• 研究论文 •

纳米 SnSe₂ 空心球上乙酰胆碱酯酶的固定及辛硫磷传感器的构建

张 灿 张金星 王 坤 戴志晖*

(江苏省生物功能材料重点实验室 南京师范大学化学与材料科学学院 南京 210097)

摘要 描述了一种将乙酰胆碱酯酶固定在 SnSe₂ 空心球上检测辛硫磷的简单方法, 用水热法合成了 SnSe₂ 空心球, 并用透射电镜对其表征. 固定的乙酰胆碱酯酶能保持其生物学活性, 催化乙酰胆碱为胆碱, 胆碱被氧化产生可检测的信号. 基于辛硫磷对乙酰胆碱酯酶活性有抑制作用这个机理, 在理想条件下, 这种传感器对辛硫磷检测的线性范围是 0.008~56 µg/mL, 检测限为 0.004 µg/mL. 这种新型的传感器有很好的稳定性和重现性. 这项工作表明 SnSe₂ 空心球可以作为固定乙酰胆碱酯酶的理想载体并用于构建相应的传感器.

关键词 乙酰胆碱酯酶; SnSe₂ 空心球; 辛硫磷

Immobilization of Acetylcholinesterase on SnSe₂ Hollow Spheres for Sensitive Detection of Phoxim

Zhang, Can Zhang, Jinxing Wang, Kun Dai, Zhihui*

(Jiangsu Key Laboratory of Biofunctional Materials, College of Chemistry and Materials Science,
Nanjing Normal University, Nanjing 210097)

Abstract A simple method for immobilization of acetylcholinesterase (AChE) on SnSe₂ hollow spheres for detection of phoxim was described. SnSe₂ hollow spheres were prepared by hydrothermal methods and were characterized by TEM. The immobilized AChE retained its biological activity well and could catalyze the hydrolysis of acetylthiocholine to form thiocholine, which was then oxidized to produce detectable signal. Based on the inhibition toward the enzymatic activity of AChE by phoxim, under optimal conditions, the sensors could be used for the determination of phoxim ranging from 0.008 to 56 µg/mL with the detection limit of 0.004 µg/mL. The developed phoxim biosensors exhibited good stability and reproducibility. This work demonstrated that SnSe₂ hollow sphere could be served as an ideal carrier for immobilization of AChE to fabricate corresponding biosensor.

Keywords acetylcholinesterase; SnSe₂ hollow spheres; phoxim

杀虫剂(除草剂, 杀菌剂)被广泛地用于工农业生产中^[1,2], 它们中绝大多数都是有毒的, 在生物体中的聚集可以导致一系列严重疾病的产生^[3,4]. 随着越来越多杀虫剂的问世, 残留在食品中的杀虫剂的检测主要着眼于如何选择高效的检测方法^[5]. 有机磷化合物作为农业生产中最常用的一类杀虫剂, 是典型的高毒性物质, 其痕

量检测对人体健康和环境保护都有重要意义^[6]. 有机磷农药中毒的机理一般被认为是其抑制了乙酰胆碱酯酶(AChE)的活性造成组织中乙酰胆碱的积聚, 引起胆碱受体活性紊乱, 从而使胆碱受体的器官功能发生障碍. 因此 AChE 被广泛用于有机磷杀虫剂的检测. 相比于其他的检测手段, 如气相色谱^[7]、液相色谱^[8]以及薄层色

* E-mail: daizhihui@njnu.edu.cn; Tel./Fax: 0086-025-83598280

Received August 2, 2011; revised November 25, 2011; accepted December 14, 2011.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21175069), the Program for New Century Excellent Talents in University (No. NCET-09-0159) and the Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions.

国家自然科学基金(No. 21175069)、教育部新世纪优秀人才支持计划(No. NCET-09-0159)和江苏省优势学科资助项目.

谱^[9]、气质联用^[10]等方法, 电化学检测手段操作简单且灵敏度高^[11,12]. 当 AChE 被固定在工作电极的表面, 会和氯化乙酰硫代胆碱(ATCl)相互作用, 产生一个氧化峰, 有机磷对 AChE 的抑制程度可以从氧化峰电流的降低值得出判断^[13,14].

