DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.18.019
第26卷第18期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 18
2004年9月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Sep. 2004

文章编号:1000-5404(2004)18-1661-03

论著

压电石英晶体生物传感器的血浆凝血因子检测系统的效能研究

屈 玲[1],邓 勇[2],府伟灵[1] ([1]第三军医大学西南医院检验科,重庆 400038;[2]上海交通大学自动化系,上海 200030)

提 要:目的 研究用压电石英晶体传感器进行凝血因子检测的系统,介绍血浆凝血因子检测系统的工作原理。方法 利用压电石英晶体的逆压电反应,基于模糊和解耦控制技术,采用单片机进行恒温恒湿控制和频率计数,测得血浆凝集时间,来确定凝血因子的活性和含量。结果 本检测系统提高了凝血因子检测的方便性、精度和一致性。结论 压电石英晶体传感器用于凝血因子检测具有精度高和成本低等优点,有广阔的临床应用和推广前景。

关键词:压电石英晶体;生物传感器;凝血因子;检测;系统
中图法分类号:R392-33;R394-33;R446.11 文献标识码:A

A system for detection of blood coagulation factors using piezoelectric quartz crystal biosensor

QU ling[1], DENG Yong[2], FU Wei-ling[1] ([1]Department of Clinical Laboratory, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038; [2]Department of Automation, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200030, China)

Abstract: Objective To design a system for the detection of coagulation factors using piezoelectric quartz crystal (PQC) sensors and to introduce its operating principle and the main components. Methods The contrary-piezoelectric response of quartz crystal was used. Based on the fuzzy and decoupling control, a singlechip computer was used for constant-temperature and constant-humidity control and frequency count. The plasma coagulation time was measured for the purpose of determination of the activities and contents of the coagulation factors. Results The system was convenient, precise, and consistent for the detection of the coagulation factors. Conclusion PQC sensors with high accuracy and low cost can be used in the detection of coagulation factors and has a bright future in clinical practice.

Key words: piezoelectric quartz crystal; biosensor; coagulation factor; detection; system

凝血因子的分析在临床检查中被广泛应用,目前所有的检测方法都是以凝集反应为基础,通过血液凝集过程中反应体系的粘度、光密度等的变化来判断血液凝集反应的终点[1]。血液凝集终点的判断可通过自动化仪器或肉眼观察。肉眼观察,秒表计时,检测结果误差大,重复性较差;自动化仪器特别是磁珠检测法结果准确、快速、重复性好,但仪器昂贵、检测成本高,目前尚无具有自主知识产权的国产化仪器,故需寻找准确、快速、成本低廉的新方法。压电石英晶体传感技术是一种新型传感检测技术,石英晶体振荡频率对晶体表面质量负载和反应体系物理性状如密度、粘度、电导率等的改变高度敏感,具有亚 ng 级的质量检测能力,它在工业、农业、国防、生命科学等诸多领域极富有应用前景[2~4]。本研究主要介绍一个基于压电石英晶体传感技术的血浆凝因子检测系统。

1 材料与方法

压电石英晶体生物传感器是应用"逆压电效应"进行测量的。1959年德国物理学家 Sauerbrey[5] 导出了压电石英晶体频移与晶体表面均匀吸附的物质质量之间变化关系的 Sauerbrey 方程,建立了压电石英晶体谐振测量技术的理论基础。交变激励电压施加于石英晶体两侧的电极时,石英晶体会产生机械振荡。当交变激励电压的频率与石英晶体的固有频率相同时,形成压电谐振。若石英晶体表面沉积了一定质量的物质,其振荡

基金项目:国家"863"计划重大专项基金资助项目(2002AARZ2023),国家"九五"科技攻关项目(96-A23-04-04),国家自然科学基金资助项目(30270388)
Supported by the Major Program of National "863" Research Projects (2002AARZ2023), the "Ninth-five Year" Plan for Sci & Tech Research of China (96-A23-04-04), and the National Natural Science Foundation of China (30270388)
作者简介:屈 玲(1973-),女,陕西省洛南县人,硕士研究生,技师,主要从事凝血传感器方面的研究。电话:(023)68753638
通信作者:府伟灵,E-mail:weilingfu@yahoo.com
收稿日期:2004-05-06;修回日期:2004-07-20

