

2017-02-28

Direct Electrochemistry of Glucose Oxidase Based on WS₂ Quantum Dots and its Biosensing Application

Chen-lu LI

Hua-ping PENG

Department of Pharmaceutical Analysis of the Fujian Medical University , Fuzhou 350122 , China;
phpfjmu@126.com

Zhong-nan HUANG

Yi-lun SHENG

Pei-wen WU

Department of Endocrinology, The Affiliated First Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350005 , China;
247056892@qq.com

Xin-hua LIN

Recommended Citation

Chen-lu LI, Hua-ping PENG, Zhong-nan HUANG, Yi-lun SHENG, Pei-wen WU, Xin-hua LIN. Direct Electrochemistry of Glucose Oxidase Based on WS₂ Quantum Dots and its Biosensing Application[J].

Journal of Electrochemistry, 2017 , 23(1): 53-58.

DOI: 10.13208/j.electrochem.160829

Available at: <https://jelectrochem.xmu.edu.cn/journal/vol23/iss1/8>

This Article is brought to you for free and open access by Journal of Electrochemistry. It has been accepted for inclusion in Journal of Electrochemistry by an authorized editor of Journal of Electrochemistry.

DOI: 10.13208/j.electrochem.160829

Artical ID:1006-3471(2017)01-0053-06

Cite this: *J. Electrochem.* 2017, 23(1): 53-58

Http://electrochem.xmu.edu.cn

基于 WS₂ 量子点材料固定葡萄糖氧化酶的直接电化学及其生物传感研究

李晨露¹, 彭花萍^{2*}, 黄种南², 盛依伦², 吴佩文^{3*}, 林新华²

(1. 福建医科大学附属第一医院高压氧室, 福建 福州 350005; 2. 福建医科大学药学院药物分析系, 福建 福州 350122; 3. 福建医科大学附属第一医院内分泌科, 福建 福州 350005)

摘要: 采用水热法制备水溶性 WS₂ 量子点 (WS₂ QDs) 材料, 并将该材料进一步用于葡萄糖氧化酶 (GOx) 的有效固定, 构建 GOx/WS₂ QDs/GCE 传感界面. 采用透射电镜、紫外-可见光谱和电化学等方法对材料的形貌、GOx 的固定化过程, 以及传感器的直接电化学和电催化性能进行了表征. 结果表明, WS₂ QDs 材料能够有效促进 GOx 与电极之间的直接电子转移. 基于该传感器对葡萄糖良好的电催化作用, 该方法有效实现了对葡萄糖的高灵敏检测, 其线性范围为 25 ~ 100 μmol·L⁻¹ 和 100 ~ 600 μmol·L⁻¹, 检测限为 5.0 μmol·L⁻¹ (S/N = 3). 该传感器具有良好的选择性、重现性和稳定性, 可用于实际样品血糖的分析测定.

关键词: WS₂ 量子点; 葡萄糖氧化酶; 直接电化学; 生物传感器

中图分类号: O657.1

文献标识码: A

糖尿病是一种常见的代谢性疾病, 可引发多种并发症, 这些并发症成为糖尿病患者致残致死的主要原因, 严重威胁着人们的健康. 临床上, 血糖检测是糖尿病诊断和治疗的重要环节. 因此, 开发一种高效、灵敏、可靠和廉价的葡萄糖含量检测技术对糖尿病的诊治有着重要意义^[1-2]. 近年来, 设计合成各种纳米材料用于酶蛋白的固载构建新型酶生物传感器, 尤其是基于葡萄糖氧化酶 (GOx) 的直接电化学实现的无试剂生物传感器, 并将其用于葡萄糖的高灵敏有效检测成为研究者们关注的热点^[3-4]. 目前, 成功用于实现 GOx 直接电化学的纳米材料有金属纳米粒子、碳纳米管、硅基纳米材料及石墨烯等^[5]. 硫化钨 (WS₂) 是一种具有富勒烯结构的类石墨烯材料, 在光学、电学、催化和机械等多方面具有特殊的性能, 被广泛应用于固体润滑剂、催化剂、电极材料、储气材料、半导体材料和电子探针等领域, 成为近几年重点研究的半导体材料之一^[6]. WS₂ 量子点 (WS₂ QDs) 具有比二维纳米片层更小的平面尺寸以及更强的量子限制效应,

从而表现出更多优越的性能, 有着更广阔的应用范围^[7-8]. 例如, 倪永年课题组已成功制备工艺简单、绿色环保、无毒和水溶性的 WS₂ QDs^[9], 并已成功应用于荧光传感器的构建. 本文采用水热法制备了水溶性 WS₂ QDs, 并进一步将其用于氧化还原蛋白 GOx 的高效固定, 构建了 GOx/WS₂ QDs/GCE 传感界面, 并研究了固定化 GOx 的直接电化学及电催化性能.

