

一种新型无酶电流型葡萄糖生物传感器

林丞 熊兆贤 薛昊 陈淑娴 邱虹
(厦门大学材料学院 福建厦门 361005)

摘要: 采用电聚合过氧化聚吡咯(Ox-PPy)于铅笔芯电极(PGE)并将酞菁钴(CoPc)对其修饰,制作了一种新型无酶电流型葡萄糖生物传感器。实验结果表明:在优化条件下,传感器的灵敏度为 $6.42 \mu\text{A}/(\text{mmol}/\text{L})$,线性范围 $0 \sim 10 \text{ mmol}/\text{L}$,线性相关度 $R=0.9929$,响应时间小于 10 s ,最低检测限为 $70.1 \mu\text{mol}/\text{L}$ 。该传感器具有较高的灵敏度、较好的稳定性和一定的抗干扰能力。

关键词: 生物传感器;无酶;电流型;葡萄糖;酞菁钴;过氧化聚吡咯

中图分类号: TP212 文献标识码: A 文章编号: 1002-1841(2011)02-0004-02

Novel Non-enzyme Amperometric Biosensor for Glucose Determination

LIN Cheng, XIONG Zhao-xian, XUE Hao, CHEN Shu-xian, QIU Hong
(College of Materials, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: A non-enzyme amperometric biosensor, based on electropolymerization of overoxidized polypyrrole onto pencil graphite electrode (PGE) and modified with Cobalt(II) phthalocyanine was fabricated. The result showed that under optimal conditions, the sensitivity of the biosensor was $6.42 \mu\text{A}/(\text{mmol}/\text{L})$, with a wide linear range from 0 to $10 \text{ mmol}/\text{L}$ (a correlation coefficient of 0.9929). The response time was about 7 s and calculated detection limit was $70.1 \mu\text{mol}/\text{L}$. The resulting biosensor showed high sensitivity, good long-term stability and a certain anti-interference ability.

Key words: non-enzyme; amperometric; biosensor; Cobalt(II) phthalocyanine; overoxidized polypyrrole

0 引言

基于葡萄糖氧化酶生物传感器的灵敏度、稳定性和重复性,在制备、储存和使用过程中,常受到环境影响^[1]。纳米管、纳米颗粒和金属酞菁的修饰电极已被用于无酶生物传感器的研究^[2-6]。金属酞菁具有良好的电催化性能,可氧化普通的化学物质,如半胱氨酸、亚硝酸盐和葡萄糖^[4-10]等。基于酞菁钴四磺酸钠修饰电极的差分脉冲伏安法型葡萄糖生物传感器已有报道^[11]。

研究采用电聚合过氧化聚吡咯(Ox-PPy)于铅笔芯石墨电极(PGE),并将酞菁钴(CoPc)对其修饰,成功制作了一种新型无酶电流型葡萄糖生物传感器。该传感器可直接电化学氧化葡萄糖,通过氧化电流的变化测量葡萄糖的浓度。

1 实验

材料: 吡咯(Py, CP),使用前经过常压蒸馏提纯;对甲苯磺酸钠(AR);N,N-二甲基甲酰胺(DMF, AR); $\Phi 0.5 \text{ mm}$ 2B 铅笔芯(PGE);氢氧化钠(AR)和酞菁钴(sigma)。

仪器: EG&G263 综合电化学工作站,philips- FEI XL-30 环境扫描电子显微镜。

方法: 以铅笔芯电极作为工作电极,铂片作为辅助电极,饱和甘汞电极作为参比电极,对甲苯磺酸钠作为支持电解质,于 0.7 V 恒电位,经过一定时间后电沉积聚吡咯(PPy)于PGE表面。取出用去离子水洗,然后于 $0.4 \sim 0.8 \text{ V}$ 对PPy进行过氧化处理,再浸入一定浓度的CoPc DMF溶液中。经过一定时间待

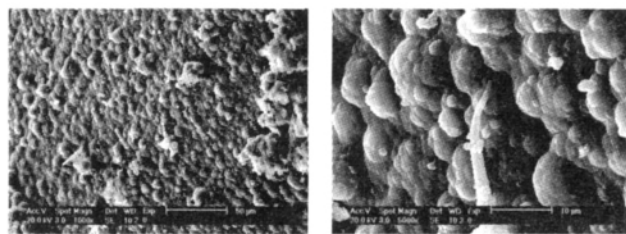
电极吸附CoPc后,取出洗净,得到传感器样品。

测试: 底液为 $0.2 \text{ mol}/\text{L}$ NaOH溶液,测试电位为 0.4 V 。实验用水均为去离子水。实验温度为 $(25 \pm 2) \text{ }^\circ\text{C}$ 。

