DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.01.005
第24卷第1期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 1
8 2002年1月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jan. 2002

论著

文章编号:1000-5404(2002)01-0008-04

压电石英晶体传感器液相检测的影响因素

张 波[1],府伟灵[1],蒋天伦[1],陈 鸣[1],俞 凡[2],陈小兵[2] ([1]第三军医大学附属西南医院检验科,重庆 400038;[2]信息产业部第26研究所,重庆 400060)

提 要:目的 探讨压电石英晶体传感器液相检测的影响因素。方法 采用AT切向镀金膜的石英晶体制成2×5型石英晶体微阵列,观察晶体振荡频率在不同粘度和密度的甘油PBS(0.15 mol/L pH 7.0)溶液、不同浓度的NaCl溶液、不同pH的PB溶液(0.067 mol/L)及不同体积的PBS溶液(0.15 mol/L pH 7.0)中的变化规律以及机械冲击和重新加样对晶体振荡频率的影响。结果 石英晶体振荡频率随溶液粘度和密度、离子浓度、pH的增大而降低。溶液体积、机械冲击和重新加样对晶体频率基本无影响。结论 石英晶体传感器所处溶液体系的性状如粘度、密度、离子浓度、pH等因素对其振荡频率有较大的影响,石英晶体传感器用于生物反应检测时应减少和避免上述因素的干扰。

关键词:压电;传感器;石英晶体
中图法分类号:R312;R446;TP212.3 文献标识码:A

Influential factors of piezoelectric quartz crystal sensor in liquid phase

ZHANG Bo, FU Wei-ling, JIANG Tian-lun, CHEN Ming, YU Fan, CHEN Xiao-bing (Department of Clinical Laboratories, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: **Objective** To investigate the influential factors in the determination with piezoelectric quartz crystal sensor in liquid phase. **Methods** A quartz crystal microarray (2× 5), 10 MHz quartz AT-cut with gold coated electrodes was made. Frequency changes were evaluated in glycerol PBS (0.15 mol/L, pH 7.0) at different viscosities and densities, NaCl at varied concentrations, phosphate solution (0.067 mol/L) at differing pH values, PBS buffer (0.15 mol/L, pH 7.0) at varying volumes respectively. And, the effects of repeatedly impacting and adding solution on the frequency of the crystal were estimated. **Results** The oscillation frequency was decreased in accordance with the increase of viscosity, density, ion concentration and pH value. The data showed that the volume of PBS, repeatedly impacting and adding solution had no influence on the frequency. **Conclusion** The characteristics of the contacting solution such as viscosity, density, concentration of ion and pH value markedly interfere the oscillation frequency of quartz crystal markedly. Attention should be paid on these factors in biological determination.

Key words: piezoelectricity; sensor; quartz crystal

压电石英晶体传感器是一类新型传感器,它对晶体表面质量负载和所处体系性状如密度、粘度、电导率、介电常数等的变化非常敏感,具有ng级的质量检测能力。压电石英晶体传感器能够实时检测,为获取丰富的在线信息提供了强有力的手段[1]。特别是压电石英晶体在液相稳定振荡获得成功以来,压电石英晶体传感器广泛用于生物传感器领域,出现了免疫、核酸、凝血等多种不同用途的压电石英晶体生物传感器,获得了迅速发展[2~4]。因此,探讨压电石英晶体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较大的实用价值。本实验观察了压电石英晶体传感器用于生物反应液相检测过程中常见的影响因素如溶液的离子浓度、粘度、密度、pH、体积、机械冲击和重新加样等对石英晶体振荡频率的影响。现将实验结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器与器材

1.1.1 石英晶体微阵列 石英晶体采用AT切向,镀金膜电极,晶体基频为10 MHz,晶片直径8.0 mm,电极直径4.0 mm。采用树脂把石英晶片粘结在2×5个孔并预埋电路的印刷电路板上,形成检测池的底部,晶体两面的金膜电极接点与预埋电路的接点连接,制成2×5型石英晶体微阵列,每个检测池的容积为150μl。由我室与信息产业部第26研究所研制。

