

# 电化学检测微全分析系统

刘继锋 曹卫东 汪尔康

(中国科学院长春应用化学研究所, 电分析化学开放研究实验室 长春 130022)

E-mail: 710209@fm365.com

**摘要** 介绍了安培、线性扫描、方波、吸附溶出伏安法、库仑法、电导和电势法、电化学发光、电化学传感器等电化学方法在微全分析系统( $\mu$ -TAS)中的应用, 并指出了电化学检测微全分析系统的发展方向。

**关键词** 电化学检测; 微全分析系统; 评述

中图分类号 O 646

## Micro Total Analysis System with Electrochemical Detection

Liu Jifeng Cao Weidong Wang Erkang

(Laboratory of Electroanalytical Chemistry, Changchun Institute of Applied Chemistry,  
Chinese Academy of Sciences Changchun 130022, P. R. China)

**Abstract** Electrochemistry offers a considerable promise for detection in micro total analysis system ( $\mu$ -TAS). Such detection has remarkable sensitivity, tunable selectivity, and low-volume requirements. Due to the inherent miniaturization of electrochemical devices, low-power requirements, low cost and high compatibility with advanced micromachining and microfabrication technologies, electrochemical detection is most attractive for  $\mu$ -TAS. Electrochemical detection methods, such as amperometric, linear-scan, square-wave, and adsorptive-stripping voltammetric, coulometric, conductivity, potentiometric, electrochemiluminescent detection and electrochemical sensor, have been widely used in  $\mu$ -TAS.

**Key words** Electrochemical detection; micro total analysis system; review

## 1 前言

1989年 Manz<sup>[1]</sup>等提出了微型全化学分析系统( $\mu$ -TAS)的概念, 它的特点是: 分析速度快、信息量高、操作费用低、试样消耗小、污染少, 此外  $\mu$ -TAS 将所有化学分析所需要的器件集成到一起, 更有利于现场分析, 可显著降低分析过程中可能出现的误差, 为人们提供直接的分析数据和信息<sup>[2]</sup>。

$\mu$ -TAS 是以分析化学为基础, 微加工技术为依托的跨多种学科领域, 是当今分析仪器发展的前沿, 对未来分析科学的发展将起很大的推动作用, 因此发展  $\mu$ -TAS 是我国科学界面临的一个紧迫课题。

$\mu$ -TAS 概念促使不同研究领域的研究人员以新的方式从事其研究工作<sup>[3]</sup>, 微型化检测器、微型化反应器, 以及毛细管电泳芯片等微型分离器件在  $\mu$ -TAS 中的应用越来越广泛。伴随微加工技术的发展,

适用于  $\mu$ -TAS 的微型化检测系统也得到相应的进展, 目前主要使用激光诱导荧光光谱(LIF)检测, 质谱(MS)检测器的研制也受到一定关注<sup>[4,5]</sup>, 但是这些检测方式尚需进一步缩小检测装置体积, 降低成本, 以便与芯片实验室匹配。相比而言, 电化学检测是  $\mu$ -TAS 中很好的检测方式。电化学检测灵敏度高、选择性易于调变、试样用量少、成本低, 特别是电化学检测装置特有的微型化的特点, 与微加工技术很匹配<sup>[6]</sup>。近几年电化学检测在  $\mu$ -TAS 中的应用逐渐增多, 安培法是应用较多的电化学方法, 此外还有线性扫描、方波、吸附溶出伏安法、库仑法、电导和电势法、电化学发光(ECL)、电化学传感器等。

