



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102735735 A

(43) 申请公布日 2012. 10. 17

(21) 申请号 201210220104. 4

(22) 申请日 2012. 06. 29

(71) 申请人 华中师范大学

地址 430079 湖北省武汉市洪山区珞瑜路  
152 号

(72) 发明人 龚静鸣 李雪 王小庆

(74) 专利代理机构 湖北武汉永嘉专利代理有限公司 42102

代理人 张安国 伍见

(51) Int. Cl.

G01N 27/327(2006. 01)

G01N 27/26(2006. 01)

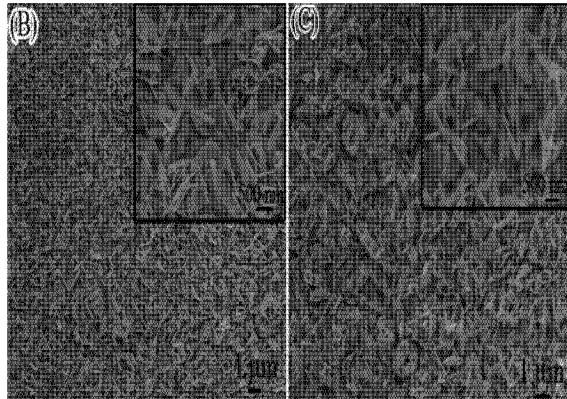
权利要求书 1 页 说明书 3 页 附图 3 页

(54) 发明名称

功能化碘氧化铋纳米片状阵列光电有机磷农药生物传感器及制备

(57) 摘要

本发明公开了功能化碘氧化铋纳米片状阵列光电有机磷农药生物传感器及制备。所述的生物传感器是 AChE-BiOINFs/ITO 电极，其制备是以 ITO 为基底，以  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , KI, 乙酰胆碱酯酶为原材料，制备了 AChE-BiOINFs/ITO 电极，使用本发明方法构建的生物功能化 AChE-BiOI 纳米片的光电传感器平台，有效的避免了二氧化钛纳米管复杂的制备过程和其它单元物的繁琐整合，极大地节省了时间与成本。同时，在很大程度上降低了紫外光和光照  $\text{TiO}_2$  激发的光生空穴对生物分子产生的破坏性影响。本发明工艺简单，成本低，环境友好，产率高，符合实际生产需要。



1. 一种功能化碘氧化铋片状阵列光电化学有机磷农药生物传感器，其特征在于，该传感器为固定有乙酰胆碱酯酶的 BiOI NFs/ITO 复合电极。

2. 一种功能化碘氧化铋片状阵列光电化学有机磷农药生物传感器的制备方法，其特征在于包括以下步骤：

1) 基底处理，将 ITO 玻璃片先后放入酒精和二次蒸馏水中超声清洗，完全清洗干净后，在氮气下吹干备用；

2) 制备 BiOI 和 KI 溶液：分别称取 0.254 g Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> • 5H<sub>2</sub>O 和 0.083 g KI 固体，用二次蒸馏水配成 100 mL 溶液；准备两个 25 mL 烧杯，分别倒入等体积的 BiOI 和 KI 溶液，将步骤 1 准备好的 ITO 玻璃片先浸入到 BiOI 溶液中 10 s 钟，然后在装有蒸馏水的烧杯中浸泡洗涤，接着浸入至 KI 溶液中约 10 s，再转入到装有蒸馏水的烧杯中浸泡洗涤，如此循环操作便可得到 BiOI NFs/ITO 电极，二次蒸馏水每 5 次循环后要更换一次，经过 20 次以上循环后，得到的 BiOI NFs/ITO 电极，在室温下干燥；

3) 将步骤 2 制备好的 BiOI NFs/ITO 电极，用二次蒸馏水冲洗干净，然后将 BiOI NFs/ITO 电极浸泡在 AChE 的 pH 为 7.0 磷酸缓冲溶液中，在室温放置半小时即得到固定有乙酰胆碱酯酶的 BiOI NFs/ITO 复合电极，记为 AChE-BiOI NFs/ITO，然后将 AChE-BiOI NFs/ITO 浸泡在 pH 为 7.0 磷酸缓冲溶液中，并将电极保存在 5 mM 的 pH 为 7.0 磷酸缓冲溶液中，并置 4 °C 左右的冰箱内以供后来使用。

