

红外光谱对苯胺的电聚合 及其酶固定分析*

吴霞琴 杨海峰 张 垚

提 要 应用红外光谱和扫描电镜配合进行苯胺在铂金电极上的电聚合及其葡萄糖氧化酶固定化实验条件的探索. 实验结果表明, 高氯酸根阴离子掺杂的膜经过阴极化去杂后再固定酶, 可以提高电极对葡萄糖响应的灵敏度和稳定性.

关键词 红外光谱; 扫描电镜; 聚苯胺; 葡萄糖传感器

中图法分类号 O 646. 54

0 引 言

生物传感器制备过程中酶的固定化是关键性的一步, 以苯胺、吡咯这类导电高分子聚合物为载体实施酶在电极上的固定已有许多报道^[1-3]. 作者在几种中性介质中进行苯胺的电化学聚合的实验结果表明, 不同的阴离子掺杂对聚苯胺膜的结构影响很大^[4-6]. 其中, 以高氯酸钠作介质, 即掺杂了高氯酸根阴离子的聚苯胺膜, 修饰到石英晶体微天平(QCA)的金电极上构成的气体传感器, 对乙醇、苯和氨等有很好的响应^[7]. 本文则报道了以阴离子掺杂理论指导下在铂电极上进行苯胺的电化学聚合及葡萄糖氧化酶的固定, 并从红外光谱和扫描电镜的测试结果讨论了苯胺电化学聚合的时间、高氯酸钠介质的浓度等实验条件对电极的响应特性的影响.

1 实验部分

1.1 实验仪器及试剂

苯胺的电化学聚合用DGS-292型恒电位仪(上海雷磁仪器厂)、DCG-1多功能程序给定仪和X-Y记录仪(上海自动化仪表二厂)进行.

电解池为常规的三电极体系. 铂片作研究电极(5mm × 5mm)和辅助电极(8mm ×

* 上海市教委科学技术发展基金资助项目

收稿日期: 1998-09-02

第一作者吴霞琴, 女, 副教授, 上海师范大学生命和环境科学学院, 上海, 200234

10mm)、饱和甘汞电极作参比电极(以下文中所示电位均相对于饱和甘汞电极的电位)。研究电极用于电聚合之前按文献[6]所述方法进行预处理。

红外光谱在美国Mattson公司PK 60000 FTIR红外光谱仪上进行测试;扫描电镜的测试在日本长崎大学工学部江头诚教授的研究室进行。

苯胺使用前蒸馏至无色透明;葡萄糖氧化酶为进口产品(56U/mg, TOYOBO Co. Ltd, OSAKA JAPAN)其它试剂均为分析纯。研究溶液用二次蒸馏水配制。

1.2 实验方法

1.2.1 葡萄糖传感器的制作及性能测试

首先在含 NaClO_4 (1mol/L)的苯胺(0.1mol/L)溶液中,于1.4V下进行聚合。然后,将此电极移至 HAc-NaAc 缓冲溶液中(pH=5.0),于-1.0V的电位下进行阴极化去杂。最后,在含2mg/mL的葡萄糖氧化酶(GOD)溶液中(pH=6.0),于0.8V的电位下进行GOD的固定(10min)。制得的电极对不同浓度葡萄糖溶液的响应则在0.6V, 25℃恒温下、三电极系统的电解池中进行测试。

1.2.2 红外光谱图测试

本实验为非原位的测试。即将电极上聚合的苯胺膜及其阴极化去杂后的膜和固定了葡萄糖氧化酶的聚苯胺膜经清洗、自然干燥后,小心地从电极上刮下来,分别进行红外光谱图的测试。

2 结果与讨论

2.1 聚合时间对聚苯胺膜结构的影响

在苯胺膜的制备过程中,电化学聚合时间与膜的结构、性质有很大的关系,最后会影响电极对葡萄糖的响应。

实验中分别试验了电聚合30min和60min两种情况。结果表明,以60min的聚合时间为宜。从电聚合实验中跟踪记录的计时电流图上可以看到,聚合一开始时有一很大的聚合电流,这时相对应的在铂电极的表面可以看到形成了深棕色的聚苯胺膜,随后一段时间内,聚合电流趋于一稳定值。此后,又出现了较大的电流。这是由于苯胺膜聚合到一定的厚度会发生开裂,致使露裸的电极上又开始苯胺的聚合,图1是如开花馒头样的聚苯胺膜的扫描电镜图。在含 NaClO_4 (1mol/L)的苯胺(0.1mol/L)溶液中,于1.4V下进行聚合,经不同的聚合时间制得的聚苯胺膜固定葡萄糖氧化酶后对10mmol/L葡萄糖的响应特性列于表1。

