

Planar Electrodes, Modified with Gold and Carbon Nanomaterials, as Sensitive Elements of H₂O₂ Voltammetric Sensors

A.V. Huseinov[†], D.M. Korytko[†], S.A. Alekseev^{*†}, O.Y. Tananaiko^{**†}

[†]Chemistry department, Taras Shevchenko National University of Kyiv, Volodymyrska Street, 64, 01601 Kyiv, Ukraine; *e-mail: alekseev@univ.kiev.ua; **e-mail: nadzhafova@univ.kiev.ua;

Received: August 06, 2016; Accepted: October 18, 2016

DOI: 10.17721/moca.2016.82-93

Sensitive element of hydrogen peroxide amperometric sensor based on planar carbon electrodes (PCE), modified with gold particles and composite film silica-carbon nanomaterials has been developed. The combination of gold particles and composite film SiO₂-multi-wall carbon nanotubes (MWCNTs) as a PCE modifiers allows to detect H₂O₂ by its oxidation current in the concentration range of 10⁻⁵-10⁻³ M with the detection limit of 7.0·10⁻⁶ M, which is one order lower than for PCE. A tenfold excess of ascorbic acid and other strong reductants interfere H₂O₂ determination. Using of PCE, modified with SiO₂-CFO film, where CFO—nanoparticles of carbon fluorooxide allows to detect hydrogen peroxide by its reduction current, that significantly improves a selectivity. The highest sensitivity and linear range of calibration graph for H₂O₂ determination were obtained for PCE-SiO₂-CFO.

Keywords: planar electrodes, silicon oxide, sol-gel, voltammetry, carbon nanoparticles, gold particles

Планарные электроды, модифицированные золотом и углеродными наноматериалами, как чувствительные элементы вольтамперометрических сенсоров на H₂O₂

А.В. Гусейнов[†], Д.М. Корытко[†], С.А. Алексеев^{*†}, О.Ю. Тананайко^{**†}

[†]Химический факультет, Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, ул. Владимирская, 64, 01601 Киев, Украина, *e-mail: alekseev@univ.kiev.ua; **e-mail: nadzhafova@univ.kiev.ua;

Поступила: 06 августа 2016 г; Принята: 18 октября 2016 г

DOI: 10.17721/moca.2016.82-93

Разработаны чувствительные элементы амперометрического сенсора на перекись водорода на основе планарных угольных электродов (ПУЭ), модифицированных частицами золота и композитной пленкой оксид кремния – углеродные наноматериалы. Сочетание золотых частиц и композитной пленки SiO₂-многостенные углеродные нанотрубки (МУНТ) в качестве модификаторов ПУЭ позволяет детектировать H₂O₂ по току его окисления в диапазоне концентраций 0.01-1.0 мМ и пределом обнаружения 7.0·10⁻³ мМ, что на порядок ниже, чем на ПУЭ. Определению мешает 10-кратный избыток аскорбиновой кислоты и другие сильные восстановители. Использование ПУЭ, модифицированных пленкой SiO₂-CFO, где CFO - наночастицы углерод-фторооксида, позволяет детектировать H₂O₂ по току восстановления, что значительно улучшает избирательность определения. Наибольшие чувствительность и диапазон линейности градуировочного графика для определения H₂O₂ получены на ПУЭ-SiO₂-CFO.

Ключевые слова: планарные электроды, оксид кремния, золь-гель, вольтамперометрия, наночастицы углерода, частицы золота

Перекись водорода является важным соединением, требующим контроля при анализе пищевых продуктов, объектов окружающей среды, фармацевтических препаратов; также она образуется при окислении ряда органических субстратов, катализируемом ферментами класса оксидо-редуктаз [1,2]. В биохимических сенсорах для анализа органических субстратов в многокомпонентных объектах органической природы определение перекиси является одной из важных индикаторных реакций [1-3]. Разработка

простых, экспрессных и надежных методов контроля содержания H₂O₂ является важной аналитической задачей.

Наибольшую популярность при разработке ферментативных биосенсоров приобрели электрохимические, а именно вольтамперометрические, методы определения перекиси водорода [1,3-5]. Это объясняется их высокой чувствительностью, селективностью, простотой и экспрессностью. Благодаря развитию нанотехнологий и наноматериалов в последнее

время появилась возможность миниатюризовать амперометрические биосенсоры, что позволяет ускорить и упростить пробоподготовку и анализировать малый объем пробы, вплоть до 1-10 мкл [6, 7]. Широкое использование в анализе планарных электродов, полученных методом трафаретной печати на целлюлозной подложке, позволяет значительно снизить стоимость анализа и получать одноразовые тест системы [7, 8].

В то же время, вольтамперометрическое детектирование перекиси на немодифицированных углеродных и металлических электродах сопряжено с существенными трудностями, связанными, прежде всего, с необратимостью электрохимической реакции, высоким потенциалом и низкой величиной тока окисления H_2O_2 [1,3-4]. Это приводит к мешающему влиянию большинства сильных восстановителей, а также процесса разложения воды при определении перекиси водорода.

Одним из возможных путей решения этой проблемы является модификация поверхности электродов электрохимическими медиаторами [3-5]. Однако, несмотря на более высокую селективность и чувствительность подобных систем, им присущи ряд недостатков, которые ограничивают их широкое использование в аналитической химии. В первую очередь, это вымывание модификаторов с поверхности электрода, которое ухудшает метрологические характеристики методик и срок эксплуатации электродов [4,6-8]. В связи с этим, усилия исследователей направлены на поиски подходящих способов иммобилизации модификаторов, которые могли бы обеспечивать, во-первых, увеличение стабильности, воспроизводимости и избирательности аналитического сигнала, и, во-вторых, делали бы возможным многократное использование чувствительных элементов биосенсоров. Одним из таких способов иммобилизации является низкотемпературная золь-гель технология, позволяющая получать разнообразные по своим химическим и физическим свойствам материалы на основе оксида кремния [9,10]. Разработанный ранее метод с использованием электрогенерированного катализатора позволяет в мягких синтетических условиях получать на поверхности электродов композитные пленки с капсулированными в матрице оксида кремния наноматериалами и биомолекулами с заданными структурными характеристиками [11,12]. В последнее время метод был успешно применен для иммобилизации на планарных печатных золотых электродах биокомпозитной пленки на основе оксида кремния и холиноксидазы. Модифицированный подобным образом электрод был применен в качестве амперометрического биосенсора для определения холина в пищевых продуктах [13].

Известно, что наноразмерные частицы золота являются эффективными катализаторами электрохимических процессов, в том числе окисления-восстановления кислорода и перекиси [14-16]. При малых размерах частиц большинство атомов Au доступны для субстрата, что обуславливает значительное увеличение их активности. Описано существенное повышение электрокаталитической активности частиц Au диаметром ≤ 10 нм в реакции восстановления кислорода по сравнению с макроразмерными частицами [17, 18]. Уникальные каталитические свойства золотых частиц по отношению к водородосодержащим субстратам, а также к реакциям восстановления кислорода, дали толчок к применению их в амперометрических сенсорах [18].