近来, 纳米材料如金^[15], 氧化锆^[16], 四氧化三铁^[17]等纳米材料被广泛用于构建 AChE 传感器, 并显示出良好的生物相容性^[18~21]. 牡丹等^[22,23]分别将金胶纳米粒子和纳米碳管用来构建 AChE 传感器并用于有机磷农药的检测, 所构建的生物传感器具有灵敏度高、响应速度快等优点.

IV-VI 族半导体化合物硒化锡可形成多种化学计量的硒锡化合物, 如 SnSe, SnSe₂ 和 Sn₂Se₃, 其中 SnSe 和 SnSe₂ 有着广阔的应用前景^[24,25]. SnSe₂ 是一种重要的半导体材料, 禁带宽度约为 0.9 eV, 具有优良的电学、光学性质^[26], 广泛应用于红外光电仪器和记忆切换开关、全息图的固相介质等领域. Achimovicova^[27]用机械化学法合成了 SnSe₂, Amalraj 等^[28]用喷雾热解法合成了 SnSe₂ 纳米片. 彭红瑞等^[29]采用溶剂热法快速合成 SnSe₂ 纳米片, 此方法反应条件温和, 可快速合成所需产物, 为大规模制备 SnSe₂ 纳米片提供了实验依据.

本实验中, 我们以 SnCl₂·2H₂O 和 SeO₂ 为原料, 用水热法制得了 SnSe₂ 纳米粒子, 并用透射电镜(TEM)对其进行了表征, 结果显示通过此法制得的 SnSe₂ 纳米粒子为直径 100 nm 的空心球结构. 关于此结构的 SnSe₂ 纳米粒子还鲜有报道. 将这种新型的 SnSe₂ 纳米球粒子应用于 AChE 传感器的构建中, 发展了一种灵敏度高、选择性好的 AChE 传感器.

1 实验部分

1.1 试剂

AChE (C3389-500UN)购自 electric eels 公司, ATCl 和辛硫磷均购自 Sigma 公司, 其它试剂均为分析纯, 以上试剂在使用时没有进一步提纯. 其他试剂均为分析纯, 实验中所用水均为二次蒸馏水.

1.2 纳米 SnSe₂ 的制备方法

称取 0.1896 g (0.001 mol) SnCl₂·2H₂O 加入到 5 mL 去离子水中, 超声分散, 形成悬浊液 A (0.06 g/mL); 称取 0.11 g SeO₂ 加入到 5 mL 去离子水中形成溶液 B. 用磁力搅拌混合均匀后, 将溶液 B 逐滴加入到悬浊液 A 中, 搅拌 10 min 后形成悬浊液 C, 磁力搅拌 10 min 混合均匀, 混合液倒入容积为 50 mL 的聚四氟乙烯烧杯中 (填充率为 30%), 放入高压反应釜中, 在 160 °C 温度下, 反应 10 h. 反应结束后, 将得到的黑色沉淀依次用乙醇

和去离子水洗涤 2~3 次, 离心分离, 真空干燥, 得到浅黑色固体.

1.3 AChE 传感器的制备

玻碳电极(GCE)在每次实验前分别用 6 号砂纸、0.3 和 0.05 μm Al₂O₃ 抛光粉抛光至镜面, 且在每次抛光步骤中间用二次水彻底冲洗, 然后分别在体积比为 1:1 HNO₃ 和 H₂O 溶液, 丙酮和二次水中连续超声清洗各 1 min. 将 2.0 mg SnSe₂ 纳米粉末分散在 1.0 mL 二次水中, 得到 2 mg/mL SnSe₂ 悬浊液. 取 3.0 μL SnSe₂ 悬浊液滴涂到预处理好的玻碳电极表面, 在干燥器中放置, 晾干后再滴涂 3.0 μL 3 mg/mL AChE 溶液于 SnSe₂/GCE 上, 将修饰电极于干燥器中晾干后再滴涂 3.0 μL 壳聚糖(Chi), 制成 Chi/AChE/SnSe₂/GCE.

