论著

文章编号:1000-5404(2006)09-0910-03

新型漏声表面波生物传感器液相检测条件的实验研究

王云霞[1],府伟灵[1],陈 鸣[1],丁 毅[2],曹 亮[2] ([1]第三军医大学西南医院检验科,重庆 400038;[2]中国电子科技集团公司第26研究所,重庆 400060)

提 要:目的 探讨漏声表面波生物传感器液相检测系统的影响因素。**方法** 构建检测和参比双路延迟线,并观察在不同影响因素如离子浓度、缓冲液pH值及不同粘度的甘油PBS溶液中两路延迟线的相位变化规律。**结果** 检测延迟线声表面波信号的相位值随溶液粘度、离子浓度、pH值的增大而发生明显的变化,而参比通道的相位曲线变化不明显。**结论** 成功构建了漏声表面波生物传感器液相检测检测技术平台,并探索了溶液的粘度、离子浓度、pH等因素对传感器的影响。

关键词:漏声表面波;传感器;延迟线;相位

中图法分类号:R312;R318.04;R446 **文献标识码**:A

Test of a new style leaky surface acoustic wave biosenser in liquid phase

WANG Yun-xia[1], FU Wei-ling[1], CHEN Ming[1], DING Yi[2], CAO Liang[2] ([1]Department of Clinical Laboratories, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038; [2]No. 26 Research Institute, China Electronics Technology Group Corporation, Chongqing 400060, China)

Abstract: **Objective** To investigate the influential factors in the detection system of the leaky surface acoustic wave biosensor in liquid phase. **Methods** A detection delay line and a reference delay line were constructed and the phase of the two delay line changes was evaluated in different ion concentration, pH value, and glycerol PBS at different viscosities. **Results** The phase of the detection delay line had marked changes in accordance with the increase of viscosity, ion concentration and pH value, and the reference delay line had no marked change. **Conclusion** The detection system of the leaky surface acoustic wave biosensor in liquid phase was designed and the influence of the viscosity, ion concentration and pH value to the leaky surface acoustic wave biosensor was investigated.

Key words: leaky surface acoustic wave; biosensor; delay line; phase

漏声表面波(leaky surface acoustic wave, LSAW)传感器是近年来发展起来的新型传感器。这种传感器广泛应用于测量温度、质量及液体密度等物理参数[1,2],与传统的体波传感器相比较,LSAW传感器不仅有较高的灵敏度和精密度,而且重复性和可靠性也明显好于体波传感器[3,4]。但是目前LSAW传感器的研制在国内外尚处于起步阶段,特别是在生物医学液相检测方面受到很多因素的影响[5,6]。因此,探讨LSAW传感器在生物反应溶液液相条件下的影响因素对于生物传感器的研制和应用具有重要意义。本研究中我们自行设计构建了LSAW传感器液相检测系统,并通过实验观察了生物反应液相检测过程中离子浓度、pH值、粘度等常见因素对LSAW生物传感器的影响。现将研究结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 双通道LSAW传感器的制作 由本室与中国电子科技集团公司第26研究所共同设计制作。即在同一块钽酸锂($LiTaO_3$)晶体上同时镀制检测、参比两路延迟线,$LiTaO_3$晶体为Y方向切割36°旋转、X方向传播LSAW。每个通道由一个漏声表面波延迟线振荡器构成,所不同的是检测通道是在真空环境下采用离子溅射的方法在反应区域表面镀制金膜,而参比延迟线是为了减低非特异性吸附的影响[7]。金膜和$LiTaO_3$晶体之间是钛。叉指换能器是用真空镀膜的方法先在基片表面镀制一层金属膜,再利用光刻技术刻出叉指电极的图形。

1.1.2 网络分析仪 日本ADVANTEST公司生产的R3767CG型多功能分析仪。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30400107)
Supported by the National Natural Science Foundation of China(30400107)

