

生物电化学传感器中的聚合物材料

王纪孝* 马建标 何炳林

(南开大学高分子化学研究所, 吸附分离功能高分子材料国家重点实验室, 天津, 300071)

提要 对聚合物材料在生物电化学传感器中的应用进行了评述, 包括高分子媒介体化合物、高分子阻挡膜、酶固定化材料和电解聚合物材料。并指出今后提高生物电化学传感器性能、改善和改变其表面特性, 也依赖于聚合物材料的使用。

关键词 传感器, 聚合物材料, 媒介体, 酶固定化

电流型生物电化学传感器是根据在工作电极和辅助电极(以参比电极提供电位标准)之间加一适当电位并通过测定两电极间所通过电流与被测物质的浓度之间的定量关系进行定量分析的。在这一过程中经常使用酶作为传感器的分子识别元件, 它具有足够高的催化活性和选择性。但当在两电极间施加工作电位时常会有其它电活性物质发生反应而影响传感器的选择性, 也由于酶的失活或流失导致电化学传感器的稳定性降低。由于传感器的稳定性较低, 从而影响了它的使用。因此, 只有真正提高传感器对电活性物质的抗干扰能力和提高传感器的稳定性, 才能使电化学传感器达到实用化阶段。从生物电化学传感器发展的历史可以看出, 生物电化学传感器发展和改进的历史就是在其中应用高分子材料的历史。今后生物电化学传感器的发展和性能的改善同样也要依靠高分子材料的应用。

1 高分子媒介体化合物

在生物电化学传感器的测量过程中, 当加在两电极间电位较高时, 样品中的某些电活性物质就会在电极上发生反应干扰测定, 产生正的分析误差。消除这一误差的方法之一就是使用传导电子的媒介体化合物, 在生物电化学传感器发展初期是使用低分子媒介体化合物, 例如二茂铁^[1~3], 普鲁士兰^[4]等。由于这些小分子媒介体化合物易于扩散进入本体溶液, 使所制备的生物电化学传感器的稳定性较差, 限制了生物电化学传感器的使用。高分子媒介体化合物由于高分子链间的互相缠结或交联从根本上消除了媒介体的扩散流失问题, 可以保证生物电化学传感器具有稳定的响应。高分子媒介体化合物通常是由低分子媒介体化合物与高分子链所带的活性基团进行反应固载完成的。这种高分子媒介体化合物通常有变价过渡金属离子型和有机氧化还原型。

1.1 变价过渡金属离子型高分子媒介体化合物

常用的螯合型高分子媒介体化合物有两种, 即含铁型和含钼型, 其中二茂铁是最常用的一种, 为使电子易于传输常使用具有充分柔性的聚硅烷为主链的高分子载体。否则, 会由于高分子链的刚性太强影响电子的传输, 导致传感器的响应特性下降。Hale^[5,6]及其合作者将二茂铁固载于硅氧链上并用它制作电极, 实验证明这种高分子媒介体化合物能够有效地传输电子, 使电极在低电位下工作, 有效地

王纪孝 1964 年生于山东省, 1982 年考入武汉地质学院(今中国地质大学)应用化学系, 学习岩矿分析专业, 1986 年毕业并于同年考入中国地质科学院研究生部学习分析化学专业, 于 1989 年毕业, 获硕士学位。毕业分配到承德石油高等专科学校化工系工作。于 1995 年考入南开大学高分子化学研究所攻读高分子化学与物理专业博士学位。

* 通讯联系人。

消除干扰, 作者认为电流的响应与高分子链的结构有密切关系, 主链与二茂铁之间间隔基越长其传输电子的能力越强。这与二茂铁基团的运动自由度有关, 二茂铁环上取代基引入可使电子传输速度加快, 在一定条件下电流密度与媒介体化合物的浓度成正比, 媒介体的氧化还原电位与引入的取代基有关。Kondo^[7]研究了取代基的影响并得到结论, 吸电子取代基的引入使二茂铁的氧化还原电位向正移动 300mV, 供电子基的引入会由于其空间位阻作用使其氧化还原电位向正移动 5mV。为使高分子媒介体具有较好的亲水性, Boguslavsky^[8]使主链与二茂铁用乙氧基连接并加入了 HRP(辣根过氧化物酶)加快电子传输, 有效地消除干扰。通过调整固载媒介体的比例及改变侧链长度和改变二茂铁环上的取代基就可以制备有效的传电媒介体。

