

微流控技术制备 ZnO 纳米棒及生物荧光检测性能研究

郭灵霞, 施雨辰, 赵振杰, 李 欣

(华东师范大学 物理与材料科学学院 纳光电与先进装备教育部工程研究中心, 上海 200062)

摘 要: 本研究设计并制备了一种微流控芯片并在其中水热合成了氧化锌(ZnO)纳米棒。利用扫描电子显微镜(SEM)和 X 射线衍射(XRD)研究了合成条件对 ZnO 纳米棒的形貌和晶体结构的影响。结果表明, 在微流控芯片中可制备得到致密的 ZnO 纳米棒, 其直径和长度随加热方式和制备时间的变化而改变。对比研究不同加热方式制备的 ZnO 纳米棒阵列检测异硫氰酸荧光素标记的羊抗牛 IgG 的性能, 发现局部加热方式制备的 ZnO 纳米棒检测荧光素标记蛋白的性能更佳, 在 10 pg/mL~1 µg/mL 范围内线性良好, 相关系数为 0.99209。在此基础上, 用局部加热制备的 ZnO 纳米棒检测人甲胎蛋白(AFP), 其最低检测限可达 1 pg/mL。这些结果表明, 微通道中合成的 ZnO 纳米棒适用于多通道荧光检测。

关 键 词: ZnO; 微流控芯片; 荧光检测; 生物传感器

中图分类号: O611 文献标识码: A

Fabrication and Fluorescence Biodetection of ZnO Nanorods Using Microfluidic Technology

GUO Ling-Xia, SHI Yu-Chen, ZHAO Zhen-Jie, LI Xin

(Engineering Research Center for Nanophotonics and Advanced Instrument, School of Physics and Materials Science, East China Normal University, Shanghai 200062, China)

Abstract: A simple microfluidic chip was designed and fabricated, on which zinc oxide (ZnO) nanorods were synthesized by hydrothermal method. The influence of growth condition on morphology and crystal structure of ZnO nanorods were investigated by scanning electron microscope (SEM) and X-ray diffraction (XRD), respectively. Experimental results showed that densely packed ZnO nanorods could be prepared on microfluidic chip, with good crystallinity and *c*-axis orientation. The diameter and length of ZnO nanorods changed with heating methods and growth time. Moreover, fluorescence detection by ZnO nanorods, synthesized with different heating methods, were evaluated by FITC-labeled goat anti-bovine IgG. And the results revealed that ZnO nanorods synthesized on chip by localized heating showed better detection performance of fluorescein-labeled protein and good linearity from 10 pg/mL to 1 µg/mL with the correlation coefficient of 0.99209. The as-synthesized ZnO nanorods were further used to demonstrate detection of human α -fetoprotein (AFP), and achieved a superior limit of detection as low as 1 pg/mL. This work demonstrated that ZnO nanorods synthesized by microfluidic device allowed multiplexed fluorescence biodetection.

Key words: ZnO; microfluidic chip; fluorescence detection; biosensor

收稿日期: 2018-01-02; 收到修改稿日期: 2018-02-13

基金项目: 国家自然科学基金(11574084, 11774091, 11704122, 51302085, 51572086)

National Natural Science Foundation of China (11574084, 11774091, 11704122, 51302085, 51572086)

作者简介: 郭灵霞(1992-), 女, 硕士. E-mail: 15906198199@163.com

通讯作者: 李 欣, 讲师. E-mail: xli@phy.ecnu.edu.cn; 赵振杰, 教授. E-mail: zjzhao@phy.ecnu.edu.cn

目前,常用的医学诊断设备昂贵、检测过程繁琐、耗时长,在快速现场诊断中难以发挥作用。因此,面对复杂的疾病和现场诊断的需求,医学检测分析设备的微型化、集成化与便携化已经成为体外诊断技术的发展趋势。早在 1990 年瑞士 Ciba-Geigy 公司分析实验室的 Manz 等^[1]提出了微流控芯片的概念,开启了检测器件的微型化。微流控技术在生物医学方面最早应用于生物分子的萃取或分离^[2],后来由于其显著的优势,集成化微流控芯片成为细胞培养与调控、生物检测、在线化学合成等一系列领域的研究热点^[3]。微流控芯片具有集成度高、试剂用量少等特点,被广泛用于高通量检测研究,与传统的检测方法相比,缩短了检测时间和成本^[4]。因此,利用微流控芯片研制适用于临床分析诊断设备,对疾病诊断技术的发展有重要意义。

近年来,如何快速准确地捕获生物标志物成为疾病诊断的关键,而纳米材料与技术的应用在提高诊断的敏感性和特异性方面展现了良好的应用前景^[5]。ZnO 是一种 n 型半导体氧化物,由于具有晶体结构的各向异性、较高的禁带宽度(3.37 eV)和较大的激子结合能(60 meV),使其具有优异的压电特性和光电转换特性,成为了生物检测领域的研究热点^[6]。基于 ZnO 纳米材料的特点可研制不同类型的生物传感器^[7],在光学检测方面,ZnO 纳米棒具有较大的比表面积,界面电子转移效应^[8]和光波导效应^[9],可显著增强荧光信号。ZnO 纳米棒阵列可采用水热法^[10]经种子诱导合成^[11],同时也可将其结合微流控芯片用于检测 pH 值^[12]和蛋白分子^[13]。因此,利用微流控芯片消耗少、便于集成的特点^[14]及 ZnO 纳米棒的优异性能,研制高灵敏的生物标志物检测技术具有重要意义。然而在微通道中水热法合成 ZnO 纳米棒时,会有沉淀产生并堵塞通道^[15],降低芯片中合成环境的可控性以及合成材料的一致性和重复性,进而影响后续的检测、降低检测的灵敏度和准确性。

