



青年科学家著作丛书

张先恩 著

生物传感技术原理与应用

青年科学家著作丛书

生物传感技术 原理与应用

张先恩 著

吉林科学技术出版社

青年科学家著作丛书

生物传感技术原理与应用

张先恩 著

责任编辑：张炎琳

封面设计：杨玉中

出版 吉林科学技术出版社

850×1168毫米 32开本 8印张

插页 4 182,000字

1991年5月第1版 1991年5月第1次印刷

发行 吉林省新华书店

印数：1—1280册 定价：4.70元

印刷 长春市第四印刷厂

ISBN 7-5384-0720-0/O·42

内 容 提 要

本书系统地介绍了生物传感技术的基本原理、类型、特征、研究方法和最新动态，包括以电化学、热学、光学、表面等离子体共振、压电理论和半导体等原理设计的生物传感器以及它们在临床、卫生、生化、食品、环保和生物学基础研究中的应用，并扼要地介绍了与生物传感有关的生物反应基础知识和固定化技术。

本书适用于高等院校生物专业、传感器专业和分析专业高年级学生及研究生，也可作为有关科研人员 and 高校教师的研究或教学参考书。

祖国的希望 未来的曙光

——寄语青年科技工作者

王大珩

翻开吉林科学技术出版社送来的《青年科学家著作丛书》书目及作者名单，一个个自强好学，勇于探索创新的青年人仿佛就在眼前，使我欣慰，感到后生有望。所以在《丛书》编辑出版之际，我很乐于借此机会，同广大青年科技工作者讲几句共勉的话。

这些年来，一大批在五星红旗下诞生，成长起来的年轻科技工作者崭露头角，在面向国民经济主战场的应用研究和在基础科学以及高技术研究等诸多方面取得优异成就，有的居于国际领先地位，或达到国际先进水平，有的填补国内空白，这些成果对推动科学技术进步，发展国民经济起到了重要作用。为鼓励青年科技工作者的科学研究和发明创造，中国科学技术协会、中国科学院分别设立了青年科技奖和青年科学家奖，规定每两年评选一次。首届青年科技奖评出94名，首届青年科学家奖评出25名，他们是从全国数以百万计的青年科技工作者中层层遴选出的佼佼者。

在此基础上，经过中国科协和中国科学院的推荐，吉林科学技术出版社编辑出版首届部分获奖者的著作，并获得长白山学术著作出版基金的资助，这对

广大青年科技工作者是很大的鼓舞。出版社关心青年科技工作者的成长是值得赞扬的。

当今，在激烈的国际竞争中，重要的是看一个国家的综合国力，而其中重要的一个方面是科学技术的进步，所以各国都把科学技术作为推动经济发展和社会进步的重要手段。我国是一个拥有十一亿人口的大国，经济还很落后。但是我们有志气、有能力振兴中华，立足于世界民族之林。实现这样的宏愿，要靠我们几代人的艰苦奋斗。中国科学技术的兴旺发达要靠我们老中青科技工作者团结合作，但归根到底要靠你们青年人。长江后浪推前浪，一代更比一代强。党和人民把国家的前途、民族的命运寄托在你们青年人身上，正如江泽民同志所说：“你们是祖国希望所在，是中国未来的曙光。”

我们这些人都已年逾古稀，要你们接好班，要有理想、有志气。一个人也好，一个民族也好，都要有一点精神，要有使命感，要有民族自强心，要为国家、为民族争口气，奋发向上，勇于进取；作为优秀的青年科技人才，除业务上有突出成就外，还要有不计名利、无私奉献的高尚精神，现在尤其要提倡这种精神，还要有求实的科学态度，尊重知识，尊重他人的劳动；你们还要发扬中华民族的美德，那就是要有集体主义精神，要团结协作，自力更生，艰苦奋斗，不屈不挠地去拼搏，满怀希望，开拓未来！

1990年2月

前 言

生物传感器同属生物科学和传感科学，它巧妙地柔和两者，导致了被誉为是分析生物学领域的一场革命——分析生物学从“半定量”向精确定量和自动化操作过程的转化。

生物传感器在短时期内的迅速发展和广阔应用前景受到越来越多学者的关注。近年来，我国的有关研究亦相当活跃，与之不相适应的是国内目前尚无有关专业著作，尽管不乏有意义的综述和上乘译作，但仍不能适应实际发展的需要。于是，我便萌生了撰写此书的念头。

