

茛菪衍生物功能化空心纳米金 电致化学发光铅离子传感器的研究

李雪 陈安懿 卓颖* 袁若*

(三峡库区生态环境与生物资源国家重点实验室培育基地,西南大学化学与化工学院,重庆 400715)

摘要 基于目标物循环放大策略及茛菪衍生物功能化纳米探针,构建了超灵敏的电致化学发光(ECL)传感器用于 Pb^{2+} 检测。将发卡型 DNA 底物链通过分子自组装固载于沉积纳米金的玻碳电极表面,当目标物 Pb^{2+} 及脱氧核酶(DNAzyme)存在时,底物链被剪切,在电极上留下单链 DNA,同时释放出的 Pb^{2+} 和 DNAzyme 可进入下一个循环,继续对未剪切的底物链进行剪切。剪切得到的单链 DNA 可与辅助探针 H1 的一端杂交,H1 的另一端可与标记有茛菪衍生物功能化空心纳米金的发夹探针 H2 杂交。随着 Pb^{2+} 浓度的增加,更多的信号探针被捕获,使得电极上产生的 ECL 信号逐渐增强。在 Pb^{2+} 不存在时,底物链不能被剪切,信号探针不能被捕获,ECL 信号低。本传感器在 $1 \times 10^{-12} \sim 1 \times 10^{-6}$ mol/L 的浓度范围内对 Pb^{2+} 有良好的线性响应,检出限为 1×10^{-12} mol/L ($S/N=3$)。传感器对常见的金属离子表现出良好的选择性。

关键词 电致化学发光; Pb^{2+} ; $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}/\text{O}_2$; 茛菪衍生物; 空心纳米金

1 引言

Pb^{2+} 是一种广泛分布在环境及水体中的重金属污染物,摄入过量 Pb^{2+} 对人体尤其是儿童的神经系统、免疫系统造成损伤,导致智力发育延迟^[1,2]。目前,在国家标准方法^[3,4]的基础上,已发展了许多新的 Pb^{2+} 检测方法,包括流动注射火焰炉原子吸收光谱法^[5,6]、电感耦合等离子体发射法^[7,8]、荧光光谱法^[9]、表面增强拉曼散射光谱法^[10]等。然而,这些检测方法通常需要精密的仪器、熟练的技术人员,不适于推广使用。因此,发展低成本、简单灵敏的 Pb^{2+} 检测方法具有重要实际意义。

电致化学发光(ECL)是一种背景信号低、灵敏度高、可控性强、选择性好、动力学响应范围宽、重现性好、检出限低的分析检测技术。近年来,ECL 技术在环境分析领域受到广泛关注。例如,Huang 等^[11]基于“T-Hg²⁺-T”的特异性结合和四氟硼酸二(2,2'-联吡啶)(二吡啶并吩嗪)合钌(II) [Ru(bpy)₂(dppz)](BF₄)₂ (bpy=bipyridine, dppz=dipyrido [3,2-a:2',3'-c] phenazine) 嵌入 DNA 骨架,构建了一个简单灵敏的检测 Hg²⁺ 的 ECL 生物传感器; Qiu 等^[12]基于点击反应“铜催化叠氮-炔丙基反应”,通过炔丙基功能化的钌掺杂的二氧化硅纳米颗粒与修饰在金电极上的叠氮化合物的反应,设计了一个检测 Cu²⁺ 的高灵敏高选择性的 ECL 传感器。现有的 ECL 发光体系^[13-15]主要有 Ru(bpy)₃²⁺ 及其衍生物、Luminol 及其衍生物、量子点和 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}/\text{O}_2$ 体系。其中 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}/\text{O}_2$ 发光体系是近年来发展起来新的发光体系,具有反应试剂价廉易得的优点,已被用于检测凝血酶^[16]、促甲状腺激素(TSH)^[17]等生物大分子。但是基于 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}/\text{O}_2$ 的 ECL 体系检测 Pb^{2+} 的方法还未见报道。

研究发现茛菪衍生物功能化空心纳米金能极大增强 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}/\text{O}_2$ 体系的 ECL 信号^[18]。本研究利用以 Pb^{2+} 为辅酶因子的脱氧核酶实现目标物循环,将茛菪衍生物功能化空心纳米金标记在发夹型探针 H2 上作为信号探针,构建了一种超灵敏的 ECL 传感器用于 Pb^{2+} 的检测。首先在玻碳电极表面沉积纳米金,固定含有 Pb^{2+} 特异性识别位点的发夹型 DNA 底物链 H0。在 Pb^{2+} 存在时,H0 被剪切,在电极上留下单链 DNA 片段,同时目标物被释放,对余下底物链进行循环剪切。剪切后留在电极上的单链 DNA 片段能够打开发夹型辅助探针 H1,进而结合信号探针 H2-HGNPs-PTCA-L-Cys。 Pb^{2+} 浓度越大,传感器表面的捕获信号探针越多,在 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 底液中的 ECL 信号越强。

