

# 基于三维石墨烯-普鲁士蓝构建电化学酶传感器 用于尿酸的灵敏检测

李鹏威 张尧 李庆莲 高攀 贾能勤\*

(教育部资源化学重点实验室,上海市稀土功能材料重点实验室,上海师范大学化学与材料科学学院,上海 200234)

**摘要** 构建了一种基于三维石墨烯(3D GR)-普鲁士蓝(PB)的电化学酶传感器,用于尿酸的灵敏检测。采用一步水热法将氧化石墨烯热还原,自组装形成 3D GR,再将 PB 电沉积到 3D GR 上,形成 3D GR-PB 复合物。3D GR 具有大的比表面积和多孔特性,可为反应提供更多的活性位点。电化学测试表明,基于 3D GR-PB 构建的酶传感器检测尿酸具有较宽的线性范围( $3.75 \times 10^{-9} \sim 3.75 \times 10^{-4}$  mol/L)和较低的检出限( $4.21 \times 10^{-10}$  mol/L)。由于尿酸酶对催化尿酸的高度专一性,本传感器具有较高的选择性,为尿酸的灵敏检测提供了一种可行的方案。

**关键词** 三维石墨烯;普鲁士蓝;尿酸;电化学酶传感器

## 1 引言

尿酸(UA)存在于人尿液、血清、血浆和唾液中,是人体中嘌呤的正常代谢产物<sup>[1-3]</sup>。血液中的尿酸含量被作为检测白血病、肺炎、高血脂、高血糖等疾病的标志物。血液和尿液中尿酸的正常水平分别为 0.13 ~ 0.46 mmol/L (2.18 ~ 7.7 mg/dL) 和 1.49 ~ 4.46 mmol/L (25 ~ 74 mg/dL)<sup>[4]</sup>。因此,准确检测尿酸的含量用于疾病诊断具有重要意义。

目前,用于检测尿酸的分析方法主要包括高效液相色谱法<sup>[5]</sup>、荧光法<sup>[6]</sup>、化学发光法<sup>[7]</sup>等,尿酸的临床常规检测方法有酶紫外法和酶比色法。这些方法耗时,且样品前处理较复杂。因此,需开发简单、快速、灵敏和准确的尿酸检测方法。生物传感器因其高特异性、高灵敏度、快速响应、低成本、简便的样品制备方法等特点,在生物检测领域引起了广泛关注<sup>[8-17]</sup>。电化学生物传感器是一种对生物物质敏感,并将其浓度转换成电信号进行检测的装置,是一种固定化的生物敏感材料系统,用于识别组分(包括抗体、酶、抗原、细胞、组织、核酸、微生物和其它生物活性物质)和相应信号的传感器。对于目标物的分析检测,需对生物传感器的电极进行功能化修饰,以提高体系的传感性能。通过在电极上修饰酶,可提高传感器的选择性;为提高传感器的灵敏度和响应强度,可在电极上修饰导电性好的多孔纳米材料,如三维石墨烯(3D GR)泡沫。目前,关于 3D GR 电化学传感器检测 UA 的报道较多<sup>[18-21]</sup>。Yue 等<sup>[19]</sup>以泡沫镍为模板合成 3D GR,随后蚀刻镍,对 UA 的选择性有所改善,但实验条件过于苛刻。Wang 等<sup>[20]</sup>以镍粉为原材料,采用化学气相沉积方法合成 3D GR,电化学方法检测多巴胺和 UA,但合成 3D GR 的过程复杂,不易操作;同时,选择性较差,线性范围较窄,灵敏度较低。Chen 等<sup>[21]</sup>将尿酸酶固定在碳纳米管上,用于检测细胞中的 UA,构建的生物传感器表现出快的响应速度( $\sim 2$  s)、低的检出限和宽的线性范围。

石墨烯是一种原子厚度的二维碳材料,具有高机械强度、高导电性和导热性<sup>[22-24]</sup>、大比表面积和较高的稳定性,并在传感器<sup>[25]</sup>、催化<sup>[26]</sup>、能量存储设备<sup>[27,28]</sup>和环境领域具有较好的应用潜力。然而,石墨烯的应用还需将石墨烯组装成各种各样的宏观结构。3D GR 是氧化石墨烯(GO)在还原过程中通过自组装形成的三维结构<sup>[29-31]</sup>。3D GR 不仅保留了石墨烯优异的机械、热学和电学性能,而且具有三维多孔结构、低密度、良好导电性和高比表面积等优点,因而,在能量储存、催化、柔性传感器等方面具有很大的应用潜力。普鲁士蓝(PB)作为分析应用中常用的电化学介质,已广泛应用于生物传感器领域,其催

化  $H_2O_2$  还原的性质已被用于构建多种基于氧化酶的生物传感器,进而用于临床、环境和食品等领域的检测分析<sup>[32~35]</sup>。

本研究构建了一种基于三维石墨烯-普鲁士蓝(3D GR-PB)的电化学酶传感器,用于检测 UA。3DGR 具有较高的比表面积和多孔结构,可为 PB 提供更多的附着位点,同时也为尿酸酶的催化作用提供较多的活性位点<sup>[36~38]</sup>。本传感器具有灵敏度高、选择性和稳定性好的优点,对于 UA 的快速灵敏检测具有潜在的应用价值。

## 2 实验部分

### 2.1 仪器与试剂

ZEISS ULTRA 55 扫描电子显微镜(德国卡尔蔡司公司); CHI 660b 电化学工作站(上海辰华仪器公司); Micromeritics TriStar II 3020 比表面积测试仪(美国麦克仪器公司)。

