

# 基于新型聚合物碳糊复合电极的 电致化学发光研究

吴晓苹 周伟超 戴宏 孙士昌

(食品安全分析与检测技术教育部重点实验室, 福州大学化学化工学院 福州市鼓楼区工业路 523 号 350002)

**摘要** 以甲基丙烯酸甲酯(MMA)预聚物作为石墨粉的粘合剂, 完全聚合固化, 制备并表征了聚合物碳糊复合电极。基于此电极考察了鲁米诺体系的电致化学发光行为。在最优条件下, 鲁米诺在聚合物碳糊电极上的电化学响应比在传统的碳糊电极上明显增强, 电致化学发光的稳定性和发光强度也大大增加。利用尿酸对该体系发光的强抑制作用, 建立了尿酸的电致化学发光检测方法, 线性范围为  $8 \times 10^{-11}$ — $3 \times 10^{-8}$  mol/L, 检出限为  $1.2 \times 10^{-11}$  mol/L, 应用于体液测定, 结果满意。

**关键词** 电致化学发光, 聚甲基丙烯酸甲酯, 聚合物碳糊电极, 鲁米诺, 尿酸。

中图分类号: O657.39

文献标识码: A

文章编号: 1004-8138(2007)06-1176-05

## 1 前言

电致化学发光(Electrochemiluminescence, ECL)是指在电极表面现场电生出发光试剂或者发光中间体从而检测到的化学发光信号。由于电致化学发光具有高灵敏度和高选择性的特点, 近年来已经成为分析化学中一种重要的检测手段。鲁米诺电致化学发光体系除了具备 ECL 的一般特点以外, 还因发光量子产率高、氧化电位低、稳定性好等自身的优点而受到关注<sup>[1,2]</sup>, 成为众多有机物和无机物发光分析的典型体系。鲁米诺电致化学发光对电极材料、电极电位和电极表面状态具有一定的依赖性, 通过优化电极的组成和结构, 可能获得理想的 ECL 特性。

碳糊电极(Carbon paste electrode, CPE)在生物电分析中应用非常广泛<sup>[3]</sup>。传统的碳糊电极一般是利用导电性石墨粉与憎水性的粘合剂如矿物油、石蜡油等混合填充而制成<sup>[4]</sup>, 但其表面比较柔软, 易于被腐蚀破坏, 重现性、稳定性欠佳, 使用寿命较短<sup>[5]</sup>, 尤其用于 ECL 测定时在其电极表面激发的光信号也相对较弱。聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)是一类比较稳定而廉价的聚合物, 具有良好的光学性质和机械稳定性, 把它的预聚物作为粘合剂与石墨粉混合, 完全固化后可制成聚合物碳糊复合电极。Yao 等人基于 PMMA 预聚物分别成功制备了新型石墨粉复合电极和碳纳米管复合电极, 应用于木兰属植物药物的毛细管电泳安培检测<sup>[6]</sup>, 表明了这种电极在电化学响应性能和稳定性方面具有一定的优越性。本研究也发现在 PMMA 聚合物碳糊电极上, 鲁米诺体系 ECL 具有明显的增强行为。

尿酸是人体内嘌呤代谢的最终产物之一。体液中尿酸含量的测定有助于痛风、肾功能减退、心血管疾病等病症的诊断, 具有重要的临床实际意义<sup>[7]</sup>。测定尿酸的方法主要有高效液相色谱法<sup>[8]</sup>、酶分析法<sup>[9,10]</sup>、分光光度法<sup>[11]</sup>、荧光分析法<sup>[12]</sup>、电化学分析法<sup>[13,14]</sup>等等。在临床分析应用方面, 目前

资助基金: 教育部“新世纪优秀人才支持计划”(NECT-06-0572); 福建省自然科学基金(D0510006)

联系人, 电话: (0591)87893229; E-mail: wapple@fzu.edu.cn

作者简介: 吴晓苹(1972—), 女, 福建省漳州市人, 副教授, 主要从事生物与环境分析工作。

收稿日期: 2007-09-19; 接受日期: 2007-10-09

仍需要高灵敏、低成本、简单快捷的尿酸检测新方法。本文基于聚合物碳糊电极对鲁米诺 ECL 的增敏特征,建立了高灵敏度的尿酸 ECL 间接检测体系,并进行体液样品分析。