本书在编撰过程中，严格按器件分类法，对各种生物传感器的基本原理、特点及有关应用研究逐一作了详尽的介绍，并将生物学反应、固定化技术和某些特殊的应用研究独立分章阐释，体现了较强的系统性。

在取材上，以经典性和新颖性为原则，参考并辑录了有关书刊中的一些资料，其中包括Biosensors'90学术大会的精华和最新研究成果。但由于时间仓促，某些内容未能很好地吸收消化，不当和疏漏之处在所难免，尚祈读者不吝指正。

作者在微生物学及生物技术方面师从简浩然教授、王志通教授和D.F.Gerson教授；在传感技术方面则多蒙任恕教授的启迪；此外，还受益于蔡宜权教授等前辈的教助和扶携；胡伟平先生和我夫人曹晓飞为本书的绘图及誊写亦付出了辛勤的劳动，在此一并致谢。

最后，作者还要感谢中国科学院、长白山学术著作出版基金会和吉林科学技术出版社为出版本书提供机会和支持。

张先恩

1990年7月

目 录

第1章 绪论	(1)
1.1 生物传感器的发展过程	(1)
1.2 生物传感器原理和特点	(3)
1.3 生物传感器基本概念与分类	(6)
第2章 生物反应基础	(9)
2.1 概述	(9)
2.2 酶反应	(9)
2.3 微生物反应	(19)
2.4 免疫学反应	(25)
2.5 生物学反应中的物理量变化	(30)
2.6 结语	(34)
第3章 生物活性材料的固定化	(35)
3.1 概述	(35)
3.2 夹心法	(36)
3.3 吸附法	(37)
3.4 包埋法	(38)
3.5 共价连接法	(40)
3.6 交联法	(43)
3.7 L-B膜技术	(44)
3.8 半导体工艺固定化法	(46)
3.9 结语	(48)
第4章 生物电极	(49)
4.1 概述	(49)
4.2 基础电极	(49)
4.3 酶电极	(55)
4.4 微生物电极	(72)

4.5	免疫电极	(85)
4.6	生物组织电极	(94)
4.7	杂合生物电极	(102)
4.8	微型生物电极	(112)
4.9	结语	(115)
第 5 章	介体生物传感器	(116)
5.1	概述	(116)
5.2	直流循环伏安法	(118)
5.3	酶促反应的电化学偶联	(119)
5.4	介体酶电极	(121)
5.5	生物燃料电池	(126)
5.6	结语	(132)
第 6 章	热生物传感器	(133)
6.1	概述	(133)
6.2	酶热敏电阻系统	(133)
6.3	酶热敏电阻的应用研究	(138)
6.4	结语	(144)
第 7 章	压电晶体生物传感器	(145)
7.1	概述	(145)
7.2	液体样品测定	(146)
7.3	气体样品测定	(149)
7.4	结语	(152)
第 8 章	半导体生物传感器	(153)
8.1	概述	(153)
8.2	原理与器件	(154)
8.3	分离型半导体生物传感器	(156)
8.4	结合型半导体生物传感器	(159)
8.5	结语	(170)
第 9 章	光生物传感器	(171)
9.1	概述	(171)
9.2	光纤生物传感器	(171)
9.3	表面等离子体共振生物传感器	(185)

9.4 结语	(190)
第10章 多功能生物传感器	(192)
10.1 概述	(192)
10.2 鲜度传感器	(193)
10.3 滋味传感器	(196)
10.4 结语	(197)
第11章 生物传感器与生物反应系统的控制	(198)
11.1 概述	(198)
11.2 人工胰腺用葡萄糖传感器	(200)
11.3 微生物发酵底物浓度在线监控	(204)
11.4 动物细胞培养限制性物质浓度在线监控	(208)
11.5 免疫物质在线测定	(210)
11.6 结语	(212)
第12章 利用生物传感技术研究微生物外源呼吸	(213)
12.1 概述	(213)
12.2 同化试验	(214)
12.3 k_s 测定	(215)
12.4 微生物底物间相互作用	(217)
12.5 微生物同化肽的研究	(220)
12.6 结语	(221)
第13章 生物传感器的未来	(223)
13.1 发展趋势	(223)
13.2 生物体传感器的模拟	(225)
13.3 生物芯片和生物计算机	(228)
参考文献	(231)

