光谱型电化学发光定量分析进展

傅莉[†], 高旭雯[†], 董双田, 贾静娜, 徐瑜琪, 邹桂征^{*}

山东大学化学与化工学院, 济南 250100

[†]同等贡献

^{*}通讯作者, E-mail: zouguzheng@sdu.edu.cn

收稿日期: 2021-01-30; 接受日期: 2021-04-02; 网络版发表日期: 2021-06-09

国家自然科学基金(编号: 21427808)和山东大学基础研究基金(编号: ZY202006)资助项目

摘要 电化学发光(electrochemiluminescence, ECL)是一种将电化学分析和化学发光分析相结合的现代分析技术, 已在多个领域得到广泛应用. ECL辐射与电化学过程密切相关, 其辐射强度通常伴随电化学反应的进行而变化, 导致难以采用波长扫描方式准确采集ECL光谱. 以点式光电转换元件——光电倍增管(PMT)作为检测器的传统ECL分析仪通常采用摒弃色散装置的构造设计, 只能开展光强型ECL分析. 采用色散装置与面阵/线阵光电转换元件相结合方式构建曝光成像摄谱型ECL检测装置, 发展光谱型ECL分析技术, 能够推动ECL光谱学及其分析应用的研究. 本文在概述ECL检测装置发展历史的基础上, 综述了光谱分辨型ECL定量分析新体系、新技术和新装置的研究进展, 展望了光谱分辨型ECL定量分析的前景及相关仪器技术的产业化和国产化途径.

关键词 电化学发光, 定量分析, 波长分辨, 波段识别, 多组分分析

1 引言

电化学发光(electrochemiluminescence, ECL)是一种依靠电化学手段使体系中某种物质达到激发态并产生光辐射的分析技术, 兼有电化学可控和化学发光分析灵敏度高的优点^[1]. 与荧光分析相比, ECL分析无需激发光源、信噪比高、可控性好, 已在生化分析、临床诊断等领域获得广泛应用.

Hercules^[2]于1964年报道了ECL现象, 采用曝光成像方式记录了芳香族碳氢化合物的ECL辐射. Bard等^[3]于1965年采用光电倍增管(photomultiplier tube, PMT)检测辐射总强度的方式研究了9,10-二苯基蒽的ECL行为. ECL与电化学过程密切相关, 其辐射强度通

常随电化学反应的进行而发生变化, 导致难以采用波长扫描方式准确采集ECL光谱. ECL装置通常采用摒弃色散装置、以高灵敏的PMT作为检测器直接采集辐射总强度的构造设计.

光强型ECL基础与应用研究长期处于垄断地位^[4,5]. 其早期标志性成果主要由国外研究机构所完成^[4,5]. 罗氏公司(ROCHE)凭借在光强型全自动ECL生化分析仪和配套试剂盒领域形成的技术壁垒已垄断商业化ECL生化分析和临床诊断市场20余年. 为了突破国外在ECL基础与应用研究领域的垄断地位, 我国科技部在“十五”国家科技攻关计划重点项目中为“毛细管电泳电化学发光检测仪的研制与开发”立项, 通过中国科学院长春应用化学所汪尔康院士团队的科技攻关, 实现

引用格式: Fu L, Gao X, Dong S, Jia J, Xu Y, Zou G. Progress in spectrum-based electrochemiluminescence quantitative analysis. *Sci Sin Chim*, 2021, 51: 679–687, doi: 10.1360/SSC-2021-0022