## 2 实验部分

### 2.1 仪器和试剂

ECL 的检测是利用本实验室自组装的电致化学发光检测系统<sup>[15]</sup>进行的,其核心部件包括提供不同发光激发模式的 CH I660A 电化学工作站(上海辰华仪器公司)、BPCL 超微弱发光分析仪(中国科学院生物物理所)、电化学检测池以及数据采集处理系统。采用三电极系统:自制聚合物碳糊复合电极和 CPE 分别作为工作电极,使用前用金相精细砂纸抛光,并用二次蒸馏水淋洗。对电极为铂丝,参比电极为 Ag/AgCl 电极。Philips XL 30 ESEM 环境扫描电镜(荷兰 Philips 公司)。石墨粉、矿物油和鲁米诺购自美国 Sigma 公司。尿酸、甲基丙烯酸甲酯和偶氮二异丁腈购自上海化学试剂公司。所有试剂均为分析纯,水为二次蒸馏水。

### 2.2 电极的制备

碳糊电极(CPE)按照文献方法<sup>[4]</sup>制备,制得的电极室温下干燥 12h 备用。

聚合物碳糊复合电极的制备:取 5mL 的甲基丙烯酸甲酯(MMA),加入 0.01g 的引发剂偶氮二异丁腈(ABN),混合后水浴加热到 85℃,聚合 15min,得到透明粘稠的胶状预聚物。将石墨粉与甲基丙烯酸甲酯预聚物按照 4:6 的质量比快速混合均匀,得均一的黑色糊状物。取一内径为 2mm 长度为 60mm 的聚四氟乙烯管,将糊状物紧实填充入管内端口(约 2mm 长),与预固定的铜柱接触,之后在 45℃ 聚合固化 12h,最后用环氧树脂粘合剂固定电极,制得聚合物碳糊复合电极。使用前将电极在金相砂纸上抛光,得平整光滑的电极表面。

### 2.3 实验方法

#### 2.3.1 电极表征

以 SEM 观察 CPE 和聚合物碳糊复合电极的表面微结构;以循环伏安法和交流阻抗法在 1mmol/L 铁氰化钾溶液中对电极进行电化学表征。

#### 2.3.2 ECL 测定

在缓冲液介质中(0.1mol/L 磷酸盐,用氢氧化钠调节至所需 pH),加入一定浓度的鲁米诺标准溶液制成待测液,向三电极系统上施加 0—1.0V 的扫描电位,记录鲁米诺在工作电极上的发光强度( $I$ )。体系中加入一定浓度的尿酸后,鲁米诺的发光强度有所下降,记录光强的降低值( $x$ )。

## 3 结果与讨论

### 3.1 电极表征

扫描电镜实验表明,碳糊电极表面主要由形状不规则的片状石墨薄片构成,而聚合物碳糊电极具有规则的表面结构,PMMA 聚合物紧密包含石墨微粒,形成许多平整致密的区域。

分别试验了铁氰化钾体系在 CPE 和聚合物碳糊复合电极上的循环伏安图(图 1)。与 CPE 相比,铁氰化钾离子-亚铁氰化钾离子在聚合物碳糊复合电极上的氧化还原电对峰电流变大,同时显示出低的过电位,电极反应可逆性增加,表明复合电极的表面结构具有很高的电子传递速率,能够获得更好的电化学响应。同时,复合电极的背景电流有所增大,说明该电极的有效表面积增大,增加了充电电流所致。图 2 对比了两种电极的交流阻抗谱图,与 CPE 相比,聚合物碳糊复合电极的阻抗图更接近于一条直线,其电极表面电阻明显减小,电子转移速率加快,电极表面的反应完全受扩散控制。

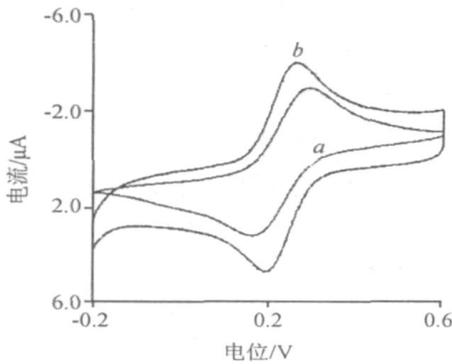


图 1 1 mmol/L 铁氰化钾在 CPE (a) 和聚合物碳糊复合电极 (b) 上的循环伏安图。扫描速率 0.1 V/s

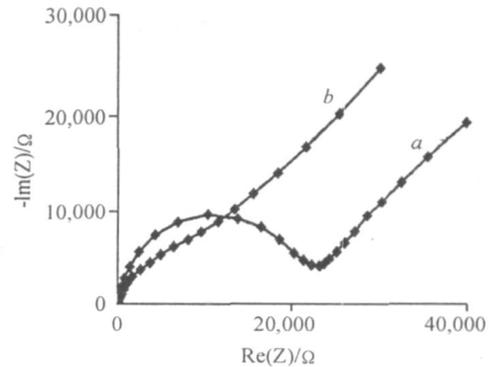


图 2 1 mmol/L 铁氰化钾溶液在 CPE (a) 和聚合物碳糊复合电极 (b) 上的交流阻抗谱图。交流电位幅值: 10 mV; 频率范围: 0.05 Hz ~ 100 kHz; 工作电压: 0.22 V。

