

文章编号:0253-2778(2013)02-0120-08

## 金纳米棒催化的鲁米诺-硝酸银化学发光 及免疫分析应用

刘春竹, 李娜, 崔华

(中国科学技术大学化学系, 安徽合肥 230026)

**摘要:**建立了金纳米棒-鲁米诺-硝酸银化学发光新体系,发现金纳米棒比金纳米球具有更强的催化作用.利用化学发光光谱、X射线光电子能谱(XPS)、能量散射X射线谱(EDX)对该体系进行了表征,考察了各种反应条件、纳米的形貌及保护试剂对化学发光反应的影响,提出了化学发光反应的机理.基于此新体系,将金纳米棒用于免疫标记,建立了一种测定人免疫球蛋白 IgG 的微孔板化学发光免疫分析新方法,线性范围为 25~1 000  $\mu\text{g/L}$ ,检测限为 15.3  $\mu\text{g/L}$ .

**关键词:**金纳米棒;鲁米诺;化学发光;免疫分析

**中图分类号:**TG146.3+1 **文献标识码:**A **doi:**10.3969/j.issn.0253-2778.2013.02.006

**引用格式:** Liu Chunzhu, Li Na, Cui Hua. Gold nanorod-triggered chemiluminescence between luminol and  $\text{AgNO}_3$  and its immunoassay applications[J]. Journal of University of Science and Technology of China, 2013,43(2):120-127.

刘春竹,李娜,崔华.金纳米棒催化的鲁米诺-硝酸银化学发光及免疫分析应用[J].中国科学技术大学学报,2013,43(2):120-127.

## Gold nanorod-triggered chemiluminescence between luminol and $\text{AgNO}_3$ and its immunoassay applications

LIU Chunzhu, LI Na, CUI Hua

(Department of Chemistry, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China)

**Abstract:** A new chemiluminescence (CL) system gold nanorods-luminol- $\text{AgNO}_3$  was built and gold nanorods were found to exhibit higher catalytic activity towards luminol CL than gold nanospheres. CL spectra, X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), energy dispersive X-ray spectroscopy (EDX) were used to characterize this system. The effects of various reaction conditions, the morphology and protection reagents of nanoparticles on the CL reaction were also investigated. The mechanism of the CL reaction was proposed. Finally a novel microplate-compatible chemiluminescence immunoassay based on this new CL system was developed for the determination of human immunoglobulin G (IgG) with a linear range from 25 to 1 000  $\mu\text{g/L}$  and a detection limit of 15.3  $\mu\text{g/L}$ .

**Key words:** gold nanorod; luminol; chemiluminescence; immunoassay

收稿日期:2012-07-16;修回日期:2012-08-27

基金项目:国家自然科学基金(20573101,20625517),中国科学院百人计划基金资助.

作者简介:刘春竹,女,1985年生,硕士.研究方向:化学发光. E-mail: czliu@mail.ustc.edu.cn

通讯作者:崔华,教授. E-mail: hcui@ustc.edu.cn

## 0 引言

金纳米棒作为一维纳米材料,具有各向异性、长度光谱可调等独特优势,在化学和生物传感、生物成像、癌细胞靶标和光热治疗、信息储存等各个方面正成为新的研究热点<sup>[1-2]</sup>.基于金纳米棒的表面等离子体共振(SPR或LSPR)<sup>[3-4]</sup>、表面增强拉曼(SERS)<sup>[5]</sup>、等离子共振光散射(PRLS)<sup>[6]</sup>、动态光散射(DLS)<sup>[7]</sup>、双光子瑞利散射(TPRS)<sup>[8]</sup>及荧光<sup>[9]</sup>等性质变化的生物传感器已被成功设计,用于离子<sup>[10]</sup>、小分子<sup>[11]</sup>、蛋白<sup>[12]</sup>、DNA<sup>[13]</sup>等的测定.然而,利用化学发光作为检测手段的金纳米棒标记的生物测定还未见报道.

鲁米诺是目前用途最为广泛的化学发光试剂,它能够被多种氧化剂如过氧化氢<sup>[14]</sup>、次氯酸盐<sup>[15]</sup>、高锰酸钾<sup>[16]</sup>等氧化产生化学发光.近年来以金纳米粒子<sup>[17-20]</sup>作为催化剂引入鲁米诺化学发光及电致化学发光的研究引起了一定关注.硝酸银是相对较弱的氧化剂,在通常情况下,观察不到硝酸银与鲁米诺间的化学发光.在本文中,我们发现金纳米棒能够催化鲁米诺还原硝酸银产生强烈的化学发光,并且强度为之前报道的金纳米球<sup>[17]</sup>的 10 倍左右.利用化学发光光谱、X 射线光电子能谱(XPS)、能量散射 X 射线谱(EDX),探索了化学发光反应的机理.考察了各种反应条件、纳米的形貌、保护试剂及对化学发光反应的影响.最后将金纳米棒标记抗体,利用金纳米棒-鲁米诺-硝酸银化学发光作为检测体系,成功实现人免疫球蛋白 IgG 的化学发光免疫分析测定.

