



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104297495 A

(43) 申请公布日 2015. 01. 21

(21) 申请号 201410451337. 4

(22) 申请日 2014. 09. 06

(71) 申请人 济南大学

地址 250022 山东省济南市济微路 106 号

(72) 发明人 杜斌 黎荣霞 闫涛 魏琴

朱宝存 吴丹

(51) Int. Cl.

G01N 33/74 (2006. 01)

G01N 33/532 (2006. 01)

G01N 27/26 (2006. 01)

权利要求书2页 说明书7页

(54) 发明名称

一种 CdS 敏化 TiO₂ 环境雌激素光电化学传感器制备方法与应用

(57) 摘要

本发明涉及一种 CdS 敏化 TiO₂ 环境雌激素光电化学传感器制备方法与应用, 该方法利用 TiO₂ 作为抗原捕获基底材料, 采用直接滴加 Na₂S 的方法, 在 Cd²⁺ 功能化的 TiP 纳米材料作为标记物修饰电极的表面原位生成 CdS 光电活性材料, 通过可见光波长的 LED 灯照射 CdS 转化成光电流信号。基底材料 TiO₂ 与 CdS 能带匹配度良好, 能进一步提高 CdS 的光电流转换信号, 从而制备超灵敏检测雌二醇, 雌三醇, 己烯雌酚, 双酚 A, 壬基酚, 雌酮等多种环境污染物的竞争型光电化学免疫传感器。

1. 一种 CdS 敏化 TiO₂ 环境雌激素光电化学传感器制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

(1)将导电玻璃依次用丙酮、乙醇和超纯水超声清洗,氮气吹干;取 6 μL、2~4mg/mL 罗丹明 B 功能化 TiO₂ 溶液滴加到导电玻璃的导电面,室温下晾干,400~500℃煅烧 30~60min,冷却,得到罗丹明 B-TiO₂ 修饰的玻璃电极;

(2)在罗丹明 B-TiO₂ 修饰的玻璃电极表面,滴加 4 μL、0.1~1 μg/mL 的环境雌激素标准溶液,超纯水冲洗电极表面,4℃冰箱中晾干;

(3)继续滴加 4 μL、质量分数为 1~3% 的 BSA 溶液,封闭电极表面上非特异性活性位点,超纯水冲洗电极表面,4℃冰箱中晾干;

(4)继续滴加 4 μL 环境雌激素标准溶液与抗体孵化溶液的混合液,超纯水冲洗电极表面,4℃冰箱中晾干,制得了 CdS 敏化 TiO₂ 光电化学传感器;

所述环境雌激素标准溶液与抗体孵化溶液的混合液,是由等体积的 TiP@Cd²⁺-Ab 抗体孵化溶液分别与不同浓度待测的环境雌激素标准溶液混合制得;

所述不同浓度待测的环境雌激素标准溶液,其浓度为 1 pg/mL~20 ng/mL。

2. 如权利要求 1 所述的一种 CdS 敏化 TiO₂ 环境雌激素光电化学传感器制备方法,所述罗丹明 B 功能化 TiO₂ 溶液,其特征在于,制备步骤如下:

(1) TiO₂ 粉末的制备

0.01~0.03 mol 钛酸四丁酯溶解于 30mL 乙醇中,加入 10mL 水,搅拌 30~120min,将混合溶液转移到高压釜中,200℃下反应 5~10h,所得到的产物用蒸馏水和无水乙醇离心洗涤,70~90℃条件下真空干燥 12h,得到 TiO₂ 粉末;

(2) 罗丹明 B 功能化 TiO₂ 溶液的制备

取 10 mg TiO₂ 粉末加入到 2.5 mL、0.1~0.2 mg/mL 罗丹明 B 水溶液中,用 0.1mol/L NaOH 调节 pH 至 7,振荡 4~24 h,离心干燥,用水配成 2 mg/mL 的罗丹明 B 功能化 TiO₂ 溶液。

3. 如权利要求 1 所述的一种 CdS 敏化 TiO₂ 环境雌激素光电化学传感器制备方法,所述 TiP@Cd²⁺-Ab 抗体孵化溶液,其特征在于,制备步骤如下:

(1) TiP 的制备

0.3 g 的十二烷基硫酸钠加 20 mL 乙醇超声,向溶液中加入 2~4 mL、质量分数为 85% 的 H₃PO₄,混合溶液搅拌 4 h,生成白色的 NaH₂PO₄ 沉淀,离心分散在少量乙醇中;向上述乙醇分散的溶液中快速加入 5 mL 钛酸丁酯与乙醇的混合溶液,该混溶液中钛酸丁酯与乙醇的体积比为 1:4~8,搅拌 20 min,80℃回流 6 h,用水、乙醇各离心洗涤三次,得到 TiP 白色粉末;

(2) TiP@Cd²⁺ 溶液的制备

将 1 mL、40 mg/mL TiP 水溶液和 17 mL、6~14 mmol/L 的 Cd(NO₃)₂·4H₂O 水溶液共混,50℃下搅拌 4~24 h,离心,水洗 3 次,得到的 TiP@Cd²⁺ 用水分散为 20 mg/mL 的 TiP@Cd²⁺ 溶液;

(3) TiP@Cd²⁺-Ab 抗体孵化溶液的制备

向 2mL、20 mg/mL 的 TiP@Cd²⁺ 溶液中加入 7.5 mL、1~3 mg/mL 的聚丙烯胺盐酸盐水溶液,超声 20~60 min,离心洗涤;分散在 2 mL、质量分数为 1.0~3.5% 的戊二醛水溶液中,震荡 2 h 并离心,用 pH 为 7.4 的 PBS 稀释为 2 mL;加入 10~100 μL、1 mg/mL 环境雌激素抗体

Ab 溶液,振荡 20 h,用 pH 为 7.4 的 PBS 离心洗涤,最后分散在 5 mL、pH 为 7.4 的 PBS 中,制得 TiP@Cd^{2+} -Ab 抗体孵化溶液,4°C 下保存备用。

4. 如权利要求 1 所述的制备方法制得的一种 CdS 敏化 TiO_2 环境雌激素光电化学传感器制备方法,其特征在于,用于环境雌激素的检测,检测步骤如下:

(1) 在所制备的光电化学传感器电极表面,滴加 4 μL 、0.7 mol/L 的 Na_2S 溶液,放置 30~80 min;

(2) 使用电化学工作站以三电极体系进行测试,饱和甘汞电极为参比电极,铂丝电极为辅助电极,所制备的光电化学传感器电极为工作电极,在 10 mL、pH 7.0~7.5 的含 0.1mol/L 抗坏血酸的 PBS 缓冲溶液中进行测试;

(3) 用时间-电流法对环境雌激素标准溶液进行检测,设置电压为 0.1 V,运行时间 100 s,照射 LED 灯波长为 400~450 nm;

(4) 当背景电流趋于稳定后,每隔 20 s 开灯持续照射 10 s,然后记录光电流,绘制工作曲线;

(5) 将待测的环境雌激素样品溶液代替环境雌激素标准溶液进行检测。

5. 如权利要求 1 所述的一种 CdS 敏化 TiO_2 环境雌激素光电化学传感器制备方法,其特征在于,所述环境环境雌激素选自下列之一:雌二醇,雌三醇,己烯雌酚,双酚 A,壬基酚,雌酮。

一种 CdS 敏化 TiO₂ 环境雌激素光电化学传感器制备方法与 应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种 CdS 敏化 TiO₂ 环境雌激素光电化学传感器制备方法与应用,具体涉及一种原位生成 CdS 敏化 TiO₂ 的竞争型环境雌激素光电化学传感器的制备方法及应用,属于新型功能材料与环境污染物生物传感检测技术领域。

背景技术

[0002] 随着现代工农业的快速发展,大量环境有害物质随着人类的生产活动进入人类生活环境,对人类的健康产生极大危害。环境雌激素是指存在于环境中,具有类似生物体内雌激素活性的化学物质,进入人体后可产生具有模拟雌激素作用的环境毒素。环境中的微量雌激素通过食物链进入人体,会形成假性激素,通过影响人类肾上腺、甲状腺等人体重要的内分泌腺体,使其不正常分泌,从而造成人体神经系统和免疫系统的功能障碍,严重影响人类身心健康。

