

葡萄糖酶传感器的探索研究

左小明 吴雪昌 曾云中 杭州大学生命科学学院 310012

徐信业 杭州大学物理系 310028

摘 要 将葡萄糖氧化酶 (GOD) 与辣根过氧化物酶 (POD) 用戊二醛共固定在半透膜上, 以此作为生物敏感元件制成传感器, 在 pH 6.0, 温度 30℃, 外加搅拌的条件下, 对传感器的响应时间, 线性测定范围及使用寿命等指标进行了测定, 得到了良好的效果。酶膜的平均响应时间为 2.5 min, 线性测定范围达 0~300 μg/ml, 寿命约达 15 天。

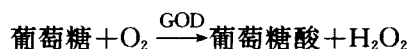
关键词 GOD POD 酶膜 生物传感器

Abstract We used glucose oxidase (GOD) and horseradish peroxidase (POD) as material to construct glucose biosensor. On the conditions of pH 6.0, 30℃, and stirring, the sensor worked effectively. Its average responding time was 2~5 min, the linear measurable range was 0~300 μg/ml, and the duration time was about 15 days.

Keywords GOD POD Enzyme membrane Biosensor

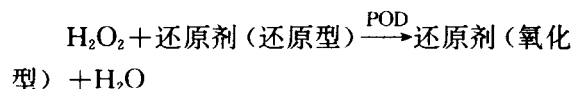
葡萄糖生物传感器在众多生物传感器的研究中极为引人注目, 在食品工业的发酵监控中有着良好的应用前景^[1~5]。但到目前为止, 不论是葡萄糖酶传感器, 还是葡萄糖微生物传感器, 都存在着一些有待改进之处, 如提高响应速度与测量精度、延长使用寿命及降低成本等。对于葡萄糖酶传感器而言, 一种性能良好的酶膜及经过优化的反应条件对传感器的寿命、灵敏度和精度的提高具有重要的实际应用价值。

葡萄糖酶传感器的酶膜主要由葡萄糖氧化酶 (GOD) 制成, 利用以下反应实现信号转换:



这是一个耗氧反应。用氧电极, 可把反应系统中的含氧量变化转换为电信号, 其强弱直接反映了系统中的葡萄糖浓度, 通过仪器测定实现传感器的功能。

由于反应中 H_2O_2 的产生会影响 GOD 的活力, 所以及时分解 H_2O_2 , 会对酶膜起保护作用。利用辣根过氧化物酶 (POD) 的催化作用, 从理论上讲能达到此目的^[6]。反应如下:



本文采用以上原理对葡萄糖酶传感器进行探索性研究, 结果表明不同的酶膜和不同反应条件对传感器的响应速度及灵敏度有很大的影响。从一系列测量条件组合选择出一种最佳的测量方式, 得到良好的效果。

1 材料与方法

1.1 试剂及仪器

1.1.1 葡萄糖氧化酶 (GOD); (Sigma, 950 u/ml)

1.1.2 辣根过氧化物酶 (POD) (中科院上海生化研究所, 250 u/mg)

1.1.3 明胶 (上海明胶一厂, 试剂级)

1.1.4 戊二醛 (进口分装, 25%)

1.1.5 维生素 C 母液 (100 mg/ml); 葡萄糖母液 (100 mg/ml)

1.1.6 柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液 (CPB) (pH 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0)

1.1.7 DO-ZZ 溶氧显示仪 (配备电极液上海

天司实验器材厂)

1.1.8 磁力搅拌器

1.2 方法

1.2.1 酶膜的制备: 以 GOD、POD 及明胶为制膜材料, 用 4% 戊二醛作交联剂, 直接在半透膜 (透析袋) 上制备酶膜, 共得 4 种不同组份的酶膜, 列表如下:

表 1 酶膜的组成成份

| | GOD(u/cm ²) | POD(u/cm ²) | 明胶(mg/cm ²) |
|---|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 1 | 95 | 0 | 0 |
| 2 | 95 | 0 | 0.6 |
| 3 | 95 | 150 | 0 |
| 4 | 95 | 150 | 0.6 |

1.2.2 测定: 温度保持恒定 30 ℃, 分别将反应系统置于不同 pH 的 CPB 中, 采用 4 种不同酶膜, 在搅拌或不搅拌, 添加或不添加 Vc 的情况下, 测定传感器对 100 μg/ml 葡萄糖的响应时间及强度, 从中获得最佳的反应条件。并在最佳反应条件下, 测定传感器的线性反应范围。

2 结果与讨论

2.1 pH 值对反应系统的影响

GOD 活力的大小直接与传感器的灵敏度相关。不同的 pH 值条件下, 各种酶膜对 100 μg/ml 葡萄糖的响应结果如图 1 所示:

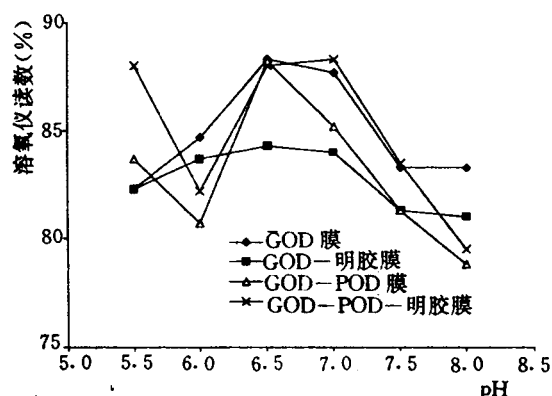


图 1 pH 值对反应系统的影响

GOD 在溶液状态下, 酶促反应最适 pH 为

5.1。由图可知, 经过戊二醛固定或与明胶共固定后最适 pH 变为 5.5, 与 POD 共固定或与 POD 及明胶三者共固定后变为 6.0。其中以与 POD 共固定的反应强度最大。

