



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109540802 B

(45) 授权公告日 2021.06.04

(21) 申请号 201811525220.0

CN 101441179 A, 2009.05.27

(22) 申请日 2018.12.13

CN 105334262 A, 2016.02.17

(65) 同一申请的已公布的文献号

CN 1532536 A, 2004.09.29

申请公布号 CN 109540802 A

CN 102042979 A, 2011.05.04

(43) 申请公布日 2019.03.29

CN 105623300 A, 2016.06.01

(73) 专利权人 东北大学

CN 101435768 A, 2009.05.20

地址 110819 辽宁省沈阳市和平区文化路3号巷11号

CN 104706363 A, 2015.06.17

(72) 发明人 于永亮 张雅洁 王建华

夏畅等. 石墨烯量子点-银纳米颗粒复合物用于过氧化氢和葡萄糖比色检测. 《分析化学》. 2016, 第44卷(第1期), 第41-48页.

(74) 专利代理机构 沈阳东大知识产权代理有限公司 21109

Christie L.等. Microfluidic Test Target for Photoacoustic Imaging. 《TechConnect Briefs》. 2018, 第3卷第166-169页.

代理人 宁佳

Yunfei Zhao. Nanoparticle-based photoacoustic analysis for highly sensitive lateral flow assays. 《Nanoscale》. 2016, 第8卷第19204-19210页.

(51) Int. Cl.

G01N 21/17 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 102539331 A, 2012.07.04

CN 102539331 A, 2012.07.04

CN 104931489 A, 2015.09.23

审查员 张若剑

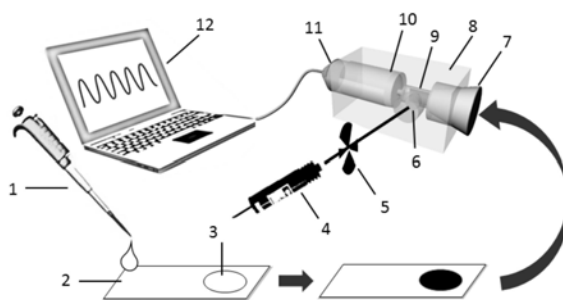
权利要求书1页 说明书5页 附图1页

(54) 发明名称

一种生物体液中葡萄糖浓度的光声检测装置及方法

(57) 摘要

本发明的一种生物体液中葡萄糖浓度的光声检测装置及方法,属于光声检测分析技术领域;装置包括光声检测装置和样品反应模块,并给出具体结构与连接方式,使用此装置可灵敏检测生物体液中葡萄糖浓度;提供了一种小型化的光声检测方法,装置中使用的光源,斩光器,麦克风均可使用便携式电源供电,摆脱现有技术中体积笨重的部件,具有便携性,可用于现场检测;方法检测时,以纸芯片作为反应介质,淀粉碘化钾体系作为媒介,实现了生物体液中葡萄糖浓度的光声检测,并可实现其他可产生过氧化氢的待测物的分析,拓展了光声检测技术用于生物样品的分析范围。



1. 一种生物体液中葡萄糖浓度的光声检测方法,采用生物体液中葡萄糖浓度的检测装置进行,其特征在于,所述的生物体液中葡萄糖浓度的光声检测装置包括光声检测装置和样品反应模块,其中:

所述的光声检测装置包括光源、斩光器、光声池和声信号读取器,所述的光声池内装配有麦克风、前置放大器和样品支架,其中:

所述的麦克风与前置放大器相连,所述的麦克风用于接收声信号;

所述的前置放大器另一端连接声信号读取器,所述的声信号读取器用于读出声信号;

所述的光声池为光声转换提供发生场所,所述的光声池为实心结构,材质为聚四氟乙烯,池体左右两侧和前方分别开设有A孔,B孔和C孔,所述的A孔用于装配麦克风和前置放大器,所述的B孔用于放置样品支架,所述的C孔为光窗;

所述的麦克风与样品支架之间开设有光声腔,所述的光声腔用于放置纸芯片检测区,所述的C孔与光声腔相通,所述的麦克风与光声腔之间开设有细孔,所述细孔长1~3 mm,直径2~4 mm,所述的光声腔直径为5 mm,长度为10 mm;

