



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102735734 A

(43) 申请公布日 2012. 10. 17

(21) 申请号 201210088827. 3

(22) 申请日 2012. 03. 29

(30) 优先权数据

13/075,027 2011. 03. 29 US

(71) 申请人 香港理工大学

地址 香港九龙红磡

(72) 发明人 严锋 陈王丽华 唐浩

(74) 专利代理机构 北京金思港知识产权代理有限公司 11349

代理人 邵毓琴

(51) Int. Cl.

G01N 27/327 (2006. 01)

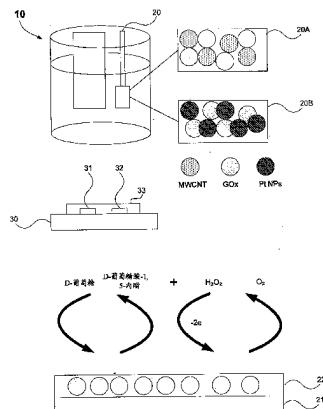
权利要求书 1 页 说明书 8 页 附图 26 页

(54) 发明名称

一种非介入式葡萄糖传感器

(57) 摘要

一种用于检测体液中的葡萄糖的量的非侵入式葡萄糖传感器(10)，所述传感器包括：具有栅电极(20)的有机电化学晶体管(OECT)；其中，所述栅电极(20)的表面使用酶和纳米材料进行改性以增加所述栅电极(20)的敏感性和选择性。



1. 一种用于检测体液中的葡萄糖的量的非侵入式葡萄糖传感器，所述传感器包括：
具有栅电极的有机电化学晶体管 (OECT)；
其中，所述栅电极的表面使用酶和纳米材料进行改性以增加所述栅电极的敏感性和选择性。
2. 根据权利要求 1 所述的传感器，其中，所述栅电极可以是 Pt 栅电极。
3. 根据权利要求 1 所述的传感器，其中，所述酶是葡萄糖氧化酶 (GOx)。
4. 根据权利要求 1 所述的传感器，其中，所述纳米材料是选自由多壁碳纳米管 (MWCNT) 和铂纳米颗粒 (Pt-NP) 组成的组中的任意一种。
5. 根据权利要求 1 所述的传感器，其中，所述体液是选自由唾液、组织液、汗液和房水组成的组中的任意一种。
6. 根据权利要求 1 所述的传感器，其中，所述栅电极由 MWCNT-CHIT/GOx/Pt 或 CHIT/GOx/Pt-NP/Pt 构成。
7. 一种制造用于检测体液中的葡萄糖的量的非侵入式葡萄糖传感器的方法，所述方法包括：
将葡萄糖氧化酶 (GOx) 磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 溶液滴涂在基板的表面上以形成 GOx/Pt 电极；和
在所述 GOx PBS 溶液在所述基板的所述表面上干燥以后，将纳米材料脱乙酰壳多糖 (CHIT) 杂化水溶液滴涂在所述 GOx/Pt 电极的表面上。
8. 根据权利要求 7 所述的方法，其中，所述纳米材料是选自由多壁碳纳米管 (MWCNT) 和铂纳米颗粒 (Pt-NP) 组成的组中的任意一种。
9. 一种检测体液中的葡萄糖的量的方法，所述方法包括：
通过葡萄糖氧化酶 (GOx) 对 D- 葡萄糖进行生物催化以生成过氧化氢 (H_2O_2) 和 D- 葡萄糖酸 -1,5- 内酯；
在栅电极的表面对所生成的 H_2O_2 进行电氧化；
其中，所述栅电极的所述表面使用酶和纳米材料进行改性。
10. 根据权利要求 9 所述的方法，其中，所述酶是葡萄糖氧化酶 (GOx)。
11. 根据权利要求 10 所述的方法，其中，所述纳米材料是选自由多壁碳纳米管 (MWCNT) 和铂纳米颗粒 (Pt-NP) 组成的组中的任意一种。
12. 一种用于非侵入式葡萄糖传感器的栅电极，所述栅电极包括：
使用酶和纳米材料进行改性以提高所述栅电极的敏感性和选择性的表面。
13. 根据权利要求 12 所述的栅电极，其中，所述酶是葡萄糖氧化酶 (GOx)。
14. 根据权利要求 12 所述的栅电极，其中，所述纳米材料是选自由多壁碳纳米管 (MWCNT) 和铂纳米颗粒 (Pt-NP) 组成的组中的任意一种。
15. 根据权利要求 12 所述的栅电极，其中，所述栅电极由 MWCNT-CHIT/GOx/Pt 或 CHIT/GOx/Pt-NP/Pt 构成。

一种非介入式葡萄糖传感器

技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于检测体液中的葡萄糖水平的非介入式葡萄糖传感器。

背景技术

[0002] 薄膜晶体管已经被认为是用于高度灵敏的一次性生物传感器的优秀换能器 (transducer)。由于基于有机薄膜晶体管 (OTFT) 的传感器制造容易且成本低, 近来已经引起极大关注。有机电化学晶体管 (OECT) 是引起关注的一类 OTFT, 并且由于其工作电压低、结构简单以及具有对生物应用来说至关重要的在水相环境中工作的能力而为传感器的应用受到了广泛研究。在 1984 年报道了首个基于聚吡咯的 OECT, 这是 OTFT 领域中的新方向。从那以后, 研究了基于若干不同导电聚合物的 OECT, 并且 OECT 已经表现出了化学和生物感测的广泛应用, 包括湿度传感器、pH 和离子传感器、葡萄糖传感器和基于细胞的生物传感器。导电聚合物 PEDOT:PSS 由于其高导电性和溶液处理性而在有机电子装置 (包括有机太阳能电池、有机发光二极管和 OTFT) 中具有非常重要的应用。近来, PEDOT:PSS 已经成功地用作 OECT 的活性层, 并且这种装置由于其生物兼容性和在水相环境中的稳定性而在各种应用中特别是在生物传感器应用中表现出了优异的性能。

[0003] 在糖尿病诊断中非常期望高度灵敏的葡萄糖传感器。已经报道了在葡萄糖传感器中应用基于 PEDOT:PSS 的 OECT。对于这些传感器来说, 在测量过程中将酶 (葡萄糖氧化酶) 和葡萄糖一起混合在水溶液中, 而不对 OECT 的栅极和活性层进行任何表面改性。这种类型的葡萄糖传感器的检测极限为大约几个 μM , 其灵敏度足以用来测量人体唾液中的葡萄糖水平。因此, 这些装置的应用成本较低, 并且可以进行非介入式血液葡萄糖监测。

发明内容

[0004] 在本发明的第一方面, 提供了一种用于检测体液中的葡萄糖的量的非侵入式葡萄糖传感器, 所述传感器包括:

[0005] 具有栅电极的有机电化学晶体管 (OECT);

[0006] 其中, 所述栅电极的表面使用酶和纳米材料进行改性以增加所述栅电极的敏感性和选择性。

[0007] 所述栅电极可以是 Pt 栅电极。

[0008] 所述酶可以是葡萄糖氧化酶 (GOx)。

[0009] 所述纳米材料可以是选自由多壁碳纳米管 (MWCNT) 和铂纳米颗粒 (Pt-NP) 组成的组中的任意一种。

[0010] 所述体液可以是选自由唾液、组织液、汗液和房水组成的组中的任意一种。

[0011] 所述栅电极可以由 MWCNT-CHIT/GOx/Pt 或 CHIT/GOx/Pt-NP/Pt 组成。

[0012] 在第二方面, 提供了一种制造用于检测体液中的葡萄糖的量的非侵入式葡萄糖传感器的方法, 所述方法包括:

[0013] 将葡萄糖氧化酶 (GOx) 磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 溶液滴涂在基板的表面上以形成

G0x/Pt 电极；和

[0014] 在所述 G0x PBS 溶液在所述基板的所述表面上干燥以后，将纳米材料脱乙酰壳多糖 (CHIT) 杂化 (hybrid) 水溶液滴涂在所述 G0x/Pt 电极的表面上。

[0015] 在本发明的第三方面，提供了用于检测体液中的葡萄糖的量的方法，所述方法包括：

[0016] 通过葡萄糖氧化酶 (G0x) 对 D- 葡萄糖进行生物催化以生成过氧化氢 (H_2O_2) 和 D- 葡萄糖酸 -1,5- 内酯；

[0017] 在栅电极的表面处对所生成的 H_2O_2 进行电氧化；

[0018] 其中，所述栅电极的所述表面使用酶和纳米材料进行改性。

[0019] 在第四方面，提供了一种用于非侵入式葡萄糖传感器的栅电极，所述栅电极包括：

[0020] 使用酶和纳米材料进行改性以提高所述栅电极的敏感性和选择性的表面。

[0021] 本发明通过使用酶和纳米材料对 OECT 的栅电极进行改性来提供一种新型的基于 OECT 的葡萄糖传感器。所述酶是葡萄糖氧化酶 (G0x) 并且所述纳米材料包括碳纳米管 (CNT) 或铂纳米颗粒 (Pt-NP)。这样的传感器在装置性能方面显示出显著的改进。而且，在使用这样的传感器的时候，不需要如现有技术所要求的那样向葡萄糖溶液中添加酶，这将更加方便于实际使用。

[0022] CNT 已经广泛应用于很多类型的传感器中。CNT 由于其具有纳米尺寸、良好的电子催化性能以及对生物分子固定容量，因此对用于生物传感器和纳米生物电子学的纳米结构电极的总体效果极为重要。Pt-NP 由于具有良好的生物相容性和巨大的表面积，因此作为用于酶固定的基质非常有效。Pt-NP 提高了固定效率并保持了 G0x 的生物活性，因此显著增强了传感器的选择性。而且，Pt-NP 对过氧化氢 (H_2O_2) 具有优异的电催化活性，而过氧化氢对基于 H_2O_2 检测的葡萄糖传感器是关键的。用于对酶电极进行改性的另一种重要材料是脱乙酰壳多糖 (CHIT)，其是一种生物相容性聚合物基质。CHIT 展示出良好的成膜能力、高的透水性和对化学改性的易感性，能够非共价地与 CNT 结合从而形成生物相容性碳纳米管杂化水性悬浮液。CNT 或 Pt-NP 与 CHIT 的结合已经被用于改善基于 OECT 的葡萄糖传感器的性能。

[0023] 在本发明中，在固定 G0x 之前，使用多壁碳纳米管 (MWCNT)-CHIT 杂化物和电子沉积 Pt-NP 来对 Pt 电极的表面进行改性。然后，使用 MWCNT-CHIT/G0x/Pt 和 CHIT/G0x/Pt-NP/Pt 电极作为基于 PEDOT:PSS 的 OECT 的栅电极。有利的是，通过使用这些栅电极可以极大地提高装置的敏感性，并且与现有的栅电极相比，检测极限扩大了超过三个量级。

附图说明

[0024] 现在将参照附图描述本发明的实施例，在附图中：

[0025] 图 1 是基于 PEDOT:PSS 的 OECT 葡萄糖传感器的装置结构 (上面) 和通过基于 PEDOT:PSS 的 OECT 对葡萄糖进行的测定中包括的生物催化反应循环 (下面) 的示意图；

[0026] 图 2 是 MWCNT 的 TEM 图像；

[0027] 图 3 是 Pt 基板的扫描电子显微镜 (SEM) 图像的 TEM 图像；

[0028] 图 4 是 Pt-NP 改性的 Pt 电极的 TEM 图像，其中 Pt-NP 的电沉积时间为 30 秒；

- [0029] 图 5 是 Pt-NP 改性的 Pt 电极的 TEM 图像, 其中 Pt-NP 的电沉积时间为 60 秒;
- [0030] 图 6 是 Pt-NP 改性的 Pt 电极的 TEM 图像, 其中 Pt-NP 的电沉积时间为 90 秒;
- [0031] 图 7 是 Pt-NP 改性的 Pt 电极的 TEM 图像, 其中 Pt-NP 的电沉积时间为 120 秒;
- [0032] 图 8 是一曲线图, 该曲线图描绘了在含有 $5\text{mM}[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 的氧化还原探针 (redox probe) 的 PBS (pH7.2) 溶液中测量的 MWCNT-CHIT/Pt (I), Pt-NP/Pt (II) 和 Pt (III) 电极的循环伏安图, 并且 CV 扫描率为 50mVs^{-1} , Pt-NP 的沉积时间为 60 秒;
- [0033] 图 9 是描绘出了在 PBS 溶液中以不同频率表征的三个电极的表面电容的曲线图, 其中每个电极的面积为 0.25cm^2 ;
- [0034] 图 10 是描绘了增加 MWCNT-CHIT 杂化悬浮液的体积的影响的曲线图;
- [0035] 图 11 是描绘了使用 MWCNT-CHIT/GOx/Pt 和 CHIT/GOx/Pt-NP/Pt 栅电极的情况下 Pt-NP 电子沉积时间对针对葡萄糖添加的经归一化的电流响应的影响的曲线图, 其中葡萄糖浓度为 (A), $1\mu\text{M}$; (B), $0.05\mu\text{M}$ 并且所施加的 V_g 为 0.4V ;
- [0036] 图 12 是描绘了使用 MWCNT-CHIT/GOx/Pt (A) 和 CHIT/GOx/Pt-NP/Pt (B) 栅电极的情况下所施加的栅电压 (V_g) 对针对葡萄糖添加 (葡萄糖的浓度为 $100\mu\text{M}$) 的经归一化的电流响应的影响的曲线图;
- [0037] 图 13 是描绘了使用 MWCNT-CHIT/GOx/Pt (A) 和 CHIT/GOx/Pt-NP/Pt (B) 栅电极的情况下所施加的栅电压 (V_g) 对针对葡萄糖添加 (葡萄糖的浓度为 $0.5\mu\text{M}$) 的经归一化的电流响应的影响的曲线图;
- [0038] 图 14 是描绘了使用 MWCNT-CHIT/Pt 和 Pt (插图) 的 PEDOT:PSS 装置的典型 I_D 与时间曲线的曲线图, 其中 Pt-NP/Pt 栅电极响应在 PBS (pH7.2) 溶液中的 H_2O_2 。 V_g 固定为 0.4V 。 H_2O_2 添加 :a 至 e : $0.1\mu\text{M}$ 、 $1\mu\text{M}$ 、 $5\mu\text{M}$ 、 $10\mu\text{M}$ 和 $100\mu\text{M}$;
- [0039] 图 15 是描绘了使用 MWCNT-CHIT/Pt 和 Pt (插图) 的 PEDOT:PSS 装置的典型 I_D 与时间曲线的曲线图, 其中 Pt-NP/Pt 栅电极响应在 PBS (pH7.2) 溶液中的 H_2O_2 。 V_g 固定为 0.4V 。 H_2O_2 添加 :a 至 e : $0.005\mu\text{M}$ 、 $0.05\mu\text{M}$ 、 $0.5\mu\text{M}$ 、 $5\mu\text{M}$ 和 $10\mu\text{M}$;
- [0040] 图 16 是描绘针对 Pt (线 I)、MWCNT-CHIT/Pt (线 II) 和 Pt-NP/Pt (线 III), ΔV_g^{eff} 对 $\log[\text{H}_2\text{O}_2]$ 的浓度的相关性的曲线图。
- [0041] 图 17 是描绘使用 MWCNT-CHIT/GOx/Pt 栅电极的 PEDOT:PSS 装置的典型 I_D 与 V_g 曲线的曲线图, 其中所述装置在空白 (I) 和 $100\mu\text{M}$ 葡萄糖 (II) PBS (pH7.2) 溶液中表征。
- [0042] 图 18 是描绘使用 MWCNT-CHIT/GOx/Pt 栅电极并添加葡萄糖 (a 至 e : $0.5\mu\text{M}$ 、 $1\mu\text{M}$ 、 $10\mu\text{M}$ 、 $100\mu\text{M}$ 和 1mM) 的 PEDOT:PSS 装置的典型 I_D 与时间曲线的曲线图;
- [0043] 图 19 是描绘使用 CHIT/GOx/Pt-NP/Pt 栅电极的 PEDOT:PSS 装置的典型 I_D 与 V_g 曲线的曲线图, 其中所述装置在空白 (I) 和 $100\mu\text{M}$ 葡萄糖 (II) PBS (pH7.2) 溶液中表征。
- [0044] 图 20 是描绘使用 CHIT/GOx/Pt-NP/Pt 栅电极并添加葡萄糖 (a 至 d : $0.005\mu\text{M}$ 、 $0.05\mu\text{M}$ 、 $0.5\mu\text{M}$ 和 $5\mu\text{M}$) 的 PEDOT:PSS 装置的典型 I_D 与时间曲线的曲线图;
- [0045] 图 21 是描绘使用 CHIT/GOx/Pt 栅电极的 PEDOT:PSS 装置的典型 I_D 与 V_g 曲线的曲线图, 其中所述装置在空白 (I) 和 $100\mu\text{M}$ 葡萄糖 (II) PBS (pH7.2) 溶液中表征。
- [0046] 图 22 是描绘使用 CHIT/GOx/Pt 栅电极并添加葡萄糖 (a 至 e : $0.5\mu\text{M}$ 、 $1\mu\text{M}$ 、 $10\mu\text{M}$ 、 $100\mu\text{M}$ 和 1mM) 的 PEDOT:PSS 装置的典型 I_D 与时间曲线的曲线图;
- [0047] 图 23 是描绘针对 CHIT/GOx/Pt (线 I)、MWCNT-CHIT/GOx/Pt (线 II) 和 CHIT/GOx/

