

## 激光与光电子学进展

## 基于氧化石墨烯-金纳米-葡萄糖氧化酶的新型葡萄糖比色传感器

徐冰<sup>1,2\*</sup>, 李艳<sup>1,2</sup>, 罗志会<sup>1,2</sup>, 黄江楼<sup>1,2</sup><sup>1</sup>三峡大学理学院, 湖北 宜昌 443002;<sup>2</sup>湖北省弱磁探测工程技术研究中心, 湖北 宜昌 443002

**摘要** 基于化学交联法和静电吸附法,制备了一种基于氧化石墨烯(GO)-金纳米颗粒(AuNPs)-葡萄糖氧化酶(GOD)的新型比色葡萄糖生物传感器。GOD会催化葡萄糖氧化生成H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,生成的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>进一步诱导GO-AuNPs局部表面等离子体共振(LSPR)带的变化,从而实现葡萄糖的检测。GO改善了复合颗粒的稳定性,降低了金属颗粒的生物毒性,还改善了传感器的响应。通过透射电子显微镜(TEM),拉曼光谱和紫外可见分光光度计分别对复合颗粒的微观结构和光学性质进行了表征,并系统地研究了传感器的最佳检测条件,使开发的比色传感器对葡萄糖质量浓度具有高灵敏度和高选择性,并实测到传感器的灵敏度为14 nm/(mg/mL),范围为0~1.6 mg/mL,可用于实际检测。这项工作结合了GO和AuNPs的优势,显示了在葡萄糖检测领域简单、稳定和具有成本效益的应用前景。

**关键词** 葡萄糖; 比色法; 金纳米颗粒; 氧化石墨烯; 局域表面等离子体共振

中图分类号

文献标志码 A

DOI: 10.3788/LOP223419

## A Novel Colorimetric Glucose Biosensor Based on Graphene Oxide-Gold Nanoparticles-Glucose Oxidase Composites

Xu Bing<sup>1,2\*</sup>, Li Yan<sup>1,2</sup>, Luo Zhihui<sup>1,2</sup>, Huang Jianglou<sup>1,2</sup><sup>1</sup>College of Science, China Three Gorges University, Yichang 443002, Hubei, China;<sup>2</sup>Hubei Engineering Research Center of Weak Magnetic-Filed Detection, Yichang 443002, Hubei, China

**Abstract** A novel colorimetric glucose biosensor based on graphene oxide (GO)-gold nanoparticles (AuNPs)-glucose oxidase (GOD) is fabricated using chemical cross-linking and electrostatic methods. GOD catalyzes the glucose oxidation to produce H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, which in turn shifts the local surface plasmon resonance (LSPR) band of GO-AuNPs to achieve glucose detection. GO improves the stability of composite particles, reduces metal particle biotoxicity, and enhances sensor response. The microstructure and optical properties of the composite particles are characterized using transmission electron microscope (TEM), Raman spectroscopy, and UV-Vis spectrophotometer. The optimal detection conditions of the sensor are systematically investigated, and the sensor exhibited high sensitivity and selectivity for tested glucose mass concentrations. The sensitivity of the sensor is 14 nm/(mg/mL) in the range of 0–1.6 mg/mL, which suggests that this sensor can be used for glucose detection in clinical settings. Our sensor combines the advantages of GO and AuNPs, and holds potential for simple, stable, and cost-effective use for glucose detection.

**Key words** glucose; colorimetric method; gold nanoparticle; graphene oxide; local surface plasmon resonance

## 1 引言

人体的生理健康状况可以直接由血糖含量水平反映出来,因此密切监测人体血糖水平非常重要<sup>[1-3]</sup>。目前,葡萄糖传感器主要基于电化学传感器或元素标记

方法<sup>[4]</sup>,但是这些方法通常需要复杂的制备步骤,而在实际应用中因高成本和对电磁干扰的易感性受到高度限制。与之相比,比色法因高灵敏度和快速响应而备受关注,这为检测生物参数提供了一个新的思路<sup>[5-6]</sup>。

金纳米颗粒(AuNPs)由于其极高的消光系数而

收稿日期: 2022-12-28; 修回日期: 2023-02-08; 录用日期: 2023-02-17; 网络首发日期: 2023-02-27

基金项目: 湖北省自然科学基金(2022CFB800)、宜昌市自然科学基金(A22-3-002)

通信作者: \*xbwhut2018@163.com

成为构建比色传感器的理想选择。此外, AuNPs 在分散状态下的局部表面等离子体共振(LSPR)特性使其对环境的微小变化非常敏感, 这使得其在传感方向逐渐得以应用<sup>[7-9]</sup>。然而 AuNPs 的稳定性仍然是一个问题, 为了增强稳定性并提高灵敏度, 研究人员已经提出了复合纳米颗粒结构。其中, Au-Pt 纳米结构<sup>[10]</sup>, Au-Pd 纳米结构<sup>[11]</sup>, Cu-Ag/rGO 纳米结构<sup>[12]</sup>, 以及双 Au 纳米颗粒<sup>[13]</sup>对过氧化氢表现出良好的响应, 在葡萄糖检测领域具有广阔的应用前景。然而, 作为重金属纳米粒子, 其生物毒性和环境危害仍然不容忽视。氧化石墨烯(GO)由于其优异的化学性质, 绿色性和生物相容性而被广泛研究<sup>[14-20]</sup>, 并且已被用于检测商业消毒剂(过氧化氢)<sup>[21]</sup>, 血清(尿素)<sup>[22]</sup>, 农业危害(甲基对硫磷)<sup>[23]</sup>, 食物, 饮料(氯霉素<sup>[24]</sup>、咖啡酸<sup>[25]</sup>、亚硝酸盐<sup>[26]</sup>、葡萄糖<sup>[27-29]</sup>), 在生物传感器领域具有广阔的应用前景。

