

# 我国生物传感器研究现状及发展方向

史建国<sup>1</sup> 李一苇<sup>1</sup> 张先恩<sup>2</sup>

(1. 山东省科学院生物研究所, 山东省生物传感器重点实验室, 山东 济南 250014;

2. 中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

**摘要:** 生物传感器是一个内容广泛、多学科介入和交叉的研究领域。本文以固定化酶传感器为重点,对我国生物传感器技术现状和特点进行了总结。在生物活性元件的种类、固定化策略和推广应用方面进行了分析,指出影响我国生物传感器实用化进程的主要问题是传感器酶品种缺乏、稳定性差以及检测底物范围受限等。以此为基础,在酶分子元件、生物电子器件、传感器制造技术及市场开发等几个方面,对今后发展重点和方向进行了探讨,建议加强新型酶分子元件、生物电子器件的标准化和分析系统的集成技术研究。

**关键词:** 生物传感器; 酶电极; 分析仪器; 应用市场

中图分类号: TP212.3 文献标识码: A 文章编号: 1002-4026(2015)01-0028-08

## Research advances and development of biosensors in China

SHI Jian-guo<sup>1</sup> LI Yi-wei<sup>1</sup> ZHANG Xian-en<sup>2</sup>

(1. Shandong Provincial Key Laboratory of Biosensors, Biology Institute, Shandong Academy of Sciences, Jinan 250014, China;

2. Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

**Abstract:** Research on biosensors involves extensive contents, multiple disciplines and their overlap. We review its status quo and characteristics with emphasis on immobilized enzyme sensors. We also address the kind of bioactive components, immobilization strategy and its applications. We further present the main issues affecting practical application process of Chinese biosensors—enzyme variety scarcity, bad stability and less analytical performance of instruments. We then explore its development emphasis and directions from enzyme molecular elements, bioelectronics components, manufacture technology and market development of biosensors. We eventually present our suggestions for the emphasis on the standardization of new enzyme molecular elements and bioelectronics components and integration technology of analytical system.

**Key words:** biosensor; enzyme electrode; analyzer; biosensor market

生物传感技术是生物学、化学、物理学和信息学等多学科集成的分析技术,自20世纪60年代中期以来,经过50多年的发展,已经成为一个涉及内容广泛、多学科介入和交叉并且充满创新活力的领域。生物传感器同传统分析仪器的区别在于以生物活性材料(酶、抗原、抗体和细胞等)为感知元件,通过物理化学换能

收稿日期: 2014-12-08

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863计划)(2012AA021201)

作者简介: 史建国(1960-),男,博士,研究员,研究方向为生物传感器。

器将生物反应的信息转化成可定量识别的数字信号。其优势是特异性好、样品前处理简单、快速、灵敏度高且可操作性强,在医学检验、食品分析、环境监测、战争毒剂、工业过程检测与控制等领域展现出广阔的应用前景<sup>[1]</sup>。近些年来,由于许多新技术、新方法和新原理的采用及各个学科的发展与相互渗透,各种新型生物传感器不断涌现,种类繁多,其应用市场也呈现快速增长的趋势<sup>[2]</sup>。我国生物传感器的研究历程与国际上基本同步,其中经典的固定化酶传感器是研究最多、性能稳定,而且应用市场最大的生物传感器<sup>[3]</sup>。特别是随着我国生物技术及产业的快速发展,生物传感技术的研究及应用引起人们的极大兴趣,有关论文成果不断出现。但生物传感器也存在稳定性和均质性差等问题,严重制约着该技术的产业化进程。本文以固定化酶传感器为重点,就近年来我国生物传感器的研究现状、存在问题、发展重点和发展方向进行探讨,期待能为生物传感器技术及产业发展提供有益的参考。

## 1 生物传感器发展历程及应用现状

### 1.1 发展历程

生物传感器起源于隔离式氧电极检测方法,由美国 Clark 教授于 1956 年首次提出,并于 1962 年证实了葡萄糖氧化酶(GOD)与氧电极结合进行葡萄糖测定的可行性,诞生了酶电极(enzyme electrode)术语<sup>[4]</sup>。随后,许多学者对酶固定化和电极结合的方法进行了完善,在实现酶电极功能方面取得了进展<sup>[5]</sup>。

