



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101609063 B

(45) 授权公告日 2014. 01. 08

(21) 申请号 200910054886. 7

CN 201359591 Y, 2009. 12. 09, 全文.

(22) 申请日 2009. 07. 16

CN 101387617 A, 2009. 03. 18, 全文.

(73) 专利权人 复旦大学

审查员 郑瑜

地址 200433 上海市邯郸路 220 号

(72) 发明人 柴晓森 徐春 周嘉

(74) 专利代理机构 上海正旦专利代理有限公司

31200

代理人 陆飞 盛志范

(51) Int. Cl.

G01N 27/27(2006. 01)

G01N 27/30(2006. 01)

G01N 33/53(2006. 01)

B81B 7/02(2006. 01)

(56) 对比文件

GB 898177 A, 1962. 06. 06, 全文.

US 3708661 A, 1973. 01. 02, 全文.

CN 1908665 A, 2007. 02. 07, 全文.

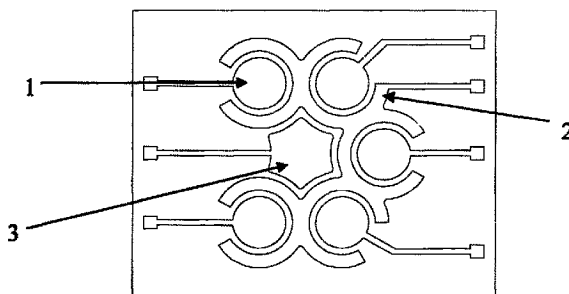
权利要求书1页 说明书4页 附图1页

(54) 发明名称

一种用于电化学免疫检测的微电极阵列芯片传感器

(57) 摘要

本发明属于传感器技术领域,具体为一种用于电化学检测的微电极阵列芯片传感器。本发明使用硅基材料进行制造,芯片集成了电化学检测的工作电极、辅助电极和参比电极,具有很好的信噪比。辅助电极和工作电极构成环盘结构,辅助电极与工作电极间的距离小,提高了电极的灵敏度。多个工作电极成阵列分布,可以用于多通道检测。本发明可以广泛用于生物医药等多领域的检测。本发明采用 MEMS 工艺进行制造,工艺简单,成本低。



1. 一种用于电化学免疫检测的微电极阵列芯片传感器,该传感器的芯片由 MEMS 加工技术集成了电化学检测使用的三电极:工作电极、辅助电极、参比电极,其特征在于所述工作电极有 3~5 个,每个工作电极为圆盘形,圆盘半径为  $200\ \mu\text{m}$ ~ $600\ \mu\text{m}$ ,工作电极的圆心位于以芯片中心为圆心的一个圆上,均匀分布;所述的辅助电极由与工作电极同心的几段环弧相连构成,包围了工作电极,且为一个整体,各段环弧的厚度即环弧的外径与内径之差为  $100\ \mu\text{m}$ ~ $500\ \mu\text{m}$ ;所述的参比电极位于芯片的中心位置,参比电极的边界由多段弧形组成,并且,参比电极的边界与辅助电极的边界平行,两电极边界之间的距离为  $100\ \mu\text{m}$ ~ $200\ \mu\text{m}$ ;三种电极由导线引出;芯片封装于陶瓷底座上,通过硅胶封装绝缘导线,同时硅胶沿着芯片边缘封装,形成凹槽构成电解池,微电极阵列芯片是电解池的底。

2. 根据权利要求 1 所述的微电极阵列芯片传感器,其特征在于辅助电极的各个环弧内侧与对应的工作电极圆盘边缘间的距离为  $50\ \mu\text{m}$ ~ $200\ \mu\text{m}$ 。

3. 根据权利要求 1 所述的微电极阵列芯片传感器,其特征在于所述的工作电极采用 Au,所述的辅助电极采用 Au 或 Pt,所述的参比电极采用 Ag/AgCl。

## 一种用于电化学免疫检测的微电极阵列芯片传感器

### 技术领域

[0001] 本发明属于传感器技术领域,具体涉及一种用于电化学生物免疫检测的微电极集成阵列芯片传感器。

[0002] 背景技术

[0003] 电化学检测方法是利用电极将不同物质发生的生化反应产生的信号转换成电信号,从而确定物质间进行反映的微观过程,物质含量等。根据电化学检测原理的不同可以分为电流法、电位法、电导法等。自电化学的方法发明以来,经过不断地发展,对电极与溶液界面的特性研究已经具有了非常好的理论基础,电化学检测可以应用于无机离子、有机离子、蛋白质、氨基酸、DNA 等分析物。这也是此方法可以广泛用于生物传感器的原因。