Углеродные наноматериалы, в частности нанотрубки (УНТ) и окисленный графен, также широко используются при изготовлении электрохимических сенсоров [6, 19-21]. Имея небольшой размер и значительное соотношение длины к диаметру, нанотрубки обладают большой площадью поверхности, что позволяет с успехом применять их для улучшения аналитических характеристик электрохимических сенсоров [6, 21]. Сравнительно недавно значительный интерес начало привлекать модифицирование УНТ другими наноматериалами, с целью улучшения стабильности, избирательности, а также интенсивности аналитического сигнала. Описано успешное сочетание металлических наночастиц, в частности Au, и УНТ [18,22-23]. Полученные композитные материалы способствуют ускорению процесса переноса электронов от субстрата к электроду и позволяют разрабатывать безмедиаторные ферментативные биосенсоры, характеризующиеся высокой чувствительностью к субстрату. Описан высокочувствительный биосенсор на H_2O_2 на основе гемоглобина, иммобилизованного в наногибридной пленке УНТ и Au на поверхности стеклоуглеродного электрода [24]. Кроме того, имеются данные о перспективе применения гибридных материалов на основе УНТ и наночастиц Pt для разработки неферментативного сенсора на глюкозу [25]. Проблемой упомянутых ферментативных биосенсоров, в которых в качестве аналитического сигнала используется ток окисления H_2O_2 , является мешающее влияние органических восстановителей (например, аскорбиновой кислоты), которые могут присутствовать в исследуемых объектах. Эти восстановители окисляются при том же потенциале, что и H_2O_2 . Обычно, мешающее влияние восстановителей устраняют путем дополнительного модифицирования поверхности электродов защитными мембранами, электрохимическими медиаторами или соответствующей пробоподготовкой.

Электроды, модифицированные оксидом

графена, а также квантовыми точками на основе оксида графена, характеризуются высоким сродством к кислороду и являются перспективными катализаторами электрохимического восстановления кислорода без использования благородных металлов. [6, 19, 20, 26]. Электрохимические свойства таких электродов принципиально отличаются от электродов, модифицированных сажей или углеродными нанотрубками (УНТ). На основе электродов, модифицированных оксидом графена и квантовыми точками оксида графена, получены новые высокочувствительные и селективные амперометрические сенсоры для определения нейромедиаторов и оксикислот в живых организмах "in-vivo" [6]. Материалы на основе оксида графена также перспективны для разработки селективных сенсоров на H_2O_2 [6, 26]. В то же время, описанные сенсоры характеризуются сложностью и многостадийностью процесса модификации поверхности электрода, а также малой продолжительностью работы сенсорного элемента. Поэтому разработка простых, доступных и воспроизводимых методик модифицирования электродов углеродными наноматериалами или их комбинацией с частицами золота является актуальной задачей для получения чувствительных элементов амперометрических биосенсоров.

Не так давно нами были получены и охарактеризованы наночастицы так называемого фтороксида углерода (carbon fluorooxide, CFO) [27]. В структуре этих наночастиц небольшие ароматические домены соединены полифторированными фрагментами sp^3 -гибридизованных углеродных мостиков. Среди кислород - содержащих функциональных групп CFO значительную долю составляют карбоксильные (как в свободном, так и эстерифицированном этанолом состоянии). Несмотря на то, что структура полученных частиц и оксида графена существенно отличается, оба эти наноматериала содержат углерод в «промежуточной степени окисления», потому их электрохимические свойства также могут оказаться сходными. Это указывает на перспективность исследования электрохимических свойств CFO и его дальнейшего использования при разработке амперометрических биосенсоров. Дополнительным преимуществом CFO по сравнению с оксидом графена является хорошая растворимость CFO в полярных органических растворителях и щелочных водных растворах.

Целью данной работы являлась разработка чувствительных элементов амперометрических сенсоров на основе планарных угольных электродов, модифицированных частицами золота и пленкой оксида кремния с иммобилизованными многослойными углеродными нанотрубками, а также пленкой оксида кремния с наночастицами

фтороксида углерода, и применение полученных электродов для определения перекиси водорода.

Экспериментальная часть

Материалы и методики исследований

В работе применялись тетраэтоксисилан (ТЭОС) фирмы «Fluka»; цетилтриметиламмоний бромид (ЦТАБ) фирмы «Merck»; аминокпропилтриэтоксисилан (АПТЭС) и многослойные углеродные нанотрубки (МУНТ) фирмы Sigma-Aldrich; соляная кислота; перекись водорода (50 %); спирт этиловый 96 %. Раствор 10 мМ $HAuCl_4$ и фосфатные буферные растворы, содержащие $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ и KH_2PO_4 , готовили с использованием бидистиллированной воды.

Наночастицы фтороксида углерода (CFO) были получены в ходе электрохимического травления (анодирования) пластины поликристаллического карбида кремния политипа 3С с удельным сопротивлением 0.7 мОм·см (n-тип). Травление проводили при плотности тока 23 мА/см² в электролите 48 % раствор HF : этанол (1:1, об./об.), методика травления детально описана в работе [27]. Для этой цели использовали 100 % этанол. Полученный растворимый в спирте порошок наночастиц CFO содержит около 9-10 % нерастворимого остатка микрочастиц пористого SiC, поэтому этанольный раствор навески вещества (с соответствующей поправкой на содержание целевого компонента) дополнительно центрифугировали при 14000 об/мин в течение 10 минут и для дальнейшей работы использовали центрифугат. Согласно данным работы [27], такой раствор содержит частицы CFO, имеющие размеры около 5 нм по данным метода динамического светорассеяния, а при его нанесении на плоскую поверхность слюды методом атомной силовой микроскопии можно наблюдать дисковидные частицы толщиной 0.4–3 и радиусом 2–15 нм.

Планарные угольные или золотые электроды (ПУЭ, ПЗЭ), фирмы «BVT Technologies» (Чехия) представляли собой трехэлектродную ячейку и состояли из нанесенных на целлюлозную подложку угольной или золотой пленки диаметром 2 мм в качестве рабочего электрода, угольной пленки вспомогательного электрода, а также пленки Ag/AgCl, выполняющей роль электрода сравнения. Электроды перед использованием выдерживали в фосфатном буфере (pH=7.0) в течение 10 минут.

Все электрохимические измерения проводились на потенциостате EmStat 2 "PalmSens" (Голландия) с использованием трехэлектродной ячейки на основе планарных печатных электродов (ПУЭ или ПЗЭ).

Для исследования морфологии поверхности покрытий использовали стеклоглеродные планарные электроды, модифицированные соответствующими частицами и пленкой SiO_2 . Измерения проводились с помощью сканирующего

электронного микроскопа ультравысокого разрешения Tescan MIRA 3 (США) при ускоряющем напряжении 10 кВ.

Осаждение золотых частиц на поверхности ПУЭ проводили из 6 мМ раствора HAuCl_4 при потенциале -0.7 В в течение 30 с. Получали электрод, модифицированный золотыми частицами (ПУЭ-Au). Углеродные наноматериалы закрепляли на поверхности ПУЭ в пленке оксида кремния, полученной методом золь-гель синтеза согласно процедуре, описанной в [12,13]. В качестве прекурсора использовали тетраэтилортосиликат (ТЭОС).

Модифицирование ПУЭ с помощью МУНТ. Суспензия МУНТ была получена путем ультразвукового диспергирования 5 мг МУНТ в 200 мкл 1 мМ раствора ЦТАБ в течении 15 мин.

