

• 研究论文 •

光致电化学鸟嘌呤传感器的制备及其应用

赵常志* 赵改爽 张兆霞 梁俊钰

(青岛科技大学化学与分子工程学院 山东青岛 266042)

摘要 将硫堇电聚合在光透电极的表面, 再利用壳聚糖将黄嘌呤氧化酶固定在具有光电活性的聚硫堇光透电极的表面上制备了光致电化学鸟嘌呤传感器。基于同时具有光敏和电子受体功能的聚硫堇光电界面, 该传感器能与黄嘌呤氧化酶催化鸟嘌呤氧化而产生的电子供体(过氧化氢)产生光致电化学响应, 通过测量光致电化学反应产生的光电流实现了对鸟嘌呤的检测。文中探讨了传感器的光致电化学响应机理, 讨论了偏压、酶量、电解质溶液 pH 对传感器测定鸟嘌呤的影响。在优化的实验条件下, 该传感器对鸟嘌呤的测定范围为 1.00~200 $\mu\text{mol/L}$, 检出限为 0.55 $\mu\text{mol/L}$, 9 次测定的相对标准偏差小于 3.92%。应用该传感器对酸解 DNA 脱出的鸟嘌呤基和药品阿昔洛韦进行的检测实验显示, 相对标准偏差小于 5.37%, 加标回收率为 96.8%~106%。该传感器的制备和对鸟嘌呤的检测不需要过氧化物酶, 不需要除氧, 有经济、简便等优点。

关键词 鸟嘌呤传感器; 光致电化学; 鸟嘌呤; 黄嘌呤氧化酶; 鲑鱼精 DNA; 阿昔洛韦

Preparation and Application of Photoelectrochemical Guanine Sensor

Zhao, Changzhi* Zhao, Gaishuang Zhang, Zhaoxia Liang, Junyu

(College of Chemistry & Molecular Engineering, Qingdao University of Science & Technology,
Qingdao 266042, China)

Abstract We report herein a new guanine sensor for the determination of guanine based on a photoelectrochemical effect of poly(thionine) photoelectrode to hydrogen peroxide (H_2O_2). The photoelectrode was fabricated by electropolymerizing thionine on the surface of ITO electrode. And then xanthine oxidase was immobilized on the photoelectrode via the aid of chitosan enwrapping, forming an enzyme-modified photoelectrode. The photoelectrode was employed as an electron acceptor, and H_2O_2 from the catalytic reaction of enzyme was employed as an electron donor, the guanine can be detected due to photoelectrochemical effect between photoelectrode and H_2O_2 . In the paper, photoelectrochemical effects of photoelectrode to H_2O_2 and guanine were studied. Effects of bias voltage, illumination intensity and electrolyte pH on the photocurrent were investigated. The linear response of guanine concentrations ranged from 1.00~200 $\mu\text{mol/L}$ was obtained with a detection limit of 0.55 $\mu\text{mol/L}$. The guanine sensor was successfully applied to detect the disorganization of DNA mediated by heating acid solution and active ingredient of aciclovir. The relative standard deviation (RSD) was less than 5.37% and the recovery was in the range of 96.8%~106% for the determination of samples. The preparation of the sensor and the detection of guanine have the advantages of economy and simpleness due to without peroxidase and deoxygenated.

Keywords guanine sensor; photoelectrochemistry; guanine; xanthine oxidase; herring sperm DNA; aciclovir

* E-mail: zhaocz@qust.edu.cn

Received December 6, 2011; accepted March 20, 2012.

Project supported by the Natural Science Foundation of Shandong Province (No. 2009ZRB01393) and Electroanalytical Chemistry State Key Laboratory Fund (No. SKLEAC201106).