第1章

绪 论

在生物圈中，存在数以千计的物质，它们影响着生物学过程的各个方面，对这些物质进行快速自动分析，是科学家们梦寐以求的目标。在过去的20多年中，生物学与物理学、化学融为一体，产生了一代新的装置——生物传感器(Biosensor)——一个典型的多学科交叉产物，导致了分析生物学技术的一场革命。

1.1 生物传感器的发展过程

临床诊断和发酵工业迫切需要建立各种快速分析方法，传统方法以化学法为主，常常包括一系列繁琐操作过程，而且周期较长，远不能适应实际需要。60年代，酶法分析开始取代一些化学法，其特点是专一性强、灵敏度高、操作简便，但未能有效地缩短测定周期。此间，传感器(Sensor)的一大类——离子选择性电极(Ion selective electrode, ISE)的研究与开发取得了较大进展，这类电极操作简单，一般无需对样品预处

理,能在数分钟内出结果,故被称为“无试剂”(non-reagental)快速分析,但只限于检测无机离子。1962年,电化学分析专家 Clark^[1]嫁接了酶法和ISE技术,将酶与各种电化学传感器结合起来,构成了新的分析装置“酶电极”(Enzyme electrode),这种酶电极同时具备酶法分析和电极法的优点,准确快速,但它的装置实际上只是酶电极的雏形,所用的酶是溶解性的,难以重复使用。5年以后,Updike^[2]解决了这个问题,他采用了当时最新方法,将葡萄糖氧化酶固定在Clark氧电极表面,这种酶电极能反复用于血糖测定,其重要意义在于首次证实了有机物无试剂分析的可能,因而倍受分析学家们的青睐。嗣后,报导了一大批类似结构的酶电极,用于糖类、氨基酸类物质的测定。然而,由于绝大多数酶类的纯制十分困难,使酶电极的研究受到影响。1977年,Rechnitz^[3]另辟蹊径,用粪便链球菌完整活细胞取代纯酶,与氨敏电极组合成测精氨酸的微生物电极,并预言该传感器“将构成为发展其它新的传感器系统的模式”。几乎同时,Karube^[4]和Janata^[5]分别报导了测BOD微生物传感器和测抗原的免疫传感器。随后,又相继出现了细胞器传感器,细胞传感器和组织切片传感器,这些研究成果推动了一个新的领域的形成。

70年代末至80年代,由于生物技术、生物电子学和微电子学不断渗透融合,生物传感器不再仅仅局限于生物反应的电化学过程,而是根据生物学反应中产生的各种信息(如光效应、热效应、场效应和质量变化等等)来设计各种更精密灵敏的探测装置。有关生物传感器的文献数量也迅速增加,有人随意抽取10本1985年的美国化学文摘(CA),在分析电化栏目收录的1500篇文章中涉及酶电极的就有约600篇,其专业名词创新更是令人目不暇接。在功能方面,生物传感器已经发展到活体(in vivo)测定、多指标测定和联机在线测定,检测对象包括近百种常见的生物化学物质,在临床、发酵、食品、化工

和环保等方面显示了广泛的应用前景。许多过去被认为极难进行的科学实验也因采用了生物传感器技术而变得容易。1984年,在华盛顿召开的国际生物工程年会上将生物传感列为当代生物工程的重大领域之一。翌年,在英国创刊了“Biosensors”国际杂志,1987年在西德召开了以生物传感为主题之一的BIOTECH'87。80年代还出版了一些有关专著和专集,其中最具权威的是牛津科学出版社出版的“Biosensors, Fundamental and Applications”,由65名第一流的学者联合执笔。作为该著作的第一主编,英国Cranfield生物技术中心的Turner教授不断地被同行们建议召开专门的国际生物传感学术会议。在各国科学家的推动下,1990年5月初,约300名来自各国的科学家汇聚于狮城新加坡,举行了该领域具有历史意义的“首届世界生物传感学术大会——BIOSENSORS'90”。会议通过学术交流,展示了许多新技术、新成果和新思想,大会标志着生物传感已形成一个独立的新兴的高科技领域。