传感器在碱性环境下反应强度增大, 可能与酶促反应产物之一葡萄糖酸被中和有关。

2.2 Vc 和 POD 对酶膜的影响

从理论上讲, 在反应系统中添加 Vc 作为还原剂可以不断地促使所产生的 H₂O₂ 分解, 从而降低其对 GOD 活性的损害。但实验结果表明, Vc 的加入不仅没有起到对 GOD 的保护作用, 反而使酶活力下降, 传感器反应强度随时间延长而减弱 (图 2)。

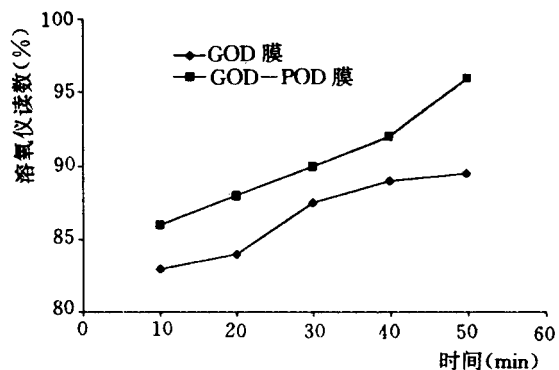


图 2 Vc 对酶膜性能的影响

(pH 5.5, 30 ℃, Vc=100 μg/ml)

在没有 Vc 情况下, POD 对酶膜的保护作用是明显的, 不仅提高了酶的反应强度, 而且缩短了传感器的响应时间, 延长了传感器的使用寿命 (表 2)。

表 2 POD 对酶膜性能的影响 (pH 6.0, 30 ℃)

| | 读数 (%) | 响应时间 (min) | 寿命 (天) |
|-----------|--------|------------|--------|
| GOD 膜 | 88.3 | 8 | 4 |
| GOD-POD 膜 | 82.2 | 2.5 | 15 |

2.3 搅拌对测定的影响

在反应系统中, 一个恒定的环境对于测定

的准确性十分重要^[7]。通过适当的搅拌可使传感器的响应时间缩短,数据重复性明显提高。然而,反应强度受到一定的影响(图3)。

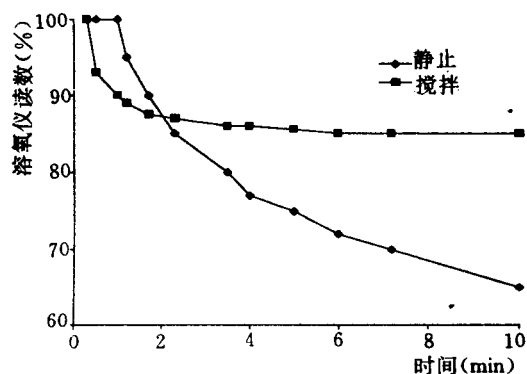


图3 搅拌对酶膜反应的影响

2.4 明胶对酶膜的影响

测定结果说明,明胶对酶膜的机械强度有一定作用,但同时也减弱了酶膜的反应灵敏度。

2.5 传感器的线性测定范围

以 GOD-POD 膜为生物传感元件, pH6.0 (CPB), 30 °C, 在搅拌情况下, 传感器测定葡萄糖的浓度-读数曲线见图4。

从图可见,传感器的线性测定范围为 0~300 μg/ml。

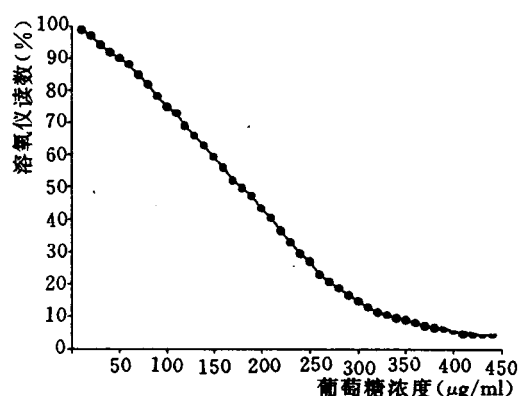


图4 传感器的浓度-读数曲线
(数据为3个重复的平均值)

参考文献

- 1 胡军等. 工业微生物, 1988, 18 (2): 4~9.
- 2 胡军. 微生物学通报, 1991, 18 (1): 38~40.
- 3 张先恩. 工业微生物, 1988, 18 (2): 38~42.
- 4 应清界等. 食品与发酵工业, 1992, 6: 44~48.
- 5 James Davis, D. Huw Vaughan and Marco F. Cardosi, Enzyme and Microbial Technology, 1995, 17: 1030~1035.
- 6 袁中一. 工业微生物. 1988, 18 (4): 23~25.
- 7 于中一等. 工业微生物. 1990, 20 (5): 6~9.

枸杞及其多糖对家兔血脂的影响

罗 琼 李瑾玮 张声华

华中农业大学食品科技系 430070

摘 要 将枸杞、枸杞多糖及其枸杞多糖-X 三者对实验性家兔高血脂症进行降血脂试验(开放型单向质反应序贯试验), 探讨枸杞及其多糖降血脂的作用。结果表明, 枸杞及其多糖能显著降低血清胆固醇及甘油三酯含量, 降脂有效率达 100%。

关键词 枸杞 枸杞多糖 降血脂

Abstract The author has obtained semifinished product LBP and its purified four groups from fructus lycii by extraction, ion-exchange cellulose and gel chromatography. Fructus lycii, LBP and LBP-X experi-