

基于磁性材料 Co_3O_4 纳米电化学传感器快速测定食品中的痕量苯并[a]芘

袁朝辉¹, 宋紫薇², 何欢歌², 李书国^{2*}

(1.河北省市场监督管理局专业技术能力提升中心, 河北石家庄 050021)

(2.河北科技大学食品与生物学院, 河北石家庄 050018)

摘要: 为了建立一种快速检测食品中痕量苯并[a]芘 (Benzo[a]pyrene, BaP) 的方法, 以乙炔黑 (Acetylene Black, AB)、磁性四氧化三钴 (Cobalt oxide, Co_3O_4) 纳米颗粒、羧基化碳纳米管 (MWCNTs-COOH) 为复合修饰材料, 制备了 $\text{AB}@\text{Co}_3\text{O}_4@\text{MWCNTs-COOH}$ 纳米电化学传感器, 采用循环伏安法对 BaP 在不同传感器上的电化学反应过程进行研究, 发现 BaP 有良好的氧化峰, 无还原峰, 这说明其属于不可逆电化学反应过程。采用扫描电镜、循环伏安法和交流阻抗法对传感器进行表征, 对试验条件进行了优化, 结果如下: 电解质溶液为 0.3 mol/L 高氯酸锂溶液 (pH=2), 修饰液比例为 $V_{\text{Co}_3\text{O}_4@\text{MWCNTs-COOH}}:V_{\text{AB}}=2:1$, 修饰液体积为 6 μL , 富集时间为 15 min。在最优条件下 BaP 的氧化峰电流值与其浓度呈现良好的线性关系, 线性方程为 $I_p=3.1939C_{\text{BaP}}+1.5439$, ($R^2=0.996$), 检出限为 3.12×10^{-10} mol/L, 该方法用于烤肉中 BaP 的检测, 加标回收率为 84.34%~93.36%。该传感器具有操作简便、检测限低、抗干扰性强、稳定性好等特点, 适用于食品中 BaP 的现场快速筛查与定量分析。

关键词: 苯并[a]芘; 食品安全; 纳米电化学传感器; 快速检测

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.11.1242

Rapid Determination of Trace Benzo[a]pyrene in Food Based on Magnetic Material Co_3O_4 Nano-electrochemical Sensor

YUAN Zhaohui¹, SONG Ziwei², HE Huang², LI Shuguo^{2*}

(1. Professional Technical Ability Promotion Center, Hebei Province Market Supervision and Administration Bureau, Shijiazhuang 050021, China)(2. College of Food and Biology, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, China)

Abstract: In order to establish a rapid method for detecting trace amounts of benzo[a]pyrene (BaP) in food, an $\text{AB}@\text{Co}_3\text{O}_4@\text{MWCNTs-COOH}$ electrochemical sensor was prepared using Acetylene Black (Acetylene Black, AB), magnetic Cobalt oxide (Cobalt oxide, Co_3O_4) nanoparticles and carboxylated carbon nanotubes (MWCNTs-COOH) composite modified materials. The electrochemical reaction of BaP on various sensors was determined by cyclic voltammetry, exhibiting a well-defined oxidation peak but no reduction peak, indicating that is irreversible oxidation-reduction process. $\text{AB}@\text{Co}_3\text{O}_4@\text{MWCNTs-COOH}$ sensor were characterized by scanning electron microscopy and electrochemical impedance spectroscopy. The experimental conditions were optimized, the results as follow: electrolyte solution, 0.3 mol/L lithium perchlorate solution (pH=2); Modification solution composition, $V_{\text{Co}_3\text{O}_4@\text{MWCNTs-COOH}}:V_{\text{AB}}=2:1$; Cosmetic volume: 6 μL ; Enrich time: 15 minutes. Under optimal conditions, the oxidation peak current has a well linear increases with BaP concentration ($I_p=3.1939C_{\text{BaP}}+1.5439$, $R^2=0.996$), with LOD is 3.12×10^{-10} mol/L and recovery rates ranged from 84.34% to 93.36%. The developed method was utilized to determine the content of BaP in food samples, and the results obtained are consistent with those from other methods. It was practical to determinate the content of BaP in foods with is easy to operate, had a low detection limit, good anti-interference ability, good stability, and was suitable for on-site quantitative analysis of BaP in food.

Key words: benzo[a]pyrene; food safety; nano-electrochemical sensor; rapid detection

收稿日期: 2024-08-21; 修回日期: 2024-10-20; 接受日期: 2024-10-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (20876165); 河北科技大学研究生创新资助项目 (XJXCZZSS2022004)

作者简介: 袁朝辉 (1975-), 硕士, 研究方向: 食品安全专业技术能力提升的研究, E-mail: nltzcx@126.com; 共同第一作者: 宋紫薇 (1998-), 硕士研究生, 研究方向: 食品安全控制与快速检测, E-mail: 447405824@qq.com

通讯作者: 李书国 (1969-), 博士, 教授, 研究方向: 食品安全控制与快速检测, E-mail: shuguo@126.com

苯并[a]芘 (Benzo[a]pyrene, BaP) 是一种多环芳烃 (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs), 国际癌症研究机构 (International Agency for Research on Cancer, IARC) 已将其归类为第一类人类致癌物, 长期暴露于 BaP 可导致肺癌、膀胱癌、胃癌等多种恶性肿瘤的发生^[1,2]。由于其危害性, 许多国家和地区已经制定了食品中 BaP 残留的限量法规, 在我国, 熏烤肉制品中 BaP 的残留上限规定为 5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[3,4]。因此, 亟需研发高效的分析技术手段, 建立便捷、灵敏且选择性强的检测方法来精确测定食品中 BaP 的含量。

目前测定食品中 BaP 残留的方法主要有高效液相色谱法、气相色谱法以及多种色谱-质谱联用技术^[5,6]。色谱分析技术具有高灵敏度和较好的重现性, 但此类方法普遍存在设备体积大、精度高、价格高、操作要求高、灵活性不足的问题^[7]。相比之下, 电化学分析法在操作简易性、便携性、低能耗及高效性方面展现优势, 且具有较低的检出限, 能实现对样品的快速精确测定^[8-10]。冯亚净等^[11]构建了纳米电化学传感器检测植物油中的 BaP, 检测限低至 0.103 nmol/L, 加标回收率为 98.51%~100.57%; 王瑞鑫^[12]利用聚酰胺-胺等构建纳米免疫传感器检测玉米油中 BaP, 回收率在 94.46%~103.36%; 磁性纳米材料不仅具备良好的生物相容性, 同时还拥有富集待测物质的能力, 确保了即使在低浓度下也能准确检测到目标物质, 而碳基纳米材料则有助于提高材料的分散性, 有利于形成更多表面活性位点^[13,14]。近年来, 基于磁性纳米材料和碳基纳米材料制备的电化学传感器表现出良好的生物相容性、大比表面积、良好的催化性能、高稳定性等优点。Tian 等^[15]利用水热法合成 ZnO@Co₃O₄ 纳米颗粒对 3-羟基-2-丁酮的灵敏性检测, 检测限为 5×10^{-7} mol/L; 周鸿燕等^[16]制备核壳结构的 Fe₃O₄@TiO₂@Au 纳米复合材料, 用该电化学传感器对芦丁进行定量检测, 检测限为 6.4 nmol/L。

