

电化学交流阻抗技术在医学检验中的研究应用

杭宇腾¹, 李一隆¹, 刘帅¹, 陈冠焯¹, 管小荣², 刘扬^{1,2*}

¹南通大学公共卫生学院, 江苏 南通

²江苏奥威信息系统工程有限公司, 江苏 南通

收稿日期: 2023年4月18日; 录用日期: 2023年5月8日; 发布日期: 2023年5月19日

摘要

电化学阻抗谱(Electrochemical Impedance Spectroscopy, 简称EIS)可以用于分析电极表面与生物识别事件相关的界面特性, 如抗原抗体反应、氧化还原反应、电子交换等。随着电极制造工艺和纳米材料的发展, 基于EIS技术的电化学传感器广泛应用于生物检测。本文将从EIS技术的基本原理、工作电极的研究进展的角度入手, 总结了EIS技术在心血管疾病、肿瘤标志物测定、细菌病毒感染和蛋白质检测等医学检测的最新进展, 以及基于EIS技术的生物传感器在商品化和快速检测方面的发展趋势。

关键词

电化学阻抗谱, 医学检验, 生物传感器

The Application of Electrochemical Impedance Technique in Medical Detection: A Review

Yuteng Hang¹, Yilong Li¹, Shuai Liu¹, Guanye Chen¹, Xiaorong Guan², Yang Liu^{1,2*}

¹School of Public Health, Nantong University, Nantong Jiangsu

²Jiangsu Aowei Information System Engineering Co., Ltd., Nantong Jiangsu

Received: Apr. 18th, 2023; accepted: May 8th, 2023; published: May 19th, 2023

Abstract

Electrochemical impedance spectroscopy (EIS) can be used to analyze the interfacial properties of electrode surfaces related to biological recognition events, such as antigen-antibody reactions,

*通讯作者。

文章引用: 杭宇腾, 李一隆, 刘帅, 陈冠焯, 管小荣, 刘扬. 电化学交流阻抗技术在医学检验中的研究应用[J]. 分析化学进展, 2023, 13(2): 171-180. DOI: 10.12677/aac.2023.132021

redox reactions, electron exchange, etc. With the development of electrode fabrication process and nanomaterials, electrochemical sensors based on EIS technology are widely used in bio-detection. In this paper, we will summarize the latest progress of EIS technology in medical testing such as cardiovascular diseases, tumor marker determination, bacterial and viral infections and protein detection, as well as the development trend of EIS technology-based biosensors in commercialization and rapid detection from the perspective of the basic principles of EIS technology and the research progress of working electrodes.

Keywords

EIS, Medical Detection, Biosensor

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 简介

近年来,人们对健康的关注度越来越高。疾病诊断、健康监测已经从繁琐的检测方法趋向于简单、方便、精确的床旁检测(Point of care testing, POCT)。专业人员在应对疾病检测时,如癌症标志物、脱氧核糖核酸(Deoxyribonucleic acid, DNA)、病原体以及蛋白质,通常依赖于传统的检测方法。常见的有聚合酶链反应(Polymerase Chain Reaction, PCR)和酶联免疫反应(Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)等。但是这些方法通常需较长的时间,昂贵的仪器设施和专业的检测人员。如在2019年底爆发的新冠疫情中,虽然PCR是检测新冠病毒的金标准,但是基于PCR的检测时间较长(4小时左右),从样本采集到最后得出检测结论需要许多步骤,同时也需要专业人员与设备的支持,这使得科技、经济不发达的国家和地区更难应付传染性疾病[1]。为了克服传统检测方法的局限性,研究人员开发了更多价格低廉,操作简单且同样具有高检测限的检测方法(表1)。

Table 1. Comparisons of experimental methods for common disease monitor

表 1. 常见疾病监测的实验方法比较

检测方法	实验原理	实验需要的温度范围	优点	缺点	参考文献
PCR	基因靶序列的大量扩增,通常要经过变性	95°C, 60°C, 70°C	特异性、灵敏度高,并且能够实时显示感染情况	较长时间,专业操作人员与设备	[1]
环介导等温扩增(LAMP)	针对靶基因专门设计6种引物,在同一试管中恒温孵育扩增	65°C	灵敏度高、反应时间短、操作简单、无需精密仪器	对引物设计要求比较高、假阳性问题比较严重、对人员仪器依赖性高	[2]
规律间隔成簇短回文重复序列(CRISPR)	引导Cas蛋白与蛋白质形成复合物,识别并裂解特定的匹配或互补序列	37°C	简化实验步骤、检测效率高、价格低廉	RNA性质不稳定,酶对温度要求高且需要专业的操作人员	[3] [4]
电化学技术(Electrochemical techniques)	与新材料技术相结合,如伏安法、安培法、阻抗谱等	室温	成本低、使用便捷、检测时间短特异性高	选择性一般较差,实际应用中通常需要一个便携式的检测装置	[5] [6]

2. EIS 的原理及意义

相对其他检测技术来说, EIS 是一种非破坏性的技术, 不论是否发生氧化还原反应都可以测量法拉第阻抗。EIS 技术通过给某个电化学系统施加不同微小振幅正弦电压(或电流), 从而确定电化学过程的定量参数。通过施加信号与响应信号之间的频率、幅值或者相位关系, 推导出频率响应函数, 从而定量判断某种参与物质的量[6]。