尿酸酶(20 U/mg, 百灵威科技有限公司); UA ( $\geq 98\%$ , 上海源叶生物科技有限公司); GO(99.5%, 1~3 层, 上海阿拉丁生化科技有限公司); 壳聚糖(98%, 分子量 161.16)、无水乙醇(95%)、无水  $FeCl_3$  ( $>98\%$ )、 $K_3Fe(CN)_6$  ( $\geq 99.5\%$ )、 $K_4Fe(CN)_6$  ( $\geq 99.5\%$ )、KCl(99.99%)、 $KH_2PO_4$  (99.99%)、 $Na_2HPO_4$  (99.5%), 均购自上海化学试剂公司。 $Na_2HPO_4$  和  $KH_2PO_4$  用于配制磷酸盐缓冲溶液(0.1 mol/L PBS, pH=7.4), 缓冲液亦作为电解液。所有试剂均为分析纯, 实验用水为超纯水。

### 2.2 3D GR 的制备

采用一步热还原的方法制备 3D GR<sup>[39]</sup>。合成步骤如下: 将 40 mg GO 分散在 20 mL 水中, 超声 10 min 使之分散均匀, 形成 2 mg/mL 的分散液。将分散液转移到高压水热反应釜中, 160°C 烘箱中反应 12 h, 冷却至室温, 将得到的固体冷冻干燥, 最终产物即为 3D GR。

### 2.3 三维石墨烯-普鲁士蓝(3D GR-PB)的制备

将 3D GR 修饰的电极浸入新配制的 5 mmol/L  $K_3[Fe(CN)_6]$ 、5 mmol/L  $FeCl_3$ 、1 mol/L KCl 溶液中, 在 -0.2 ~ 1.2 V 的电压范围内, 三电极体系(工作电极: 3D GR-PB 修饰的玻璃碳电极; 参比电极: 饱和甘汞电极; 对电极: 铂电极)下循环伏安扫描 20 圈<sup>[40]</sup>, 扫速为 20 mV/s。用水冲洗掉未聚合的浮层。将 3D GR-PB 修饰电极置于 0.01 mol/L  $K_2HPO_4/KH_2PO_4$ -0.1 mol/L HCl 缓冲溶液(pH=6)中。在扫描电位为 -0.2 ~ 1.1 V, 扫速为 50 mV/s 的条件下, 进行 PB 的循环伏安特征峰扫描, 用于验证 PB 是否成功电聚合到电极上。检测电聚合成功后, 用水冲洗电极, 在空气中干燥后, 备用。

### 2.4 基于 3D GR-PB 电化学酶传感器的构建

如图 1 所示, 将 5 mL (2 mg/mL) 3D GR 溶液滴在玻璃碳电极上(直径 3 mm), 37°C 烘箱中干燥。将此修饰电极浸入到新配制的 5 mmol/L  $K_3[Fe(CN)_6]$ 、5 mmol/L  $FeCl_3$ 、1 mol/L KCl 混合溶液中, 在 -0.2 ~ 1.2 V 的电位和 20 mV/s 扫速下循环扫描 20 圈。将 5  $\mu$ L 尿酸酶(0.05 mg/mL)溶液滴涂在电极上, 37°C 干燥 12 h。最后, 将 5  $\mu$ L 壳聚糖溶液滴在电极上, 利用壳聚糖良好的成膜性能, 将上述材料牢固固定在电极上。

### 2.5 UA 的分析检测

在 0.1 mol/L PBS 缓冲液中, 使用 3D GR-PB 修饰电极, 采用差分脉冲伏安法(DPV)对 UA 进行检测。构建的电化学酶传感器反应机理如下: UA 在尿酸酶的作用下产生  $H_2O_2$ (方程式 1), 此时, PB 催化

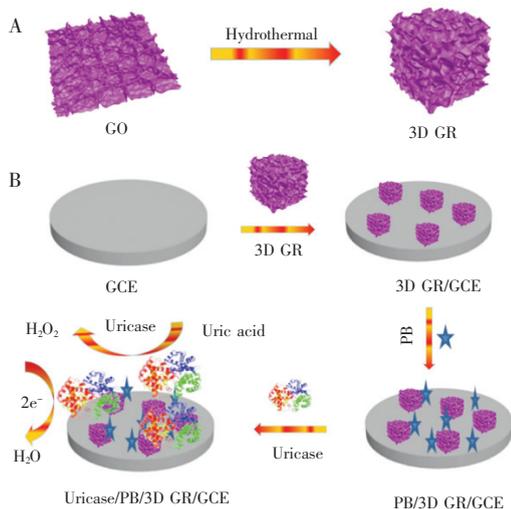
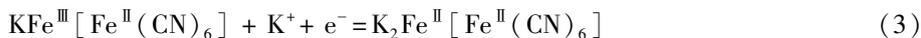
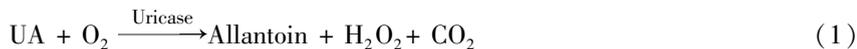


图 1 (A) 三维石墨烯(3D GR)的合成; (B) 三维石墨烯-普鲁士蓝(3D GR-PB)酶传感器的构建过程  
Fig. 1 (A) Synthesis of three-dimensional reduced graphene oxide (3D GR); (B) Fabrication process of 3D GR- Prussian Blue (PB) based enzymatic sensor; GCE, glassy carbon electrode

