# 聚合物纳米组装体修饰丝网印刷电极构建过氧化氢传感器

黄雪雯 许 升 赵 伟 魏 玮 李小杰 刘晓亚*
(江南大学 化学与材料工程学院,合成与生物胶体教育部重点实验室 江苏 无锡 214122)

**摘 要** 通过在聚合物结构中同时引入生物亲和单体和电活性单体,使得聚合物组装体在修饰丝网印刷电极时兼具提高比表面积、保持酶活和促进电子转移功能,从而发展了一种简单、高效构建电化学传感器的方法。以苯乙烯(St)、丙烯酸(AA)、*N*-乙烯基咔唑(VCz)和甲基丙烯酸二甲氨基乙酯(DMAEMA)为单体自由基聚合合成双亲性无规共聚物 Poly(St-*co*-AA-*co*-VCz-*co*-DMAEMA)(PSACD),将聚合物在选择性混合溶剂 DMF/$H_2O$ 中自组装得到聚合物纳米粒子 PSACD NPs。利用纳米粒度分析仪、扫描电子显微镜(SEM)对其进行表征。依次将 PSACD NPs 水分散液、辣根过氧化物酶(HRP)溶液和全氟磺酸-聚四氟乙烯共聚物(Nafion,NF)溶液滴涂在丝网印刷碳电极(SPCE)上,制备得到过氧化氢生物传感器。通过计时电流法对传感器性能进行研究,表明该传感器对 $H_2O_2$ 在 0.02 ~ 7.48 mmol/L 有良好的线性响应,且响应时间短(<2 s),具有良好的选择性和稳定性。

**关键词** 聚合物纳米粒子;自组装;丝网印刷碳电极;辣根过氧化物酶;生物传感器
中图分类号:O648 文献标识码:A 文章编号:1000-0518(2020)02-0235-07
DOI:10.11944/j.issn.1000-0518.2020.02.190190

生物传感器是以生物活性单元为生物敏感基元,对待测的目标分子具有高度选择性与专一性的检测器,具有特异性识别、响应时间短、速率快、可与多种仪器检测手段并用等优点,目前的发展方向是器件的小型微型化、多功能集成化、智能化以及具有原位、在体、实时、在线检测等功能[1]。近年来,丝网印刷碳电极(Screen-Printed Carbon Electrode,SPCE)因其制造工艺的特有优势在电化学传感研究领域备受关注[2-4],其制造工艺简单、成本低廉、设计灵活、便于携带且能够大规模生产,能够满足快速准确的原位分析和便携式设备开发日益增长的需求。

最常用的 SPCE 使用的碳墨水含有一些矿物粘合剂或绝缘聚合物[5-7],其电化学性能较差,同时由于酶与电极之间的直接电子传递实现较为困难,需要引入导电基元促进直接电子传递[8-10],因此需要对电极进行修饰或改性[11]。电极修饰材料主要有两方面作用,一是提供保持酶活的生物相容性环境,二是辅助酶实现与电极之间的直接电子转移。最常见的方法是使用含生物亲和性聚合物与导电基元的复合纳米材料修饰电极[12-14]。Naiara 等[12]使用多壁碳纳米管/二茂铁/壳聚糖复合材料固定乳酸氧化酶和辣根过氧化物酶,在丝网印刷石墨电极上制备得到了电化学乳酸传感器,可以用于胚胎细胞培养液的检测。Daria 等[13]使用炭黑纳米粒子和壳聚糖作为电极修饰材料,制备了乙酰胆碱酯酶生物传感器,实现对饮用水中低浓度对氧磷的检测。这些纳米材料可以提高电极电催化活性,且能促进生物分子的直接电子转移。此外,纳米材料与生物识别元素(DNA、酶等)具有相当的尺寸,二者之间还会产生协同效应,提升传感性能[15]。

大分子自组装是一种构建纳米级或亚微米级结构简单而绿色的途径,且通过聚合物结构、组成的设计,可得到尺寸、形态可调的聚合物纳米组装体,赋予单体系组装体多重功能,因此广泛应用于药物载体[16]、纳米反应器[17-18]、水处理[19]、催化剂[20]和颗粒乳化剂[21]等领域。因此,本文将聚合物分子结构设计与大分子自组装技术相结合,通过在聚合物结构中同时引入生物亲和单体和电活性单体,使得聚合物组装体在修饰丝网印刷电极时兼具保持酶活和促进电子转移功能,从而有望发展一种简单、高效地构

2019-07-08 收稿,2019-08-16 修回,2019-09-09 接受
国家自然科学基金(51803079,51573073)资助
通讯联系人:刘晓亚,教授; Tel/Fax:0510-85917763; E-mail:lxy@jiangnan.edu.cn; 研究方向:大分子胶体与先进功能涂层材料、传感涂层及传感器件