EIS 可以用奈奎斯特(Nyquist)图 (图 1(a), 以丝网印刷碳电极为例)表示体系内阻抗的大小。对纯电阻, 在 Nyquist 图上表现为 z 轴上的一点, 该点到原点的距离为电阻值的大小; 对纯电容体系, 表现为与 Z'' 轴重合的一条直线。对 Warburg 阻抗则为斜率为 45° 的直线。x 轴代表阻抗的实部, 用 z' 表示, y 轴代表阻抗的虚部, 用 z'' 表示。高频范围内对应的半圆部分表示电子转移的控制过程, 在低频范围内对应的直线部分代表受扩散控制过程。可以用如公式(1)来表示:

$$z = z' + jz'' \quad (1)$$

另一种常用的表示方法是波特(Bode)图, 即 $\lg Z$ 、相角对频率作图(图 1(b)), 图谱中同时表示了阻抗与频率、相移与频率的关系[8]。这种方法提供了一种描述电化学体系特征与频率相关行为的方式, 是表示阻抗谱数据更清晰的方法, 也可以推断电极过程的机理从而计算电极过程的动力学参数。

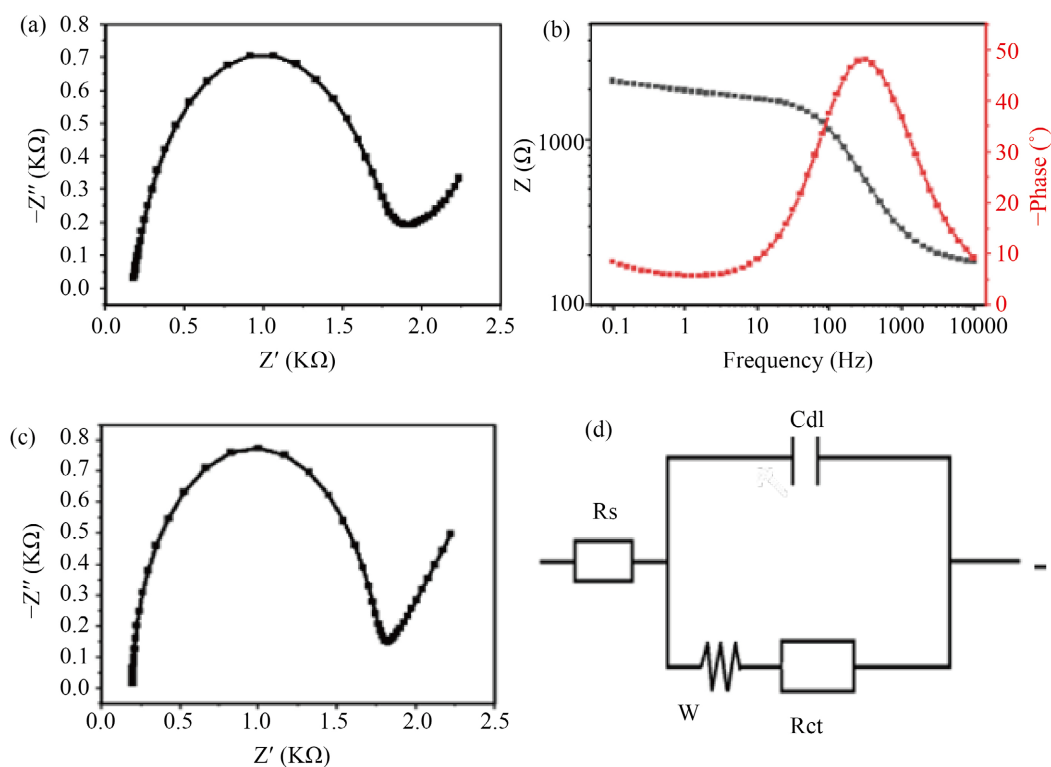


Figure 1. Screen-printed carbon electrode data diagram and equivalent circuit model, respectively: Nyquist plot (a), Porter plot (b), Fitted Nyquist plot (c), Simple equivalent circuit model (d). In 5.0 mmol/L $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ (1:1) with 1 mol/L KCl solution (Model: BioSYS-P15E, purchased from Shenzhen Refresh Biosensing Technology Co., Ltd., Instrument: Autolab 302N, purchased from Metrohm Co., LTD.; Experimental parameters: Last applied Frequency: 10,000 Hz; OCP: 0.154 V; Amplitude: 0.01 V_{RMS})

图 1. 丝网印刷碳电极数据图及等效电路模型, 分别为: (a) 奈奎斯特图(Nyquist plot), (b) 波特图(Bode plot), (c) 拟合的奈奎斯特图(Nyquist plot), (d) 简易的等效电路模型。在 5.0 mmol/L 的 $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ (1:1) 含 0.1 mol/L KCl 的阻抗溶液中(型号: BioSYS-P15E, 购于深圳刷新生物传感科技有限公司; 仪器: Autolab 302N, 购于瑞士万通; 实验参数: 低频: 0.1 Hz; 高频: 10,000 Hz; 开路电位: 0.154 V; 振幅: 0.01 V_{RMS})

EIS 技术分析中需要通过确定各电路元件值来拟合等效电路。一般电化学反应体系都可以拟合为由电阻、电容、电感、warburg 阻抗等构建的等效电路,因此被测体系的 EIS 可由不同的等效电路来描述(图 1(d))。它包括双层电容(Cdl)和传质电阻(Rs)和阻抗(W)。每个电路元件都来自电化学电池中的一个物理过程,具有特征阻抗行为。溶液电阻由溶液的电导率和工作电极的截面积决定。双层电容表示电极与电解质之间的静电相互作用,取决于电极面积、性能、电解质离子强度和介电常数。Rct 和 W 构成法拉第阻抗,反映了电荷传递动力学,可以认为是在没有传质限制的情况下,过电位与电流的比值[7] [8]。