本研究设计制备了一种多通道微流控芯片,在芯片上利用水热法合成 ZnO 纳米棒,分析了合成条件对 ZnO 纳米棒的形貌及结构性能的影响,研究了 ZnO 纳米棒检测生物分子的性能,为研制高性能的生物荧光检测器提供新思路。

1 实验方法

1.1 试剂与仪器

六水硝酸锌($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)、六亚甲基四胺(HMTA)、二水乙酸锌($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4\text{Zn} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)、氨水

($\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)、丙酮、异丙醇(IPA),均由国药集团化学试剂有限公司生产,聚二甲基硅氧烷(PDMS)由美国 Momentive 公司提供,聚乙烯亚胺(PEI)购于美国 Sigma-Aldrich 公司,异硫氰酸荧光素标记的羊抗牛 IgG (FITC-anti bovine IgG)购于美国 Immuno-Reagents 公司,磷酸盐缓冲液(PBS)、人甲胎蛋白抗原(Human AFP antigen)、鼠抗人甲胎蛋白抗体 1° (Mouse anti-human AFP coating Ab)、鼠抗人甲胎蛋白抗体 2° (Mouse anti-human AFP labeling Ab)、荧光标记的羊抗鼠 IgG (Fluorescently labeled goat anti-mouse antibody)以及人前列腺抗原(Human PSA antigen)购于上海领潮生物科技有限公司。

1.2 微流控芯片的设计与制备

实验所用微流控芯片,如图 1(a)所示,六个微通道的一端汇集于一个中央腔室,另一端连接一个直径为 4 mm 的储液池。微通道宽为 200 μm , 高为 75 μm , 长为 7.5 mm, 中间腔室直径为 2 mm, 高度为 0.5 mm。首先将 SU-8 光刻胶旋涂于干净的硅片上,厚度为 75 μm , 热烘后将掩模(尺寸与芯片通道尺寸相同)置于光源与光刻胶之间,在紫外灯下曝光后用显影液清洗,得到与掩膜相同的图案,形成模具。将 PDMS 单体与固化剂(RTV-615A、RTV-615B)以 10:1 的质量比混合,用干净的玻璃棒搅拌均匀后,浇注于微通道的模板上,除尽气泡后放入 80℃ 的烘箱中固化 2 h。冷却后,将固化的 PDMS

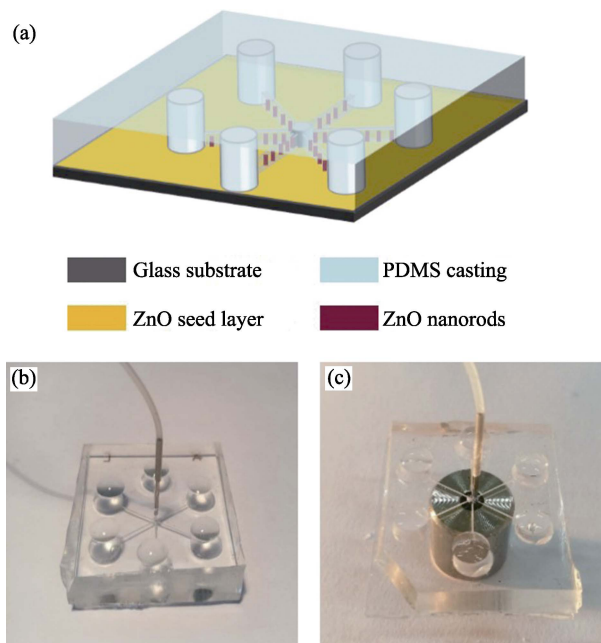


图 1 微流控芯片示意图(a); 利用整体加热(b)及局部加热(c)方法在芯片中合成 ZnO 纳米棒的实验照片

Fig. 1 Schematic of microfluidic chip (a), photograph of synthesis of ZnO nanorods on chip by global heating (b) and localized heating (c)

与模板剥离并在中央腔室处打孔。最后, 用氧等离子体处理 PDMS 铸件表面, 并放在具有种子层的玻璃片上用于 ZnO 纳米棒的生长及蛋白的检测。

1.3 种子层的制备以及 ZnO 纳米棒的生长

本研究采用溶液旋涂法制备种子层。先后用丙酮、异丙醇、去离子水超声清洗玻璃片, 再用氮气吹干得到干净的玻璃片。配置 10 mmol/L 醋酸锌的乙醇溶液, 超声 3 min 得到种子溶液。将种子溶液以 2000 r/min 的转速旋涂于洗净的玻璃片上, 重复旋涂三次后置于加热台 300℃ 加热 1 h。

