



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 105943058 A

(43)申请公布日 2016.09.21

(21)申请号 201610339920.5

(22)申请日 2016.05.19

(71)申请人 杭州宇壳科技有限公司

地址 310015 浙江省杭州市拱墅区张家兜1
号1幢402室杭州宇壳科技有限公司

(72)发明人 陈玮

(51)Int.Cl.

A61B 5/1486(2006.01)

A61B 5/1473(2006.01)

G23C 28/02(2006.01)

G23C 18/44(2006.01)

G23C 18/20(2006.01)

G25D 3/50(2006.01)

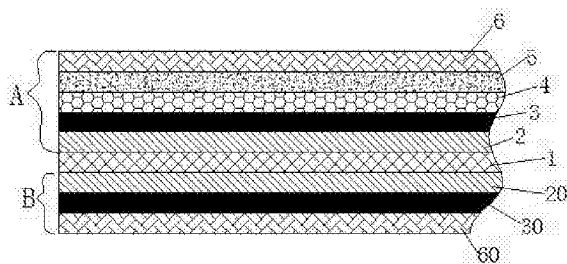
权利要求书2页 说明书6页 附图7页

(54)发明名称

柔性电化学电极、连续葡萄糖监测传感器及其制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种柔性电化学电极、安装有该柔性电化学电极的连续葡萄糖监测传感器及其制备方法,其直接以化学镀金薄膜两面的金层分别作为工作电极与参比-对电极,构成电化学两电极体系,并在设定的工作电极表面电沉积花瓣状铂纳米颗粒作为催化层,然后电泳沉积碳纳米管/Nafion网孔层作为抗干扰层,并在其上通过静电吸附形成酶生化敏感层,在戊二醛中交联固化后涂覆聚氨酯传质限制保护层,制备成柔性连续葡萄糖监测传感器;该传感器无需光刻或网版印刷等技术构造电化学电极系统,能够有效简化加工工艺、易于实现规模化生产、降低生产成本,同时具有宽线性范围、低检测限、强抗干扰性、高响应灵敏度、以及长期稳定性等特性。



1. 一种柔性电化学电极,其特征在于:电极基体(1)由高分子薄膜制成,电极基体(1)两侧面均通过表面金属化技术沉积一金层(2、20),该两个金层(2、20)分别作为工作电极(A)和参比-对电极(B);工作电极(A)由金层(2)至外侧分别覆盖有铂黑层(3)、碳纳米管/Nafion网孔层(4)、酶生化敏感层(5)、聚氨酯保护层(6);参比-对电极(B)由金层(20)至外侧分别覆盖有铂黑层(30)和聚氨酯保护层(60);电极基体(1)上开有贯通两侧聚氨酯保护层(6、60)的通孔(9),且通孔(9)处涂覆有亲水性高分子层。

2. 根据权利要求1所述的柔性电化学电极,其特征在于:电极上的通孔(9)为圆孔、方孔或叉指梳状孔。

3. 根据权利要求1所述的柔性电化学电极,其特征在于:高分子薄膜厚度为 $20\mu\text{m}\sim 200\mu\text{m}$;电极基体(1)两侧的金层(2、20)厚度至少为 $5\mu\text{m}$ 。

4. 一种连续葡萄糖监测传感器,其特征在于:包括引线基座和权利要求1所述的柔性电化学电极,且电极呈细针状,所述细针状电极直径不超过 0.3mm 。

5. 根据权利要求4所述的连续葡萄糖监测传感器,其特征在于:所述高分子薄膜厚度至少为 $20\mu\text{m}$;电极基体(1)两侧的金层(2、20)厚度至少为 $5\mu\text{m}$ 。

6. 根据权利要求4所述的连续葡萄糖监测传感器,其特征在于:电极上的通孔(9)为圆孔、方孔或叉指梳状孔,且电极上的通孔(9)的直径或宽度不超过 0.15mm 。

7. 一种权利要求4所述连续葡萄糖监测传感器的制备方法,其包括以下步骤:

①PI切片除污 将厚度至少为 $20\mu\text{m}$ 的高分子薄膜材料切成片材,分别置于丙酮、乙醇、去离子水中超声 5min 后烘干,去除表面的油污;

②沉积聚多巴胺层 将清洁后的片材浸入多巴胺盐酸盐溶液($\text{pH}8.5$, $2\text{mg}/\text{mL}$)中,并在室温下置于脱色摇床上,在空气中氧化 24h 后,在片材表面形成一层聚多巴胺,然后放入去离子水中浸泡清洗 8h 后,置于 80°C 烘箱中干燥;

③沉积催化层 将干燥后的片材浸入 $0.1\text{wt}\%$ 的十八烷基三甲基氯化铵(STAC)溶液中静置 5s 后取出晾干,然后置于铂纳米溶胶中 30min ,在片材表面吸附一铂纳米颗粒层,取出后用去离子水轻轻冲洗表面,去除未固定化的铂纳米颗粒后晾干;

④化学沉积金层 将晾干后的片材置于镀金液(含 10mM 氯金酸与 20mM 过氧化氢)中 15min 后取出,并迅速置于 120°C 烘箱中退火 50min 后关闭烘箱,待烘箱内温度降到室温后取出片材,此时,片材表面沉积有一层光亮、致密牢固的金层;

⑤电沉积铂黑层 将清洗后的镀金电极置于镀铂液($3\text{wt}\%$ 氯铂酸, $0.25\text{wt}\%$ 醋酸铅)中,以铂丝为对电极,采用恒电压法,设定工作电位为 -2.5V ,沉积时间 120s ,在电极两面同时电沉积一层致密的铂黑层;

⑥Parylene绝缘处理 在片材两面溅射或涂覆Parylene绝缘层;

⑦打孔形成工作面 在设定电极工作区域表面激光制备通孔(9)形成工作区域;

⑧吸附碳纳米管网孔层 将电极浸入碳纳米管的 Nafion 分散液中(碳纳米管水分散液: $5\text{wt}\%$ Nafion=1:4),用恒电位法,设定工作电压为 1V ,工作时间 10s ,在工作电极孔外周表面形成碳纳米管网孔层;

⑨交联固化 将电极倒悬于底部有 25% 戊二醛的容器中,在 40°C 烘箱中交联 60min 后置于 4°C 冰箱中保存 2h ,使碳纳米管网孔层与基底牢固结合;

⑩电吸附GOx酶层 将电极工作部分浸入 GOx 酶溶液中(BSA: GOx=1:3,浓度 $30\text{mg}/$

mI),以碳纳米管网孔层侧面为工作电极,另一面为对电极,用恒电位法,设定工作电压为0.3V,工作时间 2400s,然后将电极保存于4℃冰箱中8h,使 GOx 充分嵌入到碳纳米管网孔层内形成 GOx 酶层;

⑪切割电极 用紫外激光切割机将片材切割成细丝状、单层双面的电极;

