



师从姚先生, 开拓压电液相振荡与传感新领域

周铁安^{1,2,3}

(1. 湖南农业大学 生物科学技术学院; 2. 湖南省细胞力学与功能分析工程技术研究中心;
3. 岳麓山实验室, 湖南 长沙 410128)

本人系姚先生第二届硕士生、第一届博士生, 跟随姚先生一起探索并开拓了压电石英晶体液相振荡与化学生物传感新领域。本文回忆和介绍了早期压电晶体由气相应用到液相振荡的突破, 压电晶体在液相振荡性能与非质量效应敏感机制的研究及后来作者传承姚先生的学术思想, 将石英晶体微天平(QCM)技术拓宽应用于动植物细胞研究和发展成细胞力学与功能定量分析的双谐振压电细胞术(DRPC)。

1 压电晶体液相振荡成功的突破

1982年, 我从湖南大学分析化学专业本科毕业, 与同班的魏万之同学一同考取了姚先生无机非金属材料硕士点的研究生。彼时, 姚先生任职于湖大化工系新材料研究所。我们是姚先生招收的第二届硕士生, 他的首届硕士生是刘建华, 学位论文聚焦药物离子选择电极研究。当时化工系条件十分简陋, 但姚先生始终坚持创新, 在没有研究生的情况下, 通过指导本科生毕业论文, 几乎每位学生的成果都能在学术期刊上正式发表, 在药物电极领域已取得国内外领先的成果。我们入学时, 姚先生在药物离子选择电极研究领域已开辟了一个极具潜力的新方向, 但他并未满足于此。他给了我们三个可供选择的方向: (1) 穆斯堡尔谱(当时中南矿冶学院有此设备); (2) 红外光谱计算机解释(湖大化工系新进了一台红外光谱仪); (3) 石英晶体微天平(QCM)技术。姚先生当时还问我们是否喜欢自己动手摆弄收音机。后来, 魏万之选择了第二个方向, 在红外光谱计算机解释这个化学计量学相关领域做出了创新性成果。

我选择了QCM相关课题后, 姚先生向我提及生物传感器先驱、酶电极专家 George G. Guilbault 教授, 让我参考他在压电传感器领域的工作。当时文献检索远不如现在方便。为了了解该领域的研究进展, 姚先生专门给我机会, 让我赴北京图书馆和中科院情报研究所, 将相关文献基本查全并复印带回长沙。之后, 我们从中挑选了4篇英文文献, 包括 Hlavay 与 Guilbault 发表在 Analytical Chemistry 上的一篇综述^[1], 安排我们翻译成中文。姚先生亲自审校, 并以“压电晶体在分析化学中的应用专辑”形式, 于1983年左右由湖南大学《科技译丛》内部资料出版。通过该过程, 姚先生在专业与英文两方面都给了我们极大的锻炼。八十年代初, 压电晶体主要应用于大气污染物等环境有害物监测。后来, 我通过 CA (Chemical Abstracts) 检索到日本野村(T. Nomura)等学者将石英晶体两面浸入一些有机溶剂中获得了成功振荡^[2]。我被这种新现象所吸引, 向姚先生汇报了想将压电晶体从气相应用转向国际上刚萌芽、有更大探索空间的液相振荡。姚先生支持我的想法, 但当时学界长期认为压电晶体不可能在液相中振荡成功, 尽管日本学者已进行初步探索并取得有限成功。

然而, 文献中并未讨论压电晶体在液相中难



姚先生夫妇与研究生刘建华(右二)、周铁安在湖南大学图书馆的合影(1983年)

以振荡的原因,早期文献也未披露振荡电路设计。为此,我们决定自主设计振荡电路。姚先生向我推荐了湖南大学物理实验室的罗华浩老师,他曾有压电晶体振荡器设计与研制经验,帮助我们改进晶体在液相的振荡性能。当时我在实验中发现手摸着玻璃检测池,原来停振的晶体便起振了,后来通过在玻璃检测池外壳缠绕铜丝并接地措施,实现了压电晶体在水溶液中的稳定振荡。为了确认突破的可靠性,我与罗老师用示波器检测石英晶体在水溶液中的振荡波形,看到稳定的正弦波后才确信成功。在我们反复调试过程中,姚先生一直在物理实验中心楼外来回踱步,期盼我们的好消息。最终我们成功了。虽然事后发现因漏检CA的一篇文献,日本野村小组已率先实现两面压电晶体在水溶液中的振荡^[3],但我们是独立完成的突破。我们测试了实验室40多种有机溶剂,包括几种日本学者未能成功振荡的溶剂,均获得稳定振荡,表明我们设计的振荡器性能优于日本同行。同时,我们还发现有机溶剂中痕量碘在石英晶体电极上的吸附现象,这为后来基于该现象的压电痕量化学成分分析提供了新途径。此外,我们还研究了温度对石英晶体在正丁醇—正十二醇不同碳链长度醇类液体中振荡频率的影响,发现对于特定晶体存在最低频率温度,低于该温度时频率不降反升,直至停振(截止频率温度),最低与截止频率温度均随碳原子数增加而升高。该工作于1985年在《科学通报》上发表^[4],从此开创了我国在压电石英晶体液相振荡及应用的全新领域。

