

• 研究论文 •

有序中孔炭/四氧化三铁复合材料的制备及其用于血红蛋白的电化学研究

郑 静^{*,a,b} 赵家昌^a 龚 晨^a 刘 萍^a
陈 瑜^a 黄 焕^a 何品刚^b 方禹之^b

(^a 上海工程技术大学化学化工学院 上海 201620)

(^b 华东师范大学化学系 上海 200062)

摘要 采用微湿含浸法制备了有序中孔炭/四氧化三铁磁性材料. 采用透射电镜和 X 射线衍射对复合材料进行了表征. 将血红蛋白(Hb)固定于材料表面, 对其直接电化学行为进行了研究, 结果表明 Hb 在该材料内仍保持了其生物活性, 在 pH=7.0 的 PBS 缓冲液中, 血红蛋白表现出一对峰形良好的准可逆氧化还原峰, 为 Hb 的 Fe(III)/Fe(II) 电对的特征峰, 求出式电位 E^0 为 -0.306 V, 电子转移数为 $n=1.226$, 电荷传递系数为 $\alpha=0.51$, 表观异相电子转移速率常数为 $K_s=0.0144\text{ s}^{-1}$. 在 3.00×10^{-6} 到 $1.50\times 10^{-4}\text{ mol/L}$ 浓度范围内, 血红蛋白的浓度与其响应电流呈良好的线性关系, 线性相关系数为 $R=0.9924$, 最低检测限为 $0.270\times 10^{-6}\text{ mol/L}$.

关键词 有序中孔炭; 四氧化三铁; 制备; 血红蛋白; 直接电化学

Preparation of the Ordered Mesoporous Carbon/Fe₃O₄ and Its Application for the Direct Electrochemistry of Hemoglobin

Zheng, Jing^{*,a,b} Zhao, Jiachang^a Gong, Chen^a Liu, Ping^a
Chen, Yu^a Huang, Huan^a He, Pingang^b Fang, Yuzhi^b

(^a College of Chemistry and Chemical Engineering, Shanghai University of Engineering Science, Shanghai 201620)

(^b Department of Chemistry, East China Normal University, Shanghai 200062)

Abstract The novel magnetic composites of ordered mesoporous carbon/Fe₃O₄ were prepared with a micro-wetness impregnation method. The composites were characterized by transmission electron microscope and X-ray diffraction. Hemoglobin was immobilized onto the surface of the composites, and was shown to keep its biological activity well. The electrochemical behavior of Hb was studied, and a pair of well-defined, quasi-reversible cyclic voltammetric redox peaks was obtained, which was characteristics of Hb Fe(III)/Fe(II) redox couples. The formal potential (E^0), the electron transfer number (n), and transfer coefficient (α) were calculated to be -0.306 V, 1.226 and 0.51, respectively. The average apparent heterogeneous electron transfer rate constant (K_s) obtained for Hb was 0.0144 s^{-1} . Linear sweep voltammetric measurement of Hb indicated that the peak currents of Hb were linear to its concentration ranging from 3.00×10^{-6} to $1.50\times 10^{-4}\text{ mol/L}$ with the detection limits of $0.270\times 10^{-6}\text{ mol/L}$.

Keywords ordered mesoporous carbon; ferriferrous oxide; preparation; hemoglobin; direct electrochemistry

* E-mail: kkzhengjing707@163.com

Received July 30, 2011; accepted January 12, 2012.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 20675031) and Innovation Program of Shanghai Municipal Education Commission (No. 09YZ374).

国家自然科学基金(No. 20675031)和上海市教委(No. 09YZ374)资助项目.

蛋白质和酶等生物大分子是构成生命的主要单元^[1,2], 理解和认识它们在生命体内的电子转移机制和生理作用, 对于了解生命体系的能量转换和物质代谢, 传递机制具有重要的指导意义^[3]. 血红蛋白(Hb)是生物体内一类重要的蛋白质, 是由两条 α 和两条 β 多肽链构成的四聚体, 每条链上各结合一个亚铁血红素基团. 在生物体内起到传输氧气、分解 H_2O_2 、传递电子等与氧和能量代谢有关的重要活动, 在一切生命活动中起着关键作用^[4,5]. 血红蛋白本身有电活性中心, 但由于其分子空间结构庞大, 电活性基团被深埋在其多肽链的内部, 很难在电极表面直接交换电子, 得不到有效的电流响应^[6]. 所以许多研究都借助于电子传递介体、促进剂或特殊材料修饰电极的表面, 活化蛋白质的氧化还原中心, 并加速此类蛋白质电子传递^[7~11].