3. EIS 电极应用材料的研究

为满足快速疾病检测的需求, EIS 仪器的研究趋向于构造简单、操作简便、响应迅速、检测灵敏及造价低廉。相对于的大型生化分析仪器来说,这些传感器具有体积小、通量高、试剂消耗量低等优势,为床旁检测(POCT)提供了新的研究思路[9]。EIS 传感器的优秀性能主要取决于其应用的工作电极材料,高性能的工作电极不但可以提高电子转移速率还可以增加附着的生物分子的稳定性,尤其结合纳米材料的发展更加提升了传感器的灵敏度和选择性[10]。笔者就近几年报道较多的电极和纳米材料的进行了如下总结:

3.1. EIS 传感工作电极材料及研究进展

3.1.1. 金属电极

金属电极因为耐腐蚀、表面性质稳定以及容易修饰纳米材料等优点使得金属电极在电化学传感设备中最为常见[11]。金属电极应用广泛,比如在针对新型冠状病毒(SARS-CoV-2)蛋白的特异性抗体的检测中, Viktorija Liustrovaite 等人首先在金电极表面修饰了由 11-巯基十一酸和 6-巯基-1 己醇组成的混合自组装单分子层(SAMmix),然后将重组 SARS-CoV-2 刺突蛋白(SCoV2-rS)共价固定在电极表面,用 EIS 方法定量检测 SCoV2-rS 抗体。通过观察 Nyquist 图坐标表示的 EIS 谱,阻抗值随着 SCoV2-rS 抗体的变化而变化,检出限(LOD)低至 2.53 nmol/L,该方法能够应用到 SARS-CoV-2 病毒的诊断[12]。此外,由于金电极有着高导电性、生物稳定性和高机械强度等优点,允许在其表面进行多次修饰,Anna Wcisło 等研究人员利用该特性将 11-巯基十一酸修饰的肽底物(Arg-Val-Arg-Arg)固定在金电极表面上,并使用 EIS 对电极性能进行测试, Nyquist 图表明,在数小时至三天内,电极的阻抗提升了 25%。实验结果表明,肽修饰的金电极可以在不使用标记的情况下观察酶-底物相互作用[13]。

3.1.2. 碳电极

碳及其衍生物的化学性质稳定,碳电极在电化学传感器中以多种方式使用,常见的碳浆、玻璃碳电极已经广泛运用于 EIS 电极制作技术。由于丝网印刷技术的发展和价格低廉的特点,丝网印刷碳电极通常可以作为一次性的可抛电极使用。碳纳米材料例如多壁碳纳米管(Multiwalled carbon nanotube, MWCNTs)、石墨烯、富勒烯等,由于其在导电性能、电绝缘性、表面与界面特性等多方面的特殊电化学性质,在传感器的构建方面取得了很多的研究成果[14]。Giovanna S. Rocha 等人使用还原氧化石墨烯(rGO)制备了一种阻抗生物传感器用于检测牛奶样品中金黄色葡萄球菌的葡萄球菌肠毒素 A(SEA),并且能够选择性地检测 SEA 水平,检测限为 0.102 $\mu\text{g/mL}$ [15]。碳电极在疾病检测方面也得到了广泛运用, Rui Wang 等人制备了一种基于 AgPt NRs-Rgo (以还原氧化石墨烯为载体的 AgPt 纳米环)纳米复合材料,修饰于玻碳电极表面,制备了检测癌胚抗原(CEA)的电化学免疫传感器,应用 EIS 技术检测,对 CEA 的线性范围为 5 fg/m 至 50 ng/mL,在三倍信噪比时 LOD 低至 1.43 fg/mL,并且有着较高的稳定性与选择性[16]。但该技术还存在稳定性需要进一步提升,实际样品检测复杂等需要改进的方面。

3.1.3. 导电聚合物膜电极

导电聚合物(Conductive polymer, CP)是一类具有共轭结构的有机高分子材料,因其高导电性、高表面积、生物相容性、在水溶液中的化学稳定性和可观的吸附能力使其在构造电极方面有着巨大的潜力。聚乙炔、聚苯胺、聚噻吩和聚吡咯及其共聚物等可用来替代金属电极,在基底电极的表面沉积一层导电聚合物能够提升电极的催化能力。在电极制备方面,通过氧化聚合、电化学制备、PANI 的兴奋剂、氧化掺杂、酸性掺杂等方法制备后再进行物理或者化学沉积,并且利用详细的微观、光谱、结构和热表征来确认聚合物复合材料的形成[16] [17] [18]。Mahnoush Beygisangchin 等人通过将用琼脂固定的金纳米颗粒(AuNPs)与聚苯胺(PANI)通过层层组装(layer-by-layer, 即 LBL)技术固定在电极表面,能够应用于肾上腺素、多巴胺和葡萄糖的检测[19]。但是该技术容易受到薄膜沉积难、重现性差以及薄膜导电性的长期稳定性的应用限制[20]。