本文构建了一种基于 GO-AuNPs-葡萄糖氧化酶(GO-AuNPs-GOD)的比色葡萄糖传感器。首先通过静电相互作用将 AuNPs 封装在 GO 内来合成 GO-AuNPs 复合颗粒, 使 AuNPs 的聚集减少。此外, 由于 GO 的特殊物理性质, 可以增强复合物的 LSPR, 这为进一步提高传感器的灵敏度和降低其检测下限提供了可能, 然后采用化学交联法将葡萄糖氧化酶固定在复合颗粒表面, 合成了 GO-AuNPs-GOD 复合物, 从而实现葡萄糖质量浓度的检测。

## 2 材料和方法

### 2.1 材料和仪器

柠檬酸钠( $C_6H_5Na_3O_7$ ), 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC), 和 N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)购自阿拉丁。氯化金(III)三水合物( $HAuCl_4 \cdot 3H_2O$ ),

磷酸氢二钠二水合物( $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ ), 无水磷酸二氢钠( $NaH_2PO_4$ ), 氯化钠(NaCl), 氯化钾(KCl), 氯化铜( $CuCl_2$ ), 氯化镁( $MgCl_2$ ), 硫酸钠( $Na_2SO_4$ ), 抗坏血酸, 蔗糖, 乳糖果糖, 甘氨酸, 丙氨酸和 L-半胱氨酸均来自国药集团化学试剂北京有限公司。所有化学品均为分析纯, 使用的水均为超纯水。

### 2.2 GO-AuNPs-GOD 和传感器探针的制备

复合颗粒的合成主要分为 3 个步骤, 如图 1 所示。首先, 以柠檬酸钠为还原剂, 采用还原法<sup>[30]</sup>合成 AuNPs。不同尺寸的 AuNPs 可以通过控制还原剂的量来获得, 向 50 mL 沸腾的质量分数为 0.01% 的氯金酸溶液中加入不同体积(0.3, 0.5, 0.75, 1, 1.75 mL)的柠檬酸钠溶液(质量分数为 1%), 制备了不同粒径的 AuNPs。随着反应的进行, 溶液的颜色从浅黄色变为黑色, 最后变为暗红色, 然后在继续反应 30 min 后停止加热。将 AuNPs 冷却至室温, 然后储存在 4 °C 下以供使用。其次, 通过静电相互作用将 AuNPs 封装在 GO 中制备 GO-AuNPs 复合颗粒。将合成的 AuNPs 溶液与 GO 溶液按不同比例混合并搅拌 2 h 得到 GO-AuNPs。GO 表面上的含氧基团会促进 GO 对 AuNPs 的封装<sup>[31]</sup>, 得到 GO-AuNPs 复合颗粒。最后, 使用化学交联方法制备对葡萄糖具有特异性响应的 GO-AuNPs-GOD 复合物。将 GO-AuNPs 复合颗粒与适量的 EDC/NHS 溶液混合并在室温下搅拌 1 h。将 GOD 溶解在配置有  $Na_2HPO_4$  和  $NaH_2PO_4$  的磷酸缓冲盐(PBS)缓冲液中制备 GOD 溶液后, 然后将功能化的 GO-AuNPs 复合颗粒分散在 GOD/PBS 溶液中 12 h。GO 表面的羟基会被 EDC 和 NHS 氧化成羧基, 与 GOD 的氨基共价结合, 从而将 GOD 固定在 GO-AuNPs 复合颗粒上, 之后用 PBS 洗涤 GO-AuNPs-GOD 复合物除去游离 GOD, 最后分散在 PBS 缓冲液中。

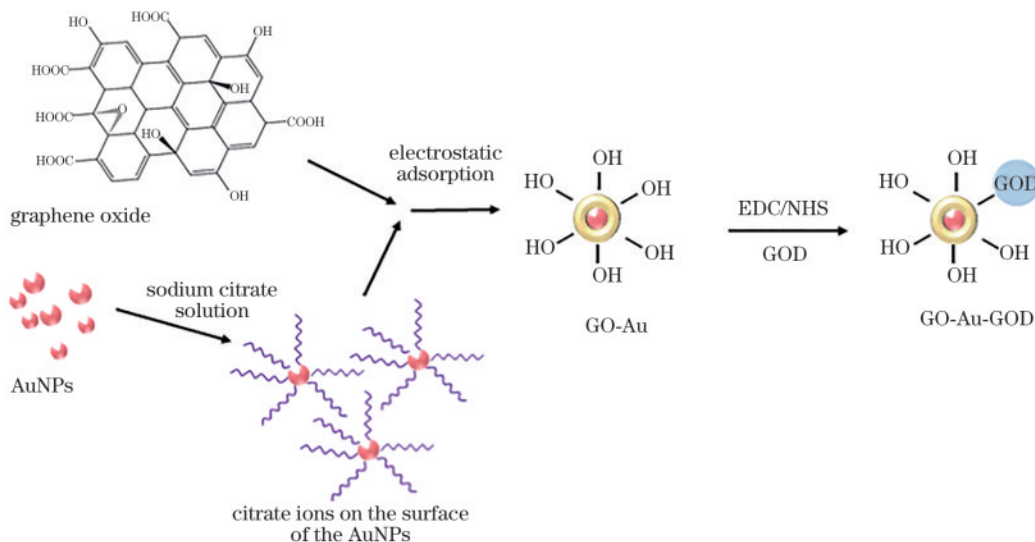


图 1 GO-AuNPs-GOD 复合物的制备原理

Fig. 1 Preparation principle of GO-AuNPs-GOD complex

### 2.3 通过生物传感器检测葡萄糖

GO-AuNPs-GOD 复合颗粒具有很强的 LSPR 效应,因此在紫外可见分光光度计下会出现明显的消光峰,溶液的颜色为红色。GOD 会催化葡萄糖和氧气之间的反应产生过氧化氢,从而改变系统的折射率和稳定性,如图 2 所示。AuNPs 之间发生表面等离子体共振耦合,导致 GO-AuNPs-GOD 复合物从分散状态逐渐变为聚集状态,溶液颜色也相应的从红色变为紫色。此外,由于 GO 增强了其表面等离子体共振效应,传感器的灵敏度得到了提高,因此可以通过紫外可见吸收光谱的变化来检测不同含量的葡萄糖溶液。

