

手性传感器研究进展*

翁 文^{1**} 韩景立¹ 陈友遵¹ 黄晓佳²

(1. 漳州师范学院化学与环境科学系 漳州 363000; 2. 厦门大学海洋与环境学院 厦门 361005)

摘 要 手性工程的崛起对简单、经济、快速、实时、在线的手性检测技术提出了挑战。手性传感器是一个重要的发展趋势。本文综述了近年来在手性电化学传感器、基于石英晶体微天平的手性质量化学传感器及手性光学传感器方面的研究进展,重点介绍了各种传感器的制备及其在手性检测中的应用,并展望了该领域的发展前景。

关键词 手性传感器 电化学传感器 石英晶体微天平 光学传感器 手性识别

中图分类号: O657.99; O621.15; TP212.2 **文献标识码**: A **文章编号**: 1005-281X(2007)11-1820-06

Progress in Chiral Sensors

Weng Wen^{1**} Han Jingli¹ Chen Youzun¹ Huang Xiaojia²(1. Department of Chemistry and Environmental Science, Zhangzhou Normal University, Zhangzhou 363000, China;
2. College of Oceanography and Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract The development of chiral engineering requires chiral analytical technologies with simple handling, low cost, high speed, real time and on-line operation. Chiral sensor system represents a major branch of future research. In this paper, the progress in chiral electrochemical sensor, chiral mass chemical sensor based on quartz crystal microbalance and chiral optical sensor is reviewed. The preparations and applications of these chiral sensors are introduced. The prospects of this field are also put forward.

Key words chiral sensors; electrochemical sensors; quartz crystal microbalance; optical sensors; chiral recognition

手性化合物在医药、农药、香料、食品添加剂及新材料等领域中的应用引起了人们的广泛关注,手性化合物的合成、拆分及对映体纯度的测定成为当前化学的前沿领域之一。液相色谱仪、气相色谱仪、毛细管电泳仪和旋光仪等可用于手性化合物对映体纯度的测定,但这些仪器都相对较为昂贵,操作比较麻烦且难以实现实时分析。发展简单、经济、快速、实时和在线的手性检测技术很有意义,手性传感器就是其中一个重要的发展趋势。性能优良的手性传感器可视为人工鼻 (artificial nose),能原位、实时、快速地测定对映体的含量及对映体纯度,操作方便且基本不排放废物^[1]。本文综述了近年来在手性电化

学传感器、手性质量化学传感器及手性光学传感器方面的研究进展,以期对手性传感器的研制有一定的启发促进作用。手性荧光传感器领域的进展可参见相关文献[2—5]。

1 手性电化学传感器

电化学传感器的特点是操作方便快捷、仪器易于微型化和自动化、造价低以及可用众多的化学和生物试剂进行修饰以提高电极的选择性和灵敏度^[6]。根据转换的电信号种类不同它可分为电位、电流及电阻型传感器。

1.1 电位型手性传感器

收稿: 2006 年 12 月, 收修改稿: 2007 年 5 月

*福建省自然科学基金项目 (No. C0540024) 和福建省教育厅课题 (No. JA05301) 资助

**通讯联系人 e-mail: weng.wen@126.com

手性冠醚、环糊精衍生物等负载于 PVC 膜上并与 Ag/AgCl 电极、甘汞电极等组成离子选择膜电极体系,可用于有机铵离子对映体的识别研究,不同异构体的电位响应不同^[7-10]。该方法的优点是仅用少量(约 1mg)的手性主体即可制备一修饰 PVC 膜,仪器简单(采用 pH 计)、操作省时,可用于主体手性识别能力的快速评价。

南非的 Stefan 等^[11]在手性碳糊电极研制方面做了很多工作。该课题组利用浸渍有 α -或 β -环糊精(CD)的碳糊制成手性膜电位电极,以 Ag/AgCl 作为参比电极,测定药物前体 perindopril 的电位响应。在 10^{-7} 至 10^{-3} mol/L 范围内, S 构型有较好的 Nernstian 响应,而 R 构型表现为非 Nernstian 响应。S 构型的测定基本不受 R 构型的影响。 β -CD 的选择性比 α -CD 好。该法检测限达 10^{-8} mol/L,比使用环糊精衍生物主体的更低,手性识别效果更好,电极响应的 Nernstian 斜率值更高;响应时间短,底物浓度在 10^{-4} — 10^{-3} mol/L 区间时小于 1min^[12-17]。