## 2 电化学检测在 $\mu$ -TAS 中的应用

### 2.1 安培法

安培检测一般采用光刻、化学镀、金属真空喷

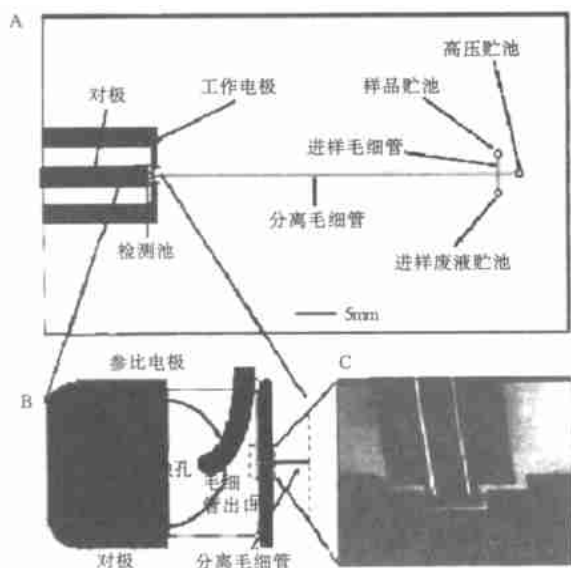
收稿日期: 2001-04-27

作者简介: 汪尔康, 中国科学院院士, 中国科学院长春应用化学研究所所长。

镀等方法制作纳米级的薄膜电极, 或者采用印制方法制作厚度约 10 微米的厚膜电极作为工作电极, 电极宽度一般介于 10 至 300 微米之间。安培检测已用于 DNA 片段、神经递质、人体代谢产物、氨基酸、糖、炸药、环境污染物的分析。

Ewing<sup>[7,8]</sup> 等设计了一种 CE 进样、矩形毛细管道电泳分离、安培检测的连续分离分析装置。阵列电极对沿分离管道宽度方向分布的流出物选择性响应, 可以与样品在取样毛细管中的位置相对应, 称为定位检测器, 可给出三维分析信息, 具有良好的时间精度和化学灵敏度, 适用于连续变化的生物微环境的分析。

Matheis<sup>[9]</sup> 等首次将电化学检测方式集成到 CE 芯片中(图 1)。通过光刻技术在玻璃基底上制作 Pt 工作电极和对极。多巴胺、肾上腺素、儿茶酚的分离效率分别达 21000/m、17000/m、12000/m 理论塔板数, 检测限分别达 3.7 $\mu$ M、6.5 $\mu$ M、12 $\mu$ M。采用间接电化学方法检测了  $\Phi$ XHae III 受限消解产物和沙门氏菌 PCR 扩增产物。该分离分析系统具有较高检测灵敏度和分离效率, 使芯片实验室概念成为现实。



(A) 芯片全貌。进样毛细管长 5mm; 分离毛细管长 50mm; 毛细管宽度 46 $\mu$ m; 深 8 $\mu$ m。实际的装置在 5 $\times$ 7.5cm<sup>2</sup> 基底上具有两个独立的电泳分析装置。(B) 电化学检测器放大图。(C) 检测区域的 SEM 照片(140 $\times$ ), 可以看出工作电极位于分离毛细管出口以外 30 $\mu$ m。为观察清楚, 图象旋转 90 $^\circ$ (文献 9)

图 1 电化学检测毛细管电泳芯片

Luong<sup>[10]</sup> 等以甲醛作为还原剂通过无电沉积方式在 CE 芯片毛细管出口的玻璃基底上镀一层 Au 膜, 厚度约为 100nm, 制成的 Au 工作电极循环伏安行为与商品化 Au 电极很相似, 检测性能良好。这种电极制作方式简单, 不需要复杂的仪器设备, 一般的实验室用湿化学方法都可以进行。

Lunte<sup>[11]</sup> 等首次在 CE 芯片上设计了双电极检测器。在玻璃基底上用光刻技术制作 4 个微带电极, 电

极间距 40 $\mu$ m。硅橡胶层中制作出分离和进样管道, 硅橡胶层和玻璃基底可逆地密封在一起。该检测系统比传统 CEEC 体系中双电极的设计和制作简单。

Wang 等在安培检测应用于  $\mu$ -TAS 方面进行了非常系统的研究。他们<sup>[12]</sup> 提出了一种相对简单的电极制作方式, 使用金属喷镀仪在芯片毛细管出口处喷镀一层厚度约为 200nm 的 Au 膜, 导电连接后作为工作电极使用。以多巴胺和异丙肾肾上腺素为被测物, 检测限分别为 1.0 $\mu$ M, 1.3 $\mu$ M。