作者简介:王云霞(1978-),女,安徽省颍上县人,硕士,助理实验师,主要从事生物传感器方面的研究。电话:(023)68765447

通讯作者:府伟灵,E-mail:weilingfu@yahoo.com

收稿日期:2006-01-19;修回日期:2006-02-20

1.1.3　相位记录分析软件及数据采集系统　　由本室与中国电子科技集团公司第 26 研究所合作研制成功。双延迟线的两路振荡信号输入至鉴相器，通过相位的变化可直接反映出质量负载的变化。

1.1.4　主要试剂　　甘油（重庆化学试剂总厂）；磷酸二氢钾，磷酸氢二钠（重庆北碚化学试剂厂），均为 AR 级；超纯水（本室自制）。

1.2　实验方法

1.2.1　$LiTaO_3$ 晶振金膜表面的预处理　　在金膜表面滴加少许 piranha 溶液（30% H_2O_2∶H_2SO_4 = 1∶3），浸泡 10 min 后，超纯水反复清洗，氮气吹干备用。

1.2.2　双通道 LSAW 传感器在气相中的一致性检测　　将制备好的漏声表面波传感器以同轴电缆线联入网络分析仪测试系统，检测两路延迟线的插入损耗。传感器先在气相中稳定 30 min，观察两个通道发出的相位曲线变化是否一致。

1.2.3　双通道 LSAW 传感器在液相中的一致性检测

1.2.3.1　溶液离子浓度对传感器相位变化的影响　　配制 2.0、1.5、1.0、0.5、0.25、0.2、0.1、0.05 mol/L 等不同离子浓度的 PBS 缓冲液，将制备好的传感器联入网络分析仪检测系统，在气相中稳定 30 min，分别加入 2.0 mol/L PBS 缓冲液 50 μl 于检测和参比两个线延迟线中，检测时间为 30 min，计算机自动采集记录相位数据。一个检测阶段结束后，再进行下一个离子浓度的检测，操作步骤相同。每一浓度点作 3 次平行检测。

1.2.3.2　溶液 pH 值对传感器相位变化的影响　　配制 pH 值分别为 6.0、6.4、6.8、7.2、7.6、8.0、8.4，离子浓度均为 50 mmol/L PBS 溶液，检测方法同上。每一 pH 值作 3 次平行检测。

1.2.3.3　溶液粘度对传感器相位变化的影响　　配制 10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50% 的甘油 PBS 溶液，检测方法同上，以无甘油的 PBS 溶液作为阴性对照，观察不同浓度的甘油溶液对传感器相位的影响。实验重复 3 次取平均值。

1.3　统计学处理

以 SPSS 10.0 软件进行线性相关性分析。

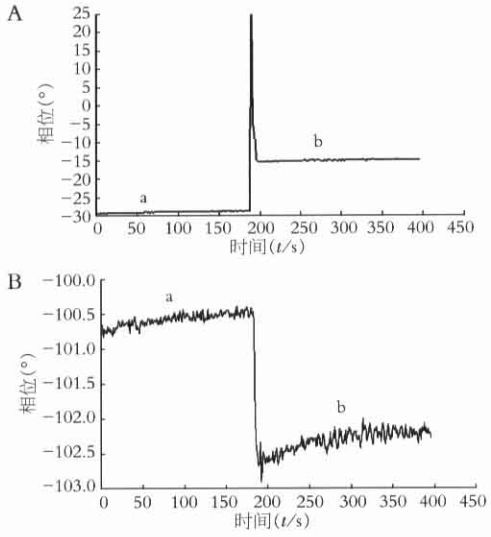
2　结果

2.1　传感器在气相与液相中的稳定性

传感器的检测和参比两个通道从气相到液相中的相位变化明显，但在气相或液相中十分稳定，其相位变化只有 ±0.5°，说明传感器的稳定性很好，换能器发出的表面波信号受外界环境的影响较小（图 1）。

