

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁷

G01N 27/30

G01N 21/62

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 01120534.2

[43]公开日 2001年12月19日

[11]公开号 CN 1327156A

[22]申请日 2001.7.19 [21]申请号 01120534.2
[71]申请人 中国科学院长春应用化学研究所
地址 130022 吉林省长春市人民大街159号
[72]发明人 王海燕 徐国宝 董绍俊

[74]专利代理机构 长春科宇专利代理有限责任公司
代理人 曹桂珍

权利要求书1页 说明书4页 附图页数0页

[54]发明名称 电化学发光传感器的制备方法

[57]摘要

本发明属电化学发光传感器的制备方法。采用溶胶-凝胶法制备阴离子型聚电解质-二氧化硅有机-无机复合物,用于固定三联吡啶钉。将聚磺化苯乙烯加入硅烷水解制得的溶胶中,混匀后,直接滴涂于电极表面,室温放置一段时间后浸入三联吡啶钉水溶液中一段时间,取出用二次水充分冲洗,即可得到稳定的电化学发光传感器。它的灵敏度高,响应快,重现性好,使用寿命长且所需要的发光试剂量少。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

知识产权出版社出版

权 利 要 求 书

1. 一种电化学发光传感器的制备方法, 其特征在于将聚磺化苯乙烯配成浓度为 $10\text{--}50\text{ mmol L}^{-1}$ 的水溶液 A; 另取 $100\text{--}300\text{ }\mu\text{L}$ 4-乙氧基硅烷, $400\text{--}600\text{ }\mu\text{L}$ 水, 再加入 $20\text{--}40\text{ }\mu\text{L}$ 0.1 mmol L^{-1} 盐酸, $30\text{--}60\text{ }\mu\text{L}$ 乙醇和 $20\text{--}80\text{ }\mu\text{L}$ Triton X-100, 混匀, 超声振荡 1 小时后静置 3—5 小时, 得溶胶 B; 然后将溶液 A 与溶胶 B 按 V/V 1:3—3:1 的比例混均, 用微量注射器移取 $5\text{--}10\text{ }\mu\text{L}$ 该混合液滴涂到电极表面, 室温放置 18—24 小时, 然后将此复合物膜修饰电极浸入三联吡啶钌水溶液中 20—60 分钟, 取出用二次水充分冲洗, 即制得电化学发光传感器。

说明书

电化学发光传感器的制备方法

所属领域：本发明属于电化学发光传感器的制备方法。

背景技术：电化学发光是由电化学反应激发的化学发光，具有高的灵敏度，可用于多种物质的分析和检测，但是其大多数的应用是在溶液中进行，若将发光物质固定到电极表面，则可以节约昂贵试剂，简化操作及装置，扩大它的应用范围。有多种物质可产生电化学发光，但是以三联吡啶钉及其衍生物研究和应用得最多。文献报道了多种固定三联吡啶钉的方法，如将三联吡啶钉的衍生物制备成 L-B 膜和自组装膜；将三联吡啶钉固定到阳离子交换型聚合物 Nafion 膜中，但是它们的稳定性均不太好溶胶-凝胶具有很好的稳定性和化学惰性，因而是一种优异的固定化基质，已广泛用于各种生物分子的固定。O. Dvorak and M. K. De Armond, *J. Phys. Chem.*, 1993, 97, 2646 首先用溶胶-凝胶固定三联吡啶钉，包埋到其中的三联吡啶钉仍然具有较好的电化学和电化学发光性质，但是在发生氧化还原的过程中，三联吡啶钉容易漏到溶液中。A. N. Khramov, et al., 在 *Anal. Chem.* 2000, 72, 32943 中将三联吡啶钉通过离子交换的方式固定到 Nafion-二氧化硅的复合膜中，所得的修饰电极，其灵敏度和稳定性较纯 Nafion 膜有了较大的改进，但是其长期稳定性依然不太好。因而仍然需要新的材料用来做为固定化基质，以制得稳定的电化学发光传感器。

发明内容：本发明的目的是提供一种电化学发光传感器的制备方法，采用溶胶-凝胶法制备阴离子型聚电解质-二氧化硅有机-无机复合物，用于固定电化学发光试剂，三联吡啶钉。首先将阴离子型聚电解质，聚磺

化苯乙烯加入硅烷水解制得的溶胶中，混匀后，直接滴涂于电极表面，室温放置一段时间，得到的有机-无机复合物胶膜不开裂，且牢固粘附于电极表面，将此复合物膜修饰电极浸入三联吡啶钌水溶液中一段时间，取出用二次水充分冲洗，即可得到稳定的电化学发光传感器。其灵敏度高，响应快，重现性好，使用寿命长且所需要的发光试剂量少。

本发明将聚磺化苯乙烯配成浓度为 $10\text{—}50\text{ mmol L}^{-1}$ 的水溶液 A；另取 $100\text{—}300\text{ }\mu\text{L}$ 4-乙氧基硅烷， $400\text{—}600\text{ }\mu\text{L}$ 水，再加入 $20\text{—}40\text{ }\mu\text{L}$ 0.1 mmol L^{-1} 盐酸， $30\text{—}60\text{ }\mu\text{L}$ 乙醇和 $20\text{—}80\text{ }\mu\text{L}$ Triton X-100，混匀，超声振荡 1 小时后静置 3—5 小时，得溶胶 B；然后将溶液 A 与溶胶 B 按 V/V 1:3—3:1 的比例混均，用微量注射器移取 $5\text{—}10\text{ }\mu\text{L}$ 该混合液滴涂到电极表面，室温放置 18—24 小时，然后将此复合物膜修饰电极浸入三联吡啶钌水溶液中 20—60 分钟，取出用二次水充分冲洗，即制得电化学发光传感器。该传感器检测线性范围： $1 \times 10^{-6}\text{—}1 \times 10^{-3}\text{ mol L}^{-1}$ ，检测限： $1 \times 10^{-7}\text{ mol L}^{-1}$ 。稳定性在半年以上。

