

双电位比率型量子点 ECL 适配体传感器的构建及其应用

张馨怡^{1,2}, 石建军^{1,2}, 刘小青¹, 杨 萍¹

(1. 安徽理工大学 化学工程学院, 安徽 淮南 232001;
2. 安徽理工大学 环境友好材料与职业健康研究院, 安徽 芜湖 241003)

摘要:比率型电致化学发光适配体传感器检测目标时可显示两种不同的 ECL 信号, 以往对比率型 ECL 传感的研究大多基于鲁米诺-过氧化氢(Luminol-H₂O₂)体系。研究设计了一种基于硒化镉量子点(CdSe QDs)和钉联吡啶修饰的钉硅纳米粒子(RuSi@Ru(bpy)₃²⁺ NPs)的双电位比率型 ECL 适配体传感器, 用于卡那霉素超灵敏高选择性检测。分别选取 CdSe QDs 和 RuSi@Ru(bpy)₃²⁺ NPs 作为阴极和阳极 ECL 发光体。通过卡那霉素两条互补的适配体链作为连接 CdSe QDs 与 RuSi@Ru(bpy)₃²⁺ NPs 的媒介, 通过酰胺偶联反应在玻碳电极表面构建检测卡那霉素传感器。卡那霉素检测浓度范围为 1.0 fmol/L ~ 10 pmol/L。线性拟合方程为 $\Delta I = 0.132 \lg c + 2.133$, 相关系数为 0.999 (c 代表卡那霉素浓度, mol/L)。信噪比 $S/N = 3$ 时, 检测限(LOD)为 0.4 fmol/L。研究结果为两个 ECL 发光体构建比率型 ECL 传感器提供了新思路。

关键词:比率型电致化学发光; 适配体传感器; 硒化镉量子点; 钉硅纳米粒子; 抗生素

中图分类号: O65

文献标志码: A

文章编号: 1671-5322(2021)02-0058-08

卡那霉素是氨基糖苷类抗生素中最重要的的一类, 通过干扰蛋白质合成而被广泛应用于治疗由革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌引起的严重感染^[1]。然而, 氨基糖苷类抗生素如卡那霉素具有明显的肾毒性、耳毒性, 会造成前庭功能损害, 可导致休克甚至死亡^[2]。中国、欧盟、日本和美国都制定了氨基糖苷类抗生素的最大残留限量。高效液相色谱^[3](HPLC)等仪器分析方法具有较高的灵敏度和准确度, 但昂贵的仪器和复杂的前处理使得仪器分析方法在快速分析领域中并不占主导地位。卡那霉素检测中常用的显色法^[4], 卡那霉素的反应条件苛刻, 显色是选择的关键。因此, 发展简单、快速、灵敏、有选择性的卡那霉素检测技术具有重要意义。

电化学发光是一种高灵敏度的发光技术, 在药物分析、临床诊断、环境和食品分析、免疫分析以及 DNA 检测等领域受到广泛关注^[5]。基于单信号的 ECL 体系可能由于仪器效率或一些环境

变化而引入假阳性或假阴性误差^[6]。比率测定法依赖于两个激发电位下的 ECL 强度比, 相较于单个信号, 可以减少假阳性或假阴性信号, 使检测结果更可信。Zhang 等^[7]提出了一种新的双电位电化学发光比率传感方法, 采用 CdS 纳米晶体和鲁米诺作为两种不同的 ECL 发光体。鲁米诺-H₂O₂ 体系在双信号 ECL 生化分析和检测方面具有广阔的应用前景, 但鲁米诺检测大多需要碱性环境, 对中性条件有限制。

在以前的 ECL 比率测定中, 阴极和阳极 ECL 发光体通常共用相同的共反应物。Wang 等^[8]利用花状 CdS 三维组件和 RuSi@Ru(bpy)₃²⁺ NPs 分别固定在两个圆盘上作为阴极和阳极 ECL 发光体, 用于检测前列腺特异性抗原。考虑双极体系处理复杂, 本研究设计了一种基于 CdSe 量子点和 RuSi@Ru(bpy)₃²⁺ 的双电位比率型 ECL 适配体传感器, 用于卡那霉素检测。本文分别将 CdSe QDs 和 RuSi@Ru(bpy)₃²⁺ 作为阴极和阳极 ECL

收稿日期: 2021-03-17

基金项目: 国家自然科学基金(21505001); 安徽省科技重大专项(201903a06020003)。

作者简介: 张馨怡(1996—), 女, 安徽肥东人, 硕士生, 主要研究方向为电分析化学。

通信作者: 石建军(1974—), 男, 安徽怀远人, 教授, 博士, 主要研究方向为功能纳米材料及分析应用。

发光体。引入适配体,一方面与暴露的羧基进行酰胺偶联,另一方面特异性识别卡那霉素。通过检测不同浓度卡那霉素两种 ECL 强度的比值的变化,实现了卡那霉素的灵敏检测。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

