



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109264709 A

(43)申请公布日 2019.01.25

(21)申请号 201811019777.7

(22)申请日 2018.09.03

(71)申请人 浙江理工大学

地址 310018 浙江省杭州市下沙高教园区2
号大街浙江理工大学

(72)发明人 万军民 吕思佳 胡智文 王秉
彭志勤

(74)专利代理机构 嘉兴永航专利代理事务所
(普通合伙) 33265

代理人 侯兰玉

(51)Int.Cl.

C01B 32/198(2017.01)

A61B 5/145(2006.01)

B82Y 15/00(2011.01)

权利要求书2页 说明书7页

(54)发明名称

一种氧化石墨烯修饰的可植入生物传感器的
制备方法

(57)摘要

本发明涉及传感器领域,公开了一种氧化石墨烯修饰的可植入生物传感器的制备方法,本发明通过提取丝素蛋白并提纯,并将其与聚苯乙烯-马来酸酐共聚物共混改性,以改性丝素蛋白共混物为基底,使用纳米金测量电极作为导电电极,用电子束冷沉淀蒸发器沉积到基底上,并在基底上均匀生长氧化锌纳米棒,采用电化学沉积法制备氧化锌纳米棒,此外,在氧化锌纳米棒外层覆以氧化石墨烯加以修饰,可以增强材料的生物相容性,促使其在体内更好的发挥作用,本发明传感器与传统传感器相比具有更加优异的检测性能。本发明传感器柔性好,可应用于医疗生物监测,环境和卫生监测等领域。

1. 一种氧化石墨烯修饰的可植入生物传感器的制备方法,其特征在于包括如下步骤:

(1) 生物电化学基底的制备:将生丝浸入碳酸氢钠水溶液中,煮沸30-60分钟,并用去离子水冲洗干净;将获得的脱胶丝在80-100℃搅拌下溶解在氯化钙/乙醇水溶液体系中;随后,用微孔过滤器过滤所获得的均匀溶液,使用透析管透析,并在零下40-80℃冷冻干燥24-36小时以获得丝素蛋白薄膜;将丝素蛋白薄膜溶解在六氟异丙醇溶液中,在室温下风干12-18小时,得到丝素蛋白;

(2) 丝素蛋白膜的共混改性:按质量比7:80-100称取聚苯乙烯-马来酸酐共聚物和丝素蛋白,先将聚苯乙烯-马来酸酐共聚物和丝素蛋白溶于硫氰酸钾水溶液中,再加入3-7wt%的氢氧化钠溶液,于80-100℃下搅拌混合,冷却到室温后,在零下35-40℃静置脱泡4-6h,室温下置于玻璃板上刮膜,再将其置入凝固浴中固化成型,制得改性丝素蛋白膜;

(3) 纳米金导电电极的制备:纳米金测量电极使用电子束冷沉淀蒸发器沉积到改性丝素蛋白膜中,裁剪后得到纳米金导电电极;

(4) 氧化锌纳米棒阵列的制备:使用电化学沉积法,采用二电极体系,取硝酸锌溶液作为电解液置于水浴锅中恒温70-80℃,将切好的锌箔和纳米金导电电极分别作为电沉积的阳极和阴极接入电路进行电沉积,沉积结束后,将纳米金导电电极取出洗净烘干,得到氧化锌纳米棒阵列;

(5) 氧化石墨烯的制备:将1.0-2.0g天然石墨和1.0-2.0g 硝酸钠缓慢加入到46-56ml浓硫酸溶液中,在冰水浴中持续搅拌10-20分钟,然后将8.0-10.0g的高锰酸钾加入到上述体系中,变为紫色混合溶液后在水浴中搅拌80-100分钟,再缓慢加入96-110ml的去离子水进行稀释,持续搅拌15-30分钟;然后缓慢加入24-50ml双氧水溶液后变为金棕色溶胶,加入50-60ml去离子水后离心,取沉淀物用去离子水不断洗涤至澄清液为中性,最后将产物放在真空环境下保持24-36h,得到氧化石墨烯;

(6) 氧化石墨烯修饰的氧化锌纳米棒阵列的制备:将氧化石墨烯在8-10mL去离子水中超声处理10-20分钟,加入5-6mL聚乙二醇溶液,搅拌30-40分钟后将氧化锌纳米棒阵列浸入,在80-100℃的水浴中反应4-6h,取出在60-80℃下干燥,得到氧化石墨烯修饰的氧化锌纳米棒阵列;