2015-08-18 收稿; 2015-09-20 接受

* E-mail: yuanruo@swu.edu.cn

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

MPI-E 型电致化学发光分析系统(西安瑞迈分析仪器有限公司); CHI660C 电化学工作站(上海辰华仪器有限公司); S4800 扫描电子显微镜(日本日立有限公司)。电致化学发光采用三电极系统: 玻碳电极(GCE, $\Phi=4.0$ mm) 及其修饰电极作为工作电极, 铂丝为对电极, Ag/AgCl(饱和 KCl) 参比电极。

花四甲酸二酐(3,4,9,10-perylenete-tetracarboxylic dianhydride, PTCDA, 纯度 98%, 辽宁联港染料化工有限公司); L-半胱氨酸 L-Cys, 纯度 99%) 6-巯基己醇(MCH, 纯度 97%, 购于北京百灵威科技有限公司); 氯金酸($\text{HAuCl}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 纯度 99.9%) 为沈阳有色金属研究院试剂; N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-2-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC, 纯度 99%) N-羟基琥珀酰亚胺(NHS, 纯度 98%) 购于上海共价化学科技有限公司; $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (纯度 99%) 三羟甲基氨基甲烷(Tris, 纯度 99.5%) 柠檬酸钠(纯度 99%), NaBH_4 (纯度 97%) 六水合氯化钴($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 纯度 99%) $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (纯度 98%) NaOH (纯度 98%, 购于成都科龙化工。实验用水均为 Milli-Q 超纯水(电阻率 18.2 M Ω cm)。核酸序列由上海生工生物工程公司合成, 如表 1 所示。

表 1 所用的核酸序列信息

Table 1 Sequence of the nucleic acids used in this study

| 名称 Name | 序列 Sequences* (5'-3') |
|------------------------------------|---|
| 底物链 H0 Substrate hairpin H0 | TAT GTC TGA <u>CTC ACT AT rA</u> <u>GGA AGA GAT GAC ATA</u> -C ₆ NH ₂ |
| 辅助探针 H1 Assistant hairpin probe H1 | <u>TAT GTC ATC TCT TCC</u> <u>GAT GAC ATA ACT TTG TT</u> -C ₆ NH ₂ |
| 信号探针 H2 Signal probeH2 | H ₂ NC ₆ -TTG GAA GAG ATG ACA TAC AAA GTT ATG TCA TC |
| 脱氧核酶 DNAzyme | CAT CTC TTC TCC GAG CCG GTC GAA ATA <i>GTG AGT CAG ACA TA</i> |

* : rA 表示腺嘌呤核苷; H0 和 H1 的双下划线部分碱基互补; H1 和 H2 的单下划线部分碱基互补; 脱氧核酶(DNAzyme) 的斜体部分与 H0 的斜体部分按顺序互补。

* : The rA stands for adenoside; the double underlined portions of H0 and H1 are complementary; the underlined portions in H1 and H2 are complementary sequences; the italic portions of H0 and DNAzyme are complementary sequences.

2.2 实验方法

2.2.1 空心纳米金(HGNPs)的制备 参考文献[19]方法制备空心纳米金。在 N₂ 氛围中, 持续搅拌, 以 1 min 的时间间隔依次将 200 μL 柠檬酸钠溶液(0.1 mol/L)、200 μL 新制的 NaBH_4 溶液(1 mol/L)、50 μL $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶液(0.5 mol/L), 加入到 50 mL 去离子水中。45 min 后, 以 2 min 的时间间隔加 3 次 1% HAuCl_4 溶液(每次 50 μL) 反应 15 min 移去开 N₂ 氛围直到溶液颜色由黑褐色变为深蓝色离心并用去离子水洗涤沉淀 3 次, 最终所得沉淀加 1 mL 去离子水分散 4 $^\circ\text{C}$ 保存备用。

2.2.2 花四甲酸和 L-半胱氨酸复合物(PTCA-L-Cys)的制备 称取花四甲酸二酐(PTCDA) 0.09 g, 加 6 mL NaOH 溶液(1 mol/L) 溶解, 用 HCl 调至 pH 4~6, 加入新制的 1 mL EDC-NHS 溶液(0.04 mol/L EDC, 0.01 mol/L NHS) 4 $^\circ\text{C}$ 下活化 100 min。再加入 L-Cys 0.1 g, 持续搅拌 36 h, 溶液离心, 用去离子水洗涤 3 次, 所得沉淀用 5 mL 去离子水分散 4 $^\circ\text{C}$ 保存备用。

