

## 利用扫描电化学显微镜研究过氧化氢检测中电化学消除抗坏血酸

王康 魏辉 夏兴华\*

(南京大学化学化工学院 配位化学国家重点实验室 分析科学研究所 南京 210093)

**摘要** 利用扫描电化学显微镜(SECM)将微探针定位于宏观金盘基底电极的扩散层内,通过向基底电极施加适当电位以氧化消除电活性干扰物质(如抗坏血酸),提高探针电极检测过氧化氢的选择性.基于此方法,系统研究了探针-金基底电极间距和电极电位对铂微探针检测过氧化氢选择性的影响.结果表明,当探针-基底电极间距为 $22.6\ \mu\text{m}$ ,金基底电极和铂探针电极电位分别为 $0.4\ \text{V}$ 和 $0.5\ \text{V}$ 时,探针电极检测过氧化氢不受抗坏血酸( $0.05\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )的干扰.此时,过氧化氢检测的线性范围为 $4\times 10^{-5}\sim 1\times 10^{-3}\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ .基于实验结果,提出了在微型化电化学器件制备过程中设计互相靠近的双工作电极,利用电化学法消除电活性干扰物以提高检测选择性的新方法.

**关键词** 扫描电化学显微镜,电化学法消除干扰,扩散层,抗坏血酸, $\text{H}_2\text{O}_2$ ,微电化学传感器件

## Electrochemical Depletion of Ascorbic Acid in the Detection of Hydrogen Peroxide—An Investigation Using SECM

WANG, Kang WEI, Hui XIA, Xing-Hua\*

(State Key Laboratory of Coordination Chemistry, Institute of Analytical Science, College of Chemistry and Chemical Engineering, Nanjing University, Nanjing 210093)

**Abstract** An electrochemical method for detection of hydrogen peroxide has been advocated via selective elimination of interferences (*i. e.*, ascorbic acid). In this method, the elimination of the interferences was achieved by positioning a tip electrode of scanning electrochemical microscopy (SECM) in the diffusion layer of an Au electrode and meanwhile applying a suitable potential on the substrate. Influence of the tip-substrate distance and the potentials of tip- and substrate-electrode on the selectivity and sensitivity of hydrogen peroxide detection was systematically investigated. Results showed that highly selective and sensitive detection of hydrogen peroxide free from interference of ascorbic acid ( $0.05\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) could be obtained when the tip-substrate distance was  $22.5\ \mu\text{m}$  and the tip and substrate potentials were  $0.5$  and  $0.4\ \text{V}$ , respectively. The linear range for hydrogen peroxide detection is  $4\times 10^{-5}\sim 1\times 10^{-3}\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ . Finally, potential application of the present method in fabrication of micro-electrochemical sensing devices has been discussed.

**Keywords** SECM, electrochemical depletion of interference, diffusion layer, ascorbic acid, hydrogen peroxide, electrochemical sensing micro device

过氧化氢( $\text{H}_2\text{O}_2$ )是生物体系中的一种重要化学物质,严重影响细胞功能和新陈代谢,高浓度的 $\text{H}_2\text{O}_2$ 甚至会引起细胞死亡<sup>[1~3]</sup>;在许多酶促反应、蛋白质积聚和抗原-抗体识别过程中也伴随着 $\text{H}_2\text{O}_2$ 的生成或消耗<sup>[4~6]</sup>.电化学分析具有快速、灵敏、仪器简单、易于微型化等优点,已广泛应用于

$\text{H}_2\text{O}_2$ 检测和基于检测 $\text{H}_2\text{O}_2$ 的生物样品分析中.但是,生物样品中常含有抗坏血酸(Ascorbic acid, AA)、尿酸等电活性还原剂,它们在检测 $\text{H}_2\text{O}_2$ 的过程中产生相应的氧化电流将严重干扰 $\text{H}_2\text{O}_2$ 的测定.目前常采用在电极表面覆盖阴离子膜、离子选择性膜或预氧化膜的方法,利用它们所具有的静

\* E-mail: xhxia@nju.edu.cn

Received January 12, 2004; revised February 25, 2004; accepted March 16, 2004.

