

基于层层自反应的葡萄糖氧化酶有序多层膜电极

孙莹莹, 赵爽, 杨微微, 孙长青

(吉林大学化学学院, 长春 130012)

摘要 以脬胺修饰的金电极为基础电极, 利用席夫碱反应使经高碘酸根氧化的葡萄糖氧化酶在该电极表面进行自身的层层有序组装. 用电化学交流阻抗法对多层酶膜形成过程的跟踪结果表明, 该多层酶膜的生长是一个逐步形成的均匀过程. 用循环伏安法和 $I-t$ 曲线法研究了该酶电极对葡萄糖的电催化氧化. 实验结果表明, 当采用羟基二茂铁作为人工电子转移媒介时, 该酶电极对葡萄糖具有很好的电催化氧化功能. 该传感器制作简便, 响应迅速, 性能稳定, 催化电流与葡萄糖浓度在一定范围内成正比, 并且可以通过控制葡萄糖氧化酶的组装层数来调节该生物传感器的灵敏度与检测限.

关键词 葡萄糖氧化酶; 生物传感器; 层层自反应; 有序多层膜; 电催化

中图分类号 O657.1

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2006)05-0839-06

自 Clark 等^[1]于 1962 年提出葡萄糖酶电极的概念和 Updike 等^[2]于 1967 年制备第一支酶电极以来, 以酶电极为主体的生物传感器的研制越来越受到关注. 葡萄糖生物传感器由于可为糖尿病患者的临床诊断提供重要的信息, 故其研究已引起人们的重视. 迄今, 已有多种葡萄糖生物传感器产生^[3]. 同时, 基于葡萄糖氧化酶和其它相关酶的生物传感器也获得了发展. 对于生物传感器, 尤其是酶基生物传感器, 生物功能分子在基础电极表面的固载一直是该领域的研究热点之一. 传统的生物功能分子固载方法有吸附法^[4]、共价键合法^[5]、凝胶/聚合物包埋^[6]和交联法^[7]等. 近年来, 多维整体系统的分子水平设计已被广泛应用于生物传感器研究领域^[8], 功能蛋白质的有序层状组装是其中的重要研究内容之一. 蛋白质在固态基质表面有序多层构筑主要包括基于静电作用的层层自组装法^[9]和利用偶联剂的逐层键合法^[10], 这些方法虽已被证明是可行和有效的, 但也存在局限性, 前者形成的蛋白薄膜稳定性欠佳, 而后者组装过程繁琐.

我们建立了一种葡萄糖氧化酶在固体电极表面有序多层构筑的新方法. 葡萄糖氧化酶经高碘酸根氧化后, 该球蛋白表面既带氨基又含醛基, 利用氨基与醛基在常温下生成席夫碱反应这一原理, 可将葡萄糖氧化酶共价层层组装到脬胺修饰的金电极表面. 采用电化学交流阻抗法对多层酶膜的形成过程进行了跟踪, 用循环伏安法和 $I-t$ 曲线法详细研究了该酶电极对葡萄糖的电催化氧化.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

葡萄糖氧化酶 (EC 1.1.3.4, from *aspergillus niger*, 100 Units/mg, GOx) 购于 Amersco 公司, 脬胺二盐酸盐、聚二甲亚胺 (PEI, $M_w = 50\ 000$) 和羟基二茂铁均为 Aldrich 公司产品.

其余试剂均为分析纯试剂. 实验用水为二次蒸馏水. 葡萄糖储备溶液在使用前 24 h 配制, 以完成其构型转换.

布鲁克公司 IF-S66V 型傅里叶变换红外光谱仪.

收稿日期: 2005-05-21.

基金项目: 国家“九七三”计划项目 (批准号: G2000078102)、国家自然科学基金 (批准号: 20175007)、教育部博士学科点基金 (批准号: 20020183007) 和吉林大学超分子结构与材料教育部重点实验室基金资助.

联系人简介: 孙长青 (1944 年出生), 男, 教授, 博士生导师, 从事电分析化学研究. E-mail: sunchq@jlu.edu.cn

CHI 660A 电化学工作站 (美国), 三电极系统: 以修饰的金电极 (CH101, $\phi = 2$ mm) 作为工作电极, 铂丝作为对电极, Ag/AgCl (饱和 KCl) 电极作为参比电极. 电化学交流阻抗实验以 5 mmol/L 的 $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ (摩尔比 1:1) 为探针, 在电位 $E^0 = 0.17$ V 下进行, 频率范围为 0.1 ~ 100 000 Hz, 交流电压振幅为 10 mV.