1.4 仪器

样品的形貌和粒子大小用透射电镜(JEOL-2100, 日本)表征; 循环伏安法是在 CHI 660B 电化学工作站(CH Instrument)上进行的; 所有电化学测定都是在室温下以 5.0 mL 0.1 mol/L 的磷酸盐缓冲液作为电解质溶液进行的, 温度控制在(25±2) °C. 采用三电极系统, 铂电极为对电极, 饱和甘汞电极为参比电极, 修饰电极作为工作电极.

1.5 辛硫磷的电化学检测

电化学检测辛硫磷时, 首先将 Chi/AChE/SnSe₂/GCE 在含有不同浓度辛硫磷的磷酸盐标准溶液中浸泡 10 min, 然后将电解池中加入 1.0 mL 含有 0.4 mmol/L ATCl, pH=7.0 的磷酸盐缓冲液, 用循环伏安法探究其电化学响应. 抑制率可按如下公式计算:

$$\text{抑制率}/\%=(I_0-I_t)/I_0\times 100\%$$

上式中 I_0 表示在 Chi/AChE/SnSe₂ 修饰电极上 ATCl 的峰电流, I_t 表示在辛硫磷抑制剂存在下 Chi/AChE/SnSe₂ 修饰电极上 ATCl 的峰电流.

1.6 高效液相色谱检测方法

仪器: 安捷伦 1100 高效液相色谱仪. 色谱条件: 色谱柱为 Shim-Pack; 流动相为 $V_{\text{甲醇}}:V_{\text{水}}=85:15$; 流速为 1.0 mL/min, 进样量 20 μL, 以峰面积外标法定量.

1.7 Chi/AChE/SnSe₂ 修饰电极的再生

Chi/AChE/SnSe₂ 修饰电极在辛硫磷溶液中浸泡后, 用磷酸盐缓冲液冲洗, 之后将此电极在 1.0 mmol/L 的丁二酮肟中再生 10 min, 在含有 0.4 mmol/L ATCl, pH=7.0 的磷酸盐缓冲溶液中, 用循环伏安法探究其电化学响应. 再生率可用下式来计算:

$$\text{再生率}/\%=(I-I_0)/(I_0-I_t)\times 100\%$$

式中 I 表示 Chi/AChE/SnSe₂ 修饰电极在肟中再生 10 min 后电极上 ATCl 的峰电流.

2 结果与讨论

2.1 SnSe_2 纳米粒子的表征

图 1 是制得的 SnSe_2 粒子的透射电镜图, 从图中看出产物的主要形貌是空心球状结构, 分散性较好, 其直径平均为 100 nm.

图 1 由 $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 和 SeO_2 在水中相中制得的 SnSe_2 的 TEM 图

Figure 1 TEM image of SnSe_2 synthesized by $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ and SeO_2

2.2 $\text{Chi}/\text{AChE}/\text{SnSe}_2$ 修饰电极的电化学行为

图 2 为 $\text{Chi}/\text{AChE}/\text{SnSe}_2$ 修饰电极在分别含有 0 (a) 和 0.4 (b) mmol/L ATCl 的 pH 7.0 PBS 中的循环伏安曲线. 结果显示, $\text{Chi}/\text{AChE}/\text{SnSe}_2$ 修饰电极在 pH 7.0 PBS 中扫描并没有峰出现, 当加入 0.4 mmol/L ATCl 后, 在 700 mV 处出现了一个氧化峰, 这个峰来自硫代胆碱, 是 ATCl 被 AChE 催化后的水解产物. Chi/SnSe_2 修饰电极上

图 2 $\text{Chi}/\text{AChE}/\text{SnSe}_2/\text{GCE}$ (a, b), $\text{Chi}/\text{AChE}/\text{GCE}$ (c), $\text{Chi}/\text{SnSe}_2/\text{GCE}$ (d) 在含有 0 (a) 和 0.4 mmol/L (b, c, d) ATCl 的 pH 7.0 PBS 中的循环伏安曲线, 扫速为 100 mV/s. 插图: $\text{Chi}/\text{AChE}/\text{SnSe}_2/\text{GCE}$ 上含有 0.4 mmol/L ATCl 时电流与扫速的关系