利用种子层诱导法, 在微通道中水热合成 ZnO 纳米棒。先后将 0.2 g PEI (12.5 mmol/L)、0.372 g $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (25 mmol/L)、0.0875 g HMTA (12.50 mmol/L) 溶解于去离子水中, 加入 1 mL $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 于 50 mL 的容量瓶中定容, 混合均匀后, 用 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 调节 pH 到 10.60。将生长溶液注入储液池中, 用注射泵从中间腔室以 7.2 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的流速将生长溶液抽出, 使生长溶液在每个通道中以 1.2 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的流速流经每个微通道。在本研究中, 合成 ZnO 纳米棒的温度为 90℃, 分别采用两种方式进行加热, 如图 1 所示, 将整个芯片置于加热台上加热(图 1(b)); 将 15 mm 高的圆柱形金属块置于 90℃ 的加热台上(图 1(c)), 再将芯片放在金属块上进行局部加热。生长结束后, 将芯片取下, 用上述方法注入去离子水清洗通道, 去除 ZnO 纳米棒表面的沉淀, 最后揭下 PDMS 芯片, 用氮气沿着微通道吹干玻璃表面, 得到 ZnO 纳米棒阵列用于表征分析。

1.4 不同加热条件下制备的 ZnO 纳米棒对荧光素标记蛋白的检测

将 FITC 标记的羊抗牛 IgG 溶于 pH 为 7.4 的磷酸盐缓冲液(PBS)中, 配置不同浓度的 FITC 标记的羊抗牛 IgG 溶液($1 \times 10^{-6} \sim 1 \mu\text{g}/\text{mL}$)。在不同加热条件下制备得到 ZnO 纳米棒阵列, 清洗通道后将不同浓度的蛋白溶液注入六个储液池中, 并且用注射泵以 18 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的流速将其抽出, 10 min 后用 PBS 和去离子水清洗后置于荧光显微镜上观察。

为了分析 ZnO 纳米棒在检测癌症标志物时的性能, 本实验在芯片上检测了浓度范围为 1 pg/mL ~ 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 AFP 蛋白。在清洗通道后, 将鼠抗人 AFP 抗体 1°(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)滴入储液池, 以 18 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的流速抽出, 12 min 后停止, 孵育 6 min。清洗通道后用 5 vol% 的 BSA 封闭 30 min, 流速为 6 $\mu\text{L}/\text{min}$, 以避免非特异性吸附。然后将不同浓度的 AFP 抗原溶液滴入储液池, 以 18 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的流速通入通道, 时间为 12 min, 孵育 6 min。清洗通道后再以相同流速将鼠

抗人 AFP 抗体 2°(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)通入通道。最后通入荧光标记的羊抗鼠 IgG(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 时间为 12 min, 孵育 6 min, 清洗通道后置于荧光显微镜上观察。

1.5 表征

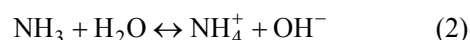
使用扫描电子显微镜(SEM, Hitachi S-4800)和 X 射线衍射仪(XRD, Rigaku Ultima IV)分别对 ZnO 纳米棒的表面形貌和晶体结构进行表征。使用荧光显微镜(重庆奥特 BDS200-FL)对样品的荧光强度进行分析, 并对所得图像用 imageJ 进行处理。

2 结果与讨论

2.1 ZnO 纳米棒的生长

在本研究的实验中, 利用多通道微流控芯片进行 ZnO 纳米棒的制备, 如图 1(b)所示。每个微通道都连接一个储液池, 在生长过程中只需将生长溶液滴加于储液池中, 再从中央腔室集中抽出即可。这样可以解决 PDMS 芯片和 ZnO 种子层基底不易键合的问题, 同时集中出口的设计有利于提高合成材料的一致性。利用该芯片进行合成生长, 可以同时进行六组实验, 缩短了实验时间, 储液池的使用也使生长溶液的补充更加便捷。

利用水热法在种子层上合成 ZnO 纳米棒的生长机理^[16-17]如下:



生成 ZnO 的反应是一个可逆反应, 生长溶液的 pH 为 10.60, HMTA 不断释放出 OH^- , 促进了反应进行; 而 PEI 的加入抑制了 ZnO 的径向生长速率, 使得 ZnO 沿轴向方向择优生长^[18-19]。在芯片中, 生长溶液的流动模式使得整个合成过程中反应物不断更新, 生长环境中反应物的浓度较为稳定, 生长速率高于传统水热法^[13]。

为了探究 ZnO 纳米棒形貌随合成条件的变化, 本实验首先对整体加热条件下不同合成时间内制备的 ZnO 纳米棒的形貌进行了表征, 如图 2(a)~(c)所示。从图上可以看, 随着生长时间的延长, ZnO 纳米棒的直径与长度都在逐渐增加。同时从图 2(a)~(c)的断面照片也可以看出, 即使清洗通道, ZnO 纳米棒阵列上方仍存在花状和颗粒状的沉淀, 且尺寸远大于底部的 ZnO 纳米棒。这是由于芯片直接放置于加热台上, 储液池中的生长溶液也会受热发生反应生成一定量的 ZnO 颗粒。当生长溶液由开放的储液池进入微通道时, 这些颗粒相互团簇随生长溶液进