[0003] 监测是保证食品安全的重要环节,建立一种快速、简便、灵敏检测环境雌激素的方法十分重要。目前国内外对环境雌激素检测的方法主要有高效液相色谱法、免疫学方法,电化学方法、生物分析法等,但多数需要贵重仪器,其操作复杂,检出限高,不能得到很好的应用。因此,为了解决上述方法的不足之处,本发明提供了一种简单、快速、灵敏度和选择性高的光电化学免疫分析方法。

[0004] 光电化学传感器是基于物质的光电转换特性来确定待测物浓度的一类检测装置。光电化学检测方法具有灵敏度高、设备简单、易于微型化的特点,已经成为一种极具应用潜力的分析方法,在食品、环境、医药等领域具有广阔的应用前景。

[0005] 本发明采用具有良好的光吸收效率的罗丹明 B 敏化 TiO₂ 半导体复合材料作为半抗原捕获基底,利用 Cd²⁺ 功能化的多孔 TiP 纳米颗粒标记抗体,通过在电极表面直接滴加 Na₂S,原位生成高光电转换率的窄带隙 CdS。由于基底材料 TiO₂ 与 CdS 能带匹配度良好,能进一步提高 CdS 的光电流转换信号。本发明制备的一种 CdS 敏化 TiO₂ 环境雌激素光电化学传感器,具有低成本、高灵敏、特异性好、快速检测等优点,且制备过程简单,在可见光区域实现了对多种环境雌激素的快速、灵敏检测,有效克服了目前环境雌激素检测方法的不足。

发明内容

[0006] 本发明的目的之一是基于原位生成窄带隙 CdS,构建了一种简单、快速、灵敏的竞争型光电化学免疫传感器。

[0007] 本发明的目的之二是通过原位生成的窄带隙 CdS 与基底宽带隙 TiO₂ 能带匹配,实现了可见光区域对多种环境雌激素的快速、灵敏检测目的。

[0008] 本发明的技术方案如下:

1. 一种 CdS 敏化 TiO₂ 环境雌激素光电化学传感器制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

(1)将导电玻璃依次用丙酮、乙醇和超纯水超声清洗,氮气吹干;取 6 μL 、 $2\sim 4\text{mg/mL}$ 罗丹明 B 功能化 TiO_2 溶液滴加到导电玻璃的导电面,室温下晾干, $400\sim 500^\circ\text{C}$ 煅烧 $30\sim 60\text{min}$,冷却,得到罗丹明 B- TiO_2 修饰的玻璃电极;

(2)在罗丹明 B- TiO_2 修饰的玻璃电极表面,滴加 4 μL 、 $0.1\sim 1\ \mu\text{g/mL}$ 的环境雌激素标准溶液,超纯水冲洗电极表面, 4°C 冰箱中晾干;

(3)继续滴加 4 μL 、质量分数为 $1\sim 3\%$ 的 BSA 溶液,封闭电极表面上非特异性活性位点,超纯水冲洗电极表面, 4°C 冰箱中晾干;

(4)继续滴加 4 μL 环境雌激素标准溶液与抗体孵化溶液的混合液,超纯水冲洗电极表面, 4°C 冰箱中晾干,制得了 CdS 敏化 TiO_2 光电化学传感器。

[0009] 所述环境雌激素标准溶液与抗体孵化溶液的混合液,是由等体积的 TiP@Cd^{2+} -Ab 抗体孵化溶液分别与不同浓度待测的环境雌激素标准溶液混合制得;所述不同浓度待测的环境雌激素标准溶液,其浓度为 $1\ \text{pg/mL}\sim 20\ \text{ng/mL}$ 。

[0010] 2. 罗丹明 B 功能化 TiO_2 溶液的制备

(1) TiO_2 粉末的制备

$0.01\sim 0.03\ \text{mol}$ 钛酸四丁酯溶解于 30mL 乙醇中,加入 10mL 水,搅拌 $30\sim 120\text{min}$,将混合溶液转移到高压釜中, 200°C 下反应 $5\sim 10\text{h}$,所得到的产物用蒸馏水和无水乙醇离心洗涤, $70\sim 90^\circ\text{C}$ 条件下真空干燥 12h,得到 TiO_2 粉末;