(7) 生物传感器的制备:

将10-15mmol二硫代[琥珀酰亚胺丙酸酯]稀释在3-5μL二甲基亚砷中,孵育2-3小时后在氧化锌纳米棒阵列表面上官能化;配制3-5μL浓度为10-15μg/mL的α-葡萄糖氧化酶抗体并孵育15-20分钟,将葡萄糖氧化酶分子固定在α-葡萄糖氧化酶抗体上,并在氧化石墨烯修饰的氧化锌纳米棒阵列表面上官能化;然后配制3-5μL浓度为10-15μg/mL的皮质醇抗体并孵育15-20分钟,将皮质醇抗原分子固定在皮质醇抗体上,并在氧化石墨烯修饰的氧化锌纳米棒阵列表面上官能化,得到可植入的生物传感器。

2. 如权利要求1所述的一种氧化石墨烯修饰的可植入生物传感器的制备方法,其特征在于,步骤(1)中,所述碳酸氢钠水溶液的浓度为5-20wt%;所述氯化钙/乙醇水溶液体系的氯化钙和乙醇的摩尔比为1:2,氯化钙/乙醇水溶液体系的总摩尔浓度为1.8-2mol/L;所述六氟异丙醇溶液的浓度为1-2g/mL。

3. 如权利要求1所述的一种氧化石墨烯修饰的可植入生物传感器的制备方法,其特征在于,步骤(1)中,微孔过滤器的规格为0.22-0.24μm,透析管的规格为3.5k分子量截留值。

4.如权利要求1所述的一种氧化石墨烯修饰的可植入生物传感器的制备方法,其特征在于,步骤(2)中,所述硫氰酸钾水溶液的质量分数为35-40wt%。

5.如权利要求1所述的一种氧化石墨烯修饰的可植入生物传感器的制备方法,其特征在于,步骤(4)中,所述硝酸锌溶液的浓度为0.002-0.2M。

6.如权利要求1所述的一种氧化石墨烯修饰的可植入生物传感器的制备方法,其特征在于,步骤(4)中,电化学沉积过程中控制电流为0.9-1.1mA,沉积开始4-6h后电化学沉积结束。

7.如权利要求1所述的一种氧化石墨烯修饰的可植入生物传感器的制备方法,其特征在于,步骤(5)中,所述浓硫酸溶液的浓度为18.4M,双氧水溶液的浓度为10M。

8.如权利要求1所述的一种氧化石墨烯修饰的可植入生物传感器的制备方法,其特征在于,步骤(5)中,水浴温度为400-550℃;离心转速为8000-10000转。

9.如权利要求1所述的一种氧化石墨烯修饰的可植入生物传感器的制备方法,其特征在于,步骤(6)中,所述聚乙二醇溶液的浓度为1.5M。

10.如权利要求1所述的一种氧化石墨烯修饰的可植入生物传感器的制备方法,其特征在于,步骤(7)中,所述二甲基亚砷的浓度为5-6 μ g/ mL。

一种氧化石墨烯修饰的可植入生物传感器的制备方法

[0001]

技术领域

[0002] 本发明涉及传感器领域,尤其涉及一种氧化石墨烯修饰的可植入生物传感器的制备方法。

[0003]

背景技术

[0004] 传感器是人类自身对自然界各种感觉信息的探知,能够对不同信号和感知信息转化为可数字化、智能化的重要器件。在人类文明信息技术高速发展的过程中,传感器起到了越来越重的作用,是人类探索未知世界,同时也是人类了解现实世界,观察周边信息的重要手段之一。传感器是一种能把电、光、温度以及化学作用等非电学信号转化为电学信号的可调控的元器件。

[0005] 氧化锌的压电性能可应用于表面声波器件、体声波器件、声光器件和短波半导体二极管。当氧化锌掺杂过渡金属或稀土金属时可表现出铁电性能,同时氧化锌还具有热电效应和化学传感特性,可用于传感器和探测器,另外,氧化锌纳米棒凭借其优异性能,在传感器领域的具有广泛的应用前景。

[0006] 可植入医疗电子器件的需求越来越多,对其工作性能要求也越来越高。现有可植入医疗电子器件不能满足长期的体内植入对可植入医疗器件的体积、稳定性和生物相容性的高要求,此类可植入传感器在实际使用过程长常出现发热、容量减小及内部变性等问题。一旦此类电源达到使用寿命,病人不得不接受二次手术将其从体内取出,该过程会对病人心理及经济带来极大负担。因此,急需开发一种新的电源给植入式电子器件供能,为解决上述问题提供可行的方案。

