

УДК 543.253:541.128.13

**ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ  
МОЧЕВОЙ КИСЛОТЫ НА ЭЛЕКТРОДЕ,  
МОДИФИЦИРОВАННОМ САМООРГАНИЗУЮЩИМСЯ  
МОНОСЛОЕМ ЦИСТАМИНА С НАНОЧАСТИЦАМИ ЗОЛОТА**

*Л.Г. Шайдарова, Е.И. Романова, И.А. Челнокова,  
А.В. Гедмина, Г.К. Будников*

**Аннотация**

Сопоставлена электрокаталитическая активность частиц золота, осажденных на немодифицированном и модифицированном цистамином электроде из стеклоуглерода при окислении мочево́й кислоты. Включение частиц золота в состав композита на основе самоорганизующегося монослоя цистамина приводит к увеличению каталитической активности металла при окислении мочево́й кислоты, что проявляется в многократном увеличении тока окисления медиатора и уменьшении потенциала окисления субстрата. Предложена методика вольтамперометрического определения мочево́й кислоты на электроде, модифицированном самоорганизующимся монослоем цистамина с наночастицами золота. Линейная зависимость величины электрокаталитического отклика композитного электрода от концентрации мочево́й кислоты наблюдается от  $5 \cdot 10^{-3}$  до  $1 \cdot 10^{-6}$  моль/л.

**Ключевые слова:** химически модифицированные электроды, самоорганизующийся монослой, наночастицы золота, электроокисление мочево́й кислоты.

---

**Введение**

Мочевая кислота (МК) является конечным продуктом обмена пуриновых оснований в организме человека. Во внеклеточной жидкости, в том числе и в плазме, МК присутствует в виде солей натрия в концентрации, близкой к насыщению, поэтому существует возможность кристаллизации урата натрия в тканях, если концентрация МК превысит максимум нормальных значений [1]. Повышение уровня МК в крови (гиперурикемия) приводит к различным заболеваниям, например к подагре. Поэтому создание чувствительных и экспрессных способов определения МК является актуальной задачей.

В клинических лабораториях МК определяют в безбелковом фильтрате крови по восстановлению фосфоровольфрамовой кислоты как титранта [2]. Недостатком химического метода являются длительность реакции окисления МК и трудность установления конечной точки титрования. Для количественного определения МК используют также кулонометрию [3], спектрофотометрию [4], высокоэффективную жидкостную хроматографию [5] и ферментативные методы [6]. Однако эти методы либо обладают недостаточной чувствительностью и селективностью, либо отличаются сложностью пробоподготовки и длительностью проведения анализа. Использование вольтамперометрии с химически модифи-

цированными электродами (ХМЭ) позволяет повысить чувствительность, селективность и экспрессность определения МК [7–14]. Для определения МК используют различные модификаторы, такие, как полимерные пленки [8, 9], нанотрубки [10], микро- и наночастицы металлов [11, 12], а также биметаллические системы [13].

Несмотря на значительное расширение круга материалов, используемых в качестве медиаторов, платиновые металлы и золото остаются основными катализаторами [14]. В последнее время особый интерес представляют наночастицы металлов, которые приобретают специфические свойства, отличные от свойств микрокристаллов [15, 16]. Один из путей получения ХМЭ на основе наночастиц металлов состоит в формировании на поверхности электрода самоорганизующегося монослоя с концевыми сульфгидрильными или аминогруппами, на которые затем адсорбируют наночастицы металла [17].

В настоящей работе сопоставлена каталитическая активность частиц золота, осажденных на немодифицированном и модифицированном самоорганизующимся монослоем цистамина электроде из стеклоуглерода (СУ) при электроокислении МК.

### 1. Экспериментальная часть

Циклические вольтамперограммы регистрировали с помощью вольтамперометрического анализатора «Экотест-ВА». Использовали трехэлектродную ячейку с рабочим электродом из СУ с видимой поверхностью  $0.10 \text{ см}^2$ , СУ, покрытого электроосажденными частицами золота (Au-СУ) или СУ, покрытого самоорганизующимся монослоем цистамина с осажденными частицами золота (Au-Цист-СУ). Электродом сравнения служил хлоридсеребряный электрод, вспомогательным – платиновая проволока. Скорость наложения потенциала 10–100 мВ/с.