本文基于 Co₃O₄ 的磁性纳米酶特性, 制备了 Co₃O₄@MWCNT-COOH 复合材料, 并将其与乙炔黑 (AB) 相结合制备了 AB@Co₃O₄@MWCNT-COOH 传感器, 在最优条件下, 该传感器展现了对 BaP 的高特异性识别能力, 具有高选择性、良好的稳定性、重现性和便捷的操作流程等特点, 有巨大的应用潜力。

1 材料与方法

1.1 试剂与材料

BaP (纯度 96%, CAS:50-32-8)、高氯酸锂 (LiClO₄)、氯化锂 (LiCl), 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 乙腈、正己烷、N-N-二甲基甲酰胺, 天津市永大化学试剂有限公司; 羧基化多壁碳纳米管 (MWCNTs-COOH)、硝酸钴 (Co(NO₃)₂)、乙炔黑 (AB), 北京德科岛金科技有限公司; 氯化钾 (KCl)、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、柠檬酸、铁氰化钾 (K₃Fe(CN)₆), 天津市博迪化工有限公司。

样品羊肉选用后腿肉制作, 均购于某超市, 实验用水均为超纯水。

1.2 仪器与设备

Gamry 电化学工作站, 美国 GAMRY 公司; 玻碳电极、辅助铂电极、Ag/AgCl 参比电极、电解杯 (10 ml), 上海 CH Instruments 公司; 超声仪 (KQ2200), 昆山超声仪器有限公司; 飞鸽牌系列离心机 (TGL-10B), 上海安亭科学仪器厂; 电子分析天平 (FA2204), 上海菁海仪器有限公司; 恒温磁力搅拌器 (85-2), 上海梅颖浦仪器仪表制造有限公司; 电热鼓风干燥箱 (GZX-9070MBE), 上海博讯医疗生物仪器股份有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 Co₃O₄@MWCNTs-COOH 修饰液的制备

1.3.1.1 Co₃O₄ 磁性纳米颗粒的制备

本研究中 Co₃O₄ 的制备借鉴了张惠萱等^[17]的方法并做了适当调整, 具体步骤如图 1 所示: 首先, 在烧杯中分别引入 80 mL 浓度为 0.25 mol/L 的 NaOH 溶液和 20 mL 浓度为 0.5 mol/L 的 Co(NO₃)₂·6H₂O 溶液, 90 °C 剧烈搅拌 2 min, 可见蓝色沉淀转变成粉红色。紧接向该反应体系中滴加 0.5 mL $\phi=30\%$ 的 H₂O₂ 溶液, 再次充分搅拌, 粉红色沉淀迅速转变为黑色, 将其置于 90 °C 水浴中持续反应 5 h。反应结束后, 采用减压抽滤对产物进行分离提取, 并用蒸馏水洗三次, 无水乙醇洗涤一次, 确保产品的纯度。最后, 将产物置于 150 °C 烘箱中烘干, 完全干燥后, 利用研钵将其研磨成细腻粉末状保存备用。

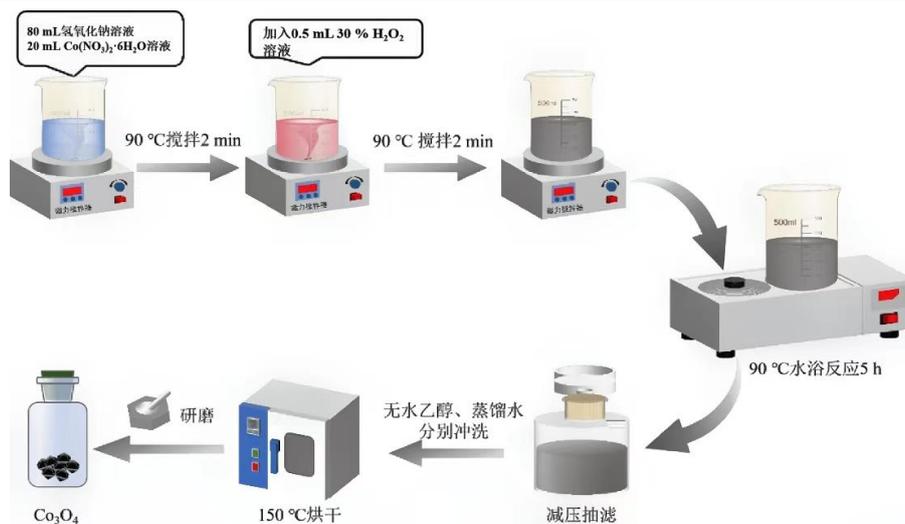


图1 磁性 Co₃O₄ 纳米颗粒的制备

Fig.1 Preparation of magnetic Co₃O₄ nanoparticles

1.3.1.2 Co₃O₄@MWCNTs-COOH 复合修饰液制备

为了得到分散性良好的 Co₃O₄@MWCNTs 溶液, 将 3 mg Co₃O₄ 溶于 1 mL 3 mg/mL MWCNTs 悬浊液中, 超声处理 30 min, 制得 Co₃O₄@MWCNTs-COOH 均匀分散液(3 mg/mL), 分别采用相同的方法制备了单分散态的 Co₃O₄ 溶液和 MWCNTs 溶液。

1.3.2 电化学传感器的制备

1.3.2.1 玻碳电极预处理

超纯水清洗电极, 接着使用 Al₂O₃ 粉 (0.3、0.05 μm) 打磨, 随后进行抛光至镜面。用超纯水清洗后, 再分别用乙醇、超纯水超声 2 min, 随后利用循环伏安法 (Cyclic Voltammetry, CV) 在 1 mol/L 的 H₂SO₄ (电位-0.5~0.8 V 扫描速度: 0.05 V/s) 溶液中扫描至稳定, 首先, 将电极置入超纯水中进行 3 min 超声清洗, 随后以超纯水彻底冲洗洁净。接着, 将洗净的电极浸入 K₃Fe(CN)₆ 溶液中进行 CV 检测 (-0.2~0.6 V), 扫描速度为 0.05 V/s, 确保电极功能正常。最后, 氮气吹干电极, 待后续使用。

1.3.2.2 AB@Co₃O₄@MWCNT-COOH 传感器的制备

AB@Co₃O₄@MWCNT-COOH 传感器的制备流程如图 2 所示: 2.0 mg AB 溶于 2.0 mL N,N-二甲基甲酰胺中, 超声 30 min, 制得混合均匀的 1.0 mg/mL AB 悬浊液。

在洁净的 GCE 表面上先后滴涂 4 μL Co₃O₄@MWCNTs 分散液、2 μL AB 悬浊液, 烘干得到 AB@Co₃O₄@MWCNTs/GCE。以便进行深入研究和有效对比, 以同样的方式制备 MWCNTs/GCE、Co₃O₄@MWCNTs/GCE。

