

中性溶液中过氧化氢的检测

刘金平¹, 周百能², 白雪¹, 谭文广¹, 吴守国¹

(1. 中国科学技术大学化学系, 安徽合肥 230026; 2. 中国东方汽轮机有限公司, 四川德阳 618000)

摘要: 制备了醋酸纤维素(CA)/普鲁士蓝(PB)复合膜修饰玻碳电极(CA/PB/GCE), 用于过氧化氢(H₂O₂)检测. 该修饰电极在中性缓冲液中对 H₂O₂ 表现出良好的催化响应. 0.05 mol/L 的 PBS 缓冲液中(pH 7.0, 0.1 mol/L KCl 作为支持电解质), 在-0.2 V 的恒定电势下, 使用该修饰电极采用时间电流法测定不同浓度的 H₂O₂, 在 $1.0 \times 10^{-5} \sim 2.5 \times 10^{-4}$ mol/L 的浓度范围内, 响应电流和 H₂O₂ 浓度间呈现出良好的线性关系, 线性相关系数 0.999 4, 检出限达 2.2×10^{-6} mol/L (信噪比为 3), 灵敏度为 $190 \text{ mA} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{mol}^{-1}$. 此外, 该电极还表现出良好的操作稳定性.

关键词: 过氧化氢; 普鲁士蓝; 玻碳电极; 醋酸纤维素

中图分类号: O657.12 **文献标识码:** A **doi:** 10.3969/j.issn.0253-2778.2010.07.006

Detection of hydrogen peroxide in neutral solution

LIU Jinping¹, ZHOU Baineng², BAI Xue¹, TAN Wenguang¹, WU Shouguo¹

(1. Department of Chemistry, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China;
2. Dongfang Steam Turbine Co. Ltd., Deyang 618000, China)

Abstract: Glassy carbon electrode modified by cellulose-acetate-covered Prussian blue was fabricated as a novel hydrogen peroxide sensor. The modified electrode showed an excellent electrocatalytic activity for H₂O₂ reduction in neutral solutions. H₂O₂ was thus detected amperometrically in pH 7.0 phosphate buffer solutions at an applied potential of -0.2 V (vs SCE). The response current was proportional to the concentration of H₂O₂ in the range of $1.0 \times 10^{-5} \sim 2.5 \times 10^{-4}$ mol/L with the detection limit of 2.2×10^{-6} mol/L at a signal to noise ratio of 3, RSD=0.999 4. The sensitivity was estimated to be $190 \text{ mA} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{mol}^{-1}$. In addition, the modified electrode exhibited an excellent operational stability.

Key words: hydrogen peroxide; Prussian blue; GCE; cellulose acetate

0 引言

H₂O₂ 是一种工业产品, 同时它又是许多生物分子的代谢产物. 因此, H₂O₂ 的检测在环境控制^[1-2]和临床诊断^[3-7]上有着非常重要的作用.

通常情况下 H₂O₂ 直接在贵金属电极(如 Pt,

Au)和碳电极(如玻碳电极、碳纤维、石墨糊电极和碳膜电极)上进行安培检测, 但是这种方法需要较高的工作电极电势, 使得在样品中可能共存的干扰物质如抗坏血酸、胆红素、尿酸等产生干扰电流, 对实验结果产生影响. 为了克服这些问题, 自组装技术被应用到 H₂O₂ 的检测中^[8-9]. 普鲁士蓝(PB)可以加

收稿日期: 2009-05-11; 修回日期: 2009-06-30

基金项目: 国家自然科学基金(29975025)资助.

作者简介: 刘金平, 男, 1985年生, 硕士. 研究方向: 电化学分析. E-mail: fxljip@mail.ustc.edu.cn

通讯作者: 吴守国, 副教授. E-mail: sgwu@ustc.edu.cn

速 H_2O_2 和电极之间电子转移的速率,这样工作电极电势就极大地降低,大约在 0.0 V 左右(相对于 Ag/AgCl)^[10-12]. 如此低的电压使得 H_2O_2 检测中极大地减少甚至避免了绝大部分干扰物质如抗坏血酸、胆红素、尿酸等产生的干扰. 但是使用 PB 来催化检测 H_2O_2 的最主要问题就是 PB 自身糟糕的操作稳定性. 信号在中性和碱性 pH 值溶液中迅速衰减. 丝网印刷技术^[13] 和聚合物膜如聚乙烯吡咯烷酮^[14] 和树枝状聚合物^[15] 等被用来提高 PB 的稳定性.