1 实验

1.1 试剂与仪器

葡萄糖氧化酶 (GOx, Sigma Aldrich 公司), NaW₅O₄·2H₂O (阿拉丁公司), L-半胱氨酸 (Sigma Aldrich 公司), Nafion (Sigma Aldrich 公司), 尿酸 (UA, Sigma Aldrich 公司), 多巴胺 (DA, 阿法埃莎公司). 血清样品由福建医科大学附属第一医院提供. 其它试剂均为分析纯, 所有溶液均用超纯水配制. 磷酸盐 (PBS) 缓冲溶液通过改变磷酸盐 0.1 mol·L⁻¹ Na₂HPO₄ 和 0.1 mol·L⁻¹ KH₂PO₄ 的比例制备.

TEM 及 X-射线能谱测试使用 Tecnai F20 场

收稿日期: 2016-08-29, 修订日期: 2016-09-23 * 通讯作者, Tel: (86-591)22862016, E-mail: phpfjmu@126.com, 247056892@qq.com

国家自然科学基金项目 (No. 21405015, No. 81400805)、福建省自然科学基金资助项目 (No. 2014J05092, No. 2016J01449) 及大学生创新创业训练项目基金 (No. C1634) 资助

发射透射电镜(美国 FEI 公司);紫外-可见吸收光谱由 UV-2450 光谱仪(日本)记录;所有电化学实验均在 CHI660C 电化学工作站(上海辰华仪器有限公司)上操作. 采用三电极体系,工作电极为修饰的玻碳电极(GCE),参比电极为 Ag/AgCl 电极,对电极为铂电极.

1.2 WS₂ 量子点的合成

称取 0.0625 g 的 NaW₅O₄·2H₂O 溶解于去离子水, 超声 5 min, 用 HCl 调节 pH 值至 6.5, 加入 0.5000 g L-半胱氨酸, 超声混匀后转入高压反应釜中于 240 °C 反应 24 h, 冷却到室温后得水热产物, 即 WS₂ QDs.

1.3 传感器的制备

将玻碳电极(GCE, 美国 CH Instruments 公司.) 依次用 1.0、0.3 和 0.05 μm 粒径的 Al₂O₃ 混悬液的麂皮上打磨抛光 3 min, 再分别依次放于 HNO₃ 溶液(1:1)、无水乙醇和去离子水中超声清洗. 取出后用去离子水冲洗干净, 高纯 N₂ 吹干备用. 将 WS₂ QDs 溶液超声后与 GOx(5 mg·mL⁻¹)、Nafion(1%) 按体积比 1:1:2 混合, 移取 6 μL 上述混合溶液修饰于电极后, 置于 4 °C 自然干燥, 备用, 该电极记为 GOx/WS₂ QDs/GCE. GOx、WS₂ QDs 等修饰电极也采用类似方法制备, GOx 溶液、纳米材料溶液的浓度及用量均与制备 GOx/WS₂ QDs/GCE 一致.

2 结果与讨论

2.1 WS₂ QDs 材料的表征

图 1A 为 WS₂ QDs 材料的 TEM 照片. 由照片可知, 通过水热合成制备的 WS₂ QDs 材料为均匀的球形粒子, 在水溶液中分散良好, 无团聚现象, 且粒径大小相对均匀, 其平均粒径约为 3 nm. 此外, 作者还使用 X-射线能谱(EDX)分析对 WS₂ QDs 进行了表征, 结果显示 QDs 材料中存在 W、S、C、N 和 O 等元素, 进一步证明已成功制备了 WS₂ QDs 材料(图 1B).