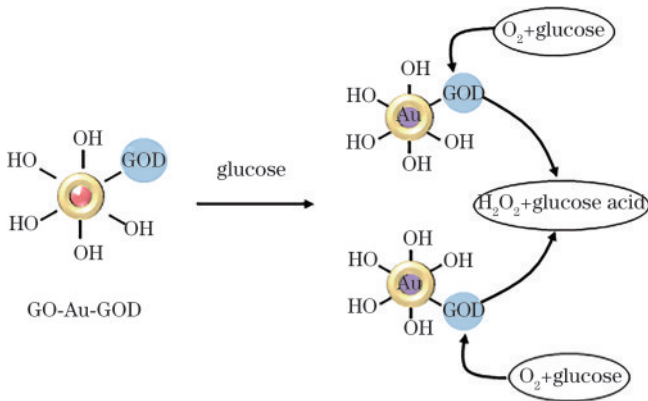


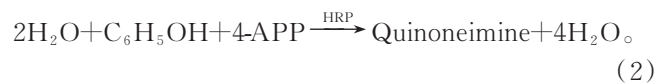
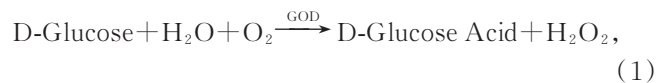
图 2 比色法检测葡萄糖溶液的原理

Fig. 2 Principle of the colorimetric method for glucose solution detection

### 2.4 酶活性测定法

称量 14 mg 4-氨基安替比林(4-APP)和 14 mg 辣根过氧化物酶(HRP)并加入到 80 mL PBS 溶液(0.01 mol, pH=7)中,充分搅拌后滴加 4 mL 质量分数为 3% 的苯酚溶液并充分混合,得到溶液 A,将其置于 4 °C 下以供后续使用。将 100 mg 葡萄糖完全溶解在

100 mL 的 PBS 溶液(0.1 mol, pH=7)中,得到溶液 B,将其置于 4 °C 下使用。将 1.5 mL 溶液 A 和溶液 B 在比色皿中充分混合,然后加入 300 μL GO-AuNPs-GOD 以测量波长为 510 nm 处吸光度的变化。葡萄糖在 GOD 催化下与氧气相互作用,产生过氧化氢,4-APP 和苯酚在 HRP 的催化作用下会与过氧化氢反应生成红色的醌亚胺。醌亚胺在波长为 510 nm 处会表现出较强的吸收峰,其峰值强度与过氧化氢的含量有明显的相关性,过氧化氢的含量又与 GOD 的催化作用密切相关。因此,可以将复合物在 510 nm 处的吸光度随时间的变化作为酶活性的动力学曲线,并将曲线的斜率作为酶活性的指标。



## 3 结果和讨论

### 3.1 复合颗粒的表征

使用紫外分光光度计测量了 AuNPs 和 GO-AuNPs 复合颗粒的吸收光谱,结果如图 3(a)所示,复合颗粒在 525 nm 处具有特征吸收峰,这是 GO-AuNPs 复合颗粒的 LSPR 效应引起的。可以证明 GO 的引入并没有破坏 AuNPs 的紫外可见的吸收性能。复合颗粒吸收峰的半峰宽度小于单独的 AuNPs,表明 GO 的引入增加了其 LSPR 现象的稳定性<sup>[32]</sup>。此外,从紫外光谱中还可以明显看出,吸光度光谱变窄并且不会出现其他杂峰。利用透射电子显微镜(TEM)对复合颗粒的形貌和尺寸进行了表征,结果如图 3(b)、图 3(c)所示。通过 GO 将 AuNPs 封装成粒径约为 37 nm 的复合颗粒,这有助于金纳米颗粒保持分散,从而防止形成大纳米颗粒。

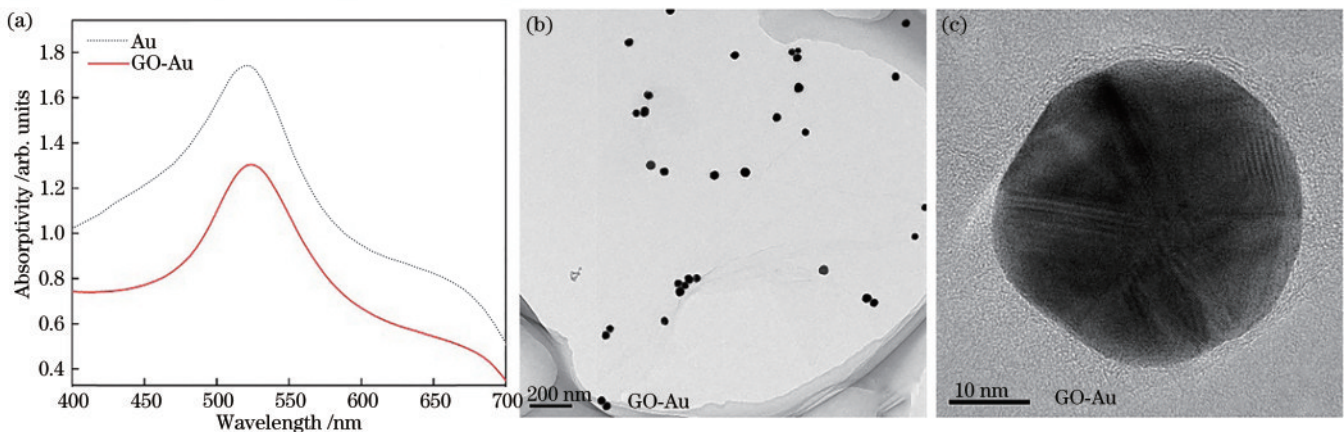


图 3 GO-AuNPs 复合纳米颗粒的表征。(a)紫外吸收光谱图;(b)(c)透射电镜图像

Fig. 3 Characterization of GO-AuNPs composite nanoparticles. (a) UV absorption spectra; (b)(c) TEM image