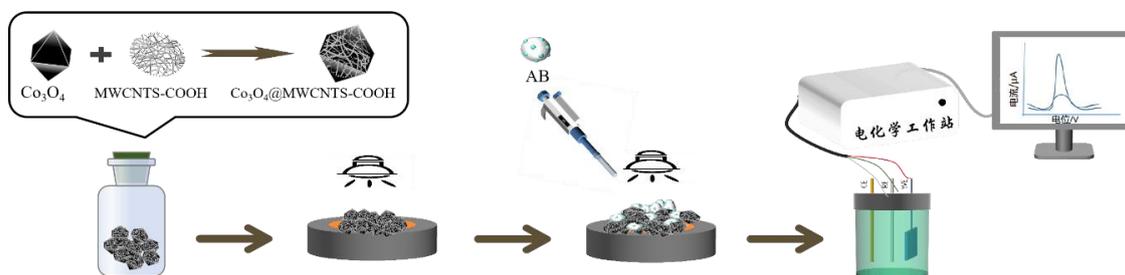


图2 AB@Co₃O₄@MWCNT-COOH 传感器制备

Fig.2 Preparation of the AB@Co₃O₄@MWCNT-COOH sensor

1.3.3. 传感器的表征实验方法

使用 Gamry 电化学工作站进行电化学检测, 饱和甘汞电极为参比电极, 铂丝电极为对电极, 工作电极为 AB@Co₃O₄@MWCNTs/GCE 传感器。将不同传感器在含 0.1 mol/L KCl 和 5 mmol/L [Fe(CN)₆]^{3-/4-}混合溶液中进行电化学阻抗表征, 频率为 0.1~1×10⁶ Hz。在含有标准溶液的电解液中, 预先对各种修饰电极进行一定时间的浓缩处理, CV 记录 BaP 的电化学行为 (电位: 0.6~1.4 V 扫描速度: 0.08 V/s)。

采用 CV 对测定参数优化：电解质种类、pH 值、修饰液浓度、修饰液配比、修饰液修饰量以及富集时间等。同时，探究 BaP 浓度与氧化峰电流的关系，拟合标准曲线计算实际样品中 BaP 含量。

1.3.4 试验条件优化

1.3.4.1 电解质溶液的优化

将 AB@Co₃O₄@MWCNTs/GCE 传感器分别置于 PBS 缓冲液、柠檬酸、LiCl 溶液、PBS-LiClO₄ 溶液、LiClO₄ 溶液五种电解质溶液中（浓度），利用 CV 法探究 BaP 在不同电解质溶液中的电化学行为，筛选最优支持电解质溶液。

将 AB@Co₃O₄@MWCNTs/GCE 传感器分别置于 0.1、0.15、0.2、0.25、0.3、0.4、0.5 mol/L 电解质溶液中，采用 CV 法扫描并记录峰电流值，筛选出最佳的电解质浓度。

电解质溶液用 0.1 mol/L 的硫酸溶液调节 pH 值，将制备好的免疫传感器在 pH 为 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 和的电解质溶液中进行 CV 扫描，记录氧化峰值。

1.3.4.2 修饰材料对 BaP 氧化峰电流的影响

修饰液的浓度对 BaP 氧化峰电流的影响：制备 1、2、3、4、5 mg/mL 不同浓度的 MWCNTs-COOH 修饰液，分别滴涂于电极表面（6 μL），采用 CV 法测定并记录不同 MWCNTs-COOH 浓度下 BaP 的氧化峰电流。制备 1、3、5、7、9 mg/mL 不同浓度的 Co₃O₄/MWCNTs-COOH 修饰液，分别滴涂于电极表面（6 μL），采用 CV 法测定并记录不同浓度下 BaP 的氧化峰电流。

修饰液的比对 BaP 氧化峰电流的影响：在筛选得到的 Co₃O₄/MWCNTs-COOH 最佳浓度下，将 Co₃O₄@MWCNTs-COOH 分散液与 AB 悬浊液按照 1:3、1:2、1:1、2:1、3:1 不同的体积比先后滴涂于电极表面，采用 CV 法记录 BaP 的氧化峰电流。

修饰液的滴涂量对 BaP 氧化峰电流的影响：按照修饰液的最优配比，在处理好的电极上分别修饰 3、4、5、6、7、8 μL 修饰液，采用 CV 法测定并记录不同浓度下 BaP 的氧化峰电流。

1.3.4.3 富集时间对 BaP 氧化峰电流的影响

在最优修饰条件下，采用 CV 法记录分别富集 0、5、10、15、20、25、30 min 后 BaP 的峰电流值。

1.3.5 BaP 浓度的测定

配置 100、120、140、160、180、200、400、600、800、1 000 nmol/L BaP 溶液，在最优实验条件下，探究 BaP 浓度对氧化峰电流的影响并记录不同 BaP 浓度下的 CV 图。

样品处理：将羊后腿肉切成 2 cm×2 cm×2 cm 的方块后，烤箱 210 °C 预热 5 min，将样品 210 °C 烤制 21 min，将烤制后的肉样品，打磨至肉糜状，准确称取样品 5 g 置于 25 mL 烧杯中，加入 10 mL 乙腈饱和正己烷并涡旋混合 30 s，40 °C 超声 30 min，4 000 r/min 离心 10 min，收集上清液，向其加入 10 mL 正己烷重复提取三次，合并上清液 45 °C 旋转蒸发浓缩至 1 mL，40 °C 下氮气吹干，5 mL 乙腈复溶，取上清液经 0.45 μm 滤膜过滤后保存，待测。

电化学传感器测定：将 AB@Co₃O₄@MWCNTs/GCE 传感器置于样品溶液中，采用 CV 扫描并记录峰电流变化，代入线性回归方程，计算烧烤样品中 BaP 的浓度。

加标回收试验：在经 2.5.1.1 处理后的样品中分别加入 0、160、320、640 nmol/L 浓度的 BaP 标准溶液，在最优检测条件下利用 AB@Co₃O₄@MWCNTs/GCE 传感器进行扫描，记录 BaP 的峰电流值，代入线性回归方程计算加标回收率。

1.3.6 数据处理与统计分析

本文中所有数据经三次平行测定并计算平均值得出，分析使用 SPSS 软件，数据图表利用 OriginLab Origin Pro v 9.0 绘制。

2 结果与讨论

2.1 修饰材料的扫描电镜表征

本文运用扫描电镜（Scanning Electron Microscope, SEM）对 AB 纳米颗粒、Co₃O₄ 磁性纳米粒子以及 AB@MWCNTs-COOH、Co₃O₄@MWCNTs-COOH 纳米复合物进行了形态结构表征，如图 3 所示：

由图 3A 看出 AB 呈球状纳米颗粒，直径在 14~16 μm 之间，由图 3B 看出 Co₃O₄ 呈不规则六面体结构，且分散性较好，直径在 2~3.5 μm 之间，由图 3C 看出 MWCNT-COOH 为中空纤维状结构，图 3D、E 显示，MWCNTs-COOH 的空心管状结构且纵横交错排列附着在 AB 和 Co₃O₄ 表面，使得整个复合材料拥有较大的比表面积，提供了更多接触位点，有利于提升传感性能，此种独特形貌促进电子从传感界面向电极主体的快速转移，降低电阻损失，提高电荷传输效率，更有效地吸附目标物质并进行电化学反应，从而显著提高检测灵敏度和响应速度，使传感器的电化学响应信号得到持续增强。