山东省自然科学基金(No. 2009ZRB01393)和电分析化学国家重点实验室开放基金(No. SKLEAC201106)资助项目。

鸟嘌呤(Guanine, 2-氨基-1*H* 嘌呤-6-酮)是一种含有稠合嘧啶环和咪唑环的嘌呤类杂环化合物,是嘌呤类药物(如阿昔洛韦)的主体。鸟嘌呤也是一种重要的生物碱,在生物体内,它的含量虽少但具有重要的生理功能,是DNA的重要组成部分。检测体液中嘌呤及核苷的升高水平可以预测DNA的损伤程度^[1,2],指示某些疾病的发生,对于研究DNA的代谢过程以及损伤机理的研究十分重要。在组成DNA的4个碱基中,由于鸟嘌呤最具氧化还原活性^[3],所以DNA的氧化性损伤一般发生在鸟嘌呤基^[4]。基于鸟嘌呤在DNA中的重要性及其电化学性质,它的氧化机理已被详细的研究^[5]。据此,发展了许多电化学分析法用于检测鸟嘌呤和DNA损伤。早期的研究主要采用固体电极直接检测^[6,7]或使用杂交指示剂^[8,9]。近年来,修饰电极特别是纳米材料修饰电极的应用促进了方法的研究和鸟嘌呤传感器的发展。如利用单壁碳纳米管复合聚吡啶橙修饰玻碳电极研究脱氧核糖核酸中碱基对的电化学行为^[11]、用电化学预处理玻碳电极微分计时电位溶出法测定DNA中的嘌呤碱基及DNA浓度^[12]、应用钴铁复合材料^[13]、聚硫堇/纳米金/碳纳米管修饰电极^[14]、石墨烯修饰电极^[15]直接测定鸟嘌呤,以及聚间氨基苯磺酸纳米线修饰电极迅速检测DNA的氧化损伤^[16]。但是这些修饰电极一般需要新的材料制备,或电极制备过程复杂耗时,或基于测量响应信号的降低而影响选择性和重现性。

光致电化学分析方法是利用光能激发物质产生光电流,通过直接或间接检测光电流的强弱实现检测的目的。由于它的激发与检测是分步进行的,相对于光学方法而言,具有设备简单、成本低廉、易于微型化和集成化的优点;相对于电化学方法而言,因为光电流产生的原理类似于电催化原理,所以灵敏度较一般电化学方法要高,可与电化学发光分析法相媲美^[17]。本文利用聚硫堇光电界面在光照激发下能与电子供体 H_2O_2 产生的光致电化学效应^[18],将黄嘌呤氧化酶修饰在聚硫堇光电界面上制备了光致电化学鸟嘌呤传感器,利用黄嘌呤氧化酶对鸟嘌呤的催化反应直接产生电子供体 H_2O_2 ,通过检测由此产生的光电流实现了对鸟嘌呤的定量分析。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

CHI832B和CHI660B型电化学工作站(上海辰华仪器有限公司);三电极系统:ITO电极(深圳南玻集团伟光公司)及其修饰电极为工作电极,铂丝为对电极,Ag/AgCl电极为参比电极。TU1901双光束紫外可见分光

光度计(北京普析通用仪器有限公司);JSM-6700F型场发射扫描电子显微镜(日本JEOL公司);MPI-B型多参数化学发光分析仪(西安瑞迈分析仪器有限公司);LP-3B光功率计(北京物科光电技术有限公司);自制的光致电化学实验装置^[18]。

壳聚糖(CS,脱乙酰度90%,大连新碟有限公司);硫堇(TH, Sigma公司);鸟嘌呤(上海化学试剂公司);黄嘌呤氧化酶(XOD,日本和光制药);30%过氧化氢 H_2O_2 (烟台三和化学试剂有限公司);鲱鱼精DNA(北京经科宏达生物有限公司),用前未作进一步处理,纯度以260 nm吸光度与280 nm吸光度的比值(A_{260}/A_{280})>1.8来衡量,测得 A_{260}/A_{280} 约为1.8~1.9,可知蛋白质含量低不干扰测定;阿昔洛韦对照品(批号140630-200602,中国药品生物制品检定所);纳米金胶按文献制备^[19];醋酸缓冲液;0.05 mol/L磷酸盐缓冲液(PBS)由 KH_2PO_4 和 Na_2HPO_4 按比例配制而成。支持电解质为0.1 mol/L KCl。其它试剂均为分析纯,实验用水取自KLUP-III型水处理系统(中国康宁仪器公司)。