建电化学传感器的方法。为了实现这个目标,本文首先以电活性单体 *N*-乙烯基咔唑(VCz)、生物亲和单体甲基丙烯酸二甲氨基乙酯[22-23](DMAEMA)、亲水调节单体丙烯酸(AA)及疏水调节单体苯乙烯(St)为原料,聚合得到双亲无规共聚物 Poly(St-*co*-AA-*co*-VCz-*co*-DMAEMA)(PSACD)。引入的电活性单体 VCz 可以辅助酶催化反应的电子传输,而 DMAEMA 为生物亲和单体,可以为酶活保持提供适宜的微环境。将双亲无规共聚物 PSACD 溶解于 DMF 中,加入不良溶剂水诱导组装,得到聚合物纳米粒子 PSACD NPs。用 PSACD NPs 修饰活化的 SPCE,并在形成的纳米粒子膜上固定辣根过氧化物酶(HRP,研究生物传感器最常用的模型酶),最后用 Nafion 作为保护层,制备得到过氧化氢电化学生物传感器,对传感器的检测性能、选择性、抗干扰性和稳定性进行研究。

# 1 实验部分

## 1.1 试剂和仪器

辣根过氧化物酶(HRP)购自上海麦克林生化科技有限公司,>300 Units/mg;*N*-乙烯基咔唑(VCz)购自北京百灵威科技有限公司,98%;苯乙烯(St)、甲基丙烯酸二甲氨基乙酯(DMAEMA)、偶氮二异丁腈(AIBN)、丙烯酸(AA)、铁氰化钾、亚铁氰化钾、氯化钠、氯化钾、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾、磷酸二氢钠、无水乙醚、氢氧化钠、过氧化氢、*N*,*N*-二甲基甲酰胺(DMF)、30% 过氧化氢、葡萄糖(Glucose)购自国药集团化学试剂有限公司,分析纯试剂;*L*-赖氨酸(Lys)、*L*-半胱氨酸(Cys)、*L*-酪氨酸(Trp)购自国药集团化学试剂有限公司,生物试剂;多巴胺(DA)、尿酸(UA)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司,99%;全氟磺酸-聚四氟乙烯共聚物 Nafion D-520 购自杜邦中国集团有限公司,5%;丝网印刷碳电极(SPCE)购自宁波元感生物科技有限公司,碳工作电极直径 2.5 mm,参比电极为 Ag/AgCl 电极,对电极为碳电极。

AVANCE Ⅲ400 MHz 型核磁共振氢谱仪($^1$H NMR,德国 Bruker 有限公司):以氘代二甲亚砜溶解聚合物;Nicolet 6700 型全反射红外光谱仪(FTIR,美国 Thermofisher 科技公司):测试范围为 4000 ~ 750 $cm^{-1}$;1525 型凝胶渗透色谱仪(GPC,美国 waters 有限公司):流动相为 DMF,流速 1 mL/min,以聚苯乙烯为标样;Zeta PALS 型 Zeta 电势及纳米粒度分析仪(美国 Brookhaven 仪器公司):检测激光波长为 633 nm,检测角度 90°;S-4800 型场发射扫描电子显微镜(FESEM,日本日立株式会社):将稀释的 PSCDA NPs水分散液滴至硅片上,将电极用导电胶贴于样品台上,在 2.0 kV 加速电压下观察涂层形貌;CHI660 型电化学工作站(上海辰华仪器有限公司)。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 无规共聚物 PSACD 的合成

称取 1.0415 g 疏水单体 St(10 mmol)、0.7206 g 亲水单体 AA(10 mmol)、1.9325 g电活性单体 VCz(10 mmol)、1.5721 g 生物相容性单体 DMAEMA(10 mmol)以及 53 mg 引发剂 AIBN 加入圆底烧瓶中。加入 40 mL 的 DMF 作为反应溶剂,待充分溶解后,在 $N_2$气保护下于 75 ℃下反应 24 h。将反应液滴加到大量乙醚中进行沉淀,沉淀物用 DMF 溶解,重复溶解-沉淀操作 3 次。最终沉淀物真空干燥后得到白色固体产物 PSACD,制备过程如图 1 所示。