有序中孔炭材料常常作为超级电容器的电极材料^[12~17]. 其特殊的孔道有序性, 优良的导电性, 高的比表面积和较高的化学稳定性, 可以提供一个多孔的, 具有生物相容性的界面, 还可以有效提高基底电极的导电率^[18~20], 磁性材料作为一种新型的亲和性固相载体功能纳米材料, 作为基因载体有着优越的特性, 在生物检测和药物分析上有着重要的应用^[21~23]. 本文以 SBA15 为模板剂, 以糠醇为炭源, 以草酸为催化剂, 采用微湿含浸法制备了有序中孔炭. 并将磁性 Fe_3O_4 负载在有序中孔炭材料内, 采用透射电镜和 X 射线衍射, 对复合材料进行了表征. 在实验过程中, 将血红蛋白固定于该复合材料表面, 然后放入自制的电化学反应池中, 该电化学反应池的工作电极在底部, 如图 1 所示. 然后, 在磁场的存在下, 复合材料被吸着在电极表面, 最后, 通过检测血红蛋白的电化学信号, 实现对血红蛋白的检测. 中孔有序炭由于其特殊的孔道有序性, 大大提高了血红蛋白的负载量; 同时, 在磁场的存在下, 磁性四氧化三铁材料不仅起到分离作用, 而且又可使检测物富集在电极表面, 缩短了血红蛋白电化学中心与电极之间的距离, 形成了一定的分子传输通道, 实验结果表明, 该材料比表面积大, 有很好的生物相容性, 对血红蛋白具有良好的电化学响应. 可以实现在血样中血红蛋白的直接电化学测定.

1 实验部分

1.1 实验仪器

电化学所用仪器为 CHI420A 型电化学工作站(CHI 公司, 美国), 三电极系统分别为: 玻碳电极为工作电极, 银-氯化银电极为参比电极, 铂电极为辅助电极; JEM-100CX 透射电子显微镜(TEM) (JEOL, 日本); 日本

理学 D/Max-rB II 型 X 射线衍射仪; UV-1601PC 紫外分光光度计(日本岛津).

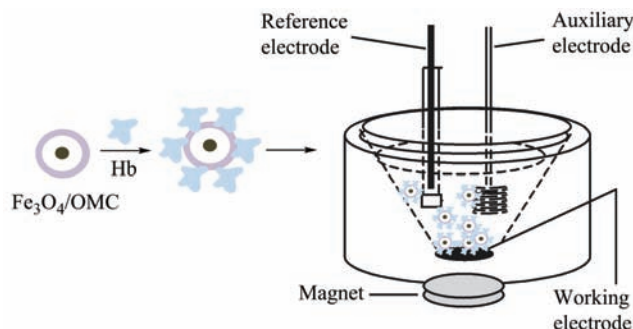


图 1 检测血红蛋白的示意图

Figure 1 Schematic representation of the detection for Hb

1.2 实验试剂

表面活性剂(Pluronic P123, $\text{PEO}_{20}\text{-PPO}_{70}\text{-PEO}_{20}$, BASF, 进口分装), 正硅酸四乙酯(TEOS, 分析纯, Aldrich), 糠醇(化学纯, 上海亭新化工试剂厂), 草酸(分析纯)、浓盐酸(分析纯)(国药集团上海化学试剂有限公司), 血小板源生长因子(PDGF)、血红蛋白(HB)、溶菌酶(Lysozyme)、凝血酶(Thrombin)、牛血清白蛋白(BSA)、L-色氨酸(L-Try)、L-组氨酸(L-His)、L-甲硫氨酸(L-Met)、肌红蛋白(Mb)、细胞色素 C(Sigma 公司); 抗坏血酸(AA), 血红蛋白测定试剂盒(上海鼎国生物技术有限公司), 实验在室温下进行, 溶液全部用二次蒸馏水配置, PBS 缓冲溶液($\text{pH}=7$), 溶液在实验前均通氮除氧 20 min, 电化学测定在氮气氛围下完成. 其余试剂均为分析纯.

1.3 实验方法

1.3.1 有序中孔炭材料(OMC)的制备方法

SBA-15 的制备按照文献的报道^[24], 将 1 g 经焙烧的 SBA-15 浸在含有 1 g AlCl_3 的 100 mL 乙醇溶液中, 在强烈搅拌下浸泡, 干燥, 在 550 $^{\circ}\text{C}$ 煅烧 5 h, 即得 Al-SBA-15. 将 1.6 g 糠醇溶于 5.4 g 乙醇, 取 1 g Al-SBA-15, 在室温下将配制好的糠醇溶液缓慢滴入到 Al-SBA-15 模板中并持续搅拌 1 h, 然后将其置入 90 $^{\circ}\text{C}$ 的烘箱内使糠醇聚合 5 h. 升温至 150 $^{\circ}\text{C}$, 保温 2 h 然后在 150 $^{\circ}\text{C}$ 下抽真空 3 h, 将反应混合物转入到管式炉中, 在氮气保护气氛下以 5 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的升温速率升到 900 $^{\circ}\text{C}$, 保温 3 h, 所得混合物随炉冷却至室温. 产物在 20% 的 HF 中浸蚀 1 h 后, 经去离子水洗至中性, 80 $^{\circ}\text{C}$ 烘干 2 h, 即得 OMC.