了光强型ECL科研设备的国产化与产业化; 相关设备现已普及数百台, 推动了我国ECL基础研究的进步和研究队伍的形成。

光强型ECL设备只能采用加装滤光片的方式粗略地绘制ECL光谱信息^[6,7], 限制了ECL光谱学的发展。Bard课题组^[8-10]于1972年开始推动ECL光谱采集技术研发工作, 于1991年开展了以色散装置和电荷耦合器件(charge-coupled device, CCD)为媒介的ECL光谱采集方法研究^[11], 于2002年采用色散装置与CCD相耦合的方式构建了ECL光谱采集装置^[12,13]。此类装置推动了与ECL光谱相关的ECL试剂与体系的基本性质研究^[14-17], 即光谱型ECL定性分析。Ding课题组^[18]开发了时间分辨ECL光谱采集技术, 发展了即时ECL光谱学(spooling ECL spectroscopy)^[18-24], 推动了光谱型ECL定性分析的进一步发展。由于缺乏商品化的ECL光谱分析仪^[25], 现阶段的ECL光谱分析主要依靠自制与组装ECL光谱装置的方式实现, 导致只有少数课题组具备独立采集ECL光谱、开展ECL光谱分析与应用研究的能力^[26-28]。无论是直接采用商品化CCD光栅光谱仪检测ECL光谱^[29], 还是采用CCD与单色仪耦合的方式检测ECL光谱^[30,31], 各类自制与组装的ECL光谱装置通常难以实现ECL光谱的高灵敏度、高准确度和高精度检测, 只适用于光谱型ECL定性分析^[30-32]。具体原因如下: (1) ECL为弱辐射, 色散后在特定波长处的辐射强度会进一步减弱; (2) ECL分析的工作电极通常为直径圆盘电极, 圆盘电极与单色仪狭缝之间的匹配度较差, 导致ECL辐射难以被充分收集进入检测光路; (3) ECL信号发生(依靠电化学工作站实现)与光谱采集(依靠CCD感光摄谱实现)之间的同步性较差。

常规光强型ECL设备无法识别ECL的辐射波段, 难以区分来自不同ECL物质的辐射信息, 导致光强型ECL定量分析通常以单组分分析的方式开展, 商业化ECL生化分析与体外诊断通常以单指标测试的方式实施。研制适用于光谱型ECL定量分析的仪器技术与硬件装置, 能够推动ECL定量分析由传统总光强检测型拓展至光谱分辨型, 以原理创新方式推动ECL定量分析的进一步发展^[25,33], 突破跨国公司和外国科研机构在光强型ECL生化分析领域的技术壁垒。光谱型ECL定量分析利用ECL光谱实现对核酸、抗原等目标物的定量检测, 能够依据光谱检测的方式同步区分辐射波段不同的多种ECL物质的辐射, 助力实现多组分分析。

山东大学电化学发光团队长期从事ECL光谱采集技术与相关器件的研发工作, 于2007年组装了适用于定性分析的简易型ECL光谱仪原型机^[34], 在国内较早地开展了ECL光谱的基础研究工作^[34,35]; 于2015年攻克了准确和灵敏检测ECL光谱的关键技术, 通过设计并采用提高信噪比、构建精密光路、整机运行一体化等措施, 研发出适用于定量分析的ECL光谱仪原型机^[36]。本文综述了ECL光谱定量分析的研究进展。

2 适用于定量分析的ECL光谱仪研制进展

半导体工业的发展已经推动线阵/面阵CCD在光谱检测领域获得广泛应用。CCD光栅光谱仪采用将待测辐射色散并在CCD上曝光成像的光谱检测原理, 能够基于非波长扫描的方式、同步识别不同波长处的光强信息, 实现光谱检测。邹桂征课题组^[36]采用设计精密光路提高ECL辐射的收集效率, 构建全封闭光学系统隔离外界电磁辐射及杂散光等干扰信号, 采用超低温制冷技术抑制CCD本底噪声信号以及同步运行电化学工作站与CCD光栅光谱仪等方式研制了一种能够准确采集超弱ECL光谱的硬件装置, 如图1所示。

该装置由电化学工作站模块、色散装置模块、探测器模块和外接光路模块组成, 为适用于定量分析的ECL光谱仪原型机。原型机的探测器模块为超低温制冷型CCD(11); 色散装置模块为单色仪(12), 主要由光学元件(M1、M2与M3)、光栅(G)与入射和出射狭缝组成; 电化学工作站模块主要由电化学分析仪(1)、反

图1 ECL光谱仪原型机构造图^[36]

Figure 1 Scheme for homemade ECL spectral system [36].

应池(2)与三电极体系(6, 7, 8, 20)组成; 外接光路模块主要由可调节反应池支架(9)、收集物镜(10)、光学接口(15)与暗盒(5)组成. 图中色散装置模块与探测器模块的组合即为CCD光栅光谱仪(3). 原型机能够实现CCD光栅光谱仪和电化学分析仪的同步运行与超弱ECL光谱的准确采集, 光谱采集范围为300~1000 nm, 曝光时间为1 ms~1 h可控, 波长精度小于1 nm.

