



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101765766 B

(45) 授权公告日 2014. 03. 19

(21) 申请号 200880019224. X

(22) 申请日 2008. 06. 06

(30) 优先权数据

60/942, 646 2007. 06. 07 US

60/942, 644 2007. 06. 07 US

60/942, 641 2007. 06. 07 US

60/949, 805 2007. 07. 13 US

12/049, 230 2008. 03. 14 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2009. 12. 07

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2008/066165 2008. 06. 06

(87) PCT国际申请的公布数据

W02008/154409 EN 2008. 12. 18

(73) 专利权人 传感器创新公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 C·R·卡恩 E·万 V·诺维尔

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

代理人 陈文平 尚继栋

(51) Int. Cl.

G01N 27/403 (2006. 01)

(56) 对比文件

US 5223117 A, 1993. 06. 29, 图1, 说明书第1栏第38-48行、第42-51行, 第4栏第10-11行、第23-38行, 第6栏第28-37行, 权利要求11, 第7栏倒数第1-2行, 第2栏第9-11行, 第3栏第19-23行.

US 5223117 A, 1993. 06. 29, 图1, 说明书第1栏第38-48行、第42-51行, 第4栏第10-11行、第23-38行, 第6栏第28-37行, 权利要求11, 第7栏倒数第1-2行, 第2栏第9-11行, 第3栏第19-23行.

US 2003081463 A1, 2003. 05. 01, 图2, 说明书第0120段, 第0010段第1-3行、第8-9行, 第0032段第8-10行, 第0122段第3-7行, 第0091段第1-2行, 第0092段, 第0027段第9-12行, 第12栏第1-2行, 第0009段第4-17行.

US 4717673 A, 1988. 01. 05, 全文.

US 4936956 A, 1990. 06. 26, 全文.

W0 2005066618 A1, 2005. 07. 21, 全文.

审查员 翟千里

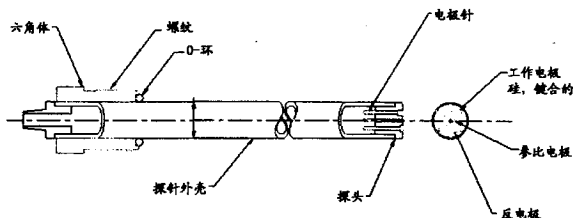
权利要求书6页 说明书41页 附图17页

(54) 发明名称

半导体电化学传感器

(57) 摘要

本文描述了与测定样品中的分析物如氢离子的浓度有关的衬底、传感器和系统。其还原和/或氧化电位对分析物的存在敏感的氧化还原活性部分被固定到半导体表面上。固定的其还原和/或氧化电位对该分析物不敏感的氧化还原活性部分可用于参比。使用这些修饰的半导体表面进行的伏安测量可以精确地确定目标样品中分析物的存在和/或浓度。本发明的半导体电化学传感器是坚固的, 并且可以不需要校准或再校准。



CN 101765766 B

1. 一种用于检测分析物的存在的传感器,包括:  
具有其上固定有氧化还原活性部分的表面的半导体电极,其中该氧化还原活性部分显示对所述分析物的存在敏感的氧化电位和 / 或还原电位,并且所述氧化还原活性部分通过半导体-碳键共价结合至所述表面。
2. 权利要求 1 的传感器,其中所述分析物是氢离子,并且所述氧化还原活性部分对氢离子浓度敏感。
3. 权利要求 1 的传感器,其中所述传感器包括多种氧化还原活性部分,其中至少一种氧化还原活性部分对分析物的存在敏感,并且至少另外一种氧化还原活性部分对所述分析物的存在基本不敏感。
4. 权利要求 3 的传感器,其中所述分析物是氢离子,并且对氢离子的存在基本不敏感的部分具有选自二茂铁、聚乙烯基二茂铁、紫精、聚紫精和聚噻吩的取代基。
5. 权利要求 4 的传感器,其中对氢离子的存在基本不敏感的部分是二茂铁或二茂铁的衍生物。
6. 权利要求 1 的传感器,其中分析物是氢,并且对氢离子的存在敏感的氧化还原活性部分包含选自蒽类、醌类、蒽醌类、菲醌类、苯二胺类、儿茶酚类、吩噻嗪染料、单季铵化的 N-烷基-4,4'-联吡啶、 $\text{RuO}_x$  和  $\text{Ni}(\text{OH})_2$  的取代基。
7. 权利要求 6 的传感器,其中对氢离子的存在敏感的氧化还原活性部分包括含有蒽的取代基。
8. 权利要求 6 的传感器,其中对氢离子的存在敏感的氧化还原活性部分包括含有蒽醌或菲醌的取代基。
9. 权利要求 1 的传感器,其中对分析物的存在敏感的氧化还原活性部分对该分析物的浓度敏感。
10. 权利要求 9 的传感器,其中所述氧化还原活性部分的氧化电位和 / 或还原电位对  $10^{-3}\text{M}$  至  $10^{-10}\text{M}$  范围内的分析物浓度敏感。
11. 权利要求 10 的传感器,其中所述氧化还原活性部分的氧化电位和 / 或还原电位对  $10^{-1}\text{M}$  至  $10^{-14}\text{M}$  范围内的分析物浓度敏感。
12. 权利要求 11 的传感器,其中所述传感器检测 pH3 至 pH10 的氢离子浓度。
13. 权利要求 11 的传感器,其中所述传感器检测 pH1 至 pH14 的氢离子浓度。
14. 权利要求 11 的传感器,其中所述传感器在  $\pm 0.1\text{pH}$  单位的精确度内测定氢离子浓度。
15. 权利要求 11 的传感器,其中所述传感器在  $\pm 0.01\text{pH}$  单位的精确度内测定氢离子浓度。
16. 权利要求 1 的传感器,其中所述氧化还原活性部分与电极的表面共价结合。
17. 权利要求 1 的传感器,其中所述氧化还原活性部分与固定在电极表面上的聚合物结合。
18. 权利要求 1 的传感器,其中所述半导体电极是掺杂的。
19. 权利要求 18 的传感器,其中所述半导体电极是 P- 掺杂的。
20. 权利要求 19 的传感器,其中所述半导体电极包括掺杂硼的硅电极。
21. 权利要求 18 的传感器,其中所述半导体电极是 N- 掺杂的。

22. 权利要求 21 的传感器,其中所述半导体电极包括掺杂磷的硅电极。
23. 权利要求 1 的传感器,其中所述半导体电极包括单晶硅。
24. 权利要求 1 的传感器,其中所述半导体电极包括复合电极,所述复合电极包含在基质中的半导体颗粒。
25. 权利要求 24 的传感器,其中所述半导体电极包括结合到导电衬底上的复合电极。
26. 权利要求 25 的传感器,其中所述半导体颗粒的存在量使得跨复合电极产生导电通路。
27. 权利要求 1 的传感器,其中所述电极包含硅。
28. 权利要求 1 的传感器,其中所述电极包含未抛光的硅。
29. 权利要求 1 的传感器,其中所述电极包含抛光的硅。
30. 权利要求 1 的传感器,其中所述半导体电极具有  $0.01-1000 \Omega\text{-cm}$  范围内的电阻率。
31. 权利要求 1 的传感器,其中所述半导体电极具有  $1-100 \Omega\text{-cm}$  范围内的电阻率。
32. 权利要求 3 的传感器,其中所述传感器能够测定分析物浓度,而不需要用外标准校准。
33. 权利要求 32 的传感器,其中所述传感器在最终用户第一次使用后不需要校准而仍保持对分析物敏感。
34. 权利要求 32 的传感器,其中所述分析物是氢离子,并且所述传感器在暴露于细胞培养基至少 6 天后保持对氢离子敏感。
35. 权利要求 34 的传感器,其中所述传感器在暴露于细胞培养基至少 6 天后能够以  $\pm 0.2$  单位的精确度测量 pH。
36. 权利要求 1 的传感器,其中所述分析物是氢离子,并且所述传感器在  $121^\circ\text{C}$  高压灭菌处理 40 分钟后能够以  $\pm 0.2$  单位的精确度测量 pH。
37. 权利要求 36 的传感器,其中所述传感器在  $121^\circ\text{C}$  高压灭菌处理 400 分钟后能够以  $\pm 0.2$  单位的精确度测量 pH。
38. 权利要求 1 的传感器,其中半导体衬底具有多个区域,其中至少第一区域对分析物敏感,并且第二区域对分析物不敏感。
39. 一种分析物感测系统,包括:
  - (a) 具有其上固定有氧化还原活性部分的半导体表面的工作电极,其中该氧化还原活性部分具有对所述分析物的存在敏感的氧化电位和 / 或还原电位,并且所述氧化还原活性部分通过半导体 - 碳键共价结合至所述半导体表面;
  - (b) 反电极和任选的参比电极;
  - (c) 用于向工作电极提供多个电位的源;和
  - (d) 用于测量在多个电位下通过工作电极的电流的装置。
40. 权利要求 39 的系统,进一步包括包含第二半导体衬底的第二工作电极,该第二半导体衬底包含具有对所述分析物的存在不敏感的氧化电位和 / 或还原电位的第二氧化还原活性部分。
41. 权利要求 39 的系统,其中用于提供多个电位的源是能够为方波伏安法施加方波的恒电位仪。
42. 权利要求 41 的系统,进一步包括与测量电流的装置通讯并且由测量的在多个电位

下的电流计算还原或氧化电位的计算系统。

43. 权利要求 42 的系统,其中该系统用作过程中的在线传感器。

44. 权利要求 43 的系统,其中所述测量的在多个电位下的电流用来确定分析物浓度,并且确定的分析物浓度用来控制过程参数。

45. 权利要求 39 的系统,其中所述分析物感测系统在  $\pm 0.1$  pH 单位的精确度内测定氢离子浓度。

46. 权利要求 39 的系统,其中所述分析物感测系统在  $\pm 0.01$  pH 单位的精确度内测定氢离子浓度。

47. 权利要求 40 的系统,其中所述分析物感测系统能够测定分析物浓度,而不需要用到外标准校准。

48. 权利要求 40 的系统,其中所述分析物感测系统在最终用户第一次使用后不需要校准而仍保持对分析物敏感。

49. 权利要求 40 的系统,其中所述分析物是氢离子,并且所述分析物感测系统在暴露于细胞培养基至少 6 天后保持对氢离子敏感。

50. 权利要求 49 的系统,其中所述分析物感测系统在暴露于细胞培养基至少 6 天后能够以  $\pm 0.2$  单位的精确度测量 pH。

51. 权利要求 40 的系统,其中所述分析物是氢离子,并且所述分析物感测系统在  $121^\circ\text{C}$  高压灭菌处理 40 分钟后能够以  $\pm 0.2$  单位的精确度测量 pH。

52. 权利要求 51 的系统,其中所述分析物感测系统在  $121^\circ\text{C}$  高压灭菌处理 400 分钟后能够以  $\pm 0.2$  单位的精确度测量 pH。

53. 一种具有表面的半导体衬底,其中该表面包括固定在其上的氧化还原活性部分,所述氧化还原活性部分显示对分析物的存在敏感的氧化电位和 / 或还原电位,并且所述氧化还原活性部分通过半导体 - 碳键共价结合至所述表面。

54. 权利要求 53 的半导体衬底,其中在其上面还固定有具有对所述分析物的存在基本不敏感的氧化电位和 / 或还原电位的第二氧化还原活性部分。

55. 权利要求 53 的半导体衬底,其中所述分析物是离子。

56. 权利要求 53 的半导体衬底,其中所述分析物是氢离子。

57. 权利要求 53 的半导体衬底,其中所述半导体包括无机半导体。

58. 权利要求 53 的半导体衬底,其中所述半导体包括有机半导体。

59. 权利要求 57 的半导体衬底,其中所述无机半导体包括硅或砷化镓。

60. 权利要求 58 的半导体衬底,其中所述有机半导体包括聚乙炔、聚噻吩或聚吡咯。

61. 权利要求 53 的半导体衬底,其中所述半导体包括硅。

62. 权利要求 53 的半导体衬底,其中所述半导体包括未抛光的硅。

63. 权利要求 53 的半导体衬底,其中所述半导体包括抛光的硅。

64. 权利要求 53 的半导体衬底,其中所述氧化还原活性部分直接结合到所述表面上。

65. 权利要求 64 的半导体衬底,其中所述氧化还原活性部分共价结合到所述表面上。

66. 权利要求 64 的半导体衬底,其中所述氧化还原活性部分通过连接体共价结合到所述表面上。

67. 权利要求 53 的半导体衬底,其中所述氧化还原活性部分与固定在半导体衬底表面

上的聚合物共价结合。

68. 权利要求 67 的半导体衬底,其中所述氧化还原活性部分与共价结合到半导体衬底表面上的聚合物共价结合。

69. 权利要求 53 的半导体衬底,其中所述半导体是掺杂的。

70. 权利要求 69 的半导体衬底,其中所述半导体是 N- 掺杂的。

71. 权利要求 69 的半导体衬底,其中所述半导体是 P- 掺杂的。

72. 权利要求 53 的半导体衬底,其中所述衬底包括晶体硅,其中所述表面主要显示一个晶面。

73. 权利要求 53 的半导体衬底,其中所述衬底具有多个区域,其中每个区域包括固定在其上的氧化还原活性部分,所述氧化还原活性部分显示对分析物的存在敏感的氧化电位和 / 或还原电位。

74. 权利要求 73 的半导体衬底,其中第一区域包括对第一分析物敏感的氧化还原部分,并且第二区域包括对第二分析物敏感的氧化还原部分。

75. 权利要求 54 的半导体衬底,进一步包括显示对第二分析物的存在敏感的氧化电位和 / 或还原电位的第三氧化还原活性部分。

76. 权利要求 75 的半导体衬底,其中所述第二分析物是氨、氧或二氧化碳。

77. 一种形成对分析物敏感的半导体电极的方法,所述电极具有一个表面,该方法包括:

向该表面上固定对分析物的存在敏感的氧化还原活性部分,其中所述氧化还原活性部分通过半导体-碳键共价结合至所述表面。

78. 权利要求 77 的方法,其中固定氧化还原活性部分使得该氧化还原活性部分共价结合到所述表面上。

79. 权利要求 78 的方法,其中所述氧化还原活性部分通过连接体共价结合到所述表面上。

80. 权利要求 77 的方法,其中固定氧化还原活性部分包括氢化硅烷化、自由基反应、碳二亚胺偶合、第尔斯-阿尔德反应、迈克尔加成或点击化学。

81. 权利要求 77 的方法,其中所述氧化还原活性部分与固定在所述表面上的聚合物共价结合。

82. 权利要求 77 的方法,其中所述固定步骤包括聚合作用,包括包含氧化还原活性部分的单体或低聚物。

83. 权利要求 82 的方法,其中包含氧化还原活性部分的单体或低聚物的聚合作用包括与共价结合到所述表面上的官能团的反应,由此通过聚合作用形成的聚合物共价结合到所述表面上。

84. 权利要求 82 的方法,其中所述单体或低聚物电聚合到所述表面上。

85. 权利要求 81 的方法,其中所述固定步骤包括将聚合物涂覆或铸造到所述表面上。

86. 权利要求 77 的方法,其中所述表面包括复合电极,该复合电极包含在基质内的半导体颗粒。

87. 一种形成用一种或多种氧化还原活性部分衍生化的半导体表面的方法,包括:

使 H- 封端的半导体表面接触一种或多种氧化还原活性部分,其中至少一种氧化还原

活性部分对分析物的存在敏感,并且其中每个氧化还原活性部分都包含将与 H- 封端的半导体表面反应形成共价键的官能团,从而形成衍生化的半导体表面,并且所述至少一种对分析物的存在敏感的氧化还原活性部分通过半导体-碳键共价结合至所述半导体表面。

88. 权利要求 87 的方法,其中所述半导体表面包括硅。

89. 权利要求 87 的方法,其中至少使用两种氧化还原活性部分,并且这些氧化还原活性部分中的一种对分析物的存在不敏感。

90. 权利要求 87 的方法,其中所述 H- 封端的半导体表面是通过用氢氟酸处理而形成的。

91. 权利要求 87 的方法,其中所述官能团是乙烯基。

92. 权利要求 87 的方法,其中所述官能团是醛基。

93. 权利要求 87 的方法,其中所述官能团是重氮基。

94. 一种测定分析物的浓度的方法,包括:

(a) 放置电极使其接触所述分析物,所述电极包括具有半导体表面的半导体衬底,该半导体表面上固定有对分析物敏感的氧化还原活性部分,所述对分析物敏感的氧化还原活性部分显示对所述分析物的浓度敏感的氧化电位和 / 或还原电位;

(b) 向该电极施加多个电位 ;和

(c) 测量在多个电位下通过该电极的电流,以确定对分析物敏感的氧化还原活性部分的还原和 / 或氧化电位,从而确定所述分析物的浓度,

其中所述对分析物敏感的氧化还原活性部分通过半导体-碳键共价结合至所述半导体表面。

95. 权利要求 94 的方法,其中多个电位下电流的测量提供了峰电流,从而使用该峰电流确定对分析物敏感的氧化还原活性部分的还原和 / 或氧化电位。

96. 权利要求 94 的方法,其中所述分析物是氢离子。

97. 权利要求 94 的方法,进一步包括结合到包含半导体衬底的电极上的对分析物不敏感的氧化还原活性部分,这种氧化还原活性部分具有对分析物基本不敏感的还原和 / 或氧化电位,进一步包括测量对分析物不敏感的氧化还原活性部分的氧化和 / 或还原电位,以及由对分析物敏感的部分和对分析物不敏感的部分的氧化和 / 或还原电位的差确定所述分析物的浓度。

98. 权利要求 94 的方法,其中所述分析物是在溶液中提供的。

99. 一种监测或控制水或废物处理过程的方法,包括:

(a) 用伏安 pH 传感器测量水或废物处理过程中的步骤的 pH 值,其中该 pH 传感器包括对氢离子浓度敏感的氧化还原活性部分和对氢离子基本不敏感的氧化还原活性部分 ;和

(b) 利用 pH 值监测或控制该处理过程,

其中所述对氢离子浓度敏感的氧化还原活性部分通过半导体-碳键共价结合至所述 pH 传感器的半导体电极表面。

100. 一种监测生物制药过程的方法,包括:

(a) 用伏安 pH 传感器测量生物制药过程中反应混合物的 pH 值,其中该 pH 传感器包括对氢离子浓度敏感的氧化还原活性部分,和对氢离子浓度基本不敏感的氧化还原活性部分,以获得 pH 值 ;和

(b) 利用 pH 值监测该生物制药过程，

其中所述对氢离子浓度敏感的氧化还原活性部分通过半导体 - 碳键共价结合至所述 pH 传感器的半导体电极表面。

101. 权利要求 100 的方法，其中对从反应混合物中获得的样品测量 pH 值。

102. 一种实施生物制药过程的反应器，其中该反应器包括 pH 传感器，该 pH 传感器具有对氢离子浓度敏感的氧化还原活性部分和对氢离子浓度基本不敏感的氧化还原活性部分，其中所述对氢离子浓度敏感的氧化还原活性部分通过半导体 - 碳键共价结合至所述 pH 传感器的半导体电极表面。

103. 权利要求 102 的反应器，其中所述 pH 传感器是伏安 pH 传感器。

104. 权利要求 102 的反应器，其中所述反应器是一次性生物反应器。

105. 权利要求 104 的反应器，其中所述反应器是生物过程挠性容器。

106. 一种实施工业过程的方法，包括：

(a) 使用伏安 pH 传感器测量工业过程的步骤的 pH 值，该伏安 pH 传感器具有对氢离子浓度敏感的氧化还原活性部分和对氢离子浓度基本不敏感的氧化还原活性部分；和

(b) 利用该 pH 值实施工业过程，

其中所述对氢离子浓度敏感的氧化还原活性部分通过半导体 - 碳键共价结合至所述 pH 传感器的半导体电极表面。

107. 一种用于测定体液中的离子浓度的传感器，包括：

设置为与体液接触的电极，所述电极包括其上固定有氧化还原活性部分的半导体表面，其中该氧化还原活性部分具有对所述离子的浓度敏感的氧化电位和 / 或还原电位，并且所述氧化还原活性部分通过半导体 - 碳键共价结合至所述半导体表面。

108. 一种测定体液中的浓度的方法，包括：

放置权利要求 107 的传感器使之接触体液；和

运行该传感器，以得到所述体液中存在的离子的浓度值。

109. 一种生物反应器，包括用于容纳反应混合物的贮存器和 pH 探针，其中该 pH 探针包括具有半导体表面的电极，该半导体表面上固定有具有对氢离子的存在敏感的还原和 / 或氧化电位的氧化还原活性部分，并且所述氧化还原活性部分通过半导体 - 碳键共价结合至所述半导体表面。

110. 权利要求 109 的生物反应器，其中所述探针进一步包括其上固定有具有对氢离子的存在不敏感的还原和 / 或氧化电位的氧化还原活性部分的半导体表面。

111. 权利要求 109 的生物反应器，其中所述其上固定有具有对氢离子的存在敏感的还原和 / 或氧化电位的氧化还原活性部分的半导体表面与其上固定有具有对氢离子的存在不敏感的还原和 / 或氧化电位的氧化还原活性部分的半导体表面相同。

112. 权利要求 109 的生物反应器，其中所述探针进一步包括反电极。

## 半导体电化学传感器

### [0001] 交叉引用

[0002] 本申请要求 2007 年 6 月 7 日提交的美国临时申请 60/942,646、2007 年 6 月 7 日提交的美国临时申请 60/942,644、2007 年 6 月 7 日提交的美国临时申请 60/942,641 和 2007 年 7 月 13 日提交的美国临时申请 60/949,805 的权益,所有这些申请都全文引入本文作为参考。

### [0003] 发明背景

[0004] 分析物浓度,特别是氢离子浓度或 pH 的测定在许多研究、工业和生产工艺中是重要的。例如,pH 的测量在食品和饮料、生物燃料、生物药物中以及在水和废物的处理中常规进行。

[0005] 许多常规 pH 传感器采用涉及使用玻璃电极测量 pH 的电位测定法。电位测定法具有几个缺点。电位传感器的一个限制是需要经常的校准。电位 pH 电极,象电池,倾向于随着时间和使用而衰减。随着电位电极老化,它的玻璃膜倾向于电阻改变,这随之又改变电极的电位。由于此原因,玻璃电极需要定期校准。需要经常再校准以提供精确的 pH 输出大大妨碍了其工业应用,特别是在需要持续的在线 pH 测量时。在含有生物材料的介质中进行 pH 测量的生物技术环境中,再校准特别麻烦。常规 pH 传感器的另一个重要的缺点是玻璃电极具有内部溶液,在有些情况下,这些内部溶液可能泄漏到所检测的溶液中。检测溶液中的物质例如蛋白质也可能会弄脏玻璃电极,使玻璃电极被污染。已开发了 ISFET 装置,该装置在硅表面上使用场效应晶体管结构来测量 pH(Bergveld Em 等人,IEEE Sensors Conference, Toronto, October, 2003, 1-26)。这些装置也具有限制。因此,仍然非常需要可靠的、一致的分析物传感器,特别是 pH 传感器。

### [0006] 引用参考

[0007] 本说明书中提到的所有出版物和专利申请都引入本文作为参考,如同每个单独的出版物或专利申请具体且分别地引入作为参考。

## 发明内容

[0008] 本发明的一个方面是用于检测分析物的存在的传感器,包括:具有其上固定有氧化还原活性部分的表面的半导体电极,其中该氧化还原活性部分显示对所述分析物的存在敏感的氧化电位和 / 或还原电位。在一些实施方式中,分析物是氢离子且氧化还原活性部分对氢离子浓度敏感。在一些实施方式中,传感器包括多种氧化还原活性部分,其中这些氧化还原活性部分中的至少一种对分析物的存在敏感,并且至少另外一种氧化还原活性部分对所述分析物的存在基本不敏感。

[0009] 在一些实施方式中,分析物是氢离子,并且所述对氢离子的存在基本不敏感的部分具有选自二茂铁、聚乙烯基二茂铁、紫精(viologen)、聚紫精(polyviologen)和聚噻吩的取代基。在一些实施方式中,对氢离子的存在基本不敏感的部分是二茂铁或二茂铁的衍生物。

[0010] 在一些实施方式中,分析物是氢,并且对氢离子的存在敏感的氧化还原活性部分



包括选自蒽类、醌类、蒹醌类、菲醌类、苯二胺类、儿茶酚类、吩噻嗪染料、单季铵化的 N- 烷基 -4,4' - 联吡啶鎓、RuO<sub>x</sub> 和 Ni(OH)<sub>2</sub> 的取代基。在一些实施方式中,对氢离子的存在敏感的氧化还原活性部分包括含有蒽的取代基。在一些实施方式中,对氢离子的存在敏感的氧化还原活性部分包括含有蒹醌或菲醌的取代基。

[0011] 在一些实施方式中,对分析物的存在敏感的氧化还原活性部分对该分析物的浓度敏感。在一些实施方式中,该氧化还原活性部分的氧化电位和 / 或还原电位对 10<sup>-3</sup>M 至 10<sup>-10</sup>M 范围内的分析物浓度敏感。在一些实施方式中,该氧化还原活性部分的氧化电位和 / 或还原电位对 10<sup>-1</sup>M 至 10<sup>-14</sup>M 范围内的分析物浓度敏感。在一些实施方式中,该传感器检测从 pH3 到 pH10 的氢离子浓度。在一些实施方式中,该传感器检测从 pH1 到 pH14 的氢离子浓度。

[0012] 在一些实施方式中,该传感器在 ±0.1pH 单位的精确度内检测氢离子浓度。在一些实施方式中,该传感器在 ±0.01pH 单位的精确度内检测氢离子浓度。

[0013] 在一些实施方式中,该氧化还原活性部分共价结合到电极的表面上。在一些实施方式中,该氧化还原活性部分与固定在电极表面上的聚合物结合。

[0014] 在一些实施方式中,所述半导体电极是掺杂的。在一些实施方式中,半导体电极是 P- 掺杂的。在一些实施方式中,该半导体电极包括掺杂有硼的硅电极。在一些实施方式中,该半导体电极是 N- 掺杂的。在一些实施方式中,该半导体电极包括掺杂有磷的硅电极。

[0015] 在一些实施方式中,该半导体电极包括单片硅。

[0016] 在一些实施方式中,该半导体电极包括复合电极,所述复合电极包含在基质中的半导体颗粒。在一些实施方式中,该半导体电极包括结合到导电衬底上的复合电极。在一些实施方式中,半导体颗粒的存在量使得穿过复合电极产生导电通路。

[0017] 在一些实施方式中,该电极包含硅。在一些实施方式中,该电极包含未抛光的硅。在一些实施方式中,该电极包含抛光的硅。

[0018] 在一些实施方式中,该半导体电极具有 0.01-1000 Ω-cm 范围内的电阻率。在一些实施方式中,该半导体电极具有 1-100 Ω-cm 范围内的电阻率。

[0019] 在一些实施方式中,该传感器不需要用外标准校准就能够测定分析物浓度。在一些实施方式中,该传感器在最终用户第一次使用后不需要校准而仍保持对分析物敏感。在一些实施方式中,分析物是氢离子,并且传感器在暴露于细胞培养基至少 6 天后保持对氢离子敏感。在一些实施方式中,传感器在暴露于细胞培养基至少 6 天后能够以 ±0.2 单位的精确度测量 pH。在一些实施方式中,分析物是氢离子,并且传感器在 121°C 高压灭菌处理 40 分钟后能够以 ±0.2 单位的精确度测量 pH。在一些实施方式中,传感器在 121°C 高压灭菌处理 400 分钟后能够以 ±0.2 单位的精确度测量 pH。

[0020] 在一些实施方式中,半导体衬底具有多个区,其中至少第一区域对分析物敏感,且第二区域对分析物不敏感。

[0021] 本发明的一个方面是一种分析物感测系统,包括:具有其上固定有氧化还原活性部分的半导体表面的工作电极,其中该氧化还原活性部分具有对所述分析物的存在敏感的氧化电位和 / 或还原电位;反电极和任选的参比电极;用于向工作电极提供多个电位的源;和用于测量在多个电位下通过工作电极的电流的装置。

[0022] 在一些实施方式中,本发明进一步包括包含第二半导体衬底的第二工作电极,该第二半导体衬底包含具有对所述分析物的存在不敏感的氧化电位和 / 或还原电位的第二

氧化还原活性部分。在一些实施方式中,用于提供多个电位的源是能够为方波伏安法提供方波的恒电位仪。

[0023] 在一些实施方式中,本发明进一步包括与测量电流的装置通讯并且由测量的多个电位下的电流计算还原或氧化电位的计算系统。

[0024] 在一些实施方式中,该系统用作过程中的在线传感器。

[0025] 在一些实施方式中,利用测量的多个电位下的电流确定分析物浓度,并且利用确定的分析物浓度控制过程参数。

[0026] 在一些实施方式中,传感器在  $\pm 0.1$  pH 单位的精确度内测定氢离子浓度。在一些实施方式中,传感器在  $\pm 0.01$  pH 单位的精确度内测定氢离子浓度。

[0027] 在一些实施方式中,传感器不需要用外标准校准就能够测定分析物浓度。在一些实施方式中,传感器在最终用户第一次使用后不需要校准而仍保持对分析物敏感。在一些实施方式中,分析物是氢离子,并且传感器在暴露于细胞培养基至少 6 天后保持对氢离子敏感。在一些实施方式中,传感器在暴露于细胞培养基至少 6 天后能够以  $\pm 0.2$  单位的精确度测量 pH。在一些实施方式中,分析物是氢离子,并且传感器在  $121^\circ\text{C}$  高压灭菌处理 40 分钟后能够以  $\pm 0.2$  单位的精确度测量 pH。在一些实施方式中,传感器在  $121^\circ\text{C}$  高压灭菌处理 400 分钟后能够以  $\pm 0.2$  单位的精确度测量 pH。