Перед модифицированием поверхности СУ проводили предварительную подготовку электрода: СУ шлифовали на абразивных материалах, фильтровальной бумаге и кальке, промывали бидистиллированной водой и активировали, используя ультразвуковое облучение в водном растворе в течение 15 мин.

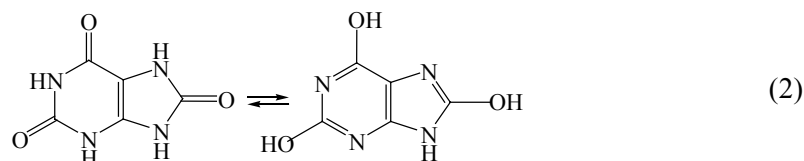
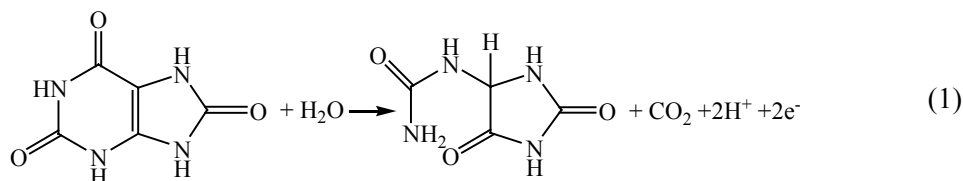
Для получения самоорганизующегося монослоя цистамина на поверхности СУ проводили сканирование потенциала в области от  $-0.86 \text{ В}$  до  $1.74 \text{ В}$  в течение 15 циклов в фосфатном буферном растворе с рН 6.86, содержащем цистамин.

Электроосаждение золота на поверхности СУ проводили из раствора, содержащего тетрахлорозолотую кислоту ( $\text{HAuCl}_4$ ) фирмы Aldrich на фоне  $0.01 \text{ М}$   $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Рабочие условия электроосаждения золота на поверхности СУ установлены ранее [18]. ХМЭ с наночастицами золота получали в результате адсорбции частиц золота на концевых сульфгидрильных группах самоорганизующегося монослоя цистамина, образованного на поверхности СУ.

Растворы МК готовили, растворяя ее точную навеску в фосфатном буферном растворе с рН 6.86. Растворы с меньшими концентрациями готовили разбавлением исходного раствора непосредственно перед измерениями. Фоном служил тот же буферный раствор.

## 2. Результаты и их обсуждение

МК окисляется на графитовых электродах в водных средах необратимо при потенциале  $E_{1/2}$  0.65 В. Продуктом двухэлектронного окисления МК является аллантоин [1]:



На циклической вольтамперограмме окисления МК на СУ наблюдается один необратимый анодный пик. Линейная зависимость тока пика от концентрации МК наблюдается в узком интервале концентраций: от  $1 \cdot 10^{-2}$  до  $5 \cdot 10^{-4}$  М. Использование ХМЭ с электрокаталитическими свойствами позволяет снизить перенапряжение и повысить чувствительность определения этого биологически активного вещества.

Известно, что золото является универсальным катализатором ряда электрохимических реакций [19]. На вольтамперограмме, полученной на электроде Au-СУ на фоне фосфатного буферного раствора, наблюдается одна пара пиков (рис. 1, а), формально соответствующая электродному процессу [20, 21]:



Отметим, что химическая форма катализатора остается неизвестной. Можно предположить, что это гидроксокомплекс Au(III).

Как видно из рис. 1, а, частицы золота окисляются при  $E_p$  0.90 В. Кроме того, на анодной ветви вольтамперограммы регистрируется небольшой максимум тока при  $E$  0.40 В, что, скорее всего, свидетельствует о разной степени агрегации и разной энергии связи частиц металла с поверхностью электрода. Восстановление этих форм наблюдается на катодной ветви вольтамперограммы при  $E_p$  0.50 В.

