

- 1986.
- 8 Anderson T L, Olson G E, Hoffman L H. Stage-specific alterations in the apical membrane glycoproteins of en-

dometrial epithelial cells related to implantation in rabbits. *Biol Reprod*, 1986; 34:701

以 AQ 膜中沉积铂的玻碳电极为基底的葡萄糖传感器*

纪学锋** 章咏华***

(中国科学院长春应用化学研究所电分析化学开放研究实验室, 长春 130022)

关键词 Eastman AQ-55, 化学修饰电极, 葡萄糖氧化酶, 电流式传感器

生物传感器所面临的两个主要问题就是电活性物质对测定的干扰和生物样品中大分子物质对电极的污染。人们很早就开始研究解决这两个问题的方法。使用透析膜可以一定程度地解决上述问题, 但这种传感器的响应时间太长。从80年代起, 人们开始研究使用化学修饰电极来解决干扰和污染的问题, 先后研制了以醋酸纤维素膜^[1]、聚邻苯二胺膜^[2]、Nafion 膜^[3-6]修饰电极为基底的葡萄糖传感器。Eastman AQ 是一种全氟代磺酯, 具有阳离子交换性质, 易溶于水, 而干燥后不再溶于水。利用这个性质, J. Wang 用 AQ-55 在铂电极表面用一步法固定了葡萄糖氧化酶, 在 +0.7V (vs. Ag/AgCl) 下, AQ 膜可以使干扰降低到最小的程度^[7]。Hale 等在碳糊葡萄糖氧化酶电极表面涂一层 AQ-29D 膜, 用来消除干扰和防止酶的流失^[8]。

本文描述一种以 Eastman AQ-55 膜修饰电极为基底的葡萄糖传感器。该传感器可以大大地降低测定时电活性物质的干扰, 同时电极具有良好的响应特性和使用寿命, 是一种性能良好的葡萄糖传感器。

1 材料与方法

1.1 仪器

DH-1型恒电位仪(吉林省龙井器材厂), X-Y 记录仪(Series 60 000, 沈阳精密仪器厂), pHs-3型酸度计(上海第二分析仪器厂), 超低恒温槽(国产), 电解池由三电极体系构成: 酶电极、铂对极, 银-氯化银参比电极。

1.2 试剂

葡萄糖氧化酶(GOD)(E.C. 1.1.3.4, 23500U/g,

Sigma); Eastman AQ-55 (美国 Eastman Kodak 公司), 配成1%水溶液; 葡萄糖、尿酸、抗坏血酸都是生化试剂, 用 pH7.0 的 0.1mol/L 的 $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$ 缓冲溶液配成 0.5mol/L 的标准溶液。以上各物质和溶液均置冰箱中保存。其余各种物质都是分析纯, 所有溶液都用二次蒸馏水配制。

1.3 实验方法

1.3.1 AQ/pt/GC 电极的制备 取直径为 3mm 的玻碳(GC)电极, 用砂纸磨平, 然后分别在 1 μm , 0.3 μm 的 Al_2O_3 粉末上抛光, 最后分别用丙酮、乙醇、二次蒸馏水在超声清洗器上洗涤、干燥。取 10 μl 1% 的 Eastman AQ-55 水溶液滴于 GC 电极表面, 室温下干燥, 得到涂有 AQ-55 膜的化学修饰电极(CME)。将 AQ 膜 CME, 铂对极, Ag/AgCl 参比电极一起构成三电极体系, 在 3% 的氯铂酸钾水溶液中进行循环电位扫描, 扫描电位 -0.15—+0.7V (vs. Ag/AgCl), 扫描速率 120mV/s, 扫描时间为 10min, 得到 AQ 膜中沉积铂的 CME。该电极在室温下干燥后备用。

1.3.2 GOD/AQ/pt/GC 电极的制备 取 GOD 1mg, BSA (牛血清白蛋白) 2mg, 加 pH7.0 的磷酸盐缓冲液 (0.1mol/L) 200 μl , 使 GOD, BSA 溶解, 再加 12.5% 的戊二醛溶液 30ml, 搅拌, 取此溶液 10 μl 滴于 AQ 膜中沉积铂的 CME 表面, 冰箱中干燥成膜, 然后

*国家自然科学基金资助项目。

**现在天津石化公司研究所工作。

***通讯联系人。

收稿日期: 1992-07-16 修回日期: 1992-11-14

放在磷酸盐缓冲液中保存. 使用前, 酶电极至少要在磷酸缓冲液中浸泡24h.

