



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109655510 B

(45) 授权公告日 2021.02.02

(21) 申请号 201910138814.4	CN 107831198 A, 2018.03.23
(22) 申请日 2019.02.25	CN 108039281 A, 2018.05.15
(65) 同一申请的已公布的文献号 申请公布号 CN 109655510 A	CN 106645754 A, 2017.05.10 CN 107064118 A, 2017.08.18
(43) 申请公布日 2019.04.19	Dawei Fan et.al. A novel label-free photoelectrochemical sensor based on N,S-GQDs and CdS co-sensitized hierarchical Zn2SnO4 cube for detection of cardiac troponin I.《Biosensors and Bioelectronics》.2018,第106卷
(73) 专利权人 济南大学 地址 250022 山东省济南市市中区南辛庄西路336号	Ning Ma et.al. Carbon dots/Cu2MoS4 nanosheets hybrids with efficient photoelectrochemical performance.《Materials Letters》.2017,第197卷
(72) 发明人 吴丹 池蕙彤 韩清志 池天鹤 王欢 匡轩 魏琴	高敏 等. 基于CdS量子点构建的“signal-off”型电致化学发光免疫传感器用于心肌肌钙蛋白I的高灵敏检测.《化学传感器》.2017,第37卷(第2期),
(74) 专利代理机构 济南誉丰专利代理事务所 (普通合伙企业) 37240 代理人 李茜	审查员 王思雨
(51) Int. Cl. G01N 27/30 (2006.01) G01N 27/327 (2006.01) G01N 33/531 (2006.01)	
(56) 对比文件 CN 107064509 A, 2017.08.18	权利要求书2页 说明书7页

(54) 发明名称

一种基于片状硫钼化铜的心肌肌钙蛋白I免疫传感器的构建

(57) 摘要

本发明涉及一种基于片状硫钼化铜的心肌肌钙蛋白I免疫传感器的构建,属于新型传感器构建技术领域。以石墨烯/片状硫钼化铜/锰掺杂硫化镉为基底材料并用紫外-可见光照射来获得光电流。基底材料中片状硫钼化铜与锰掺杂硫化镉能带匹配良好,石墨烯增加了电子传递能力,使光电转换效率大大提高。心肌肌钙蛋白I对光电流有猝灭作用,待测心肌肌钙蛋白I的量不同,进而导致了对光电信号影响程度的不同。构建的传感器实现了对心肌肌钙蛋白I的检测,其检测限为0.18 pg/mL。

1. 一种基于片状硫钼化铜的心肌肌钙蛋白I免疫传感器构建的方法,其特征在于,包括以下步骤:

(1) 将ITO导电玻璃依次用洗洁精、丙酮、乙醇、乙醇/超纯水的体积比为1:1的1 mol/L氢氧化钠溶液和超纯水分别超声清洗0.5 h,在70 °C的氮气环境中干燥140 min;

(2) 取10 μL的石墨烯/片状硫钼化铜水溶液滴加到ITO导电玻璃的导电面,室温下晾干;

(3) 采用连续离子吸附与反应的方法将锰掺杂硫化镉修饰在石墨烯/片状硫钼化铜导电玻璃上,制得石墨烯/片状硫钼化铜/锰掺杂硫化镉电极;

(4) 将上述修饰好的电极浸入到10 mmol/L 巯基乙酸溶液中,10 min后取出,然后滴加体积比为1:1的400 mmol/L 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐溶液和100 mmol/L N-羧基琥珀酰亚胺溶液的混合溶液5 μL;在4 °C冰箱中孵化1 h后用超纯水冲洗电极表面,室温下晾至湿润薄膜状态;

(5) 依次滴加5 μL、1 ~ 10 μg/mL的心肌肌钙蛋白I抗体溶液,5 μL、质量分数为0.5% ~ 2%的牛血清白蛋白溶液,4 °C下孵化3 h后用pH 7.4的磷酸盐缓冲液清洗,自然晾至湿润薄膜状态;