国家自然科学基金(No. 20375016)与杰出青年科学基金(No. 20125515)资助项目.

电排斥、空间位阻或化学氧化功能实现干扰消除<sup>[7-9]</sup>。然而,在微型电化学器件加工过程中很难控制膜的厚度和膜的均匀性,从而使它们的检测灵敏度降低,器件个体差异较大。

扫描电化学显微镜(Scanning electrochemical microscopy, SECM)是一种基于检测法拉第电流以表征表面化学性质的扫描探针分析技术。通过三维定位系统和电流反馈回路可以将探针(Tip)电极精确定位于基底(Sub)上方(通常为几个微米)<sup>[10,11]</sup>。由于SECM探针电极上所测得的法拉第电流与样品表面的化学、电化学性质密切相关,它已广泛应用于样品表面微区性质及电荷转移等方面的研究中<sup>[12-15]</sup>。SECM通常有两种检测模式:反馈型与产生/收集型。在反馈型工作模式中,氧化还原媒介体与Sub发生电子交换而再生使探针电流升高产生“正反馈”(Sub为导体或反应性基底);或氧化还原媒介体的扩散受到Sub抑制使电流减小产生“负反馈”(Sub为非导体或非反应性基底)。产生/收集型工作模式是通过Tip(或Sub)检测由Sub(或Tip)产生被检测物质的方式研究相关电化学动力学机制。

本文利用SECM技术将探针精确定位于宏观金盘电极表面的扩散层内,在探针电极检测H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的同时向Sub施加适当的氧化电位,以消除AA在探针电极上氧化所引起的干扰(如图1所示)。其原理与产生/收集型相似,不同之处在于:在测量时,由于AA在基底电极上所发生的不可逆的氧化反应受扩散动力学控制,其在Sub表面浓度可近似为零。基于以上认识,我们研究了电极间距、电极电位等因素对探针电极检测H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>选择性的影响,并提出了微型电化学器件中选择性检测H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的新模式。

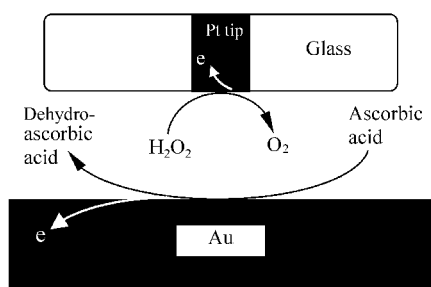


图1 过氧化氢检测中电化学消除抗坏血酸干扰的原理图

Figure 1 Schematic representation of electrochemical depletion of the interference from ascorbic acid in the electrochemical detection of hydrogen peroxide

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

抗坏血酸(华康公司),过氧化氢(30%水溶液),磷酸二氢钾,氢氧化钠(南京化学试剂厂),Ru(NH<sub>3</sub>)<sub>6</sub>Cl<sub>3</sub>(Aldrich公司)均为分析纯。配制pH为7.4的磷酸盐缓冲水溶液(PBS),用于所有测定。实验用水为二次水。

CHI 900 扫描电化学显微镜(CH公司)用于将Pt微电极

( $r_T = 12.5 \mu\text{m}$ , 绝缘外壁半径:Pt电极半径 = 10:1)定位于半径为1 mm的金盘电极上方。电化学研究中以Ag/AgCl(3 mol·L<sup>-1</sup> KCl)电极为参比电极,Pt丝为对电极。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 定位SECM针尖电极

实验进行前将铂探针、金基底电极用0.05 μm Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>浆抛光,在二次水中超声清洗,晾干。在1 mmol·L<sup>-1</sup> Ru(NH<sub>3</sub>)<sub>6</sub>Cl<sub>3</sub>水溶液中,分别将Tip和Sub电极电位控制在-0.3 V和0.0 V,以2.5 μm/s速度将Tip向Sub逼近,当Tip电流增大至其在本体溶液中电流的125%时停止进针。在此基础上,通过调节Tip上下移动可精确控制Tip-Sub间距至所需距离。