2.2.3 信号探针(H2-HGNPs-PTCA-L-Cys)的制备 取 2 mL HGNPs 溶液, 搅拌下加入 PTCA-L-Cys 溶液 10 μL , 10 min 后加入 10 μL 核苷酸序列 H2, 在 4 $^\circ\text{C}$ 下搅拌过夜, 收集溶液 4 $^\circ\text{C}$ 保存备用。

2.2.4 ECL 传感器制备过程 首先将玻碳电极(GCE)用 Al_2O_3 粉抛光, 清洗后晾干。浸入 1% HAuCl_4 溶液, -0.2 V 恒电位沉积 30 s, 得到纳米金修饰电极(depAu/GCE)。滴加 10 μL 发夹型底物链 H0 (1×10^{-6} mol/L) 孵育过夜, 通过 H0 的 3' 端氨基与纳米金形成的 Au—N 键^[20] 作用固定 H0 链, 得到 H0 修饰电极(H0/depAu/GCE); 随后电极表面用 1×10^{-3} mol/L MCH 封闭 0.5 h, 得到 MCH 修饰电极(MCH/H0/depAu/GCE)。

3 结果与讨论

3.1 传感器的工作原理

在组装的传感器表面滴加上样品溶液(含 1×10^{-6} mol/L 脱氧核酶(DNAzyme) 和不同浓度的

$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 标准溶液的 pH 8.0 的 Tris-HCl (0.1 mol/L) 孵育 1 h。当 Pb^{2+} 存在时,以 Pb^{2+} 为辅酶因子的脱氧核酶(DNAzyme)可以对嵌入腺嘌呤核苷的发夹型底物链 H0 在 Pb^{2+} 特异性识别位点进行剪切^[10],从而在电极表面留下能打开辅助探针 H1 的单链 DNA 片段,并释放出目标物 Pb^{2+} 和脱氧核酶(DNAzyme),使之进入下一个剪切循环。经过 N 次循环剪切后,用超纯水清洗电极表面,再与辅助探针 H1 孵育 1 h,最后与信号探针 H2 孵育 1 h,然后在 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 溶液中进行 ECL 检测,ECL 信号大小与 Pb^{2+} 浓度成正比。传感器工作过程如图 1 所示。

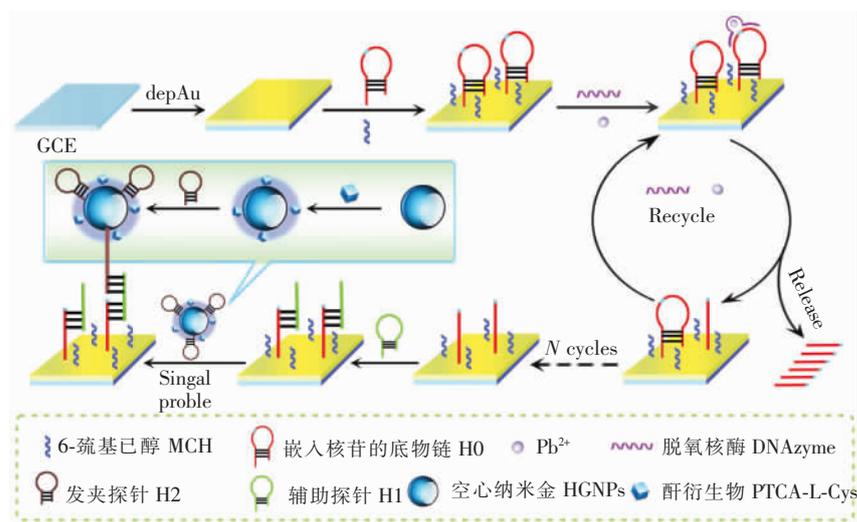


图 1 ECL 传感器示意图

Fig.1 Schematic representation of the ECL sensor

MCH: 6-Mercapto-1-hexanol; HGPNs: Hollow gold nanoparticles; PTCA: 3,4,9,10-perylenetetracarboxylic dianhydride.

3.2 HGPNs 和 HGPNs-PTCA-L-Cys 复合物的 SEM 表征

图 2A 为 HGPNs 的 SEM 图像,可以看到 HGPNs 的边缘比中心要亮很多,是表面光滑的空心球体;图 2B 为 HGPNs-PTCA-L-Cys 复合物的 SEM 图像,可以清楚的看到球体表面被一些小颗粒覆盖,不再是光滑的球面,表明空心纳米金的表面被 PTCA-L-Cys 功能化。