[0007]

发明内容

[0008] 为了解决上述技术问题,本发明提供了一种氧化石墨烯修饰的可植入生物传感器的制备方法。本发通过提取生丝中的丝素蛋白并提纯,并将其用聚苯乙烯-马来酸酐共聚物进行共混改性,以改性后的丝素蛋白共混物为基底,使用纳米金测量电极作为导电电极,用电子束冷沉淀蒸发器沉积到固体SF基底上,并在基底上均匀生长氧化锌纳米棒,采用电化学沉积法制备氧化锌纳米棒。此外,在氧化锌纳米棒外层覆以氧化石墨烯加以修饰,可以增强材料的生物相容性,促使其在体内更好的发挥作用,此传感器的捕获探针是分别与葡萄糖氧化酶分子和皮质醇抗原分子结合的单克隆葡萄糖氧化酶和皮质醇抗体,分别在氧化锌的表面进行官能化,得到一种可植入生物传感器,与传统传感器相比具有更加优异的检测性能。

[0009] 本发明的具体技术方案为:一种氧化石墨烯修饰的可植入生物传感器的制备方法,包括如下步骤:

(1) 生物电化学基底的制备: 将生丝浸入碳酸氢钠水溶液中, 煮沸30-60分钟, 并用去离子水冲洗干净; 将获得的脱胶丝在80-100℃搅拌下溶解在氯化钙/乙醇水溶液体系中; 随后, 用微孔过滤器过滤所获得的均匀溶液, 使用透析管透析, 并在零下40-80℃冷冻干燥24-36小时以获得丝素蛋白薄膜; 将丝素蛋白薄膜溶解在六氟异丙醇溶液中, 在室温下风干12-18小时, 得到丝素蛋白。

[0010] 蚕丝蛋白是从蚕丝中提取的天然高分子纤维蛋白, 本身具有良好的机械性能和理化性能, 如良好的柔韧性和抗拉伸强度、透气透湿性、缓释性等, 作为一种生物基底, 在完成既定任务之后, 可被生物体自行降解吸收, 避免二次处理。

[0011] (2) 丝素蛋白膜的共混改性: 按质量比7:80-100称取聚苯乙烯-马来酸酐共聚物和丝素蛋白, 先将聚苯乙烯-马来酸酐共聚物和丝素蛋白溶于硫氰酸钾水溶液中, 再加入3-7wt%的氢氧化钠溶液, 于80-100℃下搅拌混合, 冷却到室温后, 在零下35-40℃静置脱泡4-6h, 室温下置于玻璃板上刮膜, 再将其置入凝固浴中固化成型, 制得改性丝素蛋白膜。

[0012] 丝素蛋白膜有一定的缺陷, 如致密无孔, 支撑性差等, 限制了它的应用, 本发明将其与聚合物共混制备多孔膜, 改善丝素蛋白膜的不足, 改性后的共混膜具有优良的成膜性、生物相容性, 是一种较理想的制膜材料。

[0013] (3) 纳米金导电电极的制备: 纳米金测量电极使用电子束冷沉淀蒸发器沉积到改性丝素蛋白膜中, 裁剪后得到纳米金导电电极。

[0014] 纳米金因具有比表面积大, 表面反应活性高、独特的催化性能等优良特性。纳米金的制备方法一般采用液相还原法, 通常把合适的还原剂如柠檬酸钠、硼氢化物加入到反应液中, 通过还原四氯金酸得到纳米金, 在这些方法中, 为避免纳米金颗粒的团聚, 通常在制备过程中需加入高分子表面还原剂、稳定剂进行保护, 这些保护剂吸附在粒子表面, 通过静电作用或空间位阻的作用避免了粒子间的直接接触, 使胶体粒子能稳定的存在于溶剂中, 然而表面活性剂、稳定剂通常导电性差, 对催化剂的影响很大, 有些会导致金活性降低甚至丧失催化活性。而采用本发明上述方可则可有效解决上述技术问题。

[0015] (4) 氧化锌纳米棒阵列的制备: 使用电化学沉积法, 采用二电极体系, 取硝酸锌溶液作为电解液置于水浴锅中恒温70-80℃, 将切好的锌箔和纳米金导电电极分别作为电沉积的阳极和阴极接入电路进行电沉积, 沉积结束后, 将纳米金导电电极取出洗净烘干, 得到氧化锌纳米棒阵列。