从 20 世纪 70 年代中期至整个 80 年代,生物技术、生物电子学和微电子学不断渗透、融合,使生物传感器理论和方法不断扩展,形成了生物传感器学科领域。1984 年,在国际生物工程年会上将生物传感器列为当代生物工程的重要领域之一。1985 年,Elsevier 科学出版社创刊出版了《Biosensors》国际学术期刊,1990 年更名为《Biosensors & Bioelectronics》。由牛津出版社出版的《Biosensors: Fundamental and Application》是当时最具权威的专著,被誉为生物传感器的“圣经”。1990 年,首届世界生物传感器学术大会在新加坡召开,标志着生物传感器已形成一个新兴的科学技术领域。在随后的 30 多年,生物传感器已不再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)来设计各种精密探测装置,形成了光纤、压电晶体、表面离子体共振、半导体、纳米等器件与酶、抗原、抗体、核酸、细胞、天然受体或合成受体等生物元件组成的各类生物传感器类型<sup>[6]</sup>,出现和融合了许多新知识、新技术和新人才,充分体现出学科的广泛交叉,孕育着新的发展机遇和高潮。

我国生物传感器研究始于 20 世纪 80 年代初,其技术发展历程基本与国际上同步。从 1990 年起,全国酶工程会议和中日酶工程学术会议都将生物传感器作为重要内容进行研讨,大大促进了我国生物传感器技术和人才队伍的发展。1990 年,我国第一个生物传感器专著《生物传感技术原理与应用》出版,奠定了我国生物传感器技术基础。2005 年,国家“十五”重点图书《生物传感器》由化学工业出版社出版,对生物传感器技术进行了系统的总结。2008 年,第十届世界生物传感器大会(The World Congress on Biosensors)在中国召开,标志着我国生物传感器研究进入新的发展阶段。对此,英国 Cranfield 大学的生物传感器资深专家 Turner 博士指出,近几年中国在该领域的研究发展表现尤为突出,这不仅表现在研究论文的高产量,也表现在论文的高质量上。据生物传感器领域最具权威的 Biosensors & Bioelectronics 杂志的统计数据表明,2008 年中国第一次取代了美国成为该杂志发表数量最多的一个国家。近十年来,有关酶电极的研究论文发表呈现逐年增长的

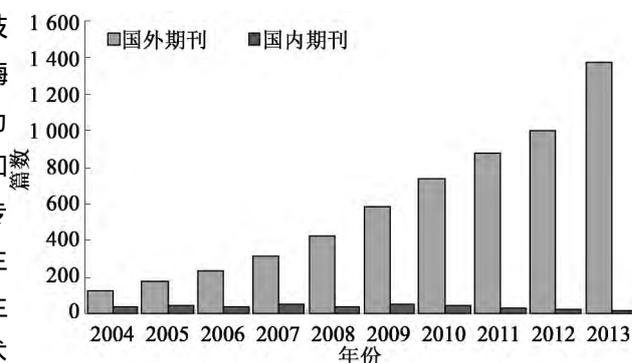


图 1 近十年我国酶电极研究论文发表数量统计

Fig. 1 Publishing amount statistics for Chinese enzyme electrode research papers during the past ten years

趋势,国内外发表论文情况统计结果见图1。可以看出2008年以后,我国在该领域发表的论文在国际期刊的数量显著增加。

1.2 应用现状

国际上第一个商品化生物传感器是酶电极血糖测定仪,该产品由美国YSI公司于1972年推出,用于糖尿病人的血糖测定,标志着生物传感器商品化的开始。1987年,美国MediSene公司开发出基于丝网印刷技术的介体酶电极血糖传感器,占据了全球生物传感器85%的市场。瑞典Pharmacia公司于1990年生产出BIAcore产品,利用表面等离子体(surface plasmon resonance)方法对生物亲和反应进行检测,这成为目前研究生物分子之间相互作用最优秀的实验工具。DNA生物传感器和DNA芯片技术在推动全球生物技术发展方面也发挥了重要作用。另外,生物传感器功能逐步扩展,从常规生化分析发展到活体(in vivo)测定、多指标测定和联机在线测定,应用领域迅速扩大。据有关资料统计,2010年全球生物传感器市场销售额已突破100亿美元,预计2020年将达到225亿美元。

