

文章编号:1674-2869(2013)04-0021-05

静电纺丝法制备聚苯胺/醋酸纤维素膜修饰电极

万其进,舒 好,尚艳利,许 佳,廖华玲,杨年俊

(武汉工程大学化工与制药学院,绿色化工过程教育部重点实验室,
湖北省新型反应器与绿色化学工艺重点实验室,湖北 武汉 430074)

摘 要:利用聚苯胺和醋酸纤维素为原料,按一定的配比配制成溶液,通过静电纺丝法修饰于铂电极表面,制备成聚苯胺/醋酸纤维素(PANI/CA)纳米纤维薄膜修饰电极(PANI/CA/Pt).采用各种电化学方法和扫描电镜(SEM)对 PANI/CA 纳米纤维薄膜进行了表征,并且用交流阻抗法分析了其在电极表面的动力学过程.结果表明 PANI/CA 纳米纤维薄膜电化学性质稳定,该修饰电极在 H_2SO_4 溶液中呈现出聚苯胺的特征峰,其 SEM 图显示 PANI/CA 纳米纤维在电极表面呈网状不规则立体分布,为构建生物传感器提供了一个良好的界面.以此为基础制备的葡萄糖氧化酶/聚苯胺/醋酸纤维素(GOx/PANI/CA/Pt)传感器对葡萄糖有良好的响应,有望制成物美价廉的生物传感器.利用静电纺丝法制备纳米纤维薄膜修饰电极并用来固定酶等蛋白质类高分子物质是一种新的可行性的方法.

关键词:静电纺丝;聚苯胺;醋酸纤维素;化学修饰电极

中图分类号:O657.1

文献标识码:A

doi:10.3969/j.issn.1674-2869.2013.04.005

0 引 言

静电纺丝技术就是在高压静电场条件下,利用高分子溶液或熔体,制成亚微米或纳米纤维,是现今制备超细纤维最重要最可行的方法^[1].纳米纤维的制备也已经由无序不可控收集逐步发展到有序可控定位沉积的有序静电纳米纤维^[2];在原料方面也由传统的聚合物高分子材料扩展到生物材料、金属氧化物等;并制备出了具有生物兼容性、导电和传感特性的多种功能性纳米纤维.静电纺丝纳米纤维直径一般在几十纳米至几微米之间,最小直径可达到 1 nm^[3].当加工条件不同时,制备的静电纺丝纳米纤维薄膜有着孔隙率高、孔隙尺寸小、比表面积大、纤维直径小等优点,其典型数值一般在 40~2 000 nm 之间^[1,4].

通过静电纺丝技术制备的超细纳米纤维或纳米纤维膜,其优良的性能吸引了国内外学者在纳米材料的众多领域进行研究,如在传感器、生物骨架、电子器件、增强复合材料、防护服、过滤材料、生物医学材料等领域都有着良好的发展和应用潜力^[1,5-9].利用静电纺丝技术制备各种化学与生物纳米纤维薄膜已见报道,如杨颖^[10]等以高压静电纺丝技术为基础,结合无模板剂的溶胶-凝胶法合

成了直径均匀,连续无裂痕的 SiO_2 纳米纤维,贾清秀等^[11]以甲苯和 DMF 为溶剂,对不同含量 C_{60} 的 PMMA 溶液进行电纺得到 PMMA 膜,Geon-Hyoung An^[12]等以共纺的方式将 SnO_2 、 SiO_2 掺杂到碳纳米纤维中,制得了纳米纤维薄膜.

在制备生物与化学修饰电极及相应的应用方面目前已有周德凤^[13]用静电纺丝法制备 Pd 基修饰 ITO 电极并用来检测 NO_2^- ,王先锋等^[14]则以静电纺丝技术为基础制备了构建了一种基于多种结构的石英晶体微天平(QCM)传感器,从而实现了对甲醛的检测,但是把静电纺丝技术应用于生物传感器上,制备纳米纤维薄膜修饰电极,并用来固定生物酶,同时利用各种电化学技术手段深入进行相应的动力学上的机理研究与分析,则较为少见.本研究利用聚苯胺的导电性和醋酸纤维素的可纺性,配制成合适浓度比例的混合溶液,采用静电纺丝法将聚苯胺和醋酸纤维素的混合溶液喷于铂电极的表面,制备成聚苯胺/醋酸纤维素纳米纤维修饰膜,并将葡萄糖氧化酶固定其上,制备成酶修饰电极,成功的采用电化学的方法进行检测分析,并对生物小分子进行检测应用,取得了成功.

