

Au 微球阵列跨尺度葡萄糖传感器的制备

景蔚萱, 齐 含, 成妍妍, 蒋庄德, 陈路加, 周 帆, 王 兵

(西安交通大学 机械制造系统工程国家重点实验室, 陕西 西安 710049)

摘 要: 以硅基底和光纤纤芯阵列为定位夹具, 手工排列熔凝法得到的 Au 微球, 获得 3×3 Au 微球阵列; 在 Au 微球表面先用水浴法合成 ZnO 纳米线、后固定葡萄糖氧化酶, 得到球形跨尺度阵列葡萄糖酶电极。对球形跨尺度结构的表面形貌、葡萄糖氧化酶的固定效果、酶电极的电化学性能进行了定量表征。球形跨尺度结构阵列葡萄糖传感器的线性范围为 0~2.5 mmol/L、灵敏度为 17.24 $\mu\text{A}\cdot(\text{mmol/L})^{-1}\text{cm}^{-2}$ 、最低检出限为 3.44 $\mu\text{mol/L}$ 、Michaelis-Menten 常数为 1.85 mmol/L。

关键词: Au 微球; ZnO 纳米线; 跨尺度结构; 水浴法; 葡萄糖传感器

中图分类号: TG146.3⁺1

文献标识码: A

文章编号: 1002-185X(2015)11-2918-05

以葡萄糖氧化酶 (glucose oxidase, GOD) 和工作电极表面之间直接电子转移为特点的跨尺度电化学葡萄糖传感器已广泛应用于医药、生物、食品加工、环境监测等领域^[1-3]。工作电极一般由微米级基底电极和纳米级基质材料组成, 并形成跨尺度结构^[4]。Au 是一种理想的基底电极材料; 而 ZnO 纳米线比表面积大、电子迁移率高、无毒性、生物兼容性好, 常被用作基质材料^[5,6]。跨尺度工作电极上 ZnO 纳米线薄膜的比表面积及表面形貌直接影响 GOD 的固定效果及相应葡萄糖传感器的性能, 但是比表面积难于测量^[7], 因此需要对表面形貌进行定量表征。目前表面形貌大多采用扫描电子显微镜 (SEM) 的直接测量法, 由于不能提取出其轮廓边缘, 故该方法测量参数有限、表征数据单一、表征结果不完整^[8,9]。现有的基底电极以平面形^[10]、圆柱形^[4]、螺旋线形^[11]结构居多。平面和圆柱形基底电极面积及其小型化程度仍需继续提高; 尽管螺旋线形基底电极的小型化及操控性得到了改善, 但其电极面积仍需进一步增大。

本实验借助定位夹具手工排列出熔凝 Au 微球阵列, 并在其上合成 ZnO 纳米线、沉积 GOD; 对球形跨尺度结构和相应酶电极的表面形貌进行定量表征, 对该葡萄糖传感器的性能参数进行测试。

1 实 验

1.1 试剂与仪器

醋酸锌 ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$)、氢氧化钠固体 (NaOH)、硝酸锌 ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$)、六次甲基四胺 ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_4$)、磷酸氢二钠 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 12\text{H}_2\text{O}$)、磷酸二氢钾 (KH_2PO_4) 均购于西安海默生物科技有限公司, 没有进一步纯化。GOD 的活度为 100 units/mg, 购于日本 MP Biomedicals 公司。金丝从北京达博金属焊料有限公司购得、光纤从泉州安邦有限公司购得、硅片购于峨眉半导体材料厂。

用天津泰斯特有限公司的 DK-98-IIA 水浴锅制备 ZnO 纳米线、日本日立的 SU8010 FE-SEM 进行几何参数表征、上海辰华仪器有限公司的 CHI660D 电化学工作站进行葡萄糖传感器的电化学表征。

1.2 球形跨尺度阵列葡萄糖传感器的设计

基于三电极体系的球形跨尺度电化学葡萄糖传感器包括球形跨尺度阵列工作电极、Ag/AgCl 参比电极以及 Pt 对电极。图 1 给出了球形跨尺度结构阵列工作电极的示意图, 包括 3×3 Au 微球阵列、ZnO 纳米线, 以及 GOD。和其它结构工作电极相比较, 该电极具有吸附面积大、易操控、集成度高、小型化等特点。

