



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110132947 B

(45) 授权公告日 2021.09.28

(21) 申请号 201910516413.8

G01N 27/30 (2006.01)

(22) 申请日 2019.06.14

(56) 对比文件

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 110132947 A

CN 101957322 A, 2011.01.26

CN 105806912 A, 2016.07.27

CN 1926424 A, 2007.03.07

(43) 申请公布日 2019.08.16

CN 108645905 A, 2018.10.12

US 2018246057 A1, 2018.08.30

(73) 专利权人 福州大学  
地址 350108 福建省福州市闽侯县上街镇  
福州大学城学院路2号福州大学新区

朱霞. “应用电致化学发光分子探针技术对微小原甲藻的检测”. 《中国优秀硕士学位论文全文数据库 工程科技I辑》. 2012, 第B027-661页.

(72) 发明人 林振宇 黄艳玲 郭隆华 邱彬

黄玉华. “锥形玻璃纳米孔中溶液浓度和 pH 值对整流的影响”. 《东南大学学报》. 2014, 第44卷 (第3期),

(74) 专利代理机构 福州元创专利商标代理有限公司 35100

代理人 林文弘 蔡学俊

审查员 黄景瑞

(51) Int. Cl.

G01N 21/76 (2006.01)

G01N 27/327 (2006.01)

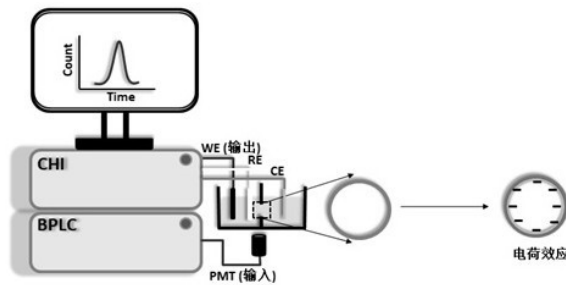
权利要求书1页 说明书2页 附图1页

(54) 发明名称

一种锥形微米孔表面电荷密度调控电致化学发光信号的方法

(57) 摘要

本发明公开了一种锥形微米孔表面电荷密度调控电致化学发光检测的方法。该方法以微米孔为分析元件,以Ru(phen)<sub>3</sub><sup>2+</sup>/TPrA研究模型,研究锥形微米孔表面电荷密度调控体系电流大小进而调控Ru(phen)<sub>3</sub><sup>2+</sup>/TPrA氧化反应的法拉第电流传递效率,产生不同的电致化学发光信号。首次实现锥形微米孔表面电荷密度调控电致化学发光信号,该实验装置结构简单,成本低廉,使用方便,拓宽了电致化学发光的应用范围,具有广阔的应用前景。



1. 一种锥形微米孔表面电荷密度调控电致化学发光信号的方法,包括以下步骤:

(1) 拉制玻璃毛细管得到锥形微米管,并用断针仪抛光锥形微米管的尖端,然后在锥形微米管内表面组装带不同负电荷密度的功能基团,得到处理后的锥形微米管;

(2) 往步骤(1)处理后的锥形微米管通道内注入支持电解质,然后将工作电极,对电极,参比电极及锥形微米管浸入电致化学发光检测液中,形成微电池;

(3) 对步骤(2)的微电池施加电压,微电池的工作电极表面发生氧化反应,产生发光信号,并用微弱发光仪收集信号,分析锥形微米管的电荷密度与电致化学发光信号的关系;

步骤(2)所述的电致化学发光检测液由2 mL Tris-HCl缓冲液,10  $\mu\text{L}$ 的10 mM Ru(phen)<sub>3</sub><sup>2+</sup>、10  $\mu\text{L}$ 的99% TPrA组成;步骤(3)所述的施加于微电池的电位区间为0.4~1.6 V;步骤(3)所述的施加微电池的扫速为0.1 V/s;步骤(3)所述的微弱发光仪光电倍增管电压为 -800 V;步骤(1)所述的锥形微米管表面组装带不同负电荷密度的功能基团为羧基、适配体、目标物中的一种或几种。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:步骤(2)所述的支持电解质为10  $\mu\text{L}$  pH值为8.0的Tris-HCl缓冲液,其由20mM Tris和0.6M KCl组成。

3. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:步骤(2)所述的工作电极为玻碳材质,参比电极为Ag/AgCl,对电极为铂丝。

