 230956.

[16] AVINASH V P, CHUANG Y S, LI C Z, et al. Recent advances in electrochemical immunosensors with nanomaterial assistance for signal amplification [J]. Biosensors, 2023, 13(1): 125.

[17] ABHIJIT G, SURBHI S, PAGONA P, et al. Probing the thermal deoxygenation of graphene oxide using high-resolution in situ X-ray-based spectroscopies [J]. The Journal of Physical Chemistry C, 2011, 115(34): 17009-17019.

[18] GUILHERME KOSZENIEWSKI R, SILMA ALBERTON C, LAUREN ARANHA G, et al. Chemical and morphological modifications of single layer graphene submitted to annealing in water vapor [J]. Applied Surface Science, 2018, 427: 825-829.

[19] SANJEEV K, MANI M, RAJINDER S, et al. Silver nanoparticles

- anchored reduced graphene oxide for enhanced electrocatalytic activity towards methanol oxidation [J]. *Chemical Physics Letters*, 2018, 693: 23-27.
- [20] ZOU B, WANG P Y, XIA J J, et al. Enzyme biosensors systems based on Co-modification of carbon nanotubes and enzyme for detection of glucose in food [J]. *Journal of the Electrochemical Society*, 2021, 168(6): 065501.
- [21] HWA K Y, BOOPATHI S. Synthesis of zinc oxide nanoparticles on graphene-carbon nanotube hybrid for glucose biosensor applications [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2014, 62: 127-133.
- [22] NING Y N, XIAO B L, NIU N N, et al. Glucose oxidase immobilized on a functional polymer modified glassy carbon electrode and its molecule recognition of glucose [J]. *Polymers*, 2019, 11(1): 115.
- [23] SPENCER J S, JEAN K B, JOSEPH L, et al. pH-dependent metal-based redox couples as models for proton-coupled electron transfer reactions [J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 1998, 174(1): 391-416.
- [24] MA X X, LI Y Y, SONG X Y, et al. Electrochemical properties analysis of immobilized glucose oxidase on multi-walled carbon nanotubes and hydroxy-fullerene nanocomposites [J]. *Journal of the Electrochemical Society*, 2023, 170(7): 075504.
- [25] XU H F, DAI H, CHEN G N. Direct electrochemistry and electrocatalysis of hemoglobin protein entrapped in graphene and chitosan composite film [J]. *Talanta*, 2010, 81(1-2): 334-338.
- [26] ÖZLEM S, BAYRAM K, HUSEYİN U, et al. Biosensing of glucose in flow injection analysis system based on glucose oxidase-quantum dot modified pencil graphite electrode [J]. *Talanta*, 2016, 147: 315-321.
- [27] YU Y Y, CHEN Z G, HE S J, et al. Direct electron transfer of glucose oxidase and biosensing for glucose based on PDDA-capped gold nanoparticle modified graphene/multi-walled carbon nanotubes electrode [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2014, 52: 147-152.
- [28] FILIMON H, SHYANKAY J, HUANG B R, et al. Functionalization of CVD grown graphene with downstream oxygen plasma treatment for glucose sensors [J]. *Journal of the Electrochemical Society*, 2017, 164(7): B336-B341.
- [29] KUBRA S, HALUK B, ERHAN Z. Simply patterned reduced graphene oxide as an effective biosensor platform for glucose determination [J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2021, 880: 114801.
- [30] LIU Y G, ZHANG X M, HE D N, et al. An amperometric glucose biosensor based on a MnO₂/graphene composite modified electrode [J]. *RSC Advances*, 2016, 6(22): 18654-18661.