1.2 光电极的制备及修饰

将ITO导电玻璃切成 5.0×1.0 cm的长条,依次用乙醇,丙酮,水分别超声清洗5 min,干燥。然后在一段留出1.0 cm的一段作为电极端子,在另一段用绝缘漆封住并在表面留出直径为6.0 mm的空白作为ITO电极。将10%的 SnO_2 水溶胶均匀涂覆在洁净的ITO电极上,干燥后将其置于含有1.67 mg/mL TH溶液的电解池中,在1.20 V的电位沉积40 min后,用水清洗掉表面吸附的TH单体,即制得聚硫堇光电极(PTH/ITO)。硫堇浓度、聚合电位和时间会影响PTH/ITO的性能,本文的TH电沉积条件是实验优化后的结果。

将5.0 μL 纳米金胶均匀地涂覆于PTH/ITO表面上,室温干燥,得Au/PTH/ITO。然后取2.0 mg XOD,加CS溶液(0.5%) 250 μL ,搅拌溶解制成涂膜液,用微量注射器移取7 μL 涂膜液涂覆在Au/PTH/ITO表面上,在干燥器中干燥8 h,制得CS包埋XOD修饰光电极(XOD-CS/Au/PTH/ITO)。

1.3 光电流响应的测量

将电解液置于电解池中,插入修饰电极并使其工作表面对准光电化学池的光窗,分别联接三电极至电化学工作站。由光致电化学实验装置施加可见光作为激发光源,其到达光窗处的能量为 $18 \text{ mW}/\text{cm}^2$ 。电化学工作站检测光电流响应,偏压设置为0.45 V。向电解池中注入样品并同时启动电流检测,待催化反应10 min时,开启光闸,光闸每20 s切换1次,形成1次光电流-时间图谱。

2 结果与讨论

2.1 修饰电极的表征

观察 PTH/ITO 表面有蓝色膜生成, 扫描电镜照片显示聚硫基呈块状均匀分布于电极表面(图 1a). 观察 XOD-CS/Au/PTH/ITO 表面的扫描电镜照片(图 1b), 有枝状 CS 分布于电极表面, 表明包埋有 XOD 的 CS 已经被固定在 PTH/ITO 表面上.