氯化镉($\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$)、硒粉(Se)、硼氢化钠(NaBH_4)、曲拉通(Triton X-100)和 1-己醇购自天津光复化工研究院;环己烷、正硅酸四乙酯(TEOS)、氨水(NH_4OH)和氢氧化钠(NaOH)购自国药化学试剂有限公司; $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)、N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)、(3-氨基丙基)三乙氧基硅烷(APTES)购自上海阿拉丁生化科技有限公司;L-半胱氨酸、HPLC 纯化的 DNA 链购自生工生物技术(上海)有限公司,DNA 序列如下:捕获探针(Capture probes, CPs),5'-COOH-TTTT TTGG GGG TTGA GGCTA AGCCGA-3';辅助探针(Assistant probes, APs),5'-COOH-GGTT GGTG TGGT TGG TAGC CTCAA GGTG GGTG TGGT TGG-3'。化学品和溶剂均为分析级,整个研究过程中使用双蒸馏水。

由 UV-2550 分光光度计(日本岛津)测定紫外/可见吸收光谱;由 F-4600 分光光度计(日本日立)获得荧光光谱;通过 MPI-E 电化学发光分析仪(西安瑞迈)测量 ECL 信号;PGSTAT 302N 电化学工作站(瑞士万通)测量电化学信号;通过 H-600 高分辨率透射电子显微镜(日本日立)观察材料形貌。

1.2 L-cys-CdSe 量子点的合成

L-cys-CdSe QDs 合成参照文献[8]的方法,略有改动。具体制备过程如下:将 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 与 L-半胱氨酸(L-cys)(摩尔比为 1:3)加 150 mL 去离子水混合。用 0.1 mol L^{-1} NaOH 将 pH 调至 10,在氮气的保护下进行磁力搅拌反应,得到镉(Cd)源。同时,硒源(Se)合成:圆底烧瓶中加入,摩尔比为 1:1.5 的 Se 和 NaBH_4 ,加 10 mL 去离子水加热到 40 $^{\circ}\text{C}$,充满氮气反应 30 min。将合成的前驱体 Se 源加入 Cd 源 90 $^{\circ}\text{C}$ 冷凝回流反应 60 min。产物用乙醇沉淀,离心,乙醇洗涤 3 次。最终产物产品在水中溶解后,置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中避光保存。

1.3 $\text{RuSi@Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ NPs 的合成

合成 $\text{RuSi@Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ NPs 参考文献[9]微乳液法:将 1.77 mL Triton X-100,7.5 mL 环己烷,1.8 mL 1-己醇,340 μL $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ (40 mmol/L)通过磁搅拌混合形成油包水微乳液;加入 100 μL 的原硅酸四乙酯(TEOS)和 60 μL 的 NH_4OH ,水解反应持续 24 h,加入 10 mL 丙酮破坏乳状液,9 500 r/min 离心,乙醇和水洗涤;用 10% 的 APTES 乙醇溶液对得到的橙红色 RuSi NPs 进行氨基化处理 2 h,形成氨基功能化的 RuSi NPs。然后用乙醇冲洗纳米颗粒以去除松散结合的 APTES,并在超纯水中重新分散;10 μL $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ (质量分数 1%),NHS 和 500 μL 之前得到的(质量分数)氨基功能化 RuSi NPs 溶液在室温下搅拌 24 h。离心洗去多余的 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 和 NHS,然后重新分散在 500 μL 超纯水,获得 $\text{RuSi@Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ NPs。

1.4 $\text{RuSi@Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ -CPs 的合成

1.0 mol/L EDC 和 5.0 mol/L NHS 添加到 100 μL 2.5 mol/L CPs 溶液中,25 $^{\circ}\text{C}$ 1 h,活化 CPs 的羧基,加入 100 μL $\text{RuSi@Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ NPs 溶液,37 $^{\circ}\text{C}$ 反应 2 h,然后离心洗涤获得钉联吡啶修饰的钉硅纳米粒子标记的捕获探针($\text{RuSi@Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ -CPs)。

1.5 比率 ECL 适配体传感器的构建

首先,用 0.3 μm 和 0.05 μm 的氧化铝对 GCE 进行抛光,得到镜面状表面,然后分别在去离子水和乙醇中进行超声处理,氮气吹干待用。然后,将制备好的 12 μL CdSe QDs 悬浮液滴加于 GCE 裸表面,在空气中干燥,形成均匀的膜。随后,加入 10 μL 2.5 mol/L APs 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h。再加入 10 μL $\text{RuSi@Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ -CPs 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 2 h。每一步修饰后,在去离子水中浸洗。

配置不同浓度(10 pmol/L、1 pmol/L、0.1 pmol/L、10 fmol/L、1 fmol/L)卡那霉素溶液用于 ECL 检测。将构建好的卡那霉素 ECL 适配体传感器浸入卡那霉素溶液,37 $^{\circ}\text{C}$ 富集 1 h。浓度高的卡那霉素溶液会有更多的分子与适配体捕获链耦合,带走更多的适配体捕获链,阳极信号也因此下降,电极表面电阻减小,阴极信号增强。根据卡那霉素浓度与 ECL 阴阳极信号强度差值的比率建立线性关系,用于检测范围内的卡那霉素检测。