另一类常用的高分子媒介体化合物为聚乙烯吡啶化合物的化学修饰物。由于这类聚合物带有十分丰富的正电荷。它可以同带有多个负电荷的酶分子形成缔合物, 保证酶分子与媒介体有良好的接触。因此它是一类良好的电子传输介体。Degani^[9], Pishko^[10]制备了含有聚乙烯吡啶及联吡啶的铁配合物为媒介体的酶电极, 这类电极可在各种离子强度下使用。Pishko^[11]还将它制成水凝胶并将酶固定于其中制成电极, 这种电极不受溶解氧的干扰, 无媒介体扩散问题, 电子传输快速可逆, 电极响应稳定。Gregg^[12]及 Rajagopalan^[3]研究了将聚乙烯吡啶修饰以提高其亲水性, 认为聚乙烯吡啶引入亲水基团后生成水凝胶可加快传电速度及酶和聚合物之间的作用力, 非亲水基团引入会降低其亲水性, 由双缩水甘油酯交联的吡啶环上季铵化的密度在 1/3 时与电流密度成正比, 在 1/3~1/2 时电流密度随季铵化密度的升高而降低。调整聚乙烯吡啶链上媒介体的比例和通过调整吡啶环上取代基的亲水/亲油性和其反应活性就可以使其传电性能达到最佳。

1.2 氧化还原聚合物型高分子媒介体化合物

将蒽醌类物质固载于高分子链形成氧化还原聚合物是高分子媒介体的又一形式, Inagaki^[14]将醌或蒽醌固载于硅氧烷高分子链上并用它制备电极, 防止了媒介体的流失和电活性物质的干扰, 电极具有良好的响应。Katz^[15]用异硫氰酸酯将醌类物质固载于电极表面, 电极具有良好的响应特性。还有作者将细胞色素 C^[16]固定于电极之上以消除干扰信号。由上可以看出, 在使用媒介体化合物制备电极时使用高分子媒介体化合物是发展的方向。

2 惰性高分子阻挡膜

使用高分子媒介体化合物虽可以消除干扰, 但其制备较为复杂, 用惰性高分子膜修饰电表面形成阻挡层是消除干扰的有效方法, 阻挡的原理是依靠电性排斥或体积排斥, 排斥使电活性物质存在于高聚物膜之外, 阻止电活性物质在电极上发生反应干扰测定。常用的电性排斥膜有两种, 一种是 Eastman-AQ, 另一种是 Nafion。Gorton^[17]、Wang^[18]、纪学峰^[19]用 Eastman-Q 修饰所制备的电极, 具有良好的响应特性、选择性和稳定性, 修饰对酶的活力没有影响。Wang^[20]、Sun^[21]、Chi^[4]、Pan^[22]用 Nafion 修饰电极表面, 所制备的电极具有良好的选择性和稳定性, 消除了来自于电活性物质抗坏血酸和尿酸的干扰。Christin^[23]用聚氯乙烯膜修饰电极, 消除了由抗坏血酸, 尿酸及酚类物质的干扰, 电极对过氧化氢有选择性响应。Pan^[24]用聚四氟乙烯惰性膜修饰有效地阻止了电活性物质进入电极内层引起的干扰, 制备了对过氧化氢有选择性响应的电极。但这些材料往往与基体电极粘附力较差或购买不便, 因此, 限制了它的使用。Creager^[25]使用在金电极上形成自组装单层膜的方法固定化酶并消除干扰, 极大地减小了背景电流, 电极具有良好的响应, 但电极响应稳定性较低。

3 酶固定化材料

生物电化学传感器稳定性较低的一个重要原因之一就是作为分子识别元件的酶的流失和活性降低造成的,将酶固定于高分子材料之上可以有效地防止酶的流失和失活。酶的固定化过程就是将酶通过化学键与高分子材料反应或包裹,当通过化学键固定化酶时往往引起酶的活力降低,因此,在固定化酶时应当注意将酶活性中心加以保护。常用固定化酶的方法和基团有以下几种,羟基^[26,27]、氨基^[26,27,32~35]、羧基^[27,30]、环氧基^[28,31]、异(硫)氰酸酯^[15]、酸酐^[29]等。在以上各方法中以戊二醛使用最多,使用不同的固定化方法和使用不同的高分子材料固定化酶其活力损失的程度不同。但由文献可以看出,经过使用化学固定化后,电极的稳定性确已有所提高。因此,当使用化学固定化酶时,应当选用合适的固定化方法和试剂。以保证酶具有高的活力。

