

文章编号 :1000 - 8829(2004)04 - 0001 - 02

# 用于多参数生化检测微系统的葡萄糖传感器的研究

## Study of Glucose Sensor for Multi-Parameter Biochemical Measuring Micro System

(中国科学院 电子学研究所传感技术国家重点实验室,北京 100080) 郭增军,夏善红,王 利,李华清,蔡新霞  
 (中国科学院 力学研究所非线性力学国家重点实验室,北京 100080) 任 权  
 (上海大学 通信与信息工程学院,上海 200072) 饶能高

**摘要:**基于生物酶催化的电化学电流检测原理对人体血液生化参数进行测试。利用 MEMS 技术将电极、酶、反应室以及微型流路等单片集成,研制单一生物芯片的多电极酶传感器目的是同时测定人体血液的多个生化参数。本文主要介绍传感器芯片的工作原理、结构设计、加工技术及初步实验结果,其中葡萄糖在磷酸盐缓冲盐水(PBS)中的测试范围为 1~30 m·mol/L,可以满足临床血糖检测的要求。

**关键词:**生物传感器;MEMS;葡萄糖;电化学

**中图分类号:**TN304.52

**文献标识码:**A

**Abstract:**Based on MEMS technology and electrochemical detecting principle of bio-enzyme catalysis,one biochip has been developed. It is integrated with electrodes,bio-enzyme,reaction chamber and micro-flow system,which can be applied to measure some biochemical parameters in human blood at the same time. The operation principle,structure design,process technology and preliminary experimental result of glucose sensor chips are mainly introduced. The detecting range for glucose concentration is 1~30 m·mol/L,so the glucose sensor can meet the request in clinical detection of blood glucose.

**Key words:**biosensor;MEMS;glucose;electrochemistry

随着工业化的发展和生活水平的提高,导致了人们的生活环境和饮食结构发生变化,糖尿病、心血管病和恶性肿瘤的发病率逐渐提高。例如,全世界糖尿病患者人数在 1997 年(1.43 亿)~2005 年(3.00 亿)将翻番。现在我国有糖尿病患者 4 000 万,并且每年还以 5% 的速度增加。血糖是糖尿病患者经常检测的指标,而血脂和乳酸等多个生化参数也是糖尿病患者和医生关心的重要指标,对这些参数的单一检测以及多个参数的同时检测对于糖尿病患者及大众医疗保健均有重要意义。实现糖尿病由现在的治疗医疗向将来的预防医疗转变,同时实现早期发现、

收稿日期:2003 - 11 - 23

基金项目:国家自然科学基金项目(60276039);国家高技术研究发展计划项目(2002AA404510,2002AA302106);教育部留学回国人员科研启动基金;人事部留学人员科技活动择优经费项目资助。

作者简介:郭增军,现为中国科学院电子学研究所进站博士后,主要研究方向为微系统生化检测。

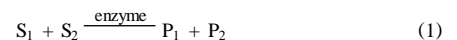
早期诊断和治疗。因此,运用先进的科学技术发展新的分析原理并研究建立有效的原位、在体、实时、在线和高灵敏度、高选择性的生物分析仪器已成为 20 世纪 90 年代以来生命科学、化学和微电子学等领域研究和开发的主要目标。为实现这一目标,微型化、集成化和智能化必将成为分析仪器的主流发展方向。由于生物传感器具有集信息采集、转换、传输和表达于一体的特点,且其测定简便、快速,装置简单,价格低廉,应用面广等众多优点,因而备受科学工作者关注<sup>[1-5]</sup>。

生物酶传感器是巧妙地利用酶对基质具有特异性的优点和电化学分析的迅速、简便等特点而制成的传感器,由固定化酶和电化学器件构成。它通过各种物理、化学换能器捕捉目标物与敏感基元之间的反应,然后将反应的程度用离散或数字电信号表达出来,从而得出被分析物的浓度。作为电化学器件使用的是各种电极,其检测方法分为电位法和电流法两种。