$\text{H}_2\text{O}_2$ , 在这个过程中产生电子并发生电子的转移(方程式 2 和 3), 产生电信号。随着 UA 浓度的增加,  $\text{H}_2\text{O}_2$  的生成量随之增加, 同时 PB 催化  $\text{H}_2\text{O}_2$  产生电子的数目也会增加, 电流响应强度逐渐增强, 从而实现对 UA 的定量检测。实际样品检测中, 首先将人血清加入到 0.1 mol/L PBS 缓冲液中, 然后加入不同浓度的 UA 溶液, 测定响应电流(扣除加入血清时的电流响应强度)。具体反应过程如下:



## 3 结果与讨论

### 3.1 3D GR 和 3D GR-PB 的表征

从图 2A ~ 2C 可见, 3D GR 具有多孔网状的结构且孔径分布较均一, 粒径约 5  $\mu\text{m}$ 。图 2A 插图是合成的 3D GR, 与文献报道的形貌一致<sup>[41-46]</sup>。在 3D GR 修饰的电极上电沉积 PB 后, 3D GR 负载了很多 PB 纳米颗粒(图 2D ~ 2F), 粒径分布比较均一, 尺寸大小相同, 但 PB 有团聚现象, 这可能是由于在电沉积过程中电沉积的扫描速度、扫描圈数及溶液浓度不同引起的。

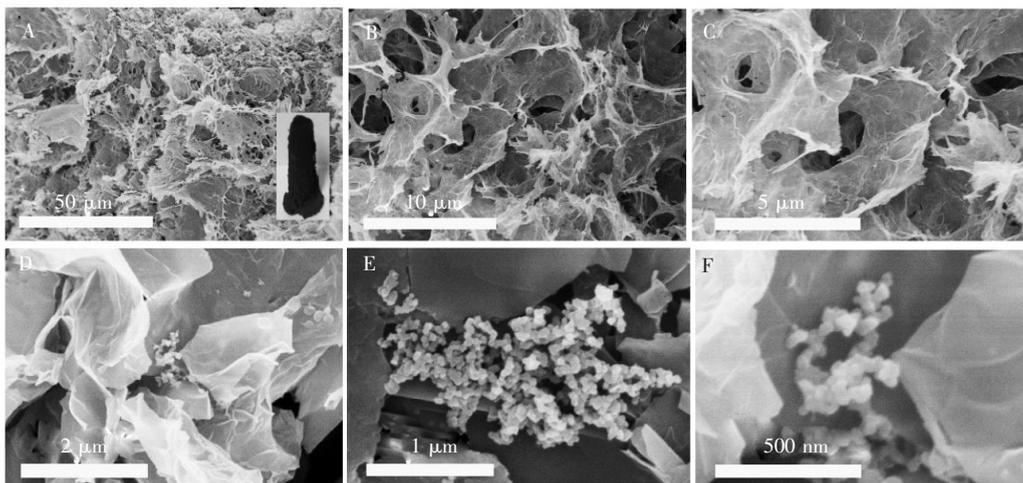
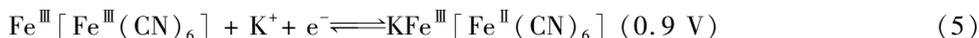


图 2 不同放大倍数下 3D GR(A, B, C)和 3D GR-PB(D, E, F)的 SEM 图

Fig. 2 Scanning electron microscopy (SEM) images of 3D GR (A, B, C) and 3D GR-PB (D, E, F) at different magnifications

在图 3A 的拉曼光谱图中, 1348 和 1581  $\text{cm}^{-1}$  处的峰分别对应于 3D GR 的 D 峰和 G 峰, 峰位发生偏移, 说明 G 峰不够尖锐且强度较低, 而且 D 峰强度超过 G 峰强度, 使得  $I_D/I_G$  值变大( $I_D/I_G$  值的大小表示石墨烯的缺陷密集程度, 比值越大, 缺陷程度越大), 表明 3D GR 多孔结构不规则。这是由于在制备 GO 时强氧化剂的加入使得原有规则排列的石墨片层之间引入了较多的含氧官能团和悬挂键, 导致产生大量缺陷, 以及碳的  $\text{sp}^2$  杂化转化为  $\text{sp}^3$ , 破坏了石墨的结晶性能, 当 GO 被还原后, 这些缺陷仍会部分存在, 所以在拉曼图谱中, 3D GR 的 D 峰强度超过 G 峰强度<sup>[47,48]</sup>。2091 和 2157  $\text{cm}^{-1}$  处的峰对应于 PB 中 CN 基的伸缩振动峰<sup>[49]</sup>, 当 PB 修饰到 3D GR 上之后, 产物既有 3D GR 本身的特征峰, 又有 PB 的特征峰, 证明 PB 电沉积成功。将电极在 0.1 mol/L PBS 溶液中进行 CV 测试(图 3B), 发现其在 0.2 和 0.9 V 各有一个特征峰<sup>[50]</sup>, 对应于 PB 的氧化还原峰, 具体的反应过程如下:



由 BET 测试结果(图 4A)可知, GO 的比表面积为 3.68  $\text{m}^2/\text{g}$ , 3D GR 的比表面积为 199.12  $\text{m}^2/\text{g}$ , 表明 3D GR 具有较高的比表面积。由 GO 和 3D GR 的孔径分布图(图 4B)可知, 3D GR 的孔径约为 3 nm,