他们<sup>[6]</sup> 还首次将厚膜电极应用到 CE 芯片安培检测中。使用半自动印刷机, 在 100 $\times$ 100 $\times$ 0.64mm 的铝陶瓷板上制作印制电极, 最后制作好的印制电极条上的工作电极有效面积为 0.3 $\times$ 2.5mm, 厚度 10 $\mu$ m, 称为厚膜电极。电极稳定性较高, 检测性能理想。此外厚膜电极电镀修饰一层 Pd 超微细颗粒, 用于检测胍类化合物<sup>[13]</sup>。

除设计了一系列适用于 CE 芯片的检测器之外, 他们<sup>[14]</sup> 在 CE 芯片上设计了各种化学反应系统, 例如可在 4min 内同时分离检测葡萄糖、尿酸、抗坏血酸和乙酰氨基苯的 CE 芯片分析系统(图 2)。该设计的独特之处在于葡萄糖被催化氧化成葡萄糖酸和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的反应沿毛细管分离管道同时进行, 酶解成的过氧化物同尿酸、抗坏血酸分离(图 3)。厚膜电极在含 Au(III) 的电解液中电镀一层 Au 膜, 作为工作电极。这种酶分析和电泳分离集成在芯片上的方式, 对于代谢产物快速分析, 以及高速临床微分析多重管道芯片的开发具有很高的实用价值。

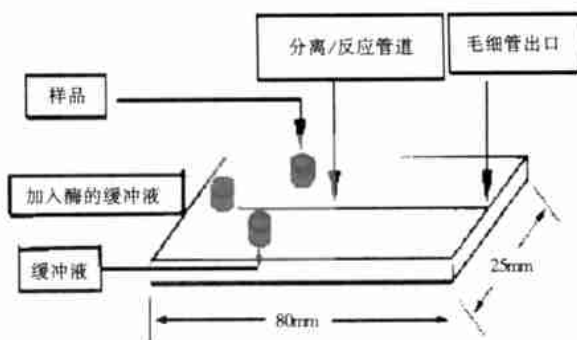


图 2 葡萄糖、尿酸、乙酰氨基苯分离/反应生物分析芯片示意图(文献[12])

之后不久他们<sup>[15]</sup> 在 CE 芯片上将氨基酸电化学反应、电泳分离、安培检测集成在一起, 氨基酸柱前生成电化学活性物质, 分离后进行柱端安培检测, 可同时分离检测 8 种氨基酸, 检测限达 2.5 $\mu$ M。

Rossier<sup>[16,17]</sup> 等设计了一种一次性的以碳电极为工作电极和参比电极的 PET(聚乙烯对苯二甲酸酯)

CE 芯片。用激光在 100 $\mu\text{m}$  厚的 PET 板上刻出管道，充入碳墨水，70 $^{\circ}\text{C}$  固化之后，加工成碳微带电极。研究了不同电极构型检测池的性能以及分离管道构型对管道内传质的影响。

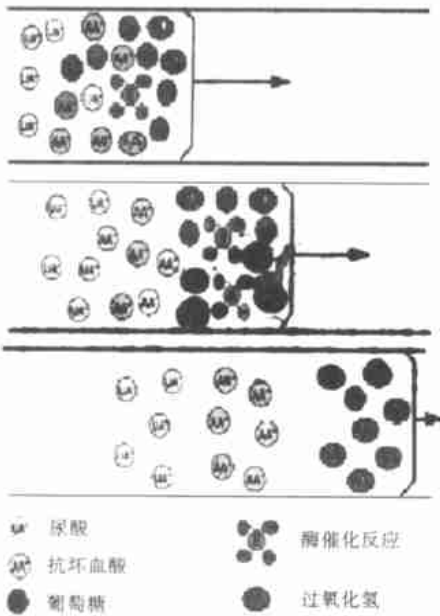


图 3 沿 CE 生物芯片反应/分离毛细管进行的酶反应、和分离过程(文献[12])