静电纺丝法为固定化酶构筑生物传感器提供了一种新的方法,利用静电纺丝法所喷出的纳米

收稿日期:2012-11-04

基金项目:国家自然科学基金(21075096,21275113);武汉工程大学研究生教育创新基金项目(CX201112)

作者简介:万其进(1957-),男,湖北鄂州人,教授,硕士研究生导师,研究方向:电分析化学与生物传感器.

纤维在电极表面形成的一种修饰物薄膜来固定酶等生物大分子,既能保证酶的生物活性又能进行相应生物分子的检测.另外,可以利用不同的聚合物材料制备不同的化学修饰电极,从而进行不同物质的检测.纳米级别功能型聚合物本身所具有的优良的电化学性能和大的比表面积使纳米纤维传感器的传感性能比起相应的薄膜型传感器有了质的改变.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

CHI660C 电化学工作站(上海辰华仪器公司);三电极系统:参比电极为饱和甘汞电极,辅助电极为铂丝电极,工作电极为铂电极及其修饰电极;KQ-250 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),1006 型静电纺丝仪,Heal Force SUPER NW 超纯水器[力新仪器(上海)有限公司].

聚苯胺(PANI),武汉远城科技有限公司生产;醋酸纤维素(CA)(相对分子量为 17 722),阿拉丁试剂公司生产;丙酮,天津星月化工有限公司生产;N,N-二甲基乙酰胺,成都市科龙化工试剂厂生产;葡萄糖(GOD),上海博奥生物科技有限公司生产;葡萄糖氧化酶(GOx),阿拉丁试剂公司生产;以上试剂除 GOx 外均为分析纯.电化学实验前溶液均通氮除氧.

1.2 聚苯胺-醋酸纤维素电纺溶液的配制

称取一定量的聚苯胺溶于丙酮和 N,N-二甲基乙酰胺的混合溶液中,均匀搅拌 2 h,再称取一定量的 CA 溶于聚苯胺溶液中,待溶解后,用磁力搅拌器均匀搅拌 24 h,配制成聚苯胺/醋酸纤维素电纺溶液.

1.3 静电纺丝修饰电极的制备

将铂电极用粒径为 $0.05\ \mu\text{m}$ Al_2O_3 粉末在麂皮上抛光,超纯水冲洗后,以浓 H_2SO_4 和 H_2O_2 的体积配比为 3:7 的溶液浸泡 5 min,超纯水超声清洗 3 min,再用超纯水冲洗,室温晾干.

将打磨好的裸铂电极用二次水冲洗后放入 0.5 mol/L 硫酸溶液中,于 $-0.2 \sim 1.4\ \text{V}$ 电位范围内以 $100\ \text{mV/s}$ 进行连续循环扫描 10 圈.取出活化好的铂电极,用二次水冲洗干净,室温晾干.

将处理好的铂电极固定于静电纺丝仪的接收板上,用配置好的溶液进行静电纺丝 15 min,即制得静电纺丝聚苯胺/醋酸纤维素修饰电极(PANI/CA/Pt).将配制好的葡萄糖氧化酶溶液取 $10\ \mu\text{L}$ 滴涂于 PANI/CA/Pt 表面,室温晾干,即制得葡萄糖氧化酶修饰电极(GOx/PANI/CA/Pt).

2 结果讨论

2.1 静电纺丝 PANI/CA 纳米纤维的表征

图 1 是静电纺丝法制备出的 PANI/CA 纳米纤维膜的扫描电镜图,由图可知,制备的 PANI/CA 纳米纤维薄膜,其纳米纤维形态较完整,呈网状不规则分布.纳米纤维具有疏松多孔的结构,不仅能够固定葡萄糖氧化酶,同时可以使反应底物顺利通过纤维之间的间隙,大大提高了酶与底物的接触面积.由于本实验目前处于初步研究阶段,因此,从图 1 中所观察到的静电纺丝纳米纤维之间的孔穴较大,不过可以通过调整电纺参数、电纺时间以及电纺溶液的浓度来调控纳米纤维之间的孔穴大小.纤维结构及孔穴的大小对酶的固载的影响将在本研究的后续阶段进行深入探究.