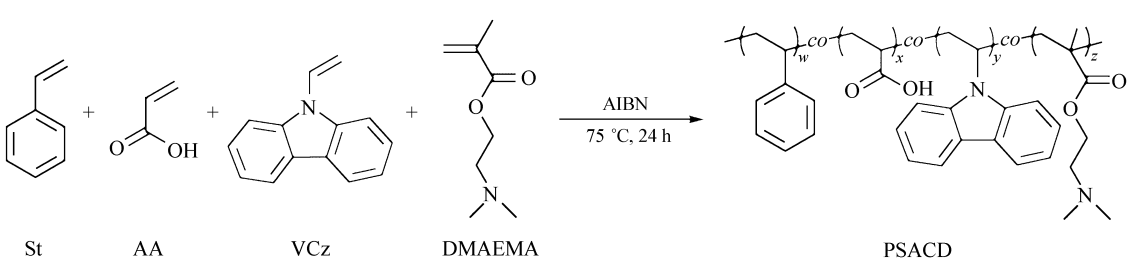



图 1 PSACD 的合成示意图

Fig. 1 Synthetic routes of PSACD

### 1.2.2 PSACD 纳米粒子的制备

称取 25 mg PSACD 聚合物,加 DMF 溶解,配制成 10 mg/mL 的聚合物溶液。在搅拌状态下,在聚合

物溶液中快速加入 10 mL 去离子水,搅拌过夜,用去离子水透析 24 h 后,定容至 25 mL,得到 1 mg/mL 的 PSACD NPs 分散液。

1.2.3　酶生物传感器的制备

将丝网印刷电极在 -0.6 ~ 1.6 V 范围内进行循环伏安扫描 40 圈,以活化电极[4]。在活化后的工作电极上滴涂 3 μL PSACD NPs 分散液。待电极干燥后进行滴涂 3 μL 10 mg/mL HRP 溶液,干燥后滴涂 3 μL 0.1% 的 Nafion(NF)溶液,自然干燥后,即可制备得到生物传感器,电极保存于 4 ℃冰箱中。

1.2.4　电化学实验

循环伏安法在含 5 mmol/L $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ 的 0.1 mol/L 的 KCl 水溶液中进行。计时电流曲线在 0.1 mol/L pH = 7.4 PBS 溶液中进行,施加电势为 -0.4 V。

## 2　结果与讨论

### 2.1　双亲无规聚合物 PSACD 的表征

用 FTIR 与 $^1$H NMR 对聚合物进行表征。聚合物 PSACD 的全反射红外光谱图见辅助材料图 S1,在 3650 $cm^{-1}$ 处出现了 AA 羧基中的 O—H 伸缩振动峰,2900 $cm^{-1}$ 左右为 $sp^2$ 及 $sp^3$ 的 C—H 键伸缩振动峰,1723 $cm^{-1}$ 处的峰来自 AA 羧基和 DMAEMA 酯基的 C═O 伸缩振动,1576 和 1453 $cm^{-1}$ 处的峰归属于苯环上的双键骨架振动,1000 ~ 1350 $cm^{-1}$ 出现了来自 DMA 中 C—O 伸缩振动吸收峰,725 和 701 $cm^{-1}$ 处为 St 的单取代苯环和 VCz 的邻位取代苯环的面外变形振动特征峰,以及在 1157 $cm^{-1}$ 处出现了叔氨基(—$N(CH_3)_2$)的伸缩振动特征峰[24],证明聚合物制备成功。

PSACD 的 $^1$H NMR 见辅助材料图 S2,7.7 ~ 8.1 出现的峰归属于咔唑基团上的 $H_{10}$ 和 $H_{13}$,7.1 ~ 7.3 处的峰属于苯乙烯和咔唑苯环上的氢,4.0 处的峰归属于 DMAEMA 上亚甲基(—O—$CH_2$),2.0 ~ 2.2 处出现的峰为聚合物主链上的 $H_2$、$H_6$、$H_7$ 和 $H_9$,同样证明了聚合物的制备。经 GPC 测试,制备的聚合物 PSACD 数均相对分子质量为 $3.7 \times 10^5$。

### 2.2　PSACD 纳米粒子的表征

无规共聚物 PSACD 具有双亲性,在选择性溶剂中可以通过亲疏水作用自组装形成聚合物纳米粒子。在 PSACD 的 DMF 溶液中加入水诱导组装,透析除去 DMF,得到均一稳定的 PSACD NPs 分散液。图 2 为 PSACD NPs 的粒径分布曲线,其平均粒径为 174 nm,图 2 左上角插图为 PSACD NPs 分散液的数码照片,可以发现分散液均一稳定。图 2 右上角插图为 PSACD 纳米粒子的 SEM 图,二者显示纳米粒子的粒径为 100 ~ 150 nm,粒子呈不规则球状。SEM 图显示的粒径小于纳米粒度仪测试结果,这是由于 SEM 表征的是粒子干燥状态下的粒径,而纳米粒度仪测试的是 PSACD NPs 水分散下的粒径,有一定溶胀。

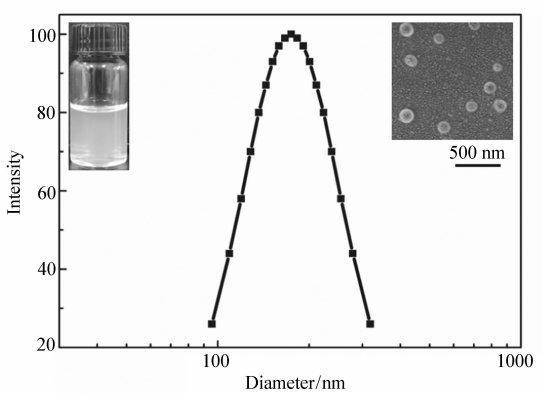



图 2　PSACD NPs 的粒径分布曲线,插图为 PSACD NPs 分散液的数码照片(左)和 PSACD NPs 的 SEM 图(右)