## 1 实验部分

### 1.1 试剂和溶液

人免疫球蛋白 G(immunoglobulin G, IgG)、羊抗人 IgG 和牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)购自北京索莱宝(Solarbio)科技有限公司.卵清蛋白(ovalbumin)购自上海生工(Sangon)生物工程有限公司.氯金酸、十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)、硝酸银、硼氢化钠等其余试剂均从上海试剂公司购买.将鲁米诺(3-氨基邻苯二甲酰肼, luminol)(Acros Organics)固体粉末溶解在 0.1 mol/L 的氢氧化钠溶液中制备 0.01 mol/L 鲁米诺储备溶液,避光保存,使用时直接由储备液稀释.免疫分析中使用的缓冲溶液包括:0.05 mol/L 碳酸缓冲(pH9.6);0.01 mol/L 磷酸缓冲(PBS, pH7.2);

0.05 mol/L 含 0.05%(体积分数)吐温 20 的磷酸缓冲(PBST, pH7.4),实验用水为 Milli-Q 超纯水(18.2 M $\Omega$ , Millipore).

### 1.2 仪器设备

纳米尺寸和形貌用 JEM-2010 型高分辨透射电子显微镜(Hitachi, Japan)进行表征.化学发光光谱用 F-7000 型荧光光谱仪(Hitachi, Japan)测定.紫外可见吸收光谱在 UV8453 型分光光度计(Agilent, USA)上测定.X-射线光电子能谱(XPS)在 ESCALAB MK II 电子能谱仪(VG, England)上测定.化学发光反应前后金和银含量由能量散射 X 射线谱(EDX,在拍摄电镜时的同时采集)和电感耦合等离子体原子发射光谱(ICP-AES, Thermo Electron Corp., USA)共同表征.化学发光免疫分析测定在 Centro LB 960 型微孔板发光检测仪(Berthold, Germany)上进行.免疫反应在 PST-60 HL plus 型恒温振荡器(Biosan, Latvia)中进行,温度恒定为 37  $^{\circ}\text{C}$ ,振荡频率为 300 rpm.

### 1.3 金纳米棒和金纳米球的制备

实验所用金纳米棒采用种子生长法合成<sup>[21]</sup>.第一步种子的制备:25  $^{\circ}\text{C}$ 下,向 5.0 mL 0.20 mol/L CTAB 和 5.0 mL 0.50 mmol/L HAuCl<sub>4</sub> 的混合溶液中,迅速加入 0.60 mL 0.01 mol/L 冰冷的 NaBH<sub>4</sub> 溶液,剧烈搅拌 2 min,溶液的颜色由黄色变为棕色,表明粒径 4 nm 左右的晶种溶液生成,静置陈化 2~5 h 内备用.第二步金纳米棒的生长:向 50.0 mL 0.20 mol/L CTAB 和 50.0 mL 1.0 mmol/L HAuCl<sub>4</sub> 的混合溶液中加入 800  $\mu\text{L}$  10 mmol/L AgNO<sub>3</sub> 溶液,搅拌混匀后加入 550  $\mu\text{L}$  0.10 mol/L 抗坏血酸(AA)溶液,持续混匀至溶液变为无色,最后加入 120  $\mu\text{L}$  的晶种溶液诱发金纳米棒的生长,搅拌 20 min.合成后的金纳米棒溶液经两次离心(6000 r/min, 20 min),除去剩余的生长溶液和过量的 CTAB,以超纯水分散保存备用.利用电镜和紫外吸收光谱对所合成的金纳米棒进行形貌表征,结果与文献相符.纳米棒的尺寸为:长径比 AR 3.1 $\pm$ 0.6(长(55.1 $\pm$ 11.6)nm,宽(17.7 $\pm$ 3.9)nm).

金纳米球根据文献<sup>[22]</sup>由柠檬酸钠还原法合成.50 mL HAuCl<sub>4</sub>(质量分数 10<sup>-2</sup>%)溶液加热至沸,在冷凝回流并充分搅拌的条件下,快速加入 1.0 mL 1%柠檬酸钠溶液,保持沸腾并继续搅拌回流反应 30 min,然后除去加热源继续搅拌 15 min 以上,直到合成的纳米金胶溶液冷却到室温.所得到的 16

nm 纳米金胶保存在 4 °C 冰箱中备用. 进行化学发光强度比较实验前, 用超纯水稀释金纳米棒和金纳米球使 520 nm 处的共振吸收均为 0.3. 结合 ICP-AES 的测定结果, 此时金纳米棒浓度为  $1 \times 10^{-4}$  mol/L (以金原子浓度计算).

#### 1.4 化学发光测定

化学发光的测定在流动注射化学发光系统(瑞迈分析仪器有限公司, 西安)上进行. 该系统包括一个 IFFM-D 流动注射系统、一个 IFFS-A 发光检测器和一台控制电脑. 在载流水携带下, 金属纳米与鲁米诺和硝酸银的混合溶液混合. 在考察氮气和氧气的影响时, 预先将各种反应溶液通气平衡 30 min, 然后在通气状态下进行化学发光测定. 除特别说明外, 实验中所用的光电倍增管高压为 -400 V.

#### 1.5 纳米金-抗体复合物的制备

金纳米棒标记的羊抗人 IgG(二抗)通过静电吸附作用制备. 与文献[7, 23-24]类似, 具体流程如下: 取 30  $\mu\text{g}$  分散在 PBS(0.01 mol/L, pH7.2)缓冲中的羊抗人 IgG, 加入到 1.0 mL 金纳米棒溶胶中(pH 已用 0.1 mol/L NaOH 调节至 8.0), 室温下反应 15 min. 之后, 在充分搅拌下, 加入 5% (质量浓度) BSA 溶液作为稳定剂, 其最终浓度为 1% (质量浓度). 搅拌 5 min 后, 复合物在 7 000 rpm 转速下离心 10 min, 以除去没有结合的蛋白. 小心吸取上层清液, 将得到的松软沉淀用 1.0 mL 含 1% (质量浓度) BSA 的 PBST(PBST-BSA, pH7.4)溶液分散. 制备的金标羊抗人 IgG 直接使用.