1.1.2 压电石英晶体振荡频率检测与分析系统 电路采用自激式振荡电路,2×5型多信道检测,频率信号为TTL电平输出,检测室具有控温、屏蔽、防震动等装置。ACL-8454多功能频率记数卡(ANDLINK公司产品)内置于方正奔III飞越型计算机(北大方正集团公司)。《PESA分析软件2.0》具有频率记数、差值显示、频率变化趋势图显示等功能,由我室与信息产业部第26研究所共同设计制作。

1.1.3 主要试剂 甘油(重庆化学试剂总厂),氯化钠,磷酸二氢钾,磷酸氢二钠(重庆北碚化学试剂厂),均为AR级。三蒸水(本室自制)。

1.2 方法

1.2.1 压电石英晶体振荡频率检测系统的建立 2×5型石英晶体微阵列插入压电频率检测仪检测室的插口上;频率检测仪的信号输出接口通过屏蔽数据线与频率记数卡接口连接(频

基金项目:国家"九五"科技攻关项目(96-A23-04-04);国家自然科学基金资助面上项目(39870831);国家高技术计划生物技术领域青年基金资助项目("863"项目);全军"九五"医学科研计划资助面上项目(98MO94);全军"十五"医学科研计划资助面上项目(01MA180);全军"十五"医学科研计划指令性课题(01LO65);重庆市科委风险投资基金资助项目

作者简介:张 波(1969-),男,四川省安岳县人,博士研究生,主治医师,讲师,主要从事医学实验诊断及相关新技术、新仪器方面的研究,发表论文10篇。电话:(023)68753687
通信作者:府伟灵(E-mail:weilingfu@yahoo.com)

收稿日期:2001-10-30;修回日期:2001-12-12

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

率记数卡内置于计算机内), 信号由计算机频率采集处理系统自动记录和处理。

1.2.2　溶液离子浓度对晶体振荡频率的影响　　配制 4.0、3.0、2.0、1.0、0.5、0.25、0.125、0.0625 mol/L 的 NaCl 溶液。每个检测阶段加入相同离子浓度的 NaCl 溶液 80 μl, 10 个通道平行检测, 检测时间每阶段均为 30 min, 计算机自动采集记录频率数据。一个检测阶段结束后, 检测池用三蒸水清洗 3 次, 再进行下一个离子浓度的检测。

1.2.3　溶液粘度对晶体振荡频率的影响　　配制 0%、5%、10%、20%、25%、30%、35%、40%、50% 的甘油 PBS 溶液 (50 mmol/L KH_2PO_4/Na_2HPO_4, pH 7.0)。检测方法同上。以 PBS 溶液(0%)作为参比检测。血清标本采用乙肝三对检测后的多个正常标本的混合血清, BeckmanCX4 自动生化分析仪测定其总蛋白浓度为 77.8 g/L, 配制成 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% 的不同浓度的血清 PBS 溶液(pH 7.0), 观察不同浓度的血清稀释溶液对晶体振荡频率的影响。

1.2.4　溶液 pH 对晶体振荡频率的影响　　配制 0.067 mol/L 的 Na_2HPO_4 和 KH_2PO_4 溶液, 参考文献[5] 的方法配制成不同 pH 的磷酸盐缓冲液: pH 4.59、5.16、5.61、6.11、6.93、7.73、8.79。检测方法同上。每一浓度点作 10 次平行检测。

1.2.5　溶液不同体积对晶体振荡频率的影响　　检测方法同上。第一次加入 50 μl 50 mmol/L 的 PBS 缓冲液(pH 7.0), 每往下一个阶段增加 10 μl PBS 缓冲液, 至总体积 120 μl。

1.2.6　机械冲击和多次重复加样对晶体振荡频率的影响　　加入 80 μl PBS 缓冲液, 检测至液相频率稳定后, 用加样器冲击 3 次, 继续检测 30 min 至频率稳定, 重复上述过程 9 次。重复加样按以下方法进行: 第一次加入 80 μl PBS 缓冲液, 检测 30 min 至液相中频率稳定后, 用加样器吸干, 重新加入相同体积的 PBS 缓冲液, 继续检测 30 min, 重复上述过程 9 次。

