

1996-08-28

## Improvement of the Anti-interference Characteristics of GOD Electrode by Using the Powder Microelectrode Technique

Chen Jian

Chuansin Cha

---

### Recommended Citation

Chen Jian, Chuansin Cha. Improvement of the Anti-interference Characteristics of GOD Electrode by Using the Powder Microelectrode Technique[J]. *Journal of Electrochemistry*, 1996 , 2(3): 262-273.

DOI: 10.61558/2993-074X.1334

Available at: <https://jelectrochem.xmu.edu.cn/journal/vol2/iss3/5>

This Article is brought to you for free and open access by Journal of Electrochemistry. It has been accepted for inclusion in Journal of Electrochemistry by an authorized editor of Journal of Electrochemistry.

# 采用粉末电极技术改善葡萄糖氧化酶电极的抗干扰性能<sup>①</sup>

陈 剑 查全性\*

(武汉大学化学系, 武汉 430072)

**摘要** 研究了对电流型GOD电极有干扰作用的抗坏血酸、尿酸、L-半胱氨酸和对-乙酰氨基苯酚在铂、玻碳以及由Ketjenblack 碳黑填制的粉末微电极上的电化学行为。结果表明:由于这些杂质的电化学活性较高,难以通过选择电极材料及改变工作电位来完全避免它们的干扰作用。然而,抗坏血酸、尿酸及对-乙酰氨基苯酚在粉末微电极上极限电流是由电极端面液相中的扩散传质所控制的,只与电极的表观直径有关而与其真实表面积无关,因而采用粉末微电极技术可明显地提高GOD电极的信噪比。

**关键词** 粉末微电极,葡萄糖氧化酶电极,抗坏血酸,尿酸,L-半胱氨酸,对-乙酰氨基苯酚

自1962年Clark提出电流型葡萄糖氧化酶(GOD)电极以来<sup>[1]</sup>,它的发展已经历了几个主要阶段。然而,生物样品中的杂质,特别是抗坏血酸(AA)、尿酸(UA)、L-半胱氨酸(L-Cys)及对-乙酰氨基苯酚(APAP)等的干扰一直是影响它实际应用的主要问题。这些干扰物质在体液中的典型浓度范围分别为AA: 0.01~0.11 mmol/L, UA: 0.27~0.48 mmol/L, L-Cys: 0.03~0.1 mmol/L及APAP: <0.17 mmol/L<sup>[2]</sup>,均比人的血糖浓度(正常值为4.4~6 mmol/L)低得多。但由于它们的电化学活性较高,在电流型电化学传感器中可以产生与血糖相当甚至大几倍的响应<sup>[2,3]</sup>。第一代GOD电极以O<sub>2</sub>为电子中继体,测量反应产物H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的电位一般选取+0.60~+0.70 V(vs. SCE,下同),在这样正的电位下,上述几种杂质的干扰均很大。第二代GOD电极多以二茂金属及其衍生物<sup>[4~8]</sup>或过渡金属吡啶络合物<sup>[9,10]</sup>等作中继体,有些可使传感器的工作电位提前到了+0.1~+0.4 V。UA、L-Cys和APAP的干扰作用也能因此而减小;可是能在较负电位下氧化的AA的干扰仍然严重。如何降低这些杂质对葡萄糖测量的干扰,一直是葡萄糖氧化酶电极研究的主要课题之一。

近年来我们实验室发展了粉末微电极技术<sup>[11]</sup>,并用以改善酶电极的输出性能<sup>[12]</sup>。采用这一技术可得到比平面电极大得多的电流响应和较宽的线性响应范围。本文主要报道采用粉末电极技术改善GOD电极抗杂质干扰的成效。文中还报道了AA、UA、L-Cys及APAP在铂、玻碳电极及以Ketjenblack 碳黑(KB, 950 m<sup>2</sup>/g)填制的粉末微电极上的电化学行为,并据此解释为什么采用粉末电极技术可以提高GOD电极的抗干扰能力。

## 1 实验部分

### 1.1 化学及生化试剂

抗坏血酸、尿酸、L-半胱氨酸和对-乙酰氨基苯酚均为分析纯试剂; GOD(E. C. 1. 1. 3. 4)为

① 本文1996-02-21收到; 国家自然科学基金资助项目

Sigma 出品(G7141);聚亚氨酯(PU,SG85A 生物兼容型)为美国 Thermedics Inc. 出品;AQ<sub>35</sub> 及 AQ<sub>29</sub> 为 Eastman Kodak 出品;二甲基二茂铁(DBFc)按[17]制备并提纯制得;其余试剂均为分析纯,水溶液均用二次水配制.

## 1.2 研究电极

1)铂微盘电极:分别将 $\phi=0.1$  mm 和 0.5 mm 的铂丝封入软玻管中.末端用金相砂纸打磨光滑,并依次用丙酮、二次水超声清洗.

2)玻碳圆盘电极:将 $\phi=4$  mm 的玻碳棒嵌入聚四氟乙烯管中制得,使用前用6#金相砂纸磨光,并依次用丙酮、二次水超声清洗.

3)粉末电极:制备方法见[12].微孔直径为0.1 mm 和 0.5 mm,孔深为铂丝直径的1.0~1.5倍.将修饰了的KB填入微孔制成粉末微酶电极.