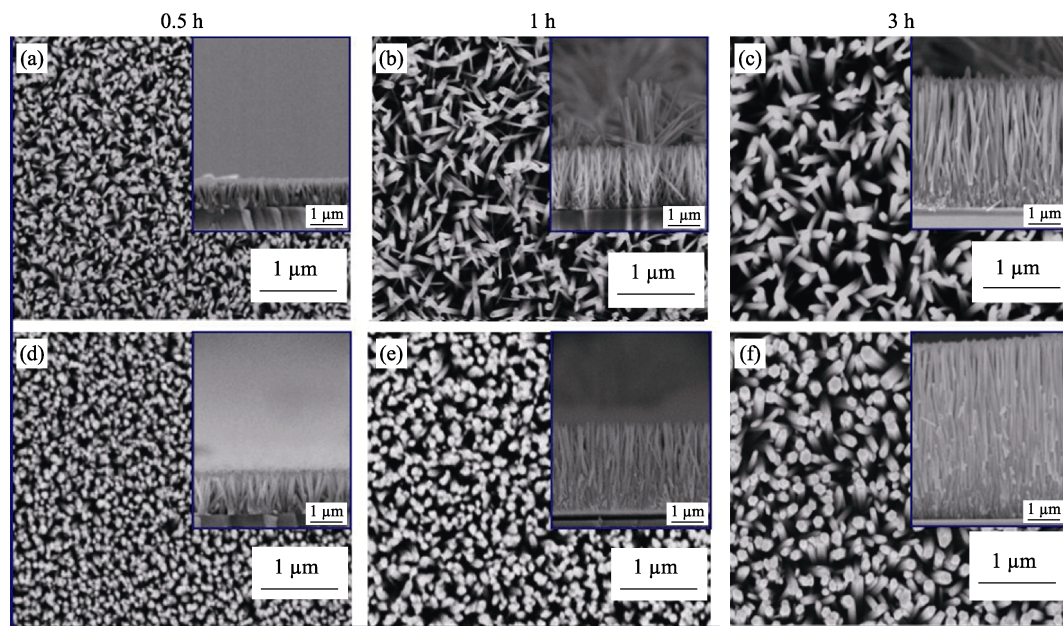


图 2 ZnO 纳米棒在整体加热生长 0.5 (a)、1 (b) 和 3 h (c) 后以及局部加热生长 0.5 (d)、1 (e) 和 3 h (f) 的 SEM 照片

Fig. 2 SEM images of ZnO nanorods grown by global and localized heating method for 0.5 h (a, d), 1 h (b, e) and 3 h (c, f), respectively

入到微通道内, 和 ZnO 纳米棒一同生长、堵塞通道, 减缓生长溶液的流通, 降低 ZnO 纳米棒的合成效率。

为了减少沉淀的产生本研究采取局部加热方式, 将整个芯片置于半径为 5 mm 的加热金属块上(图 1(c))。图 2(d)~(f)为局部加热条件下、不同生长时间制备的 ZnO 纳米棒的 SEM 照片。从图上可以看出, 局部加热下 ZnO 纳米棒的生长趋势与整体加热下相同, 直径和长度都随着时间的增加而增大。同时局部加热制备得到的 ZnO 纳米棒均匀且致密, 微通道内没有明显沉淀。在局部加热的条件下, 微通道与金属块直接接触的部分, 温度能够达到 90℃。储液池距热源 3.5 mm, 无法与热源接触且直接暴露在空气中, 温度低于 90℃。温度降低会使储液池中的反应速率降低, 减缓 ZnO 纳米棒的生长速率^[20]; 另一方面, ZnO 存在逆溶解现象^[21], 溶解度随温度的降低而升高。因此, 通道中的沉淀显著减少, 生长溶液流通不受阻碍, 生成了更均一的纳米棒阵列。

进一步探究不同加热条件制备的 ZnO 纳米棒的直径分布情况并对其进行拟合(图 3(a)~(f)), 可以发现随着生长时间的延长, 直径分布曲线峰位均向右移动。对比两种加热方式, 整体加热条件下直径分布曲线有展宽的趋势, 说明随着合成时间的延长整体加热条件下制备的 ZnO 纳米棒的直径分布更加不均匀; 而在局部加热条件下直径分布曲线的峰宽变化不显著, 说明此条件下可以得到一致性较好的 ZnO 纳米棒。图 3(g)~(h)表示的两种加热条件下制

备的 ZnO 纳米棒的平均直径和长度随时间变化的曲线。可以看出整体加热条件下 ZnO 的生长速率更慢, 0.5~3 h 内 ZnO 纳米棒的径向生长以 11 nm/h 的速率从 47 nm 增加至 82 nm; 轴向生长速率约为 1 μm/h, 从 0.89 μm 增至 3.90 μm。而局部加热条件下在相同的合成时间内, ZnO 纳米棒的直径从 53 nm 增大到 120 nm, 径向生长速率为 22.23 nm/h; 长度从 1.54 μm 增至 6.24 μm, 轴向生长速率为 1.57 μm/h。上述结果表明, 在相同流速下利用局部加热进行合成时产生的沉淀更少, 生长溶液沿通道轴向方向的速度更稳定, 因此加快 ZnO 纳米棒的生长速率同时也提高了材料的一致性和重复性。

从上述分析可以看出, 3 h 的合成时间可以合成出直径和长度更大的 ZnO 纳米棒, 然而随着合成时间的延长, ZnO 纳米棒根部融合的现象愈加显著, 在通道入口也仍然不可避免地产生一定的沉淀堆积, 不利于后续检测。对合成时间为 1 h 的 ZnO 纳米棒进行 XRD 衍射图谱分析, 如图 4 所示。从该谱线可以看出, 两种加热条件下合成样品的特征峰都与标准谱图(JCPDS NO. 36-1451)吻合, 不存在杂质峰, 表明样品结晶度较高、纯度较好。合成的 ZnO 纳米棒均为六方纤锌矿结构, (0002)面的衍射峰强度最高, 说明 ZnO 纳米棒都是沿 *c* 轴方向择优取向生长。比较两个样品的(0002)面衍射峰, 可以看出局部加热下的 ZnO 纳米棒的结晶度更高。因此, 考虑 ZnO 纳米棒的合成效率及荧光检测的应用, 本研究利用合成时间为 1 h 的样品进行生物荧光检测。

