# 氮掺杂石墨烯基酶修饰电极测定对苯二酚

李晓霞<sup>1</sup>,朴金花<sup>1</sup>,梁振兴<sup>2</sup>

(1. 华南理工大学食品科学与工程学院,广东广州 510640)(2. 华南理工大学化学与化工学院,广东广州 510640) 摘要:在改进的 Hummers 方法制备得到的氧化石墨基础上,以聚苯胺为氮源,采用水热还原法制备了氮掺杂石墨烯纳米材料, 并采用傅里叶红外光谱、扫描电子显微镜等方法对制备的纳米材料进行表征。将制备的氮掺杂石墨烯与辣根过氧化物酶复合制备了酶

修饰电极用来进行对苯二酚的检测。采用循环伏安法研究了该酶修饰电极对对苯二酚的催化性能。结果表明,该酶修饰电极在 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 存在的情况下,对对苯二酚具有很好的催化活性,在确定的实验条件下,对苯二酚的检测线性范围为 9×10<sup>-5</sup>~5.075×10<sup>-3</sup> mol/L,检出 限为 1×10<sup>-5</sup> mol/L (S/N=3),灵敏度为 84.14 mA/(mol·cm<sup>2</sup>)。该酶修饰电极对尿酸、抗坏血酸、维生素 E、柠檬酸、葡萄糖具有很好的 抗干扰能力和选择性,同时,该酶修饰电极具有良好的重复现性,经过 5 次平行测定得到的相对标准偏差为 2.89%。该酶修饰电极可 以用于水中的对苯二酚的检测。

关键词: 石墨烯; 修饰电极; 辣根过氧化物酶; 循环伏安; 对苯二酚 文章篇号: 1673-9078(2019)07-224-230

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.7.031

## Nitrogen-Doped Graphene-based Enzymatically Modified Electrode

## for the Detection of Hydroquinone

## LI Xiao-xia<sup>1</sup>, PIAO Jin-hua<sup>1</sup>, LIANG Zhen-xing<sup>2</sup>

(1.College of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)(2.School of Chemistry and Chemical Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** Based on the graphite oxide produced by the improved Hummers method, nitrogen-doped graphene nanomaterials were prepared by hydrothermal reduction method using polyaniline as the nitrogen source. The prepared nanomaterials were characterized by Fourier transform infrared spectroscopy and scanning electron microscopy. Then, the prepared nitrogen-doped graphene was combined with the horseradish peroxidase to prepare an enzymatically modified electrode for the detection of hydroquinone. The catalytic performance of the modified electrode towards hydroquinone was studied by cyclic voltammetry. The results showed that in the presence of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, the enzymatically modified electrode exhibited excellent catalytic activity towards hydroquinone. Under the determined experimental conditions, the linear range of detection, detection limit and sensitivity were  $9 \times 10^{-5} \sim 5.075 \times 10^{-3}$  mol/L,  $1 \times 10^{-5}$  mol/L (S/N = 3) and 84.14 mA/(mol·cm<sup>2</sup>), respectively, with very good anti-interference ability and selectivity to uric acid, ascorbic acid, Vitamin E, citric acid and glucose. The electrode also exhibited very good reproducibility and had a relative standard deviation (RSD) of 5 measurements as 2.89%. This prepared electrode can also be used for the detection of hydroquinone in water.

Key words: grapheme; modified electrode; horseradish peroxidase; cyclic voltammetry; hydroquinone

酚类化合物是一类应用广泛的化工原料,其中, 收稿日期: 2018-12-29

基金项目:国家自然科学基金项目(21576101;21676106;21476087);广 东省自然科学基金项目(2017A030313045);国家重点研发计划项目 (2016YFB0101200;2016YFB0101204);广州市科技计划项目 (201704030065)