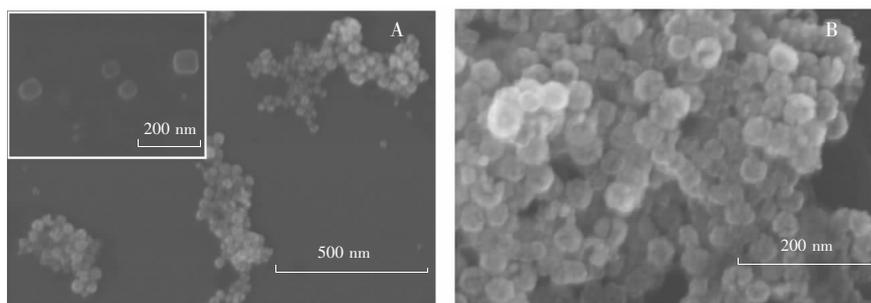


图 2 合成的纳米材料的扫描电镜图:(A) 空心纳米金 (B) PTCA-L-Cys 功能化的空心纳米金

Fig.2 Scanning electron microscope (SEM) images of the hollow gold nanoparticles (HGPNs) (A) and the PTCA-L-Cys composite functionalized hollow gold nanoparticles (HGPNs-PTCA-L-Cys) (B)

3.3 电极表面电活性面积表征

当玻碳电极表面修饰上物质时,其电活性面积会发生变化。电活性面积的计算的依据是 Randles-Sevcik 方程^[21]:

$$i_p = 2.69 \times 10^5 n^{3/2} D^{1/2} v^{1/2} A c \quad (1)$$

式中 i_p 为峰电流(A) n 为电子转移数 D 为扩散系数(在 25℃ 时为 $6.7 \pm 0.2 \times 10^{-6} \text{cm}^2/\text{s}$) v 为电位扫描速率(V/s) A 为电极表面积(cm^2) c 为被测物质的浓度(mol/L)。如图 3 所示,采用循环伏安法(CV)

对裸电极(图 3A)与沉积纳米金(图 3B)后的电极在 pH 为 7.4 的磷酸盐缓冲溶液(含有 5×10^{-3} mol/L 的 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 和 0.1 mol/L KCl),以 0.035 V/s 的梯度从 0.02~0.3 V/s 在 -0.2~0.6 V 的电位范围内进行实验。得到的还原峰电流值(i_p)与扫速的平方根($v^{1/2}$)在 0.02~0.3 V/s 的梯度扫速有良好的线性响应,裸电极和沉积纳米金的电极的线性方程分别为: $i_p = 0.0005055v^{1/2} + 0.000049$ 和 $i_p = 0.0007044v^{1/2} + 0.000025$ 。根据 Randles-Sevcik 方程计算,得到电活性面积分别为 14.5 mm^2 和 20.2 mm^2 ,由此表明,纳米金成功的修饰在了电极上。

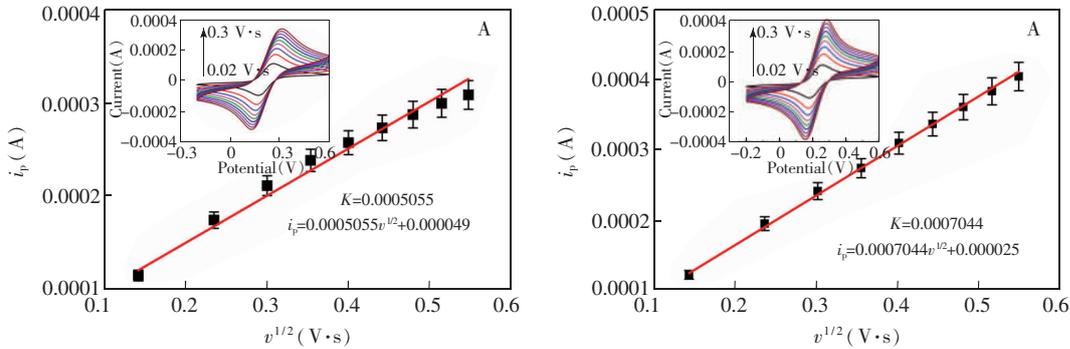


图 3 不同电极的电活性面积的测定: (A) 裸电极; (B) 沉积纳米金后电极

Fig.3 Determination of electro-active surface of (A) bare electrode and (B) gold nanoparticle-modified electrode

3.4 修饰电极的 CV 表征

ECL 传感器的构建过程采用循环伏安法(CV)表征。如图 4 所示,裸电极上显示了一对可逆的氧化还原峰(曲线 a)。在裸电极上沉积金(depAu)后,由于纳米金能够增加电极的有效表面积,峰电流增大(曲线 b);接着将发卡型底物链 H0 孵育在电极上,电极表面的负电荷增多,阻碍探针与电极间的电子转移,峰电流值下降(曲线 c);滴加 MCH 封闭非特异性结合位点,进一步阻碍电子传递,电流继续下降(曲线 d)。与含有脱氧核酶(DNAzyme)和不同浓度 Pb^{2+} 的样品溶液孵育后,发生剪切反应,使得发卡型底物链 H0 变为较短的 DNA 单链片段,电极表面的负电荷减少,对 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 的排斥作用减弱,探针与电极间的电子转移阻碍减小,电流略有增加(曲线 e);与 H1 孵育后,它的一端与电极上残留的单链 DNA 片段发生杂交,生成双链 DNA,电极表面物质质量增加,且负电荷增多,进一步阻碍探针与电极间的电子转移,峰电流降低(曲线 f)加入纳米信号探针 H2-HGNPs-PTCA-L-Cys 孵育后, H1 的另一端与有标记物的 H2 杂交生成 DNA 双链,更进一步阻碍电子传递,峰电流也随之降低(曲线 g)。