#### 1.2.2 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>检测及AA的消除

在Tip-Sub间距确定后,吸去电解池中溶液,用二次水清洗后滴入样品溶液。以Tip恒电位检测H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,取30 s处的Tip电流作为稳态响应电流。分别改变Tip-Sub间距、Sub电极电位,研究不同电极间距、电极电位对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>检测及干扰消除能力的影响。最后,在优化条件下,恒电位测定H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>+AA混合溶液中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的含量,将结果与相同浓度的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>所测数据进行比较。

## 2 结果与讨论

### 2.1 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和AA的电化学响应

图2为Pt微电极(A)和金盘电极(B)分别在PBS, 1 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和1 mmol·L<sup>-1</sup> AA三种溶液中的线性扫描伏

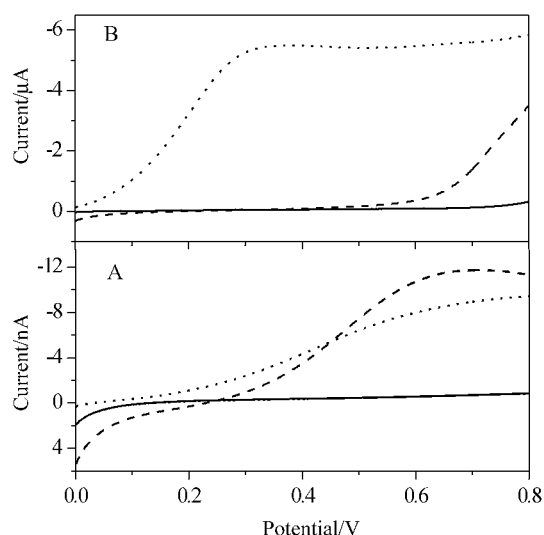


图2 Pt探针电极(A)和金盘电极(B)在样品中的线性扫描伏安曲线

PBS(pH=7.4,实线),1 mmol·L<sup>-1</sup> AA(点线),1 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(虚线)扫描速度5 mV/s

Figure 2 Linear sweep voltammograms of a tip Pt electrode (A) and a gold disk electrode (B) in PBS (pH = 7.4, solid curves) at a scan rate of 5 mV/s. Dotted curves: 1 mmol·L<sup>-1</sup> AA, dashed curves: 1 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

安曲线.由图 2A 可知,在 Pt 微电极上,AA 在电位为 0.0 V 时即被电极氧化,而  $H_2O_2$  在 0.25 V 以上才产生氧化电流.因此当 AA 存在时,即使将 Tip 检测电位降低至 0.0 V,AA 仍严重干扰  $H_2O_2$  的测定.在金盘电极上(图 2B),AA 的氧化比其在 Pt 微电极上更为明显,氧化电流从 0.0 V 开始,其在约 0.3 V 处达到最大值; $H_2O_2$  则在 0.5 V 才出现比较明显的氧化电流.显然,金盘电极能催化 AA 的电化学氧化.若以金盘电极检测  $H_2O_2$  含量,AA 将产生非常严重的干扰.然而,我们可以利用金盘电极对 AA 的电催化氧化特性,使金盘电极选择性地氧化 AA 而不消耗  $H_2O_2$ .此时,AA 在金盘电极扩散层中的浓度将因其在金电极上的氧化而急剧降低,将 Pt 微电极深入到金盘电极表面的扩散层中检测  $H_2O_2$  可获得良好的选择性.

## 2.2 Tip-Sub 电极间距对消除 AA 干扰的影响

铂探针在  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$  水溶液中逼近 Sub 电极表面时,探针还原产生的  $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^+$  被 Sub 电极表面氧化成  $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ ,氧化产物再扩散回探针电极表面,形成正反馈,使电流增大.实验结果如图 3 所示,实验数据(空心圆)与理论值(实线)相一致.代入文献 [16] 中相应的公式:

$$I = 0.7449932 + 0.7582943/L + 0.2353042\exp(-1.683087/L) \quad (1)$$

式中,  $I$  为 Tip 电流  $i_T$  与 Tip 电极在本体溶液中的稳态电流  $i_{T,\infty}$  的比值( $I = i_T/i_{T,\infty}$ ),  $L$  为 Tip 与 Sub 电极间的距离  $d$  和 Tip 半径  $r_T$  的比值( $L = d/r_T$ ).在实验条件下,  $I$  为 1.25,  $r_T$  为  $12.5 \mu\text{m}$ ,因此  $L = 1.808$ ,  $d = 22.6 \mu\text{m}$ .以此距离为基础,调节 SECM 定位系统使 Tip 上下移动,可精确控制 Tip-Sub 电极间距至所需值.