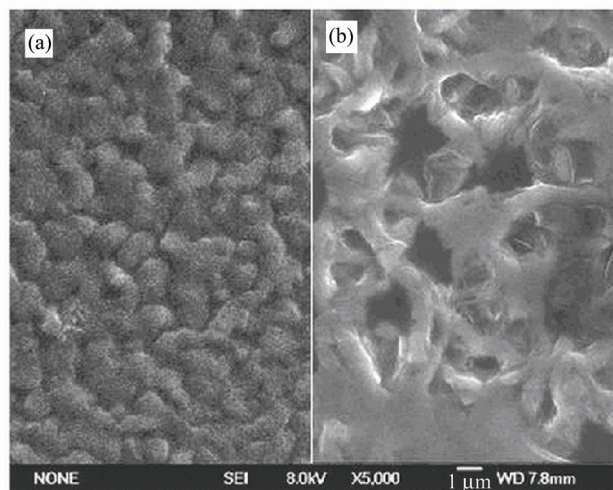


图 1 聚硫基光电极(a)和酶修饰光电极(b)表面的扫描电镜照片

Figure 1 SEM images of PTH/ITO (a) and XOD-CS/Au/PTH/ITO (b) electrodes surface

修饰电极的交流阻抗谱(图 2)显示, ITO 电极的 R_{ct} 值为 41 Ω , PTH/ITO 的 R_{ct} 值下降至 35 Ω , 说明导电的 PTH 增强了 ITO 电极的导电性, 使 PTH/ITO 的电子传输能力增加. XOD-CS/Au/PTH/ITO 的 R_{ct} 值大幅增加至 120 Ω , 说明涂覆酶膜后, 使 PTH/ITO 表面的阻抗增加, 阻碍了 $\text{FeCN}_6^{3-/4-}$ 在电极表面的电子交换. PTH/ITO 的循环伏安曲线(CV)显示其有一对对称的氧化还原峰, 阳极和阴极峰电位分别为 -0.028 和 -0.115 V, $\Delta E_p = 87$ mV, 式电位 E^0 为 -71.5 mV, 与文献^[20]的酸性介质中 PTH 的电极反应一致, 显示 PTH 与 TH 有相似的电化学活性. PTH/ITO 对可见光的最大吸收位于 607 nm 处, 与溶液中 TH 的 598 nm 非常接近, 表明具有同样吸收光的性质. XOD-CS/Au/PTH/ITO 的 CV 与 PTH/ITO 的差别不大, 峰电位向正电位稍微移动, 峰电流有所减小.

2.2 传感器对 H_2O_2 和鸟嘌呤的光电流响应

各电极对 H_2O_2 和鸟嘌呤的光电流响应如图 3A 和 3B 所示. H_2O_2 在 ITO 电极上没有光电流响应; 在 PTH/ITO 电极上有较大的光电流响应; 而在

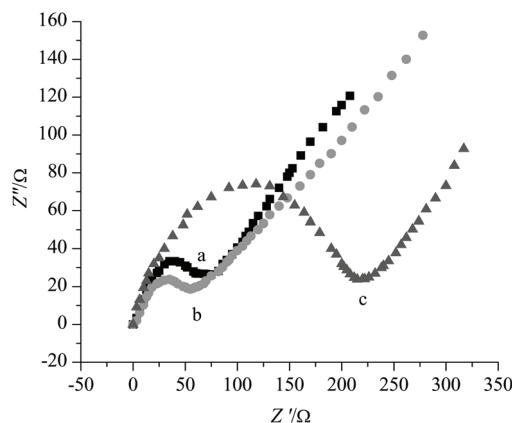


图 2 ITO 电极(a)、光电极(b)和酶修饰光电极(c)的交流阻抗图谱

Figure 2 EISs of the ITO (a), PTH/ITO (b) and XOD-CS/Au/PTH/ITO (c) electrodes in 0.1 mol/L KCl containing 1.0 mmol/L $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$, respectively

The frequency range is between 0.01 and 100000 Hz with applied voltage of 5 mV

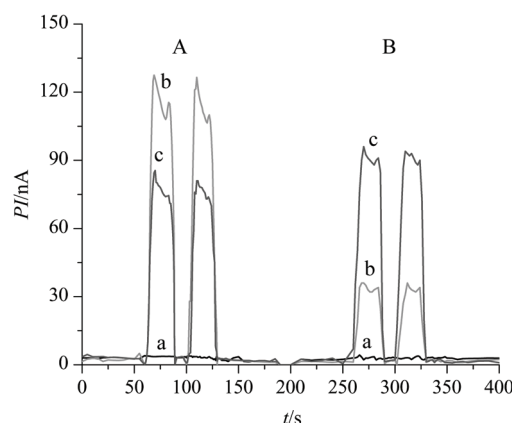


图 3 H_2O_2 (A)和鸟嘌呤(B)分别在 ITO 电极(a)、光电极(b)和酶修饰光电极(c)上的光电流响应

Figure 3 Photocurrent responses of H_2O_2 (A) and guanine (B) on the ITO (a), PTH/ITO (b) and XOD-CS/Au/PTH/ITO (c) electrodes

C: 50.00 $\mu\text{mol/L}$

XOD-CS/Au/PTH/ITO 电极上的光电流响应明显变小, 是由于酶膜阻碍了 H_2O_2 的扩散. 鸟嘌呤在 ITO 电极上也没有光电流响应; 在 PTH/ITO 电极上有较小的光电流响应是源于有机半导体 PTH 在 ITO 电极上产生的光电流; 在 XOD-CS/Au/PTH/ITO 电极上有显著的光电流响应, 显然是由于 XOD 催化鸟嘌呤后产生的 H_2O_2 所致. 图 4A 显示 XOD-CS/Au/PTH/ITO 的光电流随鸟嘌呤浓度的增加而逐渐增大. 并可在 1.00~200 $\mu\text{mol/L}$ 的浓度范围获得线性响应(图 4B), 线性回归方程为光电流强度 PI (nA) = $34.1 + 1.04C$ ($\mu\text{mol/L}$), 相关系数为 0.9991, 检出限为 0.55 $\mu\text{mol/L}$. 表观米氏常数(K_M^a)是酶-底物反应

