

Smartphone-Based Ammonium Ion Biosensor for Sweat Analysis

Ying Ni*, Hong Liu

State Key Laboratory of Bioelectronics, Southeast University, Nanjing, China

Email address:

niying000@qq.com (Ying Ni), liuh@seu.edu.cn (Hong Liu)

*Corresponding author

To cite this article:

Ying Ni, Hong Liu. Smartphone-Based Ammonium Ion Biosensor for Sweat Analysis. *Science Discovery*. Vol. 7, No. 2, 2019, pp. 61-64. doi: 10.11648/j.sd.20190702.11

Received: April 18, 2019; Accepted: May 20, 2019; Published: May 23, 2019

Abstract: In this article, we present a smartphone-based biosensor for detection of the ammonium ion in sweat. The sensing system consists of a sample collection chip, an ammonium ion selective electrode by screen printing, a potential reading chip and a smartphone. When the sweat flows through the sensitive membrane, a membrane potential is generated which can be captured by the potential reading chip linked with the smartphone. The potential signal was then converted to concentration value by a calibration curve. The detection can be achieved within one minute with good repeatability, and the level of the ammonium ion in sweat can reflect the body state during exercise.

Keywords: Sweat Analysis, Ammonium Ion Detection, Biosensor

基于智能手机的铵根离子生物传感器用于汗液分析

倪莹*, 刘宏

东南大学生物科学与医学工程学院, 南京, 中国

邮箱

niying000@qq.com (倪莹), liuh@seu.edu.cn (刘宏)

摘要: 本文介绍了一种基于智能手机的生物传感器用于检测汗液中的铵根离子。该生物传感系统包括一个汗液引入通道和基于丝网印刷的离子选择性电极, 以及电位检测芯片和智能手机。当汗液流经涂有铵根离子选择膜的传感芯片, 敏感膜和溶液的相界面上产生膜电位, 然后使用电压检测芯片对膜电位进行测量。测量的电位数据可以通过手机处理显示, 最后根据浓度校准曲线得到汗液中的铵根离子浓度。使用该方法, 汗液中的铵根离子可以在1分钟内完成分析, 该传感器具有较好的重复性, 并可根据测量结果推算出待测者的运动状态。

关键词: 汗液分析, 铵根离子检测, 生物传感器

1. 引言

血液中阳离子水平可以反映出个体的代谢状态, 饮食状态以及肝脏的健康状态。在运动过程中, 人体血液中的铵浓度会从需氧状态转变为厌氧状态[1, 2]。此外, 由于肝

脏在排泄之前将氨转化为尿素, 因此铵离子可用作肝脏疾病如肝炎或肝硬化的标志物[3]。然而, 血液中的铵的检测需要收集血液样本并且检测繁琐耗时, 因此发展一种无创的可实时监测铵含量的方法非常必要。

研究表明, 铵可以通过扩散从血浆中排至汗液, 汗液中的铵水平与其在血液中的浓度直接相关[4]。Czarnowski

等考察了血液中铵和尿素水平与汗液中铵浓度之间的关系, 他们的研究表明, 血浆中的氨是汗液中铵的主要来源[5]。此外, 在短期运动期间, 铵主要通过出汗分泌[6, 7]。通过对运动员进行的长时间研究, 在运动前后, 血液中的铵浓度有着显著增长, 运动时血液中的铵浓度几乎是平常的三倍[8]。此外, 长时间的低碳水化合物饮食, 也会影响汗液中的铵水平。在同等运动强度下, 低碳水化合物饮食者比正常饮食者铵浓度更高[9]。总而言之, 汗液中铵可用作蛋白质代谢分解的指标, 提供人体在许多不同情况下的生理信息, 例如从有氧运动到无氧运动的变化, 以及个人饮食状况的信息等等。

从分析的角度看, 检测汗液中铵离子的主要障碍之一在于采样。由于汗液样品会在表皮蒸发, 必须采取手段严格控制样品污染等因素。然而, 一般使用纱布这种传统方法采集汗液繁琐且耗时。此外, 汗液在收集过程中的蒸发、污染以及聚集则会引起分析结果不准确, 因此可直接监测汗液成分的穿戴式设备已经成为更有吸引力的选择。