ECL单分子分析研究证明, 该原型机能够基于持续曝光成像的摄谱方式准确检测单颗粒CdSe量子点的ECL光谱^[37]. 该原型机既能基于CCD持续曝光成像的摄谱方式准确检测超弱ECL的总光谱^[37], 又能基于CCD瞬时曝光成像的摄谱方式采集即时ECL光谱^[38,39], 已在光谱型ECL定量分析研究领域获得应用^[40]. 总体来说, 适用于定量分析的ECL光谱仪原型机所涉及的核心仪器技术主要包括: (1) CCD曝光成像时间可控, 既能实现超弱ECL光谱的长时间积分采集, 又能实现即时ECL光谱的瞬时采集; (2) 充分抑制噪声信号, 既可有效隔绝外界电磁辐射与杂散光等干扰信号, 又采用超低温技术抑制了CCD本底噪声; (3) 构建精密光路, 提高ECL辐射收集效率、提升信噪比与光谱型ECL定量分析灵敏度; (4) 同步运行电化学分析仪与CCD光栅光谱仪, 准确检测特定时间段内的ECL光谱. 构建精密光路和同步运行电化学分析仪与CCD光栅光谱仪是保证ECL信号发生系统与光谱采集系统匹配度、整机运行稳定性的关键. 以上仪器技术使得原型机能够灵敏采集、准确检出超弱ECL辐射的光谱信号, 保证了光谱检测结果的重现性. ECL光谱仪原型机已成功助力国内十余个课题组的ECL基础研究^[39,41~51]; 相关仪器技术已于2020年获得转让实施, 在十余个科研院所和科技企业获得推广应用.

3 光谱型ECL定量分析进展

ECL光谱在生化分析领域的定量分析应用始于2016年^[40,52]. 以适用于定量分析的ECL光谱仪原型机为依托, 邹桂征课题组^[40]通过检测夹心免疫复合物中CdZnSe量子点(nanocrystals, NCs)的ECL光谱实现了甲胎蛋白抗原的灵敏测定, 率先将光谱作为量子点ECL的读出信号, 提出了光谱型ECL免疫分析方法^[52]. 围绕ECL光谱的定量分析应用, 该课题组研发出一系列ECL新试剂, 开展了此类试剂的分析与应用研究,

如图2所示.

鉴于同步检测和在线区分多种ECL物质的光谱信息能够充分发挥光谱分辨技术在ECL定量分析中的优势, 山东大学电化学发光团队以开发单波段ECL体系为基础^[53~55], 发展了单色单组分^[56~59]、双色双组分^[60~62]和三色三组分^[63,64]等一系列波长分辨型与波段识别型ECL定量分析技术(图2)^[33,65], 获多项中国国家专利授权^[36,66~74], 推动了光谱型ECL传感和多组分分析的发展.

3.1 适用于光谱型定量分析的ECL试剂研发

量子点ECL与表面状态密切相关, 表面缺陷通常导致在长波区产生异于本征辐射的缺陷辐射^[13], 形成本征辐射与缺陷辐射并存的双波段ECL^[26]. 为了抑制缺陷辐射、提高量子点ECL辐射单色性, 邹桂征课题组^[67~69]发展了一种双稳定剂包被技术制备无表面缺陷的II~VI族二元量子点. 所制备的双稳定剂包被的CdTe和CdSe量子点的光致发光单色性好、量子点效率高^[53,55]. 由于表面钝化程度高、缺陷少, 双稳定剂包被CdTe和CdSe量子点的ECL为单色性良好的单波段本征辐射, 辐射波段和最大辐射波长均与对应的光致发光相一致^[53,75]. 此类量子点的ECL波段与其禁带宽度相关, 可以通过控制制备条件的方式予以调控^[53,54]. 双稳定剂包被CdTe量子点的ECL辐射波段可红移至800 nm, 用于近红外区的(near-infrared region, NIR) ECL分析传感^[76]; 该量子点已被发展为生化分析的ECL标记物, 所构建的光强型ECL免疫传感器的分析测试性能与罗氏公司的商业化钉联吡啶/三丙胺试剂盒相媲美^[76]. 双稳定剂包被CdSe量子点的ECL位于可见光区^[70], 辐射强度大, 肉眼可见^[53,77], 已被用于光强型ECL单分子免疫分析^[37,72].