3.5 修饰电极的 ECL 表征

采用 ECL 对传感器的组装过程做了表征(图 5)。电致化学发光参数设置为:光电倍增管高压 800 V,扫描速率 0.2 V/s,扫描电位 -1.5~0 V,放大级数为 3 级。如图 5A 所示,裸玻碳电极在表现出明显的 ECL 信号(曲线 a);在电极表面沉积纳米金后,电极的有效比表面积增加,ECL 响应信号增强(曲线 b);修饰上 H0 后,由于负电性 DNA 阻碍电子传递,ECL 响应信号降低(曲线 c);接着用 MCH 封闭非特异性结合位点,进一步阻碍了电子的传递,使得 ECL 响应信号继续降低(曲线 d)。将上述电极

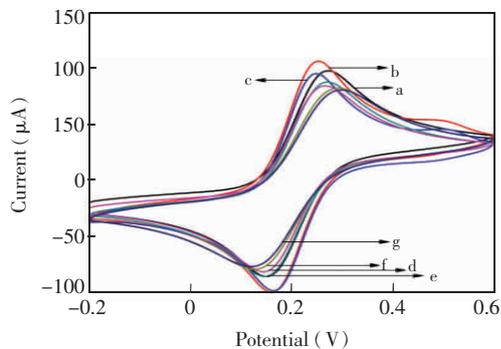


图 4 电极修饰过程的循环伏安表征

Fig.4 Typical cyclic voltammograms (CVs) of different electrodes in 5×10^{-3} mol/L $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ solution
a. GCE, b. depAu/GCE, c. H0/depAu/GCE, d. MCH/H0/depAu/GCE, e. DNAzyme + Pb^{2+} /MCH/H0/depAu/GCE, f. H1/DNAzyme+ Pb^{2+} /MCH/H0/depAu/GCE, g. H2-HGNPs-PTCA-L-Cys/H1/DNAzyme+ Pb^{2+} /MCH/H0/depAu/GCE. Scan range is from -0.2 to 0.6 V. Scan rate is 0.05 V/s.

与 DNAzyme 和 Pb^{2+} 孵育后, 发卡型底物链被剪切, 在电极上留下单链 DNA 片段, ECL 信号强度略有增加(曲线 e); 加入 H1 与 与电极上残留的单链 DNA 片段发生杂交, 生成双链 DNA 进一步阻碍电子传递, ECL 响应信号降低(曲线 f)。加入信号探针 H2-HGNPs-PTCA-L-Cys 为最佳, 由于花四甲酸复合物功能化的空心纳米金能增强过硫酸根体系的 ECL 信号, ECL 信号极大增加(曲线 g)。图 5B 对比了在 H2 上标记空心纳米金和 PTCA-L-Cys 功能化空心纳米金产生的 ECL 信号。当信号探针 H2 上标记了 HGNPs 时, ECL 信号明显增强; 而标记 PTCA-L-Cys-HGNPs 后, ECL 信号显著增强, 从而提高了 Pb^{2+} 检测的灵敏度。