作者简介:李晓霞(1993–),女,硕士研究生,研究方向:电化学生物传 感器

通讯作者:朴金花(1970-),女,副研究员,研究方向:电化学食品安全 检测;共同通讯作者:梁振兴(1978-),男,教授,研究方向:燃料电池, 纳米材料催化 对苯二酚作为精细化学品的基本原料,被广泛地用于 化妆品、染料、农药、医药和制革行业等<sup>[1]</sup>,但是对 苯二酚具有高毒性和难降解性,应用过程中会对环境 造成严重污染,同时,对苯二酚对人体的影响也不容 忽视,低浓度的对苯二酚就可以导致头痛和心动过速 等症状,因此,对苯二酚的检测显得尤为重要。目前 已经有许多种方法用于检测对苯二酚,比如高效液相 色谱法、气相色谱法、pH 流动注射分析法、同步荧光 法和分光光度法等<sup>[2~6]</sup>,但是,上述方法大都有耗费时 间长、仪器昂贵、灵敏度低和样品前处理繁琐等缺点, 因此,有必要开发出快速准确检测对苯二酚的方法, 电化学方法是一种可以达到快速准确检测目的的方法。目前,电化学生物传感器由于具有响应迅速、耗费低、灵敏度高、选择性好的优点而受到越来越多的关注,其中以酶为催化剂的电化学酶生物传感器得到了广泛的研究<sup>[7-10]</sup>。

目前,影响电化学酶生物传感器性能的一个主要 因素是酶修饰电极的导电性问题,酶作为催化剂,其 反应活性中心外包裹着一层蛋白质外壳,影响了电子 从反应位置到电极表面的传递,从而影响了电极的性 能;影响电化学酶生物传感器性能的另一方面原因是 酶修饰电极的稳定性问题,为了解决这两个方面的问 题,最常采用的方法是选取一些导电性良好的纳米材 料或聚合物材料与酶复合制备酶修饰电极,例如一些 导电性好的聚合物材料,如聚苯胺、聚吡咯等,另外 也可以选取导电性好的无机纳米材料,如碳纳米管等。 其中石墨烯(GN)由于其高比表面积,良好的导电性, 高机械强度和独特的电性能常被用来作为酶电极的修 饰材料,然而,单纯的石墨烯材料存在一些局限性, 如电化学活性弱,易结块,难以加工成型等。为了改 善这些缺点,研究人员在石墨烯中添加了 B, S 和 N 原子等杂原子[11~13], 孙立[13]等将其与吡啶甲酸铬 (CrPic)结合,用水热法合成 N-GQD 用于构建环境友 好的传感器,通过利用 N-GQDs/CrPic 的荧光增强性 来检测胆固醇。该生物传感器已成功应用于选择性地 检测胆固醇浓度,线性范围为 0~520 µM,检测限(LOD) 为0.4 µM。本文采用氮掺杂石墨烯(N-GN)作为酶载体 制备电化学酶生物传感器,一方面,由于氮掺杂石墨 烯的良好导电性,可以改善酶生物传感器的电子传递 性能;另一方面,水热法制备的空间三维结构的氮掺 杂石墨烯材料的高比表面积有助于提高酶的载量,同 时有助于酶的固定,提高酶电极的稳定性。

辣根过氧化物酶作为催化剂,被广泛应用于 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,芳香胺、酚类及葡萄糖的检测中,HRP可以催 化还原H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,自身被氧化,氧化产物可以得电子被还 原,在检测酚类化合物时,酚类化合物可以被 HRP 的氧化物中间体氧化,然后在电极上发生还原反应, 还原电流与酚类化合物浓度成比例,酚类化合物在此 反应过程中起到媒介体的作用,因此,HRP 在一定浓 度 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>存在条件下,可以检测酚类化合物的含量。

在本研究中,以制备的空间三维氮掺杂石墨烯为 修饰材料、以辣根过氧化物酶(HRP)为催化剂、壳聚 糖为粘结剂(CS)制备酶修饰电极电极用于检测对苯二 酚。图1为该对苯二酚电化学生物传感器的反应机理, 在过氧化氢存在的情况下,HRP催化对苯二酚氧化生 成对苯二醌,同时 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 还原成 H<sub>2</sub>O,然后对苯二醌



#### 1 材料与方法

#### 1.1 材料与试剂

石墨粉 (99%) 购自由天津科密欧供公司; 高锰酸钾 (KMnO4, 99.0%) 购自济宁恒泰化工有限公司; 对苯二酚 (HQ), 苯胺 (ANI), 过氧化氢 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), 壳聚糖 (CS) 和过硫酸铵 ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) 购自天津达 茂化学试剂厂; 辣根过氧化物酶购于 Sigma, 牛血清 蛋白(BSA)购自广州市左克生物科技发展有限公司; 尿酸 (UA, 98.0%)、抗坏血酸 (Vc, 99.7%)、维生 素 E (VE, 98%)、柠檬酸 (CA, 99.8%) 和葡萄糖 (Glu, 99.0%) 均购自天津天新精细化工开发中心; 实验中采用磷酸盐缓冲溶液 (PBS, 0.1 M) 用作支持 电解质,所有其他化学品均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