1.3.2 将 Fe_3O_4 负载在有序中孔炭材料内

以 1 g OMC 吸收水达湿润状态, 求出其浸渍量为 8 mL/g, 将 2.327 g $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 溶解于 8 mL 水中, 加

入 1 g 载体 OMC, 搅拌均匀, 使金属盐溶液浸渍到 OMC 的孔道中, 然后将其在 80 °C 烘干, 将上述混合物在通 N₂ 保护气体的管式炉里焙烧, 420 °C 保持 4 h 使其分解, 得到黑色粉末为 Fe₃O₄/OMC 复合材料。

1.3.3 血红蛋白的测定

将 20 μ L 一定浓度的血红蛋白溶液与 5 mg Fe₃O₄/OMC 充分混合, 在室温下搅拌 20 min, 使血红蛋白充分地吸附在 Fe₃O₄/OMC 表面, 所有的电化学检测在自制的电化学反应池中进行, 该电化学反应池的底部为直径为 5.0 mm 的玻碳电极, 电化学反应池中插入 Ag/AgCl 参比电极和 Pt 辅助电极, 测定时磁铁放在电化学反应池的底部, 用循环伏安和差分脉冲法来研究血红蛋白的电化学行为。

2 结果与讨论

2.1 Fe₃O₄/OMC 复合材料的 TEM 表征

Fe₃O₄/OMC 复合材料的透射电镜图如图 2 所示, 可以看出 OMC 的表面没有看到颗粒状物质, 部分四氧化三铁金属氧化物填充到 OMC 的有序孔道中。该有序的结构为血红蛋白在电极表面的电子传递提供了更好的界面。

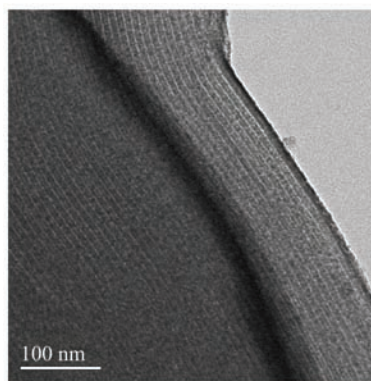


图 2 Fe₃O₄/OMC 的透射电镜图
Figure 2 TEM image of Fe₃O₄/OMC

2.2 Fe₃O₄/OMC 复合材料的 XRD 表征

图 3 是 Fe₃O₄/OMC 复合材料的 X 线衍射(XRD)图, 该材料的衍射峰较宽, 说明所得材料的颗粒尺寸很小, 材料属于非晶态。与 PDF 卡片对比, 所得样品与 PDF 卡片(32-1506)的衍射数据一致, 其特征峰为(311), (400), (440), 为四氧化三铁, 无其他杂质峰。

2.3 Hb 在 Fe₃O₄/OMC 复合材料上的紫外可见光谱表征

Hb 溶液的 UV-Vis 光谱在 410 nm 处有一个 Soret

吸收带(如图 4(a)所示)。Soret 吸收带位置可以提供血红蛋白是否变性的信息。当 Hb 变性时, Soret 吸收带发生位移或消失, 所以其在 410 nm 左右的 Soret 吸收峰位置的改变可以作为蛋白质是否变性的标志^[25]。图 4(b)是 Hb 和 Fe₃O₄/OMC 复合材料组装后溶液的 Soret 吸收带, 其位置与溶液中单纯的 Hb Soret 吸收带位置非常接近, 且吸收峰的峰形仍然很好地保持, 说明自组装过程中 Hb 分子仍保持其生物活性, 同时表明 Fe₃O₄/OMC 复合材料具有良好的生物兼容性。