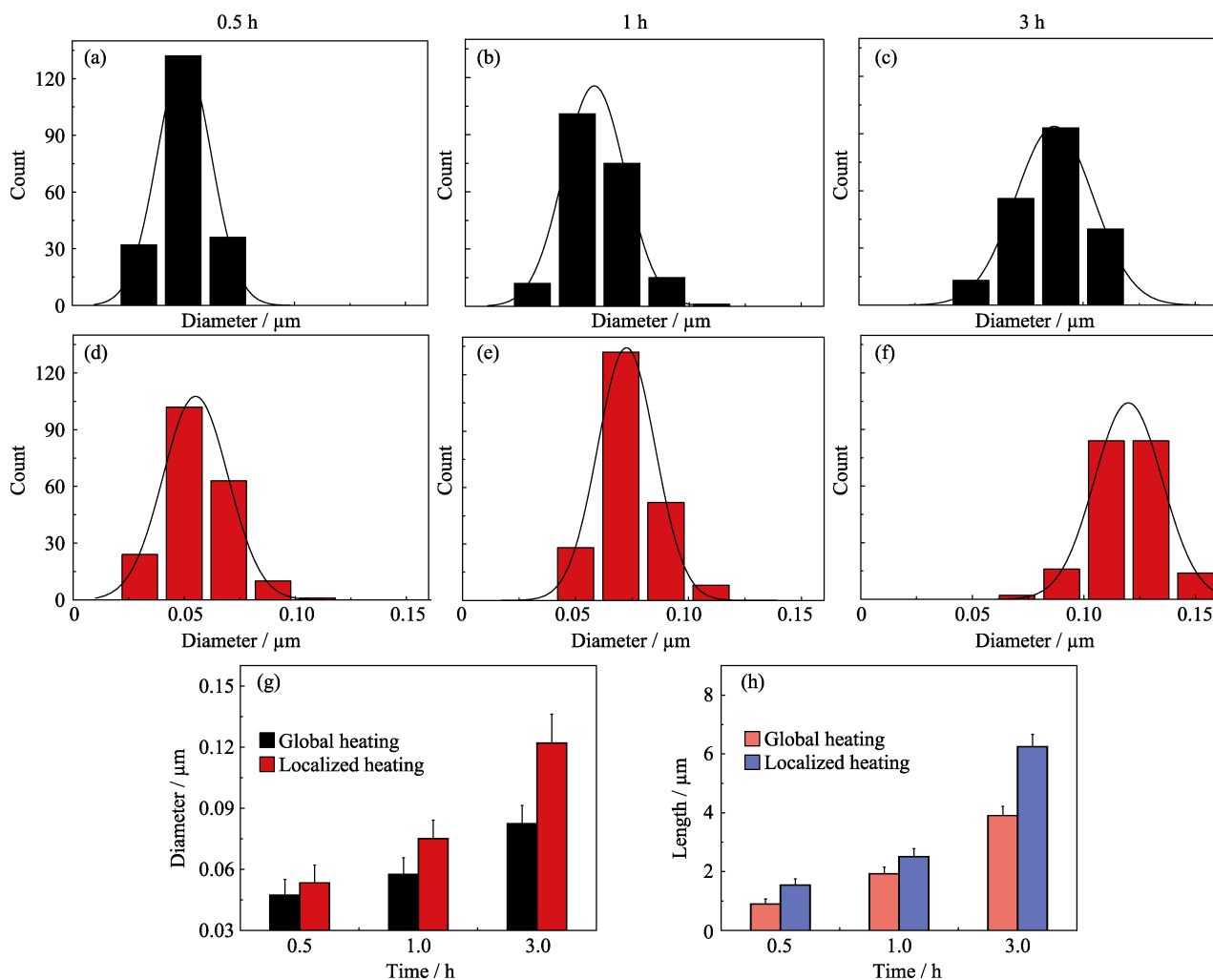


图 3 整体加热 0.5、1 和 3 h (a)~(c)、局部加热 0.5、1 和 3 h (d)~(f)条件下制备的 ZnO 纳米棒的直径分布以及直径(g)和长度(h)随时间的变化

Fig. 3 Diameter distribution histograms of ZnO nanorods grown for different time by different heating methods and diameter variation (g) and length variation (h) of ZnO nanorods as a function of growth time (a)-(c): 0.5 h, 1 h and 3 h by global heating; (d)-(f): 0.5 h, 1 h and 3 h by localized heating