本文介绍了一种基于智能手机的生物传感器用于检测汗液中的铵浓度。该传感芯片可以直接贴在皮肤上, 避免了采样时造成的样品污染。利用低成本的丝网印刷技术在芯片上加工了铵离子选择电极用于汗液中铵离子的快速分析。此外, 分析检测的结果可以直接在手机上显示出来, 达到了实时检测的目的。

2. 实验

2.1. 实验材料

聚氯乙烯、铵根离子载体、DOS、四氢呋喃、乙腈、吡咯均从Sigma-Aldrich购买。导电碳墨从Creative Materials(美国)购得。银导电油墨购买自Alfa Aesar。双面胶带是购自Soken化学工程有限公司(日本, 东京)。激光切割机购自由华泰激光雕刻公司(中国深圳)购买用于芯片加工。所有溶液的配制使用milipore超纯水系统, 使用试剂没有经过二次处理。

2.2. 传感器制作

该传感系统由传感芯片、电位采集器和一个安装了检测铵离子浓度程序的Android智能手机组成。如图1a所示, 汗液传感芯片(9 mm * 16 mm)有三层(图1b), 底层是印刷了工作电极和参比电极的基底层, 中间层是采用激光切割机切割成特定形状的双面胶带, 顶层是一层PET膜, 棉线连在中间层通道口, 用来引流汗液, 由于基底层具有一定的亲水性, 中空的通道就形成了毛细作用。传感器的电压读取设备模块由微处理器模块和USB传输模块组成。因为所得到的信号在0 - 0.5 V之间, 所以不用经过放大电路直接通过芯片接口采集电势差, 然后再通过微处理器模块完成信号的采样和模数转换, 最后由USB模块将数字信号发送到智能手机上显示。芯片制作时, 需要先制作好工作电极和参比电极, 即在PET膜上使用丝网印刷的方法印刷电极, 然后用氯化银墨水制作参比电极, 室温下完全干燥后, 使用10%的聚乙烯醇缩丁醛(PVB)以及饱和NaCl

的甲醇溶液中制备固态参考膜(78.1mg PVB和50 mg NaCl溶解在1 ml甲醇中来制备混合液), 然后将混合液点涂在氯化银参比电极上, 室温下干燥, 可以使得参考电极性能更稳定。工作电极制作方法: 在工作电极上电镀一层PEDOT:PSS, 然后点涂离子选择膜, 铵离子选择膜由0.2 wt%的铵根离子载体, 69.0 wt%的DOS和30.8 wt%的聚(氯乙烯)组成, 然后贴上设计好的激光切割成的双面胶层, 放置棉线后贴上亲水的顶层。汗液的检测时, 首先将电压采集装置和手机连接, 然后, 将汗液样品吸入到毛细通道中, 1分钟后, 溶液与电极接触, 测量电极电位, 测试结果将会显示在智能手机的屏幕上。

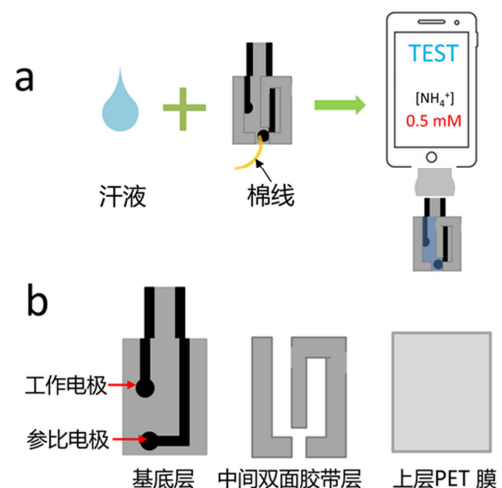


图1 (a) 基于智能手机的传感器用于汗液铵离子的检测; (b) 三层的汗液铵检测传感器。第一层是制备的电极衬底, 第二层是双面胶带和棉线, 第三层是一个亲水层, 以方便样品的毛细作用。

3. 结果与讨论

3.1. 检测原理

整个汗液铵离子传感器由三个部分组成, 传感芯片、电压读取器以及安装了检测应用的Android智能手机组成。通过棉线吸收汗液并将其引流到芯片通道中, 由于工作电极上有铵根离子载体, 固定在敏感膜上的离子识别材料能有选择性地结合汗液中的铵离子, 从而发生膜电位的变化, 即电极电位的变化, 该结果被电压读取器装置采集然后通过USB发送到智能手机上, 手机上通过应用软件分析该电压, 再将电压信号通过校正曲线转化为汗液中铵根离子的浓度。

