

知识介绍

一种新的环境监测手段

——生物电化学传感器的原理及应用

郑 文 会

(航 天 工 业 部)

近年来,随着膜技术的进步,生物传感器的研究和应用得到很大的发展。其中应用得最为广泛的生物传感器就是生物电化学传感器。和其他类型的生物传感器一样,生物电化学传感器也是以生物膜本身所具有的精巧技能作为识别手段的。根据生物膜组成的不同,从分子集合体水平(如固相酶膜)、细胞内生物小器官水平(如固相细胞器膜)、细胞(如固相微生物膜)水平到生物组织(如生物组织切片膜)水平组成不同型式的生物电化学传感器。本文分别作简要介绍。

一、生物电化学传感器的原理

(一) 固相酶膜生物电化学传感器原理

酶膜电化学传感器就是利用酶这种特殊的生物催化剂所具有的反应的高度专一性和灵敏性而制成的。酶与底物发生复杂的生物化学反应,使某些物质增加或减少,这个化学物质数量的改变可由电化学装置测定出来并转换为电信号。其转换为电信号的方式有电流法和电位法之分,前者是通过电极活性物质和电极反应所产生的电流值,后者是通过膜电位的变化而测定与酶发生反应的化学物质的浓度的。常用的酶为水解酶或氧化还原酶,电化学装置有离子选择电极及氧电极等气体电极(见图1)。

(二) 微生物膜电化学传感器原理

这种传感器在原理上与酶膜传感器一样。不过,它是利用微生物体内的单一酶或复合酶。如何把微生物固化在膜内又不致使

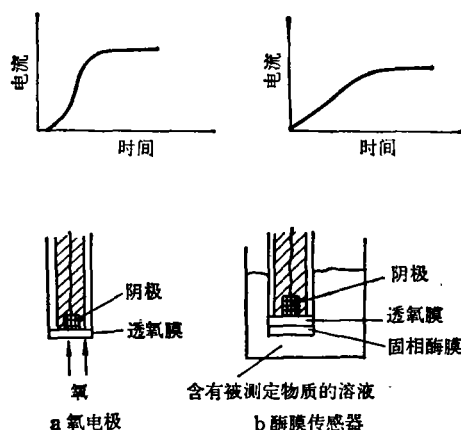


图1 酶膜电化学传感器原理

其丧失生理活性是一项复杂的技术。日本铃木等提出用骨胶原膜固化微生物收到较好效果。这种传感器可分为呼吸活性测定型和电极活性物质测定型两种。其原理如图2所示。

(三) 抗原抗体膜电化学传感器(免疫传感器)

生物具有免疫性,其体内的抗原抗体反应是特异性反应之一。通过膜电位的测定可测出在膜面所形成的抗原抗体复合体所引起的膜电荷和膜渗透压的变化。其组成与酶膜电化学传感器相同,只是固相抗体膜代替了固相酶膜。一般把抗体固定在由醋酸纤维素和溴化醋酸纤维素制成的膜中。有时利用酶作为示踪剂来提高灵敏度,增大信息量,可用于超微量计量。免疫传感器已开始用于临床

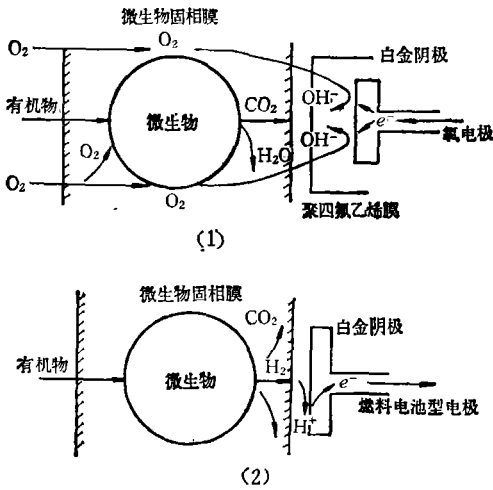


图 2 微生物电化学传感器原理

(1) ——呼吸活性测定型传感器

(2) ——电极活性物质测定型微生物传感器

检验,如用来测定血清中的免疫球蛋白、肽缩氨酸以及利用心磷脂和梅毒螺旋体抗体组成的免疫传感器测定梅毒病原体等.美国 G. A. Rechnitz 等提出在腺甙脱氢酶参予下以氨离子电极为电化学装置所组成的免疫传感器可以测定 DNP (2,4-二硝基苯酚) 族半抗原或抗 DNP 抗体,其精度对 DNP 族半抗原为 50 ng,对抗 DNP 抗体为 10^{-10} M。

(四) 细胞器传感器及生物组织切片膜传感器

细胞器,即细胞内小器官传感器,研究较多的是线粒体膜传感器。例如用具有呼吸活性的线粒体带电粒子制成固相线粒体膜,把它与电化学装置如氧电极组合起来就组成线粒体传感器。已研制出可以测定辅酶NADH的线粒体膜传感器,最近又在研制用肝微粒体膜测定硫氧化物(SO_x)的传感器。

