



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107632149 A

(43)申请公布日 2018.01.26

(21)申请号 201710840997.5

(22)申请日 2017.09.18

(71)申请人 南京工业大学

地址 210009 江苏省南京市新模范马路5号

(72)发明人 于海东 郭雪英 李林 张承武  
刘志鹏 刘金华 黄维 欧阳启然  
赖琼宇 高磊

(74)专利代理机构 南京知识律师事务所 32207

代理人 吴频梅

(51)Int.Cl.

G01N 33/533(2006.01)

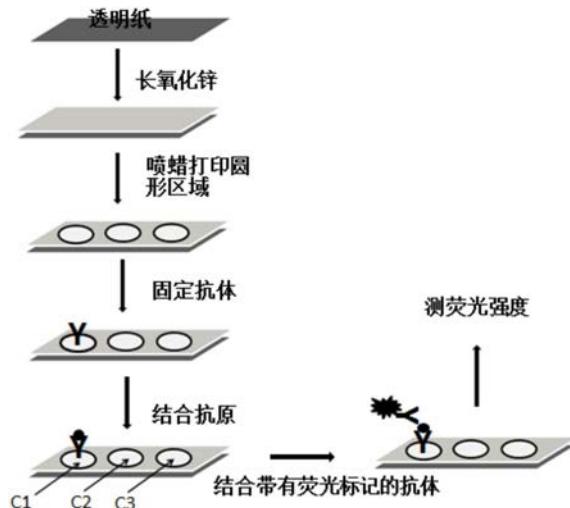
权利要求书2页 说明书4页 附图2页

(54)发明名称

一种基于氧化锌纳米线的透明纸基检测分析设备

(57)摘要

本发明涉及一种基于氧化锌纳米线的透明纸基检测分析设备，属于纸基分析检测领域。该制备方法主要包括：首先将一定量的棉短绒溶解在预冷的碱尿素溶液中，形成黏胶溶液，涂膜固化后形成凝胶膜，经干燥后制备成透明纸，再在透明纸上用水热法合成氧化锌纳米线作为一种新型的基板进行灵敏的分析检测的方法。本发明具有以下优点：(1)制备过程简单，易于操作，易于后处理，对环境无污染，属于可降解材料；(2)此分析设备基板具有柔性，可剪切，可折叠；(3)此基板充分展现了氧化锌的优点，具有良好的生物兼容性可用于荧光免疫检测。氧化锌可提高荧光强度，提高检测的灵敏度。



1. 一种基于氧化锌纳米线的透明纸基检测分析设备,其特征在于:包括以下步骤:

(1) 利用碱尿素低温溶解方法制成透明纸,然后留作后续备用;

(2) 配制氧化锌纳米粒子的胶体种子溶液,备用;

(3) 将步骤(1)中制作的透明纸放在步骤(2)中的胶体种子溶液中放在烘箱中60-80℃一段时间,之后将透明纸从种子溶液中取出干燥,制作负载有氧化锌纳米粒子的透明纸,备用;

(4) 配制氧化锌纳米线的生长液,备用;

(5) 采用水热法将步骤(3)中制备的负载有氧化锌纳米粒子的透明纸放在步骤(4)中的生长液中,放在烘箱中80-90℃,一段时间,取出并用去离子水冲洗,室温自然晾干,得到氧化锌纳米线纸基板,备用;

(6) 荧光免疫分析检测,在步骤(5)制备的长了氧化锌纳米线纸基板上喷蜡打印反应区域,首先在反应区域固定羊抗兔免疫球蛋白,然后加入含有兔子免疫球蛋白的样品溶液,再加入异硫氰酸荧光素标记的羊抗兔免疫球蛋白,最后测荧光强度;再在未长氧化锌的透明纸上进行同样的操作做对比试验。

2. 根据权利要求1所述的基于氧化锌纳米线的透明纸基检测分析设备,其特征在于:所述步骤(1)中利用碱尿素低温溶解方法制成透明纸,具体为将棉短绒溶解在预冷的碱尿素溶液中,形成黏胶溶液,涂膜固化后形成凝胶膜,经干燥后制备成透明纸。