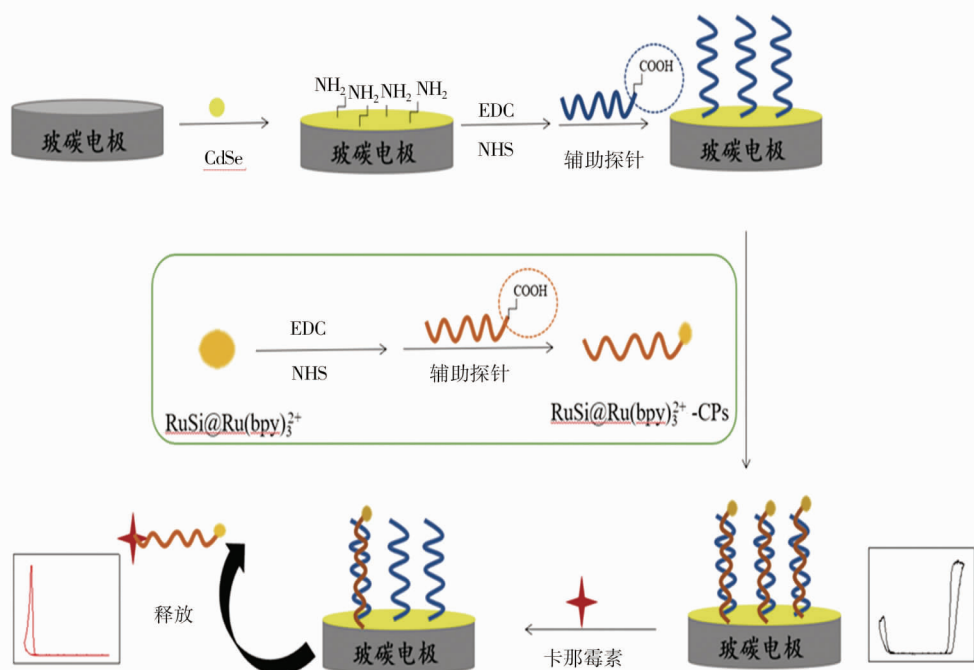


图 1 基于 CdSe QDs 和 $\text{RuSi}@\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 的比率型 ECL 适配体传感器检测卡那霉素原理图

Fig 1 Schematic diagram of kanamycin detection by ratiometric ECL aptasensor based on CdSe QDs and $\text{RuSi}@\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ NPs

2 结果与讨论

2.1 CdSe QDs 及 $\text{RuSi}@\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ NPs 表征

图 2 是 CdSe QDs 在水溶液中的紫外吸收光谱图和荧光光谱图,在 375 nm 的激发波长下,观察到最佳发射峰位置在 575 nm 处,半峰宽约在 30 ~ 50 nm,对应约 10% 的颗粒尺寸分布^[10],表明合成的硒化镉量子点粒径分布均一;而紫外吸收光谱显示,最大吸收峰位于 470 ~ 520 nm,由于量子限域效应^[11],反应时间和回流温度对硒化镉量子点的成核及生长至关重要;其中插图显示在 365 nm 的紫外灯照射下,CdSe QDs 发出淡黄色荧光。图 3 所示为 $\text{RuSi}@\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ NPs 在水溶液中的紫外吸收光谱图和荧光光谱图,在 360 nm 的激发波长下,观察到最佳发射峰位于 610 nm,其荧光强度高,半峰宽窄,表明尺寸分布均一;由于金属配位电荷转移效应^[12], $\text{RuSi}@\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ NPs 紫外吸收光谱在 453 nm 处显示特征峰,其中插图显示在 365 nm 的紫外灯照射下, $\text{RuSi}@\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ NPs 显示橙色荧光。图 4 是 RuSi 的高分辨透射电镜图,可以看到合成的 RuSi 呈表面光滑的圆球形。图 5 是 RuSi 的粒径分布图,可以看到 RuSi 粒子大小分布均匀,平均粒径约为 45.6 nm。

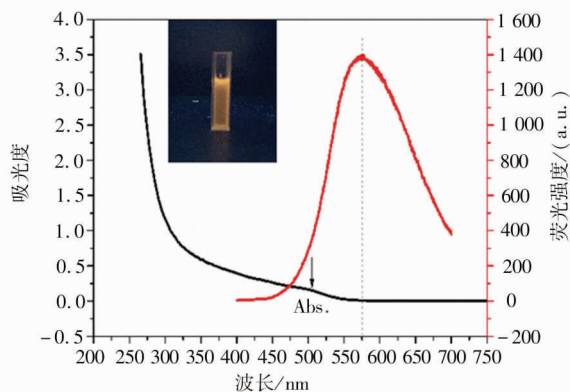


图 2 CdSe QDs 紫外吸收光谱和荧光光谱

Fig 2 UV absorption and fluorescence spectra of CdSe QDs

2.2 实验条件优化

Han 等^[13]指出,在负电位下, $\text{RuSi}@\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ NPs 会在过硫酸根 ($\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$) 存在的情况下发光,当另一个发光体的浓度超过临界值时,发光将熄灭。为了实现卡那霉素的灵敏检测,本文对共反应剂 ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, TPrA) 的浓度进行了探索。首先,在 0.1 mol/L PBS 缓冲液中加 0.1 mol/L $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$,改变 TPrA 的浓度,将传感器的阳极材料 $\text{RuSi}@\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ NPs 进行 ECL 强度检测。如图 6 所示,当 TPrA 浓度从 3 mmol/L 增加到 12 mmol/L,