#### 1.6 化学发光免疫分析方法

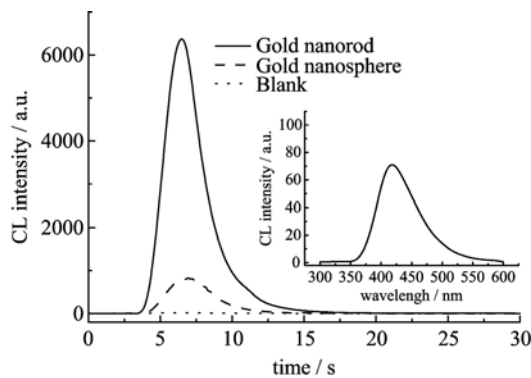
金纳米棒标记双抗夹心化学发光免疫分析方法的具体步骤如下: ①包被: 在聚苯乙烯 96 孔微孔板中每孔加入 100  $\mu\text{L}$  浓度为 5 mg/L 分散于 0.05 mol/L 碳酸缓冲(pH9.6)中的羊抗人 IgG(一抗, Ab<sub>1</sub>), 微孔板于 4 °C 下放置过夜; ②清洗: 除去孔中未结合的抗体, 每孔加入 300  $\mu\text{L}$  0.05 mol/L PBTS(pH7.4), 放置 3 min 后, 弃去孔中清洗液, 微孔板在吸水纸上拍干, 重复清洗操作 3 次; ③封闭: 在每孔中加入 200  $\mu\text{L}$  含 1% (质量浓度) BSA 的 PBST(PBST-BSA, pH7.4)溶液, 在 37 °C 下温育 1 h, 以封闭微孔中的未结合位点; ④结合抗原: 按步骤②的方法清洗 3 次后, 在微孔中加入 100  $\mu\text{L}$  不同浓度人 IgG(抗原)的含 0.2% 叠氮化钠的 PBS 溶液, 在 37 °C 下温育 1 h; ⑤结合二抗: 按步骤②清洗 3 次后, 每孔加入 100  $\mu\text{L}$  金纳米棒标记的羊抗人 IgG

(Ab<sub>2</sub>), 在 37 °C 下温育 1 h; ⑥发光检测: 按步骤②清洗 3 次后, 拍干, 将微孔板置于发光检测仪中. 每孔中先后注射 100  $\mu\text{L}$  硝酸银(10  $\mu\text{mol/L}$ )溶液和 100  $\mu\text{L}$  鲁米诺(0.1 mol/L in 0.01 mol/L NaOH). 化学发光强度由微孔板发光检测仪检测并记录. 在注射鲁米诺后立即开始采集信号, 以开始检测后 10 s 内的化学发光强度的积分值作为定量分析的数值.

## 2 结果与讨论

### 2.1 金纳米棒对鲁米诺-硝酸银化学发光的增强作用

实验采用流动注射系统考察了金纳米棒对鲁米诺-硝酸银化学发光体系的影响, 如图 1 所示. 结果表明, 鲁米诺和硝酸银之间没有明显的化学发光. 当把金纳米棒溶胶注射到  $1 \times 10^{-4}$  mol/L 鲁米诺和  $1 \times 10^{-5}$  mol/L 硝酸银的混合溶液中时, 能够观察到强的化学发光现象. 金纳米棒离心后的上清液对体系的化学发光没有明显的影响, 说明增强作用来自于金纳米棒, 且增强作用大于相同条件下的金纳米球. 该体系的化学发光光谱表明最大发射波长为 425 nm, 因此发光体应该是激发态的 3-氨基邻苯二甲酸根(AP<sup>2-</sup>)<sup>[25]</sup>. 金纳米棒的加入并没使体系生成新的发光体.



Blank 为金纳米棒溶胶离心上清液  
反应条件: 鲁米诺,  $1 \times 10^{-4}$  mol/L in pH12 NaOH;  
硝酸银,  $1 \times 10^{-5}$  mol/L. 插入图为化学发光光谱

图 1 金纳米棒和金纳米球分别注入鲁米诺和硝酸银混合溶液时的化学发光曲线

Fig. 1 CL profiles when injecting Au colloids with different shapes (Gold nanorods and Gold nanospheres) into the mixture of luminol and AgNO<sub>3</sub>

试剂浓度对发光的影响如图 2 所示, 在测试范围内, 化学发光强度随着 pH(10.0~13.0)、鲁米诺浓度( $1 \times 10^{-6}$ ~ $1 \times 10^{-3}$  mol/L)和金纳米棒浓度(以金原子浓度计算,  $0 \sim 1 \times 10^{-4}$  mol/L)的增加而

增强. 对于硝酸银, 在  $1 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-5}$  mol/L 范围化学发光随着硝酸银浓度的增加而增大, 但硝酸银浓度高于  $1 \times 10^{-5}$  mol/L 时, 发光强度却有所下降. 这可能是由于高浓度硝酸银导致溶液产生难溶物覆盖在纳米金表面, 降低了其增强能力.