所述的样品支架结构包括橡胶塞和载样片,所述的载样片垂直固定在橡胶塞上;

所述的样品反应模块为纸芯片,所述的纸芯片包括有纸芯片样品区和纸芯片检测区,所述的纸芯片样品区用于滴加待测溶液,所述的纸芯片检测区用于滴加反应试剂;

所述的方法具体包括如下步骤:

(1) 在纸芯片检测区滴加壳聚糖溶液,使纸芯片检测区被壳聚糖溶液浸湿,室温干燥后,滴加淀粉碘化钾溶液,使纸芯片检测区被淀粉碘化钾溶液浸湿,继续室温干燥后,滴加葡萄糖氧化酶溶液,使纸芯片检测区被葡萄糖氧化酶溶液浸湿,并进行室温干燥;其中,所述的壳聚糖溶液的质量浓度为0.4-0.8%,葡萄糖氧化酶溶液浓度为1-4 mg/mL;

(2) 将生物体液样品滴加在纸芯片样品区,待测液通过毛细作用流动至检测区,室温反应25~45 min,生成包合物;其中,所述的生物体液包括血清和血液;

(3) 将纸芯片转移至光声池内,采用激光器激发纸芯片检测区域样品,由麦克风采集声信号,声信号读取器读出声信号,测得生物体液样品中葡萄糖浓度,完成检测。

2. 根据权利要求1所述的生物体液中葡萄糖浓度的光声检测方法,其特征在于,所述的光源为连续光520 nm激光器,所述的激光器能量为 1 W cm^{-2} ,用于提供样品激发所需能量。

3. 根据权利要求1所述的生物体液中葡萄糖浓度的光声检测方法,其特征在于,所述的斩光器为定频斩光器,将连续光转换为调制光,所述的斩光器斩光频率为3~7 Hz。

一种生物体液中葡萄糖浓度的光声检测装置及方法

技术领域：

[0001] 本发明属于光声检测分析技术领域，具体涉及一种生物体液中葡萄糖浓度的光声检测装置及方法。

背景技术：

[0002] 光声(Photoacoustic)技术，是用激发光源照射含有待测物的样品，使待测物由基态跃迁到激发态，通过非辐射跃迁至基态产生热效应，进而产生声波，通过检测声音强度来进行定量分析的技术。传统的吸收、发射型光学检测仪器，更适用于均相样品，且对样品形态、基质、光学性质均有较高的要求，无法实现复杂基质样品的光学信号检测。光声光谱因其样品形态(气态、液态和固态等)适用度高、抗反射光和散射光能力强、检测线性范围宽等特点，可用于强散射介质中的分析物检测，例如呼吸气、体液、组织等复杂基质生命样品的直接检测。目前，基于光声效应的光声成像系统快速发展，因其克服了生物组织表皮层强烈光散射而产生的分辨率低的问题，广泛的应用于现代生物医学的各个研究领域。此外，光声造影剂和光声传感探针的开发也逐渐成为热门研究课题。相比于光声成像系统，基于光声效应建立的小型化检测系统的发展相对较为缓慢，且主要集中在自身具有特定光声信号的分析物。痕量气体检测装置已多见报导，并且有一部分研究针对人体呼吸气中的癌症标志物，然而小型化的光声检测系统用于生物样品分析的仪器或相关方法未见报导。随着科技的不断发展，人们对分析仪器的要求也越来越高，不但要求其具有更高的灵敏度、精密度和分析速度，更要求其向微型化、自动化和集成化的方向发展。因此，开发小型化光声检测系统，将赋予光声检测更强大的生物样品分析能力，使其适应更多样化的检测环境和分析需求。

发明内容：

[0003] 本发明的目的是克服上述现有技术存在的不足，提供一种生物体液中葡萄糖浓度的光声检测装置及方法，目的是拓展光声检测的应用范围，同时也为生物体液中葡萄糖的检测提供了一种较为灵敏的、简便的分析方法。