3. 如权利要求 2 所述的功能化碘氧化铋片状阵列光电化学有机磷农药生物传感器的制备方法，其特征在于：步骤 1) 中 ITO 玻璃片先后放入酒精和二次蒸馏水中超声清洗 5 分钟。

4. 如权利要求 2 所述的功能化碘氧化铋片状阵列光电化学有机磷农药生物传感器的制备方法，其特征在于：步骤 2) 中经过 30 次以上循环后，得到的 BiOI NFs/ITO 电极。

## 功能化碘氧化铋纳米片状阵列光电有机磷农药生物传感器及制备

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种生物功能化碘氧化铋纳米片状阵列在可见光激发下的光电化学有机磷农药生物传感器及制备。

### 背景技术

[0002] 有机磷类农药广泛地用作为农业病虫害防治药剂,军事上及恐怖袭击中的神经麻痹剂。由于有机磷农药在生物体和人体内的具有持续性,生物聚集性,高毒性。为了人类健康,环境,以及食品安全,因而有机磷农药受到极大的关注。随着人类健康保护的追求,和对环境的控制欲,痕量有机磷检测已变得日趋重要。

[0003] 在过去的十几年内,人们建立了用气相、液相或质谱的方法来进行有机磷农药的检测,这些方法经常要求复杂的前处理步骤,大量的专业技术人员,且不利于现场快速检测。比较过去传统的几种检测方法,新发展的光电化学检测因它的快速,及高通过量的生物阵列而显得十分有趣。由于其激发光源和检测信号的高效分离,一些杂质背景信号的降低,因而使得检测获得高灵敏度。由于它的高灵敏度,固有的微型化,便携式,及简单结合,使光电化学检测成为一种很有前景的分析技术。在光电化学生物分析中,光电化学材料的探究成为至关重要的事情,它直接同生物识别元素的稳定性和最后的识别表现有关。一些金属氧化物半导体纳米颗粒,如  $ZrO_2$ ,  $ZnO$ ,  $TiO_2$  已经被使用作为主要的光电化学材料。其中,  $TiO_2$  曾被广泛地研究作为各种光电化学应用的材料,因为它有较强的氧化性,无毒性,低成本,生物和化学惰性。但是由  $TiO_2$  禁带较宽,在紫外光的照射下才起作用,从而会杀死生物分子。此外,光激发下  $TiO_2$  具有强氧化性,也会对生物分子造成破坏。如此,对  $TiO_2$  进一步的修饰进行光电化学检测应用是必要的。例如  $TiO_2$  纳米管,金掺杂的  $TiO_2$  纳米管,  $CdS-TiO_2$  纳米管复合材料,  $CdSexTe_{1-x}/TNs$  多异质结,卟啉 - 多功能化的  $TiO_2$  纳米管等已经被研究作为高效的可见光激发材料,用于光电化学传感器检测。最近, Xu 等人报道了基于生物催化沉淀制备  $CdS$  量子点修饰电极进行免疫光电化学检测。尽管这些研究成果满足快速高效检测,但是开发出更高性能的光活性材料,改变光响应的临界值至可见光区进行光电化学传感器检测仍然是该检测技术面临的极大挑战。

[0004] 本发明通过构建新颖的生物功能化 AChE-BiOI 纳米片的光电传感器平台,有效的避免了二氧化钛纳米管复杂的制备过程和其它单元物的繁琐整合,极大地节省了时间与成本。同时,很大程度上降低了紫外光和光照  $TiO_2$  激发的光生空穴对生物分子产生的破坏性影响。本发明工艺简单,成本低,而且环境友好,便于进一步扩大生产。

### 发明内容

[0005] 本发明的目的在于提供一种生物功能化的碘氧化铋片状阵列 BiOI nanoflake arrays (BiOINFs) 光电有机磷农药生物传感器及制备。用本发明方法制备的生物传感器在可见光范围内可以对机磷农药实现高灵敏度检测。

[0006] 本发明的一种功能化碘氧化铋片状阵列光电化学有机磷农药生物传感器，其特征在于，该传感器为固定有乙酰胆碱酯酶的BiOI NFs/ITO(BiOI nanoflake arrays和Indium Tin Oxides)复合电极。