### 2.2 金纳米棒在化学发光反应中的行为

为了解反应过程中发生的变化, 用 XPS 对反应

前后的金纳米棒进行了表征. 由于晶种合成法中金纳米棒由银辅助生成, 且由十六烷基三甲基溴化铵 (CTAB) 保护, 故在反应前有微量的银和大量的碳成分存在. 如图 3 所示, 83.8 eV 和 87.7 eV 处的双峰对应于单质金 Au4f 峰, 反应前后没有移动, 说明金纳米棒的金在反应中没有发生价态变化. 同时, 367.7 eV 和 373.6 eV 处双峰对应的单质银 Ag3d

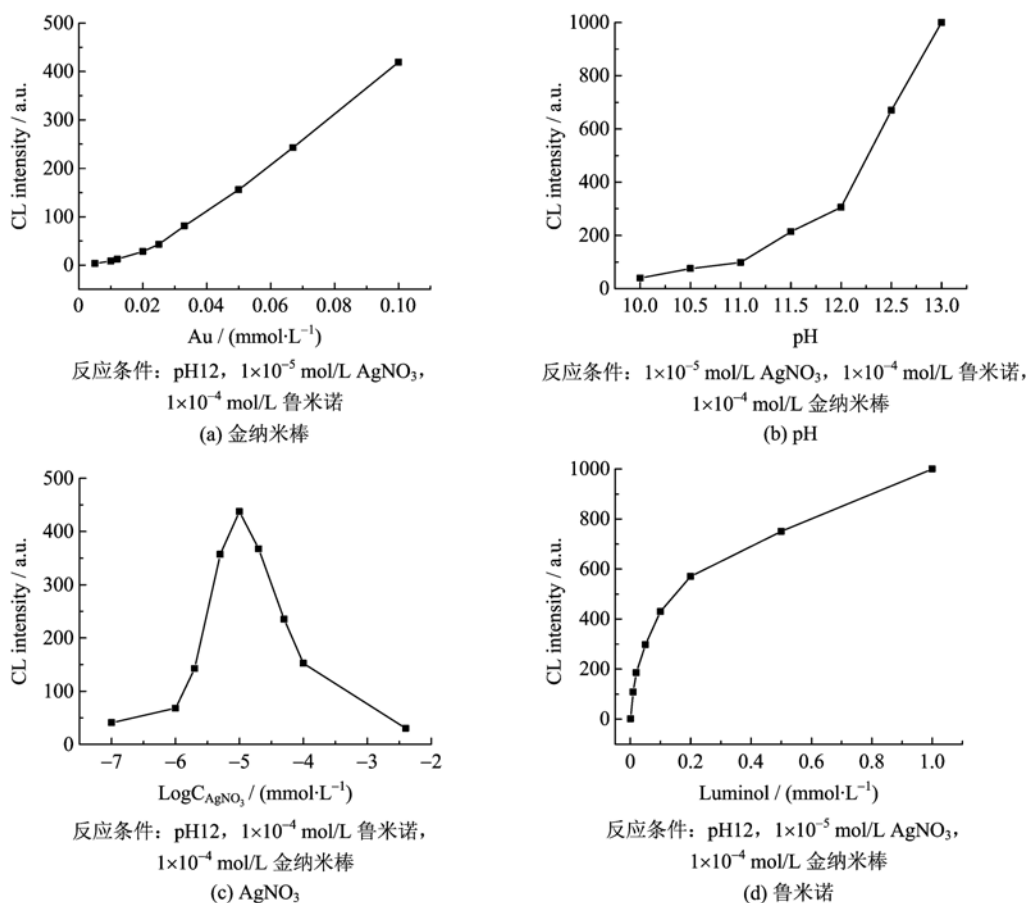


图 2 试剂浓度对化学发光强度的影响

Fig. 2 Effects of reaction conditions on the CL intensity

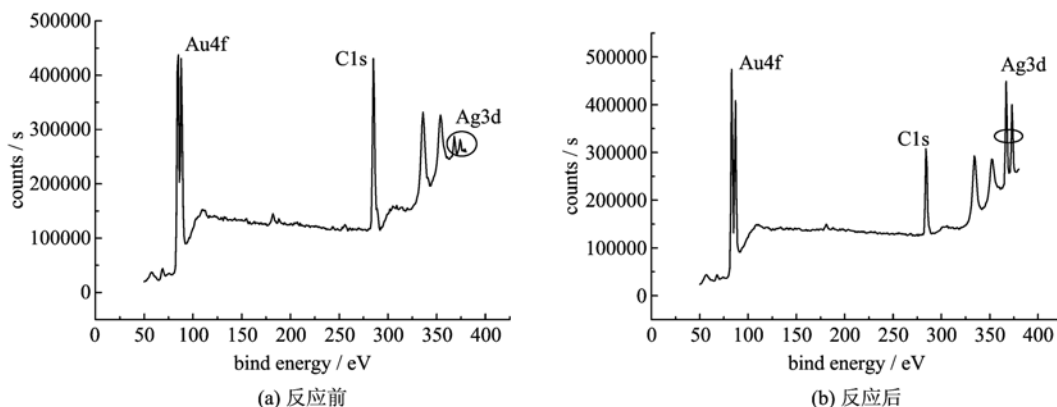


图 3 金纳米棒在发光反应前后的 X 射线光电子能谱

Fig. 3 XPS of the Gold nanorods before and after the CL reaction

峰强度大大增加,而 284.8 eV 处 C1s 峰强度明显下降. Au, C, Ag 3 种元素所占原子比例分别由反应前的 6.53%, 75.65%, 0.61% 变为反应后的 6.89%, 65.05%, 10.62%. Ag 元素含量增高和 C 元素含量降低的相对变化表明,反应后的金纳米棒表面可能沉积了银.

为了进一步证实这一发现,我们比较了反应前后金纳米棒的电镜照片(TEM)和能量散射 X 射线谱(EDX). 如图 4 所示,金纳米棒在反应前形貌均一,反应的强碱条件导致反应后出现轻微的聚沉,同时反应后出现了很多不规则纳米小颗粒.