双稳定剂包被技术同样适用于制备表面钝化的CdZnSe^[40]、CdTe/CdS^[38]、CdTe/ZnSe^[78]以及Co²⁺掺杂CdTe (Co-CdTe)量子点^[56], 所制备量子点的ECL光谱与光致发光光谱基本一致. 在前驱体中引入Zn²⁺能够制备双稳定剂包被的三元CdZnSe量子点^[40]; 由Zn²⁺掺杂形成的内部缺陷导致CdZnSe量子点在长波区出现缺陷辐射, CdZnSe量子点的ECL与光致发光均为双波段辐射^[40]. 在前驱体中引入Co²⁺能够制备双稳定剂包被的、产生单波段ECL辐射的三元Co-CdTe量子点^[56]; 该量子点的ECL波段位于815 nm处, 超越了双稳

图2 适用于光谱型ECL定量分析的ECL新试剂与新体系及其定量分析应用的时间线(网络版彩图)

Figure 2 Time line for monochromatic ECL reagent and spectrum-based ECL quantitative assay (color online).

定剂包被CdTe量子点ECL辐射波段最大至800 nm的限制^[63].

钙钛矿量子点光电转换性能好, 具有光致发光量子产率高、单色性好以及辐射波段可调等特点^[79]. Huang等^[80]探索了全无机钙钛矿CsPbBr₃量子点在电化学条件下的电荷注入、迁移和复合过程, 发现CsPbBr₃量子点在有机相和水相体系中均能产生单波段ECL辐射, 半峰宽为20 nm. CsPbBr₃量子点的ECL光谱与光致发光光谱相一致^[49,80], ECL的单色性明显优于II~IV量子点. CsPbBr₃量子点的水相ECL已被用于检测H₂O₂^[49]. Zou等探索了有机-无机杂化钙钛矿CH₃-NH₃PbBr₃量子点的水相ECL性质^[81], 推动了掺杂型钙钛矿量子点的ECL研究^[82-84]. 水相稳定钙钛矿的制备将进一步推动钙钛矿量子点ECL的研究与应用^[48,85-88].

不含毒性元素的ECL试剂开发已经引起研究人员的广泛兴趣^[89], 如铜簇^[90]、P-dots^[91,92]、C₃N₄^[93,94]与有机金属框架物质^[95]. Long等^[96]研究了不含毒性元素的三元纳米材料CuInS₂ (CIS)量子点的ECL性质; 通过采用电化学氧化和还原方式向CIS量子点注入电子与空穴, 发现所注入的电子与空穴能够复合产生缺陷型单波段ECL辐射. Long等^[97]以谷胱甘肽与柠檬酸钠为稳定剂制备了双稳定剂包被的水溶性CIS/ZnS量子点,

并以该量子点为ECL标记物实现了VEGF165的定量检测. CIS/ZnS量子点在0.55和0.94 V附近存在两个电化学氧化过程, 他们发现共反应剂三丙胺氧化电位较高, 只能与CIS/ZnS量子点位于0.94 V附近的氧化过程耦合产生氧化-还原型ECL^[97]. Fu等以水合肼为共反应剂实现了CIS/ZnS量子点在0.55 V附近的ECL辐射^[98], 有效降低了CIS/ZnS量子点ECL发光电位和电化学干扰; 以碳酰肼为共反应剂进一步实现了多种ECL物质在0.55 V附近的低电位ECL辐射^[99], 为低电位单波段ECL体系的研发提供了新思路.

Zhang等^[61]将新型ECL试剂与体系的开发拓展至不含毒性元素的多元量子点区域, 发现Zn-Ag-In-S/ZnS具有缺陷型单波段ECL特性. Zn-Ag-In-S/ZnS量子点的ECL辐射强度为三元CIS/ZnS量子点的4.2倍, 其辐射波段位于可见光区605 nm处, 而且ECL光谱与钌联吡啶/三丙胺体系基本一致. Fu等^[100]发现Ag-Ga-In-S量子点具有近红外的缺陷型单波段ECL特性, 其ECL辐射波段位于744 nm处, 推动实现了四元量子点类ECL物质辐射波段的调控. 三元CIS类量子点^[47,96-99]与四元Zn-Ag-In-S^[61]和Ag-Ga-In-S类量子点^[100]的单波段ECL均为缺陷辐射, 说明抑制本征辐射也可以开发新型单波段ECL物质.