### 3.2 细胞毒性试验

低细胞毒性和生物相容性是生物传感器中敏感材料的重要特性之一。为了研究 GO-AuNPs 复合颗粒在体内的生物相容性,采用 CCK-8 法进行细胞毒性试验。将细胞分别在纯 AuNPs、GO 和不同比例的 GO-AuNPs 复合颗粒中培养 24 h 和 48 h。由图 4 可知,所有材料的细胞存活率均在 85% 以上,从而可以判断复合颗粒对细胞表现出明显的低毒性。这证实了 GO-AuNPs 复合颗粒具有非常低的生物毒性和良好的生物相容性,在生物传感器、细胞成像和细胞检测等领域具有良好的应用前景。

### 3.3 GO-AuNPs-GOD 的表征

为了确定 GOD 是否固定在了 GO-AuNPs 复合颗粒上,使用紫外可见吸收光谱和拉曼光谱对复合物进行了表征,如图 5 所示,固定了 GOD 的 GO-AuNPs (GO-AuNPs-GOD) 具有紫外可见光谱特征。由图 5(a) 可知, GOD 固定化的 GO-AuNPs 复合颗粒在 525 nm 左右的吸收峰强度明显降低,但峰位变化较少;在 GO-AuNPs-GOD 复合材料中,200~300 nm 之间有一个明显的吸收峰,这是 GOD 独有的吸收峰。由图 5(b) 可知, GOD 的固定化不影响 GO-AuNPs 复合颗粒的拉

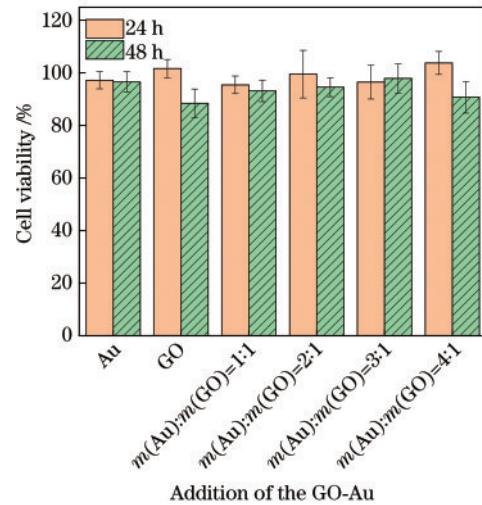


图 4 不同质量浓度 GO-AuNPs 复合物培养细胞的存活率  
Fig. 4 Survival rate of cells cultured with different mass concentrations of GO-AuNPs composite nanoparticles for different periods

曼特性,其独特的 D 峰和 G 峰没有变化。因此,可以确定 GOD 成功地固定在颗粒表面而不影响 GO-AuNPs 复合颗粒的性质。

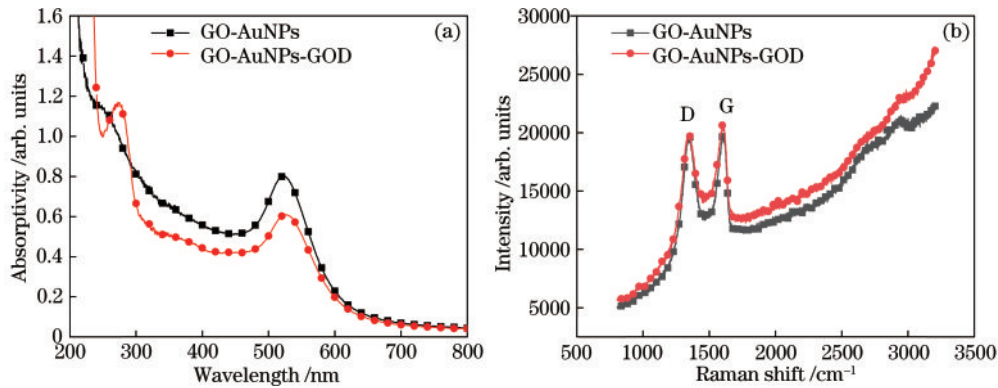


图 5 GO-AuNPs-GOD 复合物的表征。(a)紫外可见吸收光谱;(b)拉曼光谱  
Fig. 5 Characterization of GO-AuNPs-GOD composites nanoparticles. (a) UV absorption spectra; (b) Raman spectra

### 3.4 GO-AuNPs-GOD 的稳定性

为了评估制备的 GO-AuNPs 复合颗粒溶液的分散稳定性,采用激光粒度仪 Zetasizer Nano ZS 检测了 Zeta 电位, Zeta 电位表示溶液中连续相与分散颗粒之间的电位差,其绝对值直接关系到溶液体系的稳定性,测试结果如图 6 所示, GO-AuNPs 复合颗粒的 Zeta 电位要高于单独 AuNPs 的电位值,表明合成的 GO-AuNPs 复合颗粒比 AuNPs 的分散稳定性好, GO 的引入提高了金属颗粒的分散稳定性。GO-AuNPs-GOD 复合物的 Zeta 电位高于单独 GOD 的 Zeta 电位,表明合成的 GO-AuNPs-GOD 复合物比 GOD 更稳定, GO-AuNPs 复合颗粒的引入提高了酶的分散稳定性,为提高传感器的稳定性提供了可能。

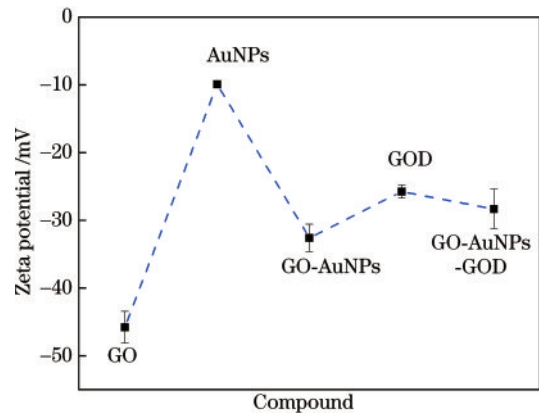


图 6 复合物的 Zeta 电位测试图  
Fig. 6 Zeta potential test diagram of complex

### 3.5 传感器优化

为了提高传感器对葡萄糖检测的灵敏度,对检测条件进行优化。构建了一种基于 GO-AuNPs-GOD 的比色葡萄糖传感器,检测其紫外可见吸收峰峰位在葡萄糖溶液是否存在漂移,以此作为测量其在不同条件(粒径、Au/GO 配比、酶含量、pH 和温度)对葡萄糖的响应,并推导了 GO-AuNPs-GOD 传感器的最佳操作条件。

