

栗云鹏, 施玉峰, 巫彬芳, 等. 金纳米颗粒和多壁碳纳米管协同增敏的维生素 C 传感器的研制与应用 [J]. 华南农业大学学报, 2022, 43(5): 115-123.
LI Yunpeng, SHI Yufeng, WU Binfang, et al. Development and application of vitamin C sensor with synergistic sensitization of gold nanoparticles and multi walled carbon nanotubes[J]. Journal of South China Agricultural University, 2022, 43(5): 115-123.

金纳米颗粒和多壁碳纳米管协同增敏的维生素 C 传感器的研制与应用

栗云鹏, 施玉峰, 巫彬芳, 周 华, 施震渺, 李松浩, 徐海涛, 兰玉彬, 龙拥兵
(华南农业大学 电子工程学院/国家精准农业航空施药技术国际联合研究中心, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】开发一种低成本、高响应的维生素 C 电化学传感器, 用于实现果蔬中维生素 C 含量的快速检测。【方法】通过在铅笔芯电极上修饰金纳米颗粒和多壁碳纳米管, 构建具有维生素 C 强催化响应的 MWCNTs/Au/PGE 电极。通过扫描电镜、X 射线光电子能谱、拉曼光谱和循环伏安法表征电极, 采用差分脉冲伏安法确定电极的 pH 适用范围和最优 pH 条件。采用时间电流法建立标准曲线和方程, 以实现快速检测。最后通过加标回收率法检测番茄中维生素 C 含量。【结果】基于 MWCNTs/Au/PGE 电极的维生素 C 电化学传感器可在 pH 4~8 范围内准确地测定维生素 C 含量, 在 pH 5 时性能最优。快速检测时检测维生素 C 的质量分数范围为 1~500 $\mu\text{g/g}$, 灵敏度达 $0.244\text{ }\mu\text{A}\cdot(\mu\text{g/g})^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ 。该传感器对葡萄糖、苹果酸和柠檬酸的干扰率均小于 1.77%, 同一传感器多次测定的相对标准偏差为 2.7%。成功检出番茄样品中的维生素 C 质量分数为 $69.42\text{ }\mu\text{g/g}$, 加标回收率为 109%~113%, 相对标准偏差小于 2.26%。【结论】MWCNTs/Au/PGE 电极制备工艺简单, 成本低, 灵敏度高, 测量范围宽, 有较强的稳定性和抗干扰性, 为实现快速检测果蔬中维生素 C 提供了新思路。

关键词: 维生素 C; 多壁碳纳米管; 电化学传感器; 果蔬
中图分类号: O657.1;S24 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-411X(2022)05-0115-09

Development and application of vitamin C sensor with synergistic sensitization of gold nanoparticles and multi walled carbon nanotubes

LI Yunpeng, SHI Yufeng, WU Binfang, ZHOU Hua, SHI Zhenmiao, LI Songhao, XU Haitao, LAN Yubin, LONG Yongbing
(College of Electronic Engineering, South China Agricultural University/National Center for International Collaboration Research on Precision Agricultural Aviation Pesticides Spraying Technology, Guangzhou 510642, China)

Abstract: 【Objective】A low-cost and high response electrochemical sensor for vitamin C was developed to realize the rapid detection of vitamin C content in fruits and vegetables. 【Method】MWCNTs/Au/PGE electrode with strong catalytic response to vitamin C was constructed by modifying gold nanoparticles and multi walled carbon nanotubes on pencil lead electrode. The electrode was characterized by scanning electron microscopy, X-ray photoelectron spectroscopy, Raman spectroscopy and cyclic voltammetry. The application range and optimal condition of the electrode pH were determined by differential pulse voltammetry. The standard curve and equation were established by time-current method to realize rapid detection. Finally, the vitamin C content of tomato was detected by standard addition recovery method. 【Result】The vitamin C

收稿日期: 2021-12-04 网络首发时间: 2022-05-11 17:19:08
网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20220511.1432.002.html>
作者简介: 栗云鹏, 硕士研究生, 主要从事农业电化学传感器研究, E-mail: 1837855702@qq.com; 通信作者: 龙拥兵, 教授, 博士, 主要从事农业人工智能与大数据研究, E-mail: yongbinglong@126.com
基金项目: 广东省重点领域研发计划 (2019B020219002); 国家自然科学基金 (11774099); 广东省自然科学基金 (2021A1515012112, 2022A1515010411); 广东省高校特色创新项目 (2019KTSCX018)

electrochemical sensor based on MWCNTs/Au/PGE electrode could accurately determine the vitamin C content in the range of pH 4–8, and its performance was the best when pH was 5. During rapid detection, the detection mass fraction range was 1–500 $\mu\text{g/g}$, sensitivity up to $0.244 \mu\text{A}\cdot(\mu\text{g/g})^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$. The interference rates of the sensor to glucose, malic acid and citric acid were less than 1.77%, and the relative standard deviation (RSD) measured by the same sensor for many times was 2.7%. The vitamin C content of tomato sample was 69.42 $\mu\text{g/g}$, the recovery was 109%–113%, and the RSD was less than 2.26%. **【Conclusion】** MWCNTs/Au/PGE electrode has the advantages of simple preparation process, low cost, high sensitivity, wide measurement range, strong stability and anti-interference. It provides a new idea for the rapid detection of vitamin C in fruits and vegetables.

Key words: Vitamin C; Multi walled carbon nanotube; Electrochemical sensor; Fruit and vegetable