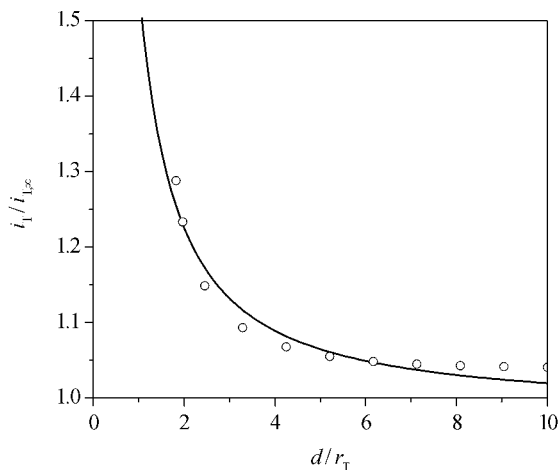


图 3 探针电流-距离曲线

$1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$  中的实验值(空心圆),理论计算值(实线),探针逼近速度  $2.5 \mu\text{m/s}$

**Figure 3** Normalized current-distance curves recorded with a Pt UME ( $r_T = 12.5 \mu\text{m}$ ) in a PBS including  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$  (Open circles)

Solid curve denotes the theoretically calculated current-distance behavior for a conductive substrate

以恒电位法研究了不同 Tip-Sub 间距下我们所提出的  $H_2O_2$  检测系统对消除 AA 干扰的能力(图 4).以在干扰消除条件下所测得的探针电流  $i_T$  (Tip: 0.7 V; Sub: 0.5 V) 与无干扰消除条件下所测得的探针电流  $i_{T,0}$  (Tip: 0.7 V; Sub: 开路电位) 的比值( $i_T/i_{T,0}$ ) 表示体系对 AA 干扰消除的程度.在  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  AA 溶液中,随着 Tip-Sub 间距的减小,  $i_T/i_{T,0}$  也逐渐减小.这说明系统检测  $H_2O_2$  的选择性随距离变小而增强,当  $L$  小于 1.808 时,  $i_{T,0}$  测量值波动增大,导致  $i_T/i_{T,0}$  比值稍有上升.考虑到检测的稳定性,选择  $L = 1.808$  ( $d = 22.6 \mu\text{m}$ ) 时进行测定.

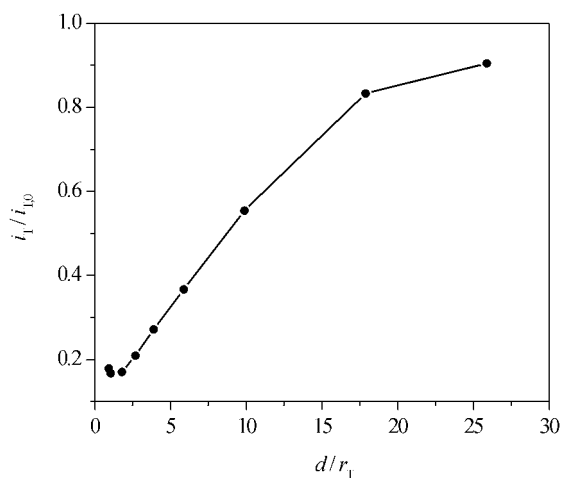


图 4  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  AA 中 Tip 电流与 Tip-Sub 距离的关系 Tip: 0.7 V, 干扰消除效率以在 Sub 上施加电位( Sub: 0.5 V) 时所测得的电流  $i_T$  与 Sub 为开路电位时测得的电流 ( $i_{T,0}$ ) 之比表示