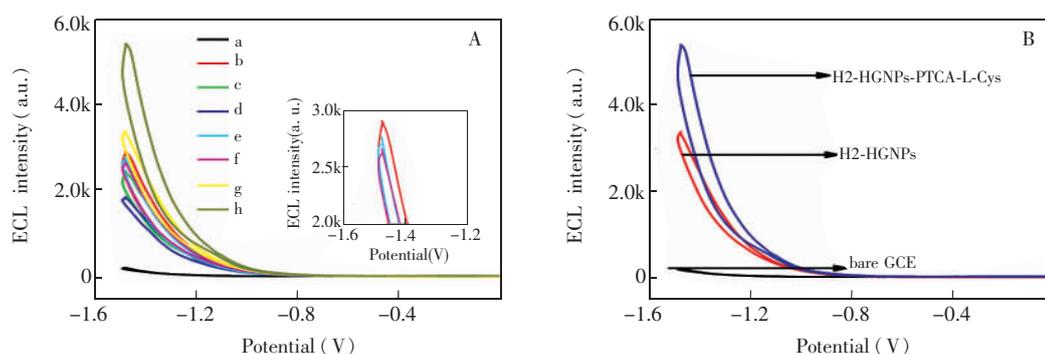


图 5 不同修饰电极的 ECL 表征。0.1 mol/L PBS (pH 7.4, 含 0.1 mol/L $K_2S_2O_8$) 底物溶液, 电位范围为 -1.5 ~ 0 V 时。A 为电极的修饰过程表征: a. GCE, b. depAu/GCE, c. H0/depAu/GCE, d. MCH/H0/depAu/GCE, e. DNAzyme + Pb^{2+} /MCH/H0/depAu/GCE, f. H1/DNAzyme + Pb^{2+} /MCH/H0/depAu/GCE, g. H2-HGNPs/H1/DNAzyme + Pb^{2+} /MCH/H0/depAu/GCE, h. H2-HGNPs-PTCA-L-Cys/H1/DNAzyme + Pb^{2+} /MCH/H0/depAu/GCE; B 为不同信号标记物的 ECL 信号对比。

Fig.5 ECL characterization of different electrodes in 0.1 mol/L $K_2S_2O_8$. (A) modification process of electrode. a. GCE, b. depAu/GCE, c. H0/depAu/GCE, d. MCH/H0/depAu/GCE, e. DNAzyme + Pb^{2+} /MCH/H0/depAu/GCE, f. H1/DNAzyme + Pb^{2+} /MCH/H0/depAu/GCE, g. H2-HGNPs-PTCA-L-Cys/H1/DNAzyme + Pb^{2+} /MCH/H0/depAu/GCE; (B) comparison of ECL signals with different signal label. Potential scan range is from -1.5 V to 0 V.

3.6 ECL 传感器的响应性能

配制不同浓度的 Pb^{2+} 标准溶液, 在其它条件不变的情况下进行 ECL 检测。实验结果如图 6 所示, 以 ECL 强度变化值 ΔI 对 Pb^{2+} 浓度的对数值 $\lg c$ 作图, 可见 Pb^{2+} 浓度在 $10^{-12} \sim 10^{-6}$ mol/L 范围内与 ECL 响应信号呈现良好的线性关系, 线性方程为 $\Delta I = 451.5 \lg c / (\text{mol/L}) + 6861$ ($r = 0.9908$), 检出限为 10^{-12} mol/L ($S/N = 3$)。将本方法和其它的 Pb^{2+} 检测方法进行了对比(表 2), 可以看出, 本实验中设计的 Pb^{2+} ECL 传感器具有较宽的检测范围, 可用于检测微量 Pb^{2+} 。

表 2 不同 Pb^{2+} 检测方法的比较

Table 2 Comparison of different Pb^{2+} detection methods

| 实验方法 Experiment method | 线性范围 Linearity range (mol/L) | 参考文献 Reference |
|--|---|-------------------|
| 流动注射火焰炉原子吸收光谱法 Flow-injection thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry, FF-AAS | $1.2 \times 10^{-8} \sim 3.1 \times 10^{-7}$ | [6] |
| 电感耦合等离子体发射光谱法 Inductively coupled plasma optical emission spectrometry, ICP OES | $2.4 \times 10^{-7} \sim 2.4 \times 10^{-6}$ | [7] |
| 荧光光谱法 Fluorescent spectrometry, FL | $3.3 \times 10^{-10} \sim 8.0 \times 10^{-9}$ | [9] |
| 表面增强拉曼散射法 Surface-Enhanced Raman Scattering, SERS | $10^{-9} \sim 10^{-5}$ | [10] |
| 电致化学发光 Electrochemiluminescence, ECL | $10^{-12} \sim 10^{-6}$ | This work |

3.7 ECL 传感器的稳定性

对不同浓度的 Pb^{2+} 标准溶液进行 ECL 检测, 如图 7 所示, 从 a 到 g 的曲线依次代表浓度从

$1 \times 10^{-12} \sim 1 \times 10^{-6}$ mol/L 的 Pb^{2+} 标准溶液, 每个浓度下选取连续 3 圈扫描得到的 ECL 信号强度基本没有变化, 说明我们制备的 ECL 传感器具有较好的稳定性。

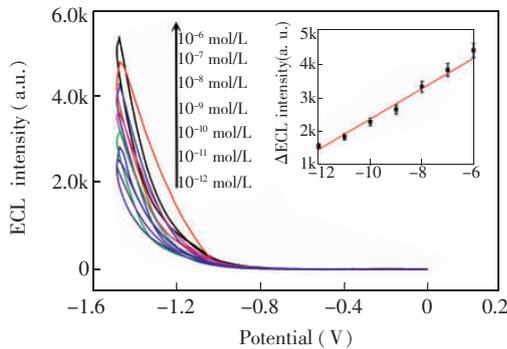


图 6 传感器在不同铅离子浓度下的 ECL 信号(从下向上: 10^{-12} mol/L, 10^{-11} mol/L, 10^{-10} mol/L, 10^{-9} mol/L, 10^{-8} mol/L, 10^{-7} mol/L, 10^{-6} mol/L), 插图 为线性关系曲线。