近年来,现代农业技术发展日新月异,智慧农业概念也应运而生。智慧农业是现代信息技术与农业的深度融合,其关键是基于农业传感器的农业信息的高效获取^[1-2]。目前,高端农业传感器主要依赖进口,农业专用传感器的种类和功能还不够完善,大多数农业传感器用于农情监测^[3],适用于检测农作物本身生理状况的农业传感器还比较少。维生素 C(Vitamin C, VC) 又称抗坏血酸(Ascorbic acid, AA),是植物自身合成的抗氧化剂,在清除自由基、提高植物抗胁迫能力方面起着重要作用^[4]。维生素 C 还是重要的农产品品质指标之一^[5],有研究指出外施抗坏血酸可以提升大豆产量^[6]。因此,发展农用维生素 C 传感器,确立快速测定农产品中维生素 C 含量的有效手段,对支撑农产品品质的高效准确鉴定具有重要意义。维生素 C 含量的测定主要采用液相色谱法^[7]、比色法^[8]、荧光法^[9]、碘滴定法^[10]、分光光度法^[11]和滴定法^[12]。上述测定方法大都需要送样至专业实验室进行检验,所需检测设备昂贵,样品前处理工序复杂、需时较长。电化学传感分析技术具有许多优点,如传感器检测针对性强、功能可定制、设备成本低、样品前处理简单、可通过便携式设备实现现场快速检测等^[13-15]。当前,维生素 C 电化学传感器的报道更多是针对药物^[16]、饮料^[17]以及动物^[18]方面,关于植物中维生素 C 的电化学传感器研究较少。因此,基于电化学传感法开发一种适用于植物内环境的维生素 C 传感器具有巨大的应用价值。电化学传感器的开发关键在于选择合适的电极基底和构建高效敏感膜结构实施增敏。相比于常用的玻碳电极和碳糊电极,铅笔芯电极(Pencil graphite electrode, PGE)具有高化学和机械稳定性、宽工作电压和低背景电流等优点,可作为传感器基底的优选方案之一^[19-22]。另外,电极敏感层品质的好坏将极大地影响传感器性能。金纳米颗粒具有良好的导电性、催化性和生物相容性,用于修饰电化

学传感电极表现出很强的维生素 C 氧化能力^[18, 23-24],但其容易和有机物相结合,导致敏感层污染失效^[18]。多壁碳纳米管(Multi walled carbon nanotubes, MWCNTs)具有中空的多层管状结构,该特殊结构令其具有大比表面积、良导电性和强吸附性,可促使电子快速转移以分解众多有机物而具备优秀的抗污染能力^[25-26]。采用多种纳米材料协同构建敏感膜增效,是优化电化学传感器性能的有效手段。因此,本研究将采用低成本、高稳定的铅笔芯作为传感器电极基底,以金纳米颗粒和多壁碳纳米管协同构建敏感膜,制备 MWCNTs/Au/PGE 电极,并将其应用于果蔬中,实现维生素 C 含量的快速检测。本研究结果将为农业传感器的专用开发和植物本体信息的快速测定提供参考。

1 材料与方 法

1.1 药品与试剂

二甲基甲酰胺(DMF)、L-抗坏血酸、L-苹果酸($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_5$)、柠檬酸、氯化钾(KCl)、铁氰化钾($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$)、亚铁氰化钾($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6\cdot 3\text{H}_2\text{O}$)均购自广州化学试剂厂。氯金酸(AuCl_4H)购自思域化工,多壁碳纳米管购自先丰纳米公司,磷酸盐缓冲溶液(PBS)购自飞净生物公司,HB 铅笔芯(0.5 mm)购自得力公司,热缩管(0.6 mm)购自于伊莱科公司。试验所用水溶液均采用超纯蒸馏水配置。

1.2 试验仪器和测试方法

试验仪器主要有扫描电子显微镜(SEM, ZEISS 公司)、能量色散谱仪(EDS, ZEISS 公司)、X 射线光电子能谱(XPS, Thermo Scientific 公司)、拉曼光谱仪(Raman, 英国牛津仪器)、电化学工作站(上海辰华公司)。

所有电化学试验均采用三电极体系,试验方法包括循环伏安法、差分脉冲伏安法和时间电流法。其中工作电极为 PGE 以及修饰的 PGE,参比电极

为饱和 Ag/AgCl 电极, 辅助电极为铂丝电极。以 0.1 mol/L 的 PBS 作为支撑电解质, 在+0.2 V 的外加电压下, 研究 MWCNTs/Au/PGE 对维生素 C 的安培响应。

1.3 MWCNTs/Au/PGE 传感器的制备

截取 4 cm 热缩管套于 6 cm 铅笔芯上, 两端各露出 1 cm, 以其中一端作为传感电极。将热风枪调至 200 ℃, 采用热风吹扫固定热缩管, 即制得裸铅笔芯电极 (PGE)。将 PGE 置于 0.1 mol/L 的 KCl 和 5 mmol/L 的 $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ 混合溶液中, 采用循环伏安法筛选 PGE 电极。循环伏安法扫描电压为-0.2~+0.8 V, 扫描速率为 50 mV/s, 扫描 20 圈。挑选扫描后峰值电流相同的 PGE 电极, 以纯水清洗后保存备用。

将 PGE 电极置于 0.2 mmol/L 氯金酸溶液中, 采用时间电流法, 通过施加负电压还原氯金酸制备

金纳米颗粒, 所用沉积电压为-0.2 V, 沉积时间为 8 s, 制得金纳米颗粒铅笔芯电极 (Au/PGE)。采用物理吸附法沉积多壁碳纳米管, 首先将 200 mg 多壁碳纳米管分散于 40 mL 二甲基甲酰胺 (DMF) 溶液中, 制得 5 mg/mL 的 MWCNTs/DMF 溶液, 超声震荡 15 min。然后将 Au/PGE 前端 1 cm 浸没于 MWCNTs/DMF 溶液 10 min, 取出自然风干, 重复 2 次, 即可制得多壁碳纳米管和金纳米颗粒修饰的铅笔芯电极 (MWCNTs/Au/PGE)。最后用纯水清洗电极表面, 晾干保存备用。

2 结果与分析

2.1 MWCNTs/Au/PGE 的表征

2.1.1 电极表面形貌表征 采用扫描电镜分别观察 Au/PGE 和 MWCNTs/Au/PGE 电极表面, 结果如图 1a 和 1b 所示。由图 1a 可见, Au/PGE 电极表面