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

频率就会发生相应变化。频率的改变正比于压电石英晶体质量的增加。

压电石英晶体生物传感器选择的吸附物是酶、抗原、抗体等生物识别物质。将这些物质均匀地涂布在压电晶体上，利用酶与底物反应形成酶-底物复合物，抗原和抗体反应形成免疫结合物等性质，就可以实现吸附物与待测物的特异性结合。通常将可选择性吸收待测物质的某种材料均匀地涂在压电石英晶体表面，得到一个基础频率 f_1，然后将其放到有待测物质的气体或液体中，压电石英晶体与被测物质作用而形成复合物，再对吸附了被测物质后的压电石英晶体进行频率测定，从而得到新的频率 f_2，振动频率的变化

$$\Delta F = f_2 - f_1 \qquad (1)$$

石英晶体谐振频率和晶体电极表面质量负载变化之间的关系可由 Sauerbrey 方程表示：

$$\Delta f = \frac{-2f^2 \Delta m}{A[\rho_q \mu_q]^{1/2}} \qquad (2)$$

其中，Δf 是覆盖上的晶体的共振频率的变化，f 是晶体的共振频率，Δm 是增加的质量，A 是覆盖的晶体的有效面积，ρ_q 和 μ_q 分别是石英晶体的密度和剪切模量。Kanazawa 等[6]还发现 Δf 可能取决于所接触溶液的粘度和密度。

$$\Delta f = -f^{3/2}\left(\frac{\rho_1 \eta_1}{\pi \rho_q \mu_q}\right)^{1/2} \qquad (3)$$

其中 ρ_1 和 η_1 分别是液体的绝对密度和粘度。

系统采用单片机和 PC 机的主从式结构。单片机选用 89C51，其功能一是对石英晶体传感器的输出频率进行计数并将计数值通过 RS232 总线传输到上位机，二是完成恒温、恒湿控制算法，以 PC 机为平台实现凝集时间检测的显示和其它处理功能。系统框图如图 1 所示。

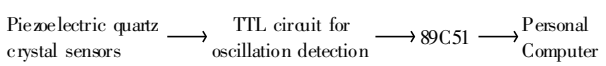


图 1 系统框图

Fig 1 Block diagram of the detecting system

石英晶体采用 AT 切向，电极为银膜，基频 10 MHz，晶体直径 8.5 mm，电极直径 4.0 mm。石英晶体振荡频率检测仪采用自激式振荡电路，TLL 电平输出，检测室为 12 cm×7 cm×4 cm 的金属密闭室，室内有保湿和恒温功能。

众所周知，在温度、湿度不稳定的条件下，压电石英晶体传感器的频率极易不稳定，检测结果也不准确。为了将压电石英晶体凝血传感器运用到临床检测中，就必须满足恒温、恒湿的要求[7]。温、湿度控制是一种非线性的、滞后的时变的复杂过程，采用传统的 PID 控制是不适宜的[8,9]。而且在系统运行过程中，温湿度除受控制作用外，还相互影响，如图 2 所示。例如，加热不仅使温度上升，同时也因会使湿度增高。而采用除湿器抽排湿气的同时，又因引入外部空气而改变了恒温恒湿箱内的温度。如此交叉耦合，使得采用常规控制方法难以达到理想效果。现有的研究和实践还表明，对于无法取得精确数学模型或数学模型相当粗糙的系统，采用模糊控制可以获得令人满意的控制效果[10]。为解决以上问题，我们采用了基于模糊与解耦控制的温湿度方法。系统工作原理和模糊解耦如图 3 所示。