[0004] 为实现上述目的，本发明采用以下技术方案：

[0005] 一种生物体液中葡萄糖浓度的光声检测装置，包括光声检测装置和样品反应模块，其中：

[0006] 所述的光声检测装置包括光源、斩光器、光声池和声信号读取器，所述的光声池内装配有麦克风、前置放大器和样品支架，其中：

[0007] 所述的麦克风与前置放大器相连，所述的麦克风用于接收声信号；

[0008] 所述的前置放大器另一端连接声信号读取器，所述的声信号读取器用于读出声信号。

[0009] 所述的光源为连续光激光器，用于提供样品激发所需能量；

[0010] 所述的激发光源为连续光520nm激光器，所述的激光器能量为 1W cm^{-1} ；

[0011] 所述的斩光器为定频斩光器,将连续光转换为调制光,所述的斩光器斩光频率为3~7Hz。

[0012] 所述的光声池为光声转换提供发生场所,所述的光声池为实心结构,材质为聚四氟乙烯,池体左右两侧和前方分别开设有A孔,B孔和C孔,所述的A孔用于装配麦克风和前置放大器,所述的B孔用于放置样品支架,所述的C孔为光窗;

[0013] 所述的麦克风与样品支架之间开设有光声腔,所述的光声腔用于放置纸芯片检测区,所述的C孔与光声腔相连通。

[0014] 所述的麦克风与光声腔之间开设有细孔,所述细孔长1~3mm,直径2~4mm,以保证信号强度。

[0015] 所述的A孔内装配麦克风和前置放大器后形成的空隙采用聚四氟胶带进行填充,以使A孔达到密封状态。

[0016] 所述的C孔孔径为3~5mm,长度为1~3mm,采用石英片密封。

[0017] 所述的C孔外侧开设有石英片放置孔,该石英片放置孔孔径>4cm,以使石英片放入后能够将C孔完全密封,形成光窗。

[0018] 所述的样品支架结构包括橡胶塞和载样片,所述的载样片垂直固定在橡胶塞上。

[0019] 所述的载样片为聚四氟乙烯片。

[0020] 所述的声信号读取器为笔记本电脑,所述的激发光源,斩光器和麦克风均可采用便携式电源供电。所述的样品反应模块为纸芯片,具体为定性滤纸条,长度22mm,宽度4mm。

[0021] 所述的纸芯片包括有纸芯片样品区和纸芯片检测区,所述的纸芯片样品区用于滴加待测溶液,所述的纸芯片检测区用于滴加反应试剂。

[0022] 所述的检测装置进行监测时,激光器照射激光,光声腔与纸芯片检测区在一条直线上,以保证激光通过光声腔照射在纸芯片检测区。

[0023] 一种生物体液中葡萄糖浓度的光声检测方法,采用所述的生物体液中葡萄糖浓度的检测装置,具体包括如下步骤:

[0024] (1) 在纸芯片检测区滴加壳聚糖溶液,使纸芯片检测区被壳聚糖溶液浸湿,室温(25℃)干燥后,滴加淀粉碘化钾溶液,使纸芯片检测区被淀粉碘化钾溶液浸湿,继续室温(25℃)干燥后,滴加葡萄糖氧化酶溶液,使纸芯片检测区被葡萄糖氧化酶溶液浸湿,并进行室温干燥;

[0025] (2) 将生物体液样品滴加在纸芯片样品区,待测液通过毛细作用流动至检测区,室温(25℃)反应25~45min,生成棕紫色包合物;

[0026] (3) 将纸芯片转移至光声池内,采用激光器激发纸芯片检测区域样品,由麦克风采集声信号,声信号读取器读出声信号,测得生物体液样品中葡萄糖浓度,完成检测。

[0027] 所述步骤(1)中,壳聚糖溶液的质量浓度为0.4-0.8%。

[0028] 所述步骤(1)中,淀粉碘化钾溶液由淀粉溶液和碘化钾溶液混合制成,配比按溶液中淀粉和碘化钾体积计,具体为淀粉:碘化钾=1:1混合,其中,所述的淀粉溶液的浓度为5-10g/L,所述的碘化钾溶液的浓度为100-200mM。