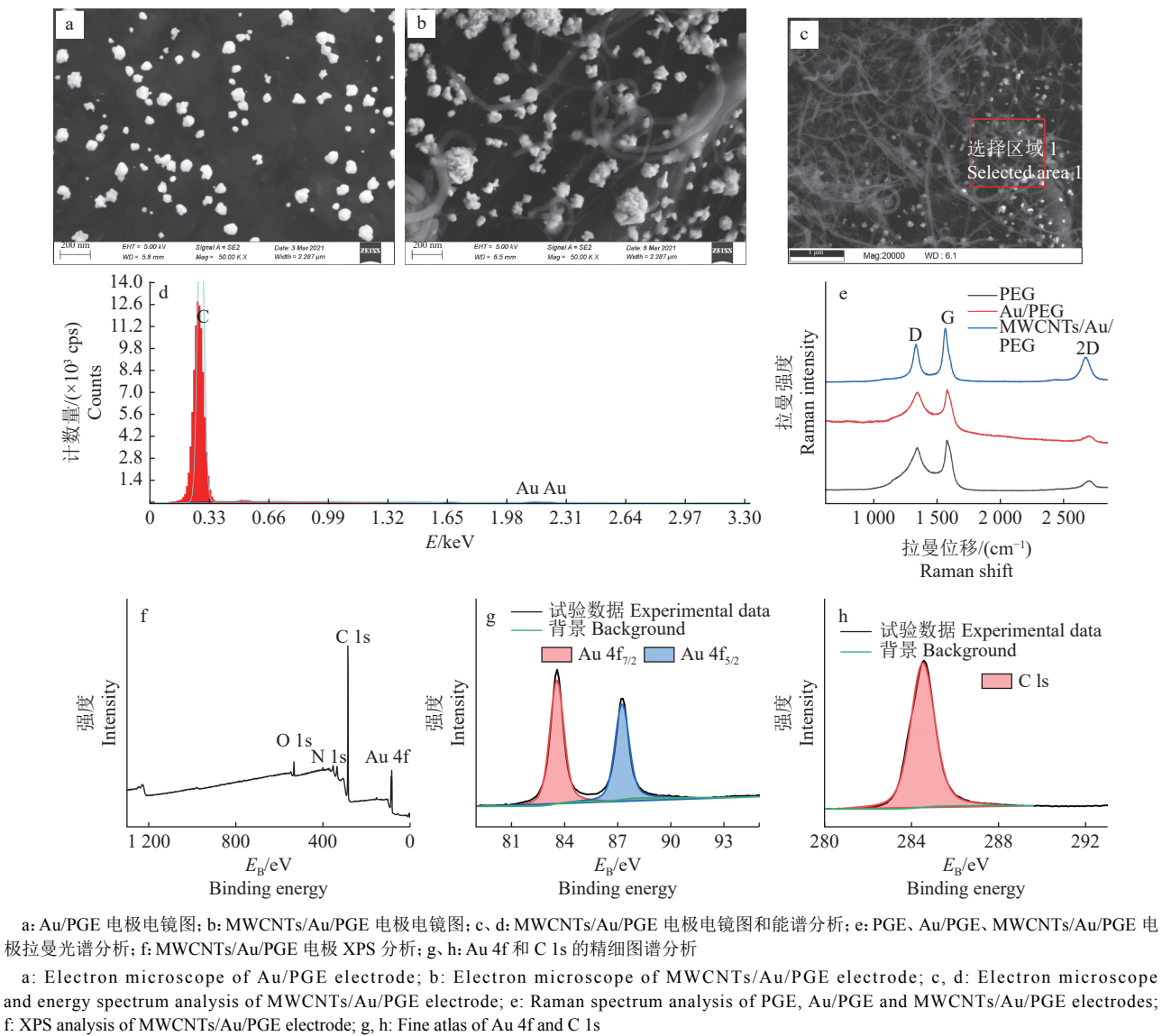


图 1 电极表面纳米结构形貌和成分表征

Fig. 1 Nanostructure morphology and composition characterization of electrode surface

沉积了大量分散状的金纳米颗粒; 进一步修饰多壁碳纳米管后, 在图 2b 中可见弯曲的多壁碳纳米管和金纳米颗粒相互吸附, 沉积于电极表面。采用 EDS 分析 MWCNTs/Au/PGE 的元素组成, 在图 1c 中以红框标出采集区, 图 1d 结果表明, 修饰电极表面仅存在金和碳元素。

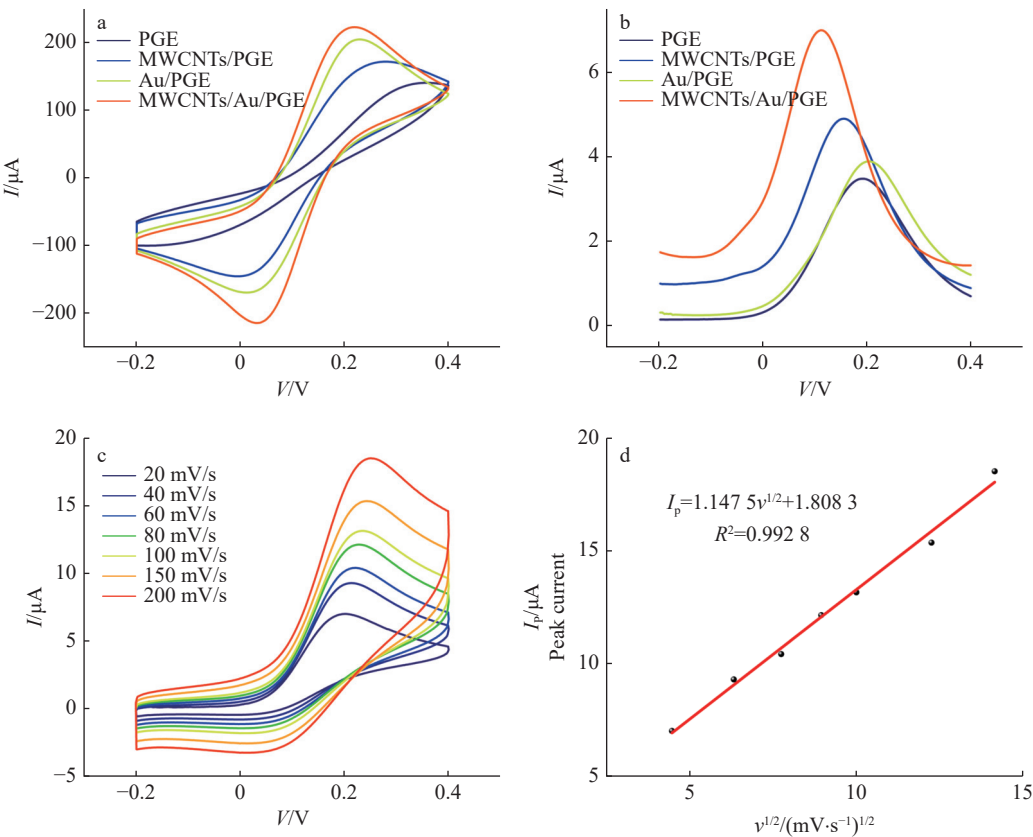
2.1.2 电极表面纳米结构成分表征 图 1e 展示了 MWCNTs/Au/PGE 电极 3 个修饰阶段的拉曼光谱, 可见归属于碳的 3 个特征峰, 分别为 D 峰 (1338~1352 cm⁻¹)、G 峰 (1568~1583 cm⁻¹) 和 2D 峰 (2689~2701 cm⁻¹)。其中 D 峰强度与碳的边缘缺陷和无序程度相关, G 峰反映了样品中碳的石墨化程度。结果表明, PGE 电极的主要成分是石墨粉末; 沉积金纳米颗粒后, 拉曼峰强度均增加, 表明金纳米颗粒增强了电极的拉曼响应; 修饰多壁碳纳米管后, 3 个拉曼峰的半峰宽均变小, 而代表有序堆叠结构的 2D 峰峰强显著提升, 结合文献 [27] 可得, 有序结构的多壁碳纳米管确实已附着在修