### 3.2 影响鲁米诺 ECL 的实验因素

#### 3.2.1 反应介质

鲁米诺发光体系中通常选用磷酸盐缓冲液作为介质, 试验中也证实了磷酸盐缓冲液中的鲁米诺 ECL 强于硼酸盐缓冲液和 BR 缓冲液。在 pH 7.0—13.0 的范围内, 随着介质碱性的增强, 鲁米诺的发光强度逐渐增大, 且在 pH 11.0 附近达到最大值, 之后发光强度明显下降。实验选用 pH 11.0 的磷酸盐缓冲液反应介质。

#### 3.2.2 电化学参数

实验采用循环伏安法 (CV) 作为 ECL 发光激发模式, 同时监测鲁米诺在聚合物复合电极表面的电化学行为。结果表明, 鲁米诺在聚合物碳糊复合电极上的电极反应是一个准可逆的过程 ( $E_{pa}/E_{pc} = 0.7V/0.6V$ ,  $i_{pa} > i_{pc}$ ), 且在不同扫速下鲁米诺的峰电流与扫速的平方根成正比关系, 说明反应是扩散控制过程。鲁米诺发光强度随扫描速率的增加而增大, 当扫描速率增大到 50 mV/s 时, 鲁米诺的发光信号达到最大稳定值。由于进一步增大扫描速率会导致 ECL 的峰变形, 因此, 实验中选用扫描速率为 50 mV/s。

#### 3.2.3 鲁米诺浓度的影响

考察了鲁米诺在  $2 \times 10^{-6}$ — $6 \times 10^{-5}$  mol/L 的浓度范围内, 在聚合物碳糊复合电极上发光强度的变化情况 (见图 3)。由图可见, 随着鲁米诺浓度的增大, 其发光强度线性增大, 直至鲁米诺浓度为  $4 \times 10^{-5}$  mol/L 时发光达到最大稳定值。继续增加鲁米诺浓度, 发光强度变化趋于平稳。我们选择鲁米诺浓度为  $4 \times 10^{-5}$  mol/L 建立发光测试体系。

综上所述, 我们得出了鲁米诺在聚合物碳糊复合碳糊电极上 ECL 的最优化的电化学条件和反应介质条件。表 1 列出了最优化检测条件。

### 3.3 鲁米诺在不同电极上的 ECL 行为

图 4 表示最优化条件下鲁米诺在 CPE 和聚合物碳糊复合电极上的 ECL 行为。可见, 鲁米诺在聚合物碳糊复合电极上的发光强度大大增加, 几乎是 CPE 上的 7 倍。这是由于石墨粉微粒被聚合物紧密包合在一起, 形成了类似于空间立体网格结构, 同时聚合物碳糊复合电极较之 CPE 表面更

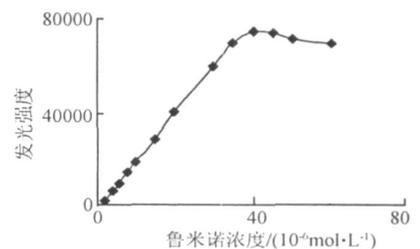


图 3 鲁米诺浓度对聚合物碳糊复合电极上的 ECL 强度的影响。0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 11.0; 电化学扫描速率为 50 mV/s

加致密均匀, 比表面积增大, 增进了电极反应速率, 同时有利于鲁米诺在电极表面的传质, 从而使发光效率增大, ECL 信号增强。

表 1 鲁米诺 ECL 体系的最优化测定条件

电位扫描模式	初始电位 $E(V)$	终止电位 $E(V)$	扫描速率 $(mV/s)$	反应介质	鲁米诺浓度 $(mol/L)$
CV	0	1.0	50	磷酸盐-NaOH pH 11.0	$4 \times 10^{-5}$