Figure 2 Cyclic voltammograms of the $\text{Chi}/\text{AChE}/\text{SnSe}_2/\text{GCE}$ (a, b), $\text{Chi}/\text{AChE}/\text{GCE}$ (c), $\text{Chi}/\text{SnSe}_2/\text{GCE}$ (d) in pH 7.0 PBS containing 0 (a) and 0.4 mmol/L (b, c, d) ATCl, scan rate: 100 mV/s. Inset: plot of peak current vs. scan rate at $\text{Chi}/\text{AChE}/\text{SnSe}_2/\text{GCE}$ in 0.4 mmol/L ATCl

没有氧化峰出现, 说明 SnSe_2 在该电势范围无活性, 而 $\text{Chi}/\text{AChE}/\text{SnSe}_2$ 修饰电极的扫描图的峰电流相比 Chi/AChE 修饰电极峰电流更大, 峰电位负移, 这是由于固定在玻碳电极上 SnSe_2 促进了 AChE 和电极间的直接电子转移, 可能是因为 SnSe_2 吸附在电极上造成了电极表面积增大, 吸附更多的酶. 图 2 插图显示电流与扫速的一次方成正比, 说明电极反应是表面控制过程.

2.3 $\text{Chi}/\text{AChE}/\text{SnSe}_2$ 修饰电极对辛硫磷的测定

图 3 为 $\text{Chi}/\text{AChE}/\text{SnSe}_2/\text{GCE}$ 在辛硫磷中抑制 10 min 后, 在含有 0.4 mmol/L ATCl 的 pH 7.0 PBS 中的循环伏安曲线. 0.4 mmol/L ATCl 在 $\text{Chi}/\text{AChE}/\text{SnSe}_2/\text{GCE}$ 上的峰电流下降. 这是因为这种杀虫剂有相当强的毒性, 并且能对电极上酶 AChE 产生不可逆的抑制, 从而降低了酶对底物的反应活性. 然而, 抑制速率与杀虫剂和酶的相互作用有关. 随着辛硫磷浓度的增大, 峰电流依次下降(a~d), 因此基于这个原理, 可以建立一种测定有机磷农药的简单易行的方法. 在理想条件下, 这种传感器能够检测辛硫磷的线性范围是 0.008~56 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 在浓度范围 0.008~5.12 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的线性系数为 0.9991, 在浓度范围 5.12~56 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的线性系数为 0.9942. 该线性范围比将 AChE 结合到碳纳米管与壳聚糖的交联物上测农药治螟磷的线性范围^[21]和用壳聚糖沉淀法测西维因的线性范围宽^[18], 也比将 AChE 固定在金胶修饰的电极上^[30]和金聚吡咯纳米复合材料上^[31]测得的线性范围宽. 在 10%抑制下, 检测限是 0.004 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (1.6×10^{-8} mol/L),

图 3 $\text{Chi}/\text{AChE}/\text{SnSe}_2/\text{GCE}$ 在 0 (a), 1 (b), 10 (c) 和 50 (d) $\mu\text{g}/\text{mL}$ 辛硫磷中抑制 10 min 后, 在含有 0.4 mmol/L ATCl 的 pH 7.0 PBS 中的循环伏安曲线. 插图: 抑制率与辛硫磷浓度的线性关系

Figure 3 Cyclic voltammograms of $\text{Chi}/\text{AChE}/\text{SnSe}_2/\text{GCE}$ in pH 7.0 PBS containing 0.4 mmol/L ATCl after inhibition by 0 (a), 1 (b), 10 (c) and 50 (d) $\mu\text{g}/\text{mL}$ phoxim for 10 min. Inset: plot of inhibition rate vs. phoxim concentrations

低于 AChE 固定在 QCdS-PVP 修饰玻碳电极上得到的 5×10^{-6} mol/L^[32]. 在较高浓度时, 辛硫磷的抑制作用倾向于有一个最大值, 表明辛硫磷与酶上的有效基团反应达到饱和, 此时产生最大抑制作用. 根据 Lineweaver-Burk 方程, Michaelis-Menten 常数为 0.68 $\mu\text{mol/L}$, 低于 AChE 固定在多壁碳纳米管对西维因的 0.96 $\mu\text{mol/L}$ ^[33], 说明 AChE 对辛硫磷有良好的亲和性.