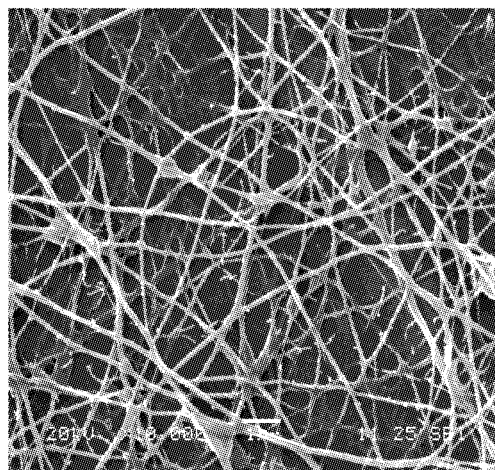


图 1 PANI/CA 纳米纤维的扫描电镜图

Fig. 1 The SEM of PANI/CA nano-fiber

2.2 不同电极在 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 中的循环伏安图

图 2 为相同条件下的裸铂电极(a), PANI/CA/Pt(b), GOx/PANI/CA/Pt(c)在 0.005 mol/L $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-} + 0.1\ \text{mol/L}$ KCl 溶液中的循环伏安图,由曲线(a),(b)可知,当电极表面电纺一层聚苯胺的纳米纤维之后,由于纳米纤维里含有导电性较差的醋酸纤维素,因而导致 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 的氧化还原峰电流明显减小,这说明电极表面成功的修饰上了一层 PANI/CA 纳米纤维.由曲线(b),(c)可知,曲线(c)氧化还原峰电流急剧减小,说明葡萄糖氧化酶成功的修饰在了 PANI/CA/Pt 表面,大分子的葡萄糖氧化酶极大的阻碍了 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 的电子传递.

2.3 交流阻抗特性

电化学交流阻抗(EIS)是表征修饰电极界面的强有力工具,可以通过电极表面与电解液之间

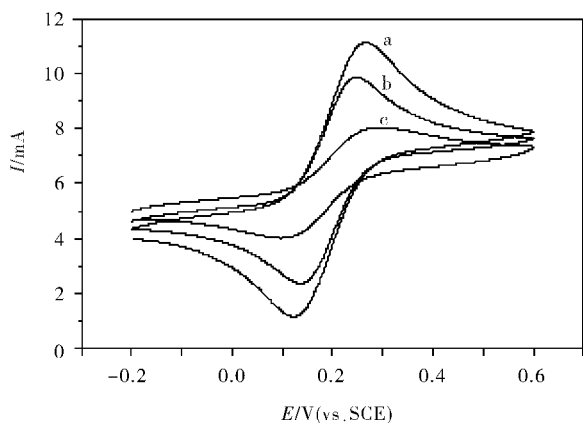


图2 不同修饰电极在 0.005 mol/L $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ + 0.1 mol/L KCl 溶液中的循环伏安图

Fig. 2 Cyclic voltammograms in 0.005 mol/L $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ + 0.1 mol/L KCl solution

注: (a) bare Pt electrode, (b) PANI/CA/Pt, (c) GOx/PANI/CA/Pt, 扫速为 100 mv/s.

的阻抗变化提供相应的信息. 而在含有探针分子 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 的情况下, 复平面阻抗谱上的高频部分是受动力学控制的区域, 低频部分是受扩散控制的区域^[15]. 图3为不同修饰电极在裸铂电极(a), PANI/CA/Pt(b), GOx/PANI/CA/Pt(c)含有 0.005 mol/L 的 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 探针的 0.1 mol/L KCl 溶液中的交流阻抗图(频率范围为 0.05~100 KHz, 施加的电位幅度为 5 mV). 曲线(a)中在其较宽的频率范围内几乎是一条直线, 这表明电极是受传质控制(即扩散控制)的, $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 非常容易到达电极表面, 而一微小半圆出现在较窄的高频部分, 这表明在该有限