3.1.4. 可抛型电极

可抛型电极由于其低成本、小尺寸、便携性、高选择性和高灵敏度等特点在 EIS 检测中备受关注[21]。能够制备可抛型电极的技术多种多样,如丝网印刷技术、喷墨打印与 3D 打印技术、薄膜制备技术和蛋白质微阵列法等。丝网印刷技术制造的可抛型电极,能够满足疾病检测对稳定性、可重复性、灵敏度和床旁检测的需求,也可以根据需求加入金、银等贵金属以及粘合剂、聚合物、增塑剂、溶剂、金属氧化物、酶、离子交换剂等添加剂。AtulSharma 等人基于可抛型丝网印刷电极制造了一种可以一次性检测的便携式核酸适配体功能化阻抗传感器,可以用于检测牛奶样品中的卡那霉素(KANA),修饰后的电极对 KANA 具有特异性选择,且不容易受到竞争类似物(链霉素等)的干扰[22]。

虽然丝网印刷技术制作电极简便快速,但是容易受到粘性油墨和昂贵材料的浪费等因素影响。与丝网印刷技术相比,喷墨打印技术有着更低的成本,并且基于计算机软件的支持够绘制更高精密度、高分辨率的电极以减少贵重材料的浪费[23]。因此,喷墨打印技术在柔性电极和一次性传感设备以及可穿戴设备等应用中越来越受欢迎,Niazul Islam Khan 等研究人员基于喷墨打印技术提出了一种新颖的低成本固定技术,基于 EIS 技术开发的适配体生物传感器,通过测试其对溶菌酶的高选择性(检测限为 90 ng/mL),实现了低成本、无标签和快速检测,可以应用在一次性疾病诊断和筛查或者检测试剂盒中,在即时诊断中具有潜在的应用[24]。

3D 打印技术相对于上述两种打印技术,加入了计算机辅助数字设计软件以及 3D 扫描仪的使用,在同样有着制造方便、足够小型化且使用可抛等优点时,还具备着无需承载基片、快速自动化制造、方便设计形状等优势。此外,纤维素纸有着基于纸张的微流控方法耦合的潜力,因其形态设计方便、允许溶液通过毛细管流动且无需泵源、小尺寸便携的特点在即时检测方面的应用也有着明显增长[25] [26] [27]。

3.2. EIS 在疾病检测中应用

将生物敏感膜固定在工作电极上,通过电极将传感表面上的化学相互作用转化为 EIS 信号构建了 EIS 传感器。图 2 总结了 EIS 生物传感器的工作原理和在疾病中的部分应用范围。

3.2.1. 心血管疾病的检测

心血管疾病是人类疾病致死的头号原因,全球每年接近有 2000 万人死于心血管疾病。EIS 技术可以应用于心血管疾病标志物的检测。比如心肌肌钙蛋白 I (Cardiac troponin I)是一种对心肌细胞损伤有着高特异性和高敏感性的蛋白质,因此被用作诊断急性心肌梗死(AMI)的金标准生物标志物。S. Tanisell 等人建立了由还原性氧化石墨烯(rGO)基底平面官能团介导的无标记化学键方法,用来检测心脏肌钙蛋白 I (cTnI),rGO 的环氧基团和羟基能够快速精准锚定抗体进行靶向结合,有着识别速度快、灵敏度高特点,



Figure 2. Principle of application of EIS technology and its application in disease detection
图 2. EIS 技术的应用原理及其在疾病检测中的应用

由此开发的免疫传感器的最低检测浓度能够达到 10 ag/mL ，并且空白检测限(LOB)和检测限(LOD)为 1.3 ag/mL 和 6.3 ag/mL ，差异有统计学意义，结果表明，该免疫传感器有着较高的灵敏度，在血清中 cTnI 的检测高于飞摩尔水平，通过 EIS 测量的最低浓度为 10 ag/MI [28]。同样的，肌红蛋白(Mb)也是急性心肌梗死(AMI)的代表性生物标志物，Pil J. Yoo 等人提出了一种新的 EIS 生物传感器用于检测 Mb，通过应用 rGO 电极的来增加电化学表面积从而提高传感器的灵敏度。具体做法是用十八烷基胺(ODA)基团功能化的氧化石墨烯(GO)纳米片，通过改变片间的间距并逐层组装，形成堆叠的 GO 薄膜，之后对 GO 薄膜进行热还原，形成粗糙的表面，显著增强电极的表面活性和传感灵敏度。检测结果显示，基于该电极的 EIS 生物传感器在检测 Mb 时的传感性能优秀，检测限低至 2.37 pmol/L ，在急性心肌梗死早期诊断中同样具有出色的应用前景[29]。

3.2.2. 肿瘤标志物的检测

癌症因其高发病率和病死率严重危害着人们的健康。肿瘤标志物是检测肿瘤性质的重要手段，可用于癌症筛查、扩散进展和癌症复发监测。Maryam Jozghorbani 等人设计了一种检测 CEA 的简单无标记电化学免疫传感器，通过在玻碳电极上覆涂 rGO，循环伏安法(CV)和 EIS 技术都证实了用 CEA 抗体成功修饰 rGO/GC (氧化石墨烯/玻碳)电极，在实际样本分析中与 ELISA 的检测结果对比，相对误差仅为 7.89%，CEA 线性范围为 0.1 ng/mL 至 5.0 ng/mL ，LOD 值为 0.05 ng/mL [30]。而肿瘤坏死因子(TNF- α)作为一种可诱导多种信号级联反应的细胞因子，能够导致如细胞死亡、存活、分化、增殖等多种细胞反应。检测 TNF- α 常用的实验方法是基于 ELISA 的免疫分析方法，表 1 中表明了该类方法的缺陷。因此 Kongsuphol Patthara 等人设计了一种用于未稀释血清中检测 TNF- α 的高灵敏度和特异性生物传感器，该传感器利用磁珠偶联白蛋白抗体和 IgG 抗体从血清中清除大量的蛋白质背景，在背景干扰极低情况下传感器基质能够特异性地捕获目标分子，洗脱后在梳状金微电极阵列(CSGM)上基于 EIS 技术进行检测和阻抗谱记录，该传感器能够达到 1 pg/mL 的检测限和 1 pg/mL 至 1000 pg/mL 的动态检测范围[31]。