(6) 滴加5 μL浓度为5 pg/mL ~ 1 μg/mL心肌肌钙蛋白I溶液,4 °C恒温孵化1 h后磷酸盐缓冲液冲洗电极表面,制得一种检测心肌肌钙蛋白I的无标型光电化学免疫传感器;

所述的石墨烯/片状硫钼化铜/锰掺杂硫化镉电极的具体制备步骤如下:

(1) 石墨烯/片状硫钼化铜水溶液的制备

取0.10 ~ 0.85 mg石墨烯分别溶于0.5 mL超纯水中,超声2 h之后再向该溶液中分别加入0.5 mL浓度为4 ~ 12 mg/mL的片状硫钼化铜溶液,搅拌5 h使其分散均匀,得到石墨烯浓度为0.10 ~ 0.85 mg/mL以及片状硫钼化铜浓度为2 ~ 6 mg/mL的石墨烯/片状硫钼化铜水溶液;

(2) 石墨烯/片状硫钼化铜/锰掺杂硫化镉电极的制备

将10 μL石墨烯/片状硫钼化铜水溶液滴加在ITO导电玻璃的导电面,室温晾干后滴加5 μL质量分数为0.5%的壳聚糖水溶液,自然晾干形成薄膜从而增加石墨烯/片状硫钼化铜材料与ITO导电玻璃的粘附力;然后采用连续离子吸附与反应的方法将ITO导电玻璃依次浸入0.1 mol/L并混有0.08 mol/L乙酸锰的硝酸铬甲醇溶液、甲醇/水的体积比为1:1的0.1 mol/L硫化钠溶液各30 s,每次浸入后ITO导电玻璃用甲醇溶液清洗,此过程重复1 ~ 10次,得到石墨烯/片状硫钼化铜/锰掺杂硫化镉电极。

2. 如权利要求1所述的一种基于片状硫钼化铜的心肌肌钙蛋白I免疫传感器构建的方法,其特征在于,所述的片状硫钼化铜的制备步骤如下:

(1) 氧化亚铜的制备

0.1905 g的二合水氯化铜和3.333 g的聚乙烯吡咯烷酮通过磁力搅拌溶解于100 mL的超纯水中,然后将10.0 mL、2.0 mol/L氢氧化钠溶液和10.0 mL、0.6 mol/L抗坏血酸溶液依次逐滴加入;搅拌1 ~ 3 h后形成一种浑浊的黄色液体,用超纯水和无水乙醇分别离心洗涤三次,然后样品在60 °C的真空干燥箱中干燥12 h;

(2) 片状硫钼化铜的制备

30 mg的二合水钼酸钠和60 mg的硫代乙酰胺溶解在20 mL的乙二醇中,然后加入20 mg

上述合成的氧化亚铜粉末,超声5 min后,磁力搅拌5 min,混合液体由黄色变为深棕色,然后溶液转移至45 mL的反应釜中,190 ~ 210 °C反应24 h,最后产品用超纯水和无水乙醇分别离心洗涤三次去除杂质,在60 °C的真空干燥箱中干燥12 h。

3. 如权利要求1所述的一种基于片状硫钼化铜的心肌肌钙蛋白I免疫传感器构建的方法,其特征在于,用于心肌肌钙蛋白I的检测,步骤如下:

(1) 使用光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,制备的ITO修饰电极为工作电极,在12 mL、pH 为7.4的溶有浓度为0.01 ~ 0.3 mol/L的抗坏血酸的PBS缓冲溶液中进行测试;

(2) 用时间-电流法对心肌肌钙蛋白I标准溶液进行检测,设置电压为0 V,运行时间120 s,光源波长为365 ~ 530 nm;

(3) 电极放置好之后,每隔20 s开灯持续照射20 s,记录光电流,绘制工作曲线。

## 一种基于片状硫钼化铜的心肌肌钙蛋白I免疫传感器的构建

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种三元过渡金属硫化物的光电化学免疫传感器的制备方法及应用,更具体而言,本发明采用石墨烯/片状硫钼化铜/锰掺杂硫化镉作为基底材料制备了一种灵敏检测心肌肌钙蛋白I的无标型免疫传感器,属于新型功能材料与生物传感检测技术领域。