(2) 罗丹明 B 功能化 TiO_2 溶液的制备

取 10 mg TiO_2 粉末加入到 2.5 mL、 $0.1\sim 0.2\ \text{mg/mL}$ 罗丹明 B 水溶液中,用 0.1mol/L NaOH 调节 pH 至 7,振荡 $4\sim 24\ \text{h}$,离心干燥,用水配成 $2\ \text{mg/mL}$ 的罗丹明 B 功能化 TiO_2 溶液。

[0011] 3. TiP@Cd^{2+} -Ab 抗体孵化溶液的制备

(1) TiP 的制备

$0.3\ \text{g}$ 的十二烷基硫酸钠加 20 mL 乙醇超声,向溶液中加入 $2\sim 4\ \text{mL}$ 、质量分数为 85% 的 H_3PO_4 ,混合溶液搅拌 4 h,生成白色的 NaH_2PO_4 沉淀,离心分散在少量乙醇中;向上述乙醇分散的溶液中快速加入 5 mL 钛酸丁酯与乙醇的混合溶液,该混溶液中钛酸丁酯与乙醇的体积比为 $1:4\sim 8$,搅拌 20 min, 80°C 回流 6 h,用水、乙醇各离心洗涤三次,得到 TiP 白色粉末;

(2) TiP@Cd^{2+} 溶液的制备

将 1 mL、 $40\ \text{mg/mL}$ TiP 水溶液和 17 mL、 $6\sim 14\ \text{mmol/L}$ 的 $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 水溶液共混, 50°C 下搅拌 $4\sim 24\ \text{h}$,离心,水洗涤 3 次,得到的 TiP@Cd^{2+} 用水分散为 $20\ \text{mg/mL}$ 的 TiP@Cd^{2+} 溶液;

(3) TiP@Cd^{2+} -Ab 抗体孵化溶液的制备

向 2mL、 $20\ \text{mg/mL}$ 的 TiP@Cd^{2+} 溶液中加入 7.5 mL、 $1\sim 3\ \text{mg/mL}$ 的聚丙烯胺盐酸盐水溶液,超声 $20\sim 60\ \text{min}$,离心洗涤;分散在 2 mL、质量分数为 $1.0\sim 3.5\%$ 的戊二醛水溶液中,震荡 2 h 并离心,用 pH 为 7.4 的 PBS 稀释为 2 mL;加入 $10\sim 100\ \mu\text{L}$ 、 $1\ \text{mg/mL}$ 环境雌激素抗体 Ab 溶液,振荡 20 h,用 pH 为 7.4 的 PBS 离心洗涤,最后分散在 5 mL、pH 为 7.4 的 PBS 中,制得 TiP@Cd^{2+} -Ab 抗体孵化溶液, 4°C 下保存备用。

[0012] 4. 环境雌激素的检测步骤

(1)在所制备的光电化学传感器电极表面,滴加 4 μL 、 $0.7\ \text{mol/L}$ 的 Na_2S 溶液,放置

30~80 min ;

(2) 使用电化学工作站以三电极体系进行测试,饱和甘汞电极为参比电极,铂丝电极为辅助电极,所制备的光电化学传感器电极为工作电极,在 10 mL、pH 7.0~7.5 的含 0.1mol/L 抗坏血酸的 PBS 缓冲溶液中进行测试 ;

(3) 用时间 - 电流法对环境雌激素标准溶液进行检测,设置电压为 0.1 V,运行时间 100 s,照射 LED 灯波长为 400~450 nm ;

(4) 当背景电流趋于稳定后,每隔 20 s 开灯持续照射 10 s,记录光电流,绘制工作曲线 ;

(5) 将待测的环境雌激素样品溶液代替环境雌激素标准溶液进行检测。

[0013] 5. 本发明所述的环境雌激素选自下列之一 :雌二醇,雌三醇,己烯雌酚,双酚 A,壬基酚,雌酮。

[0014] 本发明的有益成果

(1) 与单纯的 TiO_2 相比,采用罗丹明 B 功能化 TiO_2 ,可有效提高光电转换效率。

[0015] (2) 利用 Cd^{2+} 功能化的 TiP 纳米颗粒作为抗体被标记物,采用在电极表面直接滴加 Na_2S 原位生成窄带隙的 CdS 半导体纳米材料,原料低廉、方法简单。