饰电极表面。

MWCNTs/Au/PGE 电极的表面化学成分采用 XPS 进行测定, 扫描全谱图 1f 显示其主要的元素组成为 C、Au、O 和 N。图 1g 为 Au 4f 的精细图谱, 在结合能 83.8 和 87.5 eV 处存在 1 对双峰, 对应于 Au 4f_{7/2} 和 Au 4f_{5/2} 的能级, 综合文献 [28] 结果, 证实了氯金酸还原后是以单质金的形式形成金纳米颗粒。图 1h 为 C 1s 的精细图谱, 确认了 C—C 和 C=C 键的存在, 其主要来自于多壁碳纳米管和铅笔芯中的石墨。

2.2 MWCNTs/Au/PGE 维生素 C 传感器的电催化性能

循环伏安法对比了修饰有不同纳米材料的电极催化性能。在含 0.1 mol/L 的 KCl 和 5.0 mmol/L 的 Fe(CN)₆^{3-/4-} 的溶液中依次测试 PGE、MWCNTs/PGE、Au/PGE 和 MWCNTs/Au/PGE 电极, 结果如图 2a 所示。在 PGE 的循环伏安谱上可观察到 1 对氧化还原峰; 分别修饰金纳米颗粒和多



a: 不同修饰的电极在含 0.1 mol/L KCl 的 5.0 mmol/L Fe(CN)₆^{3-/4-} 溶液的循环伏安图; b: 不同修饰的电极在 50 µg/g 的维生素 C 标准液中的差分脉冲伏安图; c: MWCNTs/Au/PGE 在 50 µg/g 的维生素 C 标准液中不同扫描速率的循环伏安图; d: MWCNTs/Au/PGE 的峰值电流 (I_p) 与扫描速率 (v) 平方根的线性拟合图; 图中电位以饱和 Ag/AgCl 电极为参考

a: Cyclic voltammetry images of different modified electrodes in 5.0 mmol/L Fe(CN)₆^{3-/4-} solution containing 0.1 mol/L KCl; b: Differential pulse voltammetry images of different modified electrodes in 50 µg/g vitamin C standard solution; c: Cyclic voltammetry images of MWCNTs/Au/PGE at different scanning rates in 50 µg/g vitamin C standard solution; d: Linear relationship between different peak currents (I_p) of MWCNTs/Au/PGE and square root of scanning rate (v); The potential in the figure is based on the saturated Ag/AgCl electrode

图 2 MWCNTs/Au/PGE 的电化学性能

Fig. 2 Electrochemical performance of MWCNTs/Au/PGE

壁碳纳米管之后, 峰电流增强, 说明修饰纳米材料可促使更多的 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ 到达电极表面; 峰电位差减小, 说明修饰纳米材料还可以增强溶液和电极表面的电子转移^[29]。同时修饰 2 种纳米材料, 峰电流的增强最为显著, 这说明共同修饰两种纳米材料可协同增强电极催化电流。

根据 Randles-Sevcik 方程, 电极有效表面积 (A) 按照公式 (1) 计算。

$$A = I_p / (2.69 \times 10^5 n^{3/2} D_0^{1/2} C_0 \nu^{1/2}), \quad (1)$$

式中, I_p 是峰值电流, n 是电子转移数, ν 是扫描速率, C_0 是反应物浓度, 即 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ 的浓度, D_0 是 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ 的扩散系数 ($0.65 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)^[30]。通过计算可得, PGE 的有效面积为 0.128 cm^2 , MWCNTs/Au/PGE 的有效面积为 0.204 cm^2 , 比 PEG 增加了 59.3%, 金纳米颗粒和多壁碳纳米管所组成的混合纳米结构协同提升了电极的有效反应面积, 从而增强了催化电流。

在 $50 \text{ }\mu\text{g/g}$ 的维生素 C 标准液中, 采用差分脉冲伏安法探究 MWCNTs/Au/PGE 对维生素 C 响应的提升效果, 结果如图 2b 所示, MWCNTs/Au/PGE 性能最优, 其峰电位减小了 80 mV, 峰电流提升 2.01 倍, 结合文献 [31] 结果充分说明, MWCNTs/Au/PGE 对维生素 C 具有优异的电催化活性, 因此

共同修饰多种纳米材料是提升传感器性能的有效策略。

采用循环伏安法研究了维生素 C 在电极表面的反应机理, 结果如图 2c 和 2d 所示。在 $50 \text{ }\mu\text{g/g}$ 的维生素 C 标准液中进行扫描, 随着扫描速率的增加, 峰电流逐渐增加, 氧化峰电位向正向偏移。循环伏安谱中没有还原峰, 说明 MWCNTs/Au/PGE 表面的氧化反应是不可逆的。峰值电流与扫描速率平方根呈线性增加, 结合文献 [31], 说明电极表面维生素 C 的氧化反应主要由扩散控制。

2.3 pH 对 MWCNTs/Au/PGE 维生素 C 传感器性能的影响

与人和动物相比较, 植物体内的 pH 范围更广。在植物生长过程中由于有机酸的积累, 器官中的 pH 变化显著。为了满足快速检测的要求, 需要考虑宽 pH 范围内的传感器性能变化, 因此, 本研究还通过差分脉冲伏安法分别测试了 $\text{pH}=4\sim 8$ 范围内 MWCNTs/Au/PGE 对不同质量分数维生素 C ($20\sim 500 \text{ }\mu\text{g/g}$) 的响应, 结果如图 3 所示。在 $\text{pH}=4\sim 8$ 范围内, MWCNTs/Au/PGE 的差分脉冲伏安峰电流与维生素 C 质量分数均表现出良好的线性关系 (图 3a~3e)。由图 3f 可见, 随着 pH 的增大,