### 背景技术

[0002] 心肌肌钙蛋白I是心肌组织特有的,当发生心肌细胞损伤时,心肌肌钙蛋白I的含量会迅速升高,并且升高持续时间长,可达6 ~ 10天。所以,心肌肌钙蛋白I成为诊断早期心肌细胞损伤的生物标志物。

[0003] 目前已有的心肌肌钙蛋白I的临床检测方法很多,包括电化学法、电致化学发光法、酶联免疫吸附法、表面等离子体共振法等。专利(申请公布号CN 107084966 A)公开了一种核酸适配体特异性法检测心肌肌钙蛋白I的方法,实现了对心肌肌钙蛋白I在0 ~ 500 pg/mL范围内的线性检测,检测限为14.40 pg/mL。Liu等采用电化学法检测心肌肌钙蛋白I,检测范围为0.05 ~ 3 ng/mL,检测限为50 pg/mL(*Analytica Chimica Acta*,2016,909:1-8)。上述两种方法虽然实现了对心肌肌钙蛋白I的检测,但检测精度不是很高。光电化学免疫传感器是免疫学原理与光敏材料的光电转换特性所结合的产物。在光电化学免疫检测的过程中,利用光能激发光敏材料,电流作为检测信号。待测物会对光电转换材料的光电转换效率产生影响,根据影响大小的不同便可对待测物进行定量分析。由于光电检测中激发信号-光与被检信号-电流属不同的能量形式,信号检测干扰非常小,这可以大大降低光电化学免疫传感器的检测限。

[0004] 作为光电传感器的重要组成部分,光敏材料是影响传感器性能等重要因素。因此,选用光电转换效率高、低成本、无污染的光敏材料非常重要。片状硫钼化铜是一种具有代表性的三元过渡金属硫化物,具有地球资源丰富、无污染和低成本的优点。其禁带宽度适中,在可见光下有光响应。本发明采用连续离子吸附与反应法在石墨烯/片状硫钼化铜导电玻璃的表面生长了锰掺杂硫化镉,制备出了石墨烯/片状硫钼化铜/锰掺杂硫化镉复合材料,实现了对心肌肌钙蛋白I的检测。测试结果显示该光电化学免疫传感器灵敏度高,检出限低,稳定性好,基于上述发现,发明人完成了本发明。

### 发明内容

[0005] 本发明的目的之一是基于三元过渡金属硫化物片状硫钼化铜构建了一种新型的无标型光电化学免疫传感器。

[0006] 本发明的目的之二是提供一种基于石墨烯/片状硫钼化铜/锰掺杂硫化镉为基底材料的光电化学免疫传感器的制备方法,该方法制备的传感器稳定性好、灵敏度高、特异性强、重现性好和检测速度快。

[0007] 本发明的目的之三是实现了所述光电化学免疫传感器的构建并且对心肌肌钙蛋白I进行了有效的检测,达到了所述光电化学免疫传感器在测定心肌肌钙蛋白I的用途。

[0008] 本发明的技术方案：

[0009] 1. 一种基于片状硫钼化铜的心肌肌钙蛋白I免疫传感器的构建

[0010] (1) 将ITO导电玻璃依次用洗洁精、丙酮、乙醇、乙醇/超纯水的体积比为1:1的1 mol/L氢氧化钠溶液和超纯水分别超声清洗0.5 h, 在70 °C的氮气环境中干燥140 min;

[0011] (2) 取10 μL的石墨烯/片状硫钼化铜水溶液滴加到ITO导电玻璃的导电面, 室温下晾干;

[0012] (3) 采用连续离子吸附与反应的方法将锰掺杂硫化镉修饰在石墨烯/片状硫钼化铜导电玻璃上, 制得石墨烯/片状硫钼化铜/锰掺杂硫化镉电极;

[0013] (4) 将上述修饰好的电极浸入到10 mmol/L 巯基乙酸溶液中, 10 min后取出, 然后滴加体积比为1:1的400 mmol/L 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基) 碳二亚胺盐酸盐溶液和100 mmol/L N-羟基琥珀酰亚胺溶液的混合溶液5 μL; 在4 °C冰箱中孵化1 h后用超纯水冲洗电极表面, 室温下晾至湿润薄膜状态;