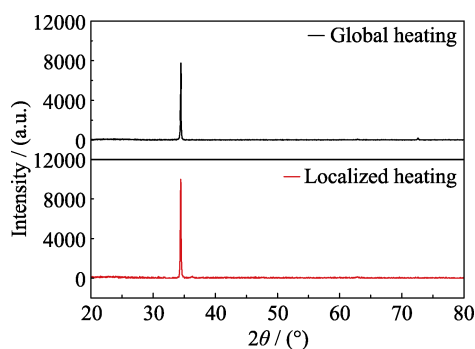


图 4 ZnO 纳米棒的 XRD 图谱

Fig. 4 XRD patterns of ZnO nanorods

2.2 荧光检测

ZnO 纳米棒作为蛋白的良好载体, 可以增强待测蛋白的荧光强度, 从而提高检测灵敏度。为了比较分析不同条件下制备的 ZnO 纳米棒检测荧光素标记蛋白的性能, 实验分别利用局部加热与整体

加热合成 ZnO 纳米棒, 生长时间为 1 h, 然后将该纳米棒阵列用于检测不同浓度 FITC 标记的羊抗牛 IgG($1 \times 10^{-6} \sim 1 \mu\text{g/mL}$), 如图 5(a)和(c)所示。从图上可以看出, 随着 IgG 抗体浓度的增加, 样品的荧光强度也随之增强, 说明有更多的抗体吸附在 ZnO 纳米棒表面。如图 5(b)所示, 整体加热制备的 ZnO 纳米棒检测 FITC 标记的羊抗牛 IgG, 其荧光强度随抗体的浓度呈现一定的线性变化规律($r^2=0.98014$), 检测的线性范围为 $10 \text{ pg/mL} \sim 1 \mu\text{g/mL}$, 最低检测限为 10 pg/mL 。利用局部加热方法制备的 ZnO 纳米棒进行检测(图 5(d)), 检测曲线也呈现线性变化的规律($r^2=0.99209$), 线性范围为 $10 \text{ pg/mL} \sim 1 \mu\text{g/mL}$, 但是最低检测限为 1 pg/mL , 和整体加热制备的 ZnO 纳米棒相比提高了一个量级。可以看出, 局部加热下制备的 ZnO 纳米棒检测荧光素标记蛋白的性能更佳。此外, 比较两种加热方式制备的

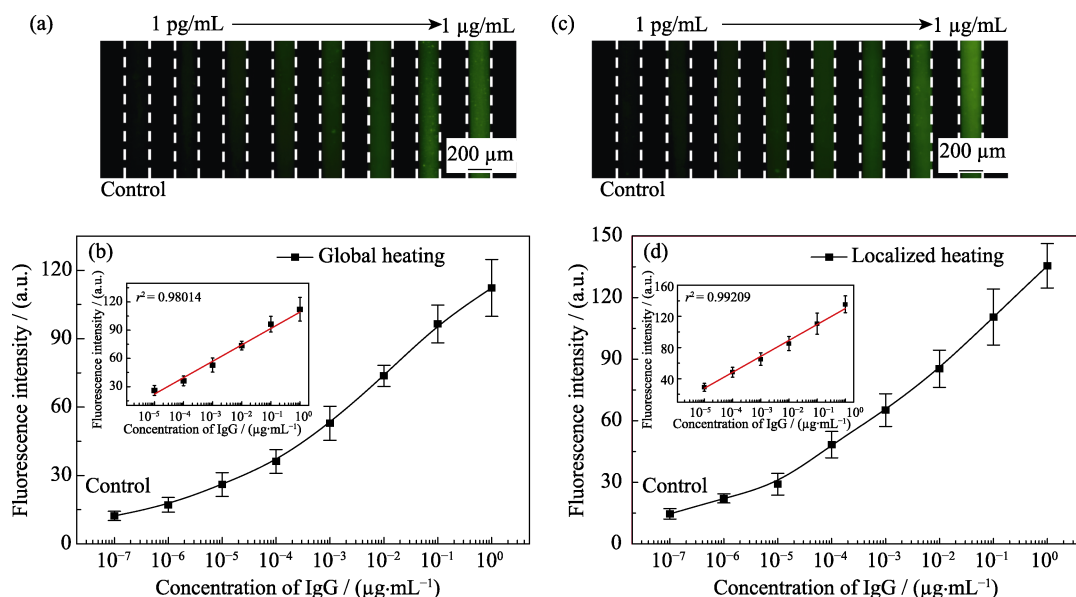


图 5 整体(a)~(b)加热和局部(c)~(d)加热制备的 ZnO 纳米棒检测 FITC 标记的羊抗牛 IgG 的荧光照片以及荧光强度曲线

Fig. 5 Fluorescence images and corresponding detection curve of FITC-anti bovine IgG on ZnO nanorods synthesized by global heating (a-b) and localized heating (c-d)

ZnO 纳米棒的荧光检测曲线,可以看出抗体浓度相同时,以局部加热制备的 ZnO 纳米棒为基底的荧光强度更高。通过计算平面单位面积(μm^2)上 ZnO 纳米棒的表面积可以发现,整体加热制备的纳米棒的表面积约为 $12.96 \mu\text{m}^2$,局部加热得到表面积约为 $82.44 \mu\text{m}^2$,后者约为前者的 6 倍。表面积增大,吸附的抗体也随之增多,可增强荧光信号。同时,由图 4 也可以看出局部加热条件下制备的 ZnO 纳米棒结晶度更好,有利于荧光信号检测。