[0007] 本发明的功能化碘氧化铋片状阵列光电化学有机磷农药生物传感器的制备方法，包括以下步骤：

1) 基片处理，将ITO玻璃片(氟参杂的锡氧化物玻璃 Indium Tin Oxides)先后放入酒精和二次蒸馏水中超声清洗，一般各超声清洗5分钟，完全清洗干净后，在氮气下吹干备用；

2) 制备 BiOI 和 KI 溶液：分别称取 0.254 g Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> · 5H<sub>2</sub>O 和 0.083 g KI 固体，用二次蒸馏水配成 100 mL 溶液；准备两个 25 mL 烧杯，分别倒入等体积的 BiOI 和 KI 溶液，将步骤 1) 准备好的 ITO 玻璃片先浸入到 BiOI 溶液中 10 s 钟，然后在装有蒸馏水的烧杯中浸泡洗涤，接着浸入至 KI 溶液中约 10 s，再转入到装有蒸馏水的烧杯中浸泡洗涤，如此循环操作便可得到 BiOI NFs/ITO 电极，二次蒸馏水每 5 次循环后要更换一次，经过 20 次以上循环，优选经过 30 次循环后，得到的 BiOI NFs/ITO 电极，在室温下干燥；

3) 将步骤 2) 制备好的 BiOI NFs/ITO 电极，用二次蒸馏水冲洗干净，然后将 BiOI NFs/ITO 电极浸泡在 AChE (乙酰胆碱酯酶 biomolecules acetylcholinesterase) 的 pH 为 7.0 磷酸缓冲溶液中，在室温放置半小时即得到固定有乙酰胆碱酯酶的 BiOI NFs/ITO 复合电极，记为 AChE-BiOI NFs/ITO，然后将 AChE-BiOI NFs/ITO 浸泡在 pH 为 7.0 磷酸缓冲溶液中，并将电极保存在 5 mM 的 pH 为 7.0 磷酸缓冲溶液中，并置 4 °C 左右的冰箱内以供后来使用。

[0008] 本发明在制备 BiOI 的实验操作中参考了 Wang (*Electrochim. Commun.* 2010, 12, 1764–1767) successive ionic layer adsorption and reaction (SILAR) 的方法。

[0009] 本发明的效果和优点：

1. 本发明方法得到的碘氧化铋片状酶生物传感器。具有纳米片多孔的结构，且再生性好，可重复使用。

[0010] 2. 整个发明过程简单易控制，耗能少，成本低，符合实际需要。

[0011] 3. 本方法通过构建的生物功能化 AChE-BiOI 纳米片的光电传感器平台，有效的避免了二氧化钛纳米管复杂的制备过程和其它单元物的繁琐整合，极大的节省了时间与成本。

[0012] 以下结合附图和实施例进一步对本发明进行说明。

## 附图说明

[0013] 图 1 是实施例所制备的生物功能化 AChE-BiOI 纳米片样品的 XRD 衍射图

图 2 是实施例所制备的生物功能化 AChE-BiOI 纳米片样品 SEM 图

图 3 是实施例所得的生物功能化 AChE-BiOI 纳米片样品交流阻抗图谱

图 4 是实施例所得的生物功能化 AChE-BiOI 纳米片对于检测不同浓度的 MP 的光电化学响应信号

图 5 是实施例所得的生物功能化 AChE-BiOI 纳米片的 MP 对 AChE-BiOI NFs/ITO 的抑制度与其浓度的线性关系。

## 具体实施方式

### [0014] 实施例 1

功能化碘氧化铋纳米片状阵列光电有机磷农药生物传感器的制备，其步骤包括：

1)、基片处理，将 ITO 玻璃片先后放入酒精和二次蒸馏水中各超声清洗 5 分钟，已完全清洗干净，在氮气下吹干备用；

2)、分别称取 0.254 g  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  和 0.083 g KI 固体，用二次蒸馏水配成 100 mL 溶液。在两个 25 mL 烧杯，分别倒入等体积的 BiOI 和 KI 溶液，将步骤 1) 准备好的 ITO 玻璃片先浸入到 BiOI 溶液中约 10 s 钟，然后在装有蒸馏水的烧杯中浸泡洗涤，接着浸入至 KI 溶液中约 10 s，再转入到装有蒸馏水的烧杯中浸泡洗涤，如此循环操作便可得到 BiOI NFs/ITO 电极，二次蒸馏水每 5 次循环后要更换一次。最后，经过一定的循环次数后，将得到的 BiOI NFs/ITO 电极在室温下干燥；