图 2 是 WS₂ QDs(a)、GOx(b)、GOx/WS₂ QDs(c) 的紫外吸收图谱光谱图(图 2). 从图中曲线 a 可以看出, WS₂ QDs 溶液在 263 nm 处出现其特征吸收峰, 而纯 GOx 溶液在 280 nm、375 nm 和 450 nm 处出现了 3 个特征吸收峰(曲线 b)^[10]. 如图 2 中曲线 c 所示, 与纯的 GOx 比较, GOx/WS₂ QDs 的主要特征吸收峰并无发生明显改变, 表明采用水热法制备的 WS₂ QDs 能很好地保持 GOx 的二级结构.

2.2 GOx/WS₂ QDs/GCE 的直接电化学性能

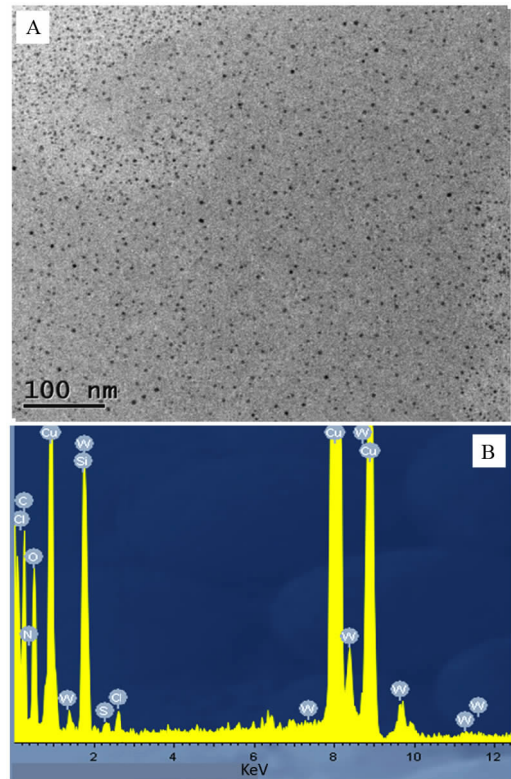


图 1 WS₂ QDs 材料的 TEM 照片(A)和 EDX 谱图(B)
Fig. 1 TEM image (A) and EDX spectrum (B) of the WS₂ QDs

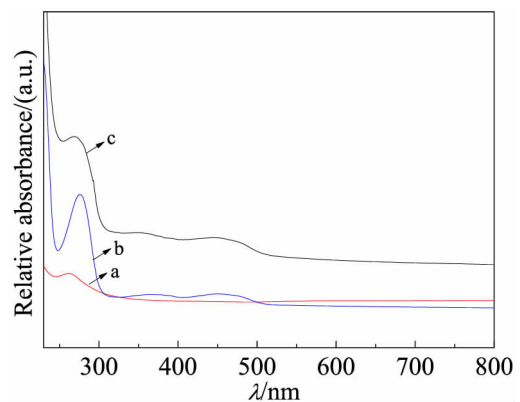


图 2 GOx/WS₂ QDs(a)、纯 GOx(b)和 WS₂ QDs(c) 的紫外-可见吸收光谱
Fig. 2 UV-vis spectra of GOx/WS₂ QDs (a), pure GOx (b) and WS₂ QDs (c)

图 3 为不同修饰电极在 0.1 mol·L⁻¹ PBS 溶液 100 mV·s⁻¹ 扫描速率的循环伏安曲线(CV). 从图中可以看出, WS₂ QDs/GCE(曲线 a)和 GOx/GCE(曲线 b)上无明显的氧化还原峰, 然而, 在 GOx/WS₂ QDs/GCE 上有一对明显的氧化还原峰(曲线 c, 氧

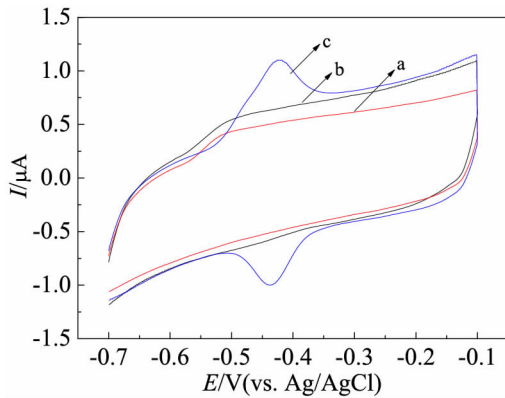


图 3 WS₂ QDs/GCE(a)、GOx/GCE(b)和 GOx/WS₂ QDs/GCE(c)在 0.1 mol·L⁻¹ pH 7.0 PBS 溶液中扫描速率 100 mV·s⁻¹ 下的循环伏安曲线