表1 不同电聚合时间对电极响应电流的影响

聚合时间 (min)	即时测定 (μA)	120 h 后 (μA)
60	36.3	39.1
30	12.1	7.5

表中数据说明,在其它条件不变的情况下,增加聚合时间,响应电流明显增大,且稳定性也比较好。显然,这与苯胺的结构有很大的关系。



图 1 铂电极上聚苯胺膜(25次循环后)的扫描电镜

聚合液: 0.1 mol/L 苯胺, 1 mol/L KCl (pH=6.86); 扫描范围: 0~1.4V; 扫描速度: 10mV/cm

2.2 苯胺电聚合时高氯酸钠介质浓度的影响

当以高氯酸钠为介质进行苯胺的电聚合时,能形成多孔穴的膜^[7],有利于葡萄糖氧化酶的固定.不同浓度的 NaClO_4 介质中聚合60min后制得的电极对10mmol/L葡萄糖的响应电流分别列于表2.

表 2 不同介质浓度对电极响应电流的影响

NaClO_4 (mol·L ⁻¹)	即时测定 (μA)	90小时后 (μA)
0.5	23	22.8
1.0	36.3	41.2

表2的数据表明,增大 NaClO_4 的浓度,能提高响应电流.然而,实验中也发现,过高的介质浓度会使膜内空穴增多的同时对膜结构产生破坏作用,实验中观察到过于疏松的膜会从电极上脱落下来,不能进一步用于GOD的固定.

2.3 红外光谱对聚苯胺膜结构的分析

本实验中所谓的应用阴离子掺杂理论进行GOD的固定方法,就是在固定GOD之前,先将聚苯胺膜置于缓冲溶液中,于负电位下进行阴极化去杂,使苯胺膜中掺杂的阴离子转移到溶液中,从而,在膜中造成更多可供酶固定用的空穴,以提高电极对葡萄糖响应的灵敏度和固定酶的稳定性.作者应用红外光谱图的测试对每一阶段的实验结果进行了验证.

图2是在1mol·L⁻¹ NaClO_4 介质中,1.4V下电聚合60min得到的苯胺膜的红外光谱图.图3是经-1.0V阴极化10min去杂后的聚苯胺膜的红外光谱图.