#### 3.5.1 金纳米粒径对传感器性能的影响

考察了不同粒径(18, 23, 37, 56, 76 nm) AuNPs 对 GO-AuNPs-GOD 比色葡萄糖传感器性能的影响。将质量浓度为 1 mg/mL 的葡萄糖溶液加入到不同粒径的金纳米颗粒组成的 GO-AuNPs-GOD 中,然后研究了与 GO-AuNPs-GOD 结合的不同粒径的金纳米颗粒的吸收光谱,如图 7 所示,酶活性随着金纳米颗粒粒径的增大而增大,传感器的响应也不断增大。然而,当粒径持续增大时,复合物的稳定性降低,出现轻微的团聚现象,导致能够对葡萄糖分子产生响应的 GO-AuNPs-GOD 减少,传感器的响应反而会降低。因此,该传感器在粒径为 37 nm 时的响应最大。

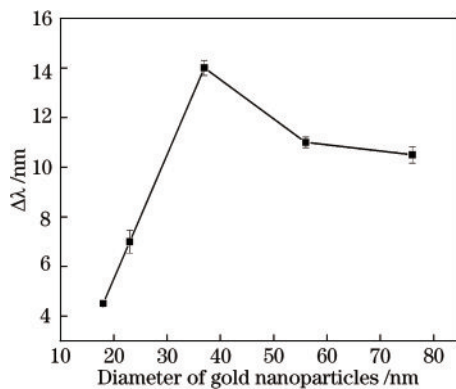


图 7 粒径对传感器的影响

Fig. 7 Effect of particle size on sensor

#### 3.5.2 氧化石墨烯与金纳米比例对传感器性能的影响

复合物组分的比例会直接影响其材料特性,进而影响传感器的性能,因此研究了不同比例的 Au/GO 对比色传感器的影响。将质量浓度为 1 mg/mL 的葡萄糖溶液加入到不同体积比的 Au/GO(1, 2, 3, 4, 5) 合成的 GO-AuNPs-GOD 溶液中,传感器的响应如图 8 所示。由图 8 可知,传感器的响应随着 Au/GO 比值的增加而增大,通过增加 Au 纳米颗粒的含量,材料的酶活性增加,传感器的响应增加;然而,当 Au 含量过大时,复合物的酶活性降低,传感器的响应降低。因此,选择粒径为 37 nm 的 AuNPs,以 Au/GO 体积比为 3 合成了 GO-AuNPs-GOD,并将其应用于传感器检测。

#### 3.5.3 酶含量对传感器性能的影响

GOD 质量浓度是影响传感器性能的重要因素。

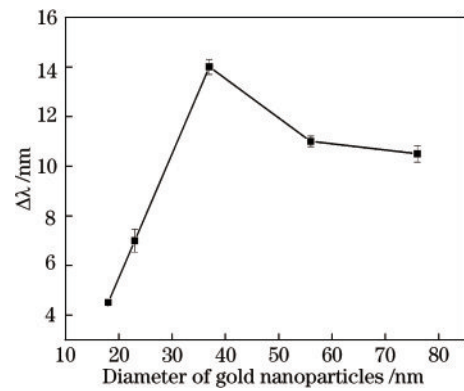


图 8 Au/GO 体积比对传感器性能的影响

Fig. 8 Effect of Au /GO volume ratio on sensor performance

当 GOD 质量浓度分别为 0.8、1.0、1.2、1.6、2.0 mg/mL 时,通过控制反应条件保持其他条件不变并调整 GOD 质量浓度,研究传感器对 1 mg/mL 葡萄糖的响应,并且每组数据重复测量 3 次以减少误差。图 9 显示了波长偏移与 GOD 质量浓度之间的关系。随着 GOD 质量浓度从 0.8 mg/mL 增加到 2.0 mg/mL,葡萄糖传感器的波长偏移值不断增加,GOD 质量浓度的增加加速了葡萄糖催化过程,产生了更多的葡萄糖酸和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。但当质量浓度超过 2.0 mg/mL 时,过量的 GOD 增加了空间位点电阻,酶活性降低,GO-AuNPs-GOD 传感器的性能也就随之降低了。因此,传感器的最佳 GOD 质量浓度为 1.6 mg/mL。

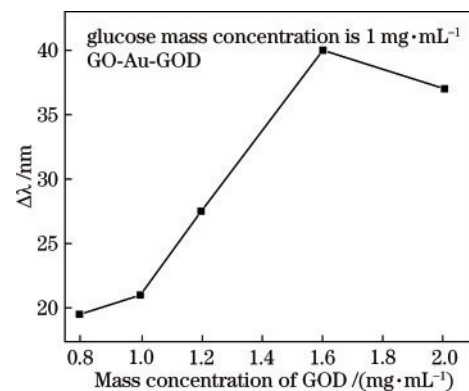


图 9 GOD 质量浓度对传感器性能的影响

Fig. 9 Effect of GOD mass concentration on sensor performance

#### 3.5.4 pH 值对传感器性能的影响

酶活性是影响传感器性能的重要参数之一,pH 值对酶活性有直接影响。pH 范围为 5.0~9.0 时,在质量浓度为 1 mg/mL 的恒定葡萄糖浓度下测试 pH 对传感器性能的影响,每个数据集重复 3 次以减少误差,测试结果如图 10 所示。传感器探头吸收峰峰值水平的漂移随着 pH 值的增加而逐渐增大,pH=7.0 时达到最大值,然后随着 pH 值进一步增加至 9.0 而减小,这是固体表面上的零电荷点决定的<sup>[33]</sup>。该传感器催化葡萄糖的氧化,当 pH=7 时产生更多的酸和过氧化氢,导致光谱漂移。因此,用于葡萄糖检测的最佳 pH 值为 7。