Циклическая вольтамперограмма, полученная на композитном электроде Au-Цист-СУ, по форме похожа на вольтамперограмму, регистрируемую на электроде Цист-СУ (рис. 1, б, кривая 1), но на анодной и катодной ветвях вольтамперограммы появляются небольшие максимумы тока, соответствующие окислению и восстановлению металла (рис. 1, б, кривая 2). При сопоставлении электрохимических свойств золота, осажденного на поверхности немодифицированного и модифицированного монослоем цистамина электрода, установлено, что на композитном электроде наблюдается уменьшение максимумов тока. Это связано с уменьшением электрохимически активных форм металла на поверхности композитного электрода Au-Цист-СУ по сравнению с электродом Au-СУ, что подтверждается рассчитанными данными истинной поверхности ( $S_{\text{ист}}$ ) осадков металлов по адсорбции кислорода:  $S_{\text{ист}} = 0.22$  и  $0.017 \text{ см}^2$  (при  $f = 0.7$  и  $0.2$ , где  $f$  – фактор шероховатости) для электрода Au-СУ и Au-Цист-СУ соответственно.

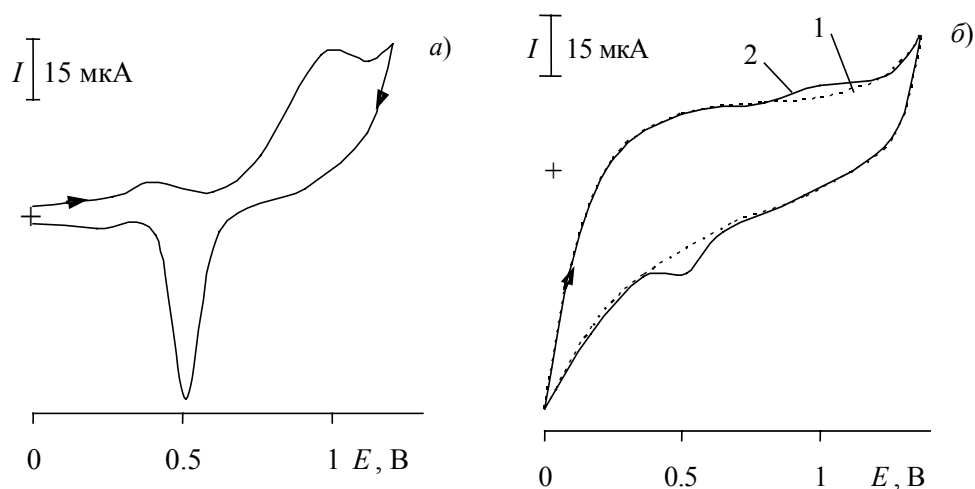


Рис. 1. Циклические вольтамперограммы, полученные на электродах Au-CU (а), Цист-CU (б, кривая 1) и Au-Цист-CU (б, кривая 2) на фоне фосфатного буферного раствора с pH 6.86

Сопоставлено электрохимическое поведение МК на немодифицированном и модифицированном самоорганизующимся монослоем цистамина электродах с осажденными частицами золота.

При окислении МК на электроде Au-CU на анодной ветви вольтамперограммы наблюдаются два пика (рис. 2, а). Высота первого пика в несколько раз превышает пик окисления медиатора и увеличивается с ростом концентрации аналита, при этом высота второго пика уменьшается. Окисление МК происходит при  $E_n$  0.45 В, что снижает перенапряжение на 200 мВ (табл. 1). При  $E_n$  0.90 В происходит окисление модификатора, уменьшение высоты второго пика с ростом концентрации субстрата связано с экранированием поверхности электрода продуктами электрохимической реакции по первой ступени, то есть оксо-частицы золота катализируют окисление МК.

Механизм электроокисления МК можно представить известной схемой [22]. Медиатор  $M_{red}$  вступает в обратимую электрохимическую реакцию с образованием частиц  $M_{ox}$ , которые вступают в химическую реакцию с субстратом А, регенерируя медиатор  $M_{red}$  и образуя продукты реакции Р:



Каталитический эффект проявляется в снижении перенапряжения окисления субстрата и в увеличении тока окисления медиатора.