Для получения пленки SiO_2 -МУНТ на поверхности ПУЭ 14 мкл суспензии МУНТ смешивали с 70 мкл золя оксида кремния, полученного как описано в [13], далее 50 мкл полученной смеси наносили на поверхность планарного электрода (ПУЭ). Композитную пленку SiO_2 -МУНТ получали на поверхности электродов методом электрохимического генерирования катализатора [13]. Для этого на рабочий электрод, прикладывали потенциал -1.7 В на протяжении 7 секунд. На поверхности рабочего электрода образовывалась пленка SiO_2 -МУНТ. Остатки золя с поверхности электрода смывали водой. Таким образом, получали электрод, модифицированный золотыми частицами и композитной пленкой SiO_2 -МУНТ (ПУЭ-Au- SiO_2 -МУНТ). Схема модифицирования электрода представлена на рис. 1.

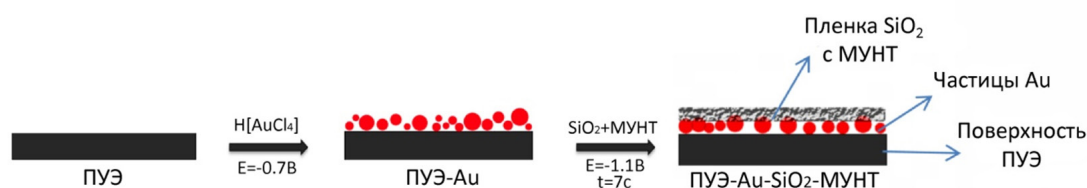


Рис. 1. Схема модификации ПУЭ.

Модифицирование ПУЭ наночастицами фтороксида углерода (CFO). Согласно представленной в работе [27] модели, наночастицы CFO состоят из ароматических/полифторированных ядер и боковых алкильных цепочек, несущих карбоксильные группы. Поэтому для закрепления CFO в пленке SiO_2 в золь кроме ТЭОС добавляли еще 8% (об.) аминопропилтриэтоксисилана (АПТЭС): аминогруппы АПТЭС будут образовывать соль с карбоксильными группами CFO, обеспечивая тем самым прочное электростатическое связывание модификатора. Для получения композитной пленки SiO_2 -CFO на поверхности ПУЭ 100 мкл полученного золя смешивали с 25 мкл 10%-го (100 мг/мл) раствора наночастиц фтороксида углерода в этаноле. Далее 50 мкл полученной смеси наносили пипеткой на поверхность электрода и проводили осаждение пленки методом электрогенерированного катализатора при условиях, аналогичных описанным выше для SiO_2 -МУНТ. Полученный таким образом электрод был модифицирован пленкой SiO_2 -CFO (ПУЭ- SiO_2 -CFO).

Результаты и их обсуждение

Для исследования электрохимических характеристик полученных электродов был использован метод циклической вольтамперометрии. Циклические вольтамперограммы (ЦВ) были получены в диапазоне потенциалов от -0.7 до $+1.0$ В в 10 мМ фосфатном буферном

растворе (рН 6.0). На рис.2 представлена ЦВ фонового раствора буфера и 1 мМ H_2O_2 на немодифицированном электроде. Процесс окисления-восстановления перекиси на ПУЭ является необратимым. В исследуемом диапазоне потенциалов ток восстановления перекиси наблюдается при $E = -0.55$ В. Небольшой пик восстановления при $E = -0.4$ В наблюдался на всех ПУЭ в фоновом растворе и может относиться к восстановлению примесей материала печатного электрода. Ток окисления H_2O_2 не имеет четко выраженного максимума, наибольший ток соответствует потенциалу $+1.0$ В. Аналогичные вольтамперограммы были получены на ПУЭ- SiO_2 и ПУЭ- SiO_2 -МУНТ электродах (не приведены).

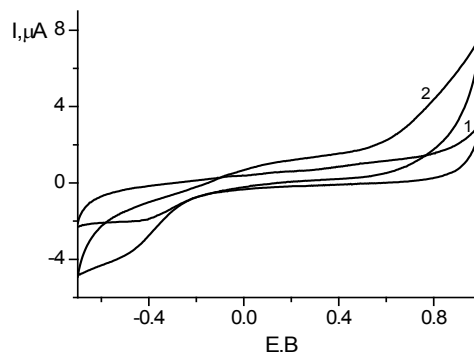


Рис. 2. Циклические вольтамперограммы 10 мМ фосфатного буфера (рН 6.0) (1) и 1 мМ H_2O_2 (2) на ПУЭ. Скорость развертки потенциала 100 мВ/с.

Можно сделать вывод, что пленка SiO_2 не препятствует диффузии молекул аналита к поверхности электрода. На электроде ПУЭ- SiO_2 -МУНТ ток окисления несколько выше, чем на ПУЭ. Это свидетельствует об увеличении электроактивной площади поверхности модифицированного ПУЭ, однако, каталитический эффект иммобилизованных МУНТ на электроде не проявляется.

Вольтамперограмма тока окисления перекиси водорода на ПУЭ-Au имеет четко выраженный максимум (рис.3), потенциал которого сдвинут в более отрицательную область на 0.4 В, по сравнению с немодифицированным электродом.

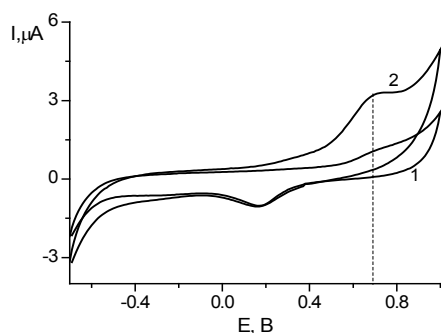


Рис. 3. Циклические вольтамперограммы 10 мМ фосфатного буфера (рН 6.0) (1) и 1 мМ H_2O_2 (2) на ПУЭ-Au. Скорость развертки потенциала 100 мВ/с. Потенциал электроосаждения Au $E = -0.7$ В время 30 с, скорость развертки потенциала 100 мВ/с.

Полученные результаты были сравнены с вольтамперограммой H_2O_2 на печатном золотом электроде (ПЗЭ). Потенциал окисления перекиси на ПЗЭ совпадает с потенциалом на ПУЭ-Au (рис. 4), это свидетельствует, что иммобилизованные на поверхности ПУЭ частицы золота являются

электроактивными.

