doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2017.06.043

基于MOCPs - MWCNTs的大肠杆菌电化学免疫传感器

杨华徐霞红郭玉娜肖英平唐标王强 (浙江省农业科学院农产品质量标准研究所,杭州 310021)

摘要: 食源致病菌引起的食品安全问题已成为全世界关注的焦点。设计了一种基于多壁碳纳米管(MWCNTs)-有 机配位聚合物(MOCPs)高效固定抗体的大肠杆菌电化学免疫传感器。利用 NaAuCl₄与1,4-苯二硫醇(BDT)反应生 成金属有机配位聚合物,同时在 BDT 的还原作用下生成大量纳米金,并包埋大量吸附在 MWCNTs 表面的大肠杆菌 抗体,最终将抗体高效包埋在 MOCPs - MWCNTs 中,基于 MOCPs - MWCNTs 固定抗体研制修饰电极,在目标物大肠 杆菌 O157:H7 的存在下,辣根过氧化氢酶标记的抗体(HRP - Ab)随后特异性捕获于电极表面形成典型夹心结构, 通过 HRP 催化底物产生电化学信号从而实现大肠杆菌 O157:H7 的检测。MOCPs - MWCNTs 特有的高比表面积高 效固定了大量抗体,增加了传感器结合抗体的效率并提高了传感器的灵敏度。该传感器对大肠杆菌 O157:H7 的检 测线性范围为 67 ~ 6.7 × 10⁶ cfu/mL,最低检出限为 40 cfu/mL。

关键词:大肠杆菌 0157:H7;金属有机配位聚合物;多壁碳纳米管;电化学免疫传感器 中图分类号:TP212.3;TB383 文献标识码:A 文章编号:1000-1298(2017)06-0328-06

Electrochemical Immunosensor Assay (EIA) of *E. coli* O157:H7 Based on MOCPs – MWCNTs with Highly Efficient Antibody Immobilization

YANG Hua XU Xiahong GUO Yu'na XIAO Yingping TANG Biao WANG Qiang (Institute of Quality and Standard for Agro-products, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China)

Abstract: Microbiological contamination caused by food-borne diseases has become a major public health problem of the world. A novel electrochemical immunosensor assay (EIA) for high sensitive and specific detection of Escherichia coli O157:H7 was developed. A new nanocomposites with multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) embedded inmetal-organic coordination polymers (MOCPs) was successfully prepared as highly efficient matrices of capturing antibody immobilization for sensitive electrochemical biosensing. In the presence of target E. coli O157:H7, horse radish peroxidase (HRP)-labeled antibody was captured on the electrode surface to form a sandwich-type system via the specific identification. As a result, E. coli O157: H7 detection was realized by outputting a redox current from electro-reduction of hydrogen peroxide reaction catalyzed by HRP. In the assay, the combination of the unique properties of MWCNTs and MOCPs can not only accelerate electron transfer on the electrode interface, but also provide an excellent scaffold for the conjugation of capture antibody. Meanwhile, adopting the MWCNTs - MOCPs materials significantly improved the target capturing efficiency and enhanced the sensitivity of the biosensor. The results revealed that the calibration plot obtained for E. coli O157:H7 was approximately linear from 67 cfu/mL to 6.7 $\times 10^6$ cfu/mL with the limit of detection of 40 cfu/mL. In addition, the biosensor was successfully applied to quantitative assay of E. coli O157:H7 in synthetic sample (milk). Hence, the developed electrochemical-based immunosensor might provide a useful and practical tool for E. coli O157:H7 determination and related food safety analysis and clinical diagnosis.

Key words: Escherichia coli O157:H7; metal-organic coordination polymers; multi-walled carbon nanotubes; electrochemical immunosensor

引言

细菌污染是威胁人类健康的最严峻食品安全问

题之一^[1-2]。在众多的食源性致病菌中,大肠杆菌 0157:H7 是危害最大的致病菌之一,可引起严重的 食源性疾病,甚至导致死亡^[3]。传统的大肠杆菌定

基金项目:浙江省自然科学基金项目(LZ15C170001)