[0028] 本发明的一个方面是具有表面的半导体衬底,其中该表面包括固定在其上的氧化还原活性部分,所述氧化还原活性部分显示对分析物的存在敏感的氧化电位和 / 或还原电位。

[0029] 在一些实施方式中,在其上还固定有具有对分析物的存在基本不敏感的氧化电位和 / 或还原电位的第二氧化还原活性部分。

[0030] 在一些实施方式中,分析物是离子。在一些实施方式中,分析物是氢离子。

[0031] 在一些实施方式中,半导体包括无机半导体。在一些实施方式中,半导体包括有机半导体。在一些实施方式中,无机半导体包括硅或砷化镓。在一些实施方式中,有机半导体包括聚乙炔、聚噻吩或聚吡咯。

[0032] 在一些实施方式中,半导体包括硅。在一些实施方式中,半导体包括未抛光的硅。在一些实施方式中,半导体包括抛光的硅。

[0033] 在一些实施方式中,氧化还原活性部分直接结合到表面上。在一些实施方式中,氧化还原活性部分共价结合到表面上。在一些实施方式中,氧化还原活性部分通过连接体共价结合到表面上。在一些实施方式中,氧化还原活性部分与固定在半导体衬底表面上的聚合物共价结合。在一些实施方式中,氧化还原活性部分与共价结合到半导体衬底表面上的聚合物共价结合。

[0034] 在一些实施方式中,半导体是掺杂的。在一些实施方式中,半导体是 N- 掺杂的。在一些实施方式中,半导体是 P- 掺杂的。

[0035] 在一些实施方式中,衬底包括晶体硅,其中该表面显示主要一个晶面。

[0036] 在一些实施方式中,衬底具有多个区域,其中每个区域包括固定在其上的氧化还原活性部分,所述氧化还原活性部分显示对分析物的存在敏感的氧化电位和 / 或还原电位。在一些实施方式中,第一区域包括对第一分析物敏感的氧化还原部分,并且第二区域包括对第二分析物敏感的氧化还原部分。在一些实施方式中,本发明进一步包括显示对第二

分析物的存在敏感的氧化电位和 / 或还原电位的第三氧化还原活性部分。在一些实施方式中,第二分析物是氨、氧或二氧化碳。

[0037] 本发明的一个方面是一种形成对分析物敏感的半导体电极的方法,所述电极具有一个表面,该方法包括:向该表面上固定对分析物的存在敏感的氧化还原活性部分。在一些实施方式中,固定氧化还原活性部分使得该氧化还原活性部分共价结合到表面上。在一些实施方式中,氧化还原活性部分通过连接体共价结合到表面上。在一些实施方式中,固定氧化还原活性部分包括氢化硅烷化、自由基反应、碳二亚胺偶合、第尔斯-阿尔德反应、迈克尔加成或点击化学。

[0038] 在一些实施方式中,氧化还原活性部分与固定在表面上的聚合物共价结合。

[0039] 在一些实施方式中,固定步骤包括包含氧化还原活性部分的单体或低聚物的聚合作用。在一些实施方式中,包含氧化还原活性部分的单体或低聚物的聚合作用包括与共价结合到表面上的官能团的反应,由此通过聚合作用形成的聚合物共价结合到表面上。在一些实施方式中,单体或低聚物电聚合(electropolymerized)到表面上。

[0040] 在一些实施方式中,固定步骤包括将聚合物涂覆或铸造到表面上。

[0041] 在一些实施方式中,半导体表面包括复合电极,该复合电极包含在基质(matrix)内的半导体颗粒。

[0042] 本发明的一个方面是一种形成用一种或多种氧化还原活性部分衍生化的半导体表面的方法,包括:使H-封端的半导体表面接触一种或多种氧化还原活性部分,其中至少一种氧化还原活性部分对分析物的存在敏感,并且其中每个氧化还原活性部分都包含将与H-封端的半导体表面反应形成共价键的官能团,从而形成衍生化的半导体表面。

[0043] 在一些实施方式中,半导体表面包括硅。

[0044] 在一些实施方式中,至少使用两种氧化还原活性部分,并且其中一种氧化还原活性部分对分析物的存在不敏感。

[0045] 在一些实施方式中,H-封端的半导体表面是通过用氢氟酸处理形成的。

[0046] 在一些实施方式中,所述官能团是乙烯基。在一些实施方式中,官能团是醛基。在一些实施方式中,官能团是重氮基。

[0047] 本发明的一个方面是一种测定分析物的浓度的方法,包括放置电极使之接触所述分析物,所述电极包括具有半导体表面的半导体衬底,该半导体表面上固定有对分析物敏感的氧化还原活性部分,所述对分析物敏感的氧化还原活性部分显示对该分析物的浓度敏感的氧化电位和 / 或还原电位;向该电极施加多个电位;和测量在多个电位下通过该电极的电流,以确定对分析物敏感的氧化还原活性部分的还原和 / 或氧化电位,从而确定该分析物的浓度。

[0048] 在一些实施方式中,在多个电位下电流的测量提供了峰电流,从而使用该峰电流确定对分析物敏感的氧化还原活性部分的还原和 / 或氧化电位。

[0049] 在一些实施方式中,分析物是氢离子。

[0050] 在一些实施方式中,本发明进一步包括结合到包含半导体衬底的电极上的对分析物不敏感的氧化还原活性部分,这种氧化还原活性部分具有对分析物基本不敏感的还原和 / 或氧化电位,进一步包括测量对分析物不敏感的氧化还原活性部分的氧化和 / 或还原电位,以及由对分析物敏感的部分和对分析物不敏感的部分的氧化和 / 或还原电位的差确定

分析物的浓度。

[0051] 在一些实施方式中,分析物是在溶液中提供的。

[0052] 本发明的一个方面是一种方法,包括:用伏安 pH 传感器测量水或废物处理过程中的步骤的 pH 值,其中该 pH 传感器包括对氢离子浓度敏感的氧化还原活性部分和对氢离子基本不敏感的氧化还原活性部分;以及利用该 pH 值监测或控制处理过程。

[0053] 本发明的一个方面是一种方法,包括:用伏安 pH 传感器测量生物制药过程中反应混合物的 pH 值,其中该 pH 传感器包括对氢离子浓度敏感的氧化还原活性部分,和对氢离子浓度基本不敏感的氧化还原活性部分,以获得 pH 值;以及利用该 pH 值监测生物制药过程。

[0054] 在一些实施方式中,对从反应混合物中获得的样品测量 pH 值。

[0055] 本发明的一个方面是用于实施生物制药过程的反应器,其中该反应器包括 pH 传感器,该 pH 传感器具有对氢离子浓度敏感的氧化还原活性部分和对氢离子浓度基本不敏感的氧化还原活性部分。

[0056] 在一些实施方式中,pH 传感器是伏安 pH 传感器。

[0057] 在一些实施方式中,反应器是一次性生物反应器。在一些实施方式中,反应器是生物过程挠性容器 (bioprocess flexible container)。

[0058] 本发明的一个方面是一种实施工业过程的方法,包括:使用伏安 pH 传感器测量工业过程的步骤的 pH 值,该伏安 pH 传感器具有对氢离子浓度敏感的氧化还原活性部分和对氢离子浓度基本不敏感的氧化还原活性部分;以及利用该 pH 值实施工业过程。

[0059] 本发明的一个方面是一种用于测定体液中的离子浓度的传感器,包括:设置为与体液接触的电极,所述电极包括其上固定有氧化还原活性部分的半导体表面,其中该氧化还原活性部分具有对所述离子的浓度敏感的氧化电位和 / 或还原电位。

[0060] 本发明的一个方面是一种测定体液中的浓度的方法,包括:放置这种传感器使之接触体液;以及运行该传感器,以得到所述体液中存在的离子的浓度值。

[0061] 本发明的一个方面是一种生物反应器,包括用于容纳反应混合物的贮存器和 pH 探针,其中该 pH 探针包括具有半导体表面的电极,该半导体表面上固定有具有对氢离子的存在敏感的还原和 / 或氧化电位的氧化还原活性部分。

[0062] 在一些实施方式中,本发明进一步包括其上固定有具有对氢离子的存在不敏感的还原和 / 或氧化电位的氧化还原活性部分的半导体表面。

[0063] 在一些实施方式中,其上固定有具有对氢离子的存在敏感的还原和 / 或氧化电位的氧化还原活性部分的半导体表面与其上固定有具有对氢离子的存在不敏感的还原和 / 或氧化电位的氧化还原活性部分的半导体表面相同。在一些实施方式中,所述探针进一步包括反电极。

## 附图说明

[0064] 图 1(a) 为一张放大图,示出了在壳体组件中包括半导体电极传感器的本发明的实施方式。图 1(b) 显示包括半导体电极传感器的示例性的壳体组件。

[0065] 图 2 显示本发明的一个实施方式,其中包括与半导体电极传感器电连接的单位,并且包括提供多个电位的源和电流测量装置。

[0066] 图 3 显示本发明的一个实施方式,其包括用于测量反应器内的分析物的探针,该

探针包括两个工作硅电极。

[0067] 图 4 说明一种制备 H- 封端的硅表面 (Si-H) 的方法。

[0068] 图 5 说明通过共价连接用二茂铁部分、乙烯基-二茂铁 (VFc) 和二茂铁甲醛 (FcA) 对硅表面的衍生化。

[0069] 图 6 说明通过共价连接用蒽部分、乙烯基蒽 (VA) 和蒽醛 (AnA) 衍生化的硅表面。

[0070] 图 7 说明通过共价连接用蒽 (VA) 和二茂铁 (VFc) 部分两者衍生化的硅表面。

[0071] 图 8 显示示例性电化电池的示意图和图片。

[0072] 图 9 示出了方波伏安图,显示在 pH 1.23、4.61、7.33 和 9.33 的溶液时, pH 对 VFc 衍生化的硅样品的影响。

[0073] 图 10(a) 示出了方波伏安图,显示在 pH 1.23、4.61、7.33 和 9.33 的溶液时, pH 对 VA 衍生化的硅样品的影响。图 10(b) 显示使用 VA 衍生化的硅样品获得的峰电位对 pH 的图。

[0074] 图 11 显示:(a) 方波伏安图,显示在 pH 1.23、4.65、5.52 和 9.52 的溶液时, pH 对 VA+VFc 衍生化的硅样品的影响;和 (b) 使用 VA+VFc 衍生化的硅样品获得的峰电位差对 pH 的图。

[0075] 图 12 示出了方波伏安图,显示 10 个高压灭菌循环对 FcA+VA 衍生化的硅样品的影响。电化学测量在高压灭菌之前及之后在 pH6.52 缓冲液中进行。

[0076] 图 13 示出了方波伏安图,显示 FcA+AnA 衍生化的硅样品上的最小污染。对于 4 种不同的 FcA+AnA 衍生化的硅样品 (a)、(b)、(c) 和 (d),在暴露于细胞培养物中之前及 6 天后在 pH 6.52 缓冲液中进行电化学测量。

[0077] 图 14 显示在灭菌和 6 天暴露后,在细胞培养基中用 FcA+AnA 衍生化的硅样品获得的方波伏安图。

[0078] 图 15(a) 显示在 pH 7.33 缓冲介质中, FcA 对 Si (100, N- 型, 1-5mΩ cm) 的方波伏安响应,显示 2,500 次连续运行的每第 50 次扫描;图 15(b) 显示在 pH 7.33 缓冲介质中, VFc 对 Si (111, N- 型, 0.02-0.05Ω cm) 的伏安响应,显示 2,500 次连续运行的每第 50 次扫描。

[0079] 图 16 显示在各种温度 (8、17、28、44、56°C) 下在 pH 7.33 缓冲液介质中 Ac 衍生化的硅表面的方波伏安响应。

[0080] 图 17 是包括硅基伏安传感器的本发明生物反应器的一个实施方式的图。

[0081] 图 18(a) 显示在细胞培养基中的 7 天期间,在蒽衍生化的硅传感器上采集的伏安图 (10,000 次连续运行的每第 250 次扫描)。图 18(b) 显示 7 天期间蒽峰电位的图。

[0082] 图 19 中的图显示对于四种类型的掺杂硅,在 pH 1.63 溶液中,用 (a) 乙烯基二茂铁和 (b) 二茂铁甲醛衍生化的硅衬底的峰电流。

[0083] 图 20 显示用具有乙烯基二茂铁衍生化的高掺杂 N- 型硅和蒽甲醛衍生化的轻掺杂 P- 型硅的四电极系统获得的方波伏安图。

[0084] 图 21 显示本发明的探针的示例性实施方式,其具有四电极构造,具有环状参比电极 (RE) 和环状反电极 (CE)。图 21(a) 是阴影图,图 21(b) 是线条图。

[0085] 发明详述

[0086] 本发明涉及用于生产和使用作为传感器的用氧化还原活性剂修饰的半导体电极

的组合物、装置、系统和方法。所述装置和系统特别可用于伏安法测定目标分析物的浓度。本发明的传感器采用在其表面上含有氧化还原活性物质的半导体电极。半导体表面上的至少一种氧化还原活性物质具有对目标分析物的存在和 / 或量敏感的氧化还原电位（还原电位或氧化电位）。伏安法可以在半导体电极上进行，并且用来测量电极表面上对分析物敏感的氧化还原基团的氧化还原电位。然后可以用氧化还原电位的测量值确定分析物（例如溶液中的分析物）的浓度。在一些实施方式中，本发明的半导体电极具有一种以上的氧化还原活性物质。在一个方面，至少一种氧化还原活性物质对分析物敏感，而另一种氧化还原活性物质对分析物的存在不敏感。本发明的另一方面涉及使用所述装置或系统对氢离子浓度或 pH 的测量。本发明的表面修饰的半导体传感器可以用来测量多种溶液的 pH。本发明的表面修饰的传感器是坚固的、可靠的、精确的，和 / 或可以制成不需要校准。

[0087] 半导体作为用于本发明的方法的衬底和传感器具有优点。半导体表面，例如，无机半导体，如硅，和有机半导体，可能适合表面修饰，例如共价修饰。半导体通常具有电子带结构，其特征例如可以通过掺杂来改变。在有些情况中，使用的半导体是硅。使用硅作为衬底和电极的一个优点是硅适合大量生产。特别是，容易获得低成本大量生产硅电极的半导体加工技术。另外，现有的半导体加工技术可以将电子功能性集成到包含硅电极的材料中。硅的另一个优点是它可以与例如碳、氮、氧形成强共价键，从而允许以预期用途所需的方式容易和有效地修饰表面。例如，可以修饰硅表面，以连接任何合适的氧化还原活性剂。硅也是用于实施伏安法测量的有利的表面，因为它对于宽范围电位稳定，而不经历降解。

[0088] 本发明的一个方面是能够以最少的干预可靠地和一致地测定分析物浓度的表面修饰的半导体氧化还原传感器。本发明的一个方面是不需要校准或再校准的半导体氧化还原传感器。对于分析物测定，例如对于在线监测，感测分析物如氢离子而不需要校准的能力具有许多优点。例如，它便于操作者处理以进行单点测量。在一些实施方式中，本发明的传感器包括在操作者独立的在线控制测量中。这种在线测量可以独立于操作者进行，并且能够用于过程控制，例如用于过程控制的 pH 测量。所述传感器可以设置为提供分析物的实时测量，包括但不限于氢离子浓度的实时测量。

[0089] 半导体衬底

[0090] 半导体衬底可以包括任何合适的半导体材料，包括本领域已知的和本文描述的材料。半导体衬底可以是无机半导体或有机半导体。半导体衬底可以是掺杂的或未掺杂的。在一些实施方式中，半导体衬底包含硅。

[0091] 本发明的半导体衬底通常是具有介于导体和绝缘体之间的导电性的固体材料。导电性可以永久地或动态地在宽范围内变化。

[0092] 本发明的无机半导体衬底可以包括，例如，IV 族元素半导体，如金刚石 (C)、硅 (Si)、锗 (Ge)；IV 族化合物半导体，如碳化硅 (SiC)、锗化硅 (SiGe)；III-V 族半导体，如锑化铝 (AlSb)、砷化铝 (AlAs)、氮化铝 (AlN)、磷化铝 (AlP)、氮化硼 (BN)、磷化硼 (BP)、砷化硼 (BAs)、铟化镓 (GaSb)、砷化镓 (GaAs)、氮化镓 (GaN)、磷化镓 (GaP)、铟化铟 (InSb)、砷化铟 (InAs)、氮化铟 (InN)、磷化铟 (InP)；III-V 族三元半导体合金，如砷化铝镓 (AlGaAs)、 $Al_xGa_{1-x}As$ 、砷化铟镓 (InGaAs)、 $In_xGa_{1-x}As$ 、磷化铟镓 (InGaP)、砷化铝铟 (AlInAs)、铟化铝铟 (AlInSb)、氮砷化镓 (GaAsN)、磷砷化镓 (GaAsP)、氮化铝镓 (AlGaN)、磷化铝镓 (AlGaP)、氮化铟镓 (InGaN)、砷铟化铟 (InAsSb)、铟化铟镓 (InGaSb)；III-V 族四元

半导体合金,如磷化铝镓铟 (AlGaInP,也写为 InAlGaP、InGaAlP、AlInGaP)、磷砷化铝镓 (AlGaAsP)、磷砷化铟镓 (InGaAsP)、磷砷化铝铟 (AlInAsP)、氮砷化铝镓 (AlGaAsN)、氮砷化铟镓 (InGaAsN)、氮砷化铟铝 (InAlAsN)、铟氮砷化镓 (GaAsSbN);III-V 族五元半导体合金,如氮砷铟化镓铟 (GaInNAsSb)、砷铟磷化镓铟 (GaInAsSbP);II-VI 族半导体,硒化镉 (CdSe)、硫化镉 (CdS)、碲化镉 (CdTe)、氧化锌 (ZnO)、硒化锌 (ZnSe)、硫化锌 (ZnS)、碲化锌 (ZnTe);II-VI 族三元合金半导体,如碲化镉锌 (CdZnTe、CZT)、碲化汞镉 (HgCdTe)、碲化汞锌 (HgZnTe)、硒化汞锌 (HgZnSe);I-VII 族半导体,如氯化亚铜 (CuCl);IV-VI 族半导体,如硒化铅 (PbSe)、硫化铅 (PbS)、碲化铅 (PbTe)、硫化锡 (SnS)、碲化锡 (SnTe);IV-VI 族三元半导体,如碲化铅锡 (PbSnTe)、碲化铟锡 (Tl<sub>2</sub>SnTe<sub>5</sub>)、碲化铟锗 (Tl<sub>2</sub>GeTe<sub>5</sub>);V-VI 族半导体,如碲化铋 (Bi<sub>2</sub>Te<sub>3</sub>);和 II-V 族半导体,如磷化镉 (Cd<sub>3</sub>P<sub>2</sub>)、砷化镉 (Cd<sub>3</sub>As<sub>2</sub>)、铟化镉 (Cd<sub>3</sub>Sb<sub>2</sub>)、磷化锌 (Zn<sub>3</sub>P<sub>2</sub>)、砷化锌 (Zn<sub>3</sub>As<sub>2</sub>)、铟化锌 (Zn<sub>3</sub>Sb<sub>2</sub>)。

[0093] 本发明的无机半导体衬底也可以包括层状半导体,如碘化铅 (II) (PbI<sub>2</sub>)、二硫化钼 (MoS<sub>2</sub>)、硒化镓 (GaSe)、硫化锡 (SnS)、硫化铋 (Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>),其它半导体,如硒化铜铟镓 (CIGS)、硅化铂 (PtSi)、碘化铋 (III) (BiI<sub>3</sub>)、碘化汞 (II) (HgI<sub>2</sub>)、溴化铟 (I) (TlBr) 和混杂氧化物,如二氧化钛:锐钛矿 (TiO<sub>2</sub>)、氧化铜 (I) (Cu<sub>2</sub>O)、氧化铜 (II) (CuO)、二氧化铀 (UO<sub>2</sub>)、三氧化铀 (UO<sub>3</sub>)。

[0094] 在本发明的一些实施方式中,半导体衬底可以包括有机半导体。有机半导体是任何合适的具有半导体性质的有机材料。本发明的有机半导体衬底可以包括,例如,小分子、短链 (低聚物) 和长链 (高聚物)。半导体小分子的例子 (例如不饱和的芳烃) 有并五苯、葱、红荧烯 (rubrene)、并四苯 (tetracene)、蒽 (chrysene)、芘、二萘嵌苯、六苯并苯 (coronene);也可以使用卟吩和酞菁的金属络合物、如 1,10,15,20-四苯基-21H,23H-卟吩锌、酞菁铜 (copper phthalocyanine)、双酞菁铈 (lutetium bis phthalocyanine) 和酞菁氯化铝 (aluminum phthalocyaninechloride) 的化合物。也可以使用这些小分子的合适的衍生物。在一些实施方式中,本发明的有机半导体衬底可以包括薄膜。

[0095] 半导体聚合物或低聚物的例子包括合适的共轭烃或杂环聚合物或低聚物。合适的聚合物或低聚物包括:聚苯胺、聚吡咯和聚噻吩、聚 (3-己基噻吩)、聚 (对亚苯基乙炔)、F8BT、聚乙炔、聚二乙炔、多并苯、聚苯 (polyphenylene)、聚 (亚苯基乙炔)、聚呋喃、聚吡啶、聚 (噻吩乙炔)、聚 (二茂铁基亚乙烯基亚苯基乙炔)、多 (氟) 化合物和聚 (咪唑) 和它们的组合。可以使用这些聚合物的衍生物,例如具有适合连接氧化还原活性物质的功能侧链的衍生物。

[0096] 半导体聚合物的其它例子有聚 (氨基苯磺酸)、聚 (二茂铁基亚乙烯基亚苯基乙炔)、聚 (氟) 和聚 (咪唑)。本发明的有机半导体衬底可以包括,例如,有机电荷转移络合物和由聚乙炔衍生的“线性骨架”聚合物,例如聚乙炔本身、聚吡咯和聚苯胺。电荷转移络合物可以表现出与无机半导体类似的导电机理。包括空穴和电子传导层和带隙的存在。这些材料可以表现出隧穿、定域态、迁移率隙和声子辅助跳跃。有机半导体可以是掺杂的。在一些实施方式中,本发明可以使用高掺杂的有机半导体,例如聚苯胺 (Ormecon) 和 PEDOT:PSS。在有些情况下,可以生产透明和 / 或柔性的有机半导体,它们在一些实施方式中可能是有用的。

[0097] 本发明的半导体一般可以表征为具有带隙,该带隙代表分离半导体的价和导带的

能量的量。掺杂物的加入使得带隙较小,倾向于使电子从价带向导带更容易的提升。对于半导体衬底,较小的带隙可以导致较高的传导率。在有些情况下,半导体衬底的带隙和传导率特征可以通过引入掺杂物来控制。在有些情况下,在加入足够高比例的掺杂物时,本发明的半导体衬底可以几乎象金属一样地导电。取决于掺杂物或杂质的种类,半导体的掺杂区可能具有更多的电子或空穴,分别被命名为N-型或P-型半导体材料。N-和P-型半导体区域之间的连接产生电场,电场使得电子和空穴可以离开它们,这种效应对于半导体装置的运行是关键的。杂质量的密度差也在该区域产生小电场,用来加速非平衡电子或空穴。

[0098] 在一些实施方式中,带隙的存在可能是有利的。例如,当进行电化学时,当掺杂半导体的费密能量处于与特定电位下的溶液/分子氧化还原电位相同的能量时,通常没有电荷/电流从氧化还原物质(固定在表面上或溶液中)流向衬底或从衬底流向氧化还原物质的净转移。这种电位有时被称为平带电位。平带电位的位置可以受掺杂物密度的影响。可以使用Mott-Schottky方程(参见P. Schmuki, H. Bohni 和 J. A. Bardwell, J. Electrochem. Soc., 1995, 142, 1705)估计平带电位。

[0099] 半导体电极通常不具有平带电位,因此具有宽电位窗口,电流可以在该电位窗口从氧化还原物质流向衬底。例如,当导体电极暴露于含有几种氧化还原活性物质的混合物的水溶液时,记录对应于这些氧化还原物质的电流(即非特异性吸附),除非进行其它努力来屏蔽这些非特异性相互作用,例如,将稀释剂层置于导体电极上。使用半导体电极可以减少或消除非特异性相互作用,其中半导体具有含有限电位窗口的带隙,使得半导体只能为发生在有限窗口内的电化学反应传导电流。例如,有限窗口可以为-1.0至0V。因此,在一些实施方式中,使用具有适当的掺杂物密度(可以使用Mott-Schottky方程来估计)的本发明的半导体电极可以减少或消除溶液中的非特异性相互作用。

[0100] 本发明的半导体的一个有用的方面是可以向它们的晶格或非晶区中引入杂质(掺杂物)来改变它们的传导性。向半导体中添加控制的杂质的过程可以被称为掺杂。添加到本征(纯)半导体中的杂质或掺杂物的量改变了传导性的水平。掺杂的半导体通常被称为非本征半导体。本发明的半导体可以是本征半导体或非本征半导体。

[0101] 如本领域已知的,可以根据掺杂物的原子性质和将要掺杂的材料来选择合适的掺杂物。通常,产生希望的控制改变的掺杂物被分类为电子受体或供体。激活(例如掺入晶格中)的供电子原子给材料提供弱结合的价电子,产生过量的负载荷子。这些弱结合的电子可以在半导体中相对自由地来回移动,因此在电场的存在下可能促进导电。在有些情况下,供电子原子引入如下的某些状态,但是非常接近于导带边缘。处于这些状态的电子可以热激发至导带,变成自由电子,在有些情况下,在室温下即可实现。在一些实施方式中,使用活化的受体掺杂物。活化的受体可以产生空穴。掺杂有供体杂质的半导体一般被称为N-型,而掺杂有受体杂质的半导体一般被称为P-型。在本发明的某些实施方式中,本发明的半导体可以同时具有供体或受体掺杂物。在一些实施方式中,半导体可以具有n型和p型载荷子。n型或p型命名通常表示哪种载荷子作为材料的主要载荷子。相反的载荷子通常被称为少数载荷子,在有些情况下,它是由于在比多数载荷子更低的浓度下热激发而存在的。

[0102] 如本文所述,当半导体是IV族半导体如硅或锗时,合适的电子供体包括,例如,磷、砷、锑和铋。在一些实施方式中,掺杂物是磷。在一些实施方式中,掺杂物是锑。在半导体是IV族半导体如硅或锗时,合适的电子受体包括硼、铝、镓等。在一些实施方式中,掺杂



物是硼。在半导体包括 IV 族之外的另一族的元素时,如本领域所知,该族之外的元素可以作为 n 型或 p 型掺杂物。

[0103] 除了通过掺杂修饰以外,半导体的电阻有时可以通过例如施加电场来动态改变。通过施加电场动态控制半导体衬底中或半导体衬底区域内的电阻 / 传导率的能力在一些实施方式中是有用的。

[0104] 半导体衬底可以是适合生产半导体电极的任何形式。半导体衬底可以包括单片半导体,沉积在另一材料上的半导体的涂层,或半导体颗粒粉末。半导体衬底可以是单片形式,如芯片、晶片、棒、针、块、锭等等。半导体衬底还可以是微粒形式,例如由颗粒组成的粉末形式。颗粒可以是任意形状,或者可以是纤维、片、珠、盘或球的形式。当衬底是由颗粒组成的粉末形式时,通常形成为如下文更详细描述的综合电极。

[0105] 本发明的半导体衬底可以是在另一材料上形成的半导体薄层,例如在玻璃上形成的半导体薄层可构成半导体衬底。

[0106] 在一些实施方式中,用来制备电极的半导体衬底是包含分散在基质或粘合剂中的半导体颗粒的复合材料。半导体衬底可以由包含分散在粘合剂中的半导体粉末的复合材料制成,以制备复合半导体衬底。半导体粉末可以是球形、微晶、棒、纤维的形式或其它任意形状。在一个实施方式中,复合电极由分散在聚合基质中的半导体微晶制成。基质或粘合剂可以是有机、无机或有机金属聚合物。有用的无机聚合材料的非限制性实例包括聚磷腈、聚硅烷、聚硅氧烷、polygermanes、聚合硫、聚合硒、硅氧烷和任意上述物质的混合物。

[0107] 在一些实施方式中,聚合物可以是有机聚合物。合适的有机聚合材料的非限制性实例包括但不限于热固性材料和热塑性材料。可用于本发明的聚合物的非限制性实例包括聚酯类,如聚对苯二甲酸乙二酯、聚对苯二甲酸丁二酯和聚萘二甲酸乙二酯、聚碳酸酯,聚烯烃类,如聚乙烯、聚丙烯和聚异丁烯,丙烯酸聚合物,如苯乙烯和丙烯酸单体的共聚物,和含有甲基丙烯酸酯的聚合物、聚酰胺、热塑性聚氨酯类、乙烯基聚合物、聚酰亚胺、聚酰胺、聚四氟乙烯和其它含氟聚合物,和任意上述物质的混合物。

[0108] 粘合剂可以是绝缘的、半导电的或导电的。在一个实施方式中,粘合剂是绝缘材料,如聚合物。在使用绝缘粘合剂时,电流倾向于只通过分散的半导体粉末流动。在一些实施方式中,粘合剂包括导电成分。在一些实施方式中,粘合剂包括导电聚合物如聚苯胺、聚乙炔、聚(烷基噻吩)、聚(烷基吡咯)等等。在一些实施方式中,导电成分可以包含导电颗粒,如金属颗粒,如镍颗粒,其它导电颗粒,包括碳颗粒。在一些实施方式中,选择导电成分,使得导电成分如导电聚合物显示处于氧化还原活性部分的还原和 / 或氧化电位之外的还原和 / 或氧化电位。