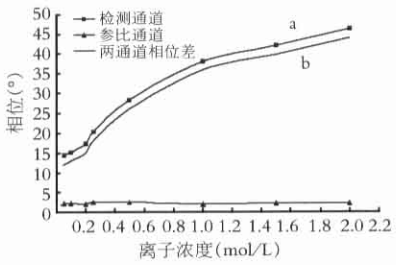
2.2　离子浓度对传感器双通道相位的影响

传感器检测通道在不同离子浓度溶液中，换能器发出的表面波信号的相位发生了明显的变化。实验结果显示，在检测通道中传感器所处溶液中的离子浓度越高，相位变化越大，且变化呈上升的趋势，离子浓度与相位的变化呈显著性差异（$P < 0.05$）；但参比通道在不同离子浓度溶液中的相位变化基本是一致的，变化只有 2° ~ 3°，表明离子浓度与相位变化之间没有显著性差异（$P > 0.05$）；将检测通道换能器发出的 LSAW 信号的相位减去非特异性的吸附，即两通道相位差的变化曲线，与检测通道相位的变化曲线较一致（$P < 0.05$），符合我们的预期结果（图 2）。



A：检测通道；B：参比通道；a：传感器处于气相；b：传感器处于液相

图 1　双通道传感器检测通道从气相到液相的变化

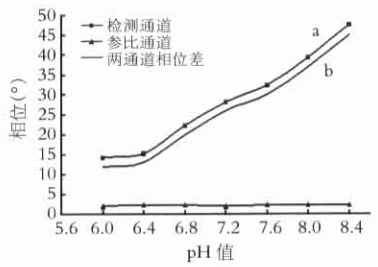


a：$P < 0.05$，b：$P < 0.05$，与相邻低离子浓度组相比

图 2　不同离子浓度对检测通道和参比通道相位变化的影响

2.3　pH 值对传感器双通道相位的影响

溶液的酸碱度对传感器的影响较大。检测通道的相位随 pH 值增大而发生较大变化，但在酸性溶液中特别是 pH < 6.4 时相位虽然逐渐变大，但变化幅度较小。当 pH > 6.4 时传感器相位变化较大，有显著性差异（$P < 0.05$）；相比之下参比通道在不同的 pH 溶液中相位的变化无显著性差异（$P > 0.05$）。说明传感器的特异性较好，能够吸附非特异性物质对传感器的干扰，减少外界环境对传感器的影响（图 3）。

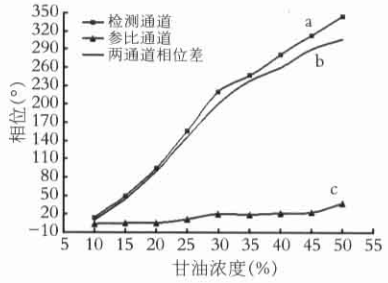


a：$P < 0.05$，b：$P < 0.05$，与相邻低 pH 值组相比

图 3　溶液 pH 值对检测通道和参比通道相位变化的影响

2.4 溶液粘度对传感器相位变化的影响

在不同浓度的甘油PBS溶液(pH 7.0)中,两个通道换能器发出的信号相位都有显著的差异,随着溶液粘度的增加,检测通道的相位变化逐渐增大,相位变化有显著性差异($P<0.05$),说明检测通道的相位与溶液的粘度具有显著的线性关系;参比通道的相位随着溶液的粘度增大也发生了微弱的变化,说明溶液的粘度对传感器的参比通道也有一定的影响,相位变化有显著性差异($P<0.05$)(图4)。



a:$P<0.05$, b:$P<0.05$, c: $P<0.05$, 与相邻低甘油浓度组相比

图4 溶液粘度对检测通道和参比通道相位变化的影响

3 讨论

近年来基因传感器在快速检测方面显示了诱人的应用前景[8,9]。随着对声表面波的不断深入研究,有人[10]报道了声表面波在免疫传感器方面研究,但目前尚少见关于漏声表面波生物传感器在生物医学方面的研究报道。