采用德国 Zeiss 公司的 Merlin 场发射扫描电子显微镜(SEM)对制备的纳米材料进行微观形貌分析, 傅立叶变换红外(FT-IR, VERTEX 70, Bruker,德国) 用于分析材料的官能团,扫描范围为 4000 cm<sup>-1</sup>~400 cm<sup>-1</sup>,分辨率为4 cm<sup>-1</sup>,使用 CHI 660E 电化学工作站 (中国上海晨华仪器有限公司)与三电极体系进行电 化学性能测试。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 氮掺杂石墨烯的制备

采用了改进的 Hummers 方法<sup>[15]</sup>制备氧化石墨 (GO), 然后将制备的 GO 加入到 0.5 M HCl 溶液中并 超声 12 h,将悬浮液置于冰浴中,加 500 µL 苯胺,搅 拌 30 min 后,缓慢加 5 mL 1 M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>,并在冰浴 中继续搅拌 6 h,反应后,将混合物转移到高压反应釜 中,180 ℃下水热还原16 h制成空间三维石墨烯材料, 经过滤、洗涤、干燥、研磨后,将产物置于管式炉在 N<sub>2</sub>下 400 ℃煅烧 2 h,将煅烧产物在 80 ℃下用 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 洗涤 10 h,抽滤洗涤后的产物烘干后置于 700 ℃煅烧 1 h 得到空间三维氮掺杂石墨烯材料(N-GN)。

#### 1.3.2 酶修饰电极的制备

用粒径分别为 0.3 μm 和 0.05 μm 的 Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 依次在 麂皮上打磨玻碳电极 (GCE, 3.0 mm 直径),在去离 子水、乙醇中依次超声振荡清洗 3 min,然后在 0.5 M 的硫酸溶液中用循环伏安法连续扫描活化后备用。将 制备的 N-GN 用水超声分散,制成 10 mg/mL N-GN 均 匀分散液,用含有 0.1%牛血清蛋白 (BSA)的 PBS 缓 冲溶液(0.1 M, pH=6.5)制备 25 mg/mL HRP 溶液; 用 1%乙酸溶液配制 10 mg/mL 壳聚糖溶液。将 N-GN 分散液、HRP 溶液与壳聚糖溶液等体积混合后,取 6 μL 滴于电极表面,室温干燥得到 N-GN/HRP/BSA/CS 酶修饰电极。

#### 1.3.3 电化学测试

实验中电化学性能测试采用三电极体系,以制备的酶修饰电极为工作电极,铂片电极为对电极、饱和 甘汞电极 (SCE)作为参比电极,采用循环伏安法进行 电化学性能测试,在每次电化学测试前,在测试溶液 中通高纯度 N<sub>2</sub> 30 min,测试过程中保持液面上方氮气 氛围,所有实验均在室温下进行。