1.3 球形跨尺度结构阵列工作电极的制备

截取 9 段长度为 80 mm、直径为 $\Phi 50\ \mu\text{m}$ 的 Au 丝, 将其熔融 17 mm, 得到 $\Phi 400\ \mu\text{m}$ 的 Au 微球及 Au 丝引线的复合结构。将多根长度为 25 mm、纤芯直径为 $\Phi 125\ \mu\text{m}$ 的双模光纤在丙酮溶液中浸泡 15 min; 剥去包层、抽出光纤纤芯, 用无水乙醇、去离子水超声

收稿日期: 2015-04-05

基金项目: 国家自然科学基金委重大研究计划 (51075324, 91323303); 陕西省科技研究发展计划 (2015GY117); 国家重大科学仪器设备开发专项子任务 (2012YQ03026101); 国家重点基础研究发展计划 (2015CB057400); “111”计划 (B12016)

作者简介: 景蔚萱, 男, 1966 年生, 博士, 副教授, 西安交通大学机械学院, 陕西 西安 710049, 电话: 029-82668616, E-mail: wxjing@mail.xjtu.edu.cn

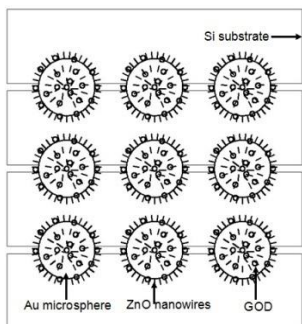


图 1 球形跨尺度结构阵列工作电极的示意图

Fig.1 Schematic of the spherically hierarchical structure array-based working electrode

清洗各 5 min,并在空气中干燥。裁取 8 mm×8 mm×520 μm 硅片多块,用去离子水超声清洗,并在抛光面粘贴导电胶带。

将光纤纤芯紧密排列在硅基底的导电胶带上,每隔 4 根抽出一根,形成节距为 625 μm 的光纤纤芯阵列;把 3 个 Au 微球的复合结构分别固定在光纤纤芯阵列的空位上,后将光纤纤芯阵列全部移除,得到节距为 625 μm 的 1×3 Au 微球阵列;在另外两块硅基底上重复上述过程,得到两个节距为 625 μm 的 1×3 Au 微球阵列;用导电胶带将上述 3 个 1×3 Au 微球阵列同向粘贴在一起,形成横向节距为 625 μm、纵向节距为 570 μm 的 3×3 Au 微球阵列组件。明显地,该方法对制备设备要求不高、工序简单、成本低廉。

按醋酸锌与氢氧化钠物质质量比 1:2 配制 Zn²⁺浓度为 1 mmol/L 的种子层溶液;取 2 mL 种子层溶液均匀滴在 Au 微球阵列上,并将其置于干燥箱中于 120 °C 烘干 10 min,再重复上述操作 2 次;按硝酸锌与六甲基四胺物质质量比为 1:1 配制生长液;将两组沉积有 ZnO 种子层的 Au 微球阵列放入 Zn²⁺浓度分别为 25 mmol/L 和 100 mmol/L 的生长液中并密封,后置于 90 °C 恒温水浴锅中保持 2.5 h,得到基于 ZnO 纳米线的球形跨尺度结构阵列;取出球形跨尺度结构阵列,并用去离子水超声清洗 5 min,然后在 50 °C 干燥箱中烘干。用 pH 值为 7.4 的磷酸缓冲液(Phosphate buffer solution, PBS)配制浓度为 40 mg/mL 的 GOD 溶液;将球形跨尺度结构阵列浸入 GOD 溶液并放置在 4 °C 冰箱中保持 3 h;后用去离子水冲洗,得到基于球形跨尺度结构阵列的葡萄糖酶电极。

1.4 球形跨尺度结构阵列工作电极的表征

基于 SEM 图像和滤波、边缘提取、拟合等 MATLAB 图像处理算子,提取出 Au 微球固定 GOD

前后的轮廓边缘,实现 Au 微球直径及圆度误差、Au 微球阵列节距、球形跨尺度结构固酶前后表面形貌等的定量表征。

在 1 mmol/L 葡萄糖溶液中用循环伏安法分析两种表面形貌的球形跨尺度葡萄糖酶电极的氧化还原能力,扫描电压为-0.2~0.8 V,扫描速率 50 mV/s;用电流-时间法确定球形跨尺度阵列葡萄糖传感器的灵敏度、线性范围、最低检出限和 Michaelis-Menten 常数,工作电极相对参比电极的偏压为+0.8 V,且每隔一定时间往 50 mL PBS 溶液中边搅拌边加入 100 μL、0.25 mmol/L 的葡萄糖溶液,搅拌速度为 400 r/min。