[0109] 复合半导体衬底可以如下形成:将半导体粉末与单体、低聚物或预聚物混合,并将该单体、低聚物或预聚物固化,以形成聚合基质。聚合作用可以通过本领域已知的或本文公开的任何方法启动。例如,可以在引发剂的存在下,通过热或光化学方法启动聚合作用。聚合作用可以使用一种或多种交联剂进行。可以选择交联剂来调节聚合基质的物理性质,从而调节复合半导体衬底的性质。复合半导体衬底可以如下形成:将半导体粉末与熔融的热塑性聚合物混合,形成衬底,并使该混合物冷却。复合半导体衬底可以如下形成:将半导体粉末与聚合物或预聚物在溶剂中混合,并使溶剂蒸发以形成复合物。可以使用上述任意方法的组合。

[0110] 复合半导体衬底的电学性质可受半导体的量、颗粒大小和颗粒形状的影响。通常，复合物中半导体的量足够高，足以产生贯穿该材料的导电通路。提供穿过该材料的导电通路所必需的材料量有时被称为突增界限。用于传导性的半导体颗粒的量也取决于加工条件，如粘合剂的粘度和混合量。半导体的量通常设置在材料的物理性质如机械强度和柔性不经受材料不可用的点的水平上。半导体的量通常为复合材料的 0.1 体积% 到 70 体积%。在一些实施方式中，半导体的量为 1 体积% 到 50 体积%。在一些实施方式中，半导体的量为 10 体积% 到 40 体积%。半导体的量可以是 1% 至 5%、5% 至 10%、10% 至 15%、10% 至 20%、20% 至 30%、30% 至 40%、40% 至 50% 或 50% 至 60%。

[0111] 复合半导体衬底可以通过用于使聚合材料成型的方法，如涂覆、模塑和铸造，形成可用作电极的形状。复合半导体衬底电极通常连接到导电金属丝上，以施加电流和电位。材料可以铸造、涂覆和 / 或模塑到导电衬底如金属上，以形成用于连接导体的导电连接，用于将电流转移至或离开复合电极。

[0112] 本发明的半导体衬底通常具有足够高的导电性以用作电极、为结合的氧化还原活性部分的氧化和 / 或还原传送电流。为了使半导体衬底具有更高的传导性，半导体衬底可以包含杂质或掺杂物来提高导电性并降低电阻率。

[0113] 电阻率（电导率的倒数）可以是例如 0.1（欧姆 - 厘米）、1（欧姆 - 厘米）、10（欧姆 - 厘米）、100（欧姆 - 厘米），至超过 1000 或甚至 10,000（欧姆 - 厘米）或甚至更高，相当于石墨和普通金属导体。

[0114] 在一些实施方式中，半导体衬底的电阻率为 0.0001 至 100,000  $\Omega$ -cm（或欧姆 - 厘米）。在一些实施方式中，半导体衬底的电阻率为 0.001 至 10,000  $\Omega$ -cm。在一些实施方式中，半导体衬底的电阻率为 0.01 至 1000  $\Omega$ -cm。在一些实施方式中，半导体衬底的电阻率为 0.1 至 100  $\Omega$ -cm。在一些实施方式中，半导体衬底的电阻率为 1 至 100  $\Omega$ -cm。在一些实施方式中，半导体衬底的电阻率为 10 至 90  $\Omega$ -cm。在一些实施方式中，半导体衬底是单晶半导体，是电阻率为 10 至 90  $\Omega$ -cm 的 P- 型 Si(100)。在有些情况下，使用几种具有不同电阻率的半导体衬底。例如，本发明的系统可以包括一个结合有一种氧化还原活性物质的轻掺杂半导体衬底，和结合有另一氧化还原活性物质的更高掺杂的半导体表面。例如，本发明的系统可以包括一个结合有 pH 敏感性氧化还原活性部分如葱醌的轻掺杂半导体表面，和结合有氢离子不敏感性氧化还原活性部分如二茂铁的更高掺杂的第二半导体表面。

[0115] 在有些情况中，半导体衬底的不同区域可以以不同的水平掺杂。例如，半导体加工领域公知，可以使用掩模覆盖半导体的某些区域，同时使其它区域暴露。暴露的区域可以用掺杂物选择性处理，产生其中某些区域与其它区域不同地被掺杂的半导体表面。通过采用使用多种掩模的多个步骤，可以控制半导体表面的不同区域的导电性。这样，有些区域可能具有高导电性，而有些具有低导电性，有些区域可能具有大带隙，而其它区域可能具有小带隙，有些区域可能为 N- 掺杂的，有些为 P- 掺杂的，而有些没有掺杂。另外，各个区域可以与导电区例如沉积的金属例如金相连，以能够对各个区域电寻址（electrically address）。

[0116] 硅衬底

[0117] 在本发明的某些方面，半导体衬底包含硅。本发明的一个方面是具有其上连接有氧化还原活性部分的表面的硅衬底。硅衬底可以包括非晶硅或包含多种晶形的硅。硅衬底也可以是多晶体。在一些实施方式中，硅衬底可以同时具有非晶和结晶区域。在一些实施

方式中,硅可以是纳米晶体或微晶硅。纳米晶体硅和微晶硅可以用来描述具有次晶结构的硅的同素异形体,其在非晶相内具有小晶体硅晶粒。当硅衬底是晶体时,硅衬底的表面可能在表面上具有各种晶面。晶体硅通常是面心立方体 (fcc) 形式。在一些实施方式中,如使用多晶硅时,表面可具有多个暴露的晶面。当使用单晶硅时,在有些情况下,硅衬底可以制成具有一个或多个呈现在或主要呈现在表面上的晶面。在一些实施方式中,硅衬底的表面包括一个或多个具有 (xxx) 晶格的晶面,其中 x 是对应于限定晶面的晶格的整数。在一些实施方式中,晶面 (100)、(010)、(001)、(110)、(101) 或 (112) 主要呈现在表面上。在一些实施方式中,硅衬底具有主要呈现在表面上的 (100) 晶面。

[0118] 本发明的硅电极可以包括抛光的或未抛光的硅衬底。硅通常在硅加工之前抛光,例如,在构建如晶体管的部件之前抛光。在一些实施方式中,如电子功能性被加入硅传感器中的实施方式中,抛光的硅表面是理想的。在其它实施方式中,可以使用未抛光的硅衬底。未抛光的硅衬底比经历抛光步骤的硅衬底便宜。另外,对于给定的硅区,未抛光的硅衬底比抛光的硅衬底具有更大的表面积。

[0119] 本发明的硅电极可以包括多孔硅。多孔硅的一个优点是有效表面积增加。增加的表面积可有利于提供更高的由表面结合的氧化还原部分的氧化和还原产生的信号,这是由于更大数目的这种部分与样品接触。本领域中公知,如果表面太多孔,它可变得强度较低。因此,可以控制孔隙度水平,以使对于特定应用的重要性最大化。多孔硅可以由硅片通过例如静电、化学或光化学蚀刻来制备。在一些实施方式中,可以利用氢氟酸 (HF) 化学蚀刻来产生多孔硅衬底。在一些实施方式中,硅衬底的平均孔径大小范围为 1nm 至 500nm。孔径大小可以通过例如氮气吸附或 Hg 孔隙度测定法来测量。在一些实施方式中,孔隙度的范围为 1% 至 98%。在一些实施方式中,孔隙度的范围为 5% 至 75%。在一些实施方式中,孔隙度的范围为 10% 至 50%。在一些实施方式中,孔隙度的范围为 20% 至 40%。在一些实施方式中,孔隙度为 1% 至 5%、5% 至 10%、10% 至 30%、20% 至 40%、30% 至 50% 或 40% 至 60%。孔隙度测量可以基于面积百分比或体积百分比进行。

[0120] 另外,多孔硅可以容易地与已有的硅基集成电路 (IC) 制造过程相结合。

[0121] 硅衬底可以是任何适合生产硅电极的形式。硅衬底可以包括单片硅、沉积在另一种材料上的硅涂层或硅颗粒粉末。硅衬底可以是单片形式,如芯片、晶片、棒、针、块、锭等等。或者,硅衬底还可以是微粒形式,例如包含颗粒的粉末形式。颗粒可以是任意形状,或者可以是纤维、片、珠、盘或球的形式。当衬底是由颗粒组成的粉末形式时,通常形成为如下文更详细描述复合电极。

[0122] 在一些实施方式中,半导体电极由单晶硅制成。单晶硅可以通过区域熔融制备,该方法也被称为区域精炼,在该方法中,首先将冶金级硅棒在一端加热至熔融。然后一般将加热器沿棒长缓慢下移,保持一小段长度的棒熔融,同时它后面的硅冷却并再凝固。由于大多数杂质倾向于保留在熔融区而不是再凝固,当该过程完成时,棒中的大多数杂质一般已移至最后熔融的末端。切下并丢弃这一末端,如果需要更高的纯度,则重复该过程。本发明的单晶硅也可以通过 Czochralski 法生产 (CZ-Si),该方法经济而且能够生产大尺寸的晶体。

[0123] 在一些实施方式中,硅电极是多晶体。如本文使用的术语“多晶硅”与术语“多晶体硅”可互换使用。在一些实施方式中,多晶硅是沉积的。在某些加工方案中,多晶体硅可以通过对非晶硅进行低压化学蒸气沉积法 (LPCVD)、等离子体增强的化学蒸气沉积法 (PECVD)

或固相结晶法 (SPC) 而沉积。这些方法可能需要相对较高的温度, 例如, 超过 300°C。多晶硅电极也可以例如在聚合衬底上制备, 使用激光结晶将前体非晶硅 (a-Si) 材料结晶在塑料衬底上, 而不融化或损坏塑料。在有些情况下, 例如, 利用高强度的短紫外线激光脉冲将沉积的 a-Si 材料加热至硅的熔点以上, 而不融化整个衬底。通过控制温度梯度, 可以控制电极上的晶体大小。晶粒大小可以是, 例如, 10 纳米至 1 微米。另外一种在低温下生产用于本发明电极的多晶硅的方法是金属诱导的结晶, 其中例如在等于或高于 150°C 的温度下, 在接触如铝、金或银的金属膜的同时, 非晶硅薄膜结晶。多晶硅电极也可以在如金属丝的金属结构上形成。例如, 圆柱形金属丝的末端可以涂覆多晶硅, 该多晶硅可以用如本文所述的氧化还原活性物质衍生化。该结构可以用作具有含分析物的介质可及的硅部分的电极或电极部分, 金属丝用于连接硅电极与提供电压和允许电流流动的系统部分。

[0124] 多晶硅相对于非晶硅 (a-Si) 的一个优点是载荷子的迁移率可以是大于单晶硅的数量级, 并且该材料在电场和光诱导的应力下也可能显示更高的稳定性。

[0125] 本发明的硅衬底可以是在另一材料上形成的硅薄层, 例如, 在将构成硅衬底的玻璃上形成的硅薄层。

[0126] 在一些实施方式中, 用来制成电极的硅衬底是包含分散在基质或粘合剂中的硅颗粒的复合材料。硅衬底可以由包含分散在粘合剂中的硅粉的复合材料构成, 以制备复合硅衬底。硅粉可以是球形、微晶、棒、纤维的形式或其它任意形状。在一个实施方式中, 复合电极由分散在聚合基质中的硅微晶制成。基质或粘合剂可以是有机、无机或有机金属聚合物。有用的无机聚合材料的非限制性实例包括聚磷腈、聚硅烷、聚硅氧烷、polygermanes、聚合硫、聚合硒、硅氧烷和任意上述物质的混合物。

[0127] 在一些实施方式中, 聚合物可以是有机聚合物。合适的有机聚合材料的非限制性实例包括但不限于热固性材料和热塑性材料。可用于本发明的聚合物的非限制性实例包括聚酯类, 如聚对苯二甲酸乙二酯、聚对苯二甲酸丁二酯和聚萘二甲酸乙二酯, 聚碳酸酯, 聚烯烃类, 如聚乙烯、聚丙烯和聚异丁烯, 丙烯酸聚合物, 如苯乙烯和丙烯酸单体的共聚物, 和含有甲基丙烯酸酯的聚合物、聚酰胺、热塑性聚氨酯类、乙烯基聚合物、聚酰亚胺、聚酰胺、聚四氟乙烯和其它含氟聚合物, 和任意上述物质的混合物。

[0128] 粘合剂可以是绝缘的、半导电的或导电的。在一个实施方式中, 粘合剂是绝缘材料, 如聚合物。在使用绝缘粘合剂时, 电流倾向于只通过分散的半导体粉末流动。在一些实施方式中, 粘合剂包括导电成分。在一些实施方式中, 粘合剂包括导电聚合物如聚苯胺、聚乙炔、聚(烷基噻吩)、聚(烷基吡咯)等等。在一些实施方式中, 导电成分可以包含导电颗粒, 如金属颗粒, 如镍颗粒, 其它导电颗粒, 包括碳颗粒。在一些实施方式中, 选择导电成分, 使得该导电成分如导电聚合物显示处于氧化还原活性部分的还原和 / 或氧化电位之外的还原和 / 或氧化电位。

[0129] 复合硅衬底可以如下形成: 将硅粉与单体、低聚物或预聚物混合, 并将该单体、低聚物或预聚物固化, 以形成聚合基质。聚合作用可以通过本领域已知的或本文公开的任何方法启动。例如, 可以在引发剂的存在下, 通过热或光化学方法启动聚合作用。聚合作用可以使用一种或多种交联剂进行。可以选择交联剂来调节聚合基质的物理性质, 从而调节复合硅衬底的性质。复合硅衬底可以如下形成: 将硅粉与熔融的热塑性聚合物混合, 形成衬底, 并使该混合物冷却。复合硅衬底可以如下形成: 将硅粉与聚合物或预聚物在溶剂中混

合,并使溶剂蒸发以形成复合物。可以使用上述任意方法的组合。

[0130] 复合硅衬底的电学性质可受硅的量、颗粒大小和颗粒形状的影响。通常,复合物中硅的量足够高,足以产生贯穿该材料的导电通路。提供穿过该材料的导电通路所必需的材料量有时被称为突增界限。导电所需的硅颗粒的量也取决于加工条件,如粘合剂的粘度和混合量。硅的量通常设置在材料的物理性质如机械强度和柔性不经受材料不可用的点的水平上。硅的量通常为复合材料的 0.1 体积%到 70 体积%。在一些实施方式中,硅的量为 1 体积%到 50 体积%。在一些实施方式中,硅的量为 10 体积%到 40 体积%。硅的量可以是 1%至 5%、5%至 10%、10%至 15%、10%至 20%、20%至 30%、30%至 40%、40%至 50%或 50%至 60%。

[0131] 复合硅衬底可以通过用于使聚合材料成型的方法,如涂覆、模塑和铸造,形成可用作电极的形状。复合硅衬底电极通常连接到导电金属丝上,以施加电流或电位。材料可以在导电衬底如金属上铸造、涂覆和 / 或模塑,以形成用于连接导体的导电连接,用于将电流转移至或离开复合电极。

[0132] 本发明的硅衬底通常具有足够高的导电性以用作电极,以及为结合的氧化还原活性部分的氧化和 / 或还原传送电流。为了使硅衬底导电性更强,硅衬底通常包含杂质或掺杂物来提高导电性。在使用多晶硅时,多晶硅电极可以作为掺杂的多晶硅沉积(原位掺杂)或者可以沉积而不掺杂并且在随后通过离子注入或热扩散方法来掺杂杂质掺杂物如磷或硼。掺杂杂质,如磷和硼,倾向于沿晶粒边界比通过硅本身更快速地扩散。

[0133] 用于 IV 型半导体如硅的掺杂物可以是,例如,电子供体或电子受体。合适的电子供体是磷、砷、锑和铋。在一些实施方式中,掺杂物是磷。在一些实施方式中,掺杂物是锑。合适的电子受体是硼、铝、镓等。在一些实施方式中,掺杂物是硼。在一些实施方式中,电子受体可以给予硅电极耐化学性。

[0134] 在硅衬底是单片材料如晶片时,掺杂物可以分布在整个硅中,或者可以仅限于硅片的表面区。在一些实施方式中,例如,在硅衬底包括多个具有不同氧化还原活性部分的区域时,掺杂物可以分布为使得硅衬底表面的分离的区域为导电性的。

[0135] 掺杂物通常以大于硅的 0.01 重量%的量存在,通常超过硅的 0.1%。通常,掺杂物少于硅的 3 重量%,几乎总是少于硅的 6 重量%。少量掺杂物的存在可以提高导电性。掺杂物可能不是均匀分布在整个硅中,在硅材料的不同区域之间局部浓度可以不同。

[0136] 电阻率(电导率的倒数)可以是例如 0.1(欧姆-厘米)、1(欧姆-厘米)、10(欧姆-厘米)、100(欧姆-厘米),至超过 1000 或甚至 10,000(欧姆-厘米)或甚至更高,相当于石墨或普通金属导体。

[0137] 在一些实施方式中,硅衬底的电阻率为 0.0001 至 100,000  $\Omega$ -cm。在一些实施方式中,硅衬底的电阻率为 0.001 至 10,000  $\Omega$ -cm。在一些实施方式中,硅衬底的电阻率为 0.01 至 1000  $\Omega$ -cm。在一些实施方式中,硅衬底的电阻率为 0.1 至 100  $\Omega$ -cm。在一些实施方式中,硅衬底的电阻率为 1 至 100  $\Omega$ -cm。在一些实施方式中,硅衬底的电阻率为 10 至 90  $\Omega$ -cm。在一些实施方式中,硅衬底是单晶硅,是电阻率为 10 至 90  $\Omega$ -cm 的 P-型 Si(100)。在有些情况下,使用几种具有不同电阻率的硅衬底。例如,本发明的系统可以包括一个结合有一种氧化还原活性物质的轻掺杂的硅衬底,和结合有另一种氧化还原活性物质的更高掺杂的硅表面。例如,本发明的系统可以包括一个结合有 pH 敏感性氧化还原活性部分如葱醌的轻

掺杂硅表面,和结合有氢离子不敏感性氧化还原活性部分如二茂铁的更高掺杂的第二硅表面。

[0138] 在有些情况中,硅衬底的不同区域可以以不同的水平掺杂。例如,半导体加工领域公知,可以使用掩模覆盖硅的某些区域,同时使其它区域暴露。暴露的区域可以用掺杂物选择性处理,产生其中某些区域与其它区域不同地被掺杂的硅表面。通过采用使用多种掩模的多个步骤,可以控制硅表面的不同区域的导电性。这样,有些区域可能具有高导电性,而有些具有低导电性,有些区域可能具有大带隙,而其它区域可能具有小带隙,有些区域可能为 N- 掺杂的,有些为 P- 掺杂的,而有些没有掺杂。另外,各个区域可以与导电区例如沉积的金属例如金相连,以能够对各个区域电寻址。

[0139] 在一些实施方式中,使用 Nisil。Nisil 是镍和硅的合金。在一些实施方式中,使用含有 4% -5% 的硅的 Nisil。在一些实施方式中,使用含有 4.4% 的硅的 Nisil。在一些实施方式中,使用 Nicrosil。Nicrosil 是一种镍合金。在有些情况下,使用包含 14.4% 的铬、1.4% 的硅和 0.1% 的镁的 Nicrosil。

[0140] 在有些情况下,例如,在硅衬底是铸造硅时,硅衬底将包括,例如,过渡金属的硅化物,以提供可铸性。过渡金属的硅化物可为铸造合金提供有利的机械性质。可用于产生本发明次级电池的硅电极中存在的过渡金属硅化物的典型金属包括钛、锆、钪、钒、铌、铬、钼、钨、锰、铁、钴、镍、铜、钨、铈、钕、钐、铂、金和银。最常见地,在硅合金中作为硅化物存在的过渡金属是锰、铬、铁、钴、镍或钼的硅化物。硅化物的量足以提供令人满意的可铸性,但是没有大到足以不利地影响硅的性质,即基于元素,2%或以上直到高达 30% 的过渡金属。

[0141] 氧化还原活性部分

[0142] 在一个实施方式中,本发明的半导体表面包括用氧化还原活性官能团修饰的表面。表面上的至少一种氧化还原活性官能团对一种物质在溶液中的存在和 / 或水平敏感。在一些实施方式中,半导体表面具有至少一种对分析物敏感的氧化还原活性官能团,和至少一种对待测分析物基本不敏感的氧化还原活性官能团。当以这种方式使用时,基本上不敏感的基团可以作为参比,允许更高的测量精确性和重复性。

[0143] 氧化还原基团可以化学或物理结合到表面上。氧化还原基团可以共价连接到半导体上,可以吸附到半导体上,或者可以连接到已与表面共价或非共价结合的聚合物上。氧化还原基团或氧化还原基团是其一部分的聚合物的共价结合可有利于改善电极的寿命和稳定性。半导体材料,如硅和锗,可以与碳形成共价键,因此是用碳基分子功能化的理想的衬底。与表面的共价结合可以通过半导体如硅与碳、氧、氮、硫或其它原子之间的键实现。在一些实施方式中,键是硅与碳之间的键。在一些实施方式中,键是硅与氧之间的键。物理键合可以通过吸附发生,并且可以包括,例如,自发自我装配到包含氧化还原活性部分的分子如脂肪酸衍生分子的半导体表面上。

[0144] 当使用连接体基团时,连接体可以较小,例如 1-3 个原子,或者可以较长,例如 20-100 个原子,或者可以是大连接体和小连接体之间的任意大小。当使用短连接体时,氧化还原活性部分靠近表面。当使用较长的基团时,氧化还原活性部分能够远离表面,例如移至溶液中。连接体基团可包括亲水性、疏水性基团,或者它们的混合物。连接体基团可包括,例如,烃、酯、醚、酰胺、胺、羰基、硫醇、烯烃、硅氧烷或其它有机、无机或有机金属基团。连接体基团可以通过聚合反应或低聚反应如自由基、阳离子或阴离子聚合而形成。连接体基团可

包括,例如,环氧乙烷、环氧丙烷、乙烯基醚或丙烯酰胺重复单元。连接体可以具有环结构,包括芳香环。可以利用连接体结构的变化来改变氧化还原活性部分在溶液中的迁移率。

[0145] 如本文使用的术语“部分”通常是指分子的一部分或取代基。氧化还原活性部分可以是高度取代的,而仍可作为氧化还原活性部分。如本文使用的术语“氧化还原活性部分”、“氧化还原活性基团”、“氧化还原活性官能团”和“氧化还原基团”可交换使用。因此,例如,氧化还原活性部分二茂铁包括取代的二茂铁、二茂铁聚合物和使用或不使用连接体分子共价连接到表面上的二茂铁。

[0146] 在一些实施方式中,氧化还原活性部分可以并入到聚合物中,并且包含该氧化还原活性部分的聚合物可以固定到半导体表面上。聚合物的固定可以是化学或物理固定。聚合物的固定可以通过共价键或者通过聚合物向半导体表面的吸附来实现。

[0147] 在一些实施方式中,氧化还原活性部分结合到与半导体结合的颗粒上。颗粒通常是导电颗粒。颗粒以允许电流在半导体表面和颗粒之间流动的方式连接到半导体表面上。颗粒可以化学或物理连接到表面上。例如,氧化还原活性部分可以连接到碳颗粒上,而碳颗粒连接到半导体表面上。在一些实施方式中,碳颗粒可以是碳纳米管。在本发明的一些实施方式中,碳纳米管可以连接到半导体表面上,其中氧化还原基团连接到碳纳米管上。例如,可以采用排列好的单壁碳纳米管结构与单晶硅表面的连接。在一些实施方式中,例如,二茂铁甲醇分子连接到单壁碳纳米管(SWCNT)阵列上,该阵列直接锚定到硅表面例如(100)表面上。例如,可以使用如 Yu 等人, *Electrochimica Acta* 52(2007)6206-6211 所述的方法,将单壁碳纳米管耦合到表面上。

[0148] 氧化还原活性部分通常具有可逆的氧化还原活性,具有明确的循环伏安法氧化和/或还原峰。合适的参比氧化还原试剂可以在应用与应用之间或介质与介质之间根据预期用途而不同。

[0149] 可以选择氧化还原活性部分的还原和/或氧化电位的位置,以提高氧化还原电位测量的精确性和质量。在有些情况中,可以选择还原和/或氧化电位远离其它氧化还原活性物质。例如,硅表面通常具有宽窗口,以进行还原或氧化电位的测量,而不干扰与该表面结合的氧化还原活性部分的还原和/或氧化的测量。硅表面通常可以用来测量从-2V至+2V的氧化和/或还原电位。在有些情况下,例如在介质为水性介质时,可以选择氧化还原活性部分的还原和/或氧化电位,以落入介质的还原或氧化电位内,以将干扰减至最小。在使用循环伏安法时这可能是有用的,在使用方波伏安法时其重要性较低。

[0150] 对分析物的存在不敏感的氧化还原活性部分在存在或不存在这种分析物时应当显示极小的或者不显示氧化和/或还原电位的变化。通常对分析物的存在不敏感的,特别是对氢离子的存在不敏感的氧化还原活性部分包括:二茂铁、聚乙烯基二茂铁、Os(bpy)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>、Ru(bpy)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>、紫精(viologen)、聚紫精(polyviologen)和聚噻吩。具有高度电化学可逆性的氧化还原试剂通常是优选的。图5显示了结合到硅表面上的对氢离子不敏感的氧化还原活性部分二茂铁的例子。

[0151] 非限制性的对氢离子敏感的氧化还原活性部分包括:醌类、蒽醌类、菲醌类、苯二胺类、儿茶酚类、吩噻嗪染料和单季铵化的N-烷基-4,4'-联吡啶鎓。在一些实施方式中,对氢离子的存在敏感的氧化还原活性部分可包括无机材料和金属氧化物。对氢离子敏感的氧化还原活性部分包括普鲁士蓝、Ni(OH)<sub>2</sub>和RuO<sub>x</sub>。图6显示共价结合到硅表面上的对氢离

子敏感的氧化还原活性部分葱的例子。图 7 显示共价结合有氢离子敏感性氧化还原活性部分二茂铁和氢离子不敏感性氧化还原活性剂葱的硅表面的例子。

[0152] 在一些实施方式中,分析物是一氧化碳(CO)。CO 敏感性氧化还原活性剂的例子是二茂铁基 ferrazetine 二硫化物或 ferrazetine-ferrazetine 二硫化物。CO 不敏感性氧化还原活性剂可以是,例如,二茂铁。

[0153] 在一些实施方式中,分析物是碱金属。碱金属敏感性氧化还原活性剂包括,例如: 1,1'-(1,4,10,13-四氧-7,16-二氮杂环十八烷-7,16-二基二甲基)、二茂铁基硫醇(ferrocenyl thiol)和其它含有共价连接的穴状配体的二茂铁衍生物。这些材料例如在 Hammond, 等人, J. Chem. Soc. Perkin. Trans. I 707 (1983); Medina, 等人, J. Chem. Soc. Chem. Commun. 290 (1991); Shu 和 Wrighton, J. Phys. Chem. 92, 5221 (1988) 中描述。包括诸如上述二茂铁基 ferrazetine 和二茂铁基穴状配体等实例,其中普通化学不敏感性氧化还原中心(二茂铁)与化学识别位点共价连接,使得该氧化还原中心化学敏感。如 Shu 和 Wrighton, J. Phys. Chem. 92, 5221 (1988) 描述的,其中传感器和参比功能性共价连接的分子或聚合物,如 1-氢-1'-(6-(吡咯-1-基)己基)-4,4'-联吡啶鎓双(六氟磷酸酯),也是合适的。

[0154] 在有些情况下,可以使用一种以上的对分析物敏感的氧化还原活性部分。例如,可以有一种对氢离子敏感的氧化还原活性部分,和另一种对第二分析物如 CO、氧、氨或碱金属敏感的部分。该方法允许同时测量几种分析物。在有些情况下,可以使用对 3 种或 3 种以上分析物敏感的氧化还原活性剂。在存在对多种分析物敏感的氧化还原剂时,在许多情况下,也希望有一种或多种对分析物不敏感的氧化还原活性部分结合到半导体表面上,以提供参比,以改善精确性并且使校准最少或得以避免。

[0155] 在使用一种以上的氧化还原活性部分时,确保在峰之间没有明显的干扰可能是重要的。特别是在多种氧化还原活性部分位于半导体衬底上的相同可电寻址区域上时,这可能是希望的。这可以通过例如确保氧化和还原电位充分分离或者通过物理分离氧化还原部分来实现。

[0156] 在一些实施方式中,半导体衬底具有多个分离的单独可电寻址区。在一些实施方式中,不同的区域包含不同的氧化还原活性部分。使用单独的区域可能是有利的,因为伏安测量可以分开进行,从而允许使用具有相似的还原和/或氧化电位的多种氧化还原活性剂。

[0157] 单独可电寻址区可以通过传统半导体加工方法制成,例如掩蔽以在表面上的特定区域产生结构,例如在具有特定掺杂水平的表面上的特定区域产生结构。传统半导体加工也可以用来引入允许区域可单独寻址的导电互连。在氧化还原活性部分与半导体表面连接从而将特定氧化还原活性部分连接到该表面的不同区域的过程中,也可以使用掩蔽。