Fang<sup>[18]</sup> 等设计了一个流动注射(FI)进样, 芯片毛细管分离, 安培检测的 FI-CE 联用系统, FI 可以连续进样, 提高了 CE 高速分离的性能。使用直径 150 $\mu\text{m}$  的铜微盘电极检测了蔗糖和葡萄糖, 检测限分别为 2 $\mu\text{M}$ , 1 $\mu\text{M}$ , 线性工作范围为 10~1000 $\mu\text{M}$ 。

### 2.2 线性扫描、方波、吸附溶出伏安检测

除安培检测外, Wang<sup>[19]</sup> 等将线性扫描、方波、吸附溶出伏安等电化学方法应用于带有反应系统的芯片进行检测, 以儿茶酚、胂、TNT、Ni 为被测物表征了几种伏安检测方法。方波伏安检测得到 TNT 的检测限为  $2 \times 10^{-12}\text{M}$ , 溶出伏安方法检测 Ni-DMG 配合物反应体系中的 Ni。

### 2.3 库仑检测

电化学库仑检测器是近年来发展起来的一种新型电化学检测器, 其主要特点是动力学测定范围宽、灵敏、可进行阵列检测、电极稳定、维护方便、并且可对同一流出峰进行纯度分析等, 是流动体系的一种新型检测器。电极一般采用多孔材料, 目前已发展研制阵列库仑检测器(图 4), 增加检测器的解析能力和信息量, 提高灵敏度和稳定性, 并使其微型化, 与微型分离系统配套。

### 2.4 电导和电势检测

有关电导和电势检测在微分析系统应用的报道

很少。Prest<sup>[20]</sup> 等设计了一种聚合物等速 CE 芯片(图 5), 聚合物芯片加工过程中直接将电极安装于两块聚合物板中间, 分离管道的尺寸是深 56 $\mu\text{m}$ , 宽 324 $\mu\text{m}$ 。实验证明这种检测器精确度高, 制作简单。

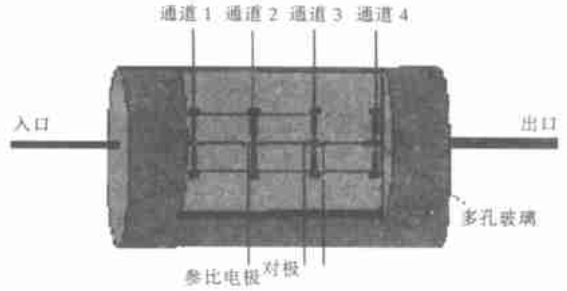


图 4 阵列库仑检测器

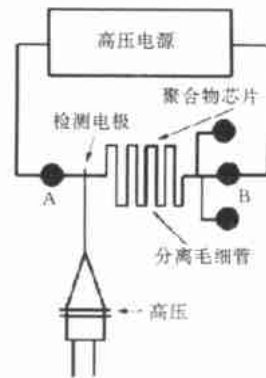


图 5 微型聚合物等速电泳分离系统(文献[20])

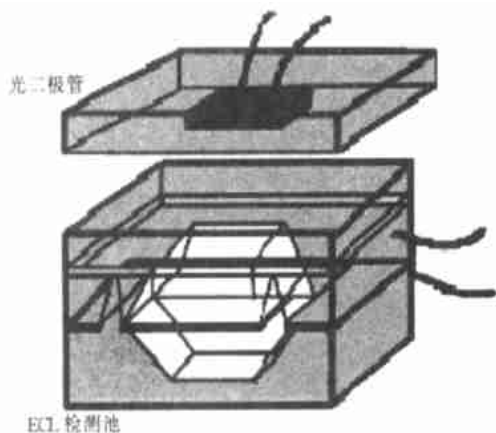
电势检测也是  $\mu\text{-TAS}$  中有应用价值的一种检测方式<sup>[21]</sup>。一系列微型液膜离子选择性电极(ISE)、涂层液膜线状 ISE、导电聚合物涂层 ISE 以及陶瓷和金属等材料制作的 ISE 已成功地用于 LC 和 CE 等流动体系的检测。目前的研究倾向于发展固态 ISE, 因为固态 ISE 更加耐用, 容易微型化制作并与分析系统集成。随着微型化和集成技术的提高, 涂层膜技术以及 ISE 相关理论的发展, ISE 将更多地应用于  $\mu\text{-TAS}$  中。