3.2.3. 细菌、病毒感染检测

细菌、病毒感染同属于致病微生物感染，致病微生物引起的传染病往往传播速度快，且容易形成大流行，早发现早预防是应对这类疾病的最佳方法。EIS 技术能够快速、灵敏、高选择性地检测致病微生物。在革兰氏阳性细菌检测实验中，SanjaySingha 等人使用金质互换电极在氧化钨薄膜上制造的阻抗传感器，使用糖肽抗生素万古霉素功能化氧化钨，形成的肽聚糖层与革兰氏阳性菌有特异性相互作用，该

阻抗传感器可重复使用且灵敏度高,其线性检测范围很宽,约为 $10^2\sim 10^7$ CFU (菌落形成单位)/mL,检测限低至 $80\sim 100$ CFU/mL [32]。EIS 技术同样是检测是否感染和改善病毒传染预后的高效方法之一,黄病毒包含了几十种病毒,诸如登革热病毒(DENV),寨卡病毒(ZIKV)和日本脑炎病毒(JEV)等[33], Ajeet Kaushik 等人使用功能化的金间位微电极(IDE-Au)阵列对寨卡病毒(ZIKV)特异性检测,将 ZIKV 特异性包膜蛋白抗体(Zev-Abs)固定在琥珀酰亚胺丙酸酯(DTSP)功能化的 IDE-Au 间隙中,通过 EIS 技术证实了传感芯片选择性地检测 ZIKV 蛋白,检测范围为 10 pmol 至 1 nmol ,检测限为 10 pmol ,灵敏度为 $12\text{ k}\Omega\cdot\text{M}^{-1}$ 。该传感器有望用于床旁护理设备的快速检测和 ZIKV 早期感染的检测需要[34]。而对于 19 年底爆发的 SARS-CoV-2 病毒, Razieh Salahandish 等人开发了一种手持阻抗双恒电位仪用于 SARS-CoV-2 病毒的检测,通过同时对两个传感装置进行并行信号读取,双平行生物传感作为自我验证,该传感器能够在 1 pg/mL 至 10000 pg/mL 的检测范围内同时检测 $1\sim 8$ 个蛋白质,LOD 低至 1 fg/mL ,并且因其极低的仪器成本(约 40 美元)、较快的检测速度(15 min 内)以及携带方便而普遍应用与各类疾病及新冠肺炎、SARS 的快速检测[9]。

3.2.4. 蛋白质检测

EIS 技术能够直接检测分析物分子受体,为检测生物标志物和病原体提供了快速有效的工具,因此同样能够应用于蛋白质的检测。Alsabbagh, K 等人提出了一种基于 EIS 技术的微流控芯片生物传感器,这种微流控芯片由用作底板的显微镜载玻片、溅射电极和聚二甲基硅氧烷(PDMS)微通道组成,将抗体吸附在工作电极上,用人血清蛋白 HAS (1000 ng/mL) 阻断剩余的吸附位点,在传感器表面修饰肌钙蛋白 I,该设备能够在数分钟内检测到 1 ng/mL 心脏生物标志物肌钙蛋白 I,证实了 EIS 技术在蛋白质检测方面的可行性[35]。 β -淀粉样蛋白(amyloid β -protein, A β)是阿尔茨海默病(AD)最重要的致病因素, Ping-Ghun Wang 等研究人员利用丝网印刷电极和 EIS 技术为基础开发了一种高效、无标记、低成本的 A β 免疫传感器,利用 4-氨基苯甲酸(4-ABA)制备生物传感器,通过恒电位法优化应用电位、电沉积时间和浓度,得到了更致密、均匀、稳定的 4-ABA 薄膜,并且在电极制备方面提供了一种高效碳打印的制造技术,该传感器检测范围能够达到 1 fg/mL 至 100 pg/mL ,检测极限为 3.84 fg/mL [36]。

3.2.5. 可抛型电极应用 EIS 技术在疾病检测的进展

可抛型电极因其生产方便、使用便捷、价格低廉的特点在疾病检测方面得到了很好的应用。Muhammad Omar Shaikh 等人利用聚苯胺/金纳米复合材料修饰丝网印刷电极的阻抗免疫传感器在慢性肾脏疾病早期检测方面取得了一定成效,该一次性电化学免疫传感器使用丝网印刷碳电极(SPCEs)在柔性对苯二甲酸乙二醇酯(PET)衬底上特异性检测人血清蛋白(HSA),这种以 PET 为衬底的电极可以一次性使用,在 $1\sim 10,000\text{ Hz}$ 的频率范围内均有特异性响应[37]。在基底材料的运用上, Panpan Gao 等制备了一种高导电性的即在纸上制备的激光诱导石墨烯(Paper LIG)应用于葡萄糖生物阻抗传感器, Paper LIG 制备的电极可以低成本且方便一次性使用,该传感器对葡萄糖浓度在 $100\sim 3000\text{ }\mu\text{mol/L}$ 范围内具有良好的响应,且线性关系良好($R^2 = 0.996$) [38]。