笔者利用 MEMS 技术、电化学分析技术、电极表面修饰技术以及酶固定化技术等进行了微型生化传感器阵列的研究,实现了血液生化参数的快速测定,该血液生化分析用传感器具有微型生物酶传感器阵列和采用 SU8(或 PDMS)获得的微型流路共同构成,整体尺寸约为 20 mm×10 mm。传感器阵列由微型两电极器件或三电极器件构成。微型流路由微沟道和微型反应测量室构成。首先在微型电极上固定葡萄糖氧化酶(COD)并将二茂铁作为电子交换媒体,对人体血清的葡萄糖进行了初步实验测试,满足临床血糖检测的基本要求。

### 1 酶生物电极工作原理

酶生物电极的工作原理就是利用酶对生化反应催化的单一性目标物质进行检测。在绝大多数情况下,生物酶会保持极高的选择性。通常在生物酶的催化下发生的生化反应



式中, $S_1$  为目标物; $S_2$  为媒介物; $P_1$  为生成物 1; $P_2$  为生成物 2。

当目标物  $S_1$  的浓度不能被直接检测时,可以通过检测媒介物  $S_2$  的减少量(或减少速度)或生成物

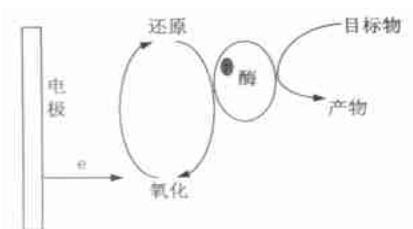
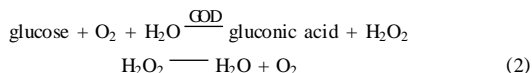


图 1 酶与电极之间电子传递示意图

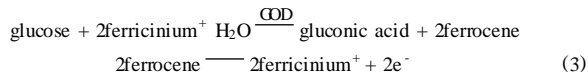
$P_1$ 、 $P_2$  的生成量(或生成速度)来获得目标物的浓度。

基于生物酶催化的生物化学电极在生物酶与化学电极之间进行电子传递的工作原理如图 1 所示。生物酶与电极之间的电子传递是利用小分子量的电子交换媒体在生物酶与电极之间进行的。电子交换媒体直接参与电极表面的电子交换,媒体的选择对测量结果的影响很大。

对于利用葡萄糖氧化酶(GOD)催化葡萄糖氧化而产生葡萄糖酸内酯和过氧化氢传感器。其反应



通过检测氧或过氧化氢含量的变化可以测定葡萄糖的浓度。但由于溶液中的氧浓度将对测量结果产生影响,而且由于溶解氧的不足还会减少葡萄糖检测的动态范围。人类的血糖浓度一般是 4~6 mmol/L,一般血中溶解氧通常只有 2.2 mmol/L,这个浓度对于氧化全血的葡萄糖来说严重不足。实验中引入二茂铁作为电子交换媒体,不但可以免去检测对氧的依赖且能使葡萄糖生化电极的线性范围可得到极大地扩展<sup>[6]</sup>,具体反应式为



正是由于二茂铁及其衍生物的优良特性,使其成为基于生物酶电化学检测中应用最为广泛的电子交换媒体。

## 2 实验与方法

### 2.1 传感器阵列的制备

以玻璃作衬底材料,利用光刻方法溅射贵金属得到需要的酶电极阵列,两电极结构由工作电极和对电极组成,三电极结构由工作电极、对电极和参比电极组成,溅射的电极材料厚度应大于 100 nm。电极阵列的微型沟道和微型反应室厚胶 SU8 或 PDMS 进行微加工制得,使用 SU8 或 PDMS 避免了在硅片上进行各向异性腐蚀的复杂工艺,易于实现高精度复制和规模化生产,非常适宜微系统生物酶传感器阵列的制作。SU8 的使用方法和操作工艺与文献[7]类似,PDMS 的制备方法见文献[8]。

### 2.2 仪器和试剂

仪器设备由 CHI 660 电化学工作站(美国华晨)和 CH-1 型恒电位仪(江苏分析仪器)及其联机系统(自组装),以及生物显微镜(北京科仪电光)、微操作仪(Narishige)等组成。

葡萄糖氧化酶等酶制剂以及 PBS 缓冲液从 SIGMA 化学公司购得,其他试剂购自北京化学试剂公司。

### 2.3 方法

利用葡萄糖氧化酶和电子交换媒体二茂铁在其中一电极上固定,对该传感芯片进行了初步测试。测定葡萄糖用的缓冲液(pH7.4)含有 0.01 mol/L 盐酸,0.25 mol/L KCl,0.137 mol/L NaCl。