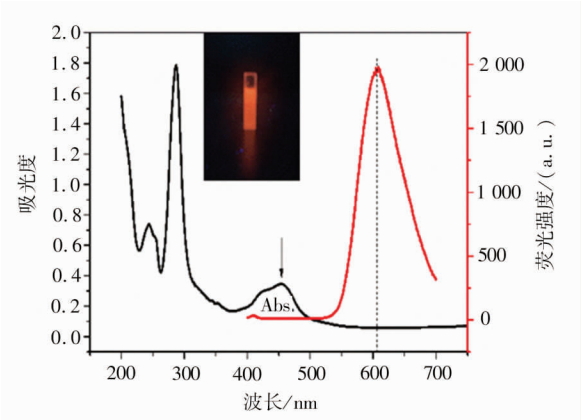


图 3 RuSi@ Ru(bpy)₃²⁺ NPs 紫外吸收光谱和荧光光谱

Fig 3 UV absorption and fluorescence spectra of RuSi@ Ru(bpy)₃²⁺ NPs

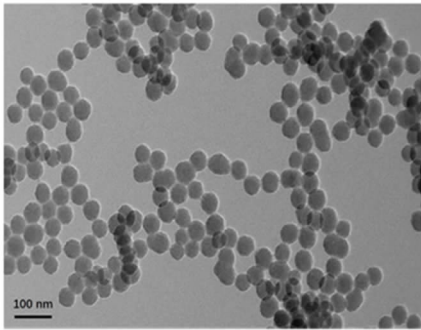


图 4 RuSi 透射电镜图

Fig 4 TEM of RuSi

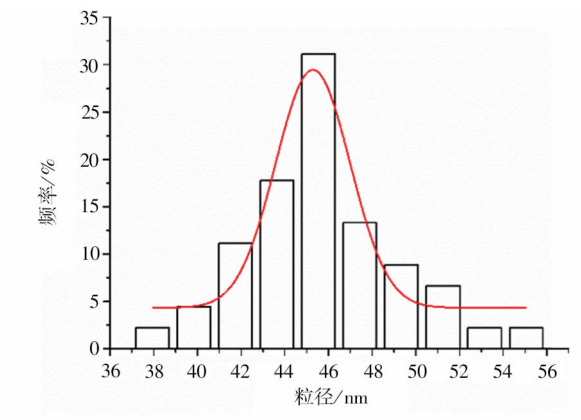


图 5 RuSi 粒径分布图

Fig 5 Particle size profile of RuSi

对应的 ECL 强度也逐步增加;当继续增大 TPrA 浓度至 15 mmol/L 时,ECL 信号反而下降。考虑到 TPrA 在水中的溶解度,故设置 TPrA 的最佳浓度为 12 mmol/L。随后,本研究讨论了阴极材料 CdSe QDs 在 0.1 mol/L PBS 上述 TPrA 的最佳浓度(12 mmol/L)中,共反应剂 K₂S₂O₈ 的最佳浓

度。如图 7 所示,随着 K₂S₂O₈ 的浓度从 0.08 mol/L 增加到 0.10 mol/L,ECL 强度不断提高;当 K₂S₂O₈ 的浓度从 0.10 mol/L 增加到 0.12 mol/L 时,ECL 信号强度反而下降。总的来说,在该比率型 ECL 传感器检测体系中,K₂S₂O₈ 和 TPrA 的最佳浓度分别是 0.1 mol/L 和 12 mmol/L。