Pt-NP/Pt(线 III) 棚电极, ΔV_g^{eff} 和经归一化的电流响应的相关性的曲线图;

[0048] 图 24 是描绘针对 CHIT/GOx/Pt(线 I)、MWCNT-CHIT/GOx/Pt(线 II) 和 CHIT/GOx/Pt-NP/Pt(线 III) 棚电极, ΔV_g^{eff} 作为 $\log[C_{\text{葡萄糖}}]$ 的函数的相关性的曲线图;

[0049] 图 25 是描绘 MWCNT-CHIT/GOx/Pt 电极针对葡萄糖添加的安培计响应的曲线图, 葡萄糖添加如下 :a 至 f :1 μM 、10 μM 、20 μM 、40 μM 、100 μM 和 200 μM , 并且所施加的电位为 0.4V(Ag/AgCl); 和

[0050] 图 26 是描绘 CHIT/GOx/Pt-NP/Pt(B) 电极的安培计响应的曲线图, 其中添加葡萄糖, 葡萄糖添加如下 a 至 h :0.005、0.05、0.5、5、10、100、100 和 500 μM , 并且所施加的电位为 0.4V(Ag/AgCl)。

具体实施方式

[0051] 参考图 1, 提供了基于有机电化学晶体管(OECT)的具有 PEDOT:PSS 33 的活化层的葡萄糖传感器。使用玻璃片 30 作为用于制造传感器 10 的基板。采用热蒸发通过阴影掩模在玻璃基板 30 的表面上沉积图案化 Au/Cr 源电极 31 和漏电极 32。使用厚度为约 5nm 的 Cr 薄层作为用于厚度为约 50nm 的 Au 膜的粘合层。然后在玻璃基板的顶部旋涂厚度为约 80nm 的 PEDOT:PSS 层 33 并在源电极 31 和漏电极 32 上图案化, 再在 200°C 在充填高纯度 N₂ 的手套箱中退火 1 小时。PEDOT:PSS 薄膜 33 能够使得装置 10 以低成本制造。OECT 装置 10 的通道长度和宽度分别为 0.2mm 和 6mm。表观表面积为 0.20cm² 的 MWCNT-CHIT/GOx/Pt、CHIT/GOx/Pt-NP/Pt 或 CHIT/GOx/Pt 电极用作 OECT 10 的棚电极 20。

[0052] 对于 MWCNT-CHIT/GOx/Pt 棚电极 20A 的制备, 使用移液器在各 Pt 基板 21 的表面上滴涂体积为 20 μL 的葡萄糖氧化酶(GOx)磷酸盐缓冲盐水(PBS)溶液并在 4°C 干燥。只有 GOx 被固定在棚电极 20A 上。为了保持所固定的 GOx 分子并改善酶电极的性能, 在 GOx/Pt 电极的表面上滴涂 10 μL 的 MWCNT-CHIT 杂化水性悬浮液。在 CHIT 膜 22 形成后, 使用去离子水将 MWCNT-CHIT/GOx/Pt 棚电极 20A 彻底漂洗并在 4°C 保存以待后用。

[0053] 对于 CHIT/GOx/Pt-NP/Pt 棚电极 20B 的制备, 首先在 5mM H₂PtCl₆+0.05M HCl 水溶液中将 Pt-NP 电沉积在经漂洗的 Pt 基板 21 上。电沉积电位固定为 -0.3V(Ag/AgCl), 并且沉积时间分别选择为 30 秒、60 秒、90 秒和 120 秒。使用去离子水仔细漂洗后, 使用针对 MWCNT-CHIT/GOx/Pt 棚电极 20A 所述的相同方法制造 CHIT/GOx/Pt-NP/Pt 棚电极 20B。为了比较, 还通过以上相同的程序制造了 CHIT/GOx/Pt 棚电极 20B。

[0054] 参考图 1, OECT 装置 10 的特征在于使用在充填有 PBS(pH 7.2) 的小杯中的半导体参数分析器。使用 MWCNT-CHIT/GOx/Pt 电极 20A 或 CHIT/GOx/Pt-NP/Pt 电极 20B 作为棚电极 20。测量前, 将这样制得的所有棚电极 20 浸入在 PBS(pH7.2) 中 15 分钟以去除多余的残留物。在固定的 VD = -0.2V 和恒定棚电压或可变的不同棚电压对 OECT 装置 10 进行检测。在图 1 中显示了通过基于 PEDOT:PSS 的 OECT 进行的葡萄糖测定的工作原理。所添加的 D- 葡萄糖被 GOx 所生物催化并反应生成 H₂O₂ 和 D- 葡萄糖酸-1,5-内酯。同时, 所生成的 H₂O₂ 在棚电极 20 处被电氧化。

[0055] 使用 CHI660B 电化学工作站在被搅拌的 PBS(pH7.2) 溶液中表征不同棚电极 20 的电化学性能。测量时, 分别使用 Pt 箔和 Ag/AgCl 电极作为反电极和参比电极。所有实验都是在室温进行。通过在含有 5mM [Fe(CN)₆]^{3-/4-} 氧化还原探针剂的 PBS(pH7.2) 中通过循环伏

安法 (cyclic voltammetry, CV) 研究 MWCNT-CHIT/Pt 棚电极 20A 和 Pt-NP/Pt 棚电极 20B, 所述探测剂通常用来表征电极 20A、20B 的表面特征。

[0056] 在 PBS 中的电极 20A、20B 的表面电容的特征在于在 0.1Hz 的频率使用具有标准三电极系统的电阻分析器。所施加的交流信号 (ac signal) 的幅度为 50mV。

[0057] 图 2 显示了 MWCNT 和 Pt-NP 的形态。MWCNT 的直径为 10nm 至 40nm。Pt-NP 成功地电沉积在 Pt 基板的表面上, 分布相对均匀。Pt-NP 的平均尺寸为约 100nm (图 4, 沉积时间为 30s(秒))。采用较长的 60 秒的沉积时间, Pt-NP 的尺寸没有明显的变化, 但是颗粒密度增加 (图 4)。进一步延长沉积时间, 导致 Pt-NP 生长成片料 (图 5 至 7)。

[0058] 图 8 显示了具有相同尺寸的 MWCNT-CHIT/Pt 棚电极 20A (线 I)、Pt-NP/Pt 棚电极 20B (线 II) 和 Pt 棚电极 (线 III) 的电化学性能。前两个棚电极 20A、20B 具有非常相似的氧化还原电流密度, 而第三个棚电极显示出较低的值, 表明 MWCNT-CHIT/Pt 棚电极 20A 和 Pt-NP/Pt 棚电极 20B 比 Pt 扁平电极具有较大的活性表面积。图 9 显示了这三种电极在 PBS 溶液在零偏压表征的电容。由于在低频率 (小于 1Hz) 的电容大致与电极的表面积成比例, 因此 Pt-NP/Pt 棚电极 20B 的表面积大约为其几何尺寸的两倍, 而 MWCNT-CHIT/Pt 棚电极 20A 的表面积大约为几何尺寸的 50 倍。

[0059] OECT 10 的作为栅电压 V_g 的函数的通道电流 I_{DS} 由如下方程得到 :

$$[0060] I_{DS} = \frac{q\mu p_0 I W}{L V_p} (V_p - V_g^{eff} + \frac{V_{DS}}{2}) V_{DS}, (\text{当 } |V_{DS}| \ll |V_p - V_g^{eff}|)$$

$$[0061] V_p = qp_0 t / c_i,$$

$$[0062] V_g^{eff} = V_G + V_{offset},$$

[0063] 方程 (1)

[0064] 其中 q 为电荷, p_0 为有机半导体中的初始空穴密度, μ 为空穴迁移率, t 为活性膜的厚度, V_p 为夹断电压, V_g^{eff} 为所施加的有效栅电压, 并且 V_{offset} 为界面处的偏移电压, W 和 L 分别为 OECT 装置 10 的宽度和长度, c_i 为晶体管单位面积的有效电容, 其与两个界面 (电解质 / 半导体和电解质 / 棚极) 的电容相关。 c_i 大约等于串联的所述两个界面的总电容除以通道的面积。

[0065] 基于 OECT 的生物传感器对位于电解质 / 半导体或电解质 / 棚极的界面处的电位下降敏感。对于葡萄糖传感器 10, 通过 D- 葡萄糖被 Pt 棚电极 20 上的 G0x 生物催化的反应生成 H_2O_2 , H_2O_2 的电氧化引起电极的表面处的电位下降。在这种情况下, 棚电极 20 具有感应电流, 其对应于因 H_2O_2 反应造成的电子转移 (如图 1 所示)。因此, 电解质 / 棚极表面处的化学电位的变化与 H_2O_2 的浓度相关, 并通常可以使用能斯特 (Nernst) 方程 $\Delta V_{H_2O_2} = \frac{kT}{2q} \ln[H_2O_2]$

描述, 其中, K 为玻尔兹曼 (Boltzmann) 常数, T 为温度, 而 $[H_2O_2]$ 为 H_2O_2 的浓度。电位下降将调节施加在 OECT 装置 10 上的有效栅电压, 这可以包括在方程 (1) 中的所述的偏移电压。因此, 有效栅电压可以由以下方程得到 :

[0066]

$$V_g^{eff} = V_G + (1 + \gamma) \frac{kT}{2q} \ln[H_2O_2] + \text{常数}$$

[0067] 方程 (2)

[0068] 其中, γ 为两个界面 (电解质 /PEDOT:PSS 和电解质 / 棚极) 的电容之间的比率。然而, 如以下试验所示, 方程 (2) 只能用于 Pt 扁平电极。对于纳米材料改性的 Pt 棚电极 20, 有效棚电压和 H_2O_2 浓度之间的关系更加复杂。

[0069] 为了比较不同装置对葡萄糖的电流响应, 根据以下方程计算经归一化的电流响应:

$$[0070] NCR = \left| \frac{I_D^{conc} - I_D^{conc=0}}{I_D^{conc=0}} \right|$$

[0071] 方程 (3)

[0072] 其中, $I_D^{conc=0}$ 和 I_D^{conc} 分别为以感兴趣的浓度添加葡萄糖之前和之后的通道电流。

[0073] 已经对酶电极的制造条件进行了优化。图 10 显示 MWCNT-CHIT 杂化悬浮液的添加体积对 OECT 的 NCR 的影响 (添加葡萄糖)。针对每种条件制造 3 个相同的棚电极 20。误差线显示所述三个电极的 NCR 的标准偏差。可以看到 10 μL 体积对应于最大的 NCR (添加 1 μM 葡萄糖)。这可能归因于两个因素的折衷。第一, 少量的 MWCNT-CHIT 杂化物可能无法导致 GOx 分子的充分固定。第二, Pt 基板上太多的 MWCNT-CHIT 杂化物可能导致界面处形成厚膜, 并阻止电荷转移。因此, Pt 电极上预定量的 MWCNT-CHIT 杂化物将显示出最大的效果。

[0074] 图 11 显示了 Pt-NP 的沉积时间对 OECT 的 NCR 的影响。针对每种条件, 制备 3 个相同的电极。当沉积时间为 60 秒时, 装置显示出最大的 NCR, 这可以有助于在此条件沉积的 Pt-NP 的优化尺寸和高密度。如果 MWCNT-CHIT/GOx/Pt 棚电极 20A 和 CHIT/GOx/Pt-NP/Pt 棚电极 20B 的制造条件没有具体说明, 则采用所述优化条件制造电极 20A、20B。

[0075] 图 12 和 13 显示了所施加的 V_g 对通过使用 MWCNT-CHIT/GOx/Pt 棚电极 20A 和 CHIT/GOx/Pt-NP/Pt 棚电极 20B 的 OECT 10 (葡萄糖) 的 NCR 的影响。当所施加的 V_g 为 0.4V 时, OECT 10 针对 MWCNT-CHIT/GOx/Pt 棚电极 20A 和 CHIT/GOx/Pt-NP/Pt 棚电极 20B 均显示出的最大 NCR。进一步提高所施加的 V_g 则导致 NCR 的增加。因此, 实验中选用 0.4V。

[0076] 使用 OECT 10 对葡萄糖的测定实质是对通过 GOx 和葡萄糖的酶促反应生成的 H_2O_2 的检测, 因此使用不同的棚电极 20 研究 OECT 10 对 H_2O_2 添加的响应, 并且将相应结果显示在图 14 至 16 中。当使用 MWCNT-CHIT/Pt 棚电极 20A 或 Pt 电极作为棚电极时, OECT 10 对添加至少 0.1 μM H_2O_2 显示出明显的响应 (I_D 下降)。实际上, Pt 电极上 MWCNT-CHIT 的改性不能引起装置 10 对 H_2O_2 的敏感性的任何改善 (如图 14 所示)。相反, 针对 Pt 扁平电极的通道电流 I_D 的相对变化 (ΔI_D) 甚至大于针对 MWCNT-CHIT/Pt 棚电极 20A 的通道电流 I_D 的相对变化 (ΔI_D)。参考图 15, 对于 Pt-NP/Pt 棚电极 20B, 装置 10 对添加 5nM H_2O_2 显示出明显的响应 (图 15 中的插图), 这远优于具有 MWCNT-CHIT/Pt 棚电极或 Pt 棚电极的装置的检测极限。因此 Pt 棚电极的表面上 Pt-NP 的改性可以显著地提高 OECT 对 H_2O_2 的敏感性, 这是因为 Pt-NP 的电催化活性优异的缘故。

[0077] 通道电流 I_D 的变化由有效棚电压 V_g^{eff} 因在棚电极 20 处的 H_2O_2 的电氧化造成的调节引起。因此, 可以根据通道电流的变化直接计算有效棚电压的变化。 ΔV_g^{eff} 作为 H_2O_2 浓度的函数的相关性显示在图 16 中。可以发现, 在三种类型的棚电极中, 使用 Pt-NP/Pt 棚电极 20B 的 OECT 10 显示出对 H_2O_2 的最低检测极限和最高的敏感性。具有 Pt-NP/Pt 棚电极 20B 的装置的高敏感性不能只归因于棚电极的大的表面积。相反, 实验显示, 较大的棚电极

常常引起装置 10 的较低的敏感性。

[0078] 具有 Pt 扁平电极的装置显示出 H_2O_2 浓度和栅电压漂移 ΔV_g^{eff} 之间的对数关系 (如方程 (2) 所示)。拟合曲线显示当 H_2O_2 浓度增加一个量级时, 有效栅电压下降 67meV, 这与所报道的结果相吻合。然而, 方程 (2) 不适用于使用纳米材料在栅电极 20B 上改性的装置 10, 这可能是因为在栅电极 20B 处的表面形状更加复杂的缘故。

[0079] 具有 Pt-NP/Pt 栅电极 20B 装置的高敏感性可能归因于 Pt-NP 的优异的电催化活性和当 Pt-NP 周围的扩散层重叠时电极附近的离子的扩增效应。在这种情况下, 在 Pt-NP 处产生的离子将改变临近纳米颗粒周围的电位, 因此电位在栅电极 20 的表面处下降更多, 这引起有效栅电压变化更大。在图 2 至 7 中, 在沉积时间为 60 秒时, Pt-NP 的平均尺寸为约 100nm, 并且相邻 Pt-NP 之间的平均距离为约 50nm。所述尺寸和距离均随沉积时间的延长而增加。PBS 溶液中 Pt 电极附近的双层的厚度为约数十纳米。因此, Pt-NP 的平均尺寸和相邻 Pt-NP 之间的距离对扩增效应是关键的, 这可能是 Pt-NP 沉积时间不同的装置 10 具有不同响应的原因之一。

[0080] 接着, 使用 Gox 对三种类型的栅电极 20 进行改性并用于葡萄糖感测。图 17 至 22 显示了具有不同栅电极的 OECT 10 对葡萄糖添加的电流响应。参考图 17, 对于 MWCNT-CHIT/Gox/Pt 栅电极 20A, 添加葡萄糖导致 OECT10 的转移特征向左横向漂移, 这可能归因于有效栅电压因为 $[\text{H}_2\text{O}_2]$ 增加而增加。参考图 18, 当所述装置在恒定栅电压表征时, 可以观察到电流变化更加明显。具有 MWCNT-CHIT/Gox/Pt 栅电极 20A 的 OECT 10 显示出对添加 0.5 μM 葡萄糖的明显响应 (ΔI_D 为约 3.8 μA)。然而, 参考图 22, 具有 CHIT/Gox//Pt 栅电极 20B 的装置 10 显示出没有 I_D 变化, 直至添加 10 μM 葡萄糖。这些结果说明, 使用 MWCNT-CHIT 杂化物对 Pt 电极进行表面改性可以增加 OECT10 对葡萄糖的敏感性, 这可能归因于 MWCNT-CHIT 杂化物具有大的用于 Gox 固定的活性表面积, 并且在保持酶促生物活性中具有良好的生物相容性。

[0081] 参考图 20, 具有 CHIT/Gox/Pt-NP/Pt 栅电极 20B 的装置 10 对添加 5nM 葡萄糖显示出显著的响应, 这比使用 MWCNT-CHIT/Gox/Pt 栅电极 20A 的装置要敏感得多。这些结果是合理的, 因为具有 Pt-NP/Pt 的装置比具有 MWCNT-CHIT/Pt 栅电极 20A 的装置对 H_2O_2 的检测极限要好得多。另外, Pt-NP 的表面积大, 能够使栅电极上的酶固定更加有效 (与 Pt 扁平电极相比)。因此, 通过使用 CHIT/Gox/Pt-NP/Pt 栅电极 20B 所实现的最低检测极限和最高敏感性可以归因于 Pt-NP 的良好的生物相容性、高的对 H_2O_2 的敏感性、大的用于 Gox 固定的表面积。