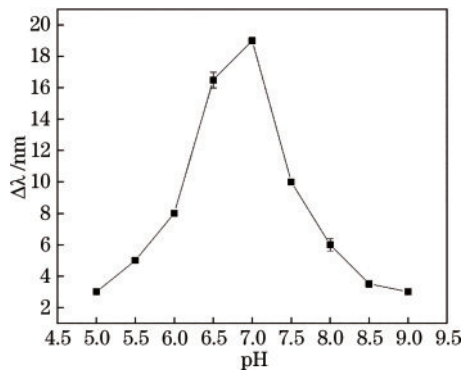
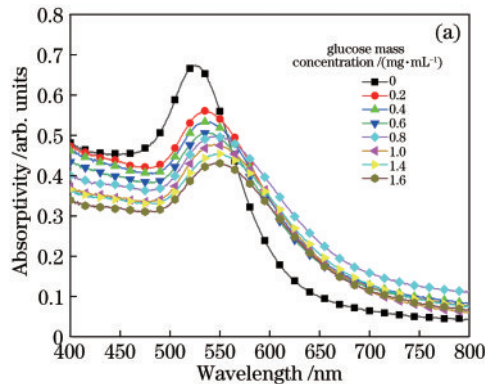


图 10 pH 值对传感器性能的影响  
Fig. 10 Effect of pH on sensor performance

### 3.6 传感器的灵敏度

为了评估比色葡萄糖传感器的灵敏度和检测范围,在与葡萄糖溶液孵育后检测 GO-AuNPs-GOD 复合物的紫外可见吸收光谱。将 1 mL 的葡萄糖溶液加入到 2 mL 的 GO-AuNPs-GOD 复合物溶液中,并在室温下孵育一段时间。测试混合物的吸收光谱,并根据吸收光谱的变化计算葡萄糖溶液的含量。



将不同质量浓度的葡萄糖加入到 GO-AuNPs-GOD 复合物的混合溶液中,得到的吸收光谱如图 11(a)所示。葡萄糖分子在 GOD 的作用下被氧化分解成葡萄糖酸和过氧化氢,这些产物会影响溶液的稳定性,进而导致颗粒的聚集,并最终表现为溶液紫外可见吸收光谱峰位的变化。随着葡萄糖质量浓度的增加,酶促反应产生更多的过氧化氢,传感器响应增加。图 11(b)显示了吸收峰位的变化与不同葡萄糖质量浓度之间的关系,标准曲线可表示为

$$\Delta\lambda = 14.40C + 3.18, R^2 = 0.95, \quad (1)$$

式中:λ为吸收波长,C为葡萄糖质量浓度;R<sup>2</sup>为决定系数。

该 GO-AuNPs-GOD 葡萄糖传感器的灵敏度约为 14.4 nm/(mg/mL),检测范围为 0~1.6 mg/mL。人体血液中的正常血糖范围为 0.65~1.1 mg/mL,该传感器的检测范围大于人体正常血糖范围,具有潜在的前景。此外,该传感器还适用于含糖量低的人体汗液中含糖量的检测,在生物医学领域具有广阔的应用前景。

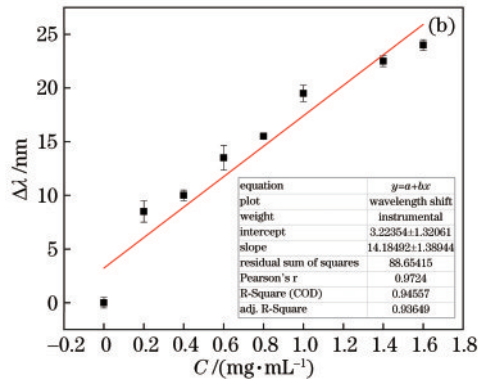


图 11 传感器的灵敏度。(a)不同葡萄糖质量浓度时的吸收光谱;(b)吸收波长变化与葡萄糖质量浓度之间的关系

Fig. 11 Sensitivity of the sensor. (a) Absorption spectra at different glucose mass concentrations; (b) relationship between the change of absorption wavelength and glucose mass concentration

### 3.7 传感器的选择性

研究了血液中常见干扰物(Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Cu<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Cl<sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、抗坏血酸、蔗糖、乳糖、果糖、甘氨酸、丙氨酸和 L-半胱氨酸)对传感器检测的影响。传感器在干扰物质(质量浓度为 1.0 mg/mL)溶液中的吸收波长峰值位置的漂移,如图 12 所示。其中,果糖相对于其他干扰物具有更高的响应,但远低于传感器对葡萄糖溶液的响应,果糖为葡萄糖分子的异构体。将传感器与其他干扰物质混合后未观察到明显偏移,表明葡萄糖传感器具有良好的选择性。

### 3.8 与同类传感器的对比

将本工作与同类传感器对比,其结果如表 1 所示。Liu 等提出了一种基于 Ag@AuTNPs 的葡萄糖传感器,利用纳米粒子取代了葡萄糖氧化酶,葡萄糖浓度范

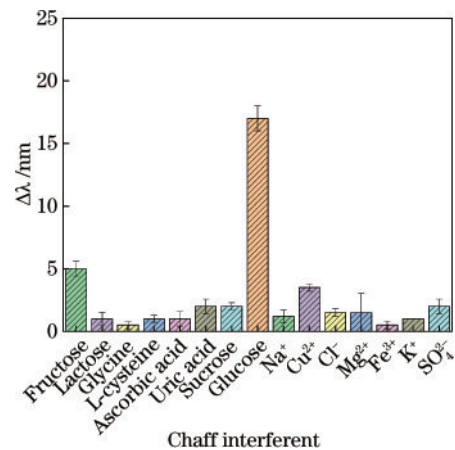


图 12 传感器的选择性

Fig. 12 Selectivity of sensor

表 1 与同类传感器相比  
Table 1 Compared with similar sensors

Material	Mechanism	Linear range	Sensitivity	Reference
GO-AuNPs-GOD	Colorimetric	0–1.6 mg/mL	14.4 nm/(mg/mL)	This work
Ag@AuTNPs	Colorimetric	0–30 mmol·L <sup>-1</sup>	0.00325 A <sub>800</sub> /mmol·L <sup>-1</sup>	[34]
GO-AuNPs-GOD-Fiber	SPR	0–11 mmol·L <sup>-1</sup>	1.06 nm/mmol·L <sup>-1</sup>	[35]