1.3　统计学分析

采用 SPSS 统计分析软件作单因素方差分析和配对资料 t 检验。

2　结果

2.1　石英晶体振荡频率在不同浓度 NaCl 溶液中的变化

在不同浓度的 NaCl 溶液中石英晶体振荡频率发生明显变化, 见图 1。数据显示, 晶体所处溶液体系的离子浓度越高, 石英晶体的振荡频率越低, 随着溶液离子浓度的增加, 石英晶体的振荡频率逐渐下降, 且频率的变化呈加快的趋势。当溶液离子浓度低于 0.25 mol/L 以下时, 溶液离子浓度对石英晶体振荡的影响减弱, 频率变化小于 10 Hz。

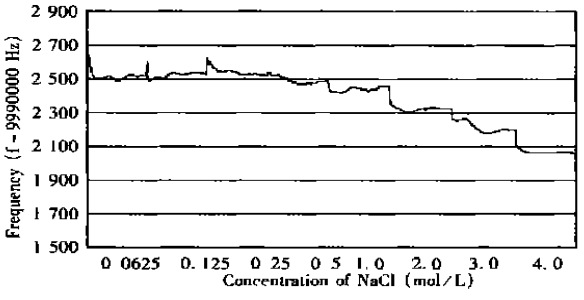


图 1　石英晶体振荡频率在不同浓度 NaCl 溶液中的变化趋势

Fig 1　Typical frequency changes of quartz crystal in NaCl solution at different concentrations

2.2　石英晶体振荡频率在不同粘度和密度溶液中的变化

在不同浓度的甘油 PBS 溶液(pH 7.0)和不同稀释度的人血清溶液中, 晶体振荡频率变化显著, 随着溶液粘度和密度的增加, 石英晶体的振荡频率呈阶梯状快速下降, 当溶液粘度达到 50% 以上时, 晶体振荡停止, 晶体振荡频率变化与溶液粘度之间的关系, 见图 2。小图以 Δf 的对数作图($\Delta f = f_0 - f_1$; f_0 为晶体在 PBS 溶液中的频率, f_1 为不同浓度甘油溶液中的频率)。从图中可以看出频率变化的对数与甘油溶液的浓度呈良好的直线关系, 表明溶液粘度和密度对晶体频率的影响很大。血清标本对石英晶体的振荡有明显影响, 其规律与在甘油中变化相同, 但频率下降幅度比在甘油中小, 血清标本蛋白质浓度越高, 对晶体振荡频率的影响越大。当血清稀释到 50% 以上, 晶体振荡频率变化不显著。

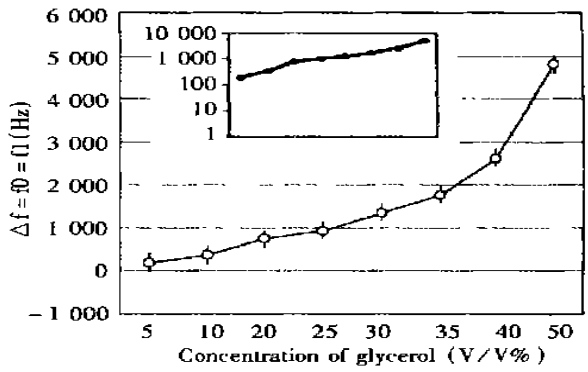


图 2　石英晶体振荡频率在不同浓度甘油溶液中的变化

Fig 2　Oscillation frequency of quartz crystal response to different concentrations of glycerol

2.3　在不同 pH 溶液中石英晶体振荡频率的变化

图 3 显示了石英晶体在酸性和碱性环境中其振荡频率的变化规律($\Delta f = f_{pH.59} - f$)。结果表明, 石英晶体的振荡频率随 pH 值的增大而降低。在溶液 pH< 6.11 时, 频率虽逐渐下降, 但频率变化无显著性差异($P > 0.05$); 当溶液 pH> 7 时, 石英晶体振荡频率随 pH 值的增大降低较快, 频率变化有显著性差异($P < 0.05$)。