[0082] 图 23 和 24 显示了通过使用不同的栅电极, ΔV_g^{eff} 和作为葡萄糖浓度的函数的经归一化的电流响应 (NCR) 和 ΔV_g^{eff} 的相关性。非线性关系都可以见于所有装置。在这三种装置中, 使用 CHIT/Gox/Pt-NP/Pt 栅电极 20B 的 OECT 10 显示出最大的 ΔV_g^{eff} 和 NCR (线 III)。

[0083] 还使用电化学安培法表征三种栅电极对葡萄糖添加的响应以进行比较。如图 25 和 26 所示, MWCNT-CHIT/Gox/Pt 栅电极 20A 和 CHIT/Gox/Pt-NP/Pt 栅电极 20B 对葡萄糖的检测极限分别为 20 μM 和 5 μM , 这远远高于具有所示两种电极的装置的检测极限。因此, 基于 OECT 的传感器在葡萄糖感测上要比典型电化学安培检测法敏感得多。另外, 具有 CHIT/Gox/Pt-NP/Pt 栅电极 20B 的 OECT 10 的检测极限远远优于在某些文献中报道的使用 Gox/

Pt-NP 改性的电极进行的电化学检测的检测极限 ($0.5 \mu M$)。

[0084] 对于基于晶体管的传感器，装置对由分析物影响造成对界面处栅电压的调节确实敏感。晶体管的栅电压的微小变化可以引起通道电流的大的改变。因此，基于 OECT 的生物传感器是传感器和放大器的组合，这可以显示出比传统技术高得多的敏感性。

[0085] 具有 CHIT/GOx/Pt-NP/Pt 栅电极 20B 的装置对葡萄糖显示出优异的敏感性。在栅电极为 $0.4V$ 时，添加 $0.5 \mu M$ 抗坏血酸或尿酸不能引起通道电流的任何变化。由于装置 10 对葡萄糖显示出低至 $5nM$ 的检测极限，因此抗坏血酸和尿酸的干扰可以忽略。对葡萄糖的这种优异选择性可能归因于在栅电极 20B 上固定的 GOx 和 Pt-NP 对不同分析物的不同电催化活性。

[0086] 当在水溶液中表征超过 4 天时，OECT 10 显示出非常稳定的性能。然而，葡萄糖传感器更为重要的部分是 CHIT/GOx/Pt-NP/Pt 栅电极 20B，这是因为装置 10 对有效栅电压敏感。对具有 CHIT/GOx/Pt-NP/Pt 栅电极 20B 的 OECT 10 的稳定性表征 8 天。每天测量装置 10，并在每次测量后在冰箱中于 $4^\circ C$ 保存。装置对添加在 PBS 中的 $5nM$ 和 $1 \mu M$ 葡萄糖的响应 (ΔV_g^{eff}) 在 8 天后分别下降约 30% 和 20%。敏感性的下降可以归因于在重复测量期间所固定的 GOx 的酶促活性的退化和在栅电极 20B 上的 GOx 的损失，这是这类酶电极的常见问题。由于装置 10 适合于低成本一次性感测，装置 10 的退化在实际使用过程中将不会是一个重要问题。装置 10 还可以是便携式的并可以容易由使用者携带。

[0087] 具有酶改性的 Pt 栅电极作为葡萄糖传感器的 OECT 10 的性能在使用包括 MWCNT 和 Pt-NP 在内的纳米材料改性栅电极 20 时得到显著的改善。这是因为纳米材料的优异的电催化性能和大的表面积。使用 MWCNT-CHIT/GOx/Pt 栅电极 20A 和 CHIT/GOx/Pt-NP/Pt 栅电极 20B 的 OECT 10 的检测极限分别为 $0.5 \mu M$ 和 $5nM$ ，这远优于没有采用纳米材料的装置 (CHIT/GOx/Pt 电极， $10 \mu M$)。基于 OECT 的葡萄糖传感器比使用相同电极进行的电化学安培检测敏感得多，表明 OECT 10 是用于高敏感生物传感器的优异换能器。

[0088] 有利的是，传感器 10 能够检测体液中通常很低的葡萄糖水平，所述体液例如为唾液、组织液、汗液和房水。与现有装置相比，传感器 10 具有低得多的 $50nM$ 的检测极限，也可以通过传感器 10 检测体液中是 $0.5 \mu M$ 的葡萄糖水平。

[0089] 而且，OECT 10 在约 $1V$ 的低工作电压在水性环境中操作。栅电压的微小变化将引起 OECT 10 的通道电流的大变化。因此，装置 10 对在 OECT 10 的栅电极 10 处或通道的活性层处的电化学反应高度敏感。装置 10 可以小型化至微米尺寸，并且可以与其他检测装置高度集成。

[0090] 本领域技术人员应当理解的是，可以对如具体实施方式中显示的本发明进行各种改变和 / 或改进而没有脱离广泛描述的本发明的范围或实质。因此本发明的实施方式无论如何应为例举性而非限制性。