2.4 抑制时间对 Chi/AChE/SnSe₂ 修饰电极响应的影响

抑制时间是鉴定杀虫剂性能很重要的参数之一. 随着在辛硫磷溶液中抑制时间的增加, Chi/AChE/SnSe₂/GCE 上 ATCl 的峰电流明显降低. 如图 4 所示, 随着抑制时间的延长, 辛硫磷对 AChE 的抑制作用加强. 当抑制时间超过 12 min, 此曲线趋向于一个平台, 表明辛硫磷与酶中有效基团的结合作用已达到饱和状态.

图 4 将 Chi/AChE/SnSe₂ 修饰电极浸入 10 $\mu\text{g/mL}$ 辛硫磷溶液中, 抑制时间对抑制效率的影响

Figure 4 Effect of inhibition time on phoxim inhibition after immersion of Chi/AChE/SnSe₂ modified electrode in 10 $\mu\text{g/mL}$ phoxim solution

2.5 生物传感器的稳定性和再生性

在 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下, 这种修饰电极在 0.1 mol/L pH=7.0 的磷酸缓冲液中保存一星期后, 仍然保持初始峰电流的 93%. 当保存一个月后, 能保持初始电流的 88%. 因此 SnSe₂ 能有效保持固定在电极上 AChE 的生物活性, 防止其从电极上脱落. 在检测 10 $\mu\text{g/mL}$ 辛硫磷时, 五根修饰电极的重现性相对标准偏差为 5.8%.

2.6 AChE 的再活化

AChE 在被辛硫磷不可逆抑制后能在亲核化合物中完全活化. 实验发现被辛硫磷抑制的 Chi/AChE/SnSe₂/GCE 在 1.0 mL 的丁二酮肟中浸泡 10 min 后能恢复到初始活性的 90%. 然而这种再活化过程在允许的再生性能下能重复 8 个循环.

2.7 实际样品检测

五根制备好的电极用来对五种辛硫磷样品进行分析, 所得结果与用高效液相色谱得到的数据进行比较. 表 1 中数据表明, 用这种生物传感器得到的结果与用高效液相色谱(HPLC)得到的结果一致. 对 1.06~10.28 $\mu\text{g/mL}$ 辛硫磷检测中, 五次检测的回收率在 95.7%~106.4%, 表明这种电极在检测辛硫磷时有较高的精密度. 实验结果表明, 迅速发展的辛硫磷生物传感器有望于实际生活中实现对杀虫剂的分析鉴定.

表 1 检测实际样品中辛硫磷的浓度^a

Table 1 Determination of phoxim concentrations in the real sample

样品序号	电化学检测		高效液相色谱检测	
	浓度/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	相对标准偏差/%	浓度/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	相对标准偏差/%
1	1.06	5.20	1.24	5.52
2	3.23	4.89	3.59	3.83
3	5.45	3.64	5.65	3.57
4	7.33	3.52	7.88	3.22
5	10.28	2.58	10.79	2.46

^a 以上结果是每个样品五次检测响应的平均值.

3 小结

在本工作中, 我们制备了 SnSe₂ 纳米空心球, 结果显示其为直径 100 nm 的空心球结构. 我们将其用于蛋白质的固定和传感器的制备, 实验结果表明 SnSe₂ 能有效地促进 AChE 和电极间的电子传递, 固定在 SnSe₂ 上的 AChE 保持了其自身的结构对 ATCl 显示出了更好的电流响应. SnSe₂ 对促进蛋白质的直接电子传递和传感器的制作提供了一个很好的载体.

References

- 1 Arduini, F.; Ricci, F.; Tuta, C. S.; Moscone, D.; Amine, A.; Palleschi, G. *Anal. Chim. Acta* **2006**, 580, 155.
- 2 Li, B. X.; He, Y. Z.; Xu, C. L. *Talanta* **2007**, 72, 223.
- 3 Garbin, J. R.; Milori, D. M. B. P.; Simoes, M. L.; Silva, W. T. L.; Neto, L. M. *Chemosphere* **2007**, 66, 1692.
- 4 Khanmohammadia, M.; Karimi, M. A.; Ghasemi, K.; Jabbari, M.; Garmarudi, A. B. *Talanta* **2007**, 72, 620.
- 5 Fytianos, K.; Raikos, N.; Theodoridis, G.; Velinova, Z.; Tsoukali, H. *Chemosphere* **2006**, 65, 2090.
- 6 Kim, T. H.; Kuca, K.; Jun, D.; Jung, Y. K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 2914.
- 7 López, F. J.; Pitarch, E.; Egea, S.; Beltran, J.; Hernández, F. *Anal. Chim. Acta* **2001**, 433, 217.
- 8 Corcia, A.; Marchetti, M. *Anal. Chem.* **1991**, 63, 580.