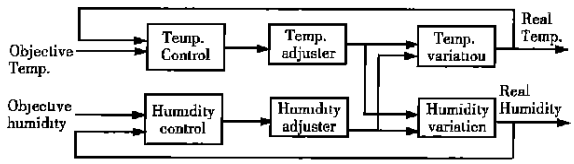


图 2 温度和湿度的耦合

Fig 2 Coupling relations between temperature and humidity

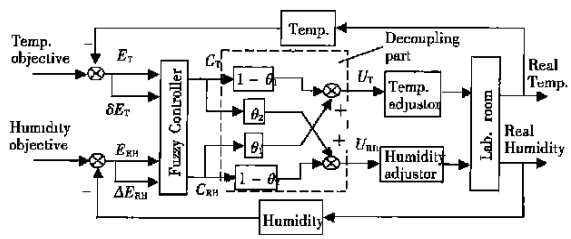


图 3 模糊及解耦工作过程

Fig 3 Operating process of the fuzzy and decoupling controls

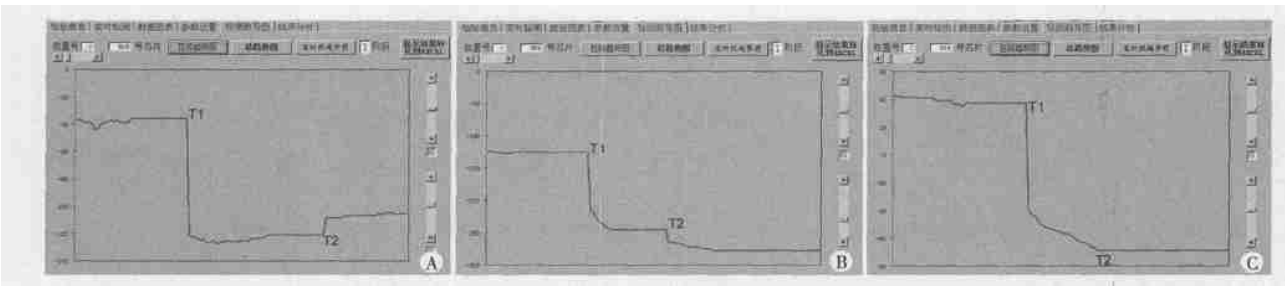
检测系统中的恒温恒湿控制采用了模糊及解耦控制方法，模糊和解耦控制系统的具体软件及算法、控制流程、恒温恒湿箱的结构设计[11]。本研究的 89C51 单片机完成计数功能并传输计数值，PC 机判断下降的起点（即为血浆凝集反应的起点 T1）和变化的转折点（即为血浆凝集反应的终点 T2），最终确定血浆凝集时间。除了恒温恒湿外，该检测室还具有抗辐射电磁辐射、气流冲击等功能，样机由本实验室和信息产业部第 26 所合作研制。

2 结果

应用于模糊和解耦控制技术，采用单片机进行恒温恒湿控制和频率计数，检测血浆凝集过程。石英晶体振荡频率由于加入启动物而导致反应体系的粘度、密度瞬时增加，晶体表面质量负载增加，晶体频率呈快速下降，下降的起点即为凝集反应的起点（T1）；随血浆凝集反应的不断进行，纤维蛋白原分子分解多肽化合物和纤维蛋白单体，形成网状的纤维蛋白多聚体。当反应结束时，此时的频率变化由凝块粘度、密度、质量的吸附、表面膜性质的改变、晶体表面凝块的厚度而决定的；由于凝块凝集的过程类似于膜在晶体上形成，当凝块较厚重时，传感器对蛋白质的质量响应的灵敏度随蛋白质离晶体表面的距离增加而线性衰减，出现了频率在反应结束的一瞬间突然上升（图 4A）；反应结束时，粘度、密度而决定的频率变化，频率再次下降体现了溶液的粘度、密度越高等效的质量负载越大而导致的频率下降（图 4B）；凝集反应是相继酶解激活的反应过程，振荡频率反映出一个逐步稳定的过程，启动反应开始，粘度、密度变化并增高，频率逐渐下降，下降过程是一个反应过程，也是一个反应体系逐渐平衡的过程，因此反应结束时频率稳定（图

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

4C); 凝集反应结束, 检测池中的各种物质保持一定的平衡, 晶体的振荡频率稳定。反应过程中频率瞬时上升、下降、稳定的点为凝集反应的终点(T2)。计算这两点的时间T2～T1, 即为血浆凝集时间, 查标准曲线得凝血因子的活性和含量。



