



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101251506 B

(45) 授权公告日 2011.06.15

(21) 申请号 200810017797.0

(22) 申请日 2008.03.15

(73) 专利权人 西北师范大学

地址 730070 甘肃省兰州市安宁区安宁东路  
967号

(72) 发明人 莫尊理 赵仲丽 史华锋 陈红

(74) 专利代理机构 兰州中科华西专利代理有限公司 62002

代理人 张英荷

(51) Int. Cl.

G01N 27/327(2006.01)

(56) 对比文件

CN 2603389 Y, 2004.02.11, 全文.

US 2007/0114138 A1, 2007.05.24, 全文.

CN 1885020 A, 2006.12.27, 全文.

CN 101140258 A, 2008.03.12, 全文.

CN 1675537 A, 2005.09.28, 全文.

JP 2007-324143 A, 2007.12.13, 全文.

EP 0294231 A1, 1988.12.07, 全文.

李松林等. 导电聚合物固定酶生物传感器研究进展. 《材料导报》. 2006, 第20卷(第4期), 38-40.

任祥忠等. 电导聚合物修饰葡萄糖氧化酶电极研究. 《深圳大学学报(理工版)》. 2003, 第20卷(第3期), 64-68.

李星玮等. 导电聚苯胺在化学及电化学传感器中的应用. 《化工新型材料》. 2000, 第28卷(第9期), 16-19.

审查员 黄斌

权利要求书 1 页 说明书 5 页 附图 2 页

(54) 发明名称

一种导电聚苯胺 / 纤维素复合生物传感器的制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种导电聚苯胺 / 纤维素复合材料生物传感器, 是将一定量的纤维素加入苯胺的盐酸盐溶液中, 使苯胺氧化聚合制得一种导电聚苯胺 - 纤维素复合材料, 再将导电聚苯胺 / 纤维素置于含有生物活性物质的缓冲溶液中, 浸渍 4 ~ 5h, 使生物活性物质充分吸附在聚苯胺薄片表面, 然后将一定量固定有生物活性物质的聚苯胺 / 纤维素复合材料与适量的导电墨水混合形成糊状物; 最后以饱和 Ag/AgCl 电极为参比电极, 碳电极为辅助电极, 涂敷有混合物的工作电极组成三电极导电聚苯胺 / 纤维素复合材料生物传感器。本发明提供的导电聚合物 / 纤维素生物传感器材料, 具有成本低, 合成方法简单, 无污染, 生产效率高, 易于实现工业化。

CN 101251506 B

1. 一种导电聚苯胺 / 纤维素生物传感器的制备方法, 包括以下工艺步骤:

①导电聚苯胺 / 纤维素导电复合材料的制备: 先将苯胺单体充分溶于盐酸溶液中, 再将苯胺单体质量 1 ~ 2.5 倍量的纤维素加入到苯胺的盐酸溶液中, 搅拌 0.5 ~ 1.5h 后, 将反应体系放入冰水浴中, 并加入苯胺单体质量 4.2 ~ 4.5% 的过硫酸铵溶液, 搅拌反应 18 ~ 21h; 过滤后, 先用蒸馏水洗涤, 除去多余的盐酸, 再用乙醇洗涤, 除去未反应的苯胺单体及生成的低聚物, 干燥, 得聚苯胺 / 纤维素复合材料;

②导电聚苯胺 / 纤维素复合材料生物传感器的制备: 先将聚苯胺 / 纤维素复合材料置于含有生物活性物质的缓冲溶液中, 浸渍 4 ~ 5h, 使生物活性物质充分吸附在聚苯胺薄片表面; 再将固定有生物活性物质的聚苯胺 / 纤维素复合材料与导电墨水以 1 : 0.5 ~ 1 : 2 的质量比混合形成糊状物; 然后以 Ag/AgCl 电极为参比电极, 碳电极为辅助电极, 涂敷有混合物的工作电极组成三电极导电聚苯胺 / 纤维素复合材料生物传感器;

