

学校编码: 10384
学号: 20520070153615

分类号__密级__
UDC__

廈門大學

博 士 学 位 论 文

葡萄糖和凝血酶电化学传感研究

Studies on Electrochemical Sensing of Glucose and
Thrombin

苏育华

指导教师姓名: 胡荣宗 教授
专 业 名 称: 分析化学
论文提交日期: 2010年7月
论文答辩时间: 2010年7月
学位授予日期: 2010年 月

答辩委员会主席: _____
评 阅 人: _____

2010年7月

厦门大学博硕士学位论文摘要库

**STUDIES ON ELECTROCHEMICAL SENSING OF
GLUCOSE AND THROMBIN**



A Dissertation Submitted in Partial Satisfaction of the
Requirements for the Degree of
Doctor of Science
in Analytical Chemistry
in the Graduate School of
Xiamen University

by

Yuhua Su

B.S. (Hunan Normal University) 2004

M.S. (Hunan Normal University) 2007

Supervisor

Professor Rongzong Hu

July, 2010

厦门大学博硕士学位论文摘要库

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下，独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果，均在文中以适当方式明确标明，并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范（试行）》。

另外，该学位论文为()课题(组)的研究成果，获得()课题(组)经费或实验室的资助，在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称，未有此项声明内容的，可以不作特别声明。)

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学博硕士学位论文摘要库

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学博硕士学位论文摘要库

目 录

摘 要.....	I
Abstract.....	III
第一章 绪论	1
1.1 葡萄糖电化学传感器.....	1
1.1.1 GOD 电极概述	1
1.1.2 酶固定方法研究	8
1.1.3 无酶葡萄糖传感器	10
1.2 基于核酸适体 (Aptamer) 的电化学生物传感器.....	11
1.2.1 核酸适体简介	11
1.2.2 电化学核酸适体生物传感器的研究现状.....	13
1.3 本文构思.....	20
参考文献.....	21
第二章 基于新型安培流通池构建的高敏流动注射-安培型葡萄糖生	
物传感器	35
2.1 引言.....	35
2.2 实验部分.....	39
2.2.1 仪器与试剂.....	39
2.2.2 PTi 电极上沉积 Pt.....	41
2.2.3 制备 Ag/AgCl 参比电极	43
2.2.4 GOD 在 AER 上的静电自组装	44
2.2.5 实际样品分析	46
2.3 结果与讨论.....	46
2.3.1 优化检测电位	46
2.3.2 载液 pH 的影响	46
2.3.3 载液流速的影响	48
2.3.4 传感葡萄糖	52
2.3.5 传感器的重现性和稳定性	55
2.3.6 传感器的灵敏度	56
2.4 小结.....	58

参考文献.....	58
第三章 一种新型的抗干扰-pH 调节装置及其在无酶葡萄糖检测方面的应用.....	63
3.1 引言.....	63
3.2 实验部分.....	64
3.2.1 仪器和试剂.....	64
3.2.2 实际样品分析.....	65
3.3 结果与讨论.....	65
3.3.1 抗干扰-pH 调节装置的工作原理.....	65
3.3.2 优化实验条件.....	68
3.3.3 流动注射分析葡萄糖.....	75
3.3.4 实际样品分析.....	77
3.4 小结.....	77
参考文献.....	77
第四章 基于层层自组装技术的酶联核酸适体分析法检测凝血酶....	81
4.1 引言.....	81
4.2 实验部分.....	82
4.2.1 仪器和试剂.....	82
4.2.2 传感界面的制备.....	83
4.2.3 传感凝血酶.....	83
4.2.4 传感界面的再生.....	86
4.3 结果与讨论.....	86
4.3.1 电极界面的表征.....	86
4.3.2 优化实验条件.....	88
4.3.3 传感凝血酶.....	88
4.3.4 传感器的选择性、再生能力和稳定性.....	90
4.4 小结.....	91
参考文献.....	92
第五章 论文的创新性和研究工作的展望	96
5.1 论文的主要贡献和研究创新性.....	96
5.2 研究工作的展望.....	96
攻读博士学位期间已发表和待发表的学术论文目录.....	98

致 谢.....99

厦门大学博硕士论文摘要库

Abstract (in Chinese)	I
Abstract	III
Chapter 1 Background and objectives of this research	1
1.1 Glucose electrochemical sensor	1
1.1.1 Overview of GOD electrodes	1
1.1.2 Enzyme immobilization technique	8
1.1.3 Enzyme-free glucose sensor	10
1.2 Electrochemical aptasensor.....	11
1.2.1 Brief introduction to aptamer	11
1.2.2 Review of the electrochemical aptasensor	13
1.3 Objectives of the research.....	20
References	21
Chapter 2 A novel amperometric flow-cell and its application in glucose biosensing	35
2.1 Introduction.....	35
2.2 Experimental.....	39
2.2.1 Reagents and instrumentation	39
2.2.2 Deposition of Pt onto the PTi electrode	41
2.2.3 Fabrication of the Ag/AgCl reference electrode.....	43
2.2.4 Assembling of GOD onto AER.....	44
2.2.5 Real-sample analysis	46
2.3 Results and discussion	46
2.3.1 Optimization of the detection potential	46
2.3.2 Influences of pH	46
2.3.3 Effect of flow rate.....	48
2.3.4 Sensing of glucose.....	52
2.3.5 Reproducibility and stability	55
2.3.6 Sensitivity of the biosensor	56
2.4 Conclusions.....	58