围为 0~30 mmol·L<sup>-1</sup>,该传感器吸收峰强度随含量的增加,逐渐减少,并表现出良好的线性响应,灵敏度为 0.00325 A<sub>800</sub>/mmol·L<sup>-1</sup>(A<sub>800</sub>为波长为 800 nm 时的吸收率)。该传感器在检测范围、灵敏度方面均表现出较大的优势。该传感器主要以复合粒子的吸收峰强度变化作为信号,但复合粒子的吸收峰强度与光源强度、检测仪器的狭缝宽度、检测时的积分时间、溶液中粒子的含量等均表现出较强的相关性,这给传感器的检测增加了极大的不稳定性,削弱了传感器信号的可靠性。本工作采用粒子的吸收峰峰位作为检测参数,去除了仪器参数和人工操作的误差影响,增强了传感器的可靠性。此外, Yang 将该复合粒子与光纤相结合,构建了基于 GO-AuNPs-GOD-Fiber 的光纤传感器,该传感器在葡萄糖浓度为 0~11 mmol·L<sup>-1</sup> 范围内,灵敏度为

1.06 nm/mmol·L<sup>-1</sup>,与此传感器相比,本工作简化了传感结构,且基于比色法可直接从视觉上定性分析,也可以结合光谱定量分析。

### 3.9 实际样品检测

为了进一步研究传感器在真实样品中的检测,在模拟体液(SBF)中研究了传感器<sup>[36]</sup>。将葡萄糖溶液分散在 SBF 中,并配置不同质量浓度的葡萄糖溶液。假设简单 SBF 的葡萄糖质量浓度为 0 mg/mL,则使用该传感器检测已知质量浓度为 0.5、0.9、1.3 mg/mL 的葡萄糖溶液。通过传感器中心波长的偏移和得到的标准曲线计算葡萄糖的检测质量浓度。结果如表 2 所示,每种质量浓度的检测范围为 95%~102%。实验结果表明,该传感器对实际样品的检测误差较小,结果令人满意。

表 2 SBF 中葡萄糖的检测  
Table 2 Detection of glucose in SBF

Sample No.	Mass concentration of added glucose/(mg·mL <sup>-1</sup> )	Mass concentration of detected glucose/(mg·mL <sup>-1</sup> )	<sup>a</sup> Recovery/%
1	0.50	0.51	102.00
2	0.90	0.89	98.89
3	1.30	1.24	95.38

注: a 为实际样品中检测的葡萄糖质量浓度与添加的葡萄糖质量浓度的比率。

## 4 结 论

采用化学交联法构建了基于 GO-AuNPs-GOD 的比色葡萄糖生物传感器。葡萄糖在酶催化反应中产生过氧化氢,导致溶液变色。采用静电结合法制备了 GO-AuNPs 配合物颗粒,表现出较高的稳定性和较低的毒性。考察了 AuNPs 粒径、Au 与 GO 比值、酶质量浓度和 pH 值对传感器的影响。结果表明,在 AuNPs 粒径为 37 nm、Au 与 GO 比值为 3:1、酶质量浓度为 1.6 mg/mL、检测环境 pH 值为 7 时,传感器的响应最为明显。通过检测在不同葡萄糖质量浓度下紫外可见吸收光谱的波长变化,GO-AuNPs-GOD 在 0~1.6 mg/mL 范围内表现出对葡萄糖的线性响应,灵敏度为 14.4 nm/(mg/mL),并且该传感器具有良好的选择性,可用于实际样品的检测。此外,引入氧化石墨烯提高了传感器的稳定性,表现出优异的生物相容性,在生物传感和医学诊断方面具有广阔的应用前景。

### 参 考 文 献

[1] Tashkhourian J, Hormozi-Nezhad M R, Khodaveisi J,

et al. A novel photometric glucose biosensor based on decolorizing of silver nanoparticles[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2011, 158(1): 185-189.

[2] Wu X M, Yin J T, Liu J F, et al. Colorimetric detection of glucose based on the binding specificity of a synthetic cyclic peptide[J]. *The Analyst*, 2020, 145(22): 7234-7241.

[3] Chen S, Hai X, Chen X W, et al. *In situ* growth of silver nanoparticles on graphene quantum dots for ultrasensitive colorimetric detection of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and glucose[J]. *Analytical Chemistry*, 2014, 86(13): 6689-6694.

[4] Hrapovic S, Luong J H T. Picoamperometric detection of glucose at ultrasmall platinum-based biosensors: preparation and characterization[J]. *Analytical Chemistry*, 2003, 75(14): 3308-3315.

[5] Guo Y M, Li J, Chai S M, et al. Nanomaterials for the optical detection of fluoride[J]. *Nanoscale*, 2017, 9(45): 17667-17680.[PubMed]

[6] Zhao Y Y, Yang J, Shan G Y, et al. Photothermal-enhanced tandem enzyme-like activity of Ag<sub>2-x</sub>Cu<sub>x</sub>S nanoparticles for one-step colorimetric glucose detection in unprocessed human urine[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2020, 305: 127420.