[0014] (5) 依次滴加5 μL、1 ~ 10 μg/mL的心肌肌钙蛋白I抗体溶液, 5 μL、质量分数为0.5% ~ 2%的牛血清白蛋白溶液, 4 °C下孵化3 h后用pH 7.4的磷酸盐缓冲液清洗, 自然晾至湿润薄膜状态;

[0015] (6) 滴加5 μL浓度为5 pg/mL ~ 1 μg/mL心肌肌钙蛋白I溶液, 4 °C恒温孵化1 h后磷酸盐缓冲液冲洗电极表面, 制得一种检测心肌肌钙蛋白I的无标型光电化学免疫传感器。

[0016] 2. 片状硫钼化铜的制备

[0017] (1) 氧化亚铜的制备

[0018] 0.1905 g的二合水氯化铜和3.333 g的聚乙烯吡咯烷酮通过磁力搅拌溶解于100 mL的超纯水中, 然后10.0 mL、2.0 mol/L氢氧化钠溶液和10.0 mL、0.6 mol/L抗坏血酸溶液依次逐滴加入; 搅拌1 ~ 3 h后形成一种浑浊的黄色液体, 用超纯水和无水乙醇分别离心洗涤三次, 然后样品在60 °C的真空干燥箱中干燥12 h;

[0019] (2) 片状硫钼化铜的制备

[0020] 30 mg的二合水钼酸钠和60 mg的硫代乙酰胺溶解在20 mL的乙二醇中, 然后加入20 mg 上述合成的氧化亚铜粉末, 超声5 min后, 磁力搅拌5 min, 混合液体由黄色变为深棕色, 然后溶液转移至45 mL的反应釜中, 190 ~ 210 °C反应24 h, 最后产品用超纯水和无水乙醇分别离心洗涤三次去除杂质, 在60 °C的真空干燥箱中干燥12 h。

[0021] 3. 石墨烯/片状硫钼化铜/锰掺杂硫化镉电极的制备

[0022] (1) 石墨烯/片状硫钼化铜水溶液的制备

[0023] 取0.10 ~ 0.85 mg石墨烯分别溶于0.5 mL超纯水中, 超声2 h之后再向该溶液中分别加入0.5 mL浓度为4 ~ 12 mg/mL的片状硫钼化铜溶液, 搅拌5 h使其分散均匀, 得到石墨烯浓度为0.10 ~ 0.85 mg/mL以及片状硫钼化铜浓度为2 ~ 6 mg/mL的石墨烯/片状硫钼化铜水溶液;

[0024] (2) 石墨烯/片状硫钼化铜/锰掺杂硫化镉电极的制备

[0025] 将10 μL石墨烯/片状硫钼化铜水溶液滴加在ITO导电玻璃的导电面, 室温晾干后滴加5 μL质量分数为0.5%的壳聚糖水溶液, 自然晾干形成薄膜从而增加石墨烯/片状硫钼化铜材料与ITO导电玻璃的粘附力; 然后采用连续离子吸附与反应的方法将ITO导电玻璃依次浸入0.1 mol/L并混有0.08 mol/L乙酸锰的硝酸铬甲醇溶液、甲醇/水的体积比为1:1的

0.1 mol/L硫化钠溶液各30 s,每次浸入后ITO导电玻璃用甲醇溶液清洗,此过程重复1 ~ 10次,得到石墨烯/片状硫钼化铜/锰掺杂硫化镉电极。

[0026] 4. 心肌肌钙蛋白I的检测

[0027] (1)使用光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,制备的ITO修饰电极为工作电极,在12 mL、pH 为7.4的溶有浓度为0.01 ~ 0.3 mol/L的抗坏血酸的PBS缓冲溶液中进行测试;

[0028] (2)用时间-电流法对心肌肌钙蛋白I标准溶液进行检测,设置电压为0 V,运行时间120 s,光源波长为365 ~ 530 nm;