Fig.6 ECL signal of sensors in different concentrations of lead ions (from bottom to up: 10^{-12} mol/L, 10^{-11} mol/L, 10^{-10} mol/L, 10^{-9} mol/L, 10^{-8} mol/L, 10^{-7} mol/L, 10^{-6} mol/L). Inset shows the linear calibration curve.

3.8 ECL 传感器的选择性

如图 8 所示, 在各干扰离子浓度均为 10^{-4} mol/L 时, 10^{-6} mol/L Pb^{2+} 的 ECL 响应信号远高于其它金属离子, 表明所构建的传感器具有良好的选择性。

4 结论

本研究通过 Pb^{2+} 引发脱氧核酶剪切底物核酸链, 实现目标物循环, 并基于花酞衍生物功能化空心纳米金信号探针, 建立了一种 Pb^{2+} ECL 传感器。该传感器具有价廉、灵敏度高、选择性高的特点, 其检测线性范围为 $1 \times 10^{-12} \sim 1 \times 10^{-6}$ mol/L, 而且一些常见的金属离子对此 Pb^{2+} 传感器不会造成干扰, 可望用于实际样品中微量 Pb^{2+} 的检测。

References

- GAO Xiao-Xia, JIA Yu-Hua, YANG Jin-Feng, LI Ji-Shan, YANG Rong-Hua. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2013**, 41(5): 670-674
高晓霞, 贾玉华, 杨金凤, 李继山, 杨荣华. 分析化学, **2013**, 41(5): 670-674
- He Q W, Mille E W, Wong A P, Chang C J. *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128: 9316-9317
- GB 5009.12—2010. *Determination of Lead in Foods*. National Food Safety Standard. National Standards of the People's Republic of China
食品中铅的测定. 食品安全国家标准. 中华人民共和国国家标准. GB 5009.12-2010
- GB 5749-2006. *Standards of Drinking Water Quality*. National Standards of the People's Republic of China
生活饮用水卫生标准. 中华人民共和国国家标准. GB 5749-2006
- HE Xiao-Min, WANG Min, WANG Xiao-Dong, XUE Ai-Fang, LI Sheng-Qing, CHEN Hao. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, **2007**, 27(11): 2353-2356

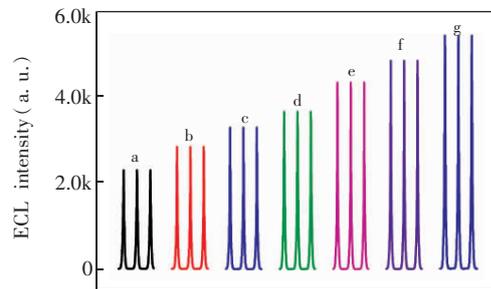


图 7 不同 Pb^{2+} 浓度下 ECL 信号稳定性

Fig.7 ECL signal stability of sensor in different concentration of Pb^{2+}

Pb^{2+} solution concentration were a. 1.0×10^{-12} mol/L, b. 1.0×10^{-11} mol/L, c. 1.0×10^{-10} mol/L, d. 1.0×10^{-9} mol/L, e. 1.0×10^{-8} mol/L, f. 1.0×10^{-7} mol/L, g. 1.0×10^{-6} mol/L.

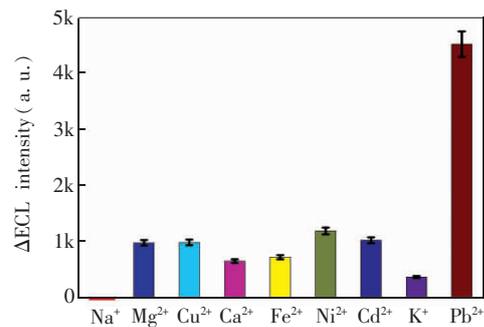


图 8 选择性实验。 Pb^{2+} 浓度为 10^{-6} mol/L, 干扰离子浓度均为 10^{-4} mol/L

Fig.8 Selectivity of ECL sensor. Concentration of Pb^{2+} is 10^{-6} mol/L. Each concentration of interfering ions is 10^{-4} mol/L