我国在上世纪80年代初研制出了一批生物传感器分析仪器,最早的是葡萄糖分析仪,以后陆续研制成功BOD、乳酸、谷氨酸、SPR生物传感分析仪器及多指标血液分析、发酵在线检测等系列产品。其中商品化产品主要是手持式血糖仪和SBA酶电极分析仪。手持式血糖测试仪于1994年诞生,国内约16家生产企业(部分生产厂家信息见表1),年产50多万个血糖仪、2亿片试纸,销售额达4亿多元。SBA系列生物传感分析仪于1989年开始应用,是目前我国唯一的商品化工业酶电极分析系统,在食品发酵、生物医药和科研教学等领域已广泛应用,可测定葡萄糖、谷氨酸、乳酸和赖氨酸等十几种指标,其应用领域分布见图2。目前,国际上同类产品主要是美国YSI公司生物传感分析仪和美国NOVA公司的多指标生化分析系统。SBA与国外产品在酶电极检测方面的性能指标对比见表2,可以看出,在生化参数检测的性能指标方面基本一致。国外产品优势是多传感器集成和在线检测分析系统,测定指标除生化参数外还有化学参数,但国外产品运行和维护费用过高。

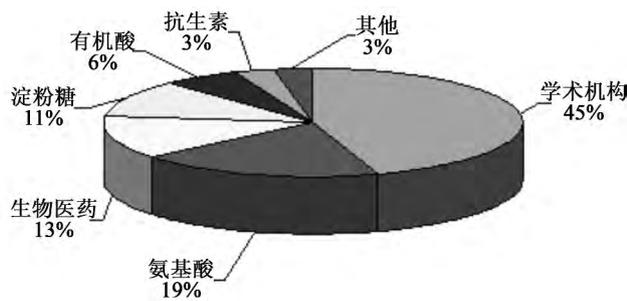


图2 SBA酶电极传感分析仪应用领域分布

Fig. 2 Application field distribution of SBA enzyme electrode analyzer

表1 国内主要血糖仪生产厂家

Table. 1 Domestic predominant manufacturers of glucometers

生产厂家	成立时间	所在地
怡成生物电子技术有限公司	1993	北京
强生医疗器材有限公司	1994	上海
艾康生物技术杭州有限公司	1995	杭州
九安医疗电子股份有限公司	1995	天津
鱼跃医疗设备股份有限公司	1998	丹阳
三诺生物传感股份有限公司	2002	长沙
厚美德生物科技有限公司	2003	北京
壁立医疗科技有限公司	2007	厦门
民康医疗科技有限公司	2010	天津

表2 国内外酶电极分析仪性能比较

Table 2 Comparisons of performance for global enzyme electrode analyzers

性能类别	SBA	美国 YSI	美国 NOVA
响应时间/s	≤20	≤20	≤20
进样量/μL	≤25	≤25	≤25
线性范围/(g/L)	葡萄糖: 0~1.0; 乳酸: 0~1.0; 谷氨酸: 0~1.0	葡萄糖: 0.05~18.0; 乳酸: 0.05~2.70; 谷氨酸: 0.03~1.17	葡萄糖: 0.2~30.0; 乳酸: 0.05~9.0; 谷氨酸: 0.2~0.88
精密度的	自动检测: CV ≤2.0%; 发酵罐检测: CV ≤3.0%	检测误差≤3%; CV值最低至1.5%	最高的精度和最准确的结果(CV ≤2.0%)
试剂消耗	每次测定无需更新酶,缓冲液仅需2~3 mL	每次测定无需更新酶,仅消耗缓冲液	每次测定无需更新酶,试剂和消耗品消耗低

## 2 固定化酶传感器研究现状

固定化酶传感器主要是电化学酶电极,其技术发展经历了 3 个阶段,即以氧为中继体的电催化、基于人造媒介体的电催化和直接电催化,通常称为第一代、第二代和第三代生物传感器。近年来研究工作主要是基于第三代生物传感器的固定化酶技术、载体选择和各种高新技术在酶传感器中的应用等方面<sup>[7]</sup>。特别是纳米技术和各种形式的有机或无机纳米材料、导电聚合物等在固定化酶中的研究方面取得了新的进展。