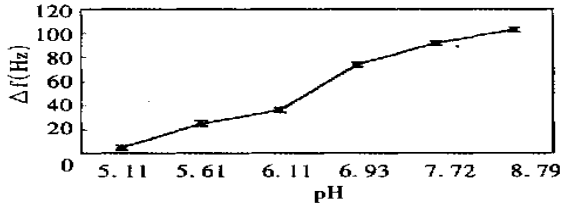


图 3　石英晶体振荡频率在不同 pH 溶液中的变化

Fig 3　Oscillation frequency of quartz crystal in buffer of different pH values

2.4　溶液不同体积、机械冲击和重复加样对石英晶体振荡频率的影响

表 1 显示, 在不同体积的 PBS 溶液中, 石英晶体的振荡频率无显著性差异($P > 0.05$)。表 2 列出了石英晶体在 PBS 缓冲

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

溶液中的振荡频率在用加样器冲击和吸干后重新加样前后的变化。结果表明外界短暂的机械冲击或重新加样，石英晶体的振荡频率变化显著，但经过一定时间的平衡后，晶体的振荡频率会回复到原振荡频率值附近。对同一晶体进行 9 次重复检测，其稳定的振荡频率以 $\bar{x} \pm s$ 表示，频率变化范围均在 ±10 Hz 以内。

表 1 石英晶体在不同体积的 PBS 溶液中的振荡频率变化（$f - 9.99 \times 10^6$ Hz）

Tab 1 Oscillation frequency of quartz crystal in different volumes of PBS buffer（$f - 9.99 \times 10^6$ Hz）

Crystal number	50(μl)	60(μl)	70(μl)	80(μl)	90(μl)	100(μl)	120(μl)
1	4 125	4 116	4 127	4 121	4 127	4 130	4 119
2	3 854	3 861	3 865	3 864	3 850	3 852	3 859
3	2 781	2 778	2 773	2 790	2 787	2 776	2 777
4	3 118	3 107	3 124	3 111	3 105	3 127	3 104
5	2 578	2 563	2 579	2 584	2 566	2 559	2 574
6	1 998	1 987	2 011	2 007	1 990	2 013	1 986
7	6 647	6 658	6 654	6 634	6 639	6 660	6 653
8	5 528	5 510	5 531	5 538	5 530	5 515	5 534
9	7 098	7 079	7 091	7 109	7 111	7 087	7 094
10	3 587	3 574	3 569	3 594	3 604	3 574	3 599

※: $P > 0.05$ represent no significantly difference between every groups

表 2 冲击和重新加样对石英晶体振荡频率的影响（$f - 9.9915 \times 10^6$ Hz）

Tab 2 Effects of impact and repeated addition of sample on the Oscillation frequency of quartz crystal response（$f - 9.9915 \times 10^6$ Hz）

Factors	1	2	3	4	5	6	7	8	9	$\bar{x} \pm s$
Impact	31	28	16	18	35	29	22	32	12	24.78±8.54
Addition of solution	23	28	19	9	1	31	28	15	13	18.56±9.98

3 讨论

从压电石英晶体传感器的原理上看，其具有 ng 级的质量检测能力，只要有物质的作用或变化引起电极或功能膜层表面的质量负载或所处液体性状等的变化，即可被压电石英晶体传感器检测出来。另一方面从方法学的角度来说，灵敏度越高，影响因素越多，干扰就越大。已有关于压电石英晶体传感器检测影响因素的探讨都是基于纯化学条件下进行，以有机溶液研究的最多。对于液相使用的压电石英晶体传感器，溶液的粘度、密度、电导率、介电常数等都会影响石英晶体的振荡频率，其中粘度的影响尤其明显[6,7]。压电石英晶体生物传感器大多数要求在液相中使用，生物反应也是在模拟人体内环境的条件下进行的，特别是用于临床检测的压电石英晶体生物传感器如免疫传感器、凝血检测传感器等，均要求在液相中检测，所用标本通常是血浆、血清、尿液等体液，这些液体都是电解质溶液且含有蛋白质，具有一定的粘度、离子浓度和酸碱度。但目前还未见蛋白含量、体积、冲击、pH 等对晶体振荡频率影响的报道。因此，探讨上述因素对压电石英晶体传感器振荡频率的影响，对压电生物传感器的应用具有重要的实用价值。

研究结果表明：溶液离子浓度会影响石英晶体振荡频率，离子浓度越大，晶体的振荡频率越低，但在 NaCl 浓度低于 0.25 mol/L 以下，晶体振荡频率的变化不显著，可视为无影响。这与离子浓度增加，在一定范围内导致溶液的电导率变大，从而使晶体的振荡频率降低有关，符合姚守拙等建立的机电偶合模型公式[1]。因此，石英晶体生物传感器在液相检测过程中应注意消除反应缓冲液离子浓度变化的干扰，从本研究结果看，只要溶液离子浓度低于 0.25 mol/L，离子浓度对晶体振荡频率的影响就可以基本消除。