[0016] 电沉积是指金属或合金从其化合物水溶液、非水溶液或熔盐中电化学沉积的过程。金属电沉积的难易程度以及沉积物的形态与沉积金属的性质有关, 也依赖于电解质的组成、pH值、温度、电流密度等因素。

[0017] (5) 氧化石墨烯的制备: 将1.0-2.0g天然石墨和1.0-2.0g 硝酸钠缓慢加入到46-56ml浓硫酸溶液中, 在冰水浴中持续搅拌10-20分钟, 然后将8.0-10.0g的高锰酸钾加入到上述体系中, 变为紫色混合溶液后在水浴中搅拌80-100分钟, 再缓慢加入96-110ml的去离子水进行稀释, 持续搅拌15-30分钟; 然后缓慢加入24-50ml双氧水溶液后变为金棕色溶胶, 加入50-60ml去离子水后离心, 取沉淀物用去离子水不断洗涤至澄清液为中性, 最后将产物放在真空环境下保持24-36h, 得到氧化石墨烯。

[0018] 氧化石墨烯是石墨烯衍生物, 本发明使用改进的Hummers法制备, 氧化石墨烯的结构与石墨烯的结构很相似, 不同的是氧化石墨烯表面引入了丰富的-OH、-O-、C=O等含氧基

团,边缘引入了-COOH基团,氧化石墨烯表面的这些官能团有利于对其通过共价键进行功能化修饰。

[0019] (6)氧化石墨烯修饰的氧化锌纳米棒阵列的制备:将氧化石墨烯在8-10mL去离子水中超声处理10-20分钟,加入5-6mL聚乙二醇溶液,搅拌30-40分钟后将氧化锌纳米棒阵列浸入,在80-100℃的水浴中反应4-6h,取出在60-80℃下干燥,得到氧化石墨烯修饰的氧化锌纳米棒阵列;

(7)生物传感器的制备:将10-15mmol二硫代[琥珀酰亚胺丙酸酯]稀释在3-5μL二甲基亚砷中,孵育2-3小时后在氧化锌纳米棒阵列表面上官能化;配制3-5μL浓度为10-15μg/mL的α-葡萄糖氧化酶抗体并孵育15-20分钟,将葡萄糖氧化酶分子固定在α-葡萄糖氧化酶抗体上,并在氧化石墨烯修饰的氧化锌纳米棒阵列表面上官能化;然后配制3-5μL浓度为10-15μg/mL的皮质醇抗体并孵育15-20分钟,将皮质醇抗原分子固定在皮质醇抗体上,并在氧化石墨烯修饰的氧化锌纳米棒阵列表面上官能化,得到可植入的生物传感器。

[0020] 本发明以与葡萄糖氧化酶分子结合的单克隆葡萄糖氧化酶和与皮质醇抗原分子结合的皮质醇抗体为捕获探针。捕获探针是指分子生物学和生物化学实验中用于指示特定物质(如核酸、蛋白质、细胞结构等)的性质或物理状态的一类标记分子,在本发明中,作为探针的葡萄糖氧化酶和皮质醇抗体可以检测到体内的葡萄糖分子和皮质醇分子,通过信息传送到外部的智能器件上进行信息转换,以此来判断人体内的葡萄糖浓度的高低,因此可植入的生物传感器可用于人体健康监测。

[0021] 作为优选,步骤(1)中,所述碳酸氢钠水溶液的浓度为5-20wt%;所述氯化钙/乙醇水溶液体系的氯化钙和乙醇的摩尔比为1:2,氯化钙/乙醇水溶液体系的总摩尔浓度为1.8-2mol/L;所述六氟异丙醇溶液的浓度为1-2g/mL。

[0022] 作为优选,步骤(1)中,微孔过滤器的规格为0.22-0.24μm,透析管的规格为3.5k分子量截留值。

[0023] 作为优选,步骤(2)中,所述硫氰酸钾水溶液的质量分数为35-40wt%。

[0024] 作为优选,步骤(4)中,所述硝酸锌溶液的浓度为0.002-0.2M。

[0025] 作为优选,步骤(4)中,电化学沉积过程中控制电流为0.9-1.1mA,沉积开始4-6h后电化学沉积结束。

[0026] 作为优选,步骤(5)中,所述浓硫酸溶液的浓度为18.4M,双氧水溶液的浓度为10M。

[0027] 作为优选,步骤(5)中,水浴温度为400-550℃;离心转速为8000-10000转。

[0028] 作为优选,步骤(6)中,所述聚乙二醇溶液的浓度为1.5M。

[0029] 作为优选,步骤(7)中,所述二甲基亚砷的浓度为5-6μg/mL。

[0030] 与现有技术对比,本发明的有益效果是:

1、本发明以生物材料为基底,提取丝素蛋白并提纯,本身具有良好的机械性能和理化性能,如良好的柔韧性和抗拉伸强度、透气透湿性、缓释性等,并且将其用聚苯乙烯-马来酐共聚物进行共混改性,生物相容性提高,具有更优良的成膜性,作为一种生物基底,在完成既定任务之后,可被生物体自行降解吸收,避免二次处理。

[0031] 2、将纳米金作为导电电极,通过电化学沉积法沉积氧化锌纳米棒,有优异的铁电性能和化学传感特性,在传感器领域有广泛前景。

[0032] 3、在氧化锌纳米棒外层用氧化石墨烯加以修饰,氧化石墨烯的功能化基团可以增

强材料的生物相容性,促使其在体内更好的发挥作用。

[0033] 4、此生物传感器可植入人体内,并且有两种捕获探针,分别可以捕获葡萄糖分子和皮质醇分子,以此检测人体内葡萄糖浓度。

具体实施方式

[0034] 下面结合实施例对本发明作进一步的描述。

[0035] 实施例1

(1)生物电化学基底的制备:

提取丝织物中的丝素蛋白,将生丝浸入浓度为5wt%碳酸氢钠水溶液中,煮沸30分钟,并用200-400mL去离子水彻底冲洗。将获得的脱胶丝在80℃剧烈搅拌下溶解在氯化钙/乙醇水溶液体系中,氯化钙/乙醇水溶液体系的氯化钙和乙醇的摩尔比为1:2,氯化钙/乙醇水溶液体系的总摩尔浓度为1.8mol/L。随后,用微孔过滤器过滤所获得的均匀溶液,使用透析管对其透析,微孔过滤器的规格为0.22μm,透析管的规格为3.5k分子量截留值,并进一步在零下40℃冷冻干燥24小时以获得丝素蛋白薄膜。然后,将一定量的丝素蛋白薄膜溶解在六氟异丙醇溶液中,六氟异丙醇溶液的浓度为1g/mL,放入通风橱中,在室温下风干12小时。

[0036] (2)丝素蛋白膜的共混改性:

称取聚苯乙烯-马来酸酐共聚物7g和步骤(1)中得到的丝素蛋白90g,先将聚苯乙烯-马来酸酐共聚物和丝素蛋白溶于38%的硫氰酸钾水溶液中,再加入5mL的5%的氢氧化钠溶液,于80℃下搅拌混合,冷却到室温后,在零下35℃静置脱泡4h,室温下于玻璃板刮膜,再将其置入凝固浴中固化成型。

[0037] (3)纳米金导电电极的制备:

纳米金测量电极使用电子束冷沉淀蒸发器沉积到步骤(2)中所述的改性丝素蛋白膜中去。纳米金导电测量电极裁剪后的尺寸为2*8mm,覆盖后其未覆盖的尺寸为2*2mm。

[0038] (4)氧化锌纳米棒的制备:

使用电化学沉积法,采用二电极体系,取硝酸锌溶液作为电解液放置于水浴锅中恒温70℃,硝酸锌溶液的浓度为0.002M,将切好的锌箔和步骤(3)得到的纳米金导电电极分别作为电沉积的阳极和阴极接入电路进行电沉积,锌箔的大小为4*4mm,用去离子水 and 无水乙醇超声反复清洗3次。电化学沉积过程中控制电流0.9mA,沉积开始,4h后电化学沉积结束,沉积结束后,将纳米金导电电极取出用去离子水清洗干净烘干,即可得到氧化锌纳米棒阵列。

[0039] (5)氧化石墨烯的制备:1.0g天然石墨和1.0g 硝酸钠缓慢加入到46ml浓度为18.4M的浓硫酸溶液中,在冰水浴中持续搅拌10分钟,然后将8.0g的高锰酸钾加入到上述体系中,变为紫色混合溶液后在400℃水浴中搅拌80分钟,再缓慢加入96ml的去离子水进行稀释,持续搅拌15分钟。接着,缓慢加入24ml浓度为10M的双氧溶液后变为金棕色溶胶,加入50ml的去离子水后用的8000转离心机离心,取沉淀物用去离子水不断洗涤至澄清液为中性,最后将产物放在真空环境下保持24h。

