

2009-08-28

Electrochemically Induced Free Radical Polymerization of Methacrylic Acid and Fabrication of Amperometric Glucose Biosensor

Sheng WANG

Ying LEI

Kang SHI

Recommended Citation

Sheng WANG, Ying LEI, Kang SHI. Electrochemically Induced Free Radical Polymerization of Methacrylic Acid and Fabrication of Amperometric Glucose Biosensor[J]. *Journal of Electrochemistry*, 2009 , 15(3): 255-259.

DOI: 10.61558/2993-074X.1990

Available at: <https://jelectrochem.xmu.edu.cn/journal/vol15/iss3/4>

This Article is brought to you for free and open access by Journal of Electrochemistry. It has been accepted for inclusion in Journal of Electrochemistry by an authorized editor of Journal of Electrochemistry.

电化学诱导聚合甲基丙烯酸膜及葡萄糖酶电极制备

王 胜, 雷 瑛, 时 康*

(厦门大学化学化工学院化学系, 福建 厦门 361005)

摘要: 应用电化学还原诱导自由基聚合方法在金基底上聚合甲基丙烯酸水合凝胶膜. 聚合过程为: 在中性缓冲溶液中, 由电还原过硫酸根离子产生的硫酸根自由基, 激发甲基丙烯酸发生自由基聚合反应, 形成超薄的水合凝胶膜; 同时也可将葡萄糖氧化酶包敷于膜内, 制成葡萄糖氧化酶电极.

关键词: 电化学还原诱导; 自由基聚合; 水凝胶膜; 甲基丙烯酸; 葡萄糖氧化酶电极

中图分类号: TQ035

文献标识码: A

由聚丙烯类高分子材料形成的水合凝胶膜不仅是一种优质的生物亲和性材料, 而且由于丙烯类单体包含的功能基团种类繁多, 使其聚合形成的膜也各具独特的热力学、电学和光学等性质. 在生物化学各研究领域, 尤其是生物传感识别方面聚丙烯类凝胶膜有着极为广泛的应用前景^[1-5].

迄今, 聚丙烯类高分子材料的制备仍以化学、物理方法为主, 通常应用光、热等物理手段激发自由基引发剂产生自由基, 进而引发丙烯类单体的自由基聚合反应 (free radical polymerization)^[1-2]. 但是, 其高温、有机介质或紫外光照等极端制备条件对保持生物物种的活性极为不利, 因此, 发展与生物活性相适宜的 (中性水溶液、室温) 聚合方法是目前亟待解决的问题.

本质而言, 丙烯类单体发生链式聚合反应起源于自由基引发剂所产生的自由基. 实际上, 若采用温和的电化学方法也可调控引发试剂的氧化还原反应, 从而产生自由基. 文献曾报导^[6-10]在酸性水溶液中电还原诸如过硫酸根离子 ($S_2O_8^{2-}$) 等电话性物种也可产生自由基, 并诱发自由基聚合反应. 但在中性水溶液中电化学诱导聚合能否有效进行, 以及聚合过程是否适用于生物物种的固定, 并且不降低其活性, 尚未见进一步报导.

本文研究了金基底在中性水溶液中电化学还

原诱导聚合制备聚甲基丙烯酸水合凝胶膜的新途径, 并检测了应用共聚方法制备的葡萄糖氧化酶电极的性能.

1 实验

1.1 试剂

β -D 葡萄糖 (β -D-glucose)、过硫酸钾 ($K_2S_2O_8$)、铁氰化钾 ($K_3Fe(CN)_6$)、过氧化氢 (H_2O_2)、甲基丙烯酸钠 (Methacrylic sodium)、二甲基丙烯酸乙二醇酯 (Ethylene glycol dimethacrylate [$H_2C=C(CH_3)CO_2CH_2$]₂, EGD, Alfa-Aesar 公司). 葡萄糖氧化酶 (GOx, E. C. 1.1.3.4, type II, from *Aspergillus Niger* 23,900 units/g Sigma-Aldrich 公司). 所有试剂均为分析纯. 葡萄糖浓缩液 (1 mol/L), 使用前搁置 24 h. 磷酸缓冲液 (PBS, 0.1 mol/L, pH 7.0) 由磷酸氢钠和磷酸二氢钠配制.