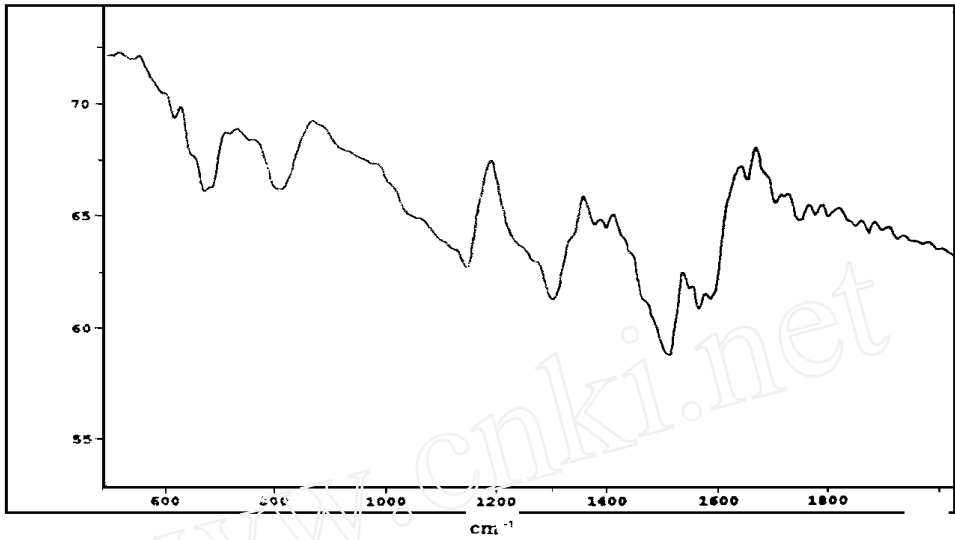


图2 NaClO₄介质中聚合的苯胺膜的红外光谱图

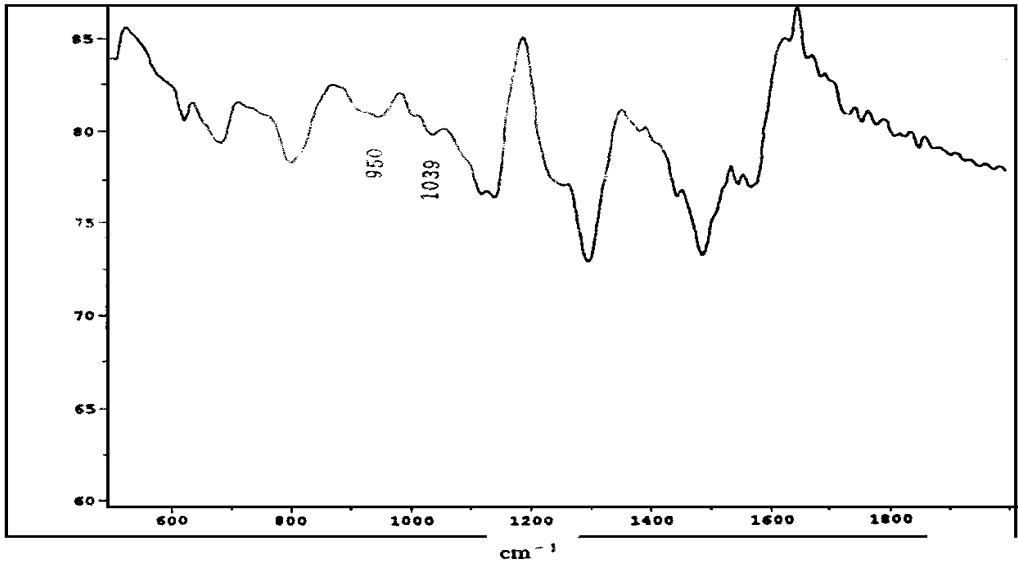


图3 经阴极还原后聚苯胺膜的红外光谱图

图4则是在图3所示的膜中固定了GOD(0.8V下固定10min)以后测得的红外光谱图.图2中 950cm^{-1} 和 1039cm^{-1} 处有 ClO_4^- 离子的特征峰显示,表明苯胺膜中确有该离子的掺杂.但在图3中,上述 ClO_4^- 离子的特征峰几乎消失,说明通过阴极化去杂后, ClO_4^- 离子已被逐出苯胺膜而留下空穴.图4中 1095cm^{-1} 处的特征峰则表明GOD已固定到了膜中.红外光谱图可以有力地说明利用阴离子掺杂以及本实验的操作条件是行之有效的.

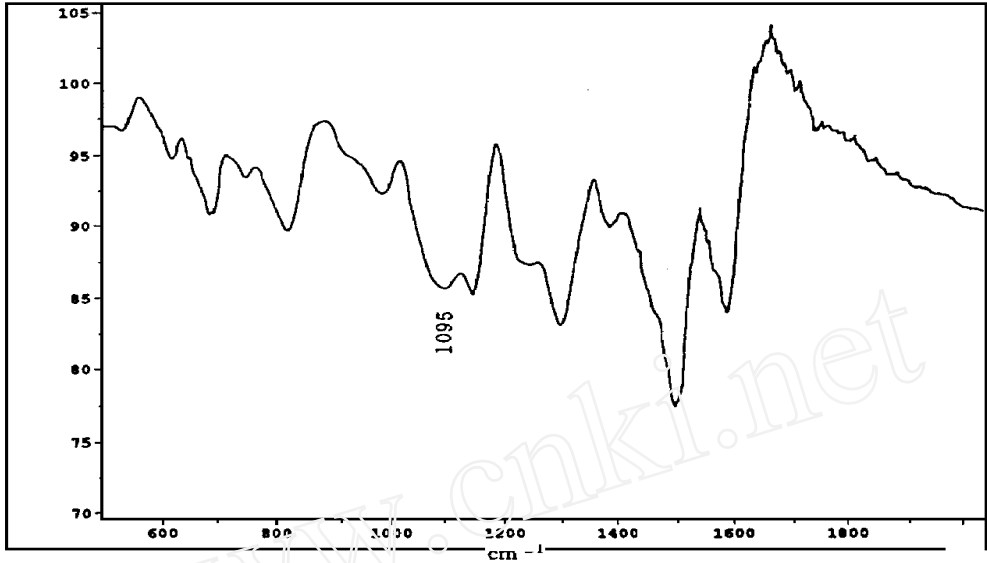


图4 固定 GOD 后聚苯胺膜的红外光谱图

图5是按下述方法制备的电极对葡萄糖的响应曲线。苯胺的电聚合在含 $1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{NaClO}_4$ 的苯胺($0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)溶液中,于 1.4V 下聚合 1h 。然后,将此电极移至 HAc-NaAc 缓冲溶液中($\text{pH}=5.0$),于 -1.0V 的电位下阴极化 30min ,达到去杂目的。最后,在含 2mg/mL 的葡萄糖氧化酶(GOD)溶液中($\text{pH}=6.0$),于 0.8V 的电位下进行GOD的固定(10min)。