## 一种锥形微米孔表面电荷密度调控电致化学发光信号的方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于分析化学领域,具体涉及一种锥形微米孔表面电荷密度调控电致化学发光信号的方法。

### 背景技术

[0002] 电致化学发光是在含有发光指示剂的体系中施加一定的电压或通过一定的电流产生发光信号,通过测量发光光谱和强度,实现目标物的定性和定量分析。目前电致化学发光传感器主要通过目标物调控工作电极上发光指示剂的含量、发光指示剂的发光效率、电子在电极界面上的传递效率等实现目标物的定量分析。微纳米通道分析技术以微纳米通道为分析元件,在外加电压驱动下微纳米孔表面电荷密度影响通道电流的大小,通过分析通道电流的变化实现目标物的定量分析。然而,目前通过微纳米孔电荷密度调控电流大小进而调控体系电致化学发光信号的传感器鲜见报道。微纳米分析这一前沿技术与高灵敏的电致化学发光技术联用必将拓宽电致化学发光传感器的应用范围。

### 发明内容

[0003] 本发明的目的在于提供一种锥形微米孔表面电荷密度调控电致化学发光信号的方法。

[0004] 为实现上述目的,该方法,包括如下步骤:

[0005] (1)拉制玻璃毛细管得到锥形微米管,并用断针仪抛光锥形微米管尖端至 $3.2\ \mu\text{m}$ ,并在其内表面组装带不同负电荷密度的功能基团;往所述的微米管通道内注入支持电解质并插入对电极,将工作电极,对电极,参比电极浸入电致化学发光检测液中,形成微电池;所述的锥形微米管表面组装带不同负电荷密度的功能基团为羧基、适配体、目标物中的一种或几种。

[0006] (2)往所述微电池施加电压,微电池的工作电极表面发生氧化反应,产生发光信号,并用微弱发光仪收集信号,分析锥形微米孔表面电荷密度对电致化学发光信号的影响。

[0007] (3)上述方法所述的步骤(1)中,所述的毛细管内径为 $0.86\ \text{mm}$ ,外径为 $1.5\ \text{mm}$ ;带不同负电荷密度的功能基团依次为羧基,适配体和目标物;所述三电极体系,工作电极为玻碳材质,参比电极为 $\text{Ag}/\text{AgCl}$ ,对电极为铂丝;所述支持电解质为 $10\ \mu\text{L}$  Tris-HCl缓冲液( $20\ \text{mM}$  Tris,  $0.6\ \text{M}$  KCl,  $\text{pH}=8.0$ );所述电致化学发光检测液由 $2\ \text{mL}$  Tris-HCl缓冲液, $10\ \mu\text{L}$   $\text{Ru}(\text{phen})_3^{2+}$  (浓度为 $10\ \text{mM}$ )、 $10\ \mu\text{L}$ 的 99% TPrA组成。

[0008] (4)上述方法所述的步骤(2)中,所述施加于微电池的电位区间为 $0.4\sim 1.6\ \text{V}$ ;产生电致化学发光电位约为 $0.9\ \text{V}$ ;所述施加于微电池的扫速为 $0.1\ \text{V/s}$ ;所述微弱发光仪光电倍增管电压为 $-800\ \text{V}$ 。

[0009] (5)本发明以微米管为分析元件,以 $\text{Ru}(\text{phen})_3^{2+}/\text{TPrA}$ 为研究模型,对体系施加电压,微米管表面电荷密度调控体系电流大小进而调控 $\text{Ru}(\text{phen})_3^{2+}/\text{TPrA}$ 在工作电极表面氧化反应的法拉第电流传递效率。该技术首次实现锥形微米孔表面电荷密度调控电致化学发

光信号,实验装置简单,成本低廉,操作方便,具有广阔的应用前景。

### 附图说明

[0010] 图1微米孔表面电荷密度调控电致化学发光信号实验装置示意图;

[0011] 图2不同电荷密度微米管 (A) I-V曲线, (B) 整流比柱状图, (C) ECL光谱图,其中 (a) 羧基/微米管, (b) 适配体/羧基/微米管, (c) OTA/适配体/羧基/微米管。

### 具体实施方式

[0012] 以下结合附图和具体实施方式对本发明作进一步详细的说明。

[0013] 实施例1

[0014] (1) 将拉制玻璃毛细管得到锥形微米管,并用断针仪抛光锥形微米管尖端至3.2  $\mu$ m,再将其浸入体积分数为10%的3-氨丙基三乙氧基硅烷(乙醇为溶剂)溶液中,60 $^{\circ}$ C真空反应1.5 h,先用乙醇冲洗,再真空烘箱中烘干,得到氨基功能化的微米管;然后将氨基功能化的微米管浸入浓度为0.01 g/mL的丁二酸酐(二甲亚砜为溶剂)溶液中,60 $^{\circ}$ C真空反应1.5 h,用乙醇冲洗,在真空烘箱中烘干,得到羧基功能化的微米管,即为羧基/微米管;

[0015] (2) 将羧基功能化微米管浸入10  $\mu$ L, pH=7.0的PBS缓冲液(2.5  $\mu$ M OTA适配体,1 mg/mL EDC,2mg/mL NHS),在37 $^{\circ}$ C下反应12 h,得到OTA适配体功能化微米管,即为适配体/羧基/微米管;