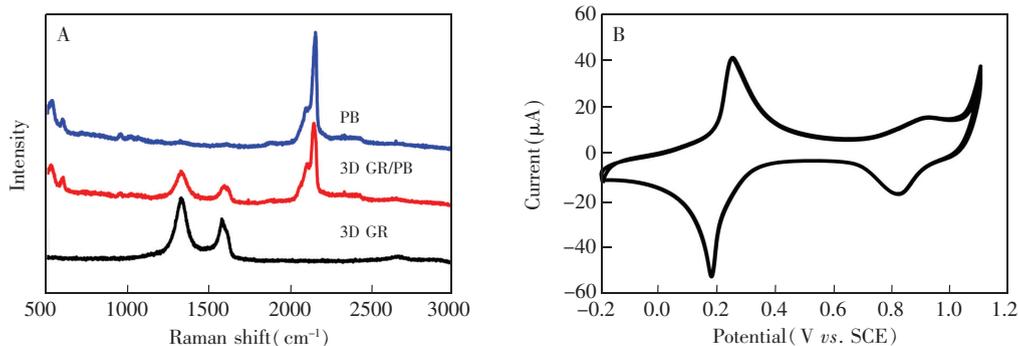


图 3 (A) 3D GR、PB、3D GR-PB 的拉曼光谱图; (B) PB 在 0.1 mol/L PBS 缓冲液中的循环伏安曲线  
Fig. 3 (A) Raman spectra of 3D GR, PB, 3D GR-PB; (B) Cyclic voltammograms (CVs) of PB in 0.1 mol/L PBS buffer, scan rate is 50 mV/s

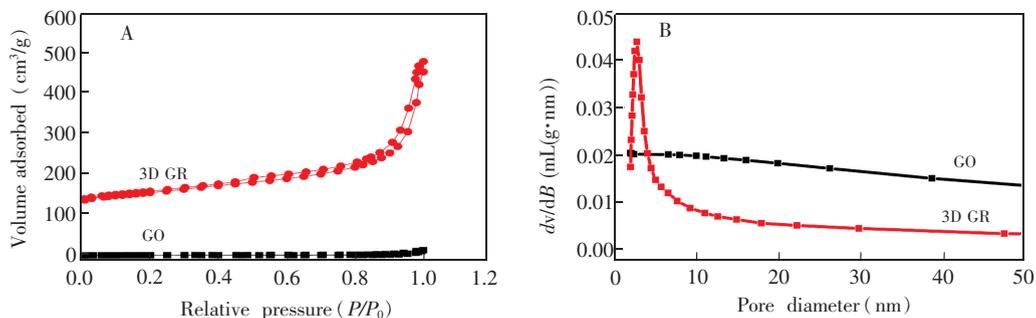


图 4 (A) GO 和 3D GR 的氮气吸脱附曲线以及(B)孔径分布图

Fig. 4 (A) Nitrogen adsorption-desorption isotherms and (B) pore size distribution of GO and 3D GR

GO 不具有孔状结构。

### 3.2 传感器组装过程的电化学表征及定性实验

采用循环伏安法和电化学阻抗表征了传感器的组装过程。如图 5A 所示,与裸玻碳电极(曲线 c)相比,由于 3D GR 具有良好的导电性,能够促进电子的转移,修饰 3D GR 后,电极的电流响应增强(曲线 b)。由于 PB 也具有良好的导电性,当在电极上电沉积 PB 后,电流响应进一步增强(曲线 a)。酶和壳聚糖导电性差,所以当电极分别修饰上尿酸酶(曲线 d)和壳聚糖(曲线 e)后,电流响应均减弱。图 5B 的阻抗图中,高频区的半圆直径对应电极的电子转移阻抗值  $R_{et}$ 。与裸玻碳电极(曲线 c)相比,在电极上修饰 3D GR(曲线 b)后, $R_{et}$  变小;继续修饰 PB, $R_{et}$  继续减小(曲线 a));在电极上修饰上尿酸酶(曲线 d)和壳聚糖(曲线 e)后, $R_{et}$  逐渐增大。从图 5A 中电流响应强度和图 5B 中  $R_{et}$  的变化可知,此酶传感器组装成功。

考察了修饰电极对  $H_2O_2$  的电催化作用,结果如图 5C 所示。随着  $H_2O_2$  浓度增加,PB 的还原峰的峰电流强度逐渐增强,表明 PB 能够催化  $H_2O_2$  还原。随着 UA 浓度的增加,还原峰电流响应强度增强(图 5D),表明构建的酶传感器可用于 UA 的检测。

### 3.3 实验条件优化

对检测 UA 的实验条件(包括底液的 pH 值、尿酸酶的浓度等)进行了优化。如图 6A 所示,随着底液(0.1 mol/L PBS 缓冲液)pH 值增大,电流响应强度增加,并在 pH=5 时达到最大。当 pH 值继续增大时,电流响应强度减小,因此选择最佳 pH=5。从图 6B 可见,随着尿酸酶浓度增加,电流响应强度增加,当尿酸酶浓度为 0.05 mg/mL 时,电流强度最强,继续增加其浓度,电流响应强度反而减小,所以尿酸酶的最佳浓度为 0.05 mg/mL。