Fig. 3 Cyclic voltammograms of WS₂ QDs/GCE (a), GOx/GC (b) and GOx/WS₂ QDs/GCE (c) in 0.1 mol·L⁻¹ pH 7.0 PBS at 100 mV·s⁻¹

化峰电位 -419 mV, 还原峰电位 -441 mV), 该氧化还原峰来源于 GOx 中 FAD 辅基的氧化还原, 与文献报道一致^[4]. 以上结果表明, WS₂ QDs 材料缩短了 GOx 活性中心与电极表面的距离, 加快了 GOx 活性中心与电极表面之间的电子传递速, 从而大大促进了 GOx 的直接电子转移.

作者还考察了 GOx/WS₂ QDs/GCE 在不同扫描速率下的循环伏安性能(图 4). 从图中可以看出, 在 10 ~ 1000 mV·s⁻¹ 的扫速范围内, 当扫描速率增大时 GOx 的氧化还原峰电流也逐渐增大, 并与其成正比, 且峰电位基本不变, 表明在 GOx/WS₂

QDs/GCE 膜上, GOx 与电极之间较易实现直接电子转移, 而且该电极反应过程是一个表面控制过程^[10]. 当 $n\Delta E_p < 0.2$ V (E_p : 峰电位), GOx 在电极上的电子转移速率常数 k_s 可根据下式计算:

$$\lg k_s = \alpha \lg(1-\alpha) + (1-\alpha) \lg \alpha - \lg \frac{RT}{nFv} - \alpha(1-\alpha) \frac{nF\Delta E_p}{2.3RT}$$

式中, α 为电子转移常数, v 为扫描速率, R 为气体常数, ΔE_p 为峰电位差, T 为温度, F 为法拉第常数, n 为电子转移个数^[10]. 实验结果表明, 在 10 ~ 1000 mV·s⁻¹ 的扫速范围内, 由于 $n\Delta E_p < 0.2$ V, 可认为 k_s 值基本固定. 若以传质系数 α 为 0.5 计算, 在扫速为 300 mV·s⁻¹ 时, 可得到 GOx 在 WS₂/Au/GCE 上的直接电子转移常数 k_s 为 4.72 s⁻¹, 该值显著大于文献报道的 k_s 值^[11-12].

2.3 GOx/WS₂ QDs/GCE 的电催化性能

GOx/WS₂ QDs/GCE 的电催化性能示于图 5A. GOx/WS₂ QDs/GCE 在 N₂ 饱和的 PBS 中呈现出一对良好的氧化还原峰(曲线 a), 当该修饰电极置于空气饱和(曲线 b)和氧气饱和(曲线 c)的 PBS 溶液时, 其还原峰明显增大, 并伴随着氧化峰的减小. 此外, 在氧气饱和的 PBS 溶液中加入葡萄糖后, 其还原电流减小(曲线 d). 其机理如下^[13]:

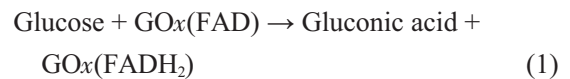


图 5B 为 GOx/WS₂ QDs/GCE 在加入不同浓

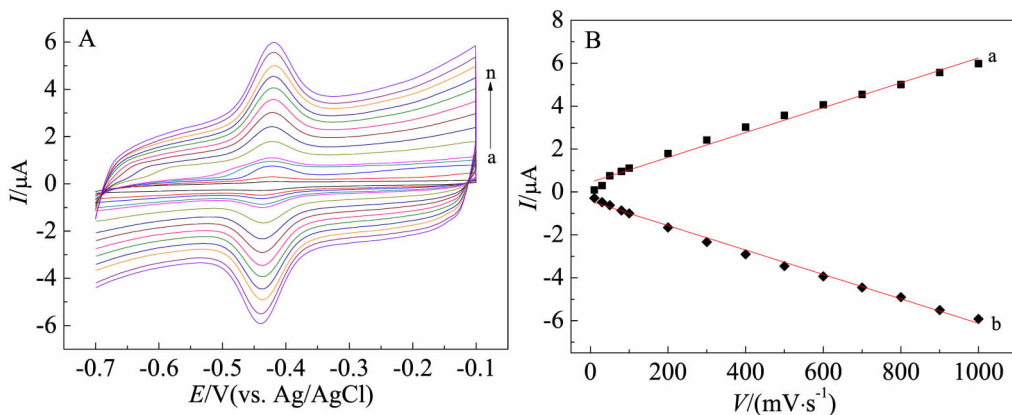


图 4 A. GOx/WS₂ QDs/GCE 在 0.1 mol·L⁻¹ PBS (pH 7.0) 溶液的催化还原峰电流与扫描速率关系曲线(扫描速率由内到外分别为 10、30、50、80、100、200、300、400、500、600、700、800、900 和 1000 mV·s⁻¹), B. 为峰电流与扫描速率的关系曲线

Fig. 4 Cyclic voltammograms of the GOx/WS₂ QDs/GCE in PBS (pH 7.0) at various scan rates of 10, 30, 50, 80, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, and 1000 mV·s⁻¹, from internal to external; B. The plots of peak current vs. scan rate

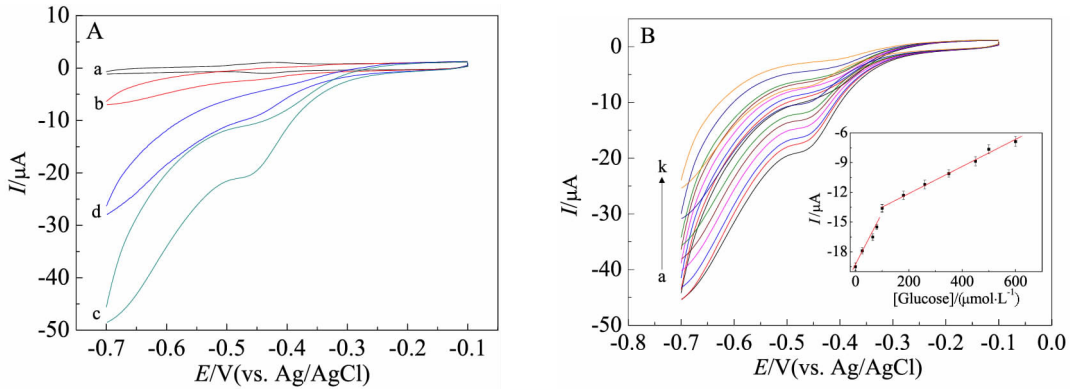


图 5 A. GOx/WS_2 QDs/GCE 在 N_2 饱和(a)、空气饱和(b)及 O_2 饱和的无葡萄糖(c)与有葡萄糖(d)的 PBS($0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 7.0) 溶液中扫描速率为 $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ 的循环伏安曲线; B. GOx/WS_2 QDs/GCE 在 O_2 饱和的 PBS 溶液中加入不同浓度葡萄糖(a~k: $0, 25, 65, 80, 100, 180, 260, 350, 450, 500$ 和 $600 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的循环伏安曲线(内插图为准曲线)

Fig. 5 A. Cyclic voltammograms of the GOx/WS_2 QDs/GCE in N_2 -saturated (a), air-saturated (b), and oxygen-saturated $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ pH 7.0 PBS in the presence (c) and absence (d) of glucose at $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$; B. Cyclic voltammograms of the GOx/WS_2 QDs/GCE in oxygen-saturated PBS containing different concentrations of glucose (a ~ k: $0, 25, 65, 80, 100, 180, 260, 350, 450, 500$ and $600 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, the inset shows the calibration curve)

度葡萄糖后的循环伏安曲线,随着葡萄糖的加入,其还原峰电流逐渐减小,对葡萄糖的线性响应范围为 $25 \sim 100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $100 \sim 600 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,检测限为 $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ($S/N = 3$),与 GOx 固定于 $CS-AuNPs@Gr$ ($180 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)^[14], $GOx-Au-PDA-Fe_3O_4$ ($6.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)^[10] 以及有序 TiO_2 纳米片阵列 ($23.4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)^[13]相比,其检测限更低.