实验中采用了两种GOD粉末电极:(a)2 mg KB 与 200  $\mu$ L 含 0.75% PU, 5.5  $\mu$ g/ $\mu$ L GOD 及少许表面活性剂 Zonyl FSN(Du Pont)的 90% THF+2% DMF+8% H<sub>2</sub>O 溶液超声混合,在 1~4  $^{\circ}$ C 风干后填入微孔,制成以 O<sub>2</sub> 为中继体的 PU-GOD 修饰粉末电极.(b)2 mg KB 与 640  $\mu$ L 含 0.38% AQ[AQ<sub>35</sub>:AQ<sub>29</sub>=1:1(w/w)], 3.75  $\mu$ g/ $\mu$ L GOD, 12.5 mg/mL DBFc 及少许 Zonyl FSN 的 90% THF+2% DMF+8% H<sub>2</sub>O 溶液超声混合,在 1~4  $^{\circ}$ C 风干后,填入微孔,制成以 DBFc 为中继体的 AQ-DBFc-GOD 修饰粉末电极.

参比电极均用饱和甘汞电极,辅助电极用铂电极.GOD 电极信噪比的测量温度为 35  $^{\circ}$ C,其余电化学测量的温度均为室温.

## 1.3 测量仪器

电化学测量用 AFRDE5 双恒电位仪(PINE)及 3036X-Y 型记录仪(四川仪表四厂).

## 2 结果与讨论

### 2.1 各种组份在不同电极上的电化学性能

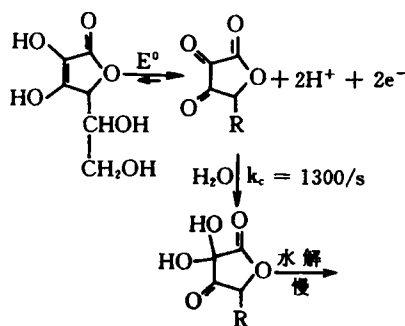
#### 1)葡萄糖

在用 GOD 修饰了的电极表面上,可以测出中继体还原产物引起的氧化电流.图 1a 和 1b 比较了两种粉末 GOD 电极与相应的平面 GOD 电极的浓度响应曲线.采用粉末酶电极技术可以极显著地提高酶电极的电流响应和扩展浓度响应曲线的线性范围.这主要是由于单位表观电极面积上酶载量的差别引起的.具体的讨论详见[12].

#### 2)抗坏血酸(AA)

图 2a 和 4a 分别表示铂及玻碳电极上 AA 的 CV 曲线.曲线上均只出现 AA 的氧化电流峰而还原电流峰较不明显.已知 AA 在电极表面的电氧化的反应式为<sup>[13]</sup>:

其中电氧化产物三酮与水的反应速度相当快,因此在水溶液中很不稳定.由此可以解释图 2a 和 2b 中 CV 曲线阳极支和阴极支的不对称.



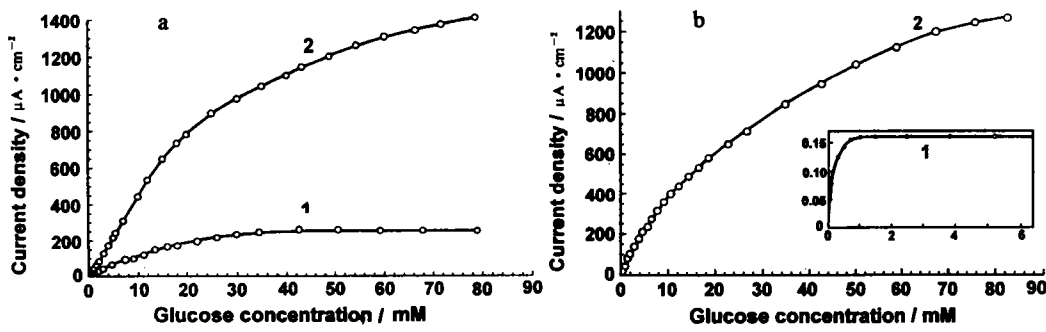


图1 平面(1)与粉末(2)GOD 电极浓度响应曲线的比较

a. PU-GOD 修饰 b. AQ-DBFc-GOD 修饰

Fig. 1 Comparison of the responses of planar(1) and powder(2) GOD electrodes

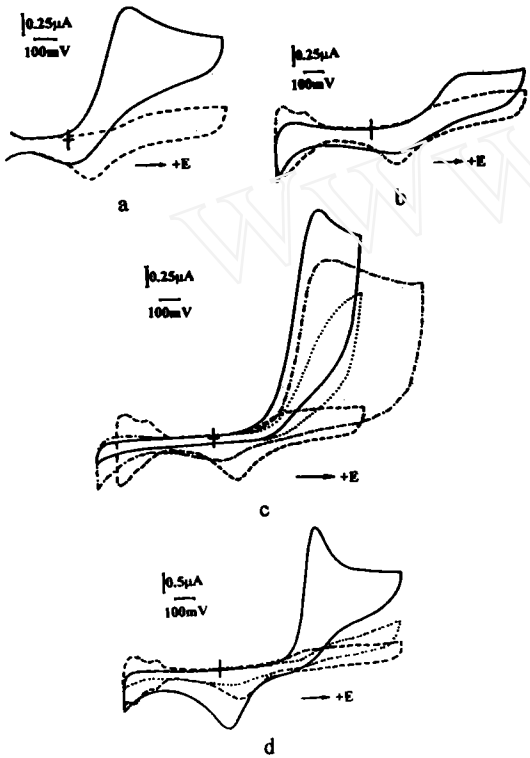


图2 各种杂质在铂盘电极上的CV 曲线(扫描速度: 100 mV/s, 电极直径: 0.5 mm) -----0.1 M 磷酸缓冲溶液 ——加入 a: 抗坏血酸(5 mmol/L), b: 尿酸(饱和), c: L-半胱氨酸(5 mmol/L, 第一周CV), d: 对-乙酰氨基苯酚(5 mmol/L, 第一周CV). c, d 中(·····)表示基本稳定后的CV; c 中(- · - ·)表示上限电位正移至+1.1 V 后的CV