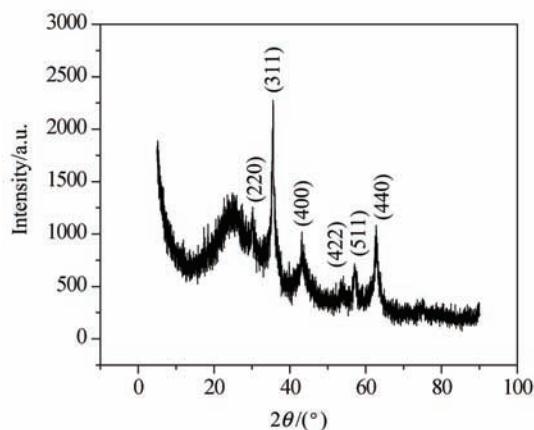


图 3 Fe₃O₄/OMC 复合材料的 XRD 图
Figure 3 XRD patterns of mesoporous Fe₃O₄/OMC

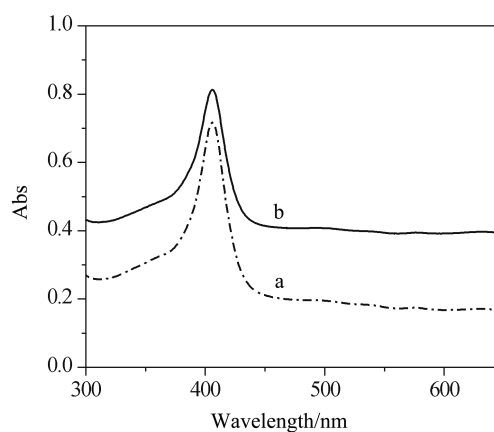


图 4 紫外可见光谱图
Figure 4 UV-vis absorption spectra of (a) Hb and (b) Hb@Fe₃O₄/OMC

2.4 Hb 的直接电化学

在 0.1 mol/L 的 PBS 溶液中考察了 Hb 在有序中孔炭掺杂四氧化三铁上的电化学行为。图 5 分别为纯 Hb (a)和按照 1.3.3 节的实验条件在 Fe₃O₄/OMC 上组装后在 PBS 中的循环伏安图(c)。比较 a, c 两条曲线可见, Hb 在光玻碳电极上基本没有电化学响应(图 5a), 这是因为血红蛋白的电活性基团被深埋在其多肽链的内部, 很难与

电极表面直接交换电子,而在 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OMC}$ 材料中在 -0.30 V 左右出现一对明显的氧化还原峰(图 5c),由此可见,包埋在有序中孔炭中的 Hb 分子不仅保持了其良好的电化学特征,并且 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OMC}$ 材料的存在促进了蛋白质与电极之间的电子传递,这主要是因为血红蛋白中的电活性中心血红素与蛋白质是以配位键和氢键相连的,当血红蛋白接触到电极表面上时,其电活性中心血红素直接与 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OMC}$ 表面的原子接触, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OMC}$ 材料不仅为 Hb 提供了一个多孔的,具有生物相容性的界面,而且有效提高了基底电极的导电率,加快了 Hb 的电子转移速率^[26,27],实现了血红蛋白的直接电子传递.实验结果表明,在电极下面没有加磁铁,血红蛋白的峰电流较小(图 5b),而加了磁铁后,由于 Fe_3O_4 的磁性,使得组装在 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OMC}$ 材料上的 Hb 能迅速富集在电极表面,得到了一对明显的氧化还原峰,大大提高了检测的灵敏度.

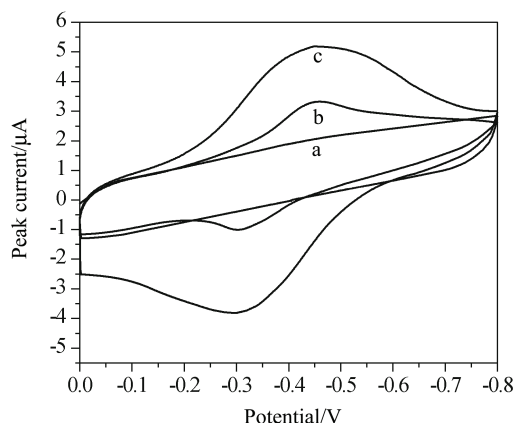


图 5 Hb 在 PBS 中的循环伏安图

Figure 5 Cyclic voltammograms of Hb

(a) Hb, (b) Hb in $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OMC}$ without magnet and (c) Hb in $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OMC}$ with magnet in 0.1 mol/L PBS (pH7.0) at a scan rate of 100 mV/s

由循环伏安图可知氧化峰和还原峰峰电位分别为 $E_{\text{pa}} = -0.235\text{ V}$ 和 $E_{\text{pc}} = -0.378\text{ V}$, 可以计算出 Hb 的式电位(E^0)为 -0.306 V , 这是 Hb 辅基血红素 $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ 电对的氧化还原特征. 峰电位差 ΔE_p 为 0.143 V , 同时氧化峰和还原峰峰电流值之比为 $i_{\text{pa}}/i_{\text{pc}} = 0.92$. 随着扫描速度的增加, 在 100 到 600 mV/s 范围内, 改变扫描速度, 阴、阳极峰电流 i_{pc} , i_{pa} 均随扫描速度而增大(见图 6), 与扫速成线性关系, 表明电极反应受表面过程控制^[28]. 并且随着扫描速度增加, 还原峰电位负移, 氧化峰电位正移, 但式电位基本不变(图 7 所示), 根据描述准可逆非扩散电化学过程的 Laviron 理论^[29], 阴极峰电位 E_{pc} 与 $\lg v$ 的斜率为 $-2.3RT/\alpha nF$, 阳极峰电位 E_{pa} 与 $\lg v$ 的斜率为 $-2.3RT/(1-\alpha)nF$, 可得到电子转移数 $n = 1.226$, 电子

转移系数 $\alpha = 0.51$, 接近 0.5 , 说明能垒基本对称, 符合准可逆过程特征, 按照 $E_p = (-RT/F) \ln k_s$ (E_p : 峰电位; R : 气体常数; T : 绝对温度(K); F : 法拉第常数), 可以求出平均异相电子转移常数 k_s 为 0.0144 s^{-1} .