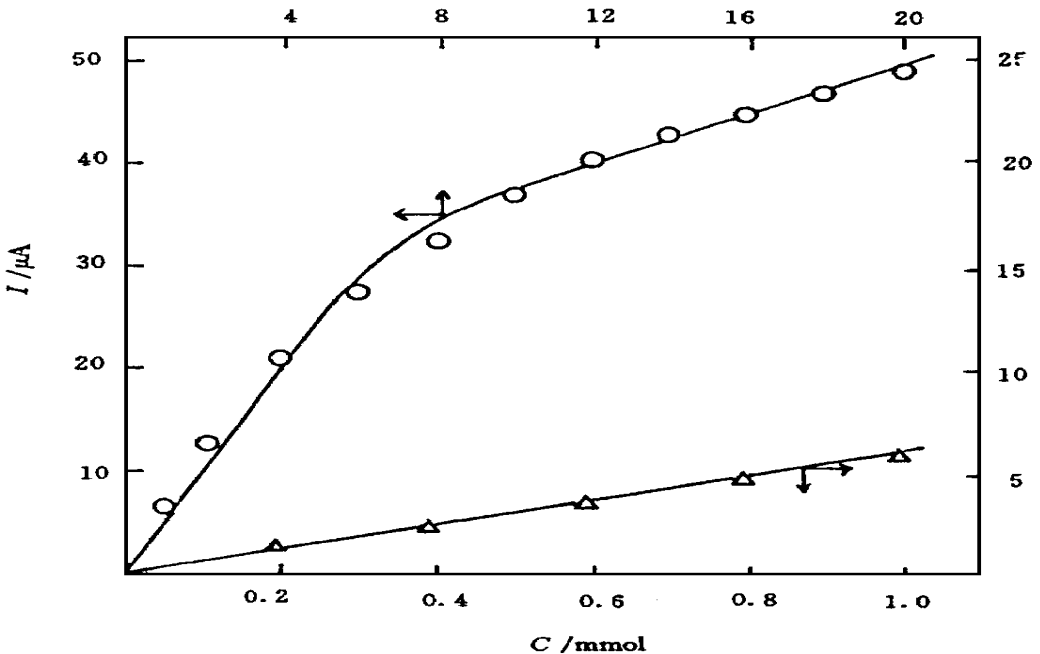


图5 PAN/GOD 电极对葡萄糖的响应曲线

该电极的线性响应范围为 $0.1 \sim 8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 其他一些系统的电极性能测试工作另文报道.

冯昌东博士在日本长崎大学留学期间曾给予了扫描电镜测试技术的指导, 在此致以诚挚的谢意.

参 考 文 献

- 1 Shinohara H, Chiba T, Aizawa M. Enzyme microsensor for glucose with an electrochemically synthesized enzyme polyaniline film, *Sensors and Actuators*, 1988, 13: 79
- 2 Mu Shaolin, Xue Huaiguo, Qian Bidong. Bioelectrochemical responses of the polyaniline glucose oxidase electrode. *J Electroanal Chem*, 1991, 304: 7
- 3 Foulds N C, Lowe C R. Enzyme entrapment in electrically conducting polymers immobilization of glucose oxidase polypyrrole and its application in amperometric glucose sensors. *J Chem. Soc, Faraday Trans I*, 1986, 82: 1259
- 4 吴霞琴, 曹大均, 蒋慧雯. 苯胺的电聚合及其酶固定化条件的研究. *上海师范大学学报*, 1994, 23(2): 159
- 5 曹大均, 吴霞琴, 胡自强. 苯胺电聚合时阴离子掺杂效应研究. *化学传感器*, 1994, 14: 257
- 6 曹大均, 吴霞琴, 胡自强等. 聚苯胺修饰电极研究. *上海师范大学学报*, 1994, 23(3): 57
- 7 吴霞琴, 高尾雄二, 江头诚. 聚苯胺修饰的石英晶体微天平气体传感器. *电化学*, 1997, 3: 330

Analysis of the Electrochemical Polymerization of Aniline and Immobilization of Glucose Oxidase by IR Spectra

Wu Xiaqin Yang Haifeng Zhang Yao

(College of Life and Environment Science)

Abstract The experimental conditions for electrochemical polymerization of Aniline and immobilization of glucose oxidase (GOD) at platinum electrode were investigated by the IR spectra and scanning electronic microscopy (SEM). The results demonstrate that the responding sensitivity to glucose of the present electrode and its stability were improved by using the ClO_4^- anion doped to electrochemically polymerized polyaniline film.

Key words IR spectra; SEM; Polyaniline; Glucose sensor