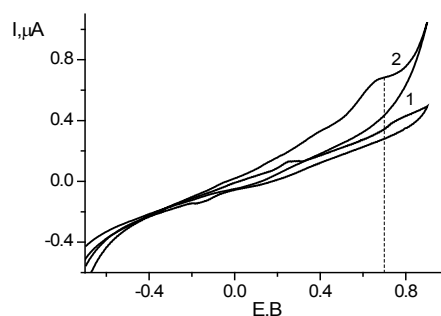
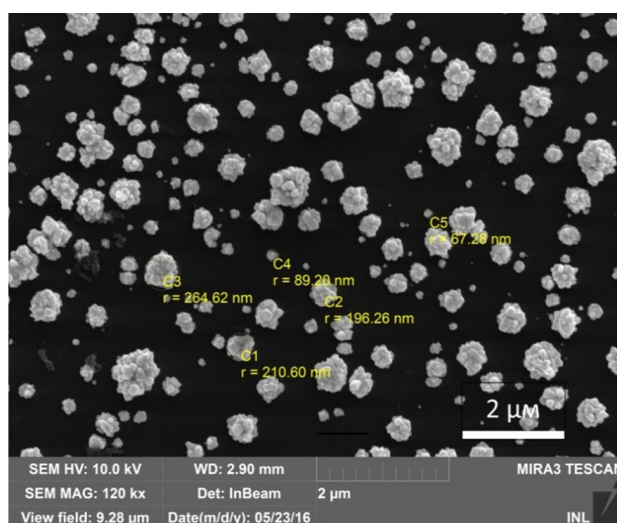


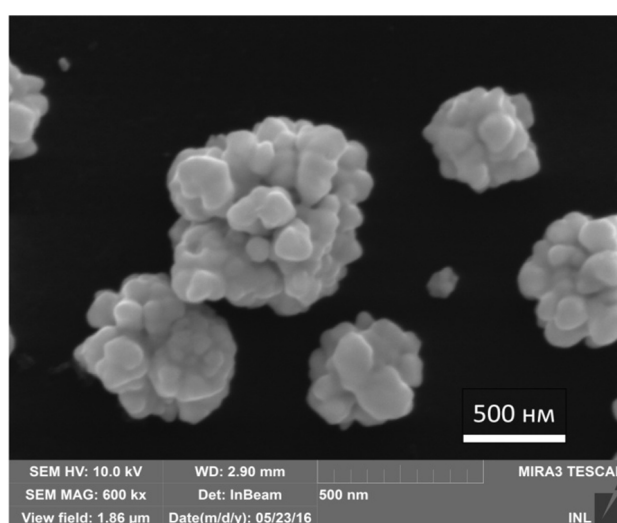
Рис. 4. Циклические вольтамперограммы 10 мМ фосфатного буфера (рН 6.0) (1) и 1 мМ H_2O_2 (2) на ПЗЭ. Скорость развертки потенциала 100 мВ/с.

Пики окисления и восстановления при +0.6 и +0.2 В соответственно, которые наблюдаются на ПУЭ-Au в фосфатном буфере (рис.3 кривая 1) соответствуют окислительно-восстановительным процессам, происходящим на кластерах золотых частиц [28,29]. Стоит отметить, что на ПЗЭ эти пики выражены очень слабо (рис.4). Это свидетельствует о большей каталитической активности частиц Au на ПУЭ-Au по сравнению с пленкой золота на ПЗЭ. Сила тока окисления перекиси водорода на ПУЭ-Au значительно выше, чем на ПЗЭ, что можно объяснить увеличением электроактивной площади поверхности ПУЭ-Au по сравнению с пленкой золота на ПЗЭ.

Изображения поверхности угольного электрода до и после модифицирования золотыми частицами, полученные методом сканирующей электронной микроскопии, приведены на рис. 5. Частицы золота распределены равномерно в виде кластеров на поверхности ПУЭ. Средний диаметр кластера составляет (170 ± 80) нм.



а



б

Рис. 5. СЭМ изображения поверхности угольного электрода, модифицированного частицами золота, полученными методом электрохимического восстановления из раствора HAuCl_4 , потенциал восстановления -0.7 В, время 30 с. Масштаб изображения 2 мкм (а) и 500 нм (б).

Влияние потенциала осаждения золота на электрохимические свойства электрода ПУЭ-Au. Размер и распределение частиц на поверхности электрода, которые могут оказывать существенное влияние на электрохимические характеристики модифицированного электрода, должны в значительной мере зависеть от потенциала осаждения золота на ПУЭ. Поэтому нами была исследована зависимость потенциала тока окисления перекиси водорода от потенциала осаждения золота (рис. 6).

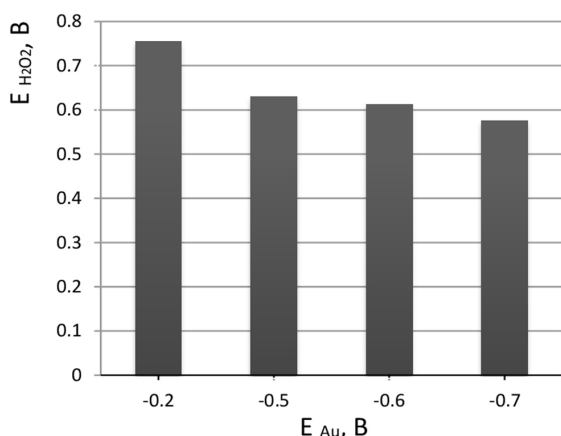


Рис. 6. Зависимость потенциала окисления H_2O_2 от потенциала осаждения золота на ПУЭ. Фон: фосфатный буфер pH 6.0, время осаждения золота 30 с.

Как видно из рис. 6, уменьшение потенциала осаждения золота приводит к смещению потенциал окисления перекиси водорода в более отрицательную область. Это можно объяснить более легким и быстрым восстановлением золота при высоких отрицательных потенциалах, что приводит к росту количества электроактивных частиц на поверхности ПУЭ и их большей

электрокаталитической активности.

При уменьшении потенциала восстановления золота ниже $-0.7 V$ значение потенциала окисления перекиси не изменяется, а ток окисления несколько уменьшается. Очевидно, это связано со значительным укрупнением частиц на поверхности и образованием пленки золота, что приводит к уменьшению общей площади поверхности электрода. Увеличение времени восстановления золота влияет на ток окисления перекиси водорода аналогично тому, как влияет понижение потенциала восстановления. Оптимальные параметры восстановления золота на электроде (т.е. такие, при которых потенциал окисления H_2O_2 – наименьший, а ток – наибольший): время осаждения $t = 30$ с при потенциале $E = -0.7 V$. Эти условия осаждения золота использовались при получении электродов в дальнейшей работе; им соответствует образование равномерно распределенных на поверхности ПУЭ кластеров частиц золота (рис. 5).

Сравнение исследованных в данной работе электродов разных типов можно провести на основании полученных для них параметров градуировочных зависимостей силы тока от концентрации перекиси водорода (табл. 1).

Как видно из данных таблицы, электрод, модифицированный Au (ПУЭ-Au), характеризуется меньшим пределом обнаружения по сравнению с планарным золотым электродом и меньшим потенциалом детектирования по сравнению с угольным электродом. Это позволяет разработать на основе ПУЭ-Au более чувствительную и селективную методику определения перекиси водорода. Недостатком полученного электрода является худшая воспроизводимость результатов измерений. Это может быть связано с частичным вымыванием частиц Au с поверхности ПУЭ-Au в ходе использования электрода.

Таблица 1. Параметры градуировочных зависимостей для определения H_2O_2 с использованием разных типов планарных электродов.