在应对癌症等疾病方面,由 Burçak Demirbakan 等研究人员开发的一种一次性 ITO-PET (氧化铟锡-聚对苯二甲酸乙二醇酯)电极的新型电化学免疫传感器,可以用于 PAK-2 (一种癌症生物标志物)的早期检测,该传感器使用了可以商业购买的一次性 ITO-PET (氧化铟锡-聚对苯二甲酸乙二醇酯)膜作为工作电极,并且创新地使用 EIS、CV、方波伏安法(SW)和单频阻抗(SFI)技术描述固定化过程并检测 PAK2 抗原,该传感器有着良好的检测范围($0.05\sim 2.5\text{ pg/mL}$)和较低检测限(0.0252 pg/mL),对人工和真实的人血清样本进行了测试也能够验证该免疫传感器的可行性[39]。

具备高检测限、廉价的一次性使用的电化学阻抗仪在应对重大流行病传播时能够起到重要作用。在

2019 年的新冠疫情当中,能否快速检测 SARS-CoV-2 病毒对疫情防控有着重要意义, H.F. El Sharif 等人通过电化学分子印迹技术将 SARS-CoV-2 病毒捕获到低成本的一次性丝网印刷电极表面上,通过还原电聚合技术将印有 SARS-CoV-2 假颗粒(pps)的电聚合分子印迹聚合物(E-MIPs)电化学沉积到丝网印刷电极上,原理是 SARS-CoV-2 病毒的 E-MIPs 对模板 SARS-CoV-2 pps 具有选择性,随后基于 EIS 技术分析能在两分钟之内生成 Nyquist 图,以区分阳性样本,证实了一次性可抛型电极在 SARS-CoV-2 病毒的检测与疾病传播控制上的应用[40]。

3.2.6. 健康监测

为了预防疾病的发生,人们越来越趋向于能够时刻了解自己的身体健康状况,运用 EIS 技术的人体穿戴设备能够应用于健康监测方面。如在应对青少年肥胖的健康问题方面, Burcu Özcan 提出了一种低成本、一次性、高灵敏度的生物传感系统,可以用来检测脂联素(一种肥胖生物标志物),运用了石墨纸(GP)作为一次性使用的工作电极,所设计的阻抗生物传感器具有较宽的脂联素检测范围(0.05~25 pg/mL)和较低的检测限(0.0033 pg/mL),并且有着很高的抗干扰能力,能够避免瘦素、肌酸激酶、甲状腺素以及 d-葡萄糖的干扰[41]。Nan Li 等人采用芳基重氮盐改性技术,在丝网印刷碳电极和玻璃碳电极表面共价固定抗体,这种基于一次性使用的丝网印刷碳电极(SPCEs)小型免疫传感器,可以避免 GCE 表面的交叉污染问题,并且能够高灵敏度地检测到皮摩尔范围内的生长激素(GH),运用电化学阻抗谱(EIS)技术,在仅使用 20 μ L 样品量时,该免疫传感器即可检测出低至 5 pg/mL 的生长激素,线性范围为 10 pg/mL 至 100 pg/mL [42]。

4. 研究展望

EIS 技术作为识别电极表征一种电化学技术,上述提到的研究内容能够证明其在生物传感器上的广泛运用,同时电极材料和制造工艺也是本文讨论的主题。基于金属、纳米碳等材料 and 不同类型的制造工艺,实现了 EIS 生物传感器的特异性、灵敏度以及即时检测的可行性, EIS 技术在医疗的各个方面展现出良好的前景,包括但不限于心血管疾病、癌症、细菌感染、病毒传播以及快速健康监测,该技术还提供可用于现场即时检测的功能。

目前相关研究仍处于探索阶段,构建实用效能最大化、仪器小型化的 EIS 传感器且可以应用于各类检测分析是未来的研究方向,文中提到的可抛型电化学阻抗仪已经在即时疾病诊疗、健康监测等方面得到了很好的应用。EIS 作为时下热门的分析技术,研究人员预测,基于一次性可抛型的生物传感系统将会集成到各种小型检测装置或者穿戴设备当中,以监测个人的日常健康状况。因此,对于可抛型或者更为简便使用的阻抗传感器还需要进一步的研究,以发展具有自动化和小型化特点的床旁检测系统。在未来,简便、低成本的 EIS 检测设备应该走出实验室,服务于医疗匮乏的地区。

基金项目

该论文受到国家自然科学基金(81202249)、江苏省六大人才高峰项目(2015-YY-008)和南通市科技项目(MS12019062 和 MS12017018-2 和“智能有机磷农残检测仪的关键技术研发”)的支持。

参考文献

- [1] Long, Q.X., et al. (2020) Antibody Responses to SARS-CoV-2 in Patients with COVID-19. *Nature Medicine*, **26**, 845-848. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0897-1>
- [2] Ghani, M.A.A., et al. (2022) Portable Electrochemical Biosensors Based on Microcontrollers for Detection of Viruses: A Review. *Biosensors*, **12**, Article 666. <https://doi.org/10.3390/bios12080666>
- [3] Herbst, K., et al. (2021) Colorimetric RT-LAMP and LAMP-Sequencing for Detecting SARS-CoV-2 RNA in Clinical