3.2. 传感芯片性能测试

3.2.1. 稳定性测试

使用不同浓度的标准溶液, 记录电位来评估铵离子电位传感器的性能。为了使参比电极获得更加稳定的性能, 这里使用PVB聚合物与盐混合物(NaCl和AgNO₃)组合来制作新的全固态参比电极[10]。即在原有的Ag/AgCl的丝网印刷层上, 将PVB聚合物和饱和NaCl组成的参考混合物层点涂在Ag/AgCl的参比电极上, 可以使得参比电极性能更加稳定。铵离子传感器芯片的校准如图2所示, 通过

在两个电极的顶部加入不同浓度的标准溶来改变铵离子的浓度，记录电位与时间的变化。结果表明，铵离子传感器在溶液浓度变动时有相对较快的EMF变化，并且在约5 s内能达到稳态响应。如图2所示，该汗液离子传感器有从 10^{-5} M到0.1 M的线性范围，能斯特斜率为 59.2 ± 0.3 mV / $\log[\text{NH}_4^+]$ (RSD: 5.21%, $n = 5$)，该线性范围涵盖汗液中的铵浓度水平。

3.2.2. 选择性分析

选择性是评估的铵离子选择传感器的另一个重要参数，因为汗液通常富含其他离子，如 K^+ 、 Na^+ 等，这些阳离子是已知的会对ISE测定铵离子产生干扰的阳离子，因为 K^+ 、 Na^+ 是汗液中最丰富的阳离子，因此需要考察他们对铵根离子的响应的影响。选择性值是通过单独溶液法来进行计算的，该传感器对 K^+ 、 Na^+ 离子的选择性系数分别-1.7和-2.4，说明汗液中其他离子对于铵根离子的测量的影响较小。

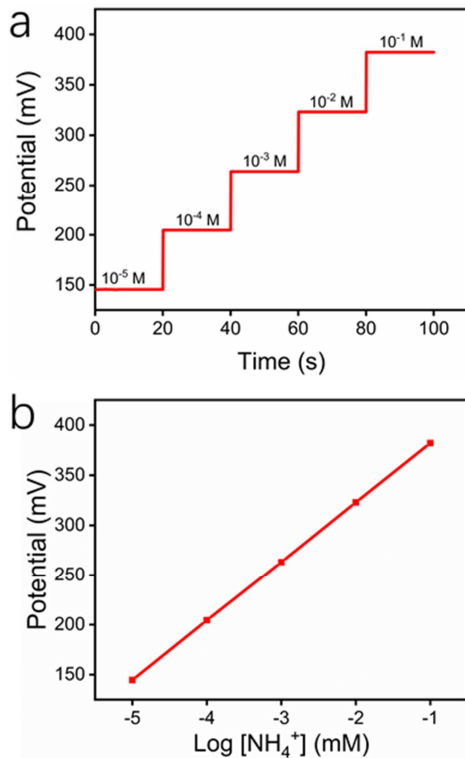


图2 (a)铵离子浓度变化时的电位时间变化;(b)电极电位与 $\log[\text{NH}_4^+]$ 的关系。

3.2.3. 重复性

我们还考察了单个传感器的可重复性，通过对同一铵离子传感芯片进行了5次测量，平均斜率为 58.7 ± 0.8 mV / $\log[\text{NH}_4^+]$ ，截距为 117 ± 3 mV。另外，通过几次实验测试评估不同铵离子传感芯片的响应的再现性，在这种情况下，5种不同的铵离子传感芯片，所得到的平均斜率为 57.5 ± 1.4 mV/ $\log[\text{NH}_4^+]$ ，平均截距为 189 ± 35 mV。在实际测量中，传感芯片的灵敏度恒定能斯特响应恒定即具有非常重要的意义。因为灵敏度恒定时，降低了由操作或者外界环境带来的结果的不确定性。此外，在实际应用中，由于