Stefan 等^[18]以相同的方法由浸渍麦芽糊精的碳糊制备了手性膜电位电极,并用于脯氨酸的测定。该电极对 L 构型为 Nernstian 响应,而对 D 构型为非 Nernstian 响应。回收实验证明 L-脯氨酸含量的测定基本不受 D 构型的影响。葡萄糖当量越低的麦芽糊精对映选择性越高。该电极检测限低(10^{-9} mol/L),响应时间短,电极稳定性好;Na⁺、K⁺、Ca²⁺ 等无机离子不干扰测定;电极易再生,用铝箔纸抛磨即可。该电极也可用于药物 S-captopril 的测定,S、R 异构体含量为 1:99.9 时仍可准确测定,但 L-脯氨酸影响检测^[19]。

由于碳糊电极(CPE)易于制备和使用,在较大的电位范围内残余电流较低、易于修饰、易再生且无记忆效应等^[2],在手性传感器的制备方面具有很大的潜力。

孔继烈等制作了光学活性聚苯胺(樟脑磺酸诱导聚合)修饰的玻碳电极,与铂电极、甘汞电极组成一个三电极体系考察对苯丙氨酸异构体的电位响应。在 2.0×10^{-3} — 1.8×10^{-2} mol/L 浓度区间,传感器对两异构体皆表现为 Nernstian 响应,但斜率不同。当样品为两异构体的混合物时,Nernstian 斜率随之发生变化,可用于指示样品的对映体纯度,电极响应时间约 450s^[20]。

1.2 电流型手性传感器

孔继烈等近来采用溶胶-凝胶法将 BSA 涂敷于玻碳电极表面,用以识别纳米金标记的氨基酸对映

体。识别情况以差示脉冲伏安法(DPV)跟踪,并利用银离子对信号进行放大。该法中的对映选择系数

定义为两异构体对应的阳极峰电流之比,可达 2.3,检测限达 5×10^{-13} mol/L(低于皮摩尔级),为首次报道的将 BSA 应用于电化学手性识别^[21]。

Stefan 等利用计时安培分析法研究了浸渍 D-氨基酸氧化酶的碳糊电极对 R-perindopril(合成 S 构型药物前体时的副产品)的检测。测定以 Pt 电极为辅助电极,饱和甘汞电极为参比电极,以电流值衡量底物浓度,R-perindopril 的检测限达 10^{-8} mol/L。响应时间约 2min。若为浸渍 L-氨基酸氧化酶的碳糊电极,则可用以测定 S-perindopril 的含量。由于氧化酶只催化某一异构体的反应,该法选择性高。若分别以两种构型氨基酸氧化酶制备的碳糊电极连接多路转换器则可同时测定 perindopril 两个异构体的含量。与流动注射系统连接,可用于在线检测,每小时分析 65 个样品^[22,23]。这种安培生物传感器也可用于其它药物的测定,对 S-cilazapril 的检测限达 5×10^{-12} mol/L。由于灵敏度高,检测限低,工作的浓度范围较低,分析时一般要将样品稀释^[24]。

安培生物传感器适于检测含量低的异构体(通常为药物合成中的副产品),而对映选择膜电位电极适用的底物浓度较高,适于检测含量高的异构体(通常为药物合成中的目标异构体)。Stefan 等^[25]将这两种传感器与流动注射系统联用,以同时检测 S/R-captopril 含量,每小时可分析 38 个样品^[25]。

Bachas 等^[26]利用水溶胶-凝胶过程制备了碳纳米管/L-氨基酸氧化酶复合电极,并用于 L-苯丙氨酸的检测,检测限可达 2×10^{-5} mol/L。碳纳米管的加入是为了获得更大的电化学响应。