2 结果与讨论

2.1 Au 微球的表征

图 2a 为融凝法得到的 Au 微球及 Au 丝引线的复合结构。Au 微球的形状规整、表面光滑、一致性好;局部表面发生了组织相变,使得 SEM 图像灰度有变化;Au 微球与 Au 丝引线连接可靠,便于对 Au 微球进行操控。

图 2a 中的白色曲线为提取出的 Au 微球轮廓边缘。图 2b 中的黑实线为该轮廓边缘的展开图,黑长虚线为拟合得到的最小二乘圆,黑短虚线和点划线分别为与最小二乘圆同心的最小外接圆和最大内接圆,二者之间的圆环宽度即为圆度误差。9 个 Au 微球直径为 $\Phi 390.5 \pm 2.16 \mu\text{m}$,圆度误差为 $8.68 \pm 3.25 \mu\text{m}$,表明融凝特定长度的 Au 丝可以获得直径和圆度误差满足要求的 Au 微球。

2.2 球形跨尺度结构阵列及表面形貌的表征

图 3a 表明所制备的球形跨尺度结构阵列间距均匀、球形跨尺度结构大小基本一致。图 3b 表示 ZnO 纳米线已均匀地合成在 Au 微球表面。图 3c 和 3e 为生长液 Zn²⁺浓度分别为 25 和 100 mmol/L 时所得到的球形跨尺度结构表面轮廓,显然不同高频的 ZnO 纳米线已叠加在低频的 Au 微球上。图 3d、3f 为图 3c、3e

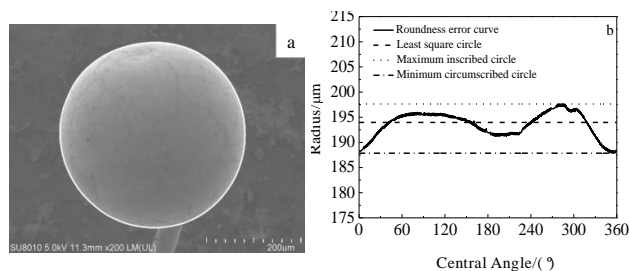


图 2 Au 微球及其定量表征

Fig.2 An Au microsphere (a) and its quantitative characterization (b)

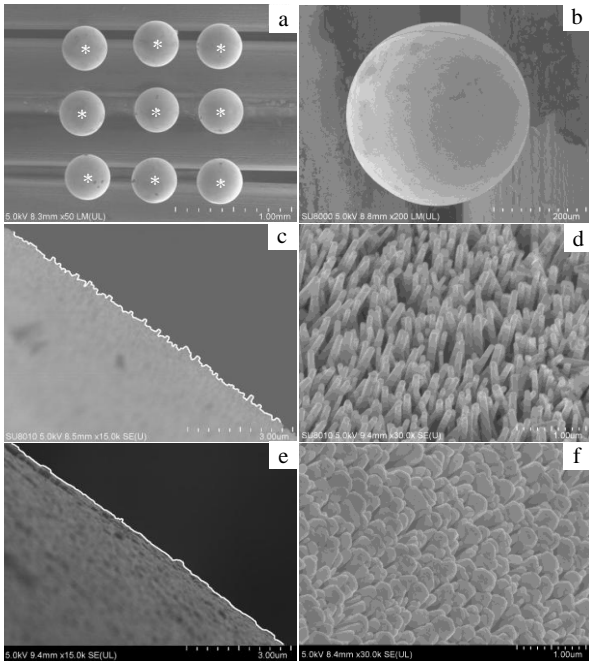


图 3 球形跨尺度结构阵列及其提取轮廓

Fig.3 Array and the extracted profiles of the spherically hierarchical structures: (a) the array of the spherically hierarchical structures, (b) a detailed spherically hierarchical structure, (c) the extracted profile of a spherically hierarchical structure, (d) the related ZnO nanorods, (e) the extracted profile of the other spherically hierarchical structure, and (f) the corresponding ZnO nanorods