[0040] (6)氧化石墨烯修饰的氧化锌纳米棒阵列的制备:将步骤(5)得到的氧化石墨烯在8mL的去离子水中超声处理10分钟,加入5mL浓度为1.5M的聚乙二醇溶液,搅拌30分钟后将步骤(4)得到的氧化锌纳米棒阵列浸入,在90℃的水浴锅中反应4h,之后取出在60℃的烘箱中干燥,得到氧化石墨烯修饰的氧化锌纳米棒阵列。

[0041] (7)生物传感器的制备:

捕获探针是分别与葡萄糖氧化酶分子和皮质醇抗原分子结合的单克隆葡萄糖氧化酶和皮质醇抗体,两种捕获探针分别发生作用。将10mmol二硫代[琥珀酰亚胺丙酸酯]稀释在3 μ L二甲基亚砜中,二甲基亚砜的浓度为5 μ g/mL。并孵育2小时后在氧化锌纳米棒阵列表面上官能化。10 μ g/mL的 α -葡萄糖氧化酶抗体配制3 μ L并孵育15分钟,将葡萄糖氧化酶分子固定在 α -葡萄糖氧化酶抗体,并在氧化石墨烯修饰的氧化锌纳米棒阵列表面上官能化;然后配制4 μ L浓度为12 μ g/mL的皮质醇抗体并孵育18分钟,将皮质醇抗原分子固定在皮质醇抗体上,并在氧化石墨烯修饰的氧化锌纳米棒阵列表面上官能化,得到可植入的生物传感器。

[0042] 实施例2

(1)生物电化学基底的制备:

提取丝织物中的丝素蛋白,将生丝浸入浓度为15wt%碳酸氢钠水溶液中,煮沸70分钟,并用150mL去离子水彻底冲洗。将获得的脱胶丝在100 $^{\circ}$ C剧烈搅拌下溶解在氯化钙/乙醇水溶液体系中,氯化钙/乙醇水溶液体系的氯化钙和乙醇的摩尔比为1:2,氯化钙/乙醇水溶液体系的总摩尔浓度为2mol/L。随后,用微孔过滤器过滤所获得的均匀溶液,使用透析管对其透析,微孔过滤器的规格为0.23 μ m,透析管的规格为3.5k分子量截留值,并进一步在零下80 $^{\circ}$ C冷冻干燥30小时以获得丝素蛋白薄膜。然后,将一定量的丝素蛋白薄膜溶解在六氟异丙醇溶液中,六氟异丙醇溶液的浓度为1g/mL,放入通风橱中,在室温下风干16小时。

[0043] (2)丝素蛋白膜的共混改性:

称取聚苯乙烯-马来酸酐共聚物7g和步骤(1)中得到的丝素蛋白90g,先将聚苯乙烯-马来酸酐共聚物和丝素蛋白溶于38%的硫氰酸钾水溶液中,再加入8mL的5%的氢氧化钠溶液,于90 $^{\circ}$ C下搅拌混合,冷却到室温后,在零下40 $^{\circ}$ C静置脱泡4h,室温下于玻璃板刮膜,再将其置入凝固浴中固化成型。

[0044] (3)纳米金导电电极的制备:

纳米金测量电极使用电子束冷沉淀蒸发器沉积到步骤(2)中所述的改性丝素蛋白膜中去。纳米金导电测量电极裁剪后的尺寸为2*8mm,覆盖后其未覆盖的尺寸为2*2mm。

[0045] (4)氧化锌纳米棒的制备:

使用电化学沉积法,采用二电极体系,取硝酸锌溶液作为电解液放置于水浴锅中恒温70 $^{\circ}$ C,硝酸锌溶液的浓度为0.008M,将切好的锌箔和步骤(3)得到的纳米金导电电极分别作为电沉积的阳极和阴极接入电路进行电沉积,锌箔的大小为4*4mm,用去离子水 and 无水乙醇超声反复清洗3次。电化学沉积过程中控制电流1.1mA,沉积开始,4h后电化学沉积结束,沉积结束后,将纳米金导电电极取出用去离子水清洗干净烘干,即可得到氧化锌纳米棒阵列。