动力学的重要指标, 可以表征酶与底物之间亲和力大小. K_M^a 可以根据 Lineweaver-Burk 方程计算: $1/i_{ss} = 1/PI_{max} + 1/C (K_M^a/PI_{ss})$. 式中 PI_{ss} 是加底物后的稳态光电流, C 是底物的体积浓度, PI_{max} 是饱和底物状态下所测的最大光电流. 本文用双倒数作图法计算出的 K_M^a 为 0.144 mmol/L.

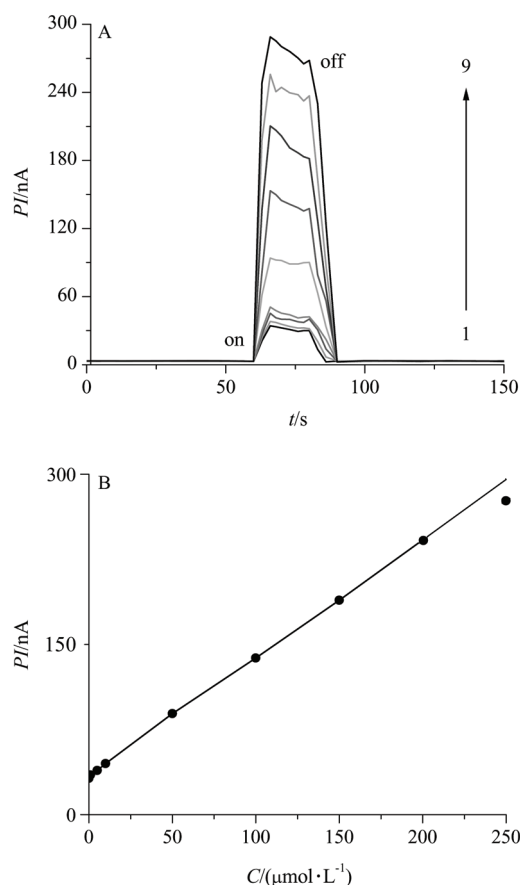


图4 鸟嘌呤传感器对鸟嘌呤的光电流响应(A)和线性曲线(B)
Figure 4 Photocurrent responses (A) of guanine sensor to guanine and the calibration curve (B)

C_g (1~9): 0, 1.00, 5.00, 10.0, 50.0, 100, 150, 200 and 250 $\mu\text{mol/L}$ (from top to bottom)

2.3 固定化酶量的影响

在敏感器件上酶的固定量直接影响酶传感器的性能, 本文考察了酶修饰光电极表面 CS 负载不同量的 XOD 对鸟嘌呤醇传感器光电流响应的影响. 固定 CS 浓度和涂膜液的量, 增加酶的用量, 光电流响应增强. 但当 XOD 的用量超过一定值后, 电流响应基本不变, 这主要是由于敏感膜上酶量过多时, 固载作用弱的酶相对量增多, 比较容易泄露. 由此可得到酶的最佳用量. 在本文中, 当 XOD 的量为 0.6 U 时, 电流响应值达到最大. 同样, 酶层的厚度对底物在光电极上的响应有影响, 为了研究酶膜厚度对鸟嘌呤传感器电流响应的影响, 固定 CS 浓度和酶的用量, 改变涂膜液的量, 发现 7 μL 时响

应的光电流最大. 当继续增加涂膜液体积时, 由于酶层变厚, 阻碍了 H_2O_2 向光电极表面的扩散, 灵敏度降低. 但是若体积少于 7 μL , 酶催化反应不充分, 灵敏度不高, 因此本文选择 7 μL 的涂膜液修饰光电极.