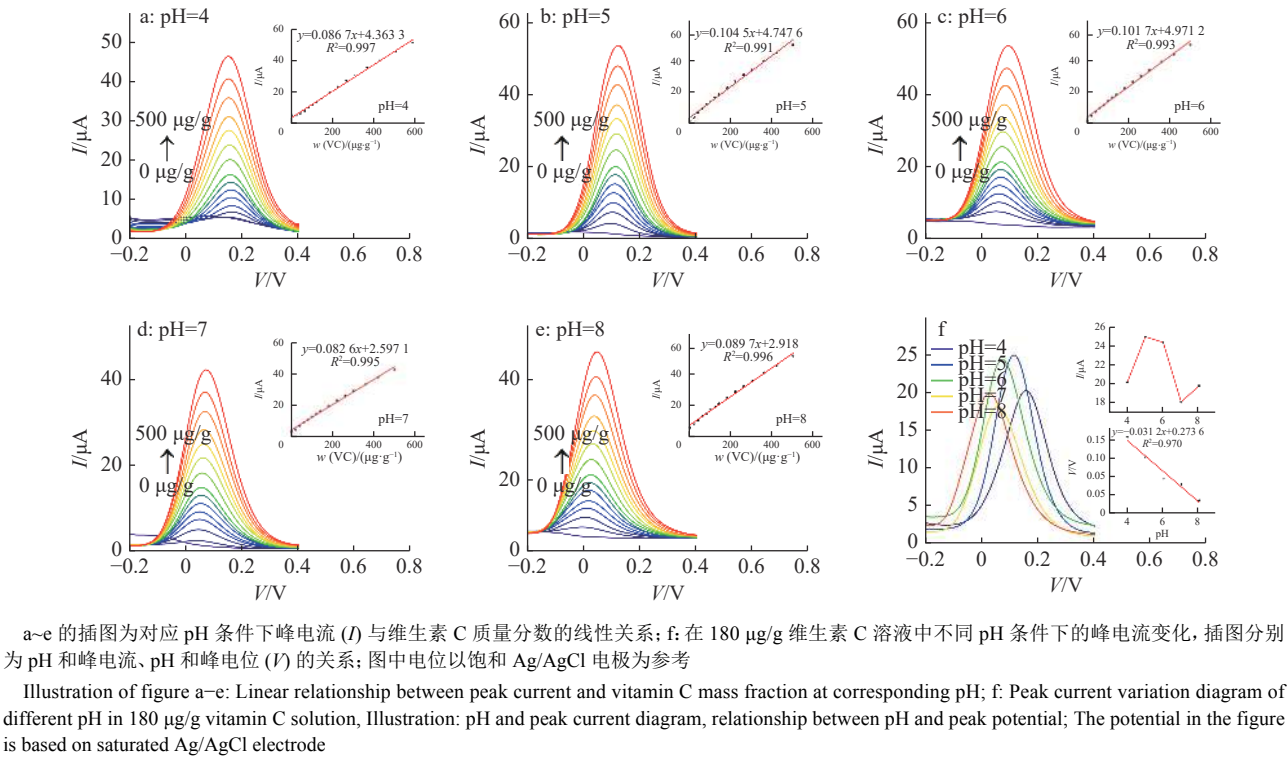


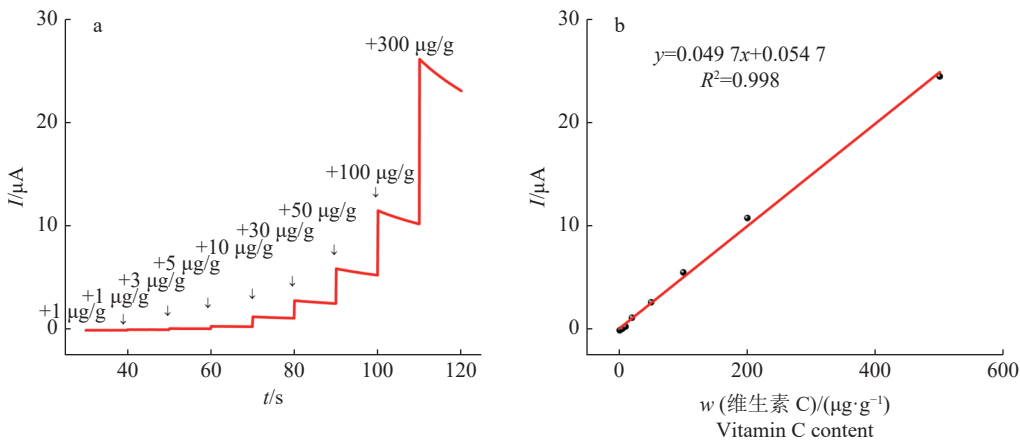
图 3 MWCNTs/Au/PGE 在不同 pH 的维生素 C (VC) 含量梯度中的差分脉冲伏安法曲线

Fig. 3 Differential pulse voltammetry curves of MWCNTs/Au/PGE in the content gradients of vitamin C (VC) at different pH

峰电位逐渐向负电位移动,这是由于维生素 C 进行氧化反应时涉及去质子化过程,高 pH 环境更容易促进此过程。以 pH 和峰电位建立线性关系,所得斜率为 31 mV/pH,结合文献[32],说明氧化过程是 2 个电子和 1 个质子的转移过程。当 pH=4 时,溶液中的大量质子与维生素 C 氧化产生的电子相结合,因而阻碍了电子向电极的流动[33]。当 pH=5 时,溶液质子数量变少,维生素 C 氧化所产生的 2 个电子能更容易地转移到电极上,从而产生更强的电化学信号。当 pH 继续增大,可能是由于纳米结构与维生素 C 产生静电排斥,在 pH>6 时,维生素 C($pK_a=4.1$)发生去质子化过程,因而在 pH>6 时峰电位骤降,并在 pH=8 时略微上升[32]。综上所述,MWCNTs/Au/PGE 可在宽 pH 范围内工作,适用于植物内环境下监测维生素 C 含量。由于 pH=5 时电极对维生素 C 响应最好,因此选择在该条件下进行时间电流法测定标准曲线。