Электрод	коэф. $a \pm \Delta a$	коэф. $b \pm \Delta b$	Линейный диапазон, мМ	ПО*, мМ	R^2	E, В	$S_r^{**}, \%$
ПУЭ	4.8 ± 0.1	5.0 ± 0.5	$5.0 \cdot 10^{-1} - 5.0$	$8.0 \cdot 10^{-2}$	0.970	1.0	1.4
ПЗЭ	0.19 ± 0.03	0.50 ± 0.04	$5.0 \cdot 10^{-1} - 5.0$	$1.8 \cdot 10^{-1}$	0.976	0.6	1.9
ПУЭ-Au	1.5 ± 0.1	5.1 ± 0.5	$1.0 \cdot 10^{-1} - 1.0$	$7.0 \cdot 10^{-2}$	0.966	0.6	4.6

*ПО – предел обнаружения (3s-критерий); ** S_r – относительное стандартное отклонение при определении 0.8 мМ H_2O_2 с помощью исследуемых электродов ($n=3$; $P=0.95$) [30].

Для улучшения воспроизводимости и повышения чувствительности определения перекиси ПУЭ-Au был модифицирован композитной пленкой на основе SiO_2 -МУНТ. Циклические

вольтамперограммы ПУЭ-Au- SiO_2 -МУНТ в фосфатном буфере и в растворе перекиси водорода приведены на рис. 7. Фоновый ток на ПУЭ-Au- SiO_2 -МУНТ гораздо больше по сравнению

с немодифицированным ПУЭ и ПУЭ-Au. Потенциал тока окисления перекиси на ПУЭ-Au-SiO₂-МУНТ не изменяется, однако величина тока значительно возрастает. Этот факт свидетельствует о существенном увеличении площади активной поверхности электрода за счет МУНТ [24].

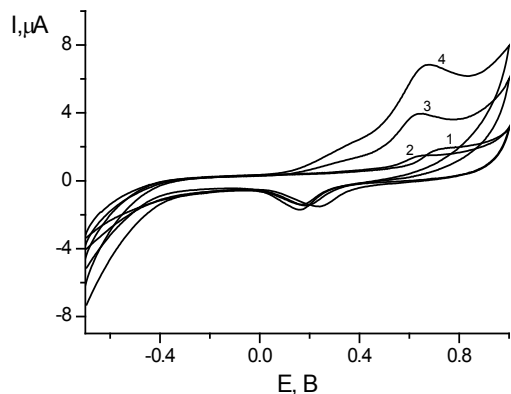


Рис. 7. Циклические вольтамперограммы фонового раствора (1) и H₂O₂ различной концентрации, мМ: 1.0·10⁻² (2), 5.0·10⁻¹ (3), 1.0 (4) на ПУЭ-Au-SiO₂-МУНТ. Фоновый раствор: 10 мМ фосфатный буфер (рН 6.0); скорость развертки потенциала 100 мВ/с.

Следующим этапом было изучение электрокаталитических характеристик CFO. Для этого ПУЭ модифицировали композитной пленкой SiO₂-CFO. Циклические вольтамперограммы фонового раствора и H₂O₂ на таком электроде приведены на рис. 8.

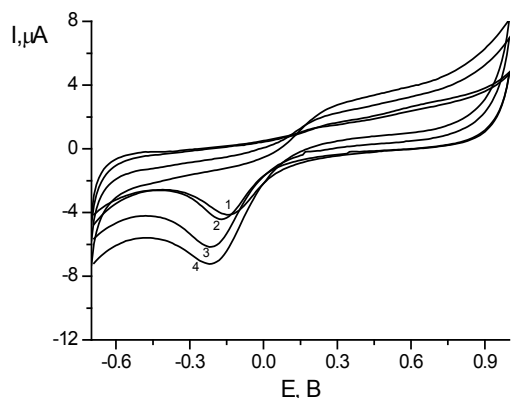


Рис. 8. Циклические вольтамперограммы фонового раствора (1) и H₂O₂ различной концентрации, мМ: 1.0·10⁻³ (2), 5.0·10⁻¹ (3), 1.0 (4) на ПУЭ-SiO₂-CFO. Фоновый раствор 10 мМ фосфатный буфер (рН 6.0); скорость развертки потенциала 100 мВ/с.

На вольтамперограмме фонового раствора на ПУЭ-SiO₂-CFO проявляется ток восстановления при E=-0.2 В, который заметно увеличивается в присутствии перекиси водорода в растворе. На

анодной части вольтамперограммы в присутствии перекиси появляется ток окисления при потенциале +0.25 В.

Катодный ток, наблюдаемый на ПУЭ-SiO₂-CFO в фоновом растворе электролита, можно отнести к току восстановления растворенного кислорода, что было описано ранее для графитового электрода, модифицированного окисленными частицами графена [6,20]. Потенциал восстановления кислорода на ПУЭ-SiO₂-CFO совпадает с потенциалом восстановления перекиси. Поэтому ток восстановления возрастает на электроде при добавлении в раствор H₂O₂. Потенциал окисления перекиси водорода сдвигается в область меньших потенциалов по сравнению с ПУЭ-Au на 0.4 В, однако сила тока окисления ниже, чем на ПУЭ-Au-SiO₂-МУНТ. Это, очевидно, связано с меньшей площадью электроактивной поверхности ПУЭ-SiO₂-CFO. Следует отметить, что на ПУЭ-SiO₂-CFO ток восстановления H₂O₂ прослеживается значительно четче, в отличие от других изученных электродов. Разность потенциалов токов восстановления и окисления на ПУЭ-SiO₂-CFO составляет E=0.45 В. Можно сделать вывод, что введенные в состав электрода частицы CFO проявляют электрокаталитическую активность по отношению к кислороду и перекиси водорода, аналогично оксиду графена [6, 20, 26]. Оптимальное содержание CFO в золе SiO₂ составляет 2% (мас.). При таком содержании частиц ток окисления-восстановления H₂O₂ наибольший. При увеличении количества CFO в золе ток восстановления уменьшается, что может быть связано с агрегацией частиц CFO в золе и с уменьшением проницаемости покрытия.

Полученные методом СЭМ изображения поверхности электродов, модифицированных композитными пленками на основе SiO₂ и углеродных наноматериалов, приведены на рис. 9. Для электрода ПУЭ-Au-SiO₂-МУНТ пленка SiO₂ равномерно покрывает поверхность угольных электродов и частиц золота, обеспечивая удерживание последних на поверхности (рис. 9 а,б). Углеродные нанотрубки контактируют с золотыми частицами и с поверхностью электрода.

На поверхности электрода ПУЭ-SiO₂-CFO наблюдается покрытие, состоящее из кластеров неправильной формы и среднего радиуса (3.0±0.5) мкм (рис. 9 в,г). Кластеры распределены по поверхности достаточно равномерно.

Для проверки аналитических характеристик исследуемых электродов в качестве аналитического сигнала были выбраны ток окисления H₂O₂ - для ПУЭ-Au-SiO₂-МУНТ и ток восстановления - для ПУЭ-SiO₂-CFO. В таблице 2 приведены параметры градуировочных зависимостей силы тока от концентрации перекиси водорода.