[7] Mulder D W, Phiri M M, Vorster B C. Gold nanostar

- colorimetric detection of fructosyl valine as a potential future point of care biosensor candidate for glycosylated haemoglobin detection[J]. *Biosensors*, 2019, 9(3): 100.
- [8] Zhong Q M, Chen Y Y, Qin X, et al. Colorimetric enzymatic determination of glucose based on etching of gold nanorods by iodine and using carbon quantum dots as peroxidase mimics[J]. *Microchimica Acta*, 2019, 186(3): 161.
- [9] Cai T J, Gao Y, Yan J L, et al. Visual detection of glucose using triangular silver nanoplates and gold nanoparticles[J]. *RSC Advances*, 2017, 7(46): 29122-29128.
- [10] He W W, Liu Y, Yuan J S, et al. Au@Pt nanostructures as oxidase and peroxidase mimetics for use in immunoassays[J]. *Biomaterials*, 2011, 32(4): 1139-1147.
- [11] Chen H Y, Li Y, Zhang F B, et al. Graphene supported Au-Pd bimetallic nanoparticles with core-shell structures and superior peroxidase-like activities[J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2011, 21(44): 17658-17661.
- [12] Darabdhara G, Sharma B, Das M R, et al. Cu-Ag bimetallic nanoparticles on reduced graphene oxide nanosheets as peroxidase mimic for glucose and ascorbic acid detection[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2017, 238: 842-851.
- [13] Lien C W, Huang C C, Chang H T. Peroxidase-mimic bismuth-gold nanoparticles for determining the activity of thrombin and drug screening[J]. *Chemical Communications*, 2012, 48(64): 7952-7954.
- [14] Chiu N F, Huang T Y. Sensitivity and kinetic analysis of graphene oxide-based surface plasmon resonance biosensors[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2014, 197: 35-42.
- [15] He H Y, Klinowski J, Forster M, et al. A new structural model for graphite oxide[J]. *Chemical Physics Letters*, 1998, 287(1/2): 53-56.
- [16] Lerf A, He H Y, Forster M, et al. Structure of graphite oxide revisited[J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 1998, 102(23): 4477-4482.
- [17] Johari P, Shenoy V B. Modulating optical properties of graphene oxide: role of prominent functional groups[J]. *ACS Nano*, 2011, 5(9): 7640-7647.
- [18] Bao Q L, Loh K P. Graphene photonics, plasmonics, and broadband optoelectronic devices[J]. *ACS Nano*, 2012, 6(5): 3677-3694.
- [19] Liao K H, Lin Y S, Macosko C W, et al. Cytotoxicity of graphene oxide and graphene in human erythrocytes and skin fibroblasts[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2011, 3(7): 2607-2615.
- [20] Lu B G, Li T, Zhao H T, et al. Graphene-based composite materials beneficial to wound healing[J]. *Nanoscale*, 2012, 4(9): 2978-2982.
- [21] Kogularasu S, Govindasamy M, Chen S M, et al. 3D graphene oxide-cobalt oxide polyhedrons for highly sensitive non-enzymatic electrochemical determination of hydrogen peroxide[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2017, 253: 773-783.
- [22] Karthik R, Govindasamy M, Chen S M, et al. A facile graphene oxide based sensor for electrochemical detection of prostate anti-cancer (anti-testosterone) drug flutamide in biological samples[J]. *RSC Advances*, 2017, 7(41): 25702-25709.
- [23] Rajaji U, Murugan K, Chen S M, et al. Graphene oxide encapsulated 3D porous chalcocopyrite (CuFeS<sub>2</sub>) nanocomposite as an emerging electrocatalyst for agro-hazardous (methyl paraxon) detection in vegetables[J]. *Composites Part B: Engineering*, 2019, 160: 268-276.
- [24] Karthik R, Govindasamy M, Chen S M, et al. Green synthesized gold nanoparticles decorated graphene oxide for sensitive determination of chloramphenicol in milk, powdered milk, honey and eye drops[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2016, 475: 46-56.
- [25] Chen T W, Rajaji U, Chen S M, et al. Sonochemical synthesis of graphene oxide sheets supported Cu<sub>2</sub>S nanodots for high sensitive electrochemical determination of caffeic acid in red wine and soft drinks[J]. *Composites Part B: Engineering*, 2019, 158: 419-427.
- [26] Muthumariappan A, Govindasamy M, Chen S M, et al. Screen-printed electrode modified with a composite prepared from graphene oxide nanosheets and Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> microcubes for ultrasensitive determination of nitrite[J]. *Microchimica Acta*, 2017, 184(9): 3625-3634.
- [27] Liu Y, Yu D S, Zeng C, et al. Biocompatible graphene oxide-based glucose biosensors[J]. *Langmuir*, 2010, 26(9): 6158-6160.
- [28] Wang Z J, Zhou X Z, Zhang J, et al. Direct electrochemical reduction of single-layer graphene oxide and subsequent functionalization with glucose oxidase[J]. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2009, 113(32): 14071-14075.
- [29] Omar M N, Salleh A B, Lim H N, et al. Electrochemical detection of uric acid via uricase-immobilized graphene oxide[J]. *Analytical Biochemistry*, 2016, 509: 135-141.
- [30] Turkevich J, Stevenson P C, Hillier J. Discussion of the Faraday Society on size and shape of colloidal particles[J]. *Discussions of the Faraday Society*, 1951, 11: 47-55.
- [31] Xu C, Yang D R, Mei L, et al. Encapsulating gold nanoparticles or nanorods in graphene oxide shells as a novel gene vector[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2013, 5(7): 2715-2724.
- [32] Nayak J K, Parhi P, Jha R. Graphene oxide encapsulated gold nanoparticle based stable fibre optic sucrose sensor[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2015, 221: 835-841.
- [33] Yu S, Ding L Y, Lin H T, et al. A novel optical fiber glucose biosensor based on carbon quantum dots-glucose oxidase/cellulose acetate complex sensitive film[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2019, 146: 111760.
- [34] Liu A, Li M M, Wang J X, et al. Ag@Au core/shell triangular nanoplates with dual enzyme-like properties for the colorimetric sensing of glucose[J]. *Chinese Chemical Letters*, 2020, 31(5): 1133-1136.
- [35] Yang Q S, Zhu G, Singh L, et al. Highly sensitive and selective sensor probe using glucose oxidase/gold nanoparticles/graphene oxide functionalized tapered optical fiber structure for detection of glucose[J]. *Optik*, 2020, 208: 164536.
- [36] Kokubo T, Takadama H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? [J]. *Biomaterials*, 2006, 27(15): 2907-2915.