#### 1.3.4 数据统计分析

所有电化学数据均采用上海辰华 CHI 660E 电化 学工作站测试得到,经 CHI 660E 导出得到 excel 格式 文件,再输入至 Origin 软件。

## 2 结果与讨论

#### 2.1 空间三维氮掺杂石墨烯材料表征

### 2.1.1 FT-IR 分析

图 2 为制备的氧化石墨、聚苯胺(PANI)、聚苯 胺-氧化石墨(PANI-GO)、聚苯胺氧化石墨烯 (PANI-GN)、氮掺杂石墨烯的傅里叶红外光谱图, GO、PANI-GO、PANI-GN、N-GN均在 3435~3457cm<sup>-1</sup> 范围内出现既宽又强的谱峰,对应的是材料吸附水后 -OH的伸缩振动峰;这四种材料也在 1632~1641 cm<sup>-1</sup> 范围内呈现的是材料吸附水后-OH 的弯曲振动峰和 C 原子间 sp<sup>2</sup>杂化引起的 C=C 键伸缩振动峰;在 1097~1119 cm<sup>-1</sup>呈现的是苯环上的 C-H 面内弯曲振动 峰<sup>[16~18]</sup>。而 GO、PANI-GO、PANI-GN 在 1401~1404 cm<sup>-1</sup>范围内呈现的是-COOH中 C-O 键的伸缩振动峰; 在 1206~1225 cm<sup>-1</sup>范围内呈现的是-COOH 中 O-H 键 的伸缩振动峰;在 1052~1098 cm<sup>-1</sup>范围内呈现的是 C-O-C 环氧基的伸缩振动峰<sup>[19]</sup>,GO 在 1720 cm<sup>-1</sup>呈现 了片层边缘羰基 C=O 的伸缩振动峰<sup>[19,20]</sup>。

同时, PANI-GO、PANI-GN 也拥有着 PANI 的特 征峰<sup>[16,17]</sup>, 如 3457 cm<sup>-1</sup>、3444 cm<sup>-1</sup>,同时也是苯环上 相连的-NH 的伸缩振动峰; 1641 cm<sup>-1</sup>、1639 cm<sup>-1</sup> 为醌 式结构的 C=C 键伸缩振动峰和 C=N 键伸缩振动峰; 1494 cm<sup>-1</sup> 呈现了苯环结构的 C=C 骨架伸缩振动峰; 1293 cm<sup>-1</sup> 和 1301 cm<sup>-1</sup> 呈现了芳香胺 C-N 键的伸缩振 动峰。N-GN 除了-OH、C-H、C=C 键的振动峰外,还 在 3440 cm<sup>-1</sup> 处呈现了苯环上相连的 N-H 键的伸缩振 动峰; 1636 cm<sup>-1</sup> 呈现了 C=N 键的伸缩振动峰<sup>[21,22]</sup>。

以上证明了所制备的 GO 及中间产物 PANI-GO 和 PANI-GN 存在-OH、-COOH、C-O-C 等含氧官能团, GO 材料中还存在 C=O 含氧官能团, PANI-GO、PANI-GN 还具备 PANI 本身的特征峰,但-COOH 和 C-O-C 等含氧官能团在所制备的 N-GN 材料均被消除,剩下具有极性的-OH, N-GN 中的 C=N 键、N-H 键、N-GN 振动峰减少、减弱,说明 N-GN 经水热还 原且高温处理后,大部分含氧官能团消失。



图 2 GU、 PANT-GU、 PANT-GU PANT-GU PAUT-GU PAU

2.1.2 SEM 分析



图 3 氧化石墨 (a) 和氮掺杂石墨烯 (b) 的 SEM 图

Fig.3 SEM images of GO (a) and N-GN (b)

SEM 是表征纳米材料微观结构和形貌的重要方法。图 3a 和 3b 是制备的 GO 和 N-GN 的 SEM 图像。 从图 3a 中可以看出制备的 GO 表面较平整,呈现稍带 褶皱的薄纱状,基本没有厚颗粒,分散较均匀,边缘 存在卷曲结构。通常,GO 结构的含氧基团插入到石 墨片层之间会增大薄层之间的距离,并且因为边缘处 含氧基团较多,削弱了薄层间的本身存在的作用力, 从而导致边缘出现了卷曲结构。图 3b 是水热还原法制 备的氮掺杂石墨烯材料,具有空间三维的层状结构, 有利于增加酶的负载量和酶修饰电极的使用寿命。 2.2 N-GN/HRP/BSA/CS 酶修饰电极催化对苯

二酚性能研究

在氮气气氛下,分别在 PBS 缓冲溶液、PBS 缓冲 溶液加入对苯二酚底物、PBS 缓冲溶液同时加入对苯 二酚底物和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 三个体系中对制备的 N-GN/HRP/ BSA/CS 酶修饰电极进行了循环伏安测试,所得结果 如图 4, N-GN/HRP/BSA/CS 酶修饰电极在 PBS 缓冲 溶液中没有氧化还原电流峰出现,说明体系中没有发 生氧化还原反应,在体系中加入对苯二酚后,循环伏 安曲线上出现一对明显的氧化还原峰,在加入 0.5 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 后还原峰明显增大,说明在 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 存在时, N-GN/ HRP/BSA/CS 酶修饰电极对对苯二酚有很好的催化性 能。此时酶修饰电极催化对苯二酚的反应机理如公式 (1)所示, AH·和 AH<sub>2</sub>分别代表单酚和二酚化合物<sup>[14]</sup>。



