



# [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 95119390.2

[43]公开日 1997年6月25日

[11] 公开号 CN 1152712A

[22]申请日 95.12.22  
[71]申请人 中国科学院长春应用化学研究所  
地址 130022吉林省长春市斯大林大街109号  
[72]发明人 郭奕柱 董绍俊

[74]专利代理机构 中国科学院长春专利事务所  
代理人 曹桂珍

权利要求书 1 页 说明书 2 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 有机水凝胶固定酶制备有机相生物传感器

[57]摘要

本发明属于有机水凝胶固定酶制备生物传感器的方法。

本发明制备生物传感器时，将酶、媒介体与0.1—5%表面活性剂与6—20%聚乙烯醇的水溶液混合均匀后，加入60—85%的二甲基甲酰胺，将混合溶液滴涂到电极表面，室温下在5—20分钟凝胶成膜。该制备过程迅速，制备出的生物传感器具有优异的性能：对水溶性和非水溶性物质都具有较大的检测灵敏度，并适应于完全无水的有机溶剂，油水混合溶剂以及水等各种介质中的生物检测。

## 权 利 要 求 书

---

1.一种有机水凝胶固定酶制备生物传感器的方法，其特征在于以0.1 - 5%表面活性剂与6 - 20%聚乙烯醇水溶液中加入60 - 85%二甲基甲酰胺，室温下放置5 - 20分钟，制备出有机水凝胶；制备生物传感器时，将酶，包括过氧化物酶、胆固醇氧化酶、酪氨酸氧化酶、醇氧化酶、醇脱氢酶、漆酶、胆碱脂酶、胆碱氧化酶、胆红素氧化酶、脂肪酶等，也可以将媒介体，如铁氰化钾、二茂铁及其衍生物、有机染料等与表面活性剂和聚乙烯醇的水溶液混合均匀，加入二甲基甲酰胺，将该混合液滴涂到基底电极表面，室温下凝胶成膜；该生物传感器在氯仿、氯苯、二氯乙烷、二恶烷、乙腈、丙酮、甲醇、乙醇、正丁醇、正辛醇、环己酮、四氢呋喃等有机溶剂中，都具有生物催化作用。

# 说明书

## 有机水凝胶固定酶制备有机相生物传感器

本发明属于有机水凝胶固定酶制备生物传感器的方法。

有机相生物传感器,尤其是酶电极,极大拓展了生物传感器的研究和应用范围,在有机化工、生物工程、医药分析、环境保护等领域有着广泛的应用前景。1988年, Hall等人首次报道了有机相酶电极[G. F. Hall, D. I. Best, A. P. F. Turner, *Enzyme Microb. Technol.*, 10 (1988) 543]。从那时至今,报道了不少种类的有机相酶电极,但都是采用以往常规水相生物传感器固定化方法制备的,并且必须在有机溶剂中加入一定量的水,以保证酶的催化活性。例如, J. Wang等用Eastman AQ固定辣根过氧化物酶和酪氨酸酶,测定乙腈中的过氧化氢和酚,必须在乙腈中加4%的水酶电极才具有响应[J. Wang, Y. Lin, L. Chen, *Analyst*, 118 (1993) 277]。

Shaojun Dong, Yizhu Guo, *Anal. Chem.*, 66(1994) 3895; Shaojun Dong, Yizhu Guo, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, (1995)483报道用低温水凝胶固定酶制备有机相生物传感器,由于载体本身能为固定化酶提供微水环境,无需往介质中加水,实现了真正完全无水的有机溶剂中过氧化氢、酚类化合物的生物检测。但对水不溶性化合物,该法无能为力。

本发明的目的是在表面活性剂与聚乙烯醇的水溶液中加入有机溶剂二甲基甲酰胺,该混合溶液在室温下5-20分钟内发生凝胶化,制备出有机水凝胶。制备有机相生物传感器时,将酶、媒介体与表面活性剂与聚乙烯醇的水溶液混合均匀后,加入60-85%的二甲基甲酰胺,室温下凝胶成膜。制备过程迅速,制备出的生物传感器达到平衡时间短,响应快。