本文使用醋酸纤维素覆盖沉积在玻碳电极表面的普鲁士蓝膜,有效地保护了 PB,使其在较高的 pH 值下仍保持稳定. 该修饰电极在 H_2O_2 的测定中展现出优良的性能,如线性范围宽、灵敏度较高、检出限低等.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

LK2006 型微机电化学分析系统(天津兰力科公司);扫描电子显微镜(JEOL JSM-6700F);原子力显微镜(DI, Santa Barba-ra, CA, USA);醋酸纤维素(上海化学试剂公司);铁氰化钾、三氯化铁(上海化学试剂公司);0.05 mmol/L PBS 溶液作为缓冲液,0.1 mmol/L KCl 作为支持电解质. 所有试剂均为分析纯,水为二次蒸馏水.

1.2 CA/PB/GCE 电极制备

将 1.0 g CA 溶解于 50 mL 丙酮和 50 mL 环己酮的混合溶液中配置成 1% 的醋酸纤维素溶液. 将玻碳电极先在 4 000 目的金相砂纸上打磨成镜面,用去离子水洗干净;然后依次在 1:1 硝酸、丙酮、去离子水中各超声 5 min,室温下晾干. 将制好的电极放于 pH 2.0 含有 2 mmol/L 铁氰化钾、2 mmol/L 三氯化铁溶液中(0.1 mol/L KCl 作支持电解质). 在 -0.2~0.6 V(vs SCE) 电位范围内循环扫描 20 圈,取出,用二次蒸馏水冲洗干净,晾干. 再将 10 μL 1% 的醋酸纤维素溶液滴在 PB/GCE 表面成膜.

2 结果与讨论

2.1 CA/PB/GCE 电极的物理特征

图 1 是扫描电镜法测得的 PB/GCE 和 CA/PB/GCE 的表面形貌. 图 1(a) 是普鲁士蓝在玻碳电极表面循环伏安沉积的表面形貌,由图可见,普鲁士蓝在

电极表面形成团簇. 图 1(b) 揭示了醋酸纤维素在 PB/GCE 表面成膜的形貌,醋酸纤维素在电极表面形成一个均匀的膜,普鲁士蓝被完全地覆盖.

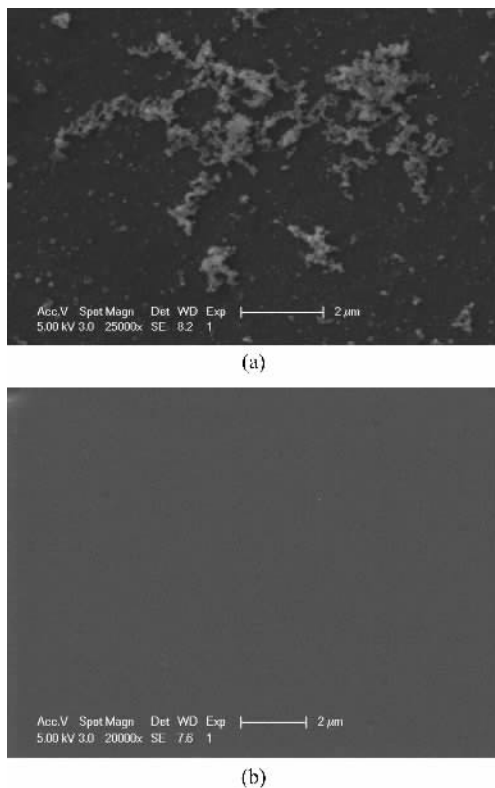


图 1 电沉积普鲁士蓝(a)和普鲁士蓝表面覆盖醋酸纤维素(b)的扫描电镜形貌图

Fig. 1 Representative topography images of the surfaces formed through deposition of PB (a) and CA/PB (b) by scanning electron microscope

图 2(a) 给出了普鲁士蓝在电极表面沉积的原子力显微镜图. 从图 2(b) 我们可以看出醋酸纤维素在电极表面形成一个均匀的多孔性的膜,普鲁士蓝被完全覆盖和保护,但其仍能通过醋酸纤维素的微孔和缓冲液接触.