图 4 N-GN/HRP/BSA/CS 酶修饰电极催化对苯二酚的循环伏安曲 线



2.3 N-GN/HRP/BSA/CS 酶修饰电极电化学行

为研究

为了研究 N-GN/HRP/BSA/CS 酶修饰电极表面的 电化学行为,分别在不同扫速下对酶修饰电极在 0.5 mM 对苯二酚溶液中进行了循环伏安曲线测试,结果 如图 5 所示。从图中可知,对苯二酚还原峰的峰电流 随扫速增加而增加,且还原峰电位随着扫速的增加而 负移。峰电流 I<sub>pc</sub>与扫速的平方根 v<sup>1/2</sup> 呈线性关系,其 线性方程为: I<sub>pc</sub>(μA)=-5.77v<sup>1/2</sup>(mV/s)<sup>1/2</sup>+2.097,相关系 数为 R<sup>2</sup>=0.9988,随着扫速从 1 mV/s 增加至 50 mV/s。 还原峰电流随着扫速的增加而增加,并且峰电流与扫





图 5 (a) 不同扫速下酶修饰电极在对苯二酚溶液中的循环伏安 曲线; (b) 还原峰电流与扫速的线性拟合图

Fig.5 (a) CV curves of N-GN/HRP/CS electrode with different scan rates; (b) The plots of the redox peak current *vs* scan rate

2.4 缓冲溶液 pH 值对 N-GN/HRP/BSA/CS 酶

修饰电极响应电流的影响

对于以酶为催化剂的生物电极,反应体系的 pH 值会严重影响的催化活性,本文研究了不同 pH 值条 件下 N-GN/HRP/BSA/CS 酶修饰电极的催化性能,结 果如图 6 所示。从图 6b 中可以看出,随着 pH 从 6.5 增加至 8.0,还原峰往负方向偏移,说明氧化还原反应 伴随有质子转移,当 pH 值为 6.5 时,该酶修饰电极对 对苯二酚具有最大的催化活性(图 6a),所以本体系 选择 pH=6.5 的 PBS 缓冲溶液作为电解质溶液。







Fig.6 The electrochemical performance of modified electrode at different pH condition, (a) CV curves; (b) potential *vs* pH

2.5 酶修饰电极中酶载量对其响应电流的影

响



图; (b) 酶浓度对响应电流的影响

Fig.7 Effect of enzyme concentration on the current response of modified electrode, (a) CV curves; (b) Effect of enzyme

#### concentration on current response

酶修饰电极中酶的载量直接影响着电极的催化性 能,由于酶的不导电性质会影响修饰电极中电子传输, 所以酶的载量不是越大越好,在一定范围内,酶载量 会增加酶修饰电极的催化性能,但是,超过一定范围 后,过多的酶催化剂一方面会影响修饰电极的导电性, 另一方面也会影响底物的扩散,同时酶修饰电极的稳定性也会收到影响。图 7a 和 7b 是不同酶载量对 N-GN/HRP/BSA/CS 酶修饰电极响应电流的影响,从 图中可以看出,当酶载量小于 25 mg/mL 时,随着酶载量增加,响应电流增加,超过 25 mg/mL 后,响应 电流随酶载量增加而降低,应该是酶载量过高引起酶 修饰电极导电性和底物传递,最终导致响应电流减小,因此,本体系中修饰电极的酶载量选取为 25 mg/mL。

2019, Vol.35, No.7

2.6 酶修饰电极中氮掺杂石墨烯用量对其催

#### 化性能的影响

作为酶电极的修饰材料,氮掺杂石墨烯的用量对 对苯二酚的还原电流有比较大的影响,图 8 是不同氮 掺杂石墨烯用量对 N-GN/HRP/BSA/CS 酶修饰电极响 应电流的影响。从图中可以看出,随着酶修饰电极中 氮掺杂石墨烯含量增加,还原峰电流逐渐增加,当氮 掺杂石墨烯含量达到 10 mg/mL 时,响应电流达到最 大值,当石墨烯含量超过 10 mg/mL 时,响应电流开 始减小,分析原因是由于随着修饰材料含量增加,酶 修饰电极膜的厚度也会增加,就会影响底物的传递, 同时,酶修饰电极膜厚度太大也会增加电极的电阻, 影响电子在电极中的传送效率。所以本体系中酶修饰 电极中氮掺杂石墨烯的含量选取为 10 mg/mL。