2.4 测定条件的优化

2.4.1 电解质溶液 pH 值的影响

鸟嘌呤是一种碱性化合物, 因而电解液的 pH 值对检测鸟嘌呤的光电流响应应有较大的影响. 差分脉冲伏安法的实验表明, XOD-CS/Au/PTH/ITO 的峰电流在 pH 4.0~7.0 间随 pH 值的增加而变化, pH 5.0 时最大, 与 PTH/ITO 的性质相同^[18], 有最佳的电化活性. 在 50.0 $\mu\text{mol/L}$ 鸟嘌呤存在下, 考察了 pH 4.0~7.0 间鸟嘌呤传感器对鸟嘌呤的光电流响应, 发现在 pH 5.0 能获得最大的光电流响应. 这可能是由于此 pH 值下更有利于碱性的鸟嘌呤向酸性敏感膜的扩散. 基于试验的结果, 本文控制电解质溶液的 pH 值为 5.0.

2.4.2 偏压和激发光强度的影响

当 H_2O_2 将 PTH 光电界面的 TH^+ 还原后, 回到基态的 TH 必须被氧化为 TH^+ 才能再度吸收光能而成为激发态的 TH^+ , 再次与 H_2O_2 发生电子转移反应, 循环往复, 从而产生不间断的光电流. 所以, 需要在光电界面上施加一个合适的偏压让 TH 失去电子, 同时用该电位下测得的电流强度量度光电流的大小. 考虑到 ITO 电极的半导体性质和超电位的影响, 同时溶液中可能存在的其它电活性物质的电极反应也会受偏压的制约, 影响测定的选择性, 所以从实验获得一个合适的偏压是较好的选择. 在相同浓度鸟嘌呤的存在下, 当从 0.10~0.50 V 每隔 0.10 V 依次调高偏压时, 观察到光电流呈对数增加. 当设定的偏压达到 0.40 V 时, 光电流增加的幅度趋缓, 当偏压大于 0.50 V 时, 光电流强度没有明显的增加. 因此, 本文将偏压固定在 0.45 V. 由于 TH^+ 吸收光能而生成 TH^+ , 激发光的强度对光电流的大小有较强的影响. 保持其他实验条件不变, 通过改变光程, 分别使到达光窗的光强为 9.0, 11, 13, 15 和 18 mW/cm^2 , 发现光电流随光照的增强而显著增加, 但当光强大于 18 mW/cm^2 后, 空白光电流会大幅度增加, 反而会降低鸟嘌呤的检测灵敏度, 故而本文将激发光强度固定在 18 mW/cm^2 .

2.5 鸟嘌呤传感器的重现性和稳定性

将同一支 XOD-CS/Au/PTH/ITO 电极在含鸟嘌呤 50.0 $\mu\text{mol/L}$ 底液中每隔 60 s 一组连续进行 3 组共计 9 次的测定, 结果见图 5, 计算所得相对标准偏差为 3.92%; 而相同条件下制得的 5 支 XOD-CS/Au/PTH/ITO 电极, 其响应的相对标准偏差为 6.21%, 表明该传感器具有较好的重现性. 将 XOD-CS/Au/PTH/ITO 放入 4 $^{\circ}\text{C}$

的冰箱中保存, 避光保存在 PBS 的上方, 经逐日测试发现, 一周后响应光电流下降不到 3%, 2 周内, 传感器对胆碱的响应在 100%~95%以内, 而后响应缓慢下降, 20 d 后传感器仍能保持原有响应的 82%, 表明壳聚糖能很好地保持酶的催化活性, 从而使传感器有较好的稳定性.