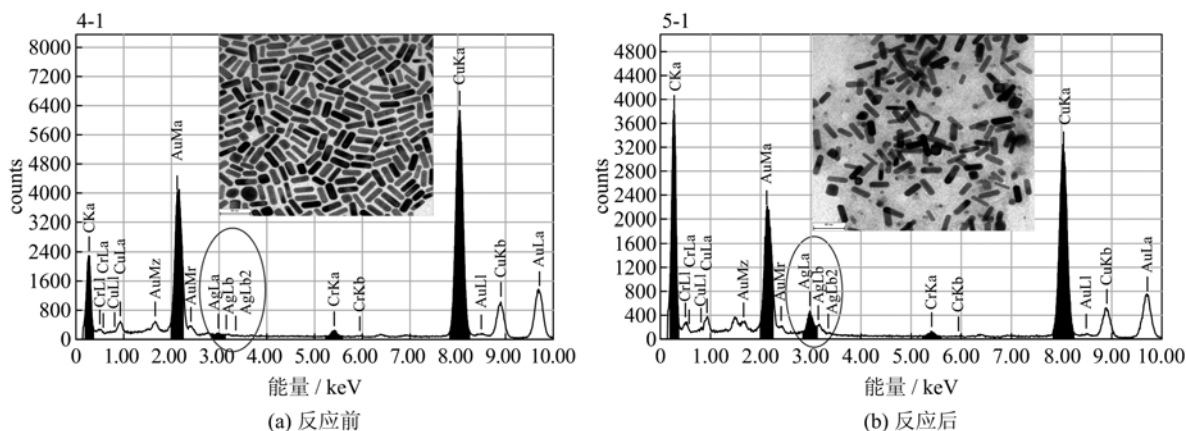
由于透射电镜下金和银具有近似的衬度,是金还是银难以分辨. 我们借助 EDX 能谱发现,银相对于金的原子比例由反应前的 2.39% 增长到反应后的 22.09%. 电感耦合等离子体原子发射光谱(ICP-AES)也得出一致的结论,银金总量的摩尔比由反应前的 1.35% 增长到反应后的 12.59%. 尽管 EDX 为局部表征,ICP-AES 为总体表征,二者数值上有一定出入,但都表明反应后银的含量大大增大,故可确认图中颗粒为银纳米. 结合 XPS 的信息,我们认为在金纳米棒参与下,鲁米诺还原硝酸银产生化学发光,同时生成了纳米银. 有一部分银以金纳米棒为晶种,在棒的表面生长,形成金核银壳结构,但由于银壳很薄电镜图上未能分辨;另一部分银原子聚集生成了银纳米颗粒.

这与其他以金纳米棒为模板,继续生长银的工作<sup>[26-28]</sup>以及郭<sup>[17]</sup>提出的反应模型相近. 金纳米棒的存在为鲁米诺将银离子还原为银原子提供了成核中心,进而能够促进银离子的还原过程. 一方面由于金

和银具有良好的晶格匹配度(金和银晶格常数分别为 0.408 nm 和 0.409 nm),银在金表面沉积;另一方面银原子相互聚集生成了银纳米颗粒. 因此,金纳米棒对鲁米诺-硝酸银间的化学发光反应具有很强的催化作用.

但如何解释金纳米棒比金纳米球的催化作用更强呢? 根据 Murphy 等<sup>[29]</sup>总结的金纳米棒的生长机理,金纳米棒的表面存在欠电位沉积的银原子,因而金纳米棒相比于金纳米球更能够促进银离子的还原过程,更利于银在表面的沉积. 另外,董<sup>[19]</sup>和鲁<sup>[30]</sup>的工作都表明金纳米棒比金纳米球有更强的催化发光反应的活性,这可能与其表面的缺陷位点有关<sup>[31]</sup>.

除了棒和球在形貌上的区别,二者的保护试剂也不同. 金纳米棒表面由带正电的表面活性剂 CTAB 保护,有利于吸附带负电的鲁米诺聚集在表面,提高反应速率. 同时,关于表面活性剂提高发光效率的工作也有广泛报道<sup>[32-33]</sup>,故棒表面 CTAB 的存在可以同时起到富集发光试剂和提高发光试剂发光效率的双重作用. 金纳米球表面由带负电的柠檬酸钠保护,不具备这样的增强功能. 为了验证保护试剂的作用,我们将金纳米棒和金纳米球离心后不同浓度的 CTAB 分散,稳定足够长时间后测定对化学发光的催化作用. 如图 5 所示,由 CTAB 替换柠檬酸钠保护金纳米球后,球的催化能力大大增加,说明保护试剂确实在纳米的催化作用中扮演着重要角色. 当 CTAB 浓度在 0~0.1 mmol/L 的范围内增加时,球与棒的催化能力都随之增长;当 CTAB 浓度大于 0.1 mmol/L 时,化学发光强度下降. 这与其他研究表面活性剂对化学发光影响的趋势一致<sup>[34]</sup>. 也

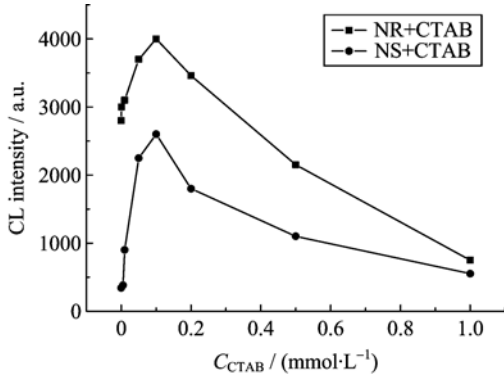


图中标尺为 80 nm

图 4 金纳米棒在发光反应前后的 TEM 照片和 EDX 能谱

Fig. 4 TEM and EDX of Gold nanorods before and after the CL reaction

可以说金纳米颗粒与表面活性剂 CTAB 对鲁米诺的化学发光表现出协同作用. 综合形貌和保护试剂的因素, 金纳米棒比金纳米球对鲁米诺-硝酸银化学发光反应的催化作用更强.