[0029] (3)电极放置好之后,每隔20 s开灯持续照射20 s,记录光电流,绘制工作曲线。

[0030] 本发明的有益成果

[0031] (1)本发明采用连续离子吸附与反应法成功地在石墨烯/片状硫钼化铜表面原位生长了锰掺杂硫化镉,得到了石墨烯/片状硫钼化铜/锰掺杂硫化镉新型复合材料。其中片状硫钼化铜与锰掺杂硫化镉的能带匹配良好,石墨烯的加入增加了电子传递能力,所合成的石墨烯/片状硫钼化铜/锰掺杂硫化镉复合材料的吸光强度增强,使传感器的灵敏度显著提高。

[0032] (2)本发明以制备的光电化学免疫传感器用于心肌肌钙蛋白I的检测,该光电化学传感器稳定性高,重现性好,灵敏度高,线性范围宽,可以实现简单、快速、高灵敏和特异性检测。

### 具体实施方案

[0033] 实施例1 一种基于片状硫钼化铜的心肌肌钙蛋白I免疫传感器的构建

[0034] (1)将ITO导电玻璃依次用洗洁精、丙酮、乙醇、乙醇/超纯水的体积比为1:1的1 mol/L氢氧化钠溶液和超纯水分别超声清洗0.5 h,在70 °C的氮气环境中干燥140 min;

[0035] (2)取10 μL的石墨烯/片状硫钼化铜水溶液滴加到ITO导电玻璃的导电面,室温下晾干;

[0036] (3)采用连续离子吸附与反应的方法将锰掺杂硫化镉修饰在石墨烯/片状硫钼化铜导电玻璃上,制得石墨烯/片状硫钼化铜/锰掺杂硫化镉电极;

[0037] (4)将上述修饰好的电极浸入到10 mmol/L 巯基乙酸溶液中,10 min后取出,然后滴加体积比为1:1的400 mmol/L 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐溶液和100 mmol/L N-羟基琥珀酰亚胺溶液的混合溶液5 μL;在4 °C冰箱中孵化1 h后用超纯水冲洗电极表面,室温下晾至湿润薄膜状态;

[0038] (5)依次滴加5 μL、1 μg/mL的心肌肌钙蛋白I抗体溶液,5 μL、质量分数为0.5%的牛血清白蛋白溶液,4 °C下孵化3 h后用pH 7.4的磷酸盐缓冲液清洗,自然晾至湿润薄膜状态;

[0039] (6)滴加5 μL浓度为5 pg/mL ~ 1 μg/mL心肌肌钙蛋白I溶液,4 °C恒温孵化1 h后磷酸盐缓冲液冲洗电极表面,制得一种检测心肌肌钙蛋白I的无标型光电化学免疫传感器。

[0040] 实施例2 一种基于片状硫钼化铜的心肌肌钙蛋白I免疫传感器的构建

[0041] (1)将ITO导电玻璃依次用洗洁精、丙酮、乙醇、乙醇/超纯水的体积比为1:1的1 mol/L氢氧化钠溶液和超纯水分别超声清洗0.5 h,在70 °C的氮气环境中干燥140 min;

[0042] (2)取10  $\mu\text{L}$ 的石墨烯/片状硫钼化铜水溶液滴加到ITO导电玻璃的导电面,室温下晾干;

[0043] (3)采用连续离子吸附与反应的方法将锰掺杂硫化镉修饰在石墨烯/片状硫钼化铜导电玻璃上,制得石墨烯/片状硫钼化铜/锰掺杂硫化镉电极;

[0044] (4)将上述修饰好的电极浸入到10 mmol/L 巯基乙酸溶液中,10 min后取出,然后滴加体积比为1:1的400 mmol/L 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐溶液和100 mmol/L N-羟基琥珀酰亚胺溶液的混合溶液5  $\mu\text{L}$ ;在4  $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中孵化1 h后用超纯水冲洗电极表面,室温下晾至湿润薄膜状态;