2.4 MWCNTs/Au/PGE 维生素 C 传感器的检测性能

时间电流法可在 1~2 min 内获得稳定的电流响应输出,因此,时间电流法更适合实施现场快检。为探究 MWCNTs/Au/PGE 对维生素 C 的检测性能,选择在 pH=5 条件下,采用时间电流法对电极进行定标,试验所用基质为 pH=5 的 PBS,维生素 C 质量分数调节范围为 1~500 $\mu\text{g/g}$,时间电流法检测前先等待维生素 C 扩散完全再开始测量,结果如图 4 所示,MWCNTs/Au/PGE 对维生素 C 表现出稳定的检测性能,维生素 C 质量分数与响应电流呈现良好的线性关系,线性回归方程为 $y = 0.049\ 7x + 0.054\ 7$, $R^2 = 0.998$ 。定标结果表明,MWCNTs/Au/PGE 的灵敏度高 [$0.244\ \mu\text{A}\cdot(\mu\text{g/g})^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$],线性检测范围达 1~500 $\mu\text{g/g}$,适用于检测大部分果蔬的维生素 C 含量。



a: MWCNTs/Au/PGE 电极随维生素 C 质量分数变化时间电流曲线; b: 电流均值随维生素 C 质量分数的变化趋势

a: Time current curve of MWCNTs/Au/PGE electrode with vitamin C content; b: Variation trend of average current with vitamin C content

图 4 MWCNTs/Au/PGE 时间电流曲线和线性关系

Fig. 4 Time current curve and linear relationship of MWCNTs/Au/PGE

2.5 MWCNTs/Au/PGE 维生素 C 传感器的抗干扰性

考虑到果蔬体液中存在大量柠檬酸、苹果酸和葡萄糖等有机物,这些有机物可能会影响传感器的维生素 C 检测响应,因此进行了抗干扰性测定,向 PBS 溶液中依次加入 10 $\mu\text{g/g}$ 的维生素 C、葡萄糖、柠檬酸、苹果酸、维生素 C,测定氧化电流,结果如图 5 所示,在添加 3 种干扰物后,氧化电流并未发生明显变化,电流变化均小于 1.77%,并采用公式 (2) 计算干扰率:

干扰率 = $(I_{\text{后}} - I_{\text{前}})/I_{\text{前}} \times 100\%$, (2)

式中, $I_{\text{前}}$ 、 $I_{\text{后}}$ 分别为添加干扰物前、后的电流均值。

在依次添加葡萄糖、柠檬酸和苹果酸后,经计算,其干扰率分别是 1.22%、1.77% 和 0.64%,这说明传感器对果蔬体液中存在的常见有机物具有较强的抗干扰性。

2.6 MWCNTs/Au/PGE 维生素 C 传感器的重复性和稳定性

由于在电化学检测中,电极的使用次数和保存时间增加会导致检测峰电流衰减,因此为确认准确性,对 MWCNTs/Au/PGE 电极的重复性进行试验。在 180 $\mu\text{g/g}$ 的维生素 C 溶液中,同一根电极连续平行测试 4 次,相对标准偏差 (RSD) 为 2.7%,说明传

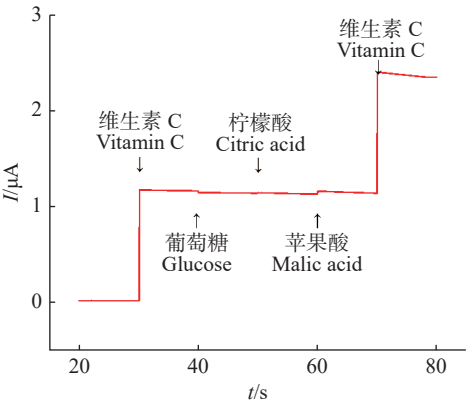


图 5 MWCNTs/Au/PGE 抗干扰测试
Fig. 5 Anti-interference test of MWCNTs/Au/PGE

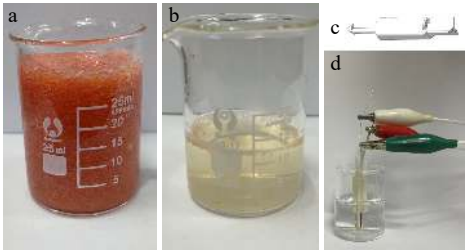
感器经多次使用后衰减很小, 可在现场检测中重复使用以节约成本。稳定性试验是在 180 μg/g 的维生素 C 溶液中进行的, 先取制备好的传感器进行测定并保存, 传感器清洗后在常温常压条件下放置 4 周, 在相同条件下测定的电流为原始值的 85.3%, 说明经长时间保存后传感器仍具有良好的稳定性。

2.7 MWCNTs/Au/PGE 维生素 C 传感器的实样检测分析

为验证 MWCNTs/Au/PGE 在实际应用中的效果, 对番茄果实中的维生素 C 含量进行检测, 如图 6 所示。将成熟番茄果实鲜榨后过滤获得果汁滤液, 经测定, 鲜榨果汁的 pH=4.9。选择 pH=5 的 PBS 为稀释液, 采用实样加标法^[28], 以 10 倍果汁稀释液为基底, 加入维生素 C 标准液 3 次 (5、10 和 20 μg/g), 根据标准曲线 (图 4) 计算每次加标后稀释液的维生素 C 含量, 用线性反推法求得 10 倍果汁稀释液的维生素 C 含量。加标回收率采用公式 (3) 计算:

加标回收率=(加标试样测定值-试样测定值)/
加标量×100%,
(3)

计算结果如表 1 所示, 10 倍稀释液的维生素 C 质



a: 番茄鲜榨; b: 番茄鲜榨后过滤; c: 电极封装模具; d: 电化学测试过滤稀释 10 倍后的番茄汁
a: Fresh pressed tomato juice; b: Filtered fresh pressed tomato juice; c: Electrode packaging mold; d: Electrochemical test of the filtered tomato juice diluted 10 times
图 6 10 倍稀释的鲜榨番茄汁中维生素 C 含量的测定过程
Fig. 6 Determination of vitamin C content in 10-fold diluted fresh tomato juice

表 1 加标回收率法电化学检测番茄汁维生素 C 含量
Table 1 Electrochemical determination of vitamin C content in tomato juice by standard addition recovery method