**Figure 4** Dependence of the normalized response current on the normalized Tip-Sub distance in a solution of  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  AA. The ratio of tip currents at Tip: 0.7 V with ( $i_T$ , Sub: 0.5 V) and without applying substrate potential ( $i_{T,0}$ ) was denoted as the interference elimination efficiency

我们还研究了同次进针情况下,探针电流多次测定结果的波动情况.试验结果表明,在设定相同参数的前提下,同次进针多次测量的相对标准偏差  $\text{RSD} = 3.1\%$  ( $n = 5$ ).这一结果表明,利用所提出的电化学检测方法进行测量具有较好的重现性.

## 2.3 Tip-Sub 电位对 $H_2O_2$ 检测选择性的影响

探针电极和 Au 盘电极的电位影响着该系统的灵敏度和选择性.虽然较高的 Sub 电极电位可以提高系统消除 AA 的能力,但同时也会消耗  $H_2O_2$ ,导致探针电极的检测灵敏度降低.相反,以较高的 Tip 电极检测电位虽可提高  $H_2O_2$  检测灵敏度,但同时也将加速 AA 在 Tip 上的氧化,降低系统检测  $H_2O_2$  的选择性.因此,我们考察了不同 Sub 电极电位下探针电极检测  $H_2O_2$  的灵敏度和消除 AA 的能力.利用在消除干扰条件下所测得的探针电流  $i_T$  与未消除干扰条件下所测得的探针电流  $i_{T,0}$  (Sub: 开路电位) 的比值( $i_T/i_{T,0}$ ) 表示检测  $H_2O_2$  的灵敏度( $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ H}_2\text{O}_2$  溶液)和消除 AA 的能力(1

mmol·L<sup>-1</sup> AA 溶液).如图 5 所示,在 AA 溶液中(a, b),随着 Sub 电位增加,  $i_T/i_{T0}$  比值减小.显然,较高的 Sub 电位有利于消除 AA 干扰.在 Sub 电位为 0.4 V 时,AA 的干扰信号已降低到未消除前的 10%.然而,更高的 Sub 电位将会引起 Sub 电极对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的消耗.当 Sub 电位为 0.6 V 时, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 中(c, d)所测得的  $i_T/i_{T0}$  值明显降低,这说明有部分 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 已经在 Sub 电极上发生了氧化.因此,选择 Sub 电位为 0.4 V 以消除 AA 的干扰.在此 Sub 电位条件下, Tip 电位为 0.5 V (a) 时在 AA 溶液中所测得的  $i_T/i_{T0}$  比值小于 Tip 电位为 0.7 V (b) 时的比值,说明此时该检测系统对 AA 的消除能力最强.这是由于在较低的 Tip 检测电位下,AA 在 Tip 电极上氧化速度减慢,使得更多的 AA 被 Sub 电极氧化.因此选择 Tip 电位为 0.5 V 检测 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

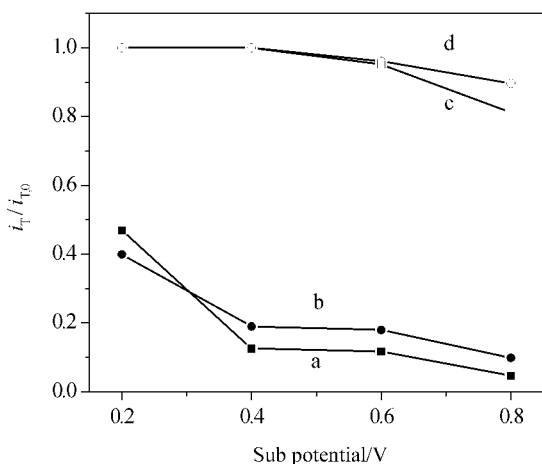


图 5 探针电流与基底电极电位的关系

a: 1 mmol·L<sup>-1</sup> AA 中, Tip: 0.5 V; b: 1 mmol·L<sup>-1</sup> AA 中, Tip: 0.7 V;  
c: 1 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 中, Tip: 0.7 V; d: 1 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 中, Tip: 0.5 V