1.2 电极体系

三电极体系, 工作电极: 1) 金盘电极 (Au, ϕ 1 mm) 经 Al_2O_3 (0.3 μ m) 抛光, 超声清洗, 在 0.5 mol/L H_2SO_4 溶液中, $-0.2 \sim +1.5$ V 电位区间, 以 0.1 V/s 循环扫描 10 次即可; 2) Au/PMC 甲基丙烯酸膜电极: 由循环伏安法在金基底上聚合制备; 聚合溶液, 0.01 mol/L 单体 (甲基丙烯酸钠) +

0.001 mol/L交联剂(二甲基丙烯酸乙二醇酯)+0.01 mol/L引发剂(过硫酸钾)+0.1 mol/L磷酸缓冲液(pH 7.0);溶液通氮除氧 30 min,电位区间 0.2~-1.0 V,扫描速率 5 mV/s) Au/PMC-GO_x 电极:聚合溶液+20 mg/mL GO_x 聚合制备同上,存储于 0.1 mol/L PBS溶液(pH = 7.0, 4℃)中备用.对电极铂片和饱和甘汞电极为参比电极(SCE,文中所给电位均相对此电极而言)组成.

1.3 仪器

使用 CH1660C电化学工作站(上海辰华)电聚合并测试电极性能.

原子力显微镜(Atomic Force Microscopy, AFM Nanoscope III a型,美国 Digital Instruments)探查电极表面形貌, Nanoscope 5.30i3s3 软件控制实验过程;采用接触式模式,单晶硅针尖.

2 实验结果与讨论

2.1 甲基丙烯酸膜及其性质

图 1 是金电极在甲基丙烯酸聚合溶液中的循环伏安曲线.从图看出:当电位扫描至负于 -0.65 V时,过硫酸根离子作为聚合溶液中唯一的电活性物种可被还原成硫酸根和硫酸根自由基,而且,其阴极还原电流随循环过程逐渐减小;25次循环后,阴极还原电流(-1.0 V处)由 0.17 mA急剧减小至 0.04 mA,电极表面逐渐呈现电化学惰性.由于该聚合膜本身无导电性,还原电流锐减说明自由基诱发聚合反应可能业已减缓.金表面被非导电性膜覆盖,过硫酸根离子的电化学还原将愈发困难,最终导致聚合反应终止.这一电极表面电化学的聚合属自终止(self-terminating)聚合过程,其厚度可控在超薄的尺度范围内.

图 2 示出 Au 和 Au/PMC 电极在 5 mmol/L K₃Fe(CN)₆+5 mmol/L K₄Fe(CN)₆+0.1 mol/L KC1溶液中循环扫描曲线.从图看出:Au 电极呈现出 Fe(CN)₆³⁻/Fe(CN)₆⁴⁻电对的氧化还原峰,而 Au/PMC 电极完全钝性,进一步证实了该电极表面确实存在非导电聚合膜.倘若该电极经甲醇溶液浸泡(1 h),则其表面膜仍能有效阻止 Fe(CN)₆³⁻/Fe(CN)₆⁴⁻电对的氧化还原,说明这一聚合膜依然较好地覆盖在电极表面,与金表面具有极佳的结合.

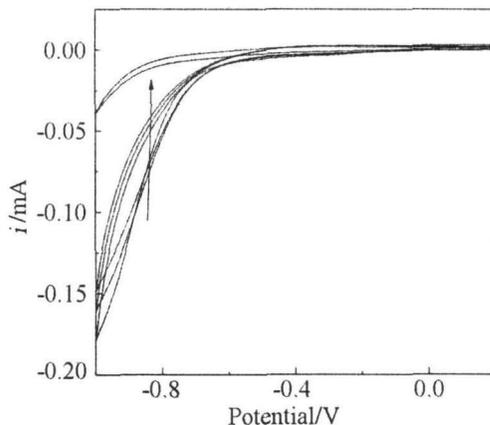


图 1 Au 电极在聚合溶液中循环伏安曲线

Fig 1 Voltammetric responses of Au electrode in polymerization solution (10 mmol/L methacrylic + 10 mmol/L K₂S₂O₈+1 mmol/L EGD+0.1 mol/L PBS, pH=7.0) along the arrow; 1th, 3th, 5th and 25th cycle scan rate, 50 mV/s