3. 根据权利要求1所述的一种基于氧化锌纳米线的透明纸基检测分析设备,其特征在于:所述步骤(2)采用配制氧化锌纳米粒子的胶体种子溶液,具体步骤如下:

A、配制1-4mmol/L二水乙酸锌的无水乙醇溶液和氢氧化钠的无水乙醇溶液,分别取20mL的配制好的溶液于2个烧杯中,均60-80℃剧烈搅拌,分别得到对应的乙醇溶液;

B. 再取20mL的无水乙醇加入步骤A中得到的二水乙酸锌的乙醇溶液中,放在60-80℃烘箱中10-30min;

C. 将步骤A中得到的氢氧化钠的乙醇溶液和步骤B中得到的溶液均冷却至室温,之后将氢氧化钠的乙醇溶液缓慢的加入步骤B中得到的溶液,最终得到混合溶液,将此混合液放入烘箱中60-80℃持续1-5h,形成氧化锌纳米粒子的胶体种子溶液。

4. 根据权利要求1所述的基于氧化锌纳米线的透明纸基检测分析设备,其特征在于:所述步骤(3)所述的放在烘箱中60-80℃的一段时间为:1-5min,之后将透明纸从种子溶液中取出干燥,干燥温度为60-80℃并保持2-5min烘干,得到负载有氧化锌纳米粒子的透明纸。

5. 根据权利要求1所述的基于氧化锌纳米线的透明纸基检测分析设备,其特征在于:所述步骤(4)配制氧化锌纳米线的生长液,具体步骤如下:配制生长水溶液,所述生长水溶液为将20-60mmol/L硝酸锌六水合物、20-50mmol/L环六亚甲基四胺和0.2-0.5mol/L氨水混合得到的混合液。

6. 根据权利要求1所述的基于氧化锌纳米线的透明纸基检测分析设备,其特征在于:所述步骤(5)中放在烘箱中80-90℃的一段时间为:8-16h,之后将纸取出,室温自然晾干,得到氧化锌纳米线纸基板,拍电镜照片。

7. 根据权利要求1所述的基于氧化锌纳米线的透明纸基检测分析设备,其特征在于:所述步骤(6)在长了氧化锌纳米线的纸基板上喷蜡打印反应区域,用三甲氧基硅烷处理反应区域,首先在反应区域固定0.1-0.45μg/mL的羊抗兔免疫球蛋白,固定15-30min,加入10-15

$\mu$ l 1%的牛血清白蛋白10–15min封闭未结合的位点,然后加入含有兔子免疫球蛋白的样品溶液,反应15–30min,过量的牛血清白蛋白用200 $\mu$ l的含0.1%吐温20的PBS冲洗,干燥,再加入0.1–0.45 $\mu$ g/mL的异硫氰酸荧光素标记的羊抗兔免疫球蛋白,反应15–30min,冲洗,最后测荧光强度,根据荧光强度的高低来定性定量分析兔子免疫球蛋白的浓度;再在未长氧化锌的透明纸上进行同样的操作做对比试验,测其荧光强度,最后也测了只是长氧化锌的纸基板的荧光强度。

## 一种基于氧化锌纳米线的透明纸基检测分析设备

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种基于氧化锌纳米线的透明纸基检测分析设备,属于纸基分析检测领域,具体来说是一种利用纸基的柔性、可剪切可折叠性和氧化锌可以提高荧光强度的优势进而提高分析设备的便携性和检测灵敏度的分析检测方法。

### 背景技术

[0002] 柔性纸基分析设备在分析检测技术领域具有越来越重要的作用,尤其是在免疫检测方面,纸具有良好的生物可兼容性,是一种理想的可用材料。因传统的分析设备主要以塑料等难以降解的材料制成,造成了严重的环境污染,寻找环境友好型材料势在必行。纸作为一种普遍存在的天然材料在近几年广泛引起了人们的关注,其原料丰富,廉价易得,是一种可降解的理想材料,用其代替传统的塑料等材料大大减轻了环境压力。纸的应用领域广泛,可用于临床诊断,食品质量控制和环境监测等分析检测技术领域。透明纸是一种新型的纸,其不仅具有普通纸的性质,而且具有透明性的优点,用透明纸作为基板,克服了普通纸不透明的缺点。