[0158] 具有单独可寻址区的半导体衬底可有效产生电化学传感器阵列。本发明的一个方面是半导体电化学传感器阵列,其中有多区域,每个区域都包含氧化还原活性部分。该阵列可以具有多个具有对分析物敏感的氧化还原活性部分的区域,和一个或多个具有对分析物不敏感的氧化还原活性部分的区域。一个区域可以具有一种氧化还原活性部分,或者多种氧化还原活性部分。阵列可以构建为,例如,用来测量 pH 和 O<sub>2</sub> 两者,其中一个区域包含对氢离子敏感的氧化还原活性部分,另一个区域具有对 O<sub>2</sub> 敏感的氧化还原活性部分,第三个区域具有对氢离子和 O<sub>2</sub> 都不敏感的氧化还原活性部分。



[0159] 在一些实施方式中,使用单独可寻址区阵列或电极阵列,其中存在多个区域或电极,其中每一个均构建为用来测定相同的分析物并且过量地使用,其中同时使用能够测定相同分析物的另一个区域或用它来代替其它区域或电极。在有些情况下,同时使用例如在阵列中的一个以上的区域或电极,以提高测定的质量。在有些情况下,顺序使用例如在阵列中的一个以上的区域或电极,其中如果一个区域或电极显示降低的性能,则在另一个构建为具有类似特征的区域或电极上进行该分析物的测定。相似区域或电极的顺序使用可以提供随时间的测定可靠性。尽管本发明的电极可以制成坚固的及抗污染的,但在有些情况下,随时间推移可能发生测定的降低。在一些实施方式中,可以随时间推移监测最大电流 ( $I_{\max}$ )。系统可以配置为,例如,当最大电流下降到某一水平以下时,切换到冗余区域或电极,以进一步测定分析物。可以存在多个冗余元件,例如,1、2、3、4、5、10、20个或更多的冗余元件。

[0160] 本发明的半导体衬底也可以包含电路。例如,可以使用电路来控制为氧化还原活性部分提供的电流和电位。电路也可以用于分析信号或者用于处理与伏安测量有关的数据。电路也可以具有其它功能,例如测量其它参数如温度的能力,储存数据的能力,或远程传送数据和接受指令的能力。电路可以包括,例如,放大器,如运算放大器。该电路可以包括,例如,模拟数字转换器 (ADC)。在有些情况下,将放大和 ADC 功能并入半导体衬底中可以提供更高的传送传感器信号的质量和可靠性。当使用区域阵列时,在半导体衬底上使用电路可能是特别有用的。电路可以参与管理半导体衬底之中和以外的电流通路。在有些情况中,电路可以允许同时或顺序寻址区域的方案,例如通过多路技术 (MUX)。

[0161] 半导体电极度感器

[0162] 本发明的一个方面是向半导体电极传感器内加入上述半导体衬底。包括半导体衬底的半导体电极传感器可以用于测量一种或多种分析物的存在或不存在,或者可以用来精确测定样品中分析物的浓度。

[0163] 本发明的半导体电极传感器可以用来测定分析物,包括氢离子、碱金属、CO 或  $O_2$ 。在一些实施方式中,利用该半导体电极传感器测定氢离子的浓度或 pH。

[0164] 半导体电极传感器包括如上所述包含对分析物的存在敏感的氧化还原活性部分的半导体衬底。半导体电极传感器也可以包含对分析物的存在不敏感的氧化还原活性部分。半导体电极传感器可以包含一个以上的半导体衬底。例如,传感器可以包含一个具有对分析物敏感的氧化还原活性部分的半导体衬底和另一个具有对分析物不敏感的氧化还原活性部分的半导体衬底。

[0165] 半导体电极传感器配置为将要并入提供电压的系统中,并且可以驱动电流流向传感器以进行伏安法。因此,传感器内的一个或多个半导体衬底将以允许连接至提供和测量电流和电压的装置的方式电连接。

[0166] 半导体电极传感器通常是电化学系统中的工作电极,该系统也包括反电极,在一些实施方式中,包括参比电极。

[0167] 传感器将与含有待检分析物的样品接触。样品通常是液体样品。在有些情况下,样品可以是凝胶、悬液、熔化的或半固体介质。样品可以是,例如,食品。样品可以是任何类型的液体,包括烃类、油类、碳氟化合物、硅氧烷和水溶液。当分析物是氢离子时,通常使用水性介质,但是在有些情况下,可以使用极性质子介质或极性质子惰性介质。传感器可用于

测量水溶液的 pH。

[0168] 在一些实施方式中,本发明的传感器可以精确地测定分析物浓度,其中分析物的浓度范围为  $10^{-1}M$  至  $10^{-14}M$ 。在一些实施方式中,本发明的传感器可以精确地测定分析物浓度,其中分析物的浓度范围为  $10^{-3}M$  至  $10^{-10}M$ 。在一些实施方式中,本发明的传感器可以测定浓度达到  $\pm 100\%$ 、 $50\%$ 、 $30\%$ 、 $20\%$ 、 $10\%$ 、 $5\%$ 、 $2\%$  或  $1\%$  的精确度。在一些实施方式中,本发明的传感器可以测定  $10^{-3}M$  至  $10^{-10}M$  范围内的浓度达到  $\pm 100\%$ 、 $50\%$ 、 $30\%$ 、 $20\%$ 、 $10\%$ 、 $5\%$ 、 $2\%$  或  $1\%$  的精确度。

[0169] 在一些实施方式中,分析物是氢离子,并且本发明的传感器可以精确地测量 pH1 至 pH14 范围内的 pH。在一些实施方式中,分析物是氢离子,并且本发明的传感器可以精确地测量 pH3 至 pH10 范围内的 pH。在一些实施方式中,本发明的传感器可以精确地测量 pH 达到  $\pm 0.5$ 、 $0.3$ 、 $0.2$ 、 $0.1$ 、 $0.07$ 、 $0.05$ 、 $0.03$ 、 $0.02$  或  $0.01pH$  单位的精确度。在一些实施方式中,本发明的传感器可以精确地测量 pH3 至 pH10 范围内的 pH 达到  $\pm 0.5$ 、 $0.3$ 、 $0.2$ 、 $0.1$ 、 $0.07$ 、 $0.05$ 、 $0.03$ 、 $0.02$  或  $0.01pH$  单位的精确度。

[0170] 本发明的半导体电极传感器可以精确地测定多种样品类型中的分析物浓度。传感器可以制成坚固的,抗污染的,因此对于长期测定是可靠的。

[0171] 本发明的一个方面是不需要日常校准,或者在有些情况下,根本不需要任何校准的传感器。传统的电位传感器依靠玻璃膜感测例如氢离子。这些类型的传感器通常需要定期校准,通常是将传感器置于已知分析物浓度的标准中。这些类型的传感器在从一种溶液换到另一种溶液时通常需要校准,经过一段时间也需要校准,即使保持在相同溶液中以及置于溶液之外时。如果随着传感器监测介质的时间推移介质的组成发生变化,例如当监测化学反应、生化反应或发酵时,情况更糟。在这些情况下,由于反应中某些物质的积累,或者由于存在的物质污染了传感器,电位传感器可能漂移而需要校准。

[0172] 在一些实施方式中,本发明的传感器在这些情况中的任何一种情况下都不需要校准。在一些实施方式中,本发明的传感器随着在溶液中的时间推移不需要校准。在一些实施方式中,本发明的传感器在溶液中或储存 1 小时、10 小时、1 天、2 天、5 天、1 周、2 周、1 个月、6 个月、1 年、2 年或更长一段时间后不需要校准。在一些实施方式中,本发明的传感器在上述时间后测定分析物浓度精确到  $50\%$ 、 $40\%$ 、 $20\%$ 、 $10\%$ 、 $5\%$ 、 $2\%$ 、 $1\%$ 、 $0.5\%$ 、 $0.2\%$  或  $0.1\%$ 。在传感器测量 pH 的一些实施方式中,传感器在上述时间后精确到  $1$ 、 $0.8$ 、 $0.5$ 、 $0.3$ 、 $0.2$ 、 $0.1$ 、 $0.08$ 、 $0.05$ 、 $0.03$ 、 $0.02$  或  $0.01pH$  单位。在传感器测量 pH 的一些实施方式,传感器在溶液中或储存 1 周后精确到  $0.1pH$  单位以内。

[0173] 在一些实施方式中,传感器能够测定分析物浓度,而不需要用外标准进行任何校准。在一些实施方式中,传感器在最终用户第一次使用后不经过校准而仍然对分析物敏感。

[0174] 在一些实施方式中,分析物是氢离子,并且传感器在暴露于细胞培养基至少 1、3、6、9、12、18 或 24 小时或 2、3、4、6、8、12、24、48、60、90 天或更多天后,保持对氢离子敏感。在一些实施方式中,分析物是氢离子,并且传感器在暴露于细胞培养基至少 3 天后保持对氢离子敏感。在一些实施方式中,分析物是氢离子,并且传感器在暴露于细胞培养基至少 6 天后保持对氢离子敏感。在一些实施方式中,传感器在暴露于细胞培养基后能够以  $0.2$  单位的准确度测量 pH。

[0175] 在一些实施方式中,分析物是氢离子,并且传感器在  $121^{\circ}C$  高压灭菌处理 10、20、

40、80、100、200、400 或 800 分钟后能够以 0.2 单位的准确度测量 pH。在一些实施方式中,分析物是氢离子,并且传感器在 121°C 高压灭菌处理 40 分钟后能够以 0.2 单位的准确度测量 pH。在一些实施方式中,分析物是氢离子,并且传感器在 121°C 高压灭菌处理 400 分钟后能够以 0.2 单位的准确度测量 pH。

[0176] 在可能改变特性的介质中经过长时间而不需要校准的本发明传感器是有用的,例如,用作可植入式传感器。可植入式传感器可以置于皮肤下或体内接触体液如血液、唾液、乳汁、羊水、淋巴、汗液、泪液或尿。该传感器可以测定如氢离子、钠、钾、钙或氧等分析物的浓度。

[0177] 可植入式传感器具有设置为与体液接触的电极,所述电极包括其上固定有氧化还原活性部分的半导体表面,其中该氧化还原活性部分具有对所述离子的浓度敏感的氧化电位和 / 或还原电位。可植入式传感器可以包括在可植入式医疗装置内,如美国专利 6,738,670 所述。例如,内含传感器的可植入式医疗装置包括起搏器、除颤器、药物输送泵、诊断记录仪、植入式耳蜗等。可植入式医疗装置一般对治疗编程,然后植入体内,一般植入在考虑医生和患者的偏好后选择的部位处的皮下袋囊中。在一些实施方式中,植入的装置是可以吞咽的形式,从而可以测定在其通过身体如消化道(包括胃、肠的上部和下部、结肠)时遇到的区域的特性。植入装置中的传感器获得的信息可以实时存取,例如,通过无线通讯,或者可以在通过身体后从装置中取出。可以使用多种程序器(也称为下行发送器)向可植入式医疗装置传送数据和接收其数据。下行发送器的例子包括医生程序器、患者程序器、编程杖(programming wands)、遥测存取单元等。例如,医生可以定期使用医生程序器与可植入式医疗装置通讯,以管理患者的治疗和收集可植入式医疗装置的数据。半导体电极传感器可以并入到或连接到可植入式医疗装置上,并且可以提供关于它所植入的身体区域内的分析物浓度的数据。患者可以使用患者程序器与可植入式装置通讯,以进行已由医生编程的治疗调节。医生程序器和患者程序器都可以具有指示遥测头何时与植入装置足够紧密地对准以进行适当的遥测的天线定位器。

[0178] 本发明的一个方面是测定体内体液中的浓度的方法,包括放置包含氧化还原活性部分的半导体电极传感器使之与体液接触;以及运行该传感器以获得所述体液中存在的分析物的浓度值。

[0179] 系统

[0180] 本发明的一个方面是用于测定分析物浓度的系统。在一个实施方式中,该系统包括:具有其上已经固定有氧化还原活性部分的半导体表面的工作电极,其中该氧化还原活性部分具有对分析物的存在敏感的氧化电位和 / 或还原电位,反电极和任选的参比电极;用于给工作电极提供多个电位的源;和用于测量在多个电位下通过工作电极的电流的装置。本文提到的工作电极可包括上述半导体电化学传感器。在许多实施方式中希望半导体表面上也固定有第二氧化还原活性部分,该部分具有对所述分析物的存在不敏感的氧化电位和 / 或还原电位。对分析物的存在不敏感的氧化还原活性部分可以在相同的半导体表面上,或者可以在与系统电接触和与样品接触的另一表面上。该系统配置为使得工作电极、反电极和任选的参比电极与样品接触。在许多实施方式中,样品是液体样品,并且各个电极均与该液体接触。在有些情况中,样品不是液体,而是通常包含固体电解质的固体,或气体。

[0181] 在一些实施方式中,系统具有两个或多个工作电极。例如,在一些实施方式中,系

统具有一个包括半导体表面的工作电极,该半导体表面上固定有其氧化电位和 / 或还原电位对所述分析物的存在敏感的氧化还原活性部分,并且具有第二工作电极,该第二工作电极包含其氧化电位和 / 或还原电位对所述分析物的存在不敏感的氧化还原活性部分。具有两个工作电极的系统的例子是具有两个半导体晶片或芯片的系统,其中一个晶片或芯片具有对 pH 敏感的氧化还原活性部分,如蒽,另一个具有对 pH 不敏感的氧化还原活性部分,如二茂铁。在有些情况下,其上固定有每种氧化还原活性物质的半导体晶片或芯片是不同类型的半导体晶片或芯片。例如,结合 pH 敏感性部分的半导体晶片或芯片可以具有一个掺杂水平,结合 pH 不敏感性部分的半导体晶片或芯片可以具有不同的掺杂水平。这种类型的结构可能是有利的,因为在有些情况中,一种类型的氧化还原活性物质在一种掺杂类型时在幅度、灵敏度或稳定性方面表现更好,而另一种氧化还原活性物质在具有不同掺杂类型的半导体晶片或芯片上表现更好。在一些实施方式中,pH 敏感性部分,例如蒽,结合到具有低掺杂水平的半导体晶片上,而 pH 不敏感性部分,例如二茂铁,结合到具有较高掺杂水平的硅片上。在一些实施方式中,其上结合 pH 敏感性部分如蒽的半导体晶片具有  $1 \Omega\text{-cm}$  至  $1000 \Omega\text{-cm}$  或  $10 \Omega\text{-cm}$  至  $90 \Omega\text{-cm}$  或  $10 \Omega\text{-cm}$  至  $40 \Omega\text{-cm}$  的电阻率,而其上结合 pH 不敏感性部分如二茂铁的半导体晶片具有  $0.001 \Omega\text{-cm}$  至  $0.1 \Omega\text{-cm}$  或  $0.001\text{-}0.005 \Omega\text{-cm}$ 、 $0.02\text{-}0.05 \Omega\text{-cm}$  的电阻率。在一些实施方式中,N-型半导体,例如硅片,用于 pH 不敏感性部分,例如二茂铁。在一些实施方式中,N-型半导体,例如硅片,用于 pH 敏感性部分和 pH 不敏感性部分两者。

[0182] 在一些实施方式中,系统具有 3 个或更多的工作电极。例如,在一些实施方式中,系统具有一个工作电极,其包含其上固定有对第一分析物的存在敏感的氧化还原活性部分的半导体表面,第二工作电极,其包含其上固定有对第二分析物的存在敏感的氧化还原活性部分的半导体表面,和第三工作电极,其包含其上固定有对第一分析物和第二分析物的存在都不敏感的氧化还原活性部分的半导体表面。系统也可以具有 3 个以上的工作电极,例如具有 4、5、6、7、8、9、10、12、20、50 个或更多的工作电极,每个工作电极具有对分析物敏感的氧化还原活性部分。这些系统也可以具有一个或一个以上的具有对分析物不敏感的氧化还原物质的半导体工作电极,例如,以提供参比。在有些情况下,可以使用一种以上的对分析物不敏感的氧化还原物质。

[0183] 在一些实施方式中,本发明的系统包括探针,该探针包括 2 个或更多的电极。探针可以物理握持电极,使得电极能够与样品接触。探针可以使工作电极靠近参比电极和 / 或反电极。图 21 显示本发明系统的探针的一个示例性实施方式,其具有 4 个电极:第一工作电极 (WE1)、第二工作电极 (WE2)、参比电极 (RE) 和反电极 (CE)。图 21 (a) 显示该探针的阴影图。图 21 (b) 显示该探针的线条图。如图 21 所示,在有些情况下,参比电极和反电极具有环形构造对于本发明可能是有利的。在其它实施方式中,参比电极或反电极中只有一个具有环形构造。环形电极在有些情况下可以提供信号稳定性。尽管该实施方式显示了一种构造,但是本发明可以使用其它环形电极构造。

[0184] 在一些实施方式中,对于如蒽的部分使用轻掺杂的半导体例如硅片可能是有利的。不受理论所束缚,半导体如硅的带隙可能受到半导体的掺杂水平的影响,据信在有些情况下,使用具有适当掺杂水平的半导体可能有利于适应具有适当带隙的适当的氧化还原活性部分。因此,在有些情况下,希望使用具有如蒽的部分的轻掺杂半导体,例如硅。因此在

一些实施方式中,使用两个半导体工作电极是有利的:一个针对二茂铁部分优化,另一个针对蒽部分优化。当使用两个工作电极时,在一些实施方式中,两个顺序的电化学测量(例如使用方波伏安法)将使用相同的反电极和参比电极进行。例如,第一测量可以使用参比电极、反电极和工作电极 1(例如蒽衍生化的)在  $-1.2$  至  $-0.5\text{V}$  之间进行,然后第二测量使用参比电极、反电极和工作电极 2(例如二茂铁衍生化的)在  $0$  至  $0.5\text{V}$  之间进行。然后可以储存并加工在第一和第二测量中检测到的峰电位,得到 pH 读数。这种类型的系统和方法可以通过使用双恒电位仪或两通道多路器(multiplexer)完成。一种类似的方法可应用于使用多恒电位仪或多通道多路器的多个工作电极。

[0185] 该系统配置为对样品进行伏安测量。在一个方面,本发明提供一种包括用伏安 pH 感测系统测量 pH 的方法,该感测系统包括上述半导体电极传感器、用于给电极提供电压的恒电位仪、和检测作为电压的函数的电流的仪表。

[0186] 一般需要反电极来完成电化学回路,以进行本文所述的测量。反电极通常由对介质而言为化学惰性的材料制成,使得其电位在测量过程中不会明显改变。在许多应用中合适的材料包括铂、金、不锈钢和碳。

[0187] 参比电极是任选的,并且在本发明的一些实施方式中用作第三电极。在三电极系统的情况中,反电极通常完成回路,允许电流通过电池流动,而参比电极保持恒定的界面电位差,无论电流如何。在系统包括对分析物敏感的氧化还原活性部分和对分析物不敏感的氧化还原活性部分的情况中,对分析物不敏感的氧化还原活性部分可以作为参比,使电位差可以用于确定分析物浓度。甚至在系统包括对分析物不敏感的部分时,在一些实施方式中,仍然使用参比电极。在一些实施方式中,也可以使用假参比电极。可以使用的参比电极包括:标准氢电极(SHE),也称为“正常氢电极”(NHE)、饱和甘汞电极(SCE)、铜-硫酸铜(II)电极和银/氯化银(Ag/AgCl)电极。在一些实施方式中,银电极可以用作银/氯化银电极。其中在银电极处或附近存在足够的氯。在有些情况下,例如在非水性介质中,可以使用诸如铂或银电极的金属电极作为参比电极。

[0188] 为了进行伏安法,系统通常具有用于提供多个电位的源。伏安法可以是,例如循环伏安法、脉冲伏安法、平脉伏安法、方波伏安法、差分脉冲伏安法、线性伏安法或方波伏安法。用于提供多个电位的源可以是恒电位仪,例如,能够为方波伏安法提供方波的恒电位仪。

[0189] 通常,使用伏安法确定电流峰的位置,该电流峰指示氧化还原活性部分的还原或氧化电位,以确定分析物浓度。在一些实施方式中,使用对分析物敏感的氧化还原活性部分的还原和/或氧化电位的位置来确定分析物的浓度。例如,在不使用对分析物不敏感的氧化还原活性部分时,可以使用该方法。

[0190] 在使用对分析物不敏感的氧化还原活性部分时,通常通过测量与固定的氧化还原活性部分的氧化(或还原)电流峰有关的电位差  $\Delta E$  来完成检测。其中  $\Delta E$  的幅度可能与溶液中的分析物例如氢离子( $\text{H}^+$ )的浓度相关。对分析物不敏感的氧化还原活性部分具有对介质变化不敏感的电化学响应,并且用作参比。使用反电极由伏安图确定参比和指示剂的氧化或还原的电流峰。

[0191] 在一些实施方式中,系统进一步包括与测量电流的装置通讯的计算系统。计算系统可具有用于从来自伏安测量的多个电位下的测量电流计算还原或氧化电位的算法。计算

系统可以是感测系统的一部分,在有些情况下感测系统可以自包含。计算系统可以包括用于存储来自传感器的原始数据和 / 或加工数据的存储器。计算系统可以与传送装置连接,该传送装置通过无线、有线、光纤或其它方式将加工数据传送给外部装置。计算系统可以提供信号和测量值,它们在有些情况下可以实时传送,从而使系统在发生可能需要注意的情况时可以对最终用户报警。例如,传送的信号和测量值可以提供调整制备过程如化学或生化过程所需的信息。

[0192] 在一些实施方式中,系统由容纳半导体电极传感器的外壳组成,该半导体电极传感器与包括提供多个电位的源和电流测量装置的单元电连接。在一些实施方式中,所述单元也包括用于至少部分分析数据的上述计算系统。所述单元可以是自供电的,例如具有电池,或者可以具有与外部电源的连接。该单元可以具有显示和输入按钮,以允许使用者控制测量和读取传感器的输出。该单元可具有发送数据、接收指令或用外部设备检测的传送能力。

[0193] 图 1 显示用于测定流体(如生化反应器中的流体)中分析物的半导体传感器电极连接到传感器外壳内的实施方式的图。图 1(a) 显示容纳半导体电极传感器并提供用于伏安法测量的与半导体电极传感器的电连接的组件的放大图。在图 1(a) 中,半导体电极传感器(I)由端盖(II)固定就位,接触金属化的陶瓷圆盘(III)。陶瓷圆盘可以在圆盘的前面和背面上的特定区域金属化,具有连接特定金属化区域的通路(vias)。陶瓷圆盘的一侧上可以存在半导体工作电极以及反电极和任选的参比电极。例如,电极,如半导体工作电极,可以各自安装在特定金属化区域上。然后将圆盘安装在外壳上,使得具有电极的圆盘侧面暴露于探针所浸入的介质,而圆盘的另一侧远离介质,允许与圆盘上的金属区电连接,使得可以施加电压并且电流可以流向电极或从电极流出。密封垫(IV)提供相对于传感器所浸入的流体的密封,同时允许与外壳轴(VI)上的针式接头(V)电接触。图 1(b) 显示用于插入待测流体中的装配壳体。使用管配件密封提供与用于伏安测量的半导体电极的电连接的金属线。

[0194] 图 2 显示包括用于提供多个电位的源和电流测量装置的单元的实施方式的图。图 2(a) 示出了顶视图,图 2(b) 示出了背面视图。该单元具有用于连接至电极进行伏安法的电输入 / 输出连接器(4/20mA I/O)。该单元具有交流电源连接。该单元具有用于传送数据、接收指令和用外部设备进行测试和调试的通用串行总线接口(USB I/F)和 RS-232 串行口。该单元还包括液晶显示器(LCD),并且具有用户界面按钮,从而使用户能够控制测量并读取来自传感器的输出。

[0195] 图 3 显示本发明系统的一个方面的另一个示例性实施方式。图 3 示出了包含两个半导体(硅)工作电极、一个参比电极和一个反电极的探针。电极可以通过探针电连接到用于为工作电极、反电极和任选的参比电极提供多个电位的源,和用于测量多个电位下通过工作电极的电流的装置。在该实施方式中,两个工作电极、参比电极和反电极包含在圆盘上的探针的末端上,该圆盘允许电极接触含有待测分析物的介质。各个电极的面积可以变化,以提高系统的性能。尽管该实施方式显示了两个工作电极,但是在一些实施方式中,将有一个工作电极,而在其它实施方式中,有 3、4、5、10、20 个或更多的工作电极。在一些实施方式中,一个工作电极可以包括具有对 pH 敏感的氧化还原活性部分如葱的半导体表面,而其它工作电极可以包括对 pH 不敏感的氧化还原活性部分,如二茂铁。在一些实施方式中,

其上结合 pH 敏感性部分如葱的半导体表面包括轻掺杂的硅片,而其上结合 pH 不敏感性部分如二茂铁的硅表面包括更高掺杂的硅片。

[0196] 半导体工作电极可以键合到圆盘上的导电区。贯穿圆盘的导电通路 (Conductive vias) 允许电连接至外壳内容纳的电极针。电极针又电连接至例如金属线,金属线可以穿过探针外壳,然后在外壳外将电极电连接至为电极施加电位的源,以及用于测量通过电极的电流的装置。螺纹、O-环和六角体 (hex body) 可将探针安装在如生物反应器或发酵罐的反应器上。螺纹可使探针与穿过反应器壁的相应的螺纹孔配合,六角体可将探针紧固在反应器中,垫圈帮助建立密封。在一些实施方式中,单元不使用螺纹安装在反应器中,不使用螺纹的安装可以防止在使用螺纹时发生的某些失败模式。

[0197] 在一些实施方式中,系统设置为用作过程中的在线传感器。在线传感器可以是在正在进行的过程中使用的传感器。在一些实施方式中,传感器处于容器中,在其它实施方式中,传感器位于过程流体流动通过的导管或管线中。在一些实施方式中,通过伏安法测量的在多个电位下的电流用来确定分析物浓度,并且用确定的分析物浓度控制过程参数。本发明的系统在在线感测中是有价值的,因为它们可以制成坚固的、抗污染的,并且能够在改变其性质的介质中长时间地测定分析物浓度,例如在诸如化学反应的过程中。

[0198] 制备半导体电化学传感器的方法

[0199] 本发明的一个方面是制备电化学传感器的方法。该方法通常包括使半导体衬底具有一个表面,并将具有对分析物敏感的还原和 / 或氧化电位的氧化还原活性部分固定在该半导体表面上。

[0200] 本发明的一个方面是形成对分析物敏感的半导体电极的方法,所述电极具有半导体表面,该方法包括:将对分析物的存在敏感的氧化还原活性部分固定在该半导体表面上。

[0201] 任何合适的方法,如本领域已知的或本文公开的方法,都可以用来构建如上所述的可用作本发明传感器的一部分的半导体表面。氧化还原基团可以化学地或物理地固定在表面上。氧化还原基团可以与半导体表面反应,以将其共价连接到半导体上。或者,氧化还原活性基团可以吸附到半导体上。氧化还原活性基团还可以通过将该基团连接到与表面共价或非共价结合的聚合物上而固定。氧化还原基团或氧化还原基团是其一部分的聚合物与表面的共价结合可有利于改善电极的寿命和稳定性。

[0202] 用于共价连接官能团与如硅或锗的半导体的方法是已知的。例如,硅可以与碳形成共价键,因此是用于用碳基分子功能化的理想的衬底。与表面的共价结合可以通过例如硅的半导体与碳、氧、氮、硫或其它原子之间的键实现。在一些实施方式中,与表面的键是例如硅的半导体与碳之间的键。在一些实施方式中,与表面的键是例如硅的半导体与氧之间的键。

[0203] 在一些实施方式中,氧化还原活性部分通过与半导体表面共价结合的固定通过与半导体氢化物例如硅氢化物 (Si-H) 表面结合而实现。半导体-氢化物,例如硅-氢化物表面,可以通过例如用氢氟酸 (HF) 处理半导体例如硅表面例如处于本征氧化物状态的表面而获得。例如,稀 (1-3%) HF 水溶液处理,或者 40%  $\text{NH}_4\text{F}$  水溶液处理,可以用来产生 Si-H 封端的表面。当多孔硅通过涉及 HF 的标准方法蚀刻时也可以用作 Si-H 表面。图 4 示出了说明通过用 2.5% HF 水溶液处理晶片,在硅片上,本征氧化物表面向 Si-H 表面转化的示意图。Si-H 表面也可以通过其它方法形成,例如通过如美国专利 6,444,326 所述的硅烷的分解。

Si-H表面也可以通过溶胶-凝胶型方法(参见例如5,017,540和5,326,738)通过表面硅烷醇部分与如三羟基氢硅烷(trihydroxyhydridosilane)的试剂反应而形成。氢化锗(Ge-H)表面可以经历与Si-H相同类型的反应,以产生共价键合的氧化还原试剂。与Si或Ge表面共价键合的合适的反应例如描述于J. M. Buriak, Chem. Review 2002, 102(5), 1271。也可以制备其它半导体衬底的氢化物,并用来共价结合氧化还原活性部分。合适的半导体氢化物包括,例如,硅锗的氢化物(M. S. Carroll, 等人, J. Electrochem Soc. 2000, 147(12), 4652)、砷化镓(P. E. Gee, 等人, J. Vacuum Sci. Tech. A: Vacuum Surf. Film 1992, 10(4), 892)、氮化镓、金刚石膜(S. Yamashita, 等人, US 5, 786, 604(1998))和磷化铟(Y. Sun, 等人, J. Appl. Phys. 2005, 97, 124902)。

[0204] 半导体-氢化物表面,例如Si-H表面,可以与多种官能团反应,以产生共价键,从而使氧化还原活性部分连接到半导体表面上。Si-H表面、Ge-H表面或其它半导体-H表面可以参与氢化硅烷化反应,其涉及在不饱和位点添加例如Si-H,以与表面形成Si-C、Si-O或Si-N键。可以在包括氢化硅烷化的这些反应中使用的官能团包括烯、炔、亚胺、羰基和肟。包括氢化硅烷化的这些反应可以通过热、光化学方法、使用金属催化剂或使用自由基引发剂进行(参见Buriak, ChemCommun, 1999, 1051-1060)。Si-H表面或其它半导体-H表面也可以通过例如格氏试剂或锂试剂与烷基或芳基负碳离子反应。在一些实施方式中, Si-H表面或其它半导体-H表面可以与叠氨基、重氨基和重氮鎓基团反应。合适的重氮化反应例如在Stewart 等人, J. Am. Chem. Soc. 126, 2004, 370-378 中有描述。