[0029] 所述步骤(1)中,葡萄糖氧化酶溶液浓度为1-4mg/mL。

[0030] 所述步骤(2)中,葡萄糖氧化酶溶液的添加量以使后续生物体液中葡萄糖完全氧化生成过氧化氢为准。

[0031] 所述步骤(2)中,生物体液包括血清和血液等含有葡萄糖成分的体液。

[0032] 一种生物体液中葡萄糖浓度的检测方法,主要技术思路为:

[0033] 淀粉碘化钾溶液在氧化性物质存在时,碘化钾会被氧化成碘单质,而碘单质与淀粉形成棕紫色包合物;而生物体液中的葡萄糖会与葡萄糖氧化酶反应生成过氧化氢。根据这一原理,将该包合物作为光声响应物质,实现生物体液中的葡萄糖浓度的光声检测。首先,将壳聚糖滴加在纸芯片检测区作为试剂固定剂,随后在相同位置滴加淀粉碘化钾溶液,干燥后滴加葡萄糖氧化酶溶液,干燥,当待测溶液与预先包埋的淀粉碘化钾反应后,可产生棕紫色包合物,经过室温干燥后,将纸芯片检测区转移至光声池。采用520nm激光器为光源,经过斩光器的调制,激光周期性地照射在包合物表面,该包合物吸收光能且将光能转换为热能,并产生热致振动,由麦克风收集声音信号。

[0034] 本发明的有益效果:

[0035] 本发明建立了一种小型化的光声检测装置及方法,具体为生物体液中葡萄糖浓度的光声检测装置及方法,装置中使用的光源,斩光器,麦克风均可使用便携式电源供电,摆脱了体积笨重的部件,具有便携性,可以用于现场检测。

[0036] 本发明的生物体液中葡萄糖浓度的光声检测装置及方法以纸芯片作为反应介质,实现了生物体液中葡萄糖浓度的光声检测。以淀粉碘化钾体系作为媒介,可实现其他可酶促产生过氧化氢的待测物(胆固醇,乳酸等)的分析。

附图说明:

[0037] 图1为本发明的一种生物体液中葡萄糖浓度的光声检测装置结构示意图;

[0038] 图2为本发明的一种生物体液中葡萄糖浓度的光声检测装置的光声池尺寸示意图;

[0039] 图3为本发明的一种生物体液中葡萄糖浓度的光声检测装置的样品支架结构示意图,其中,1-微量注射器,2-纸芯片样品区,3-纸芯片检测区,4-激光器,5-斩光器,6-光窗,7-样品支架,8-光声池,9-光声腔,10-麦克风,11-前置放大器,12-笔记本电脑,13-光声池尺寸示意图,14-橡胶塞,15-聚四氟乙烯片。

具体实施方式:

[0040] 下面结合实施例对本发明作进一步的详细说明。

[0041] 激光器:深圳市奥普达光电技术有限公司;

[0042] 麦克风:杭州兆华有限公司,CRY331;

[0043] 前置放大器:杭州兆华有限公司,CRY501;

[0044] 斩光器:美国斯坦福研究系统公司,SR540或自制电池供电斩光器,低转速马达控制,马达上装配叶片,斩光器斩光频率为3~7Hz;

[0045] 方法实施例中所用药品试剂均为市售产品;

[0046] 质量浓度为0.6%的壳聚糖溶液的配制方法为:称取0.03g壳聚糖,用5mL 2%的乙酸溶液完全溶解;

[0047] 浓度为2mg/mL的葡萄糖氧化酶溶液配制方法:称取0.002g葡萄糖氧化酶,用1mL去离子水溶解;

[0048] 淀粉碘化钾溶液由10g/L的淀粉溶液和200mM的碘化钾溶液按照体积比淀粉:碘化钾=1:1混合,其中,10g/L淀粉溶液的配制方法:称取0.05g淀粉于5mL去离子水中,加热至90℃使其完全溶解;200mM碘化钾溶液的配制方法:称取0.166g碘化钾溶解在5mL去离子水中;