[0003] 在纸基分析检测领域,一些功能材料像:碳纳米管、石墨烯等的应用能提高分析设备的性能,将碳纳米管整合到纸中使纸基材具有高导电性,但碳纳米管和石墨烯的合成需要特殊的设备,并且通常是复杂和昂贵的,而且与纸基设备的结合也是麻烦的。因此,寻找能与纸的结合能力强的,并且结合后性能好的功能材料是至关重要的。

[0004] 氧化锌纳米线是一种半导体材料,具有压电、光致发光、紫外光响应和良好的生物可兼容性等性质,是一种很有应用潜质的多功能材料。因其生物兼容性好,可以提高荧光强度,所以可以和透明纸结合,进行免疫检测,结合后的设备既具有透明纸的透明性、柔性等优点又具有氧化锌的独特性质,氧化锌的存在使得在荧光免疫检测中可以不使用放大信号物质,操作更简单。此设备实现了可降解、低成本和检测灵敏度高,将氧化锌纳米线与透明纸结合的分析检测设备目前还没有相关报道。

### 发明内容

[0005] 本发明针对当前荧光免疫检测的分析设备存在的设备材料难降解产生的环境污染问题以及免疫检测中需要使用放大信号物质等使检测过程复杂化,提出了一种将氧化锌纳米线与透明纸基板相结合的方法,进行荧光免疫检测,此方法使得设备更简单、具有柔性、低成本可降解的绿色分析检测设备。

[0006] 为了解决上述技术问题,本发明提出的技术方案是:一种基于氧化锌纳米线的透明纸基检测分析设备,包括以下步骤:

[0007] (1) 利用碱尿素低温溶解方法制备透明纸,然后留作后续备用;

[0008] (2) 配制氧化锌纳米粒子的胶体种子溶液,备用;

[0009] (3) 将步骤(1)中制作的透明纸放在步骤(2)中的胶体种子溶液中放在烘箱中60-80℃一段时间,之后将透明纸从种子溶液中取出干燥,制作负载有氧化锌纳米粒子的透明

纸,备用;

[0010] (4) 配制氧化锌纳米线的生长液,备用;

[0011] (5) 采用水热法将步骤(3)中制备的负载有氧化锌纳米粒子的透明纸放在步骤(4)中的生长液中,放在烘箱中80–90℃,一段时间,取出并用去离子水冲洗,室温自然晾干,得到氧化锌纳米线纸基板,备用;

[0012] (6) 荧光免疫分析检测,在步骤(5)制备的长了氧化锌纳米线纸基板上喷蜡打印反应区域,首先在反应区域固定羊抗兔免疫球蛋白,然后加入含有兔子免疫球蛋白的样品溶液,再加入异硫氰酸荧光素标记的羊抗兔免疫球蛋白,最后测荧光强度;再在未长氧化锌的透明纸上进行同样的操作做对比试验。

[0013] 优选的,所述步骤(1)中利用碱尿素低温溶解方法制成透明纸,具体为将棉短绒溶解在预冷的碱尿素溶液中,形成黏胶溶液,涂膜固化后形成凝胶膜,经干燥后制备成透明纸。

[0014] 优选的,所述步骤(2)采用配制氧化锌纳米粒子的胶体种子溶液,具体步骤如下:

[0015] A、配制1–4mmol/L二水乙酸锌的无水乙醇溶液和氢氧化钠的无水乙醇溶液,分别取20mL的配制好的溶液于2个烧杯中,均60–80℃剧烈搅拌,分别得到对应的乙醇溶液;

[0016] B.再取20mL的无水乙醇加入步骤A中得到的二水乙酸锌的乙醇溶液中,放在60–80℃烘箱中10–30min;

[0017] C.将步骤A中得到的氢氧化钠的乙醇溶液和步骤B中得到的溶液均冷却至室温,之后将氢氧化钠的乙醇溶液缓慢的加入步骤B中得到的溶液,最终得到混合溶液,将此混合液放入烘箱中60–80℃持续1–5h,形成氧化锌纳米粒子的胶体种子溶液。