收稿日期:2017-04-20 修回日期:2017-05-03

作者简介:杨华(1972一),男,高级畜牧师,主要从事畜产品质量安全研究,E-mail: yanghua@ mail. zaas. ac. cn

量方法如平板计数法大多基于微生物培养技术,通 常至少需要2~3d才能获得准确结果,难以满足农 产品监管需求。目前,基于聚合酶链式反应 (PCR)^[4]、化学发光^[5]、石英晶体微天平(QCM)^[6]、 酶联免疫吸附检测(ELISA)^[7]等技术发展了多种大 肠杆菌快速检测方法,但在灵敏度、稳定性、现场监测 能力上难以同时满足需求。因此,迫切需要开发新方 法用于高灵敏、高特异性检测大肠杆菌 O157:H7。

免疫测定法是基于抗原与抗体的高特异性识别 来实现对抗原或抗体的定量分析方法,由于能避免 复杂前处理过程以及具有高灵敏性和特异性响应, 被认为是生物分析法和临床的一个非常强大的工 具^[8-9]。而电化学免疫传感器检测(EIA)凭借检测 速度快、兼容性好、成本低、易小型化等优点引起广 大研究者关注^[10]。抗体的固定是决定电化学免疫 传感器性能的关键步骤之一,研制高效固定材料,最 大量将抗体修饰在电极表面是亟待解决的问题。

金属有机配位聚合物(MOCPs)是由金属离子 (或金属氧簇)与有机物配体通过自组装相互连接 构筑具有规则孔道或孔穴结构的框架材料^[11]。 MOCPs作为一种新型微孔材料,具有丰富的拓扑结 构和多孔性^[12-13],近年来,在气体储存^[14]、化学分 离^[15]、传感^[16]、催化^[17]和药物释放与传送^[17-18]等 领域广泛应用。另一方面,碳纳米管(CNTs)由于独 特的导电性、高比表面积及强吸附能力,是生物分子 高效固定的最佳选择之一^[19-20]。结合 MOCPs 及 CNTs性能,研制高效固定抗体基质材料具有重要的 价值。

本文引入高比表面积的多壁碳纳米管 (MWCNTs)与MOCPs作为抗体固定基质,采用1,4-苯二硫醇(BDT)单体与NaAuCl4配位,快速配位过 程中包埋大量吸附在MWCNTs上的抗体,在此基础 上制备大肠杆菌 O157:H7 抗体修饰电极,以发展更 高效灵敏的 EIA 方法,并研究其在牛奶实际样品中 的应用。

1 原理

图1为电化学免疫传感器的构建过程,图2为 构建的传感器通过 HRP 催化底物产生的电化学信 号图。MOCPs-MWCNTs 固定基质的制备过程如 图 1a 所示。NaAuCl₄与 BDT 反应生成金属有机配位 聚合物,同时在 BDT 的还原作用下生成大量纳米 金,并包埋大量吸附在 MWCNTs 表面的大肠杆菌抗 体,将抗体高效包埋在 MOCPs - MWCNTs 中。基于 免疫传感技术高灵敏、高选择性检测大肠杆菌 0157:H7 的新型电化学传感器实验原理如图 1b 所 示,制备的 MOCPs - MWCNTs 修饰于金电极的表 面,不仅能够增强电子传递效率,还能够通过嵌入方 式增加捕获抗体(Ab)的固定效率与稳定性。BSA 修饰到电极表面用于封闭未特异性结合位点并减少 非特异性吸附。当电极在大肠杆菌 0157:H7 菌液 中孵育后,采用 HRP 标记抗体(HRP-Ab)再次特 异性结合电极表面的大肠杆菌,通过 HRP 催化检测 底液中的过氧化氢(H,O,)和对苯二酚(HQ),记录 催化产物对苯二醌的电化学信号从而实现对大肠杆 菌的定量检测。

2 试验

2.1 仪器及试剂

SU8010 型场发射扫描电子显微镜,日立高新技术公司;FEI Tecnai G2 F20 S-TWIN 型场发射透射电子显微镜,美国 FEI 公司;PANalyticalX'Pert PRO型X射线衍射仪,荷兰 PANalytical 公司;Primo R型低温冷冻离心机,美国热电公司;CHI660E型电化学



图 1 MOCPs-MWCNTs 与大肠杆菌 0157:H7 夹心型传感器制备

Fig. 1 Schematics of preparation of MOCPs - MWCNTs and EIA for sensitive detection of E. coli O157:H7