[0049] 2mg/mL的葡萄糖氧化酶溶液配制方法:称取0.002g葡萄糖氧化酶,用1mL去离子水溶解;

[0050] 不同浓度的葡萄糖溶液由PBS (10mM,含4%NaCl,PH=7) 缓冲溶液配制而成。

[0051] 一种生物体液中葡萄糖浓度的光声检测装置,包括光声检测系统和样品反应模块,装置结构示意图如图1所示;

[0052] 所述光声装置由激光器4,斩光器5,样品支架7,光声池8,麦克风10,前置放大器11和笔记本电脑12组成,激光4通过斩光器5被调制为周期性光源;样品支架7的结构示意图如图3所示,光声池8的尺寸示意图如图2所示,样品支架结构示意图如图3所示,光声池8的材质为聚四氟乙烯,长宽高分别是40mm,20mm,20mm,池体凿孔,光声池8左边A孔孔径13.5mm,长度21mm,用于装配麦克风10和前置放大器11;右边B孔孔径为13mm,长度7mm,用于固定样品支架7;右边孔向里缩减至孔径为5mm,长度为10mm,为光声腔9,用于放置纸芯片检测区3;前方靠右侧C孔孔径4mm,与光声腔9相连并用1mm厚石英片密封,为光窗6,C孔前方开设直径为8mm的孔用于放置石英片;样品支架7由一个橡胶塞14和一个聚四氟乙烯片15组成,聚四氟乙烯片15长8mm、宽4mm,垂直粘贴在橡胶塞14上,将纸芯片检测区3放在聚四氟乙烯片15上,插入光声腔,调制后的激光4通过光窗6恰好照射在纸芯片检测区3;麦克风10与前置放大器11搭配使用,安装在光声池左侧孔内,麦克风10与光声腔9通过一个长2mm,直径2mm的小孔相连接;笔记本电脑12连接到上前置放大器11,读出声信号;

[0053] 所述样品反应模块为自制纸芯片,由纸芯片样品区2和纸芯片检测区3组成,纸芯片样品区2用于滴加待测溶液,纸芯片检测区3用于滴加反应试剂,采用微量注射器1滴加,滴加在纸芯片样品区2的待测溶液通过毛细作用流动至纸芯片检测区3,发生显色反应。

[0054] 采用上述装置,进行葡萄糖溶液的测定,确定系统分析性能,具体包括如下步骤:

[0055] 在纸芯片检测区3滴加3 μ L质量浓度为0.6%的壳聚糖溶液,室温(25℃)干燥后,滴加2 μ L淀粉碘化钾溶液,继续室温干燥(25℃),随后滴加2 μ L浓度为2mg/mL的葡萄糖氧化酶溶液;

[0056] 分别实验,将一系列不同浓度的20 μ L葡萄糖待测溶液滴加在纸芯片样品区2,待测液通过毛细作用流动至纸芯片检测区3,室温(25℃)反应30min,生成棕紫色包合物;然后将纸芯片检测区3转移至光声池8内,激光器4激发纸芯片检测区域3,由麦克风10采集光声信号,笔记本电脑12用于声信号读取,根据不同浓度葡萄糖所对应的声信号得出关于葡萄糖浓度的标准曲线回归方程。

[0057] 在最优条件下,测定葡萄糖的线性范围是0.08-1mM,标准曲线的回归方程是 $I = 9.7C + 0.6$, $R^2 = 0.9931$,20 μ L进样量时葡萄糖的检出限(由测量11次空白样品的标准偏差乘以3再除以标准曲线的回归方程的斜率计算得出)是0.03mM。

[0058] 实施例1

[0059] 一种生物体液中葡萄糖浓度的光声检测装置,包括光声检测系统和样品反应模块,装置结构示意图如图1所示;