利用青蛙上皮组织制成的钠离子传感器、用动物肝脏切片膜测定谷酰胺的传感器的报告已发表了。

除了单独地利用酶、微生物、抗体、细胞器及生物组织切片制成的膜之外,也有把上述生物膜组合起来的生物电化学传感器或在

一种膜中固化两种生物活性物质的传感器。如一种用来测定肌醇(甲基胍醋酸)、尿素的传感器就是由酶和微生物的杂化物固相膜所组成的。因此上述分类方法并不是十分严格的。

二、生物电化学传感器在环境监测方面应用的几个实例

生物电化学传感器在环境监测方面是一支突起的新军,应用前景十分广阔。由于它是以生物本身所具有的精巧机能作为识别手段,因此它不但以极高的灵敏度对各种污染物的浓度作客观的监测,而且更重要的是它可以进一步判断环境中的污染物进入生物体后所发生的影响,很好地把内外环境监测统一起来。

(一) 测定水体中 BOD 的微生物电化学传感器

BOD 是水体遭到有机污染的重要指标,用常规方法监测费时。而用微生物皮状丝孢酵母菌(*Trichosporon Cutaneum*)固相膜和氧电极制成的 BOD 传感器可在 10 分钟之内得到结果,与常规方法比较,该差在 10% 以内,测定范围由 3—30 mg/l,微生物活性可保持 30 天,且可以连续测定。

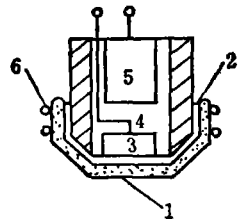


图 3 测定 BOD 的微生物电化学传感器

1——微生物骨胶原膜(约 50 μm 厚) 2——聚四氟乙烯膜(厚约 27 μm) 3——白金阴极 4——KOH 电解质 5——铅阳极 6——压紧胶圈

(二) 测定有机磷农药的酶膜电化学传感器

由于有机磷农药对乙酰胆碱脂酶有抑制作用,测定酶活性变化即可间接掌握农药浓度。把固相乙酰胆碱脂酶膜与电化学装置结

合起来就制成了可以测定有机磷农药的仪器。这个仪器也可以用来研究在不同浓度的有机磷农药作用下乙酰胆碱脂酶受抑制的程度,为环境监测与环境医学研究的结合开创了一条新路。

(三) 测定致癌物质的微生物电化学装置

人们对环境中的致癌物质是十分关注的。由于癌形成过程与基因突变过程一致,而化学物质的致癌性、致畸性、致突变性之间存在着相关性。具有生物活性的致癌物质也具有致突变性,因此可根据致突变性来筛选致癌物质。测定致癌物质的传感器采用的微生物为 *Bacillus Subtilis* 菌株,由 Rec^+ 和 Rec^- 两个电极组成,前者采用的是具有修复能力的野生菌株,后者是 DNA 有缺陷不具有修复损伤能力的菌株。把它们分别固定在醋酸纤维素膜中制成固相微生物膜,再把它们装在两个氧电极的聚四氟乙烯薄膜上,外面再加上一层滤膜,这就构成了可用来测定致癌物质的生物电化学传感器。其构造如图 4 所示。当把它放进葡萄糖溶液中时,可以得到稳定电流值。但当把它放在已知致癌物质 AF-2 (呋喃糠醛胺) 的二甲亚砜 (DMSO) 溶液中,浓度为 $2\mu\text{g}/\text{ml}$ Rec^- 电极的电流值慢慢增加,原因是菌株受到损伤死亡,呼吸所需氧减少,使得到达电极电流增加,而 Rec^+ 电极因菌株照常生长电流值无变化。当浓度在 $1.2\text{—}15\mu\text{g}/\text{ml}$ 之间, Rec^- 电极的电流值与 A

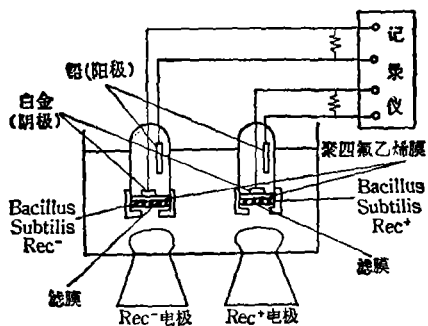


图 4 测定致癌物质的微生物电化学传感器

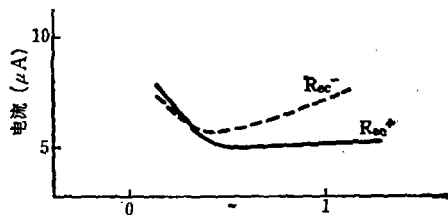


图 5 测定致癌物质的传感器响应曲线
pH7.0 37℃ 菌数 2.7×10^8 AF-2 $1.6\mu\text{g}/\text{ml}$

F-2 浓度呈直线关系,图 5 是这种传感器的响应曲线。

除上述 AF-2 外,还可以用该传感器来测定丝裂菌素、克菌丹、四硝基喹啉-1-氧撑、硝基胍等致癌物质。对于氨基蒽、乙酰基蒽等的测定要先经过肝微粒体 (S-9) 激活后才能进行。用这种传感器可以达到快速测定的目的,一般可在 1 小时内得出结果。

