

胆碱半导体传感器的研制

黄德培 傅庭治 朱春生 南 轸* 陆宗寰 宋贯交

(南京大学配位化学研究所)

(常熟半导体器件厂)

提 要

利用四苯硼酸钠与氯化胆碱作用,生成的四苯硼酸胆碱为电活性物质。利用此电活性物质配制成四氢呋喃聚氯乙烯的溶液,将它涂积于半导体场效应管绝缘栅铂丝引线上^[1],即制成了胆碱半导体传感器。经测定器件的性能,获得了满意的结果。

70 年代初, G. Baum 等人报道了乙酰胆碱和胆碱酯敏感电极^[2,3],并测定了电极线性范围在 10^{-1} — $10^{-4}M$ 之间。1982 年苟中坤研制成苯酰胆碱电极,并用其测定了有机磷化合物^[4,5]。为了进一步使器件微型化,响应时间快,并能直接应用于生物体内测量,我们设计了一种半导体场效应管的胆碱探头,测试了探头的性能指标,获得了满意的结果。

方法与结果

仪器与试剂:

PXD-2 型数字式离子计(江苏电分析仪器厂)。DJ-1 型磁力搅拌器(江苏常熟电子仪器厂)。半导体敏感器件(江苏常熟半导体器件厂)。四苯硼酸钠(血钾专用,上海试剂厂)。氯化胆碱(分析纯,上海试剂厂)。

器件的制作:

称取一定量的氯化胆碱和四苯硼酸钠,配制 1M 的标准溶液。取 1M 20ml 的氯化胆碱标准液于 50ml 烧杯中,在不断搅拌下滴加 1M 的四苯硼酸钠,生成白色沉淀。然后在砂蕊漏斗中抽滤。沉淀用去离子水洗 5—6 次,直到没有四苯硼酸根离子为止。取出沉淀在真空干燥器中干燥待用。称取一定量上述活性物质,溶解于 6ml, 3—5% PVC 的四氢呋喃溶液中,搅拌呈均匀透明的溶液,然后滴加 19 滴邻苯二甲

酸二丁酯增塑剂再搅拌呈透明。将设计好的半导体场效应管栅极引出的铂丝浸渍上述溶液,往复数次,使膜厚度在 80—150 μm 之间,就制成了胆碱半导传感器(简称胆碱-ISFET)。

器件性能的测试:

(1) 器件使用前需在 $10^{-2}M$ 的胆碱溶液中,活化 2 小时。平时不用,需罩上电极套,干法保存。其测量电池如下:

Cu | Hg₂Cl₂, Hg | 饱和 KCl | 样品液 | 膜 |
铂丝 | SiO₂ 或 Si₃N₄ | Si | Cu

器件与甘汞电极组成测量电池,分别对一系列标准溶液(从稀到浓)测试电动势值 E 。根据所得的 E — $\lg C$ 关系作图得图 1。

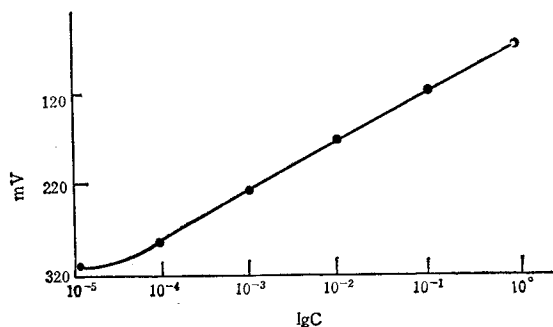


图 1 胆碱-ISFET 标准校正曲线

* 南京中医学院中药系

从图 1 中看出,器件的线性范围为 $10^0-5 \times 10^{-5}M$ 之间。斜率为 $56mV/P^{胆碱}$ 。

(2) 器件的重现性与稳定性:

将器件浸入 $10^{-2}M$ 和 $10^{-3}M$ 的胆碱标准溶液中,往复测量三次,结果见表 1。

表 1 胆碱-ISFET 的重现性

浓 度 (M)	毫伏数 (mV)			标准差 (SD)
	一次	二次	三次	
10^{-2}	105	105	105	± 0.09
10^{-3}	47	48	47	± 0.58