[0205] 图5显示了表面Si-H与连接到二茂铁氧化还原活性部分上的醛官能团的反应,以产生通过Si-O键共价结合的二茂铁。图5还显示了表面Si-H与连接到二茂铁氧化还原活性部分上的乙烯基官能团的反应,以产生通过Si-C键共价结合的二茂铁。图6显示了表面Si-H与连接到蒽氧化还原活性部分上的醛官能团的反应,以产生通过Si-O键共价结合的蒽。图6还显示了表面Si-H与连接到蒽氧化还原活性部分上的乙烯基官能团的反应,以产生通过Si-C键共价结合的蒽。图7显示了二茂铁氧化还原活性部分和蒽氧化还原活性部分两者通过乙烯基官能团的反应,以产生具有共价连接的对氢离子敏感的氧化还原基团(蒽)和共价连接的对氢离子不敏感的氧化还原基团(二茂铁)的硅表面。在一些实施方式中,羰基如醛基代替乙烯基官能团提供与表面的连接。

[0206] 可替代地,氧化还原活性部分可以通过与半导体例如已经除去所有官能团的硅表面直接反应而共价连接到表面上,典型地通过高温和真空。例如,纯硅表面可以与例如烯和炔直接反应,形成Si-C共价连接(参见Bateman 等人, Angew. Chem. Int. Ed. 1998, 37(19), 2683-2685)。也可以使用重氮种类通过热或电化学方法将表面官能化。在一些实施方式中,可以利用超高真空技术制备本发明的官能化的表面,例如通过烯和炔的[2+2]反应或二烯与重建的Si表面的第尔斯-阿尔德([4+2])反应。

[0207] 用烷基-、烷氧基-和氯-硅烷给半导体氧化物表面如二氧化硅和玻璃表面加帽也可以用来将半导体表面官能化。

[0208] 半导体表面可以包含氧化物官能团,包括羟基官能团(本征氧化物)。在一些实施方式中,本发明的半导体电极通过共价连接到该氧化物官能团上而修饰。例如,使用有机化学中已知的用于碳结合羟基的许多反应,包括例如酯和醚的形成,硅或其它半导体元素的羟基可以偶合到表面结合的基团上。一种衍生化方法包括使用碳二亚胺与表面偶合。示例



性的碳二亚胺包括,例如,二环己基碳二亚胺(DCC)或(1-乙基-3-[3-二甲基氨基丙基]碳二亚胺盐酸盐)(EDC)。

[0209] 氧化还原活性部分也可以通过与半导体表面上的本征氧化物、-O 或 -OH 反应而共价连接到表面上。已知许多进行这些反应以通过各种官能团形成共价键的方法(参见Maoz等人, *J. Colloid. Interface Sci.*, 1984, 100, 465-496)。在一些实施方式中,可以使用间接法,其中包含其它反应性官能团的烷氧基硅烷与半导体表面上的 -O 或 -OH 基团反应,从而使烷氧基硅烷共价连接到半导体表面上。烷氧基硅烷上的其它反应性官能团然后可以用来将氧化还原活性部分共价连接到表面上。在这些实施方式中,烷氧基硅烷可以成为连接体或连接体的一部分。其它反应性官能团可以是任何能够用来连接氧化还原活性部分的反应性官能团。该官能团可以是,例如,烯烃、乙炔、胺、硫醇或环氧基。用来将烷氧基硅烷与氧化还原活性部分偶合的反应可以是,例如,第尔斯-阿尔德反应、迈克尔加成、点击化学或环氧化学法。包含氧化还原活性部分的半导体聚合物可以聚合到表面上、接枝聚合到表面上、在表面上光聚合或预形成和铸造。

[0210] 在一些实施方式中,利用上述用于共价连接官能团与半导体表面的反应连接具有化学官能团的连接体基团或连接体基团的部分,后者在后续步骤中可以用来将氧化还原活性部分共价结合到表面上。

[0211] 可以用来将氧化还原活性部分共价连接到半导体表面上的反应包括氢化硅烷化、自由基反应、碳二亚胺偶合、第尔斯-阿尔德反应、迈克尔加成、环氧反应或点击化学(参见,例如 Evans 等人 *Australian Journal of Chemistry* 60(6):384-395(2007))。

[0212] 在一些实施方式中,本发明的有机半导体衬底可以被修饰,以在有机半导体形成后连接氧化还原活性物质。例如,有机半导体可以铸造成膜。在一些实施方式中,有机半导体聚合物,例如,聚苯胺、聚吡咯和聚噻吩,通过化学或电化学氧化来制备。半导体聚合物随后可以使用例如所述的用于连接氧化还原活性剂与无机半导体衬底的化学方法进行修饰。在一些实施方式中,半导体聚合物可以包含可以用来将氧化还原活性物质连接到半导体聚合物上的官能团。例如,聚(苯胺磺酸)中的磺酸基团可以用来通过硫酸胺的形成固定氨基二茂铁、1,1'-二氨基二茂铁和氨基蒽。在一些实施方式中,吡咯、噻吩或苯胺单体可以具有如 N-羟基琥珀酰亚胺酯、羧酸或反应性乙烯基或烯丙基的官能团。单体然后可以聚合化,例如电聚合化,并且氧化还原活性部分可以连接到聚合单体上的官能团上。

[0213] 在一些实施方式中,氧化还原活性部分可以并入到半导体聚合物本身内,例如作为聚合物的骨架的一部分。例如,聚(二茂铁基亚乙烯基亚苯基乙炔)、聚(氟)和聚(咪唑)内的氧化还原活性基团在它们的主链中包含可以用于分析物例如 pH 感测的氧化还原活性部分。

[0214] 在有些情况下,通过在半导体的表面上涂覆导电化合物如金属或金属氧化物来修饰该表面。在一些实施方式中,半导体上涂覆有金、银、钯、铜、铂或其它金属。这些金属可以从溶液中涂覆,例如通过电沉积,或者可以使用真空技术如等离子沉积或金属蒸发涂覆到表面上。半导体表面可以涂覆导电的或半导电的金属氧化物化合物如铟-锡氧化物。当这些材料涂覆到半导体电极表面上时,氧化还原活性剂通过与半导体电极上的层连接而连接到半导体电极上。

[0215] 在使用连接体基团时,连接体可以较小,例如 1-3 个原子,或者可以较长,例如

20-100 个原子。连接体也可以是大连接体和小连接体之间的任意大小。在一些实施方式中,连接体相对较短,使得氧化还原活性部分靠近表面,这可有利于电子转移。在一些实施方式中,提供连接体使得氧化还原活性剂距半导体表面 1、2、3、4、5、6 或 7 个原子。当使用短连接体时,氧化还原活性部分保持靠近表面。当使用较长的基团时,氧化还原活性部分能够远离表面,例如进一步进入溶液中。连接体基团可包括亲水性、疏水性基团,或者它们的混合物。连接体基团可包括,例如,烃、烯、炔、酯、醚、酰胺、胺、羰基、硫醇、烯烃、硅氧烷或其它有机、无机或有机金属基团。连接体基团可以通过聚合反应或低聚反应如自由基或阴离子聚合而形成。连接体基团可包括,例如,环氧乙烷、环氧丙烷或丙烯酰胺重复单元。连接体可以具有环结构,包括芳香环。连接体结构的变化可以用来改变氧化还原活性部分在溶液中的迁移率。如果连接体太长而且紧密包装,氧化还原活性部分可以足够远离该表面,使得向电极表面的电子转移受到损害。在这些情况中,连接体具有导电性可能是有用的。

[0216] 氧化还原活性部分可以是高度取代的,并且可以仍然用作氧化还原活性部分。因此,例如,氧化还原活性部分二茂铁包括取代的二茂铁、二茂铁聚合物和通过连接体分子共价连接到表面上的二茂铁。

[0217] 在一些实施方式中,氧化还原活性部分可以并入到聚合物中,并且该包含氧化还原活性部分的聚合物可以固定到半导体表面上。聚合物的固定可以是化学或物理固定。聚合物的固定可以通过共价键或者通过聚合物吸附到半导体表面上而完成。

[0218] 氧化还原活性部分可以并入到任何类型的可以固定到半导体表面上的聚合物中。可以并入氧化还原活性部分的聚合物类型包括生物聚合物,如 RNA、DNA 或蛋白质、导电聚合物、含氟聚合物、多萜、无机聚合物、酚醛树脂聚醚、聚酯、聚烯烃、聚硅氧烷、聚酰胺、聚酰亚胺、聚醚、聚酮、聚砜和乙烯基聚合物。

[0219] 在有些情况下,包含氧化还原活性部分的聚合物可以在半导体表面产生。例如,包含氧化还原活性部分的单体或低聚物可以在表面的区域中聚合化,从而靠近该表面产生聚合物。在有些情况下,聚合作用可以在半导体表面开始,使得聚合物共价结合到表面上。聚合作用可以在表面上开始,例如,可以通过由连接到半导体表面上的重氮基启动的自由基反应启动。在其它情况下,聚合作用可以在溶液中开始,例如靠近表面,使得初生聚合物在形成时固定到表面上。确定合适的溶剂条件的方法是已知的。例如,通过确定单体和 / 或低聚物是可溶性的,而聚合物是不溶性的,允许发生表面沉积。半导体表面可包含可聚合的官能团,该官能团能够与包含氧化还原活性部分的单体或低聚物共聚合,导致氧化还原活性聚合物共价结合到半导体表面上。

[0220] 在一些实施方式中,包含氧化还原活性部分的聚合物可以在半导体表面电聚合。例如,将包含氧化还原活性部分的单体加到溶液中,并通过半导体表面提供电流,导致单体的电聚合。在一些实施方式中,电聚合可以导致电聚合的聚合物与半导体表面共价连接。在其它实施方式中,电聚合可以导致例如在半导体-溶液界面聚合,并且形成的聚合物可以沉积到半导体表面上,导致聚合物通过物理吸附而固定到表面上。聚合物可以聚合到表面上、接枝聚合到表面上、在表面上光聚合或预形成和铸造。

[0221] 聚合物可以作为以可逆方式对信号的响应,以可以被电化学检测的方式,化学或电化学沉积在各个微电极上,聚合化。R. W. Murray in *Electroanalytical Chemistry*, vol. 13, A. J. Bard 编 (Marcel Dekker, NY 1984) 描述了其它这样的材料,其教导特别引入

本文。

[0222] 在一些实施方式中,聚合物远离半导体表面形成,并且随后固定在其上。聚合物可以通过多种方法固定在表面上,包括从溶液中吸附、涂覆,包括旋涂和浸涂、喷雾、印刷、电涂或电沉积。

[0223] 在一些实施方式中,通过使 H- 封端的半导体表面接触一种或多种氧化还原活性部分来形成半导体电极,其中至少一种氧化还原活性部分对分析物的存在敏感,其中每种氧化还原活性部分包含将与 H- 封端的半导体表面反应形成共价键的官能团,从而形成衍生的半导体表面。在一些实施方式中,表面包含至少两种氧化还原活性部分,并且其中一种氧化还原活性部分对析物的存在不敏感。

[0224] 组合物和装置的应用

[0225] 本发明的一个方面是一种确定分析物的浓度的方法。在一个实施方式中,该方法包括:放置电极使之接触所述分析物,所述电极包括具有半导体表面的半导体衬底,该半导体表面上固定有对分析物敏感的氧化还原活性部分,所述对分析物敏感的氧化还原活性部分显示对分析物的浓度敏感的氧化电位和 / 或还原电位;向该电极施加多个电位;和测量在多个电位下通过电极的电流,以确定对分析物敏感的氧化还原活性部分的还原和 / 或氧化电位,从而确定分析物的浓度。

[0226] 在一个方面,该方法包括:如下确定分析物的浓度:(a) 放置电极使之接触所述分析物,所述电极包括具有半导体表面的半导体衬底,该半导体表面上固定有对分析物敏感的氧化还原活性部分,所述对分析物敏感的氧化还原活性部分显示对分析物的浓度敏感的氧化电位和 / 或还原电位;(b) 向该电极施加多个电位;和 (c) 测量在多个电位下通过电极的电流,并确定对分析物敏感的氧化还原活性部分的还原和 / 或氧化电位,从而确定分析物的浓度。

[0227] 通过如上所述使用对氢离子敏感的氧化还原活性部分,可以利用确定分析物的浓度的方法确定 pH。

[0228] 测量多个电位下的电流允许进行伏安法,用于确定固定在表面上的氧化还原活性部分的氧化和 / 或还原电位。该方法中使用的伏安法可以是,例如循环伏安法、脉冲伏安法、平脉伏安法、方波伏安法、差分脉冲伏安法、线性伏安法或方波伏安法。用于提供多个电位的源可以是恒电位仪,例如,能够为方波伏安法提供方波的恒电位仪。

[0229] 测量频率可以影响数据的质量。在一些实施方式中,方波伏安图普遍为 2mV 的梯段高度、25mV 的振幅和 10Hz 的频率。在有些情况中,提高频率是有利的。例如,将频率提高到 500Hz 可导致更快的扫描速度。我们观察到在有些情况下,较高的频率导致较高的观测电流水平。在有些情况下,在提高工作频率时,峰电流例如可以位移到更负的电位。在有些情况下,在较高频率下改变电位可以在方波伏安图中产生更多的噪音。在有些情况下,使电极避光是有利的,因为在有些情况下中,光可以引起背景噪音。

[0230] 该方法通常进一步包括具有对分析物基本不敏感的还原和 / 或氧化电位的对分析物不敏感的氧化还原活性部分,进一步包括测定对分析物不敏感的氧化还原活性部分的氧化和 / 或还原电位,以及由对分析物敏感的部分和对分析物不敏感的部分的氧化和 / 或还原电位差确定分析物的浓度。

[0231] 通常,使用伏安法确定电流峰的位置,该电流峰指示氧化还原活性部分的还原或

氧化电位,从而确定分析物浓度。在一些实施方式中,使用对分析物敏感的氧化还原活性部分的还原和 / 或氧化电位的位置确定分析物的浓度。例如,可以使用电流峰相对于参比电极电位的位置。例如,在不使用对分析物不敏感的氧化还原活性部分时,可以使用该方法。

[0232] 在使用对分析物不敏感的氧化还原活性部分时,通常通过测量与固定的氧化还原活性部分的氧化(或还原)电流峰有关的位置差  $\Delta E$  来完成检测。其中  $\Delta E$  的幅度可能与溶液中的分析物例如氢离子 ( $H^+$ ) 的浓度相关。即,在许多实施方式中, $\Delta E$  代表氧化还原活性分析物敏感性部分与氧化还原活性分析物不敏感性氧化还原活性部分的还原和 / 或氧化电位之间的电位差。具有对介质变化不敏感的电化学响应的分析物不敏感性氧化还原活性部分用作参比。可以使用反电极从伏安图确定参比和指示剂的氧化或还原的电流峰,而不需要参比电极。

[0233] 该方法使用测量的在多个电位下通过电极的电流来确定分析物的浓度。使用测量的电流(例如电流峰)确定浓度可以使用与测量电流的装置通讯的计算系统来完成。该计算系统可以应用由通过伏安法测量获得的在多个电位下的电流计算还原或氧化电位的算法。该计算系统可以是感测系统的一部分,在有些情况下,感测系统可以是自包含的。该计算系统可以使用它的存储器存储来自传感器的原始数据或加工数据。该方法可以进一步包括计算系统和传感器之间通过传送装置的通讯,该传送装置将向外部设备无线或有线地传送加工数据。

[0234] 进行该方法一般需要使用至少另外一种电极(反电极)。反电极用来完成电化学回路,以进行本文所述的测量。反电极通常由对于介质而言为化学惰性的材料制成,使得其电位在测量过程中不会明显改变。在许多应用中合适的材料包括铂、金、不锈钢和碳。在有些情况中,反电极可以结合到也包含半导体传感器电极的芯片中。

[0235] 参比电极是任选的,并且在测定分析物浓度的方法的一些实施方式中用作额外的电极。在三电极系统的情况中,反电极通常完成回路,允许电流通过电池流动,而参比电极保持恒定的界面电位差,无论电流如何。在系统包括对分析物敏感的氧化还原活性部分和对分析物不敏感的氧化还原活性部分的情况中,对分析物不敏感的氧化还原活性部分可以作为参比,使得可以利用电位差确定分析物浓度。甚至在也使用对分析物不敏感的部分时,在一些实施方式中,仍然使用参比电极。在一些实施方式中,也可以使用假参比电极。可以使用的参比电极如上所述。

[0236] 在许多实施方式中,样品是液体样品,并且电极均与该液体接触。在有些情况中,样品不是液体,而是通常包含固体电解质的固体,或气体。

[0237] 在一些实施方式中,该方法涉及过程的在线感测。在线传感器可以是在正在进行的过程中使用的传感器。在一些实施方式中,该方法包括在容器中使用传感器,在其它实施方式中,传感器位于过程流体流动通过的导管或管线中。在一些实施方式中,该方法包括使用通过伏安法测量的在多个电位下的电流来确定分析物浓度,并且用确定的分析物浓度控制过程参数。本发明的系统在在线感测中是有价值的,因为它们可以制成坚固的、抗污染的,并且能够在改变其性质的介质中长时间地测定分析物浓度,例如在诸如化学反应、生化反应或发酵的过程中。

[0238] 远程监测的一个方面是传感器可以编程为自动获取读数。自动读数可以编程为定期进行,在发生某一事件时进行,或者在传感器提示时进行。定期事件可以间隔秒至月的数

量级。某些事件的发生可能是,例如,在测定的溶液达到某一水平的时间点,或者生产过程的步骤中的特定时间点(例如在步骤开始或结束时,或者在向容器中加入试剂时)。

[0239] 远程监测通常包括从遥感单元通讯,和/或向遥感单元通讯。与遥感单元的通讯可以使用传输线和/或无线进行。可以使用任何类型的信号,包括,例如,数字、模拟、宽带、窄带或它们的组合。

[0240] 本发明的一个方面是使用半导体电极对 pH 的伏安监测,作为过程中的过程控制的一部分。在一个实施方式中,伏安 pH 测量在工业过程流中进行,使用该测量获得的 pH 值作为输入值,用于决定对过程参数的调节。在一个实施方式中,利用由使用半导体电极的伏安 pH 测量获得的 pH 值来决定是否向过程中添加一种或多种成分,和/或决定添加多少该成分。在一些实施方式中,利用 pH 值控制过程的一部分中的 pH,例如,作为关于添加酸性或碱性成分的决定的输入值。在一些实施方式中,利用 pH 值确定过程是否达到特定阶段,例如,反应是否完成。在一些实施方式中,利用 pH 值确定向含有生物体的反应中添加养分或其它成分,以保持生物体的健康和生产力。

[0241] 过程控制步骤可以是自动化的,使得来自传感器的给定 pH 测量值导致过程参数的改变,而无需人为干预。在其它实施方式中,由人观察 pH 测量,他利用该信息决定过程参数的改变。

[0242] 过程控制步骤可以由具有半导体电极的伏安 pH 系统控制,该系统具有传感器、电压源、电流测量检测器和用于由电流测量值确定 pH 的计算机。该伏安 pH 系统可以通过模拟或数字方式,通过有线、无线连接、光纤或其组合,与过程控制系统通讯,或者与操作者通讯。

[0243] 本发明的一个方面是一种使用半导体电极的伏安 pH 感测方法,其中 pH 传感器需要极少的校准。在本发明的一个方面,pH 传感器基本上不需要校准。

[0244] 使用半导体电极进行伏安 pH 感测具有许多优点。例如,本发明的传感器通常包括固态传感器。本发明的传感器具有内置的内标准,因此不需要校准。本发明的传感器可以构造为物理坚固的,使得它们不易破裂。本发明的传感器可以制成对污染相对不敏感的。本发明的传感器可以构造为耐受化学灭菌,如暴露于环氧乙烷、UV 稳定化、 $\gamma$  射线辐射、电子束辐射和温度处理。本发明的传感器可以构造为耐受压力下的高湿和高温处理,如经历高压灭菌。

[0245] 使用半导体电极的伏安 pH 感测方法包括在不锈钢反应器、玻璃反应器(例如用于产品开发)和一次性反应器(例如塑料试剂袋),例如,如 Wave Biotech、Hyclone、Xcellerex 和 Stedim 等生产商描述的反应器中进行的反应。

[0246] 本发明的一个方面涉及用于包括层析和切向流超滤在内的加工的使用半导体电极的伏安 pH 感测方法。

[0247] 本发明的另一个方面是作为远程监测系统如药物(药剂)输送系统中的传感器。例如,美国专利申请 2003/0153900 中描述了这种系统。分析物监测系统或监测和药物(药剂)输送系统可以分割为一次性模块、可重用模块和个人数字助理(PDA)模块。PDA 一般是便携的,例如手持式装置,具有计算和网络连接功能,以及用户界面,具有输出装置例如显示器,和输入装置,例如输入笔、键盘和/或触摸屏功能。这种构造在这三种构造之间最佳地分配功能,以获得特定的优点。但是,本发明不限于这种构造。例如,可以替代地使用包

括所有电子器件、微针、化学、传感器、机械结构和用户界面的一次性单机装置。或者,更恰当地,本发明的设计允许在一个或多个系统模块之间任意分配成分。例如,可以基于系统总成本、用户安全性和 / 或关于性能的考虑,在一个或多个系统模块之间分配成分。

[0248] 一次性模块含有一旦使用必须丢弃以保证安全性和精确性的那些部件。该模块优选地包括任何结构或机械元件,以保持完整性、无菌状态和 / 或与任何可重用部件的机电接口。因此,该系统模块可以包括,例如:微针、微流体组件 (microfluidic assembly)、膜、化学试剂和结合外壳材料 (associate housing material)。传感器与生物流体接触的部分,例如可以是一次性模块的一部分。该模块也可以包括保持机构,用于建立和保持与身体的密切接触,从而提供分析物监测 / 药物 (药剂) 输送系统的机械保持。

[0249] 可重用模块通常含有控制、使动作自动化、测定分析物浓度、向用户报警、向 PDA 模块传送数据的部件。该模块也可以包括保持机构。通常,该模块包括:具有联合电路 (例如存储器、支持电子器件等) 的微处理器,感测电路,包括例如,电压供应和电流测量装置,驱动机构如马达等,电源 (例如电池),和与便携式计算装置或 PDA 通讯的操作接口。该接口可以是 RF、磁性或感应性的、光学的等。可重用模块也可以具有声音或振动报警,以提醒用户需要用户动作干预。

[0250] PDA 模块通常包括单独的通过便携式计算装置如个人数字助理 (PDA)、手持式计算机等的用户界面,用于控制装置和 / 或与装置交互作用。一种典型的便携式计算装置包括处理器、存储器、联合电路、显示器 (例如单色或彩色 LCD) 和输入装置如键盘、触摸屏 (例如与显示器集成) 等和操作系统。显示器可以显示所测定的分析物的值,可以给用户提供关于如何对测定的分析物水平作出反应的指令,或者可以告诉用户已经响应测定的分析物水平采取了什么自动动作。

[0251] 现今,具有改进的操作系统软件 and 用户界面的便携式计算装置容易获得。这些装置具有提供丰富的和扩展的功能性的能力。例如,典型的 PDA 包括相对较大的显示屏,并且也可以包括无线通讯机构、复杂的操作系统和多种商业和个人软件 (日历、日程表等)。本发明优选地包括使用 PDA 提供专用软件 (程序) 以用改进的用户界面独立操作。

[0252] 例如, PDA 模块可以给用户提供促进知情决定以帮助患者用户更好地调节药物水平或行为达到更好的水平的软件。PDA 构造提供用户界面,并且优选地使用户能够编程和 / 或控制测试。用户可以按天、周或定制的时间观察各个分析物测量,并且图形显示分析物水平趋势。PDA 可以用来显示系统记录的任何和所有测量。使用适当的软件,可以给用户提供改变药物方案的建议。在有些情况下,用户可以规划进行分析物测试的时间。优选地,用户也可以设置报警上限和下限。

[0253] 该系统可以编程为使得无论何时用户进行改变并经用户确认,信息就可无线下载到该系统中。在那时,用户可能不需要使用 PDA,除非系统报警提醒检查分析物读数。如果希望进行立即测量,用户可以从 PDA 启动测试。一旦用户选择这一命令,进行确认,并传送到可重用模块,确认就返回到 PDA。

[0254] 在一个方面,本发明包括包含伏安传感器的药物分配胶囊。在一些实施方式中,药物分配胶囊包含如本文所述的半导体基伏安传感器。本发明的药物分配胶囊通过检测分析物的存在或量在内部感测生物条件,并且基于感测的分析物水平在身体 (例如人体或动物体) 的消化道内内部分配药物。该胶囊是惰性的,因此是可吞咽的并可通过消化道而不被

消耗。通过感测一种或多种分析物的水平,可吞咽药物分配胶囊感测消化道信息,或感测指示其它器官(例如皮肤)的状况的消化道内状况。除了伏安分析物传感器,胶囊还含有一个或多个其它传感器(例如化学、电学等),使得可以通过消化系统追踪更多类型的生物数据。响应于感测的信息,胶囊将生物活性物质分配在消化道内,而不需要从远程传送器/接收器传送或接收信号,并且不需要人或计算机的主动管理。例如,美国专利 6,929,636 描述了药物分配胶囊。

[0255] 包含伏安传感器的可吞咽药物分配胶囊可以包括,例如,传感器、控制器、存储器、任意的可编程序逻辑、电源、微执行器、药物贮存模块和通讯接口,该通讯接口具有以下类型的通讯模块中的至少一种:射频;超声波;和/或红外线。在一个优选实施方式中,至少存储器,优选地还有控制器和/或可编程序逻辑,包括在半导体基例如硅基模块上的一个或多个半导体芯片中。

[0256] 在一些实施方式中,可吞咽药物分配胶囊具有多个传感器,这些传感器以希望的预定方向在胶囊外表面排列,预期该方向使得每个传感器暴露于目标身体状况或人体内的界标(landmark)。每个传感器可以包括一种类型的传感器,如图像检测器,或不同类型的传感器(例如化学、电学、温度等)。化学检测器检测多种分析物的存在,如 pH 或其它分析物。

[0257] 本发明的可吞咽药物分配胶囊可以具有调节传感器与存储器之间的通讯、存储器与人体之外的任何远程控制器之间的通讯和与可编程序逻辑元件的通讯的控制器。最后,控制器可以可操作地控制通讯接口和微执行器。控制器一般是逻辑控制器,并且包括微处理器。控制器也可以包括一个或多个能够运行一系列逻辑运算的逻辑装置(例如逻辑门)。

[0258] 可吞咽药物分配胶囊通常具有存储器或贮存装置,贮存装置一般是超高容量的贮存装置,并且通常基于半导体芯片,例如硅芯片。

[0259] 可吞咽药物分配胶囊通常具有药物贮存模块和微执行器。药物贮存模块表示用于容纳将要释放到例如消化道内的药物或生物活性物质的容器。因此,药物贮存模块也包括一个或多个选择性触发的开在胶囊外表面上的分配口。微执行器可以具有化学触发的或机电触发的使药物贮存模块释放其内容物的机构。可吞咽药物分配胶囊具有适当的电源,如锂离子电池,它是相对无毒的。或者,可以使用适合体内环境的其它电源。

[0260] 可吞咽药物分配胶囊通常具有包括任何合适的无线传送技术(例如超声波、射频等)的通讯接口,当胶囊位于消化道中,而远程传送器/接收器位于体外远距离处时,该通讯接口容易地允许与胶囊之间的通讯。但是,优选使用无线端口在胶囊从体内捕获后与胶囊通讯。同样,无线端口可以用于在将胶囊插入体内之前编程控制器、存储器和/或逻辑元件,以确定传感器将要运行并且与存储器通讯的方式,以及微执行器将要运行并且通过控制器与存储器通讯的方式。

[0261] 在使用中,胶囊的传感器,包括伏安传感器,感测消化道内的分析物浓度和生物数据,并且感测的数据通过控制器存储在存储器中,和/或与存储在存储器和/或逻辑中的数据谱进行比较。在满足预定的标准后,控制器触发微执行器,以从药物贮存模块向消化道中分配药物。感测的数据任选地存储在存储器中,并且在胶囊退出消化道而被捕获后通过通讯接口读取。最后,除了控制器和存储器以外,或者作为它们的替代,任选地可以使用无线通讯系统,以利于评价和存储感测的数据,和在适当的时间选择性触发后分配药物。

[0262] 本发明的半导体电极伏安 pH 传感器可以在制造过程中使用,如制造涂层、提高油漆和涂饰结合的清洁剂和封闭剂、在运输和贮存期间保护衬底的金属钝化、提高质量和效率的喷漆房处理、和限制污染物散出的空气滤净器。在这些应用中,可靠的 pH 测量可以是该过程的一个组成部分。

[0263] 在一个方面,本发明的传感器可以用作可嵌入式腐蚀测量仪器,该装置能够提供关于腐蚀速率、腐蚀电位、电导率和氯化物浓度以及钢筋加固结构的 pH 水平的信息。该装置可以用来监测钢的完整性。本发明的装置和系统不需要与结构内的加固钢直接电连接,使用结构钢作为参比材料之一。由于公开的装置不需要靠近结构内的钢,该装置可以散布在结构内的关键位置,而无论钢的布置如何。在一些实施方式中,这些系统和装置是自包含的,加入了所有需要的感测电极和电子器件。这些装置可以如美国专利 6,690,182 所述部署。