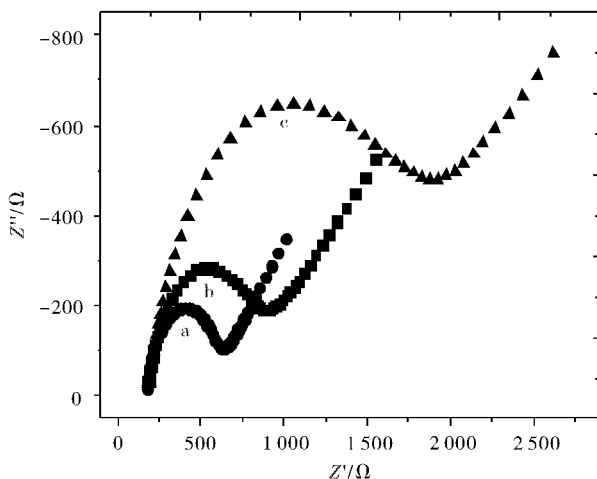


图3 不同的修饰电极在 0.005 mol/L $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ + 0.1 mol/L KCl 溶液中的交流阻抗图 (a) Bare Pt, (b) PANI/CA/Pt, (c) GOx/PANI/CA/Pt

Fig. 3 Impedance plots of at (a) bare Pt electrode, (b) PANI/CA/Pt, (c) GOx/PANI/CA/Pt electrode in 0.005 mol/L $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ + 0.1 mol/L KCl solution

频率范围内, 电极是受传荷控制(即动力学控制)的, 故推测整个电极过程以扩散控制为主^[16-18]; 由曲线(b)可知在 PANI/CA 纳米纤维修饰到电极表面之后, 高频部分半圆直径显著增大; 当葡萄糖氧化酶修饰到 PANI/CA 修饰电极表面上, 高频部分半圆直径急剧增大, 这表明整个电极过程由以扩散控制为主变成传荷控制为主; 而以上结果与三种电极在 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 中循环伏安图的结果一致, 这也充分证明了 PANI/CA/Pt, GOx/PANI/CA/Pt 修饰电极已经成功制备.

2.4 静电纺丝 PANI/CA/Pt 在 H_2SO_4 中的电化学行为

为了进一步证明已制备成功的 PANI/CA/Pt 电极具有其相应的电化学活性, 进行了 PANI/CA/Pt 电极在 H_2SO_4 中的电化学行为研究. 图4中是几种不同的电极在 0.5 mol/L 的 H_2SO_4 中的循环伏安图, 其中裸铂电极(a), CA/Pt(b), PANI/CA/Pt(c). 从图中可以很明显的观察到, 曲线(c)是聚苯胺在 H_2SO_4 中的特征曲线, 而曲线(a)和曲线(b)并没有此特征曲线, 这充分可以说明, 静电纺丝聚苯胺纳米纤维不仅成功修饰到铂电极表面并且这种修饰电极能够表现出其相应的电化学活性.

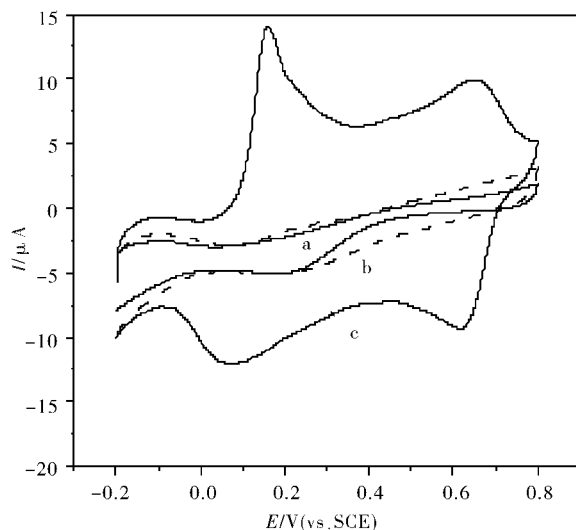


图4 不同的修饰电极在 0.5 mol/L H_2SO_4 溶液中的循环伏安图(扫速 100 mv/s)

Fig. 4 Cyclic voltammograms in 0.5 mol/L H_2SO_4 solution with scan rate of 100 mV/s

注: (a) Bare Pt Electrode; (b) CA/Pt; (c) PANI/CA/Pt Electrode.