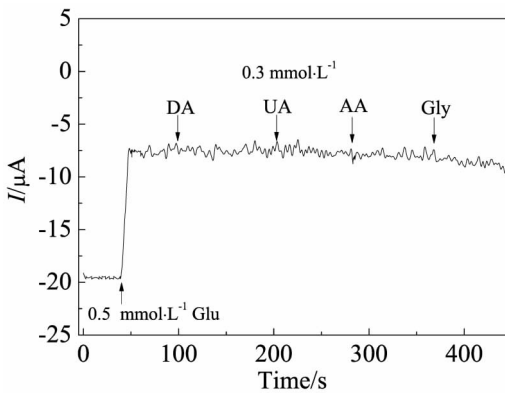


图 6 GOx/WS_2 QDs/GCE 对依次加入 $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖、 $0.3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 多巴胺、 $0.3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 尿酸、 $0.3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 抗坏血酸和 $0.3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甘氨酸检测的电流信号图

Fig. 6 Amperometric response with successive additions of $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ glucose, $0.3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ DA, $0.3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ UA, $0.3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ AA, and $0.3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Gly on the GOx/WS_2 QDs/GCE

2.4 电极抗干扰性、稳定性和重现性

在 $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的葡萄糖的 PBS (pH 7.0) 溶液中加入多巴胺 (DA)、尿酸 (UA)、抗坏血酸 (AA) 和甘氨酸 (Gly) ($0.3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 后均没有观察到明显的干扰,5 次平行测定其相对标准偏差为 3.9%,3 支电极的葡萄糖电化学响应信号的相对标准偏差为 4.6%,当把电极置于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 下,4 周后其响应电流仍达 92%. 因此, GOx/WS_2 QDs/GC 电极具有好的重现性与稳定性,为固定化蛋白质的生物活性提供了良好的生物微环境.

2.5 样品分析

为验证该方法的实际应用性能,将本文制备的 GOx/WS_2 QDs/GCE 应用于人血清中葡萄糖的测定(表 1),并将上述结果与血糖分析仪 (SBA-40) 测定结果进行了比较. 结果表明,本方法与血糖分析仪测定结果接近,所构建的葡萄糖传感器可用于实际样品分析.

3 结 论

本文基于 WS_2 QDs 材料构建了 GOx/WS_2 QDs/GCE 传感界面,并研究了固定化 GOx 的直接电化学性能. 该 WS_2 QDs 材料不仅为 GOx 提供了良好的微环境,而且有效实现了 GOx 与电极之间的直接电子转移. 此外,该传感器可用于对葡萄糖的快速、高灵敏检测,并具有良好的抗干扰性、重现性与稳定性,可用于实际样品的测定,为葡萄糖的快速检

表 1 测定血清中的葡萄糖($n = 5$)
Tab. 1 Determination of glucose in human serum ($n = 5$)

Sample	GOx/WS ₂ QDs/GCE		Blood sugar-glucose analyzer	
	Found/(mmol·L ⁻¹)	RSD/%	Found/(mmol·L ⁻¹)	RSD/%
1	6.13 ± 0.13	3.5	6.08 ± 0.10	2.6
2	5.05 ± 0.11	4.5	5.01 ± 0.06	3.0
3	6.71 ± 0.18	3.3	6.77 ± 0.12	2.8
4	5.37 ± 0.09	4.3	5.30 ± 0.08	2.9
5	6.36 ± 0.15	3.7	6.31 ± 0.11	3.1

测提供了新方法, 并为最终用于糖尿病诊断和治疗提供科学的研究基础。

参考文献(References):