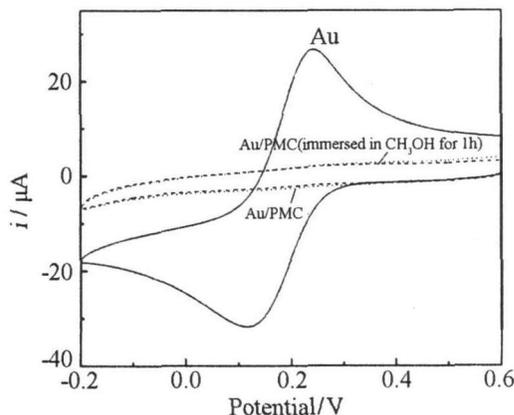


图 2 Au 和 Au/PMC 电极在 5 mmol/L K₃Fe(CN)₆+0.1 mol/L KC1溶液中循环伏安曲线

Fig 2 Voltammetric responses of Au and Au/PMC electrodes in 5 mmol/L K₃Fe(CN)₆+0.1 mol/L KCl solution (other conditions as in Fig 1)

图 3 示出 Au/PMC 和 Au/PMC-GO_x 电极在不含有 H₂O₂ 溶液中的循环扫描曲线.如图:在含有 H₂O₂ 溶液中 Au/PMC 电极于 +0.2 V 处开始出现较大的氧化电流,说明该电极对 H₂O₂ 有较强的电化学氧化活性,聚合膜容许中性 H₂O₂ 小分子透过.若在聚合溶液中加入 20 mg/mL 葡萄糖氧化酶(GO_x),则 Au/PMC-GO_x 电极也显示 H₂O₂ 的氧化电流,但与 Au/PMC 电极的相比,则后者的氧化电流明显减小;这可能与酶的加入使膜的结构变得致密有关.

图 4 给出 Au/PMC-GO_x 电极在 2 mol/L 葡萄糖的 PBS 缓冲溶液中循环伏安曲线. 与 Au/PMC 电极的相比, 当阳极电位大于 +0.25 V 时, 前者氧化电流明显增高, 该电流归属于酶分解葡萄糖产生 H₂O₂ 的贡献. 若将 Au/PMC 电极浸入含 20 mol/L GO_x 的 PBS 缓冲溶液中 (1h), 随后在含有 2 mol/L 葡萄糖的 PBS 缓冲溶液中检测, 则当阳极电位高于 +0.25 V 时, 其氧化电流即比未浸的 Au/PMC 电极大 (原因是膜可吸附一定量的酶), 但仍远小于 Au/PMC-GO_x 电极的氧化电流 (大多数葡萄糖氧化酶在聚合过程中还是被包裹于膜内).

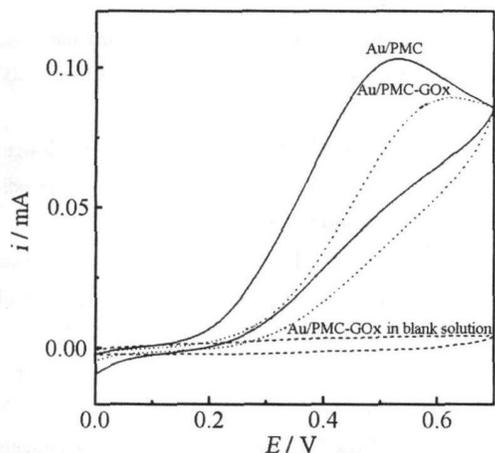


图 3 Au/PMC 和 Au/PMC 在 10 mmol/L H₂O₂ + 0.1 mol/L PBS (pH 7.0) 溶液中循环伏安曲线
Fig 3 Voltammogrammes of Au/PMC and Au/PMC electrodes in 0.1 mol/L PBS (pH 7.0) + 10 mmol/L H₂O₂

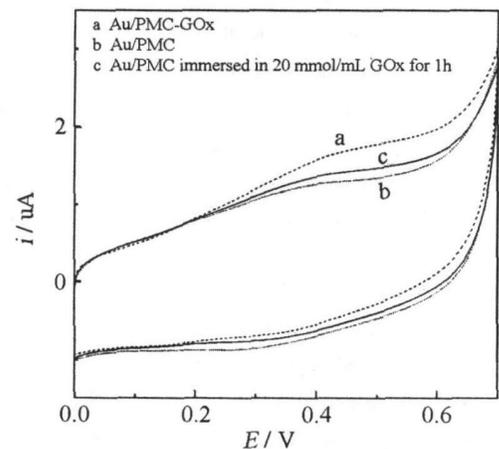


图 4 Au/PMC 和 Au/PMC-GO_x 电极在 2 mmol/L β-D-glucose + 0.1 mol/L PBS (pH = 7.0) 溶液中循环伏安曲线
Fig 4 Voltammogrammes of Au/PMC and Au/PMC-GO_x electrodes in 2 mmol/L β-D-glucose + 0.1 mol/L PBS (pH = 7.0) solution