⑫形成聚氨酯保护层 将4wt%的聚氨酯溶于98v%四氢呋喃和2v%二甲基甲酰胺的混合溶液,形成聚氨酯溶液,将电极传感部分缓缓穿过沾有该聚氨酯溶液、内径为2mm的钢丝圈,在电极表面形成一聚氨酯保护层;

⑬电极装配 将电极尾端固定在基座上,且电极尾端的引出线区域(7)与基座中的传感部件电路连接。

8.根据权利要求8所述的连续葡萄糖监测传感器的制备方法,其特征在于:步骤③中所述铂纳米溶胶的制备方法是,0.25mmoI 氯铂酸溶于 91.5mI 水中,将 5mg PVP 溶于 5mI 水后加入氯铂酸溶液中,再将 1mmoI 硼氢化钠溶于 10mI 水中,取 1mI 缓缓加入 PVP 与氯铂酸的混合溶液,同时剧烈振荡后在室温下静置 24 小时即可。

9.根据权利要求8所述的连续葡萄糖监测传感器的制备方法,其特征在于:步骤⑩所述形成GOx酶层后,采用步骤⑨所述的交联固化方法,使酶层充分交联固化,再用去离子水冲去未充分固定的酶。

10.根据权利要求8所述的连续葡萄糖监测传感器的制备方法,其特征在于:步骤⑫形成聚氨酯保护层之后,将上膜后的电极在干燥箱中干燥8h,然后将电极置于PBS缓冲液中72h,使电极各层充分调控融合。

柔性电化学电极、连续葡萄糖监测传感器及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种生物传感器,尤其涉及一种柔性电化学电极、安装该电化学电极的连续葡萄糖监测传感器及其制备方法,属于电流测定式连续葡萄糖监测传感器技术领域。

背景技术

[0002] 糖尿病是严重威胁人类健康的常见慢性病之一,目前仍无法治愈,但有效的血糖管理可以大幅降低并发症的发生率,提高患者生活质量。血糖检测是糖尿病诊断与管理的金标准,为了解决一日多次的指尖穿刺采血所带来的不便与痛楚,业内技术人员开创了可以植入皮下的连续血糖监测系统(CGMS),例如国际申请号PCT/US2005/032102,国际公布号WO/2006/029293,公开了一种血液接触传感器,其包括一个传感器可以监测到样品的存在及其的装配工具,装配工具有一个传感器终端,固定在传感器上,以及装配工具时适合于静脉流装置联合使用。

[0003] 为了更进一步改善以上述“血液接触传感器”为例的连续血糖监测系统中,葡萄糖传感器兼容性、稳定性等特性,CN101530327A,公开了一种皮下组织实时监测用针状电流测定式葡萄糖传感器及其制作方法,其包括一个针状式参考电极和至少一个针状式工作电极,工作电极由里至外依次为导电层、高分子材料内膜层、酶膜层、高分子材料控制扩散层;该传感器虽然通过针状式电极能够直接植入皮下组织,但是由于该装置包括一个针状式参考电极和至少一个针状式工作电极,植入皮下组织时创伤大。此外,该装置的导电层由金属基体、金属过渡层和贵金属层由内而外组成,由于金属过渡层、贵金属层均需要附着到金属基体表面,制作成本高、加工工艺繁杂。

[0004] 现有技术中,该类传感器也有以柔性聚合物薄膜为基底,在其上印刷碳电极或沉积金电极,通过电极的层层组装或平面错位排布形成电化学三电极检测系统;或者直接利用极细的金属线实现。但这些方法大都工艺复杂,规模化程度低,使得这类产品生产成本高,价格昂贵,制约了CGMS系统的推广应用。而且,对于以柔性聚合物薄膜为基底的传感器制备工艺,在绝缘的聚合物薄膜上沉积导线及电极,通常采用真空磁控溅射、光刻、丝网印刷、喷印等技术实现,但真空蒸镀的金属层往往与基底结合力差,非常容易脱落;而光刻工艺中的化学镀方法,薄膜表面化学镀的方法中通常含有危险性或有毒试剂,随着ROHS及WEEE标准中对这类试剂的严格控制,这类工艺中必需的强氧化剂表面刻蚀工艺逐渐向低温等离子表面处理及过渡层工艺转变,但仍存在工艺复杂,对工件的大小和形状有特殊要求,镀层与基底结合度不好等问题;丝网印刷材料工艺传统,技术成熟,但也存在精度不高,不易于微型化,材料浪费严重的问题,现已逐步向喷印制造发展,但这一新兴的方法仍面临诸多挑战,如喷印墨水的特性调控、喷头堵塞、基底与墨水的结合力问题,墨水的固化方法等。另外,对于以极细的金属线为电极的工艺,一般采用价格高昂的有聚四氟乙烯绝缘外套的铂铱细丝实现,以去除绝缘层的导线部分为工作电极,以涂覆Ag/AgCl银浆或缠绕细Ag丝并氯化后的部分为对比电极实现两电极电化学体系,这类工艺原材料成本高,且由于只能

在径向构置两电极体系,导致电极传感部分较长,需要植入皮下较深的部位,容易出现意外损伤毛细血管的现象,再者,这种传感器制作工艺繁杂,不利于规模化生产,导致生产成本一直居高不下。

发明内容

[0005] 本发明的目的是设计一种柔性电化学电极、安装有该柔性电化学电极的连续葡萄糖监测传感器及其制备方法,该传感器无需光刻或网版印刷等图案化技术,能够有效简化加工工艺、降低生产成本,且减小植入创伤,提高灵敏度等特性。

[0006] 为实现上述目的,本发明采用如下技术方案。

[0007] 技术方案1:一种柔性电化学电极,其特征在于:电极基体由高分子薄膜制成,电极基体两侧面均通过表面金属化技术沉积一金层,该两个金层分别作为工作电极(A)和参比-对电极(B);工作电极(A)由金层至外侧分别覆盖有铂黑层、碳纳米管/Nafion网孔层、酶生化敏感层、聚氨酯保护层;参比-对电极(B)由金层至外分别覆盖有铂黑层和聚氨酯保护层;电极基体上开有贯通两侧聚氨酯保护层的通孔,且通孔处涂覆有亲水性高分子层。

[0008] 优选的,电极上的通孔形状为圆孔、方孔或叉指梳状孔。

[0009] 优选的,高分子薄膜厚度为 $20\mu\text{m}\sim 200\mu\text{m}$;电极基体两侧的金层厚度至少为 $5\mu\text{m}$ 。

[0010] 技术方案2:一种连续葡萄糖监测传感器,其包括引线基座和技术方案1所述的柔性电化学电极,且电极呈细针状,所述细针状电极直径不超过 0.3mm 。

[0011] 优选的,所述高分子薄膜厚度至少为 $20\mu\text{m}$;电极基体两侧的金层厚度至少为 $5\mu\text{m}$ 。

[0012] 优选的,电极上的通孔为圆孔、方孔或叉指梳状孔,且电极上的通孔的直径或宽度不超过 0.15mm 。

[0013] 技术方案3:一种技术方案2所述连续葡萄糖监测传感器的制备方法,其包括以下步骤:

①PI切片除污 将厚度至少为 $20\mu\text{m}$ 的高分子薄膜材料切成片材,分别置于丙酮、乙醇、去离子水中超声5min 后烘干,去除表面的油污;

②沉积聚多巴胺层 将清洁后的片材浸入多巴胺盐酸盐溶液($\text{pH}8.5$, $2\text{mg}/\text{mL}$)中,并在室温下置于脱色摇床上,在空气中氧化24h后,在片材表面形成一层聚多巴胺,然后放入去离子水中浸泡清洗8h后,置于 80°C 烘箱中干燥;

③沉积催化层 将干燥后的片材浸入 $0.1\text{wt}\%$ 的十八烷基三甲基氯化铵(STAC)溶液中静置5s后取出晾干,然后置于铂纳米溶胶中30min,在片材表面吸附一铂纳米颗粒层,取出后用去离子水轻轻冲洗表面,去除未固定化的铂纳米颗粒后晾干;

④化学沉积金层 将晾干后的片材置于镀金液(含 10mM 氯金酸与 20mM 过氧化氢)中15min 后取出,并迅速置于 120°C 烘箱中退火50min后关闭烘箱,待烘箱内温度降到室温后取出片材,此时,片材表面沉积有一层光亮、致密牢固的金层。

[0014] ⑤电沉积铂黑层 将清洗后的镀金电极置于镀铂液($3\text{wt}\%$ 氯铂酸, $0.25\text{wt}\%$ 醋酸铅)中,以铂丝为对电极,采用恒电压法,设定工作电位为 -2.5V ,沉积时间120s,在电极两面同时电沉积一层致密的铂黑层;

⑥Parylene绝缘处理 在片材两面溅射或涂覆Parylene绝缘层;

⑦打孔形成工作面 在设定电极工作区域表面激光制备通孔形成工作区域;

⑧吸附碳纳米管网孔层 将电极浸入碳纳米管的 Nafion 分散液中(碳纳米管水分散液:5wt% Nafion=1:4),用恒电位法,设定工作电压为 1V,工作时间 10s,在工作电极孔外周表面形成碳纳米管网孔层;

⑨交联固化 将电极倒悬于底部有25%戊二醛的容器中,在 40℃烘箱中交联60min后置于4℃冰箱中保存2h,使碳纳米管网孔层与基底牢固结合;

⑩电吸附GOx酶层 将电极工作部分浸入 GOx 酶溶液中(BSA: GOx=1:3,浓度30mg/mL),以碳纳米管网孔层侧面为工作电极,另一面为对电极,用恒电位法,设定工作电压为 0.3V,工作时间 2400s,然后将电极保存于4℃冰箱中8h,使 GOx 充分嵌入到碳纳米管网孔层内形成 GOx 酶层;

⑪切割电极 用紫外激光切割机将片材切割成细丝状、单层双面的电极;

⑫形成聚氨酯保护层 将4wt%的聚氨酯溶于98v%四氢呋喃和2v%二甲基甲酰胺的混合溶液,形成聚氨酯溶液,将电极传感部分缓缓穿过沾有该聚氨酯溶液、内径为2mm的钢丝圈,在电极表面形成一聚氨酯保护层;

⑬电极装配 将电极尾端固定在基座上,且电极尾端的引出线区域与基座中的传感部件电路连接。

[0015] 优选的,步骤③中所述铂纳米溶胶的制备方法是,0.25mmol 氯铂酸溶于 91.5mL 水中,将 5mg PVP 溶于 5mL 水后加入氯铂酸溶液中,再将 1mmol 硼氢化钠溶于 10mL 水中,取 1mL 缓缓加入 PVP 与氯铂酸的混合溶液,同时剧烈振荡后在室温下静置 24 小时即可。

[0016] 优选的,步骤⑩所述形成GOx酶层后,采用步骤⑨所述的交联固化方法,使酶层充分交联固化,再用去离子水冲去未充分固定的酶。

[0017] 优选的,步骤⑫形成聚氨酯保护层之后,将上膜后的电极在干燥箱中干燥8h,然后将电极置于PBS缓冲液中72h,使电极各层充分调控融合。

[0018] 与现有技术相比本发明的有益效果是:本发明直接以化学镀金薄膜两面的金层构成电化学两电极体系,并通过层层组装,在电极表面依次修饰催化层、抗干扰层、葡萄糖氧化酶层及传质限制层,形成单片双面式柔性电化学电极,无需光刻或网版印刷等技术,能够有效简化加工工艺、降低生产成本;安装有该柔性电化学电极的连续葡萄糖监测传感器,对葡萄糖的线性范围可达30mM以上,检出限小于0.25mM,信号长期稳定性好,抗干扰性强,灵敏度可达 $100\mu\text{A}/(\text{mmol/L}\cdot\text{cm}^{-2})$ 以上,且响应速度快,可用于皮下连续血糖监测,同时,单片式电极结构也有效减小植入创伤。

附图说明

[0019] 图1是本发明柔性电化学电极的剖视结构示意图;

图2是本发明柔性电化学电极的立体结构示意图;

图3是本发明柔性电化学电极第二实施例的立体结构示意图;

图4是本发明柔性电化学电极第三实施例的立体结构示意图;

图5是本发明连续葡萄糖监测传感器的制备工艺流程图;

图6、7、8是本发明传感器对葡萄糖监测性能试验数据分析图;

图9是本发明传感器对抗坏血酸、尿酸和的醋氨酚抗干扰试验数据分析图。

具体实施方式

[0020] 为了使本发明的技术方案更加清晰,以下结合附图1-5,对本发明进行详细说明。应当理解的是,本说明书中描述的具体实施方式仅仅是为了解释本发明,并不是为了限定本发明的保护范围。

[0021] 实施例1:参照附图1、2。一种柔性电化学电极,其电极基体1由高分子薄膜(PI)制成,PI厚度为 $20\mu\text{m}\sim 200\mu\text{m}$,优选PI厚度至少 $20\mu\text{m}$;电极基体1两侧面均通过表面金属化技术沉积一金层2、20,电极基体1两侧的金层2、20厚度至少为 $5\mu\text{m}$,该两个金层2、20分别作为工作电极A和参比-对电极B;工作电极A由金层2至外侧分别覆盖有铂黑层3、碳纳米管/Nafion网孔层4、酶生化敏感层5、聚氨酯保护层6;参比-对电极B由金层20至外分别覆盖有铂黑层30和聚氨酯保护层60;电极基体1上开有贯通两侧聚氨酯保护层6和60的通孔9,通孔9可由紫外激光切割而成且通孔9的数量可任意组合;通孔9为圆孔,且圆孔处涂覆有亲水性高分子层。通孔9设于电极的工作区域,电极上还设有绝缘区域8和引线区域7。表面金属化技术为现有技术,近年来的仿生学研究发现,水溶液条件下,多巴胺能发生氧化聚合,在聚合物、金属、陶瓷、玻璃、木材等一系列固体材料表面形成一层超强附着的复合层,而多巴胺的邻苯二酚基团能够对金属产生一定强度的束缚力,且聚多巴胺复合层对金属离子具有较强的还原能力;当表面沉积聚多巴胺层的改性材料浸入金属盐溶液中时,复合层从溶液中还原金属阳离子并使之沉积在材料表面,从而实现无电镀的材料表面金属化。