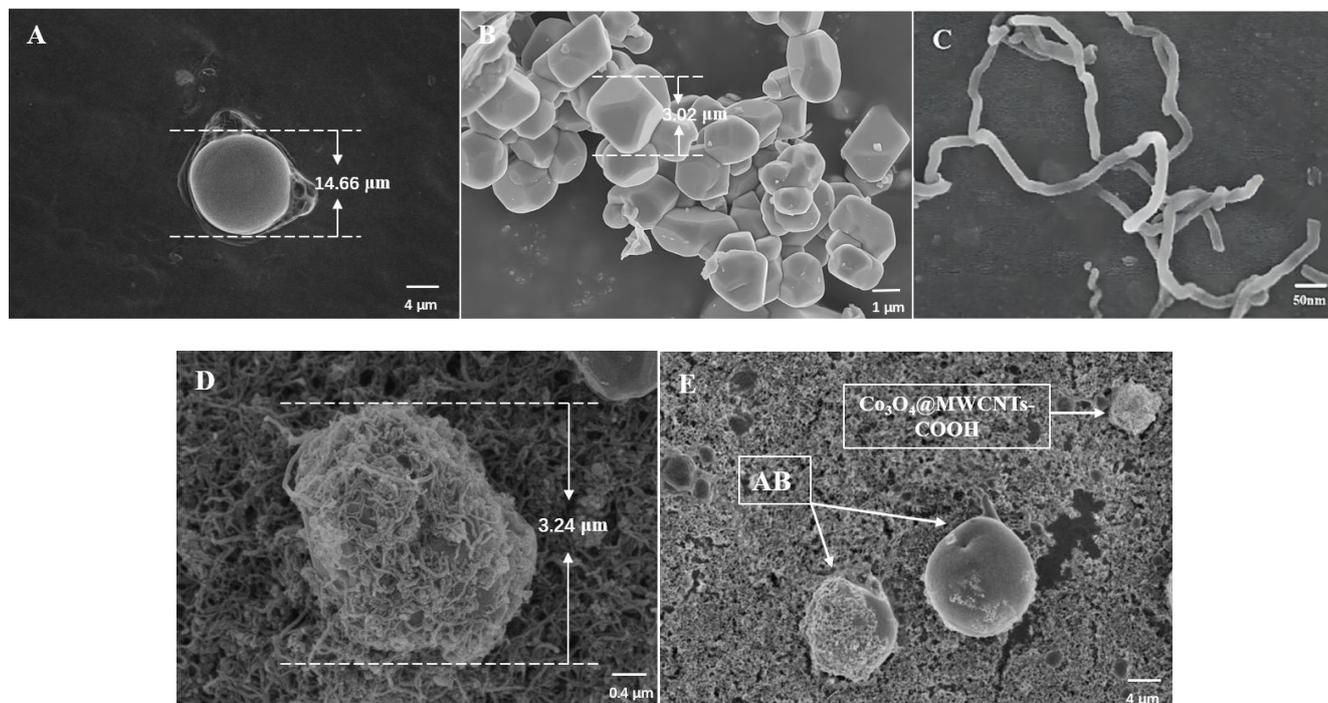


图 3 不同修饰材料的 SEM 图

Fig.3 Scanning electron microscope images of different modifying materials

注：A 为 AB 的 SEM 图；B 为 Co₃O₄ 的 SEM 图；C 为 MWCNTs-COOH 的 SEM 图；D 为 Co₃O₄@MWCNTs-COOH 的 SEM 图；E 为 AB@Co₃O₄@MWCNTs-COOH 的 SEM 图。

2.2 AB@Co₃O₄@MWCNTs-COOH 纳米传感器的电化学阻抗表征

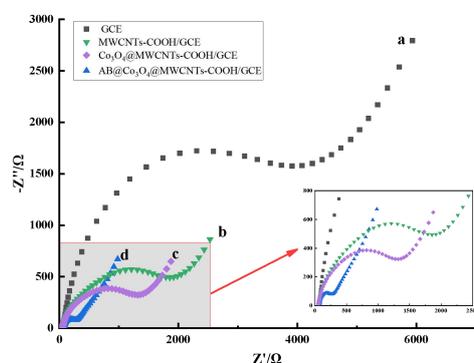


图 4 不同修饰电极的交流阻抗图

Fig.4 Electrochemical impedance spectroscopy of different modified electrodes

电化学阻抗谱 (Electrochemical Impedance Spectroscopy, EIS) 是一种用于分析电极表面电荷转移速度的技术^[18,19]，本文利用该技术测定了各修饰电极的交流阻抗图谱，结果如图 4 所示，图中的轨迹提供了关于系统动态特性的直观信息，阻抗大小可以通过点到原点的距离来确定。从图中得出电阻由大到小为：GCE、

MWCNTs-COOH/GCE、 Co_3O_4 @MWCNTs-COOH/GCE、 $\text{AB}@ \text{Co}_3\text{O}_4$ @MWCNTs-COOH/GCE。与裸电极相比,各修饰电极相电阻显著减小,其中 Co_3O_4 @MWCNTs-COOH修饰电极导致电阻下降,推测原因为该材料具有大面积比表面积,增大吸附点,减少传质阻碍,加速电子传输,而电极经 $\text{AB}@ \text{Co}_3\text{O}_4$ @MWCNTs-COOH修饰后,阻抗再度下降,其原因可能是 $\text{AB}@ \text{Co}_3\text{O}_4$ @MWCNTs-COOH纳米传感器具有出色的电催化活性。

2.3 BaP 在 $\text{AB}@ \text{Co}_3\text{O}_4$ @MWCNTs-COOH 纳米传感器上的电化学行为

采用循环伏安法探究了 BaP 在不同修饰电极上电化学行为,其 CV 图如图 5 所示:当 BaP 浓度为 5×10^{-7} mol/L 时,在 0.6 至 1.4 V 的正向扫描区间内,各修饰电极上 BaP 呈现显著氧化峰,其峰电位为 1.05 V 左右;而在反向扫描时未出现还原峰,表明 BaP 电氧化反应是不可逆的。 $\text{AB}@ \text{Co}_3\text{O}_4$ @MWCNTs-COOH/GCE 在不含 BaP 的电解质溶液中未观察到氧化还原峰 (a),说明 $\text{AB}@ \text{Co}_3\text{O}_4$ @MWCNTs-COOH 复合材料在选定的电位区域不具有电活性,不产生额外的氧化还原反应,显示出较好的背景信号抑制能力,也证明了该电极在检测 BaP 时具有特异性。

BaP 在未经修饰的裸电极 (b 曲线) 上表现出的响应信号相对较弱,这是因为裸电极的电化学活性和比表面积有限,不利于目标物 BaP 的吸附和电氧化转化;当电极涂覆 MWCNTs-COOH 时,电信号明显增强 (c),较裸电极增加了 2.91 倍,表明 MWCNTs-COOH 具有较高的比表面积和良好的导电性,能有效吸附 BaP 并促进其在电极表面的电氧化反应,从而大幅度提升 BaP 的电化学响应信号,此外, MWCNTs-COOH 表面的 -COOH 官能团还可能增强电极与 BaP 之间的相互作用,进一步提高 BaP 在电极表面的富集效率; Co_3O_4 @MWCNTs-COOH/GCE 显示出更大的峰电流值 (d),相比于裸电极增大了 3.92 倍,在模拟酶催化方面, Co_3O_4 表现出类似于天然酶的催化活性^[20], Co_3O_4 可能作为模拟氧化酶催化 BaP 的氧化反应,使氧化电流显著增加,同时多壁碳纳米管有效提高电极表面的活性面积和电子传输效率,也会使氧化峰电流增加;固定化 Co_3O_4 /MWCNTs-COOH 和 AB 后,其循环伏安图如图 5e,观察到最大的氧化峰电流值,相比于裸电极提升了 6.25 倍, Co_3O_4 /MWCNTs-COOH 复合材料与 AB 分子的协同作用进一步增强目标物质在电极表面的吸附和反应,且有可能直接参与氧化还原反应,从而进一步提升电化学反应速率。