作为生物蛋白检测的基底, ZnO 纳米棒的荧光增强效应的机制主要包括三个方面:首先, ZnO 纳米棒具有较高的等电点^[22],在中性缓冲液中, ZnO 纳米棒表面富集正电荷,可以吸附等电点较低的生物分子。微通道中制备的 ZnO 纳米棒的直径和长度较大,表面积高,是吸附和检测蛋白的良好载体。其次, ZnO 纳米棒可以和荧光分子进行电荷转移,降低电子与空穴的耦合,较少荧光分子的湮灭,从而增强荧光效应,提高信噪比^[23]。最后, ZnO 纳米棒具有光波导效应^[24],入射激发光会在纳米棒周围产生消逝场。在光波导增强场的诱导下,在 ZnO 纳米棒附近的荧光基团受到更强的激发。在本研究中, ZnO 纳米棒的直径小于 200 nm,满足该光场传输模式,荧光强度得以显著提高。因此,基于该微流控芯片制备的 ZnO 纳米棒是蛋白的优良载体,能显著提高检测荧光素标记蛋白的性能,可用于研制生物传感器。

为了探究 ZnO 纳米棒对实际生物样品的检测性能,用局部加热下生长 1 h 的 ZnO 纳米棒对 AFP 进行检测(图 6(a)~(b)),其最低检测限为 1 pg/mL,可

见进行实际样品的检测时, ZnO 纳米棒也表现出很好的检测性能。最后对免疫实验中的抗干扰性进行探究,本实验对 PSA 和 BSA 的这两种干扰性蛋白与 AFP 进行了对比实验。如图 6(c)~(d)所示,四组溶液中的各组分浓度均为 1 µg/mL。可以看出,当溶液中只有 AFP 抗原时荧光强度最强;当有干扰蛋白 PSA 或 BSA 时,荧光强度略有下降;当待测溶液中只有 BSA 时,荧光强度很弱,难以分辨。因此,在 ZnO 纳米棒上利用免疫夹心法进行蛋白检测可以有效地选择目标蛋白,具有实际应用的价值。

3 结论

本研究在微流控芯片内利用水热法制备了 ZnO 纳米棒,研究了制备时间及加热方式对 ZnO 纳米棒形貌的影响,探究了 ZnO 纳米棒检测荧光素标记蛋白的性能。实验结果表明,在微流控芯片中制备的 ZnO 纳米棒具有良好的结晶性和 c 轴取向性,生长溶液的更新使 ZnO 纳米棒的生长速率得以加快。和整体加热方法相比,局部加热合成的 ZnO 纳米棒直径和长度更大,表面积也有显著增加。同时,对 FITC 标记的羊抗牛 IgG 的检测研究也表明,局部加热条件下制备的 ZnO 纳米棒的荧光增强性能更佳。利用微流控芯片还可以对人血清中的癌症标志物进行检测,实现多样品的快速检测,有效提高检测效率。因此,本研究建立了一种利用微流控芯片合成 ZnO 纳米棒的新方法,在研制和发展生物学检测设备方面具有潜在的应用前景。

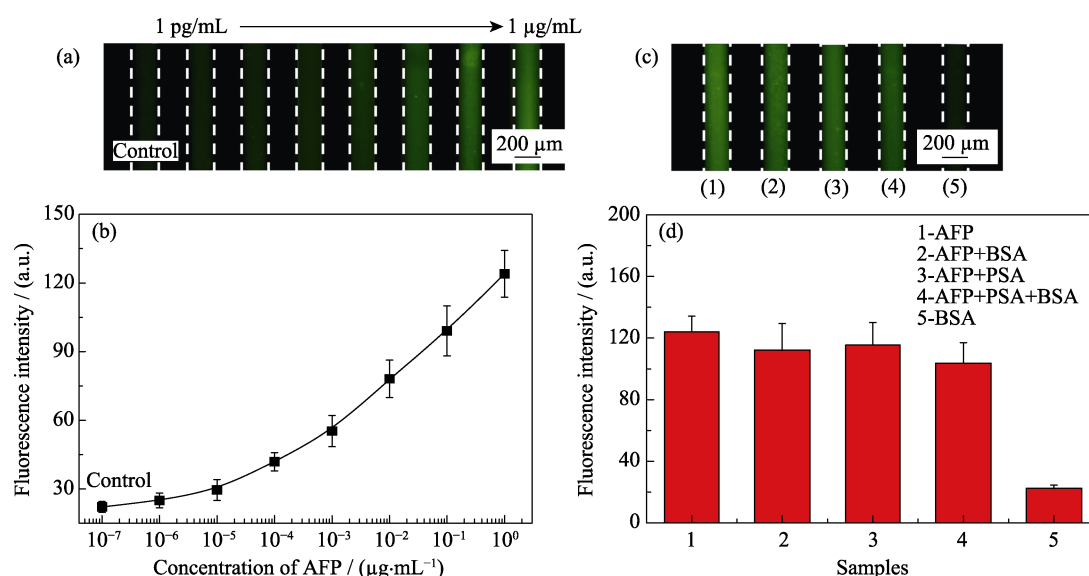


图 6 局部加热制备的 ZnO 纳米棒检测 AFP 的荧光照片(a)和荧光强度随 AFP 浓度变化曲线(b), 以及不同蛋白(BSA, PSA)干扰下检测 AFP 的荧光照片(c)和荧光强度的变化(d)

Fig. 6 Fluorescence images (a) and quantitative analysis of fluorescence intensity with various AFP concentration (b) on ZnO nanowires synthesized by localized heating, as well as fluorescence images (c) and quantitative analysis of fluorescence intensity with AFP detection (d) against other potentially interfering proteins using BSA and PSA. Various proteins in each group have the same concentration, 1 µg/mL.