[0022] 实施:1-2:在实施例1的基础上,参照附图3。电极基体1上开有贯通两侧聚氨酯保护层6和60的方孔91,且方孔91处涂覆有亲水性高分子层。

[0023] 实施例1-3:在实施例1的基础上,参照附图4。电极基体1上开有贯通两侧聚氨酯保护层6和60的通孔92,通孔92截面为叉指梳状,且通孔92处涂覆有亲水性高分子层。

[0024] 实施例2:在实施例1的基础上,一种连续葡萄糖监测传感器,包括基座和实施例1所述的柔性电化学电极,柔性电化学电极设于基座下方,且电极顶端为针状,电极尾端与基座垂直固定。针状电极可以直接植入皮下组织,由于采用单片双面电极结构,植入创伤小,且有效简化加工工艺,降低制作成本。基座中还可以设有无线传输设备,无线传输设备将传感器的监测数据转化为信号,输出到外置的云端数据管理模块上存储,通过云端数据管理模块实时监测查看数值,云端数据管理模块可以是计算机、手机、平板电脑等设备。

[0025] 实施例3:在实施例1和2的基础上,参照附图5。一种实施例2所述连续葡萄糖监测传感器的制备方法,其包括以下步骤:

①PI切片除污 将厚度为 $120\mu\text{m}$ 的高分子薄膜材料切成PI片,分别置于丙酮、乙醇、去离子水中超声5min 后烘干,以去除表面的油污;

②沉积聚多巴胺层 将清洁后的PI片浸入多巴胺盐酸盐溶液中(多巴胺盐酸盐溶液制备方法为将 2mg/L 的多巴胺盐酸盐溶于pH值为8.5的Tris-HCl缓冲液),并在室温下置于脱色摇床上,在空气中氧化24h后,在PI片表面形成一层聚多巴胺,然后放入去离子水中浸泡清洗8h后,置于 80°C 烘箱中干燥;

③沉积催化层 将干燥后的片材浸入 $0.1\text{wt}\%$ 的十八烷基三甲基氯化铵(STAC)溶液中静置 5s 后取出晾干,然后置于铂纳米溶胶中 30min,在片材表面静电吸附一层随机分布的铂纳米颗粒层作为催化层,取出后用去离子水轻轻冲洗表面,去除表面未固定化的铂纳

米颗粒,然后晾干;铂纳米溶胶的制备方法为,将0.25mmol氯铂酸溶于91.5mL水中,将5mg聚乙烯吡咯烷酮(PVP)溶于5mL水后加入氯铂酸溶液中,再将1mmol硼氢化钠溶于10mL水中,取1mL缓缓加入PVP与氯铂酸的混合溶液,同时剧烈振荡,最终的混合溶液在室温下静置24小时即可;

④化学沉积金层 将晾干后的片材置于镀金液(含10mM氯金酸与20mM过氧化氢)中,15min 后取出,并迅速置于120℃烘箱中退火50min后关闭烘箱,待烘箱内温度降到室温后取出片材,此时,片材表面沉积有一层光亮、致密牢固的金,金层厚度约10μm;

⑤电沉积铂黑层 将清洗后的镀金电极置于镀铂液(3wt%氯铂酸,0.25wt%醋酸铅)中,以铂丝为对电极,采用恒电压法,设定工作电位为-2.5V,沉积时间120s,在电极两面同时电沉积一层致密的铂黑层;

⑥Parylene绝缘处理 在片材两面蒸镀Parylene(派瑞林)绝缘层;

⑦打孔形成工作区 在设定电极工作区域表面激光制备通孔(9)形成工作区域,孔径设定为0.12mm;

⑧吸附碳纳米管网孔层 将1mL浓度为5wt%的 Nafion 加入到4mL的碳纳米管水分散液,并将电极浸入该碳纳米管的 Nafion分散液中,以电极的一面作为工作电极,另一面为对电极,用恒电位法,设定工作电压为 1V,工作时间 10s,将碳纳米管电吸附到工作电极上,形成以 Nafion 为骨架的碳纳米管网孔层,即在工作电极孔外周表面形成碳纳米管网孔层;

⑨交联固化 将电极倒悬于底部有25%戊二醛的容器中,在40℃烘箱中交联60min后置于4℃冰箱中保存2h,使碳纳米管网孔层与基底牢固结合;

⑩电吸附GOx酶层 将10mg牛血清蛋白(BSA)与10mg葡萄糖氧化酶(GOx)的混合粉末溶解于 2mL的去离子水中形成GOx酶溶液,将电极浸入GOx酶溶液中,以电极的碳纳米管网孔层侧面为工作电极,另一面为对电极,用恒电位法,设定工作电压为 0.3V,工作时间2400s,将GOx电吸附到工作电极上,然后将电极保存于4℃冰箱中8h,使GOx充分嵌入到碳纳米管网孔层内,最后采用步骤⑧所述的交联固化方法交联40min后,在4℃冰箱中冷藏8h,使酶层充分交联固化,再用去离子水冲去未充分固定的酶;

⑪切割电极 用紫外激光切割机将片材切割成细丝状、单层双面的电极,设定植入部分的尺寸为0.25mm×5mm;

⑫形成聚氨酯保护层 将4wt%的聚氨酯溶于98v%四氢呋喃和2v%二甲基甲酰胺的混合溶液,形成聚氨酯溶液,将电极传感部分缓缓穿过沾有该聚氨酯溶液、内径为2mm的钢丝圈,在电极表面形成一层多孔聚氨酯半透膜作为保护层,即在电极表面形成一聚氨酯保护层(PU膜);

⑬充分调控融合 上膜后的电极在干燥箱中干燥8h后,将电极置于PBS缓冲液中72h,使电极各层充分调控融合;

⑭电极装配 将电极尾端固定在基座上,且电极尾端的引出线区域7与基座中的传感部件电路连接。

[0026] 上述步骤①~⑭制备的电极如果需要保存时,可以放置在25℃的干燥箱中干燥保存以备用。

[0027] 采用该方法制备的传感器电极,金层与PI表面紧密结合,金纳米颗粒整齐、紧致、

均匀分布,金层均匀、致密性高,与其他技术加工形成的金层相比,该金层可以承受在其表面的电化学沉积铂等功能修饰,而不会随沉积时间积累发生金属层与非金属层剥离、脱落现象。再者,由于电极工作面是由圆孔边缘厚度约为10~15 μm 的金/铂层,这一微米级别的电极结构有效增强了传质性能,起到了增强电化学反应性能的作用;通孔结构与碳纳米管多孔结构相结合,也起到增加酶固载量,保护酶活性的作用,增强了传感器的长期稳定性。