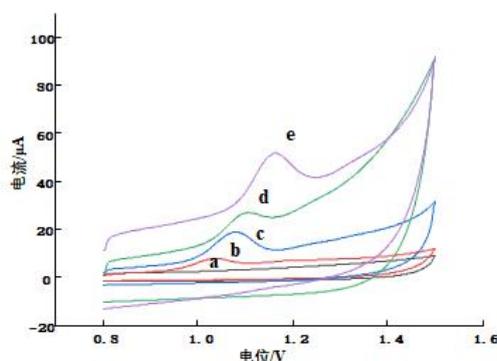


图 5 5×10^{-7} mol/L BaP 在不同电极上循环伏安图

Fig.5 Cyclic voltammery curves of 5×10^{-7} mol/L BaP on different electrodes

注: a: 空白溶液; b: GCE; c: MWCNTs-COOH/GCE; d: Co_3O_4 @MWCNTs-COOH/GCE; e: $\text{AB}@ \text{Co}_3\text{O}_4$ @MWCNTs-COOH/GCE。

2.4 扫描速度对 BaP 电氧化行为的影响

采用循环伏安法揭示了 BaP 在修饰电极上的氧化反应动力学,研究了扫描速度对 BaP 氧化峰电流的影响,并记录了相应的 CV 图,结果如图 6 所示:在图 6A 中,扫描区间在 0.6~1.4 V 时,随着扫描速度增加, BaP 在修饰电极上相应的氧化峰电流值随之增大,即更快的扫描速度促进了 BaP 分子在电极表面的氧化反应进程;图 6B 中氧化峰电流 (I_p) 与扫描速度平方根 ($v^{1/2}$) 呈现良好线性拟合,回归方程为 $I_p=0.55121v+3.17821$ ($R^2=0.9960$);图 6C 中, BaP 的氧化峰电位 (E_p) 与扫描速度 (v) 间存在线性关系: $E_p=0.00487v+1.05043$ ($R^2=0.9988$),以上表明氧化反应受扩散控制且该反应具有不可逆性,为优化传感器、提高检测性能提供了理论依据。

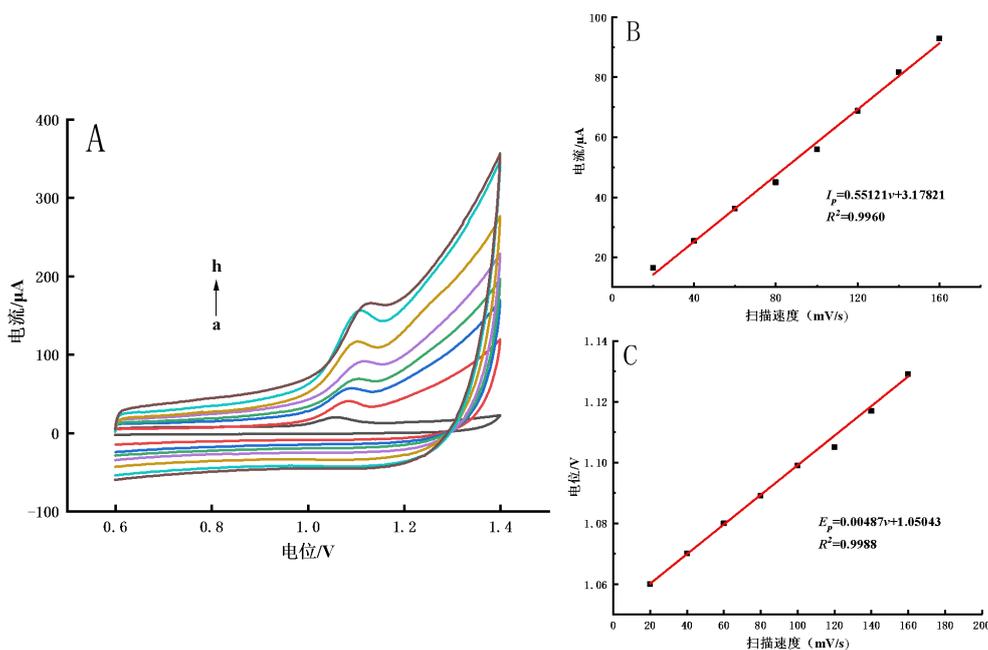


图 6 扫描速度对 BaP 电化学行为的影响

Fig.6 Effect of scanning speed on the electrochemical behavior of BaP

注: a: 20 mV/s; b: 40 mV/s; c: 60 mV/s; c: 80 mV/s; d: 100 mV/s; e: 120 mV/s; f: 140 mV/s; h: 160 mV/s; A. BaP 在不同扫描速度下的 CV 响应; B. BaP 的氧化峰电流与扫速平方根之间的关系; C. BaP 的氧化峰电位与扫速平方根的关系。

2.5 试验条件的优化

2.5.1 电解质溶液的优化

考察不同电解质溶液种类、浓度及 pH 值对 BaP 氧化峰电流的影响, 结果如图 7 所示。

图 7A 所示: 在多种电解质溶液中均观察到显著的 BaP 氧化峰电流, 其中 PBS 缓冲液中的电流值最低, 这可能源于 BaP 在水中的溶解度有限; LiCl 溶液中的氧化峰电流较小且峰宽较大; 而在 LiClO₄ 溶液中, 氧化峰电流值最高, 相较于其它电解质溶液, 其峰型和峰高更符合理想情况。综上, 选用 LiClO₄ 溶液作为最优支持电解质溶液。

图 7B 所示: 当 LiClO₄ 溶液浓度为 0.3 mol/L 时, 氧化峰电流达到最大值, 这可能是由于参与氧化反应的离子数量增多, 加快了氧化反应速率, 使得氧化峰电流增大。然而, 在更高浓度下, 由于离子间相互作用增强, 可能导致离子有效迁移率下降, 从而影响氧化反应速率, 最终使得氧化峰电流减小。

不同 pH 值对 BaP 氧化反应峰电流的影响, 结果如图 7C 所示: pH 值在 2~3.5 之间, 电流值随着氢离子浓度增加而上升, 原因是硫酸提供的氢离子有助于加速 BaP 的电化学氧化。然而, 当 pH 值继续降低 (pH 值 < 2), 峰电流开始下降, 这可能是由于过高的 H⁺ 浓度打破了反应平衡, 促使反应朝逆向进行, 同时过量的 H⁺ 与 BaP 分子或电极表面的修饰材料发生离子间作用力, 干扰电子传递的效率, 另外, 过酸条件下, 硫酸可能与修饰电极材料表面发生氧化反应生成氧化膜, 阻碍 BaP 在电极表面进行有效的电化学反应, 进一步影响传感器的性能。综上, 选择 pH 值为 2 的 LiClO₄ 溶液作为最优电解质溶液。