[0018] 优选的,所述步骤(3)所述的放在烘箱中60–80℃的一段时间为:1–5min,之后将透明纸从种子溶液中取出干燥,干燥温度为60–80℃并保持2–5min烘干,得到负载有氧化锌纳米粒子的透明纸。

[0019] 优选的,所述步骤(4)配制氧化锌纳米线的生长液,具体步骤如下:配制生长水溶液,所述生长水溶液为将20–60mmol/L硝酸锌六水合物、20–50mmol/L环六亚甲基四胺和0.2–0.5mol/L氨水混合得到的混合液。

[0020] 优选的,所述步骤(5)中放在烘箱中80–90℃的一段时间为:8–16h,之后将纸取出,室温自然晾干,得到氧化锌纳米线纸基板,拍电镜照片。

[0021] 优选的,所述步骤(6)在长了氧化锌纳米线的纸基板上喷蜡打印反应区域,用三甲氧基硅烷处理反应区域,首先在反应区域固定0.1–0.45μg/mL的羊抗兔免疫球蛋白,固定15–30min,加入10–15μl 1%的牛血清白蛋白10–15min封闭未结合的位点,然后加入含有兔子免疫球蛋白的样品溶液,反应15–30min,过量的牛血清白蛋白用200μl的含0.1%吐温20的PBS冲洗,干燥,再加入0.1–0.45μg/mL的异硫氰酸荧光素标记的羊抗兔免疫球蛋白,反应15–30min,冲洗,最后测荧光强度,根据荧光强度的高低来定性定量分析兔子免疫球蛋白的浓度;再在未长氧化锌的透明纸上进行同样的操作做对比试验,测其荧光强度,最后也测了只是长氧化锌的纸基板的荧光强度。

[0022] 有益效果

[0023] 本发明采用透明纸代替传统的塑料基板,不仅具有柔性而且也具有透明性,便于对荧光和比色检测的观察。

[0024] 本发明采用的透明纸是生物可降解材料,对环境无污染,易销毁。

[0025] 本发明将透明纸与氧化锌纳米线相结合,既具有透明、柔性、可折叠的优点又具有氧化锌可以提高荧光强度的独特的优点,在荧光检测中可以免放大信号物质的使用,使得操作更简单。

[0026] 本发明分析设备包括以下步骤:(1)透明纸的制作;(2)利用水热法在透明纸上长氧化锌纳米线;(3)在具有氧化锌纳米线的透明纸基板上进行荧光免疫检测。具有以下优点:(1)制备过程简单,易于操作,易于后处理,对环境无污染,属于可降解材料;(2)此分析设备基板具有柔性,可剪切,可折叠;(3)此基板充分展现了氧化锌的优点,具有良好的生物可兼容性可用于荧光免疫检测。氧化锌可提高荧光强度,提高检测的灵敏度。

## 附图说明

[0027] 下面结合附图对本发明的作进一步说明。

[0028] 图1是纯透明纸图。

[0029] 图2是纯透明纸的透明性图。

[0030] 图3是长了氧化锌纳米线的图。

[0031] 图4是氧化锌可以提高荧光强度的证明图。

[0032] 图5是基于氧化锌纳米线的透明纸基检测分析设备的原理图。

## 具体实施方式

[0033] 为了更好的理解本发明专利的内容,以下所述是本发明的具体实施方式,根据本发明的具体实例和附图,可以使本发明被更清楚的理解。

[0034] 一种基于氧化锌纳米线的透明纸基检测分析设备,具体实施步骤如下:

[0035] a.透明纸的制备(使用优化的张俐娜碱尿素低温溶解法)

[0036] 透明纸的制备,具体方法如下:1)将氢氧化钠、尿素和水按照7:12:81的质量比例配成溶液,预冷到-12℃的冰箱中;2)称取棉短绒4.5g置于100ml预冷的碱尿素溶液中,使用机械搅拌器快速搅拌致棉花溶解,形成黏胶溶液。搅拌时间15min,搅拌速度3000rpm,在8000rpm下将溶液离心除气泡;3)将所制备的黏胶溶液直接倾倒在洁净玻璃板上,形成一层均匀薄膜,然后将其置于5w%的硫酸溶液中固化形成凝胶,使用蒸馏水彻底浸泡;4)将所形成的凝胶放在PMMA(聚甲基丙烯酸甲酯)板上,使用胶带固定四边,室温干燥,拍电镜图片见图1,并拍下其透明图见图2。