试液在微操作仪的控制下滴加在电极的反应沟道入口处,溶液在毛细现象的作用下迅速移动并充满整个微型反应池。电极对二电极或三电极系统(均为超微铂电极),通过 PC 机采集实验曲线并自动进行数据处理。每次实验前必须清洗电极表面。

## 3 结果与讨论

图 2 是采用 MEMS 技术制作的微系统生物酶传感器芯片实物

图。这是微型流路和反应室在显微镜下拍摄的实物照片,微型流路沟道截面尺寸约为 1.5 mm × 0.2 mm,微型反应室约为 0.6 mm × 0.8 mm × 0.03 mm。

使用固定有葡萄糖氧化酶的修饰电极,通过电介质(铁氰化物)法,在磷酸盐缓冲液中(pH 7.0),固定 GOD 电极电位,注入葡萄糖之后,用恒电位

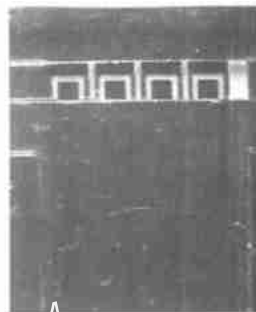


图 2 微系统传感器芯片

仪检测电极的输出电流,可以观测到电流的快速增加,并在宽阔的葡萄糖浓度范围内表现出极好的响应,如图 3 所示。结果表明 GOD 吸附在电极表面上,而且保留其催化葡萄糖氧化的生物活性。说明电极材料、结构以及表面修饰技术合理,且传感器具有选择性好、灵敏度高、响应速度快、可重复使用等优良特点。

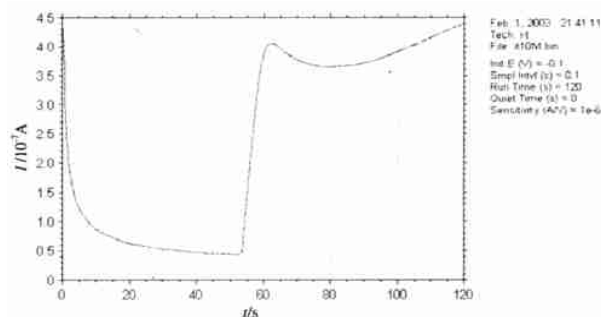


图 3 葡萄糖响应曲线

由于只是利用葡萄糖氧化酶对该传感器芯片进行了初步的实验研究,还没有得到完善的电极响应葡萄糖的校正曲线。笔者的真正目的是同时检测糖尿病人的多个生化指标,如葡萄糖和乳酸等,根据电极阵列的同时响应,测定其浓度。因此在葡萄糖氧化酶电极的基础上,主要研究酶电极阵列的处理和修饰技术以及如何消除酶电极之间的交叉干扰等问题,真正实现多功能全血生化在线检测。

### 参考文献:

- [1] Zhang Shanqing, et al. Development of a generic microelectrode array bio-sensing system[J]. Analyti Chimica Acta 421, 2002:175 - 187.
- [2] Gu éAnne-Marie, et al. A miniaturised silicon based enzymatic biosensor: towards a generic structure and technology for multi-analytes assays[J]. Sensors and Actrators B, 2002, 82:227 - 232.
- [3] Møser Isabella, et al. Biosensor arrays for simultaneous measurement of glucose, lactate, glutamate, and glutamine [J]. Biosensors & bioelectronics, 2002, 17:297 - 302.
- [4] 于兆林,等.生物传感器[M].上海:上海远东出版社,1992:2 - 4.
- [5] Ikariyama Yoshihito, et al. High performance micro-enzyme sensor using platinumized microelectrode[J]. Bull. Chem. Soc. Jpn., 1988, 61.
- [6] 李德胜. MEMS 技术及其应用[M]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学出版社, 2000:244 - 297.
- [7] Cai Xinxia, et al. Bio-electrochemical characterization of micromachined two-electrode cell sensors[A]. International Journal of Nonlinear Sciences and Numerical Simulation[C]. 2002:173 - 176.
- [8] Chen Xiang, et al. Development and characterization of DNA hybridization reaction on PDMS microchip [A]. International Journal of Nonlinear Sciences and Numerical Simulation[C]. 2002:211 - 214.