Fig. 2 CV curves obtained with the Pt electrode

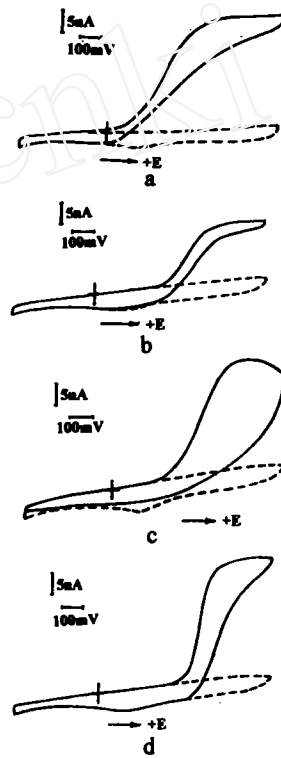


图3 各种杂质在铂微盘电极上的准稳态极化曲线(扫描速度: 5 mV/s, 电极直径: 0.1 mm) -----0.1 M 磷酸缓冲溶液, ——加入 a: 抗坏血酸(1 mmol/L) b: 尿酸(饱和) c: L-半胱氨酸(1 mmol/L) d: 对-乙酰氨基苯酚(1 mmol/L)

Fig. 3 Quasi-steady polarization curves obtained with the Pt microelectrode

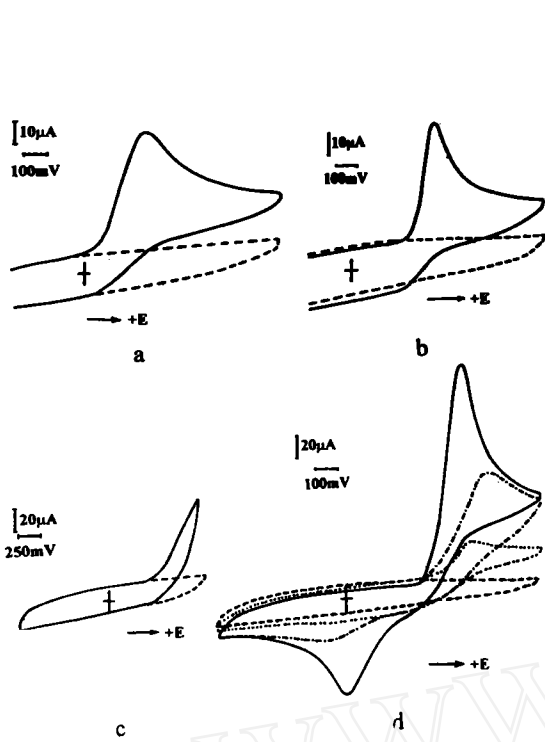


图4 各种杂质在玻碳电极上的CV曲线(扫描速度: 100 mV/s,电极直径:4 mm)  
 ----0.1 M 磷酸缓冲溶液  
 ——加入 a:抗坏血酸(5 mmol/L) b:尿酸(饱和) c:L-半胱氨酸(5 mmol/L) d:对-乙酰氨基苯酚(5 mmol/L, 第一周CV). d中(- - -)表示第八周CV;(·····)表示基本稳定后的CV

Fig. 4 CV curves obtained with the GC electrode

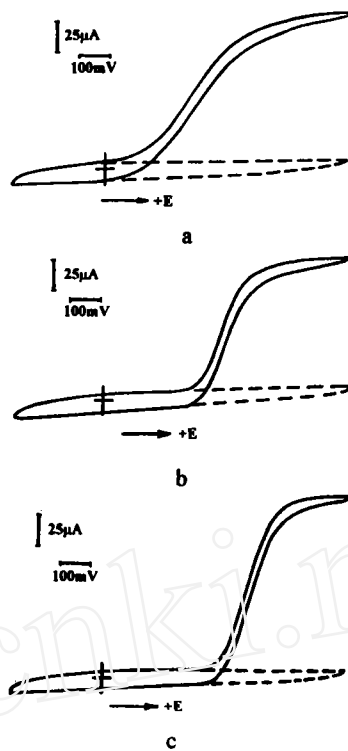


图5 各种杂质在玻碳电极上的准稳态极化曲线(扫描速度:50 mV/s,电极直径:4 mm,电极转速:2000 n/min)  
 ----0.1 M 磷酸缓冲溶液,  
 ——加入 a:抗坏血酸(1 mmol/L) b:尿酸(饱和) c:L-半胱氨酸(1 mmol/L) d:对-乙酰氨基苯酚(1 mmol/L)

Fig. 5 Quasi-steady polarization curves obtained with the GC electrode

当电位扫描速度足够低时,AA在铂微盘电极上引起明显的极限电流( $I_L$ ) (图3a),其数值与按扩散机理计算所得值相近.在旋转玻碳圆盘电极上也出现了极限电流(图5a),且 $I_L$ 与电极转速( $\omega$ )的 $1/2$ 次方成正比(图6a),显示 $I_L$ 是由液相中的扩散步骤所控制.

AA在铂和玻碳电极上的起始氧化电位分别约为 $-0.15$  V和 $-0.05$  V;用 $5$  mV/s正向扫描所得极化曲线上的半波电位分别为 $+0.26$  V和 $+0.29$  V.因此,不论是采用铂或玻碳作为GOD电极的检测电极,当工作电位比SCE更正时都不能避免AA的干扰.