[0016] (3) 电极表面原位生成的 CdS 与作为捕获基底材料的 TiO_2 具有良好的能带匹配,有效的提高了 CdS 的光电转换效率,制得的传感器实现了对环境雌激素的超灵敏检测。

[0017] (5) 本发明利用半抗原、抗体的免疫反应,提高了检测方法的特异性。

[0018] (6) 本发明制备的竞争型光电化学免疫传感器,用于多种环境雌激素的检测,响应时间短,检测限低,线性范围宽,可以实现简单、快速、高灵敏和特异性检测。

具体实施方式

[0019] 实施例 1 一种 CdS 敏化 TiO_2 环境雌激素光电化学传感器制备方法及应用

(1) 将导电玻璃依次用丙酮、乙醇和超纯水超声清洗,氮气吹干 ;取 6 μL 、2mg/mL 罗丹明 B 功能化 TiO_2 溶液滴加到导电玻璃的导电面,室温下晾干,400°C 煅烧 30 min,冷却,得到罗丹明 B- TiO_2 修饰的玻璃电极 ;

(2) 在罗丹明 B- TiO_2 修饰的玻璃电极表面,滴加 4 μL 、0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的环境雌激素标准溶液,超纯水冲洗电极表面,4°C 冰箱中晾干 ;

(3) 继续滴加 4 μL 、质量分数为 1% 的 BSA 溶液,封闭电极表面上非特异性活性位点,超纯水冲洗电极表面,4°C 冰箱中晾干 ;

(4) 继续滴加 4 μL 环境雌激素标准溶液与抗体孵化溶液的混合液,超纯水冲洗电极表面,4°C 冰箱中晾干,制得了 CdS 敏化 TiO_2 光电化学传感器。

[0020] 所述环境雌激素标准溶液与抗体孵化溶液的混合液,是由等体积的 TiP@Cd^{2+} -Ab 抗体孵化溶液分别与不同浓度待测的环境雌激素标准溶液混合制得 ;所述不同浓度待测的环境雌激素标准溶液,其浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ~20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

[0021] 实施例 2 一种 CdS 敏化 TiO_2 环境雌激素光电化学传感器制备方法及应用

(1) 将导电玻璃依次用丙酮、乙醇和超纯水超声清洗,氮气吹干 ;取 6 μL 、3mg/mL 罗丹明 B 功能化 TiO_2 溶液滴加到导电玻璃的导电面,室温下晾干,450°C 煅烧 45 min,冷却,得到罗丹明 B- TiO_2 修饰的玻璃电极 ;

(2)在罗丹明 B-TiO₂ 修饰的玻璃电极表面,滴加 4 μL、0.5 μg/mL 的环境雌激素标准溶液,超纯水冲洗电极表面,4℃冰箱中晾干;

(3)继续滴加 4 μL、质量分数为 2% 的 BSA 溶液,封闭电极表面上非特异性活性位点,超纯水冲洗电极表面,4℃冰箱中晾干;

(4)继续滴加 4 μL 环境雌激素标准溶液与抗体孵化溶液的混合液,超纯水冲洗电极表面,4℃冰箱中晾干,制得了 CdS 敏化 TiO₂ 光电化学传感器。

[0022] 所述环境雌激素标准溶液与抗体孵化溶液的混合液,是由等体积的 TiP@Cd²⁺-Ab 抗体孵化溶液分别与不同浓度待测的环境雌激素标准溶液混合制得;所述不同浓度待测的环境雌激素标准溶液,其浓度为 1 pg/mL~20 ng/mL。

[0023] 实施例 3 一种 CdS 敏化 TiO₂ 环境雌激素光电化学传感器制备方法及应用

(1)将导电玻璃依次用丙酮、乙醇和超纯水超声清洗,氮气吹干;取 6 μL、4 mg/mL 罗丹明 B 功能化 TiO₂ 溶液滴加到导电玻璃的导电面,室温下晾干,500℃煅烧 60 min,冷却,得到罗丹明 B-TiO₂ 修饰的玻璃电极;

(2)在罗丹明 B-TiO₂ 修饰的玻璃电极表面,滴加 4 μL、1 μg/mL 的环境雌激素标准溶液,超纯水冲洗电极表面,4℃冰箱中晾干;