- 9 Futagami, K.; Narazaki, C.; Kataoka, Y.; Shuto, H.; Oishi, R. *J. Chromatogr. B* **1997**, *704*, 369.
- 10 Schellin, M.; Hauser, B.; Popp, P. *J. Chromatogr. A* **2004**, *1040*, 25.
- 11 Sun, X.; Wang, X. Y. *Biosens. Bioelectron.* **2010**, *25*, 2611.
- 12 Gong, J. M.; Miao, X. J.; Zhou, T.; Zhang, L. Z. *Talanta* **2011**, *85*, 1344.
- 13 Shi, M. H.; Xu, J. J.; Zhang, S.; Liu, B. H.; Kong, J. L. *Talanta* **2006**, *68*, 1089.
- 14 Massoulie, J.; Pezzementi, L.; Bon, S.; Krejci, E.; Vallette, F. M. *Prog. Neurobiol.* **1993**, *41*, 31.
- 15 Shulga, O.; Kirchhoff, J. R. *Electrochem. Commun.* **2007**, *9*, 935.
- 16 Liu, G. D.; Lin, Y. H. *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 5894.
- 17 Chauhan, N.; Pundir, C. S. *Anal. Chim. Acta* **2011**, *701*, 66.
- 18 Du, D.; Ding, J. W.; Cai, J.; Zhang, A. D. *Colloids Surf. B* **2007**, *58*, 145.
- 19 Du, D.; Chen, S. Z.; Cai, J.; Zhang, A. D. *Biosens. Bioelectron.* **2007**, *23*, 130.
- 20 Du, D.; Chen, S. Z.; Cai, J.; Song, D. D. *J. Electroanal. Chem.* **2007**, *611*, 60.
- 21 Kandimalla, V. B.; Ju, H. X. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 1074.
- 22 Du, D.; Huang, X.; Cai, J.; Zhang, A. D. *Sens. Actuators, A* **2007**, *127*, 531.
- 23 Du, D.; Chen, S. Z.; Cai, J.; Zhang, A. D. *Talanta* **2008**, *74*, 766.
- 24 Wang, W. Z.; Geng, Y.; Qian, Y. T.; Wang, C.; Liu, X. M. *Mater. Res. Bull.* **1999**, *34*, 403.
- 25 Shen, J.; Blachnik, R. *Thermochim. Acta* **2003**, *399*, 245.
- 26 Subramanian, B.; Sanjeeviraja, C.; Jayachandran, M. *J. Cryst. Growth* **2002**, *234*, 421.
- 27 Achimovicova, M.; da Silva, K. L.; Daneu, N.; Recnik, A.; Indris, S.; Hain, H.; Scheuermann, M.; Hahn, H.; Sepelak, V. *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 5873.
- 28 Amalraj, L.; Jayachandran, M.; Sanjeeviraja, C. *Mater. Res. Bull.* **2004**, *39*, 14.
- 29 Peng, H. R.; Huang, J. J. *Qingdao Univ. Sci. Technol.* **2006**, *27*, 427 (in Chinese).
(彭红瑞, 黄劲, 青岛科技大学学报, **2006**, *27*, 427.)
- 30 Du, D.; Ding, J. W.; Cai, J.; Zhang, A. D. *J. Electroanal. Chem.* **2007**, *605*, 53.
- 31 Gong, J. M.; Wang, L. Y.; Zhang, L. Z. *Biosens. Bioelectron.* **2009**, *24*, 2285.
- 32 Li, X. H.; Xie, Z.; Min, H.; Li, C.; Liu, M.; Xian, Y.; Jin, L. *Electroanalysis* **2006**, *18*, 2163.
- 33 Du, D.; Huang, X.; Cai, J.; Zhang, A. D. *Biosens. Bioelectron.* **2007**, *23*, 285.

(A1108021 Lu, Y.)