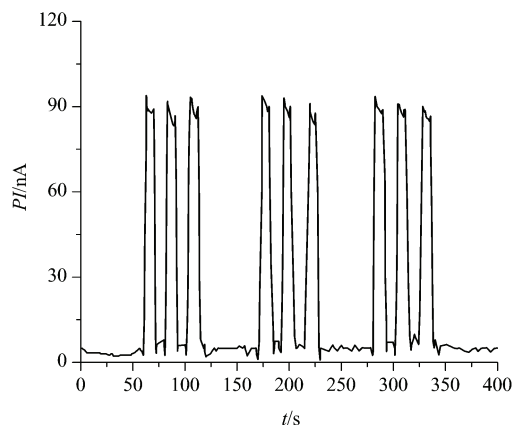


图 5 鸟嘌呤传感器对鸟嘌呤的连续光电流响应

Figure 5 Continuous photocurrent responses of guanine sensor to guanine

C_g (1~9): 50.0 $\mu\text{mol/L}$

2.6 鸟嘌呤传感器对鸟嘌呤的光致电化学响应原理

PTH 光电界面在光照激发下可以氧化 H_2O_2 产生光致电化学效应, 已被应用于葡萄糖氧化酶催化活性的测定^[18]. XOD 在氧存在下可以催化鸟嘌呤生成尿酸和 H_2O_2 ^[21,22]. 本文利用鲁米诺- H_2O_2 化学发光体系, 进一步验证了 XOD 催化鸟嘌呤反应产物中的 H_2O_2 . 基于 PTH 光电界面对 H_2O_2 的高灵敏度和选择性, 本文将 XOD 固化在 PTH/ITO 光电界面上, 利用 XOD 催化鸟嘌呤产生电子供体 H_2O_2 , 从而测定了鸟嘌呤. 鸟嘌呤传感器对鸟嘌呤的光致电化学响应原理显示在图 6 中.

2.7 鸟嘌呤传感器的应用

取一定量的鲑鱼精 DNA 样品于 10 mL 试管中, 加入 1.0 mol/L 的 HCl 溶液 1.0 mL, 在沸水浴中加热 80

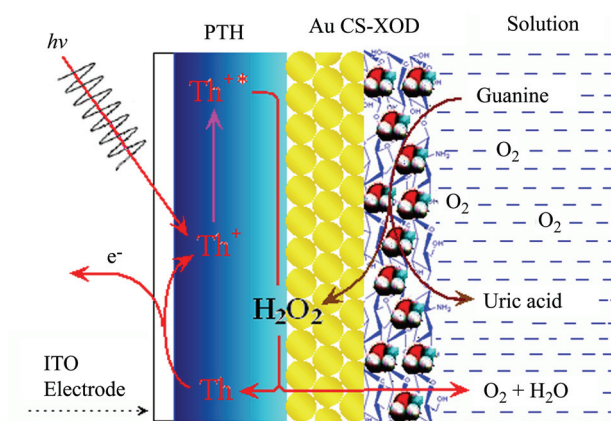


图 6 鸟嘌呤传感器对鸟嘌呤的光致电化学响应原理

Figure 6 Mechanism of photoelectrochemical responses of guanine sensor to guanine

min, 冷却至室温后用 1.0 mol/L 的 NaOH 溶液中和, 最后将得到的脱嘌呤碱基的酸变性 DNA 用电解液定容. 鸟嘌呤的测定按实验方法操作, 以工作曲线法核算 DNA 的量, 用鸟嘌呤标液完成回收率实验. 取市场购买的阿昔洛韦片 10 片, 研细后精密称取适量药粉置于 100 mL 容量瓶中, 用 0.50 mol/L 的 NaOH 溶解, 超声 1 min, 再用稀 HCl 溶液调至中性, 最后用电解液稀释至刻度. 阿昔洛韦的测定按实验方法操作, 以标准加入法核算阿昔洛韦的含量. 鲑鱼精 DNA 酸变性后游离鸟嘌呤量和阿昔洛韦药片中阿昔洛韦含量的测定结果见表 1.

3 结论

将 H_2O_2 在 PTH 光电界面的光致电化学效应与黄嘌呤氧化酶催化鸟嘌呤产生 H_2O_2 相结合, 制备了一种新型的光致电化学鸟嘌呤传感器. 应用该传感器对 DNA 脱出的嘌呤碱基和阿昔洛韦进行的定量测定, 表明其对鸟嘌呤的光电流响应可为研究 DNA 损伤提供重要信息或用于鸟嘌呤类药物的分析. 同时, 该传感器的制备方法和响应机理也为发展光致电化学传感器提供了有益思路.