所有实验均在 (25 ± 1) 的温度下进行. 在每次实验前, 向底液中通高纯氮气至少 20 min 除氧, 并在实验过程中保持氮气氛围.

1.2 葡萄糖氧化酶的醛基化

参照文献 [11~13] 方法, 用高碘酸钠氧化葡萄糖氧化酶使其醛基化. 将 20 mmol/L GOx (总体积为 5 mL, 溶于 0.1 mol/L 磷酸缓冲液, pH = 6.82) 放入圆底烧瓶中, 用冰水浴控制温度在 0, 然后小心加入 30 mg 高碘酸钠, 搅拌条件下反应 1 h 后, 将体系温度升至 25, 加入 6.97 μ L 乙二醇继续反应 30 min. 反应停止后, 将产物移至半透膜中, 用磷酸缓冲液渗透以除去小分子杂质. 整个实验均在避光条件下进行, 将产物避光冷冻保存.

1.3 葡萄糖氧化酶多层膜的组装

在金电极上组装 GOx 多层膜的过程如下: 将金电极依次用 1.0, 0.3 和 0.05 μ m 的 Al_2O_3 抛光, 并在蒸馏水和乙醇溶液中交替超声清洗 3 次, 然后用二次水清洗电极, 用高纯氮气将其吹干. 将清洁的金电极浸入 10 mmol/L 的脲胺水溶液中, 2 h 后取出, 用二次水冲洗干净, 用氮气吹干. 将此金电极放入上述氧化过的葡萄糖氧化酶 (D_4 -GOx) 溶液中, 1 h 后取出, 用二次水冲洗, 氮气吹干. 重复最后一步操作即可获得葡萄糖氧化酶的多层膜电极.

2 结果与讨论

2.1 GOx 多层膜的组装原理及过程跟踪

首先通过脲胺在金电极表面的自组装使其表面氨基化, 然后将此金电极浸入 D_4 -GOx 溶液后, 其氨基就会与 D_4 -GOx 上的醛基在常温下发生席夫碱反应, 使 GOx 通过共价作用组装到金电极上, 从而完成第一层的构筑. 由于 GOx 通过高碘酸根氧化后表面既含醛基 (来自 GOx 表面糖基的氧化) 又含氨基 (GOx 分子中的赖氨酸残基), 当将该电极再次放入 D_4 -GOx 溶液后, 此时电极表面裸露出的氨基会与溶液中 D_4 -GOx 的醛基进行席夫碱反应, 以完成第二层的构筑. 如此重复即可形成 GOx 多层膜. 由于葡萄糖氧化酶经高碘酸根氧化后自身既存在醛基又存在氨基, 因此在溶液中存在一个席夫碱反应的动态平衡. 当将氨基化的金电极浸入其中后, 由于金电极表面的氨基浓度较大, 破坏了溶液中的动态平衡, 促使反应正向进行, 因此使大量的 GOx 通过共价键合作用组装到金电极上, 反应再次达到平衡. 当将电极拿出冲洗吹干后再放入 GOx 溶液中时, 其动态平衡又被破坏, 促使反应正向进行, 使 GOx 继续生长在电极上, 多次重复生成了 GOx 多层膜.

为进一步证明此过程, 将组装了 6 层 GOx 的金电极与将脲胺修饰的金电极放入 D_4 -GOx 溶液中 6 h 后形成的电极对葡萄糖的催化氧化进行了对比. 实验结果说明, 虽然两种方法电极浸入 D_4 -GOx 溶液中的时间相同, 但组装了 6 层 GOx 的金电极的催化电流可达到 3.4 μ A, 而脲胺修饰的金电极放入 D_4 -GOx 溶液中 6 h 而形成电极的催化电流仅为 1.8 μ A. 这充分说明当席夫碱反应达到平衡后, 即使浸入时间再长, GOx 也不会继续组装到电极上. 故此膜生长的驱动力就是席夫碱反应的破坏与再建立的过程. 这与文献 [14] 报道的组装方法及原理是类似的.