### 3.4 3D GR-PB 电化学酶传感器对 UA 的检测性能

图 7A 是 3DGR-PB/GCE 在 0.1 mol/L PBS 缓冲溶液中对不同浓度 UA 的 DPV 曲线,随 UA 浓度升

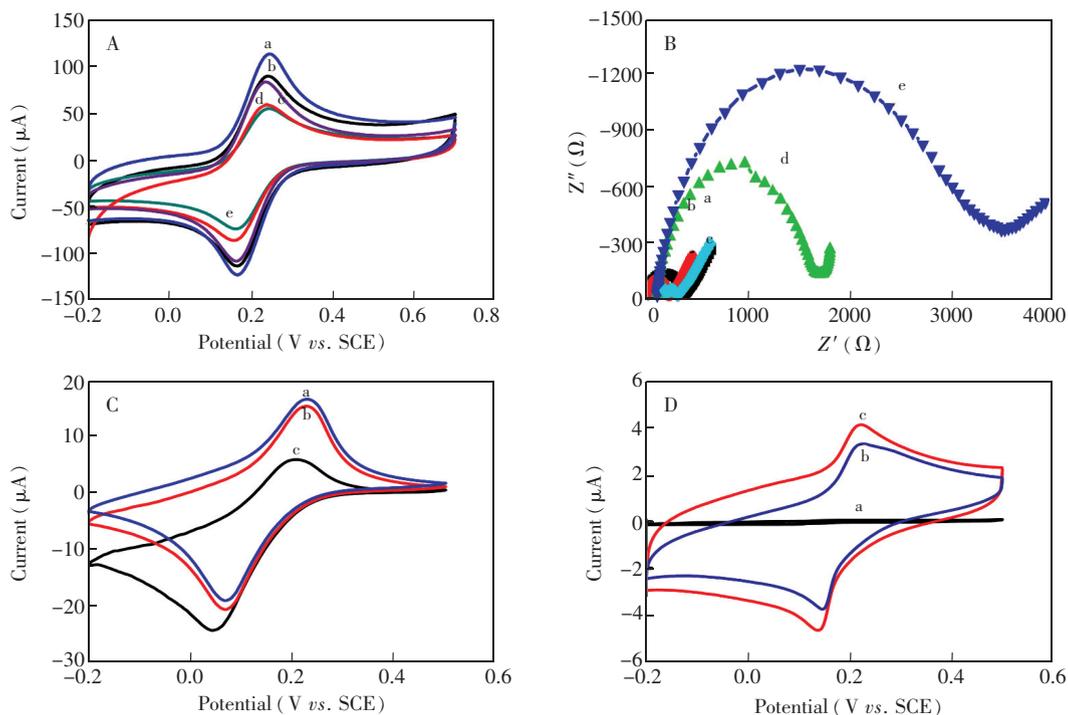


图 5 (A) (a) PB-3D GR/GCE、(b) 3D GR/GCE、(c) GCE、(d) uricase/PB-3D GR/GCE 和 (e) Chitosan/uricase/PB-3D GR/GCE 在 10 mmol/L  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  中的循环伏安图; (B) 与图 A 相对应的阻抗图; (C) 不同浓度  $\text{H}_2\text{O}_2$  (a: 0; b:  $1.25 \times 10^{-6}$  mol/L; c:  $1.25 \times 10^{-5}$  mol/L) 在 Chitosan/uricase/PB-3D GR/GCE 上的循环伏安图; (D) 不同浓度 UA 下 (a: 0; b:  $1.25 \times 10^{-6}$  mol/L; c:  $1.25 \times 10^{-5}$  mol/L) Chitosan/uricase/PB-3D GR/GC 的循环伏安图

Fig. 5 CVs (A) and corresponding Nyquist curves of electrochemical impedance spectroscopy (EIS) (B) of (a) PB/3D GR/GCE, (b) 3D GR/GCE, (c) GCE, (d) uricase/PB/3D GR/GCE and (e) chitosan/uricase/PB-3D GR/GCE in 10 mmol/L  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ; (C) CV responses of Chitosan/uricase/PB-3D GR/GC at different concentrations of  $\text{H}_2\text{O}_2$  (a, 0; b,  $1.25 \times 10^{-6}$  mol/L; c,  $1.25 \times 10^{-5}$  mol/L); (D) CV responses of chitosan/uricase/PB-3D GR/GC at different concentrations of uric acid (UA) (a, 0; b,  $3.08 \times 10^{-6}$  mol/L; c,  $3.08 \times 10^{-5}$  mol/L). scan rate: 10 mV/s

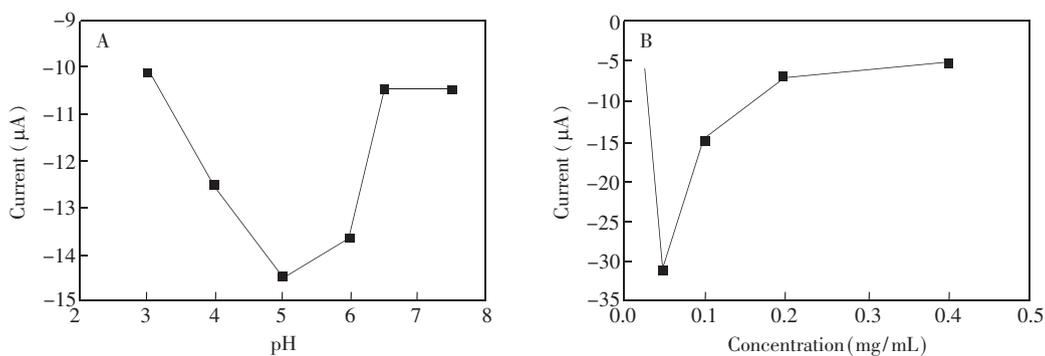


图 6 (A) pH 值 (pH = 3, 4, 5, 6, 6.5, 7.4) 和 (B) 尿酸酶的浓度 (0.025, 0.05, 0.1, 0.2 和 0.4 mg/mL) 对 Chitosan/uricase/PB-3D GR/GCE 响应电流的影响