第三代酶传感器就是利用合适的接合剂,将酶共价键合到化学修饰电极上,或将酶固定到多孔电聚合物修饰电极上,使酶氧化还原活性中心与电极接近,解决酶与电极之间电子传递效率问题。酶固定化方法和所用材料包括自组装技术、溶胶凝胶技术、有机导电聚合物膜、有机导电复合材料膜、金属纳米颗粒或金属和非金属纳米颗粒等。很多研究是将多种材料和方法的优化组合用于传感器的制备。

已有多种酶用于酶电极的制备,其中葡萄糖氧化酶(glucose oxidase, GOD)由于其价廉、稳定性高等优点而作为模型酶被广泛使用。其次是胆碱酯酶(乙酰胆碱酯酶, AchE),主要是围绕农药残留检测开展一些工作。另外,已建立双酶或多酶生物传感器的分析方法,如葡萄糖氧化酶、糖化酶、胆固醇酯酶、胆固醇氧化酶和过氧化氢酶等。

酶传感器研究所涉及到的酶主要为氧化还原酶、转移酶和水解酶三类中的成员。其中,氧化酶类催化的反应直接涉及底物的电子交换,因而更易于被电化学换能器感应。基于氧化酶构建的电流型生物传感器是目前固定化酶传感器中研究最广泛的一类。对于不易以电化学换能器感测的酶类,可以通过相应酶促反应的特点进行光学、热学等其他方式的定量检测,而通过构建双酶及多酶传感器将不同的酶种与能够产生明显电化学响应的酶进行偶联以构建电化学酶传感器也是一种优选策略<sup>[8-9]</sup>。

利用脱氢酶作为分子元件的生物传感器研究已成为一个新热点<sup>[10]</sup>。同氧化酶(如 GOD)相比,脱氢酶类除具有更广泛的底物这一优势外,作为其电催化中心的辅因子(一般为  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  或  $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ )并不被酶蛋白的结构域深入包裹,为设计电子传递效率更高的直接酶电极提供了天然的便利条件。目前已有多种脱氢酶得到分离纯化,并应用于固定化酶电极的开发中<sup>[11]</sup>。将脱氢酶在微生物细胞上进行表面展示,可将不同的酶以融合蛋白的形式于微生物体表面进行有效表达。该方法对酶传感器的固定化及生物电池的开发均有很好的借鉴意义<sup>[12-13]</sup>。然而,辅因子的固定化及有效再生等依然是较难克服的问题<sup>[14]</sup>。将辅因子高分子化是当前研究中较常见且较有前景的解决方案之一。刘瀑等<sup>[15]</sup>以聚乙二醇作为分子骨架  $\text{NAD}^+$  与二茂铁衍生物共同键合于其上,形成具有催化活性的高分子化辅酶,并获得了有效的脱氢酶电响应信号。

二十世纪初的近十年左右的时间里,多种新型材料如碳纳米管、石墨烯、纳米金属材料、导电聚合物、分支聚合物和离子液体等,已作为构建固定化酶生物传感器的功能性组件被广泛运用。应用不同种类的新型材料进行优化组合及对新材料的设计、改造以制备更符合传感器性能要求的材料已成趋势。表 3 中列出部分酶传感器研究中所涉及到的酶种类、固定化方法、检测技术及其应用领域。

除提高传感器的传感性能外,一些新材料的应用还有助于提高固定化酶制剂的稳定性、活性等重要参数。肖福兵等<sup>[20]</sup>通过海藻酸钠与石墨烯制成混合物制成修饰电极后将辣根过氧化物酶(HRP)通过较温和的催化反应共价键合于凝胶膜界面制成  $\text{H}_2\text{O}_2$  敏感的酶电极。实验证明,固定化后的酶性能稳定,且获得了较低的米氏常数。杨大威等<sup>[18]</sup>应用石英晶体微天平(QCM)技术、恒电位检测及循环伏安检测等技术研究了葡萄糖氧化酶(GOD)在不同纳米材料构建的界面上的电化学行为,同时为研究酶在传感界面上的吸附效果及吸附后活性保留情况提供了一种研究思路。