4 导电聚合物材料和电解聚合材料

自1986年第一只导电聚合物膜电极制备以来,电解聚合物制备生物电化学传感器已进行了广泛的研究。这类方法可以在制备膜的同时将酶及其它有用的组分一次固定于电极之上,所制备的电极具有良好的响应特性。常用的电解聚合物有聚吡咯(PPY),聚苯胺(PAN),聚邻(或间)苯二胺(PDAN)。PPY在广泛的pH范围内具有较高的导电性,可以加快酶与材料之间的电子传递,也由于PPY本身带正电,在制备PPY膜时能将带负电的酶固定于膜中。有许多研究者用PPY^[36~43]制备生物电化学传感器,以PPY制备的传感器具有信号大的优点,但由于PPY具有较为疏松的结构使酶易于从膜中流失或失活。另一方面,PPY^[41]本身较易被过氧化生成导电性较低化合物,因此它具有较低的稳定性,电极的寿命一般只有几天的时间。经改变单体的结构虽可增加聚合物的稳定性,但其导电性下降也大。由于具有疏松的膜结构,这类电极往往具有较大的干扰。为消除干扰有作者在膜中掺杂传电介质,也有作者用增大膜厚度的方法。但未能消除由失活引起的稳定性下降的缺点,因此,使用PPY制备生物电化学传感器并不能解决传感器中所存在的问题。

制备生物电化学传感器的另一常用材料是PAN。PAN具有原料来源广,价格便宜的优点,PAN膜远比PPY膜致密,具有更好的抗干扰能力和稳定性。但PAN只有在酸性条件下具有高的导电性,当pH大于5时,其导电性急剧下降成为非导体。将PAN自掺杂^[44]或掺杂高分子化合物^[37]后其导电性有较大提高,所制备的电极的响应值有大幅度的提高。由PAN所制备电极具有高的稳定性好的抗干扰能力,这是由于致密的PAN膜阻止了体积较大组分进入电极膜引起干扰,同时也阻止了酶的流失和由于结构变化而引起的失活。Cooper^[45]研究了导电聚合物排阻消除干扰的能力与膜的形态与膜的厚度的关系,通过控制聚合条件和选用单体可以有效地提高电极的选择性,说明用导电聚合物修饰电极可以阻止一些电活性物质达到电极表面而允许小分子过氧化氢达到电极进行反应。在一定条件下让氨基酸达到电极表面进行电化学反应而同时抑制腐败,通过比较发现PAN膜较PPY膜致密,具有更好的排阻效果。Cho^[46]及穆绍林^[47]等用电解聚合PDAN方法制备了葡萄糖电极,电极具有良好的响应特性和较好的稳定性。

聚邻苯二胺(PDAN)是一类非导电电解聚合物,它具有更致密的膜结构和更稳定的性质。它可以极大地消除干扰并防止酶流失,Sasso^[48]在镀铂的碳网上电化学合成PDAN并固定葡萄糖氧化酶制备了葡萄糖传感器。电极表面致密的PDAN消除了抗坏血酸和尿酸的干扰,同时也阻止了血清中的蛋白质进入酶层引起电极的腐败现象,由PDAN对酶包裹使其空间结构得以稳定,所以电

极的稳定性得以提高。Cooper^[49]认为 PDAN 电极的性能比 PPY 电极的性能好。Palmisano^[50]使用 PDAN 修饰电极,此电极具有良好的响应特性,不仅消除了内生物质的干扰,也消除了外生物质的干扰。Zhang^[51]、Ihab^[52]傅谊等^[53]也制备了用 PDAN 修饰的传感器。Losito^[54]还制备了 PYY 和 PDAN 双膜电极,电极具有良好的响应,且响应时间短,Zhang^[51]等还在铂化的玻碳电极上电生聚邻氨基苯酚,所制备的膜具有大的表面积和好的孔隙特性,使酶的固载量加大且稳定性提高,电极具有高灵敏度和稳定性,电极具有好的抗干扰腐败能力,同时证明用循环伏安法制备的膜较恒电位法制备的膜致密且具有更好的消除干扰的能力。

由以上的分析可以看出,生物电化学传感器性能的提高和改善非常大地依赖于高分子材料的使用,今后生物电化学传感器响应特性的进一步提高也将依赖于聚合物材料的使用。同样,生物电化学传感器的血液相容性和组织相容性的提高以及多样化也要有多种多样的高分子材料来支持。