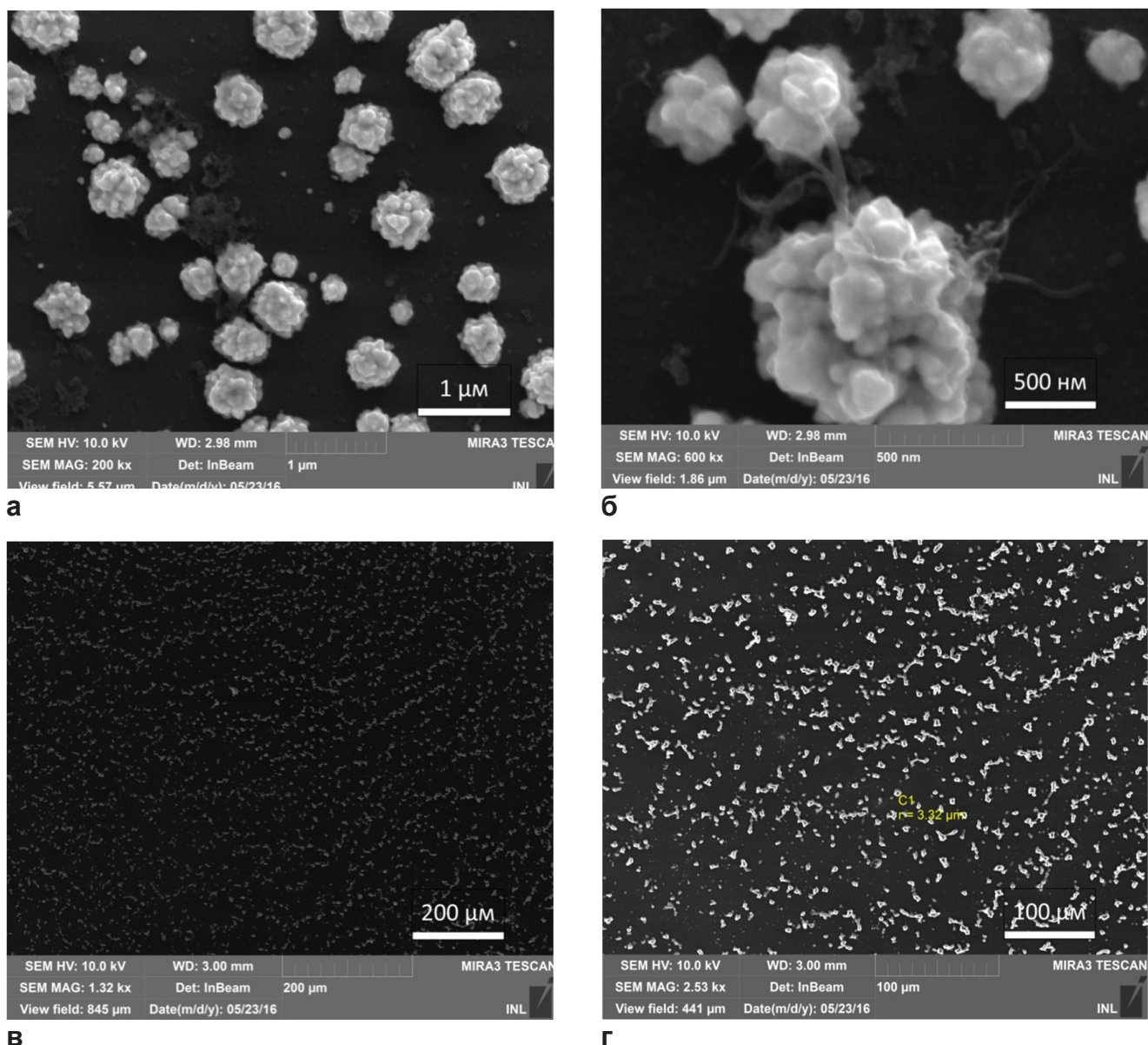


Рис. 9. СЭМ изображения: (а,б) поверхности угольного электрода, модифицированного частицами золота и композитной пленкой SiO₂-МУНТ, масштаб изображения 1 мкм (а), 500 нм (б); (в,г) угольного электрода, модифицированного композитной пленкой SiO₂-CFO, масштаб изображения 200 мкм (в), 100 мкм (г).

Таблица 2. Параметры градуировочных зависимостей для определения H₂O₂ с использованием ПУЭ, модифицированных композитными пленками SiO₂-углеродные материалы.

Электрод	коэф. a±Δa	коэф. b±Δb	Линейный диапазон, мМ	ПО*, мМ	R ²	E, В	S _r ** , %
ПУЭ-Au-SiO ₂ -МУНТ	1.43±0.06	26.10±0.12	1.0·10 ⁻² - 1.0	7.0·10 ⁻³	0.998	0.6	0.75
ПУЭ-SiO ₂ -CFO	4.59±0.01	33.33±0.08	5.0·10 ⁻³ - 5.0	1.0·10 ⁻³	0.995	-0.2	1.8

*ПО – предел обнаружения (3s-критерий); **S_r – относительное стандартное отклонение при определении 0.5 мМ H₂O₂ с помощью исследуемых электродов (n=5; P=0.95).

Сравнение результатов, приведенных в таблицах 1 и 2, свидетельствует о том, что использование ПУЭ-Au-SiO₂-МУНТ позволяет на порядок расширить диапазон линейности

градуировочного графика и снизить предел обнаружения аналита по сравнению с ПУЭ-Au. Кроме того, электрод, модифицированный композитной пленкой ПУЭ-Au-SiO₂-МУНТ,

характеризуется лучшей воспроизводимостью результатов измерений. Сочетание золотых частиц и композитной пленки SiO₂-МУНТ для модифицирования ПУЭ позволило существенно улучшить метрологические характеристики вольтамперометрической методики определения H₂O₂.

Наибольшая чувствительность и диапазон линейности градуировочного графика получены на электроде, модифицированном пленкой SiO₂-CFO. Это может быть объяснено использованием в качестве аналитического сигнала каталитического тока восстановления аналита на ПУЭ-SiO₂-CFO, в отличие от других исследуемых электродов, а также высокой электрокаталитической активностью частиц CFO по отношению к кислород-содержащим субстратам. Величины относительного стандартного отклонения при определении 0.5 мМ стандартного раствора перекиси водорода на ПУЭ-Au-SiO₂-МУНТ и ПУЭ-SiO₂-CFO свидетельствуют об удовлетворительной сходимости результатов и стабильности аналитического сигнала на обоих модифицированных электродах. Разработанные электроды демонстрируют стабильный аналитический сигнал при длительном использовании. Относительная погрешность аналитического сигнала не превышает 10% при использовании

электродов в течение 55 циклов. Сигнал остается воспроизводимым при хранении электродов в течение 5 месяцев при комнатной температуре. Таким образом, разработанные планарные электроды, модифицированные композитными пленками на основе SiO₂ (ПУЭ-Au-SiO₂-МУНТ и ПУЭ-SiO₂-CFO), являются перспективными элементами электрохимических сенсоров для определения H₂O₂.

Поскольку в дальнейшем электроды планируется использовать для анализа пищевых и биологических объектов, исследовано мешающее влияние некоторых органических восстановителей на результаты определения перекиси с помощью ПУЭ-Au-SiO₂-МУНТ и ПУЭ-SiO₂-CFO. Результаты приведены в табл. 3. Определению 0.1 мМ H₂O₂ с помощью ПУЭ-Au-SiO₂-МУНТ не мешает 10-ти кратный избыток мочевины, а также эквимольные количества аскорбиновой кислоты и глюкозы. Мешающее влияние оказывает L-цистеин, десятикратные избытки аскорбиновой кислоты и глюкозы. На ПУЭ-Au-SiO₂-МУНТ результаты определения перекиси водорода в присутствии указанных мешающих веществ являются завышенными вследствие окисления органических восстановителей при том же потенциале, что и H₂O₂.