Fig. 6 Effects of (A) pH (pH = 3, 4, 5, 6, 6.5, 7.4) and (B) uricase concentration (0.025, 0.05, 0.1, 0.2 and 0.4 mg/mL) on current response of Chitosan/uricase/PB-3D GR/GCE

高,还原峰电流响应强度依次增加,如图 7B 所示,在  $3.75 \times 10^{-9} \sim 3.75 \times 10^{-4}$  mol/L 浓度范围内,UA 浓度的对数与电流响应强度呈线性关系,  $I = -1.153 \lg C - 43.057$  ( $R^2 = 0.991$ ),检出限 ( $S/N = 3$ ) 为  $4.21 \times 10^{-10}$  mol/L。相比于文献报道的检测 UA 的方法(表 1),本研究构建的电化学酶传感器具有较宽的线性范围以及较低的检出限。

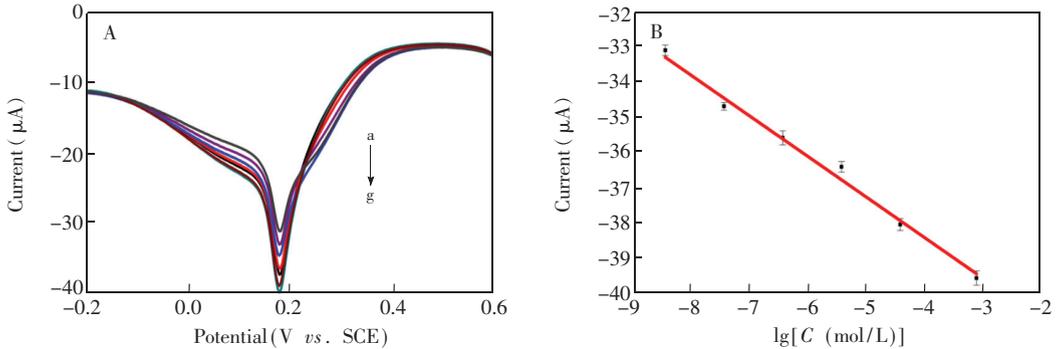


图 7 (A) 不同浓度 UA 在 GR-PB/GCE 上的差分脉冲伏安曲线, a ~ g:  $0, 3.75 \times 10^{-9}, 7.5 \times 10^{-8}, 3.75 \times 10^{-7}, 3.75 \times 10^{-6}, 3.75 \times 10^{-5}$  和  $3.75 \times 10^{-4}$  mol/L; (B) UA 浓度的对数与响应电流之间的校正曲线图

Fig. 7 (A) Differential pulse voltammetric (DPV) curves of different concentrations of UA on GR-PB/GCE (a-g:  $0, 3.75 \times 10^{-9}, 7.5 \times 10^{-8}, 3.75 \times 10^{-7}, 3.75 \times 10^{-6}, 3.75 \times 10^{-5}$  and  $3.75 \times 10^{-4}$  mol/L, respectively), Pulse amplitude is 50 mV; Scan rate is 100 mV/s. (B) Calibration curve between logarithm of UA concentration and current response

考察了多巴胺、抗坏血酸、葡萄糖等潜在干扰物对 UA 测定的干扰。在 0.1 mol/L PBS 缓冲液中分别加入多巴胺 ( $3.75 \times 10^{-5}$  mol/L)、抗坏血酸 ( $3.75 \times 10^{-5}$  mol/L) 和葡萄糖 ( $3.75 \times 10^{-5}$  mol/L) 后,还原峰电流几乎没有响应;当加入 UA ( $3.75 \times 10^{-5}$  mol/L) 后,还原峰电流具有较高的响应,由此可知,此传感器具有较强的抗干扰能力。

为了检验 3DGR-PB 基电化学酶传感器的稳定性,将传感器在 0.1 mol/L PBS 中进行多次循环伏安扫描测试,还原峰的峰电流和峰电位都未发生偏移,可知此传感器具有较好的稳定性。

### 3.5 血清样品中 UA 的检测

采用本方法测定了人血清中的 UA 浓度。人血清中 UA 的标准添加实验结果如表 2 所示,回收率在 99.4% ~ 102.8% 之间,表明此传感器检测血清样品中 UA 的准确性高,可用于实际样品中 UA 的灵敏检测。

## 4 结论

构建了一种基于 3DGR-PB 的电化学酶传感器,实现了对 UA 的灵敏检测。由于尿酸酶对催化 UA 具有高度专一性,使得此传感器具有较高的选择性以及较强的抗干扰能力。采用高比表面积的多孔 3DGR 作为基底材料,能提高修饰电极的电子转移速率。与其它方法相比,本研究构建的电化学酶传感器

表 1 3D GR-PB 酶传感器与其它传感器检测 UA 性能的比较

Table 1 Comparison of this as-prepared 3D GR-PB enzyme sensor and some other reported methods for determination of uric acid

电极材料 Electrode materials	线性范围 Linear range (mol/L)	检出限 LOD ( $\mu\text{mol/L}$ )	参考文献 References
Penicillamine-Au	$1.0 \times 10^{-5} \sim 1.6 \times 10^{-4}$	1	[50]
Graphene	$1.94 \times 10^{-7} \sim 4.968 \times 10^{-5}$	0.132	[51]
Pd <sub>3</sub> Pt <sub>1</sub> /PDDA-rGO	$4.0 \times 10^{-6} \sim 4.0 \times 10^{-4}$	0.1	[52]
Pt NPs-rGO	$1.0 \times 10^{-5} \sim 1.3 \times 10^{-4}$	0.45	[53]
ERGO	$5.0 \times 10^{-7} \sim 6.0 \times 10^{-5}$	0.5	[54]
3D GR-PB	$3.75 \times 10^{-9} \sim 3.75 \times 10^{-4}$	$4.21 \times 10^{-4}$	This work