工作站,上海辰华仪器有限公司;SCILOGEX MX-S 型旋涡混合器,美国赛洛捷克公司。

大肠杆菌 0157:H7 抗体以及辣根过氧化物酶标 记的大肠杆菌 O157:H7 抗体(HRP 标记的抗体)购自 上海般若生物技术有限公司。大肠杆菌 0157:H7、沙 门氏菌、大肠杆菌 DH5α 和大肠杆菌 0149 由北京 北纳创联生物技术研究院提供。MWCNTs(长度 10~20 μm, 纯度 95% 以上) 购于南京先丰纳米材 料科技有限公司。BDT、HAuCl₄·3H,O和 HQ 购自 美国 Sigma 公司, H₂O₂、磷酸氢二钠和磷酸二氢钠均 为分析纯,购于上海国药集团。牛奶购自当地超市。

2.2 MOCPs 与 MWCNTs - MOCPs 的合成

MWCNTs - MOCPs 合成步骤如下:将 60 µL (1 mg/mL) MWCNT 与 60 µL NaAuCl₄ (0.05 mol/L) 于超声条件下加入至1mL PBS(pH 值7.0)中,搅拌 2h,然后加入 600 µL 1 mg/mL BDT 和 4 mg 大肠杆 菌 0157:H7 捕获抗体。将混合物搅拌 10 min 后形 成嵌有抗体的 MWCNTs - MOCPs 复合材料。 MOCPs 的合成方法除未加入 MWCNT 外与 MWCNTs-MOCPs 合成方法一致。最后将所制备的 生物复合物悬浮液离心分离,沉淀物洗涤3次,分散 在 200 μL 水中低温保存。

2.3 传感器制备

大肠杆菌采用 LB 培养基(蛋白胨 12g、酵母提 取物 6 g 和 NaCl 7 g) 培养 24 h, 将悬浮液贮存于 4℃ 备用。大肠杆菌 O157:H7 的浓度通过平板计数确 定。免疫传感器的构建使用典型的免疫夹心步骤。 6 μL 的 MWCNTs - MOCPs 孵育修饰于电极表面,室 温下干燥 2 h 后用 10 mmol/L 的 PBS 清洗,然后修 饰 5%的 BSA 封闭电极,制得 MWCNTs - MOCPs 修 饰电极。

2.4 免疫分析大肠杆菌 O157:H7

所制 MWCNTs - MOCPs 修饰电极表面滴加 10 μL不同浓度大肠杆菌 O157:H7 的溶液,在 37℃ 下孵育 60 min 后用 PBS 小心洗涤。随后将 10 μL 的 0.5 mg/mL HRP 标记抗体溶液滴加在电极表面, 37℃ 孵育 60 min 后经 PBS 小心洗涤 3 次,将电极浸 入到检测底液中进行电化学测量。电化学测量采用 传统三电极体系, Ag/AgCl 为参比电极, 铂电极为辅 助电极,金电极(直径3mm)为工作电极。电化学分 析方法包括差分脉冲伏安法(DPV)和循环伏安法 (CV)均在室温(20°C)进行。DPV 扫描范围 -0.2~0.2 V,底液为含 3 mmol/L HQ 和 1.5 mmol/L H₂O₂的 10 mmol/L PBS(pH 值 7.4),脉冲高度为 50 mV,阶梯高度 4 mV,频率 15 Hz。CV 扫描范围 -0.2~0.6 V, 扫描速率为 50 mV/s, 底液为含 5.0 mmol/L K₃ [Fe(CN)₆]的 10 mmol/L PBS₀

2.5 实际样品检测

为检验该传感器是否可应用于实际样品检测, 采用牛奶进行验证实验,样品除以 PBS 稀释外无其 他前处理步骤。均分3份,分别添加 6.7×10^2 、 6.7×10³、6.7×10⁴ cfu/mL 的大肠杆菌,其余实验 条件保持一致(如2.3、2.4节)。

结果与讨论 3

3.1 MOCPs 与 MWCNTs - MOCPs 的表征

3.1.1 扫描电子显微镜(SEM)表征

用 SEM 表征 MOCPs 与 MWCNTs - MOCPs 的微 观形态和结构。如图 3a 所示,发现了 MOCPs 的微 观片状结构,当电极表面修饰 MWCNTs - MOCPs 后,可以清晰看到 MWCNTs 包裹在 MOCPs 中 (图 3b),这充分证明 MOCPs 与 MWCNTs - MOCPs 都已经制备完成。