检查器件的漂移,是将其浸入 $10^{-2}M$ 胆碱标准溶液中,然后连续测定其电位值,结果见图 2。

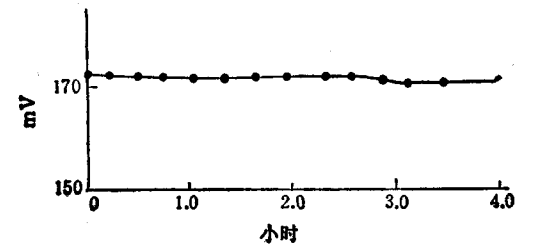


图 2 胆碱-ISFET 所测电位值与时间的关系

表 3 胆碱-ISFET 的选择系数 ($K_{A,B}^{胆碱}$)

干扰离子	选择系数	干扰离子	选择系数	干扰离子	选择系数
胆碱	1	Mg^{2+}	6.53×10^{-4}	乙酰胆碱	2×10^{-3}
NH_4^+	4.27×10^{-3}	K^+	1.24×10^{-3}	碘化硫代乙酰胆碱	6×10^{-2}
Na^+	2.25×10^{-3}	Ca^{2+}	7.48×10^{-3}		

以上是在 $10^{-3}M$ 的干扰离子溶液中测定的。

表 4 胆碱-ISE 和 ISFET 性能参数比较

性能 类型	线性范围 (M)	pH 范围	斜 率 (mV)	响应时间 (秒)	漂 移 (时)	寿 命 (月)
胆碱-ISE	$10^0-8 \times 10^{-5}$	4—10	57	30	$< \pm 1mV$	>9
胆碱-ISFET	$10^0-5 \times 10^{-5}$	4—10	56	3—5	$< \pm 1mV$	>6

从图 2 看出,器件的漂移在 4 小时左右为 2 毫伏,每小时漂移 $< 1mV$ 。

(3) 测试器件的 pH 范围:

取 $10^{-2}M$ 的标准胆碱溶液 20 毫升,用盐酸或氢氧化钠溶液调节其 pH 值,然后将器件与甘汞参比电极插入溶液,测量其电位值。结果见表 2。测试器件的 pH 范围在 4.12—10.0 之间。

表 2 胆碱-ISFET 的电位值与 pH 的关系

编号	1	2	3	4	5	6	7	8
pH	3.29	4.12	5.04	6.47	8.13	9.29	10.08	11.38
mV	175	172	172	172	172	171	171	168

(4) 器件的响应时间与器件的寿命:

胆碱-ISFET 的响应时间,一般在 3—5 秒内可以达到稳定。当浓度极稀时,响应时间则约延长至 30 秒钟。器件在正常条件下使用,寿命一般在半年以上。

(5) 器件选择系数的测量:

本文采用分别溶液法^[6]测量了干扰离子对胆碱的选择系数,见表 3。

(6) 离子半导体传感器与离子选择电极性能对比:

我们还利用同样的方法,以四苯硼酸胆碱为活性物质制作了胆碱离子选择电极(简称胆碱-ISE),并测试了两者性能参数(见表 4),获得了满意的结果。

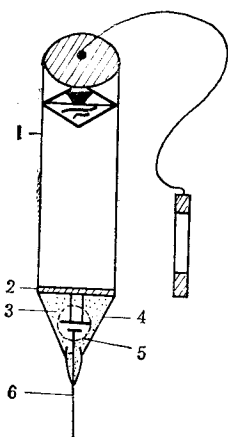


图3 胆碱半导体传感器外形结构示意图

1.金属外套, 2.橡皮垫圈, 3.环氧树脂,
4.聚四氟乙烯, 5.MOSFET, 6.铂丝。

总之,有关胆碱-ISFET 目前在国内外尚未见报道,我们利用自行设计的半导体场效应管研制成了胆碱半导体传感器。器件的线性范围

在 $10^0-5 \times 10^{-5}M$ 之间,斜率为 $56mV$, pH 范围为 $4-10$,器件的漂移每小时 $< 1mV$,寿命在正常条件下使用为 6 个月,其简单结构示意图如下。