[0060] 所述光声装置由激光器4,斩光器5,样品支架7,光声池8,麦克风10,前置放大器11和笔记本电脑12组成,激光4通过斩光器5被调制为周期性光源;样品支架7的结构示意图如图3所示,光声池8的尺寸示意图如图2所示,样品支架结构示意图如图3所示,光声池8的材质为聚四氟乙烯,长宽高分别是40mm,20mm,20mm,池体凿孔,光声池8左边A孔为孔径13.5mm,长度21mm,用于装配麦克风10和前置放大器11;右边B孔孔径为13mm,长度7mm,用于固定样品支架7;右边孔向里缩减至5mm,长度为10mm,为光声腔9,用于放置纸芯片检测区3;前方靠右侧C孔孔径4mm,与光声腔9相连并用1mm厚石英片密封,为光窗6,C孔前方开设直径为8mm的孔用于放置石英片;样品支架7由一个橡胶塞14和一个聚四氟乙烯片15组成,聚四氟乙烯片15长8mm、宽4mm,垂直粘贴在橡胶塞14上,将纸芯片检测区3放在聚四氟乙烯片15上,插入光声腔,调制后的激光4通过光窗6恰好照射在纸芯片检测区3;麦克风10与前置放大器11搭配使用,安装在光声池左侧孔内,麦克风10与光声腔9通过一个长2mm,直径2mm的小孔相连接;笔记本电脑12连接到上前置放大器11,读出声信号。

[0061] 所述样品反应模块为自制纸芯片,由纸芯片样品区2和纸芯片检测区3组成,纸芯片样品区2用于滴加待测溶液,纸芯片检测区3用于滴加反应试剂,滴加在纸芯片样品区2的待测溶液通过毛细作用流动至纸芯片检测区3,发生显色反应。

[0062] 采用上述装置进行人血清中葡萄糖浓度的光声检测的方法,包括以下步骤:

[0063] 将血清稀释至葡萄糖的线性范围内,在纸芯片检测区3滴加3 μ L质量浓度为0.6%的壳聚糖溶液,室温(25 $^{\circ}$ C)干燥后,滴加2 μ L淀粉碘化钾溶液,继续室温干燥(25 $^{\circ}$ C),随后滴加2 μ L浓度为2mg/mL的葡萄糖氧化酶溶液;

[0064] 将20 μ L稀释后人血清滴加在纸芯片样品区2,稀释后人血清通过毛细作用流动至纸芯片检测区3,室温(25 $^{\circ}$ C)反应30min,生成棕紫色包合物;然后将纸芯片检测区3转移至光声池8内,激光器4激发纸芯片检测区域3,由麦克风10采集光声信号,笔记本电脑12用于声信号读取,根据标准曲线回归方程换算成浓度,得到五位志愿者血清中的葡萄糖含量分别为3.9 \pm 0.4mM,3.3 \pm 0.4mM,4.5 \pm 0.7mM,5.6 \pm 0.4mM,3.5 \pm 0.7mM,分别对血清样品加标3mM时的回收率是104.7%,107.8%,106.2%,96.8%和101.5%。所述人血清为静脉血,血液自然凝固后的上层清液,空腹抽取。

[0065] 实施例2

[0066] 本实施例中装置结构同实施例1。

[0067] 采用上述装置进行人血液中葡萄糖浓度的光声检测的方法,包括以下步骤:

[0068] 将新鲜获得的血液稀释至葡萄糖的线性范围内,在纸芯片检测区3滴加3 μ L质量浓度为0.6%的壳聚糖溶液,室温(25 $^{\circ}$ C)干燥后,滴加2 μ L淀粉碘化钾溶液,继续室温干燥(25 $^{\circ}$ C),随后滴加2 μ L浓度为2mg/mL的葡萄糖氧化酶溶液;

[0069] 将20 μ L稀释后人血液滴加在纸芯片样品区2,稀释后人血液通过毛细作用流动至纸芯片检测区3,室温(25 $^{\circ}$ C)反应30min,生成棕紫色包合物;然后将纸芯片检测区3转移至光声池8内,激光器4激发纸芯片检测区域3,由麦克风10采集光声信号,笔记本电脑12用于声信号读取,根据标准曲线回归方程换算成浓度,得到五位志愿者血液中的葡萄糖含量分别为6.0 \pm 0.7mM,4.4 \pm 0.7mM,3.6 \pm 0.5mM,5.2 \pm 0.6mM,4.3 \pm 0.8mM,分别对血液样品加标3mM时的回收率是104.2%,93.7%,97.9%,102.8%和99.3%。所述人血液为指尖末梢全血,空腹抽取。取出后立即检测,防止血液凝固。