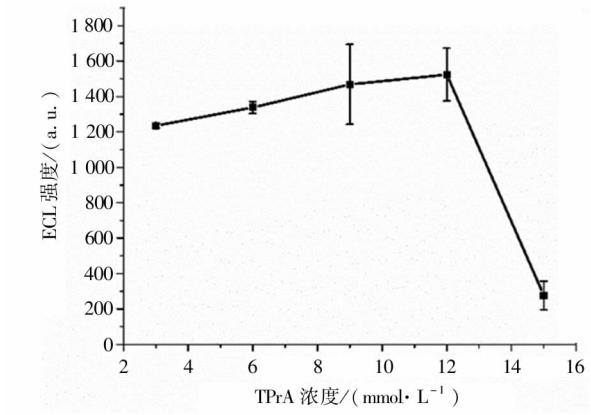


图 6 ECL 强度随 TPrA 浓度变化

Fig 6 ECL intensity varies with TPrA concentration

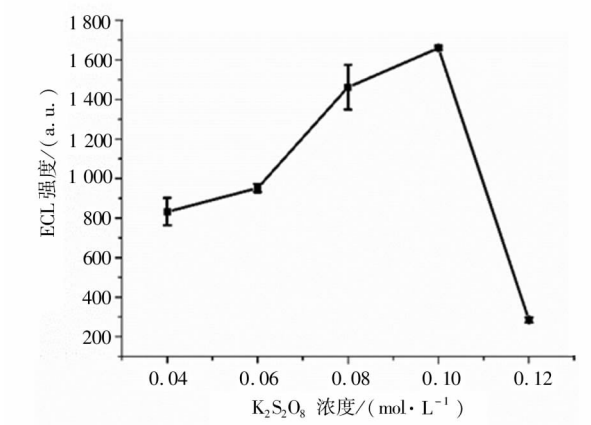


图 7 ECL 强度随 K₂S₂O₈ 浓度变化

Fig 7 ECL intensity varies with the concentration of K₂S₂O₈

2.3 ECL 适配体传感器组装过程表征

图 8 中 a、b、c、d 分别是裸 GCE、CdSe/GCE、APs/CdSe/GCE、RuSi@ Ru(bpy)₃²⁺ - CPs/APs/CdSe/GCE 适配体传感器层层组装过程 ECL 信号变化图。由图可知,在 0.1 mol/L PBS(pH 7.0) 含 0.1 mol/L K₂S₂O₈ 和 30 mmol/L TPrA 的检测溶液中,裸 GCE 几乎观察不到 ECL 信号产生;CdSe/GCE 显示阴极 - 1.6 V 处强 ECL 发射,这是由于修饰到电极表面的 CdSe QDs 被还原成量子点自由基(CdSe QDs^{•-}),同时与过硫酸钾还原产物反应,生成激发态的量子点(CdSe QDs^{*}),回

落到基态,产生 ECL 光;APs/CdSe/GCE 相较于 CdSe/GCE 的发光强度有所下降,可能是辅助链的加入阻碍了量子点与共反应剂直接接触;RuSi@Ru(bpy)₃²⁺ - CPs/APs/CdSe/GCE 较 APs/CdSe/GCE 阴极 ECL 信号进一步降低,但是在 +1.4 V 处观测到阳极 ECL,这是 RuSi@Ru(bpy)₃²⁺ NPs 与电解液中 TPrA 作用。据文献[8]分析,RuSi@Ru(bpy)₃²⁺ NPs 也可与 K₂S₂O₈ 反应,产生阴极 ECL,但是当 RuSi@Ru(bpy)₃²⁺ NPs 浓度达到一定界值时,RuSi@Ru(bpy)₃²⁺ NPs 产生的阴极 ECL 可以忽略。图 9 中 a、b、c、d 分别是裸 GCE、CdSe/GCE、APs/CdSe/GCE、RuSi@Ru(bpy)₃²⁺ - CPs/APs/CdSe/GCE 适配体传感器层层组装过程交流阻抗图。由图可知,CdSe/GCE 与裸电极相比,电阻增大,而 APs/CdSe/GCE 较 CdSe/GCE,电子转移电阻减小,DNA 放大信号作用^[14],由于 RuSi@Ru(bpy)₃²⁺ 和 DNA 共同作用,RuSi@Ru(bpy)₃²⁺ - CPs/APs/CdSe/GCE 电阻进一步降低,促进电子转移。

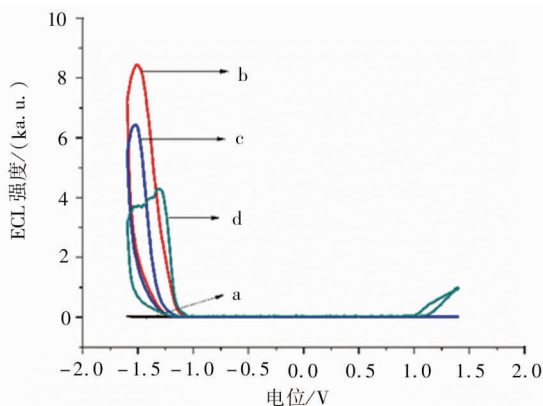


图 8 ECL 信号变化图

Fig 8 ECL signal changes diagram

两种 ECL 发光体可能的 ECL 机理^[15-16]如下:

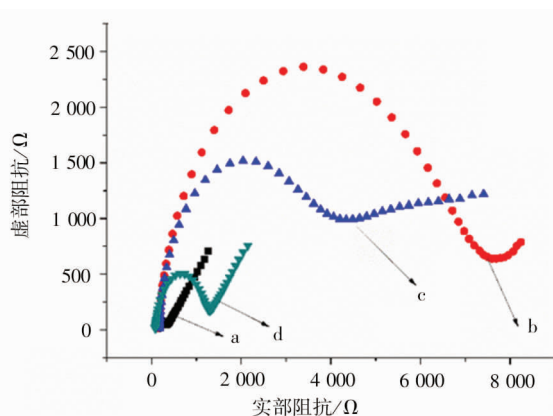
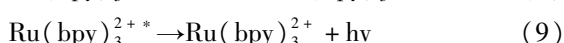
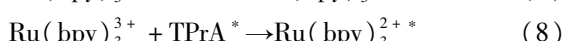
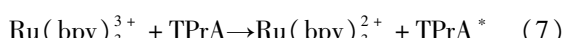
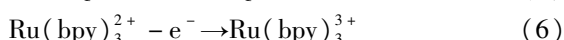
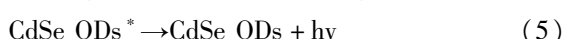
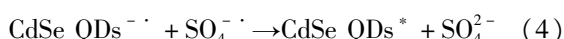
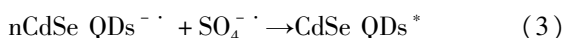
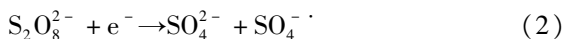


图 9 交流阻抗图

Fig 9 EIS impedance diagram

2.4 传感器在检测抗生素卡那霉素中的应用

组装的 ECL 适配体传感器用来检测实验室配制的模拟废水中的抗生素卡那霉素,如图 10 是随着卡那霉素浓度增加,阴极 ECL 强度逐渐恢复增强。卡那霉素浓度增加,与捕获链作用,带走的 DNA 数量增多,阴极 ECL 信号逐渐恢复;阳极发光体与捕获链耦合,捕获链从电极表面竞争脱离,也带走了部分阳极发光体,导致阳极信号的衰减^[17]。图 11 是阴极信号比值与阳极信号比值的差值与卡那霉素浓度对数线性拟合关系图,线性方程为 $y = 0.133x + 2.133$ ($R^2 = 0.999$),检测限为 0.4 fmol/L ($S/N = 3$)。

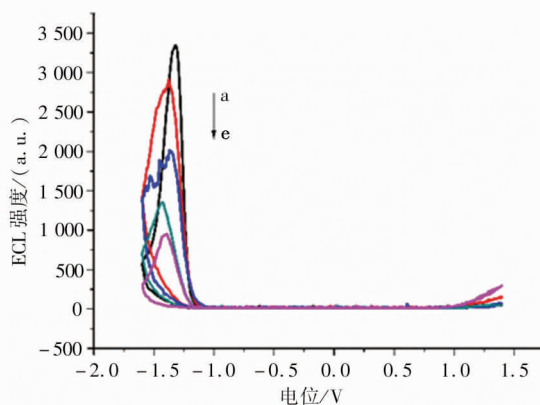


图 10 ECL 强度与卡那霉素浓度关系图 a~e:

10 pmol/L、1 pmol/L、0.1 pmol/L、
10 fmol/L、1 fmol/L

Fig 10 Relationship between ECL intensity and kanamycin concentration a~e: 10 pmol/L、
1 pmol/L、0.1 pmol/L、10 fmol/L、1 fmol/L

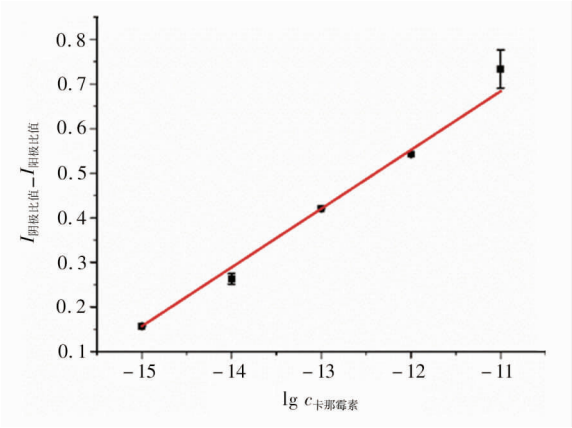


图 11 线性拟合关系图
Fig 11 Linear fitting diagram

对于传感器来说,稳定性和选择性至关重要,如图 12 是 ECL 适配体传感器在 500 s 内的 ECL 信号变化图,由图可见,阴极和阳极信号稳定,具有较高的灵敏度,可以用来检测抗生素卡那霉素。图 13 是不同抗生素对构建的 ECL 适配体传感器的信号响应。由图可知与空白溶液相比,干扰物质对所制备传感器的 ECL 响应无明显影响,而在目标物卡那霉素存在下,ECL 响应信号显著增大,表明所构建的 ECL 传感器具有较好的选择性。

表 1 为 ECL 适配体传感器与其他卡那霉素检测方法之间的比较。由表可知,本文构建的传感器,检测限低,检测范围较宽,归因于适配体的引入实现了卡那霉素的特异性识别,阴阳极 ECL 信号的比值变化大大消除了假阴性影响。