图7a中给出了AA在用KB填制的粉末微电极上的CV曲线.由图可以看到粉末电极上的充电电流远大于平面电极,这显然是由于KB粉末具有很高的比表面.然而,在粉末微电极上极限电流( $I_L$ )与电极半径( $r$ )的比值与平面微电极上基本相同,表明在粉末微电极上极限电流是

由电极端面外侧液相中AA的扩散极限速度所控制的,而与电极的实际表面积无关.此外,在粉末微电极上于电流开始上升处出现了氧化电流峰,这显然是由于多孔体内所含溶液中的AA所引起的.当其中AA耗尽后,电流便降至正常扩散极限电流的数值.

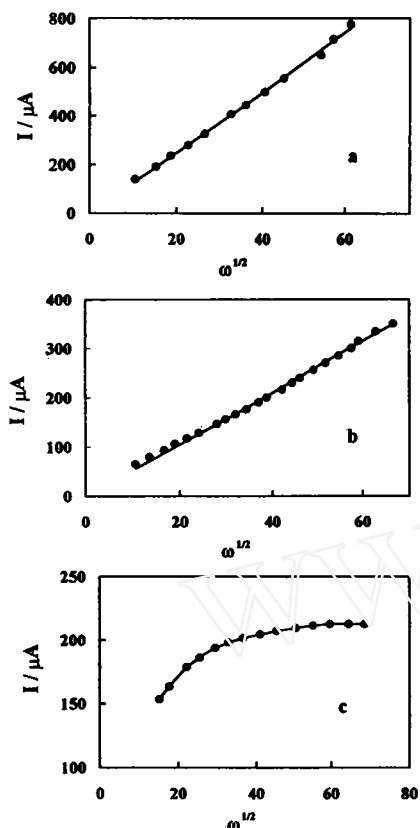


图6 旋转玻碳电极上的极限电流( $I_L$ )与 $\omega^{1/2}$ 的关系 (扫描速度:100 mV/s)  
a. 抗坏血酸(5 mmol/L) b. 尿酸(饱和) c. 对-乙酰氨基苯酚(5 mmol/L)  
Fig. 6 The relation between  $I_L$  and  $\omega^{1/2}$  obtained with the rotating GC electrode

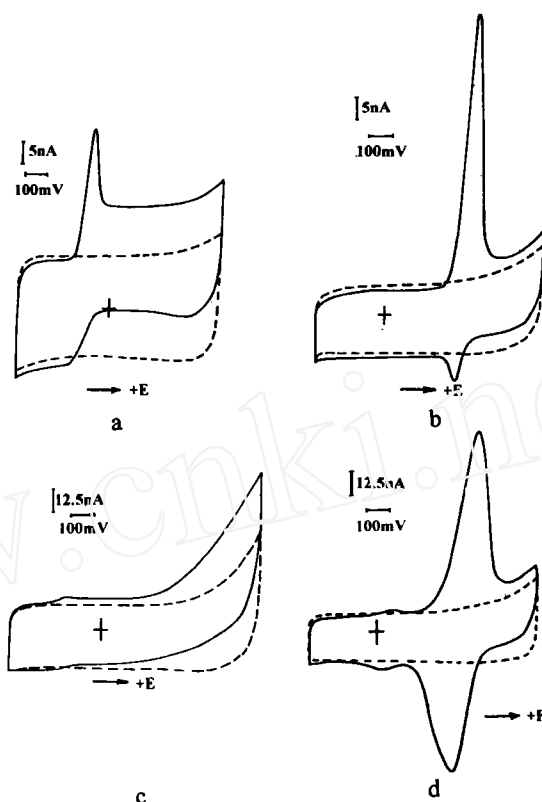
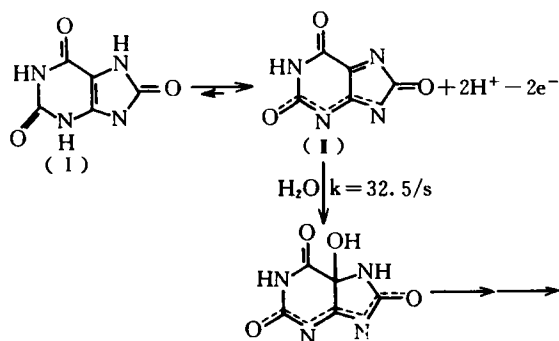


图7 KB粉末微电极上的极化曲线(扫描速度:5 mV/s,电极直径:0.05 mm)  
----0.1 M磷酸缓冲溶液,  
- - -加入 a:抗坏血酸(5 mmol/L) b:尿酸(饱和) c:L-半胱氨酸(1 mmol/L) d:对-乙酰氨基苯酚(1 mmol/L)  
Fig. 7 CV curves obtained with the KB powder microelectrode

AA在KB粉末电极上的起始氧化电位为-0.20 V,半波电位为-0.13 V,均比在铂和玻碳平面电极上更负,表明AA在高比表面电极上的表现可逆性有所提高.

### 3) 尿酸(UA)

图2b和4b表示经过一段时间扫描后铂及玻碳电极上UA的稳定CV曲线.曲线上均只出现了UA的氧化电流峰,而还原电流峰不明显.已知UA在电极表面的电氧化反应式为<sup>[14]</sup>:



由于电氧化产物(II)与水的反应速度较快,其半衰期为21 ms,当电极扫描速度不够快时不出现明显的还原电流峰.由此可以解释图2b和4b中阴、阳支曲线的不对称性.此外,当溶液中加入UA后,铂电极上氢区电流有所降低,表示UA或其反应产物能影响吸附氢生成.

当电位扫描速度足够低时,UA在铂微盘电极上引起明显的极限电流(图3b).UA在旋转玻碳圆盘电极上也引起了极限电流 $I_L$ (图5b),并且 $I_L$ 与电极转速( $\omega$ )的 $1/2$ 次方成正比(图6b),显示 $I_L$ 是由液相中的扩散步骤所控制.