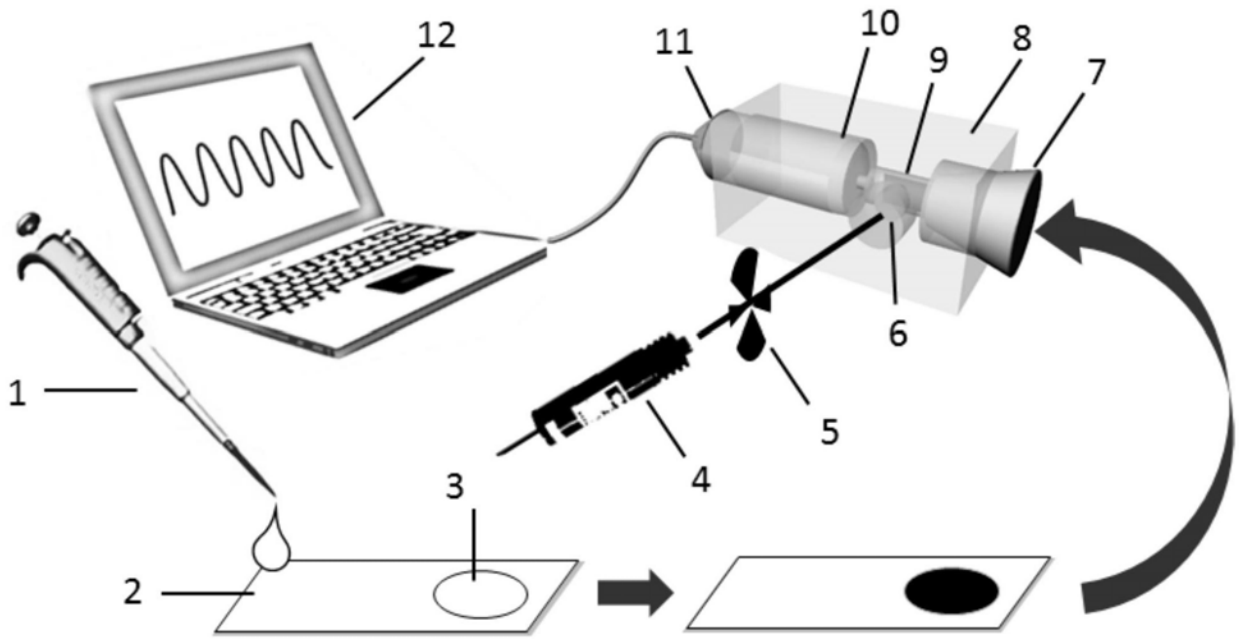


图1

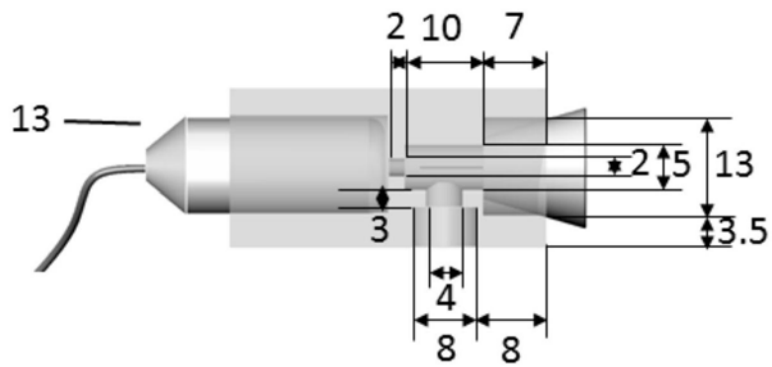


图2

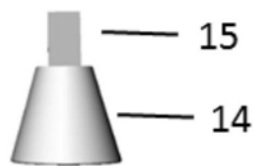


图3