[0037] 从图1可以看出透明纸的表面比较光滑。

[0038] 从图2可以看出透明纸的透明性比较好,将制得的透明纸放在图案上,图案依旧看得很清晰。

[0039] b.配制氧化锌纳米粒子的胶体种子溶液

[0040] 配制氧化锌纳米粒子的胶体种子溶液,具体步骤如下:1)配制4mmol/l的二水乙酸锌的无水乙醇溶液和4mmol/l的氢氧化钠的无水乙醇溶液,分别取20ml的配制好的溶液于2个烧杯中,均70℃剧烈搅拌,分别得到对应的乙醇溶液;2)再取20ml的无水乙醇加入步骤1)中得到的二水乙酸锌的无水乙醇溶液中,放在70℃烘箱中30min;3)将步骤1)中得到的氢氧化钠的无水乙醇溶液和步骤2)中的到的溶液均冷却至室温,之后将氢氧化钠的无水乙醇溶

液缓慢的加入步骤2) 中得到的溶液,最终得到混合溶液;4) 将步骤3) 中得到的混合液放入烘箱中60℃持续2h,形成氧化锌纳米粒子的胶体种子溶液。

[0041] c.制作负载有氧化锌纳米粒子的透明纸

[0042] 将透明纸放在种子溶液中并放在烘箱里60℃条件下保持3min,之后将透明纸从种子液中取出并放在60℃的烘箱中保持2min烘干,得到负载有氧化锌纳米粒子的透明纸。

[0043] d.配制氧化锌纳米线的生长液

[0044] 配制生长水溶液125ml,包括:50mmol/l的硝酸锌六水合物、25mmol/l的环六亚甲基四胺和0.372mol/l的氨水,得到生长液。

[0045] e.采用水热法在透明纸上长氧化锌纳米线,形成氧化锌纳米线纸基板

[0046] 将负载有氧化锌纳米粒子的透明纸放在生长液中,并放在烘箱中86℃反应16h,之后将其取出并用去离子水冲洗,室温自然晾干,得到氧化锌纳米线纸基板,拍电镜照片见图3。

[0047] f.荧光免疫分析检测

[0048] 在长了氧化锌纳米线的透明纸上喷蜡打印反应区域,用三甲氧基硅烷处理反应区域,首先在反应区域固定0.45 $\mu$ g/ml的羊抗兔免疫球蛋白,固定30min,加入10 $\mu$ l 1%的牛血清白蛋白15min封闭未结合的位点,然后加入兔子免疫球蛋白的样品溶液,反应30min,过量的牛血清白蛋白用200 $\mu$ l的含0.1%吐温20的PBS冲洗,干燥,再加入0.45 $\mu$ g/ml的异硫氰酸荧光素标记的羊抗兔免疫球蛋白,反应30min,冲洗,最后测荧光强度,再在未长氧化锌的透明纸上进行同样的操作做对比试验,测其荧光强度,根据荧光强度的高低来定性定量分析兔子免疫球蛋白的浓度,最后也测了只是长氧化锌的纸基板的荧光强度,实验测得最后对比图结果如图4。

[0049] 从图4可以看出只是长了氧化锌的纸基板是没有荧光强度的,在未长氧化锌的透明纸上做对比实验的荧光强度约为2400a.u.,而在长了氧化锌的纸基板上,由于氧化锌在微酸性条件下可以提高异硫氰酸荧光素的荧光强度,所以测得的荧光强度大大的提高,约为3900a.u..所以所测得的结果是在长了氧化锌的纸基板上可以大大提高荧光强度,从而提高检测的灵敏性,因此用此分析设备进行免疫检测不需额外加放大信号的物质,方便快捷。