На анодной ветви вольтамперограммы, полученной при окислении МК на электроде Au-Цист-CU регистрируется один пик при  $E \sim 0.45$  В (рис. 2, б), высота которого зависит от концентрации аналита.

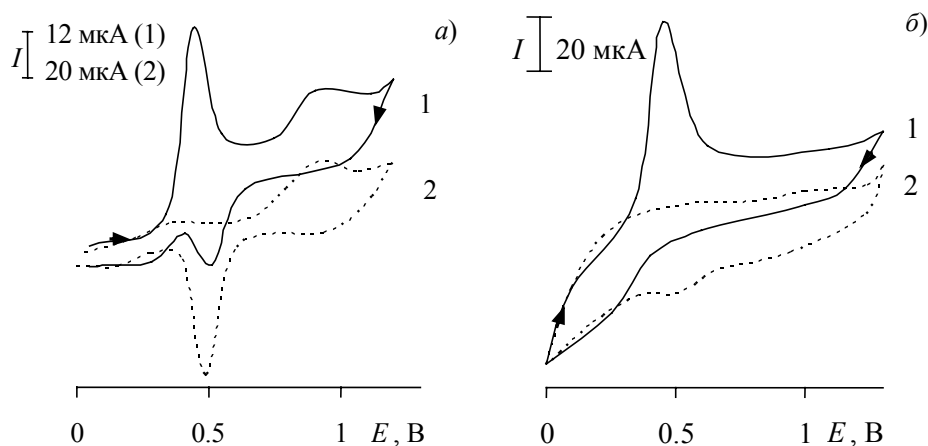


Рис. 2. Циклические вольтамперограммы, полученные на электродах Au-CU (а) и Au-Цист-CU (б) в присутствии (1) и в отсутствие (2) мочевого кислоты ( $C = 5 \cdot 10^{-3}$  М) на фоне фосфатного буферного раствора с рН 6.86

Табл. 1

Вольтамперные характеристики электроокисления мочевого кислоты ( $C = 5 \cdot 10^{-3}$  М) на ХМЭ; фон – фосфатный буферный раствор с рН 6.86

Модификатор	$E_S$ , В	$I_S$ , мкА	$E_{кат}$ , В	$I_{кат}$ , мкА/см <sup>2</sup>
Au	0.65	35	0.45	503
Au-Цист				4933

Были изучены зависимости величины тока пика ( $I_p$ ) от скорости наложения потенциала ( $\nu$ ). Установлено, что с увеличением величины  $\nu$  высота пика растет. Угловой коэффициент логарифмической зависимости  $I_p$  от  $\nu$  ( $\Delta \lg I_p / \Delta \lg \nu$ ) на электроде Au-Цист-CU составляет 0.30, что свидетельствует о процессе, осложненном химической реакцией. Окисление МК на электроде Au-Цист-CU можно также объяснить с позиции электрокатализа, которое проявляется в уменьшении перенапряжения и увеличении тока окисления субстрата.

Установлено, что значения удельных токов ( $I_{кат}$ ), то есть каталитических токов, приведенных к истинной поверхности, на композитном электроде Au-Цист-CU больше, чем на электроде с осадком золота (табл. 1), то есть ХМЭ на основе монослоя цистамина с наночастицами золота проявляет большую каталитическую активность при окислении МК.

На основании полученных результатов разработан вольтамперометрический способ определения МК по электрокаталитическому отклику электрода Au-Цист-CU.

**Методика определения мочевого кислоты.** Для определения МК в мерную колбу емкостью 10.0 мл вводят фиксированный объем раствора аналита и доводят до метки фосфатным буферным раствором с рН 6.86. Регистрируют циклическую вольтамперограмму на электроде Au-Цист-CU в интервале от 0.0 до 1.0 В и измеряют высоту каталитического тока окисления МК при 0.45 В.