2 压电晶体液相振荡性能与非质量效应敏感机制

压电晶体在液相中的振荡成功,促成了液相QCM技术的建立及其后来包括活细胞研究在内的广泛应用。与气相中纯质量敏感不同,液相中石英晶体振荡频率还与液体物理性质相关。姚先生与我共同确定了液体密度、粘度、电导率、介电常数对振荡频率的影响规律^[5],该成果被国际学术界公认为压电石英晶体液相振荡频率的重要理论关系式之一^[6]。1985年硕士毕业后,我留校化学化工系新材料研究所担任助教,除教学任务外,继续在姚先生指导下从事压电液相化学传感器研究。1986年,中国科学院正式设立青年奖励研究基金,旨在支持35岁以下具有创新开拓能力的优秀青年科技人员。在姚先生和时任系主任杜海清教授的极力推荐下,我以“压电液相谐振化学传感器理论及应用研究”项目入选全国150名候选人之一。赴京会评答辩前,姚先生专门组织实验室成员为我进行辅导,叮嘱我要像古代进京赶考一般珍惜机会。可惜我临场发挥欠佳,未能进入最终获资助的100人名单,辜负了姚先生厚望。但通过此次答辩和获得的鼓励基金,我走访了陕西咸阳、四川成都、上海、武汉等多家具备石英晶体等效参数测量能力的研究机构,系统比较了多种测定方法,最终确定阻抗法是液相石英晶体等效参数测量的最佳手段^[7]。后来在姚先生积极争取下,湖南大学从美国进口了HP4192A阻抗分析仪,为后来实验室领先国际同行、建立完整的压电液相谐振与振荡理论提供了测量优势与保障。

1987年,我跟随姚先生在职攻读分析化学博士学位。美国学者Kanazawa等人曾由声波在牛顿液体中的传播理论导出频移与液体粘密度的理论关系式^[8]。1990年,我们通过等效电路与机电耦合模型,推导出压电晶体在液体中的谐振频移、等效参数与液体物理参数之间的理论关系式,其中频移与粘密度的关系式与Kanazawa等的结果一致,并能适用于晶体一面和两面接触液体的情形^[9]。关于压电石英晶体在液相振荡的核心挑战,如为什么液相中难以振荡?如何解决?天然谐振频率与实测振荡频率的差异等问题,姚先生实验室应是国际上最早关注的团队之一。我们通过自行设计的Pierce振荡器,确定了石英晶体、振荡电路与溶液体系共同决定了液相振荡能力和振荡频率等性能^[10-11]。攻读博士期间,我还将压电传感器用于血滴凝固动态过程监



周铁安1985年硕士研究生论文答辩后与姚先生在湖南大学校园合影

测，发现频率与等效参数变化不仅反映血滴质量与粘弹性变化，还观察到频率升高甚至超过空载频率的现象，推测血滴凝固产生的横向表面压应力是重要传感机制^[12-13]。至此，姚先生实验室已确立压电传感器对质量和粘度、密度、电导率、介电常数、粘弹性、横向表面应力多种非质量效应的敏感机制。随后，实验室在压电液相振荡理论完善和非质量压电效应应用等方面开展了大量研究，取得丰硕成果。