3)、将步骤 2) 制备好的 BiOI NFs/ITO 电极，用二次蒸馏水冲洗干净，然后将 BiOI NFs/ITO 电极浸泡在 AChE 的浓度是 6 mU  $\text{mL}^{-1}$  的 5 mM 的 pH 为 7.0 磷酸缓冲溶液中约 6 h，在室温放置半个小时即得到固定有乙酰胆碱酯酶的 BiOI NFs/ITO 复合电极，记为 AChE-BiOI NFs/ITO，然后将 AChE-BiOI NFs/ITO 浸泡在 pH 为 7.0 磷酸缓冲溶液中约 20min，以除去未固定的乙酰胆碱酯酶，并将电极保存在 5 mM 的 pH 为 7.0 磷酸缓冲溶液中，并置于 4°C 左右的冰箱内以供后来使用。

[0015] 所制得的样品的 XRD 衍射图如图 1，SEM 图如图 2，交流阻抗图谱【在 0.1 M KCl 含  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4/3-}$  氧化还原电对 (0.225 V vs Ag/AgCl) 应用频率为 0.1 赫兹到 100 赫兹】中进行测量如图 3。经过对 BiOI 纳米片层数，底物浓度，pH 值，抑制时间的优化后，在最优条件下分别在不同浓度下，对 AChE-BiOI NFs/ITO 电极检测 MP 的光电化学响应信号如图 4，在选定的最优化条件下，MP 对 AChE-BiOI NFs/ITO 的抑制度与其浓度的线性关系如图 5。