对应的 ZnO 纳米线放大图。ZnO 纳米线均沿 c 轴(002) 晶向生长; 当生长液 Zn^{2+} 浓度为 25 mmol/L 时, ZnO 纳米线端面为典型的正六边形结构; 当生长液 Zn^{2+} 浓度为 100 mmol/L 时, ZnO 纳米线之间发生一定程度结晶, 其直径增大。

图 4a、4c 为图 3c、3e 所示球形跨尺度结构上固定 GOD 后的表面轮廓, 图 4b、4d 是固定有 GOD 的 ZnO 纳米线放大图。明显地, GOD 已均匀地固定在 ZnO 纳米线的顶面和侧面。

从提取出的球形跨尺度结构轮廓边缘可导出其几何中心, 见图 3a 中的白色 “*” 所示, 据此得到球形跨尺度结构阵列的纵向节距为 $573.9 \pm 24.8 \mu\text{m}$ (公称值为 $570 \mu\text{m}$), 横向节距为 $578.9 \pm 38.7 \mu\text{m}$ (公称值为 $625 \mu\text{m}$), 表明用特定厚度的硅基底和光纤纤芯阵列作为定位夹具, 可得到规整的球形跨尺度结构阵列。

图 3c、3e、4a、4c 中的白色曲线为固酶前后球形跨尺度结构的轮廓曲线, 从该轮廓曲线中去除拟合中线, 得到相应的表面形貌轮廓, 见图 5 中的黑色实线 (固酶前) 和黑色虚线 (固酶后) 所示。据此可提取出粗糙度 R_a 、偏斜率 S_k 、相关长度 ζ 等表面形貌特征

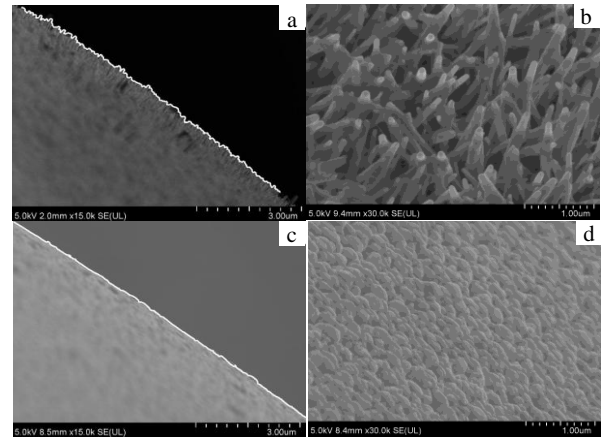


图 4 固定有 GOD 的球形跨尺度结构

Fig.4 Spherically hierarchical structures with GOD: (a) the extracted profile of the spherically hierarchical structure with GOD, (b) the related ZnO nanorods with GOD, (c) the extracted profile of the other spherically hierarchical structure with GOD, and (d) the corresponding ZnO nanorods with GOD

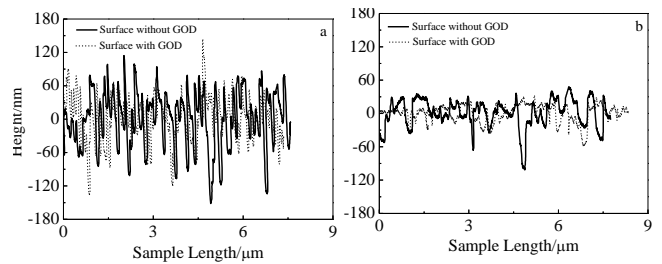


图 5 固定 GOD 前后的球形跨尺度结构表面形貌图

Fig.5 Surface morphologies of the spherically hierarchical structures without and with GOD: (a) the surface heights of the spherically hierarchical structure in Fig. 3c and 4a, and (b) the surface heights of the spherically hierarchical structure in Fig. 3e and 4c

参数。图 5a 和图 5b 中的黑色实线表明, 当生长液 Zn^{2+} 浓度由 25 mmol/L 增加到 100 mmol/L 时, R_a 由 50 nm 减小到 26 nm, 表面变得较光滑; S_k 由 -0.50 变为 -1.09, 表面上凸起减少; ζ 由 72 nm 增大到 138 nm, 表面随机性降低。表面形貌的上述变化导致 GOD 吸附面积减小、固定效果减弱。