实验中还采用红外光谱对组装过程进行了验证. 首先通过 PEI (1.5 mg/mL) 在 CaF_2 基片表面的自组装使其表面氨基化, 然后利用与电极制备相同的方法将 GOx 组装到 CaF_2 基片上. 在红外谱图中可以明显观察到 C=N 的特征吸收峰 (1541 cm^{-1}), 而 GOx 上未完全发生反应的醛基的 1665 cm^{-1} 特征峰强度很弱. 表明 GOx 多层膜的组装过程确实是通过分子间席夫碱反应进行的.

图 1 为用电化学交流阻抗法跟踪 GOx 多层膜电极组装过程所获得的交流阻抗谱. 可以看出, 随着组装阶段和 GOx 层数的不同, 电化学交流阻抗谱有明显的不同. 图 1 谱线 a 是裸金电极在 5 mmol/L $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ (摩尔比 1:1) 溶液中的阻抗谱, 该阻抗谱在所有频率范围内近似为一条

直线, 表明此时电极上不存在阻挡电子转移的物质, $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4- / 3-}$ 非常容易到达电极表面发生氧化还原反应, 反应是受扩散控制的过程。

图 1 谱线 $b \sim e$ 分别为组装了 1, 2, 3 和 4 层 GOx 的金电极的阻抗谱, 其高频部分出现明显的半圆 (该半圆的直径代表电荷转移电阻), 且半圆的直径随组装层数的增加而增大, 说明电极表面引入了阻碍电子转移的物质, 其对电子传递的阻碍随组装层数的增加逐渐增强, 探针分子 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4- / 3-}$ 越来越难以到达电极表面, 电荷转移电阻增大. 这一结果同循环伏安法获得的结果是一致的, 表明该 GOx 多层酶膜的生长是一个逐步形成的均匀过程。

2.2 GOx 多层膜电极对葡萄糖的电催化氧化

在研究第二代 GOx 酶电极对葡萄糖的电催化氧化时, 须选用合适的人工电子转移媒介体, 其中二茂铁及其衍生物是理想的选择. 在本实验中, 选用不带电荷的羟基二茂铁为电子转移媒介体进行研究. 图 2(A) 为组装了 6 层 GOx 的金电极在 0.25 mmol/L 羟基二茂铁的磷酸盐缓冲液中 (0.1 mol/L, pH = 6.82) 在不同扫描速度下的循环伏安曲线. 由图 2(A) 可见, 在电位窗口 0 ~ 0.5 V 范围内, 有一对可逆的氧化还原峰出现. 当扫描速度为 100 mV/s 时, 其峰峰电位差为 0.06 V. 其式电位 $E_0 [E_0 = (E_{pa} + E_{pc}) / 2]$ 为 0.22 V (vs Ag/AgCl), 该反应归属于 Fc^+ / Fc 的单电子氧化还原反应. 阳极峰电流和阴极峰电流在 5 ~ 100 mV/s 范围内均与扫描速度的平方根成正比 [图 2(B)], 说明该电极反应是受扩散控制的。

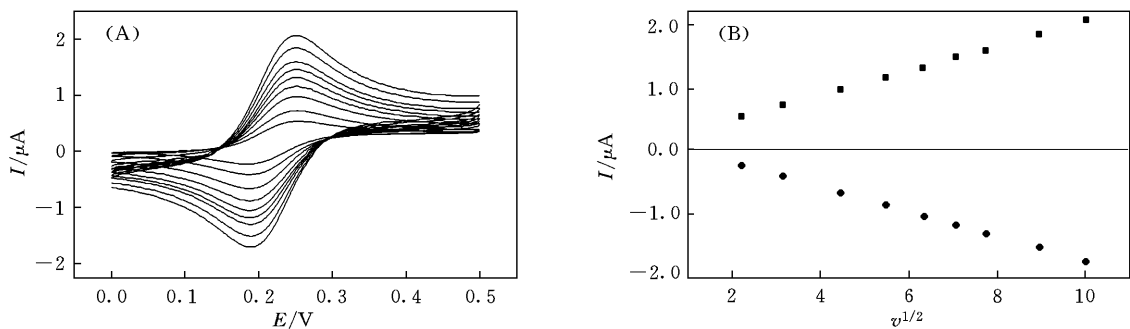


Fig 2 Cyclic voltammograms of six GOx layers modified gold electrode in 0.1 mol/L phosphate buffer solution at different scan rates (pH = 6.82) (A) and the relationship of anodic and cathodic peak currents vs the square root of scan rate (B)