Kwan 等^[27]在 Clark 型氧电极上负载 3 种酶(L-丙氨酸脱氢酶、水杨酸酯羟化酶和丙酮酸酯氧化酶)制成一安培生物传感器,用于 L-丙氨酸的快速检测。L-丙氨酸引起的酶联反应将消耗溶解氧,从而使阴极电流下降,下降值可用于衡量 L-丙氨酸的含量。该法响应快,只需 2s,电极 2min 即可再生。由于采用的是 L-丙氨酸脱氢酶,其它氨基酸(实验中涉及 19 种)对检测的影响小。该法检测限为 7.2×10^{-6} mol/L,缺点是电极寿命短。

D-氨基酸被认为是食品受到污染的标志,含量超过 1ppm 即意味食品可能变质。开发一种简便快速检测痕量 D-氨基酸的方法十分必要。基于 D-氨基酸氧化酶对 D-氨基酸的特异反应制成的生物传感器可用于 D-氨基酸含量的检测。Trojanowicz 等^[28]

在普鲁士蓝修饰的丝网印刷电极 (screen-printed electrode, SPE) 上负载 D-氨基酸氧化酶并与 BSA 交联制成安培生物传感器用于 D-氨基酸的检测。普鲁士蓝用于提高电极信号。D-丙氨酸的检测限为 1×10^{-6} mol/L。

基于甲状腺激素之一的 L-T₃ 抗体的安培免疫传感器被制备并用于 L-T₃ 的检测。该电极的检测限为 34ppt, 响应时间约 1.5min。L/D-T₄ (另一活性较低的甲状腺激素) 不干扰测定^[29]。

1.3 电阻型手性传感器

电阻型手性传感器的研究较少。Lewis 等^[30] 合成了炭黑-手性聚合物复合型电阻器, 用以识别 2-丁醇等手性气态化合物。当电阻器吸附底物时, 溶胀电阻变大, 不同构型底物溶胀作用不同, 电阻变化不一样, 可用于识别对映异构体。

2 基于石英晶体微天平的手性质量化学传感器

石英晶体微天平 (quartz crystal microbalance, QCM) 利用压电石英晶体对其表面负载高灵敏的响应特性, 可用于表面质量负载低达 ng/cm^2 的体系研究, 即相当于晶体电极表面单原子或亚单原子/分子的精确传感检测, 故也称为纳克微天平。压电石英晶体表面的激励电极 (金或银电极) 上负载物质后, 石英晶体的谐振频率将显著下降, 频移值与负载量成正比 (Sauerbrey 方程)。若电极表面修饰手性主体后, 则可用于手性识别及手性化合物对映体纯度的测定研究, 表现为对不同的异构体具有不同的频移, 构成手性质量传感器^[31]。

Schurig 等将 -CD 衍生物和聚硅氧烷喷雾于 QCM 的金电极表面制成手性气相传感器, 用于识别柠檬烯异构体。含 2,3-二-*o*-乙基-6-*o*-叔丁基二甲基甲硅烷基 -CD 的传感器手性识别能力最好, 而仅含聚硅氧烷的参照传感器及含 2,3-二-*o*-乙酰基-6-*o*-叔丁基二甲基甲硅烷基 -CD 的传感器没有手性识别能力。前者对应的吸附等温线 (f 与底物浓度之间的关系) 可拟合为 Henry、Langmuir 双吸附模型, 外推可求得底物浓度趋于零时该传感器的对映选择系数 $\text{sensor} (f_R/f_S)$ 为 1.20—1.30 (对不同的聚硅氧烷), 与气相色谱拆分结果相符^[32]。

另一环糊精衍生物, 3-*o*-丁酰基-2,6-二-*o*-戊基 -CD, 喷雾于压电石英晶体的金电极表面制成气相传感器用于识别麻醉药异氟烷等。表面声波传感器 (surface acoustic wave, SAW, 是比压电石英晶体工

作频率更高的频率标准器件, 可达百兆赫兹, 传感器的响应灵敏度有所增加) 对该主体手性识别行为的研究结果与压电石英晶体传感器一致^[33,34]。

Cheng 等将连接环二肽的杯 [4] 芳烃沉积于 QCM 电极表面上, 制成的气相传感器对乳酸甲酯对映体显示出很好的手性识别效果: *R* 异构体的共振频移明显较 *S* 构型的大, 前者对应的吸附等温线为非线性, 而后者为线性, 对映选择系数可达 7 左右^[35]。修饰有含葡萄糖单元的聚苯撑乙炔 QCM 对薄荷醇异构体显示出手性识别^[36]。