Таблица 3. Влияние мешающих веществ на результаты определения 0.1 мМ H₂O₂ с помощью ПУЭ-Au-SiO₂-МУНТ и ПУЭ-SiO₂-CFO.

Вещество (X)	Молярное отношение (C _{H₂O₂} :C _X)	Относительная ошибка, %	
		ПУЭ-Au-SiO ₂ -МУНТ	ПУЭ-SiO ₂ -CFO
Глюкоза	1:1	5.0	2.5
	1:10	100	2.5
Аскорбиновая кислота	1:1	5.0	4.0
	1:10	30	25
Мочевина	1:1	3.5	10
	1:10	4.5	12
L-Цистеин	1:1	15	20
	1:10	60	55

Интересно отметить, что в исследуемых условиях на ПУЭ-Au-SiO₂-МУНТ наблюдается ток окисления глюкозы, что не характерно для исследуемых типов электродов. Это может быть использовано в дальнейшем для разработки методики ферментативного определения углеводов.

На ПУЭ-SiO₂-CFO результаты определения H₂O₂ в присутствии мешающих веществ занижены. Исследуемые восстановители необратимо окисляются на электроде и не должны влиять на

ток восстановления перекиси при E = -0.2 В. Заниженные результаты можно объяснить уменьшением концентрации H₂O₂ вследствие прохождения параллельно в растворе окислительно-восстановительной реакции между перекисью водорода и органическим восстановителем при pH 6.0, что особо характерно для L-цистеина [31]. Такое взаимодействие можно минимизировать при модифицировании электродов биокompозитной пленкой, содержащей фермент класса оксидаз. В результате прохождения ферментативной реакции

окисления субстрата, перекись водорода будет образовываться в пленке непосредственно у поверхности электрода и сразу же будет вступать в электрохимическую реакцию, практически не контактируя с компонентами раствора. Сравнение селективности разработанных сенсоров на H_2O_2 с описанными в литературе приведены в табл. 4.

Как видно из табл.4, разработанные сенсоры проявляют большую избирательность по отношению к H_2O_2 в присутствии аскорбиновой

кислоты, по сравнению с сенсорами, описанными в работах [32,33,35]. Электроды, которые помимо исследуемых наночастиц содержат электрохимические медиаторы (соединения Fe(III) или ФАД), характеризуются более высокой избирательностью [6,34]. В то же время, дополнительное введение медиатора на поверхность электрода усложняет процесс его модифицирования.

Таблица 4. Сравнение химико-аналитических характеристик угольных и золотых электродов, модифицированных углеродными нанотрубками и частицами золота.

Электрод	Модификатор	Линейный диапазон, μM	ПО, μM	Мешающие вещества	Источник
Стекло-углеродный	polyХа/ФАД/МУНТ	100 - 2900	100	не мешают аскорбиновая и мочевая кислоты	[6]
Угольный пастовый	УНТ/PB	0.05 - 5	$4.74 \cdot 10^{-3}$	мешают аскорбиновая и мочевая кислоты	[32]
ПУЭ	нафион-PB-МУНТ	5 - 1645	0.35	мешают эквимольное количество аскорбиновой и мочевой к-т	[33]
Золотой	EDTMP/Fe ^{III} -ДЕТРА/РАН-МУНТ	0.0125 - 4750	$6.3 \cdot 10^{-3}$	не мешают глюкоза, аскорбиновая и мочевая кислоты	[34]
Стекло-углеродный	Co ₃ O ₄ /МУНТ/желатин/HRP/нафион	0.74 - 19	0.74	мешают эквимольные количества глюкозы, допамина, аскорбиновой и мочевой кислот	[35]
ПУЭ	Au-SiO ₂ -МУНТ	10 - 1000	7.0	мешают 10-кратный избыток глюкозы, аскорбиновой кислоты, L-цистеин	Данная работа
ПУЭ	SiO ₂ -CFO	5 - 5000	1.0	мешают 10-кратный избыток аскорбиновой кислоты, L-цистеин	Данная работа

polyХа – поли ксантуреновая кислота; PB – берлинская лазурь; ДЕТРА – диэтилентриаминпентауксусная кислота; РАН – полиаллиламин; EDTMP – этилендиаминтетраметилфосфорная кислота; ФАД – флавинадениндинуклеотид; HRP – пероксидаза хрена.

Выводы

Планарные угольные электроды (ПУЭ), модифицированные частицами золота и композитной пленкой на основе SiO₂-многостенные углеродные нанотрубки (МУНТ) - перспективные элементы вольтамперометрических сенсоров на H_2O_2 , аналитическим сигналом которых является ток окисления перекиси водорода. Сильные восстановители, окисляющиеся при том же потенциале, что и H_2O_2 , в частности аскорбиновая кислота и цистеин, мешают определению. Более чувствительный сенсор на H_2O_2 , характеризующийся низким пределом обнаружения ($1.0 \cdot 10^{-3}$ мМ) и широким диапазоном линейности,

получен на основе ПУЭ, модифицированных композитной пленкой SiO₂-CFO, где CFO – наночастицы фторооксида углерода, подобно оксиду графена являющиеся редокс-активной системой на основе атомов углерода в промежуточной степени окисления. В отличие от предыдущего электрода ПУЭ-SiO₂-CFO позволяет детектировать H_2O_2 по току восстановления. Поэтому ПУЭ-SiO₂-CFO перспективен для дальнейшего использования в качестве чувствительного элемента без-медиаторного амперометрического биосенсора на основе иммобилизованных ферментов класса оксидаз.

Благодарность

Авторы благодарны д-ру. Татьяне Ничипорук (Национальный институт прикладных наук г. Лион (INSA de Lyon), Франция) за помощь в получении СЭМ-изображений.

Данная работа частично профинансирована за счет проекта №690945 "Carbon-based nano-

materials for theranostic application" — CARTHER в рамках Европейской программы «Marie Skłodowska-Curie Actions Research and Innovation Staff Exchange (RISE) H2020-MSCA-RISE-2015», входящей в 8-е рамочное соглашение Европейского Союза по развитию научных исследований и технологий «Горизонт-2020».