### 3.4 分析应用

实验发现尿酸对鲁米诺 ECL 体系的发光强度具有明显的抑制作用, 据此建立了尿酸的 ECL 间接测定体系。在最优化条件下, 抑制的 ECL 强度 ( $x$ ) 与尿酸浓度对数  $\lg C$  在  $8.0 \times 10^{-11} \sim 3.0 \times 10^{-8} mol/L$  范围内呈线性关系:  $\lg C = 7.0 \times 10^{-5}x - 10.96$ , ( $r^2 = 0.9927$ )。方法的理论检出限 ( $3\sigma$ ) 为  $1.2 \times 10^{-11} mol/L$ 。对浓度为  $1.0 \times 10^{-9} mol/L$  的尿酸进行连续 7 次平行测定, 其 RSD 为 3.1%。

在最优化条件下试验了体液样品中可能的共存物对尿酸 ( $8.0 \times 10^{-9} mol/L$ ) 测定的影响, 结果表明该体系的选择性较好。当相对误差小于  $\pm 5\%$  时, 1000 倍的  $K^+$ 、 $Na^+$ 、 $NH_4^+$ 、 $Cl^-$ 、尿素、葡萄糖、蔗糖, 100 倍的  $Ca^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ , 50 倍的  $Fe^{3+}$ , 1 倍的抗坏血酸和肌酐对测定无干扰。尿样经  $5000r \cdot min^{-1}$  离心 10min, 取上层清液用 pH 11.0 的磷酸盐缓冲液稀释至一定浓度, 按照 2.3.2 中实验步骤, 以标准加入法进行稀释样品尿酸浓度和平均回收率测定 (表 2), 测定结果满意。

表 2 人体尿样中尿酸的 ECL 检测及回收率结果 (n=3)

样品	稀释尿样的尿酸浓度 $(mol/L)$	加入量 $(mol/L)$	测得量 $(mol/L)$	平均回收率 (%)	尿样尿酸浓度 $(mol/L)$
尿样 1	$1.16 \times 10^{-9}$	$2.00 \times 10^{-9}$	$3.25 \times 10^{-9}$	103	$2.32 \times 10^{-3}$
尿样 2	$2.06 \times 10^{-9}$	$3.00 \times 10^{-9}$	$4.92 \times 10^{-9}$	97.2	$4.12 \times 10^{-3}$
尿样 3	$1.45 \times 10^{-9}$	$4.00 \times 10^{-9}$	$5.83 \times 10^{-9}$	107	$2.90 \times 10^{-3}$

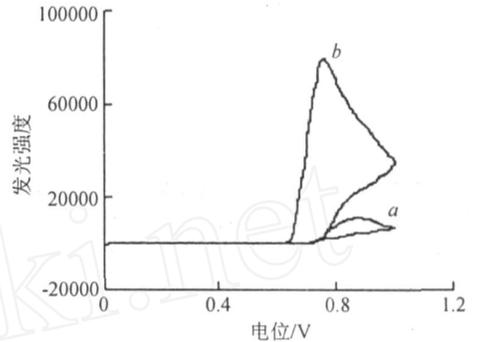


图 4 最优化条件下鲁米诺在 CPE  
a——聚合物碳糊复合电极; b——ECL 行为。

## 4 结论

本文制备了一种聚合物碳糊复合电极, 并应用到鲁米诺的电致化学发光研究中。相对于传统碳糊电极而言, 这种电极表面具有一定机械硬度, 电极表面的更新较为容易, 因此具有更好的电化学响应性、稳定性以及长的使用寿命。基于此建立了体液中尿酸的高灵敏 ECL 检测体系, 可望为临床分析应用提供灵敏、低成本和简单快捷的检测新方法。

## 参考文献

[1] Cui H, Yang X, Zhang Z F. Multichannel Electrochemiluminescence of Lumino1 in Neutral and Alkaline Aqueous Solutions on a Gold Nanoparticle Self-Assembled Electrode[J]. *J. Anal. Chem.*, 2004, **76**(14): 4002—4010

[2] Haapakka K E, Kankare J J. Apparatus for Mechanistic and Analytical Studies of the Electrogenerated Chemiluminescence of Lumino1[J]. *J. Anal. Chem. Acta*, 1982, **138**: 253—262

[3] Svancara I, Vytras K, Barek J, Zim J. Carbon Paste Electrodes in Modern Electroanalysis[J]. *J. Anal. Chem.*, 2001, **31**(4): 311—345

[4] Forzani E S, Rivas G A, Solis V M. Amperometric Determination of Dopamine on an Enzymatically Modified Carbon Paste Electrode [J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 1995, **382**(1—2): 33—40