[0050] 但本发明不局限于上述实施例所述的具体技术方案,凡采用等同替换形成的技术方案均为本发明要求的保护范围之内。

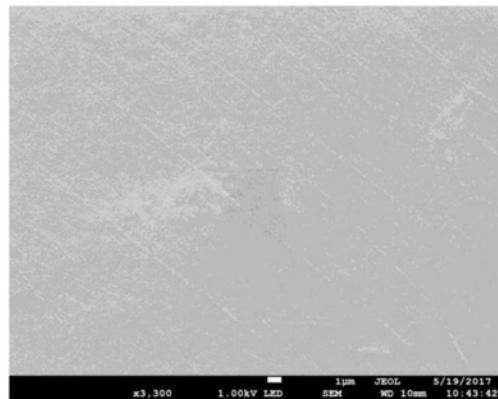


图1



图2

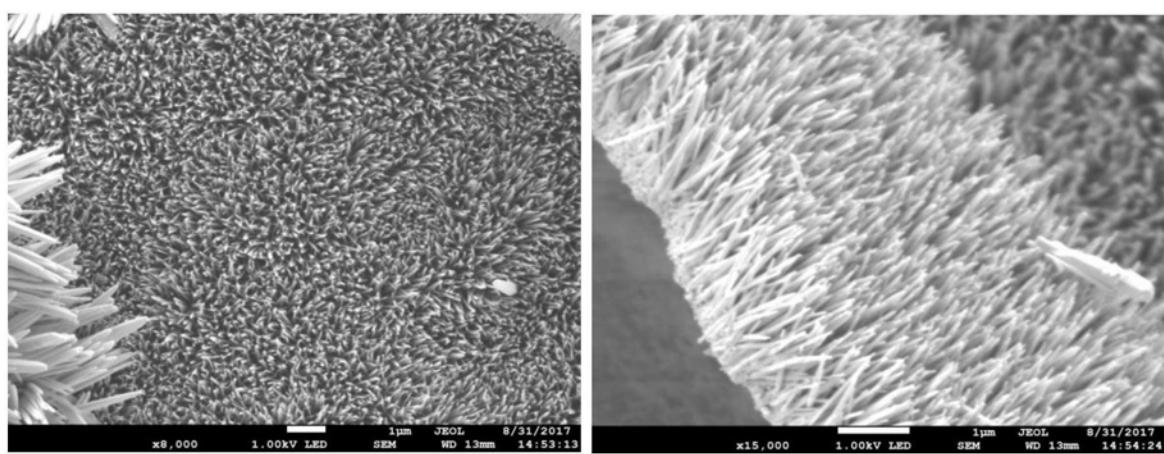


图3

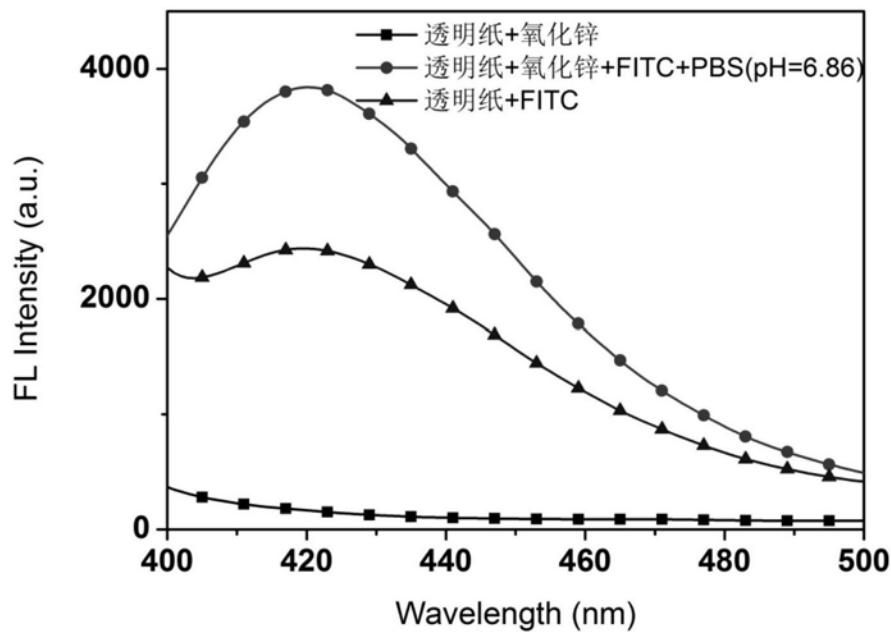


图4

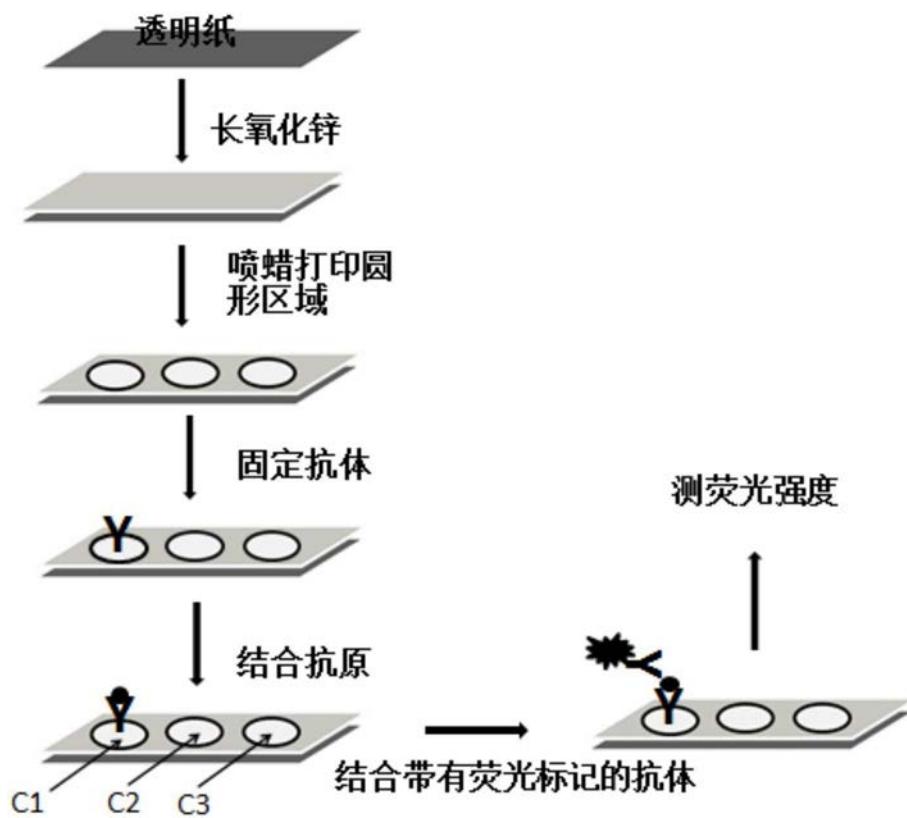


图5

专利名称(译)	一种基于氧化锌纳米线的透明纸基检测分析设备		
公开(公告)号	<a href="#">CN107632149A</a>	公开(公告)日	2018-01-26
申请号	CN201710840997.5	申请日	2017-09-18
[标]申请(专利权)人(译)	南京工业大学		
申请(专利权)人(译)	南京工业大学		
当前申请(专利权)人(译)	南京工业大学		
[标]发明人	于海东 郭雪英 李林 张承武 刘志鹏 刘金华 黄维 欧阳启然 赖琼宇 高磊		
发明人	于海东 郭雪英 李林 张承武 刘志鹏 刘金华 黄维 欧阳启然 赖琼宇 高磊		
IPC分类号	G01N33/533		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">Sipo</a>		

#### 摘要(译)

本发明涉及一种基于氧化锌纳米线的透明纸基检测分析设备，属于纸基分析检测领域。该制备方法主要包括：首先将一定量的棉短绒溶解在预冷的碱尿素溶液中，形成黏胶溶液，涂膜固化后形成凝胶膜，经干燥后制备成透明纸，再在透明纸上用水热法合成氧化锌纳米线作为一种新型的基板进行灵敏的分析检测的方法。本发明具有以下优点：(1)制备过程简单，易于操作，易于后处理，对环境无污染，属于可降解材料；(2)此分析设备基板具有柔性，可剪切，可折叠；(3)此基板充分展现了氧化锌的优点，具有良好的生物兼容性可用于荧光免疫检测。氧化锌可提高荧光强度，提高检测的灵敏度。