然而,这并非说现代生物传感技术已完美无缺,用Clark的话说,“在生物传感发展进程中,我们只不过刚刚结束在黑暗中摸索,开始在阳光下耕作沃土”。要在沃土上结出丰硕之果,还需要众多学者辛勤的耕耘。目前,英、日、美、西德、瑞典等国在该领域有较大优势。我国生物传感研究在80年代才有正式研究报告发表,虽起步较晚,发展却很快,在Biosensors'90上我国学者被录用的论文数量占第二位,尽管多数研究属于跟踪型的,创新也较少,但其发展前景仍是十分可观的。

1.2 生物传感器原理和特点

生物传感器的传感原理以图1-1表示。待测物质经扩散作用进入固定化生物敏感膜层,经分子识别,发生生物学反应,

产生的信息继而**被相应的化学或物理换能器**转变成可定量和可处理的电信号，再经二次仪表放大并输出，便可知道待测物浓度。

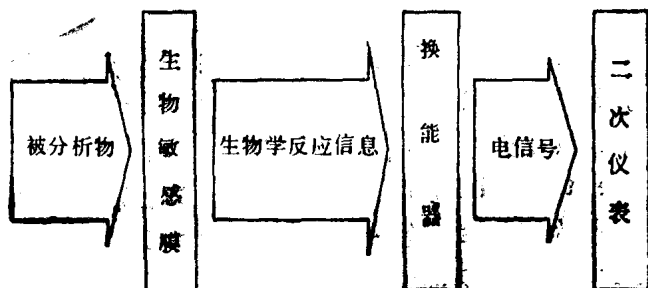


图1-1 生物传感器传感原理图

生物敏感膜又称分子识别元件，是生物传感器的关键元件。它直接决定传感器的功能与质量，依所选材料不同，可以有酶膜、全细胞膜、组织膜、免疫膜、细胞器膜、杂合膜等，各种膜的内容物见表1-1。

表1-1

生物传感器的分子识别元件

分子识别元件	生物活性材料
酶膜	各种酶类
全细胞膜	细菌、真菌、动植物细胞
组织膜	动植物组织切片
细胞器膜	线粒体，叶绿体
免疫功能膜	抗体、抗原、酶标抗原等

需要指出的是，这里所说的膜是采用固定化技术制作的人工膜而不是天然生物膜（如细胞膜）。此外，尽管在少数情况下，分子识别元件是采用填充柱形式，但其微观催化环境仍

可以认为是膜形式的，或至少是液膜形式，所以膜的含义在这里是广义的。

生物学反应过程产生的信息是多元化的，微电子学和传感技术的现代成果为检测这些信息提供了丰富的手段，使得研究者在设计生物传感器时有足够的回旋余地。设计成功与否主要取决于设计方案的科学性和经济性。而这两者同时兼顾常常十分困难。可供作生物传感器的基础换能器件见表 1-2。

表 1-2 生物学反应信息和换能器的选择

生物学反应信息	换能器的选择
离子变化	电流型或电位型ISE, 阻抗计
质子变化	ISE, 场效应晶体管
气体分压变化	气敏电极, 场效应晶体管
热效应	热敏元件
光效应	光纤, 光敏管, 荧光计
色效应	光纤, 光敏管
质量变化	压电晶体
电荷密度变化	阻抗针, 导纳, 场效应晶体管
溶液密度变化	表面等离子体共振