反应条件: 鲁米诺,  $1 \times 10^{-4}$  mol/L in pH12 NaOH;  
硝酸银,  $1 \times 10^{-5}$  mol/L

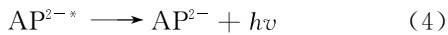
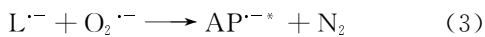
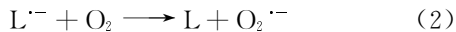
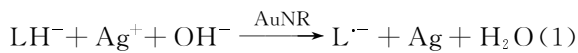
图 5 表面活性剂 CTAB 浓度对金纳米棒和金纳米球催化作用的影响

Fig. 5 Effect of CTAB concentration on catalytic activity of Gold nanorods and Gold nanospheres

### 2.3 发光机理讨论

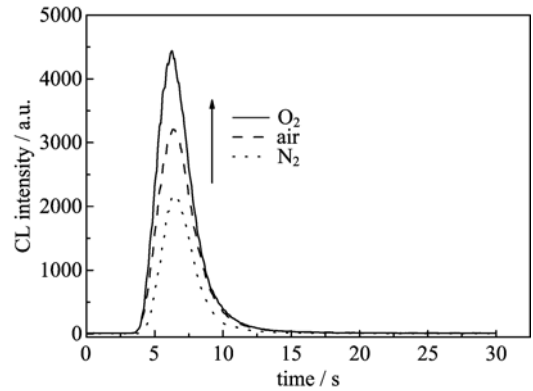
一般情况下, 鲁米诺( $LH^-$ )可以与氧化剂反应生成鲁米诺自由基( $L^{\cdot-}$ ); 鲁米诺自由基可以还原溶解氧产生超氧基阴离子( $O_2^{\cdot-}$ ); 鲁米诺自由基和超氧基阴离子间的反应可以产生过氧化物中间体; 过氧化物中间体分解产生化学发光<sup>[35]</sup>. 因此, 我们推测溶解氧可能参与了鲁米诺-硝酸银-纳米金体系的化学发光. 实验发现, 向溶液中通入氮气的确抑制发光, 通入氧气增强发光(图 6).

因此, 我们认为在金纳米棒存在下, 硝酸银作为氧化剂氧化鲁米诺生成鲁米诺自由基, 后者与溶解氧反应产生化学发光, 反应机理如下所示:



### 2.4 金纳米棒在化学发光免疫分析中的应用

金纳米棒-鲁米诺-硝酸银化学发光新体系具有信号强、背景低、稳定性高的优点, 具有用于直接化学发光免疫分析的潜力. 我们首先通过静电吸附制备了金纳米棒标记的羊抗人 IgG 抗体, 并发现表面包裹蛋白质的金纳米棒依然能够触发鲁米诺-硝酸银之间的化学发光. 基于此, 我们利用金纳米棒-鲁



反应条件: 鲁米诺,  $1 \times 10^{-4}$  mol/L in pH12 NaOH;  
硝酸银,  $1 \times 10^{-5}$  mol/L; 金纳米棒,  $1 \times 10^{-4}$  mol/L

图 6 氮气和氧气对鲁米诺-硝酸银-金纳米棒体系化学发光的影响

Fig. 6 Effect of nitrogen and oxygen on gold nanorods-luminol- $AgNO_3$  CL system

米诺-硝酸银化学发光体系, 建立了一种测定人免疫球蛋白 IgG 的微孔板化学发光免疫分析新方法. 免疫分析的具体步骤如图 7 所示: 首先将一抗固定在微孔板上, 再加入抗原和金纳米棒标记的二抗, 形成双抗夹心的免疫复合物, 最后引入鲁米诺和硝酸银, 由金纳米棒催化产生强烈的化学发光.

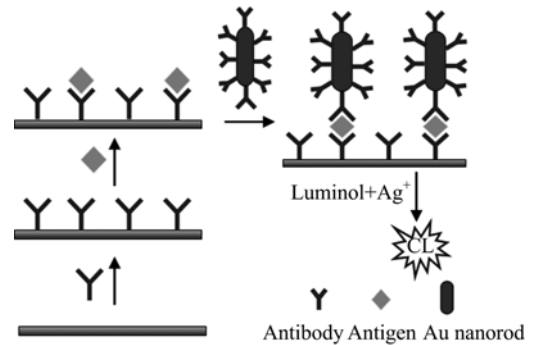
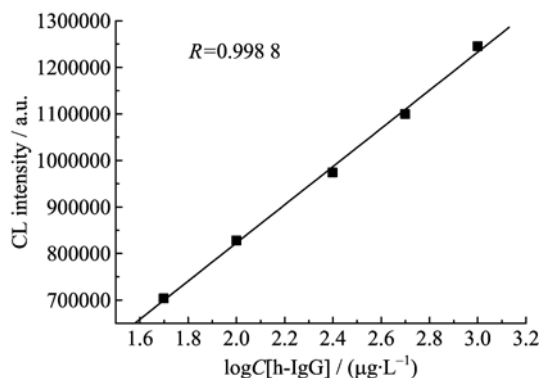