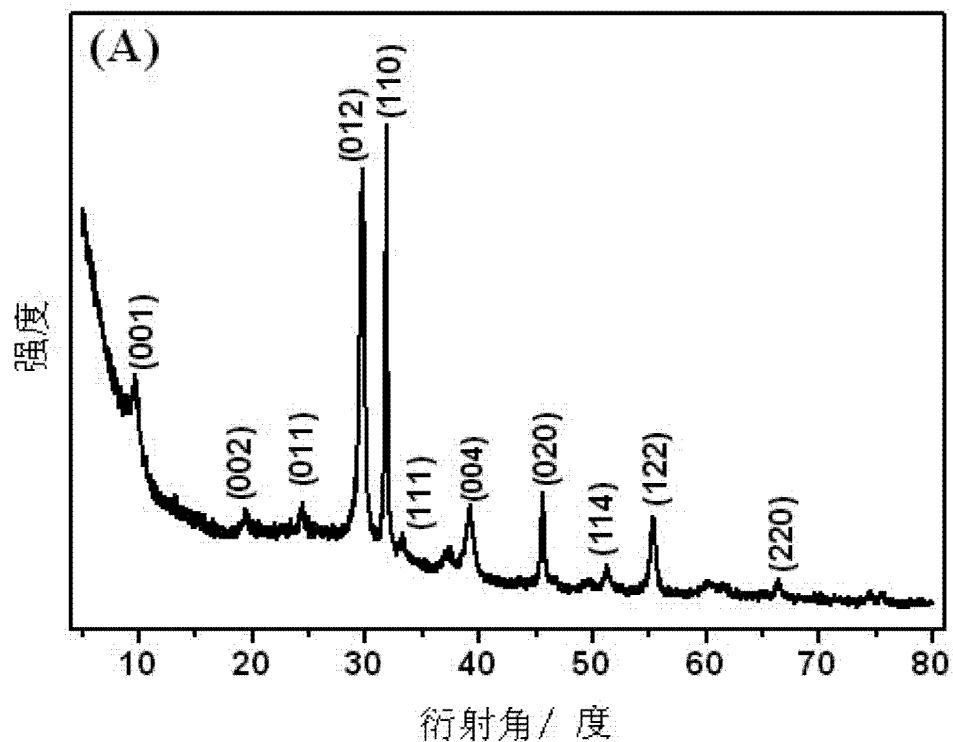


图 1

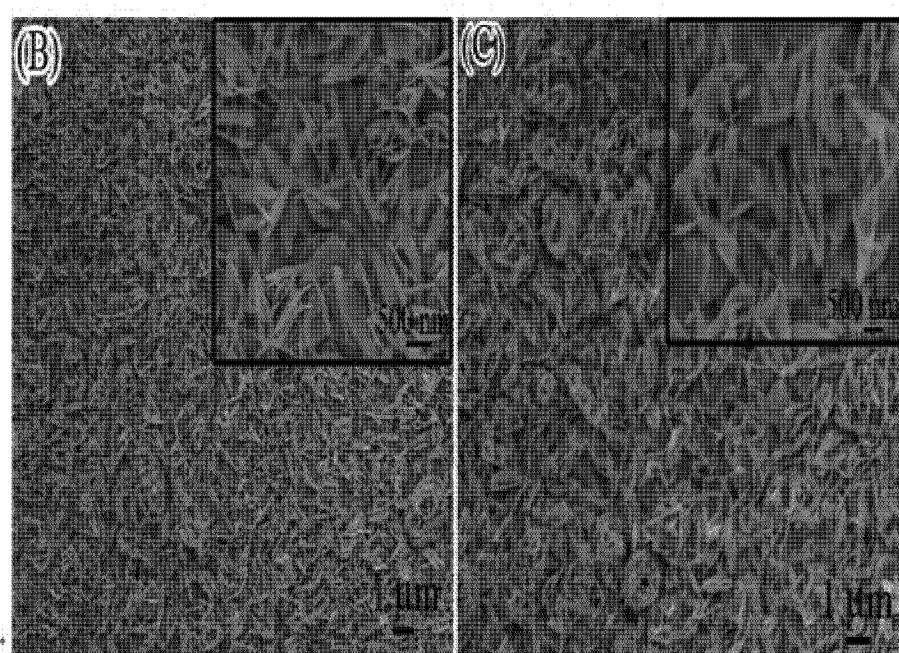


图 2

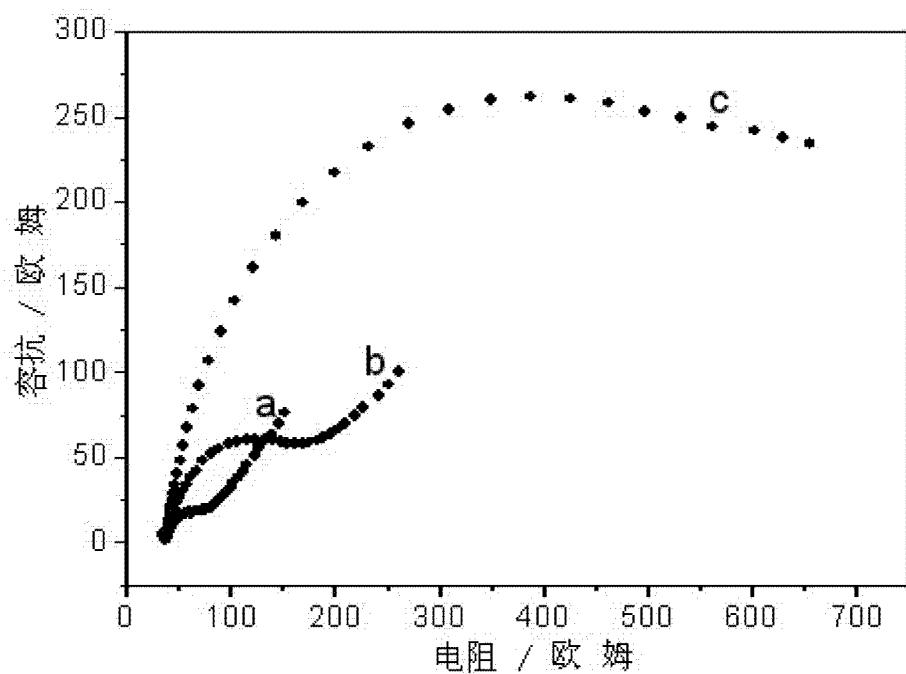