[0046] (5)氧化石墨烯的制备:1g天然石墨和1.0g 硝酸钠缓慢加入到46ml浓度为18.4M的浓硫酸溶液中,在冰水浴中持续搅拌20分钟,然后将10.0g的高锰酸钾加入到上述体系中,变为紫色混合溶液后在400 $^{\circ}$ C水浴中搅拌80分钟,再缓慢加入110ml的去离子水进行稀释,持续搅拌15分钟。接着,缓慢加入24ml浓度为10M的双氧溶液后变为金棕色溶胶,加入50ml的去离子水后用的10000转离心机离心,取沉淀物用去离子水不断洗涤至澄清液为中性,最后将产物放在真空环境下保持36h。

[0047] (6)氧化石墨烯修饰的氧化锌纳米棒阵列的制备:将步骤(5)得到的氧化石墨烯在

8mL的去离子水中超声处理20分钟,加入5mL浓度为1.5M的聚乙二醇溶液,搅拌30分钟后将步骤(4)得到的氧化锌纳米棒阵列浸入,在90℃的水浴锅中反应4h,之后取出在60℃的烘箱中干燥,得到氧化石墨烯修饰的氧化锌纳米棒阵列。

[0048] (7)生物传感器的制备:

捕获探针是分别与葡萄糖氧化酶分子和皮质醇抗原分子结合的单克隆葡萄糖氧化酶和皮质醇抗体,两种捕获探针分别发生作用。将10mmol二硫代[琥珀酰亚胺丙酸酯]稀释在3μL二甲基亚砷中,二甲基亚砷的浓度为5μg/mL。并孵育2小时后在氧化锌纳米棒阵列表面上官能化。15μg/mL的α-葡萄糖氧化酶抗体配制3μL并孵育17分钟,将葡萄糖氧化酶分子固定在α-葡萄糖氧化酶抗体,并在氧化石墨烯修饰的氧化锌纳米棒阵列表面上官能化,然后配制3μL浓度为15μg/mL的皮质醇抗体并孵育15分钟,将皮质醇抗原分子固定在皮质醇抗体上,并在氧化石墨烯修饰的氧化锌纳米棒阵列表面上官能化,得到可植入的生物传感器。

[0049] 实施例3

(1)生物电化学基底的制备:

提取丝织物中的丝素蛋白,将生丝浸入浓度为20wt%碳酸氢钠水溶液中,煮沸60分钟,并用400mL去离子水彻底冲洗。将获得的脱胶丝在100℃剧烈搅拌下溶解在氯化钙/乙醇水溶液体系中,氯化钙/乙醇水溶液体系的氯化钙和乙醇的摩尔比为1:2,氯化钙/乙醇水溶液体系的总摩尔浓度为2mol/L。随后,用微孔过滤器过滤所获得的均匀溶液,使用透析管对其透析,微孔过滤器的规格为0.24μm,透析管的规格为3.5k分子量截留值,并进一步在零下80℃冷冻干燥36小时以获得丝素蛋白薄膜。然后,将一定量的丝素蛋白薄膜溶解在六氟异丙醇溶液中,六氟异丙醇溶液的浓度为2g/mL⁻¹,将一些制备好的溶液,放入通风橱中,在室温下风干18小时。

[0050] (2)丝素蛋白膜的共混改性:

称取聚苯乙烯-马来酸酐共聚物7g和步骤(1)中得到的丝素蛋白90g,先将聚苯乙烯-马来酸酐共聚物和丝素蛋白溶于38%的硫氰酸钾水溶液中,再加入10mL的5%的氢氧化钠溶液,于100℃下搅拌混合,冷却到室温后,在零下38℃静置脱泡5h,室温下于玻璃板刮膜,再将其置入凝固浴中固化成型。

[0051] (3)纳米金导电电极的制备:

纳米金测量电极使用电子束冷沉淀蒸发器沉积到步骤(2)中所述的改性丝素蛋白膜中去。纳米金导电测量电极裁剪后的尺寸为2*8mm,覆盖后其未覆盖的尺寸为2*2mm。

[0052] (4)氧化锌纳米棒的制备:

使用电化学沉积法,采用二电极体系,取硝酸锌溶液作为电解液放置于水浴锅中恒温80℃,硝酸锌溶液的浓度为0.1M,将切好的锌箔和步骤(2)得到的纳米金导电电极分别作为电沉积的阳极和阴极接入电路进行电沉积,锌箔的大小为4*4mm,用去离子水 and 无水乙醇超声反复清洗3次。电化学沉积过程中控制电流0.9mA,沉积开始,6h后电化学沉积结束,沉积结束后,将纳米金导电电极取出用去离子水清洗干净烘干,即可得到氧化锌纳米棒阵列。

[0053] (5)氧化石墨烯的制备:2.0g天然石墨和2.0g 硝酸钠缓慢加入到56ml浓度为18.4M的浓硫酸溶液中,在冰水浴中持续搅拌20分钟,然后将10.0g的高锰酸钾加入到上述体系中,变为紫色混合溶液后在550℃水浴中搅拌100分钟,再缓慢加入96ml的去离子水进

行稀释,持续搅拌30分钟。接着,缓慢加入50ml浓度为10M的双氧水溶液后变为金棕色溶胶,加入50ml的去离子水后用的9000转离心机离心,取沉淀物用去离子水不断洗涤至澄清液为中性,最后将产物放在真空环境下保持36h。

[0054] (6)氧化石墨烯修饰的氧化锌纳米棒阵列的制备:将步骤(5)得到的氧化石墨烯在8mL的去离子水中超声处理8分钟,加入6mL浓度为1.5M的聚乙二醇溶液,搅拌40分钟后将步骤(6)得到的氧化锌纳米棒阵列浸入,在100℃的水浴锅中反应6h,之后取出在60℃的烘箱中干燥,得到氧化石墨烯修饰的氧化锌纳米棒阵列。

[0055] (7)生物传感器的制备:

捕获探针是分别与葡萄糖氧化酶分子和皮质醇抗原分子结合的单克隆葡萄糖氧化酶和皮质醇抗体,两种捕获探针分别发生作用。将15mmol二硫代[琥珀酰亚胺丙酸酯]稀释在5μL二甲基亚砜中,二甲基亚砜的浓度为6μg/mL。并孵育3小时后在氧化锌纳米棒阵列表面上官能化。15μg/mL的α-葡萄糖氧化酶抗体配制5μL并孵育20分钟,将葡萄糖氧化酶分子固定在α-葡萄糖氧化酶抗体,并在氧化石墨烯修饰的氧化锌纳米棒阵列表面上官能化,然后配制5μL浓度为10μg/mL的皮质醇抗体并孵育20分钟,将皮质醇抗原分子固定在皮质醇抗体上,并在氧化石墨烯修饰的氧化锌纳米棒阵列表面上官能化,得到可植入的生物传感器。

[0056] 本发明中所用原料、设备,若无特别说明,均为本领域的常用原料、设备;本发明中所用方法,若无特别说明,均为本领域的常规方法。

[0057] 以上所述,仅是本发明的较佳实施例,并非对本发明作任何限制,凡是根据本发明技术实质对以上实施例所作的任何简单修改、变更以及等效变换,均仍属于本发明技术方案的保护范围。

专利名称(译)	一种氧化石墨烯修饰的可植入生物传感器的制备方法		
公开(公告)号	CN109264709A	公开(公告)日	2019-01-25
申请号	CN201811019777.7	申请日	2018-09-03
[标]申请(专利权)人(译)	浙江理工大学		
申请(专利权)人(译)	浙江理工大学		
当前申请(专利权)人(译)	浙江理工大学		
[标]发明人	万军民 吕思佳 胡智文 王秉 彭志勤		
发明人	万军民 吕思佳 胡智文 王秉 彭志勤		
IPC分类号	C01B32/198 A61B5/145 B82Y15/00		
CPC分类号	C01B32/198 A61B5/14503 A61B5/14532 B82Y15/00		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及传感器领域，公开了一种氧化石墨烯修饰的可植入生物传感器的制备方法，本发明通过提取丝素蛋白并提纯，并将其与聚苯乙烯-马来酸酐共聚物共混改性，以改性丝素蛋白共混物为基底，使用纳米金测量电极作为导电电极，用电子束冷沉淀蒸发器沉积到基底上，并在基底上均匀生长氧化锌纳米棒，采用电化学沉积法制备氧化锌纳米棒，此外，在氧化锌纳米棒外层覆以氧化石墨烯加以修饰，可以增强材料的生物相容性，促使其在体内更好的发挥作用，本发明传感器与传统传感器相比具有更加优异的检测性能。本发明传感器柔性好，可应用于医疗生物监测，环境和卫生监测等领域。