图 5a 中的黑色实线和虚线表示球形跨尺度结构 (生长液 Zn^{2+} 浓度为 25 mmol/L) 固定 GOD 前后的表面形貌轮廓。 R_a 由 50 nm 减小到 41 nm, 表面变得平滑; S_k 由 -0.50 增加到 -0.23, 凹坑减少; ζ 由 72 nm 增加到 95 nm, 表面随机性减弱。特征参数的变化表明

GOD 已有效地固定在了 ZnO 纳米线的顶面和侧面上。

图 5b 中的黑色实线和虚线表示球形跨尺度结构 (生长液 Zn^{2+} 浓度为 100 mmol/L) 固定 GOD 前后的表面形貌轮廓, 从中亦可得到相似的结论。总之, 引入特征参数不但能量化表征球形跨尺度结构的表面形貌, 而且对工艺能力及 GOD 的吸附效果可进行定量评定。

2.3 球形跨尺度结构阵列酶电极的电化学表征

2.3.1 循环伏安法

图 6 中的黑实、虚线分别给出了图 4a、4c 对应的酶电极在浓度为 1 mmol/L 葡萄糖溶液中的循环伏安曲线。当扫描电压大于 +0.2 V 时, 图 4a 酶电极的氧化电流逐渐大于图 4c 酶电极, 表明葡萄糖在 GOD 的催化作用下开始被氧化, 且图 4a 酶电极的固酶效果更好。该结论和图 5 表面形貌的分析结论相一致。葡萄糖被氧化时产生了过氧化氢, 故在 +0.6 V 处出现较小的肩峰。

2.3.2 电流-时间法

图 7a 中的黑实、虚阶梯曲线为图 4a、4c 对应葡萄糖传感器的电流-时间阶梯曲线。阶梯电流波动较小, 表明两个传感器的信噪比大; 后几个阶梯高度逐渐减小, 说明葡萄糖浓度已超出了该传感器的线性范围。黑色实线在黑色虚线的上方, 表明图 4a 酶电极所固定的 GOD 比图 4c 对应的多, 该结论符合图 5 所示表面形貌的特点。

图 7b 为图 7a 中葡萄糖浓度与响应电流平均值的校准曲线。对该散点图进行线性拟合, 分别得到两种球形跨尺度结构阵列葡萄糖传感器的线性范围为 0~2.5 mmol/L、0~3 mmol/L, 灵敏度 17.24、3.32 $\mu\text{A}\cdot(\text{mmol/L})^{-1}\text{cm}^{-2}$, 最低检出限 3.44、14 $\mu\text{mol/L}$ 。对葡萄糖浓度和响应电流值取倒数, 得到 Lineweaver-Burk

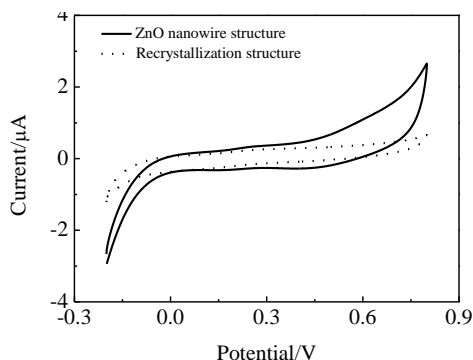


图 6 两种球形跨尺度结构阵列葡萄糖传感器的 CV 曲线

Fig.6 Cyclic voltammograms of the two spherically hierarchical structure-based glucose sensors

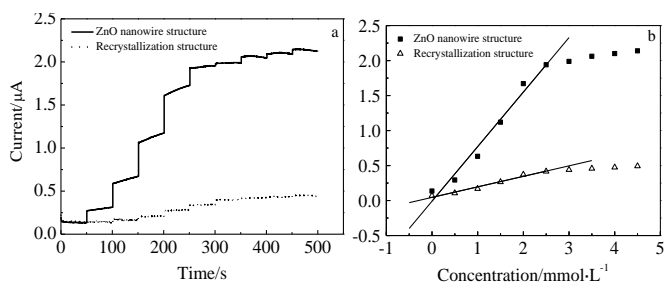


图 7 两种球形跨尺度结构阵列葡萄糖传感器的性能曲线

Fig.7 Performance of the two spherically hierarchical structure-based glucose sensors: (a) $I-t$ step curves and (b) calibration curves of response currents vs. glucose concentration