[0264] 本发明的半导体电极伏安 pH 传感器可用于酿酒。在整个过程中,包括 (1) 压榨,(2) 通常进行 1-2 周的主发酵,其中酵母将葡萄汁中的大部分糖转化为乙醇,(3) 二次发酵过程中,进行包括 pH 的各种性质的测量。

[0265] 本发明的半导体电极伏安 pH 传感器可用于酿造。在酿造的各个阶段,例如糖化、过滤、过滤槽、糖化醪滤、煮沸、涡旋、麦芽汁冷却、发酵、调质、再过滤和二次发酵,pH 的测量可能是重要的。本发明的半导体电极伏安 pH 传感器在发酵过程中可能是特别重要的,在此过程中本发明的伏安 pH 传感器是有利的,因为它们需要很少的校准或不需要校准,并且可以抵抗发酵过程中的污染。

[0266] 本发明的半导体电极伏安 pH 传感器可用于生产生物燃料,包括生产生物柴油、乙醇、丁醇和汽油、柴油、喷气燃料的替代物,以及用于上述任何物质的添加剂。乙醇的生产包括将纤维素转化为糖的过程和将糖转化为乙醇的过程。尽管从玉米或从纤维素原料生产乙醇存在几个关键的技术差别,但是这两个乙醇生产途径一般都需要涉及葡萄糖和其它糖向乙醇转化的发酵步骤。目前,面包酵母 *Saccharomyces cerevisiae* (酿酒酵母) 提供基于玉米的乙醇工业使用的主要微生物系统。本发明的方法涉及从酿酒酵母和其它生物生产用于燃料的乙醇。pH 的控制催化的生物燃料生产过程中可能是有用的,如用于生产生物燃料。

[0267] 本发明的半导体电极伏安 pH 传感器可用于石油回收和炼制。传感器可以加入到井下设备中,用于测定井下环境中存在的分析物。传感器可以在加工石油的其它方面如石油炼制中使用。

[0268] 本发明的半导体电极伏安 pH 传感器可用于生产生物药品,例如,使用生物技术生产的药品。它们包括,例如,用于治疗或体内诊断目的的蛋白质(包括抗体)、核酸(DNA、RNA 或反义寡核苷酸)。生物药品是通过除直接从天然(非工程化的)生物来源中提取以外的方法生产的。一个例子是由 Genentech 开发并由 Eli Lilly 销售的重组人胰岛素(rHI,商品名为优泌林(Humulin))。

[0269] 本发明的一个方面是用于生物药品生产的半导体电极伏安 pH 传感器,该生物药品包括:血液因子(例如因子 VIII 和因子 IX)、血栓溶解剂(例如组织纤溶酶原激活物)、激素(例如胰岛素、生长激素、促性腺激素)、造血生长因子(例如红细胞生成素、集落刺激因子)、干扰素(例如干扰素- $\alpha$ 、- $\beta$ 、- $\delta$ )、基于白介素的产品(例如白介素-2)、疫苗(乙



型肝炎表面抗原)、单克隆抗体(例如英利昔单抗、巴利昔单抗、阿昔单抗、达珠单抗、吉妥珠单抗、阿仑单抗、利妥昔单抗、帕利珠单抗、曲妥珠单抗(赫赛汀)和依那西普)和其它产品,如肿瘤坏死因子,和治疗性酶。

[0270] 本发明的一个方面是制备蛋白质的方法,包括进行产生该蛋白质的发酵反应,其中如下控制发酵 pH:用包括其上固定有对氢离子的存在敏感的氧化还原活性部分的半导体表面的 pH 传感器测量 pH,并利用测到的 pH 控制发酵反应的 pH。在一些实施方式中, pH 的控制可以手工进行,例如,操作者从 pH 传感器读取 pH,并使用测到的 pH 确定是否调节 pH 或者调节多少,而在其它实施方式中,控制可以自动进行,其中用仪器读出 pH 测量值,该仪器可以根据接收到的测量值调节 pH。

[0271] 本发明的半导体电极伏安 pH 传感器可以用于在各种构造的生物反应器中由微生物细胞(例如重组大肠杆菌)、哺乳动物细胞系和植物细胞培养物生产生物药品。

[0272] 细胞培养需要细胞生长,通常在严格的一套条件下,以保持细胞的健康并使培养物的产量达到最大。细胞在细胞培养箱中在适当的温度和气体混合物(例如 37°C, 5% CO<sub>2</sub>)下生长和保持。对于每种细胞型来说,培养条件变化很大,并且特定细胞型的条件的变化可导致表达出不同的表型。

[0273] 除了温度和气体混合物以外,培养系统中最常变化的因素是生长培养基。生长培养基的配方可以在 pH、葡萄糖浓度、生长因子和其它营养成分的存在方面变化。在有些情况下, pH 变化的效果可能是显著的,并且它可能对于维持 pH 是重要的。本发明的装置、系统和方法允许将 pH 控制在 1、0.5、.02、0.1、0.05、0.02、0.01pH 单位或更低的范围内,以维持细胞的生长和健康。本发明的半导体电极允许精确测量 pH,而污损有限,并且在一些实施方式中,不需要校准。

[0274] 本发明的半导体电极伏安 pH 传感器可以用于在溶液中完全生长的细胞,和在基底上生长的细胞。某些细胞自然存活,而不需要贴附到表面上,例如血流中存在的细胞。其它细胞需要表面,如大多数来源于固体组织的细胞。非贴附于表面生长的细胞被称为悬浮培养物。其它贴壁培养细胞可以在组织培养塑料上生长,该组织培养塑料上可以涂覆胞外基质成分(例如胶原或纤连蛋白),以提高其粘附性质并提供生长所需的其它信号。

[0275] 本发明的一个方面是生物反应器或发酵罐,其中用本发明的半导体基伏安传感器控制在其中发生的发酵反应。在一个实施方式中,本发明包括含有半导体基传感器的生物反应器,其中该半导体传感器包括其上固定有对分析物如氢离子的存在敏感的氧化还原活性部分的半导体表面。图 17 显示了本发明的生物反应器的一个例子,其包括用于测量 pH 的探针,由此在反应过程中控制反应器中的 pH。该探针包括具有半导体表面的电极,该半导体表面上固定有对氢离子敏感的氧化还原活性部分。在一些实施方式中,探针包括两个电极,每个电极包括一个半导体表面,这些电极中的一个上固定有对氢离子敏感的氧化还原活性部分,并且这些电极中的一个上连接有对氢离子不敏感的氧化还原活性部分。在一些实施方式中,探针进一步包括反电极,在一些实施方式中,进一步包括参比电极。

[0276] 本发明的半导体电极伏安 pH 传感器可用于帮助成功操作培养的细胞。由于细胞在培养中通常继续分裂,它们常常生长至填满可以到达的区域或体积。这可产生几个问题(可以由可靠的 pH 测量帮助解决),如:生长培养基中的养分消耗;凋亡/坏死(死亡)细胞的积累;刺激细胞周期停滞、引起细胞停止分裂的细胞间接触(称为接触抑制);刺激混杂

的和不希望细胞分化的细胞间接触。有时,这些问题可以通过单独监测 pH 或与其它测量相结合来确定,然后通过通常依赖于灭菌技术的调整组织培养条件来控制或纠正。这些方法的目的在于避免将与哺乳动物细胞竞争养分和 / 或引起细胞感染或细胞死亡的细胞或酵母污染。本发明的 pH 测量适合在生物安全柜或层流柜中进行,以排除污染微生物。

[0277] 本发明的半导体电极伏安 pH 传感器可用于植物组织培养、细菌和酵母细胞培养和病毒细胞培养中的 pH 感测。

[0278] 本发明的一个方面是用于在植物细胞培养中感测 pH 的半导体电极伏安 pH 传感器。本发明的 pH 测量可以在植物细胞培养的任何步骤中使用。植物组织培养一般在无菌条件下在过滤的空气下进行。来自环境的活的植物材料在其表面上(有时在内部)自然地污染有微生物,因此在化学溶液(通常是醇和氯化汞)中对起始材料(外植体)的表面灭菌是重要的第一步。然后通常将外植体置于固体培养基的表面上,但是有时直接置于液体培养基中,特别是在希望进行细胞悬浮培养时。固体和液体培养基通常由无机盐加少量的有机营养物质、维生素和植物激素组成。固体培养基由液体培养基添加胶凝剂(通常是纯化的琼脂)制成。本发明的 pH 测量可以在液体中、在湿润土中或在琼脂中进行。培养基的组成,特别是植物激素和氮源(硝酸盐相对于铵盐或氨基酸),和 pH,可能深刻影响由初始外植体长成的组织的形态。例如,过量的植物生长素常常导致根的增生,而过量的细胞分裂素可产生芽。

[0279] 本发明的半导体电极伏安 pH 传感器可以用于任何细胞系,包括:国家癌症研究所(National Cancer Institute)的癌细胞系,斑马鱼 ZF4 和 AB9 细胞、Madin-Darby 犬肾 MDCK 上皮细胞系、中国仓鼠卵巢 CHO 细胞,昆虫细胞系 Sf21, MCF-7(乳癌)、MDA-MB-438(乳癌)、U87(成胶质细胞瘤)、A172(胶质瘤)、HeLa(子宫颈癌)、HL60(早幼粒细胞性白血病)、A549(肺癌)、HEK 293 细胞(肾-原 HEK 系污染 HeLa)、从骨髓瘤克隆的 SHSY5Y 人成神经细胞瘤细胞、来源于 T 细胞白血病患者 Jurkat 细胞系、BCP-1 细胞(PEL),灵长类动物细胞系, Vero(始于 1962 年的非洲绿猴 *Chlorocebus* 肾上皮细胞系)、COS-7(非洲绿猴肾细胞),大鼠肿瘤细胞系、GH3(垂体瘤)、9L(成胶质细胞瘤),小鼠细胞系,3T3 细胞、MC3T3(胚颅)、C3H-10T1/2(胚间叶细胞)、NIH-3T3(胚成纤维细胞),无脊椎动物细胞系, C6/36 *Aedes albopictus*(亚洲虎蚊)幼虫,植物细胞系,烟草 BY-2 细胞(保持为细胞悬浮培养物,它们是植物细胞的模型系统)。

[0280] 本发明的一个方面是用于水纯化的半导体电极伏安 pH 传感器。水纯化是从生水源中除去污染物的过程,目的通常是产生用于特定目的的水,具有设计为限制包含特定材料的处理方案。水纯化不仅为了于人类消费或饮用水而对水进行纯化。本发明的半导体电极伏安 pH 传感器也可以使用纯化水,以满足医学、制药、化学和工业应用的要求。本发明的半导体电极伏安 pH 传感器可以在水纯化过程中使用,包括但不限于紫外线、过滤、水软化、反渗透、超滤、分子剥离(molecular stripping)、去离子作用和活性炭处理。水纯化可以去除沙颗粒,悬浮的有机物颗粒,寄生虫,如贾第鞭毛虫、隐孢子虫、细菌、藻类、病毒、真菌等,无机物,如钙、二氧化硅、镁,和有毒金属,如铅、铜和铬。有些纯化可以选择包括在纯化过程中,例如,闻(硫化氢修复)、尝(采矿)和外观(铁封装(iron encapsulation))。

[0281] 来自任何来源的水都适用本发明。地下水(井水)是经济的饮用水的选择,因为它已被含水层(从中提取出来)自然地预先过滤。来自含水层的水具有有限的输出量,并

且可能需要数千年才能补充。地表水（河水、湖水、溪流）是更丰富的，并且是用来生产饮用水的典型的水源，作为水源，仔细监测其中多种污染物的存在。本发明的方法包括对这些类型的水的 pH 的伏安测量，其中测量的 pH 值可以用来根据水的纯度作出决定。

[0282] 本发明的半导体电极伏安 pH 传感器可用于水纯化方法，包括：泵送和容纳、筛选、贮存、预调质、预氯化 and 除去微细固体、微生物和某些溶解的无机和有机材料。

[0283] 蒸馏水的平均 pH 通常大约为 7（既非碱性也非酸性），海水的平均 pH 通常为 8.3（弱碱性）。如果水是酸性的（低于 7），则可以添加石灰或苏打灰来提高 pH。石灰是这两种添加物中更常用的，因为它比较便宜，但是它也可以使最终的水增加硬度。然而，用苏打灰中和可提高水的钠含量。使水成为弱碱性有助于确保凝结和絮凝过程有效地进行，也有助于使管道和管配件的腐蚀风险减至最小。可以利用 pH 值确定水可能是硬水还是软水。通常，具有低 pH（ $< 6.5$ ）的水是酸性的，并且常常是软性和腐蚀性的。因此，水可能含有金属离子，如铁、锰、铜、铅和锌。在有些情况下，这导致有毒金属的水平升高。这可能引起金属管道的过早损坏，并且具有相关的感官问题（aesthetic problem），例如金属味或酸味、洗衣房染色以及水槽和下水道特有的“蓝绿色”染色。更重要的是，这些离子或污染物与健康风险有关。处理低 pH 水的问题的主要方法是使用中和剂。中和剂向水中提供碱性溶液，以阻止水与家庭管道反应或引起电解腐蚀。pH  $> 8.5$  的水指示该水是硬水。硬水没有健康风险，但是可能引起感官问题。这些问题包括水的碱味、在盘子、器皿和洗衣盆上形成沉积物、难以使肥皂和去污剂起泡、以及在衣服上形成不溶性的沉淀物。

[0284] 本发明的另一个方面是分析物水平的感测，如水体的 pH，例如用于资源控制。水体可以是，例如，湖、海洋、溪流或江河。本发明的可远程使用以及不需频繁校准或根本不需校准而使用的能力允许在水体中远程部署所述系统、装置和电极，以提供关于这些远距离水体中的分析物如氢离子的信息。

[0285] 本发明的一个方面是在涉及污水处理的过程中用于测量 pH 的半导体电极伏安 pH 传感器。污水处理可具有与上述相同的步骤，但是优选具有更高污染水平的水。原始进水（污水）可以是来自厕所、浴室、淋浴、厨房、污水池等的液体和半固体废物。通过下水道排出的生活废物可以构成废水。在有些地区，废水也包括来自工业和商业的某些液态废物。

[0286] 本发明的 pH 传感器适合单次使用或一次性应用。

[0287] 本发明的 pH 传感器适合小型化。

## 实施例

[0288] 试剂和仪器

[0289] 乙烯基二茂铁、乙烯基蒽、氢氟酸购自 Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich INC., USA)，二茂铁甲醛和均三甲基苯从 Alfa Aesar (Alfa Aesar INC., USA) 获得，9-蒽-甲醛从 Acros Organics (Acros Organics INC. USA) 获得。获得的所有化学试剂都是可以获得的最高等级，并且直接使用而不经进一步的纯化。

[0290] 具有 (111) 和 (100) 定向的不同单侧抛光的主平面  $500 \mu\text{m}$  厚硅片购自 Virginia Semiconductor，具有下列规格：i) P-型 (100,  $10-90 \Omega\text{-cm}$  电阻率)，ii) P-型 (100,  $0.001-0.005 \Omega\text{-cm}$  电阻率)，iii) N-型 (100,  $10-40 \Omega\text{-cm}$  电阻率)，iv) N-型 (100,  $0.02-0.05 \Omega\text{-cm}$  电阻率)，v) P-型 (111,  $0.001-0.004 \Omega\text{-cm}$  电阻率)，和 vi) N-型 (111,

0.001-0.005  $\Omega$ -cm 电阻率)。

[0291] 电化学测量使用 Autolab 计算机控制的恒电位仪 (Ecochemie, Utrecht, Netherlands) 记录, 使用由饱和甘汞参比电极 (SCE, Radiometer, Copenhagen, Denmark)、铂辅助电极 (Bioanalytical Systems INC., USA) 和硅 (Virginia Semiconductor INC, USA) 工作电极组成的标准三电极构造。

[0292] 在 pH1-12 范围内的不同的 pH 溶液也在去离子水中如下制备: pH 1.2, 0.10M 高氯酸; pH 2.2, 0.05M 高氯酸; pH 4.6, 0.1M 乙酸 + 0.10M 乙酸钠; pH 5.6, 0.5M 乙酸钠; pH 6.5, 0.025M  $K_2PO_4$  + 0.025M  $KH_2PO_4$ ; pH 7.33, 0.05M  $K_2PO_4$ ; pH 9.3, 0.10M 硼酸钠; pH 13.5, 0.1M 氢氧化钠。这些溶液也含有作为支持电解质添加的 0.10M 高氯酸钠。这些溶液的 pH 使用 SevinMulti (Mettler Toledo) pH 计测量。

[0293] 实施例 1: H- 封端的硅表面的制备

[0294] 硅片 (定向 (111) 或 (100), 切成大约  $1 \times 1 \text{cm}^2$  的片) 在大约  $80^\circ\text{C}$  下用 “Piranha” 溶液 (浓  $H_2SO_4$ : 30%  $H_2O_2$ , 3:1, v/v) 清洗 30 分钟, 并用去离子水充分漂洗。(在有些情况下, 使用较小的片, 例如  $2 \text{mm} \times 3.3 \text{mm}$  或  $2 \text{mm} \times 2.7 \text{mm}$ )。然后, 该晶片于大约  $80^\circ\text{C}$  在  $H_2O_2$ :  $HCl$ :  $H_2O$  (2:1:8) 中氧化 15 分钟, 再于  $80^\circ\text{C}$  在  $H_2O_2$ :  $NH_4OH$ :  $H_2O$  (2:1:8) 中氧化 15 分钟, 然后用去离子水充分漂洗。清洁的 Si (100) 片然后在 2.5% HF 溶液中侵蚀大约 15 分钟。这些步骤消除了天然氧化硅层, 产生 H- 封端的表面。用去离子水快速漂洗 H- 封端的衬底, 在氮气下干燥, 并且立即用于衍生化实验。Si (100) ( $10-90 \Omega$ -cm, P- 型) 用于下面的实验。

[0295] 实施例 2: 用二茂铁部分对 H- 封端的硅表面的衍生化

[0296] 将大约 10mmol 乙烯基二茂铁 (VFc) 或二茂铁甲醛 (FcA) 的均三甲基苯溶液置于圆底烧瓶中, 并用氮气或氩气鼓泡至少 30 分钟。然后将一片 H- 封端的硅衬底浸没在该溶液中, 使之与 VFc 或 FcA 在油浴中在大约  $150^\circ\text{C}$  回流下反应大约 12 小时。在反应过程中, 溶液也用氮气 (或氩气) 净化, 以消除溶解氧以及阻止衬底被氧化。反应后, 用二氯甲烷、乙腈和甲醇漂洗用 VFc 或 FcA 衍生化的衬底, 并在氮气流下干燥。图 5 中示出了如实施例 2 所述用二茂铁部分对 H- 封端的表面的衍生化。

[0297] 实施例 3: 用葱部分对 H- 封端的硅表面的衍生化

[0298] 将大约 10mmol 乙烯基葱 (VA) 或葱醛 (AnA) 的均三甲基苯溶液置于圆底烧瓶中, 并用氮气或氩气鼓泡至少 30 分钟。然后将一片 H- 封端的硅衬底浸没在该溶液中, 使之与 VA 或 AnA 在油浴中在大约  $150^\circ\text{C}$  回流下反应大约 12 小时。在反应过程中, 溶液也用氮气 (或氩气) 净化, 以消除溶解氧以及阻止衬底被氧化。反应后, 用二氯甲烷、乙腈和甲醇漂洗用 VA 或 AnA 衍生化的衬底, 并在氮气流下干燥。图 6 中示出了如实施例 3 所述用葱部分对 H- 封端的表面的衍生化。

[0299] 实施例 4: 用葱和二茂铁部分对 H- 封端的硅表面的衍生化

[0300] 将 10mmol 葱 (VA 或 AnA) 和二茂铁 (VFc 或 FcA) 的均三甲基苯溶液以 1:1 的比例置于圆底烧瓶中, 并用氮气或氩气鼓泡至少 30 分钟。然后将一片 H- 封端的硅衬底浸没在该溶液中, 使之与葱和二茂铁混合物在油浴中在  $150^\circ\text{C}$  回流下反应大约 12 小时。在反应过程中, 溶液也用氮气 (或氩气) 净化, 以消除溶解氧以及阻止衬底被氧化。反应后, 用二氯甲烷、乙腈和甲醇漂洗衍生化的衬底, 并在氮气流下干燥。图 7 显示了使用 VFc 和 VA 用

葱和二茂铁衍生化硅表面的反应。

[0301] 实施例 5 :衍生化的硅片在不同 pH 溶液中的电化学测量

[0302] 在如图 8 所示的特殊设计的电化电池中,对衍生化的硅片进行方波伏安法 (SWV)。电化学测量使用标准三电极构造进行。在这些实验中,使用衍生化的硅片作为工作电极,并在电化电池中暴露于不同 pH 的溶液 (大约 10mL)。SWV 以 10Hz 的频率、2mV 的跨步电位和 25mV 的振幅进行。

[0303] 使用 SWV 研究了葱或二茂铁衍生化的硅衬底在不同 pH 溶液中的电流响应。使用 SWV 作为该系统的电化学探针,因为它在单扫描中产生明确的伏安峰。图 9 显示了使用衍生化的二茂铁电极在 pH 1.23 至 9.33 的不同 pH 溶液中记录的相应的方波伏安图。这些伏安图显示随着 pH 值升高,二茂铁峰的峰电位保持在相同的峰电位。这些结果表明二茂铁是对 pH 不敏感分子,它可以用作内部参比材料。

[0304] 图 10(a) 显示了使用衍生化的葱电极在 pH 1.23 至 13.63 的不同 pH 溶液中记录的相应的 SW 伏安图。这些伏安图显示随着 pH 值升高,葱引起的峰电位移至更负性的电位。相应的峰电位对不同 pH 的图在图 10(b) 中示出。该图显示使用每 pH 单位大约 55.1mV 的相应梯度,从 pH 1 到 pH 14 为线性响应。葱化合物作为 pH 敏感性分子的能力因此得到证实。

[0305] 图 11(a) 显示了使用衍生化的二茂铁 + 葱电极在 pH 1.23 至 9.33 的不同 pH 溶液中记录的相应的 SW 伏安图。这些伏安图显示随着 pH 值升高,二茂铁峰保持在相同的峰电位,而葱峰移至更负性的电位。图 11(b) 显示两个峰电位之间的差对 pH 的相应图。该图显示使用每 pH 单位大约 45.1mV 的相应梯度,从 pH 1 到 pH 9.33 为线性响应。

[0306] 实施例 6 :热稳定性

[0307] 在室温下在 pH 6.52 缓冲液中记录用 VA 和 FcA 部分衍生化的硅片的 SW 伏安图。衍生化的硅样品然后在 Consolidated Stills&Sterilizers 中高压灭菌 40 分钟,高压灭菌后在 pH 6.52 缓冲液中记录 SW 伏安图。然后,同一样品在相同条件下再次高压灭菌 10 次,每次高压灭菌后在 pH 6.52 缓冲液中记录 SW 伏安图。

[0308] pH 传感器的热稳定性测试使用 FcA+VA 衍生化的硅样品进行。得到的伏安图显示在图 12 中。在第一次高压灭菌后观察到二茂铁和葱电流均降低。之后,两种峰电流在后来的高压灭菌循环中均保持相对稳定;实际上,在 10 个循环中峰保持稳定,表明该传感器可以抵抗反复的热力灭菌。

[0309] 实施例 7 :污染测试 (fouling test)

[0310] 在室温下在 pH 6.52 缓冲液中,对 4 种单独的用 FcA 和 AnA 部分衍生化的硅片记录 4 个 SW 伏安图。这些衍生化的样品然后在 Consolidated Stills&Sterilizers 中高压灭菌 20 分钟,并浸没在 5mL 细胞培养发酵培养基中 6 天。然后从细胞培养基中取出这些样品,再次在 pH 6.52 缓冲液中记录 SW 伏安图。SW 伏安法也使用相同的硅片在细胞培养基中进行。

[0311] pH 传感器的污染测试使用 5 种衍生化的硅样品进行。得到的伏安图显示在图 13 中。在所有情况中,葱峰在暴露 6 天后都保持稳定。二茂铁峰在暴露后降低,但是二茂铁峰仍然可以识别。这些发现证明 pH 传感器在暴露于细胞培养环境 6 天后仍然保持良好的工作状态,证明了衍生化的传感器抵抗污染的能力。对照传感器在不含细胞或分泌蛋白质的

培养液中温育 6 天。该传感器的伏安图显示与在实际细胞发酵环境中温育的 4 种传感器类似的图形 (图 14), 提示信号幅度的任何损失都不是细胞碎片沉积的函数。

[0312] 实施例 8 : 蒽和二茂铁衍生化的 Si 表面的稳定性

[0313] Ac+Fc 衍生化的硅表面的稳定性测试使用 PGSTAT12 autolab 恒电位仪在 pH 4.65 缓冲介质中在连续电化学测量下进行 22 天, 相对于 Ag 从 -0.8V 到 0.8V 扫描。在整个实验过程中, Ac 峰保持为明确的峰, 半高全宽 (FWHM) 为 ~60mV, 而 Fc 峰随时间变宽。尽管 Fc 峰变得较宽, 但是它们仍然可以识别, 并且可以用作参比。这些发现证实两成分衍生化的硅表面在 pH 4.65 缓冲介质中连续运行 22 天后仍然保持良好的工作状态, 证实了衍生化的表面在该缓冲介质中的长期稳定性。

[0314] 通常, 当 Fc 分子衍生化到重掺杂的硅衬底上时, Fc 峰是最明确的和稳定的。图 15(a) 显示在 pH 7.33 缓冲介质中 FcA 对 Si (100, N- 型, 1-5mΩ cm) 的 SW 伏安响应, 显示 2,500 次连续运行中的每第 50 次扫描; 图 15(b) 显示在 pH 7.33 缓冲介质中 VFc 对 Si (111, N- 型, 0.02-0.05Ω cm) 的伏安应答, 显示 2,500 次连续运行中的每第 50 次扫描。在有些情况下, 在产生的峰电流大小方面, VFc 和 FcA 部分在 N- 型衬底上的表现都好于在 P- 型衬底上的表现。Fc 衍生化的硅表面均对 pH 不敏感, 即, Fc 峰在暴露于不同 pH 环境后不位移。

[0315] 实施例 9 : 温度变化

[0316] Nernst 方程为评价氧化还原活性物质的温度依赖性提供了理论框架。它预测峰电位相对于 pH 的图的斜率将随温度的升高而升高:

$$[0317] \quad E_p = E_f^0 - \frac{2.3RTm}{nF} pH \quad \text{Eq. 1}$$

[0318] 其中  $E_p$  是峰电位 (V),  $E_f^0$  是标准电极电位 (V), R 是通用气体常数 ( $J K^{-1} mol^{-1}$ ), T 是绝对温度 (K), F 是法拉第常数 ( $C mol^{-1}$ ), m 和 n 分别是参与氧化还原反应的质子和电子数。在蒽的情况中, 这些分子在水溶液中的氧化还原过程涉及 2 个电子和 2 个质子的参与, 因此  $m = n = 2$ 。

[0319] 对 pH 4.65、7.33 和 9.35 的三种 pH 溶液记录 SW 伏安图。图 16 显示 Ac 衍生化的硅在 8-56°C 的温度范围内在 pH 7.33 缓冲介质中的重叠的 SW 伏安图。在 pH 4.65 和 pH 9.35 时获得相似的响应。随着温度升高, 峰电位向更负的值移动, 这可能部分地是由于参比电偶的改变、表观电位 ( $E_f^0$ ) 的温度依赖性和 Eq. 1 中的温度项的组合。表 1 中列出了对每个温度下通过实验获得的作为 pH 的函数的峰电位的斜率的分析, 显示 pH-峰电位图的斜率随温度而变化。用 Eq. 1 所示的 Nernst 方程预测的理论斜率也列在表 1 中进行比较。可以看出, 峰电位梯度随 pH 的变化不是能斯特式的 (Nernstian), 实际上在 ~50°C 的温度范围上对大约 2mV/pH 单位的温度变化相对不敏感。这种依赖性可与用玻璃电极可能观察到的 10mV/pH 位移相比。这种随温度的小位移是有利的, 因为它不仅证实了这些 Ac 衍生化的硅片在升高的温度下可以用作 pH 传感器, 而且它们不受温度变化的太大影响。

[0320] 表 1 : 对于一定范围的温度, pH-Ac 峰电位图的理论预测斜率和实验获得斜率的比较

[0321]

T(°C)	8	17	28	44	56
T(K)	281	290	301	317	329
理论值 (mV/pH)	55.7	57.5	59.7	62.8	65.2
实验值 (mV/pH)	55.0	55.5	56	56.3	57.0

[0322] 实施例 10 :在细胞培养基中主动测量过程中的稳定性

[0323] 污染测试使用葱衍生化的硅 (100) 片在培养箱中 (在 37°C 的控制温度和 5% CO<sub>2</sub> 含量下) 进行, 使用连接至  $\mu$  autolab III 型恒电位仪的三电极设置在细胞培养 (LP VA) 基中进行连续电化学测量 7 天。三电极设置 (在电化电池中) 在 Consolidated Stills&Sterilizers 高压灭菌器中高压灭菌 40 分钟, 之后向高压灭菌的设置中加入 5mL 细胞培养基。然后将含有培养基的电化电池转移到培养箱中, 在其中进行连续电化学测量。