1.3.3 D-葡萄糖的测定 在10ml 电解池中, 加入 pH7.0 的磷酸缓冲液 (0.1mol/L) 2ml, 将酶电极、铂对极、参比电极一起组成三电极体系, 温度 $18 \pm 0.5^\circ\text{C}$, $E = +0.7\text{V}$ (vs. Ag/AgCl), 测定前向溶液中通空气 20min, 测定时液面上方继续通空气. 在 X-Y 记录仪上记录电流随葡萄糖浓度的变化, 用标准曲线法确定葡萄糖浓度.

2 结果与讨论

2.1 工作条件的确定

2.1.1 工作电位的确定 图1为不同电位下酶电极测定的电流响应. 随着电位的增加, 响应电流随之增加. 当电位达到 $+0.7\text{V}$ (vs. Ag/AgCl) 之后, 电流不再随电位变化, 我们就选择 $+0.7\text{V}$ 为工作电位.

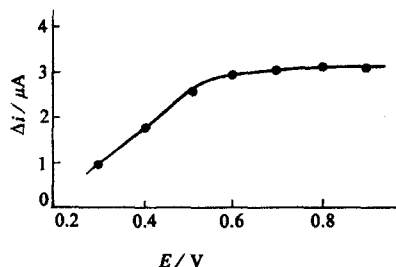


图1 电位对酶电极测定的影响
25℃, $E = +0.7\text{V}$ (vs. Ag/AgCl),
pH7.0, D-葡萄糖浓度为2.5mmol/L

2.1.2 pH 和温度的确定 我们在 pH6.15—8.80 之间考查了 pH 变化对响应电流的影响. 如图2所示, 酶电极测定的最适宜 pH 为 7.0. 戊二醛交联法固

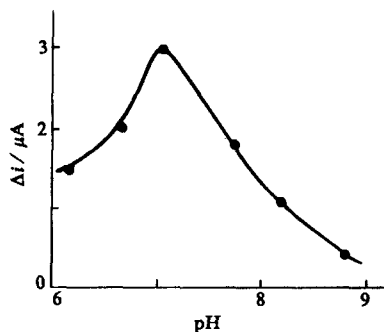


图2 pH 的影响
25℃, $E = +0.7\text{V}$,
D-葡萄糖为2.5mmol/L

定的 GOD, 最大酶活性温度在 38°C ^[9], 而在 20°C 之后电流随温度的变化率很大, 使测定的误差增大, 所以体系的温度选择在 $18 \pm 0.5^\circ\text{C}$, 以提高测定的精度.

2.2 GOD/AQ/pt/GC 电极的性能

2.2.1 AQ/pt/GC 电极的性能 Eastman AQ 膜是一种阳离子交换树脂酯膜, 具有选择渗透性, 它可以允许 H_2O_2 通过, 而阻止带有负电荷的酸根离子 (抗坏血酸, 尿酸) 通过膜^[8], 从而消除电活性物质对测定的干扰. 实验表明: 尿酸、抗坏血酸在 AQ/pt/GC 电极上的相对电流响应小于 7% (以对 H_2O_2 的电流响应为 100%), 说明这种基底电极对 H_2O_2 具有很好的选择性.

2.2.2 GOD/AQ/pt/GC 电极的响应特性 图3为酶电极响应电流和葡萄糖浓度的关系, 可以看到, 在空气饱和的情况下, 测定上限在 15mmol/L 左右, 电流变化率约为 $0.8\mu\text{A} \cdot (\text{mmol/L})^{-1}$. 电极的响应时间 50s 左右.

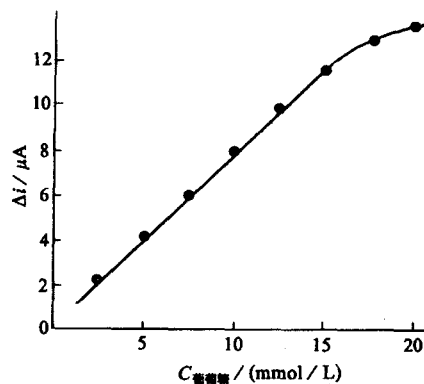


图3 酶电极的响应电流和葡萄糖浓度的关系
18℃, pH7.0, $E = +0.7\text{V}$, 空气饱和

2.2.3 GOD/AQ/pt/GC 电极测定的干扰情况

表1为酶电极测定的干扰情况. 以葡萄糖的响应电流为 100% 计, 抗坏血酸和尿酸的干扰小于 7.3%, 说明酶电极对葡萄糖的选择性非常高.