3 从活细胞研究的QCM技术到细胞力学与功能定量分析的DRPC技术的发展

1991年博士毕业后，我留校在物理化学教研室工作。在承担教学科研的同时，鉴于当时国内外差距，我萌生了出国留学的念头。姚先生虽表示我们当时的研究水平并不比国外差，但仍支持年轻的我外出深造。1992年，受膜生物物理学家田心棟先生邀请，我赴美国密执安州立大学从事博士后研究。1996年到麻省大学，与K. A. Marx及Susan J. Braunhut教授合作，开展了多项课题。其中一项重要工作便是将QCM用于细胞研究，首次利用该技术对内皮细胞在CO₂培养箱中的黏附与生长进行动态长期监测^[14]，铺平了QCM在细胞生物学中的应用道路。我们还以此构建全细胞生物传感器，探测纳摩尔浓度的细胞骨架作用药物^[15]，并获得了首个基于QCM技术的选择性全细胞生物传感器美国专利^[16]。后来，我们提出细胞粘弹性指数(CVI)作为衡量细胞粘弹性的半定量指标^[17]。在我出国留学工作期间及2011年全职回国到湖南农业大学工作后，姚先生夫妇一直关心我的学术研究与家庭。2016年，他们专程来湖南农业大学细胞力学与生物传感研究所指导，叮嘱我们要为国家粮油作物关键技术创新贡献力量。我们实验室最早将QCM技术应用于植物细胞力学领域，比较了拟南芥与烟草BY-2细胞降温过程粘弹性的动态变化，表明降温使两种细胞变硬，CVI有望作为植物细胞耐冷性新指标^[18]。QCM用于细胞测定的另一优势在于不同频率声波可探测细胞不同深度，理论上可获取不同深度结构的粘弹性信息，这对有细胞壁的植物细胞尤为重要。我们采用QCM-D技术，研究不同浓度甘露醇渗透胁迫下烟草BY-2细胞不同结构的粘弹性变化规律，发现较低的三次泛音CVI3可测量包括细胞壁-质膜-细胞骨架连接体在内的多层结构，能检测质壁分离现象；而较高的九次泛音CVI9主要检测细胞最外层细胞壁，且细胞壁随甘露醇浓度降低而变硬^[19]。

姚先生在湖南师范大学的实验室最早注意到细胞黏附过程所产生的表面应力是QCM频率信号的重要来源。他们假设黏附细胞为牛顿流体液滴，忽略质量效应，通过AT切割石英晶体定量求出了细胞黏附动态表面应力，并成功区分正常与肝癌细胞^[20]。然而，牛顿液滴模型主要适用于悬浮细胞，且单AT切割芯片无法确定应力方向，BT切割晶体则尚未应用于活细胞研究。我们在上述研究基础上，采用同频率、同表面形态的AT与BT切割石英晶体芯片，利用两切型晶体对黏附于芯片上的细胞质量、细胞粘弹性、细胞所产生的横向表面应力(ΔS)的响应差异，成功实现了细胞力(ΔS)和粘弹性模量(G' 、 G'')的实时、无损、无标记定量分离测定。这是国际上首次实现细胞群力与粘弹性的同时定量测定，使细胞力学与细胞功能的定量成为可能，我们将该技术命名为双谐振压电细胞术(Double Resonant Piezoelectric Cytometry, DRPC)^[21]。

DRPC技术的优势突出：(1)原始创新，拥有自主知识产权，核心专利已获中、美、日、欧、澳等国家与地区发明专利^[22]。(2)以频率信号测定细胞力，无需光学显微镜观察形变。(3)测量快速，可捕获心肌细胞搏动时的收缩与舒张力。(4)可同时定量细胞力与粘弹性参数。(5)可测分离开单细胞和细胞-细胞接触程度不同细胞群。(6)与普通细胞培养皿和多孔板构型兼容，有利于发展高通量芯片与仪器。此前我们已研制成适于细胞测定的高通量压电谐振芯片^[23]。我们已将DRPC技术用于区分癌细胞凋亡与焦亡过程^[24]，不同水稻品种的干旱抗性评估^[25]，并研制出32通道细胞力学与功能定量分析仪样机。该技术及仪器可适



2016年3月姚先生来湖南农业大学生命科学楼讲学与周铁安团队部分成员合影

用于所有种类细胞的功能与表型定量分析,已应用于人体细胞疾病诊断、药效与细胞毒性评估,植物细胞力表型与非生物胁迫抗性评估等领域。我们希望通过充分发挥压电声波传感器的多种力敏功能,将DRPC技术发展为时空细胞力组学技术,为生物医药与农业等领域的科研人员提供自主研究平台与仪器,助力解决重大科学问题,造福人类。我想,这也许是对姚先生学术思想最好的传承与创新。

参考文献:

- [1] Hlavay J, Guilbault G G. *Anal. Chem.*, **1977**, 49(13): 1890-1898.
- [2] Nomura T, Okuhara M, Murata K, Hattori O. *Bunseki Kagaku*(野村俊明, 奥原守, 村田可奈子, 服部治. 分析化学), **1981**, 30(6): 417-418.
- [3] Nomura T, Nagamune T. *Anal. Chim. Acta*, **1983**, 155: 231-234.
- [4] Yao S Z, Zhou T A. *Chin. Sci. Bull.* (姚守拙, 周铁安. 科学通报), **1985**, 30(15): 1153-1156.
- [5] Yao S Z, Zhou T A. *Anal. Chim. Acta*, **1988**, 212: 61-72.
- [6] Thompson M, Kipling A L, Duncan-Hewitt W C, Rajaković L V, Čavić-Vlasak B A. *Analyst*, **1991**, 116(9): 881-890.
- [7] Zhou T A, Yao S Z, Xue G F, Song W B, Wang S D. *Piezoelectr. Cryst. Technol.* (周铁安, 姚守拙, 薛国富, 宋文炳, 王四德. 压电晶体技术), **1988**: 52-57.
- [8] Kanazawa K K, Gordon J G II. *Anal. Chim. Acta*, **1985**, 175: 99-105.
- [9] Zhou T A, Nie L H, Yao S Z. *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.*, **1990**, 293(1/2): 1-18.
- [10] Zhou T A, Zhang W L, Nie L H, Yao S Z. *Chin. Sci. Bull.* (周铁安, 张文柳, 聂利华, 姚守拙. 科学通报), **1988**, 33(15): 1154-1156.
- [11] Zhou T A, Zhang W L, Nie L H, Yao S Z. *Chem. J. Chin. Univ.* (周铁安, 张文柳, 聂利华, 姚守拙. 高等学校化学学报), **1990**, 11(2): 176-179.
- [12] Zhou T A, Nie L H, Yao S Z. *Dynamic Studies of Blood Coagulation by Piezoelectric Resonance. Proceedings of Beijing Satellite Symposium of the Eighth International Congress of Biorheology*. Zhuang F Y, Liao F L, Shi G Y, He L, eds. Peking University Press, **1992**: 308-311.
- [13] Si S H, Zhou T A, Liu D Z, Nie L H, Yao S Z. *Anal. Lett.*, **1994**, 27(11): 2027-2037.
- [14] Zhou T A, Marx K A, Warren M, Schulze H, Braunhut S J. *Biotechnol. Prog.*, **2000**, 16: 268-277.
- [15] Marx K A, Zhou T, Montrone A, Schulze H, Braunhut S J. *Biosens. Bioelectron.*, **2001**, 16(9/12): 773-782.
- [16] Marx K A, Braunhut S J, Zhou T, Rugh A. Selective Whole Cell Quartz Crystal Microbalance Biosensors. U.S. Patent No.7, 566, 531, 2009.
- [17] Zhou T, Marx K A, Dewilde A H, McIntosh D, Braunhut S J. *Anal. Biochem.*, **2012**, 421(1): 164-171.
- [18] Deng J, Zhou T A, Hu J J, Chen Z X, Xie J. *Chin. Agric. Sci. Bull.* (邓君, 周铁安, 胡家金, 陈宗星, 谢杰. 中国农学通报), **2017**, 33(17): 19-23.
- [19] Chen Z X, Zhou T A, Hu J J, Duan H F. *Biosensors*, **2021**, 11(5): 136.
- [20] Tan L, Xie Q J, Jia X E, Guo M L, Zhang Y Y, Tang H, Yao S Z. *Biosens. Bioelectron.*, **2009**, 24(6): 1603-1609.
- [21] Zhou T A, Huang J Y, Xiong L, Shen H B, Huang F S, Li W W, Peng H G, Su Z H, Pan W S, Zhao J, Zhou Z, Bao D Q, Deng L H. *Adv. Mater. Interfaces*, **2023**, 10(15): 2300048.
- [22] Zhou T A, Zhou Z, Xiong L, Bao D Q, Huang F S, Wu K B, Zhao J, Huang J Y, Hong B. (周铁安, 周珍, 熊伦, 鲍冬芹, 黄复深, 邬克彬, 赵佳, 黄靓园, 洪彬). 一种细胞牵引力的实时与定量测定方法, ZL201610755868.1; Zhou T A, Xiong L, Zhou Z, Huang J Y, Shen H, Bao D Q, Huang F S, Wu K, Pan W, Zhao J, Hong B. Real-Time and Quantitative Method for Measuring Cell Traction Force, JP 2019-512816, US16336883, AU2017319889, EP3505925.
- [23] Shen H B, Zhou T A, Hu J J. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2017**, 409: 6463-6473.
- [24] Li W W, Li J, Wu Y Y, Zhou T A. *Biosensors*, **2023**, 13(3): 356.
- [25] Tang D, Zhou T A, Pan W S, Wang S M, Ahmad Hassan M. *Biosensors*, **2025**, 15(6): 334.