(3)继续滴加 4 μL、质量分数为 3% 的 BSA 溶液,封闭电极表面上非特异性活性位点,超纯水冲洗电极表面,4℃冰箱中晾干;

(4)继续滴加 4 μL 环境雌激素标准溶液与抗体孵化溶液的混合液,超纯水冲洗电极表面,4℃冰箱中晾干,制得了 CdS 敏化 TiO₂ 光电化学传感器。

[0024] 所述环境雌激素标准溶液与抗体孵化溶液的混合液,是由等体积的 TiP@Cd²⁺-Ab 抗体孵化溶液分别与不同浓度待测的环境雌激素标准溶液混合制得;所述不同浓度待测的环境雌激素标准溶液,其浓度为 1 pg/mL~20 ng/mL。

[0025] 实施例 4 罗丹明 B 功能化 TiO₂ 溶液的制备

(1) TiO₂ 粉末的制备

0.01mol 钛酸四丁酯溶解于 30 mL 乙醇中,加入 10 mL 水,搅拌 30 min,将混合溶液转移到高压釜中,200℃下反应 5 h,所得到的产物用蒸馏水和无水乙醇离心洗涤,70℃条件下真空干燥 12 h,得到 TiO₂ 粉末;

(2) 罗丹明 B 功能化 TiO₂ 溶液的制备

取 10 mg TiO₂ 粉末加入到 2.5 mL、0.1 mg/mL 罗丹明 B 水溶液中,用 0.1mol/L NaOH 调节 pH 至 7,振荡 4 h,离心干燥,用水配成 2 mg/mL 的罗丹明 B 功能化 TiO₂ 溶液。

[0026] 实施例 5 罗丹明 B 功能化 TiO₂ 溶液的制备

(1) TiO₂ 粉末的制备

0.02 mol 钛酸四丁酯溶解于 30 mL 乙醇中,加入 10 mL 水,搅拌 60 min,将混合溶液转移到高压釜中,200℃下反应 8 h,所得到的产物用蒸馏水和无水乙醇离心洗涤,80℃条件下真空干燥 12 h,得到 TiO₂ 粉末;

(2) 罗丹明 B 功能化 TiO₂ 溶液的制备

取 10 mg TiO₂ 粉末加入到 2.5 mL、0.15 mg/mL 罗丹明 B 水溶液中,用 0.1mol/L NaOH 调节 pH 至 7,振荡 10 h,离心干燥,用水配成 2 mg/mL 的罗丹明 B 功能化 TiO₂ 溶液。

[0027] 实施例 6 罗丹明 B 功能化 TiO₂ 溶液的制备

(1) TiO_2 粉末的制备

0.03 mol 钛酸四丁酯溶解于 30 mL 乙醇中,加入 10 mL 水,搅拌 120 min,将混合溶液转移到高压釜中,200°C 下反应 10 h,所得到的产物用蒸馏水和无水乙醇离心洗涤,90°C 条件下真空干燥 12 h,得到 TiO_2 粉末;

(2) 罗丹明 B 功能化 TiO_2 溶液的制备

取 10 mg TiO_2 粉末加入到 2.5 mL、0.2 mg/mL 罗丹明 B 水溶液中,用 0.1 mol/L NaOH 调节 pH 至 7,振荡 24 h,离心干燥,用水配成 2 mg/mL 的罗丹明 B 功能化 TiO_2 溶液。

[0028] 实施例 7 TiP@Cd^{2+} -Ab 抗体孵化溶液的制备

(1) TiP 的制备

0.3 g 的十二烷基硫酸钠加 20 mL 乙醇超声,向溶液中加入 2 mL、质量分数为 85% 的 H_3PO_4 ,混合溶液搅拌 4 h,生成白色的 NaH_2PO_4 沉淀,离心分散在少量乙醇中;向上述乙醇分散的溶液中快速加入 5 mL 钛酸丁酯与乙醇的混合溶液,该混溶液中钛酸丁酯与乙醇的体积比为 1:4,搅拌 20 min,80°C 回流 6 h,用水、乙醇各离心洗涤三次,得到 TiP 白色粉末;

(2) TiP@Cd^{2+} 溶液的制备

将 1 mL、40 mg/mL TiP 水溶液和 17 mL、6~14 mol/L 的 $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 水溶液共混,50°C 下搅拌 4 h,离心,水洗涤 3 次,得到的 TiP@Cd^{2+} 用水分散为 20 mg/mL 的 TiP@Cd^{2+} 溶液;