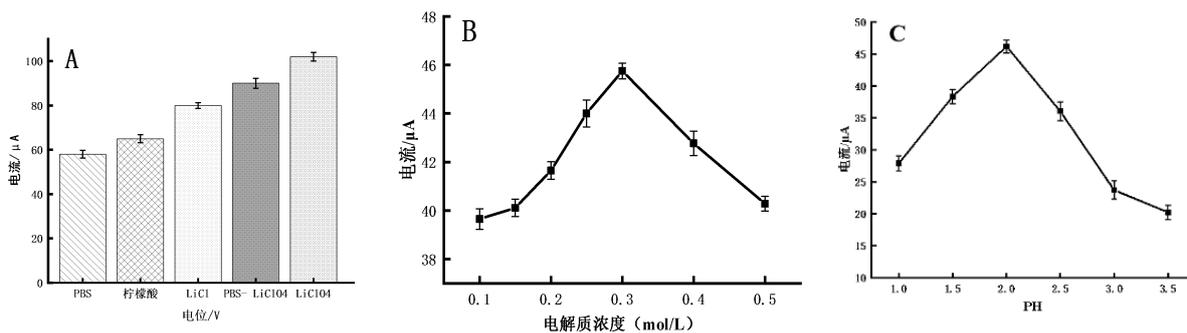


图7 电解质对BaP氧化峰电流的影响

Fig.7 Effect of electrolyte on the oxidative peak current of BaP

注: A: 不同电解质溶液对BaP氧化峰电流的影响; B: LiClO_4 浓度对BaP氧化峰电流的影响; C: pH值对BaP氧化峰电流的影响。

2.5.2 修饰材料对BaP氧化峰电流的影响

2.5.2.1 修饰液的浓度对BaP氧化峰电流的影响

制备1、2、3、4、5 mg/mL不同浓度的MWCNTs-COOH修饰液。将每种浓度的MWCNTs-COOH修饰液分别滴涂于电极表面,保持复合材料修饰量恒定为 $6\mu\text{L}$,采用CV法测定并记录不同修饰电极上BaP的氧化峰电流。结果如图8A所示:氧化峰电流值随着MWCNTs-COOH浓度先增加后减小,浓度为3 mg/mL时氧化电流值最大,其原因可能是在较低浓度下,MWCNTs-COOH的数量不足,吸附位点较少,限制了氧化反应的发生,然而当修饰液浓度过高时,复合材料过于密集,导致电极表面孔隙率降低,影响BaP分子扩散和传质,使得氧化电流值随浓度增加而下降。

采用CV法测定并记录滴涂不同浓度 $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{MWCNTs-COOH}$ 修饰液后BaP的氧化峰电流的影响,结果如图8B所示:当 $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{MWCNTs-COOH}$ 浓度为3 mg/mL时氧化电流值达到最大。综上所述无论是单一MWCNTs-COOH还是结合了 Co_3O_4 的复合材料,均存在最佳浓度,既能有效吸附和稳定BaP分子,又能保持良好的电荷传输特性,从而实现最大的电化学反应效果。

2.5.2.2 修饰液的配比对比BaP氧化峰电流的影响

将3 mg/mL $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{MWCNTs-COOH}$ 分散液与1 mg/mL AB悬浊液按照不同的体积比分别滴涂于电极表面,采用电化学法记录BaP在不同修饰电极上的氧化峰电流,结果如图8C所示:当体积比为2:1时,BaP的氧化电流达到最大,表明在此比例下, $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{MWCNTs-COOH}$ 与AB之间的协同作用最为理想,能够最有效地促进BaP在电极表面的氧化反应,从而提高了电化学传感器的检测灵敏度和响应速度。

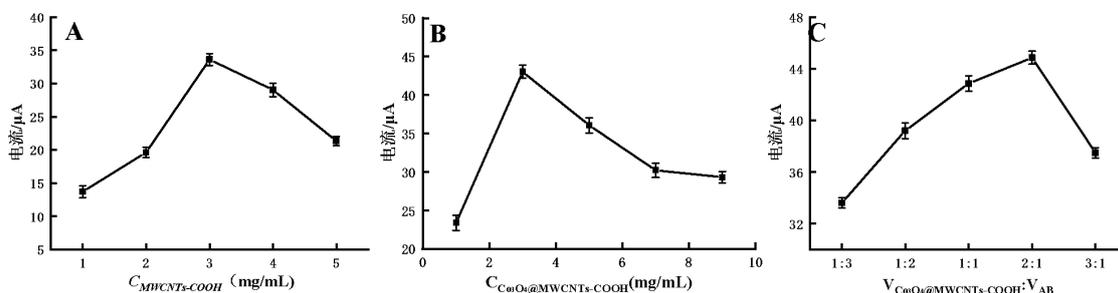


图8 修饰液对BaP氧化峰电流的影响

Fig.8 Effect of modification solution on the oxidative peak current of BaP

注: A、B: 修饰液浓度对BaP氧化峰电流的影响; C: 修饰液对比对BaP氧化峰电流的影响。

2.5.2.3 修饰材料固定化量对BaP氧化峰电流的影响

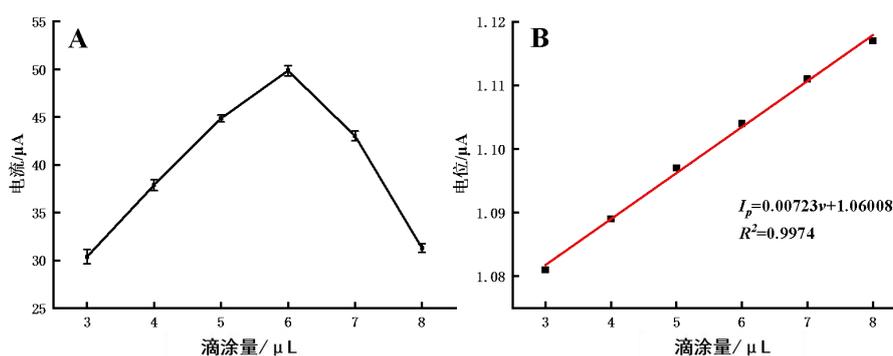


图9 修饰液用量对 BaP 氧化峰电流的影响

Fig.9 Effect of modified droplet amount on the oxidative peak current of BaP

注: A 为滴涂量对 BaP 氧化峰电流的影响; B 为滴涂量与 BaP 氧化峰电位之间的线性关系。

在电极表面按体积比 2:1 滴涂修饰液, 记录其峰电流值, 结果如图 9A 所示, 随着滴涂量的增加, BaP 的氧化峰电流值呈现出先增后减的趋势, 滴涂量共为 6 μL 时, 氧化峰电流达到了最大值。这是因为适度增加滴涂量, 电极表面的活性位点同步增加, 有助于提高电极与 BaP 之间的相互作用力, 加快反应速率, 使氧化峰电流增大。然而, 过大的滴涂量导致电极表面复合膜变厚, 进而加大电子传递阻力, 降低氧化反应的速率, 从而使得氧化峰电流值降低。绘制标准曲线, 结果如图 9B 所示, 在一定范围内 BaP 的氧化峰电位与滴涂量呈线性关系, 线性回归方程为 $I_p=0.00723v+1.0608$, $R^2=0.9974$ 。说明适量增加修饰材料可以优化电极的电化学性能, 体现了该电化学传感器设计的灵活性和可控性, 并且说明滴涂过程中的误差较小, 保证了实验的精确性和重复性。