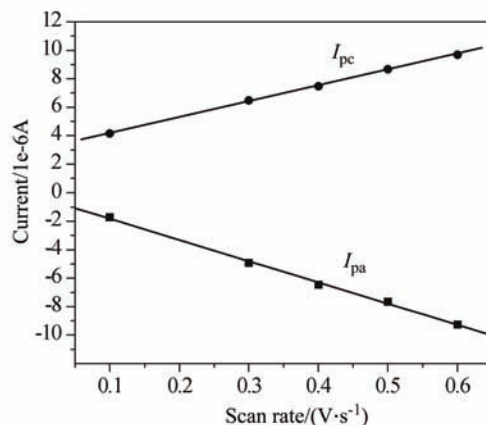


图 6 扫速与电流的关系

Figure 6 The relationship between scanning rate and peak current

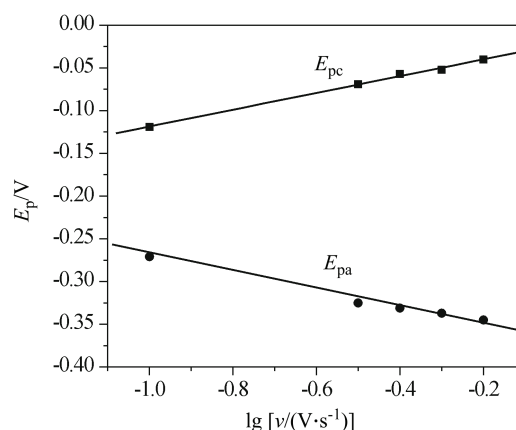


图 7 峰电位和扫速的关系

Figure 7 The relationship between scanning rate and peak potential

2.5 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OMC}$ 材料用量的影响

在实验中, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OMC}$ 复合材料的用量对 Hb 的电化学行为是有影响的, 在实验中, 我们选择了 $2.3 \sim 7.1\text{ mg}$ 不同的用量, 实验结果如图 8 所示, 在 $2.3 \sim 4.0\text{ mg}$ 之间, 随着 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OMC}$ 复合材料的增加, DPV 的峰电流值随之增加, 这是因为 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OMC}$ 复合材料提供了一个多孔的界面, 能组装更多的血红蛋白, 到 5 mg 附近, 达到一个平台, 而再增加该复合材料的量, 峰电流有所下降, 这是因为太多的复合材料在电极表面, 阻碍了电子转移, 所以在实验中, 选择 5 mg 作为实验条件.

2.6 pH 的影响

在 pH=5.0~9.0 范围内考察了 pH 值对负载在 Fe₃O₄/OMC 材料上的 Hb 的电化学行为的影响, 随着 pH 值增大, Hb 的氧化还原峰电位向负方向移动, E^0 与 pH 值呈线性关系(图 9 所示), 线性方程斜率为 51.3 mV/pH, 这一数值与伴随一个质子转移的单电子可逆电极反应的理论值 -57.6 mV/pH (18 °C) 相接近^[30]. 此外, 由于电子转移数 $n=1.226$, 近似为一个 Hb 辅基发生电子转移, 所以 Hb 在该材料上发生一个电子传递的同时还伴随着一个质子的转移:

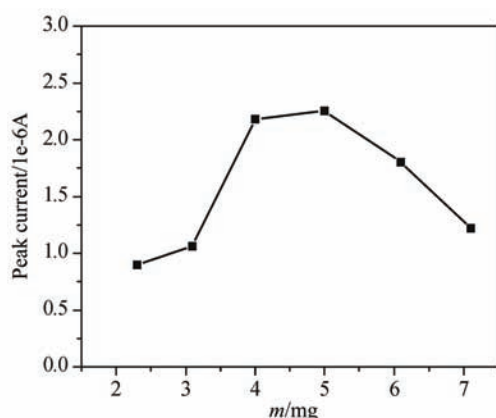
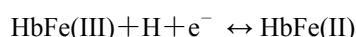


图 8 峰电流和 Fe₃O₄/OMC 用量的关系

Figure 8 The relationship between the peak current and the amount of Fe₃O₄/OMC

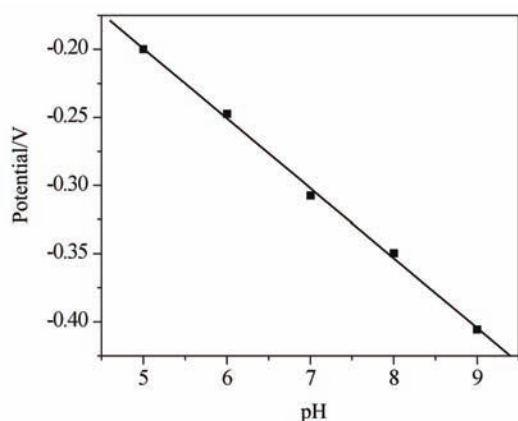


图 9 峰电位和 pH 的关系

Figure 9 The relationship between pH and peak potential

2.7 血红蛋白的电化学检测

图 10 为 pH 7.0 条件下, 不同浓度的 Hb 的 DPV 图和线性图. Hb 的加入使其在电位 -0.3 V 附近处有一个明显的峰出现, 这与在循环伏安实验中观察到的现象是一致的. 随着血红蛋白浓度的增加, 峰电流也相应地增