[0045] (5)依次滴加5  $\mu\text{L}$ 、5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的心肌肌钙蛋白I抗体溶液,5  $\mu\text{L}$ 、质量分数为1%的牛血清白蛋白溶液,4  $^{\circ}\text{C}$ 下孵化3 h后用pH 7.4的磷酸盐缓冲液清洗,自然晾至湿润薄膜状态;

[0046] (6)滴加5  $\mu\text{L}$ 浓度为5  $\text{pg}/\text{mL}$  ~ 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 心肌肌钙蛋白I溶液,4  $^{\circ}\text{C}$ 恒温孵化1 h后磷酸盐缓冲液冲洗电极表面,制得一种检测心肌肌钙蛋白I的无标型光电化学免疫传感器。

[0047] 实施例3 一种基于片状硫钼化铜的心肌肌钙蛋白I免疫传感器的构建

[0048] (1)将ITO导电玻璃依次用洗洁精、丙酮、乙醇、乙醇/超纯水的体积比为1:1的1 mol/L氢氧化钠溶液和超纯水分别超声清洗0.5 h,在70  $^{\circ}\text{C}$ 的氮气环境中干燥140 min;

[0049] (2)取10  $\mu\text{L}$ 的石墨烯/片状硫钼化铜水溶液滴加到ITO导电玻璃的导电面,室温下晾干;

[0050] (3)采用连续离子吸附与反应的方法将锰掺杂硫化镉修饰在石墨烯/片状硫钼化铜导电玻璃上,制得石墨烯/片状硫钼化铜/锰掺杂硫化镉电极;

[0051] (4)将上述修饰好的电极浸入到10 mmol/L 巯基乙酸溶液中,10 min后取出,然后滴加体积比为1:1的400 mmol/L 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐溶液和100 mmol/L N-羟基琥珀酰亚胺溶液的混合溶液5  $\mu\text{L}$ ;在4  $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中孵化1 h后用超纯水冲洗电极表面,室温下晾至湿润薄膜状态;

[0052] (5)依次滴加5  $\mu\text{L}$ 、10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的心肌肌钙蛋白I抗体溶液,5  $\mu\text{L}$ 、质量分数为2%的牛血清白蛋白溶液,4  $^{\circ}\text{C}$ 下孵化3 h后用pH 7.4的磷酸盐缓冲液清洗,自然晾至湿润薄膜状态;

[0053] (6)滴加5  $\mu\text{L}$ 浓度为5  $\text{pg}/\text{mL}$  ~ 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 心肌肌钙蛋白I溶液,4  $^{\circ}\text{C}$ 恒温孵化1 h后磷酸盐缓冲液冲洗电极表面,制得一种检测心肌肌钙蛋白I的无标型光电化学免疫传感器。

[0054] 实施例4 片状硫钼化铜的制备

[0055] (1)氧化亚铜的制备

[0056] 0.1905 g的二合水氯化铜和3.333 g的聚乙烯吡咯烷酮通过磁力搅拌溶解于100 mL的超纯水中,然后10.0 mL、2.0 mol/L氢氧化钠溶液和10.0 mL、0.6 mol/L抗坏血酸溶液依次逐滴加入;搅拌1 h后形成一种浑浊的黄色液体,用超纯水和无水乙醇分别离心洗涤三次,然后样品在60  $^{\circ}\text{C}$ 的真空干燥箱中干燥12 h;

[0057] (2)片状硫钼化铜的制备

[0058] 30 mg的二合水钼酸钠和60 mg的硫代乙酰胺溶解在20 mL的乙二醇中,然后加入20 mg 上述合成的氧化亚铜粉末,超声5 min后,磁力搅拌5 min,混合液体由黄色变为深棕色,然后溶液转移至45 mL的反应釜中,190  $^{\circ}\text{C}$ 反应24 h,最后产品用超纯水和无水乙醇分