2.5 GOx/PANI/CA/Pt 对葡萄糖溶液的响应

图5是在 pH 7.0 的 PBS 缓冲溶液中 GOx/PANI/CA/Pt 对 2×10^{-5} mol/L 葡萄糖溶液的 $i-t$ 响应曲线. 由图中可知, 该修饰电极对葡萄糖有明显的催化作用. 用 PANI/CA 纳米纤维作为酶的

固定材料呈现出了良好的固定效果,为生物传感器的制备打下了基础。

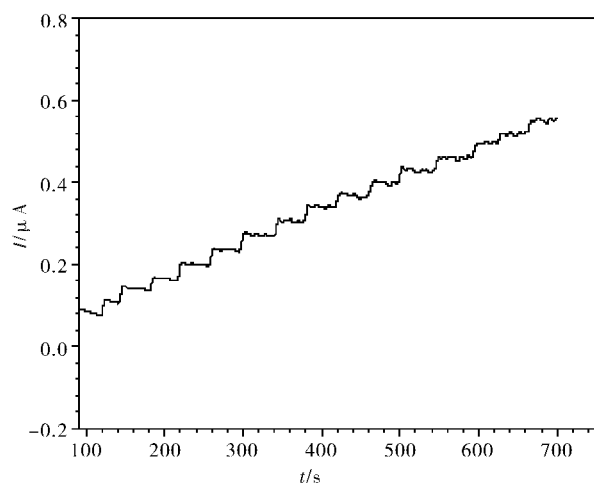


图 5 GOx/PANI/CA/Pt 在 pH 7.0 的 PBS 溶液中对葡萄糖溶液的 $i-t$ 响应曲线

Fig. 5 Typical $i-t$ responses of GOx/PANI/CA/Pt for glucose in pH 7.0 PBS

2.6 稳定性与重现性

本实验测定了 GOx/PANI/CA/Pt 的重复性及稳定性,用 9 支不同的电极在同种浓度的葡萄糖溶液中进行测量,测得响应电流的相对标准偏差为(4.7%),这说明电极有良好的重现性。用一支电极平行测定 10 次同种浓度的葡萄糖溶液,电流基本稳定,说明该电极能够重复多次使用,使用在二次蒸馏水中放置 15 d 后的电极测定同一浓度的葡萄糖溶液,其峰电流有稍微减小,峰电流减小接近 5%。表明 GOx/PANI/CA/Pt 具有较长的使用寿命和良好的稳定性,可以用于葡萄糖的分析测定。

3 结 语

通过静电纺丝法成功的制备出了 PANI/CA 纳米纤维,并将其修饰在了铂电极表面,制备出了 PANI/CA/Pt 修饰电极;成功的把葡萄糖氧化酶固定在了 PANI/CA/Pt 电极上,并且对葡萄糖有一定的催化作用。这说明,用静电纺丝法制备的修饰电极能够很好的运用于生物传感器的制备及应用上。

致谢

感谢国家自然科学基金委、武汉工程大学研究生处的资助。

参考文献:

[1] 霍丹群,罗伟,侯长军,等. 静电纺丝纳米纤维在传感

器领域的研究进展[J]. 传感器与微系统, 2009, 28(2): 4-7.

[2] 仰大勇,蒋兴宇. 静电纺丝制备有序纳米纤维的研究进展[J]. 合成纤维, 2008, 37(6): 1-5.

[3] GIBSON H, GIBSON P, SENEAL K, et al. Protective textile materials based on electrospun nanofibers[J]. Journal of Advanced Materials, 2002, 34(3): 44-55.

[4] YANG Zhang, HE Xiu Li, LI Jian Ping, et al. Fabrication and ethanol-sensing properties of micro gas sensor based on electrospun SnO_2 nanofibers [J]. Sensors and Actuators B-chemical, 2008, 132(1): 67-73.

[5] HU Jiang Tao, ODOM T W, LIEBER C M. Chemistry and physics in one dimension; synthesis and properties of nanowires and nanotubes[J]. Accounts of Chemical Research, 1999, 32(5): 435-445.