2.2 修饰电极的电化学表征

2.2.1 普鲁士蓝在电极表面的沉积

新制好的电极放于 pH 2.0 含有 2 mmol/L 铁氰化钾、2 mmol/L 三氯化铁溶液中(0.1 mol/L KCl 作支持电解质)于 -0.2~0.6 V 内连续扫描 20 圈,扫描速度 100 mV/s. 峰电流随着扫描圈数的增加不断增加,这表明普鲁士蓝在电极表面不断地沉积.

2.2.2 PB/GCE 和 CA/PB/GCE 的伏安特性

图 3(a) 是 PB/GCE 在 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲

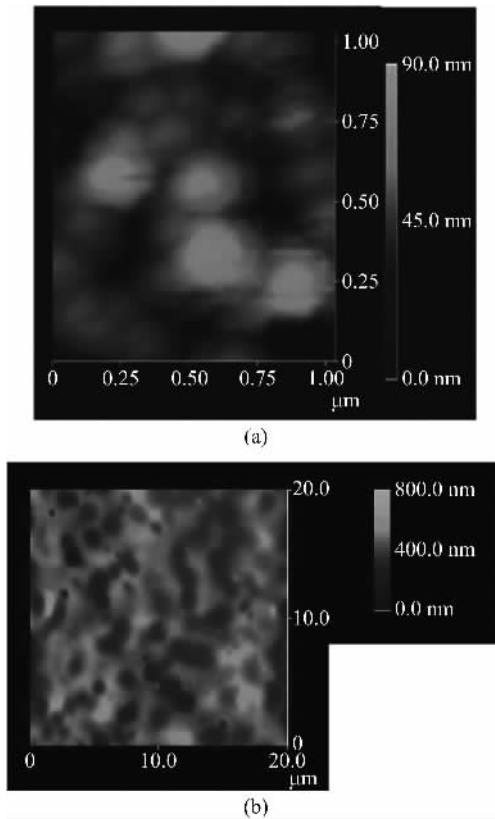


图 2 电沉积普鲁士蓝(a)和普鲁士蓝表面覆盖醋酸纤维素(b)的原子力显微镜形貌图
Fig. 2 Atomic force microscopy examination of PB (a) and CA/PB (b) films

液中(0.1 mol/L KCl 作为支持电解质, pH 7.0)连续 20 圈扫描的循环伏安图. PB 在此 pH 值下非常不稳定, 随着扫描圈数的增加电流急剧下降. 相反由图 3(b)可知, CA/PB/GCE 经由 20 圈连续扫描后, 电流下降非常小, 不到 5%. 由此可见, CA 对 PB 有着非常好的保护能力, 我们认为这是由于醋酸纤维素表面的乙酰基团能够质子化, 改善了电极表面的酸度微环境.

2.2.3 溶液 pH 对 H_2O_2 催化的影响

我们探讨了 H_2O_2 在 CA/PB/GCE 修饰电极上不同 pH (pH 2.0~7.0) 条件下的电流响应. 当溶液的 pH 小于 4.0 时修饰电极对 H_2O_2 有着较高的催化效果, 电流值较大. 在 pH 4.0~7.0 范围内也有着比较好的催化效果.

