

阵列微电极上分子器件的研究*

陈洪渊 蔡称心 鞠焜先

(南京大学化学系, 南京 210093)

关键词 阵列微电极 分子器件 生物电化学传感器 NADH

有些导电高聚物如聚吡咯(PPy), 聚苯胺等的电导率在一定范围内随着外部施加电压改变而变化, 利用这一性质可以制作各种聚合物分子器件. 我们曾用阵列微电极在水溶液中研究了PPy的电导率与外压的关系, 发现这种PPy修饰的阵列微电极具有类似二极管的特性, 并测出了其响应的 $I-V$ 曲线^[1]. 但将生物酶固定在阵列微电极上制成特定的生物电化学分子器件还未见文献报道. 由于这种分子器件能制成传感器, 用于临床化学、环境监测、过程控制及生命体系分析中, 因此有必要开展这方面的研究. 本文用PPy将硫辛酰胺脱氢酶(DP)固定在对插型阵列微电极(IDA)上, 研究了PPy/DP修饰IDA电极(PPy/DP/IDA)的二极管特性, 测出了其 I_D-V_G 曲线, 发现烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)能使PPy/DP/IDA分子器件从“开”状态变到“关”状态, 并且其“开~关”时间与NADH的浓度有关并可用于对NADH的定量测定. 本文的这一发现对进一步研究和制作新型的NADH生物电化学传感器具有指导意义.

1 实验部分

1.1 仪器、材料和试剂

M270 电化学分析系统、M366 双恒电位仪及 MREO150 记录仪(EG&G, PAR, 美国). 硫辛酰胺脱氢酶(DP, EC1.8.1.4, 从猪心中提取, 3 000 U/g, Sigma)、NADH(>90%, 上海生物化学研究所)及葱醌-2-磺酸钠盐(AQ, Aldrich)使用前均未进一步提纯, 吡咯(光谱纯, Fluka)使用前经蒸馏. 其它试剂均为 A.R. 级试剂, 实验用水为二次石英亚沸蒸馏水.

1.2 实验方法

所用 IDA 电极有两组电极组成, 每一组电极有 50 根微带金电极, 每根微电极的宽度为 $8.0\ \mu\text{m}$, 长 $0.5\ \text{mm}$, 相距 $4.0\ \mu\text{m}$ (见图 1), 其详细制作方法同文献[2]. 在显微镜下操作将微 Pt 对电极和微 Ag/AgCl 参比电极封于 IDA 电极的两侧形成微电解池, 然后将 1 滴(约 $30\ \mu\text{L}$) 试样溶液滴在电极上进行电化学实验.

IDA 电极上 DP 酶的固定及吡咯的聚合采用恒电位的方法在含 $5 \times 10^{-2}\ \text{mol/L}$ 吡咯及 $1 \times 10^{-3}\ \text{mol/L}$ DP 的磷酸盐缓冲溶液(pH 7.0)中进行, 制备含电子媒体 AQ 的酶膜时溶液中还含有 $1 \times 10^{-3}\ \text{mol/L}$ 的 AQ. 用双恒电位仪控制两组电极的电位分别为 $+900\ \text{mV}$ 和 $+880\ \text{mV}$,

1995-08-08 收稿, 1995-11-09 收修改稿

* 国家自然科学基金资助项目

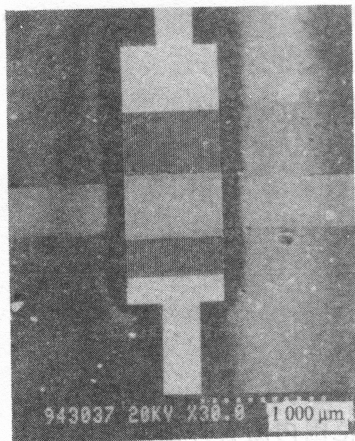


图 1 IDA 电极的 SEM 照片

用电流表监测两组电极之间的电流. 由于两组电极间有一个电位差 (20 mV), 因此一旦两组电极上的 PPy 生长到相互连结时, 就有电流在两组电极间通过, 这时即可停止聚合.

在磷酸盐缓冲溶液 (pH 7.0) 中考察 PPy/DP/IDA 电极的二极管特性. 考察 PPy/DP/IDA 分子器件对 NADH 的响应时, 先加 +0.1 V 的电位使 IDA 电极表面的 PPy 处于氧化状态, 然后断开所加氧化电位, 向溶液中加入 NADH, 同时观察 I_D 随时间的变化 (保持两组电极间的电位差为 20 mV) 以及 NADH 浓度对分子器件“开~关”时间的影响.