2.2 甲基丙烯酸聚合膜 AFM

图 5 示出 Au, Au/PMC 及 Au/PMC-GO_x 电极的 AFM 形貌观察及其截面分析. 如图, Au 电极 (a) 表面相当光滑平整, 粗糙度 (RMS) 为 2.83 nm; 而 Au/PMC 电极 (b) 则出现一些较大的球状颗粒不均匀地散落在整个表面, 另一些更小的颗粒构成了膜的基础结构, 表面粗糙不平, 截面分析其 RMS 测量值增至 4.97 nm; 对 Au/PMC-GO_x 电极 (c) 除了表面球状颗粒变得更大以外, 与 Au/PMC (b) 相比,

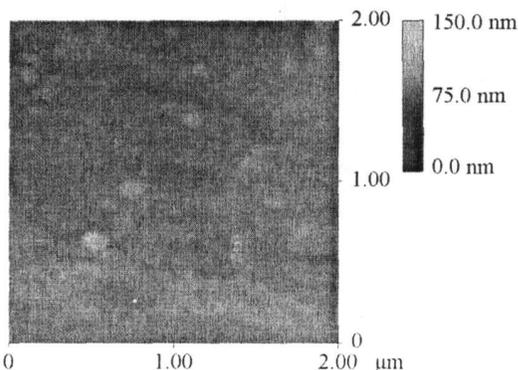
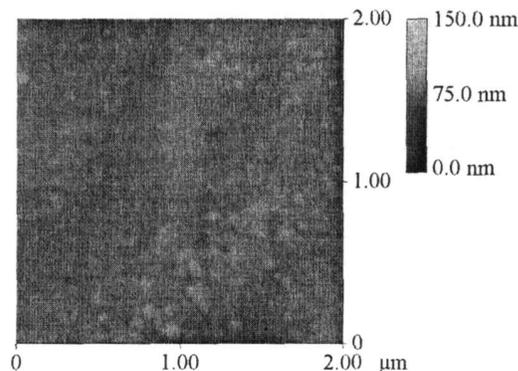
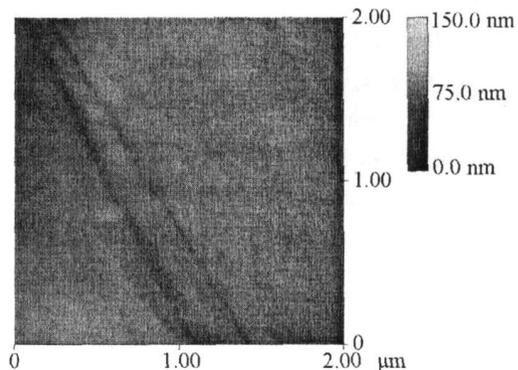


图 5 Au (a)、Au/PMC (b) 和 Au/PMC-GO_x (c) 电极的 AFM 形貌图
Fig 5 AFM images of the surfaces for Au (a), Au/PMC (b) and Au/PMC-GO_x (c) electrode

二者表面形貌大体相同.

2.3 Au/PMC-GO_x电极的特性

图 6 给出 Au/PMC-GO_x电极在恒电位下,氧化电流随溶液葡萄糖浓度的变化曲线.实验将 Au/PMC-GO_x电极置于 PBS缓冲溶液 (0.1 mol/L pH 7.0, 搅拌)中,在恒电位 +0.6 V 下依次滴加葡萄糖浓缩液,记录电极的电流~时间响应曲线 (见图 6 中插图).实验表明:每次滴液时,于 2 s 之内均可达到稳定的氧化电流值,这样的快速响应与膜的超薄厚度有关,说明不仅葡萄糖分子能够快速扩散到酶表面,并且酶催化反应产物 H₂O₂ 也能迅速被氧化;其对葡萄糖浓度的线性响应范围 <5 mmol/L;检测下限 0.05 mmol/L;检测灵敏度为 4.6 μA mmol⁻¹ L cm⁻².这些性质说明,尽管在中性缓冲液中葡萄糖氧化酶和甲基丙烯酸单体都带有负电荷,两者之间存在静电排斥作用,但在聚合过程中一些葡萄糖氧化酶仍可被包裹在聚合膜内,并表现出较高的酶催化活性.若将以上实验后的 Au/PMC-GO_x电极重新打磨抛光,制膜,再继续测量电流~时间响应,如此重复 5 次,相对的标准偏差 (RSD)均小于 8%,说明由本法制备的酶电极有较高的重现性和稳定性.