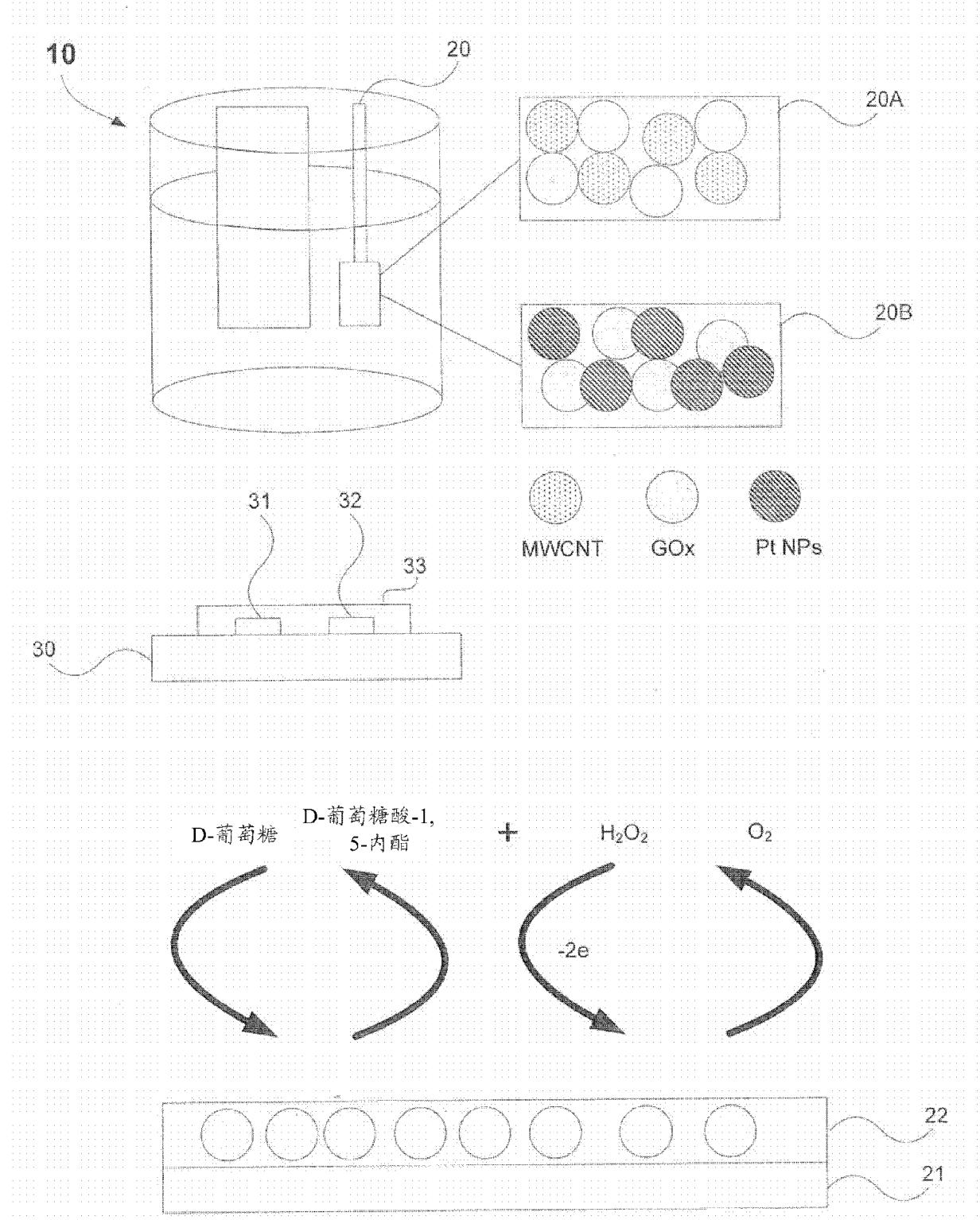


图 1

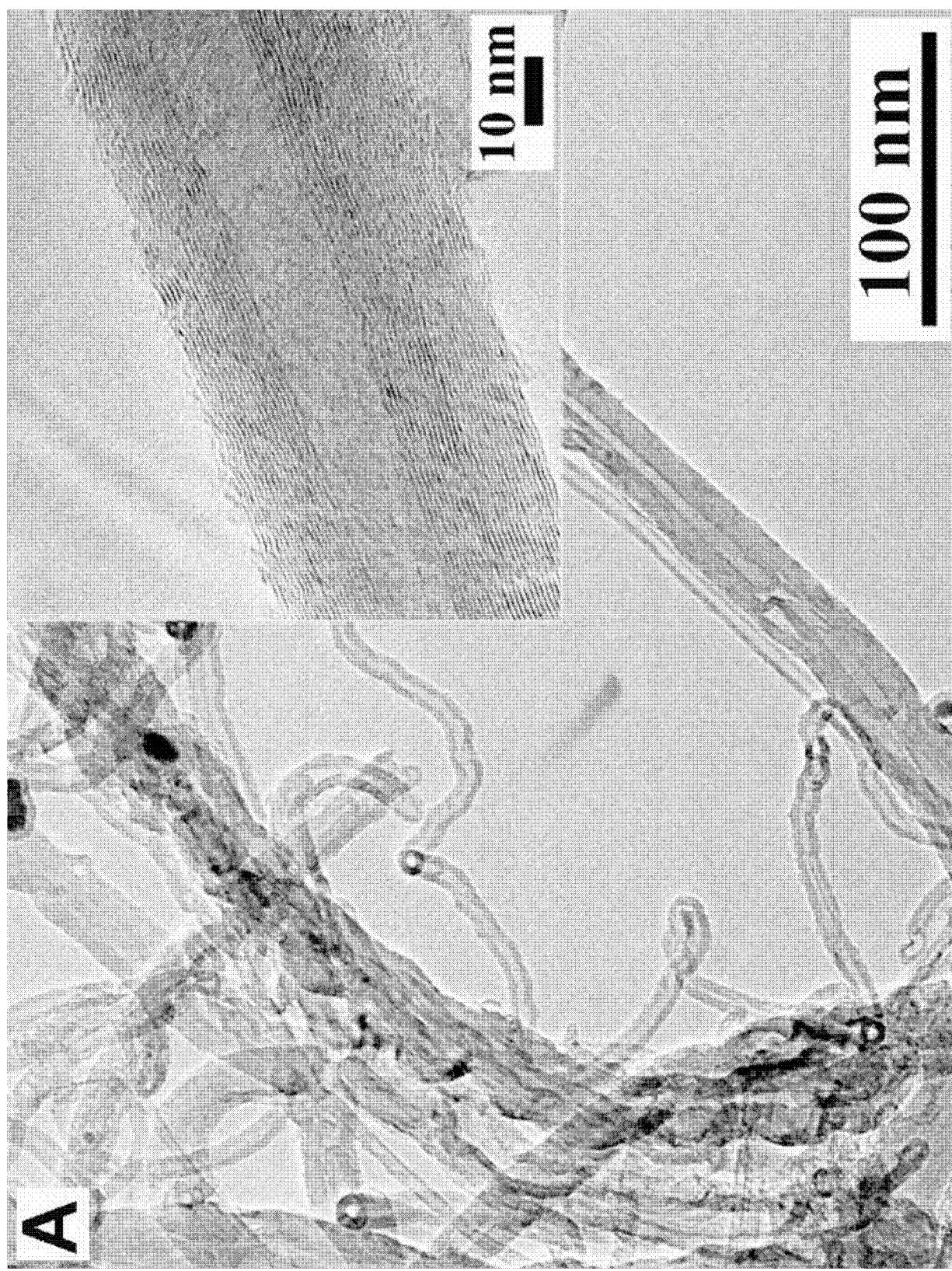


图 2

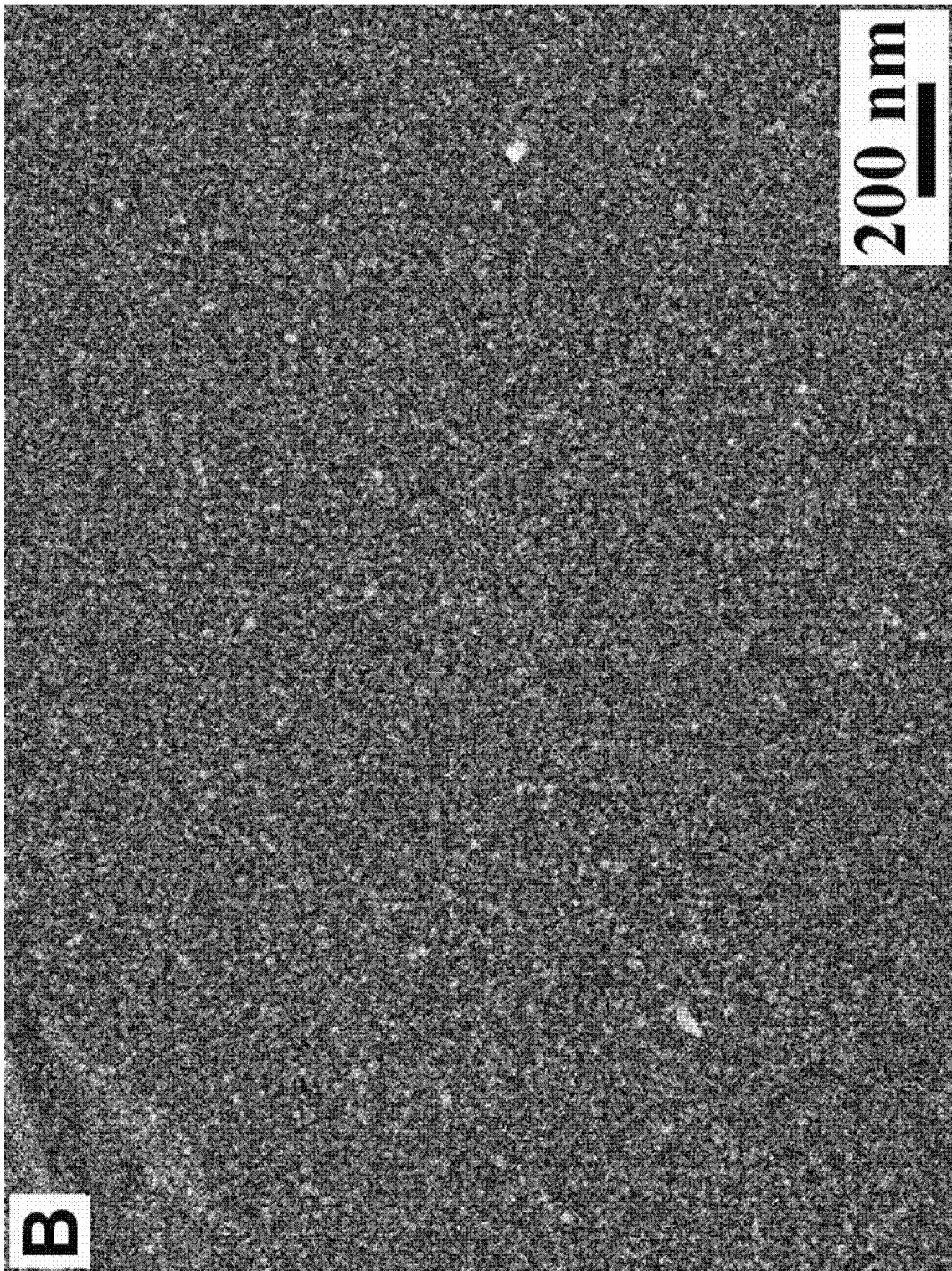


图 3

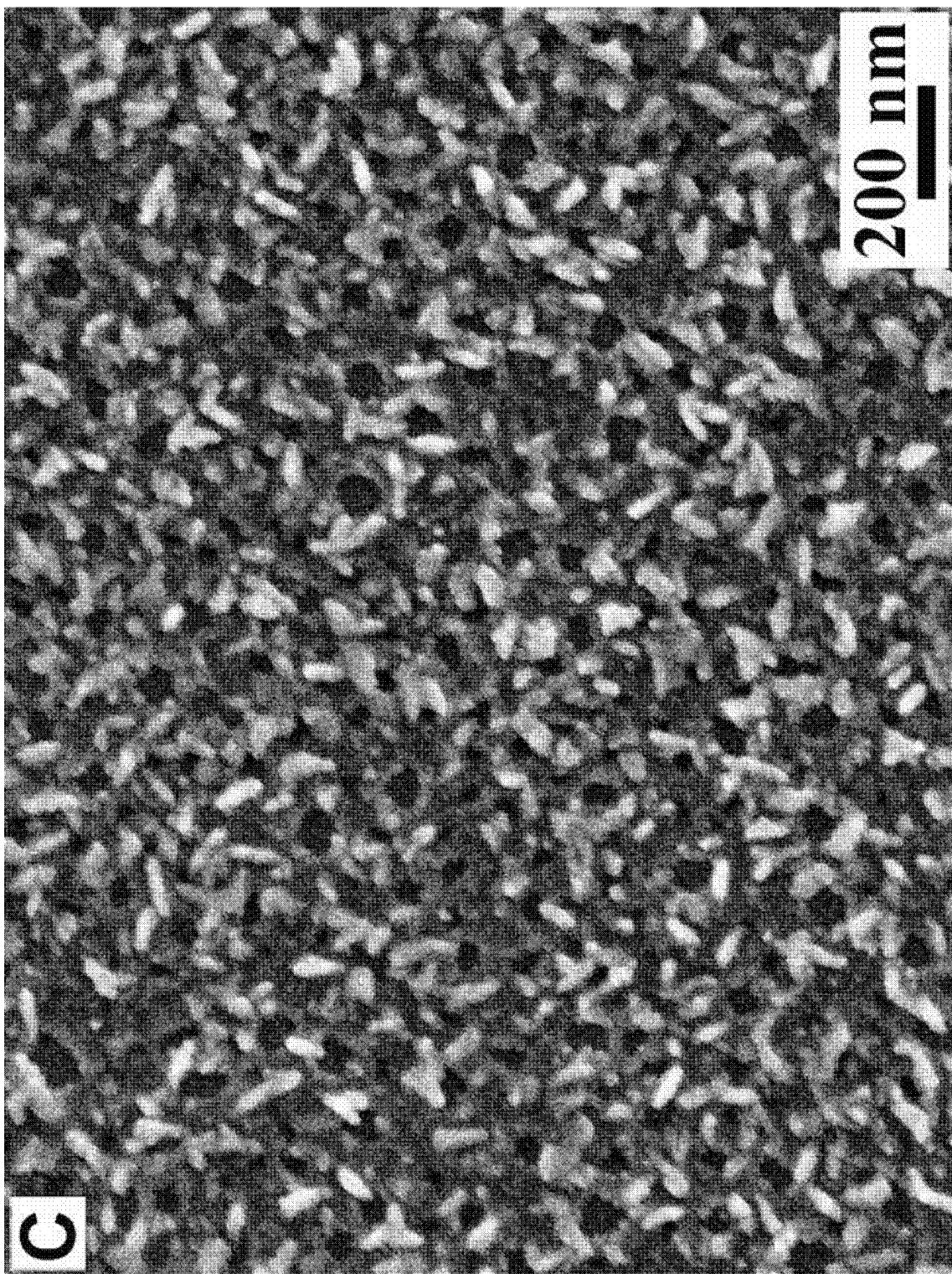


图 4