本发明在0.1-5%表面活性剂与6-20%聚乙烯醇水溶液中加入60-85%二甲基甲酰胺,室温下放置5-20分钟,制备出有机水凝胶;制备生物传感器时,将酶,包括过氧化物酶、胆固醇氧化酶、酪氨酸氧化酶、醇氧化酶、醇脱氢酶、漆酶、胆碱脂酶、胆碱氧化酶、胆红素氧化酶、脂肪酶等,也可以将媒介体,如铁氰化钾、二茂铁及其衍生物、有机染料等与表面活性剂和聚乙烯醇的水溶液混合均匀,加入二甲基甲酰胺,将该混合液滴涂到基底电极表面,室温下凝胶成膜;该生物传感器在氯仿、氯苯、二氯乙烷、二恶烷、乙腈、丙酮、甲醇、乙醇、正丁醇、正辛醇、环己酮、四氢呋喃等有机溶剂中,都具有生物催化作用。

由于本发明制备的有机水凝胶中包含“万能溶剂”二甲基甲酰胺和水，它对水溶性物质，如过氧化氢、酚类化合物等，以及水不溶性物质，如有机过氧化物、胆红素、胆固醇等都具有较大的分配系数，因而对水溶性和非水溶性物质都具有较大的检测灵敏度。

本发明制备的生物传感器与以往报道的各种固定化方法相比，具有以下特性：（1）载体能为固定化酶提供微水环境；（2）在各种介质，包括水及含水有机溶剂，完全无水有机溶剂中稳定存在；（3）对各类分析物都具有较大的分配系数和检测灵敏度；（4）制备过程迅速，无需特殊设备。因此，该生物传感器适应性广，既可以在水相或含水有机相，也可以在绝对无水有机相中工作。

本发明提供的实施例如下：

**实施例1：辣根过氧化物酶电极。**将3毫克辣根过氧化物酶溶解在50 ul 5%表面活性剂和15%聚乙烯醇的水溶液，再加入100 ul的二甲基甲酰胺，混合均匀后，将此混合液滴涂在石墨电极表面，室温下10分钟左右凝胶成膜。该酶电极对叔丁基过氧化物、过氧化-2-丁酮、过氧化氢异并苯等有机过氧化物，在无媒介体存在下，都具有灵敏响应，并具有优异的响应性能：达到平衡时间短，10分钟之内；响应时间快，1分钟之内；测量范围宽，0-5mM。可在氯仿、氯苯、醇类等有机溶剂中工作。

**实施例2：酪氨酸酶电极。**将1.5毫克酪氨酸酶溶解在50 ul 2%表面活性剂和12%聚乙烯醇的水溶液中，再加入75 ul二甲基甲酰胺，搅拌均匀后，滴涂到玻碳电极表面，15分钟左右凝胶成膜。该电极性能：平衡时间，5分钟之内；响应时间，0.5-1分钟。该酶电极测定氯仿、二氯乙烷、乙腈等有机溶剂中的酚类化合物。

**实施例3：胆红素氧化酶电极。**将2毫克胆红素氧化酶溶解在50 ul 0.5%表面活性剂和8%聚乙烯醇的水溶液中，再加入150 ul二甲基甲酰胺，混合均匀后，滴涂到玻碳电极表面，8分钟左右凝胶成膜。该电极以羧酸二茂铁为媒介体，测定氯仿、二甲基甲酰胺中的胆红素。

**实施例4：胆固醇氧化酶电极。**将4毫克胆固醇氧化酶溶解在50 ul 1%表面活性剂和10%聚乙烯醇的水溶液中，再加入150 ul二甲基甲酰胺，混合均匀后，滴涂到预修饰铂微粒的玻碳电极表面，8分钟左右凝胶成膜。该酶电极用于测定氯仿、氯苯等有机溶剂中的胆固醇。