从上面的介绍，我们不难总结出生物传感器的三个主要特点。

(1) 根据生物反应的特异性和多样性，理论上可以制成测定所有生物物质的传感器。

(2) 这类传感器主要是在无试剂条件下操作（除了缓冲液以外），比各种传统的生物学和化学分析法操作简便、快速、准确，且可重复使用。

(3) 可连续分析，联机操作。

1.3 生物传感器基本概念与分类

生物传感器概念来源于Clark关于酶电极的描述^[1],关键是传感器的构成中分子识别元件为具有生物学活性的材料,不少学者认为能用于测定活体生理的装置均属生物传感器,尽管许多这类装置是属于物理或化学本质的。但在 BIOSENSORS'90会议上,代表们则基本倾向于将 Biosensor 定义为由生物活性材料与相应的换能器的结合体,能测定特定的化学物质(主要是生物物质),而将能用于生物参量测定但构成中不含生物活性材料的装置称为生物敏 (Biosensing) 传感器。虽有这种区别,两者在功能和结构上的密切相关性使得各种专著和学术会议上还是常常将 Biosensor 和 Biosensing 归于同一范畴,这大概也是“Biosensors”杂志于1990年易名为“Biosensors and Bioelectronics”的缘故吧。由于资料浩繁,包括众多学科,本书将只取材属于 Biosensor 范畴的内容。

生物传感器的分类和命名方法较多且不尽统一,主要有两种分类法,即依分子识别元件分类法和器件分类法。

依分子识别元件的不同可以将生物传感器分为五大类(图 1-2(a)),即酶传感器(enzyme sensor),微生物传感器(microbial sensor),免疫传感器(immunol sensor),组织传感器(tissue sensor)和细胞器传感器(organelle sensor)。

器件法是依所用换能器不同对生物传感器进行分类(图 1-2(b)):生物电极(bioelectrode),半导体生物传感器(semiconduct biosensor),光生物传感器(optical biosensor),热生物传感器(calorimetric biosensor),压电晶体生物传感器(piezoelectric (PZ) biosensor)。

近年来还出现了不成熟但已开始流行的分类法,所有直径

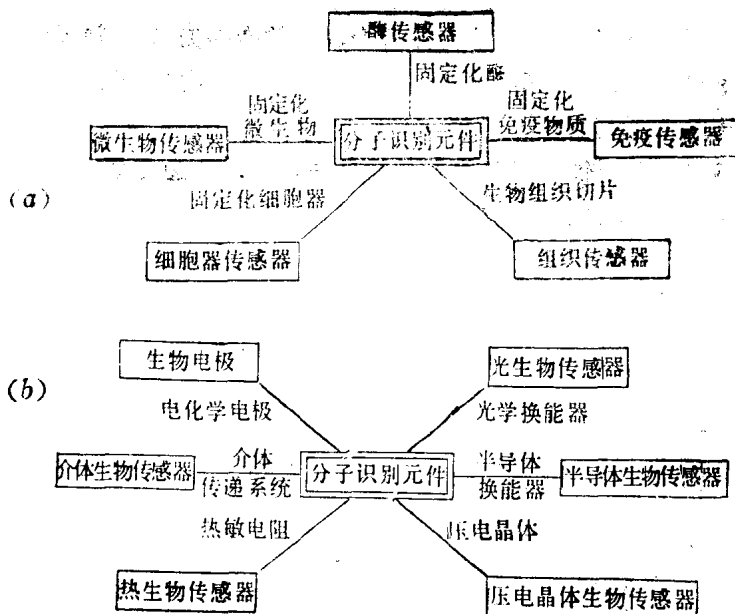


图1-2 生物传感器分类

(a) 依分子识别元件分类；(b) 依器件分类

在微米级甚至更小的生物传感器统称为**微型生物传感器** (microbiosensors), 以半导体生物传感器和微型生物电极为代表, 这类传感器在活体测定方面有重要意义。凡是以分子之间特异识别并接合为基础的生物传感器统称为**亲和生物传感器** (Affinity Biosensors), 以免疫传感器, 酶PZ为代表。能够同时测定两种以上指标或综合指标的生物传感器称为**多功能传感器** (multifunctional biosensors), 如滋味传感器、嗅觉传感器、鲜度传感器、血液成分传感器等等。由两种以上不同的分子识别元件组成的生物传感器称为**杂合生物传感器** (hybridized biosensors), 如多酶传感器, 酶-微生物杂合传感器, 等等。

关于个别生物传感器的命名, 一般采用“**功能+构成特征**”的方法, 这样符合1975年国际化学纯化学和应用化学协会