加, 其峰电流的增加值与 Hb 浓度呈现良好的线性关系, 进一步表明了有序中孔炭材料对 Hb 有良好的催化作用. 这种催化性能来自于中孔炭的有序结构, 当血红蛋白吸附在有序中孔炭负载磁性材料上时, 有序中孔炭独特的结构稳定性和合适的孔径尺度, 为蛋白质提供了合适的微环境, 为蛋白质与电极之间的相互作用提供更为高效的通道, 加速血红蛋白和电极间的电子传递速率^[31,32], 促进了蛋白质分子与电极间的电子转移过程. 在 3.00×10^{-6} 到 1.50×10^{-4} mol/L 浓度范围内, 血红蛋白的浓度与其响应电流呈良好的线性关系, 线性相关系数为 $R=0.9924$, 最低检测限为 0.270×10^{-6} mol/L. 该方法实现了在溶液中对血红蛋白的直接电化学检测.

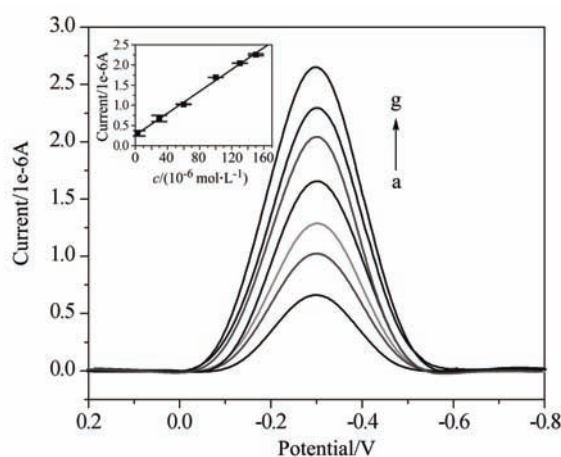


图 10 不同浓度的血红蛋白在 Fe₃O₄/OMC 材料上的差分脉冲伏安图

Figure 10 DPV response of Hb immobilized on Fe₃O₄/OMC (pH 7.0)

[Hb]=(a) 3.00×10^{-6} ; (b) 3.00×10^{-5} ; (c) 6.00×10^{-5} ; (d) 1.00×10^{-4} ; (e) 1.30×10^{-4} ; (f) 1.50×10^{-4} ; (g) 2.00×10^{-4} mol/L

2.8 共存物质的影响

对于几种可能存在的干扰物质进行试验, 在所确定的实验条件下, 几种共存物质的干涉影响列在表 1 上. 从表中可以看出, 大部分共存物质如常见的氨基酸以及一些金属离子, 在 100 倍以上浓度时, 没有产生明显的干扰, 引起的误差都小于 5%. 200 倍的抗坏血酸(AA)也无干扰. 另外, 100 倍量的溶菌酶, 5 倍的凝血酶, 血清白蛋白(BSA), 血小板衍生因子(PDGF)在该电位下也不干扰血红蛋白的检测.

2.9 血液样品的测定

肌红蛋白(Mb)^[33,34]、血红蛋白(Hb)^[35]、细胞色素 C^[36,37]等含有血红素的蛋白质, 都可实现 Fe(III)/Fe(II)电对与电极之间直接、可逆、快速的电子传递过程. 在正常人血样品种, Mb 的浓度只有 $5 \times 10^{-10} \sim 5 \times 10^{-9}$ mol/L^[38], 而细胞色素 C 的含量为 $2.0 \times 10^{-10} \sim 2.0 \times 10^{-9}$

mol/L^[39], 低于用该方法的检测限. 而正常血样中 Hb 的含量为 $1.7 \times 10^{-3} \sim 2.8 \times 10^{-3}$ mol/L^[38]. 因此, 用该方法可以实现在实际血样中 Hb 的浓度测定.

取血液 20 mL, 取 2 mL 肝素抗凝血, 离心, 吸去上层血浆, 用生理盐水稀释混和, 离心, 吸出上清液, 最后加生理盐水补足 2 mL, 在 4 °C 冰箱中储存备用. 将

处理好的血样稀释 1000 倍, 在相同条件下连续测定 5 次, 平均峰电流值为 0.456×10^{-6} A, 计算得出血样中血红蛋白的浓度为 2.05×10^{-3} mol/L. 本血样采用标准分光光度法测得结果为 2.04×10^{-3} mol/L, 说明该电化学方法可以用于生物体系中 Hb 的分析检测.