为向酶传感器的自动化生产及批量化制备迈进,材料的开发需要同传感器加工工艺要求相结合进行设计、改良。迄今已有多种形式的固定化酶传感器加工制作技术受到研究者的广泛关注,有的已实际应用,如

膜工艺<sup>[34]</sup>、印刷电子技术<sup>[35]</sup>和微流控技术<sup>[32,36]</sup>等。这些方法在不同形式及加工精密度的酶传感器的批量制备方面极具开发应用前景。因此,研制能够同已有技术相匹配的新型材料应作为今后固定化酶传感器研究中的一项重要任务。

表3 部分较具代表性的酶传感器研究

Table 1 Part representative research on enzyme biosensors

酶及其底物	酶固定化方法	换能器及检测技术	应用领域	文献
葡萄糖氧化酶; 葡萄糖	共价键合	Nafion-氧化石墨烯复合膜修饰电极; 电分析	医疗诊断	[16]
葡萄糖氧化酶; 葡萄糖	物理包埋; 物理吸附	磁性纳米材料/碳纳米管/壳聚糖复合膜修饰电极; 电分析	医疗诊断	[17]
葡萄糖氧化酶; 葡萄糖	物理吸附	金属纳米粒子-碳纳米管修饰电极; 电分析	医疗诊断	[18]
乙醇脱氢酶; 乙醇	非固定化酶	辅酶高分子化的介体型修饰电极; 电分析	发酵与食品成分分析	[15]
乙醇脱氢酶; 乙醇	物理吸附	介体型金属纳米粒子饰一次性丝网印刷电极片; 电分析	医疗诊断	[19]
氧化还原酶类( EC. 1) 辣根过氧化物酶; 过氧化氢	共价键合	石墨烯-凝胶膜修饰电极; 电分析	医疗诊断; 发酵与食品成分分析	[20]
尿酸酶; 尿酸	化学交联; 物理包埋	凝胶膜修饰电极; 电分析	环境监测	[21]
黄嘌呤氧化酶; 黄嘌呤、次黄嘌呤	非固定化酶	光分析 双金属纳米粒子和壳聚糖/二氧化硅溶胶-凝胶杂化膜修饰电极; 电分析	食品卫生 环境监测	[22] [23]
漆酶; 邻苯二酚	物理包埋; 物理吸附	微电极; 流动注射分析	环境监测	[24]
酪氨酸酶; 邻苯二、4-氯苯酚	共吸附	Nafion-碳纳米管复合膜修饰电极; 电分析	发酵与食品成分分析	[12]
葡萄糖脱氢酶-冰核蛋白融合酶; 葡萄糖	物理吸附	Nafion-碳纳米管复合膜修饰电极; 电分析	发酵与食品成分分析	[13]
木糖脱氢酶-冰核蛋白融合酶; 木糖	物理吸附	双酶型过氧化氢电极; 电分析	发酵与食品成分分析	[8]
转移酶类( EC. 2) 核苷酸磷酸化酶; 肌苷	化学交联	离子液体-石墨烯-壳聚糖复合物膜修饰电极; 电分析	毒物分析	[25]
乙酰胆碱酯酶; 毒死蜱农药	物理吸附	壳聚糖-功能化碳纳米管修饰电极; 电分析	毒物分析	[26]
乙酰胆碱酯酶; 异丙威	物理包埋; 物理吸附	猪脑膜包被 pH 电极; 电分析	环境监测; 毒物分析	[27]
乙酰胆碱酯酶; 氯化乙酰胆碱	非固定化酶	合金纳米线阵; 电分析	毒物分析	[28]
乙酰胆碱酯酶; 辛硫磷	物理包埋; 物理吸附	碳纳米管修饰电极	发酵与食品成分分析; 生物能源	[29]
水解酶类( EC. 3) 葡糖淀粉酶; 淀粉	化学交联	铵离子选择性电极; 电分析	发酵与食品成分分析	[30]
脲酶; 尿素	物理包埋; 化学交联	离子液体-碳纳米管修饰电极; 电分析	环境监测	[31]
碱性磷酸酶; 对硝基苯酚	物理吸附	微流控芯片; 电分析	医疗卫生	[32]
$\beta$ -葡萄糖醛酸酶	物理包埋	热分析	食品卫生	[33]
$\beta$ -Lactamase; 青霉素 G	非固定化酶			