液体的粘度和密度越大，液体对石英晶体的应力越大，液体的质量负载效应越明显，即液体的阻尼效应越明显。生物反应体系由于含有蛋白质等生物大分子，其粘度和密度与体液中的蛋白质浓度紧密相关。本研究发现不同浓度的甘油对石英晶体振荡频率的影响最大，随着甘油浓度的增大，晶体振荡频率呈阶梯状快速下降，频率变化规律符合 Kanazawa 推导的公式[8]。同时，观察到不同蛋白质浓度的血清稀释溶液对晶体的振荡频率有影响，频率随血清蛋白浓度的增加而降低，当血清稀释 50%以上时，血清蛋白浓度对晶体振荡频率影响很小。提示石英晶体生物传感器用血清作检测样品时，血清稀释 50%以上就可消除溶液粘度和密度的影响。

溶液的 pH 即酸碱度是影响生物反应的一个重要化学指标。本研究观察了 pH 在 4.59～8.79 范围内石英晶体振荡频率的变化。结果证明在不同 pH 的溶液中，石英晶体的振荡频率会发生改变，随 pH 值的升高，石英晶体的振荡频率逐渐降低；且在 pH 大于 7.0 以上，石英晶体的振荡频率显著降低。这可能与溶液 pH 值变化导致溶液中正负电荷的量发生改变有关，但具体原因尚不清楚。生物反应一般都在 pH＞7.0 的溶液中进行，结果提示，石英晶体生物传感器检测用的生物反应溶液，最好选用缓冲液，能在一定范围内维持溶液 pH 的稳定，以消除 pH 的干扰。

实验结果显示溶液体积对晶体频率无明显影响。加样冲击是临床实验诊断的必须操作步骤。外界机械冲击虽会对晶体频率造成显著的影响，但当外界冲击去除后，晶体振荡频率能够回复到原来的频率，证明外界冲击对晶体频率的影响是一过性的。吸干后，重新上样，相当于一次机械冲击，晶体在液相稳定频率无显著变化。因此，石英晶体传感器完全满足临床实验检测的操作要求，为其在临床诊断中的应用奠定了基础。

本研究对上述影响石英晶体传感器在生物领域应用的常见因素进行了探讨，阐明了石英晶体振荡频率在各种影响因素作用下的变化规律，对石英晶体生物

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

传感器的研制和应用具有重要意义。

参考文献：

[1] 姚守拙. 压电生物传感[J]. 生命科学研究, 1998, 2(1): 1—5.
[2] 周铁安, 谢乃贤, 聂利华, 等. 血液凝固过程检测的研究[J]. 湖南大学学报, 1998, 25(2): 23—28.
[3] Mao Y, Wei W, Zhang J, *et al*. Real-time monitoring of formaldehyde-induced DNA-lysozyme cross-linking with piezoelectric quartz crystal impedance analysis[J]. Analyst, 2001, 126(9): 1 568—1 572.
[4] Susmel S, O'Sullivan C K, Guilbault G G. Human cytomegalovirus detection by a quartz crystal microbalance immunosensor[J]. Enzyme Microb Technol, 2000, 27(9): 639—645.
[5] 叶应妩, 王毓三. 全国临床检验操作规程[M]. 第 2 版. 南京: 东南大学出版社, 1997. 608.
[6] Shigeru K, Naoki K. Detection of antistreptolysin O antibody: application of an initial rate method of latex piezoelectric immunoassay[J]. Anal Chem, 1992, 64(21): 2 483—2 487.
[7] D Z shen, W H Zhu, L H Nie, *et al*. Behaviour of a series piezoelectric sensor in electrolyte solution[J]. Anal Chim Acta, 1993, 276(2): 87—97.
[8] Kanazawa K K, Gordon J G. The oscillation frequency of a quartz resonator in contact with a liquid[J]. Anal Chim Acta, 1985, 175(9): 99—105.