散点图, 对该散点图进行线性拟合, 求得 Michaelis-Menten 常数分别为 1.85、4.42 mmol/L。线性范围对表面形貌变化不敏感, 而灵敏度、最低检出限却反之, 原因是不同表面形貌的酶电极对 GOD 的固定效果不同。Michaelis-Menten 常数小于其它文献中的数值^[2,3], 表明 GOD 对葡萄糖的亲和力好, 这是因为球形跨尺度结构上 ZnO 纳米线呈发散状, 使得其对 GOD 的固定效果好于一的酶电极。

3 结论

熔凝 Au 丝可以得到直径和圆度误差符合精度要求的 Au 微球。以硅基底和光纤纤芯阵列为定位夹具, 可手工搭建出满足节距精度要求的 3×3 Au 微球阵列。在 Au 微球上先合成 ZnO 纳米线、后固定 GOD, 能制备出球形跨尺度结构阵列工作电极。几何形状、表面形貌、电化学性能等表征结果表明, 所制备的球形跨尺度阵列葡萄糖传感器满足性能要求, 且其小型化和集成度均得到了进一步改善。

参考文献 References

- [1] Fulati A, Ali S M U, Asif M H *et al.* *Sens Actuators B*[J], 2010, 150(2): 673
- [2] Kong T, Chen Y, Ye Y *et al.* *Sens Actuators B*[J], 2009, 138(1): 344
- [3] Sun X W, Wang J X, Wei A. *J Mater Sci Technol*[J], 2008, 24: 649
- [4] Usman Ali S M, Nur O, Willander M *et al.* *Sens Actuators B*[J], 2010, 145(2): 869
- [5] Wang Z L. *J Phys-Condens Mat*[J], 2004, 16(25): R829
- [6] Wang Wei(王卫), Wang Xinjun(王新军), Liu Yanli(刘艳丽).

- Rare Metal Materials and Engineering* (稀有金属材料与工程) [J], 2013, 42(8): 1699
- [7] Kim J Y, Jo S Y, Sun G J *et al. Sens Actuators B*[J], 2014, 192: 216
- [8] Vu T T, del R ó L, Valdés-Solís T *et al. J Hazard Mater*[J], 2013, 246-247: 126
- [9] Chew Z J, Brown R A, Maffei T G G *et al. Mater Lett*[J], 2012, 72: 60
- [10] Lin Y H, Wang S H, Wu M H *et al. Biosens Bioelectron*[J], 2013, 43: 328
- [11] Jing Weixuan(景蔚萱), Zhou Fan(周帆), Chen Lujia(陈路加) *et al. Chemical Journal of Chinese Universities* (高等学校化学学报) [J], 2014, 35(3): 493

Construction of Glucose Sensors Based on the Arrays of Au Microspheres

Jing Weixuan, Qi Han, Cheng Yanyan, Jiang Zhuangde, Chen Lujia, Zhou Fan, Wang Bing
(State Key Laboratory for Manufacturing Systems Engineering, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China)

Abstract: With silicon substrates and arrays of optical fiber cores as assembly fixtures, 3×3 arrays of Au microspheres produced by melting and condensing Au fibers were manually arranged. ZnO nanowires were hydrothermally synthesized on Au microspheres, and glucose oxidase was immobilized on ZnO nanowires, obtaining the spherically hierarchical structure array-based working electrodes. The surface morphologies and the glucose oxidase immobilization effects of the spherically hierarchical structures as well as the electrochemical performance of the working electrodes were quantitatively characterized. The linear range, sensitivity, low detection limit and Michaelis-Menten constant of this glucose sensor are 0~2.5 mmol/L, 17.24 $\mu\text{A}\cdot(\text{mmol/L})^{-1}\text{cm}^{-2}$, 3.44 $\mu\text{mol/L}$, and 1.85 mmol/L respectively.

Key words: Au microsphere; ZnO nanowire; hierarchical structure; hydrothermal synthesis; glucose sensor

Corresponding author: Jing Weixuan, Ph. D, Associate Professor, State Key Laboratory for Manufacturing Systems Engineering, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, P. R. China, Tel: 0086-29-82668616, E-mail: wxjing@mail.xjtu.edu.cn