3.1.2 透射电子显微镜(TEM)表征

为进一步研究 MOCPs 与 MWCNTs - MOCPs 的 微观形态,对其进行了 TEM 表征,其结果如图 4 所 示。MOCPs 大小分布均匀,可观察到大量纳米金在 聚合物内形成(图 4a)。当加入 MWCNTs 时, MOCPs 增加了 MWCNTs 的管径厚度,并有大量 的纳米金和生物聚合物吸附在 MWCNTs 表面,进 一步证明了 MOCPs 与 MWCNTs - MOCPs 的成功 制备。

3.1.3 X 单晶衍射(XRD)表征

为研究 MOCPs 与 MWCNTs - MOCPs 的结晶情 况,对其进行了 XRD 表征,其结果如图 5 所示。图



图 4 MOCPs 与 MWCNTs - MOCPs 的 TEM 表征 Fig. 4 TEM images of MOCPs and MWCNTs - MOCPs

中2θ表示X射线衍射角度。可以看出XRD 谱图峰型较好,有结晶出现,与金的标准峰相比,MOCPs 与MWCNTs-MOCPs都含有金。同时该表征也进一步证明了 MOCPs 与 MWCNTs-MOCPs 已成功合成。



图 5 MOCPs 与 MWCNTs - MOCPs 的 XRD 表征 Fig. 5 XRD patterns of MOCPs and MWCNTs - MOCPs

3.2 电极组装的电化学表征

电极表面的层层组装是传感器构建的重要步骤,用 CV 表征了电极的构建过程,如图 6 所示。裸金电极(曲线 a)出现一对标准氧化还原峰(0.26 mV和 0.18 mV),分别对应了 K₃[Fe(CN)₆]的特征氧化还原峰,当电极修饰了 MWCNTs - MOCPs 后,氧化还原峰出现微小的降低,可能是由于 MWCNTs - MOCPs 对电子传递效率的促进与抗体对电子传递速率阻碍的双重作用导致的(曲线 b),随着大肠杆菌 O157:H7 的修饰,化学信号再次降低,这同时也证明了大肠杆菌已经修饰到电极表面(曲线 c)。当HRP - Ab 修饰后,可以观察到生物大分子对电子传

电流/µA

递速率的阻碍减小了电化学信号(曲线 d)。图 6b 描绘了修饰电极过程中相对应的修饰电极交流阻抗 (EIS)变化,图中 Z'、- Z"分别表示实部和虚部。裸 金电极的阻抗几乎为直线(曲线 a)。而阻抗(半圆 的直径)随 MWCNTs - MOCPs(曲线 b)、大肠杆菌 (曲线 c)、HRP - Ab(曲线 d)逐步修饰在电极表面 而增大,结果与 CV 一致。上述结果表明大肠杆菌 电化学免疫传感器已成功制备。

3.3 大肠杆菌检测

采用该生物传感器测定一系列不同浓度的大肠杆菌 O157:H7。图 7a 给出了对于梯度浓度大肠杆菌 O157:H7 的电化学响应。发现在所测菌体浓度 范围内电化学响应随大肠杆菌浓度增大而提高,当 菌体浓度大于 6.7×10^6 cfu/mL 时, DPV 响应不再 随大肠杆菌浓度增高而增大。且 DPV 响应与大肠杆菌菌体浓度的对数存在线性关系(图 7b),关系式 为 $I = 3.672 \lg C_{E. coli} - 4.138$,线性相关系数为 0.997,最低检测限为 40 cfu/mL。

3.4 传感器性能

同时采用非目标细菌(如沙门氏菌、大肠杆菌 DH5α和大肠杆菌 O149),研究了此电化学免疫传 感器的特异性。该电化学免疫传感器对大肠杆菌 O157:H7的电流响应值为 21.5 μA,而其他菌体的 电流响应值均在 2.7 μA 左右,并未对检测体系产生 明显的干扰作用,这表明该电化学免疫传感器对大 肠杆菌 O157:H7 表现出极好的特异性。同时,为探 讨生物传感器的重现性,5 根相同修饰过程的电极 分别用来测定 6.7×10⁴ cfu/mL 大肠杆菌 O157:H7, 根据检测结果计算出相对标准偏差为 3.73%,表明该 电化学免疫传感器具有很好的重现性。此外还探究 了该传感器的稳定性,5 根独立电极采用相同条件制 备,于 4℃储存 14 d,检测最终信号约为最初信号的 92%。表明该电化学免疫传感器具有很好的稳定性。