- Samples. *Bio-Protocol*, **11**, Article No. 3964. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.3964>
- [4] Li, S.-Y., *et al.* (2018) CRISPR-Cas12a-Assisted Nucleic Acid Detection. *Cell Discovery*, **4**, Article No. 20. <https://doi.org/10.1038/s41421-018-0028-z>
- [5] Coros, M., *et al.* (2019) Review—Recent Progress in the Graphene-Based Electrochemical Sensors and Biosensors. *Journal of the Electrochemical Society*, **167**, Article ID: 037528. <https://doi.org/10.1149/2.0282003JES>
- [6] Magar, H.S., *et al.* (2021) Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS): Principles, Construction and Biosensing Applications. *Sensors*, **21**, Article 6578. <https://doi.org/10.3390/s21196578>
- [7] Fasmin, F. and Srinivasan, R. (2017) Review—Nonlinear Electrochemical Impedance Spectroscopy. *Journal of the Electrochemical Society*, **164**, Article ID: H443. <https://doi.org/10.1149/2.0391707jes>
- [8] Brett, C.M.A. (2022) Electrochemical Impedance Spectroscopy in the Characterisation and Application of Modified Electrodes for Electrochemical Sensors and Biosensors. *Molecules*, **27**, Article 1497. <https://doi.org/10.3390/molecules27051497>
- [9] Salahandish, R., *et al.* (2022) A Compact, Low-Cost and Binary Sensing (BiSense) Platform for Noise-Free and Self-Validated Impedimetric Detection of COVID-19 Infected Patients. *Biosensors & Bioelectronics*, **213**, Article ID: 114459. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2022.114459>
- [10] Zhang, Y., *et al.* (2022) Electrochemical Biosensors for the Detection of SARS-CoV-2 Pathogen and Protein Biomarkers. *International Journal of Electrochemical Science*, **17**, Article No. 220541. <https://doi.org/10.20964/2022.05.13>
- [11] Dimcheva, N. (2020) Nanostructures of Noble Metals as Functional Materials in Biosensors. *Current Opinion in Electrochemistry*, **19**, 35-41. <https://doi.org/10.1016/j.coelec.2019.09.008>
- [12] Liustrovaite, V., *et al.* (2022) Towards an Electrochemical Immunosensor for the Detection of Antibodies against SARS-CoV-2 Spike Protein. *Journal of the Electrochemical Society*, **169**, Article ID: 037523. <https://doi.org/10.1149/1945-7111/ac5d91>
- [13] Wcislo, A., *et al.* (2021) Label-Free Electrochemical Test of Protease Interaction with a Peptide Substrate Modified Gold Electrode. *Chemosensors*, **9**, Article 199. <https://doi.org/10.3390/chemosensors9080199>
- [14] Ates, M., Eker, A.A. and Eker, B. (2017) Carbon Nanotube-Based Nanocomposites and Their Applications. *Journal of Adhesion Science and Technology*, **18**, 1977-1997. <https://doi.org/10.1080/01694243.2017.1295625>
- [15] Rocha, G.S., *et al.* (2020) Reduced Graphene Oxide-Based Impedimetric Immunosensor for Detection of Enterotoxin A in Milk Samples. *Materials*, **13**, Article 1751. <https://doi.org/10.3390/ma13071751>
- [16] Wang, R., Feng, J.-J., Xue, Y., Wu, L. and Wang, A.-J. (2018) A Label-Free Electrochemical Immunosensor Based on AgPt Nanorings Supported on Reduced Graphene Oxide for Ultrasensitive Analysis of Tumor Marker. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **254**, 1174-1181. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.08.009>
- [17] Tajik, S., *et al.* (2020) Recent Developments in Conducting Polymers: Applications for Electrochemistry. *RSC Advances*, **10**, 37834-37856. <https://doi.org/10.1039/D0RA06160C>
- [18] Antony, N., Mohanty, S. and Nayak, S.K. (2020) Electrochemical Inspection of Polypyrrole/Chitosan/Zinc Oxide Hybrid Composites. *Journal of Applied Polymer Science*, **137**, Article ID: 45961. <https://doi.org/10.1002/app.49561>
- [19] Beygisangchin, M., *et al.* (2021) Preparations, Properties and Applications of Polyaniline and Polyaniline Thin Films—A Review. *Polymers*, **13**, Article 2003. <https://doi.org/10.3390/polym13122003>
- [20] De Oliveira Farias, E.A., *et al.* (2017) A Thin PANI and Carrageenan-Gold Nanoparticle Film on a Flexible Gold Electrode as a Conductive and Low-Cost Platform for Sensing in a Physiological Environment. *Journal of Materials Science*, **23**, 13365-13377. <https://doi.org/10.1007/s10853-017-1438-2>
- [21] Suni, I.I. (2021) Substrate Materials for Biomolecular Immobilization within Electrochemical Biosensors. *Biosensors*, **11**, Article 239. <https://doi.org/10.3390/bios11070239>
- [22] Sharma, A., *et al.* (2017) Disposable and Portable Aptamer Functionalized Impedimetric Sensor for Detection of Kanamycin Residue in Milk Sample. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **245**, 507-515. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.02.002>
- [23] Li, J., Rossignol, F. and Macdonald, J. (2015) Inkjet Printing for Biosensor Fabrication: Combining Chemistry and Technology for Advanced Manufacturing. *Lab on a Chip*, **12**, 2538-2558. <https://doi.org/10.1039/C5LC00235D>
- [24] Khan, N.I., Maddaus, A.G. and Song, E. (2018) A Low-Cost Inkjet-Printed Aptamer-Based Electrochemical Biosensor for the Selective Detection of Lysozyme. *Biosensors*, **8**, Article 7. <https://doi.org/10.3390/bios8010007>
- [25] Ambaye, A.D., *et al.* (2021) Recent Developments in Nanotechnology-Based Printing Electrode Systems for Electrochemical Sensors. *Talanta*, **225**, Article ID: 121951. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121951>
- [26] Katseli, V., Economou, A. and Kokkinos, C. (2019) Single-Step Fabrication of an Integrated 3D-Printed Device for Electrochemical Sensing Applications. *Electrochemistry Communications*, **103**, 100-103.