表1 干扰情况*

底物	相对响应电流/(%)	底物	相对响应电流/(%)
葡萄糖	100	脲	0
抗坏血酸	6.1	谷氨酸	0
尿酸	7.3	色氨酸	0
乳酸	0		

* 18℃, pH7.0, $E = +0.7\text{V}$, 各物质浓度 1mmol/L

2.2.4 GOD/AQ/pt/GC 电极测定的回收率 对已知浓度的葡萄糖进行测定,以标准曲线法对实验值和标准值进行比较.表2表明,5次测定的回收率在97.3%—106%之间,平均回收率为100.7%.

表2 回收率测定¹⁾

<i>n</i>	1	2	3	4	5
实际浓度/(mmol/L)	2.50	5.00	7.50	10.00	12.25
测定浓度/(mmol/L)	2.65	5.05	7.30	9.80	12.65
回收率/(%)	106.0	101.0	97.3	98.0	101.2
平均回收率/(%)	100.7				

1) 18℃, pH6.95, $E = +0.7V$, 空气饱和

2.3 结论

成功地制备了对葡萄糖具有高选择性的以过氧化氢电极为基底的葡萄糖传感器.该传感器具有稳定性好,线性宽、抗干扰能力强的特点,是一种性能优良的电化学传感器.

感谢董绍俊教授和田敏同志对本工作的大力支持.

参 考 文 献

- 1 Sternberg R, Bindra D S, Wilson G S *et al.* Covalent enzyme coupling membranes for glucose sensor development. *Anal Chem*, 1988; **60**:2781
- 2 Sasso S V, Pierce R J, Walla R *et al.* Electropolymerized 1,2-diamobenzene as means to prevent interferences and

fouling and to stabilize immobilized enzyme in electrochemical biosensors. *Anal Chem*, 1990; **62**:1111

- 3 Capella P, Ghasemzadch B, Mitchell K *et al.* Nafion coated carbon fiber electrodes for neurochemical studies in brain tissue. *Electroanalysis*, 1990; **2**:175
- 4 Kristensen E W, Kuhr W G, Wightman R M *et al.* Temporal characterization of perfluorinated ion exchange coated microvoltammetric electrodes for *in vivo* use. *Anal Chem*, 1987; **59**:1752
- 5 Harrison D J, Turner R F B, Baltes H P *et al.* Characterization of prefluorosulfonic acid polymer coted enzyme electrodes and miniaturized integrated potentiostat for glucose analysis in whole blood. *Anal Chem*, 1988; **60**:2002
- 6 Gunasingham H, Tan C B. Platinum-dispersed nafion film modified glassy carbon as an electrocatalytic surface for an amperometric glucose enzyme electrode. *Analyst*, 1989; **114**:695
- 7 Wang J, Wu L H, Lu Z L *et al.* One-step fabrication of glucose sensors based on entrapment of glucose oxidase within poly (estersulfonic acid) cation-exchanger. *Anal Chim Acta*, 1991; **245**:139
- 8 Gorton L, Karan H I, Hale P D *et al.* A glucose electrode based on carbon paste chemical modified with a poly (estersulfonic acid) cation-exchanger. *Anal Chim Acta*, 1990; **228**:23
- 9 冯连玉,车广礼,章咏华等. 钴卟啉修饰碳纤维微葡萄糖传感器的研究. *分析化学*, 1991; **19**:650

红细胞膜骨架蛋白的制备及其形态学观察

方 芳 潘华珍

(中国医学科学院基础医学研究所, 北京 100005)

潘 延

(中国医学科学院药物研究所, 北京 100050)

关键词 膜骨架蛋白, 收缩蛋白, 电镜负染技术

红细胞膜骨架主要由收缩蛋白(spectrin α , β), 肌动蛋白(actin), 还有4.1蛋白和锚蛋白(ankyrin)组成^[1]. 收缩蛋白 α 链与 β 链尾尾相联形成二聚体, 二聚体再扭曲成螺旋状的四聚体, 并通过肌动蛋白, 4.1蛋

白形成二维网状结构, 此网状结构通过锚蛋白(2.1)与内在蛋白相联从而起到支撑红细胞形态的骨架作用.

收稿日期: 1992-06-24

修回日期: 1992-09-25