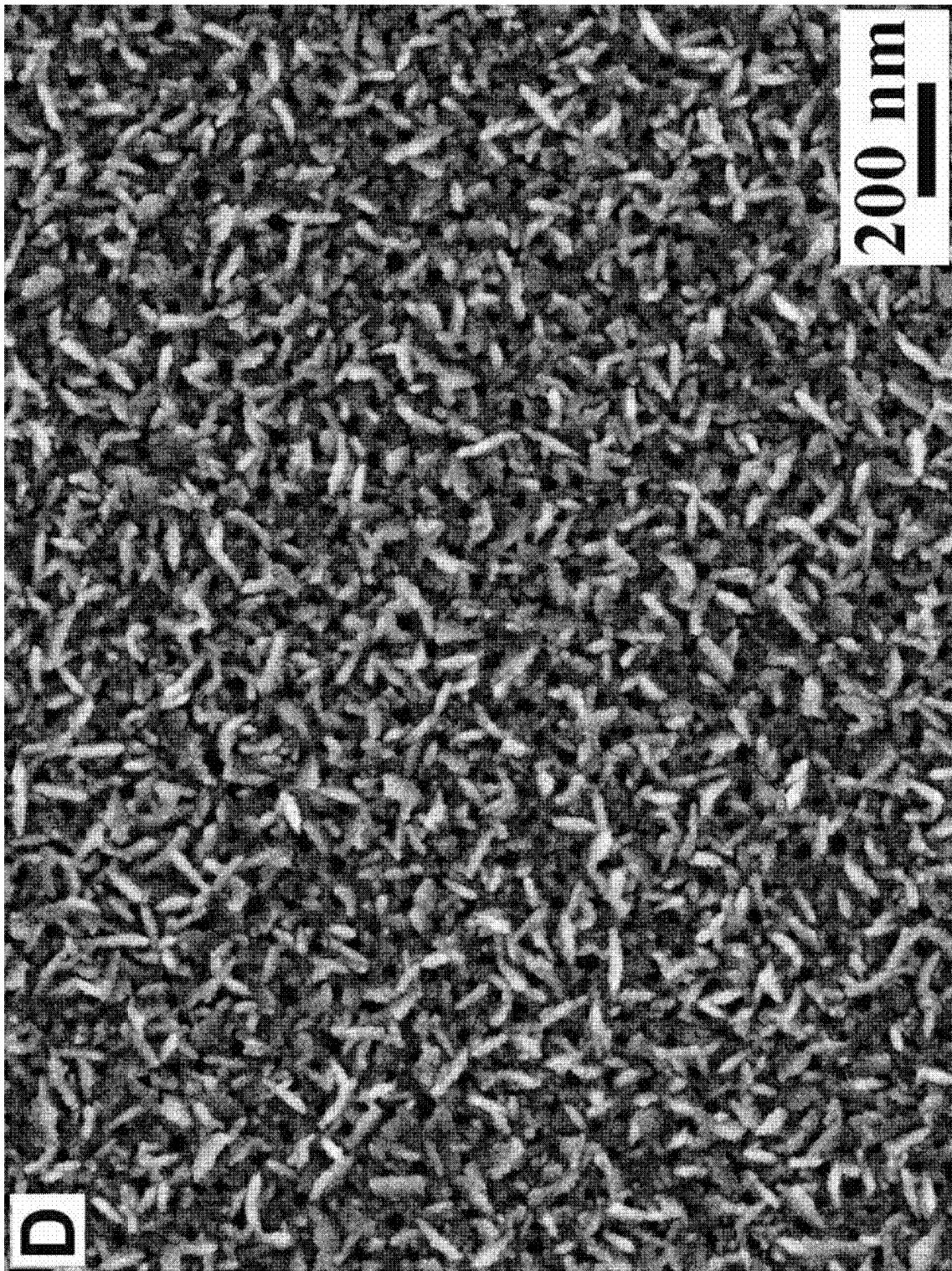


图 5

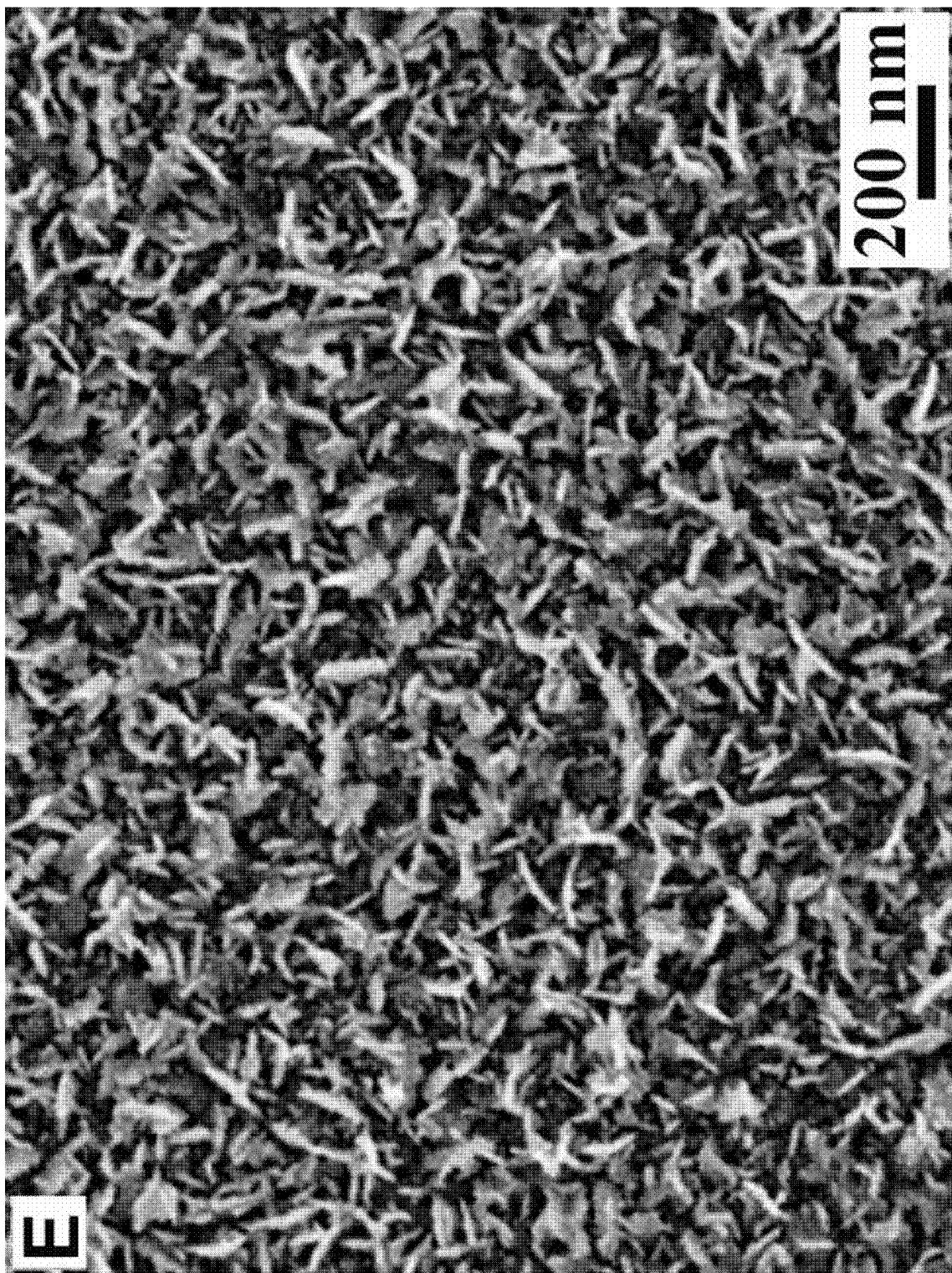


图 6

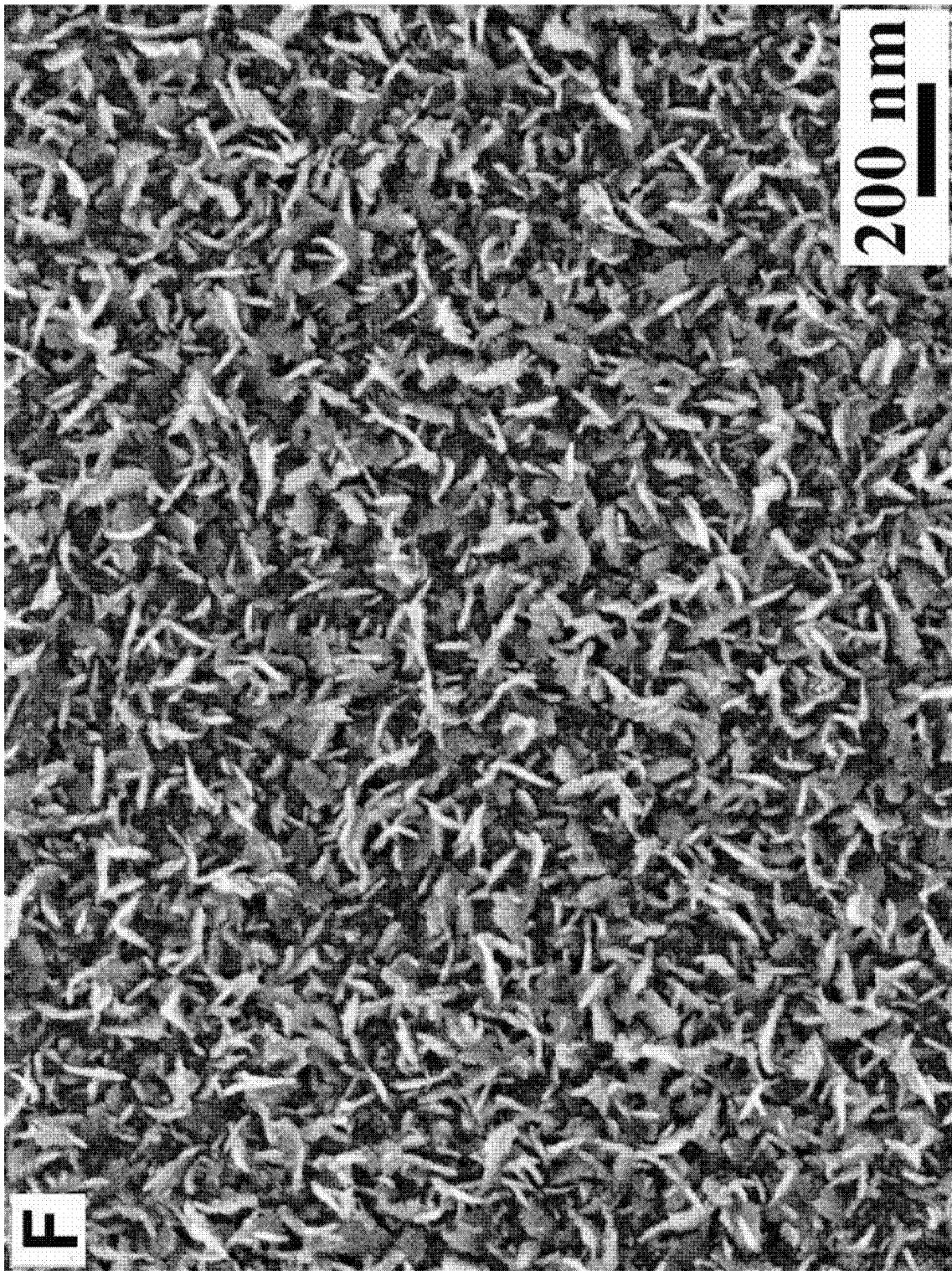


图 7

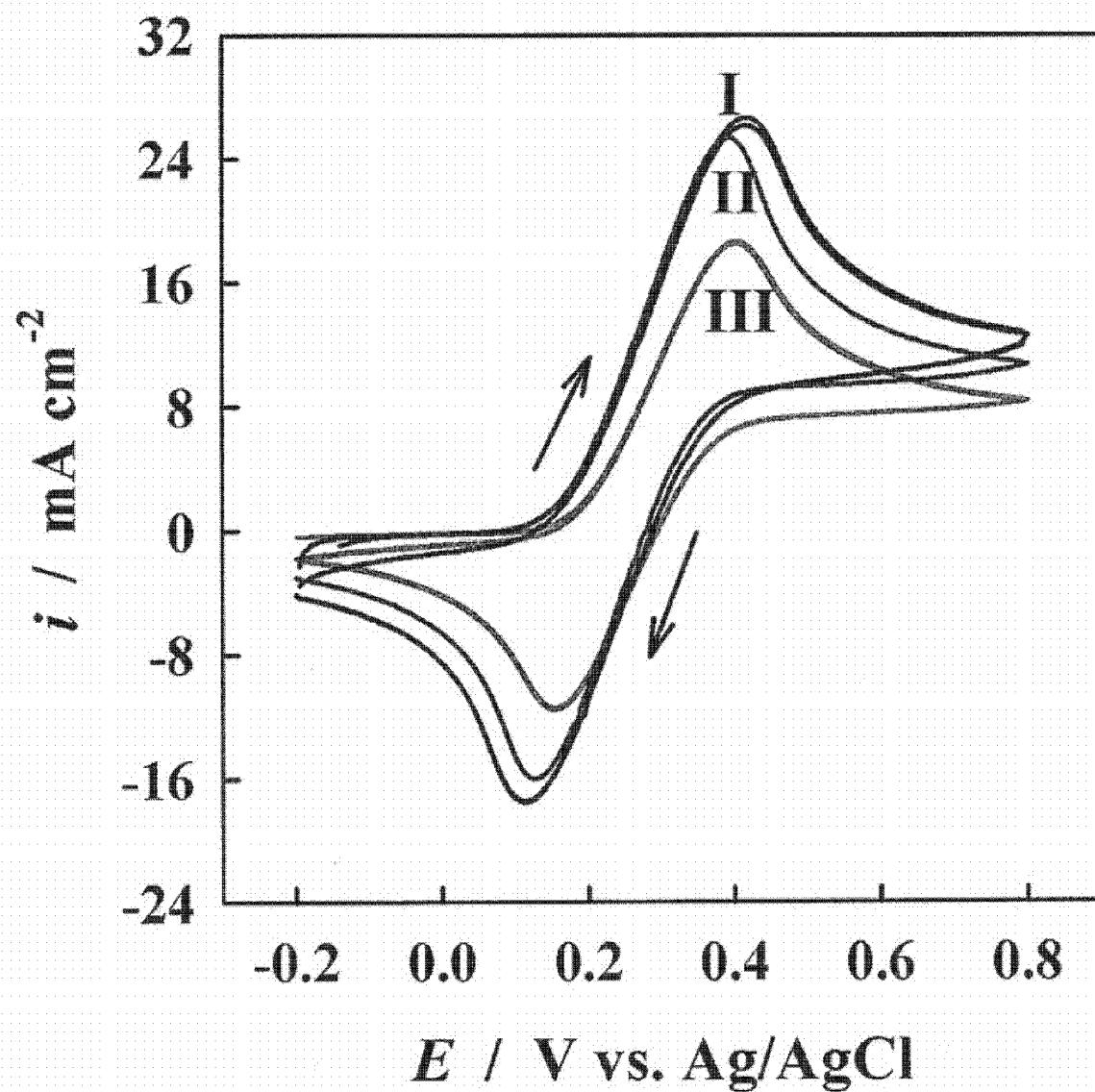
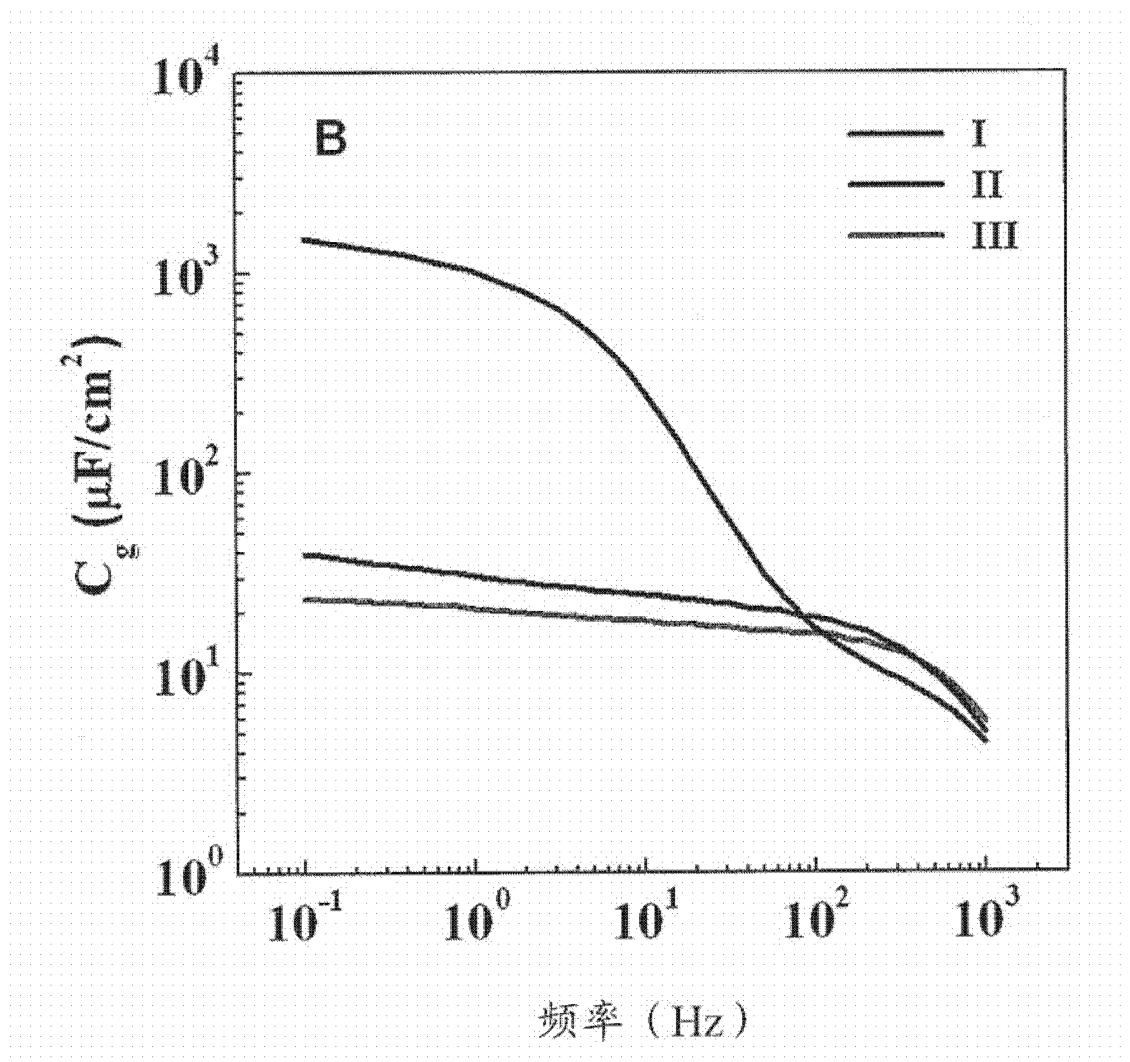