Fig. 2　Particle size distribution curve of PSACD NPs. Inset: digital photograph of PSACD NPs suspensions (left) and SEM image of PSACD NPs (right)

### 2.3　生物传感器的制备及表征

2.3.1　SPCE 的活化

SPCE 制造时使用的碳墨水含有大量不导电的胶黏剂,这会影响其电化学性能,因此使用前需要对电极进行活化[4]。具体方法为,将电极浸没于铁氰化钾/亚铁氰化钾溶液中在 -0.6 ~ 1.6 V 范围内进行 40 圈循环伏安扫描。图 3 为 u-SPCE(未活化)和 SPCE(活化)的循环伏安曲线,由图 3 可知,经过电化学活化后,氧化还原峰电流大幅增加,证明其电化学性能得到大幅提高,这可能是在电化学活化过程中,电极印制过程引入的有机胶黏剂被脱除,同时电

极表面含氧官能团和碳颗粒表面边缘平面位点数量增加[5,25]。图4A和4B分别为u-SPCE(未活化)和SPCE(活化)的SEM照片,由图4A和4B显示,活化前,u-SPCE表面可以看到大量互相黏连的碳颗粒,而活化处理的SPCE表面碳颗粒黏连情况减弱,碳颗粒更为明显,这证明活化过程除去了电极印制使用的碳墨水中大部分胶黏剂[5-7],因而提高了电极的性能。

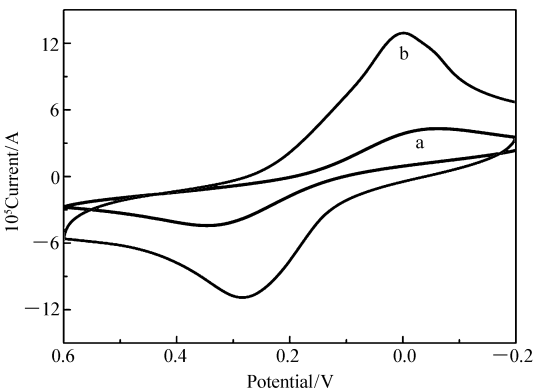



图3 u-SPCE(未活化,a)和SPCE(活化,b)的CV曲线

Fig. 3 CV curves of u-SPCE(unactivated, curve a) and SPCE(activated, curve b)

### 2.3.2 生物传感涂层的制备

图4B-4E为不同修饰阶段电极的SEM照片,可以看出,图4B为活化处理的SPCE,表面碳颗粒纳米结构明显,粒径为40~80 nm,涂层具有较大的比表面积,图4C为PSACD NPs修饰后的电极,表面粒子粒径为100~150 nm,与PSACD NPs干态粒径一致,说明PSACD NPs在电极表面形成了粒子膜,具有较高的比表面积,有利于生物识别基元HRP的固定。图4D为修饰HRP后的电极,可以发现,涂层较未修饰前平整,保留了少量的纳米结构,推测纳米粒子空隙中固定有大量的酶。图4E为滴涂Nafion之后的涂层表面形貌,由图4E可知,电极表面平整均匀,NF包覆了整个电极涂层。不同修饰阶段SPCE的循环伏安曲线见辅助材料图S3。修饰了PSACD NPs之后,聚合物导电性较差,因此氧化还原电流有所下降,但下降幅度小,这可能是由于咔唑基团参与了电子转移过程。在修饰HRP和Nafion之后,氧化还原电流略有下降,这是受修饰材料导电性差的影响。