(3) TiP@Cd^{2+} -Ab 抗体孵化溶液的制备

向 2 mL、20 mg/mL 的 TiP@Cd^{2+} 溶液中加入 7.5 mL、1 mg/mL 的聚丙烯胺盐酸盐水溶液,超声 20 min,离心洗涤;分散在 2 mL、质量分数为 1.0% 的戊二醛水溶液中,震荡 2 h 并离心,用 pH 为 7.4 的 PBS 稀释为 2 mL;加入 10 μL 、1 mg/mL 环境雌激素抗体 Ab 溶液,振荡 20 h,用 pH 为 7.4 的 PBS 离心洗涤,最后分散在 5 mL、pH 为 7.4 的 PBS 中,制得 TiP@Cd^{2+} -Ab 抗体孵化溶液,4°C 下保存备用。

[0029] 实施例 8 TiP@Cd^{2+} -Ab 抗体孵化溶液的制备

(1) TiP 的制备

0.3 g 的十二烷基硫酸钠加 20 mL 乙醇超声,向溶液中加入 3 mL、质量分数为 85% 的 H_3PO_4 ,混合溶液搅拌 4 h,生成白色的 NaH_2PO_4 沉淀,离心分散在少量乙醇中;向上述乙醇分散的溶液中快速加入 5 mL 钛酸丁酯与乙醇的混合溶液,该混溶液中钛酸丁酯与乙醇的体积比为 1:6,搅拌 20 min,80°C 回流 6 h,用水、乙醇各离心洗涤三次,得到 TiP 白色粉末;

(2) TiP@Cd^{2+} 溶液的制备

将 1 mL、40 mg/mL TiP 水溶液和 17 mL、10 mmol/L 的 $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 水溶液共混,50°C 下搅拌 20 h,离心,水洗涤 3 次,得到的 TiP@Cd^{2+} 用水分散为 20 mg/mL 的 TiP@Cd^{2+} 溶液;

(3) TiP@Cd^{2+} -Ab 抗体孵化溶液的制备

向 2 mL、20 mg/mL 的 TiP@Cd^{2+} 溶液中加入 7.5 mL、2 mg/mL 的聚丙烯胺盐酸盐水溶液,超声 45 min,离心洗涤;分散在 2 mL、质量分数为 2.0% 的戊二醛水溶液中,震荡 2 h 并离心,用 pH 为 7.4 的 PBS 稀释为 2 mL;加入 50 μL 、1 mg/mL 环境雌激素抗体 Ab 溶液,振荡 20 h,用 pH 为 7.4 的 PBS 离心洗涤,最后分散在 5 mL、pH 为 7.4 的 PBS 中,制得 TiP@Cd^{2+} -Ab 抗体孵化溶液,4°C 下保存备用。

[0030] 实施例 9 TiP@Cd^{2+} -Ab 抗体孵化溶液的制备,步骤如下:

(1) TiP 的制备

0.3 g 的十二烷基硫酸钠加 20 mL 乙醇超声,向溶液中加入 4 mL、质量分数为 85% 的 H_3PO_4 ,混合溶液搅拌 4 h,生成白色的 NaH_2PO_4 沉淀,离心分散在少量乙醇中;向上述乙醇分散的溶液中快速加入 5 mL 钛酸丁酯与乙醇的混合溶液,该混溶液中钛酸丁酯与乙醇的体积比为 1:8,搅拌 20 min,80°C 回流 6 h,用水、乙醇各离心洗涤三次,得到 TiP 白色粉末;

(2) TiP@Cd²⁺ 溶液的制备

将 1 mL、40 mg/mL TiP 水溶液和 17 mL、14 mmol/L 的 $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 水溶液共混,50°C 下搅拌 24 h,离心,水洗涤 3 次,得到的 TiP@Cd²⁺ 用水分散为 20 mg/mL 的 TiP@Cd²⁺ 溶液;