离子敏感场效应传感器是我们与常熟半导体器件厂一起设计的,最近又增添了集成放大器,可直接用 pH 离子计进行测量。

参 考 文 献

- [1] 傅庭治等:“半导体传感器”,实用新型专利公报,公告号:GG85, 2, 01229, No.2,第7号;中华人民共和国专利局,1986, 2, 12。
- [2] Baum, G.: *Anal. Lett.*, **3**, 105, 1970.
- [3] Baum G., et al.: *Anal. Chim. Acta*, **65**, 385, 1973.
- [4] 苟中坤:《离子选择电极通讯》, **2**, 36, 1982。
- [5] 苟中坤:《离子选择电极通讯》, **2**, 39, 1982。
- [6] 黄德培等编著:《离子选择电极原理及应用》,新时代出版社,北京, p. 49, 1982。

[本文于 1986 年 9 月 8 日收到]

科技消息

植物借给寄主基因

如果遗传工程师能够发现细菌是如何将大气中的氮转化为氨的,他们就可能很快给农民提供自行施肥的农作物。有一些细菌与豆科植物如蚕豆、三叶草亲密地生活在一起。植物在根部为细菌居住提供根瘤,细菌(根瘤菌属及根瘤科的其他菌属)固氮以便源源不断地为植物供应氮肥。

如果能设法使这种细菌与其它农作物如土豆或小麦“共生”,那么农民就会完全无需肥料了。非常不幸的是,细菌和宿主间的这种“共生”关系是很微妙复杂的。植物产生一种血红蛋白,叫豆血红蛋白提供根瘤菌所需的氧气,而细菌则制造固氮酶,把氮气转化为氨。现在,两位美国研究者发现细菌和植物间的关系更为密切了。他们说,共生的细菌从其豆科植物宿主那里获得了一些遗传物质。

固氮过程中,新制造的氨通过与氨基酸——谷氨酸的相连进入细菌和植物的代谢。其关键步骤是被谷氨酰胺合成酶催化的。密执安州立大学的 T. Carlson 和 B. Chelm 发现这种根瘤菌及其同源物有独特的能力。它们不仅能在豆科植物上形成根瘤,还能产生两种形式的谷氨酰胺合成酶。其中一种形式与一般细菌产生的相似,但第二种形式在结构与被细菌修饰的方式上均与众不同。

Chelm 和 Carlson 从大豆植物中的共生细菌——*Bradyrhizobium japonicum* 的培养液中提取了这种酶

(称谷氨酰胺合成酶 II, GS_2)、然后,他们分离了编码 GS_2 的基因并测出了能给出蛋白质结构的 DNA 序列。产生的蛋白质与植物产生的谷氨酰胺合成酶有类似的结构。大约有一半 *Bradyrhizobium* GS_2 的氨基酸位置与豆科或其他植物制造的酶的氨基酸位置相同。但此 GS_2 与一种固氮蓝绿藻——*Anabaena* 制造的谷氨酰胺合成酶不同。因此 GS 酶的第二种形式对固氮作用本身并不是必需的。

Carlson 和 Chelm 断定:固氮根瘤菌的祖先从植物宿主那里获得了第二型谷氨酰胺合成酶的基因。有趣的是,植物 GS 基因含有内含子,即作为基因编码部分间隔物的 DNA 非编码区;而 *Bradyrhizobium* 的基因则象所有其他已知的细菌基因一样,没有内含子。

据推测,这种基因从植物到细菌的转移可能是病毒的偶然所为。这种跳跃还是第一个例子。整个家族现在还具有两种形式的谷氨酰胺合成酶。研究者们相信 GS_2 对固氮作用是非必需的,那么为什么这种细菌的无数后代仍保留它呢?他们认为,这种“借来”的酶一定对细菌有一些重要意义。

有关固氮菌的最近发现没有使问题简化而是复杂化了。因此,我们是否能将根瘤菌形式的固氮方式用于豆科植物以外的其他农作物还是个悬而未决的问题。

[北京协和医院内科胃肠组细胞基因实验室 曹华译]