Scan rates/(mV · s⁻¹): 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100 (from inside to outside).
Ferrocenemethanol (0.25 mmol/L) was used as a diffusional electron-transferring mediator

图 3(A) 为在羟基二茂铁存在下, GOx 多层膜电极在含 20 mmol/L 葡萄糖的磷酸盐缓冲溶液中所获得的循环伏安曲线, 其中曲线 a 是在裸金电极上获得的, 可见有一对可逆的氧化还原峰, 其峰峰电位差为 0.06 V, 是单纯的羟基二茂铁在电极上得失电子产生的. 在电组装了 GOx 之后 [图 3(A) 曲线 $b \sim e$], 氧化还原峰均发生了明显变化, 表现为氧化峰增强, 还原峰减弱, 甚至消失. 随着组装 GOx 层数的增加, 即电极上 GOx 的量的增加, 氧化电流越来越大. 值得注意的是, 当该电极修饰一层 GOx 时, 其氧化峰电流的增加值要比以后几层的增加值大. 这可能是由于修饰脱胺后的金电极表面氨基含量相对较多且平整, 致使大量的 GOx 比较容易通过共价作用组装到电极上. 当修饰一层 GOx 后, 电极表面因布满 GOx 这种非理想球状蛋白变得不平整, 所以接下来 GOx 的组装变得相对困难. 而后, 随着

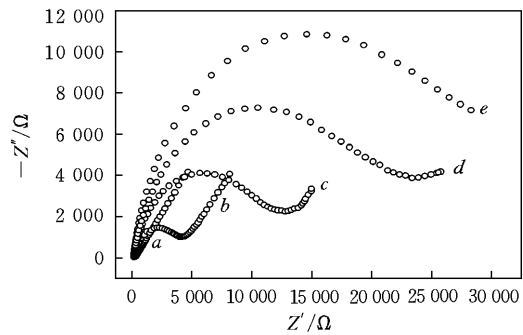
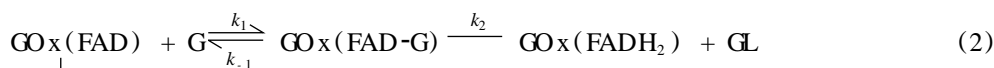


Fig 1 Electrochemical impedance spectra for the cystamine modified gold electrode with different numbers of GOx in 5 mmol/L $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6] / \text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (molar ratio is 1:1) solution
a Bare Au; b one layer; c two layers; d three layers; e four layers

GO_x酶层数的增加,氧化峰电流均匀增大,这进一步表明该酶电极的组装是一个均匀的过程.上述反应是一个典型的酶依赖催化反应,其催化过程表达如下:



式中, GO_x(FAD)和 GO_x(FADH₂)分别代表葡萄糖氧化酶的氧化型和还原型; Fc⁺和 Fc分别代表电子转移媒介体的氧化型和还原型; G和 GL分别代表葡萄糖和葡萄糖酸内酯.

图 3(B)为采用未经高碘酸根氧化的葡萄糖氧化酶通过此方法组装而成的传感器的循环伏安图.可见,不论浸入 GO_x溶液的时间长短,循环伏安信号均未增加,表明 GO_x未组装到电极上.这充分说明 GO_x酶多层膜是通过氧化过的葡萄糖氧化酶自身的相互作用构筑到电极上的.