(3) TiP@Cd²⁺-Ab 抗体孵化溶液的制备

向 2 mL、20 mg/mL 的 TiP@Cd²⁺ 溶液中加入 7.5 mL、3 mg/mL 的聚丙烯胺盐酸盐水溶液,超声 60 min,离心洗涤;分散在 2 mL、质量分数为 3.5% 的戊二醛水溶液中,震荡 2 h 并离心,用 pH 为 7.4 的 PBS 稀释为 2 mL;加入 100 μL 、1 mg/mL 环境雌激素抗体 Ab 溶液,振荡 20 h,用 pH 为 7.4 的 PBS 离心洗涤,最后分散在 5 mL、pH 为 7.4 的 PBS 中,制得 TiP@Cd²⁺-Ab 抗体孵化溶液,4°C 下保存备用。

[0031] 实施例 10 雌二醇的检测

(1) 在所制备的光电化学传感器电极表面,滴加 4 μL 、0.7 mol/L 的 Na_2S 溶液,放置 30~80 min;

(2) 使用电化学工作站以三电极体系进行测试,饱和甘汞电极为参比电极,铂丝电极为辅助电极,所制备的光电化学传感器电极为工作电极,在 10 mL、pH 7.0~7.5 的含 0.1 mol/L 抗坏血酸的 PBS 缓冲溶液中进行测试;

(3) 用时间-电流法对分析物标准溶液进行检测,设置电压为 0.1 V,运行时间 100 s,照射 LED 灯波长为 400~450 nm;

(4) 当背景电流趋于稳定后,每隔 20 s 开灯持续照射 10 s,记录光电流,绘制工作曲线;

(5) 按照绘制工作曲线的方法进行雌二醇样品分析,测得线性范围为 5 pg/mL~10 ng/mL,检测限为 2pg/mL。

[0032] 实施例 11 雌三醇的检测

绘制工作曲线步骤同实施例 10,按照绘制工作曲线的方法进行雌三醇样品分析,测得线性范围为 1.5 pg/mL~10 ng/mL,检测限为 0.85pg/mL。

[0033] 实施例 12 己烯雌酚的检测

绘制工作曲线步骤同实施例 10,按照绘制工作曲线的方法进行己烯雌酚样品分析,测得线性范围为 7.5 pg/mL~13 ng/mL,检测限为 2.3pg/mL。

[0034] 实施例 13 双酚 A 的检测

绘制工作曲线步骤同实施例 10,按照绘制工作曲线的方法进行双酚 A 样品分析,测得线性范围为 5 pg/mL~8 ng/mL,检测限为 1.5pg/mL。

[0035] 实施例 14 壬基酚的检测

绘制工作曲线步骤同实施例 10,按照绘制工作曲线的方法进行壬基酚样品分析,测得线性范围为 10 pg/mL~20 ng/mL,检测限为 2.8pg/mL。

[0036] 实施例 14 雌酮的检测

绘制工作曲线步骤同实施例 10,按照绘制工作曲线的方法进行雌酮样品分析,测得线

性范围为 8 pg/mL~18 ng/mL,检测限为 1.8pg/mL。

专利名称(译)	一种CdS敏化TiO ₂ 环境雌激素光电化学传感器制备方法与应用		
公开(公告)号	CN104297495A	公开(公告)日	2015-01-21
申请号	CN201410451337.4	申请日	2014-09-06
[标]申请(专利权)人(译)	济南大学		
申请(专利权)人(译)	济南大学		
当前申请(专利权)人(译)	济南大学		
[标]发明人	杜斌 黎荣霞 闫涛 魏琴 朱宝存 吴丹		
发明人	杜斌 黎荣霞 闫涛 魏琴 朱宝存 吴丹		
IPC分类号	G01N33/74 G01N33/532 G01N27/26		
CPC分类号	G01N33/74 G01N27/26		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种CdS敏化TiO₂环境雌激素光电化学传感器制备方法与应用，该方法利用TiO₂作为抗原捕获基底材料，采用直接滴加Na₂S的方法，在Cd²⁺功能化的TiP纳米材料作为标记物修饰电极的表面原位生成CdS光电活性材料，通过可见光波长的LED灯照射CdS转化成光电流信号。基底材料TiO₂与CdS能带匹配度良好，能进一步提高CdS的光电流转换信号，从而制备超灵敏检测雌二醇，雌三醇，己烯雌酚，双酚A，壬基酚，雌酮等多种环境污染物的竞争型光电化学免疫传感器。