生物亲和性良好的贵金属纳米团簇为新型ECL体系的研发提供了发光物来源^[27,101-104]。孙建军课题组^[105]于2011年开展了Au纳米团簇的ECL研究,随后,Ding等^[27]系统研究了多种Au纳米团簇的有机相ECL。最近,Yang等^[106]发现6-氮杂-2-硫代胸腺嘧啶包被Au(ATT-Au)纳米团簇的水相ECL为单波段ECL辐射,具有高度单色性,其辐射波段为532 nm,半峰宽为36 nm;在ATT-Au表面形成刚性共轭结构能够增强其水相ECL 70倍,保持辐射波段和半峰宽不变^[106]。Yu等^[64]以牛血清白蛋白包被Ag团簇(Ag904)为发光物实现了近红外II区的单波段ECL体系开发,该体系ECL波段的最大辐射波长为904 nm。Liu等^[46]发现在制备Au团簇的前驱体中引入Ag元素,能够制备兼有本征ECL和缺陷ECL的Au-Ag双金属纳米团簇。Fu等^[59]发展了有效抑制双金属纳米团簇本征ECL的方法,制备了仅产生缺陷型ECL辐射的Au-Ag双金属纳米团簇,实现了Au-Ag双金属纳米团簇ECL辐射波段的进一步红移;所制备的Au-Ag双金属纳米团簇能产生缺陷型单波段ECL辐射,其辐射波段可红移至920 nm。

3.2 波长分辨型ECL定量分析

单波段ECL发光物质能够为采用波长分辨/波段识别方式开展ECL定量分析和多组分分析提供标记物来源,助力以创新模式突破跨国公司凭借光强型单指标ECL测试在商业化ECL生化分析和临床诊断领域形成的技术壁垒与市场垄断。

波长分辨型ECL光谱定量分析是基于高准确度和高精度采集ECL光谱的方法原理而开展实施的光谱型ECL定量分析传感。Zhou等^[57]于2017年开展了波长分辨型单色单组分ECL定量分析研究工作^[52],以双稳定剂包被的、ECL辐射波段位于780 nm处的二元CdTe量子点(CdTe780)为ECL标记物,通过长时间持续曝光成像、累积积分检测ECL全过程总光谱的方式,构建了第一支波长分辨型单色单组分ECL传感器,实现了近红外区的光谱型ECL定量分析传感^[57]。同年,Tan等^[58]采用ECL辐射波段位于555 nm处的双稳定剂包被CdSe量子点(CdSe555)作为标记物,通过采集ECL总光谱的方式在可见光区实现了波长分辨型单色单组分ECL定量分析传感,对糖类抗原125进行检测。Gao等^[56]以双稳定剂包被的三元Co-CdTe量子点(Co-CdTe815)为标记物,构建了辐射波段位于815 nm处的

波长分辨型单色单组分ECL传感器,实现了癌胚抗原的定量分析。最近,Fu等^[59]合成了富含表面缺陷的金银双金属纳米团簇(AuAg915),将波长分辨型单色单组分ECL定量分析传感推动至近红外二区(NIR II),实现了糖类抗原125的灵敏检测。

为突破商业化光强型ECL生化分析和临床诊断只能开展单组分分析的局限性,Zou等^[62]以双稳定剂包被的ECL辐射波段分别位于550 nm处的CdSe量子点(CdSe550)和776 nm处的CdTe量子点(CdTe776)为标记物,实现了波长分辨型双色双组分ECL定量分析传感,同时检测了肿瘤标志物癌胚抗原和甲胎蛋白。Zhou等制备了双稳定剂包被、ECL辐射波段位于650 nm处的CdTe量子点(CdTe650),以CdSe550、CdTe650和CdTe776为ECL标记物,实现了波长分辨型三色三组分ECL定量分析传感^[63],同时检测了癌胚抗原、前列腺特异抗原和甲胎蛋白(图3)^[74]。Yu等^[64]采用CdSe553、CdTe776和Ag904为ECL标记物,以波长分辨方式实现了糖类抗原125、19-9及心肌肌钙蛋白I的同时检测,将波长分辨型多色多组分ECL定量分析传感研究拓展至近红外II区。