2.5.3 富集时间对 BaP 氧化峰电流的影响

富集时间对 BaP 氧化峰电流的影响如图 10 所示: 随着富集时间增加, 电极表面能够吸附更多 BaP 分子, 使 BaP 的氧化峰电流值稳步增长, 然而, 当富集时间超过 15 min 后, 电流响应值的增长趋于平缓, 这可能是因为在一定的电极表面上, BaP 分子的吸附已达到饱和。基于以上结果, 考虑到检测效率和资源消耗, 选择 15 min 作为最佳富集时间, 既保证了足够的 BaP 分子吸附以获得较高的检测灵敏度, 又避免了不必要的浪费和潜在的误差来源。

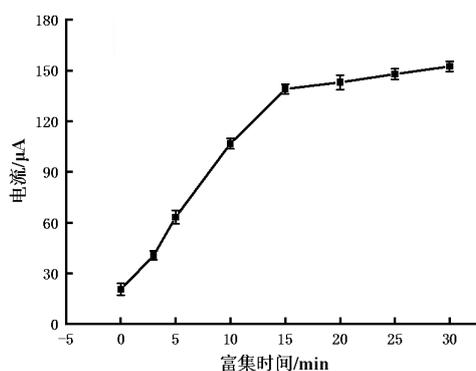


图 10 富集时间对 BaP 氧化峰电流的影响

Fig.10 Effect of enrichment time on the oxidative peak current of BaP

2.6 BaP 的检测

在最优实验条件下, 探究 BaP 浓度对氧化峰电流的影响并记录了不同 BaP 浓度下的 CV 图, 结果如图 11 所示: 随着 BaP 浓度的升高, 氧化峰电流值随之递增, 且二者在 100~1 000 nmol/L 的浓度范围内存在良好线性关系, 拟合得到回归方程为 $I_p=3.19C_{\text{BaP}}+1.5439$, $R^2=0.996$, 最检测限为 3.12×10^{-10} mol/L ($S/N=3$)。综上, 该纳米电化学传感器具有较高的灵敏度和良好的线性响应范围, 适合用作食品中痕量 BaP 快速检测分析。

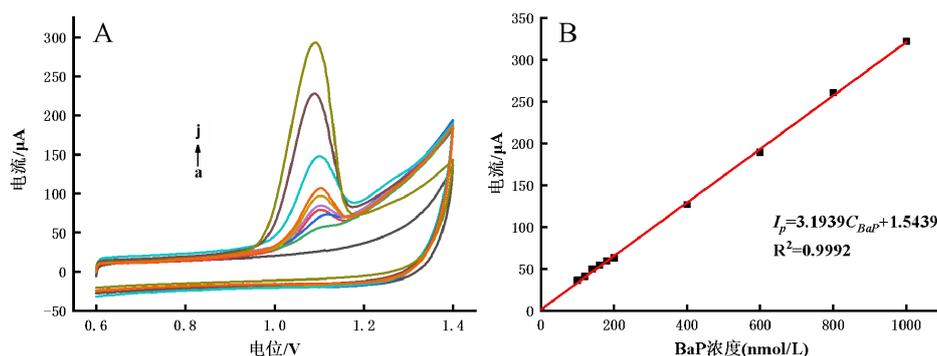


图 11 BaP 的检测

Fig.11 Detection of BaP

注: a: 100 nmol/L; b: 120 nmol/L; c: 140 nmol/L; d: 160 nmol/L; e: 180 nmol/L; f: 200 nmol/L; g: 400 nmol/L; h: 600 nmol/L; i: 800 nmol/L; j: 1000 nmol/L

2.7 纳米电化学传感器的选择性

为了验证传感器的选择性, 保持 BaP 浓度为 1.0×10^{-6} mol/L, 配置含有相同浓度萘、荧蒹和 5-羟甲基糠醛的溶液, 采用 CV 测定相似结构的 PAHs 和热加工食品中有害物质对 BaP 氧化峰电流值的影响, 结果如图 12 所示: 在扫描范围内, 除 BaP 自身的氧化峰外, 未观察到其他物质产生的显著氧化峰, 证实传感器对非目标物质的响应较低。加入 5-羟甲基糠醛时, 对 BaP 氧化峰电流响应值的影响仅为 2.4%, 而萘和荧蒹的影响程度也不超过 7.01%。综上, 所制备的电化学传感器在检测 BaP 时具有出色的选择性和良好的抗干扰性。

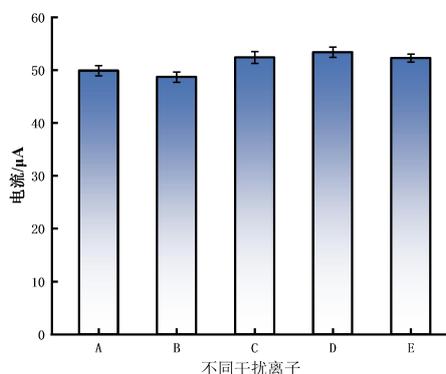


图 12 烤肉中不同产物对 BaP 氧化峰电流的影响

Fig.12 Effect of different products in barbecued meat on BaP oxidation peak current

注: A: 1 nmol/L BaP; B: 1nmol/L BaP+1 mmol/L 5-羟甲基糠醛; C: 1 nmol/L BaP+1 mmol/L 萘; D: 1 nmol/L BaP+1 mmol/L 荧蒹。

2.8 纳米电化学传感器的稳定性和重现性

为评估所制备电化学传感器的稳定性与重现性, 对同一传感器在相同的实验条件下连续重复测定 10 次, 电流值的 RSD 为 3.54%, 表明传感器在短时间内具有良好的重现性; 将修饰电极放置于 4 °C 中保存, 分别放置 1、2、5 和 10 d 后取出并在同一条件下进行 CV 扫描, 发现电化学传感器氧化峰电流分别保持初始值的 98.1%、93.4%、91.1%和 89.4%, 证实了传感器具有良好的稳定性。综上, 本研究所构建的电化学传感器具备良好的重现性和稳定性, 适用于样品中 BaP 的快速检测。

2.9 烧烤肉制品中 BaP 的测定及其加标回收率

按 2.5.1.1 对烤肉样品进行预处理, 使用本法对 BaP 进行测定, 得到氧化峰电流值, 并将其代入线性回归方程中, 计算得到样品中 BaP 的实际含量。在样品中分别添加 0、160、320、640 nmol/L 浓度的 BaP 标准溶液, 进行加标回收试验, 结果如表 1 所示: 该方法表现出良好的回收率, 加标回收率范围为 84.34%~93.36%, RSD 为 3.41%~4.29%, 表明该电化学传感器法具有较高的精度和稳定性, 适用于实际样品中 BaP 的定量检测。