出汗时人体温度（约37度）会高于实验室温度（25°C），这也会是的能斯特曲线斜率发生变化，所以后期还需考虑到温度系数的校正。由截距带来的差异是穿戴式电位器件中的常见问题。一般通过单点校准来解决该问题[11-12]。

3.2.4. 电极响应

由于出汗时铵浓度的逐渐增加，所以测试电极响应的变化是非常重要的，为了评估铵化反应发生时的滞后效应，进行了一系列测试。将铵离子传感器浸没在溶液中，通过加入纯水或者高浓度铵根离子溶液来调节溶液中铵根离子浓度，研究铵根离子传感器的电极响应。图3展示了通过使用不同浓度的铵溶液对铵根离子传感器进行的

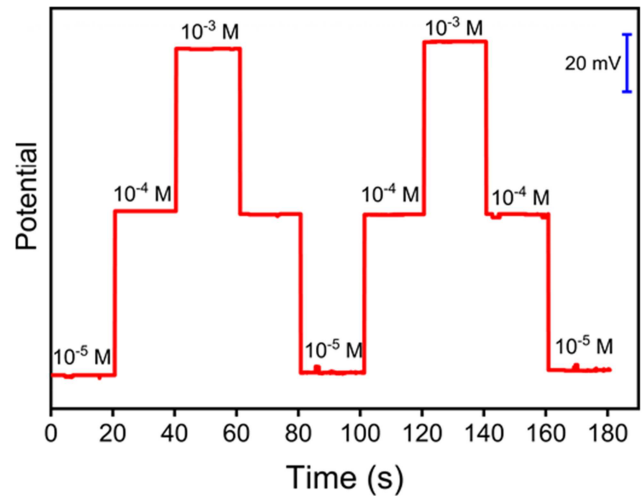


图3 铵离子传感器在 10^{-5} M到 10^{-2} M浓度范围内进行循环测试结果。

响应测试的结果，该试验表明了当快速降低铵浓度时使用这些传感器的可行性。图3是将电极预先浸泡在0.1mM NaCl溶液中活化所测试得到的数据，当使用干燥的离子选择电极直接进行测试时，未经过处理的电极与溶液接触时，系统响应时间较慢，特别是在测试完高浓度后再测试低浓度时，需要较长时间达到稳定状态。这种现象可能部分是由于为了维持离子选择膜的活性，电极也需要稳定地与溶液接触，在将来的实际应用中可能需要以简单的方式预先校准

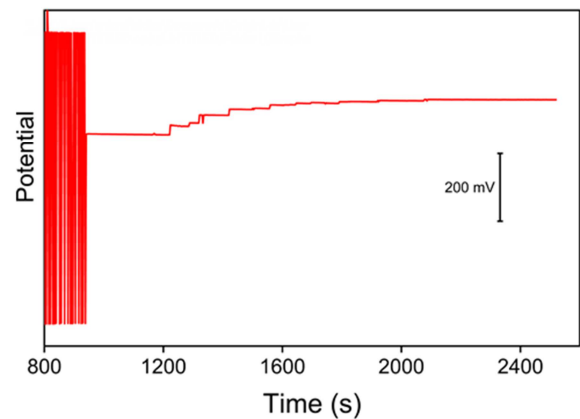


图4 铵根离子传感器在志愿者运动时对汗液中的铵根离子实时响应曲线。

3.3. 实际应用

在使用传感器之前, 对其校准3次, 然后将传感器黏贴到衣服上, 末端棉线贴到皮肤表面, 通过棉线引流汗液到传感器通道中。在实际实验中, 志愿者先进行5分钟的有氧运动, 然后再进行5分钟骑自行车或短跑激烈运动, 迫使身体进入无氧运动状态。实验结果如图4所示, 由于运动引起的噪声信号使得传感芯片在实时测量中具有较大的噪声。当汗液开始导入电极时, 噪音减小。由图可知大约会降低到0.5 mV的基线水平。当受试者开始运动大量出汗时, 汗液中铵根离子浓度增加, 与之相应的电极电位增加, 由图可知, 该志愿者在运动过程中汗液中铵根离子浓度逐渐增加, 最后达到平稳状态。因此, 该芯片可以对汗液中的铵根离子进行实时响应。