[0004] 生物传感器是在化学传感器的基础上发展起来的,它是由产生信号的敏感元件(分子识别元件)和信号转换器件组成。生物传感器的发展始于 1962 年,当时 L. c. clark 将电极与含有葡萄糖氧化酶的膜结合应用于葡萄糖检测。随后其应用领域不断扩展,检测方法也不断改进。根据检测物质的不同,可分为免疫传感器、DNA 传感器、酶传感器、细胞传感器等几类。

[0005] 最近二三十年里,微机电系统(MEMS)加工技术的发展使生物传感器及其生化分析仪器进一步向小型化、数字化和高可靠性的方向发展。随着生物技术的日臻完善、微电子学技术的迅速发展以及实际应用领域的迫切要求,作为一种多学科交叉的高技术、作为一种强有力的分析工具,生物传感器已成功地应用于医学、国防、环境、食品工业及农业等领域。

[0006] 微机电系统(MEMS)技术对电化学生物传感器的最主要影响是电极的改进,电极的尺寸有原来的常规电极发展到了微电极。传统分别使用的三电极系统电极(参比电极、辅助电极、工作电极)可以集成于一个芯片上;一个传感器器件上就可以集成多个具有独立检测功能的电极,从而实现了一个器件可以同时检测多种生物样品。微电极不仅仅具有小型化的优点,更重要的是它与常规电极相比具有无可比拟的优点,即极高的稳态电流密度、极短的响应时间、极化电流小、传质速率高、信噪比大等特点。

[0007] 目前对微电极的研究方向是制造一种具有高稳定性,高响应特性,可重复性高的电极。用于电化学检测的三个电极全部集成制造于一个芯片上,对于检测的稳定性具有非常重要的意义。减小工作电极与辅助电极的距离也成为了一种增加响应特性的主要趋势。使用 Ag/AgCl 作为参比电极,利用 MEMS 工艺集成于同一个器件之中,提高稳定性、可重复性非常关键。同时制造多个电极,并且以某一结构进行阵列分布对于检测相应特性的提高有着许多报道和尝试。另外对于电极形状的探讨一直在进行。

[0008] 由于集成电化学传感器参比电极和辅助电极引入,必然要考虑其形状,面积的影响。在电化学基本理论中,介绍到当工作电极和辅助电极在彼此分开的电解池时,辅助电极一侧的反应基本可以忽略不计。但是,当工作电极和辅助电极同处一个电解池时,辅助电极一侧的反应生成物将严重影响工作电极的反应。并指出,不用恒电位的电解反应中,希望辅助电极面积比工作电极面积大很多,外部加的极化作用主要作用于工作电极上。

F. Lisdat, D. schäfer在《Analytical and Bioanalytical Chemistry》杂志发表的《The use of electrochemical impedance spectroscopy for biosensing》(2008年4月16日)也指出辅助电极面积要远大于工作电极的面积。张祖训在杂志《电分析化学进展》发表的《微电极电化学模拟新方法有限分析法》通过模拟的方法指出微环电极的电流密度高于圆盘电极。

[0009] 于是,在目前 MEMS 工艺的基础上,设计制造一种具有如下特点的生物芯片将具有非常大的意义。工作电极,辅助电极,参比电极集成于一个芯片;增加辅助电极相对于工作电极的面积;辅助电极与工作电极结构为环形结构。