在我们的前期研究中张波[11]、刘明华等[12]已经对压电石英体波传感器在液相中受各种环境因素的影响做了详细的研究与探讨,但是体波传感器在检测过程中无法彻底消除温度、湿度、震动等外界条件的干扰。本研究中我们通过探索溶液的pH值、离子浓度、不同粘度等因素对新型LSAW生物传感器在液相反应中的影响,结果表明缓冲液离子浓度对传感器检测通道输出电信号的相位影响较大,随着溶液离子浓度的逐渐增加,相位变化值也不断变大。参比通道主要是吸附非特异性反应,其相位变化只有2°~3°,说明双通道漏声表面波传感器特异性较好。

溶液的酸碱度是影响生化反应的一个重要化学指标,本研究观察了pH从6.0到8.4范围内传感器相位的变化情况。结果表明在不同pH溶液中换能器发出的电信号相位的变化也各不相同。检测通道换能器发出的电信号相位的变化随pH值的升高而不断增大。但参比通道在不同pH值溶液中,换能器发出的电信号相位变化基本一致。

实验结果表明随着溶液的粘度逐步变大,液体对传感器的应力就越来越大,即液体的阻尼效应越明显。随着溶液粘度的逐渐增大,检测通道的相位变化值呈直线变化。在各种粘度溶液中,参比通道换能器输出的电信号相位也发生了微弱的变化,溶液粘度与相位变化呈显著性差异($P<0.05$)。实验数据表明溶液粘度对传感器检测通道和参比通道均有影响,在我们今后的研究中有待进一步的改进。

生物传感器技术是20世纪末发展起来的高新技术之一,双通道传感器是一种新型传感器。本研究创新性地将LSAW传感器用于生物医学研究,并将传感器的检测系统制备成双延迟线型结构,在检测过程中不仅避免了温度、湿度、振动等非特异性因素的影响,而且还提高了传感器的灵敏度和特异性,成功构建了LSAW传感器液相检测系统,为下一步进行临床标本检测研究打下了坚实的基础。

参考文献:

[1] RAPP M, REIBEL J, VOIGT A, *et al*. New miniaturized SAW-sensor array for organic gas detection driven by multiplexed oscillators [J]. Sensors and Actuators B, 2000, 65(1-3): 169-172.

[2] HUANG X J, MENG F L, PI Z X, *et al*. Gas sensing behavior of a single tin dioxide sensor under dynamic temperature modulation [J]. Sensors and Actuators B, 2004, 99(2-3): 444-450.

[3] 夏宗仁,李春忠,崔 坤. 声表面波器件用Y36°切$LiTaO_3$晶片表面加工研究[J]. 人工晶体学报, 2001, 30(4): 419-421.

[4] 徐海林,陈培林. 声表面波器件叉指换能器的制作技术[J]. 电子工程师, 2002, 28(4): 19-21.

[5] DARINSKII A N, BIRYUKOV S V, WEIHNACH M. Fundamental frequency degeneracy of standing surface acoustic waves under metallic gratings on piezoelectric substrates [J]. J Acoust Soc Am, 2002, 112(5 Pt 1): 2003-2013.

[6] GAMBLE K J, MALOCHA D C. Simulation of short LSAW transducers including electrode mass loading and finite finger resistance [J]. IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control, 2002, 49(1): 47-56.

[7] 叶学松,樊海涛,杨明艳,等. 声表面波液相金属离子传感器[J]. 传感器技术学报, 2004, 17(2): 280-284.

[8] NAKAMURA H, KARUBE I. Current research activity in biosensors [J]. Anal Bioanal Chem, 2003, 377(3): 446-468.

[9] 刘 芳,刘仲明,李家洲. DNA生物传感器在"基因诊断"中的实验研究[J]. 中国医疗器械杂志, 2004, 28(1): 37-39.

[10] KWON Y, ROH Y. Development of SH-SAW sensors for underwater measurement [J]. Ultrasonics, 2004, 42(1-9): 409-411.

[11] 张 波,府伟灵,蒋天伦,等. 压电石英晶体传感器液相检测的影响因素[J]. 第三军医大学学报, 2002, 24(1): 8-11.

[12] 刘明华,府伟灵,汪松林,等. 压电基因传感器阵列的初步构建[J]. 第三军医大学学报, 2001, 23(7): 810-812.

(编辑 汪勤俭)