UA在铂和玻碳电极上的起始氧化电位分别为+0.29 V和+0.27 V;其5 mV/s正向扫描的极化曲线的半波电位分别为+0.44 V和+0.39 V,似可表示对于UA的氧化,铂并不具有比玻碳更强的催化能力.然而,不论是采用铂或玻碳电极作为GOD电极的检测电极都不能避免UA的干扰.

图7b中给出在以KB填制的粉末微电极上用慢扫速测得的UA的CV曲线,相同浓度的UA在粉末电极上的 $I_L$ 与电极半径 $r$ 的比值与在铂微盘电极上得到的相近,表明极限电流是由电极端面附近液相中UA的扩散极限速度控制的,而与电极的实际表面积无关.图7b所示曲线上出现了一对氧化还原电流峰,其中阴极峰高度明显小于阳极峰.出现阳极峰的原因与存在AA时的相同;而出现阴极峰表明UA的氧化产物(II)由于分解较慢仍可在多孔体中累积到一定浓度,并在反向扫描时引起峰电流.图7b中UA的起始氧化电位为+0.23 V,半波电位为+0.28 V,均比在铂及玻碳上的有所负移,表明利用粉末微电极可以提高UA的表观可逆性.

#### 4) L-半胱氨酸(L-Cys)

L-Cys在铂电极上的电氧化完全不可逆.L-Cys氧化反应的产物胱氨酸只能在比-0.5 V更负的电位区还原<sup>[15]</sup>.当溶液中存在L-Cys时,铂电极上氢的吸脱附峰随扫描时间增长而逐渐消失,双层区电流明显减小,同时L-Cys的氧化电流逐渐减小,曲线位置正移(图2c).但若扫描上限从+0.8 V移至+1.1 V,L-Cys的氧化峰电流又随着扫描次数的增加而有所增大,曲线位置也负移,同时还部分恢复铂电极上表面氧化物的还原峰,氢区电流也有所加大.所观察到的现象可能与L-Cys分子的一端带有-SH(巯基)有关.已知烷基硫醇与铂电极表面之间有强烈的相互作用,可自发组成单分子层(SAM),并引起铂电极CV曲线上氢区、双层区及氧区的电流减小,以及催化能力下降.当扫描电位上限移到足够正的电位后,又可以使电极上硫醇形成的SAM被氧化破坏,并使铂表面恢复或部分恢复其催化活性<sup>[16]</sup>.这些行为与我们观察到的L-Cys的行为基本一致.一般认为,L-Cys对以铂为基底的GOD电极有毒化作用.

L-Cys 在玻碳电极上的电化学反应(图 4c)与在铂电极上颇不相同. 首先, 加入 L-Cys 并不能改变玻碳电极的充电电流. 在玻碳电极上 L-Cys 的氧化电流随时间下降也较不显著. 另外, L-Cys 在玻碳电极上的氧化电位要比在铂电极上更正, 表明在玻碳电极上 L-Cys 的电极反应更不可逆. 在铂电极(图 3c)和玻碳电极上均看不到明显的极限电流水平段.

L-Cys 在 KB 粉末电极上的电化学反应(图 7c)与在平面玻碳电极上相似, 但粉末电极上极化曲线的位置要负得多, 即表观可逆性显著改善. 图 7c 中在  $-0.2\text{ V} \sim +0.2\text{ V}$  之间还观察到微弱的氧化电流, 其原因尚待判明.

5) 对-乙酰氨基苯酚(APAP)

在铂和玻碳电极上, APAP 电化学反应的可逆性显然比 AA、UA 及 L-Cys 都要好. 以此二种电极测得的 CV 曲线上均出现了氧化和还原电流峰(图 2d 和 4d).

APAP 在铂和玻碳电极上的氧化电流峰和还原电流峰电位差  $\Delta E$ , 分别为: 495 mV 和 665 mV (均指第一周扫描), 表现为不完全可逆的过程.

图 2d 还显示在铂电极上实现 APAP 氧化还原反应的同时氢区电流明显减小, 表示原子氢在铂电极上的吸附受到抑制, 显示出 APAP 或其反应产物能在铂电极上吸附. 随着扫描次数增加, 氧化电流和还原电流均逐渐下降, 表示电极表面的催化性能也逐渐下降.

在玻碳电极上, 也可以看到 APAP 的氧化电流峰随着扫描次数的增加而下降和峰电位正移; 还原电流峰也随之下降, 其峰电位负移.

铂电极上用慢扫描测得的及用旋转玻碳电极测得的准稳态极化曲线上, 均可见发展良好的极限电流(图 3d 和 5d). 对铂电极, 其极限电流数值与按扩散机理计算的相近. 而在玻碳电极上, 则极限电流与  $\omega^{1/2}$  的关系并非直线, 而是趋近一极限值(图 6c). 这表明在高传质速度下, APAP 在电极表面的电氧化反应表现出非扩散性限制步骤的特征.

APAP 在铂和玻碳电极上的起始氧化电位分别为  $+0.35\text{ V}$  和  $+0.32\text{ V}$ ; 用  $5\text{ mV/s}$  正向扫描所得极化曲线上的半波电位分别为  $+0.47\text{ V}$  和  $+0.48\text{ V}$ . 这表示由于电极反应的可逆性较高, 电极材料对极化曲线的影响不大. 然而, 不论采用铂或玻碳电极作为 GOD 电极的检测电极都不能避免 APAP 的干扰.