所述生物活性物质为葡萄糖氧化酶或乳酸氧化酶或脲酶。

2. 如权利要求 1 所述导电聚苯胺 / 纤维素生物传感器的制备方法, 其特征在于: 所述纤维素由以下方法制备而得: 将农作物秸秆粉碎成 20 ~ 100 目的粉末, 溶于农作物秸秆质量 15 ~ 20 倍、浓度为 5 ~ 8% 的硝酸溶液中, 在 100 ~ 120℃, 磁力搅拌下蒸馏 2 ~ 2.5h, 然后加入农作物秸秆质量 7 ~ 10 倍、浓度为 3 ~ 5% 的氢氧化钠溶液, 继续蒸馏 1 ~ 1.5h; 冷却至室温, 先用蒸馏水洗涤至无色, 再用乙醇洗涤, 除去残留的低聚糖, 干燥得纤维素。

3. 如权利要求 1 所述导电聚苯胺 / 纤维素生物传感器的制备方法, 其特征在于: 所述缓冲溶液为 Britton & Robinson 缓冲溶液或磷酸盐缓冲溶液。

4. 如权利要求 1 所述导电聚苯胺 / 纤维素生物传感器的制备方法, 其特征在于: 所述导电墨水是将导电物质加入水中, 再加入粘度调节剂, 搅拌反应形成的一种流体物质; 其中水的加入量是导电物质质量的 50 ~ 100 倍; 粘度调节剂的加入量是导电物质质量的 1 ~ 3 倍。

## 一种导电聚苯胺 / 纤维素复合生物传感器的制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于生物材料领域,涉及一种生物传感器,尤其涉及一种以天然纤维素和导电聚合物为原料制备的导电聚苯胺 / 纤维素复合生物传感器的制备方法。

### 背景技术

[0002] 导电聚合物因其特殊的结构和优异的物理化学性能,在光学,电磁学和化学等领域具有广阔的应用前景。近年来,导电聚合物在生物材料领域的应用,取得了一定的研究成果。

[0003] 导电聚合物在生物材料领域中的应用,以作为生物传感器最为多见。通常情况下,将不同的酶、辅酶、抗体、DNA、甚至细胞和组织等生物活性物质固定于导电聚合物中,形成各种新型的生物传感器。这种传感器具有响应性能强,制作过程简单可控等特点。在构建导电聚合物生物传感器过程中,聚合物的合成通常采用操作简单、易于控制电化学方法。在聚合过程中,生物活性物质既可与聚合物单体同时聚合到电极表面,也可先与其单体吸附在电极表面,再氧化聚合形成生物识别固态元件。其间,通过有效地控制聚合物电聚合过程,生物活性物质可固定到各种类型的电极或者电极的特定部位,也可将两种或多种酶等生物活性物质同时固定于同一层聚合膜或分别固定于多层聚合膜上。导电聚合物作为分子导线,其三维立体导电结构可使电子在生物分子(活性中心)与电极表面直接传递,显著提高生物传感器的响应特性。通过控制聚合膜的厚度、生物分子在膜中的空间分布、聚合膜的空隙度等指标可以调整生物传感器的响应特性和选择性。

[0004] 构建导电聚合物生物传感器的关键是如何将生物活性物质有效地固定在导电聚合物膜上,且最大限度地保持其生物活性,形成可长期反复作用的生物识别固态元件。生物活性物质常用的固定方法主要有包埋法、共价法、吸附法和交联法。其中以包埋法最为多见,该法依赖于电化学聚合而实现,既在电化学聚合的同时,生物活性物质以包埋的形式固定到导电聚合物膜中。此外,为了更有效地固定生物活性物质,最大限度地保持其生物活性,有关固定生物活性物质一些新技术也不断涌现,主要有两种以上的酶同时固定在聚合物、溶胶-凝胶技术、纳米技术和丝网印刷技术。其中,纳米技术是指将金属或非金属纳米粒子引入某些生物活性物质中,可增加其催化活性,提高电极的响应电流值。若同时引入多种纳米粒子,由于纳米粒子具有吸附浓缩、吸附定向、宏观隧道效应和量子尺寸效应,复合纳米颗粒比单一纳米颗粒更易于形成连续势场,降低电子在电极和固定化酶间的迁移阻力,提高电子迁移率,有效地加速酶的再生过程,可显著增强传感器的电流响应。