本发明所述的制备方法，在传统的溶胶-凝胶体系中加入了一种阴离子型聚电解质—聚磺化苯乙烯，因而具有以下优点：1. 聚磺化苯乙烯与三联吡啶钌之间具有强的静电作用，能形成离子络合物，可有效地防止三联吡啶钌漏出胶膜，保证了传感器的重现性和稳定性；2. 加入的表面活性剂 Triton X-100 能与溶胶-凝胶网络中的羟基形成氢键，可防止膜的开裂；3. 由于溶胶-凝胶是多孔性的，有利于反应物扩散到电极表面，电极响应快；4. 加入的聚磺化苯乙烯可使膜更加牢固，并在一定范围内可大大提高三联吡啶钌发光效率；5. 由此法制备的电极稳定性好，其稳定性在半年以上。

具体实施方式：

实施例 1. 将聚磺化苯乙烯配成浓度为 10 mmol L^{-1} 的水溶液 A; 另取 $100 \mu\text{L}$ 4-乙氧基硅烷, $500 \mu\text{L}$ 水, 再加入 $20 \mu\text{L}$ 0.1 mmol L^{-1} 盐酸, $30 \mu\text{L}$ 乙醇和 $20 \mu\text{L}$ Triton X-100, 混匀, 超声振荡 1 小时后静置 3 小时, 得溶胶 B; 然后将溶液 A 与溶胶 B 按 V/V 3:1 的比例混均, 用微量注射器移取 $5 \mu\text{L}$ 该混合液滴涂到电极表面, 室温放置 18 小时, 然后将此复合物膜修饰电极浸入三联吡啶钉水溶液中 60 分钟, 取出用二次水充分冲洗, 即制得电化学发光传感器。将其于流动体系中, 在 1.1 V 下检测草酸, 每 1 分钟注样一次, 响应时间比文献报道的要快一倍。线性范围, $1 \times 10^{-6} \text{—} 1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; 检测限: $1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ 。稳定性在半年以上。

实施例 2. 将聚磺化苯乙烯配成浓度为 20 mmol L^{-1} 的水溶液 A; 另取 $100 \mu\text{L}$ 4-乙氧基硅烷, $400 \mu\text{L}$ 水, 再加入 $30 \mu\text{L}$ 0.1 mmol L^{-1} 盐酸, $30 \mu\text{L}$ 乙醇和 $20 \mu\text{L}$ Triton X-100, 混匀, 超声振荡 1 小时后静置 4 小时, 得溶胶 B; 然后将溶液 A 与溶胶 B 按 V/V 2:3 的比例混均, 用微量注射器移取 $10 \mu\text{L}$ 该混合液滴涂到电极表面, 室温放置 20 小时, 然后将此复合物膜修饰电极浸入三联吡啶钉水溶液中 20 分钟, 取出用二次水充分冲洗, 即制得电化学发光传感器。将其于流动体系中, 在 1.2 V 下检测三丙胺, 每 1 分钟注样一次, 响应时间比文献报道的要快一倍。线性范围, $1 \times 10^{-6} \text{—} 1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; 检测限: $1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ 。稳定性在半年以上。

实施例 3. 本发明将聚磺化苯乙烯配成浓度为 50 mmol L^{-1} 的水溶液 A; 另取 $200 \mu\text{L}$ 4-乙氧基硅烷, $600 \mu\text{L}$ 水, 再加入 $40 \mu\text{L}$ 0.1 mmol L^{-1} 盐酸, $60 \mu\text{L}$ 乙醇和 $80 \mu\text{L}$ Triton X-100, 混匀, 超声振荡 1 小时后静置 5 小时, 得溶胶 B; 然后将溶液 A 与溶胶 B 按 V/V 1:3 的比例混均, 用微量注射器移取 $8 \mu\text{L}$ 该混合液滴涂到电极表面, 室温放置 23 小时, 然后

将此复合物膜修饰电极浸入三联吡啶钌水溶液中 40 分钟，取出用二次水充分冲洗，即制得电化学发光传感器。将其于流动体系中，在 1.2 V 下检测 NADH，每 1 分钟注样一次，响应时间比文献报道的要快一倍。线性范围， 1×10^{-6} — 1×10^{-3} mol L⁻¹，检测限： 5×10^{-7} mol L⁻¹。稳定性在半年以上。

实施例 4. 本发明将聚磺化苯乙烯配成浓度为 30 mmol L⁻¹ 的水溶液 A；另取 300 μL 4-乙氧基硅烷，600 μL 水，再加入 30 μL 0.1 mmol L⁻¹ 盐酸，50 μL 乙醇和 40 μL Triton X-100，混匀，超声振荡 1 小时后静置 5 小时，得溶胶 B；然后将溶液 A 与溶胶 B 按 V/V 1:2 的比例混均，用微量注射器移取 5 μL 该混合液滴涂到电极表面，室温放置 24 小时，然后将此复合物膜修饰电极浸入三联吡啶钌水溶液 60 分钟，取出用二次水充分冲洗，即制得电化学发光传感器。将其于流动体系中，在 1.2 V 下检测三丙胺，每 1 分钟注样一次，响应时间比文献报道的要快一倍。线性范围， 1×10^{-6} — 1×10^{-3} mol L⁻¹；检测限： 1×10^{-7} mol L⁻¹。稳定性在半年以上。