依靠 Au—S 键, 含硫醇基团的 -CD 衍生物可自组装于 QCM 的金电极表面制成手性气相传感器并用于乳酸甲酯对映体的识别。对映选择系数达 1.178^[37]。

由于印迹聚合物对模板分子的强识别吸附作用 (类似抗体-抗原的作用), 加上其稳定、耐用、易制备以及适合不同溶剂不同温度的特点, 在传感器方面的应用得到了人们的注意^[38]。

Haupt 等^[39] 在 QCM 金电极表面合成 -受体阻滞剂药物 *S*-心得安印迹的聚合物, 通过共振频率的变化研究印迹聚合物对 *R*、*S*-心得安的识别。*S*-心得安引起共振频率的变化明显大于 *R*-心得安。从两个构型底物对应的 QCM 吸附等温线的初始斜率可求得该传感器的对映选择系数为 5.0。*S*-心得安的检测限为 5×10^{-5} mol/L。

Cao 等^[40] 改进了传感器的制备方法, 通过将硫辛酸修饰的甲基丙烯酸缩水甘油酯 (GMA)、硫辛酸十二烷酯自组装于金电极表面, 然后滴加 L-苯丙氨酸丹磺酸酯 (模板分子)、4-乙烯基吡啶 (4-vinylpyridine)、甲基丙烯酸 (MAA)、亚乙基二甲基丙烯酸酯 (EDMA) 及引发剂偶氮二异丁腈 (AIBN) 的混合溶液, 紫外光照射聚合后洗去模板分子及未聚合的单体。该法制备的印迹聚合物通过化学键连于 QCM 电极表面, 传感器的响应重复性好, 对映选择系数达 6.7, 可用于对映体纯度的测定。L-苯丙氨酸丹磺酸酯的检测限达 $5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 。改变测定溶液的 pH 值可以方便地使传感器再生。

Ye 等^[41] 采用表面引发游离基聚合的方法在 QCM 的金电极表面上合成了超薄的分子印迹聚合物膜。首先将 11-巯基十一酸自组装于金电极表面; 然后通过羧基官能团键连接引发剂, 放入含官能团单体、交联剂及模板分子 (*S*-心得安) 的溶液中进行光照引发聚合, 洗涤至基频稳定。该法合成的 MIP 膜厚度可控制在 50nm 以下, 传感器响应时间短 (<

1min),对心得安对映异构体具有一定的手性识别作用,但检测限太高。

姚守拙等^[42]则通过电化学合成法直接在电极表面聚合形成 MIP 膜。模板分子为 L-或 D-组氨酸,合成的聚合物为聚丙烯酰胺。电化学方法合成印迹聚合物具有聚合物膜易吸附于电极表面,膜厚度可通过电量控制等优点。交流阻抗光谱(AC impedance spectroscopy)研究表明,L-组氨酸印迹的电极吸附 L 构型组氨酸导致聚合物溶胀引起的电阻下降比 D 构型明显,反之亦然。利用压电石英晶体技术对电合成的 MIP 膜厚度进行了评估,约为 140nm。压电石英晶体的频率变化也清楚地显示该法制备的传感器具有很好的手性识别。

3 手性光学传感器

手性光学传感器通过跟踪入射光的反射情况研究主体的手性识别行为,对此报道不多。

3.1 基于微悬臂梁结构的手性光学传感器

微悬臂梁是一种结构简单、易于进行微加工以及大量生产的传感器结构,以其低成本、小体积和高性能在当今传感器研究中愈来愈受到重视。微悬臂梁吸附分子后,微悬臂梁将发生弯曲,采用光学方法可探测微悬臂梁的偏转^[43,44]。