[0005] 目前,导电聚合物生物传感器的研究虽然取得了一定的成果,但同时也面临了一些问题。如无常规设备可制造稳定的可重复生产的导电聚合物生物传感器,这在很大程度上限制了此类传感器在分析领域的广泛应用。虽然生物活性物质可通过电化学聚合固定于导电聚合物中,但这些方法需要贵重金属作为电极,成本高,这也限制生物传感器的广泛应用。

## 发明内容

[0006] 本发明的目的是提供一种不需要铂、金等贵金属,成本低,导电性和热稳定性优异的导电聚苯胺 / 纤维素复合材料生物传感器的制备方法。

[0007] 本发明导电聚苯胺 / 纤维素复合生物传感器及其制备方法,包括以下工艺步骤:

[0008] (一) 导电聚苯胺 / 纤维素导电复合材料的制备:先将苯胺单体充分溶于盐酸溶液中,再将苯胺单体质量 1 ~ 2.5 倍量的纤维素加入到苯胺的盐酸溶液中,搅拌 0.5 ~ 1.5h 后,将反应体系放入冰水浴中,并加入苯胺单体质量 4.2 ~ 4.5% 的过硫酸铵溶液,搅拌反应 18 ~ 21h;过滤后,先用蒸馏水洗涤,除去多余的盐酸,再用乙醇洗涤,除去未反应的苯胺单体及生成的低聚物,干燥,得聚苯胺 / 纤维素复合材料。

[0009] 采用的纤维素由农作物秸秆制备而得,其具体制备方法为:将农作物秸秆粉碎成 20 ~ 100 目的粉末,溶于农作物秸秆质量 15 ~ 20 倍、浓度为 5 ~ 8% 的硝酸溶液中,在 100 ~ 120℃,磁力搅拌下蒸馏 2 ~ 2.5h,然后加入农作物秸秆质量 7 ~ 10 倍、浓度为 3 ~ 5% 的氢氧化钠溶液(一部分用来中和多余的酸,另一部分用来溶解农作物秸秆中的其他杂质),继续蒸馏 1 ~ 1.5h;冷却至室温,先用蒸馏水洗涤至无色,再用乙醇洗涤,除去残留的低聚糖,干燥得纤维素。

[0010] 本发明制备的纤维素为淡黄色,显微镜下呈带状或扁平棒状,这种结构有利于苯胺单体的附着。本发明所采用的纤维素采用玉米秸秆,麦秆等高纤维素含量的农作物秸秆。然而,众所周知,玉米秸秆作为富含天然纤维素的农作物残留物,在我国的利用率特别低,大部分被当作废弃物燃烧掉或仅作为燃料,既浪费了大量的资源,又造成了环境污染。将其变废为宝,作为工业原料,对降低工业成本,提高农业收益,可再生资源的开发都具有重要的意义。

[0011] 本发明制备聚苯胺 / 纤维素复合物中,聚苯胺呈现单层或多层复合片状结构,这种结构有较大的表面积,有利于生物活性物质的吸附。且片状物上的褶皱,有利于生物活性物质更稳定的固定在导电聚合物上。

[0012] 本发明的聚苯胺 / 纤维素复合物,以天然材料纤维素和苯胺为原料,通过苯胺的化学氧化聚合制得聚苯胺 / 纤维素复合材料,生产成本低,生产效率高,且操作简单,便于工业化生产,产品具有优越的性能:具有良好的导电性 ( $3.0 \times 10^{-2} \text{Scm}^{-1}$ ),且聚苯胺薄片的保护作用,大大提高了纤维材料的热稳定性。