4. 结论

本文报道了一种基于智能手机的电化学生物传感器用于汗液中铵根离子的检测, 该集成化的系统包括一个安装检测应用的智能手机, 读取电位的装置以及负载铵根离子选择性电极的汗液检测芯片。实验结果表明, 该传感器具有较好的铵根离子响应特性以及选择性。对不同浓度的铵根离子进行循环测试结果表明该传感器具有较快的响应速度。作为进一步的应用, 我们将该传感器应用于运动条件下的人体汗液的实时采集和分析, 达到了实时快速检测汗液中铵根离子浓度的目的。此外, 该传感器具有制作简单, 成本低廉, 重现性好等优点, 利用智能手机的数据处理能力, 可以对分析结果实时显示, 达到了现场快速检测的目的, 本工作为发展新型可穿戴汗液生物传感器提供了新的思路。进一步的工作将更加完善现有的检测系统, 比如将无线数据传输模块用于数据的无线处理和结果显示, 进一步缩小传感器的尺寸, 同时集成更加多的传感单元, 达到对汗液中的不同组分进行同时多元在线分析。

致谢

本文为中央高效基本科研业务费专项资金项目(2242018K41023)的阶段性成果之一。

参考文献

- [1] W. N. Fishbein, J. W. Foelimer and J. I. Davis, "Medical Implications of the Lactate and Ammonia Relationship in Anaerobic Exercise," *Int. J. Sports. Med.*, vol. 11, pp. S91-S100.
- [2] G. Ravier, B. Dugu'e, F. Grappe and J.-D. Rouillon, "Maximal Accumulated Oxygen Deficit and Blood Responses of Ammonia, Lactate and pH after Anaerobic Test: a Comparison between International and National Elite Karate Athletes," *Int. J. Sports Med.*, vol. 26, pp. 1-8.
- [3] D. B. Shawcross, S. S. Shabbir, N. J. Taylor and R. D., "Ammonia and the neutrophil in the pathogenesis of hepatic encephalopathy in cirrhosis," *Hepatology*, vol. 51, pp. 1062-1069.
- [4] S. W. Brusilow and E. H. Gordes, *Am. J. Physiol.*, "Ammonia secretion in sweat," vol. 214, pp. 513-517.
- [5] D. Czarnowski, J. G'orski, J. J'ozwiuk and A. Boron-Kaczmarek, "Plasma ammonia is the principal source of ammonia in sweat," *Eur. J. Appl. Physiol.*, vol. 65, pp. 135-137.
- [6] D. Czarnowski, J. Langfort, W. Pilis and J. G'orski, "Effect of a low-carbohydrate diet on plasma and sweat ammonia concentrations during prolonged nonexhausting exercise," *Eur. J. Appl. Physiol.*, vol. 70, pp. 70-74.
- [7] V. F. Curto, C. Fay, S. Coyle, R. Byrne, D. Diamond and F. Benito-L'opez, 15th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, October 2-6 2011, pp. 577-579.
- [8] I. Alvear-Ordenes, D. Garcia L'opez, J. A. De Paz and J. Gonzalez-Gallego, "Sweat lactate, ammonia, and urea in rugby players," *Int. J. Sports Med.*, vol. 26, pp. 632-637.
- [9] Tomàs Guinovart, Bandodkar, A. J., Windmiller, J. R., Andrade, F. J. and Wang, J., "A potentiometric tattoo sensor for monitoring ammonium in sweat," *The Analyst*, vol. 138, pp. 7031-7038.
- [10] A Kim, J., Araujo, W. R. D., Samek, I. A., Bandodkar, A. J., Jia, W. and Brunetti, B., "Wearable temporary tattoo sensor for real-time trace metal monitoring in human sweat," *Electrochemistry Communications*, vol. 51, pp. 41-45.
- [11] F. X. Rius-Ruiz, G. A. Crespo, D. Bejarano-Nosas, P. Blondeau, J. Riu and F. X. Rius, "Potentiometric Strip Cell Based on Carbon Nanotubes as Transducer Layer: Toward Low-Cost Decentralized Measurements," *Anal. Chem.*, vol. 83, pp. 8810-8815.
- [12] M. S. Ghauri and J. D. R., "Poly(vinyl chloride) type ammonium ion-selective electrodes based on nonactin: solvent mediator effects, Thomas," *Anal. Proc.*, vol. 31, pp. 181-183.