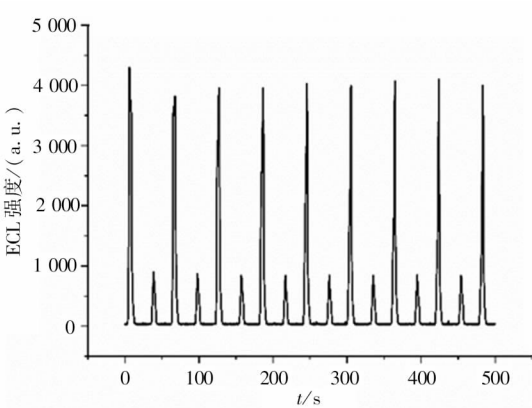


图 12 ECL 强度随时间变化图
Fig 12 ECL intensity with time

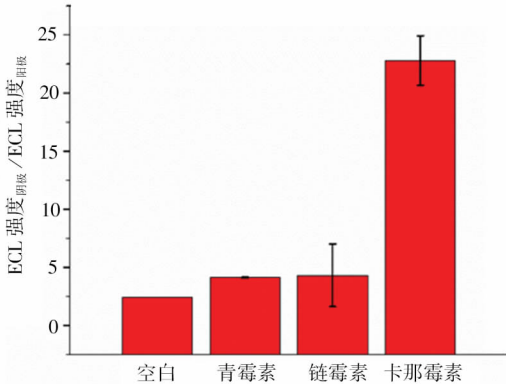


图 13 不同抗生素的 ECL 响应图
Fig 13 ECL response of different antibiotics

表 1 卡那霉素检测方法的比较
Table 1 Comparison of different detection methods

方法	线性范围	检测限	文献
电致化学发光法	17 ~ 150 pmol/L	45 pmol/L	[18]
比色法	0.1 pg/mL ~ 10 ng/mL	0.045 pg/mL	[19]
荧光法	0.8 ~ 350 nmol/L	0.3 nmol/L	[20]
荧光法	0.05 ~ 10.0 μg/mL	0.013 μg/mL	[21]
电致化学发光法	1.0 fmol/L ~ 10 pmol/L	0.4 fmol/L	本工作

3 结论

本文设计了一种基于硒化镉量子点和钌硅纳米粒子双信号比率型电致化学发光适配体传感器,用来检测抗生素卡那霉素。合成的 L-cys-CdSe QDs,半峰宽窄,尺寸均一;合成圆球形的钌硅粒子,进行表面钌联吡啶的修饰,合成 RuSi@Ru(bpy)₃²⁺ NP's 以提高钌硅粒子的光学性能。通过酰胺偶联反应在玻碳电极表面将卡那霉素两

条互补的适配体链和 CdSe QDs、RuSi@Ru(bpy)₃²⁺ NPs 进行传感器组装,适配体可以放大 ECL 检测信号,实现卡那霉素特异性检测。该检测体系中,共反应剂 K₂S₂O₈ 和 TPrA 的最佳浓度分别是 0.1 mol/L 和 12 mmol/L;卡那霉素的检测浓度范围在 1.0 fmol/L ~ 10 pmol/L,检测限0.4 fmol/L。该 ECL 传感器具有高灵敏度、高选择性、操作简便等优点,在卡那霉素检测方面具有良好的应用前景。

参考文献:

- [1] ROBATI R Y, ARAB A, RAMEZANI M, et al. Aptasensors for quantitative detection of kanamycin[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2016,82:162-172.
- [2] LIAO Q G, WEI B H, LUO L G. Aptamer based fluorometric determination of kanamycin using double-stranded DNA and carbon nanotubes[J]. *Microchimica Acta*, 2017,184(2):627-632.
- [3] ZHANG X P, WANG J J, WU Q H, et al. Determination of kanamycin by high performance liquid chromatography[J]. *Molecules*, 2019,24(10):1902.
- [4] LAI C, LIU X G, QIN L, et al. Chitosan-wrapped gold nanoparticles for hydrogen-bonding recognition and colorimetric determination of the antibiotic kanamycin[J]. *Microchimica Acta*, 2017,184(7):2097-2105.
- [5] WANG Y F, SHAN D L, WU G F, et al. A novel “dual-potential” ratiometric electrochemiluminescence DNA sensor based on enhancing and quenching effect by G-quadruplex/hemin and Au-Luminol bifunctional nanoparticles[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2018,106:64-70.
- [6] KASHANI F Z, GHOREISHI S M, KHOobi A, et al. A carbon paste electrode modified with a nickel titanate nanoceramic for simultaneous voltammetric determination of ortho-and Para-hydroxybenzoic acids[J]. *Microchimica Acta*, 2018,186(1):1-8.
- [7] ZHANG H R, XU J J, CHEN H Y. Electrochemiluminescence ratiometry: a new approach to DNA biosensing[J]. *Analytical Chemistry*, 2013,85(11):5321-5325.
- [8] WANG Y L, LIU F R, CAO J T, et al. Spatial-resolved dual-signal-output electrochemiluminescent ratiometric strategy for accurate and sensitive immunoassay[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2018,102:525-530.
- [9] LU H J, PAN J B, WANG Y Z, et al. Electrochemiluminescence energy resonance transfer system between RuSi nanoparticles and hollow Au nanocages for nucleic acid detection[J]. *Analytical Chemistry*, 2018,90(17):10434-10441.
- [10] CHEN G F, ZHAI S Y, ZHAI Y L, et al. Preparation of sulfonic-functionalized graphene oxide as ion-exchange material and its application into electrochemiluminescence analysis[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2011,26(7):3136-3141.
- [11] YANG X K, QIAO J W, CHEN Z H, et al. CdSe quantum dot organic solar cells with improved photovoltaic performance[J]. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2021,54(11):115504.
- [12] DANG J, GUO Z H, ZHENG X W. Label-free sensitive electrogenerated chemiluminescence aptasensing based on chitosan/Ru(bpy)₃²⁺/silica nanoparticles modified electrode[J]. *Analytical Chemistry*, 2014,86(18):8943-8950.
- [13] HAN F, JIANG H, FANG D, et al. Potential-resolved electrochemiluminescence for determination of two antigens at the cell surface[J]. *Analytical Chemistry*, 2014,86(14):6896-6902.
- [14] JIE G F, CHEN K, WANG X C, et al. Dual-stabilizer-capped CdSe quantum dots for “Off-On” electrochemiluminescence biosensing of thrombin by target-triggered multiple amplification[J]. *RSC Advances*, 2016,6(3):2065-2071.
- [15] KE R, ZHANG X M, WANG L, et al. Electrochemiluminescence sensor based on Graphene Oxide/Polypyrrole/CdSe nanocomposites[J]. *Journal of Alloys and Compounds*, 2015,622:1027-1032.
- [16] CHOU H T, FU C Y, LEE C Y, et al. An ultrasensitive sandwich type electrochemiluminescence immunosensor for triiodothyronine detection using silver nanoparticle-decorated graphene oxide as a nanocarrier[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2015,71:476-482.
- [17] LI W, JIANG W, WANG L. Self-locked aptamer probe mediated cascade amplification strategy for highly sensitive and selective detection of protein and small molecule[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2016,940:1-7.
- [18] ZHAO M, ZHUO Y, CHAI Y Q, et al. Au nanoparticles decorated C60 nanoparticle-based label-free electrochemiluminescence aptasensor via a novel “on-off-on” switch system[J]. *Biomaterials*, 2015,52:476-483.
- [19] CHEN Z C, XIONG F, YU A M, et al. Aptamer biorecognition-triggered DNzyme liberation and Exo III-assisted target recycling for ultrasensitive homogeneous colorimetric bioassay of kanamycin antibiotic[J]. *Chemical Communications*, 2019,55(27):3959-3962.
- [20] CHEN J, LI Z H, GE J, et al. An aptamer-based signal-on bio-assay for sensitive and selective detection of Kanamycin A by using gold nanoparticles[J]. *Talanta*, 2015,139:226-232.
- [21] GENG Y Y, GUO M L, TAN J A, et al. A fluorescent molecularly imprinted polymer using aptamer as a functional monomer for sensing of kanamycin[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018,268:47-54.

Construction and Application of Dual Potential Ratio-dependent Quantum Dot ECL Aptamer Sensor

ZHANG Xinyi^{1,2}, SHI Jianjun^{1,2}, LIU Xiaoqing¹, YANG Ping¹

(1. School of Chemical Engineering, Anhui University of Science and Technology, Huainan Anhui 232001, China; 2. Institute of Environment-friendly Materials and Occupational Health, Anhui University of Science and Technology, Wuhu Anhui 241003, China)

Abstract: Ratio-dependent electrochemiluminescence aptamer sensors can display two different ECL signals when detecting targets. Most previous studies on ratio-dependent ECL sensing are based on the Luminol-hydrogen peroxide system. A two-potential ratio ECL aptamer sensor based on cadmium selenide quantum dots (CdSe QDs) and ruthenium-bipyridine modified Ru-Si nanoparticles (RuSi@Ru(bpy)₃²⁺ NPs) was designed for the ultra-sensitive and highly selective detection of kanamycin. CdSe QDs and RuSi@Ru(bpy)₃²⁺ NPs were selected as cathode and anode ECL emitters, respectively. Two complementary aptamer chains of kanamycin are used as the medium for connecting CdSe QDs and RuSi@Ru(bpy)₃²⁺ NPs, and a kanamycin sensor is constructed on the surface of glassy carbon electrode through amide coupling reaction. The detection concentration of kanamycin ranged from 1.0 fmol/L to 10 pmol/L. The linear fitting equation was $\Delta I = 0.132 \lg c + 2.133$, and the correlation coefficient was 0.999 (C represents the concentration of kanamycin, mol/L). When the signal-to-noise ratio $S/N = 3$, the detection limit (LOD) is 0.4 fmol/L. The research results provide a new idea for constructing a ratio-dependent ECL sensor with two ECL emitter.

Keywords: ratio-dependent ECL; aptamer sensor; CdSe QDs; ruthenium silicon nanoparticles; antibiotic

(责任编辑:熊璐璐)