本法与其他方法对比, 结果由表 2 所示: 测定 BaP 含量大多采用色谱法和电化学传感器, 但电化学传感器测定样品大多为环境和水样, 利用电化学传感器测定烤肉制品中 BaP 含量相关报道较少, 同时与其他方法作比较发现, 本法建立的电化学分析方法对 BaP 的检出限更低, 因此可用于食物样品中 BaP 的灵敏检测。

表 1 样品中 BaP 测定结果及其加标回收率

样品	加标量/(nmol/L)	测定值/(nmol/L)	回收率/%	相对标准偏差/%
	0	15.6421	-	-
烤羊肉	160	150.5861	84.34	4.23
	320	314.2327	93.31	3.41
	640	613.1743	93.36	4.29

表 2 不同方法检测不同样品中 BaP 对比

检测方法	样品	检出限	回收率/%	文献
高效液相色谱法	烤肉样品	0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$	81.53~89.31	[21]
分子印迹固相萃取-比率荧光法	熟地黄	80 ng/mL	89.5~106.8	[22]
分子印迹固相萃取/液-质谱联用法	烟熏鲟鱼	0.98 ng/mL	89.7~95.3	[23]
电化学发光传感器	烤肉样品	1.41 $\mu\text{g}/\text{kg}$	-	[24]
纳米电化学传感器	烤肉样品	0.079 $\mu\text{g}/\text{kg}$	84.34~93.36	本法

3 结论

本文制备了 AB@Co₃O₄@MWCNT-COOH 纳米复合材料, 结合磁性材料、高效催化剂及导电基底的优点, 采用物理吸附法制得一种高效灵敏的电化学传感器。通过 SEM 对磁性修饰材料的微观结构进行了表征, 发现 MWCNT-COOH 呈空心管状结构, 并以纵横交错的方式附着在 AB@Co₃O₄ 的表面上。这种结构赋予了复合材料较高的比表面积和良好的导电性能。采用 CV 法研究了 BaP 在电化学反应过程, 发现 BaP 的电化学氧化还原过程是不可逆的, 只有氧化峰没有还原峰。对试验条件进行了优化, 在最优条件下, BaP 的氧化峰电流值与其浓度在 100~1 000 nmol/L 之间呈现良好线性关系, 线性方程为 $I_p=3.19C_{\text{BaP}}+1.54$, $R^2=0.996$, 最低检出限为 3.12×10^{-10} mol/L (S/N=3), 抗干扰实验表明, 类似结构物质对 BaP 检测影响不显著; 所制备的纳米传感器具有良好的重现性和稳定性。相较于其它检测方法, 本法检测烤肉中 BaP, 其检出限可达 0.079 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 且操作简便、检测速度快、抗干扰性强以及稳定性高等优势, 适用于食品中 BaP 的现场快速筛查与定量检测, 为烤肉中 BaP 的检测提供了一种新的思路。

参考文献

- [1] 周超文, 胡建安. 苯并(a)芘致癌的表观遗传学作用机制研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2017, 31(5): 375-384.
- [2] REIZER E, CSIZMADIA I G, NEHEZ K, et al. Theoretical investigation of benzo(a)pyrene formation [J]. Chemical Physics Letters, 2021, 772: 138564.
- [3] 国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. GB2762-2022 食品中污染物限量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2022.
- [4] WANG L S, LI X Q, AI Y J, et al. Fabrication of graphitic carbon nitride and black phosphorene composite based electrochemical sensor and application for sensitive determination of quercetin [J]. Microchemical Journal, 2024, 205: 111190.
- [5] WU W L, YANG S Y, LIU J L, et al. Progress in immunoassays for nitrofurans detection [J]. Food and Agricultural Immunology, 2020, 31(1): 890-909.
- [6] DING X, LIU L Q, SONG S S, et al. Rapid and ultrasensitive detection of 3-amino-2-oxazolidinone in catfish muscle with indirect

- competitive enzyme-linked immunosorbent and immunochromatographic assays [J]. *Food and Agricultural Immunology*, 2017, 28(3): 463-475.
- [7] JIN W K. Natural occurrence and uncertain evidence of its formation from food processing [J]. *Food Control*, 2017, 72: 268-275.
- [8] DU C Y, HU Y Q, LI Y C, et al. Electrochemical detection of benzo(a)pyrene in acetonitrile-water binary medium [J]. *Talanta*, 2015, 138: 46-51.
- [9] LIN X Y, WANG Y F, ZOU M, et al. Sensitive and fast analysis of terbutaline sulfate in food using a modified electrode based on a MoS₂/AuNPs nanocomposite [J]. *Anal Methods*, 2019, 11(10): 1353.
- [10] WEI P Y, HAN W, XIE L, et al. Recent advances in chemo sensors based on transition metal phosphides for food safety detection [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2024, 151: 104611.
- [11] 冯亚净,李书国.石墨烯电化学传感器法快速测定植物油中的苯并(a)芘[J].*食品科学*,2018,39(8):218-223.
- [12] 王瑞鑫.电化学免疫传感器在食品安全检测中的应用研究[D].石家庄:河北科技大学,2016.
- [13] ZHANG J Y, MA X W, DANG X P, et al. Adsorption mechanism of polycyclic aromatic hydrocarbons on polythiophene-graphene covalent complex and its analytical application in food contact materials [J]. *Microchemical Journal*, 2021, 171: 106767.
- [14] AVIK S, TARUN K B. Functionalized gold nanoparticles decorated reduced graphene oxide sheets for efficient detection of mercury [J]. *IEEE Sensors Journal*, 2020, 20(11): 5712-5719.
- [15] TIAN X X, YIN M, ZHANG L, et al. Mesoporous ZnO@CO₃O₄ nanosphere for sensitive detection of 3-Hydroxy-2-Butanone [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 2022, 11: 100135.
- [16] 周鸿燕,宋莹.基于 Fe₃O₄@TiO₂@Au 的电化学传感器用于芦丁检测[J].*食品与机械*,2023,39(6):81-87.
- [17] 张惠萱,字敏.四氧化三钴纳米材料的制备及其电化学性能研究[J].*山东化工*,2022,51(9):26-29+32.
- [18] 张曼曼.基于多孔碳材料电化学传感器的构建并用于酚类污染物的检测[D].石河子:石河子大学,2023.
- [19] AMIN M, BEHNAM K, FARID M. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in urban soils of Ahvaz metropolis; contamination, composition, distribution, potential sources, and cancer risk [J]. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 2019, 25(4): 935-948.
- [20] DONG J, SONG L, YIN J, et al. Co₃O₄ nanoparticles with multi-enzyme activities and their application in immunohistochemical assay [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2014, 6(3): 1959-1970.
- [21] 李秋雨.高效液相色谱法测定烧烤食品中苯并芘含量[J].*食品安全导刊*,2023(15):140-144.
- [22] 文心懿,戴寅,范卉竹,等.分子印迹固相萃取-比率荧光法测定熟地黄中苯并[*a*]芘的含量[J].*实验室检测*,2024,2(6):47-52.
- [23] 林亚楠,李诗言,崔益玮,等.分子印迹固相萃取/液-质谱联用法测定烟熏鲟鱼中苯并芘[J].*中国食品学报*,2020,20(3):251-257.
- [24] 孙苗,徐文清,王黎,等.基于共价有机骨架修饰电极的苯并芘电化学发光传感器[J].*分析测试学报*, 2020,39(5):577-582.