表 1 体系中共存物质的影响

Table 1 Influence of co-existing substances on the system ($c_{\text{Hb}}: 3.00 \times 10^{-5}$ mol/L)

Substance	Concentration/(10^{-5} mol·L ⁻¹)	$\Delta I_p/\%$	Substance	Concentration/(10^{-5} mol·L ⁻¹)	$\Delta I_p/\%$
BSA	14.7	-4.2	L-Met	274.8	1.83
L-Try	303.57	1.34	AA	601.8	-3.08
PDGF	15	3.6	NaCl	1591.38	2.88
Thrombin	15	-3.46	Zn(NO ₃) ₂	339.6	2.86
Lysozyme	300.0	4.91	CaCl ₂	297.3	3.57
L-His	322.26	-1.96			

表 2 血样品中血红蛋白的测得值及其回收率($n=5$)

Table 2 Content of Hb in the diluents of human blood samples and recoveries^a

Detected/ (10^{-5} mol/L)	Content in human blood/(10^{-3} mol/L)	Deviation/ %	Added/ (10^{-5} mol/L)	Found/ (10^{-5} mol/L)	Recovery/%	Determined by spectrophotometry/(10^{-3} mol/L)
2.05	2.05	2.25	2.48	4.49	98.38	2.04

^a The values shown are calculated from the calibration curves and are mean of $n=5$ in each case.

3 结论

本文采用微湿含浸法制备了一种有序中孔炭/四氧化三铁磁性复合材料, 并成功地将血红蛋白固定在该材料表面, 紫外光谱实验结果表明, 血红蛋白仍旧保持了良好的生物活性. 有序中孔炭的存在有效地提高了 Hb 的负载量, 磁性材料的存在可以实现在溶液中对血红蛋白的直接检测, 血红蛋白在此界面上可实现快速直接电子转移, 研究了负载在该复合材料上的血红蛋白的电化学行为, 求解了其相应的电化学参数, 该方法可用于实现在血样等实际样品中血红蛋白的富集和直接测定.

References

- Li, Y. P.; Cao, H. B.; Zhang, Y. *Acta Phys.-Chim. Sin.* **2005**, 21(2), 187 (in Chinese).
(李玉平, 曹红斌, 张懿, 物理化学学报, **2005**, 21(2), 187.)
- Cai, C. X.; Chen, J. *Acta Chim. Sinica* **2004**, 62(3), 335 (in Chinese).
(蔡称心, 陈静, 化学学报, **2004**, 62(3), 335.)
- Shen, L.; Hu, N. F. *Anal. Biochem.* **2004**, 1608(1), 23.
- Qin, Y. H.; Qin, Y. C.; Guan, X. H.; Zhou, L. H.; Wang, S. T. *J. Lanzhou Univ.* **2007**, 43(5), 54 (in Chinese).
(秦玉华, 秦玉春, 关晓辉, 周立恒, 王胜天, 兰州大学学报, **2007**, 43(5), 54.)
- Yuan, R.; Cao, S. R.; Chai, Y. Q.; Gao, F. X.; Zhao, Q.; Tang, M. Y.; Tong, Z. Q.; Xie, T. *Sci. China (Chemistry)* **2007**, 7(2), 170 (in Chinese).
(袁若, 曹淑瑞, 柴雅琴, 高凤仙, 赵青, 唐明宇, 童忠强, 谢铁, 中国科学(化学), **2007**, 7(2), 170.)
- Zhou, Y. L.; Hu, N. F.; Zeng, Y. H.; Rushing, J. F. *Langmuir* **2002**, 18(1), 211.
- Dong, S. Y.; Zhang, P. H.; Liu, H.; Li, N.; Huang, T. L. *Bio-sens. Bioelectron.* **2011**, 26(10), 4082.
- Garabagiu, S.; Mihailescu, G. *J. Electroanal. Chem.* **2011**, 659(2), 196.
- Wang, S. F.; Chen, T.; Zhang, Z. L.; Shen, X. C.; Lu, Z. X.; Pang, D. W.; Wong, K. Y. *Langmuir* **2005**, 21(20), 9260.
- Dai, Z. H.; Ju, H. X. *Acta Phys.-Chim. Sin.* **2004**, 20(10), 1262 (in Chinese).
(戴志晖, 鞠焜先, 物理化学学报, **2004**, 20(10), 1262.)
- Zhu, Z. H.; Li, X.; Zeng, Y.; Sun, W.; Zhu, W. M.; Huang, X. T. *J. Phys. Chem. C* **2011**, 115(25), 1254.
- Li, W. C.; Nong, G. Z.; Lu, A. H.; Hu, H. Q. *J. Porous Mater.* **2011**, 18(1), 23.
- Feng, J. C.; Zhao, J. C.; Tang, B. H.; Liu, P.; Xu, J. L. *J. Solid State Chem.* **2010**, 183(12), 2932.
- Xing, W.; Qiao, S. Z.; Ding, R. G.; Li, F.; Lu, G. Q.; Yan, Z. F.; Cheng, H. M. *Carbon* **2006**, 44(2), 216.
- Wang, L. P.; Zhou, Y.; Qiu, J. S. *New Carbon Mater.* **2011**, 26(3), 204.
- Kim, W. Y.; Kang, M. Y.; Joo, J. B.; Kim, N. D.; Song, P.