[0016] (3) 将适配体功能化微米管浸入10  $\mu$ L Tris-HCl缓冲液含有2 ng/mL OTA,在37 $^{\circ}$ C反应2 h得到OTA功能化微米管,即为OTA/适配体/羧基/微米管;

[0017] (4) 往步骤(1)-(3)的不同微米管中注入10  $\mu$ L Tris-HCl缓冲液(20 mM Tris, 0.6 M KCl, pH=8.0),并插入铂丝为对电极,玻碳电极为工作电极,Ag/AgCl电极为参比电极,将三电极浸入含有2 mL Tris-HCl缓冲液,10  $\mu$ L的10 mM Ru(phen) $_3^{2+}$ 、10  $\mu$ L的99% TPrA, pH=8.0的电化学检测液中,实验装置如图1所示。对体系施加电压0.4~1.6 V,扫速为0.1 V/s,光电倍增管电压为-800 V,即可检测微米孔表面电荷密度对电致化学发光的影响。

[0018] 随着带不同负电荷密度的功能基团(羧基、适配体及目标物)的组装,微米孔电荷密度的逐渐增加,微米管I-V曲线偏离欧姆定律越发明显(图2A),并定义整流比为电压绝对值相同时,负电流大小与正电流大小的比值。由整流比图可知,羧基化微米管整流比约为8,随着适配体的组装整流比值增加至25,目标物OTA的组装整流比进一步增加至36,证明了各带不同负电荷功能基团在微米孔表面的成功组装。随着电荷密度的增加,Ru(phen) $_3^{2+}$ /TPrA氧化反应的法拉第电流传递效率逐步受限,电致化学发光强度由1180降至560(图2C),说明微米孔表面电荷密度可调控电流大小进而调控电致化学发光强度。

[0019] 以上所述仅为本发明的较佳实施例,凡依本发明申请专利范围所做的均等变化与修饰,皆应属本发明的涵盖范围。

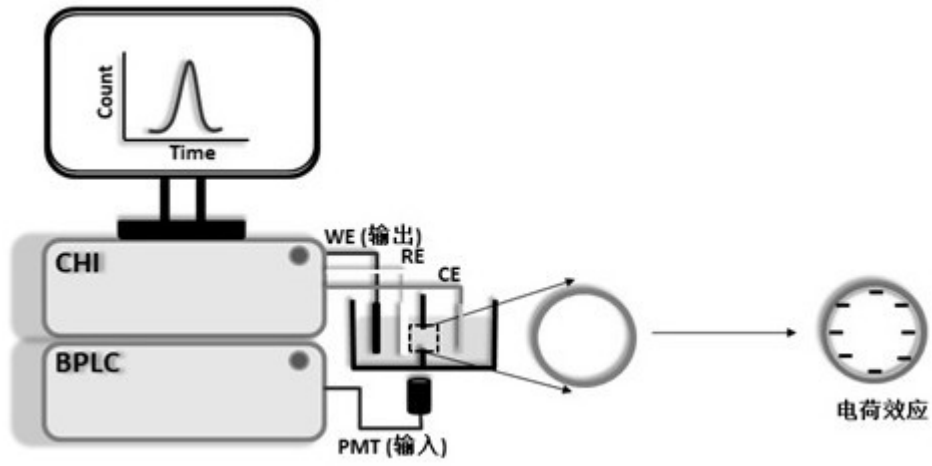


图1

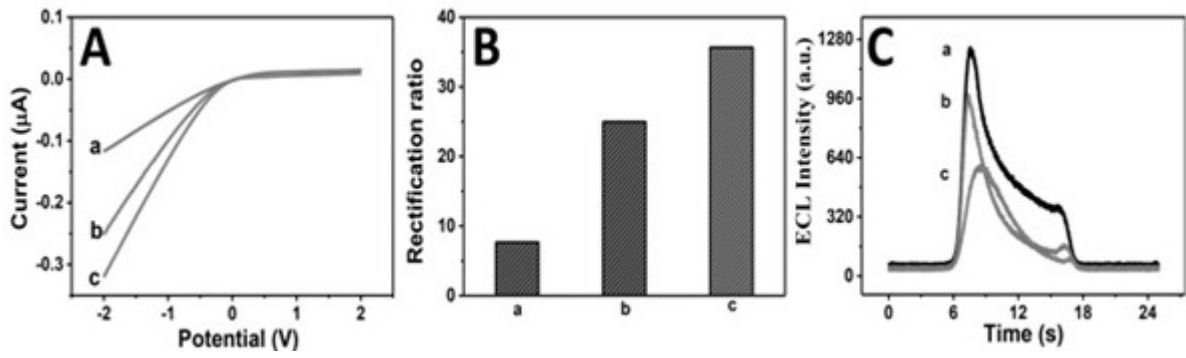


图2