### 2.5 ECL 检测

电化学发光检测具有灵敏和选择性好, 容易进行时间和空间调变的优点, 此外电极可制作成金属薄膜、或直接在基底上制作金属涂层, 与微型光检测器结合在一起可制作成微型电化学发光探针。电化学发光主要用于免疫和 DNA 杂交分析, 还广泛用于流动体系检测有机胺、蛋白质、药物以及生化样品。

Hsueh<sup>[22]</sup> 用硅制作了  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  ECL 检测池(图 6), 用于分析 DNA PCR 扩增产物。检测池用微加工的硅片或者玻璃片制作, 低温固化的聚酰亚胺粘合在一起, ITO 薄膜电极热粘合在玻璃板上, 硅检测池体上用光学刻蚀方法制作 Au 薄膜电极, 分别作为阳极

和阴极。这种微型化的检测池容易和 PMT 或 SPD 等光检测器组合在一起。



ECL 检测池

图 6 ECL 微型检测池和光二极管检测器(文献[22])

Kremeskötter<sup>[23]</sup>设计了一种体积只有 5.4ul 的 ECL 流通检测池,光学玻璃上涂一层 ITO 层作为工作电极,共价结合葡萄糖氧化酶。利用 luminol 与过氧化物的发光反应检测葡萄糖含量,PMT 作为光检测器。

Fiaccabrino<sup>[24]</sup>等在面积  $5 \times 6 \text{mm}^2$  的硅芯片上制作了微型的 ECL 探针,包括电极、光检测器等器件(图 7)。芯片上的两个检测池内安装 Au 叉指阵列微电极(IDA),电极位于 pn 型光二极管检测器的上部,电极上产生的光可被检测器直接检测,微分方式记录光强度信号。这种芯片 ECL 探针设计简单,将检测和 ECL 反应集成一体,对于  $\mu\text{-TAS}$  而言是一种很好的微型化器件。

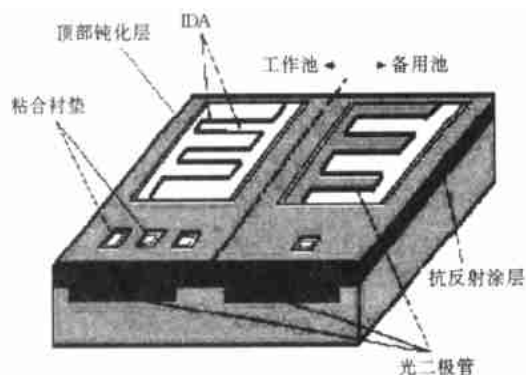


图 7 微型 ECL 探针示意图。IDA 电极通过抗反射涂层与光二极管隔离(文献[24])

从微型化制作技术角度来看,以上微型 ECL 检测器可以加工在 CE 芯片上,与进样、反应、分离部分集成在一起,组成一个  $\mu\text{-TAS}$ 。

## 2.6 电化学传感器

目前微制作技术在 EC 传感器中的应用很普遍,有关的研究报告也很多<sup>[25]</sup>,EC 传感器的体积更小,样品用量更少,分析性能提高,集成技术发展也很快,

一些分析系统从采样、进样、分析、数据显示已集成到便携装置上。不同的 EC 传感器集成在一起,用于医学、环境科学、生命科学分析中进行多重检测分析。

Murakami<sup>[26]</sup>等在  $18 \times 44 \text{mm}^2$  的硅片上制作了葡萄糖氧化酶(GOD)固定柱和电化学流通检测系统,GOD 共价结合在管壁上。玻璃芯片上加工 EC 流通检测池,用真空蒸镀的方法制作 Au 薄膜电极,作为检测池的工作电极和对极。该工作是较早将流体通道、反应和检测集成化的研究报道之一,对  $\mu\text{-TAS}$  研究是个很好的尝试。