将在 APAP 溶液中扫描近一小时的玻碳电极取出用大量二次水冲洗后, 在磷酸缓冲溶液中扫描时得到了两对清晰的峰(图 8a). 在粉末微电极用慢扫描测得的 CV 曲线上出现了一对较大的尖峰(图 7d), 同时在  $\pm 0.1\text{ V}$  左右可见一对小的氧

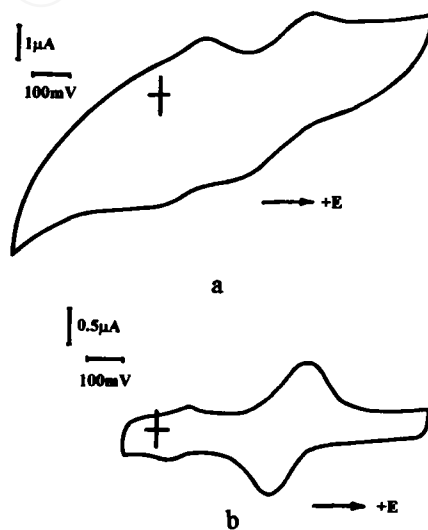


图 8 经对-乙酰氨基苯酚处理后碳电极的 CV 曲线

a. 玻碳电极(扫描速度:  $5\text{ mV/s}$ , 电极直径:  $4\text{ mm}$ ) b. KB 粉末电极(扫描速度:  $50\text{ mV/s}$ , 电极直径:  $0.05\text{ mm}$ )

Fig. 8 CV curves obtained with APAP treated carbon electrode; a, GC electrode b, KB powder microelectrode



化还原峰. 将在APAP 溶液中扫描近一小时的KB 电极取出然后再浸泡、清洗半小时后, 再于磷酸缓冲溶液中进行扫描, 得到与图7d 对应的两对峰(图8b). 这些事实说明APAP 及其反应产物能在碳表面上吸附. APAP 在粉末电极上的稳态极限氧化电流与电极半径 $r$  的比值与铂微盘电极上得到的基本相同. 表明当不搅拌溶液时出现的极限电流是由电极端面附近液相中APAP 的扩散极限速度所控制的.

#### 6) 各种干扰物质电化学行为的比较

综上所述, 抗坏血酸、尿酸、L-半胱氨酸及对-乙酰氨基苯酚在铂、玻碳电极以及碳粉末微电极上均能引起电化学信号. 这四种物质的起始氧化电位和半波电位的顺序均为: 抗坏血酸 < 尿酸 < 对-乙酰氨基苯酚 < L-半胱氨酸, 其中L-半胱氨酸不显示半波电位.

表1 杂质在不同电极上的起始氧化电位(V)与半波电位(V, 括号中数值)

Tab. 1 The beginning oxidization potential(V) and the half-wave potential(V) of the interference obtained with the Pt, GC and KB electrode

电极	AA	UA	L-Cys	APAP
铂	-0.15(+0.26)	+0.29(+0.44)	+0.25	+0.35(+0.47)
玻碳	-0.05(+0.29)	+0.27(+0.39)	+0.70	+0.32(+0.48)
KB	-0.20(-0.13)	+0.23(+0.28)	-0.20	+0.20(+0.34)

表1 中数值指明: 这些杂质的电氧化催化能力一般是铂 > 玻碳, 但若杂质的电化活性较高, 则在铂与玻碳电极上其相应的极化曲线的位置则差别不大(如UA 和APAP). 而在KB 粉末电极上, 由于电极的真实表面积大, 这些杂质的起始氧化电位及半波电位均较铂或玻碳电极上的更负. 遗憾的是: 不论采用第一代(工作电位+0.6~+0.7 V)或第二代(工作电位0~+0.4 V) GOD 电极, 均无法通过选择电极材料完全避免这些杂质的干扰.

值得注意的是: 虽然KB 粉末电极有着比平面电极大得多的真实表面积, 但抗坏血酸、尿酸及对-乙酰氨基苯酚在粉末微电极上引起的稳态极限氧化电流却与表观面积相同的平面电极基本相同, 表示液相中的扩散过程是控制电流密度的主要因素, 因此 $I_L$  只与电极的直径有关而与电极的实际面积无关. 与此形成明显对比的则是采用粉末电极可以极显著地提高葡萄糖的响应电流, 这就为采用粉末电极技术以提高GOD 电极的信噪比提供了可能性, 以下将对此作进一步研究.

## 2.2 采用粉末电极技术提高GOD 电极的信噪比

### 1) 以 $O_2$ 为电子中继体, PU 为固定基体的GOD 电极

用PU-GOD 修饰了两种电极, 即KB 粉末电极及作为对比的铂盘电极, 其直径均为0.5 mm, 两种电极的修饰方法相同, 工作电位均用+0.7 V. 测量信号/噪音比时首先在含5.5 mmol/L 葡萄糖的磷酸缓冲溶液中记录酶反应产物 $H_2O_2$  的稳态氧化电流, 然后在该溶液中依次加入各种杂质, 使其浓度分别达到人体内存在浓度的典型高限, 即AA 0.11 mmol/L, UA 0.48 mmol/L, L-Cys 0.10 mmol/L 以及APAP 0.17 mmol/L. 在同一电位下记录各杂质引起的

稳态氧化电流. 溶液用氧饱和, 温度为 35℃.

表2 示出各种杂质引起的稳态干扰电流与同一电极上 5.5 mmol/L 的葡萄糖引起的信号电流的比值(用百分比表示). 信噪比( $S/N$ )系指 5.5 mmol/L 葡萄糖所引起的信号电流( $S$ )与上述四种杂质的联合作用时干扰电流( $N$ )的比值.