Fig.8 Effect of N-GN concentration of modified electrode on the current response

#### 2.7 线性范围与检出限

为了研究 N-GN/HRP/BSA/CS 酶修饰电极对对苯 二酚的催化性能,考察了该电极上对苯二酚浓度与产 生的还原峰电流之间的关系,实验中在不同浓度的对 苯二酚溶液中进行了循环伏安测试,得到的峰电流与 对苯二酚浓度关系曲线如图 9 所示,从图中可知, N-GN/HRP/BSA/CS 酶修饰电极在对苯二酚浓度范围 为 9×10<sup>-5</sup>~5.075×10<sup>-3</sup> mol/L 的区间内呈良好的线性关

#### 现代食品科技

系,线性方程为 I<sub>pc</sub>(μA)=-5.89 C(mmol/L)-11.37,相关 系数 R<sup>2</sup>=0.998,检测限为 1×10<sup>-5</sup> mol/L (S/N=3),灵敏 度为 84.14 mA/(mol·cm<sup>2</sup>)。



peak current

## 2.8 抗干扰与重现性测试

为了考察 N-GN/HRP/BSA/CS 酶修饰电极的选择 性,将对苯二酚溶液的浓度固定为 0.5 mmol/L,以 pH=6.5,0.1 mol/L PBS 缓冲溶液作为测试体系,依次 加入 0.1 mmol/L 尿酸(UA)、抗坏血酸(Vc)、维生 素 E(VE)、柠檬酸(CA)、5 mmol/L 葡萄糖(Glu) 作为干扰物,进行循环伏安测试,测试结果如图 10 所示。从图中可以看出,在测试体系中加入 UA、VC、 VE、CA、Glu 干扰物后,分别产生了 1.5%、2.9%、 3%、5%、2%的电流变化,说明制备的酶修饰电极在 对苯二酚的检测中对尿酸、抗坏血酸、维生素 E、柠 檬酸、葡萄糖等干扰物具有很高的抗干扰能力。





为了考察 N-GN/HRP/BSA/CS 酶修饰电极的重现 性,将对苯二酚溶液的浓度固定为0.5 mM,以pH=6.5, 0.1 mol/L PBS 缓冲溶液作为测试体系,使用制备的 5 个相同的酶修饰电极,进行循环伏安测试,结果如图 11 所示,经过计算可得,5 根不同的电极测试其电流 相对标准偏差为 RSD=2.89%,则证明制备的酶修饰电



#### 3 结论

采用水热法制备了空间三维氮掺杂石墨烯,并将 之与辣根过氧化物酶复合制备具有对苯二酚催化活性 的酶生物电极,该电极在对苯二酚的检测应用中,具 有线性范围宽,检测限低,灵敏度高的特点,同时, 该酶修饰电极还具有很好的抗干扰性和重现性,可用 于快速,灵敏,简单地检测水中的酚类物质。

## 参考文献

- Stoytcheva M, Zlatev R, Gochev V, et al. Amperometric biosensors precision improvement. Application to phenolic pollutants determination [J]. Electrochimica Acta, 2014, 147: 25-30
- [2] Fan Q, Shan D, Xue H, et al. Amperometric phenol biosensor based on laponite clay-chitosan nanocomposite matrix [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2007, 22(6): 816-821
- [3] Wang B, Zheng J, He Y, et al. A sandwich-type phenolic biosensor based on tyrosinase embedding into single-wall carbon nanotubes and polyaniline nanocomposites [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2013, 186: 417-422
- [4] Mohtar L G, Aranda P, Messina G A, et al. Amperometric biosensor based on laccase immobilized onto a nanostructured screen-printed electrode for determination of polyphenols in propolis [J]. Microchemical Journal, 2019, 144: 13-18
- [5] Kulys J, Vidziunaite R. Amperometric biosensors based on recombinant laccases for phenols determination [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2003, 18(2): 319-325
- [6] Li H, Pan B, Liao S, et al. Formation of environmentally persistent free radicals as the mechanism for reduced catechol degradation on hematite-silica surface under UV irradiation [J]. Environ Pollut, 2014, 188: 153-158