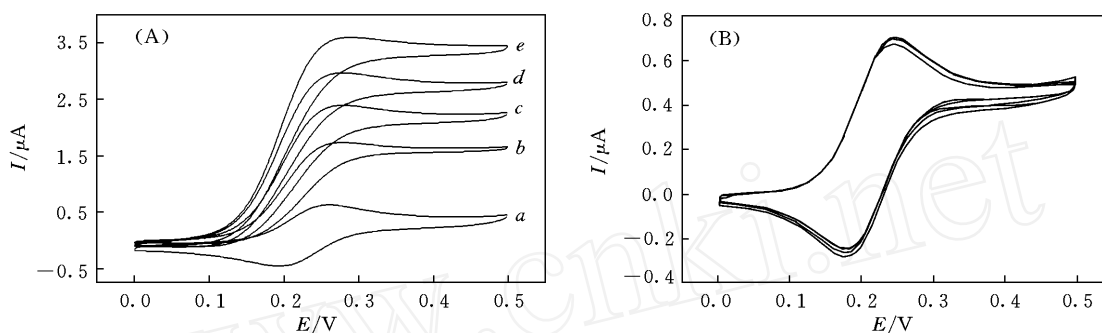


Fig 3 Cyclic voltammograms of the modified electrodes in 20 mmol/L glucose-0.25 mmol/L ferrocene-methanol(A) and the cyclic voltammograms of the electrodes modified with native-GO_x in 20 mmol/L glucose-0.25 mmol/L ferrocene-methanol detected once each hour (B)

Conditions: 0.1 mol/L phosphate buffer solution (pH = 6.82) under N₂; scan rate: 10 mV/s Layer number: a 0; b 1; c 3; d 5; e 7.

在无质量传输限制的情况下,可根据修饰电极的循环伏安响应结果并用以下公式计算组装到电极上的活性酶的量^[15,16]:

$$\frac{1}{I_p} = \frac{1}{2FS_{ET}} \left[\frac{1}{k_3 [\text{Fc}]} + \frac{1}{k_2} + \frac{1}{k_{red} [\text{G}]} \right] \quad (4)$$

式中, I_p 代表以羟基二茂铁为电子转移媒介体的循环伏安曲线的稳态电流, F 为法拉第常数, S 为电极面积, S_{ET} 为活性酶的总体表面浓度, $[\text{Fc}]$ 为中介体的浓度, $[\text{G}]$ 为溶液中葡萄糖的浓度;其中, $k_2 = 700 \text{ s}^{-1}$, $k_3 = 1.2 \times 10^7 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{s})$, $k_{red} = k_1 k_2 / (k_{-1} + k_2) = 1.1 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{s})$ ^[13,17].不同层数活性酶的表面浓度列于表 1.表 1数据表明,除第一层外,随着层数的增加,电极上酶的覆盖度是均匀增加的,大约每两层增加 $0.6 \times 10^{-12} \text{ mol}/\text{cm}^2$,说明多层酶膜具有均匀有序的结构,这一特性为控制活性酶在电极表面的负载量提供了可能.

Table 1 The coverage of active enzyme for different numbers of GO_x multilayers calculated from the cyclic voltammetric data^a

Layer number	0	1	3	5	7
$10^{12} \frac{b}{S_{ET}} / (\text{mol} \cdot \text{cm}^{-2})$	0	1.3 ± 0.1	1.9 ± 0.1	2.5 ± 0.1	3.1 ± 0.1
$10^{12} \frac{c}{S} / (\text{mol} \cdot \text{cm}^{-2})$	—	1.3	0.6	0.6	0.6

a. Plateau currents were measured by subtracting the glucose-free voltammograms from the mediated (20 mmol/L glucose in solution) voltammograms b. Values are the average of triplicate examinations c. Active enzyme coverage of each layer calculated from the respective values of S_{ET} .

2.3 GO_x多层膜电极的分析性能

图 4曲线 a~d分别为 2, 4, 6和 8层 GO_x修饰金电极的催化电流对葡萄糖浓度的校正曲线.可

见,随着 GO_x组装层数的增加,该传感器对同一浓度葡萄糖的响应明显增大,线性响应范围增宽.由校正曲线的直线部分可以求得不同 GO_x层数传感器的灵敏度,其大小分别为 2.5, 3.4, 5.0 和 6.7 L · μA / (mmol · cm²).结果表明,该传感器的灵敏度随组装层数的增加而增大,其可调节性对于传感器的潜在应用具有重要意义.

实验还采用 *I-t* 曲线法对 GO_x多层膜电极的性能进行了研究.在 0.28 V 电压下,向 10 mL 磷酸盐缓冲溶液(含 0.25 mmol/L 羟基二茂铁, pH = 6.82)中连续加入标准葡萄糖溶液,检测催化电流对葡萄糖的计时响应.由图 5(A)可见,每次加入葡萄糖后,GO_x多层膜电极均会迅速做出响应,达到 95% 稳态电流的响应时间大约为 8 s.图 5(B)为 GO_x多层膜电极的稳态电流对葡萄糖浓度的校准曲线,可见,其电流响应与葡萄糖浓度在一定范围内有良好的线性关系,线性范围可延伸到 8 mmol/L.从标准曲线的直线部分可计算出此 GO_x多层膜电极的灵敏度为 7.0 L · μA / (mmol · cm²),检出限为 8.5 × 10⁻⁵ mol/L(信噪比为 3).