[0013] (二) 导电聚苯胺 / 纤维素复合材料生物传感器的制备:先将聚苯胺 / 纤维素复合材料置于含有生物活性物质的缓冲溶液中,浸渍 4 ~ 5h,使生物活性物质充分吸附在聚苯胺薄片表面;再将固定有生物活性物质的聚苯胺 / 纤维素复合材料与导电墨水以 1 : 0.5 ~ 1 : 2 的质量比混合形成糊状物;然后以 Ag/AgCl 电极为参比电极,碳电极为辅助电极,涂敷有混合物的工作电极组成三电极导电聚苯胺 / 纤维素复合材料生物传感器。

[0014] 制备生物传感器可适用的生物活性物质主要有葡萄糖氧化酶、乳酸氧化或脲酶以及其他的一些辅酶和抗体等;所使用的缓冲溶液依据生物活性物质的不同而不同。如葡萄糖氧化酶采用 Britton & Robinson 缓冲溶液,乳酸氧化酶则采用磷酸盐缓冲溶液等。

[0015] 本发明采用的生物活性物质可以为葡萄糖氧化酶或乳酸氧化酶或脲酶;缓冲溶液中为 Britton & Robinson 缓冲溶液,或磷酸盐缓冲溶液。

[0016] 本发明所采用的导电墨水是将导电物质加入到水中,再加入粘度调节剂,搅拌反

应形成的一种流体物质,该物质可以通过喷墨打印的方式,打印在玻璃,PET 片材及纸张上。其中导电物质为导电聚合物聚苯胺、聚吡咯、聚噻吩;或金属单质银粉、铜粉等;还可以是石墨类片状材料。粘度调节剂有阿拉伯树胶,聚乙二醇。水的用量是导电物质质量的 50 ~ 100 倍;粘度调节剂的加入量是导电物质质量的 1 ~ 3 倍。

[0017] 本发明制备的导电聚苯胺 / 纤维素复合材料生物传感器,生物活性物质以吸附法固定在导电复合物中,相对于传统的包埋法,具有酶活性活力高,载体可再生和成本低等优点,利于导电聚合物生物传感器进一步发展。

[0018] 本发明的导电复合物生物传感器可应用于多种不同的领域,如医疗,食品以及环境监测等,可制备出葡萄糖传感器(其生物活性物质为葡萄糖氧化酶),乳酸传感器(生物活性物质为乳酸氧化或脱氢酶)和尿素传感器(生物活性物质为脲酶)等多种生物传感器。

[0019] 附图说明

[0020] 图 1 为不同放大倍数的聚苯胺 / 纤维素复合材料 SEM 照片

[0021] 图 2 为聚苯胺 / 纤维素复合材料的 FT-IR 谱图

[0022] 图 3 为聚苯胺 / 纤维素复合材料和纯纤维素的 TG 曲线比较

[0023] 从图 1 可以看出,聚苯胺以片状形式沉积在纤维素表面。苯胺盐酸盐沉积在纤维素的褶皱和凹陷处,在过硫酸铵作用下,苯胺盐氧化聚合形成低聚物。随着苯胺盐的进一步沉积,聚合反应不断进行,低聚物进一步生长形成高聚物。其间,纤维素因其具有相对平坦的表面,苯胺以此为模板,不断生长,形成较大面积的薄片。此外,纤维素(盐酸溶液使得部分分子间羟基裸露)与苯胺之间的氢键作用,作为一种牵引力,使聚苯胺薄片继续生长。

[0024] 图 2 均显示了纤维素和聚苯胺的特征官能团的吸收峰。 $3431$  和  $2910\text{cm}^{-1}$  分别为纤维素缔合 O-H,吡喃环 C-H 的伸缩振动吸收峰; $1067\text{cm}^{-1}$  处宽且强的吸收峰为多糖化合物的特征吸收峰,主要是由 C-O, C-O-C 基团的伸缩振动引起。 $1583$ 、 $1490$ 、 $1302$  和  $809\text{cm}^{-1}$  均为聚苯胺的特征吸收峰。 $1583$  和  $1490\text{cm}^{-1}$  分别表明聚苯胺中苯式和醌式结构的存在,这也说明苯胺单体已氧化聚合; $1302\text{cm}^{-1}$  为 C-N 的伸缩振动峰; $809\text{cm}^{-1}$  为苯环中对位取代的 C-H 伸缩振动吸收峰。