图 7 金纳米棒标记双抗夹心化学发光免疫分析示意图  
Fig. 7 The Gold nanorod-labeled sandwich-type chemiluminescent immunoassay protocol

我们首先考察了体系的化学发光强度与人 IgG (抗原) 浓度之间的关系. 如图 8 所示, 金纳米棒催化化学发光体系的化学发光强度, 与人 IgG 浓度的对数之间存在良好的线性关系, 线性范围为  $25 \sim 1000 \mu\text{g/L}$ , 线性回归方程为  $I = 3147.5 + 409878.3 \log C$ , 相关系数为 0.998 8. 以 3 倍信噪比 ( $S/N=3$ ) 计算, 检测限为  $15.3 \mu\text{g/L}$ . 为考察该免疫分析方法的特异性, 我们还进行了控制实验. 当用 BSA ( $100 \text{ mg/L}$ ) 或者卵清蛋白 ( $100 \text{ mg/L}$ ) 代替人

IgG 进行化学发光免疫分析时,得到的化学发光强度与背景强度接近.同时,当体系中没有抗原人 IgG 时,并未观察到增强的化学发光信号.这些结果表明,只有当纳米金棒标记的抗体结合到微孔板中时才能产生增强的化学发光信号,因此,该方法具有良好的特异性.



测定条件:鲁米诺,  $1 \times 10^{-4}$  mol/L in pH12 NaOH;  
硝酸银,  $1 \times 10^{-5}$  mol/L. 平行测定 3 次

图 8 化学发光强度与人 IgG 浓度的对数之间的关系

Fig. 8 Curve of CL intensity versus the concentration of human IgG

### 3 结论

建立了金纳米棒-鲁米诺-硝酸银化学发光新体系,考察了纳米的形貌、保护试剂及聚集状态对其化学发光的影响,解释了反应机理.在此基础上,将此体系成功应用于免疫分析,建立了一种测定人免疫球蛋白 IgG 的微孔板化学发光免疫分析新方法.主要研究要结果如下:

(I) 在金纳米棒存在下,硝酸银可以与鲁米诺产生强烈的化学发光.金纳米棒作为成核中心催化了鲁米诺还原硝酸银,生成的金属银沉积在金纳米棒表面形成金核银壳纳米粒子或银纳米颗粒.同时,鲁米诺自身被氧化生成鲁米诺自由基,进一步与氧气反应产生化学发光.

(II) 金纳米棒比金纳米球具有更强的催化作用,一方面来自于棒的表面更多的活性位点,另一方面来自于其保护试剂 CTAB,这种带正电的表面活性剂起到富集发光试剂和提高发光效率的双重作用.

(III) 基于金纳米棒-鲁米诺-硝酸银化学发光新体系,将金纳米棒用于免疫标记,成功地建立了一种测定人免疫球蛋白 IgG 的微孔板化学发光免疫分析新方法.这些结果对于进一步了解和控制金属纳

米对化学发光反应的影响具有重要意义,同时也丰富了人们对金纳米棒的性质和功能认识,对拓展其应用具有重要意义.

### 参考文献 (References)

- [1] Huang X H, Neretina S, El-Sayed M A. Gold nanorods: From synthesis and properties to biological and biomedical applications [J]. *Advanced Materials*, 2009, 21(48): 4 880-4 910.
- [2] Yang D P, Cui D X. Advances and prospects of gold nanorods [J]. *Chemistry-an Asian Journal*, 2008, 3(12): 2 010-2 022.
- [3] Marinakos S M, Chen S H, Chilkoti A. Plasmonic detection of a model analyte in serum by a gold nanorod sensor [J]. *Analytical Chemistry*, 2007, 79 (14): 5 278-5 283.
- [4] Nusz G J, Marinakos S M, Curry A C, et al. Label-free plasmonic detection of biomolecular binding by a single gold nanorod [J]. *Analytical Chemistry*, 2008, 80(4): 984-989.
- [5] Yun S, Park Y K, Kim S K, et al. Linker-molecule-free gold nanorod layer-by-layer films for surface-enhanced Raman scattering [J]. *Analytical Chemistry*, 2007, 79(22): 8 584-8 589.
- [6] He W, Huang C Z, Li Y F, et al. One-step label-free optical genosensing system for sequence-specific DNA related to the human immunodeficiency virus based on the measurements of light scattering signals of gold nanorods [J]. *Analytical Chemistry*, 2008, 80 (22): 8 424-8 430.
- [7] Liu X, Dai Q, Austin L, et al. A one-step homogeneous immunoassay for cancer biomarker detection using gold nanoparticle probes coupled with dynamic light scattering [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2008, 130(9): 2 780-2 782.
- [8] Singh A K, Senapati D, Wang S G, et al. Gold nanorod based selective identification of escherichia coli bacteria using two-photon rayleigh scattering spectroscopy [J]. *ACS Nano*, 2009, 3(7): 1 906-1 912.
- [9] Li C Z, Male K B, Hrapovic S, et al. Fluorescence properties of gold nanorods and their application for DNA biosensing [J]. *Chemical Communications*, 2005(31): 3 924-3 926.
- [10] Nakashima H, Furukawa K, Kashimura Y, et al. Anisotropic assembly of gold nanorods assisted by selective ion recognition of surface-anchored crown ether derivatives [J]. *Chemical Communications*, 2007(10): 1 080-1 082.
- [11] Sudeep P K, Joseph S T S, Thomas K G. Selective