### 3 未来发展重点和方向

目前,我国在生物传感器研究队伍和技术水平方面都进入了国际先进行列。但由于生物活性单元具有不稳定性和易变性等缺点,使生物传感器的稳定性和重现性较差。而大量的研究工作仅限于对方法学的初步尝试,离实现生物传感器的商品化要求差距较大。如何将大量的方法学研究成果转化成实际应用产品,实现我国从生物传感器研究大国向生物传感器制造强国的转变,是今后我国生物传感器技术发展的重点,因此,建议加强以下几个方面的工作:

#### (1) 酶分子元件的研究与开发

酶是传感器的核心元件,酶的类型和质量决定了生物传感器的性能和应用范围。在酶电极分析领域,以共价结合黄素蛋白为辅酶、用氧气作为电子受体的氧化酶传感器性能最稳定,这类酶是最优良的生物元件来源。存在的问题是可用的试剂酶种类缺乏,远远不能满足需求,并且大部分商品化酶的来源依赖国外公司。虽然有些研究采用了自制酶,但离实用性要求相差甚远。理论上(已知蛋白序列和特性)可用于传感器的这类氧化酶有 30 种左右,但我国有关的研究和开发工作较少,分析酶制备技术及产业发展严重滞后。

脱氢酶使用辅酶烟酰胺腺嘌呤二核苷酸( $\text{NAD}^+$ )或烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸( $\text{NADP}^+$ )作为生物催化反应中氢和电子的传递体,因此,可以构建脱氢酶电学生物传感器。自然界中已发现的脱氢酶超过 400 种,这对开拓生物传感器酶源具有重要的意义。然而,辅酶的再生、电极的中毒等技术问题仍没有较好地解决,要形成稳定的生物传感分析仪器面临很大困难<sup>[10]</sup>。

#### (2) 酶分子器件的标准化

将酶分子固定在载体膜或电极表面,构建具有高效仿生催化功能的分析器件是生物传感器关键技术之一。生物传感器选用的载体可供酶固定的面积非常小,如固定化酶膜面积不到一个平方厘米,微型生物器件有效固定面积为微米或亚微米,这就要求酶经过固定后必须有较高的剩余活力,且能持久高效地保持其活性状态,这涉及固定化酶沉淀密度(酶量和分布)和空间趋向两个关键技术问题。因此,需要研究酶分子定向设计和改造技术,获得有利于空间取向的酶分子元件;根据介质材料特异性结合蛋白的特性,构建亲和性重组酶蛋白,实现酶分子元件均匀、高密度的固定;对于多酶催化体系,可以构建顺序酶电极。日渐成熟的微机电系统(micro-electro-mechanical systems, MEMS)技术使生物微机电系统(BioMEMS)得以迅速发展,为开发生物传感器分子器件提供了新的思路<sup>[37]</sup>。在此基础上,建立标准化操作工艺和质量控制体系,使分子器件具有良好均质性、高效和稳定的酶化学和电化学(换能器)催化活性,就可以实现生物器件的商品化应用。

#### (3) 生物传感分析仪器制造技术的研发

生物传感器是一门新型学科,产品制造涉及生物学、电子学、材料学和精密机械加工等多方面技术,是一个系统的工程。同其他经典的分析仪器相比,其制造技术仍处于探索阶段,缺乏专业的加工工艺和制造装备,因此,应加强生物传感器专业技术人才的培养和系统制造工艺及专用设备的研发。注重多学科交叉特点,加强薄膜制造<sup>[38]</sup>、微纳仿生等技术在生物器件制造中的应用<sup>[39]</sup>;研究酶分子器件生物催化反应所需的微反应器的设计理论和方法,包括结构特点、几何特性、传递特性和流动特性、温度、pH 值、底物混合、扩散、传递、停留时间、电极信号产生的规律和特点等。