2 结果与讨论

2.1 过氧化聚吡咯/铅笔芯电极(Ox-PPy/PGE)的微观形貌

为了考察传感器的表面微观形貌,采用扫描电镜(SEM)观察Ox-PPy/PGE形态,如图1所示,可见其表面多为粗糙的菜团状结构,另有一部分微触角形貌。这类形貌可以有效提高传感器的表面积,利于CoPc的吸附,提高传感器的灵敏度。



(a) 1000× (b) 5000×

图1 传感器的扫描电镜照片

2.2 不同PPy聚合时间对传感器响应电流的影响

为了优化制备条件,考察了不同PPy聚合时间(10 min、30 min、60 min、90 min和120 min)对葡萄糖传感器响应电流的影响(图2)。结果表明当聚合时间为 $10 \sim 60 \text{ min}$ 时,响应电流随着聚合时间的增加而增大。当聚合时间为 60 min 时,电流对 $5 \sim 30 \text{ mmol}/\text{L}$ 葡萄糖响应最大;但当聚合时间进一步增大后,响应电流随聚合时间的延长而降低。这可能是由于聚合时间增加会导致PPy薄膜厚度增大, $60 \sim 120 \text{ min}$ PPy增厚可以提高其

对 CoPc 的吸附,有利于提高传感器直接催化葡萄糖分子的能力;而当聚合时间进一步增加,PPy 膜变得太厚,传感器的导电性因此降低,因而传感器的响应电流随着下降。

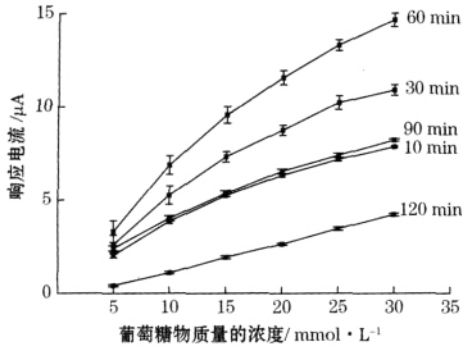


图 2 不同 PPy 聚合时间制作的传感器响应电流曲线

2.3 不同摩尔浓度的 NaOH 对传感器响应电流的影响

不同碱性条件对酞菁钴直接氧化葡萄糖有明显影响。随着 NaOH 摩尔浓度的增大,传感器的响应电流逐步增大。当 NaOH 浓度达到 0.2 mol/L 时,传感器的响应电流最大,如图 3 所示。此后对传感器响应电流的测试均在 0.2 mol/L NaOH 溶液中进行。

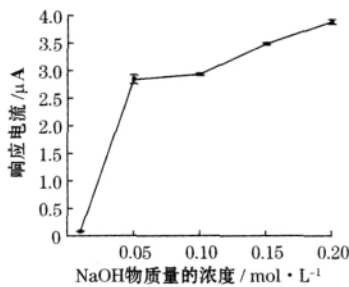


图 3 不同摩尔浓度的 NaOH 对传感器响应电流的影响

2.4 传感器的灵敏度和线性

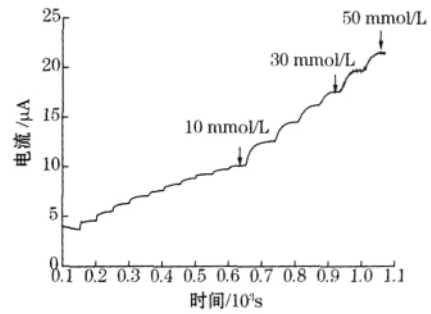
在优化条件下,连续添加一定葡萄糖时传感器的动态响应电流曲线如图 4 (a) 所示,其测试底液为 0.2 mol/L NaOH,测试电位为 0.4 V。在 0~50 mmol/L 葡萄糖范围内电流随着葡萄糖浓度的增加而增大,这表明传感器对于葡萄糖有很宽的响应范围。但当浓度大于 10 mmol/L 后,响应电流的增幅减少,这表明传感器对于高浓度的葡萄糖响应电流相对低浓度的葡萄糖较低。该传感器的响应时间约为 7 s。从图 4 (b) 可以看出传感器的线性范围为 0~10 mmol/L,灵敏度为 6.42 μA/(mmol/L) ($R=0.9929$),测试限为 70.1 μmol/L;而采用二项式拟合,则传感器(采用软件进行二项式数模转换显示)的测量范围扩展为 0~50 mmol/L, $R^2=0.9962$ 。