参考文献:

- [1] MANZ A, GRABER N, WIDMER H. Miniaturized total chemical analysis systems: a novel concept for chemical sensing. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1990, **1**(1): 244–248.
- [2] HWANG K, KWON S, JUNG S, *et al.* Miniaturized bead-beating device to automate full DNA sample preparation processes for gram-positive bacteria. *Lab on a chip*, 2011, **11**(21): 3649–3655.
- [3] LING B. Research and industrialization of microfluidic chip. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2016, **44**(4): 491–499.
- [4] DHARMASIRI U, NJOROGUE S K, WITEK M A, *et al.* High-throughput selection, enumeration, electrokinetic manipulation, and molecular profiling of low-abundance circulating tumor cells using a microfluidic system. *Analytical Chemistry*, 2011, **83**(6): 2301–2309.
- [5] BWATANGLANG I B, MOHAMMAD F, YUSOF N A. Role of multifunctional nanomaterials in disease diagnosis and therapy. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2014, **6**(11): 821–844.
- [6] ARYA S K, SAHA S, RAMIREZ-VICK J E, *et al.* Recent advances in ZnO nanostructures and thin films for biosensor applications: review. *Analytica Chimica Acta*, 2012, **737**(15): 1–21.
- [7] HAHM J I. Zinc oxide nanomaterials for biomedical fluorescence detection. *Journal of Nanoscience & Nanotechnology*, 2014, **14**(1): 475–486.
- [8] FU Y, ZHANG J, LAKOWICZ J R. Photophysical behaviors of single fluorophores localized on zinc oxide nanostructures. *International Journal of Molecular Sciences*, 2012, **13**(9): 12100–12112.
- [9] YIN Y, SUN Y, YU M, *et al.* ZnO nanorod array grown on Ag layer: a highly efficient fluorescence enhancement platform. *Scientific Reports*, 2015, **5**: 8152–8155.
- [10] WEN Z, WANG G, LI J, *et al.* Enhanced photocatalytic properties of mesoporous SnO₂ induced by low concentration ZnO doping. *Crystal Growth & Design*, 2007, **7**(9): 1722–1725.
- [11] WANG G, CHEN D, LI J, *et al.* Tunable photocurrent spectrum in well-oriented zinc oxide nanorod arrays with enhanced photocatalytic activity. *J. Phys. Chem. C*, 2008, **112**(24): 8850–8855.
- [12] KIM J, LI Z, PARK I. Direct synthesis and integration of functional nanostructures in microfluidic devices. *Lab on Chip*, 2011, **11**(11): 1946–1951.
- [13] GUO L, SHI Y, LIU X, *et al.* Enhanced fluorescence detection of proteins using ZnO nanowires integrated inside microfluidic chips. *Biosensors & Bioelectronics*, 2017, **99**: 368–374.
- [14] SHI Y, GUO L, LIU X, *et al.* Preparation and fluorescence detection property of ZnO nanorods. *Micronanoelectronic Technology*, 2017, **54**(6): 419–425.
- [15] LADANOV M, ALGARINAMARIS P, MATTHEWS G, *et al.* Microfluidic hydrothermal growth of ZnO nanowires over high aspect ratio microstructures. *Nanotechnology*, 2013, **24**(37): 375301–375309.
- [16] NAM G H, BAEK S H, PARK I K. Growth of ZnO nanorods on graphite substrate and its application for Schottky diode. *Journal of Alloys & Compounds*, 2014, **613**(10): 37–41.
- [17] SCHMIDT-MENDE L, MACMANUS-DRISCOLL J L. ZnO-nanostructures, defects, and devices. *Materials Today*, 2007, **10**(5): 40–48.
- [18] ZHU S, CHEN X, ZUO F, *et al.* Controllable synthesis of ZnO nanograss with different morphologies and enhanced performance in dye-sensitized solar cells. *Journal of Solid State Chemistry*, 2013, **197**(1): 69–74.
- [19] HAN Z, LI J, HE W, *et al.* A microfluidic device with integrated ZnO nanowires for photodegradation studies of methylene blue under different conditions. *Microelectronic Engineering*, 2013, **111**(2): 199–203.
- [20] XU C, GAO D. Two-stage hydrothermal growth of long ZnO nanowires for efficient TiO₂ nanotube-based dye-sensitized solar cells. *Journal of Physical Chemistry C*, 2012, **116**(12): 7236–7241.
- [21] RICHARDSON J J, LANGE F F. Controlling low temperature aqueous synthesis of ZnO. *Crystal Growth & Design*, 2009, **9**(6): 2570–2575.
- [22] TOPOGLIDIS E, CASS A E G, O'REGAN B, *et al.* Immobilisation and bioelectrochemistry of proteins on nanoporous TiO₂, and ZnO films. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2001, **517**(1/2): 20–27.
- [23] FU Y, ZHANG J, LAKOWICZ J R. Photophysical behaviors of single fluorophores localized on zinc oxide nanostructures. *International Journal of Molecular Sciences*, 2012, **13**(9): 12100–12112.
- [24] BÖRNER S, RÜTER C E, VOSS T, *et al.* Modeling of ZnO nanorods for evanescent field optical sensors. *Physica Status Solidi*, 2007, **204**(10): 3487–3495.