## 发明内容

[0010] 本发明的目的在于提出一种响应特征明显,电化学特性稳定,生物匹配性良好的用于电化学免疫检测的微电极芯片传感器。

[0011] 本发明提出的用于电化学免疫检测的微电极芯片传感器,是利用现有 MEMS 工艺技术的制备条件,设计了一种新的电极结构。该芯片集成了电化学检测使用的三种电极,即工作电极、辅助电极和参比电极。这三种电极通过 MEMS 工艺制作于同一个芯片上,其结构如图 1 所示。工作电极为目前使用最为成熟的圆盘电极,工作电极由具有良好生物相容性的 Au 材料制作。芯片中制作了多个工作电极,按照一定规则成阵列分布。辅助电极为与工作电极同心的几端环弧相连构成,辅助电极的面积对于整个芯片的响应特性产生影响,相对于工作电极而言面积较大的辅助电极可以使芯片工作更加稳定,但是对于同一个芯片而言,辅助电极面积的增大必然会使工作电极的面积减小,可能会造成检测信号变弱的问题。因此,辅助电极面积应根据工作电极的大小和检测的样品特性来确定。辅助电极的材料可以使用 Au 或者 Pt。参比电极位于整个芯片的中心位置,参比电极为星形,其边界有多端弧形边界组成,并且参比电极的边界与辅助电极的边界平行(即两边界在各点的法线方向上的距离相等),参比电极的边界与辅助电极的边界距离为  $100\ \mu\text{m} \sim 200\ \mu\text{m}$ ,参比电极使用 Ag/AgCl 制作完成。

[0012] 本发明中,工作电极在芯片中成阵列分布,所有工作电极的圆心在以芯片中心为圆心的圆的边界上;根据测试的不同可以决定工作电极的数目,工作电极按一定角度在芯片上均匀分布,电极的数目可以为  $3 \sim 5$  个。工作电极的大小根据不同测试的需要、不同的工艺条件,以及芯片的大小等进行确定,本发明的工作电极半径在  $200\ \mu\text{m} \sim 600\ \mu\text{m}$  范围内选择。

[0013] 辅助电极在一个芯片中仅为一个,由多个以工作电极为圆心的环弧相连构成,且包围了工作电极。在设计中,为了有效利用芯片面积,使得相邻间的环弧有重叠部分,这些重叠部分使得辅助电极构成了一个整体,辅助电极的面积大小的控制主要通过改变环弧半径的大小来实现,使用  $100\ \mu\text{m} \sim 500\ \mu\text{m}$  的环弧半径对于芯片的稳定工作具有很好的作用。

[0014] 辅助电极环弧内侧与对应的工作电极圆盘边缘间的距离对于电化学检测的灵敏度具有重要的影响,距离越小,灵敏度越高。但是加工工艺要求越高。本发明采用的距离为  $50\ \mu\text{m} \sim 200\ \mu\text{m}$ 。

[0015] 芯片上的三种电极由各自的电极导线引出。芯片通过封装,与陶瓷底座一起构成传感器,通过硅胶封装导线,同时硅胶沿着芯片边缘封装与底部的阵列芯片构成凹槽,作为

微电极芯片传感器的检测池（电解池）。该发明使用了集成芯片，不需要外加电极，保证了测量的稳定性。

[0016] 上述微电极阵列芯片传感器制作采用微电子机械加工技术（MEMS），本发明通过以下具体步骤来实现：

[0017] 1. 在 P 型硅衬底上热氧化生长二氧化硅，作为绝缘层。

[0018] 2. 使用 piranha 溶液 ( $H_2SO_4 : H_2O_2 = 3 : 1$ ) 清洗二氧化硅表面，去离子水清洗去除杂质，烘干硅片；光刻，使用正胶形成工作电极图形。氧等离子体溅射打底膜。

[0019] 3. 溅射 PVD Ti 作为电极的粘附层，溅射 Au 作为工作电极；采用 lift-off 工艺去除光刻胶形成工作电极图形。

[0020] 4. 光刻，使用正胶形成辅助电极图形，氧等离子体溅射打底膜，溅射 PVD Ti 作为电极粘附层，溅射 PVD Au 或者 Pt 作为辅助电极，lift-off 工艺去除光刻胶，形成辅助电极图形。

[0021] 5. 光刻，使用正胶形成参比电极图形，氧等离子体溅射打底膜，溅射 PVD Ti 作为粘附层，溅射 PVDAg 作为参比电极，lift-off 工艺去除光刻胶，形成参比电极图形。

[0022] 6. 划片，打线，硅胶封装。待硅胶凝固后，电解池加盐酸，参比电极加正电压，电解液加负电压构成直流通路，通过电化学反应在 Ag 表面形成 AgCl，参比电极制作完成，传感器制作完成。

[0023] 本发明的制得的电化学三电极集成芯片集成了电化学使用的三种电极于一体，避免了外加电极带来的干扰，极大的提高了电化学检测的信噪比，增强了电化学检测的稳定性。对于器件的使用操作进行了很大的简化，提高了器件的便携性，有利于器件的产品化。