别离心洗涤三次去除杂质,在60 °C的真空干燥箱中干燥12 h。

[0059] 实施例5 片状硫钼化铜的制备

[0060] (1)氧化亚铜的制备

[0061] 0.1905 g的二合水氯化铜和3.333 g的聚乙烯吡咯烷酮通过磁力搅拌溶解于100 mL的超纯水中,然后10.0 mL、2.0 mol/L氢氧化钠溶液和10.0 mL、0.6 mol/L抗坏血酸溶液依次逐滴加入;搅拌2 h后形成一种浑浊的黄色液体,用超纯水和无水乙醇分别离心洗涤三次,然后样品在60 °C的真空干燥箱中干燥12 h;

[0062] (2)片状硫钼化铜的制备

[0063] 30 mg的二合水钼酸钠和60 mg的硫代乙酰胺溶解在20 mL的乙二醇中,然后加入20 mg 上述合成的氧化亚铜粉末,超声5 min后,磁力搅拌5 min,混合液体由黄色变为深棕色,然后溶液转移至45 mL的反应釜中,200 °C反应24 h,最后产品用超纯水和无水乙醇分别离心洗涤三次去除杂质,在60 °C的真空干燥箱中干燥12 h。

[0064] 实施例6 片状硫钼化铜的制备

[0065] (1)氧化亚铜的制备

[0066] 0.1905 g的二合水氯化铜和3.333 g的聚乙烯吡咯烷酮通过磁力搅拌溶解于100 mL的超纯水中,然后10.0 mL、2.0 mol/L氢氧化钠溶液和10.0 mL、0.6 mol/L抗坏血酸溶液依次逐滴加入;搅拌3 h后形成一种浑浊的黄色液体,用超纯水和无水乙醇分别离心洗涤三次,然后样品在60 °C的真空干燥箱中干燥12 h;

[0067] (2)片状硫钼化铜的制备

[0068] 30 mg的二合水钼酸钠和60 mg的硫代乙酰胺溶解在20 mL的乙二醇中,然后加入20 mg 上述合成的氧化亚铜粉末,超声5 min后,磁力搅拌5 min,混合液体由黄色变为深棕色,然后溶液转移至45 mL的反应釜中,210 °C反应24 h,最后产品用超纯水和无水乙醇分别离心洗涤三次去除杂质,在60 °C的真空干燥箱中干燥12 h。

[0069] 实施例7 石墨烯/片状硫钼化铜/锰掺杂硫化镉电极的制备

[0070] (1)石墨烯/片状硫钼化铜水溶液的制备

[0071] 取0.10 mg石墨烯溶于0.5 mL超纯水中,超声2 h之后再向该溶液中加入0.5 mL浓度为4 mg/mL的片状硫钼化铜溶液,搅拌5 h使其分散均匀,得到石墨烯浓度为0.10 mg/mL以及片状硫钼化铜浓度为2 mg/mL的石墨烯/片状硫钼化铜水溶液;

[0072] (2)石墨烯/片状硫钼化铜/锰掺杂硫化镉电极的制备

[0073] 将10 μL石墨烯/片状硫钼化铜水溶液滴加在ITO导电玻璃的导电面,室温晾干后滴加5 μL质量分数为0.5%的壳聚糖水溶液,自然晾干形成薄膜从而增加石墨烯/片状硫钼化铜材料与ITO导电玻璃的粘附力;然后采用连续离子吸附与反应的方法将ITO导电玻璃依次浸入0.1 mol/L并混有0.08 mol/L乙酸锰的硝酸铬甲醇溶液、甲醇/水的体积比为1:1的0.1 mol/L硫化钠溶液各30 s,每次浸入后ITO导电玻璃用甲醇溶液清洗,此过程重复1次,得到石墨烯/片状硫钼化铜/锰掺杂硫化镉电极。

[0074] 实施例8 石墨烯/片状硫钼化铜/锰掺杂硫化镉电极的制备

[0075] (1)石墨烯/片状硫钼化铜水溶液的制备

[0076] 取0.25 mg石墨烯溶于0.5 mL超纯水中,超声2 h之后再向该溶液中加入0.5 mL浓度为6 mg/mL的片状硫钼化铜溶液,搅拌5 h使其分散均匀,得到石墨烯浓度为0.25 mg/mL