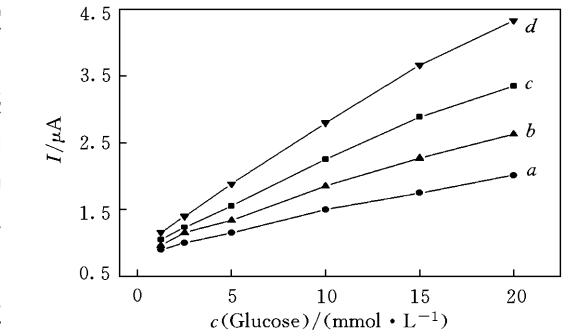
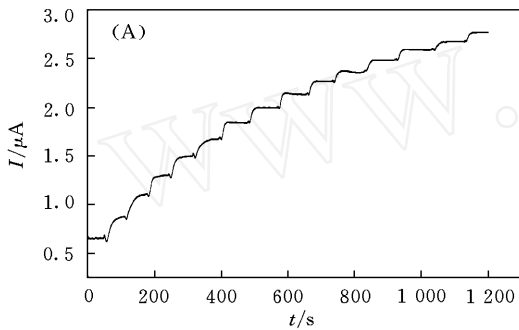


Fig 4 Calibrations for the GO_x multilayered electrodes as a function of glucose concentration

Layer number: a 2; b 4; c 6; d 8. Bioelectrocatalytic signal values were obtained from respective cyclic voltammograms. Other conditions are the same as those in Fig 3.

Layer number: a 2; b 4; c 6; d 8. Bioelectrocatalytic signal values were obtained from respective cyclic voltammograms. Other conditions are the same as those in Fig 3.

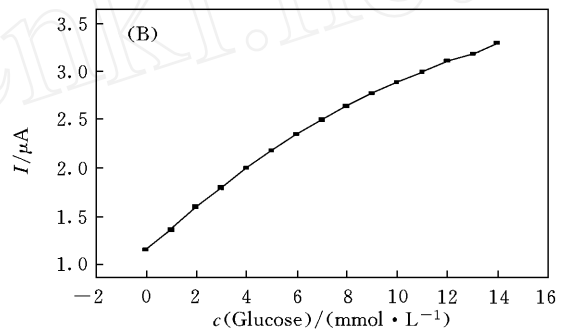


Fig 5 Steady-state response of the electrode with 8 layers of GO_x(A) and the calibration curve of the sensor as a function of glucose concentration(B)

Addition of 10 μL glucose (1 mol/L) into the 10 mL of the stirred 0.1 mol/L phosphate buffer solution (pH = 6.82, containing 0.25 mmol/L ferrocenemethanol). Applied potential: 0.28 V vs Ag/AgCl

2.4 GO_x多层膜电极的稳定性与重现性

该 GO_x多层膜电极具有较好的重现性,含相同 GO_x层数的不同电极间其标准偏差 5.3%,而同一电极不同层数的 GO_x间的标准偏差仅为 3.4%.将 GO_x多层膜电极在 20 mmol/L 葡萄糖的磷酸缓冲溶液中(包含 0.25 mmol/L 羟基二茂铁)连续循环测试 50 次,催化电流几乎未减小.将该电极在 -4 冰箱中放置 30 d,每隔 3 d 作一次循环伏安检测,催化氧化峰电流下降仅约 5%.表明该传感器具有非常好的稳定性,这一方面归因于多层膜之间及多层膜与金电极之间牢固的共价相互作用;另一方面,组装是一个温和的过程,酶分子没有被破坏而失活.