5 参考文献

- 1 Marthy A S N·Indian J Chem,1992,31 A Aug:633
- 2 Ilana R-M, Judith R·Biosensors & Bioelectronics,1993,8:315
- 3 Gulce H, Ozyoruk H, et al·J Electroanal Chem,1995,394:63
- 4 Chi Q, Dong S·Anal Chim Acta,1995,310:429
- 5 Hale P D, Inagaki T, et al·Anal Chim Acta,1990,228:31
- 6 Hale P D, Boguslavsky L I, et al·Anal Chem,1991,63(7):677
- 7 Kondo T, Takechi M, et al·J Electroanal Chem,1995,381:203
- 8 Boguslavsky L, Kalash H, et al·Anal Chem Acta,1995,311:15
- 9 Degani Y, Heller A·JACS,1989,111:2357
- 10 Pishko M V, Katakis I, et al·Angew Chem Int Ed Engl,1990,29(1):82
- 11 Pishko M V, Michael A C·Anal Chem,1991,63(20):2268
- 12 Gregg B A, Heller A·Anal Chem,1990,62(3):258
- 13 Rajagopalan R, Aoki A, et al·J Phys Chem,1996,100:3719
- 14 Inagaki T, Lee H S, et al·Macromolecules,1989,22(12):4641
- 15 Katz E, et al·J Electroanal Chem,1993,354:129
- 16 Cooper J M, Greenough K R, et al·J Electroanal Chem,1993,347:267
- 17 Gorton L, Karan H I, et al·Anal Chim Acta,1990,228:23
- 18 Wang J, Golden T·Anal Chem,1989,61(13):1379
- 19 纪学峰,章咏华·分析化学,1993,21(6):625
- 20 Wang J, Wu H·J Electroanal Chem,1995,395:287
- 21 Sun C, Luan C, et al·Chem Res in Chinese Univ,1995,11(4):280
- 22 Pan S, Arnold M A·Talanta,1996,43:1157
- 23 Christin I M, Treloar P H, et al·Anal Chim Acta,1992,269:65
- 24 Pan S, Arnold M A·Anal Chim Acta,1993,283:663
- 25 Creager S E, Olsen K G·Anal Chim Acta,1995,307:277
- 26 Rejikumar S, Devi S·J Appl Polym Sci,1995,55:871
- 27 Bowers L D·Anal Chem,1986,58(4):513A~530A
- 28 Hall C E, Hall E A H·Anal Chim Acta,1993,281:645
- 29 钱国强,南开大学博士论文,1996,6
- 30 Wen J, Bier F·Biosensors and Bioelectronics,1995,10:823
- 31 Doretto L, Ferrara D·Biosensors and Bioelectronics,1996,11(4):365
- 32 Gunasingham H, Tan C-H·Anal Chim Acta,1990,234:321

- 33 Shindillis A L, Makower A, et al. *Sensors and Actuators*, 1995, B28:109
- 34 Hendji A M N, Jaffrezic- $\neg$ nant N, et al. *Anal Chim Acta*, 1993, 281:3
- 35 Chemnitiu G C, Susuki M, et al. *Anal Chim Acta*, 1992, 263:93
- 36 Foulds N C, Lowe C R. *J Chem Soc. Faraday Trans. I*, 1986, 83:1259
- 37 Yamato H, Ohwa M, et al. *Anal Chem*, 1995, 67:2776
- 38 Warriner K, Higson S, et al. *Biosensors and Bioelectronics*, 1996, 11(6/7):615
- 39 Umana M, Waller J. *Anal Chem*, 1986, 58:2979
- 40 Yamato H, Ohwa M, et al. *J Electroanal Chem*, 1995, 397:163
- 41 Tamiya E, Karube I. *Sensors and Actuators*, 1989, 18:297~307
- 42 Cai C X, Ju H X, et al. *Chem Res in Chinese Univ*, 1995, 11(2):163
- 43 Cooper J M, Foreman P L. *J Electroanal Chem*, 1995, 388:143
- 44 Karyakin A A, Mactsev I A, et al. *J Electroanal Chem*, 1996, 402:217
- 45 Cooper J C, Hammerle M, et al. *Biosensors and Bioelectronics*, 1993, 8:65
- 46 Cho J H, Shin M C, et al. *Sensors and Actuators*, 1996, B30:137
- 47 穆绍林, 薛怀国. *化学学报*, 1995, 53:521
- 48 Sasso S V, et al. *Anal Chem*, 1990, 62:1111~1117
- 49 Cooper J M, Foreman P L, et al. *J Electroanal Chem*, 1995, 388:143
- 50 Palmisano F, Guerrieri A, et al. *Anal Chem*, 1995, 67:1005
- 51 Zhang Z, Liu H, et al. *Anal Chem*, 1996, 68(9):1632
- 52 Ihab A $\neg$ H, Atanasov P, et al. *Anal Chim Acta*, 1995, 313:45
- 53 付谊, 马建标等. *化学传感器*, 1997, 2:128
- 54 Losito I, Zambonin C G. *J Electroanal Chem*, 1996, 410:181

Polymer Materials Used in Electrochemical Biosensors

Wang Jixiao, Ma Jianbiao, He Binglin

(*The State Key Laboratory of Functional Polymer Materials for Adsorption and Separation, Institute of Polymer Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071*)

Summary Polymer materials used in electrochemical biosensors were reviewed with 54 references. These materials include polymeric mediators, inert polymer membrane, materials used as supports for the immobilization of enzymes and materials generated electrochemically. Furthermore, it is pointed out that the improvement of the biosensor will depend on the development of polymeric materials.

Key words Sensor, Polymeric materials, Mediators, Immobilization of enzyme