2.2.4 应用电势对 H_2O_2 催化的影响

我们采用时间电流法测定了同一浓度过氧化氢在不同应用电势下的响应电流. 工作电位越负, 电流越大, 而在 $-0.2 \sim -0.5$ V 之间有一明显的平台, 电流值较为稳定. 极限电流的出现暗示了 PB 膜而

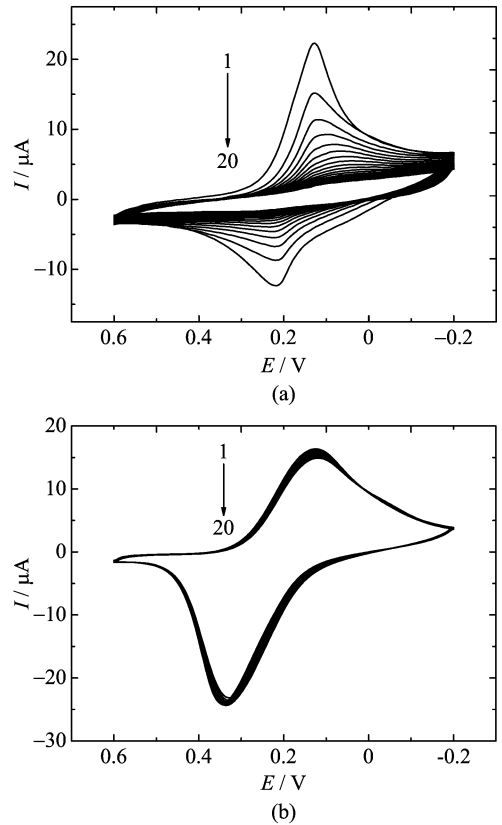


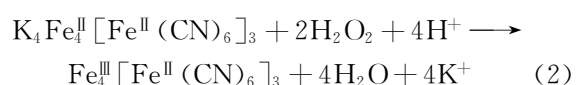
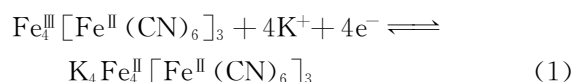
图 3 修饰电极 PB/GCE(a)和 CA/PB/GCE(b)于 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液中(0.1 mol/L KCl 作为支持电解质, pH 7.0)作连续 20 圈扫描的循环伏安曲线

Fig. 3 Consecutively cyclic voltammograms of PB/GCE (a) and CA/PB/GCE (b) in 0.05 mol/L phosphate buffer solution (pH 7.0) containing 0.1 mol/L KCl at 20 mV/s for 20 cycles between 0.6 and -0.2 V

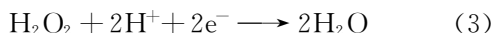
非 H_2O_2 起了极限试剂的作用, 从而也体现了 PB/PW 的氧化还原特征反应. 因此, -0.2 V (vs SCE) 被选为计时电流的工作电位.

2.2.5 H_2O_2 在修饰电极上的伏安特性

CA/PB/GCE 电极的电化学活性通过修饰电极对 H_2O_2 的循环伏安响应来显示. 在 pH 7.0 的含有 1 mmol/L KCl 的磷酸盐缓冲溶液中, 当连续加入 1 mmol/L H_2O_2 后, 还原峰电流逐渐提高, 表明在中性介质中普鲁士蓝仍然可以透过醋酸纤维素对 H_2O_2 进行催化. 其催化还原机理已经被 Tseng 和 Karyakin 等所报道^[16-17], 在酸性及弱酸性介质中的机理如下:



合并方程(1)和(2),得到方程(3)

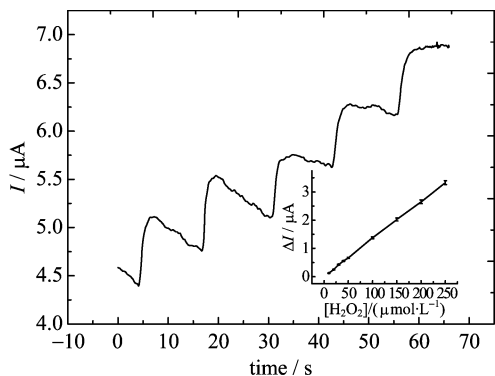


而在中性溶液中, H_2O_2 的催化还原机理可以用方程(4)来描述:



2.2.6 H_2O_2 的测定

图 4 是 CA/PB/GCE 修饰电极对 H_2O_2 催化的时间电流曲线图. 当向 30 mL 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液中不断加入 15 μL 0.1 mol/L H_2O_2 时, 还原电流随之不断提高. 电极达到稳态电流的 95% 用时不到 10 s, 这表明 H_2O_2 能够快速穿越醋酸纤维素的孔洞和普鲁士蓝接触并被催化. 在 $1.0 \times 10^{-5} \sim 2.5 \times 10^{-4}$ mol/L 的浓度范围内, 还原电流和 H_2O_2 的浓度间有着很好的线性关系, 相关系数为 0.999 4. 在三倍信噪比下 ($S/N = 3$), 检出限为 2.2×10^{-6} mol/L. 灵敏度为 $190 \text{ mA} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{mol}^{-1}$. 因此本修饰电极可以用于在中性条件下对微量浓度 H_2O_2 的检测.



operating potential: -200 mV vs SCE

图 4 在搅拌的 30 mL 0.05 mol/L PBS (pH 7.0) 缓冲液中连续加入 15 μL 0.1 mol/L H_2O_2 的电流-时间曲线

Fig. 4 Typical current-time response curves for the CA/PB/GCE with successive additions of 15 μL 0.1 mol/L H_2O_2 into 30 mL stirred 0.05 mol/L PBS (pH 7.0)

2.2.7 电极稳定性和重现性

我们分别将 PB/GCE 电极和 CA/PB/GCE 修饰电极在中性溶液中连续循环伏安扫描 50 圈, 扫描速度为 20 mV/s. PB/GCE 电极在 20 圈后电流就几乎降低为零, CA/PB/GCE 修饰电极的电流降低了约为 6%. 另外, 两修饰电极使用时间电流法分别连续测定 0.05 mmol/L H_2O_2 , PB/GCE 电极经过 50

次测定后电流降低 90%, 而 CA/PB/GCE 修饰电极的降低量不足 5%. 我们制备了 6 只不同的修饰电极, 用时间电流法测定 1×10^{-4} mol/L 的 H_2O_2 , 其响应电流的相对标准偏差 RSD 为 3.2%, 表明该 H_2O_2 传感器有着良好的重现性.

2.2.8 干扰实验

固定 H_2O_2 的浓度为 1×10^{-4} mol/L, 控制相对误差为 $\pm 5\%$, 抗坏血酸(50 倍)、尿酸(50 倍)、葡萄糖(50 倍)、半胱氨酸(100 倍)、柠檬酸(100 倍)、 CaCl_2 (100 倍)和 NaCl (100 倍)不干扰 H_2O_2 的测定, 这表明 CA/PB/GCE 修饰电极有着良好的抗干扰能力.

2.2.9 分析应用

以 0.05 mol/L PBS (pH 7.0) 为底液, 将标准 H_2O_2 配制成不同浓度的待测样品, 用该修饰电极各测定 5 次, 结果见表 1.

表 1 H_2O_2 的回收结果 ($n = 5$)

Tab. 1 Recovery of H_2O_2 ($n = 5$)

| samples | standard value / 10^{-4} mol/L | found value / 10^{-4} mol/L | recovery /% |
|---------|-------------------------------------|----------------------------------|----------------|
| 1 | 0.8 | 0.77 | 96.3 |
| 2 | 1.5 | 1.54 | 102.6 |
| 3 | 2.0 | 2.08 | 104 |

用标准加入法测定医用消毒水中 H_2O_2 的含量, 结果为 2.9%, 与 KMnO_4 滴定法所测结果 3.0% 接近. 这表明该电极能很好地用于试样中 H_2O_2 浓度的测定.

3 结论

醋酸纤维素覆盖的普鲁士蓝修饰电极被制备用于 H_2O_2 的检测. 醋酸纤维素的微孔结构为普鲁士蓝提供了保护环境并提高了其稳定性. 原子力显微镜和扫描电镜显示普鲁士蓝被醋酸纤维素完全覆盖和保护, 并且醋酸纤维素膜的孔洞促进了普鲁士蓝与外面缓冲溶液的接触. 该 CA/PB/GCE 修饰电极在中性溶液中对 H_2O_2 呈现良好的催化响应. H_2O_2 的安培电流检测在 $\text{pH} = 7.0$ 的磷酸盐缓冲溶液中进行 (-0.2 V vs SCE). 较高的灵敏度和良好的线性关系对于中性条件下低浓度过氧化氢的检测具有重要意义.