图 8



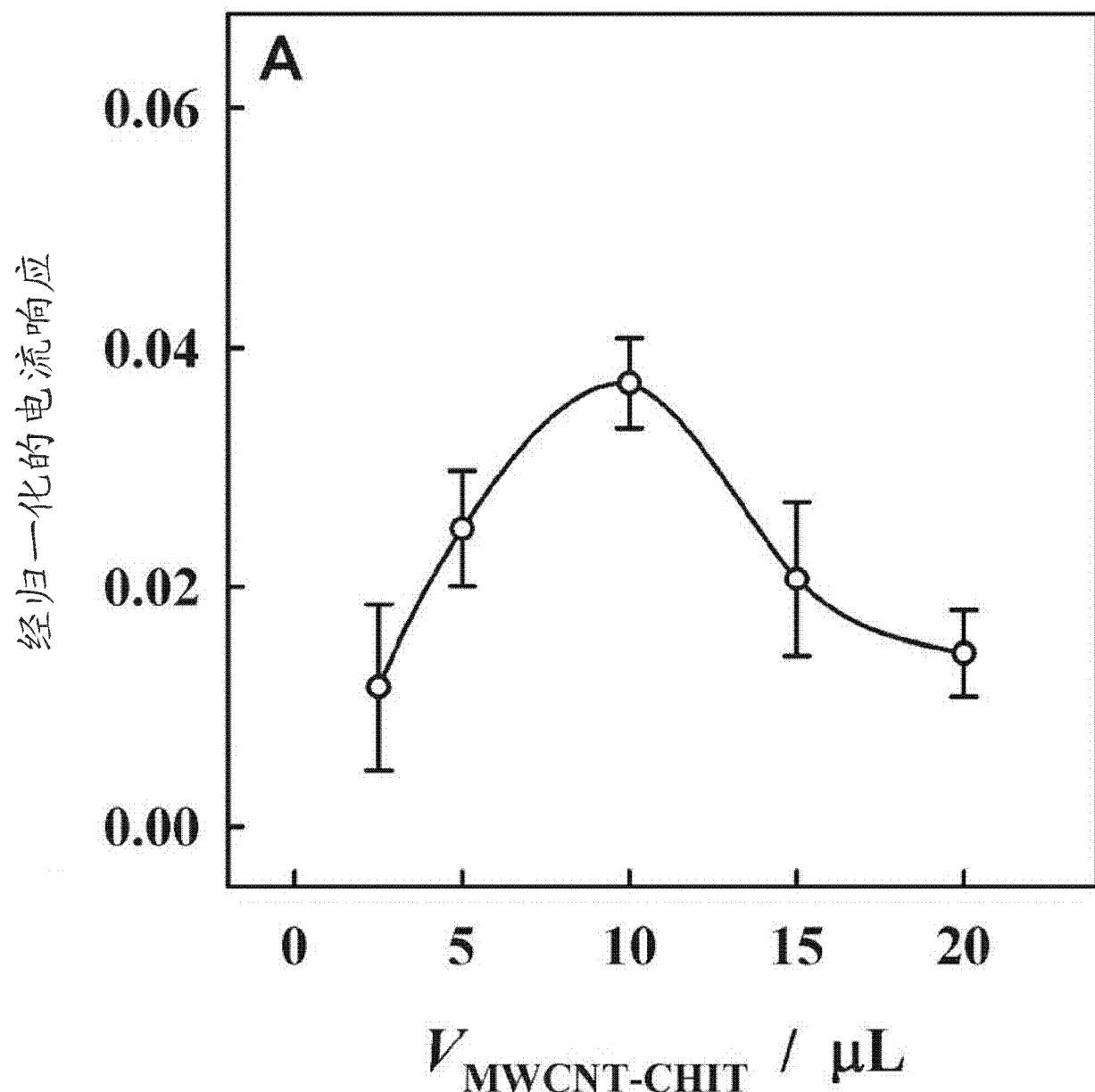


图 10

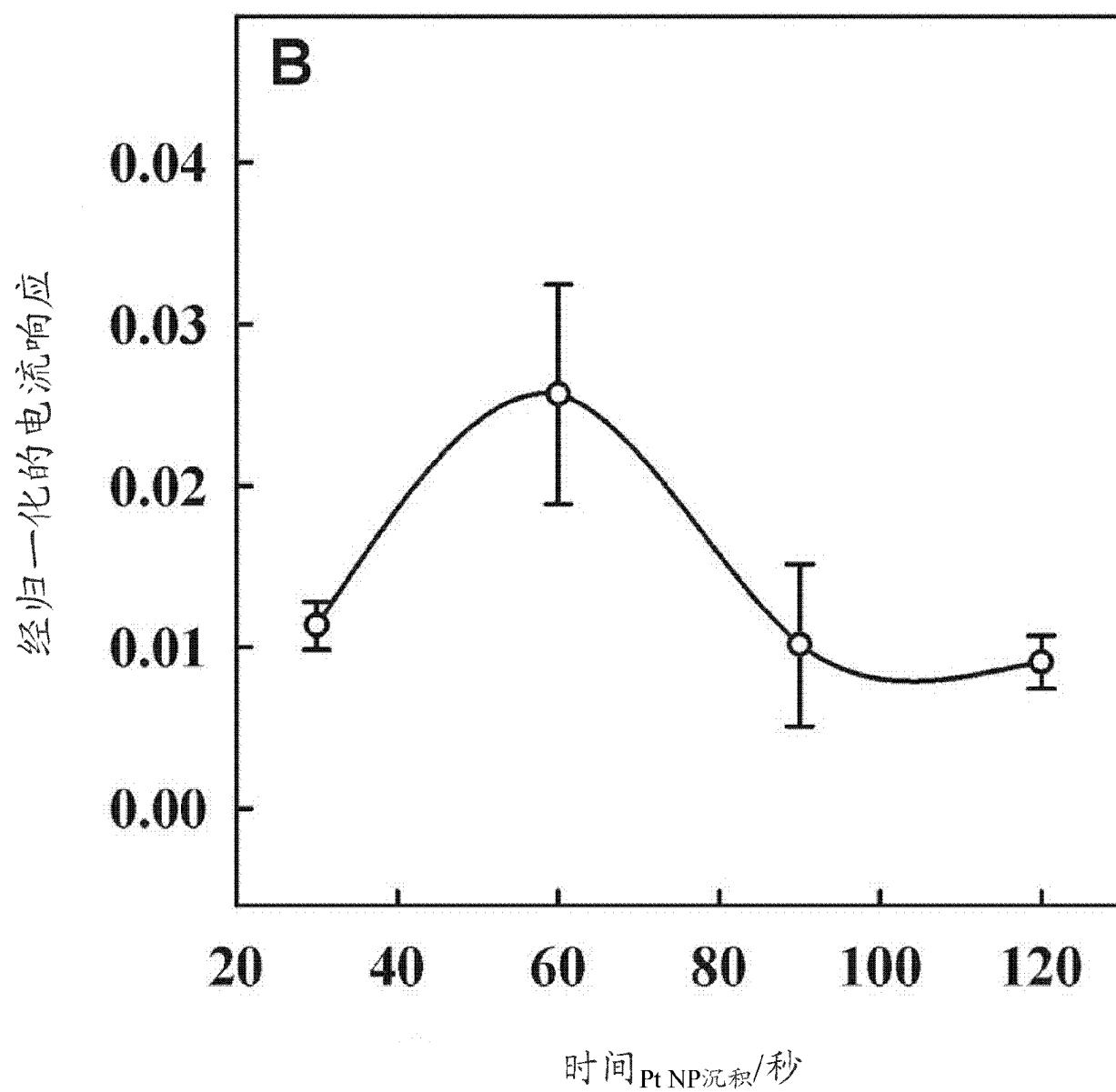


图 11

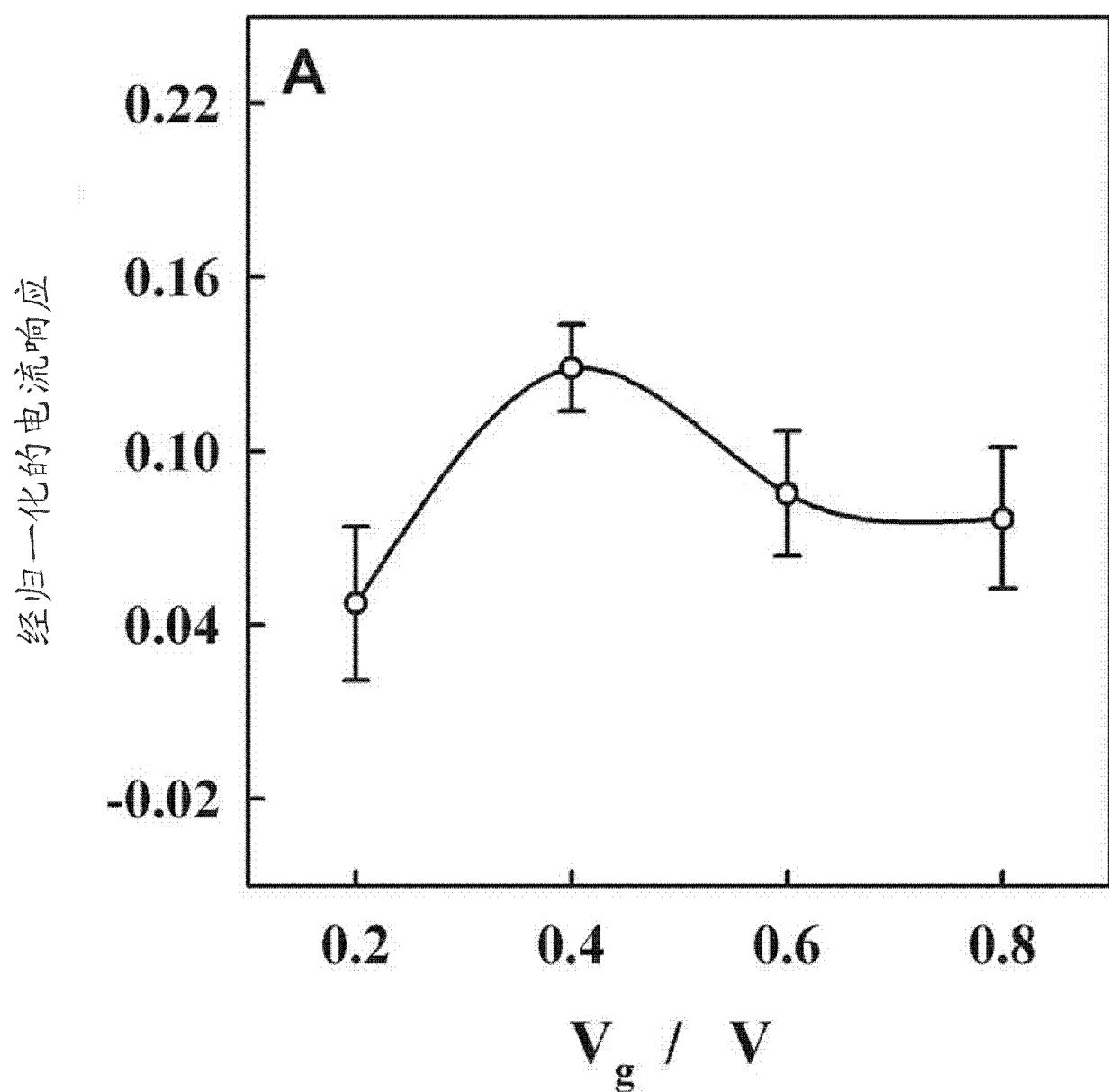


图 12

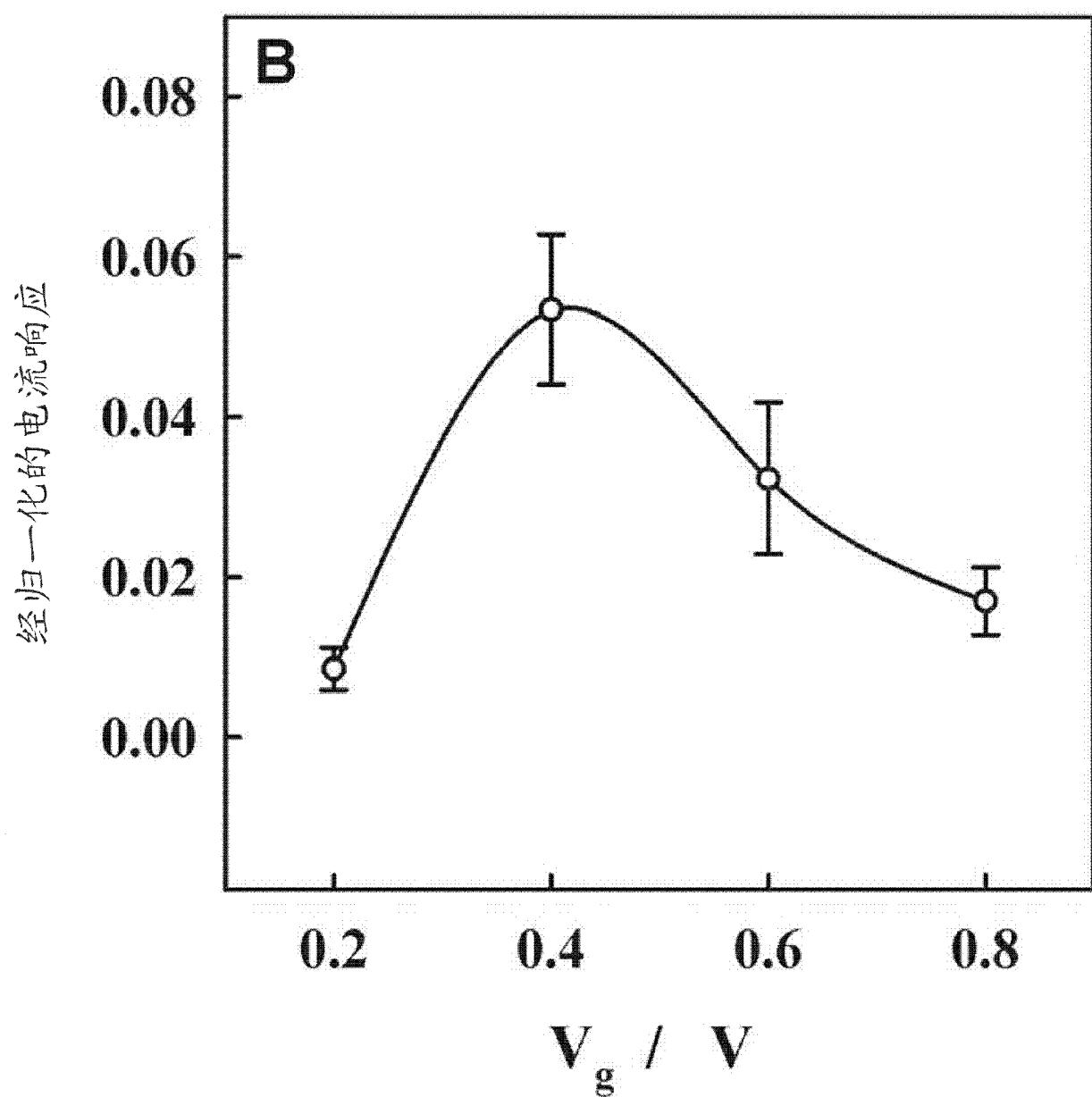


图 13

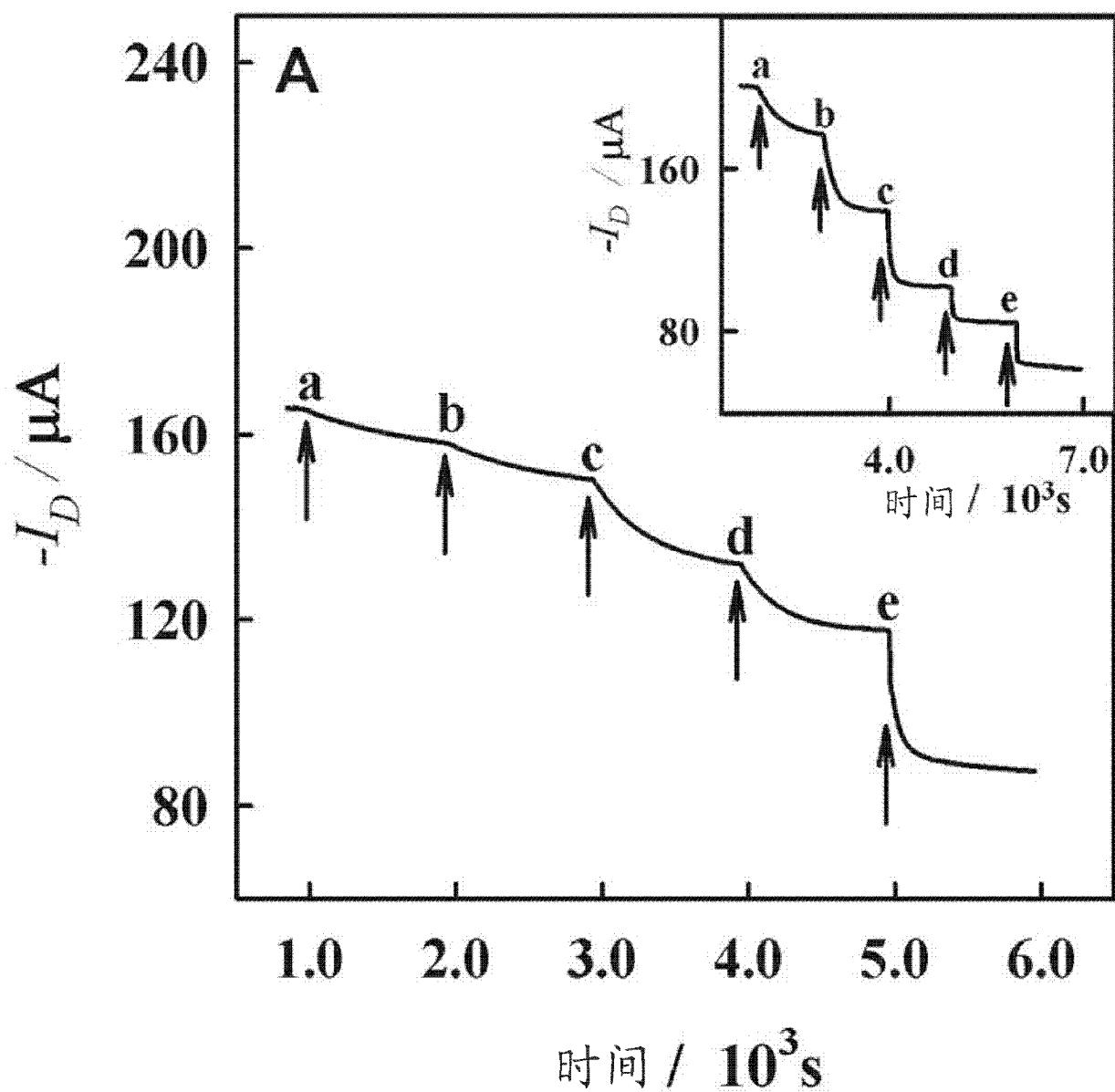


图 14

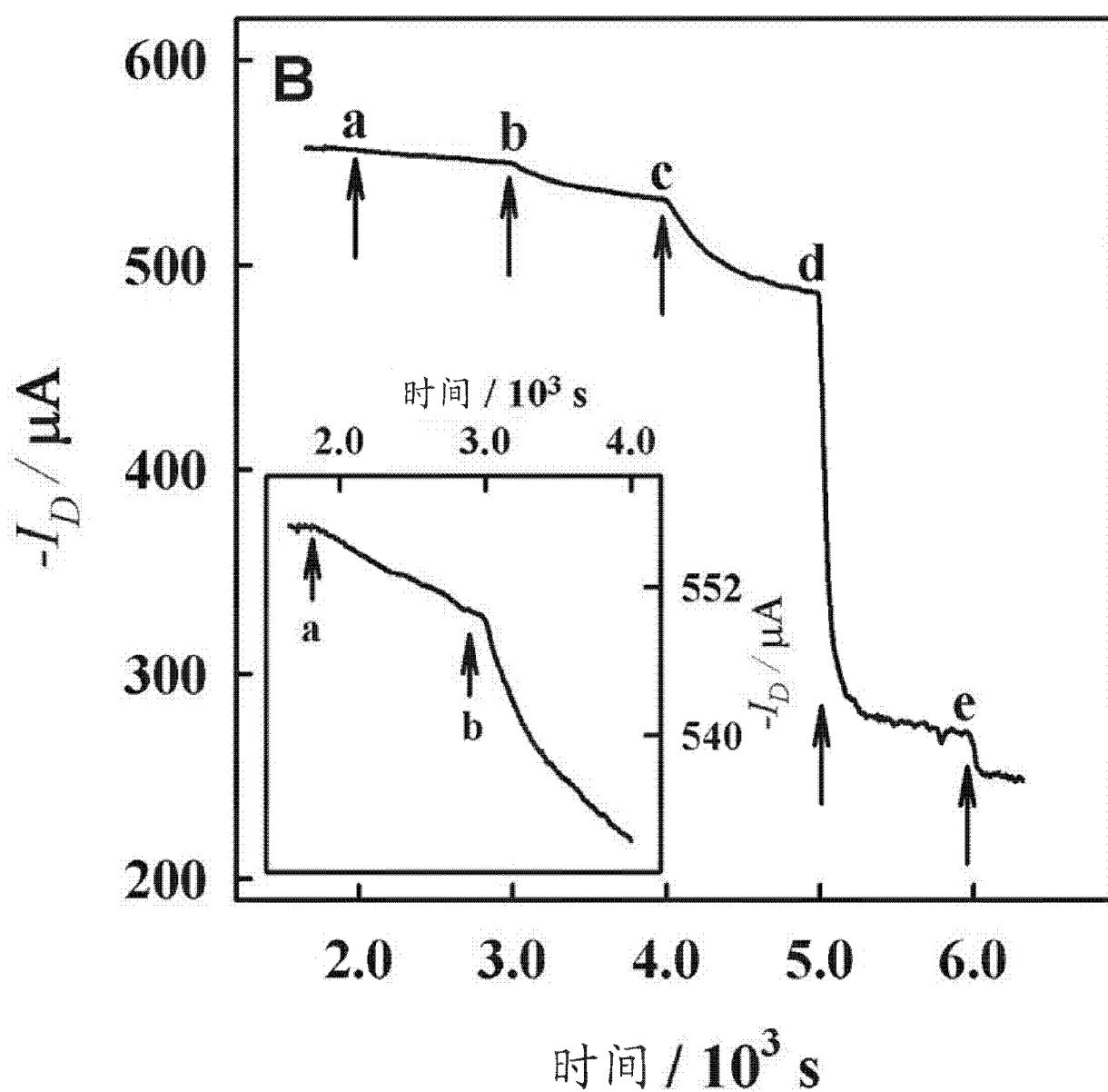