Литература

1. Тернер Э., Кубе И., Уилсон Дж. Биосенсоры: основы и приложения. Москва: Мир, 1992. С. 614.
2. Wang, J., Lin, Y., Chen, L. Organic-phase biosensors for monitoring phenol and hydrogen peroxide in pharmaceutical antibacterial products. *Analyst*. 1993, 118 (3), 277–280.
3. Эгинс Б., Химические и биологические сенсоры, Москва: Техносфера, 2005. С. 335.
4. Evtugyn G., *Biosensors: Essentials*, Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, 2014. P. 274.
5. Будников Г.К., Евтюгин Г.А., Майстренко В.Н. Модифицированные электроды для вольтамперометрии в химии, биологии и медицине. Москва: БИНОМ, Лаборатория знаний, 2009. С. 416.
6. Yang C., Denno M. E., Pyakurel P., Venton B. J. Recent trends in carbon nanomaterial-based electrochemical sensors for biomolecules: A review. *Anal. Chim. Acta*. 2015, 887 (5), 17-37.
7. Pumera M., Sanchez S., Ichinose I., Tang J., *Electrochemical nanobiosensors. Review, Sens. Actuators, B: Chemical*. 2007, 123 (2), 1195–1205.
8. Thiyagarajan N., Chang J-L., Senthilkumar K., Zen J-M., Disposable electrochemical sensors: A mini review, *Electrochem. Commun.* 2014, 38 (1), 86-90.
9. Brinker C.J., Scherer G.W. *Sol-Gel Science: the physics and chemistry of sol-gel processing*, San Diego: Academic Press, 1990. P. 912.
10. Gupta R., Chaudhury N.K. Entrapment of biomolecules in sol-gel matrix for applications in biosensors: problems and future prospects. *Biosens and Bioelectron.* 2007, 22(11), 2387–2399.
11. Sayen S., Walcarius A., Electro-assisted generation of functionalized silica films on gold, *Electrochem. Commun.* 2003, 5 (4), 341-348.
12. Nadzhafova O., Etienne M., Walcarius A. Direct electrochemistry of hemoglobin and glucose oxidase in electrodeposited sol-gel silica thin films on glassy carbon. *Electrochem. Commun.* 2007, 9 (5), 1189–1195.
13. Mazurenko I., Tananaiko O., Biloivan O., Zhybak M., Pelyak I., Zaitsev V., Etienne M., Walcarius A. Amperometric Biosensor for Choline Based on Gold Screen-Printed Electrode Modified with Electrochemically- Deposited Silica Biocomposite, *Electroanalysis*, 2015, 27 (7), 1685 – 1692.
14. Zhou X., Xu W., Liu G., Panda D., Chen P. Size-Dependent Catalytic Activity and Dynamics of Gold Nanoparticles at the Single-Molecule Level. *J. Am. Chem. Soc.* 2010, 132 (1), 138–146.
15. Haruta, M. Size- and support-dependency in the catalysis of gold. *Catal. Today*. 1997, 36 (1), 153 – 166.
16. Valden M, Lai X., Goodman D.W. Onset of catalytic activity of gold clusters on titania with the appearance of nonmetallic properties. *Science*. 1998, 281 (5383), 1647 – 1650.
17. Zhang Y., Suryanarayanan V., Nakazawa I., Yoshihara S., Shirakashi T. Electrochemical behavior of Au nanoparticle deposited on as-grown and O-terminated diamond electrodes for oxygen reduction in alkaline solution. *Electrochim. Acta*. 2004, 49 (28), 5235-5240.
18. K., Agasti S., Kim C., Li X., Rotello V.M. Gold Nanoparticles in Chemical and Biological Sensing. *Chem. Rev.* 2012, 112 (5), 2739–2779.
19. Martin A., Escarpa A. Graphene: The cutting-edge interaction between chemistry and Electrochemistry. *Trends Anal. Chem.* 2014, 56, 13–26..
20. Jin H., Huang H., He Y., Feng X., Wang S., Dai L., Wang J. Graphene Quantum Dots Supported by Graphene Nanoribbons with Ultrahigh Electrocatalytic Performance for Oxygen Reduction. *J. Am. Chem. Soc.* 2015, 137 (24), 7588–7591.
21. Kumar S., Ahlawat W., Kumar R., Dilbaghi R., Graphene, carbon Nanotubes, zinc oxide and gold as elite nanomaterials for fabrication of Biosensors for healthcare. *Biosens and Bioelectron.* 2015, 70, 498-503.
22. Alexeyeva, N.; Kozlova, J.; Sammelseg, V.; Ritslaid, P.; Mandar, H.; Tammeveski, K. Electrochemical and surface characterization of gold nanoparticle decorated multi-walled carbon nanotubes. *Appl. Surf. Sci.* 2010, 256 (10), 3040-3046.
23. Liu, Y., Wang, M.K., Zhao, F., Guo, Z.H., Chen, H.J., Dong, S.J., Direct electron transfer and electrocatalysis of microperoxidase immobilized on nanohybrid film. *J. Electroanal. Chem.* 2005, 581 (1), 1–10.
24. Chen S., Yuan R., Chai Y., Zhang L., Wang N., Li X. Amperometric third-generation hydrogen peroxide biosensor based on the immobilization of hemoglobin on multiwall carbon nanotubes and gold colloidal nanoparticles. *Biosens and Bioelectron.* 2007, 22 (7) , 1268–1274.

25. Yu, R., Chen, L., Liu, Q., Lin, J., Tan, K.L., Ng, S.C., Platinum Deposition on Carbon Nanotubes via Chemical Modification. *Chem. Mater.* 1998, 10 (3), 718–722.
26. Zhou M., Wang H-L., Guo S. Towards high-efficiency nanoelectrocatalysts for oxygen reduction through engineering advanced carbon nanomaterials, *Chem. Soc. Rev.* 2016, 45 (5), 1273-1307.
27. Alekseev S., Korytko D., Iazykov M., Khainakov S., Lysenko V. Electrochemical Synthesis of Carbon Fluorooxide Nanoparticles from 3C-SiC Substrates, *J. Phys. Chem. C.* 2015, 119 (35), 20503–20514.
28. Trejo G., Gil A. F., González I., Temperature Effect on the Electrocrystallization Processes of Gold in Ammoniacal Medium, *J. Electrochem. Soc.* 1995, 142 (10), 3404-3408.
29. Liu Y., Wu S., Ju H., Xu L. Amperometric Glucose Biosensing of Gold Nanoparticles and Carbon Nanotube Multilayer Membranes, *Electroanalysis.* 2007, 19 (9), 986 – 992.
30. Основы аналитической химии. Т.1. Учеб. пособ. для вузов. Под ред. Ю.А. Золотова, 3-е изд. Москва: Высш. шк., 2004. 361 с.
31. García-Santamarina S, Boronat S, Hidalgo E. Reversible Cysteine Oxidation in Hydrogen Peroxide Sensing and Signal Transduction. *Biochemistry.* 2014, 53(16), 2560-2580.
32. Husmann S., Nossol E., Zarbin A.J.G. Carbon nanotube/Prussian blue paste electrodes: Characterization and study of key parameters for application as sensors for determination of low concentration of hydrogen peroxide, *Sens. Actuators, B Chem.* 2014, 192(3), 782–790.
33. X. Zhu, X. Niu, H. Zhao, M. Lan, Doping ionic liquid into Prussian blue-multiwalled carbon nanotubes modified screen-printed electrode to enhance the nonenzymatic H₂O₂ sensing performance, *Sens. Actuators, B Chem.* 2014, 195(6), 274–280.
34. H. Liu, Y. Cui, P. Li, Y. Zhou, X. Zhu, Y. Tang, et al., Iron(III) diethylenetriaminepentaacetic acid complex on polyallylamine functionalized multiwalled carbon nanotubes: immobilization, direct electrochemistry and electrocatalysis, *Analyst.* 2013, 138(9), 2647–2653.
35. C. Kaçar, B. Dalkiran, P.E. Erden, E. Kiliç, An amperometric hydrogen peroxide biosensor based on Co₃O₄ nanoparticles and multiwalled carbon nanotube modified glassy carbon electrode, *Appl. Surf. Sci.* 2014, 311, 139–146.