- detection of cysteine and glutathione using gold nanorods [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2005,127(18): 6 516-6 517.
- [12] Wang C G, Chen Y, Wang T T, et al. Monodispersed gold nanorod-embedded silica particles as novel Raman labels for biosensing [J]. *Advanced Functional Materials*, 2008,18(2): 355-361.
- [13] Pan B F, Ao L M, Gao F, et al. End-to-end self-assembly and colorimetric characterization of gold nanorods and nanospheres via oligonucleotide hybridization [J]. *Nanotechnology*, 2005,16(9): 1 776-1 780.
- [14] Marquette C A, Blum L J. Applications of the luminol chemiluminescent reaction in analytical chemistry [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2006,385(3): 546-554.
- [15] Francis P S, Barnett N W, Lewis S W, et al. Hypohalites and related oxidants as chemiluminescence reagents: A review [J]. *Luminescence*, 2004,19(2): 94-115.
- [16] Wang Z P, Zhang Z J, Fu Z F, et al. Sensitive flow-injection chemiluminescence determination of terbutaline sulfate based on enhancement of the luminol-permanganate reaction [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2004,378(3): 834-840.
- [17] Cui H, Guo J Z, Li N, et al. Gold nanoparticle triggered chemiluminescence between luminol and  $\text{AgNO}_3$  [J]. *Journal of Physical Chemistry C*, 2008, 112(30): 11 319-11 323.
- [18] Zhang L, Niu W X, Li Z Y, et al. Facile synthesis and electrochemiluminescence application of concave trisoctahedral Pd@Au core-shell nanocrystals bound by {331} high-index facets [J]. *Chem Commun*, 2011, 47:10 353-10 355.
- [19] Dong Y P, Cui H, Wang C M. Electrogenerated chemiluminescence of luminol on a gold-nanorod-modified gold electrode [J]. *Journal of Physical Chemistry B*, 2006,110(37): 18 408-18 414.
- [20] Zhang Z F, Cui H, Lai C Z, et al. Gold nanoparticle-catalyzed luminol chemiluminescence and its analytical applications [J]. *Anal Chem*, 2005,77:3 324-3 329.
- [21] Nikoobakht B, El-Sayed M A. Preparation and growth mechanism of gold nanorods (NRs) using seed-mediated growth method [J]. *Chemistry of Materials*, 2003,15(10):1 957-1 962.
- [22] Kim C K, Kalluru R R, Singh J P, et al. Gold-nanoparticle-based miniaturized laser-induced fluorescence probe for specific DNA hybridization detection: Studies on size-dependent optical properties [J]. *Nanotechnology*, 2006,17(13): 3 085-3 093.
- [23] Pissuwan D, Valenzuela S M, Killingsworth M C, et al. Targeted destruction of murine macrophage cells with bioconjugated gold nanorods [J]. *Journal of Nanoparticle Research*, 2007,9(6): 1 109-1 124.
- [24] Rayavarapu R G, Petersen W, Ungureanu C, et al. Synthesis and bioconjugation of gold nanoparticles as potential molecular probes for light-based imaging techniques [J]. *International Journal of Biomedical Imaging*, 2007,2007:1-10.
- [25] Rose A L, Waite T D. Chemiluminescence of luminol in the presence of iron (II) and oxygen: Oxidation mechanism and implications for its analytical use [J]. *Analytical Chemistry*, 2001,73(24): 5 909-5 920.
- [26] Becker J, Zins I, Jakab A, et al. Plasmonic focusing reduces ensemble linewidth of silver-coated gold nanorods [J]. *Nano Letters*, 2008,8(6): 1 719-1 723.
- [27] Liu M Z, Guyot-Sionnest P. Synthesis and optical characterization of Au/Ag core/shell nanorods [J]. *Journal of Physical Chemistry B*, 2004, 108 (19): 5 882-5 888.
- [28] Park K, Vaia R A. Synthesis of complex Au/Ag nanorods by controlled overgrowth [J]. *Advanced Materials*, 2008,20(20): 3 882-3 886.
- [29] Orendorff C J, Murphy C J. Quantitation of metal content in the silver-assisted growth of gold nanorods [J]. *Journal of Physical Chemistry B*, 2006,110(9): 3 990-3 994.
- [30] Lu C, Li Q, Chen S, et al. Gold nanorod-catalyzed luminol chemiluminescence and its selective determination of glutathione in the cell extracts of *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Talanta*, 2011,85(1):476-481.
- [31] Nikoobakht B, Wang J P, El-Sayed M A. Surface-enhanced Raman scattering of molecules adsorbed on gold nanorods: Off-surface plasmon resonance condition [J]. *Chemical Physics Letters*, 2002,366(1/2): 17-23.
- [32] Lin J M, Yamada M. Microheterogeneous systems of micelles and microemulsions as reaction media in chemiluminescent analysis [J]. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 2003,22(2): 99-107.
- [33] Vonwandruszka R. Luminescence of micellar solutions [J]. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 1992, 23(3): 187-215.
- [34] Liang S X, Li H F, Lin A M. Reaction mechanism of surfactant-sensitized chemiluminescence of bis(2,4,6-trichlorophenyl) oxalate and hydrogen peroxide induced by gold nanoparticles [J]. *Luminescence*, 2008,23(6): 381-385.
- [35] Merényi G, Lind J, Eriksen T E. Luminol chemiluminescence: Chemistry, excitation, emitter [J]. *Journal of Bioluminescence and Chemiluminescence*, 1990, 5(5): 53-56.