2 结果与讨论

2.1 PPy/DP/IDA 电极的分子器件特性

PPy/DP/IDA 分子器件的工作原理及对 NADH 的响应如图 2 所示. 由于 PPy 在还原态时为绝缘体, 氧化态时为电子导体, 因此改变电压 V_G 的值, 使 PPy 从还原态变到氧化态, 并测量 I_D 的大小, 就可以得到 PPy/DP/IDA 电极的 I_D-V_G 曲线 (图 3). 图 3 表明当 V_G 低于 -0.2 V 时, IDA 的两组电极之间没有电流通过, 即 $I_D=0$, 这时 PPy 为绝缘体, 整个分子器件处于“关”状态; 当 V_G 增大到 -0.1 V 时, 两组电极间开始有电流通过, 然后随着 V_G 的增加, I_D 急剧变大, 直到 V_G 约为 +0.1 V 时, I_D 达到最大值并几乎不再随 V_G 的增加而变化, 这时 PPy 处于完全氧化状态, 整个分子器件处于“开”状态.

2.2 PPy/DP/IDA 分子器件对 NADH 的响应

从 PPy/DP/IDA 分子器件的 I_D-V_G 曲线可以看出, 式量电位低于 -0.2 V 的物质能将 PPy 从氧化态变到其还原态, 从而使分子器件从“开”状态变为“关”状态, 这样分子器件就是

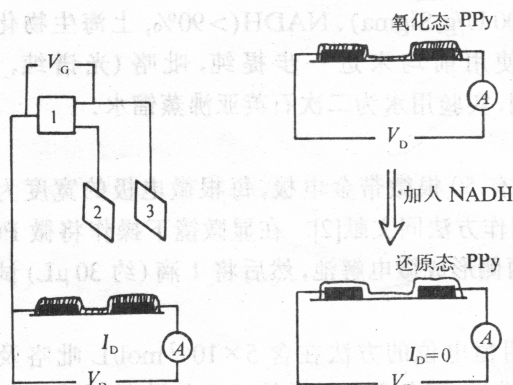


图 2 PPy/DP/IDA 分子器件的原理图
1 为恒电位仪, 2 为对电极, 3 为参比电极

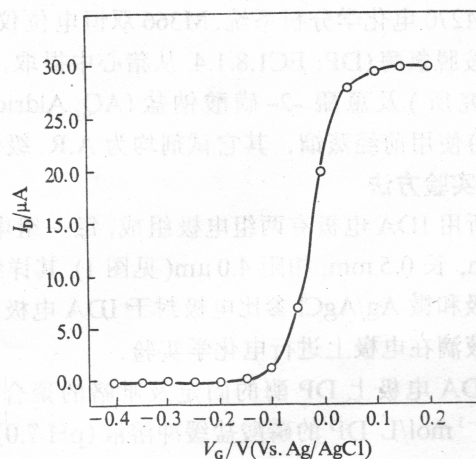


图 3 PPy/DP/IDA 分子器件的 I_D-V_G 曲线
 $V_D=20$ mV

可以看出,直接使 PPy 从氧化态变到还原态的是反应过程中生成的 AQH₂. 如果将上述处于“关”状态的分子器件清洗后,加 +0.1 V 的氧化电位使 PPy 从还原态变到氧化态,再加入 NADH, 仍然可得到与图 4 曲线 b 相似 的响应曲线(平均最大响应电流为 29.3 μA, RSD 为 1.8%), 这样的操作可以重复 10 多次.

进一步的研究结果表明, I_D 在加入 NADH 后下降的速率与 NADH 的浓度有关, 即 PPy/DP/IDA 分子器件的“开~关”时间与 NADH 浓度有关. NADH 浓度愈小, “开~关”时间愈长. 如果将 I_D-t 变化曲线上最陡处的斜率 S 作为 PPy/DP/IDA 分子器件响应 NADH 的速率, 则 $S-C_{\text{NADH}}$ 的关系如图 4 中 A 图所示. C_{NADH} 较小时, S 随 C_{NADH} 增加而变大. C_{NADH} 在 $5.0 \times 10^{-4} \sim 6.0 \times 10^{-3}$ mol/L 范围内与 S 之间有线性关系, 最低检出限为 1.0×10^{-5} mol/L. $S-C_{\text{NADH}}$ 之间的关系可用于 NADH 的定量测定.

参 考 文 献

- 1 Cai Chenxin, Ju Huangxian, Chen Hongyuan. Electrochemical properties of polypyrrole-coated microelectrodes array and the fabrication of polypyrrole-based microelectronic devices. *Chem Res Chin Univ*, 1995, 11(2): 163 ~ 196
- 2 蔡称心, 鞠焜先, 陈洪渊. 对插型阵列微带电极的制作及其电化学特性研究. *高等学校化学学报*, 1995, 16(6): 854 ~ 858
- 3 Matsue T, Kasai N, Narumi M *et al.* Electron-transfer from NADH dehydrogenase to polypyrrole and its applicability to electrochemical oxidation of NADH. *J Electroanal Chem*, 1991, 300: 111 ~ 118