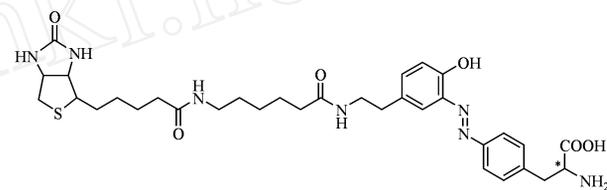
Hofstetter 等^[45]利用表面键连抗氨基酸抗体的微悬臂梁对氨基酸异构体进行识别,通过激光束的反射探测微悬臂梁吸附溶质后的偏转情况。实验表明键连有抗 L-氨基酸抗体的传感器对 L-氨基酸响应十分明显,而对 D-氨基酸几乎不响应。该传感器可用于 L-氨基酸含量的测定,溶液中存在 L-氨基酸含量 1 000 倍的 D-氨基酸(即对映体过量值为 99.8%)时仍可准确测定。

3.2 基于表面等离子体共振光谱(SPR)的手性光学传感器

表面等离子体共振光谱(surface plasmon resonance, SPR)通过测定入射角的变化()反映基质对底物的吸附情况,与吸附量有关。Yoshikawa 等^[46]以 Ac-D-Tip 或 Ac-L-Tip 为模板,在镀金载玻片上合成了一新型的含五元环内酯基团的印迹聚合物,并利用 SPR 对该印迹聚合物的手性识别进行了研究。SPR 表观吸附等温线表明,该印迹聚合物对印迹异构体的识别包含特异性和非特异性两种,而对另一异构体仅存在非特异性识别(与吸附量成正比且拟合直线过原点)。

Hofstetter 等^[47]设计了一免疫传感器芯片,在镀

金载玻片上键连接链霉亲和素的羧甲基葡聚糖,并络合上 D-1 或 L-1。络合 D-1 的芯片可结合 D-氨基酸抗体,而络合 L-1 的芯片无法结合 D-氨基酸抗体。络合 D-1 的芯片可用于 D-氨基酸的检测。当溶液中加入一定量的 D-氨基酸抗体和 D-氨基酸时,由于 D-氨基酸与抗体间的竞争吸附作用,使抗体与芯片的作用减弱。D-氨基酸的含量越高,竞争吸附越强,抗体与芯片的作用则越弱,传感器响应越小。利用 SPR 对结合情况进行了跟踪,测定色氨酸时当 L 构型含量为 D 构型的 2 500 倍时仍可准确测量。该传感器特别适合测定痕量的对映体杂质,比色谱方法更具优势。



1

3.3 基于反射测量相干光谱仪(RIFS)的手性光学传感器

反射测量相干光谱仪(reflectometric interference spectroscopy, RIFS)被用于手性传感器的制备。玻璃基片上负载含手性主体的透明薄膜,入射光照射薄膜时,在空气/聚合物及聚合物/载体两界面间反射,并产生干涉效应。从干涉效应可以推出膜的厚度。聚合物吸附底物后,因溶胀引起膜厚度的变化,干涉效应随之变化。利用高分辨的干涉光谱仪可以衡量膜光学厚度(optical thickness)的变化,从而推断吸附情况。

Nopper 等^[48]在硅烷化玻璃表面以苯甲酰化酒石酸为模板合成了脒类印迹聚合物薄膜,通过 RIFS 衡量印迹聚合物对底物的吸附情况。该传感器可以识别印迹底物及其对映体,而参照非手性印迹聚合物不显示手性识别。识别在水溶液中进行。

Bodenhöfer 等^[49,50]对比了基于石英晶体微天平的手性质量化学传感器及基于 RIFS 的手性光学传感器的性能。前者将一手性酰胺主体喷雾于 QCM 的电极上,膜厚度约 300—340nm;后者负载于玻璃基片上,膜厚度约 400—600nm。前者以频移值衡量手性识别效果,而后者以光学厚度的变化值来衡量。在对 N-三氟乙酰基丙氨酸甲酯及乳酸酯的识别中,两种方法所求得的手性识别系数与气相色谱实验结果接近。该方法可用于对映体纯度的测定。另