**Figure 5** Dependence of the normalized tip currents on the substrate potential

a: in 1 mmol·L<sup>-1</sup> AA, tip: 0.5 V; b: in 1 mmol·L<sup>-1</sup> AA, tip: 0.7 V; c: in 1 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, tip: 0.7 V; d: in 1 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, tip: 0.5 V

## 2.4 AA 存在下 Tip 检测 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

在上述消除 AA 的条件下,测定了极化时间与针尖电流关系(图 6).图中曲线 a, b, c 分别为在 PBS, 0.1 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液, 0.1 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ~ 0.05 mmol·L<sup>-1</sup> AA 混合液中所测得的结果.曲线 d 为在未消除干扰条件下( Sub :开路电位)在 0.1 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ~ 0.05 mmol·L<sup>-1</sup> AA 混合液中所测得的结果.考虑到高浓度的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 与 AA 混合液会发生均相化学反应而影响标准溶液的准确配制,我们采用较低的 AA 浓度.比较曲线 b 和曲线 d 可知,在未消除干扰的情况下, 0.05 mmol·L<sup>-1</sup> AA 严重干扰 Tip 检测 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.施加 0.4 V 于 Sub 电极所测得曲线 c 与曲线 b 在 30 s 后基本重合,表明此时 AA 已完全被 Sub 电极氧化,所以 AA 不影响 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的测定.在图 6 内插图中,我们将在 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-AA (0.05 mmol·L<sup>-1</sup>)

混合液中测得的校准曲线相对比,可以看出:在优化的实验条件下,溶液中存在 0.05 mmol·L<sup>-1</sup> AA 对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 检测不产生干扰.此时,两种条件下所得的校准曲线基本重合. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度在  $4 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-3}$  mmol·L<sup>-1</sup> 范围内, AA 可完全被消除, Tip 电流与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度呈很好的线性关系 ( $R = 0.9980$ ).利用该体系分别在尿酸 (1 mmol·L<sup>-1</sup>) 和对 - 乙酰氨基酚 (1 mmol·L<sup>-1</sup>) 中进行测定,干扰电流分别降低到未消除前的 59% 和 16% (检测条件未经优化).此结果表明,该体系对其他电活性干扰也具有较好的消除作用.

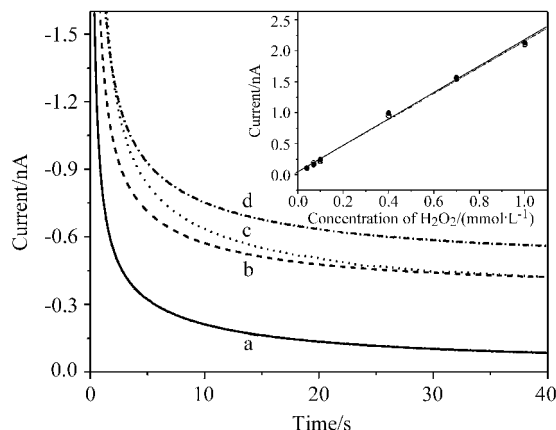


图 6 消除 AA 前后时间 - 电流曲线的对比

a: PBS 中; b: 0.1 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 中; c, d: 0.1 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 0.05 mmol·L<sup>-1</sup> AA 中. a, b, c: Tip: 0.5 V, Sub: 0.4 V; d: Tip: 0.5 V, Sub: 开路电位. 内插图: 响应电流与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量的关系, 空心圆: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 实心圆: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 中含有 0.05 mmol·L<sup>-1</sup> AA

**Figure 6** Amperometric dynamic response of the tip electrode with and without applying a positive potential to the Sub electrode

a: in PBS; b: in 0.1 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; c and d: 0.1 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 0.05 mmol·L<sup>-1</sup> AA. a, b, c: tip potential: 0.5 V, Sub potential: 0.4 V; d: tip potential: 0.5 V, Sub potential: at open circuit. Inset: tip current as a function of hydrogen peroxide concentration. Open circles: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; filled circles: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 0.05 mmol·L<sup>-1</sup> AA