图 3

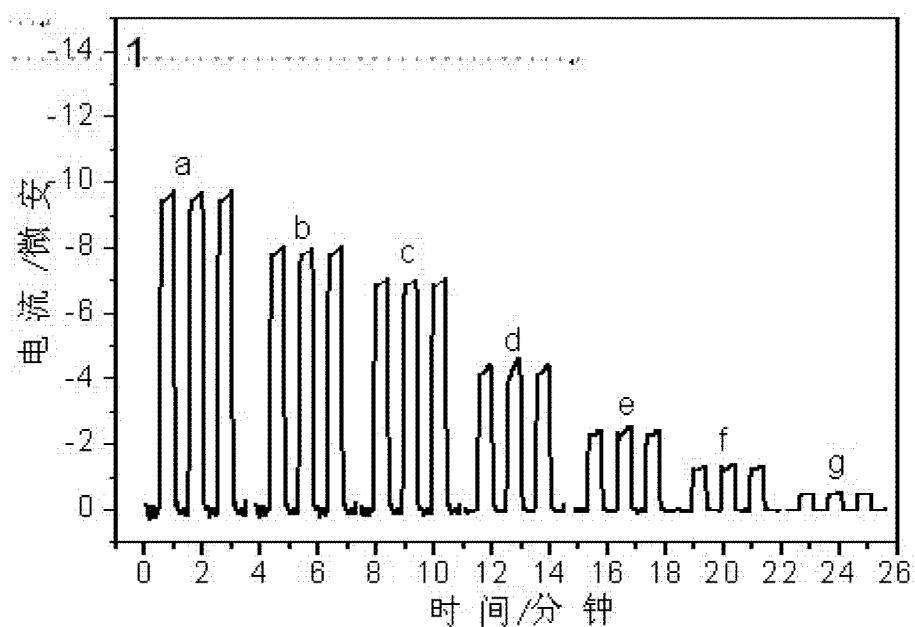


图 4

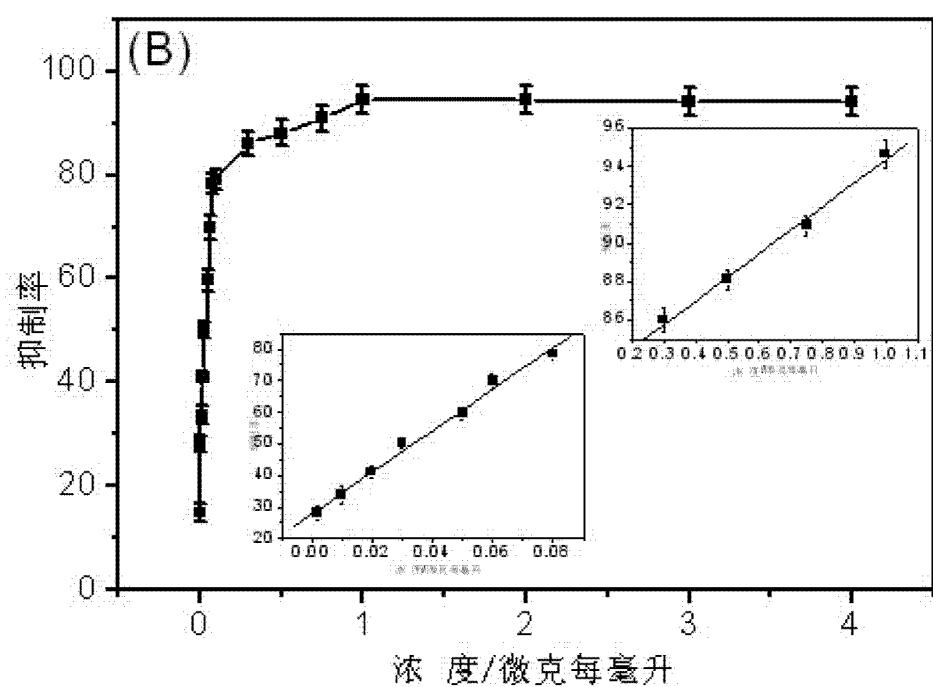


图 5