[6] DUAN Bin, DONG Cun Hai, YUAN Xiao Yan, et al. Electrospinning of chitosan solutions in acetic acid with poly(ethylene oxide)[J]. Journal of Biomaterials Science Polymer Edition, 2004, 15(6): 797-811.

[7] WON K S, JI HY, TAEK S L, et al. The effects of solution properties and polyelectrolyte on electrospinning of ultrafine poly(ethylene oxide) fibers[J]. Polymer, 2004, 45(9): 2959-2966.

[8] Huang Z M, Zhang Y Z, Kotaki M, et al. A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites [J]. Composites science and Technology, 2003, 63(11): 2223-2253.

[9] PHAM Q P, SHARMA U, MIKOS A G. Electrospinning of polymeric nanofibers for tissue engineering applications: a review [J]. Tissue Engineering, 2006, 12(5): 1197-1211.

[10] 杨颖,孙艳丽. 静电纺丝法制备 SiO_2 纳米纤维及其形貌的调控[J]. 功能材料, 2013, 44(1): 36-38.

[11] 贾清秀,李小宁,付玉中,等. 电纺 C_{60} /PMMA 微纳米纤维的结构与性能研究[J]. 合成纤维, 2008, 37(10): 15-18.

[12] GEON-HYOUNG A, HYO-JIN A. Fabrication of SnO_2 and SiO_2 Nanoparticle-embedded Carbon Nanofiber Composites Via Co-electrospinning[J]. Ceramics International, 2012, 38(4): 3197-3201.

[13] 周德凤,杨颖姝,于丽波,等. 电纺法制备 Pd 基修饰 ITO 电极及其电化学传感 NO_2^- [J]. 化学工程师, 2012, 26(5): 5-9.

[14] 王先锋. 静电纺纤维膜的结构调控及其在甲醛传感器中的应用研究[D]. 上海: 东华大学, 2011.

[15] 贾铮,戴长松,陈玲. 电化学测量方法[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 120-123.

- [16] ZHAO Yi Fang, GAO Yu Qian, ZHAN Dong Ping, et al. Selective detection of dopamine in the presence of ascorbic acid and uric acid by a Carbon nanotube-ionic liquid gel modified electrode[J]. Talanta, 2005, 66(1): 51-57.
- [17] 李兰芳,杨平,宋宏图,等. 纳米金/4,4'-二巯基二苯硫醚自组装膜修饰金电极的制备及其电化学行为研究[J]. 武汉工程大学学报, 2010, 32(12): 6-12.
- [18] 宋宏图,舒好,汪召豪,等. 3-巯基丙酸自组装金电极的制备及其对尿酸的电化学[J]. 武汉工程大学学报, 2011, 33(12): 20-26.

Preparation of PANI/CA film modified electrode by electro-spinning and its application in biosensor

WAN Qi-jin, SHU Hao, SHANG Yan-li, XU Jia, LIAO Hua-ling, YANG Nian-jun

(Key Laboratory for Green Chemical Process of Ministry of Education, Hubei Key Lab of Novel Reactor & Green Chemical Technology, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430074, China)

Abstract: Polyaniline and cellulose acetate were used as materials, and formulated into a solution at a certain ratio, and electrostatic spinning was used to prepare polyaniline/cellulose acetate (PANI/CA) nano-fiber membrane which was modified on the surface of Pt electrode to prepare the PANI/CA/Pt. PANI/CA nano-fiber film was characterized by electrochemical methods and scanning electron microscopy (SEM). The results indicate that electrochemical properties of PANI/CA nano-fiber film are stable, and SEM images show their meshy irregular stereoscopic distribution on electrode surface. The electrode modified with nano-fiber film shows polyaniline characteristic peaks in H_2SO_4 solution and its dynamic process on the electrode surface is investigated with AC impedance. The prepared GOx/PANI/CA/Pt modified electrode has a good response to glucose, which is expected to be a good and inexpensive biosensor. It is a truly original and feasible method to use the nanofibers film modified electrodes prepared by the Electrostatic Spinning method to immobilize polymer substances such as enzyme and protein.

Key words: electrostatic spinning method; polyaniline; cellulose acetate; chemical modified electrode

本文编辑:张 瑞