图 15

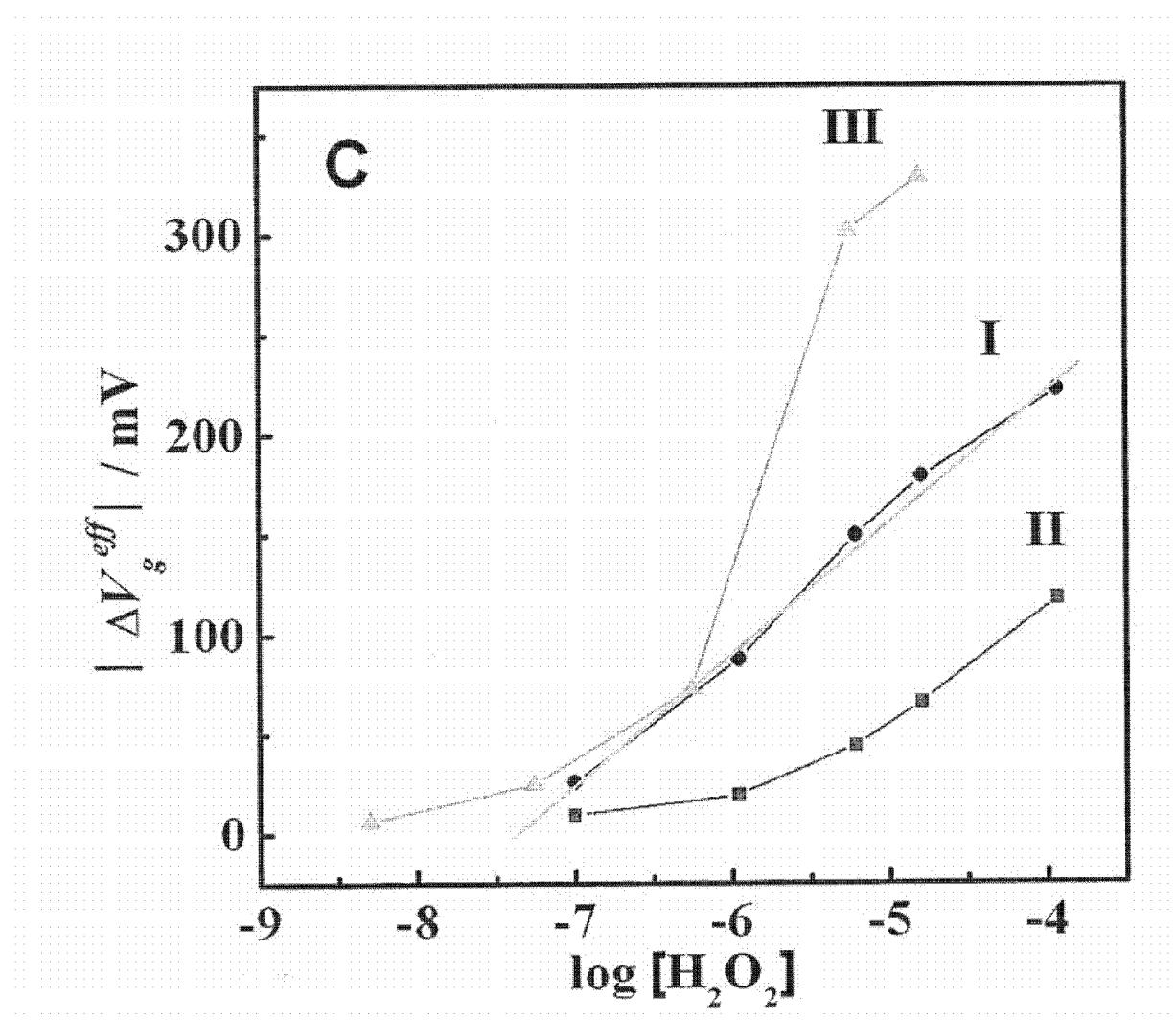


图 16

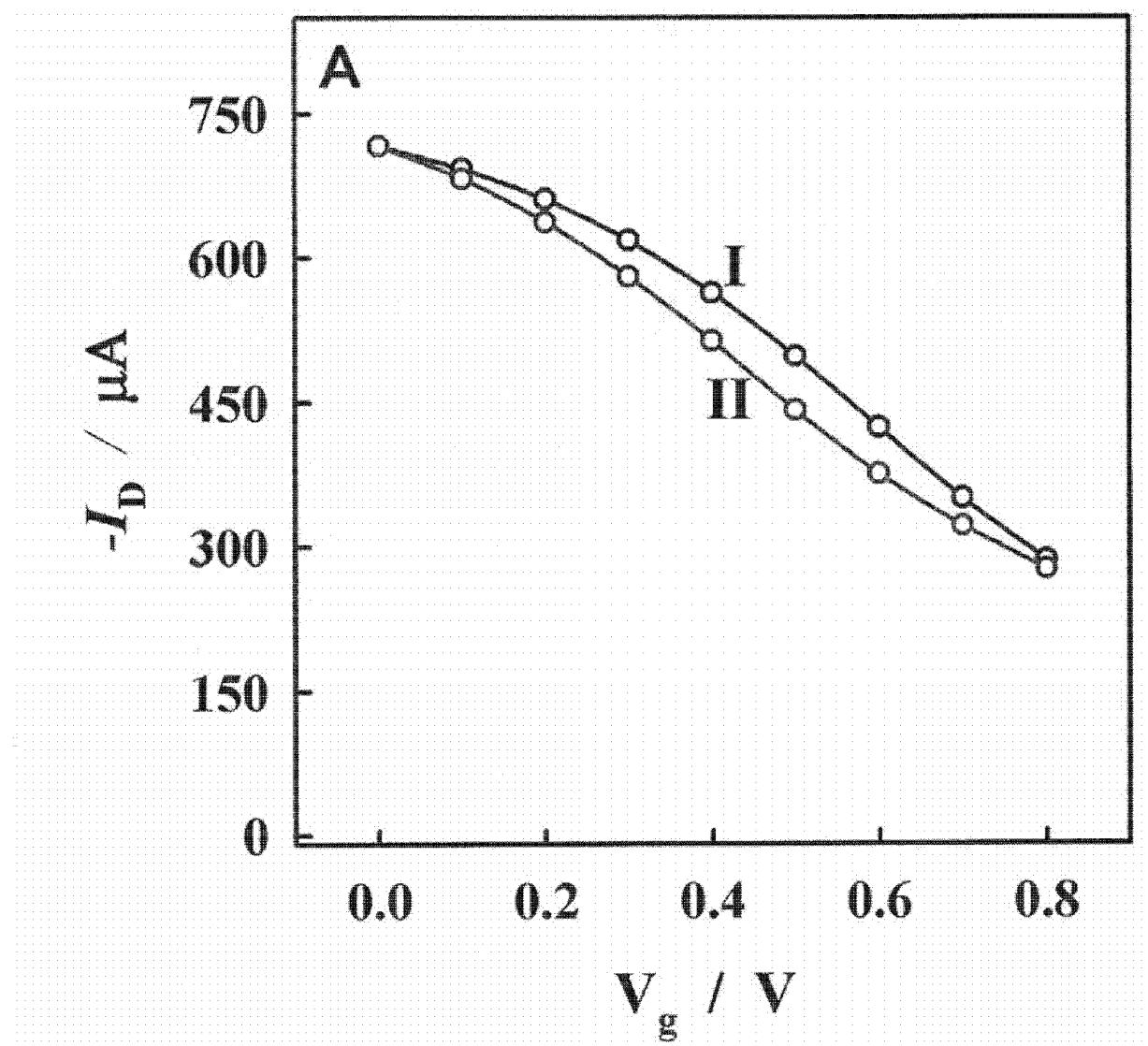


图 17

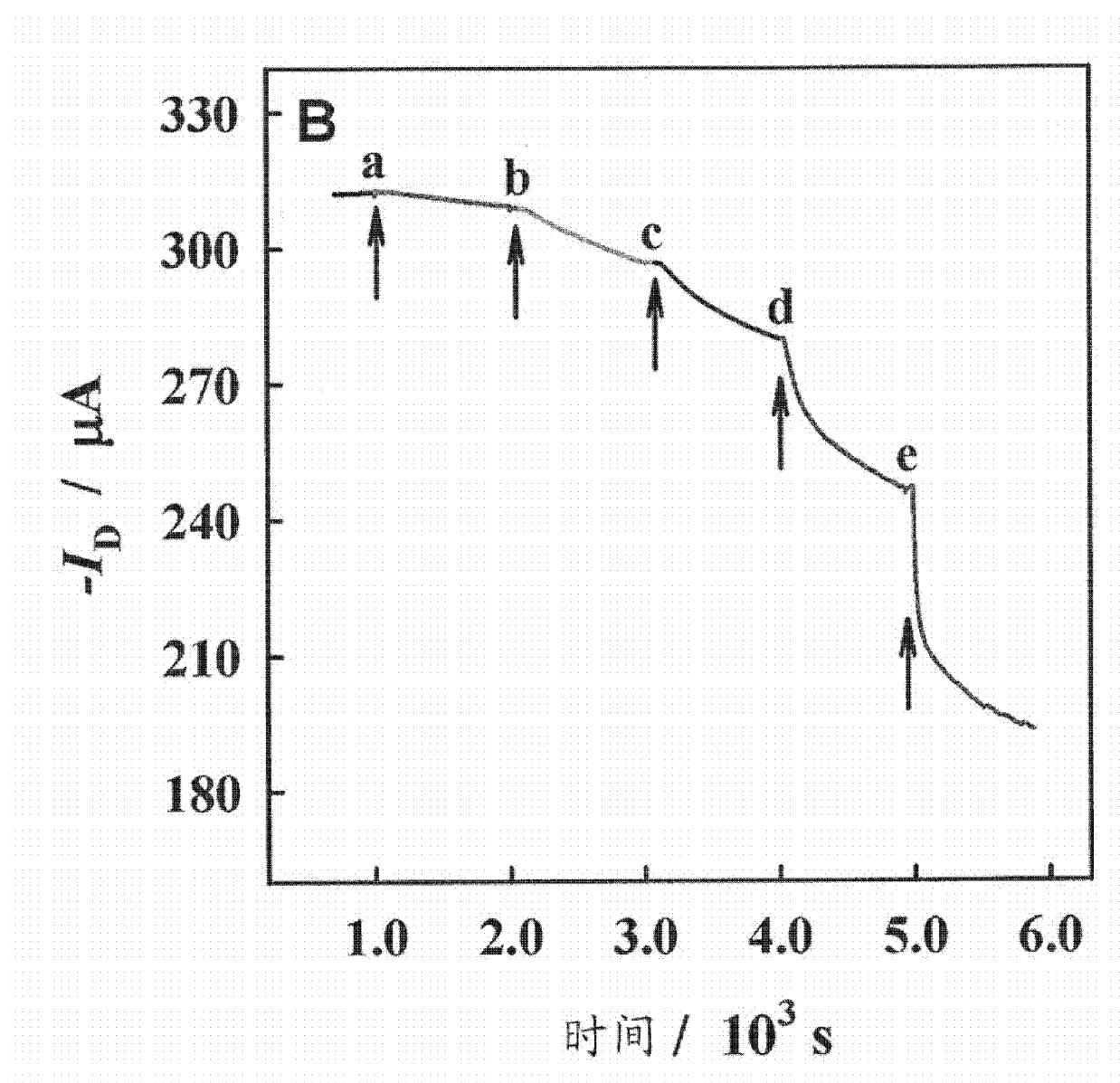


图 18

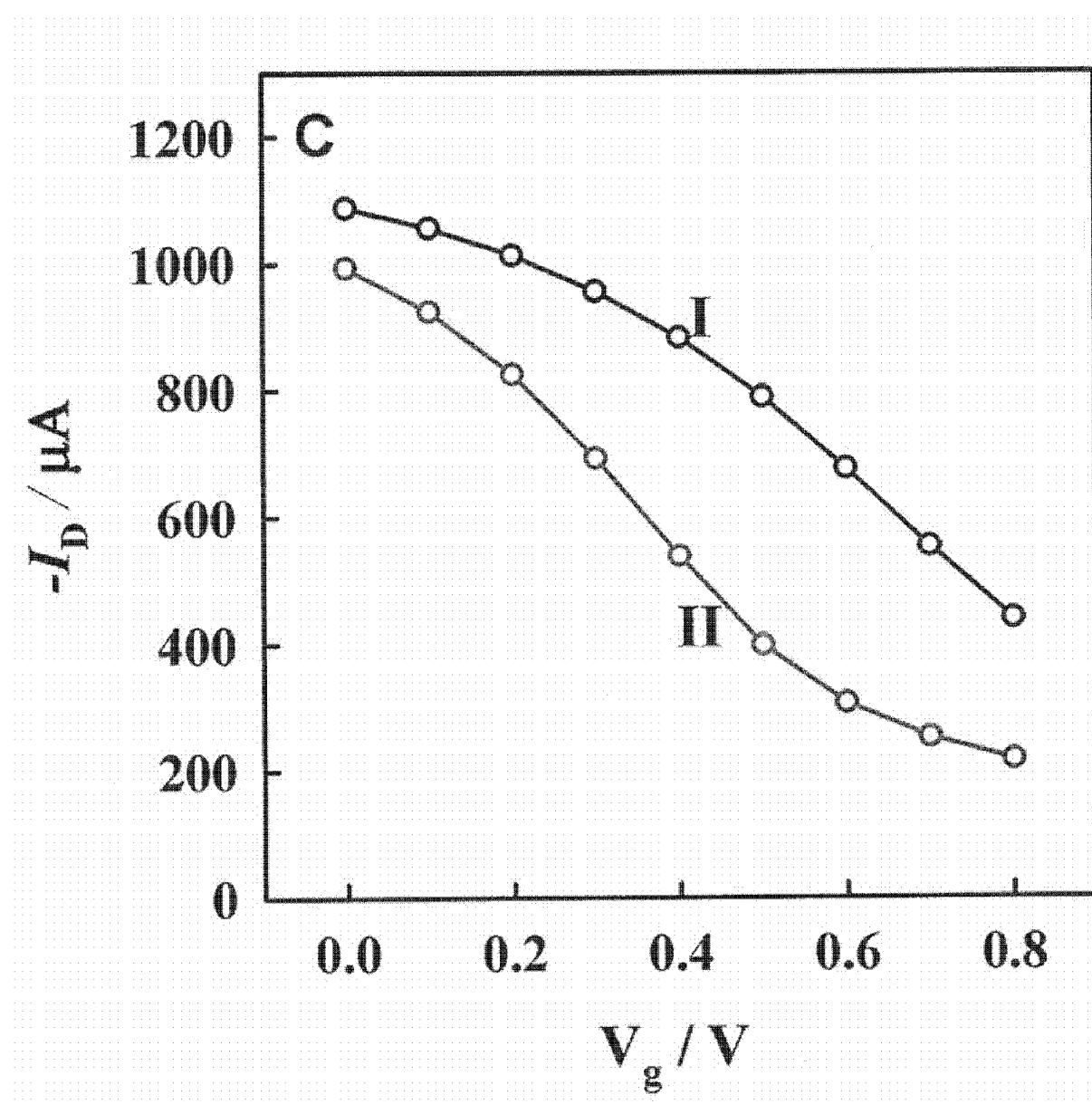


图 19

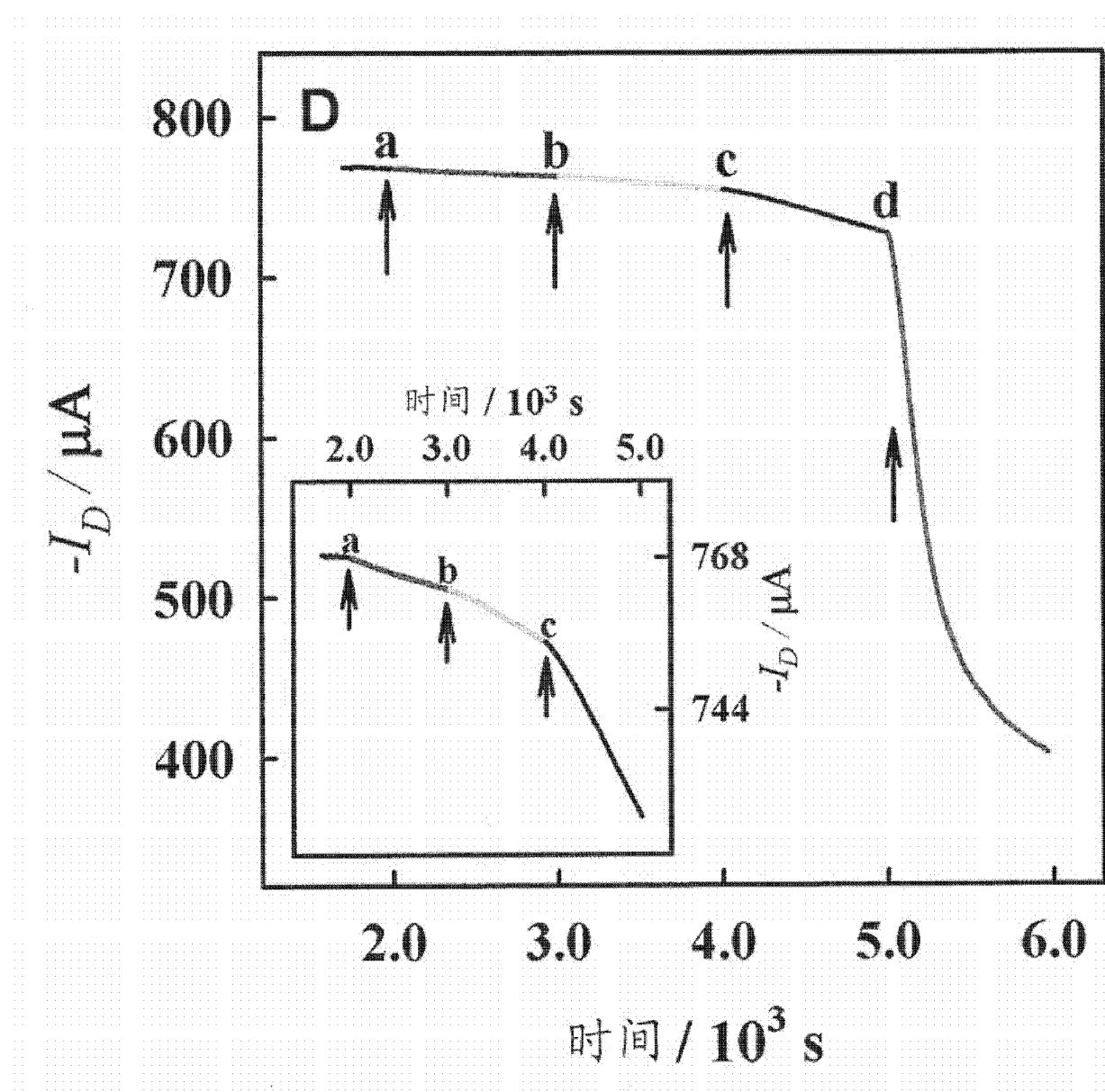


图 20