3.5 实际样品分析

为进一步考察该传感器的应用潜力,采用标准 添加法,探讨了牛奶实际样品中的检测性能。将菌



图 6 传感器的 CV 和 EIS 表征 Fig. 6 CV and EIS of EIA sensor



图 7 传感器的标准曲线 Fig. 7 Calibration curves of EIA sensor

体浓度为 6.7 × 10²、6.7 × 10³、6.7 × 10⁴ cfu/mL 的 大肠杆菌 O157:H7 添加到 3 个牛奶样品中,样品除 了 PBS 缓冲液稀释没有更多的预处理。实际样品 的检测结果如表 1 所示。该电化学免疫传感器所得 的回收率范围在 94.5% ~ 103.3% 之间。此外,将 经典的平板计数法与该传感器的结果进行了对比, 差距小于 12.4%。上述实验结果表明该电化学免 疫传感器在实际应用中具有很大的潜力。

表1 实际样品分析			
Гab. 1	Real	sample	analysis

加入量/	检测结果/	回收率/	平板计数法结果/
(cfu $\boldsymbol{\cdot}$ mL $^{-1}$)	(cfu \cdot mL $^{-1}$)	%	(cfu $\boldsymbol{\cdot}$ mL $^{-1}$)
6. 7 × 10^2	$(6.57 \pm 0.36) \times 10^2$	98.1	6. 13×10^2
6. 7 × 10^3	$(6.33 \pm 0.29) \times 10^3$	94.5	6. 02×10^3
6. 7 × 10 ⁴	$(6.92 \pm 0.23) \times 10^4$	103.3	5. 87 $\times 10^4$

4 结束语

设计了一个基于 MWCNTs - MOCPs 高效固定 抗体的大肠杆菌 0157:H7 电化学免疫传感器。对 MOCPs 及 MWCNTs - MOCPs 进行了 SEM、TEM、 XRD 表征,证实了 MOCPs 及 MWCNTs - MOCPs 的 成功制备。并将此 MWCNTs - MOCPs 材料用于抗 体的固定基质成功修饰在电极表面,制备灵敏的大 肠杆菌电化学传感器,MWCNTs - MOCPs 不仅可以 加速电极界面上的电子转移速率,还包埋了大量大 肠杆菌 0157:H7 抗体,提高了抗体修饰效率及稳定 性。同时,使用经典夹心型免疫方法,实现了 67 ~ 6.7 × 10⁶ cfu/mL 大肠杆菌的定量测定。此外,该传 感器也被用于分析大肠杆菌 0157:H7 实际样品,检 测结果与平板计数法一致。

参考文献

- 1 SEYEDSAYAMDOST M R, CARR G, KOLTER R, et al. Roseobacticides: small molecule modulators of analgal-bacterial symbiosis[J]. Journal of the American Chemical Society, 2011, 133(45): 18343 18349.
- 2 张秋婷,林素丽,朱松明,等. 超高压与微酸性电解水结合对鲜切果蔬的杀菌效果研究[J/OL]. 农业机械学报,2017, 48(3): 338-343. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx? flag = 1&file_no = 20170343&journal_id = jcsam. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2017.03.043. ZHANG Qiuting, LIN Suli, ZHU Songming, et al. Combined effect of high pressure and slightly acidic electrolyzed water on sterilization fresh cut fruits and vegetables[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2017, 48(3):
 - sterilization fresh cut fruits and vegetables[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2017, 48(3): 338-343. (in Chinese) 郭建江,张荣标,杨宁,等. 基于磁控分离的水产致病菌微流控检测方法[J/OL]. 农业机械学报, 2015, 46(4): 277-281.

GUO Jianjiang, ZHANG Rongbiao, YANG Ning, et al. Aquaculture pathogens detection based on microfluidic system with magnetic isolation [J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2015, 46(4): 277 - 281. (in Chinese)