#### (4) 传感器集成与在线检测技术的发展

生物传感器检测技术的优势是特异性好,可在复杂样品中对特定组分进行快速检测。但这一优势也限制了生物传感器的应用范围,使得生物传感器市场小、经济效益不高。解决这一问题的途径就是发展传感器集成和在线检测技术。针对某个领域检测指标的需求,将物理、化学传感器集成,形成专用的多指标分析仪器。针对流程工业对生产过程控制的需求,建立在线检测技术,可以对现有生产工艺和控制系统进行升级改造,提高生产效率和产品质量。由此扩展生物传感器应用市场,提高经济效益,加快培育和推动生物传感器产业的发展。

## 4 结论

目前,我国生物传感器领域研究十分活跃,研究队伍不断壮大,在基础研究中已经积累了大量材料学、方法学等方面的成果,这为我国研制生物传感分析仪器奠定了良好基础。为加快生物传感器的产业化进程,要加强学科间交流与有效合作,将仪器开发和应用各环节与整机开发有机衔接,进一步开展生物传感器分析系统设计的相关理论、关键部件研制和工程化开发技术。面向科学研究和市场需求,突破系统制造核心瓶颈技术,取得自主知识产权,制定出工程技术规程和质量控制体系,形成自动化、智能化和集成化的分析产品。作为我国科学仪器产业的重要突破口,生物传感器将在个体化医疗、大数据科学、智能手机和工业控制等领域开辟广阔的应用市场,为提升我国科学仪器产业化水平和国际竞争力做出重要的贡献。

## 参考文献:

- [1]伍林,曹淑超,易德莲,等. 酶生物传感器的研究进展[J]. 传感器技术, 2005, 24(7): 4-6.
- [2]韩雪清,杨泽晓,林祥梅. 极具应用前景的生物学检测技术——生物传感器[J]. 中国生物工程杂志, 2008, 28(5): 141-147.
- [3]赵晓华,孟庆军,毕春元,等. 葡萄糖生物传感器研究进展[J]. 山东科学, 2009, 22(2): 34-38.
- [4]张先恩. 生物传感器[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [5]CLARK L C Jr, LYONS C. Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery [J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 1962, 102: 29-45.
- [6]UPDIKE S J, HICKS G P. The enzyme electrode [J]. Nature, 1967, 214(5092): 986-988.
- [7]梁争喜,陈才和,刘杰,等. 多参数血液分析型生物传感器的研究[J]. 传感技术学报, 2006, 19(1): 60-63.
- [8]刘金玉,史建国,马耀宏,等. 酶电极法测定肌苷发酵液中肌苷含量[J]. 实用医药杂志, 2013, 30(9): 822-824.
- [9]宋海琼,庞广昌,李家鹏. 不同载体固定化 GOD-GAL 双酶乳糖生物传感器核微孔膜的研究[J]. 食品科学, 2009, 30(17): 239-243.
- [10]郑晖,李秋顺,高广恒,等. 脱氢酶生物传感器研究关键技术与进展[J]. 中国生物工程杂志, 2010, 30(9): 118-123.
- [11]李一苇,陈燕,马耀宏,等. 基于碳纳米管修饰电极的脱氢酶传感器研究进展[J]. 分析化学, 2014, 42(5): 759-765.
- [12]LIANG B, LI L, TANG X J, et al. Microbial surface display of glucose dehydrogenase for amperometric glucose biosensor [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2013, 45: 19-24.
- [13]LI L, LIAN G B, SHI J G, et al. A selective and sensitive D-xylose electrochemical biosensor based on xylose dehydrogenase displayed on the surface of bacteria and multi-walled carbon nanotubes modified electrode [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2012, 33: 100-105.
- [14]周敬丽,聂萍萍,郑海涛,等. 脱氢酶电化学生物传感器的研究进展[J]. 分析化学, 2009, 37(4): 617-623.
- [15]刘瀑,陈婧,郑海涛,等. 基于高分子化辅酶的脱氢酶修饰碳糊电极[J]. 辽宁化工, 2011, 40(6): 552-554.
- [16]任群翔,孙莹莹,封丽,等. Nafion-氧化石墨烯复合物和硫堇构建葡萄糖生物传感器的研究[J]. 化学研究与应用, 2014, 26(5): 647-651.
- [17]彭花萍,查代君,黄郑隽,等. 二茂铁功能化  $Fe_3O_4$ /碳纳米管/壳聚糖复合膜葡萄糖生物传感电极的研究[J]. 电化学, 2014, 20(1): 33-38.
- [18]杨大威,陈超,谢青季,等. 纳米材料修饰电极上吸附态葡萄糖氧化酶的酶活性和电活性的比较[J]. 物理化学学报, 2013, 29(8): 1727-1734.
- [19]陈珠丽,郭希山,朱松明. 基于纳米金修饰丝网印刷电极的乙醇生物传感器[J]. 传感技术学报, 2009, 22(12): 1686-1689.
- [20]肖福兵,杨欣,田锐,等. 基于石墨烯-海藻酸钠复合材料的辣根过氧化物酶传感器研究[J]. 化学传感器, 2014, 34(1): 57-63.