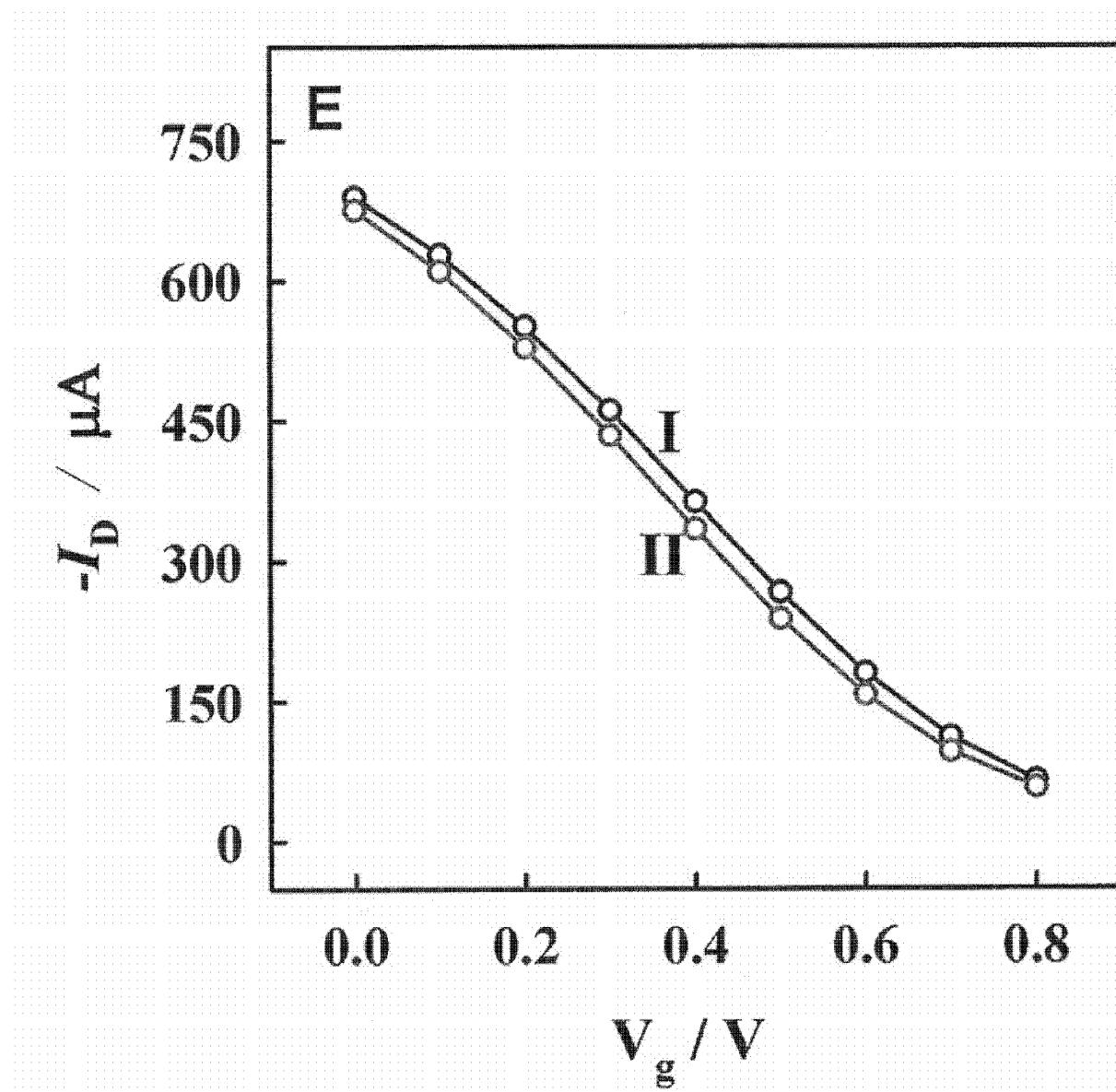


图 21

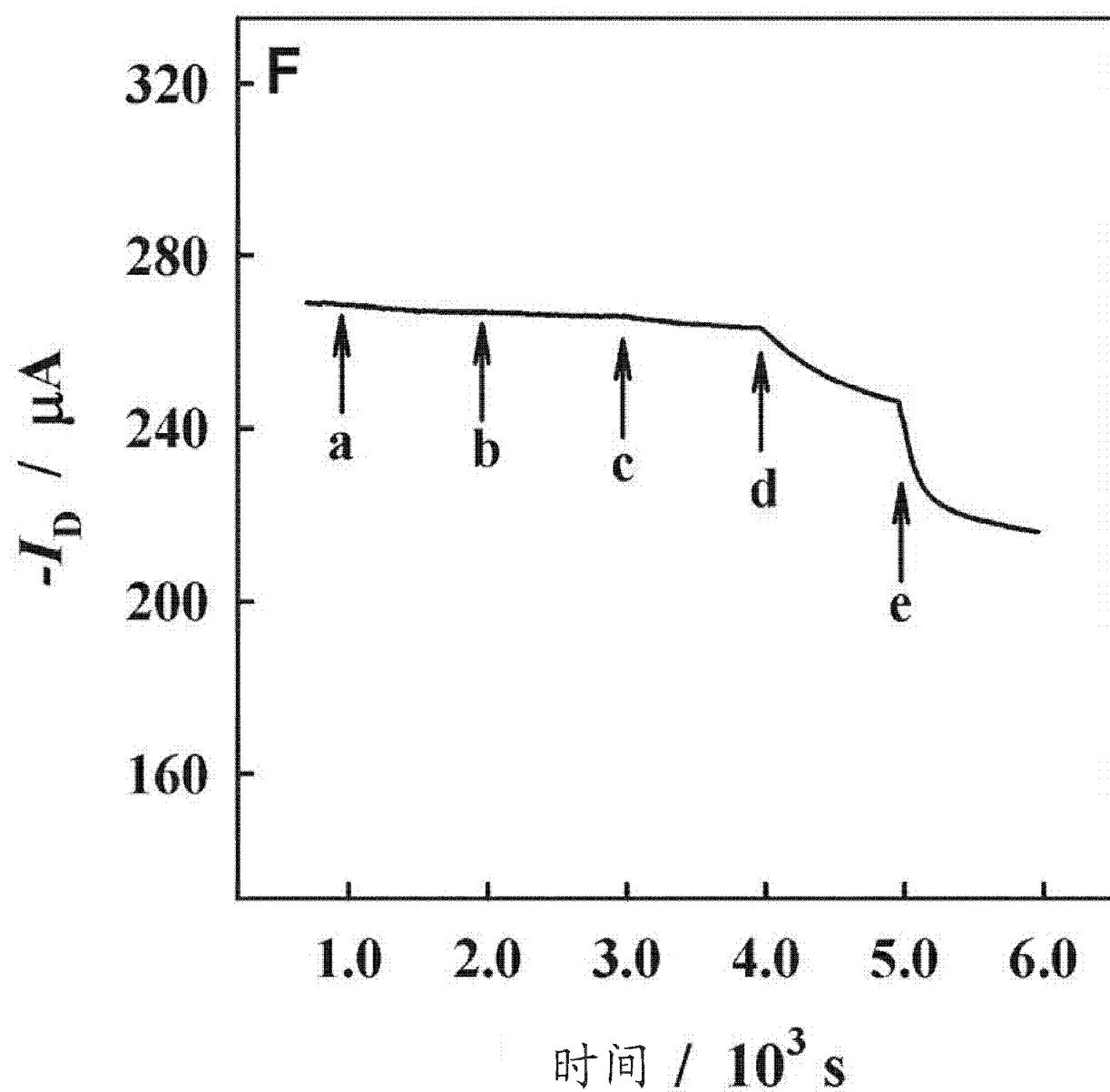


图 22

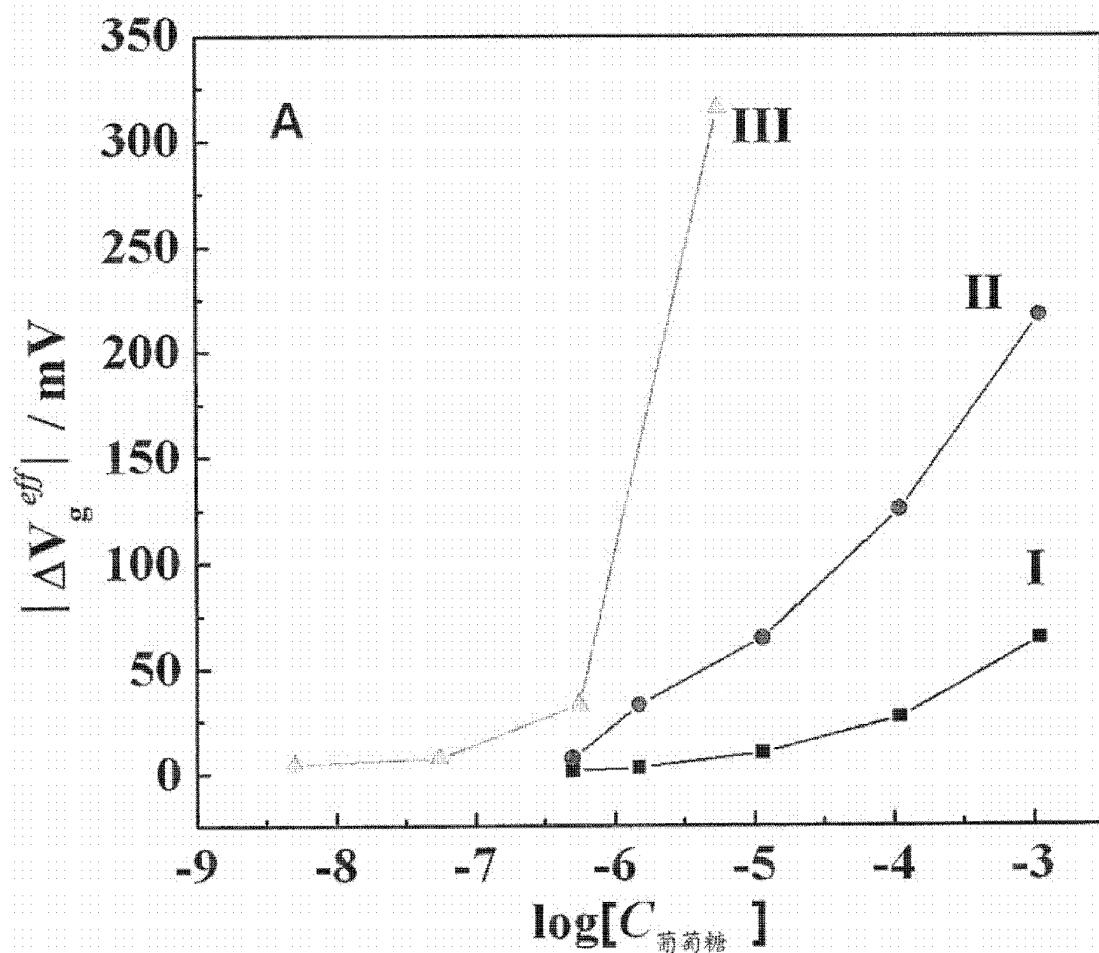


图 23

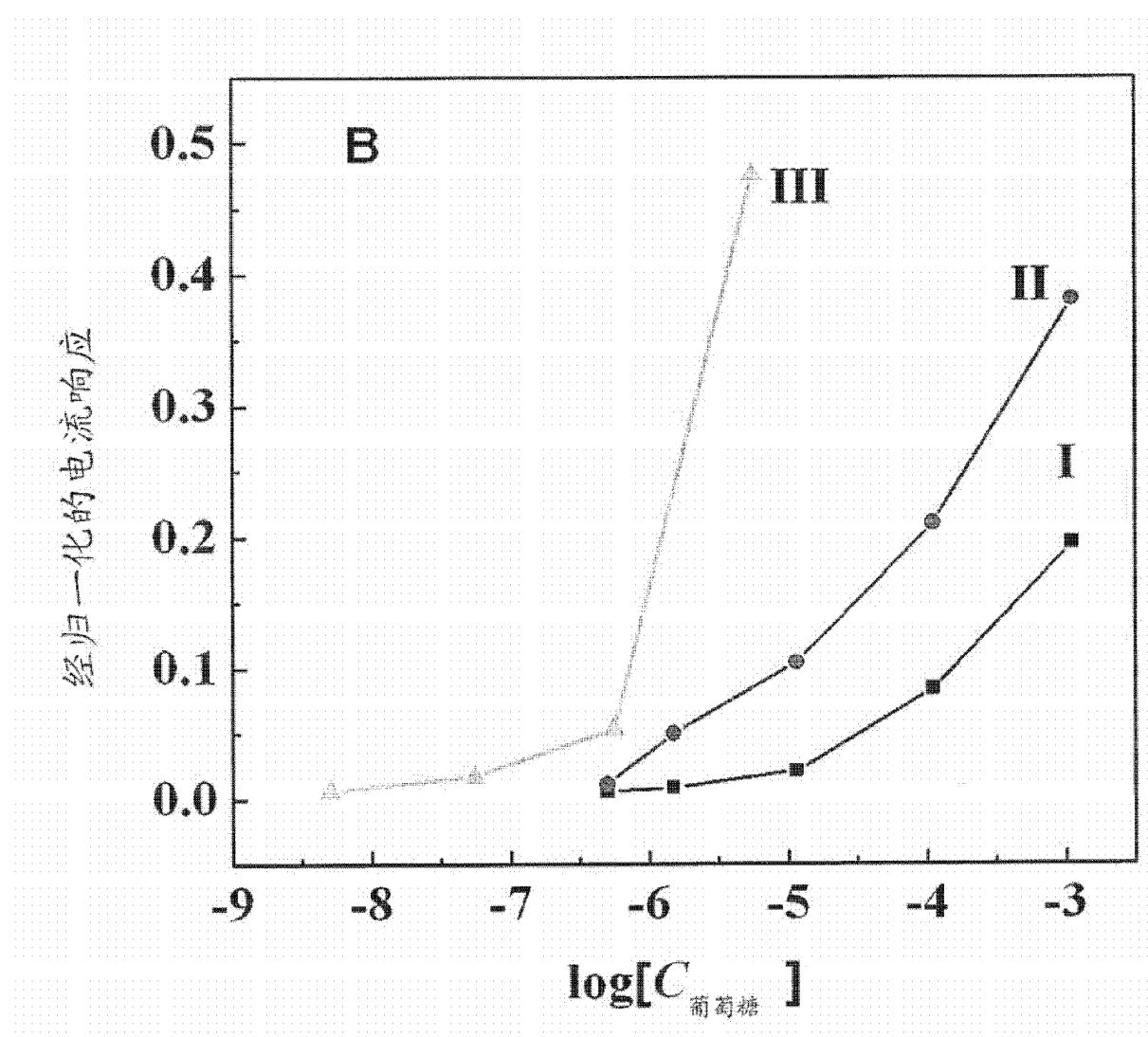


图 24

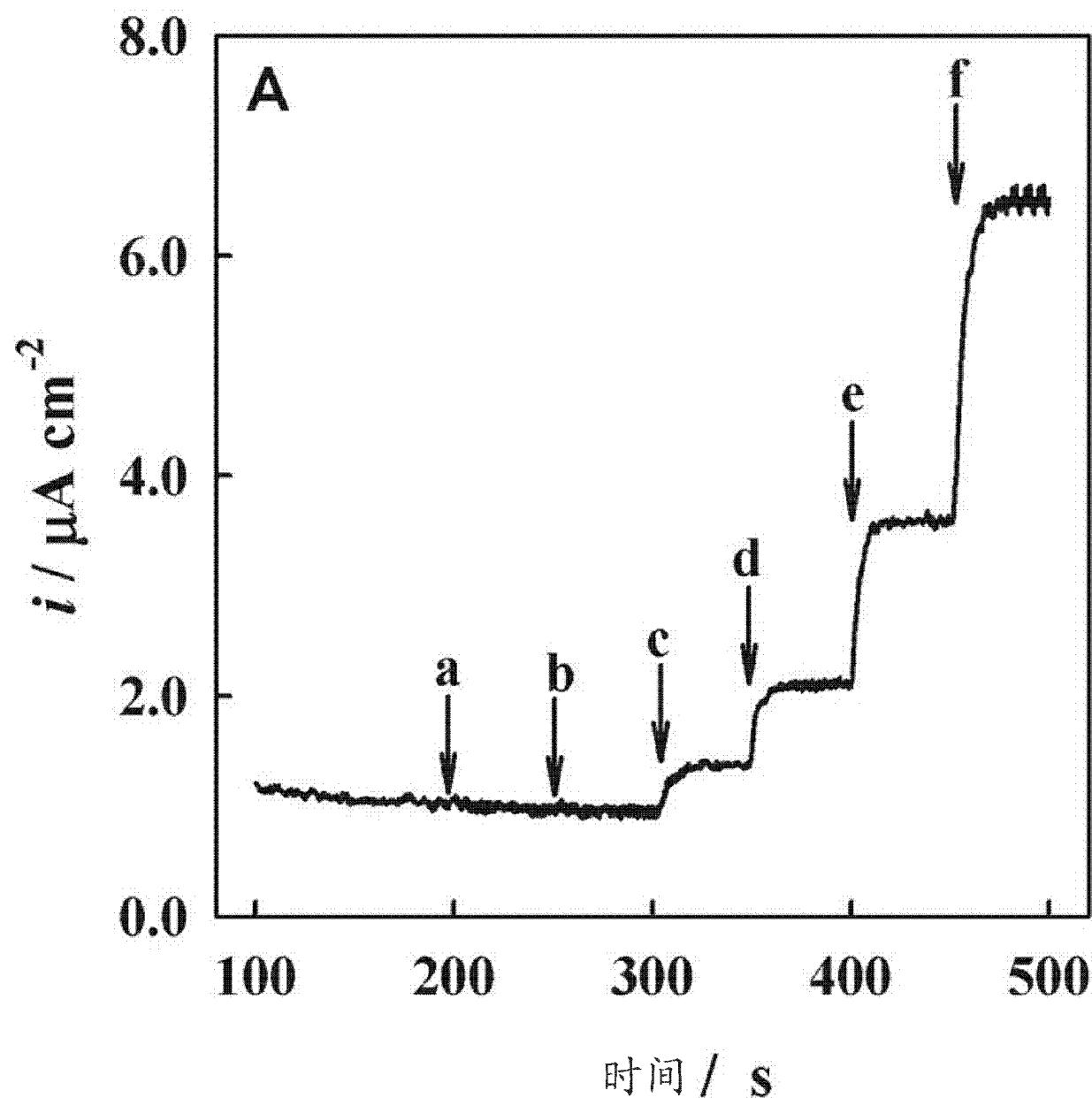


图 25

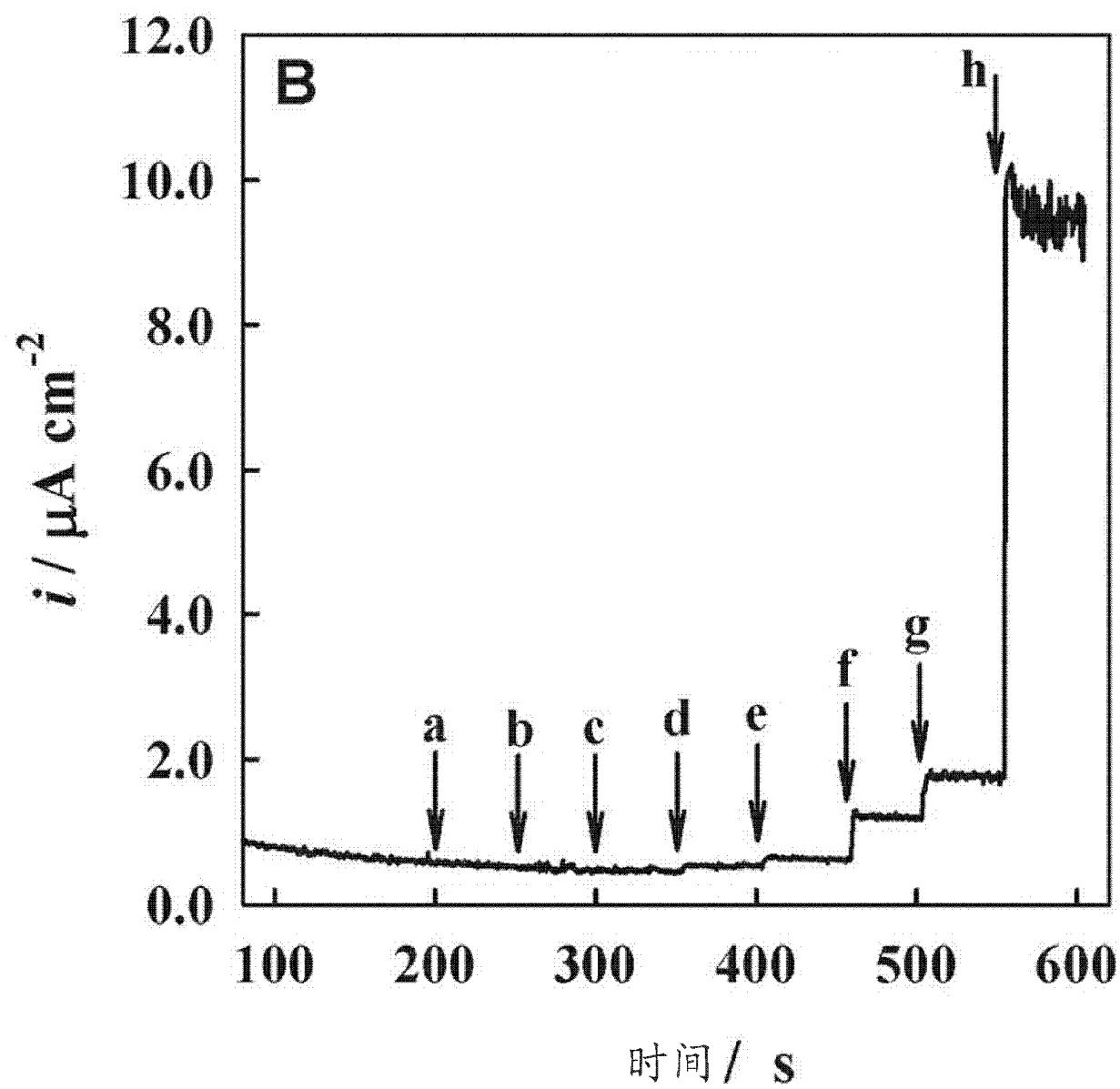


图 26