A: Increased frequency; B: Decreased frequency; C: Stable frequency; T1: Addition of start-up substance; T2: The end point of coagulation

图 4　血浆凝集反应过程石英晶体振荡频率趋势图

Fig 4　Trendgram of the frequency changes of the quartz crystal during the plasma coagulation reaction

3　讨论

本研究提出了一种基于压电石英晶体生物传感器的血浆因子的检测系统, 介绍了系统的工作原理, 给出了系统的主要构成。试验结果表明, 该系统使用方便, 检测结果精度较高。由于采用了模糊和解耦控制技术控制温度和湿度, 恒温恒湿条件得到有力保障, 实际运行时, 试验室内温度控制误差不大于±2 ℃, 温度误差控制率不大于 3 ℃/min, 相对湿度误差不大于 ±5%, 每分钟湿度误差控制率不大于 8%, 精度和波动率满足实验要求。将该恒温恒湿箱用于凝血因子的检测, 能够满足不同地域、不同季节和不同天气条件下的使用需要, 大大减少了原来仪器的标定成本和工作量, 检测的一致性和精度也得到了有力保障, 使用效果令人满意, 说明本设计是成功的。

本研究的结果提示, 压电石英晶体传感器用于凝血因子检测具有使用方便、精度高和成本低等优点, 有广阔的临床应用和推广前景。

参考文献:

[1] 彭黎明, 江　虹. 自动凝血分析进展[J]. 上海医学检验杂志, 2001, 16(1): 57－60.

[2] 张　波, 府伟灵. 压电石英晶体生物传感器及其应用[J]. 生物技术通讯, 2002, 13(2): S20－S24.

[3] 张　波, 府伟灵, 毛琼国, 等. 压电石英晶体甲胎蛋白免疫传感器的实验研究[J]. 第三军医大学学报, 2004, 25(13): 1174－1177.

[4] 张　波, 府伟灵, 杨　新, 等. 压电石英晶体传感器检测血浆凝血酶原时间及其初步应用[J]. 第三军医大学学报, 2002, 24(1): 32－34.

[5] Sauerbrey G. Use of vibrating quartz for thin film weighing and microweighing[J]. Z. Phys, 1959, 155(2): 206－222.

[6] Kanazawa K K, Gordon J G. The oscillation frequency of a quartz crystals immersed in organic liquids [J]. Anal Chim Acta, 1985, 175(9): 99－105.

[7] Petr Skládal, Piezoelectric Quartz Crystal Sensors Applied for Bioanalytical Assays and Characterization of Affinity Interactions [J]. Braz. Chem Soc, 2003, 14(4): 491－502.

[8] 涂玲英, 肖俊武, 张　宇. 智能型温湿度测控仪研究与实践[J]. 湖北工学院学报, 2002, 17(1): 50－52.

[9] 马善农, 王怀平. 基于 P87LPC76x 系列单片机的温、湿度测控系统[J]. 电子产品世界, 2002, 2B: 43－46.

[10] 黄元峰, 苗晓菲, 孙裕儒, 等. 由 PIC 单片机实现的温湿度模糊控制系统[J]. 北华大学学报, 2002, 3(4): 352－356.

[11] 屈　玲, 邓　勇. 基于模糊与解耦控制的医用恒温恒湿箱用于凝血传感器的研究[J]. 重庆医学, 2004, 33(8): 1145－1147.

(编辑　王　红)

参考文献中英文作者名的著录方法

医学期刊的论文中, 引用英文文献的比例很高, 但有不少作者将英、美人的姓名搞错, 以至用光盘核对时出现错姓、错名或姓名全错。英、美人姓名的习惯写法是: 名-名-姓, "名"可以有 1 个、2 个或 3 个; 但"姓"只有 1 个。因此, 从书籍或期刊中的姓名转录到文献时, 要将次序调整为姓-名-名。姓是不可以简写的; "名"可以缩写, 用第一个字母大写, 不用缩写点。数据库在著录作者姓名时, 已经调整为姓-名-名, 可照录。

例如: John Quincy Public 写为 Public J Q。

本刊编辑部

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net