[0025] 图 3 显示了纤维素和聚苯胺 / 纤维素导电复合材料的 TG 曲线。聚苯胺薄片作为一种保护层沉积在纤维素表面,阻止了纤维素的氧化分解,提高了纤维素材料的热稳定性。由于过量的盐酸溶液使得纤维素分子间的氢键断裂,引起纤维素在较低温度发生大量失重现象。对此,通过调节盐酸溶液的浓度加以解决。

## 具体实施方式

[0026] 实施例 1、

[0027] (1) 纤维素的制备:将玉米秸秆粉碎成 20 ~ 100 目的粉末后,溶于玉米秸秆质量 15 倍、浓度为 8% 的硝酸溶液中,在  $110^{\circ}\text{C}$ ,磁力搅拌下蒸馏 2 小时,然后加入玉米秸秆质量 7 倍、浓度为 3% 的氢氧化钠溶液,继续蒸馏 1.5 小时后,将反应混合物冷却至室温,先用蒸馏水洗涤至无色,再用乙醇洗涤多次,以除去其中残留的低聚糖。最后, $40^{\circ}\text{C}$  下,干燥箱中干燥 5 小时。此纤维素为淡黄色,显微镜下呈带状,或扁平棒状,这种结构有利于苯胺单体的附着。

[0028] (2) 导电聚苯胺 / 纤维素导电复合材料的制备 : 在室温下先将苯胺单体溶于盐酸溶液中, 持续搅拌至苯胺盐酸盐完全溶解 ; 再将苯胺单体等质量的纤维素加入到苯胺的盐酸溶液中, 搅拌 1 小时后, 使大量苯胺盐沉积在纤维素基体表面 ; 将反应体系放入冰水浴中, 并加入苯胺单体质量 4.2% 的过硫酸铵溶液, 搅拌反应 20 小时 ; 过滤后, 先用蒸馏水洗涤, 除去多余的盐酸, 再用乙醇洗涤多次, 除去未反应的苯胺单体及生成的低聚物, 在 40℃ 下, 干燥 10 小时, 即制得聚苯胺 / 纤维素导电复合材料。

[0029] (3) 导电聚苯胺 / 纤维素复合材料生物传感器的制备 : 先将聚苯胺 / 纤维素复合材料置于含有葡萄糖氧化酶的 Britton&Robinson 缓冲溶液中, 浸渍 4-5 小时, 使有葡萄糖氧化酶充分吸附在聚苯胺薄片表面 ; 再将固定有葡萄糖氧化酶的聚苯胺 / 纤维素复合材料与导电墨水以 1 : 0.5 的质量比混合形成糊状物 ; 然后以 Ag/AgCl 电极为参比电极, 碳电极为辅助电极, 涂敷有混合物的工作电极组成三电极导电聚苯胺 / 纤维素复合材料葡萄糖传感器。

[0030] 所采用的导电墨水是将导电聚合物聚吡咯加入到聚吡咯质量 50 倍的水中, 再加入聚吡咯质量 3 倍的阿拉伯树胶为醇粘度调节剂, 搅拌反应形成的一种流体物质。

[0031] 实施例 2、

[0032] (1) 纤维素的制备 : 将小麦秸秆粉碎成 20 ~ 100 目的粉末后, 溶于秸秆质量 20 倍、浓度为 6% 的硝酸溶液中, 在 100℃, 磁力搅拌下蒸馏 2.5 小时, 然后加入玉米秸秆质量 10 倍、浓度为 5% 的氢氧化钠溶液, 继续蒸馏 1 小时后, 将反应混合物冷却至室温, 先用蒸馏水洗涤至无色, 再用乙醇洗涤多次, 以除去其中残留的低聚糖。最后, 40℃ 下, 干燥箱中干燥 5 小时。此纤维素为淡黄色, 显微镜下呈带状, 或扁平棒状, 这种结构有利于苯胺单体的附着。