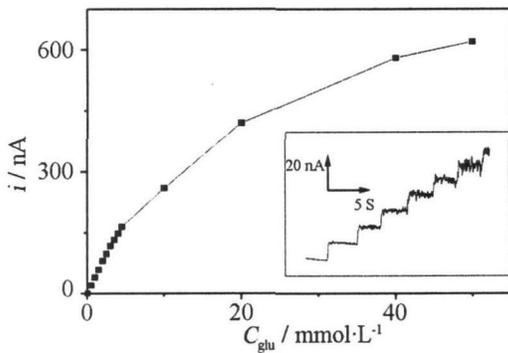


图 6 Au/PMC-GO_x电极电流~葡萄糖浓度曲线

Fig 6 Current~concentration curve of Au/PMC-GO_x electrode in 0.1 mol/L PBS solution (pH 7.0, stirring) at an applied potential of +0.6 V glucose concentration successively increased to 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 10, 20, 40, 50 mmol·L⁻¹, inset current~time response

3 结 论

在室温中性水溶液中,电化学还原过硫酸根产生稳定的自由基,可诱导甲基丙烯酸在金基底聚合成膜,该膜有良好的附着能力.可将葡萄糖氧化酶有效地固定在该膜之上,制成 Au/PMC-GO_x电极,此酶电极对葡萄糖具有稳定快速的响应.

参考文献 (References):

- [1] Peppas N A, Hilt J Z, Khadenhosseini A, et al Hydrogels in biology and medicine: from molecular principles to bionanotechnology [J]. *Advance Material* 2006, 18: 1345-1360.
- [2] Lou X H, He P, Okelo G O, et al Radical polymerization in biosensing [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2006, 386: 525-531.
- [3] Nagels L J, Staes E. Polymer (bio) materials design for amperometric detection in LC and FIA [J]. *Trends in Analytical Chemistry*, 2001, 20: 178-185.
- [4] Barlett P N, Cooper J M. A review of the immobilization of enzymes in electropolymerized films [J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 1993, 362: 1-12.
- [5] Wang J. Electrochemical glucose biosensors [J]. *Chemical Reviews* 2008, 108: 814-825.
- [6] Hervás H, Pérez J P, López M S, et al Amperometric tyrosinase biosensor based on polyacrylamide microgels [J]. *Biosensors & Bioelectronics* 2006, 22: 429-439.
- [7] Guimard N K, Gomez N, Schmidt C E. Conducting polymers in biomedical engineering [J]. *Progress in Polymer Science* 2007, 32(8/9): 876-921.
- [8] Yildiz G, Atagi H C, Kadigan L. Electrochemically prepared acrylamide N'-N-methylene bisacrylamide gels [J]. *Journal of Applied Electrochemistry*, 2000, 30: 71-75.
- [9] Reuber J, Reinhardt H, Johannsmann D. Formation of surface-attached responsive gel layers via electrochemically induced free-radical polymerization [J]. *Langmuir* 2006, 22: 3362-3367.
- [10] Bunsow J, Johannsmann D. Production of polyacrylic acid homo- and copolymer films by electrochemically induced free-radical polymerization: preparation and swelling behavior [J]. *Macromolecule Symp* 2007, 370-381.

Electrochemically Induced Free Radical Polymerization of Methacrylic Acid and Fabrication of Amperometric Glucose Biosensor

WANG Sheng LEI Ying SHI Kang*

(Department of Chemistry, College of Chemistry and Chemical Engineering
Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian, China)

Abstract: Electrochemically induced free radical polymerization of methacrylic acid was preliminarily investigated. Based on the electrochemical reduction of persulfate anion in phosphate buffer (pH 7.0) solution, the free radical polymerization of methacrylic acid was initiated to generate an ultrathin and biocompatible hydrogel layer on the gold electrode. At the meantime, glucose oxidase could be immobilized within the hydrogel film in the polymerization process. The resulting biosensor displayed an attractive performance.

Key words: electrochemically induced; free radical polymerization; amperometric glucose biosensor; hydrogel layer; methacrylic acid