[0028] 葡萄糖连续响应测试:将 10mI 空白 PBS 溶液(pH7.2)注入检测池,并将检测池放置在磁力搅拌器工作台上,使磁力搅拌器加热面保持在(37 $^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$)至少5min,使检测池温度保持在37 $^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 并保持磁子转速 200 转/min。将传感器浸入检测腔溶液表面以下 5mm 处,应用计时电流法(i-t)进行连续响应测试,设定恒电压电位 0.3V。待上电初始化 40min 以上后每隔 5 分钟,向检测池中注射一定量的葡萄糖溶液,使检测池中的葡萄糖浓度在0~33mM 连续上升,如附图6所示。附图7为传感器的线性度,附图8是从0mM到3mM时的响应变化过程。由此看出,该传感器具有较宽的线性响应范围,在0~30mM范围内,线性度可达99%以上,平均灵敏度达 $100\mu\text{Acm}^{-2}(\text{mmol/L})^{-1}$ 。该传感器还具有快速的响应速度,考虑到每次注射葡萄糖到检测池浓度均衡时间的影响,每次梯度浓度变化的响应时间约在15~30s范围内,平均响应时间约25s。

[0029] 附图9为本传感器对抗坏血酸、尿酸和的醋氨酚抗干扰试验数据分析图,其中: a. 4.0mmol/L 葡萄糖; b. 0.1 mmol/L抗坏血酸; c. 0.5 mmol/L尿酸; d. 0.2mmol/L 醋氨酚; e. 4.0mmol/L 葡萄糖; f. 4.0mmol/L 葡萄糖。由图中得出,本发明的葡萄糖监测传感器对尿酸、抗坏血酸、醋氨酚都有良好的抗干扰性,本发明传感器具有 Nafion/碳纳米管网络多孔内层,对传感器的抗干扰性起到积极的作用,另一方面,本传感器结构上具有很近的工作电极与参比-对电极间隙,使得传感器可在低于0.5V的工作电压下仍表现出较好的检测范围与线性范围。

[0030] 本发明的葡萄糖监测传感器通过将酶层溶入 Nafion/碳纳米管形成的多孔网络结构中,使得酶的负载量大大提高,减少葡萄糖分子直接进入电极层的可能,有效促进响应电流的稳定性。