[0324] 在 7 天中重复采集伏安图, 获得 10,000 个连续的伏安图。图 18(a) 显示在 7 天期间采集的伏安图 (10,000 次连续运行的每第 250 次扫描)。在相对于 Ag 大约 -0.71V 处观察到葱峰, 并且在细胞培养基中的 7 天原位电化学测量中始终保持一致。7 天期间葱峰电位的图显示在图 18(b) 中。这些发现证明, 葱衍生化的硅仍然保持良好的工作状态, 并且在传感器主动感测溶液的 7 天里, 峰电位保持一致。

[0325] 实施例 11 :用 2- 烯丙基 -1- 羟基 - 葱醌对 H- 封端的硅表面的衍生化

[0326] 向含有 50mL 均三甲苯的圆底烧瓶中置入 5mg 2- 烯丙基 -1- 羟基 - 葱醌。氮气鼓泡至少 30 分钟。随后, 将 H- 封端的硅片置于烧瓶中, 使之与 2- 烯丙基 -1- 羟基 - 葱醌在油浴中在 150°C 回流下反应 12 小时, 在反应过程中, 溶液用氮气净化, 以阻止衬底被再氧化。反应后, 2- 烯丙基 -1- 羟基 - 葱醌衍生化的硅片用二氯甲烷、己烷然后用甲醇漂洗, 并在氮气流下干燥。

[0327] 实施例 12 :使用半导体氧化物表面, 用二茂铁对硅片的衍生化

[0328] Si(100) 晶片在 100°C 下用“Piranha”溶液 (3 : 1v/v 浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 清洗 30 分钟, 并用去离子水充分漂洗。然后, 该晶片于 80°C 在 2 : 1 : 8HCl/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O 中氧化 15 分钟, 随后于 80°C 在 2 : 1 : 8NH<sub>4</sub>OH/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O 中氧化 15 分钟, 然后用大量的水漂洗。然后将氧化的硅片浸没在 2% 3- 氨基丙基三乙氧基硅烷 (APTES) 的丙酮溶液中 2 分钟, 然后用丙酮漂洗, 以形成氨基封端的单层。然后使其与 10mg/mL 二环己基 - 碳二亚胺 (DCC) 和 50mg/mL 二茂铁甲酸的 DMSO 溶液反应 12 小时。反应后, 二茂铁衍生化的硅片用二氯甲烷、丙酮和甲醇漂洗, 然后在氮气流下干燥。

[0329] 实施例 13 :使用半导体氧化物表面, 用葱对硅片的衍生化

[0330] Si(100) 晶片在 100°C 下用“Piranha”溶液 (3 : 1v/v 浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 清洗 30 分钟, 并用去离子水充分漂洗。然后, 该晶片于 80°C 在 2 : 1 : 8HCl/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O 中氧化 15 分钟, 随后于 80°C 在 2 : 1 : 8NH<sub>4</sub>OH/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O 中氧化 15 分钟, 然后用大量的水漂洗。然后将氧化的硅片浸没在 2% 3-APTES 的丙酮溶液中 2 分钟, 然后用丙酮漂洗, 以形成氨基封端的单层。然后使其与 10mg/mL 二环己基 - 碳二亚胺 (DCC) 和 50mg/mL 葱甲酸的 DMSO 溶液反应 12 小时。反应后, 葱衍生化的硅片用二氯甲烷、丙酮和甲醇漂洗, 然后在氮气流下干燥。

[0331] 实施例 14 :与各种掺杂 Si(100) 衬底共价连接的二茂铁

[0332] 二茂铁通过 H- 封端的硅衬底和乙烯基二茂铁共价连接到以下四种硅表面上 :i)Si(100)N- 型 (0.02-0.05  $\Omega$ -cm)- 高掺杂的 N- 型, ii)Si(100)P- 型 (0.005-0.020  $\Omega$ -cm)- 高掺杂的 P- 型, iii)Si(100)N- 型 (10-40  $\Omega$ -cm)- 轻掺杂的 N- 型, 和 iv)Si(100)P- 型 (10-90  $\Omega$ -cm)- 高掺杂的 P- 型。所有四种衬底都观察到明确的二茂铁峰。高掺杂的衬底通常比相应的轻掺杂衬底产生更大的电化学电流。不被理论所束缚, 这种差异可以用高掺杂衬底含有更多载荷子即更具导电性的事实来解释。当在二茂铁甲醛溶液中进行电化学时观察到类似的结果。图 19 中的图显示了在四种类型的掺杂硅上在 pH 1.63 溶液中用 (a) 乙烯基二茂铁和 (b) 二茂铁甲醛衍生化的硅衬底的峰电流。

[0333] 实施例 15 :四电极系统

[0334] 构建了一个具有四个电极的系统, 这四个电极包括 : (i) 反电极, (ii) 参比电极, (iii) 用乙烯基二茂铁衍生化的高掺杂的 N- 型硅片, 和 (iv) 用葱甲醛衍生化的轻掺杂的 P- 型硅片。图 20 显示了用包括用乙烯基二茂铁衍生化的高掺杂 N- 型硅片和用葱甲醛衍生化的轻掺杂 P- 型硅片的四电极系统获得的伏安图。该伏安图在 pH 7.03 的溶液中获得, 峰电位在 200 次连续扫描期间稳定 (示出了每第 50 次的扫描)。

[0335] 尽管本文已经显示和描述了本发明的优选实施方式, 但是本领域技术人员应当明白, 这些实施方式只是作为实例提供的。本领域技术人员在不背离本发明的情况下可以想到许多改变、变化和替换。应当理解, 本文描述的本发明实施方式的各种替代方案都可用于实施本发明。以下权利要求旨在限定本发明的范围, 从而覆盖这些权利要求范围内的方法和结构及其等同方案。



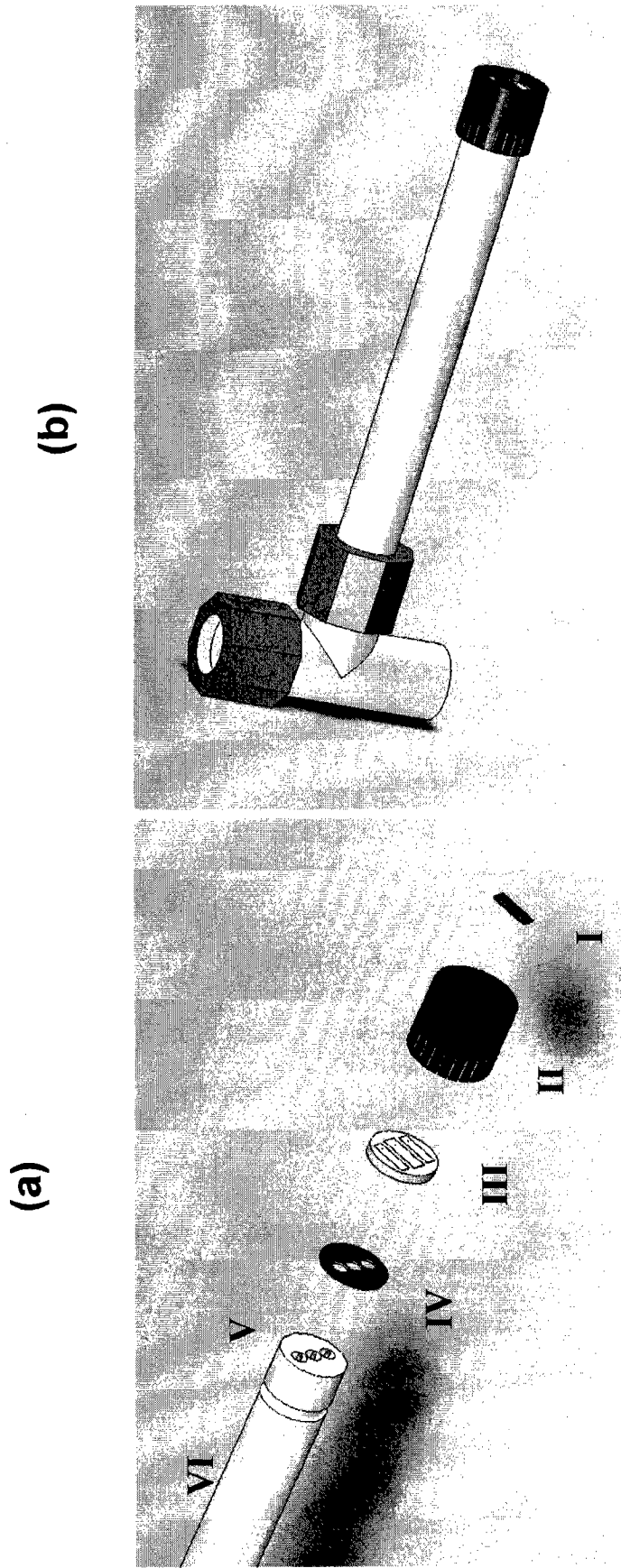
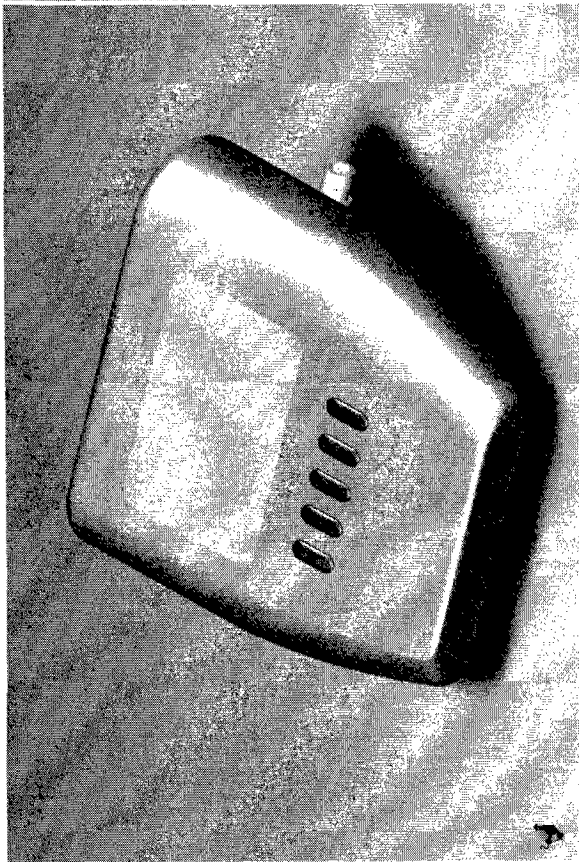


图 1

(a)



(b)