#### 现代食品科技

#### Modern Food Science and Technology

- [7] Kaffash A, Zare H R, Rostami K. Highly sensitive biosensing of phenol based on the adsorption of the phenol enzymatic oxidation product on the surface of an electrochemically reduced graphene oxide-modified electrode [J]. Analytical Methods, 2018, 10(23): 2731-2739
- [8] Wang Y, Zhai F, Hasebe Y, et al. A highly sensitive electrochemical biosensor for phenol derivatives using a graphene oxide-modified tyrosinase electrode [J]. Bioelectrochemistry, 2018, 122: 174-182
- [9] Wu L, Lu X, Dhanjai, et al. 2 d Transition metal carbide mxene as a robust biosensing platform for enzyme immobilization and ultrasensitive detection of phenol [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2018, 107: 69-75
- [10] 陈东霞,张力,李晓霞,等.基于聚吡咯/石墨烯的甘油酶电极 的构建及性能研究[J].现代食品科技,2018,34(2):63-68 CHEN Dong-xia, ZHANG Li, LI Xiao-xia, et al. Construction and properties of glycerol enzymatic electrode based on polypyrrole/graphene [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(2): 63-68
- [11] Ren B, Li W, Wei A, et al. Boron and nitrogen Co-Doped Cnt
  / Li<sub>4</sub>Ti<sub>5</sub>O<sub>12</sub> composite for the improved high-rate electrochemical performance of lithium-ion batteries [J]. Journal of Alloys and Compounds, 2018, 740: 784-789
- [12] Shan H, Li X, Cui Y, et al. Sulfur/nitrogen dual-doped porous graphene aerogels enhancing anode performance of lithium ion batteries [J]. Electrochimica Acta, 2016, 205: 188-197
- [13] Sun L, Li S, Ding W, et al. Fluorescence detection of cholesterol using a nitrogen-doped graphene quantum dot/chromium picolinate complex-based sensor [J]. Journal of Materials Chemistry B, 2017, 5(45): 9006-9014
- [14] 于洋.基于有机-无机杂化材料的硝酸还原酶和辣根过氧化物酶电极的研究[D].天津:天津大学,2007

YU Yang. Study on amperometric nitrate reductase and horseradish peroxidaxe biosensor based on organic-inorganic

hybrid [D]. Tianjin: Tianjin University, 2007

- [15] Stankovich S, Dikin D A, Piner R D, et al. Synthesis of graphene-based nanosheets *via* chemical reduction of exfoliated graphite oxide [J]. Carbon, 2007, 45(7): 1558-1565
- [16] Mostafaei A, Zolriasatein A. Synthesis and characterization of conducting polyaniline nanocomposites containing zno nanorods [J]. Progress in Natural Science: Materials International, 2012, 22(4): 273-280
- [17] Sathiyanarayanan S, Syed Azim S, Venkatachari G. Preparation of polyaniline-TiO<sub>2</sub> composite and its comparative corrosion protection performance with polyaniline [J]. Synthetic Metals, 2007, 157(4): 205-213
- [18] Gurunathan K, Amalnerkar D P, Trivedi D C. Synthesis and characterization of conducting polymer composite (Pan/TiO<sub>2</sub>) for cathode material in rechargeable battery [J]. Materials Letters, 2003, 57(9): 1642-1648
- [19] Cao S, Zhang L, Chai Y, et al. Electrochemistry of cholesterol biosensor based on a novel Pt-Pd bimetallic nanoparticle decorated graphene catalyst [J]. Talanta, 2013, 109: 167-172
- [20] Liu H, Guo K, Lv J, et al. A novel nitrite biosensor based on the direct electrochemistry of horseradish peroxidase immobilized on porous Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanosheets and reduced graphene oxide composite modified electrode [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2017, 238: 249-256
- [21] Lee J, Kim J, Kim S, et al. Biosensors based on graphene
  oxide and its biomedical application [J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2016, 105(10): 275-287
- [22] Park C S, Yoon H, Kwon O S. Graphene-based nanoelectronic biosensors [J]. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2016, 38(25): 13-22