Величина каталитического тока пропорциональна концентрации МК в интервале от  $5 \cdot 10^{-3}$  до  $1 \cdot 10^{-6}$  М. Эта зависимость описывается уравнением:

$$I = (2.0 \pm 0.3) + (1.5 \pm 0.1) \cdot 10^4 C; \quad (I, \text{мкА}; C, \text{М}); R = 0.9995. \quad (7)$$

Использование ХМЭ с электрокаталитическими свойствами по сравнению с немодифицированным электродом позволяет увеличить диапазон определяемых концентраций и понизить предел обнаружения МК на два порядка. Правильность методики оценена методом введено-найдено. Относительное стандартное отклонение ( $S_r$ ) не превышает 5% во всем диапазоне концентраций.

Для оценки метрологических характеристик проводили сопоставление результатов определения  $5 \cdot 10^{-4}$  М МК, полученные на одном ХМЭ (при электрохимическом обновлении поверхности электрода после каждого измерения). Установлено, что определяемые концентрации МК в серии параллельных результатов практически не изменялись. Величина  $S_r$  не превышала 0.05 ( $n = 10$ ). Стабильность каталитического отклика ХМЭ сохраняется в течение недели.

Разработанная методика может быть использована для определения МК в биологических жидкостях при клинической диагностике заболеваний.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 08-03-00749) и программы «Фундаментальные исследования и высшее образование» CRDF и Министерства образования и науки РФ (проект REC-007).

### Summary

*L.G. Shaidarova, E.I. Romanova, I.A. Chelnokova, A.V. Gedmina, H.C. Budnikov. Voltammetric Determination of Uric Acid at Electrode Modified by Cystamine Self-assembled Monolayer with Gold Nanoparticles.*

Electrocatalytical activity of gold particles deposited on unmodified and cystamine modified glassy carbon electrode is compared at uric acid oxidation. Inclusion of gold particles into the structure of composite based on a cystamine self-assembled monolayer leads to the rise of metal catalytical activity during uric acid oxidation that is exhibited in multifold current increase of mediator oxidation and potential reduction of substrate oxidation. The method of voltammetric determination of uric acid at the electrode modified by cystamine self-assembled monolayer with gold nanoparticles is suggested. Linear dependence of electrocatalytical response of composite electrode from uric acid concentration is observed in the range from  $5 \cdot 10^{-3}$  to  $1 \cdot 10^{-6}$  mol/l.

**Key words:** chemically modified electrodes, self-assembled monolayer, gold nanoparticles, uric acid electrooxidation.

### Литература

1. Кольман Я., Рём К.-Г. Наглядная биохимия. – М.: Мир, 2000. – 469 с.
2. Березова Т.Т. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. – М.: Медицина, 1976. – 294 с.
3. Troy R.J., Purdy W.C. The coulometric determination of uric acid in serum and urine // Clin. Chim. Acta. – 1970. – V. 27. – P. 401–408.
4. Price C.P., James D.R. Analytical reviews in clinical biochemistry: The measurement of urate // Ann. Clin. Biochem. – 1988. – V. 25. – P. 484–498.