- 贺小敏, 王 敏, 王小东, 薛爱芳, 李胜清, 陈 浩. 光谱学与光谱分析, **2007**, 27(11): 2353–2356
- 6 Tarley C R T, Andrade F N, de Oliveira F M, Corazza M Z, de Azevedo L F M, Segatelli M G. *Anal. Chim. Acta*, **2011**, 703: 145–151
- 7 dos Santos É J, dos Santos A B, Herrmann A B, Kulik S, Baika L M, Tormen L, Curtius A J. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, **2013**, 56: 127–134
- 8 ZHAO Ai-hong WANG Jian-hua SONG Zhi-gang FAN Guang-hua LIU Chun-Xiao. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, **2006**, 26(11): 2137–2139
- 赵爱红 王建华 宋志刚 樊广华 刘春晓. 光谱学与光谱分析, **2006**, 26(11): 2137–2139
- 9 Tang M L, Wen G Q, Luo Y H, Kang C Y, Liang A H, Jiang Z L. *Luminescence*. **2015**, 30: 296–302
- 10 Fu C C, Xu W Q, Wang H L, Ding H, Liang L J, Cong M, Xu S P. *Anal. Chem.*, **2014**, 86(23): 11494–11497
- 11 Huang R F, Liu H X, Gai Q Q, Liu G J, Wei Z. *Biosens. Bioelectron.*, **2015**, 71: 194–199
- 12 Qiu S Y, Gao S, Zhu X, Lin Z Y, Qin B, Chen G N. *Analyst*, **2011**, 136: 1580–1585
- 13 Liu Z Y, Qi W J, Xu G B. *Chem. Soc. Rev.*, **2015**, 44: 3117–3142
- 14 Cao Y L, Yuan R, Chai Y Q, Mao L, Niu H, Liu H J, Zhuo Y. *Biosens. Bioelectron.*, **2012**, 31: 305–309
- 15 Yao W, Wang L, Wang H Y, Zhang X L. *Electrochim. Acta*, **2008**, 54: 733–737
- 16 Ma M N, Zhang X, Zhuo Y, Chai Y Q, Yuan R. *Nanoscale*, **2015**, 7: 2085–2092
- 17 Liu Y T, Zhang Q Q, Wang H J, Yuan Y L, Chai Y Q, Yuan R. *Biosens. Bioelectron.*, **2015**, 71: 164–170
- 18 Zhuo Y, Zhao M, Qiu W J, Gui G F, Chai Y Q, Yuan R. *J. Electroanal. Chem.*, **2013**, 709: 106–110
- 19 Gui G F, Zhuo Y, Chai Y Q, Liao N, Zhao M, Han J, Zhu Q, Yuan R, Xiang Y. *Biosens. Bioelectron.*, **2013**, 47: 524–529
- 20 Swearingen C B, Wemette D P, Cropek D M, Lu Y, Sweedler J V, Bohn P W. *Anal. Chem.*, **2005**, 77(2): 442–448
- 21 Li Q, Zheng J Y, Yan Y L, Zhao Y S, Yao J N. *Adv. Mater.*, **2012**, 24: 4745–4749

Electrochemiluminescence Biosensor Based on DNAzyme and 3,4,9,10-Perylenetetracarboxylic Dianhydride Derivative Functionalized Hollow Gold Nanoparticles for Detection of Lead Ions

LI Xue, CHEN An-Yi, ZHUO Ying*, YUAN Ruo*

(State Key Laboratory Breeding Base of Eco-Environments and Bio-Resources of the Three Gorges Reservoir Region, College of Chemistry and Chemical Engineering, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract Based on target cycling amplification and 3,4,9,10-perylenetetracarboxylic dianhydride derivative functionalized single probe, an ultrasensitive electrochemiluminescence (ECL) sensor was designed for the detection of lead ions. The hairpin substrate DNA was immobilized on the electrode through molecular self-assembly. In the presence of Pb²⁺ and DNAzyme, the substrate was cleaved with single strand DNA fragments left on the electrode surface. Meanwhile, the target and DNAzyme was released for another cleaving circularly. As a result, the single strand DNA fragments hybridized with the assist hairpin probe H1, which led to the fabrication of H2 labeled with the 3,4,9,10-perylenetetracarboxylic dianhydride derivative functionalized hollow gold nanoparticles. With the increasing concentration of Pb²⁺, much more signal probe was captured and the ECL signal of the biosensor in peroxydisulfate (S₂O₈²⁻) solution would increase. An ECL assay demonstrates that the sensor has a good linear response to Pb²⁺ concentration in the range of 1×10⁻¹² mol/L–1×10⁻⁶ mol/L, with a detection limit of 1×10⁻¹² mol/L. The fabricated sensor shows good selectivity toward Pb²⁺ against other common metal ions.

Keywords Electrochemiluminescence; Lead ion; S₂O₈²⁻/O₂ system; 3,4,9,10-Perylenetetracarboxylic dianhydride derivative; Hollow gold nanoparticles

(Received 18 August 2015; accepted 20 September 2015)