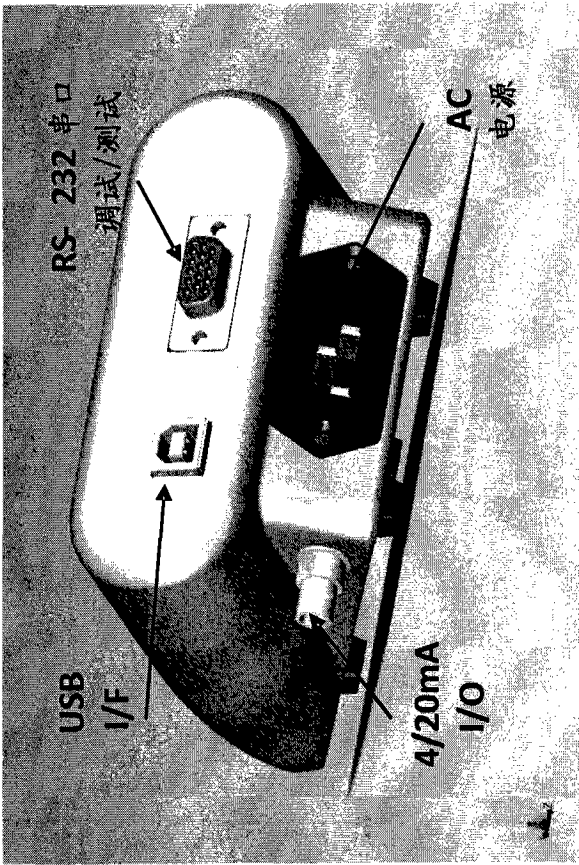


图 2

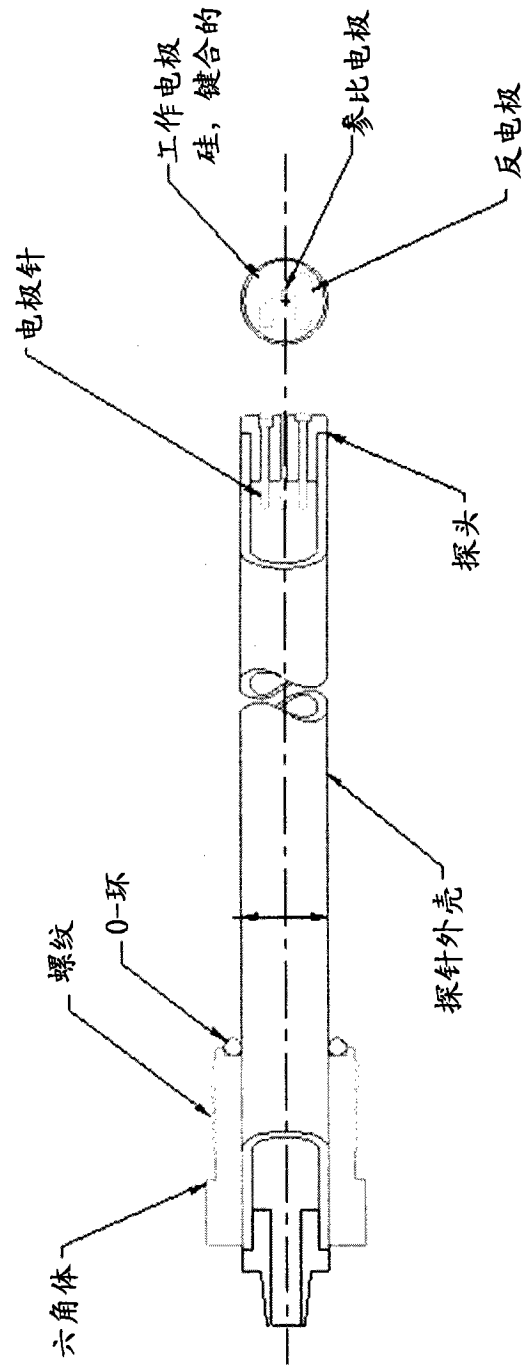


图 3

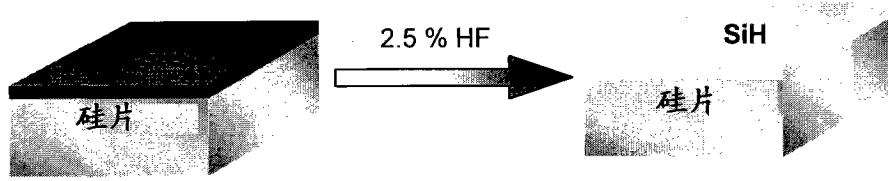


图 4

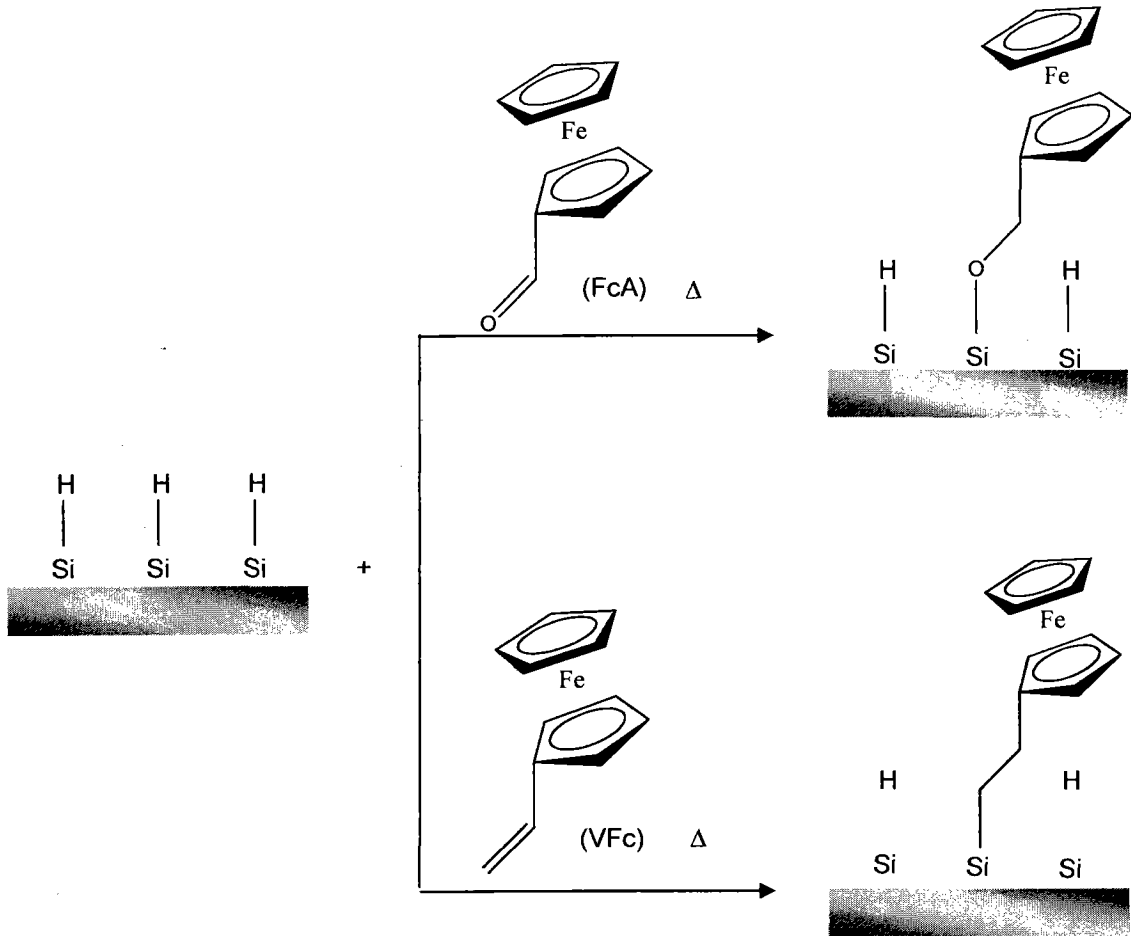


图 5

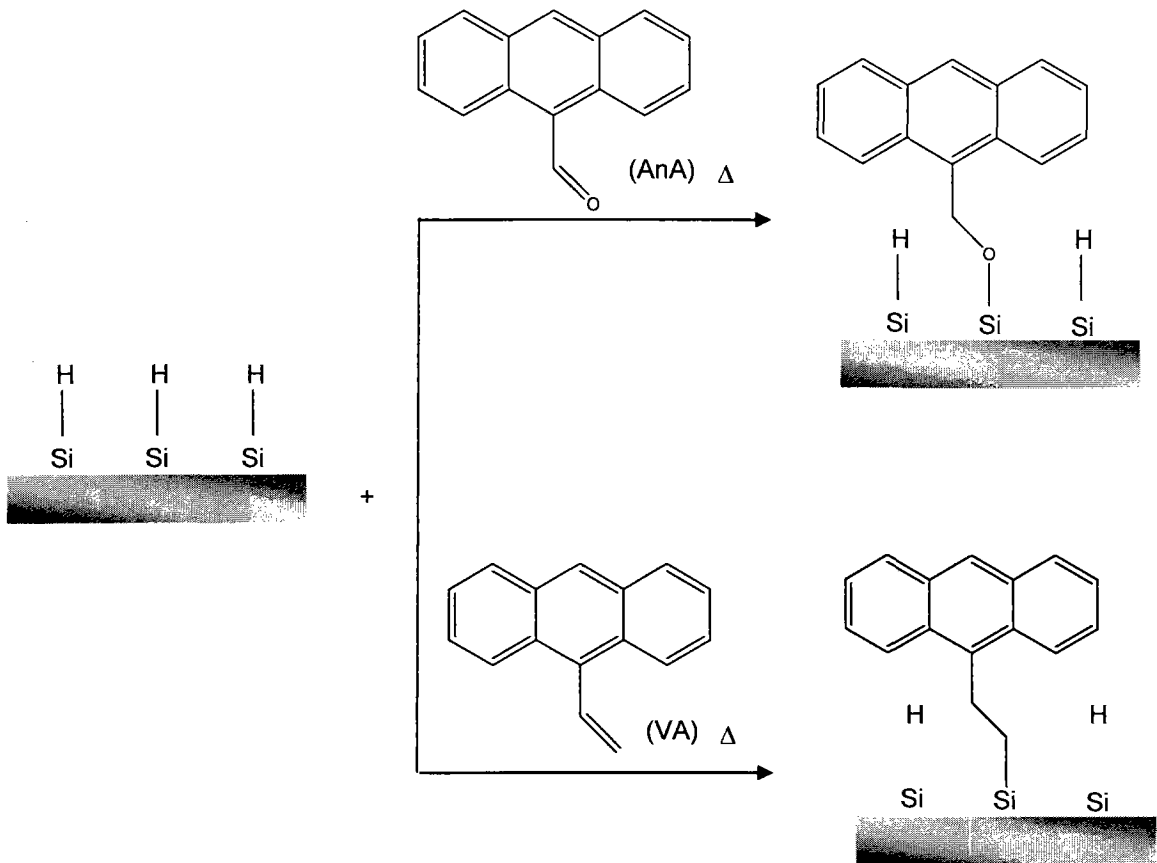


图 6

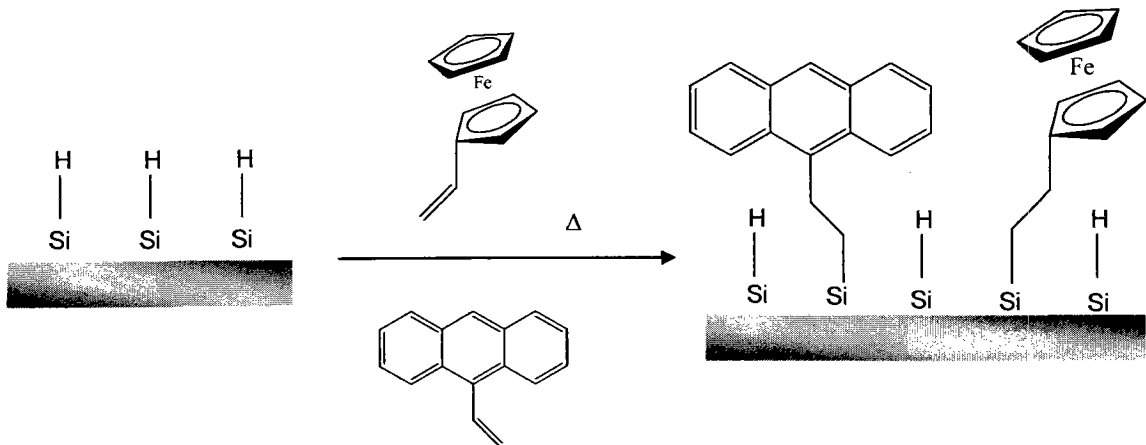


图 7

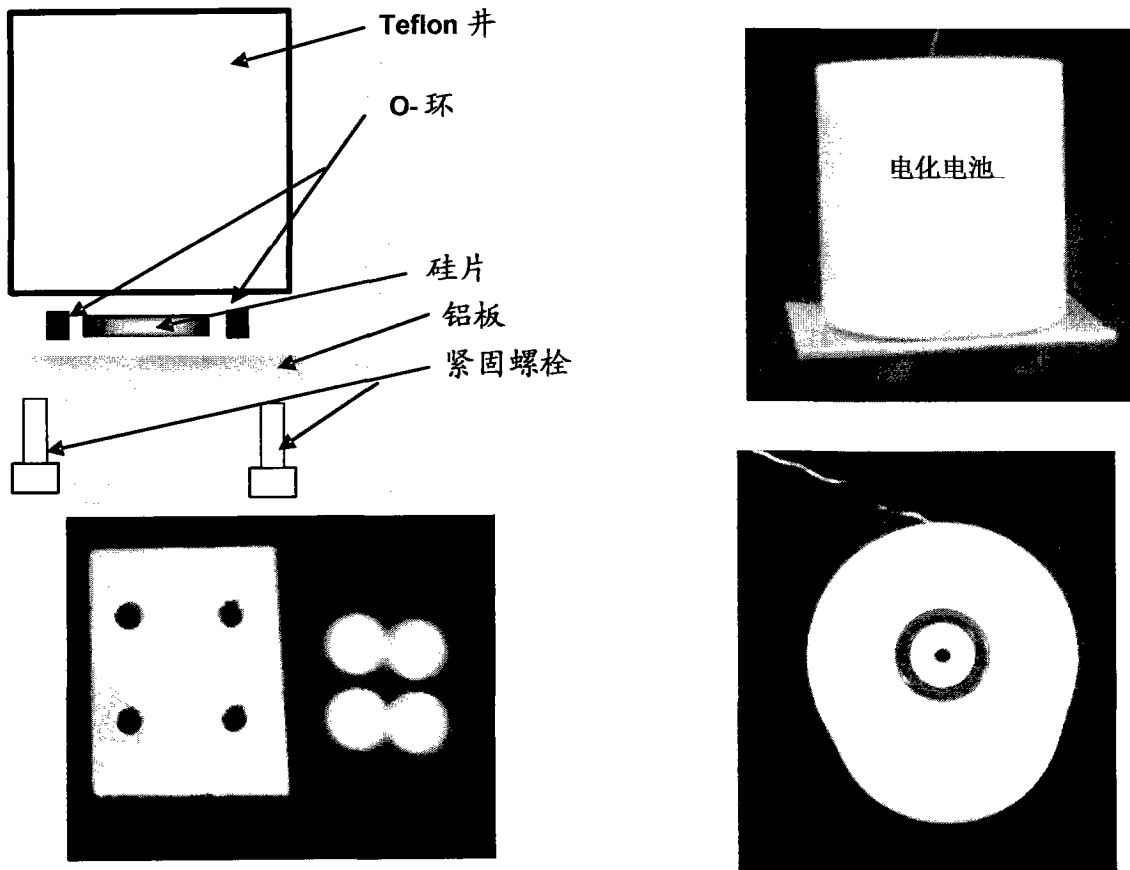


图 8

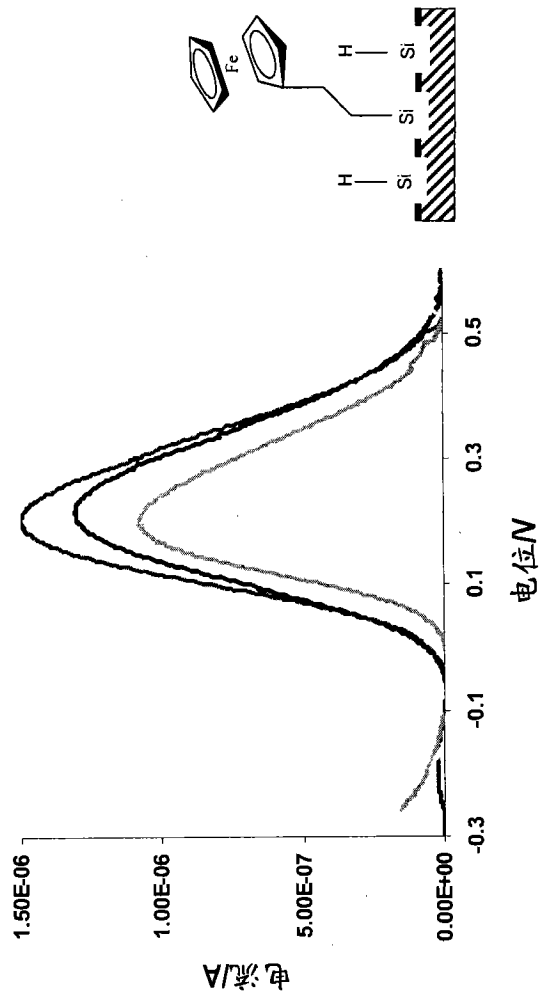


图 9

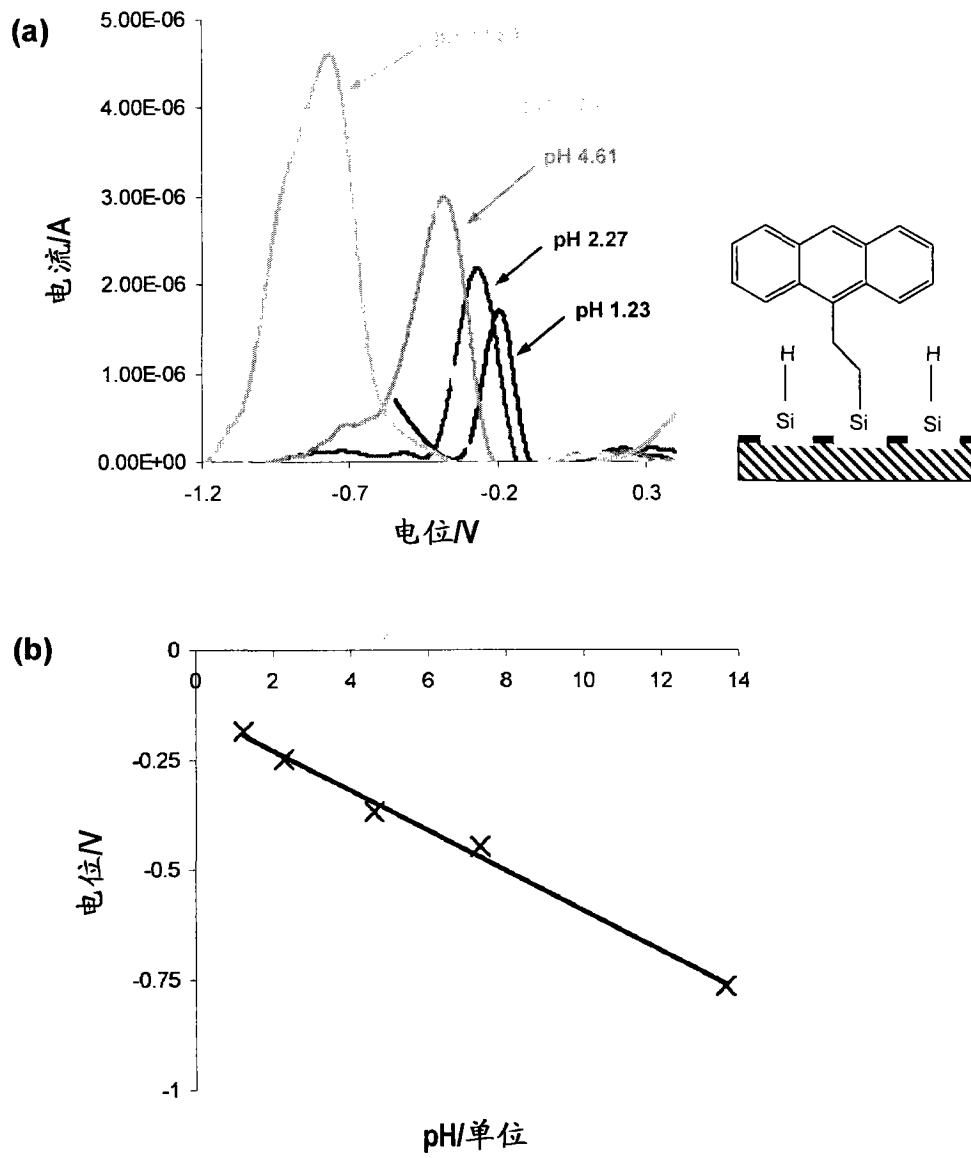


图 10

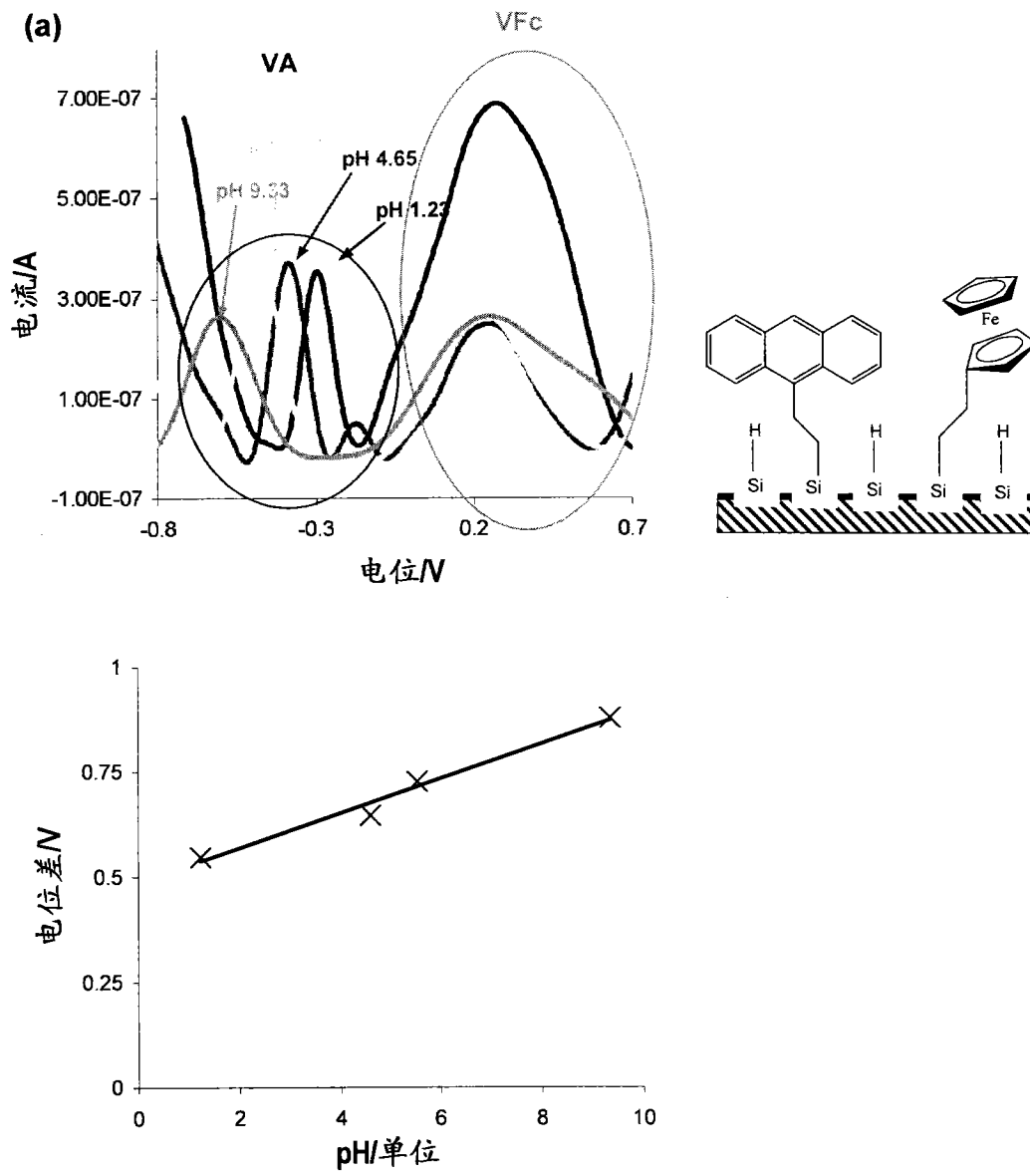


图 11



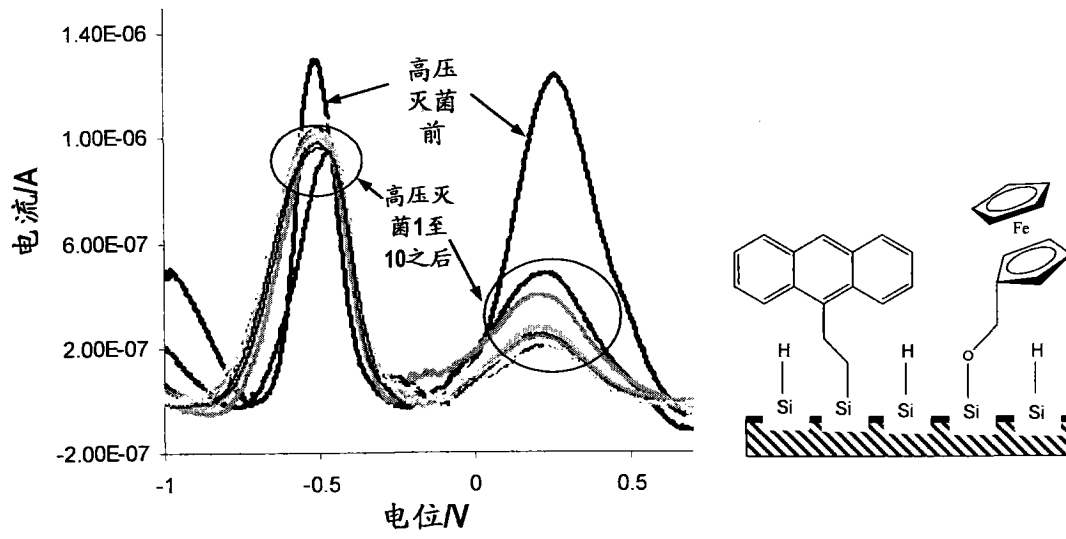


图 12

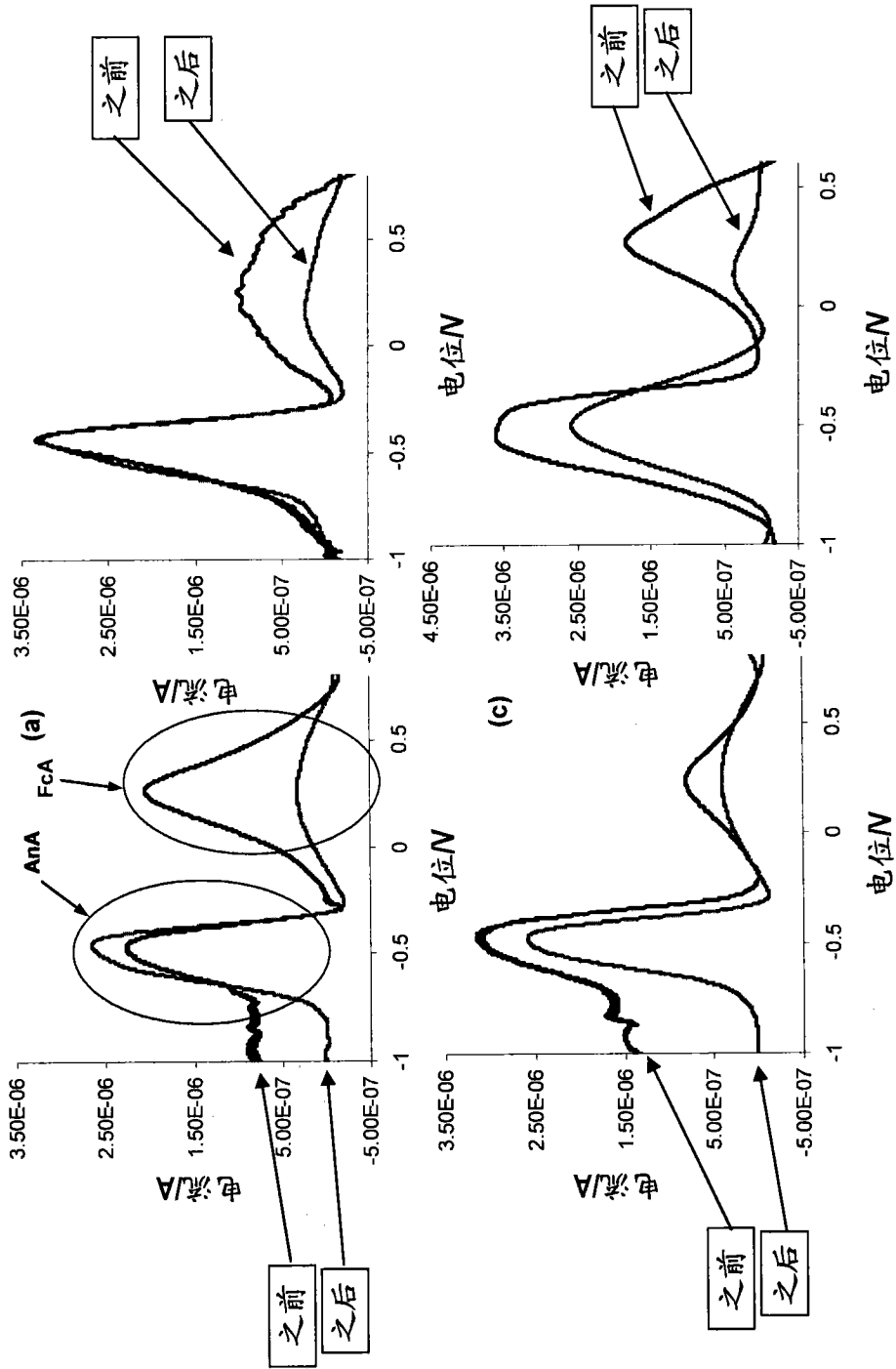


图 13

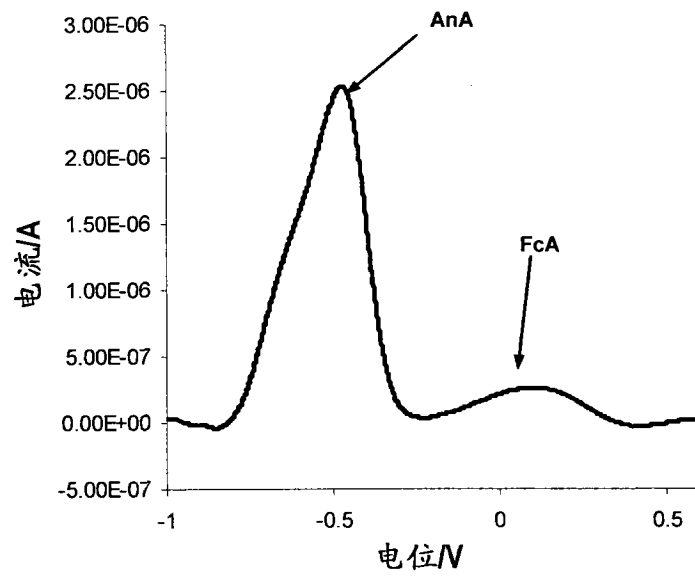


图 14

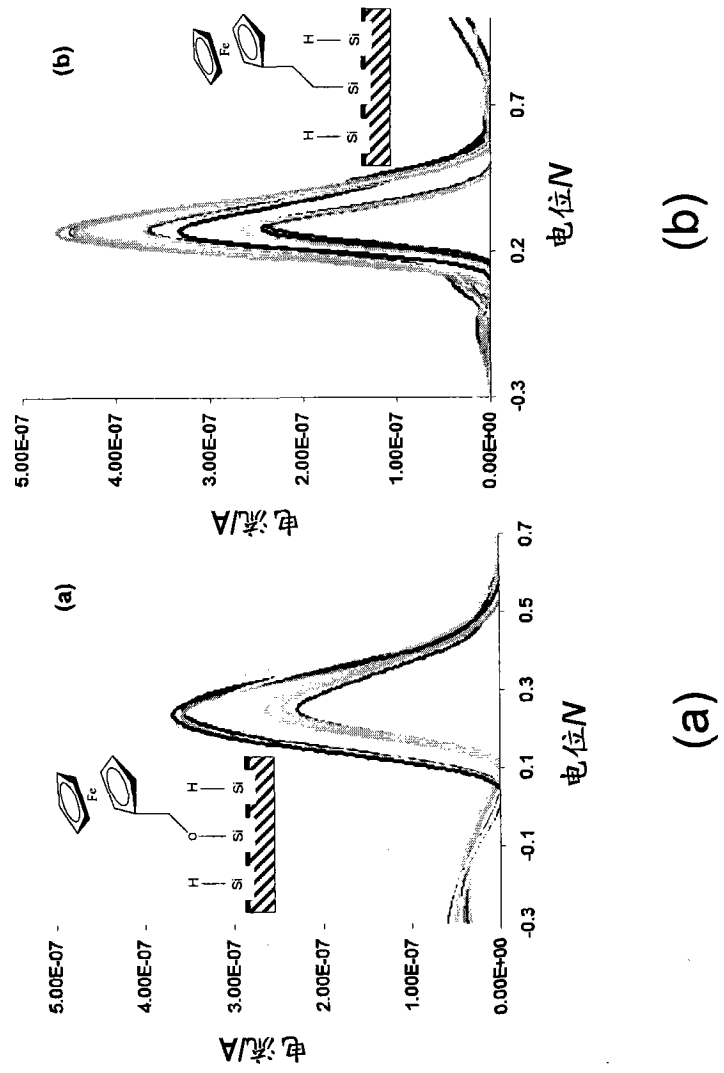


图 15

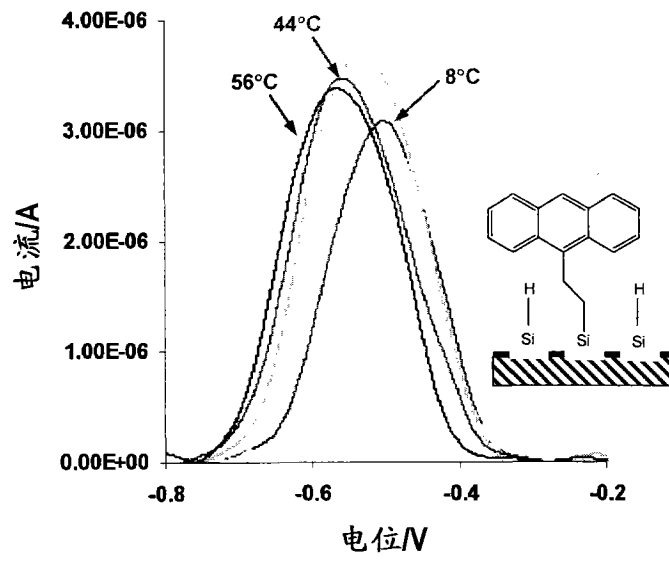


图 16

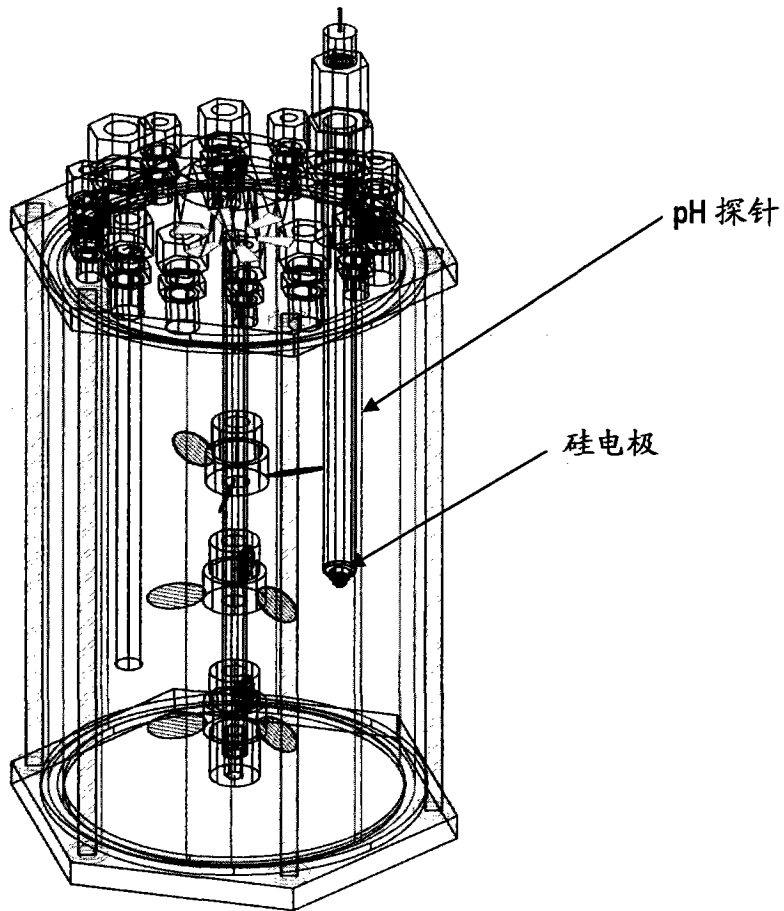


图 17

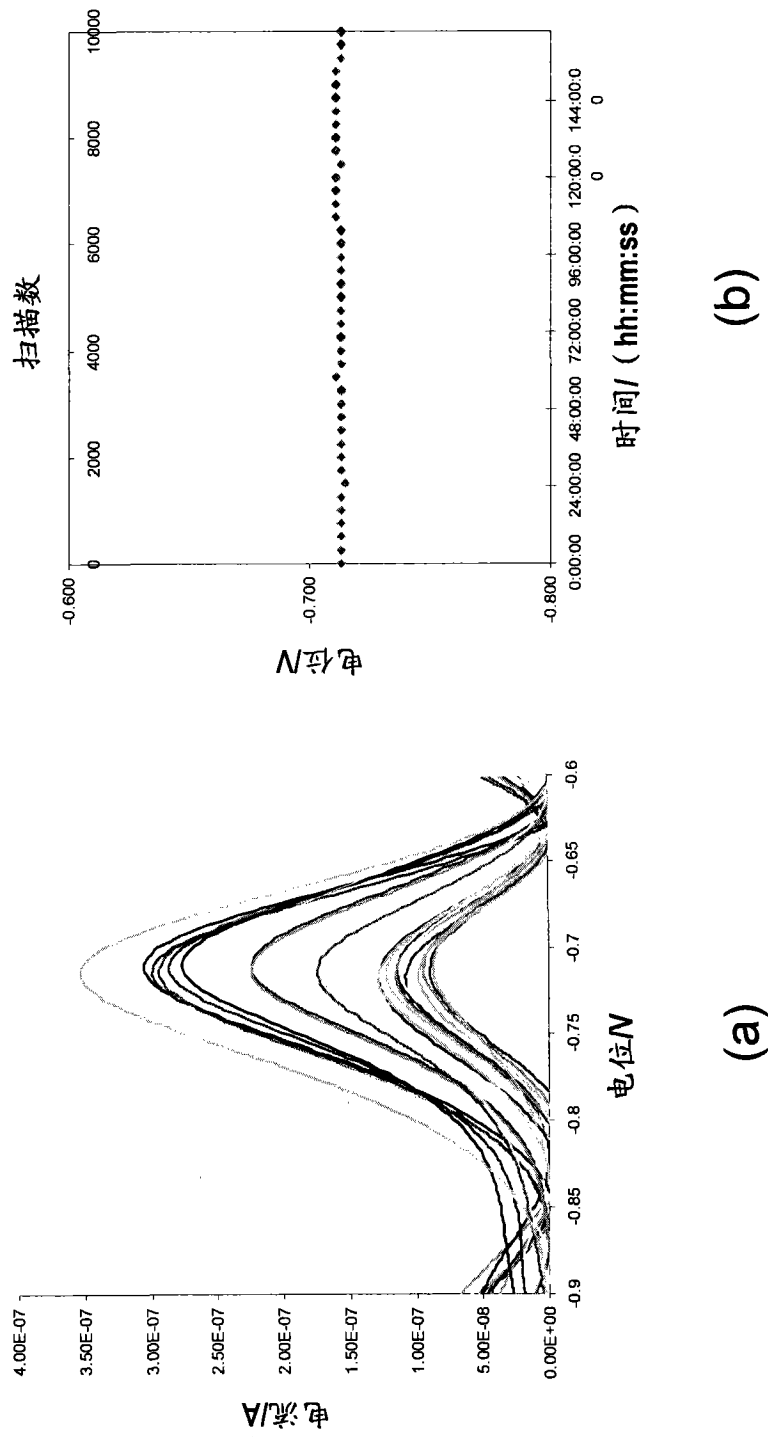
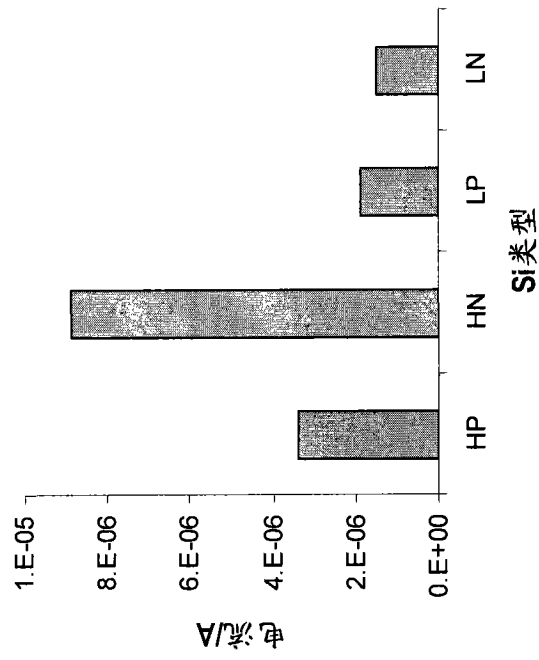
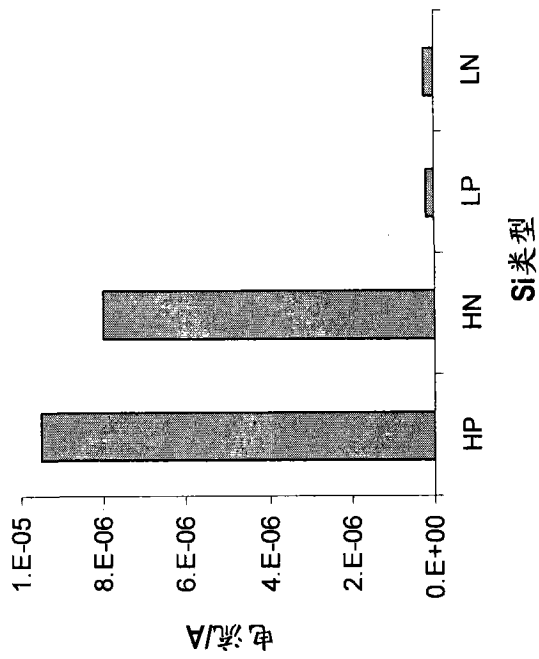


图 18



(a)



(b)

图 19

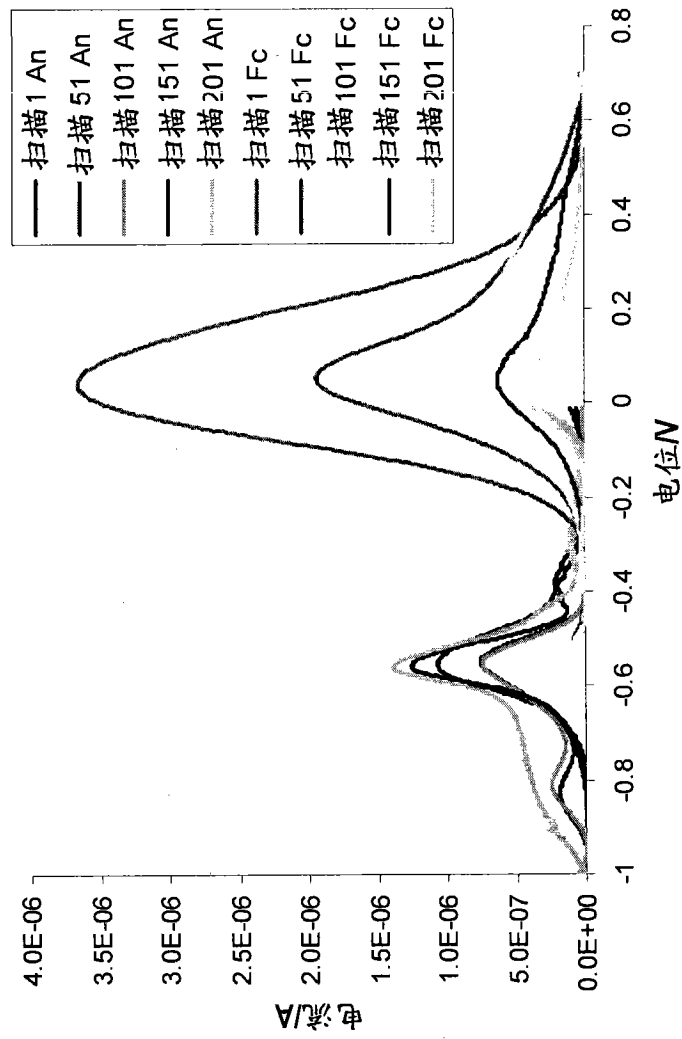
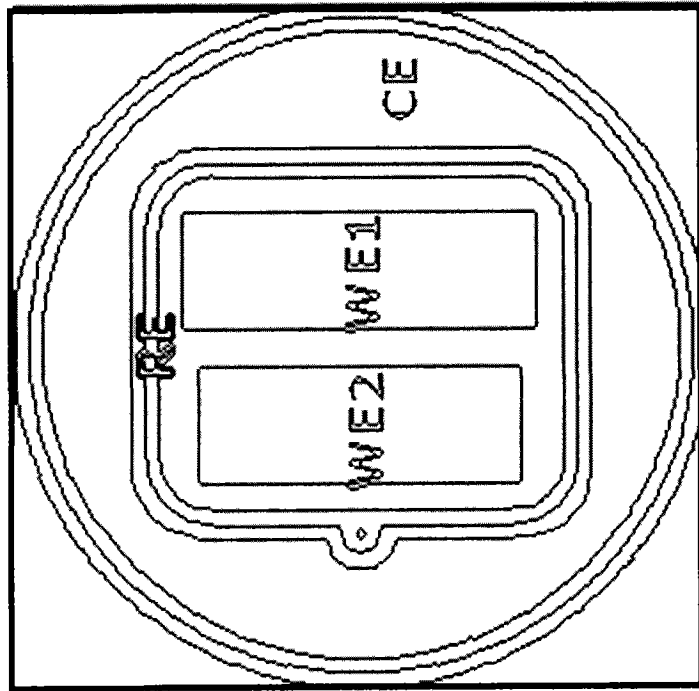
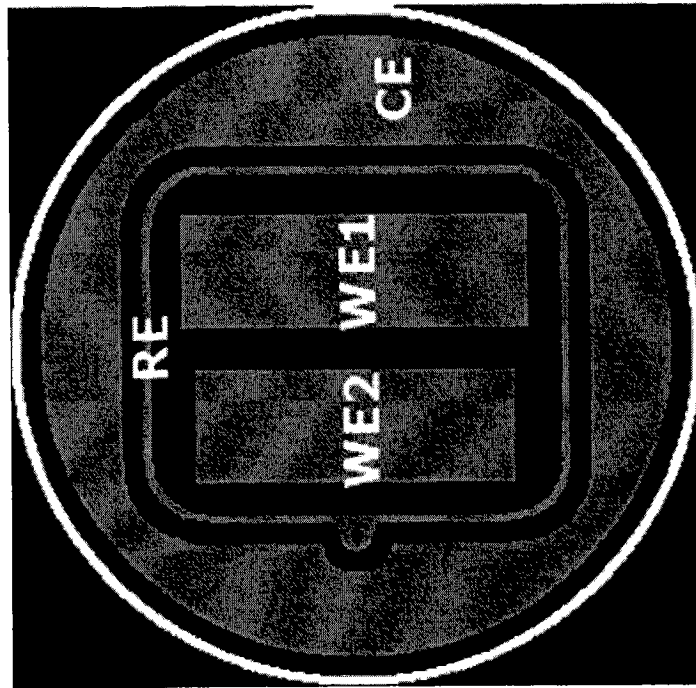


图 20





(b)



(a)

图 21