[5] Kalcher K, Kauffmann J M, Wang J et al. Sensors Based on Carbon Paste in Electrochemical Analysis: A Review with Particular

- Emphasis on the Period 1990- 1993[J]. *Electroanalysis*, 1995, 7(1): 5—10
- [6] Yao X, Xu X J, Yang P Y, Chen G. Carbon Nanotube/Poly(methyl methacrylate) Composite Electrode for Capillary Electrophoretic Measurement of Honokiol and Magnobol in Cortex Magnoliae Officinalis[J]. *Electrophoresis*, 2006, 27(16): 3233—3242
- [7] Mazzali M, Hughes J, Kim Y G *et al* Elevated Uric Acid Increases Blood Pressure in the Rat by a Novel Crystal-Independent Mechanism [J]. *Hypertension*, 2001, 38(5): 1101—1106
- [8] Ferraris S P, Lew H, Elsayed N M. Simultaneous Determination of Inosine, Hypoxanthine, Xanthine, and Uric Acid and the Effect of Metal Chelators[J]. *Anal Biochem.*, 1991, 195(1): 116—121.
- [9] Bhargava A K, Lal H, Pundir C S Discrete Analysis of Serum Uric Acid with Immobilized Uricase and Peroxidase [J]. *J. Biochem. Biophys Methods*, 1999, 39(3): 125—136
- [10] 刘宝红, 胡仁其. 以 $\gamma$ -氧化铝固定尿酸氧化酶的尿酸传感器研究[J]. *分析化学*, 1997, 25(1): 19—24
- [11] Nelson John W, Batra K K. Simplified Automated Method for Determination of Urinary or Serum Uric Acid, Based on Reduction of Ferric-Phenanthroline Complex [J]. *Clin. Chem.*, 1975, 21(1): 125—129.
- [12] Uete T, Yamashita Y. Ultra-micro methods for the Biochemical Analysis of Cutaneous Capillary Blood III Enzymatic Fluorometric Method for Measuring Uric Acid in Blood of Neonates [J]. *Clin. Chim. Acta*, 1976, 69(1): 143—146
- [13] Raj C R, Ohsaka T J. Voltammetric Detection of Uric Acid in the Presence of Ascorbic Acid at a Gold Electrode Modified with a Self-Assembled Monolayer of Heteroaromatic Thiol [J]. *Electroanal. Chem.*, 2003, 540: 69—77.
- [14] Shi K, Shiu K K. Determination of Uric Acid at Electrochemically Activated Glassy Carbon Electrode [J]. *Electroanalysis*, 2001, 13(16): 1319—1325
- [15] Wu X P, Huang F X, Duan J P, Chen G N. Electrochemiluminescent Behavior of Melatonin and Its Important Derivatives in the Presence of Ru(bpy) $_3^{3+}$  [J]. *Talanta*, 2005, 65(5): 1279—1285

## A New Type of Graphite/Poly (Methyl Methacrylate) Composite Electrode for Electrochemiluminescence

WU Xiao-Ping ZHOU Wei-Chao DAI Hong SUN Shi-Chang

(The MOE Key Laboratory of Analysis and Detection Technology for Food Safety, and Department of Chemistry, Fuzhou University, Fuzhou 350002, P. R. China)

**Abstract** The viscous prepolymerized methyl methacrylate (MMA) solution served as an adhesive hand-mixed with graphite and solidified for the preparation of the novel graphite/PMMA composite carbon paste electrode. The electrode was used for the study on the electrochemiluminescence of luminal. Under the optimum conditions, the electrode exhibits more favorable electrochemical reactivity and improved stability compared with carbon paste electrode (CPE). The ECL intensity of luminal at the electrode enhanced greatly. Based on the inhibitory effect of uric acid to the ECL of luminal, the novel composite electrode was used to determine uric acid in the ranges of  $8 \times 10^{-11}$ — $3 \times 10^{-8}$  mol/L and the detection limit ( $3\sigma$ ) was  $1.2 \times 10^{-11}$  mol/L. This method could be applied to the determination of uric acid in human urine and other blood fluids samples.

**Key words** Electrochemiluminescence, Poly (Methyl Methacrylate) (PMMA), Graphite/PMMA Composite Electrode, Luminal, Uric Acid

### 第 5 期勘误表

页	行	误	正
863	6	云南省楚雄市姚安县第二高级中学	云南省楚雄师范学院物理与电子科学系
994	34	24(4)	24(5)