5. *Nissen P.* Simultaneous determination of allopurinol, oxipurinol, and uric acid in human plasma by high performance liquid chromatography // *J. Chromatogr.* – 1982. – V. 225. – P. 382–386.
6. *Moraes M.L., Filho U.P.R., Oliveira Jr. O.N., Ferreira M.* Immobilization of uricase in layer-by-layer films used in amperometric biosensors for uric acid // *J. Solid State Electrochem.* – 2007 – V. 11. – P. 1489–1495.
7. *Будников Г.К., Майстренко В.Н., Вяселев М.Р.* Основы современного электрохимического анализа. – М.: Мир: Бином ЛЗ, 2003. – 592 с.
8. *Шайдарова Л.Г., Будников Г.К.* Химически модифицированные электроды на основе благородных металлов, полимерных пленок или их композитов в органической вольтамперометрии // *Журн. аналит. химии.* – 2008. – Т. 63, Вып. 10. – С. 1014–1037.
9. *Zen J.-M., Hsu C.-T.* A selective voltammetric method for uric acid detection at Nafion-coated carbon paste electrodes // *Talanta.* – 1998. – V. 46, No 5. – P. 1363–1369.
10. *Zhao Y., Gao Y., Zhan D., Liu H., Zhao Q., Kou Y., Shao Y., Li M., Zhuang Q., Zhu Z.* Selective detection of dopamine in the presence of ascorbic acid and uric acid by a carbon nanotubes-ionic liquid gel modified electrode // *Talanta.* – 2005. – V. 66, No 1. – P. 51–57.
11. *Matos R.C., Augelli M.A., Lago C.L., Angnes L.* Flow injection analysis-amperometric determination of ascorbic and uric acids in urine using arrays of gold microelectrode modified by electrodeposition of palladium // *Anal. Chim. Acta.* – 2000. – V. 404, No 1. – P. 151–157.
12. *Wang P., Li Y., Huang X., Wang L.* Fabrication of layer-by-layer modified multilayer films containing choline and gold nanoparticles and its sensing application for electrochemical determination of dopamine and uric acid // *Talanta.* – 2007. – V. 66, No 3. – P. 431–437.
13. *Thiagarajan S., Chen S.-M.* Preparation and characterization of PtAu hybrid film modified electrodes and their use in simultaneous determination of dopamine, ascorbic acid and uric acid // *Talanta.* – 2007. – V. 74 – P. 212–222.
14. *Багоцкий В.С.* Основы электрохимии. – М.: Химия, 1998. – 400 с.
15. *Петрий О.А., Цирлина Г.А.* Размерные эффекты в электрохимии // *Усп. химии.* – 2001. – Т. 70, Вып. 4. – С. 330–344.
16. *Mayer P., Holze R.* Electrocatalysis of redox reactions by metal nanoparticles on graphite electrodes // *J. State Electrochem.* – 2001. – V. 5, No 6. – P. 402–411.
17. *Raj C.R., Okajima T., Ohsaka T.* Gold nanoparticle arrays for the voltammetric sensing of dopamine // *J. Electroanal. Chem.* – 2003. – V. 543, No 2. – P. 127–133.
18. *Шайдарова Л.Г., Челнокова И.А., Гедмина А.В., Салманова Д.Р., Будников Г.К.* Проточно-инжекционное определение дофамина на графитовом электроде, модифицированном нафтионовой пленкой с электроосажденными частицами золота // *Учен. зап. Казан. гос. ун-та. Сер. Естеств. науки.* – 2007. – Т. 149, кн. 4. – С. 90–97.
19. *Burke L.D., Nugent P.F.* The electrochemistry of Gold: II The Electrocatalytic Behavior of the metal in Aqueous Media // *Gold Bull.* – 1998. – V. 31, No 2. – P. 39–50.
20. *Burke L.D., Nugent P.F.* The electrochemistry of gold: I The redox behaviour of the metal in aqueous media // *Gold Bull.* – 1997. – V. 30, No 2. – P. 43–53.
21. *Burke L.D.* The scope for new application for gold arising from the electrocatalytic behaviour of its metastable surface states // *Gold Bull.* – 2004. – V. 37, No 1–2. – P. 125–135.

22. Будников Г.К., Евтюгин Г.А., Майстренко В.Н. Модифицированные электроды для вольтамперометрии в химии, биологии и медицине. – М.: Бином ЛЗ, 2009. – 416 с.

Поступила в редакцию  
16.11.09

---

**Шайдарова Лариса Геннадиевна** – доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии кафедры аналитической химии Химического института им. А.М. Бутлерова Казанского государственного университета.

E-mail: *Larisa.Shaidarova@ksu.ru*

**Романова Екатерина Игоревна** – аспирант кафедры аналитической химии Химического института им. А.М. Бутлерова Казанского государственного университета.

E-mail: *Romanova\_Katerina@yahoo.com*

**Челнокова Ирина Александровна** – кандидат химических наук, научный сотрудник кафедры аналитической химии Химического института им. А.М. Бутлерова Казанского государственного университета.

E-mail: *Irina.Chelnokova@ksu.ru*

**Гедмина Анна Владимировна** – кандидат химических наук, научный сотрудник кафедры аналитической химии Химического института им. А.М. Бутлерова Казанского государственного университета.

E-mail: *Anna.Gedmina@ksu.ru*

**Будников Герман Константинович** – доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии Химического института им. А.М. Бутлерова Казанского государственного университета.

E-mail: *Herman.Budnikov@ksu.ru*