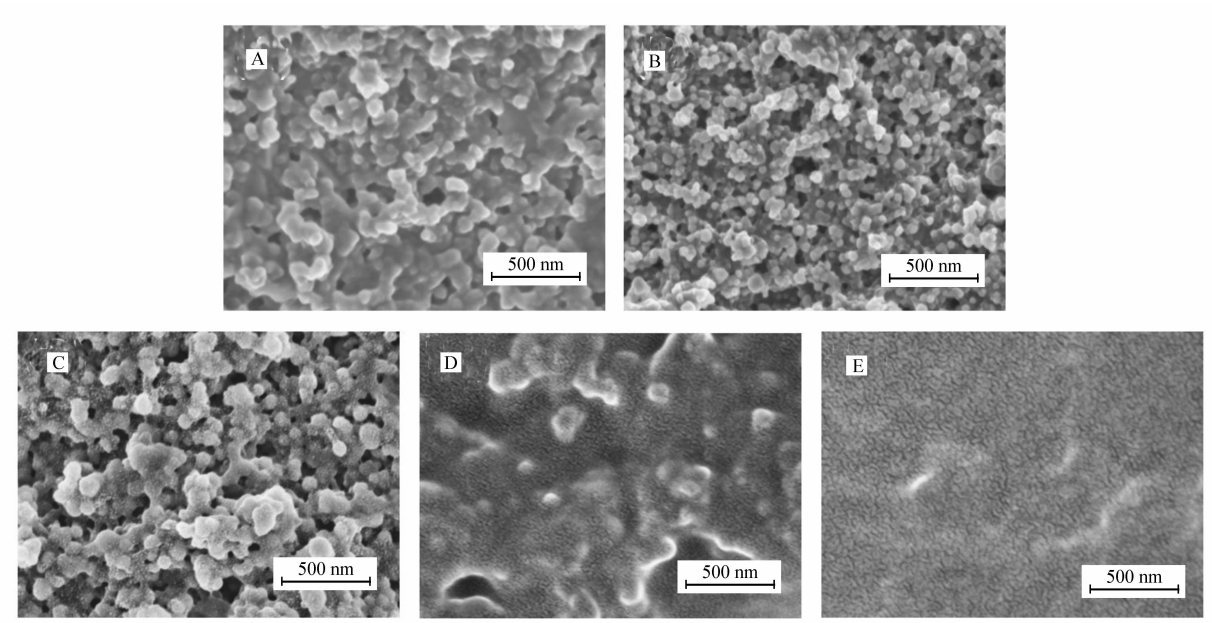



图4 u-SPCE(未活化,A)、SPCE(活化,B)和PSACD NPs(C)、HRP/PSACD NPs(D)、NF/HRP/PSACD NPs(E)修饰SPCE的SEM照片

Fig. 4 SEM images of u-SPCE(unactivated, A), SPCE(activated, B) and SPCE modified by PSACD NPs(C), HRP/PSACD NPs(D), NF/HRP/PSACD NPs(E)

### 2.3.3 生物传感器性能的表征

通过CV曲线对不同修饰电极的$H_2O_2$催化性能进行表征(见辅助材料图S4)。对比发现-0.3 V至-0.5 V HRP催化过氧化氢发生电子转移,在-0.4 V处信号最佳。图5A为连续滴加一定浓度$H_2O_2$时的电流-时间曲线,可以看到,随着$H_2O_2$的滴加,氧化还原电流值也呈阶梯式逐渐增加。图5B为传感器

检测 $H_2O_2$ 的线性关系曲线,响应电流值与 $H_2O_2$ 浓度存在线性关系,线性响应区间为 0.02 ~ 7.48 mmol/L,线性方程为 $I/(10^{-5}\ A) = 0.196c/(mmol\cdot L^{-1}) + 0.159$,$R^2 = 0.997$。

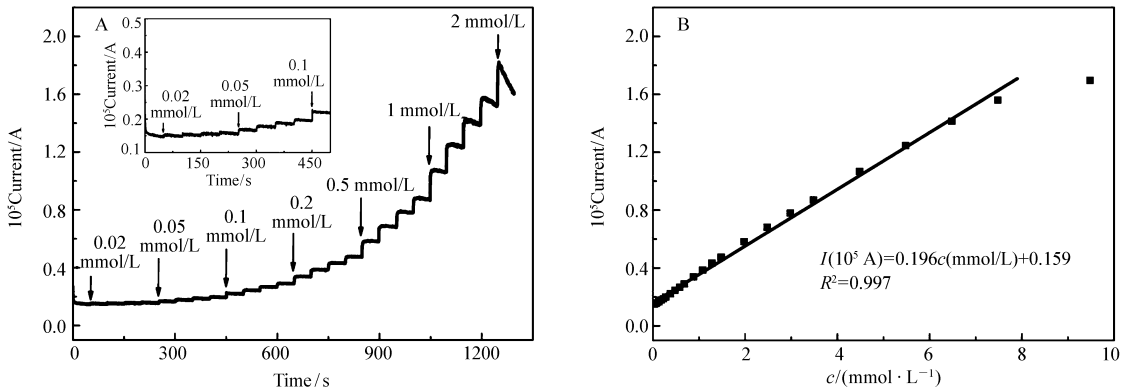



图 5　连续滴加 $H_2O_2$ 时生物传感器的电流-时间曲线(A)和响应电流与溶液中 $H_2O_2$ 浓度的线性相关曲线(B)

Fig. 5　(A) Current-time curve of biosensor on successive additions of different concentrations of $H_2O_2$ into 0.1 mol/L pH = 7.0 PBS; (B) the linear relationship between the response current and $H_2O_2$ concentration