参考文献 (References)

[1] Wang Yu, Huang Junhua, Zhang Chunguang, et al.

- Determination of hydrogen peroxide in rainwater by using a polyaniline film and platinum particles co-modified carbon fiber microelectrode [J]. *Electroanalysis*, 1998, 10 (11): 776-778.
- [2] Nowall W B, Kuhr W G. Detection of hydrogen peroxide and other molecules of biological importance at an electrocatalytic surface on a carbon fiber microelectrode [J]. *Electroanalysis*, 1997, 9 (2): 102-109.
- [3] MacCarthy P A, Shah A M. Oxidative stress and heart failure [J]. *Coron Artery Dis*, 2003, 14: 109-113.
- [4] Rodrigo R, Rivera G. Renal damage mediated by oxidative stress: a hypothesis of protective effects of red wine [J]. *Free Radical Biol Med*, 2002, 33 (3): 409-422.
- [5] Sohal R S, Mockett R J, Orr W C. Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis [J]. *Free Radical Biol Med*, 2002, 33 (5): 575-586.
- [6] Yang T T C, Devaraj S, Jialal I J. Oxidative stress and atherosclerosis [J]. *J Clin Ligand Assay*, 2001, 24: 13-24.
- [7] Yorek M A. The role of oxidative stress in diabetic vascular and neural disease [J]. *Free Radical Res*, 2003, 37(5): 471-480.
- [8] Willner I, Lapidot N, Riklin A, et al. Electron-transfer communication in glutathione reductase assemblies: electrocatalytic, photocatalytic, and catalytic systems for the reduction of oxidized glutathione [J]. *J Am Chem Soc*, 1994, 116 (4): 1 428-1 441.
- [9] Gorton L. Carbon paste electrodes modified with enzymes, tissues, and cells [J]. *Electroanalysis*, 1995, 7(1): 23-45.
- [10] Neff V D. Electrochemical oxidation and reduction of thin films of Prussian blue [J]. *J Electrochem Soc*, 1978, 125(6): 886-887.
- [11] Itaya K, Akahoshi H, Toshima S. Electrochemistry of Prussian blue modified electrodes: an electrochemical preparation method [J]. *J Electrochem Soc*, 1982, 129 (7): 1 498-1 500.
- [12] Karyakin A A, Gitelmacher O V, Karyakina E E. Prussian blue-based first-generation biosensor: A sensitive amperometric electrode for glucose [J]. *Anal chem*, 1995, 67(14): 2 419-2 423.
- [13] Ricci F, Amine A, Tuta C S, et al. Prussian blue and enzyme bulk-modified screen-printed electrodes for hydrogen peroxide and glucose determination with improved storage and operational stability [J]. *Anal Chim Acta*, 2003, 485: 111-120.
- [14] Xian Y, Zhou Y, Xian Y, et al. Preparation of poly (vinylpyrrolidone)-protected Prussian blue nanoparticles-modified electrode and its electrocatalytic reduction for hemoglobin [J]. *Anal Chim Acta*, 2005, 546: 139-146.
- [15] Wu Shouguo, Wang Taoling, Wang Changqing, et al. Improvement of selectivity and stability of amperometric detection of hydrogen peroxide using Prussian blue-PAMAM supramolecular complex membrane as a catalytic layer [J]. *Electroanalysis*, 2007, 19(6): 659-667.
- [16] Tseng K S, Chen L C, Ho K C. Amperometric detection of hydrogen peroxide at a Prussian blue-modified FTO electrode [J]. *Sens Actuators B*, 2005, 108(4): 738-745.
- [17] Karyakin A A, Karyakina E E, Gorton L. On the mechanism of H_2O_2 reduction at Prussian blue modified electrodes [J]. *Electrochem Commun*, 1999, 1(2): 78-82.