[0033] (2) 导电聚苯胺 / 纤维素导电复合材料的制备 : 在室温下先将苯胺单体溶于盐酸溶液中, 持续搅拌至苯胺盐酸盐完全溶解 ; 再将苯胺单体质量 1.5 倍的纤维素加入到苯胺的盐酸溶液中, 搅拌 0.5 小时, 使大量苯胺盐沉积在纤维素基体表面 ; 将反应体系放入冰水浴中, 并加入苯胺单体质量 4.5% 的过硫酸铵溶液, 搅拌反应 21 小时 ; 过滤后, 先用蒸馏水洗涤, 除去多余的盐酸, 再用乙醇洗涤多次, 除去未反应的苯胺单体及生成的低聚物, 在 40℃ 下, 干燥 10 小时, 即制得聚苯胺 / 纤维素导电复合材料。

[0034] (3) 导电聚苯胺 / 纤维素复合材料生物传感器的制备 : 先将聚苯胺 / 纤维素复合材料置于含有乳酸氧化酶的磷酸盐缓冲溶液中, 浸渍 4.5 小时, 使乳酸氧化酶充分吸附在聚苯胺薄片表面 ; 再将固定有乳酸氧化酶的聚苯胺 / 纤维素复合材料与导电墨水以 1 : 1 的质量比混合形成糊状物 ; 然后以 Ag/AgCl 电极为参比电极, 碳电极为辅助电极, 涂敷有混合物的工作电极组成三电极导电聚苯胺 / 纤维素复合材料乳酸传感器。

[0035] 其中导电墨水是将导电金属单质银粉或铜粉加入到银粉或铜粉质量 75 倍的水中, 再加入银粉或铜粉质量 1 倍的聚乙二醇为醇粘度调节剂, 搅拌反应形成的一种流体物质。

[0036] 实施例 3、

[0037] (1) 纤维素的制备 : 将玉米秸秆粉碎成 20 ~ 100 目的粉末后, 溶于玉米秸秆质量 18 倍、浓度为 5% 的硝酸溶液中, 在 120℃, 磁力搅拌下蒸馏 2.5h, 然后加入玉米秸秆质量 10 倍、浓度为 4% 的氢氧化钠溶液, 继续蒸馏 1.5h, 然后将反应混合物冷却至室温, 先用蒸馏水洗涤至无色, 再用乙醇洗涤多次, 以除去其中残留的低聚糖。最后, 40℃ 下, 干燥箱中干燥

5h。此纤维素为淡黄色,显微镜下呈带状,或扁平棒状。

[0038] (2) 导电聚苯胺 / 纤维素导电复合材料的制备:在室温下先将苯胺单体溶于盐酸溶液中,持续搅拌至苯胺盐酸盐完全溶解;再将苯胺单体质量 2.5 倍的纤维素加入到苯胺的盐酸溶液中,搅拌 1.5 小时,使大量苯胺盐沉积在纤维素基体表面;将反应体系放入冰水浴中,并加入苯胺单体质量 4.3% 的过硫酸铵溶液,搅拌反应 18 小时;过滤后,先用蒸馏水洗涤,除去多余的盐酸,再用乙醇洗涤多次,除去未反应的苯胺单体及生成的低聚物,在 40℃ 下,干燥 10 小时,即制得聚苯胺 / 纤维素导电复合材料。

[0039] (3) 导电聚苯胺 - 纤维素复合材料生物传感器的制备:先将聚苯胺 / 纤维素复合材料置于含有脲酶的磷酸盐缓冲溶液中,浸渍 5 小时,使有葡萄糖氧化酶充分吸附在聚苯胺薄片表面;再将固定有脲酶的聚苯胺 / 纤维素复合材料与导电墨水以 1 : 2.5 的质量比混合形成糊状物;然后以 Ag/AgCl 电极为参比电极,碳电极为辅助电极,涂敷有混合物的工作电极组成三电极导电聚苯胺 / 纤维素复合材料尿素传感器。