外,在 RFS 实验中,由于入射光光点小,对膜厚度的变化敏感,实验偏差较大。而在 QCM 实验中,反映的是整个负载膜对溶液的反应,偏差较小。

Kieser 等^[51]分析对比了基于 QCM、SPR、RFS 及 SAW 的 4 种传感器在环糊精衍生物识别卤代二醚麻醉药异构体中的效果。传感器表面均负载 $-CD$ 衍生物,不同传感器测得的吸附等温图均显示出显著的非线性效应,从吸附等温图的曲率可求出底物与涂敷层的络合常数。基于 SPR 和 QCM 的传感器计算所得的络合常数接近,而基于 SAW 和 RFS 的传感器计算所得的络合常数偏小,归因于 SAW 传感器表面的涂敷层较薄,RFS 传感器表面的涂敷层不够平坦。SAW 传感器的响应时间快,小于 2min,适于实时在线检测。

4 展望

由于手性工程的崛起,发展简单、经济、快速、实时和在线的手性检测技术显得十分必要。手性传感器作为一个重要的发展趋势,可应用于过程控制、过程检测、临床诊断及高通量筛选中,已引起人们的关注。需要指出的是,色谱类分析方法中分离过程含有大量的理论塔板,而传感器检测只含有一个吸附/解吸过程(仅有一个“理论”塔板)。这就要求手性识别过程必须十分有效地进行,对手性传感器的研制是一个挑战。

基于抗体-抗原相互作用的手性生物传感器由于特异性强、灵敏度高,是一个重要的发展趋势^[52,53]。从目前的研究来看,提高传感器的寿命是关键。另外,作为一个交叉领域,手性传感器的研制还应紧密跟踪当前物理学和电子学的发展,将新型、灵敏的元器件应用于手性传感器的研制中。

参 考 文 献

- [1] Maier N M, Franco P, Lindner W. J. *Chromatogr. A*, 2001, 906: 3—33
- [2] Pu L. *Chem. Rev.*, 2004, 104: 1687—1716
- [3] Ghosh K, Adhikari S. *Tetrahedron Lett.*, 2006, 47: 3577—3581
- [4] Zhao J Z, Davidson M G, Mahon M F, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, 126: 16179—16186
- [5] Xu K X, He Y B, Qin H J, et al. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2005, 16: 3042—3048
- [6] 文孟良(Wen M L), 赵益斌(Zhao Y B), 王昌益(Wang C Y). *云南化工(Yunnan Chem. Tech.)*, 1997, (2): 5—10
- [7] Yasaka Y, Yamamoto T, Kimura K, et al. *Chem. Lett.*, 1980, 9: 769—772
- [8] Bussmann W, Lehn J M, Oesch U, et al. *Helv. Chem. Acta*, 1981, 64: 657—661
- [9] Bates P S, Kátaky R, Parker D. J. *Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1992, 153—155
- [10] Horváth V, Takács T, Horvai G, et al. *Anal. Lett.*, 1997, 30: 1591—1609
- [11] Stefan R I, van Staden J F, Aboul-Enein H Y. *Cryst. Eng.*, 2001, 4: 113—118
- [12] Ozemena K I, Stefan R I, Staden J F, et al. *Sensor. Actuat. B*, 2005, 105: 425—429
- [13] Stefan R I, van Staden J F, Aboul-Enein H Y. *Chirality*, 1999, 11: 631—634
- [14] Stefan R I, van Staden J F, Aboul-Enein H Y. *Electroanal.*, 1999, 11: 192—194
- [15] Aboul-Enein H Y, Stefan R I, van Staden J F. *Anal. Lett.*, 1999, 32: 623—632
- [16] Stefan R I, van Staden J F, Aboul-Enein H Y. *Anal. Lett.*, 1998, 31: 1787—1794
- [17] Stefan R I, van Staden J F, Aboul-Enein H Y. *Talanta*, 1999, 48: 1139—1143
- [18] Ozemena K I, Stefan R I. *Sensor. Actuat. B*, 2004, 98: 97—100
- [19] Stefan R I, van Staden J F, Aboul-Enein H Y. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 2001, 370: 33—37
- [20] Yin X L, Ding J J, Zhang S, et al. *Biosens. Bioelectron.*, 2006, 21: 2184—2187
- [21] Wang Y X, Yin X L, Shi M H, et al. *Talanta*, 2006, 69: 1240—1245
- [22] Van Staden J F, Stefan R I, Aboul-Enein H Y. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 2000, 367: 178—180
- [23] Stefan R I, van Staden J F, Aboul-Enein H Y. *Sensor. Actuat. B*, 1999, 54: 261—265
- [24] Stefan R I, van Staden J F, Aboul-Enein H Y. *Electroanal.*, 1999, 11: 1233—1235
- [25] Stefan R I, van Staden J F, Aboul-Enein H Y. *Talanta*, 2000, 51: 969—975
- [26] Cavalas V G, Law S A, Ball J C, et al. *Anal. Biochem.*, 2004, 329: 247—252
- [27] Kwan R C H, Hon P Y T, Renneberg R. *Anal. Chim. Acta*, 2004, 523: 81—88
- [28] Weislo M, Compagnone D, Trojanowicz M. *Bioelectrochem.*, 2006, 71: 223—230
- [29] Aboul-Enein H Y, Stefan R I, Radu G L, et al. *Anal. Lett.*, 1999, 32: 447—455
- [30] Severin E J, Sanner R D, Doleman B J, et al. *Anal. Chem.*, 1998, 70: 1440—1443
- [31] May I P, Byfield M P, Lindström M, et al. *Chirality*, 1997, 9: 225—232
- [32] Fietzek C, Hermlle T, Rosenstiel W, et al. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 2001, 371: 58—63
- [33] Bodenhöfer K, Hierlemann A, Juza M, et al. *Anal. Chem.*, 1997, 69: 4017—4031
- [34] Hierlemann A, Ricco A J, Bodenhöfer K, et al. *Anal. Chem.*, 1999, 71: 3022—3035