表2 各种杂质在PU-GOD 修饰电极上的干扰电流/葡萄糖信号电流

Tab. 2 The ratio of the steady state current (interference/glucose) obtained on the Pt-PU-GOD electrode and KB-PU-GOD electrode respectively

杂质浓度	铂微盘电极/PU-GOD	KB 粉末电极/PU-GOD
抗坏血酸(0.11 mmol/L)	394%	22.2%
尿酸(0.48 mmol/L)	483%	43.3%
L-半胱氨酸(0.10 mmol/L)	电极中毒	7%
对-乙酰氨基苯酚(0.17 mmol/L)	456%	42.1%
信噪比( $S/N$ )	0.075	1.15

注: 1. 葡萄糖浓度为 5.5 mmol/L;

2. 信噪比( $S/N$ )系指 5.5 mmol/L 葡萄糖所引起的信号电流( $S$ )与上述四种杂质联合作用的干扰电流( $N$ )的比值

由表2 数据, 可以看出在平面 GOD 电极上杂质的干扰比在粉末电极上严重得多; 即采用粉末电极技术可以明显提高 GOD 电极的信噪比.

Harrison 等人曾报道采用阳离子交换树脂 Nafion 作为 GOD 电极的外层阻挡膜时的信噪比为 0.5<sup>[3,4]</sup>. Wilson 等人报道的用纤维素膜作内层阻挡膜及厚约 9 μm 的 PU 作为外层阻挡膜时, GOD 电极的信噪比约为 2<sup>[2]</sup>. 采用粉末微电极技术后, 我们在未加外层阻挡膜的条件下获得了与他们基本相同的信噪比. KB 粉末表面上 PU 修饰层的平均厚度仅为 0.4 nm; 因此, 粉末酶电极信噪比的提高主要是由于粉末电极引起的葡萄糖信号电流的增大, 而并非 PU 的选择性阻挡效应.

加用较厚的高分子阻挡膜虽然可以比较有效地减小杂质的干扰电流, 但同时对于葡萄糖及 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的传输也必然有阻挡作用, 因而在杂质电流下降的同时往往伴随着信号电流的减小. 例如 [3,4] 中报道的 GOD 电极的灵敏度为 25 ± 10 nA/mmol/L; [2] 中报道的灵敏度为 2.3 ± 1.1 nA/mmol/L/mm<sup>2</sup>; 而我们制备的粉末电极的灵敏度为 10<sup>3</sup> nA/mmol/L/mm<sup>2</sup> 或 200 nA/mmol/L, 比前二者大得多.

然而也要看到: 由于采用了很正的工作电位, 各种杂质(除 L-Cys 外)的干扰电流应均已达到最大值(极限电流), 因此, 仅采用粉末电极的方法还不能完全消除杂质的干扰.

2) 以 DBFc 为电子中继体, AQ 为固定基体的 GOD 电极

经 AQ-DBFc-GOD 修饰的 KB 粉末电极及平面电极信噪比的测量电位采用 +0.40 V 或 +0.25 V. 其它测量方法同前. 表3 中各种杂质引起的稳态干扰电流与信噪比( $S/N$ ) 的表示方法同上.

表3 各种杂质在AQ-DBFc-GOD修饰电极上的干扰电流/葡萄糖信号电流

Tab. 3 The ratio of the steady state current(interference/glucose) obtained on the GC-AQ-DBFc-GOD electrode and KB-AQ-DBFc-GOD electrode respectively

杂质浓度	玻碳电极/AQ-DBFc-GOD		KB/AQ-DBFc-GOD 粉末电极	
	+0.4	+0.25	+0.40	+0.25
抗坏血酸(0.11 mmol/L)	1125%	1333%	8.6%	11%
尿酸(0.48 mmol/L)	1437.5%	133%	20.5%	4.8%
L-半胱氨酸(0.10 mmol/L)	0	0	7.6%	0
对-乙酰氨基苯酚(0.17 mmol/L)	581.3%	0	2.3%	0
信噪比(S/N)	0.032	0.068	2.56	6.33

注:1. 葡萄糖浓度为5.5 mmol/L;

2. 测量电位分别为+0.40 V和+0.25 V;

3. 信噪比(S/N)系指5.5 mmol/L葡萄糖所引起的信号电流(S)与上述四种杂质联合作用时的干扰电流(N)的比值

表3数据也显示平面GOD电极上杂质的干扰比粉末电极上严重得多.采用粉末电极技术后电极的信噪比可以提高至2.5~6.3,若与经过类似修饰的平面电极相比则提高了80~90倍.粉末电极中的AQ修饰层的平均厚度仅为0.7 nm,因此信噪比的提高也主要是由于粉末电极上葡萄糖信号电流的增大.

从表3中还可看到:当将测量电位从+0.40 V移至+0.25 V后,电极的信噪比明显提高.在后一电位下测量时,对-乙酰氨基苯酚的干扰电流降为零,L-半胱氨酸及尿酸的干扰电流也显著减小.虽然在+0.25 V时葡萄糖的信号电流降到+0.40 V时的60%,但杂质的氧化电流却下降到仅为+0.40 V时的25%,因此电极的信噪比得以提高.由此可见,测量电位负移对提高信噪比是有利的.但是也应指出,用+0.25 V测量时剩下的主要干扰杂质是抗坏血酸,其起始氧化电位在-0.15~-0.20 V之间,然而很难找到能在比此更负电位区有效工作的电子中继系统,因此,企图改变工作电位来进一步改善信噪比可能是困难的.而配合使用对抗坏血酸有选择阻挡性的膜可能是值得尝试的方向.我们已初步试验了采用AQ作为选择透过膜,可以使经PU-GOD和AQ-DBFc-GOD修饰的粉末电极上杂质的干扰进一步降低,对此将另文报道.