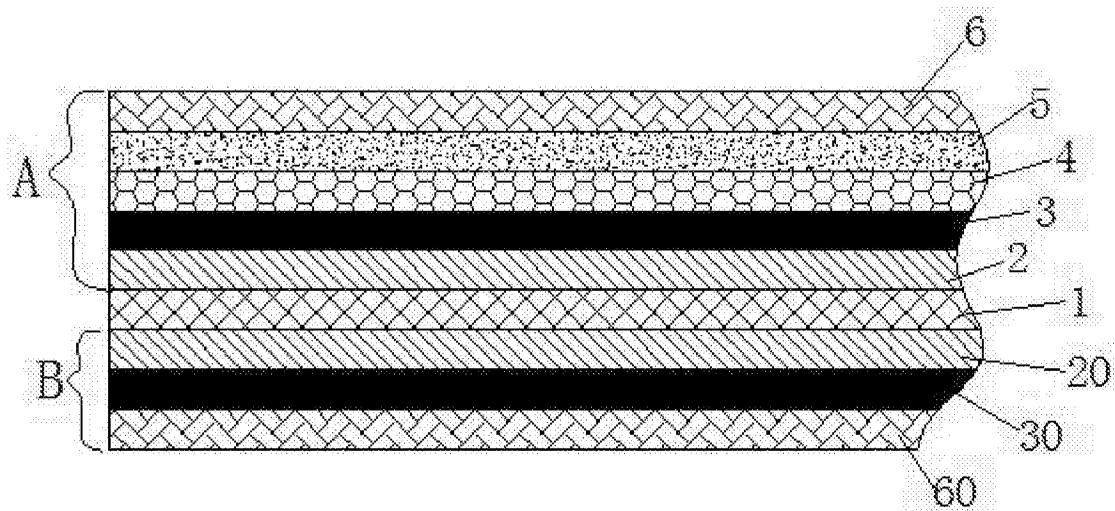


图1

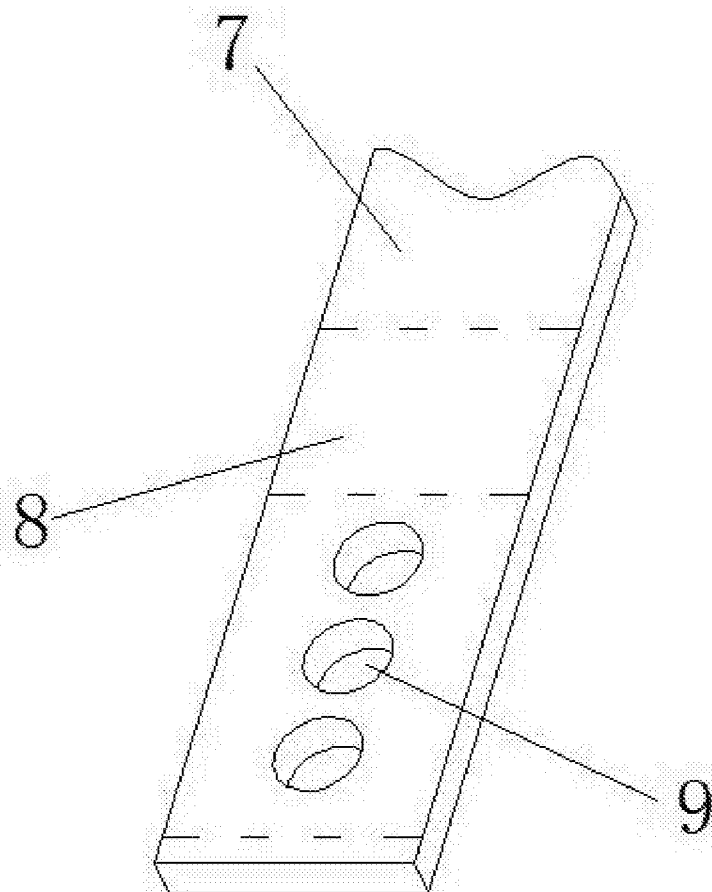


图2

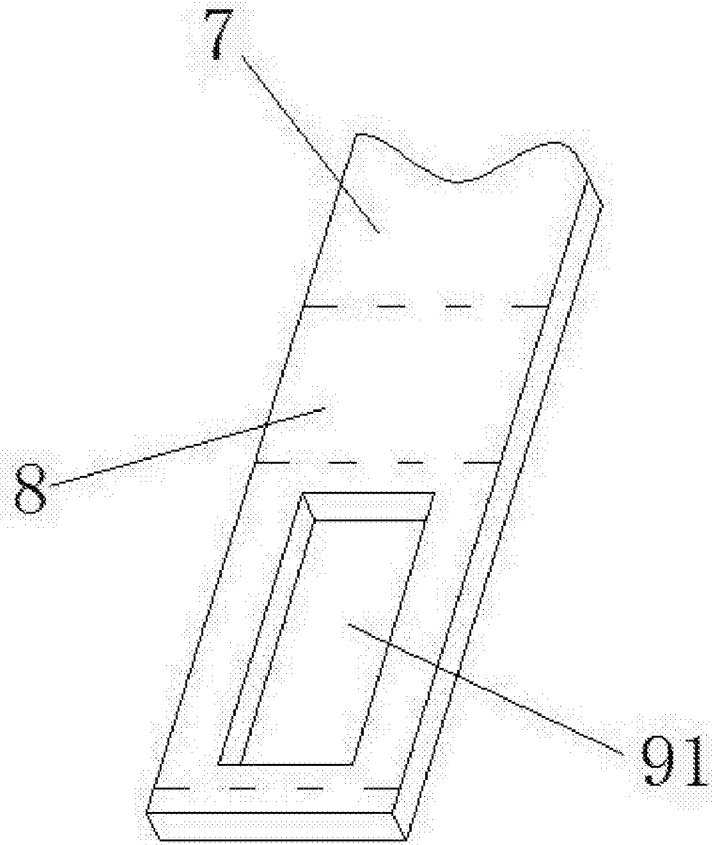


图3

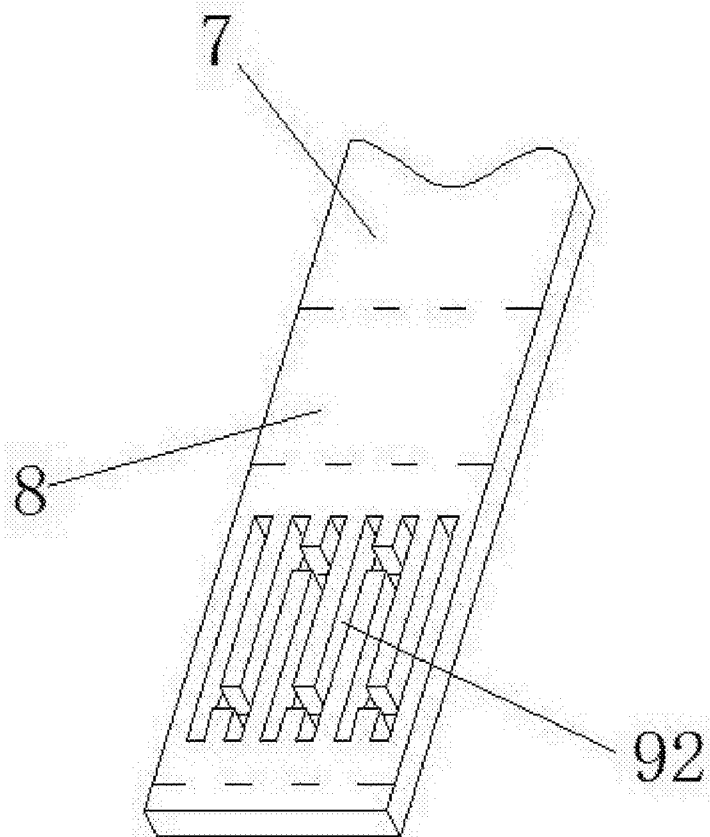


图4

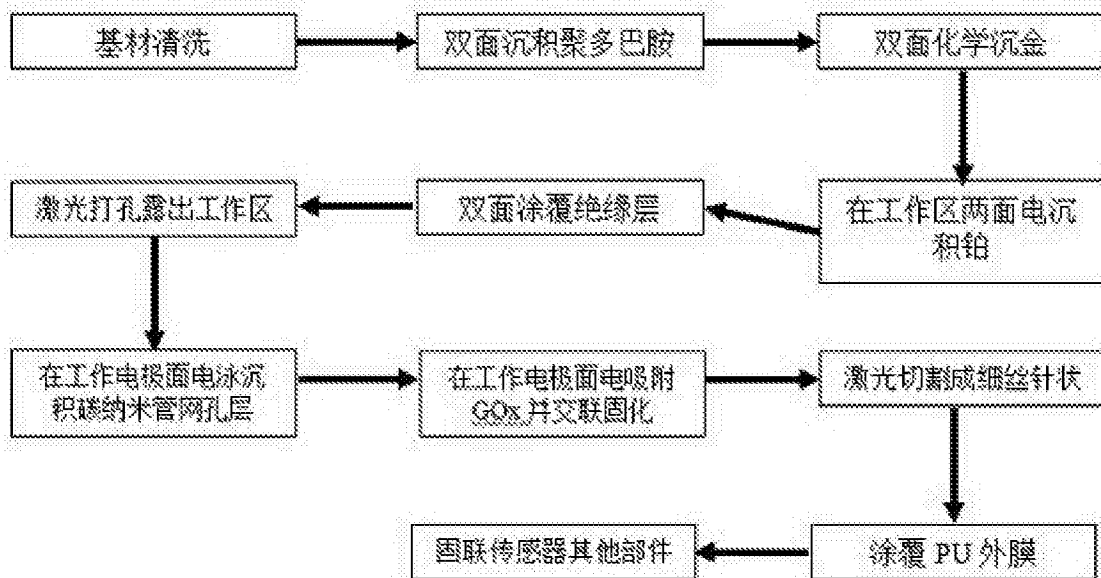


图5

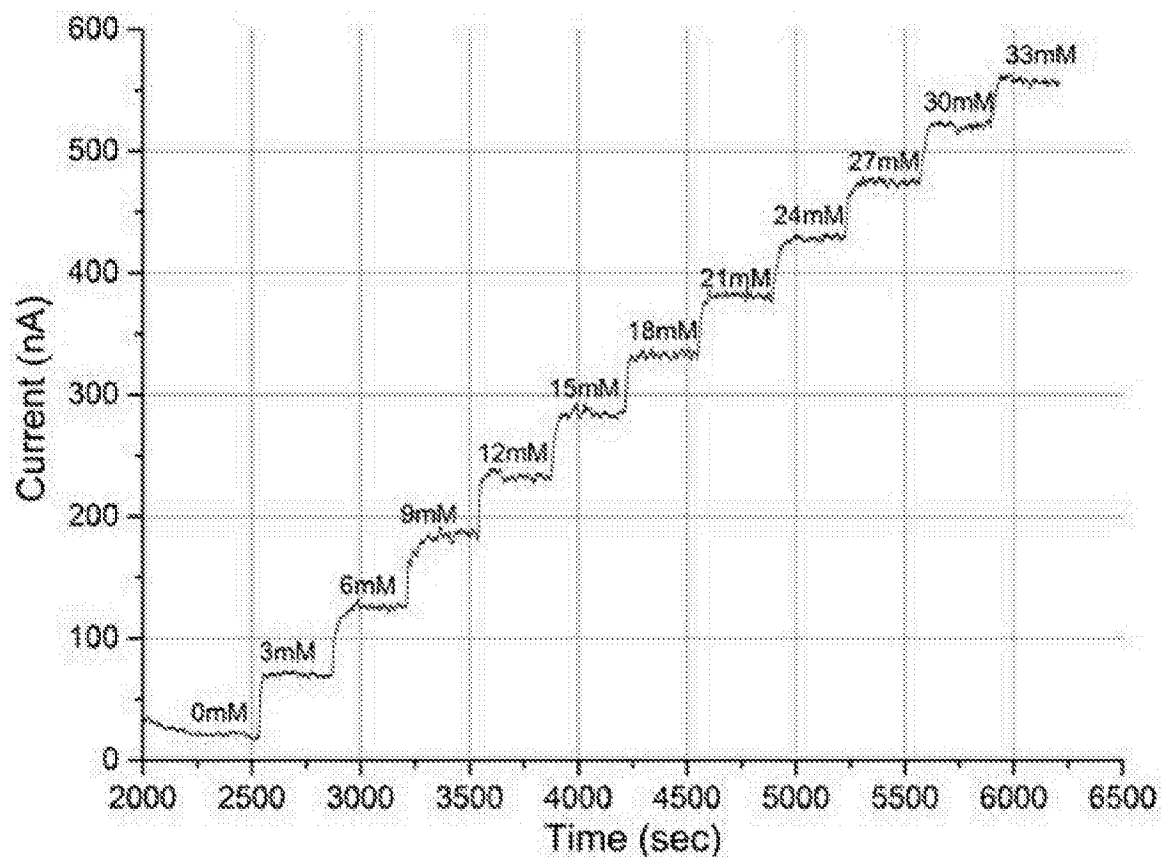


图6

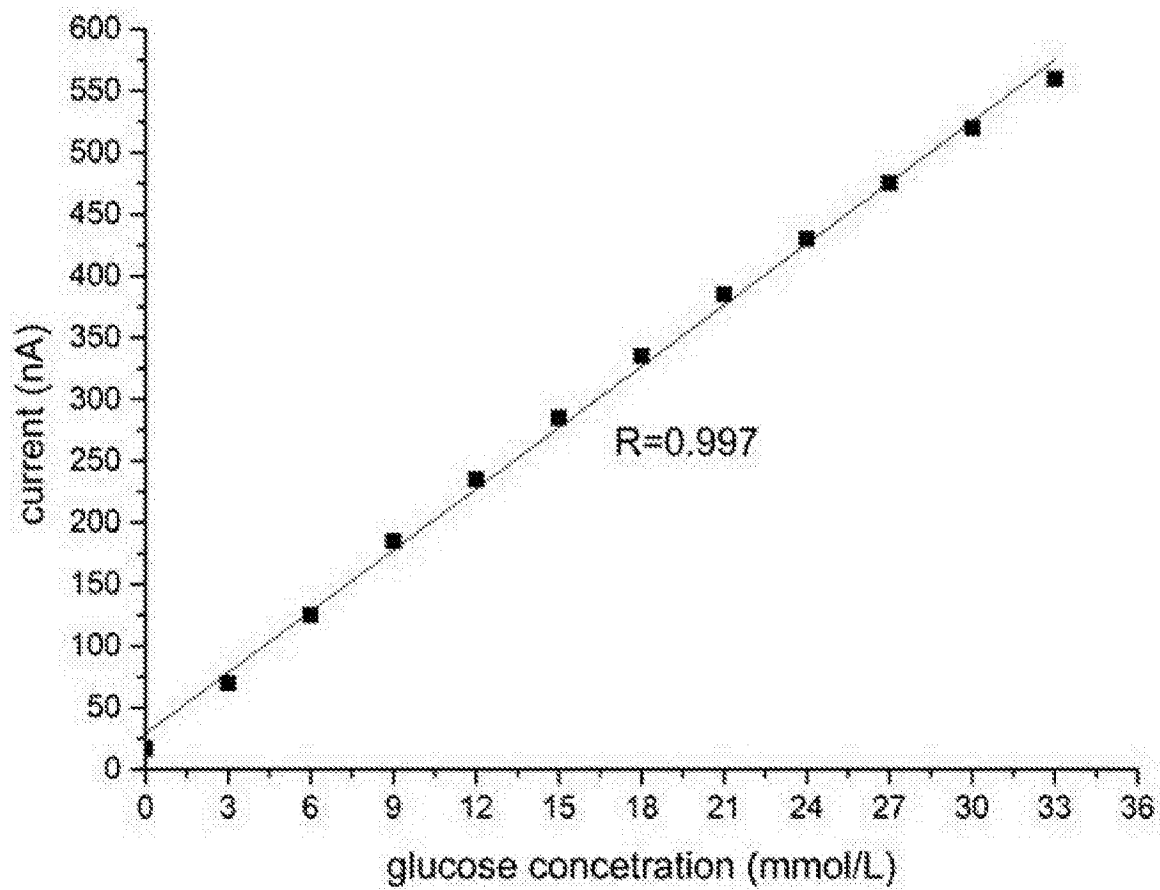


图7

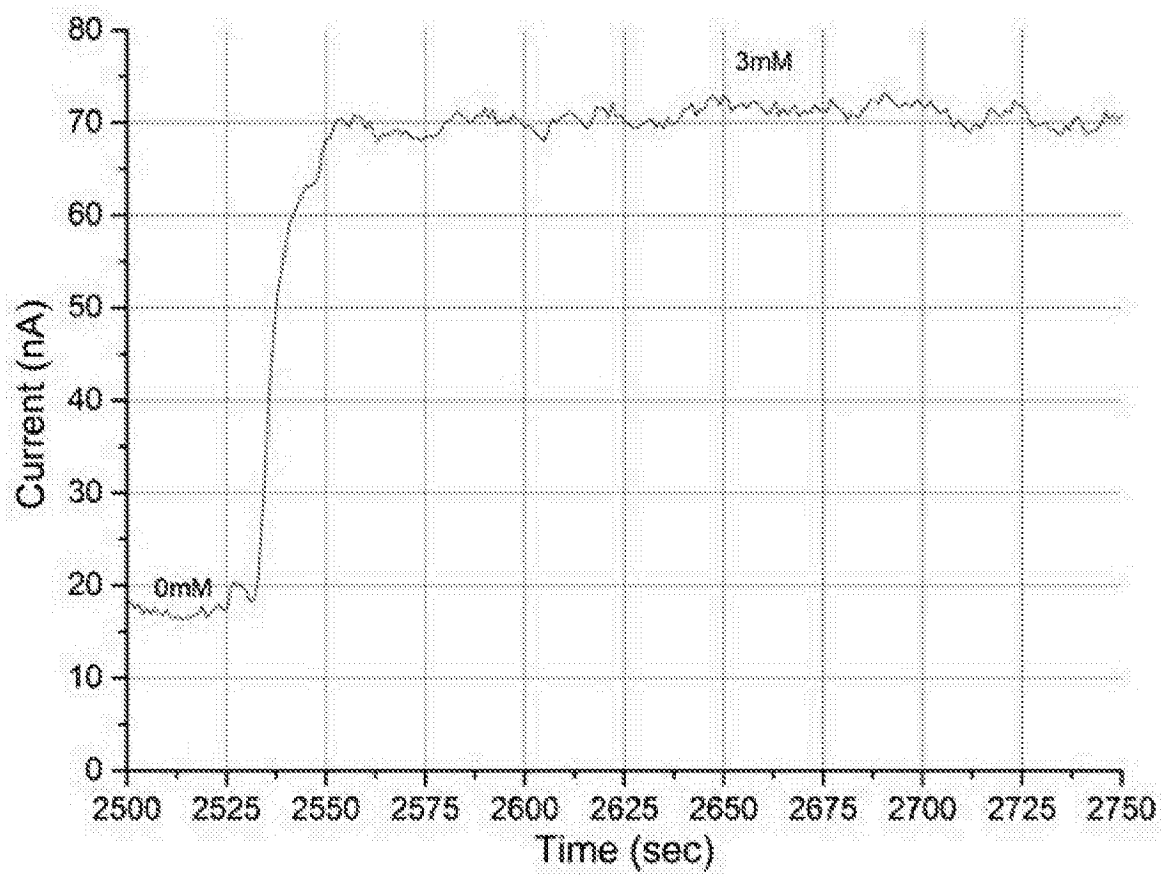


图8

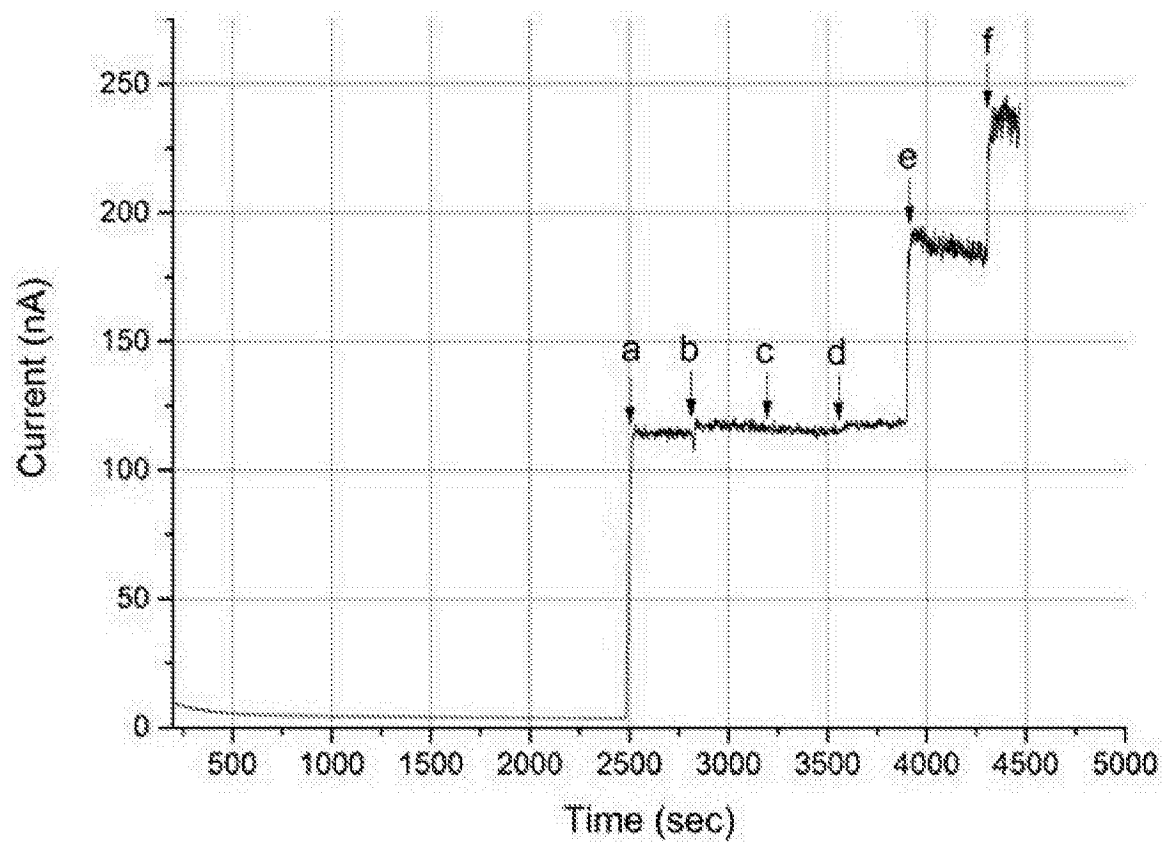