加标量/ (μg·g ⁻¹) Spiked mass fraction	检测量/ (μg·g ⁻¹) Detection mass fraction	回收率/ % Recovery	相对标准 偏差/% Relative standard deviation
0	6.14		2.26
5	11.64	109.95	1.68
10	17.04	109.03	0.81
20	28.77	113.16	2.00

量分数为 6.14 μg/g, 3 次加标回收率均在 109%~113% 之间。将电化学法与采用钼蓝比色法的测定结果相对比, 2 种方法所测定的维生素 C 含量相近, 具体结果如表 2 所示。以上结果表明, MWCNTs/Au/PGE 可以准确地检测出番茄果实中的维生素 C 含量, 具有良好的实用性。

表 2 不同方法检测番茄汁中维生素 C 含量
Table 2 Vitamin C content in tomato juice detected by different methods

检测方法 Test method	线性方程 ¹⁾ Linear equation	决定系数 Determination coefficient (R ²)	w(维生素C)/(μg·g ⁻¹) vitamin C content	相对标准偏差/% Relative standard deviation
钼蓝比色法 Molybdenum blue colorimetry	y = 0.682 7x - 0.013 1	0.996 6	76.91	7.63
电化学法 Electrochemical method	y = 0.049 7x + 0.054 7	0.998 0	69.42	6.50

1) 钼蓝比色法线性方程中, y 为光密度, x 为维生素 C 质量浓度; 电化学法线性方程中, y 为电流, x 为维生素 C 质量分数
1) In the linear equation of molybdenum blue colorimetry, y is the absorbance and x is the vitamin C content; In the linear equation of electrochemical method, y is the current value, x is the vitamin C content

3 讨论与结论

由于常温下维生素 C 极易被氧化,快速精确地测定维生素 C 含量受到挑战。基于钼蓝比色法^[11]和液相色谱法^[7]的实验室送检方案存在操作繁琐、成本高昂和前处理时间长等弊端,可快速响应的电化学传感法成为实现现场快检的优选方式。为发展适用于农业的维生素 C 传感器,本研究以金纳米颗粒和多壁碳纳米管协同修饰铅笔芯,构建了高响应的 MWCNTs/Au/PGE 电极。本研究采用扫描电镜、XPS 光电子能谱、拉曼光谱等手段对 MWCNTs/Au/PGE 进行形貌和成分表征,结果表明,采用分步修饰法在铅笔芯表面成功沉积混合纳米结构。Dokur 等^[34]曾用金和碳纳米管修饰铅笔芯电极测定核黄素,所修饰电极活性面积较本研究小,本研究的 MWCNTs/Au/PGE 电极的活性面积达 0.204 cm^2 ,比 PGE 增加了 59.3%。表明本研究所采用的分步修饰法容易构建交联的混合纳米结构,增加电极活性面积提升催化效果。为保证所制备电极能在果蔬体液 pH 范围内应用,试验采用差分脉冲伏安法分别测定了 pH=4~8 条件下的含量-电流响应曲线。所拟合线性关系良好且差异极小,在 pH=5 时,电极具有最大的灵敏度。试验结果与龚德状等^[33]采用金磁微粒模拟酶修饰的传感器的最优 pH 条件相同。进一步研究测定成熟番茄汁液的 pH=4.9,所以最终选择在 pH=5 环境下,采用时间电流法实施快检。该法测得维生素 C 的线性检测限为 $1\sim 500\text{ }\mu\text{g/g}$,灵敏度达 $0.244\text{ }\mu\text{A}\cdot(\mu\text{g/g})^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ 。以 10 倍稀释的鲜榨番茄汁为对象进行实测,结果与钼蓝比色法所测得的维生素 C 含量相近。张巧云等^[17]采用纳米多孔金电化学传感器快速检测饮料中的维生素 C 含量,线性检测限为 $6.6\sim 160.0\text{ }\mu\text{g/g}$,显然本研究所制备的传感器性能更优,宽检测限更适合大多数农产品的现场快检。Li 等^[35]采用一次性不锈钢电极检测大豆幼苗中的生长素含量,不锈钢质地坚硬易于刺入根茎,便于活体检测和读取实时数据,为实现田间植物在线持续检测提供了后续研究方向。

本研究采用分步修饰法在铅笔芯电极上沉积了金纳米颗粒和多壁碳纳米管的混合纳米结构,成功制备了一种低成本、高响应的维生素 C 传感器。试验结果表明, MWCNTs/Au/PGE 具有宽的 pH 检测范围,对维生素 C 具有高选择性,且冷藏保存稳定性和重现性良好。对番茄果实进行检测,回收率在 109%~113% 之间, RSD 均小于 2.26%。本研究有望为快速检测果蔬维生素 C 含量提供新思路。

参考文献:

- [1] 赵春江. 智慧农业的发展现状与未来展望[J]. 华南农业大学学报, 2021, 42(6): 1-7.
- [2] 罗锡文, 廖娟, 胡炼, 等. 我国智能农机的研究进展与无人农场的实践[J]. 华南农业大学学报, 2021, 42(6): 8-17.
- [3] 岳学军, 蔡雨霖, 王林惠, 等. 农情信息智能感知及解析的研究进展[J]. 华南农业大学学报, 2020, 41(6): 14-28.
- [4] 郭新波, 唐岳立, 孙小芬, 等. 高等植物维生素 C 和维生素 E 代谢调控[J]. 植物生理学报, 2011, 47(8): 731-744.
- [5] MEDINA-LOZANO I, BERTOLÍN J R, DÍAZ A. Nutritional value of commercial and traditional lettuce (*Lactuca sativa* L.) and wild relatives: Vitamin C and anthocyanin content[J]. Food Chemistry, 2021, 359: 129864. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.129864.
- [6] MILADINOV Z, BALESEVIC TUBIC S, CRNOBARAC J, et al. Effects of foliar application of solutions of ascorbic acid, glycine betaine, salicylic acid on the yield and seed germination of soybean in South Eastern Europe conditions[J]. Zemdirbyste-Agriculture, 2020, 107(4): 337-344.
- [7] 王霞, 张维谊, 韩奕奕, 等. 高效液相色谱法测定水果和蔬菜中维生素 C 含量的不确定度评定[J]. 食品与机械, 2021, 37(5): 73-77.
- [8] PORTO I S A, SANTOS NETO J H, DOS SANTOS L O, et al. Determination of ascorbic acid in natural fruit juices using digital image colorimetry[J/OL]. Microchemical Journal, 2019, 149: 104031. [2021-11-25]. https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104031.
- [9] 张爱菊, 张小林. 荧光猝灭法测定维生素 C 片和果汁饮料中抗坏血酸的含量[J]. 理化检验(化学分册), 2020, 56(4): 395-399.
- [10] 叶青, 江志波. 酸碱滴定法与碘滴定法测定维生素 C[J]. 理化检验(化学分册), 2007, 43(5): 410.
- [11] 温欣荣, 涂常青. 分光光度法测定水果中维生素 C[J]. 化学世界, 2019, 60(1): 12-17.
- [12] 邱清莲, 吴斯燕, 刘光兰, 等. 含葡萄籽提取物的维生素 C 的测定[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(1): 39-44.
- [13] 李琛, 许庆铎, 边勇. 基于微流控阻抗传感器检测番茄环斑病毒[J]. 农业工程学报, 2020, 36(16): 142-148.
- [14] 杨康兵, 赵树鑫, 李方慧, 等. 基于多壁碳/金纳米管制备电极测定烟草中 14-3-3 蛋白与蛋白印迹的方法比较[J]. 昆明理工大学学报(自然科学版), 2021, 46(3): 132-140.
- [15] 张艳, 杜海军, 杜科志, 等. 电化学传感器检测植物生长调节剂的研究进展[J]. 化学试剂, 2021, 43(4): 458-465.
- [16] 李庆伟, 刘峥, 李海莹, 等. 金属有机骨架材料修饰玻碳电极循环伏安法测定维生素 C 片中抗坏血酸[J]. 理化检验(化学分册), 2017, 53(11): 1259-1264.
- [17] 张巧云, 程玮玮, 张岩, 等. 纳米多孔金电化学传感器构建及其对饮品中抗坏血酸的检测[J]. 食品科学, 2021, 42(20): 274-279.
- [18] ALONSO-LOMILLO M A, DOMÍNGUEZ-RENEDO O,

- SALDAÑA-BOTÍN A, et al. Determination of ascorbic acid in serum samples by screen-printed carbon electrodes modified with gold nanoparticles[J]. *Talanta*, 2017, 174: 733-737.
- [19] 王晓健, 晋日亚, 乔怡娜, 等. 铅笔芯电化学传感器研究进展[J]. *应用化工*, 2020, 49(1): 217-220.
- [20] MOHAMMAD-REZAEI R, SOROODIAN S, ESMAEILI G. Manganese oxide nanoparticles electrodeposited on graphenized pencil lead electrode as a sensitive miniaturized pH sensor[J]. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 2019, 30(3): 1998-2005.
- [21] 郑霄, 陈苏靖, 李芳芳, 等. 基于活化铅笔芯电极的扑热息痛电化学传感器[J]. *分析科学学报*, 2020, 36(1): 13-18.
- [22] TORRINHA Á, AMORIM C G, MONTENEGRO M C B S M, et al. Biosensing based on pencil graphite electrodes[J]. *Talanta*, 2018, 190: 235-247.
- [23] CHEN G, ZHENG J. Non-enzymatic electrochemical sensor for nitrite based on a graphene oxide-polyaniline-Au nanoparticles nanocomposite[J/OL]. *Microchemical Journal*, 2021, 164: 106034. [2021-11-25]. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106034>.
- [24] XIAO T, HUANG J, WANG D, et al. Au and Au-based nanomaterials: Synthesis and recent progress in electrochemical sensor applications[J/OL]. *Talanta*, 2020, 206: 120210. [2021-11-25]. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120210>.
- [25] KILELE J C, CHOKKAREDDY R, REDHI G G. Ultra-sensitive electrochemical sensor for fenitrothion pesticide residues in fruit samples using IL@CoFe₂O₄NPs@MWCNTs nanocomposite[J/OL]. *Microchemical Journal*, 2021, 164: 106012. [2021-11-25]. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106012>.
- [26] NAWAZ M A H, MAJDINASAB M, LATIF U, et al. Development of a disposable electrochemical sensor for detection of cholesterol using differential pulse voltammetry[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2018, 159: 398-405.
- [27] NAVRATIL R, KOTZIANOVA A, HALOUZKA V, et al. Polymer lead pencil graphite as electrode material: Voltammetric, XPS and Raman study[J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2016, 783: 152-160.
- [28] LIU D, LI M, LI H, et al. Core-shell Au@Cu₂O-graphene-polydopamine interdigitated microelectrode array sensor for in situ determination of salicylic acid in cucumber leaves[J/OL]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2021, 341: 130027. [2021-11-25]. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.130027>.
- [29] LI P, LIU Z, YAN Z, et al. An Electrochemical sensor for determination of vitamin B2 and B6 based on AuNPs@PDA-RGO modified glassy carbon electrode[J]. *Journal of the Electrochemical Society*, 2019, 166(10): B821-B829.
- [30] WU L, LU Z, YE J. Enzyme-free glucose sensor based on layer-by-layer electrode position of multilayer films of multi-walled carbon nanotubes and Cu-based metal framework modified glassy carbon electrode[J]. *Biosensors Bioelectronics*, 2019, 135: 45-49.
- [31] SHA R, BADHULIKA S. Facile green synthesis of reduced graphene oxide/tin oxide composite for highly selective and ultra-sensitive detection of ascorbic acid[J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2018, 816: 30-37.
- [32] LI Q, HUO C, YI K, et al. Preparation of flake hexagonal BN and its application in electrochemical detection of ascorbic acid, dopamine and uric acid[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 260: 346-356.
- [33] 龚德状, 关桦楠, 吴巧艳, 等. 基于金磁微粒模拟酶电化学增强体系检测抗坏血酸[J]. *食品科学*, 2020, 41(16): 151-157.
- [34] DOKUR E, GORDUK O, SAHIN Y. Selective electrochemical sensing of riboflavin based on functionalized multi-walled carbon nanotube/gold nanoparticle/pencil graphite electrode [J/OL]. *ECS Journal of Solid State Science and Technology*, 2020, 9(12): 121003. [2021-11-25]. <https://doi.org/10.1149/2162-8777/abcdff>.
- [35] LI H, WANG C, WANG X, et al. Disposable stainless steel-based electrochemical microsensor for in vivo determination of indole-3-acetic acid in soybean seedlings[J]. *Biosensors Bioelectronics*, 2019, 126: 193-199.

【责任编辑 李晓卉】