表 1 样品的测定结果

Table 1 Determination results of the samples

Sample		Determined/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	RSD/%	Added/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Found/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Recovery/%	Determined/ Marked ^a /%
DNA (Herring Sperm)	1	3.55	5.37	0.710	4.31	107	98.2
	2	5.32	4.62	1.42	6.76	101	97.6
	3	10.7	4.25	3.55	14.2	98.6	96.8
Aciclovir	1	9.62	4.48	1.78	11.5	105	98.6
	2	14.4	3.84	5.26	19.6	98.9	102
	3	19.2	5.16	10.7	30.4	105	106

^a 未变性鲑鱼精 DNA 的原始浓度和阿昔洛韦药片的有效成分标示量.

References

- 1 Oliveira, A. M.; Vivan, M.; Fernandes, I. R. *Talanta* **2002**, 56, 959.
- 2 Pedano, M. L.; Rivas, G. A. *Electrochem. Commun.* **2004**, 6, 10.
- 3 Cai, X.; Rivas, G.; Farias, P. A. M.; Shiraishi, H.; Wang, J.; Palecek, E. *Electroanalysis* **1996**, 8, 753.
- 4 Brabec, V.; Dryhurst, G. *J. Electroanal. Chem.* **1978**, 89, 161.
- 5 Marrazza, G.; Chianella, I.; Mascini, M. *Anal. Chim. Acta* **1999**, 387, 297.
- 6 Wang, J.; Cai, X.; Tian, B.; Shiraishi, H. *Analyst* **1996**, 121, 965.
- 7 Wang, J.; Kawde, A.-N. *Anal. Chim. Acta* **2001**, 431, 219.
- 8 Armistead, P. M.; Thorp, H. H. *Anal. Chem.* **2001**, 73, 558.
- 9 Rusling, J. F. *Biosens. Bioelectron.* **2004**, 20, 1022.
- 10 Wu, K.; Fei, J.; Bai, W.; Hu, S. *Anal. Bioanal. Chem.* **2003**, 376, 205.
- 11 Wang, Z.; Zhao, Z. *Chin. J. Anal. Chem.* **2006**, 34, 87 (in Chinese).
(汪振辉, 赵志娟, 分析化学, **2006**, 34, 87.)
- 12 Jia, W.; Li, T.; Zhang, J.; Wang, H. *Chem. J. Chin. Univ.* **2006**, 27, 2056 (in Chinese).
(贾文丽, 李天华, 张晶晶, 王怀生, 高等学校化学学报, **2006**, 27, 2056.)
- 13 Abbaspour, A.; Mehrgardim, A. *Anal. Chem.* **2004**, 76, 5690.
- 14 Liu, H.; Wang, G.; Chen, D.; Zhang, W.; Li, C.; Fang, B. *Sens. Actuators, B* **2008**, 128, 414.
- 15 Zhou, M.; Zhai, Y.; Dong, S. *Anal. Chem.* **2009**, 81(14), 5603.
- 16 Zhang, W.; Yang, T.; Yin, C.; Li, G.; Jiao, K. *Electrochem. Commun.* **2009**, 11, 783.
- 17 Wang, G. L.; Xu, J. J.; Chen, H. Y. *Sci. China, Ser. B-Chem.* **2009**, 52, 1789.
- 18 Zhao, C.; Yu, J.; Zhao, G.; Jiao, K. *Scientia Sinica Chim.* **2011**, 41, 1075 (in Chinese).
(赵常志, 俞佳, 赵改爽, 焦奎, 中国科学化学, **2011**, 41, 1075.)
- 19 Yang, W. W.; Li, Y. C.; Bai, Y.; Sun, C. Q. *Sens. Actuators, B* **2006**, 115, 42.
- 20 Yang, R.; Ruan, C.; Dai, W.; Deng, J. *Electrochim. Acta* **1999**, 44, 1585.
- 21 Markas, A. T.; Gilmartin, J. P. H.; Birch, B. *Analyst* **1992**, 117, 1299.
- 22 Ohe, T.; Watanabe, Y. *J. Biochem.* **1979**, 86, 45.

(A1112061 Cheng, B.; Fan, Y.)