- K.; Yoon, J. R.; Yi, J. H. *J. Power Sources* **2010**, 195(7), 2125.
- 17 Li, L. X.; Song, H. H.; Chen, X. H. *Electrochim. Acta* **2006**, 51(26), 5715.
- 18 Kruk, M.; Jaroniec, M.; Ryoo, R.; Joo, S. H. *J. Phys. Chem. B* **2000**, 104(33), 7960.
- 19 Bo, X. Q.; Bai, J.; Qi, B.; Guo, L. P. *Biosens. Bioelectron.* **2011**, 28(1), 77.
- 20 Yang, H. J.; Lu, B. P.; Qi, B.; Guo, L. P. *J. Electroanal. Chem.* **2011**, 660(1), 2.
- 21 Wang, J.; Kawde, A. N. *Electrochem. Commun.* **2002**, 4(4), 349.
- 22 Zheng, J.; Feng, W. J.; Lin, L.; Zhang, F.; Cheng, G. F.; He, P. G.; Fang, Y. Z. *Biosens. Bioelectron.* **2007**, 23(3), 341.
- 23 Zheng, J.; Cheng, G. F.; Feng, W. J.; He, P. G.; Fang, Y. Z. *Acta Chim. Sinica* **2010**, 68(14), 1427 (in Chinese).
(郑静, 程圭芳, 冯婉娟, 何品刚, 方禹之, 化学学报, **2010**, 68(14), 1427.)
- 24 Zhao, D.-Y.; Huo, Q.-S.; Feng, J.-L.; Chmelka, B. F.; Stucky, G. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120(24), 6024.
- 25 Hu, N. F.; Zeng, Y. H. *Chemistry* **2001**, 64(3), 152 (in Chinese).
(胡乃非, 曾泳淮, 化学通报, **2001**, 64(3), 152.)
- 26 Barroug, A.; Lernoux, E.; Lemaitre, J.; Rouxhet, P. G. *J. Colloid Interface Sci.* **1998**, 208(1), 147.
- 27 Zhang, C. L.; Liu, M. C.; Li, P.; Zhang, L.; Jin, L. T. *Chemical Sensor* **2004**, 24(4), 17 (in Chinese).
(张成林, 刘梅川, 李平, 张莉, 金利通, 化学传感器, **2004**, 24(4), 17.)
- 28 Yang, J.; Hu, N. F. *Bioelectrochem. Bioenerg.* **1999**, 48(2), 117.
- 29 Yoon, H. C.; Hong, M. Y.; Kim, H. S. *Anal. Chem.* **2000**, 72(18), 4420.
- 30 Laviron, E. J. *Electroanal. Chem.* **1979**, 101(1), 19.
- 31 Topoglidis, E.; Campbel, C. J.; Cass, A. E. G.; Durrant, J. R. *Langmuir* **2001**, 17(25), 7899.
- 32 Topoglidis, E.; Astuti, Y.; Duriaux, F.; Michael, G.; Durrant, J. R. *Langmuir* **2003**, 19(17), 6894.
- 33 Paulo, T. D.; Diogenes, I. C. N.; Abruna, H. D. *Langmuir* **2011**, 27(5), 2052.
- 34 Guo, X. H.; Zheng, D.; Hu, N. F. *J. Phys. Chem. B* **2008**, 112(48), 15513.
- 35 Xu, J.; Liu, C. H.; Wu, Z. F. *Microchim. Acta* **2011**, 172(3), 425.
- 36 Zhou, Y. L.; Zhi, J. F.; Zou, Y. S.; Zhang, W. J.; Lee, S. T. *Anal. Chem.* **2008**, 80(11), 4141.
- 37 Casalini, S.; Battistuzzi, G.; Borsari, M.; Bortolotti, C. A.; Ranieri, A.; Sola, M. *J. Phys. Chem. B* **2008**, 112(5), 1555.
- 38 Liu, M. C.; Li, P.; Zhang, L.; Xian, Y. Z.; Ding, H. C.; Zhang, C. L.; Zhang, F. F.; Jin, L. T. *Chin. J. Chem.* **2005**, 23(8), 983.
- 39 Yan, W.; Zhang, A. M.; Wang, H. S. *Physical and Chemical Testing (Chemical)*, **2008**, 44(2), 107 (in Chinese).
(闫炜, 张爱梅, 王怀生, 理化检验-化学分册, **2008**, 44(2), 107.)

(A1107302 Cheng, B.)