图9

专利名称(译)	柔性电化学电极、连续葡萄糖监测传感器及其制备方法		
公开(公告)号	CN105943058A	公开(公告)日	2016-09-21
申请号	CN201610339920.5	申请日	2016-05-19
[标]申请(专利权)人(译)	杭州宇壳科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	杭州宇壳科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	杭州宇壳科技有限公司		
[标]发明人	陈玮		
发明人	陈玮		
IPC分类号	A61B5/1486 A61B5/1473 C23C28/02 C23C18/44 C23C18/20 C25D3/50		
CPC分类号	A61B5/14532 A61B5/1473 A61B5/14865 A61B5/6847 C23C18/2086 C23C18/44 C23C28/023 C25D3/50		
其他公开文献	CN105943058B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种柔性电化学电极、安装有该柔性电化学电极的连续葡萄糖监测传感器及其制备方法，其直接以化学镀金薄膜两面的金层分别作为工作电极与参比-对电极，构成电化学两电极体系，并在设定的工作电极表面电沉积花瓣状铂纳米颗粒作为催化层，然后电泳沉积碳纳米管/Nafion网孔层作为抗干扰层，并在其上通过静电吸附形成酶生化敏感层，在戊二醛中交联固化后涂覆聚氨酯传质限制保护层，制备成柔性连续葡萄糖监测传感器；该传感器无需光刻或网版印刷等技术构造电化学电极系统，能够有效简化加工工艺、易于实现规模化生产、降低生产成本，同时具有宽线性范围、低检测限、强抗干扰性、高响应灵敏度、以及长期稳定性等特性。