2.5 传感器的时间稳定性和抗干扰性

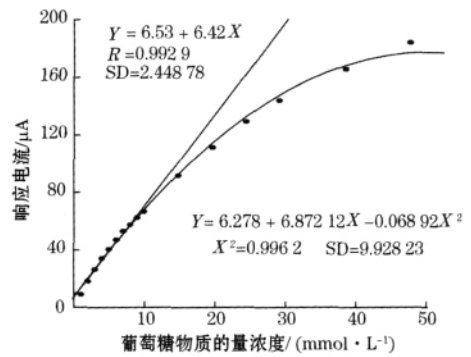
该研究对传感器的稳定性进行了实验,结果如图 5 所示。传感器每 7 天测量 10 次 5 mmol/L 葡萄糖的响应电流。结果表明,传感器 28 天后仍然保持 92.0% 的响应电流。可能是由于部分过氧化聚吡咯在储存过程中脱落导致其降低 8.0% 电流。

实验考察了较为常见的干扰物:果糖、脲、抗坏血酸和尿酸对传感器响应电流的影响,如图 6 所示。由图 6 可以看出,果

糖和脲对传感器没有影响,但 0.1 mmol/L 抗坏血酸有一定影响,干扰电流占葡萄糖响应电流的 11%;而 0.2 mmol/L 尿酸影响较大,干扰电流占葡萄糖响应电流的 39.9%。



(a) 连续添加葡萄糖时传感器的动态响应电流曲线



(b) 传感器的线性校正曲线

图 4 传感器动态响应电流曲线和线性校正曲线

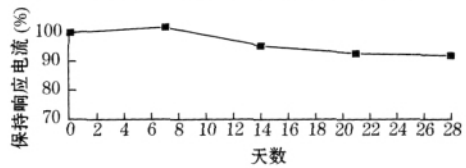


图 5 传感器响应电流随时间的变化曲线

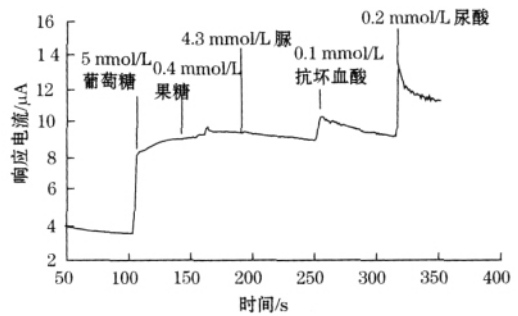


图 6 传感器的抗干扰测试曲线

3 结束语

研究制作了一种基于酞菁钴修饰过氧化聚吡咯的无酶电流型葡萄糖生物传感器。该传感器可在 0.4 V 的低电位条件下直接氧化葡萄糖分子得到响应电流并测试其浓度。传感器具有较好的稳定性,在 28 天后保持 92% 的响应电流;该传感器对于果糖和脲有较好的抗干扰能力。

(下转第 8 页)

率,使得泵浦激光与探测激光之间频移量为10.875 GHz,利用脉冲发生器将探测光脉冲时间调为2 μ s,采用示波器观察输出电压,示波器设置为横向每格10 μ s,纵向每格100 mV,显示结果如图5所示。

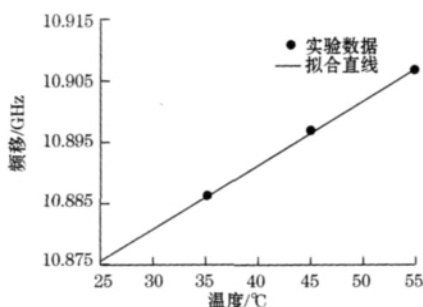


图3 不同温度对应布里渊频谱峰值数据拟合

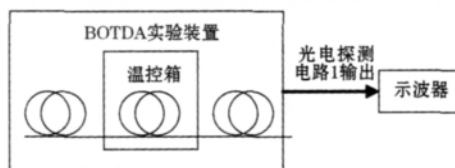


图4 分布式光纤传感试验示意图

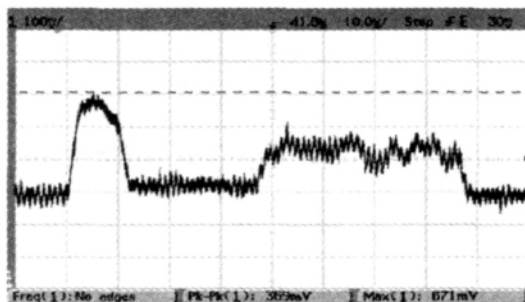


图5 脉冲光脉宽2 μ s对应的示波器显示电压波形

由于BOTDA实验装置是基于损耗法设计的,即发生受激布里渊散射时探测到的光功率会减小,且所设计“光电探测放大电路1”的输出与输入成反比,即输入的光功率越小,相应输出电压越大。因此由图5波形可以看出第一段及第三段光纤中发生了受激布里渊散射,中间段处于温控箱内未发生受激布里渊散射。