我们制备的AQ-DBFc-GOD修饰的KB粉末电极的灵敏度在+0.40 V时为700 nA/mmol/L/mm<sup>2</sup>或130 nA/mmol/L;+0.25 V时为400 nA/mmol/L/mm<sup>2</sup>或80 nA/mmol/L,均仍保持了高的灵敏度.

综合表2、表3可以看到采用粉末电极可以明显改善GOD电极的信噪比.这是因为葡萄糖在电极上的反应速度主要受制于酶反应速度,增大电极真实表面积与提高单位表观面积上的酶载量能极显著地提高GOD电极的信号电流<sup>[12]</sup>,而引起干扰的可被氧化的生物小分子由于其电化学活性较高,它们在电极上的氧化速度主要是由液相中的扩散传质控制的.因此,增大电极的真实表面积并不能提高它们在电极上的反应速度,这就解释了为什么当溶液中存在杂质干扰时采用粉末电极能有效提高酶电极的信噪比.

### 3 结 论

采用粉末电极技术可以明显提高 GOD 电极的信噪比. 但由于电极的工作电位仍处于杂质能在电极上氧化的电位区间内, 故仍然不能完全消除杂质的干扰. 为了进一步减小杂质的干扰电流, 还需要配合使用高分子阻挡膜.

## Improvement of the Anti-interference Characteristics of GOD Electrode by Using the Powder Microelectrode Technique

Chen Jian      Cha Chuansin

(Wuhan University, Wuhan 430072)

**Abstract** The electrochemical behavior of ascorbic acid (AA), uric acid (UA), L-cystein (L-Cys) and acetaminophen (APAP), i. e. the main interference to the GOD electrode, were studied at the Pt, GC and powder microelectrode. Experimental results indicated that, due to the electrochemical activity of these interference, it is difficult to eliminate their interference effects by manipulation of electrode materials or working potential of the GOD electrode. However, it was found that the limiting currents at the KB electrode are mainly controlled by mass transfer in liquid phase, so it is only related to the geometric size of the electrode, not its real surface area. Therefore, it is possible to enhance significantly the signal/noise ratio of the GOD electrode by using the powder microelectrode technique.

**Key words** Powder microelectrode, GOD electrode, Ascorbic acid, Uric acid, L-cystein, Acetaminophen

### References

- 1 Clark L C, Lyons L. Electrode system for continuous monitoring in cardiovascular surgery. *Ann. NY. Acad. Sci.*, 1962, 102: 29~45
- 2 Bindra D S, Zhang Y, Wilson G S. Design and in vitro studies of a needle-type glucose sensor for subcutaneous monitoring. *Anal. Chem.*, 1991, 63: 1 692
- 3 Moussy F, Jakeway S, Harrison D J et al. In vitro and in vivo performance and lifetime of per-fluorinated ionomer-coated glucose sensors after high-temperature curing. *Anal. Chem.*, 1994, 66: 3882
- 4 Moussy F, Harrison D J, O'Brien D W et al. Performance of subcutaneously implanted needle-type glucose sensors employing a novel trilayer coating. *Anal. Chem.*, 1993, 65: 2 072
- 5 Cass A E G, Davis G, Francis G D et al. Ferrocene-mediated enzyme electrode for amperometric determination of glucose. *Anal. Chem.*, 1984, 56: 667

- 6 Atanasov P, Kaisbeva A, Gamburgzev S et al. Nickelocene-mediated glucose oxidase electrode. *Electroanalysis*, 1993, 5: 91
- 7 Gorton L, Karan H I, Hale P D et al. A glucose electrode based on carbon paste chemically modified with a ferrocene-containing siloxane polymer and glucose oxidase, coated with a poly (ester-sulfonic acid) cation-exchanger. *Anal. Chim. Acta*, 1990, 228: 23
- 8 Hale P D, Lan H L, Boguslavsky L I et al. Amperometric glucose sensors based on ferrocene-modified poly(ethylene oxide) and glucose oxidase. *Anal. Chim. Acta*, 1991, 251: 121
- 9 Ohara T J, Rajagopalan R, Heller A. Glucose electrodes based on cross-linked  $[\text{Os}(\text{bpy})_2\text{Cl}]^{+2+}$  complexed poly(1-vinylimidazole) films. *Anal. Chem.*, 1993, 65: 3 512
- 10 Ye L, Hammerle M, Olsthoorn A J J et al. High current density "wired" quinoprotein glucose dehydrogenase electrode. *Anal. Chem.*, 1993, 65: 238
- 11 Cha C S, Li C M, Yang H X et al. Powder microelectrode. *J. Electroanal. Chem.*, 1994, 368: 47
- 12 Cha C S, Chen J, Liu P F. Improvement of the output characteristics of amperometric enzyme electrode by using powder microelectrode technique. *submitted to "Biosensor and Bioelectronics"*
- 13 McCreery R L. Carbon electrodes: structural effects on electron transfer kinetics. *Electroanal. Chem.*, 1991, 17: 221~373
- 14 Dryhurst G. Electrochemistry of low molecular weight organic compounds of biological interest. *Comprehensive Treatise of Electrochem.*, Chap. 2, 1985, 15: 174
- 15 邓中一,王宗礼,李长明等. 卟啉化合物的电催化行为(V). 高等学校化学学报,1987,8:453
- 16 Cha C S, Chen J, Liu P F. Improvement of the adhesion of a Nafion modifying layer on electrodes. *J. Electroanal. Chem.*, 1993, 345: 463
- 17 荣国斌等. 2-烷基环戊-2-烯酮的简便合成新法. 化学学报,1983,41:971