- [35] Guo W, Wang J, Wang C, et al. *Tetrahedron Lett.*, 2002, 43: 5665—5667
- [36] Tanese M C, Torsi L, Cioffi N, et al. *Sensor. Actuat. B*, 2004, 100: 17—21
- [37] Ng S C, Sun T, Chan H S O. *Tetrahedron Lett.*, 2002, 43: 2863—2866
- [38] Kempe M, Molsbach K. J. *Chromatogr. A*, 1995, 694: 3—13
- [39] Haupt K, Noworyta K, Kutner W. *Anal. Commun.*, 1999, 36: 391—393
- [40] Cao L, Zhou X C, Li S F Y. *Analyst*, 2001, 126: 184—188
- [41] Piacham T, Josell A, Arwin H, et al. *Anal. Chim. Acta*, 2005, 536: 191—196
- [42] Liao H P, Zhang Z H, Nie L H, et al. *J. Biochem. Biophys. Methods*, 2004, 59: 75—87
- [43] 王军军(Wang J J), 谢海芬(Xie H F), 周嘉(Zhou J)等. 微电子学(Microelectro.), 2004, 34: 493—496
- [44] 黄钦文(Huang X W), 陈大鹏(Chen D P), 叶甜春(Ye T C)等. 电子工业专用设备(Equipment for Electronic Products Manufacturing), 2006, 132: 36—38
- [45] Dutta P, Tipple C A, Lavrik N V, et al. *Anal. Chem.*, 2003, 75: 2342—2348
- [46] Yoshikawa M, Hotta N, Kyoumura J, et al. *Sensors Actuat. B*, 2005, 104: 282—288
- [47] Hofstetter O, Hofstetter H, Wilchek M, et al. *Nature Biotech.*, 1999, 17: 371—374
- [48] Nopper D, Lammershop O, Wulff G, et al. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2003, 377: 608—613
- [49] Bodenhöfer K, Hierlemann A, Seemann J, et al. *Anal. Chem.*, 1997, 69: 3058—3068
- [50] Bodenhöfer K, Hierlemann A, Seemann J, et al. *Nature*, 1997, 387: 577—580
- [51] Kieser B, Fietzek C, Schmidt R, et al. *Anal. Chem.*, 2002, 74: 3005—3012
- [52] Hofstetter H, Hofstetter O. *Trends in Anal. Chem.*, 2005, 24(10): 869—879
- [53] Schügerl K, Ulber R, Scheper T. *Trends in Anal. Chem.*, 1996, 15: 56—62