（编辑 王 红）

文章编号：1000-5404(2002)01-0011-01

个案与短篇

GE ADVANTX-DLX 血管造影机的使用体会

Experience on using an angiograph, GE ADVANTX-DLX

谢 兵 （第三军医大学附属西南医院放射科, 重庆 400038）

血管造影设备及 DSA 技术在近几年发展很快。最新一代的各类数字减影机在提高图像信息检测能力, 改善信噪比以及血管心脏的测量等功能方面已大大提高, 有许多值得总结的经验与使用技术[1]。

血管狭窄分析在扩张用球囊及支架选择上的应用：利用狭窄分析所得数据以确定球囊和支架大小是介入治疗中常用的方法, 与狭窄血管段相近的正常血管的直径大小即所需支架的直径, 球囊的选择可以参考狭窄血管的直径大小和血管狭窄的程度, 即狭窄率, 特别是在冠状动脉的 PTCA 技术中, 准确的狭窄分析可以为介入操作的医生提供有效的帮助。另外, 血管狭窄分析还在选择血管造影的导管及导丝的选择上有参考作用。通过血管分析所得的血管及狭窄血管直径大小, 可以进行球囊导管大小的选择, 如测得血管直径 2.6 mm, 狭窄血管直径 1.5 mm, 提示可选 2.8 mm 球囊。虽然目前数字减影设备的分析参数的准确性较以往有很大提高, 但在一些血管影重迭. 交叉处, 以及移动伪影影响时, 分析误差仍然较大。

灌注法造影与肝肿瘤的介入治疗：灌注法造影是采用与常规动脉造影相当或更多的造影剂剂量, 延长注射时间, 减小注射速度所进行的造影。一般肝动脉注射的条件为 30 ml, 8 ml/s; 灌注造影注射速度常为 4～5 ml/s。虽然这种造影在动脉期的显示不如普通肝动脉造影, 但其毛细血管期和静脉期能使门静脉和一些小肿瘤很好地显示和染色, 再运用 DSA 的一些后处理功能, 如噪声抑制, MASK 及 FILLED IMAGING 的再选择, 重迭减影等, 可以得到满意的影像。即时减影时可以通过时段的选择, 放弃动脉期的前 5 s 的影像而只取后面 5～18 s 的影像, 这样缩短了减影采集时间, 有利于一些闭气困难的病人的检查。这种方法主要适宜于选择性和选择性的腹部各动脉 IDSA。

TRIAL 技术对减影质量的保证：每次减影采集前进行 TRIAL是必要的, 可以使曝光条件最优化, 提高减影图像的质量。TRIAL 实际上是一次预曝光, 由此进行兴趣区的选择, 包括范围大小和兴趣区的亮度调节。再通过参考值(所用设备提供为 5～25)调整曝光条件到最佳。另外预曝光还可以了解使用设备当前的状态, 查看屏幕上是否有警示语句或异常声音出现。

过去对 DSA 的要求一般在于图像的质量, 主要是必须有一定的密度差, 减影时血管外的背景去除彻底。对 DSA 操作技术的重点是条件适当, 造影剂充盈良好, 血管清晰。后处理技术有：①减影方式的选择, 如 LIS 方式(积分), TID 方式(时间间隔)和 NORMAL(普通)减影。②窗宽、窗位的调整。③蒙片(mask)选择等。随着介入技术的进一步开展, 各种新的 DSA 技术大量运用于实际工作中, 血管狭窄分析、路径、减影前的 TRAIL 等, 为 DSA 技术及其发展提供了广阔的领域[2,3]。

关键词：血管造影; 数字减影
中图法分类号：R197.39 文献标识码：B

参考文献：

[1] 赵 军, 杨进全, 吴 宁. 旋转 DSA 应用于头颈部的技术探讨[J]. 中华放射学杂志, 2000, 34(1): 29—30.
[2] Schwarzenberg H. Restenosis of peripheral stents and stent grafts as revealed by intravascular sonography: *in vivo* comparison with angiography [J]. A J R, 1998, 170(5): 1 181—1 185.
[3] Smith T P. Comparison of the efficacy of digital subtraction and film-screen angiography of the lower limb: prospective study in 50 patients[J]. A J R, 1998, 158(2): 431—436.

（编辑 陈聪连）

作者简介：谢 兵(1966—) 男, 四川省乐山市人, 主管技师, 主要从事 DSA 技术及放射技术的发展及应用, 发表论文 7 篇。电话：(023)68754292
收稿日期：2001-01-05; 修回日期：2001-09-05

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