- [21]曹淑超. 交联于膜上的纳米颗粒增强的尿酸酶生物传感器[J]. 仪表技术与传感器 2014, 7: 18-20.
- [22]奚春蕊,包海蓉,刘琴,等. 基于金枪鱼K值变化的MTT快速传感器的研究及响应面设计[J]. 食品工业科技 2013, 34(12): 131-136.
- [23]娄童芳,屈建莹,邢欢欢,等. Pt/Au双金属纳米粒子和壳聚糖/二氧化硅溶胶-凝胶杂化膜漆酶传感电极的邻苯二酚检测[J]. 电化学. 2014, 20(2): 177-183.
- [24]张志强,雷蕾,王涛,等. 吡啶橙诱导酪氨酸酶构筑酚类碳毡传感器及电化学行为[J]. 辽宁科技大学学报 2014, 37(1): 1-9.
- [25]郑莹莹,刘志敏,李婕,等. AChE/IL-GR/CHI/GCE结构酶电极的研制及其对毒死蜱农药的检测[J]. 传感技术学报, 2014, 27(4): 426-431.
- [26]郭明,梁东军,谭贤. 农药残留检测用新型碳纳米管固载酶生物传感器的制备及其电学传感性能分析[J]. 农药学学报, 2014, 16(3): 319-329.
- [27]何洁,肖丹,袁红雁. 基于猪脑膜的乙酰胆碱酯酶电化学生物传感器的研究及其应用[J]. 化学研究与应用. 2014, 26(6): 848-854.
- [28]常艳兵,杨晓丽,何琼. 铂钴合金修饰的乙酰胆碱酯酶生物传感器的研制[J]. 云南化工 2013, 40(4): 1-5.
- [29]马力辉,孙辉,齐明君,等. 酶电极法测定发酵酒中尿素的含量[J]. 现代食品科技 2013, 29(9): 2258-2312.
- [30]LANG Q L, YIN L, SHI J G, et al. Co-immobilization of glucoamylase and glucose oxidase for electrochemical sequential enzyme electrode for starch biosensor and biofuel cell[J]. Biosensors and Bioelectronics 2014, 51: 158-163.
- [31]茹柿平,吴坚,应义斌,等. 基于离子液体修饰碳纳米管电极的碱性磷酸酶电化学检测[J]. 分析化学 2012, 40(6): 835-840.
- [32]陈斌. 固定化酶阵列微流控芯片应用于药物代谢筛选的研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2007.
- [33]周爽,马兰,赵馨,等. 酸奶中 $\beta$ -内酰胺酶的快速检测方法[J]. 中国卫生工程学 2013, 12(3): 231-236.
- [34]宋海琼,庞广昌,李家鹏. 不同载体固定化GOD-GAL双酶乳糖生物传感器核微孔膜的研究[J]. 食品科学 2009, 30(17): 239-243.
- [35]李祥高,吴宪,王世荣. 印刷电子技术在生物传感器中的应用[J]. 中国材料进展 2014, 33(3): 156-162.
- [36]李丽,张云,郁彩虹,等. 阵列生物传感器研究进展[J]. 现代生物医学进展 2011, 11(1): 187-189.
- [37]石强,桑胜波,奉辉,等. 薄膜电容式表面应力生物传感器设计与优化[J]. 电子元件与材料 2013, 32(10): 62-65.
- [38]陈国荣,刘晓萌,莫晓亮. 薄膜制备技术基础[M]. 北京: 化工工业出版社 2009.
- [39]顾长志,等. 微纳加工及在纳米材料与器件研究中的应用[M]. 北京: 科学出版社 2013.