[0024] 本发明工作电极可以根据检测的需要进行多通道检测，可以对多种样品同时进行检测，极大地提高了检测的效率。

[0025] 本发明制作的环形辅助电极相比传统的圆形电极具有更高的响应电流，辅助电极的面积增加，对于提高器件的稳定性具有非常重要的帮助。环形电极的设计也使得芯片的有效利用面积得到了增强。

[0026] 本发明在工艺条件内，对辅助电极和工作电极的距离进行减小，提高了电化学检测的精度。

[0027] 本发明使用陶瓷底座进行封装，使用绝缘硅胶进行封装，一方面保证了封装的绝缘性能，另一方面硅胶与电化学三电极集成芯片构成电解池，为检测工作带来了很大的方便。

#### 附图说明

[0028] 图 1 为电极形状图形

[0029] 图 2 为传感器器件结构

[0030] 图中标号：1 是工作电极，2 是辅助电极，3 是参比电极，4 是陶瓷底座，5 是封装硅胶，6 为芯片。

#### 具体实施方式

[0031] 下面结合附图和实施例对本发明作进一步说明。实施例在以本发明方案为技术前

提下,给出了详细的实施方案和具体操作过程,但本发明的保护范围不限于实施例。

[0032] 1. 在 P 型硅衬底上热氧化生长 600nm 的二氧化硅,作为绝缘层。

[0033] 2. 使用 piranha 溶液 ( $\text{H}_2\text{SO}_4 : \text{H}_2\text{O}_2 = 3 : 1$ ) 清洗二氧化硅表面,去离子水清洗去除杂质,烘干硅片;光刻,使用正胶形成工作电极图形,工作电极半径为  $500 \mu\text{m}$ 。氧等离子体溅射打底膜。

[0034] 3. 溅射 PVD 20nm 的 Ti,300nm 的 Au;采用 lift-off 工艺去除光刻胶形成工作电极图形,工作电极半径为  $500 \mu\text{m}$ 。

[0035] 4. 光刻,使用正胶形成辅助电极图形,氧等离子体溅射打底膜,溅射 PVD 20nm Ti,300nm Pt, lift-off 工艺去除光刻胶,形成辅助电极图,形辅助电极的环径为  $200 \mu\text{m}$ ,辅助电极与工作电极的距离为  $100 \mu\text{m}$ 。

[0036] 5. 光刻,使用正胶形成参比电极图形,氧等离子体溅射打底膜,溅射 PVD 20nm Ti,400nmAg, lift-off 工艺去除光刻胶,形成参比电极图形,参比电极的边界与辅助电极边界的距离为  $100 \mu\text{m}$ 。

[0037] 6. 划片,打线,硅胶封装。待硅胶凝固后,电解池加盐酸,参电极加正电压 0.5V,电解液加负电压构成直流通路,通电 5s,通过电化学反应在 Ag 表面形成 AgCl,参电极制作完成,传感器制作完成。

[0038] 传感器制作完成后,使用电化学分析仪,采用循环伏安法进行测试,对封装完成的芯片进行裸电极的测试。电化学分析仪辅助电极和工作电极连线分别与传感器芯片的辅助电极和工作电极相连构成通路,参比电极导线与连接芯片参比电极提供基准电压。在传感器的电解池中加入 10mM PBS 溶液和 10mM 二茂铁甲醇的混合溶液,PBS 为支持电介质,二茂铁甲醇为探针。以  $0.1\text{V/s}$ ,在  $-0.5\text{V} \sim 0.5\text{V}$  进行扫描,测得循环伏安曲线。对本发明的传感器进行测试,得到氧化峰的峰值为  $3.43 \mu\text{A}$ ,还原峰的峰值为  $3.34 \mu\text{A}$ ,通过计算可以得到其峰值电流密度分别为  $0.437\text{mA}/\text{cm}^2$  和  $0.425\text{mA}/\text{cm}^2$ 。说明该传感器具有较高的灵敏度。

[0039] 本发明可以用于生物医药等多领域的各种样品的检测。本发明可以通过电化学原位共沉积的方法将抗体包埋于电聚合的膜中,从而可以用于不同目标检测的芯片传感器。也可以制备聚邻苯二胺绝缘膜包埋的抗体部分绝缘膜进行电化学分析。或者采用自组装分子的方法将抗体固定到工作电极,从而构成具有不同检测目的的生物传感器。