## 3 结论

本文以在 AA 存在下测定溶液中 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 为例,证明了利用 Pt 微电极在宏观金盘电极扩散层中进行检测的新模式可显著提高检测系统的选择性.实验结果表明, Tip-Sub 间距和针尖、基底电极的电位是影响干扰消除作用的主要因素. SECM 作为精确控制 Tip-Sub 间距和测量信号电流的工具,为本研究提供了方便.在电分析器件微型化、集成化过程中可采用本文提出的思路设计器件结构以提高检测的选择性,如通过印制电极、微加工技术等可以制作出具有固定间距的电化学器件,从而可使制作成本大大降低.本研究组正在进行有关该方法器件化和生物样品分析方面的研究.

## References

- 1 Sims, N. R. ; Anderson, M. F. ; Hobbs, L. M. ; Kong, J. Y. ; Phillips, S. ; Powell, J. A. ; Zaidan, E. *Mol. Brain Res.* **2000**, *77*, 176.
- 2 Sakagami, H. ; Kuribayashi, N. ; Iida, M. ; Hagiwara, T. ; Takahashi, H. ; Yoshida, H. ; Shiota, F. ; Ohata, H. ; Momose, K. ; Takeda, M. *Life Sci.* **1996**, *58*, 1131.
- 3 Kim, H. ; You, S. ; Kong, B. W. ; Foster, L. K. ; Farris, J. ; Foster, D. N. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell. Res.* **2001**, *1540*, 137.
- 4 Dequaire, M. ; Heller, A. *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 4370.
- 5 Huang, X. D. ; Cuajungco, M. P. ; Atwood, C. S. ; Hartshorn, M. A. ; Tyndall, J. D. A. ; Hanson, G. R. ; Stokes, K. C. ; Leopold, M. ; Multhaup, G. ; Goldstein, L. E. ; Scarpa, R. C. ; Saunders, A. J. ; Lim, J. ; Moir, R. D. ; Glabe, C. ; Bowden, E. F. ; Masters, C. L. ; Fairlie, D. P. ; Tanzi, R. E. ; Bush, A. I. *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 37111.
- 6 Wentworth, P. ; Jones, L. H. ; Wentworth, A. D. ; Zhu, X. Y. ; Larsen, N. A. ; Wilson, I. A. ; Xu, X. ; Goddard, W. A. ; Janda, K. D. ; Eschenmoser, A. ; Lerner, R. A. *Science* **2001**, *293*, 1806.
- 7 Vaidya, R. ; Atanasov, P. ; Wilkins, E. *Med. Eng. Phys.* **1995**, *17*, 416.
- 8 van Os, P. J. H. J. ; Bult, A. ; van Bennekom, W. P. *Anal. Chim. Acta* **1995**, *305*, 18.
- 9 Cui, G. ; Kim, S. J. ; Choi, S. H. ; Nam, H. ; Cha, G. S. ; Paeng, K. J. *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 1925.
- 10 Kwak, J. ; Bard, A. J. *Anal. Chem.* **1989**, *61*, 1794.
- 11 Bard, A. J. ; Fan, F. R. F. ; Kwak, J. ; Ovadia, L. *Anal. Chem.* **1989**, *61*, 132.
- 12 Bard, A. J. ; Mirkin, M. V. *Scanning Electrochemical Microscopy*, Marcel Dekker, New York, **2001**, pp. 1~16.
- 13 Amemiya, S. ; Ding, Z. F. ; Zhou, J. F. ; Bard, A. J. *J. Electroanal. Chem.* **2000**, *483*, 7.
- 14 Mirkin, M. V. ; Horrocks, B. R. *Anal. Chim. Acta* **2000**, *406*, 119.
- 15 Barker, A. L. ; Gonsalves, M. ; Macpherson, J. V. ; Slevin, C. J. ; Unwin, P. R. *Anal. Chim. Acta* **1999**, *385*, 223.
- 16 Amphlett, J. L. ; Denuault, G. J. *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 9946.

( A0401129 CHENG, B. ; LING, J. )