(四) 测定大气污染物中的 NO_x 、 SO_x 、 CH_4 、 NH_3 等的生物电化学传感器

1. 测定 NO_x 的生物电化学传感器

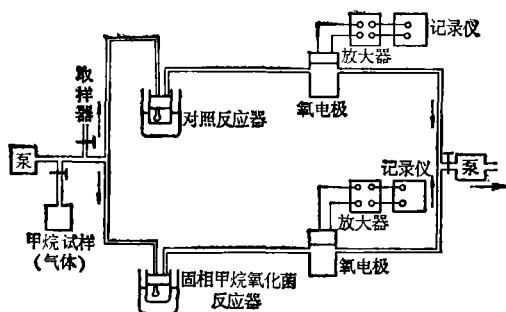
由于 NO_x 侵入人体后,血液中血红蛋白的吸收光谱发生变化,即氧化血红蛋白 (HbO_2) 吸收特性减少,高铁血红蛋白 (MetHb) 的吸收特性增加,所以用血红蛋白的克分子光谱变化率作为评价 NO_x 的指标是可行的。把血红蛋白固定在丙烯酸薄膜中,并经常保持湿润状态,再把这个固相血红蛋白膜与可测定吸光度变化的仪器组合起来就构成了可用来测定 NO_x 浓度的传感器。最近有文献报道,利用微生物膜传感器测定 NO_x 已得到成功。

2. 测定 CH_4 的生物电化学传感器

CH_4 在 *Methyromonas flagellata* 细菌参与下,发生氧化反应生成 CO 和 H_2O :



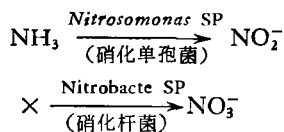
在上述反应中消耗了氧,可由氧电极测出氧的消耗,进而测出 CH_4 浓度。因此测定 CH_4 的生物电化学传感器就由固相 *M. flagellata* 膜和氧电极组成。其构造如图 6 所示。

图6 测定 CH_4 的微生物电化学传感器

它是由两个反应器和两个氧电极组成。甲烷氧化菌要在规定的培养基中在好气条件下培养，然后在电极端部固定。可用透气性好的醋酸纤维素过滤器（也可采用直径 0.8cm、高 0.2 cm 的香烟过滤器）通过琼脂固定。把固化后的甲烷氧化菌（湿重 0.3 克）放入一个反应器中；而另一个反应器仅为参照反应器，它是由不含甲烷氧化菌的同样大小的醋酸纤维素过滤器所填充。这样，两个电极得到电流值之差即可测定甲烷浓度，反应时间为 1 分钟，测定灵敏度可达 $6.6 \times 10^{-9} \text{ mol/l}$ ，而用色谱法测定时，最低浓度为 $13.1 \times 10^{-6} \text{ mol/l}$ 。

3. 测定 NH_3 的生物电化学传感器

在硝化菌参与下， $[\text{NH}_3]$ 氧化为 NO_2^- 进一步变成 NO_3^- ，其反应如下：



在反应中要消耗氧，其变化可由氧电极测定。这样，由固相硝化菌膜与氧电极组成

可测定 NH_3 浓度的传感器。当 NH_3 浓度在 42 mg/l 以下时，电流值与 NH_3 浓度呈线性关系。用它测定 NH_3 可以在 5 分钟得出结果，可在 20 天内使用 500 次以上，精度不会降低，误差为 4%，重现性也好。图 7 为氨传感器原理图。

利用微生物膜电化学传感器测定 SO_2 的装置也已研制出来。

此外，生物电化学传感器也应用于医疗检验方面，可以预料，它必将日益受到人们的重视而得到更大的发展。

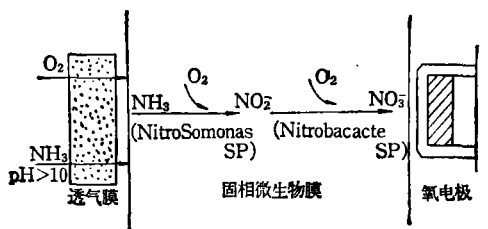


图7 氨传感器原理图

参 考 文 献

- [1] Reehnitz, G. A. et al., *Science*, **199**, 440—441 (1978).
- [2] Gebauer, C. R. et al., *Anal. Lett.*, **14**, 97—109 (1981).
- [3] Kobos, R. K. et al., *Anal. Lett.*, **10**, 751—758 (1977).
- [4] 井上真田美, ポリマータイジエクト, **32**(6), 79—83(1980).
- [5] 鈴木周一等, 計測と制御, **20**(5), 531—537 (1981).
- [6] 仲川勤, 膜がわかる本, MOL 文庫(4), オーム社, 39—41(1981).
- [7] 轻部征夫, 化学工業, **33**(6), 35—38 (1982).

更正 本刊 4 卷 4 期第 28 页图 2 中曲线 3 应删去, 第 29 页表后第 1 行“pH 值在……差异, 即”也应删去。图 2 纵坐标应为“浓度 ($\times 10^{-3} \text{ Mol/l}$)”。