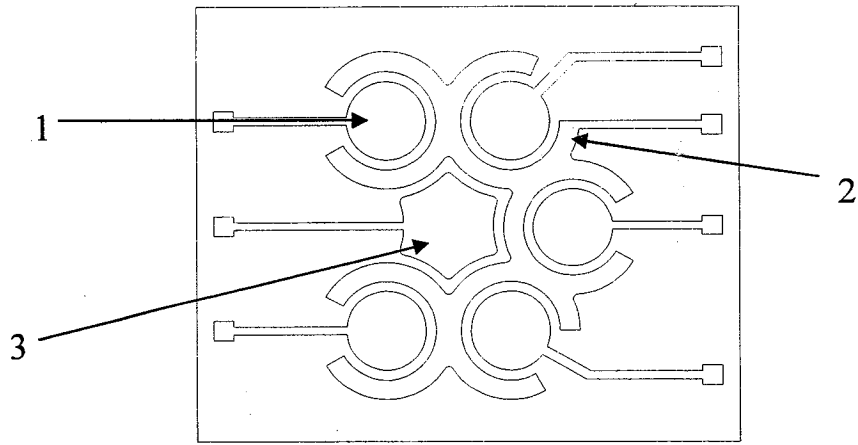


图 1

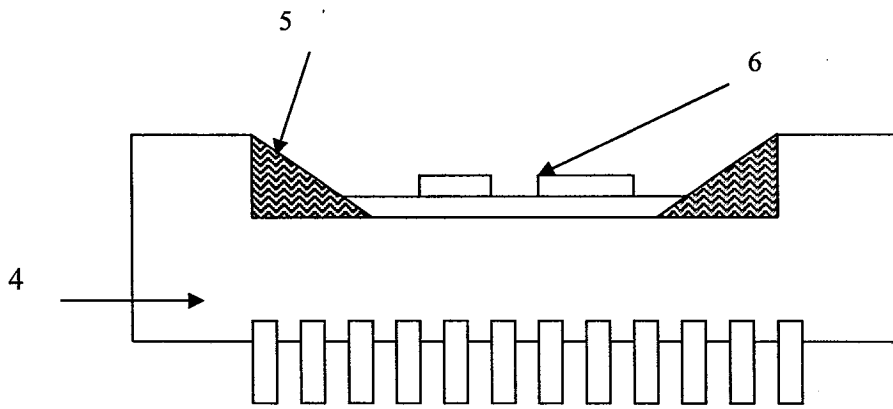


图 2

|                |  |         |            |
|----------------|--|---------|------------|
| 专利名称(译)        | 一种用于电化学免疫检测的微电极阵列芯片传感器                         |         |            |
| 公开(公告)号        | <a href="#">CN101609063B</a>                   | 公开(公告)日 | 2014-01-08 |
| 申请号            | CN200910054886.7                               | 申请日     | 2009-07-16 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 复旦大学   |         |            |
| 申请(专利权)人(译)    | 复旦大学   |         |            |
| 当前申请(专利权)人(译)  | 复旦大学   |         |            |
| [标]发明人         | 柴晓森<br>徐春<br>周嘉                                |         |            |
| 发明人            | 柴晓森<br>徐春<br>周嘉                                |         |            |
| IPC分类号         | G01N27/27 G01N27/30 G01N33/53 B81B7/02         |         |            |
| 代理人(译)         | 陆飞   |         |            |
| 审查员(译)         | 郑瑜   |         |            |
| 其他公开文献         | CN101609063A                                   |         |            |
| 外部链接           | <a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a> |         |            |

摘要(译)

本发明属于传感器技术领域，具体为一种用于电化学检测的微电极阵列芯片传感器。本发明使用硅基材料进行制造，芯片集成了电化学检测的工作电极、辅助电极和参比电极，具有很好的信噪比。辅助电极和工作电极构成环盘结构，辅助电极与工作电极间的距离小，提高了电极的灵敏度。多个工作电极成阵列分布，可以用于多通道检测。本发明可以广泛用于生物医药等多领域的检测。本发明采用MEMS工艺进行制造，工艺简单，成本低。