- <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2019.05.008>
- [27] Gutiérrez-Capitán, M., Baldi, A. and Fernández-Sánchez, C. (2020) Electrochemical Paper-Based Biosensor Devices for Rapid Detection of Biomarkers. *Sensors*, **20**, Article 967. <https://doi.org/10.3390/s20040967>
- [28] Tanisellass, S., Md Arshad, M.K., Gopinath, S.C.B., Fathil, M.F.M., Ibaou, C. and Anbu, P. (2021) Impedimetric Cardiac Biomarker Determination in Serum Mediated by Epoxy and Hydroxyl of Reduced Graphene Oxide on Gold Array Microelectrodes. *Microchimica Acta*, **188**, Article No. 257. <https://doi.org/10.1007/s00604-021-04922-x>
- [29] Yoo, S.S., *et al.* (2020) Controlling Inter-Sheet-Distance in Reduced Graphene Oxide Electrodes for Highly Sensitive Electrochemical Impedimetric Sensing of Myoglobin. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **305**, Article ID: 127477. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.127477>
- [30] Jozghorbani, M., Fathi, M., Kazemi, S.H. and Alinejadian, N. (2021) Determination of Carcinoembryonic Antigen as a Tumor Marker Using a Novel Graphene-Based Label-Free Electrochemical Immunosensor. *Analytical Biochemistry*, **613**, Article ID: 114017. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2020.114017>
- [31] Kongsuphol, P., *et al.* (2014) EIS-Based Biosensor for Ultra-Sensitive Detection of TNF- α from Non-Diluted Human Serum. *Biosensors & Bioelectronics*, **61**, 274-279. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.05.017>
- [32] Singh, S., *et al.* (2019) Vancomycin Functionalized WO₃ Thin Film-Based Impedance Sensor for Efficient Capture and Highly Selective Detection of Gram-Positive Bacteria. *Biosensors & Bioelectronics*, **136**, 23-30. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.04.029>
- [33] Khristunova, E., *et al.* (2020) Label-Free Electrochemical Biosensors for the Determination of Flaviviruses: Dengue, Zika and Japanese Encephalitis. *Sensors*, **20**, Article 4600. <https://doi.org/10.3390/s20164600>
- [34] Kaushik, A., *et al.* (2018) A Sensitive Electrochemical Immunosensor for Label-Free Detection of Zika-Virus Protein. *Scientific Reports*, **8**, Article No. 9700. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28035-3>
- [35] Alsabbagh, K., *et al.* (2021) Microfluidic Impedance Biosensor Chips Using Sensing Layers Based on DNA-Based Self-Assembled Monolayers for Label-Free Detection of Proteins. *Biosensors*, **11**, Article 80. <https://doi.org/10.3390/bios11030080>
- [36] Wang, P.-G., *et al.* (2023) Application of Aminobenzoic Acid Electrodeposited Screen-Printed Carbon Electrode in the Beta-Amyloid Electrochemical Impedance Spectroscopy Immunoassay. *Talanta*, **254**, 124154-124154. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.124154>
- [37] Shaikh, M.O., Srikanth, B., Zhu, P.-Y. and Chuang, C.-H. (2019) Impedimetric Immunosensor Utilizing Polyaniline/Gold Nanocomposite-Modified Screen-Printed Electrodes for Early Detection of Chronic Kidney Disease. *Sensors*, **19**, Article 3990. <https://doi.org/10.3390/s19183990>
- [38] Gao, P., *et al.* (2022) A Mediated Enzymatic Electrochemical Sensor Using Paper-Based Laser-Induced Graphene. *Biosensors*, **12**, Article 995. <https://doi.org/10.3390/bios12110995>
- [39] Demirbakan, B. and Sezginturk, M.K. (2019) A Novel Electrochemical Immunosensor Based on Disposable ITO-PET Electrodes for Sensitive Detection of PAK 2 Antigen. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **848**, Article ID: 113304. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2019.113304>
- [40] El Sharif, H.F., *et al.* (2022) Evaluation of Electropolymerized Molecularly Imprinted Polymers (E-MIPs) on Disposable Electrodes for Detection of SARS-CoV-2 in Saliva. *Analytica Chimica Acta*, **1206**, Article ID: 339777. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.339777>
- [41] Özcan, B. and Sezgintürk, M.K. (2021) Highly Sensitive and Single-Use Biosensing System Based on a GP Electrode for Analysis of Adiponectin, an Obesity Biomarker. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, **8**, 3658-3668. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.1c00094>
- [42] Li, N., *et al.* (2019) Diazonium-Modified Screen-Printed Electrodes for Immunosensing Growth Hormone in Blood Samples. *Biosensors*, **9**, Article 88. <https://doi.org/10.3390/bios9030088>