- 4 LEEH J, KIMB C, KIMK W, et al. A sensitive method to detect *Escherichia coli* based on immunomagnetic separation and realtime PCR amplification of aptamers[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2009, 24(12): 3550 - 3555.
- 5 ZHANG Y, TAN C, FEI R, et al. Sensitive chemiluminescence immunoassay for *E. coli* 0157:H7 detection with signal dualamplification using glucose oxidase and laccase[J]. Analytical Chemistry, 2014, 86(2): 1115-1122.
- 6 MA F, REHMAN A, LIU H, et al. Glycosylation of quinone-fused polythiophene for reagentless and label-free detection of E. coli [J]. Analytical Chemistry, 2015, 87(3): 1560 - 1568.
- 7 PRIS A D, MONDELLO F J, WROCZYNSKI R J, et al. Improved specific biodetection with ion trap mobility spectrometry (itms): a 10-min, multiplexed, immunomagnetic ELISA[J]. Analytical Chemistry, 2009, 81(24): 9948 9954.
- 8 杨威, 左月明,吴海云, 等. 布鲁氏菌抗体的无标记电流型免疫传感器检测[J/OL]. 农业机械学报, 2014, 45(3): 243-

248. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx? flag = 1&file_no = 20140340&journal_id = jcsam. DOI:10. 6041/j.issn.1000-1298.2014.03.040.

YANG Wei, ZUO Yueming, WU Haiyun, et al. Label-free amperometic immunosensor for detection of brucella antibody [J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2014, 45(3): 243 - 248. (in Chinese)

- 9 SHIIGI H, KINOSHITA T, FUKUDA M, et al. Nanoantennas as biomarkers for bacterial detection [J]. Analytical Chemistry, 2015, 87(7): 4042-4046.
- 10 GUO Y, WANG Y, LIU S, et al. Label-free and highly sensitive electrochemical detection of *E. coli* based on rolling circle amplifications coupled peroxidase-mimicking DNAzyme amplification [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2016, 75: 315-319.
- 11 殷卫峰,欧植泽,高云燕,等.新型纳米多孔材料-金属有机配位聚合物的包结作用及其应用研究进展[J].材料导报, 2010,24(5):50-54.

YIN Weifeng, OU Zhize, GAO Yunyan, et al. Research progress in the inclusion behavior and the application of metal-organic coordination polymers[J]. Materials Review, 2010, 24(5): 50-54. (in Chinese)

- 12 PETTINARI C, TĂBĂCARU A, GALLI S, et al. Coordination polymers and metal-organic frameworks based on poly(pyrazole)containing ligands[J]. Coordination Chemistry Reviews, 2016, 307(Part 1): 1-31.
- 13 幸良淑,杨明莉,张新涛,等.金属-有机配位聚合物在催化性能上的研究进展[J].材料科学与工程学报,2008, 26(3):489-492.

XING Liangshu, YANG Mingli, ZHANG Xintao, et al. Progress in catalytic metal-organic coordination polymers [J]. Journal of Materials Science & Engineering, 2008, 26(3): 489 - 492. (in Chinese)

- 14 SONG K S, KIM D, POLYCHRONOPOULOU K, et al. Synthesis of highly porous coordination polymers with open metal sites for enhanced gas uptake and separation [J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2016, 8(40): 26860 - 26867.
- 15 FU Y, LI P, BU L, et al. Exploiting metal-organic coordination polymers as highly efficient immobilization matrixes of enzymes for sensitive electrochemical biosensing [J]. Analytical Chemistry, 2011, 83(17): 6511-6517.
- 16 WANG C, ZHENG M, LIN W. Asymmetric catalysis with chiral porousmetal-organic frameworks: critical issues[J]. The Journal of Physical Chemistry Letters, 2011, 2(14): 1701 1709.
- 17 CUNHA D, YAHIAM B, HALL S, et al. Rationale of drug encapsulation and release from biocompatible porous metal-organic frameworks [J]. Chemistry of Materials, 2013, 25(14): 2767 2776.
- 18 ZHUANG J, KUO C H, CHOU L Y, et al. Optimized metal-organic-framework nanospheres for drug delivery: evaluation of small-molecule encapsulation[J]. ACS NANO, 2014, 8(3): 2812 2819.
- 19 周雪,欧阳五庆,魏云鹏,等.碳纳米管修饰的纸传感器用于检测甲胎蛋白[J].分析化学,2015,43(10):1589-1593.
 ZHOU Xue, OUYANG Wuqing, WEI Yunpeng, et al. A carbon nanotube-modified paper sensor for detection of α-fetoprotein [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2015, 43(10):1589-1593. (in Chinese)
- 20 ZHOU J, BOOKER C, LI R, et al. An electrochemical avenue to blue luminescent nanocrystals from multiwalled carbon nanotubes (MWCNTs)[J]. Journal of the American Chemical Society, 2007, 129(4): 744-745.