参考文献:

- [1] 尹成群,曹冬,何玉钧. 分布式光纤布里渊温度传感系统的试验研究. 传感器与微系统, 2006, 25(8): 15-17.
- [2] NARUSE H, TATEDA M, OHNO H, et al. Linear strain distribution dependence of the Brillouin gain spectrum. IEEE WC4, 2002: 309-311.
- [3] YENIAY A, DELAUAUX J M, TOULOUSE J. Spontaneous and stimulated Brillouin scattering gain spectra in optical fibers. Lightwave Tech., 2002, 20(8): 1425-1432.
- [4] LOAYSSA A, BENITO D, GARDE M J. Applications of optical carrier Brillouin processing in microwave photonics. Opt. Fiber Tech., 2002, 8(8): 24-42.
- [5] 宋牟平. 微波光电调制的布里渊散射分布式光纤传感技术. 光学学报, 2004, 24(8): 1111-1114.
- [6] BAO X, DHLIWAYO J, HERON N, et al. Experimental and theoretical studies on a distributed temperature sensor based on Brillouin scattering. Lightwave Technology, 1995, 1(7): 1340-1348.
- [7] BROWN A W, COLPITTS B G, BROWN K. Distributed sensor based on dark-pulse Brillouin scattering. IEEE Photon. Technol. Lett., 2005, 17(7): 1501-1503.

作者简介: 黄军芬(1975—), 讲师, 博士, 主要研究领域为分布式光纤传感技术及光纤激光焊缝跟踪技术。

E-mail: huangjunfen@bipt.edu.cn

(上接第5页)

参考文献:

- [1] 孙键, 张先恩, 张直平. 便携式智能血糖测试仪的研制. 仪器仪表与传感器, 1998, (6): 17-20. [2] WEN Ye J-S, ZHANG Y, XU W D, et al. Electrochemical Biosensing Platforms Using Phthalocyanine-Functionalized Carbon Nanotube Electrode. Electroanalysis, 2005, 17: 89-96.
- [3] XU Q, ZHAO Y, XU Z, et al. Preparation of functionalized copper nanoparticles and fabrication of a glucose sensor. Sens. Actuators B, 2006, 114: 379-386.
- [4] BARRERA C, ZHUKOV I, VILLAGRA E, et al. Trends in reactivity of unsubstituted and substituted cobalt-phthalocyanines for the electrocatalysis of glucose oxidation. Electroanal. Chem, 2006, 589: 212-218.
- [5] MAREE S, NYONKONG T. Electrocatalytic behavior of substituted cobalt phthalocyanines towards the oxidation of cysteine. Electroanal. Chem, 2000, 492: 120-127.
- [6] LUZ, R C S, MOREIRA A B, DAMOS F S, et al. Cobalt tetrasulphonated phthalocyanine immobilized on poly-L-lysine film onto glassy carbon electrode as amperometric sensor for cysteine. Pharm. Biomed. Anal., 2006, 42: 184-191.

- [7] KUHNLINE C D, GANDEL M G, HULVEY M K, et al. Detecting thiols in a microchip device using micromolded carbon ink electrodes modified with cobalt phthalocyanine. Analyst, 2006, 131: 202-207.
- [8] SANTOS W J R, SOUSA A L, LUZ R C S, et al. Determination of nitrite in food samples by anodic voltammetry using a modified electrode. Talanta, 2006, 70: 588-594.
- [9] MATEMADOMBO F, NYONKONG T. Characterization of self-assembled monolayers of iron and cobalt octaalkylthiosubstituted phthalocyanines and their use in nitrite electrocatalytic oxidation. Electrochim. Acta, 2007, 52: 6856-6864.
- [10] SANTOSS L M, BALDWIN R P. Liquid chromatography/electrochemical detection of carbohydrates at a cobalt phthalocyanine containing chemically modified electrode. Anal. Chem., 1987, 59: 1766-1770.
- [11] LEVENT OZCANA Y H T. Non-enzymatic glucose biosensor based on overoxidized polypyrrole nanofiber electrode modified with cobalt (II) phthalocyanine tetrasulfonate. Biosensors and Bioelectronics, 2008, 24(4): 512-517.

作者简介: 林丞(1981—), 博士研究生, 主要从事生物传感器和生物材料实验研究。E-mail: linceng_xmu@qq.com