Urban 等设计了几种集成的电化学传感器。他们用薄膜工艺在玻璃板上制作了总面积为  $1 \text{mm}^2$  的 Pt 阵列工作电极,修饰不同的酶可同时检测葡萄糖和乳酸<sup>[27]</sup>以及 L-谷氨酰胺和 L-谷氨酸盐<sup>[28]</sup>。后来他们又制作成性能稳定、高通量的传感器阵列,与微型流通池组合在一起,用于活体多种代谢产物的分析<sup>[29]</sup>。

Cooper<sup>[30]</sup>等设计了一种电化学传感器,检测池宽  $100 \sim 160 \mu\text{m}$ ,深  $20 \sim 25 \mu\text{m}$ ,所需样品体积只有  $190 \text{pl}$ ,Au 电极采用电子束蒸镀方法制作,这种传感器可以用于单细胞代谢分析。池体所采用的聚合物是一种透明材料,因此也可与光学检测系统集成在一起。

Tiemey<sup>[31]</sup>等设计了一种与皮肤接触采样分析人体葡萄糖含量的安培型传感器,包括 Pt 电极工作电极,微型检测池和离子电渗方法采样器。这种传感器系统通过微型和集成化,已经制作成类似手表大小的、可以随身携带的“葡萄糖表(GlucoWatch)”,包括 2 个传感器恒电位器,离子电渗恒电流器,电子控制部分采用 ASIC 芯片制作,并与微处理器和存储芯片集成,LCD 显示器等,一块 AAA 型电池做电源,可以进行采样、样品处理、数据处理和存储、数据显示,并自动运行下一次检测。

此外,许多传感器已经实现微型化,并已经商品化,用于现场采样分析,显示数据。微型电化学传感器与微流芯片技术结合在一起,将进一步扩大  $\mu\text{-TAS}$  应用范围。

## 3 结论与展望

$\mu\text{-TAS}$  的研究已经成为国际分析化学领域研究的热点, $\mu\text{-TAS}$  技术在应用性和产业化方面极具潜力。随着微加工技术向纳米尺度发展, $\mu\text{-TAS}$  也将更加集成和微型化,功能更加完善。由于电化学检测固有的灵敏度高、选择性好、试样用量少、微型化、低成本等特点,将成为  $\mu\text{-TAS}$  中广为应用的检测方式。电化学检测发展的方向,一方面是进一步微型化,使检测系统与  $\mu\text{-TAS}$  更加匹配,另一方面是设计更多

的化学和生物物质的电化学标记物以及芯片上柱前、柱后电化学衍生反应器,以扩大电化学检测的分析范围,还要发展功能更加完善的电化学检测方法,可对同一体系进行多重分析。

## 参考文献

[1] Manz A, Graber N, Widmer H M. *Sens. Actuators* 1990, B1:244  
[2] Kutter J P. *Trends in Anal. Chem.*, 2000, 19: 352  
[3] Verpoorte S. *Trends in Anal. Chem.*, 2000, 19: 350  
[4] Zhang B, Liu H, Karger B L, Forer F. *Anal. Chem.*, 1999, 71: 3258  
[5] Oleschuk R D, Harrison D J. *Trends in Anal. Chem.*, 2000, 19: 379  
[6] Wang J, Tian B, Sahlin E. *Anal. Chem.*, 1999, 71: 5436  
[7] Gavin P F, Ewing A G. *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, 118: 8932  
[8] Gavin P F, Ewing A G. *Anal. Chem.*, 1997, 69: 3838  
[9] Woolley A T, Lao K, Glazer A N, Mathies R A. *Anal. Chem.*, 1998, 70: 684  
[10] Hilmi A K, Luong H T. *Anal. Chem.*, 2000, 72: 4677  
[11] Martin R S, Gawron A J, Lunte S M. *Anal. Chem.*, 2000, 72: 3196  
[12] Wang J, Tian B, Sahlin E. *Anal. Chem.*, 1999, 71: 3901  
[13] Wang J, Chatrathi M P, Tian B, Polsky R. *Electroanalysis*, 2000, 12: 691  
[14] Wang J, Chatrathi M P, Tian B, Polsky R. *Anal. Chem.*, 2000, 72: 2514  
[15] Wang J, Chatrathi M P, Tian B. *Anal. Chem.*, 2000, 72: 5774  
[16] Rossier J S, Schwarz A, Reymond F, Ferrigno R, Bianchi F, Girault H H. *Electrophoresis* 1999, 20: 727