选择性和抗干扰性也是生物传感器的重要性能。图 6A 为该传感器的在加入不同干扰物的情况下的电流响应,可以看到,首先滴加 0.5 mmol/L $H_2O_2$ 可以得到快速的电流响应,而后依次滴加 5 mmol/L 的 Glucose、Lys、DA、UA、*L*-Cys、*L*-Trp 时几乎无电流响应,再滴加 0.5 mmol/L $H_2O_2$ 依旧可以得到快速的电流响应,这证明该传感器具有良好的选择性和抗干扰性。用同一支电极对 10 mmol/L $H_2O_2$ 溶液进行 10 d 的测试,图 6B 所示为每天电极响应电流相对第一天的百分比柱形图,可以发现,10 d 以后,电极的响应电流依旧保持在初始响应电流的 90% 以上,这证明了该传感器具有良好的稳定性。

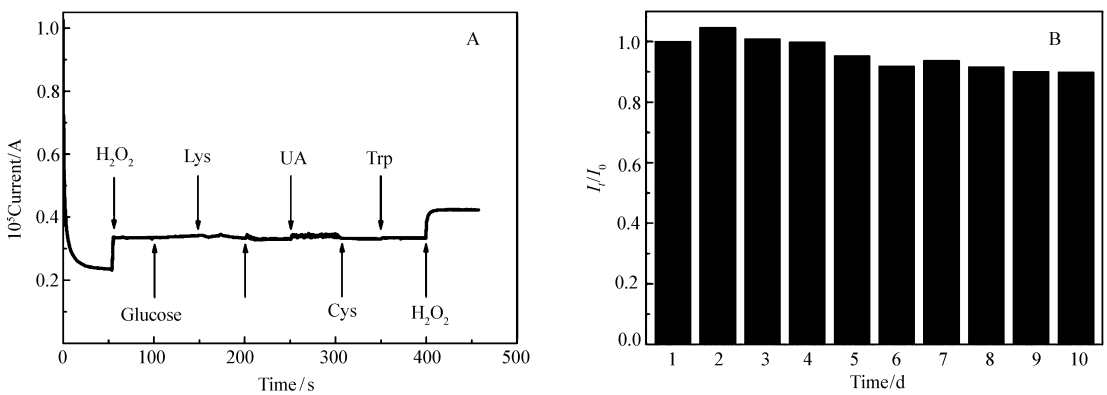



图 6　连续滴加 $H_2O_2$ 和不同干扰物时生物传感器的电流-时间曲线(A)和 10 d 内生物传感器对 10 mmol/L 的响应电流($I_t$)与初始响应电流($I_0$)的比例图(B)

Fig. 6　(A) Current-time curve of biosensor on successive additions of 0.5 mmol/L $H_2O_2$, 5 mmol/L Glucose, 5 mmol/L *L*-lysine, 5 mmol/L dopamine, 5 mmol/L uric acid, 5 mmol/L *L*-cysteine, 5 mmol/L *L*-tyrosine and 0.5 mmol/L $H_2O_2$ into 0.1 mol/L pH = 7.0 PBS; (B) the ratio of the response current of the 10 mmol/L $H_2O_2$ ($I_t$) to the initial response current ($I_0$) in 10 days

## 3　结　论

通过 4 种不同的功能单体共聚,得到双亲无规共聚物 PSACD,并通过在选择性溶剂中诱导组装,得到稳定的 PSACD NPs 水分散液。基于 PSACD NPs 修饰丝网印刷电极构建的 $H_2O_2$ 生物传感器具有优良的电化学检测性能,线性范围为 0.02 ~ 7.48 mmol/L,$R^2 = 0.997$,且响应速度快,选择性和抗干扰性好。该方法制备的生物传感器具有成本低廉、制备简单、小型便携和性能优良的优点,有望实现工业化和商品化。

辅助材料(Supporting Information)[双亲无规聚合物 PSACD 的 FTIR、$^1$H NMR 及修饰电极的 CV 曲线]可以免费从本刊网站(http://yyhx.ciac.jl.cn/)下载。

## 参 考 文 献


[1] HUANG Qilin. Study on Novel Enzyme Biosensors Based on Functionalized Nanomaterials and Their Applications[D]. Shanghai: East China Normal University, 2013(in Chinese).
黄齐林. 基于功能化纳米材料构建的新型酶生物传感器及其应用研究[D]. 上海:华东师范大学,2013.

[2] Chaiyo S, Mehmeti E, Žagar K, *et al*. Electrochemical Sensors for the Simultaneous Determination of Zinc, Cadmium and Lead Using A Nafion/Ionic Liquid/Graphene Composite Modified Screen-Printed Carbon Electrode[J]. *Anal Chim Acta*, 2016, **918**: 26-34.

[3] Rungsawang T, Punrat E, Adkins J, *et al*. Development of Electrochemical Paper-Based Glucose Sensor Using Cellulose-4-Aminophenylboronic Acid-Modified Screen-Printed Carbon Electrode[J]. *Electroanalysis*, 2016, **28**(3): 462-468.