参 考 文 献

- [1] Clark L., Lyons C. Ann NY Acad Sci [J], 1962, 102: 29—45
- [2] Updike S. J., Hicks G. P. Nature [J], 1967, 214: 986—988
- [3] Wang J. Electroanalysis [J], 2001, 13: 983—988
- [4] Ikariyama Y., Yamauchi S., Yukiashi T. et al. Anal Lett [J], 1987, 20: 1791—1801
- [5] Ianniello R. M., Yacynych A. M. Anal Chem. [J], 1984, 53: 2090—2095
- [6] Fortier G., B. liveau R., Lebmond E. et al. Anal Lett [J], 1990, 23: 1607—1619
- [7] Wingard L. B. Jr, Cantin L. A., Castner J. F. et al. Biochim. Biophys Acta [J], 1983, 748: 21—27

- [8] Bard A. J. . Integrated Chemical Systems, A Chemical Approach to Nanotechnology[M], New York: Wiley & Sons, 1994
- [9] Sun Y. , Zhang X. , Sun C. *et al.* Macromol Chem. Phys [J], 1996, **197**: 147—153
- [10] Willner I , Katz E. Angew. Chem. Int Ed [J], 2000, **39**: 1180—1218
- [11] Nakane P. K , Kawaoui A. J. . Histochem. Cytochem. [J], 1974, **22**: 1084—1091
- [12] Zaborsky O. R , Ogletree J. . Biochem. Biophys Res Commun [J], 1974, **61**: 210—216
- [13] Nakamura S , Hayashi S , Koga K. . Biochim. Biophys Acta[J], 1976, **445**: 294—308
- [14] Huo F. W. , Xu H. P. , Zhang L. *et al.* Chem. Commun [J], 2003, **7**: 874—875
- [15] Anicet N. , Bourdillon C. , Moiroux J. *et al.* J. Phys Chem. B. [J], 1998, **102**: 9844—9849
- [16] Bourdillon C. , Demaille C. , Gueris J. *et al.* J. Am. Chem. Soc [J], 1993, **115**: 12264—12269
- [17] Dubois L. H. , Nuzzo R. G. . Ann Phys Chem. [J], 1992, **43**: 437—463

Ordered Multilayer Film Electrode Containing Glucose Oxidase Based on Layer-by-layer Self-reaction

SUN Ying-Ying, ZHAO Shuang, YANG Wei-Wei, SUN Chang-Qing*

(College of Chemistry, Jilin University, Changchun 130012, China)

Abstract Highly stable glucose oxidase (GOx) multilayer films were fabricated on cystamine modified gold electrode surfaces by layer-by-layer self-reaction of periodate-oxidized glucose oxidase. The fabricated process was followed by electrochemical impedance spectroscopy. The experimental results showed that the film was homogeneous and formed in an ordered manner. The gold electrode modified with the GOx multilayers showed excellent electrocatalytic response to the oxidation of glucose when ferrocenemethanol was used as an artificial redox mediator. From the analysis of voltammetric signal, the coverage of active enzyme on the electrode surface was estimated, which had a linear relationship with the number of GOx besides the first layer. This suggested that the analytical performance such as sensitivity, detection limit, and so on, was tunable by controlling the number of the fabricated GOx layer. In addition, the biosensor exhibited a good reproducibility and stability.

Keywords Glucose oxidase; Biosensor; Layer-by-layer self-reaction; Ordered multilayer film; Electrocatalysis

(Ed : K, G)

《高等学校化学学报》第 4 次入选“中国百种杰出学术期刊”

从中国科学技术信息研究所 2005 年 12 月 6 日的新闻发布会上获悉,《高等学校化学学报》入选第四届中国百种杰出学术期刊,这是该刊继连续入选第一、第二、第三届中国百种杰出学术期刊之后,第 4 次获此殊荣。

中国科学技术信息研究所每年出版的《中国科技期刊引证报告》定期公布 CSTPCD 收录的中国科技论文统计源期刊的十余个科学计量指标。从 1999 年开始,以此指标为基础,研制了中国科技学术期刊综合评价指标体系。采用层次分析法,由专家打分确定了重要指标的权重,并分学科对每种期刊进行综合评定。2002 年公布了第一届中国百种杰出学术期刊名单。两年来,先后以期刊评估为主题召开了十余次不同学科、不同层面的专家研讨会。2004 年 11 月再次召集专家会议,综合分析了期刊指标体系实施应用以来我国科技学术期刊的变化趋势和实际状况,对期刊的指标权重进行了重新核定,在此基础上推出第四届中国百种杰出学术期刊,中国百种杰出学术期刊的评定工作日趋完善,具有科学性、客观性、公正性和合理性。

第四届中国百种杰出学术期刊表见第 858 页。