- [1] Wang J. Glucose biosensors: 40 years of advances and challenges[J]. *Sensors Update*, 2002, 10(1): 107-119.
- [2] Shan C S, Yang H F, Song J F, et al. Direct electrochemistry of glucose oxidase and biosensing for glucose based on graphene[J]. *Analytical Chemistry*, 2009, 81(6): 2378-2382.
- [3] Wang J. Electrochemical glucose biosensors[J]. *Chemical Reviews*, 2008, 108(2): 814-825.
- [4] Zhang J, Yu X, Guo W B, et al. Construction of titanium dioxide nanorod/graphite microfiber hybrid electrodes for a high performance electrochemical glucose biosensor [J]. *Nanoscale*, 2016, 8(17): 9382-9389.
- [5] Das P, Das M, Chinnadayala S, et al. Recent advances on developing 3rd generation enzyme electrode for biosensor applications[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2016, 79: 386-397.
- [6] Chen Y, Tan C L, Zhang H, et al. Two-dimensional graphene analogues for biomedical applications[J]. *Chemical Society Reviews*, 2015, 44(9): 2681-2701.
- [7] Lin L X, Xu Y X, Zhang SW, et al. Fabrication of luminescent monolayered tungsten dichalcogenides quantum dots with giant spin-valley coupling[J]. *ACS Nano*, 2013, 7(9): 8214-8223.
- [8] Gutierrez H, Perea-Lopez N, Elias A, et al. Extraordinary room- temperature photoluminescence in triangular WS₂ monolayers[J]. *Nano Letters* 2013, 13 (8): 3447-3454.
- [9] Guo X R, Wang Y, Wu F Y, et al. The use of tungsten disulfide dots as highly selective, fluorescent probes for analysis of nitrofurazone[J]. *Talanta*, 2015, 144: 1036-1043.
- [10] Peng H P, Qiu J D, Zhang L, et al. Facile preparation of novel core-shell enzyme-Au-polydopamine-Fe₃O₄ magnetic bionanoparticles for glucose sensor[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2013, 42: 293-299.
- [11] Zhao S, Zhang K, Bai Y, et al. Glucose oxidase/colloidal gold nanoparticles immobilized in Nafion film on glassy carbon electrode: Direct electron transfer and electrocatalysis[J]. *Bioelectrochemistry*, 2006, 69(2): 158-163.
- [12] Su S, Sun H F, Xu F, et al. Direct electrochemistry of glucose oxidase and a biosensor for glucose based on a glass carbon electrode modified with MoS₂ nanosheets decorated with gold nanoparticles[J]. *Microchimica Acta*, 2014, 181(13): 1497-1503.
- [13] Liu J, He Z M, Khoo S Y, et al. A new strategy for achieving vertically-erected and hierarchical TiO₂ nanosheets array/carbon cloth as a binder-free electrode for protein impregnation, direct electrochemistry and mediator-free glucose sensing[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2016, 77: 942-949.
- [14] Shan C, Yang H, Han D, et al. Graphene/AuNPs/chitosan nanocomposites film for glucose biosensing[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2010, 25(5): 1070-1074.

Direct Electrochemistry of Glucose Oxidase Based on WS₂ Quantum Dots and Its Biosensing Application

LI Chen-lu¹, PENG Hua-ping^{2*}, HUANG Zhong-nan², SHENG Yi-lun²,
WU Pei-wen^{3*}, LIN Xin-hua²

(1. *Department of High Pressure Oxygen, The Affiliated First Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350005, China*; 2. *Department of Pharmaceutical Analysis of the Fujian Medical University, Fuzhou 350122, China*; 3. *Department of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, China*)

Abstract: In this study, a novel electrochemical glucose biosensor has been developed by immobilizing glucose oxidase (GOx) on tungsten disulfide quantum dots (WS₂ QDs) on the surface of glassy carbon electrode (GCE). Transmission electron microscopy, UV-vis spectroscopy and cyclic voltammetry were employed to characterize the morphology, structure, and electrochemical behaviors of the as-prepared WS₂ QDs and the biofilm modified electrode. The results suggested that the WS₂ QDs could accelerate the electron transfer between the electrode and the immobilized enzyme, which enabled the direct electrochemistry of GOx without any electron mediator. Besides, the immobilized GOx in WS₂ QDs film exhibited excellent electrocatalytic activity toward oxidation of glucose due to the excellent biocompatibility of the WS₂ QDs. The proposed GOx/WS₂ QDs biofilm electrode exhibited a linear response to glucose concentration in the ranges of 25 ~ 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ and 100 ~ 600 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, and the detection limit of the biosensor was as low as 5.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. The biosensor also exhibited good selectivity, reproducibility and long-term stability, which might be potentially used for the detection of the real samples.

Key words: tungsten disulfide quantum dots; glucose oxidase; direct electrochemistry; biosensor