以及片状硫钼化铜浓度为3 mg/mL的石墨烯/片状硫钼化铜水溶液；

[0077] (2) 石墨烯/片状硫钼化铜/锰掺杂硫化镉电极的制备

[0078] 将10  $\mu$ L石墨烯/片状硫钼化铜水溶液滴加在ITO导电玻璃的导电面,室温晾干后滴加5  $\mu$ L质量分数为0.5%的壳聚糖水溶液,自然晾干形成薄膜从而增加石墨烯/片状硫钼化铜材料与ITO导电玻璃的粘附力;然后采用连续离子吸附与反应的方法将ITO导电玻璃依次浸入0.1 mol/L并混有0.08 mol/L乙酸锰的硝酸铬甲醇溶液、甲醇/水的体积比为1:1的0.1 mol/L硫化钠溶液各30 s,每次浸入后ITO导电玻璃用甲醇溶液清洗,此过程重复5次,得到石墨烯/片状硫钼化铜/锰掺杂硫化镉电极。

[0079] 实施例9 石墨烯/片状硫钼化铜/锰掺杂硫化镉电极的制备

[0080] (1) 石墨烯/片状硫钼化铜水溶液的制备

[0081] 取0.85 mg石墨烯溶于0.5 mL超纯水中,超声2 h之后再向该溶液中加入0.5 mL浓度为12 mg/mL的片状硫钼化铜溶液,搅拌5 h使其分散均匀,得到石墨烯浓度为0.85 mg/mL以及片状硫钼化铜浓度为6 mg/mL的石墨烯/片状硫钼化铜水溶液;

[0082] (2) 石墨烯/片状硫钼化铜/锰掺杂硫化镉电极的制备

[0083] 将10  $\mu$ L石墨烯/片状硫钼化铜水溶液滴加在ITO导电玻璃的导电面,室温晾干后滴加5  $\mu$ L质量分数为0.5%的壳聚糖水溶液,自然晾干形成薄膜从而增加石墨烯/片状硫钼化铜材料与ITO导电玻璃的粘附力;然后采用连续离子吸附与反应的方法将ITO导电玻璃依次浸入0.1 mol/L并混有0.08 mol/L乙酸锰的硝酸铬甲醇溶液、甲醇/水的体积比为1:1的0.1 mol/L硫化钠溶液各30 s,每次浸入后ITO导电玻璃用甲醇溶液清洗,此过程重复10次,得到石墨烯/片状硫钼化铜/锰掺杂硫化镉电极。

[0084] 实施例10 心肌肌钙蛋白I的检测

[0085] (1) 使用光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,制备的ITO修饰电极为工作电极,在12 mL、pH 为7.4的溶有浓度为0.01 mol/L的抗坏血酸的PBS缓冲溶液中进行测试;

[0086] (2) 用时间-电流法对心肌肌钙蛋白I标准溶液进行检测,设置电压为0 V,运行时间120 s,光源波长为365 nm;

[0087] (3) 电极放置好之后,每隔20 s开灯持续照射20 s,记录光电流,绘制工作曲线。

[0088] 实施例11 心肌肌钙蛋白I的检测

[0089] (1) 使用光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,制备的ITO修饰电极为工作电极,在12 mL、pH 为7.4的溶有浓度为0.1 mol/L的抗坏血酸的PBS缓冲溶液中进行测试;

[0090] (2) 用时间-电流法对心肌肌钙蛋白I标准溶液进行检测,设置电压为0 V,运行时间120 s,光源波长为450 nm;

[0091] (3) 电极放置好之后,每隔20 s开灯持续照射20 s,记录光电流,绘制工作曲线。

[0092] 实施例12 心肌肌钙蛋白I的检测

[0093] (1) 使用光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,制备的ITO修饰电极为工作电极,在12 mL、pH 为7.4的溶有浓度为0.3 mol/L的抗坏血酸的PBS缓冲溶液中进行测试;

[0094] (2) 用时间-电流法对心肌肌钙蛋白I标准溶液进行检测,设置电压为0 V,运行时

间120 s,光源波长为530 nm;

[0095] (3)电极放置好之后,每隔20 s开灯持续照射20 s,记录光电流,绘制工作曲线。