[4] Hu X, Goud K Y, Kumar V S, *et al*. Disposable Electrochemical Aptasensor Based on Carbon Nanotubes-$V_2O_5$-Chitosan Nanocomposite for Detection of Ciprofloxacin[J]. *Sens Actuators B*, 2018, **268**: 278-286.

[5] Su W, Wang S, Cheng S. H. Electrochemically Pretreated Screen-Printed Carbon Electrodes for the Simultaneous Determination of Aminophenol Isomers[J]. *J Electroanal Chem*, 2011, **651**(2): 166-172.

[6] SUN Jianjun, WEI Hang, LIN Zhibin, *et al*. Pretreatment Method of Screen-Printed Carbon Electrodes: CN, 101235502[P]. 2008-08-06(in Chinese).
孙建军,韦航,林志彬,等. 丝网印刷碳电极预处理方法:中国,CN101235502[P]. 2008-08-06.

[7] González-Sánchez M, Gómez-Monedero B, Agrisuelas J, *et al*. Highly Activated Screen-Printed Carbon Electrodes by Electrochemical Treatment with Hydrogen Peroxide[J]. *Electrochem Commun*, 2018, **91**: 36-40.

[8] YANG Shaoming, CHEN Yansheng, LI Ruiqin, *et al*. One-step Preparation of Horseradish Peroxidase Biosensor *via* Electrodeposition[J]. *Chinese J Appl Chem*, 2015, **32**(7): 849-854(in Chinese).
杨绍明,陈延胜,李瑞琴,等. 一步电沉积法构建辣根过氧化物酶传感器[J]. 应用化学,2015,**32**(7):849-854.

[9] Li Z, Sheng L, Meng A, *et al*. A Glassy Carbon Electrode Modified with a Composite Consisting of Reduced Graphene Oxide, Zinc Oxide and Silver Nanoparticles in a Chitosan Matrix for Studying the Direct Electron Transfer of Glucose Oxidase and for Enzymatic Sensing of Glucose[J]. *Microchim Acta*, 2016, **183**(5): 1625-1632.

[10] Lee S W, Lee K Y, Song Y W, *et al*. Direct Electron Transfer of Enzymes in a Biologically Assembled Conductive Nanomesh Enzyme Platform[J]. *Adv Mater*, 2016, **28**(8): 1577-1584.

[11] Kanso H, García M B G, Llano L F, *et al*. Novel Thin Layer Flow-Cell Screen-Printed Graphene Electrode for Enzymatic Sensors[J]. *Biosens Bioelectron*, 2017, **93**: 298-304.

[12] Arduini F, Forchielli M, Amine A, *et al*. Screen-Printed Biosensor Modified with Carbon Black Nanoparticles for the Determination of Paraoxon Based on the Inhibition of Butyrylcholinesterase[J]. *Microchim Acta*, 2015, **182**(3/4): 643-651.

[13] Hernández-Ibáñez N, García-Cruz L, Montiel V, *et al*. Electrochemical Lactate Biosensor Based upon Chitosan/Carbon Nanotubes Modified Screen-Printed Graphite Electrodes for the Determination of Lactate in Embryonic Cell Cultures[J]. *Biosens Bioelectron*, 2016, **77**: 1168-1174.

[14] KULISONG Hayierbieke, ZENG Han. Direct Electrochemical Behavior and Sensing Performance of Nitrogen Doped Meso Porous Carbon and Chitosan Composite Immobilized with Laccase Modified Electrode[J]. *Chinese J Appl Chem*, 2013, **30**(10): 1194-1201(in Chinese).
库里松·哈衣尔别克,曾涵. 介孔碳掺杂氮材料-壳聚糖固定漆酶电极的直接电化学行为及化学传感性能[J]. 应用化学,2013,**30**(10):1194-1201.

[15] Arduini F, Micheli L, Moscone D, *et al*. Electrochemical Biosensors Based on Nanomodified Screen-Printed Electrodes: Recent Applications in Clinical Analysis[J]. *TrAC Trends Anal Chem*, 2016, **79**: 114-126.

[16] Nieto-Suárez M, López-Quintela M A, Lazzari M. Preparation and Characterization of Crosslinked Chitosan/Gelatin Scaffolds by Ice Segregation Induced Self-assembly[J]. *Carbohydr Polym*, 2016, **141**: 175-183.

[17] Harrison A, Vuong T T, Zeevi M P, *et al*. Rapid Self-Assembly of Metal/Polymer Nanocomposite Particles as Nanoreactors and Their Kinetic Characterization[J]. *Nanomaterials*, 2019, **9**(3): 318.