表 2 标准加入法检测人血清中不同浓度的 UA

Table 2 Detection of different concentrations of uric acid in human serum through standard addition method

样品 Samples	加入浓度 Added (mmol/L)	检测浓度 Found (mmol/L)	回收率 Recovery (%)	相对标准偏差 RSD (%, n=3)
1	0.50	0.51	102.8	2.1
2	0.75	0.75	99.4	1.8
3	0.86	0.85	99.4	1.9

检测 UA 具有较宽的线性范围和较低的检出限。此 3D GR-PB 电化学酶传感器为 UA 的快速灵敏检测提供了一种可行且有效的方法。

## References

- 1 Wang X Y, Zhu G B, Cao W D, Liu Z J, Pan C G, Hu W J, Zhao W Y, Sun J F. *Talanta*, **2019**, 191: 46–53
- 2 Huang L, Jiao S, Li M. *Electrochim. Acta*, **2014**, 121: 233–239
- 3 Feng L, Hua C, Sun H, Qin L Y, Niu P P, Guo Z N, Yang Y. *J. Nutr. Health Aging*, **2017**, 22(4): 508–512
- 4 Azmi N E, Ramli N I, Abdullah J, Abdul Hamid M A, Sidek H, Abd Rahman S, Ariffin N, Yusof N A. *Biosens. Bioelectron.*, **2015**, 67: 129–133
- 5 Slaunwhite W, Wenke D, Chilcote M, Kissinger P, Pachla L. *Clin. Chem.*, **1975**, 21(7): 1015
- 6 Pradhan T, Maiti S, Kumar R, Lee Y H, Kim J W, Lee J H, Kim J S. *Dyes Pigments*, **2015**, 121: 1–6
- 7 Amjadi M, Manzoori J L, Hallaj T. *J. Lumin.*, **2014**, 153: 73–78
- 8 Zhang X, Ke H, Wang Z M, Guo W W, Zhang A M, Huang C S, Jia N Q. *Analyst*, **2017**, 142(12): 2253–2260
- 9 Zhang X, Guo W W, Wang Z M, Ke H, Zhao W J, Zhang A M, Huang C S, Jia N Q. *Sens. Actuators B*, **2017**, 253: 470–477
- 10 Zhang H, Ke H, Wang Y F, Li P W, Huang C S, Jia N Q. *Microchim. Acta*, **2018**, 186(1): 39–45
- 11 Wang Y F, Sha H F, Ke H, Xiong X, Jia N Q. *Electrochim. Acta*, **2018**, 290: 90–97
- 12 Wang Y F, Sha H F, Ke H, Jia N Q. *Talanta*, **2018**, 186: 322–329
- 13 Sha H F, Zhang Y, Wang Y F, Ke H, Xiong X, Xue H G, Jia N Q. *Biosens. Bioelectron.*, **2019**, 132: 203–209
- 14 Sha H F, Zhang Y, Wang Y, Ke H, Xiong X, Jia N Q. *Biosens. Bioelectron.*, **2019**, 124–125: 59–65
- 15 Sha H F, Wang Y F, Zhang Y, Ke H, Xiong X, Jia N Q. *Sens. Actuators B*, **2018**, 277: 157–163
- 16 Ke H, Zhang X, Huang C S, Jia N Q. *Biosens. Bioelectron.*, **2018**, 103: 62–68
- 17 Ke H, Sha H F, Wang Y, Guo W, Zhang X, Wang Z M, Huang C S, Jia N Q. *Biosens. Bioelectron.*, **2018**, 100: 266–273
- 18 Zhu Q, Bao J, Huo D, Yang M, Wu H, Hou C, Zhao Y, Luo X, Fa H. *J. Electroanal. Chem.*, **2017**, 799: 459–467
- 19 Yue H Y, Zhang H, Chang J, Gao X, Huang S, Yao L H, Lin X Y, Guo E. *J. Anal. Biochem.*, **2015**, 488: 22–27
- 20 Wang Z, Yue H Y, Yu Z M, Huang S, Gao X, Wang B, Song S S, Guan E H, Wang W Q, Zhang H J. *Ionics*, **2018**, 25(4): 1813–1823
- 21 Chen D X, Wang Q, Jin J, Wu P, Wang H, Yu S Q, Zhang H, Cai C X. *Anal. Chem.*, **2010**, 82(6): 2448–2455
- 22 Zhang B, Wang Y, Zhai G. *Mater. Sci. Eng. C*, **2016**, 61: 953–964
- 23 Tang L, Wang Y, Li Y, Feng H, Lu J, Li J. *Adv. Funct. Mater.*, **2009**, 19(17): 2782–2789
- 24 Feng H, Wu Y, Li J. *Small*, **2014**, 10(11): 2233–2238
- 25 Yan C, Wang J, Kang W, Cui M, Wang X, Foo C Y, Chee K J, Lee P S. *Adv. Mater.*, **2014**, 26(13): 2022–2027
- 26 Guo C, Zheng Y, Ran J, Xie F, Jaroniec M, Qiao S Z. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2017**, 56(29): 8539–8543
- 27 Fan Z, Yan J, Zhi L, Zhang Q, Wei T, Feng J, Zhang M, Qian W, Wei F. *Adv. Mater.*, **2010**, 22(33): 3723–3728
- 28 Choi S H, Lee J K, Kang Y C. *Nano Res.*, **2015**, 8(5): 1584–1594
- 29 Li Y, Chen J, Huang L, Li C, Hong J D, Shi G. *Adv. Mater.*, **2014**, 26(28): 4789–4793
- 30 Li J, Zhao S, Zhang G, Gao Y, Deng L, Sun R, Wong C P. *J. Mater. Chem. A*, **2015**, 3(30): 15482–15488
- 31 Gao H, Duan H. *Biosens. Bioelectron.*, **2015**, 65: 404–419
- 32 Zhang J, Zheng J. *J. Iran. Chem. Soc.*, **2018**, 15(8): 1889–1897
- 33 Lu S Y, Chen Y, Fang X, Feng X. *Electroanalysis*, **2018**, 30(3): 583–592
- 34 Komkova M A, Karyakina E E, Karyakin A A. *J. Am. Chem. Soc.*, **2018**, 140(36): 11302–11307
- 35 Dos Santos P L, Katic V, Toledo K C F, Bonacin J A. *Sens. Actuators B*, **2018**, 255: 2437–2447
- 36 Zhang Y, Fugane K, Mori T, Niu L, Ye J. *J. Mater. Chem.*, **2012**, 22(14): 6575–6580
- 37 Wang H, Maiyalagan T, Wang X. *ACS Catal.*, **2012**, 2(5): 781–794
- 38 Lin Z, Waller G, Liu Y, Liu M, Wong C P. *Adv. Energy Mater.*, **2012**, 2(7): 884–888
- 39 You B, Jiang J, Fan S. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2014**, 6(17): 15302–15308
- 40 Karyakin A A, Karyakina E E, Gorton L. *Talanta*, **1996**, 43(9): 1597–1606