[0040] 其中导电墨水是将导电聚合物聚苯胺加入到聚苯胺质量 100 倍的水中,再加入聚苯胺质量 2 倍的阿拉伯树胶中,搅拌反应形成的一种流体物质。

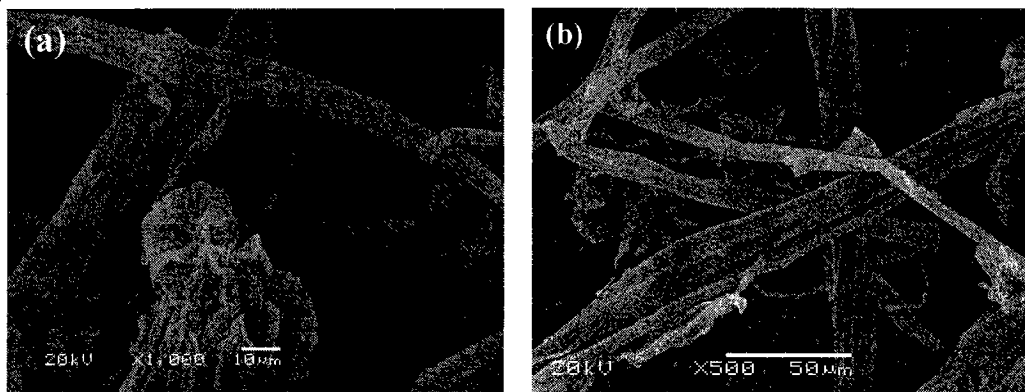


图 1

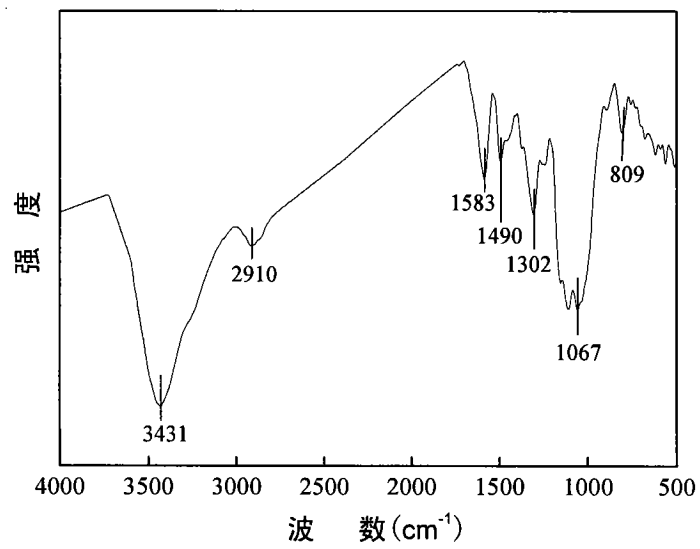


图 2



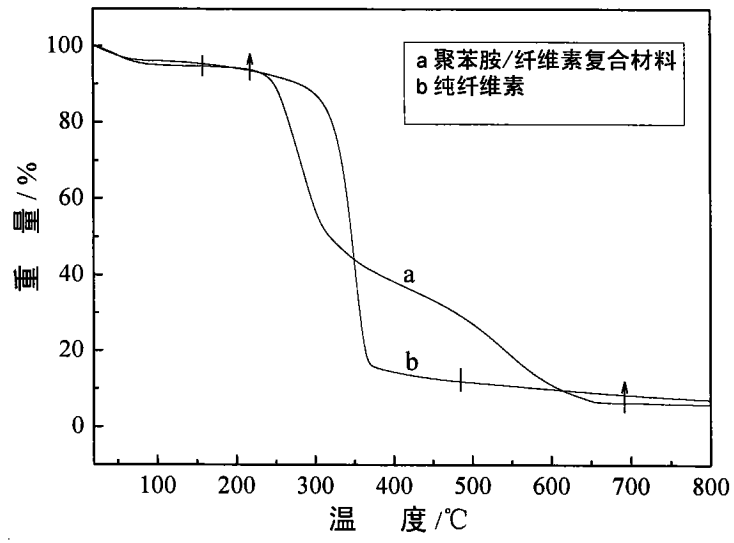


图 3