[18] Seo E, Lee T, Lee K T, *et al*. Versatile Double Hydrophilic Block Copolymer: Dual Role as Synthetic Nanoreactor and Ionic and Electronic Conduction Layer for Ruthenium Oxide Nanoparticle Supercapacitors[J]. *J Mater Chem*, 2012, **22**(23): 11598-11604.

[19] Heidari A, Younesi H, Mehraban Z, *et al*. Selective Adsorption of Pb(Ⅱ), Cd(Ⅱ), and Ni(Ⅱ) Ions from Aqueous Solution Using Chitosan-MAA Nanoparticles[J]. *Int J Biol Macromol*, 2013, **61**: 251-263.

[20] Zhang S, Shao Y, Yin G, *et al*. Self-assembly of Pt Nanoparticles on Highly Graphitized Carbon Nanotubes as an Excellent

Oxygen-Reduction Catalyst[J]. *Appl Catal B*,2011,**102**(3/4):372-377.
[21] Amalvy J I, Armes S P, Binks B P, *et al*. Use of Sterically-Stabilised Polystyrene Latex Particles as a pH-Responsive Particulate Emulsifier to Prepare Surfactant-Free Oil-in-Water Emulsions[J]. *Chem Commun*,2003,(15):1826-1827.
[22] Yuan W, Zhang J, Zou H, *et al*. Synthesis, Crystalline Morphologies, Self-assembly, and Properties of H-Shaped Amphiphilic Dually Responsive Terpolymers[J]. *Polym Sci Part A:Polym Chem*,2012,**50**(13):2541-2552.
[23] Huang S,Jiang S. Structures and Morphologies of Biocompatible and Biodegradable Block Copolymers[J]. *RSC Adv*,2014,**4**(47):24566-24583.
[24] YANG Lin. Study on Synthesis and Properties of Star Homo- and Block Copolymers of 4-Arm Dimethylaminoethyl Methacrylate[D]. Xi′an:Shaanxi Normal University,2007(in Chinese).
阳林. 四臂聚甲基丙烯酸二甲氨基乙酯星形聚合物及嵌段共聚物的合成与性能研究[D]. 西安:陕西师范大学,2007.
[25] Prasad K S,Muthuraman G,Zen J M. The Role of Oxygen Functionalities and Edge Plane Sites on Screen-Printed Carbon Electrodes for Simultaneous Determination of Dopamine, Uric Acid and Ascorbic Acid[J]. *Electrochem Commun*,2008,**10**(4):559-563.

# Hydrogen Peroxide Sensor Based on a Polymeric Self-assembled Nanoparticles-Modified Screen-Printed Electrode

HUANG Xuewen, XU Sheng, ZHAO Wei, WEI Wei, LI Xiaojie, LIU Xiaoya*
(*Key Laboratory of Synthetic and Biological Colloids*, *Ministry of Education*, *School of Chemical and Material Engineering*, *Jiangnan University*, *Wuxi*, *Jiangsu* 214122, *China*)

**Abstract** We report on a facile and efficient construction of electrochemical biosensors by modifying the screen printed carbon electrodes (SPCE) with multifunctional polymeric nanoparticles. An amphiphilic random copolymer, poly (St-*co*-AA-*co*-VCz-*co*-DMAEMA) (PSACD), was first synthesized using styrene (St), acrylic acid (AA), *N*-vinylcarbazole (VCz) and dimethylaminoethyl methacrylate (DMAEMA) as hydrophobic, hydrophilic, electroactive and enzymatic compatible monomers, respectively. The polymeric nanoparticles (PSACD NPs) were then prepared through self-assembly of polymers in a selective solvent mixture of DMF/$H_2O$. The obtained PSACD NPs were characterized by particle size analyzer and scanning electron microscope (SEM), and were used to fabricate the hydrogen peroxide ($H_2O_2$) biosensor with the functions of improving the specific surface areas, providing a suitable microenvironment for keeping the enzyme activity, and accelerating the electron transfer between enzymes and the electrodes. Specifically, the SPCE was successively modified by PSACD NPs suspensions, horseradish peroxidase (HRP) solution and perfluorosulfonic acid-PTFE copolymer (Nafion) solution. The properties of the proposed electrochemical biosensor were studied *via* an amperometric detection method. The results show that the biosensor has a short response time (less than 2 s) and a linear increasing response current with the concentration of $H_2O_2$ increasing from 0.02 to 7.48 mmol/L. The biosensor also has nice stability, good selectivity and excellent anti-interference performance.

**Keywords** polymeric nanoparticles; self-assembly; screen-printed carbon electrode; horseradish peroxidase; biosensor

Received 2019-07-08; Revised 2019-08-16; Accepted 2019-09-09

Supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 51803079, No. 51573073)

Corresponding author:LIU Xiaoya, professor; Tel/Fax:0510-85917763; E-mail:lxy@jiangnan.edu.cn; Research interests:macromolecular colloid and advanced functional coating materials, sensing coatings and sensor devices