- 41 Zhang X, Liu D, Yang L, Zhou L, You T. *J. Mater. Chem. A*, **2015**, 3(18): 10031–10037
- 42 Meng Y, Zhao Y, Hu C, Cheng H, Hu Y, Zhang Z, Shi G, Qu L. *Adv. Mater.*, **2013**, 25(16): 2326–2331
- 43 Luo H, Yang Y, Zhao X, Zhang J, Chen Y. *Electrochim. Acta*, **2015**, 169: 13–21
- 44 Li Y, Zhang L, Hu Z, Yu J C. *Nanoscale*, **2015**, 7(25): 10896–10902
- 45 Li Y, Li Z, Shen P K. *Adv. Mater.*, **2013**, 25(17): 2474–2480
- 46 Fan Y, Ma W, Han D, Gan S, Dong X, Niu L. *Adv. Mater.*, **2015**, 27(25): 3767–3773
- 47 Yang D, Velamakanni A, Bozoklu G, Park S, Stoller M, Piner R D, Stankovich S, Jung I, Field D A, Ventrice C A, Ruoff R S. *Carbon*, **2009**, 47(1): 145–152
- 48 Kudin K N, Ozbas B, Schniepp H C, Prud'homme R K, Aksay I A, Car R. *Nano Lett.*, **2008**, 8(1): 36–41
- 49 Nossol E, Zarbin A J G. *Adv. Funct. Mater.*, **2009**, 19(24): 3980–3986
- 50 Yang L, Liu D, Huang J, You T. *Sens. Actuators B*, **2014**, 193: 166–172
- 51 Yan J, Liu S, Zhang Z, He G, Zhou P, Liang H, Tian L, Zhou X, Jiang H. *Colloid Surface B*, **2013**, 111: 392–397
- 52 Xu T Q, Zhang Q L, Zheng J N, Lv Z Y, Wei J, Wang A J, Feng J J. *Electrochim. Acta*, **2014**, 115: 109–115
- 53 Wang L, Bai J Y, Huang P F, Wang H J, Wu X W, Zhao Y Q. *Microchim. Acta*, **2006**, 158(1-2): 73–78
- 54 Du J, Yue R, Yao Z, Jiang F, Du Y, Yang P, Wang C. *Colloid Surface A*, **2013**, 419: 94–99

## Three-Dimensional Graphene/Prussian Blue-based Electrochemical Enzyme Sensor for Sensitive Determination of Uric Acid

LI Peng-Wei, ZHANG Yao, LI Qing-Lian, GAO Pan, JIA Neng-Qin \*

(The Education Ministry Key Laboratory of Resource Chemistry, Shanghai Key Laboratory of Rare Earth Functional Materials, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China)

**Abstract** A three-dimensional reduced graphene oxide (3D GR)-Prussian blue (PB)-based electrochemical enzyme sensor was constructed for sensitive detection of uric acid. The graphene oxide was thermally reduced by one-step hydrothermal method, and then 3D GR was formed by self-assembly. PB was electrodeposited onto 3D GR to synthesize 3D GR-PB composite. Due to its large specific surface area and porous nature, 3D GR provided more active sites for the reaction. Electrochemical tests showed that the enzyme sensor based on 3D GR-PB had a wide linear range ( $3.75 \times 10^{-9} - 3.75 \times 10^{-4}$  mol/L) and a low detection limit ( $4.21 \times 10^{-10}$  mol/L). Because of the high specificity of uricase to catalyze uric acid, this sensor had high selectivity and provided a feasible solution for sensitive detection of uric acid.

**Keywords** Three-dimensional reduced graphene oxide; Prussian blue; Uric acid; Electrochemical enzyme sensor

(Received 30 April 2019; accepted 10 July 2019)

This work was supported by the Shanghai Science and Technology Committee (Nos. 17070503000, 18dz2308700) and the Shanghai Engineering Research Center of Green Energy.