[17] Rossier J S, Roberts M A, Ferrigno R, Girault H H. *Anal. Chem.*, 1999, 71: 4294  
[18] Fu C G, Fang Z L. *Anal. Chim. Acta*, 2000, 422: 71  
[19] Wang J, Polsky R, Tian B, Chatrathi M P. *Anal. Chem.*, 2000, 72: 5285  
[20] Prest J E, Baldock S J, Bektas N, Fielden P R, Treves Brown B J. *J. Chromatogr. A* 1999, 836: 59  
[21] Nagels L J, Poels I. *Trends in Anal. Chem.*, 2000, 19: 410  
[22] Hsueh Y-T, Smith R L, Northrup M A. *Sens. Actuators*, 1996, B33: 110  
[23] Kremeskötter J, Wilson R, Schiffrin D-J, Luff B J, Wilkinson J S. *Meas. Sci. Technol.*, 1995, 6: 1325  
[24] Fiaccabrino G C, de Rooij N F, Koudelka-Hep M. *Anal. Chim. Acta* 1998, 359: 263  
[25] Suzuki H. *Electroanalysis* 2000, 12: 703  
[26] Murakami Y, Takeuchi T, Yokoyama K, Tamiya E, Karube I, Suda M. *Anal. Chem.*, 1993, 65: 2731  
[27] Urban G, Jobst G, Aschauser E, Tilado O, Svasek P, Varahram M, Ritter Ch, Riegebauer J. *Sens. Actuators*, 1994, B18-19: 592  
[28] Moser I, Jobst G, Aschauser E, Svasek P, Varahram M, Urban G. *Biosens. Bioelectro.*, 1995, 10: 527  
[29] Jobst G, Moser I, Svasek P, Varahram M, Trajanoski Z, Wach B, Kotanko P, Skrabal F, Urban G. *Sens. Actuators*, 1997, B43: 121  
[30] Cai X, Gildle A, Cooper J M. *Electroanalysis* 2000, 12: 631  
[31] Tierney M J, Kim H L, Burns M D, Tamada A, Potts R O. *Electroanalysis* 2000, 12: 666

# 行千里路 送天美情

——第二届天美科技有限公司产品宣传推广月  
暨用户大访活动3月12日~4月30日举行

〔本刊讯〕(天美科技有限公司市场部报道)十三年来,天美科技有限公司承蒙国内仪器界人士和广大用户的关注、关心和关爱,已从代理国际名牌产品发展到具有一定分析仪器和生化仪器生产能力的、科工贸结合的公司。天美公司在上海的独资企业拥有数条生产线的现代化工厂,亦获ISO9001国际认证,它生产的双光束紫外-可见分光光度计UV-8500荣获99' BCEIA金奖;天美公司的产品已跨入国际化管理的行业,产品远销欧美、澳洲、韩国、东南亚等地。

为感谢分析界专家和用户对天美公司的一贯支持和厚爱,使更多的专业人士有更多的机会了解天美,在新世纪第一个“3.15”来到的日子里,天美公司市场部及技术服务中心联合举行了第二届天美科技有限公司产品宣传推广暨用户大巡访活动。此次活

动自3月12日开始,至4月30日结束,历时50天,行程数千里,跨越北方十数个省市,广泛地宣传了天美产品,走访天美用户,了解天美产品的使用情况。

把您对天美的关注告诉我;

把您对天美的意见告诉我;

把您对天美的期望告诉我。

每到一地,我们的技术人员详细介绍用户所关心的天美产品;每到一地,我们的维修工程师对使用中的天美产品进行免费检修,现场解决仪器使用及应用中的实际问题。希望广大用户在这一次活动中进一步认识天美,了解天美的产品,感受天美的真情。

“千里之行,始于足下”,创天美品牌、振兴民族工业是天美人奋斗的目标。以我们的诚意,换来您的理解和支持,是天美人最大的心愿。