References	58
Chapter 3 A novel anti-interference and pH-modulation device and its application in enzyme-free glucose determination	63
3.1 Introduction.....	63
3.2 Experimental.....	64
3.2.1 Reagents and instrumentation	64
3.2.2 Real-sample analysis	65
3.3 Results and discussion	65
3.3.1 Working principle of the anti-interference and pH-modulation device....	65
3.3.2 Optimization of the experimental parameters	68
3.3.3 Flow injection analysis of glucose	75
3.3.4 Real-sample analysis	77
3.4 Conclusions.....	77
References	77
Chapter 4 Enzyme linked aptamer assay for thrombin based on the layer by layer self-assembling technique	81
4.1 Introduction.....	81
4.2 Experimental.....	82
4.2.1 Reagents and instrumentation	82
4.2.2 Fabrication of the sensing interface.....	83
4.2.3 Sensing of thrombin	83
4.2.4 Regeneration of the sensing interface	86
4.3 Results and discussion	86
4.3.1 Characterization of the electrode interface.....	86
4.3.2 Optimization of the experimental parameters	88
4.3.3 Sensing of thrombin	88
4.3.4 Selectivity, regeneration and stability.....	90
4.4 Conclusions.....	91
References	92
Chapter 5 Innovation and prospect	96
5.1 Innovation	96
5.2 Prospect.....	96

Publications during Ph.D study.....98

Acknowledgement.....99

厦门大学博硕士学位论文摘要库

摘 要

葡萄糖检测在临床诊断、生物技术和食品加工等领域颇具意义，探索新型传感方式以实现葡萄糖的准确、快速、动态分析一直备受关注。核酸适体作为近年来发展起来的一类重要的生物识别分子，具有相当于或优越于免疫识别体系的生物分子识别能力，在分析化学、基因调控、蛋白质组研究、疾病治疗和新药研发等领域具有广阔的应用和发展前景。在简要综述葡萄糖电化学传感器和电化学核酸适体传感器进展的基础上，本论文中开展了系列相关研究工作，具体如下：

- (1) 采用层层自组装 (LBL) 技术在阴离子交换树脂 (AER) 上先后修饰了一层葡萄糖氧化酶 (GOD) 和聚二乙烷基二甲基氯化铵 (PDDA)，将所制 PDDA/GOD/AER 填充在安培流通池中构建了一种兼具酶反应器 (IMER) 功能的新型安培流通池，并基于此制备了流动注射分析 (FIA) 型高敏葡萄糖生物传感器。这些填充在流通池内的 AER 发挥了双重作用，它们不仅是 GOD 的载体，而且可以消除葡萄糖样品中共存的抗坏血酸 (AA) 和尿酸 (UA) 的干扰响应。另外，因采用的多孔电极有效面积大，安培流通池灵敏度很高，比使用平板铂电极大 8.3 倍，比戴安 ED50 安培池大 7.97 倍。该葡萄糖传感器的灵敏度为 $22.4 \mu\text{A cm}^{-2} \text{ mM}^{-1}$ ，线性范围 $1 \times 10^{-3} - 2 \text{ mmol L}^{-1}$ ，检测限 $0.8 \mu\text{mol L}^{-1}$ 。我们将该传感器用于血糖分析，结果令人满意。
- (2) 设计了一个装置，尝试用电渗析技术实现 pH 在线调节，并将该装置和 FIA 技术联用，提出了一种无酶型葡萄糖高选择性检测新方法。载液流经该装置时，支持电解质中的阴离子可被水的电解产物 OH^- 取代，从而导致其 pH 升高。同时，该装置还能将部分 AA、UA 等阴离子型干扰物排出流路。加上填充柱内的 AER 对 AA 和 UA 的保留作用，它们的干扰信号最终得以消除。该方法适用于实际样品分析。
- (3) 将 LBL 技术引入酶联核酸适体分析 (ELAA)，研制了新型凝血酶传感器。将 PDDA、凝血酶核酸适体 (TBA) 和血红蛋白 (Hb) 先后组装在修饰了碳纳米管 (CNT) 的玻碳 (GC) 电极上，得到 Hb/TBA/PDDA/CNT/GC 传感电极。由于 TBA 与凝血酶的特异亲和作用，TBA 可捕获凝血酶，从

而导致 Hb 脱离电极，进而导致 H_2O_2 在电极上的还原电流减小，藉此可实现凝血酶的定量分析。该传感器的线性范围为 $5 - 50 \text{ nmol L}^{-1}$ ，检测限 $\sim 3 \text{ nmol L}^{-1}$ 。

关键词：葡萄糖电化学传感器；电化学核酸适体传感器；凝血酶

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库