### 实验 ZIF-67的制备与应用于无酶葡萄糖传感器

**实验目的**

（1）了解葡萄糖检测背景及意义

（2）掌握一种葡萄糖检测的电化学方法

（3）学习材料制备，实验条件优化以及数据分析。

**实验概述**

葡萄糖（Glucose）是维持哺乳动物生命活动的基本营养物质之一，持续浓度高出正常水平的葡萄糖将会导致糖尿病。这是一种常见的慢性疾病，严重危害了人类健康，因此对于人体内葡萄糖浓度的定量检测具有十分重要的意义。而目前大多数市售葡萄糖检测仪是基于酶的传感器，但酶传感器具有繁琐的酶固定过程、价格昂贵、保质期短等缺点，所以越来越多的非酶葡萄糖传感器(Enzymatic Glucose Sensor)被开发应用。

基于大学化学实验的学习，将制备过渡金属的高催化性能金属有机骨架(Metal-Organic Frameworks)简称MOFs材料修饰在玻碳电极上构建一种新型无酶葡萄糖传感器。并对其测试条件进行优化，使传感器的性能更加稳定，并应用在实际样本的葡萄糖检测中。具体试验方案如下：

**实验器材**

1. **仪器**：CHI660E型电化学工作站、电子天平、超声波清洗机、鼓风干燥箱、磁力搅拌器、玻碳电极、铂电极、饱和甘汞电极
2. **试剂**：六水合硝酸钴、 2-甲基咪唑、无水乙醇、NaOH、葡萄糖、铁氰化钾、氯化钾、Nafion溶液、L-抗坏血酸、多巴胺、尿酸、谷氨酸、脯氨酸、甘氨酸、半胱氨酸、封闭正常人血清

**实验方法**

1. **ZIF-67的制备**

取1.1641g Co(NO3)2·6H2O、1.3136g 2-甲基咪唑分别溶于40mL 去离子水中并超声10min后，将两种溶液混合，室温下搅拌6h。搅拌结束后，用无水乙醇洗三次，60℃过夜烘干，收集的紫色产物即为ZIF-67。

1. **电极制备**
   1. 玻碳电极的预处理：

将玻碳电极分别用1.0、0.3、0.05μm的Al2O3抛光粉在麂皮上以画“8”的方式打磨至镜面，用无水乙醇和蒸馏水清洗并标记序号。随后，玻碳电极在CV表征液（包含5mM K3[Fe(CN)6]的0.1M KCl溶液）中进行循环伏安扫描，在0~0.6V的电压范围内，得到的氧化峰电位和还原峰电位之差（ΔEp）小于80mV，表示该电极上发生的是一个准可逆的电化学反应过程。

* 1. Nafion/ZIF-67/GCE修饰电极的制备：

取2mg ZIF-67溶于1mL 蒸馏水中，超声分散均匀得到2mg/mL的悬浮液。用移液枪移取5μL的分散液滴涂在GCE表面，自然晾干后移取5μL体积分数为0.1%的Nafion溶于用于固定ZIF-67，晾干后得到修饰电极Nafion/ZIF-67/GCE。取5μL体积分数为0.1%的Nafion于GCE上作为参照组。

1. **电化学测试**：本实验以Nafion/ZIF-67/GCE作为工作电极，Ag/AgCl为参比电极，Pt为对电极的三电极体系，在CHI660E电化学工作站上完成。
   1. 预实验CV：

用0.1M NaOH溶液作为电解质，在0~0.6V的扫描电压区间，扫速为100mV/s，分别测试Nafion/GCE、Nafion/ZIF-67/GCE在0.1M NaOH和含1mM葡萄糖的0.1M NaOH的CV曲线。

* 1. 条件优化
     1. 涂覆量优化: 仅改变涂覆量（包括涂覆体积和悬浮液浓度），用同样的CV扫描参数，进行CV测试，根据实验结果可以得到最优浓度及涂覆量体积。
     2. NaOH浓度优化：在最优涂覆量下，仅改变NaOH浓度，进行CV测试，根据实验结果得到NaOH的最优浓度。
     3. 电位确定与优化：在最优涂覆量、NaOH最优浓度下，仅改变葡萄糖浓度，可以得到葡萄糖的氧化峰电位范围。采用计时电流法，对恒定电位进行优化，根据实验结果，可以得到最优电位。
  2. 动力学研究

为了研究ZIF-67对葡萄糖氧化的电化学动力学，对传感器Nafion/ZIF-67/GCE在最优条件下，仅改变扫速进行循环伏安测试。可得到氧化还原峰电流随着扫速的增大而增大，若氧化峰电流（Ipa）和还原峰电流（Ipc）与v1/2呈一次线性关系，则表明传感器Nafion/ZIF-67/GCE催化葡萄糖氧化的反应是一个扩散控制的过程；若氧化峰电流（Ipa）和还原峰电流（Ipc）与v呈一次线性关系，则表明传感器Nafion/ZIF-67/GCE催化葡萄糖氧化的反应是一个吸附控制的过程，则条件优化还需做一个富集时间优化。

* 1. 电流-时间曲线研究

对传感器Nafion/ZIF-67/GCE的时间电流曲线研究，在最优涂覆量、最优NaOH浓度及最优电位条件下，自200s后每50s增加一次葡萄糖的浓度，通过磁力搅拌器使溶液混合均匀。通过时间电流曲线，可以拟合出电流值与葡萄糖浓度的线性关系一次方程，IμA=a[Glu]mM+b，通过该方程可得出该传感器的灵敏度、检测限。

* 1. 抗干扰性、重现性和稳定性
     1. 抗干扰性测试：在实际生物样本中，有很多干扰小分子与葡萄糖共同存在，因此对传感器Nafion/ZIF-67/GCE需进行相应的选择性测试。在最优条件下，自200s后每50s分别加入一定浓度的葡萄糖、谷氨酸、抗坏血酸、多巴胺、尿酸、脯氨酸、甘氨酸、半胱氨酸和葡萄糖，进行计时电流测试，根据电流-时间曲线，可得出该传感器的抗干扰能力性能。
     2. 重现性测试：使用10根相同的Nafion/ZIF-67/GCE在最优条件下进行循环伏安测试，以研究传感器的重现性，根据氧化峰电流值计算相对标准偏差，可以得出该传感器重现性性能。
     3. 为了研究该传感器在空气中的稳定性，在60天内利用该传感器在其最优条件下进行4次循环伏安测试，计算所得氧化峰电流值与初始峰电流值比值，根据保持初始峰电流强度百分比可以得出该传感器的稳定性性能。将Nafion/ZIF-67/GCE在最优条件下循环伏安扫描2000圈，观察CV曲线良好的圈数范围，也可证明该传感器的稳定性能强弱。
  2. 实际样品的检测

为了验证所构建的传感器在实际样本检测中的应用效果，选用正常人血清样本进行回收率测试。将封闭正常人血清用NaOH溶液稀释20倍后作为基底溶液并以加标法添加相应浓度的葡萄糖进行回收率测试。根据测试结果可以计算出回收率范围和相应的标准偏差值，即可验证该传感器在实际样本中的应用是否合理。

实验安排：

时间：14周周一中午13：30开始上课，地点：理科楼LC318（化工院进门后面那一栋三楼最右边）

需要：打印实验讲义，带好纸笔记录。