波长分辨型ECL定量分析是ECL光谱在定量分析研究领域的具体应用,能够助力研发高信噪比、高灵敏和高通量的光谱分辨型ECL多组分分析技术,推动商业化ECL生化分析的技术升级。伴随单波段ECL物质研发在近红外II区和短波区的进一步突破^[64,90],波长分辨型ECL定量分析的通量将会获得提升。

图3 以CdSe550、CdTe650和CdTe776为标记物的波长分辨型三色三组分ECL定量分析示意图(网络版彩图)

Figure 3 Spectrum-resolved triplex-color ECL multiplexing immunoassay with CdSe550, CdTe650 and CdTe776 as tags (color online).

3.3 波段识别型ECL定量分析

波段识别型ECL定量分析是基于有效区分并充分利用不同波段ECL辐射的方法原理而开展实施的ECL定量分析传感。受二向色镜透/反分光原理的启发, He等^[66]于2018年构建了一套以PMT为检测器的双波段ECL分析仪。双波段ECL分析仪利用二向色镜将不同波段的ECL辐射分别同步传输至两个PMT, 能够基于辐射波段互分的两个单色ECL体系开展双组分ECL分析传感(图4)。He等^[60]以双稳定剂包被的CdSe554和CdTe782为ECL标记物, 实现了以PMT为传感器的波段分辨型双色双组分ECL定量分析传感, 同时检测了肿瘤抑制因子p53和mp53。Zhang等^[107]以CdSe550和CdTe790 nm为标记物, 基于波段识别方式实现了糖类抗原125和甲胎蛋白的同时测定。波段识别型ECL定量分析有望在光强型多指标ECL分析仪、配套试剂盒和相关分析技术领域取得进一步突破^[33]。

4 总结与展望

新型光电转换元件、光谱采集器件以及相关仪器技术研发在ECL光谱研究中发挥着重要作用。ECL光谱采集技术及其分析应用由国外首先发起, 我国已在ECL光谱的定量分析及相关器件技术研发领域取得一

图4 以PMT为检测器的双波段ECL分析传感工作原理^[60] (网络版彩图)

Figure 4 Illustration of PMT-based dual-color ECL assay ^[60] (color online).

定的优势。国内研发机构正在推动适用于商业化ECL生化分析的单波段ECL物质研发, 推动多指标ECL生化分析与临床诊断技术开发, 以技术创新方式突破跨国公司和国外研究机构的技术壁垒。我国已在面阵型COMS相机和小焦距单色仪研发领域涌现了一批高新技术企业, 实现了相关硬件装置的国产化。国内研发机构已初步具备了自主研发新型ECL光谱采集系统以及实现相关仪器技术国产化的能力。

参考文献

- 1 Wu P, Hou X, Xu JJ, Chen HY. *Chem Rev*, 2014, 114: 11027–11059
- 2 Hercules DM. *Science*, 1964, 145: 808–809
- 3 Santhanam KSV, Bard AJ. *J Am Chem Soc*, 1965, 87: 139–140
- 4 Miao W. *Chem Rev*, 2008, 108: 2506–2553
- 5 Richter MM. *Chem Rev*, 2004, 104: 3003–3036
- 6 Cui H, Zou GZ, Lin XQ. *Anal Chem*, 2003, 75: 324–331
- 7 Cui R, Gu YP, Bao L, Zhao JY, Qi BP, Zhang ZL, Xie ZX, Pang DW. *Anal Chem*, 2012, 84: 8932–8935
- 8 Keszthelyi CP, Tachikawa H, Bard AJ. *J Am Chem Soc*, 1972, 94: 1522–1527
- 9 Tokel NE, Bard AJ. *J Am Chem Soc*, 1972, 94: 2862–2863
- 10 Tokel NE, Keszthelyi CP, Bard AJ. *J Am Chem Soc*, 1972, 94: 4872–4877
- 11 McCord P, Bard AJ. *J Electroanal Chem Interfacial Electrochem*, 1991, 318: 91–99
- 12 Myung N, Bae Y, Bard AJ. *Nano Lett*, 2003, 3: 1053–1055
- 13 Myung N, Ding Z, Bard AJ. *Nano Lett*, 2002, 2: 1315–1319
- 14 Kumar S S, Bard AJ. *Anal Chem*, 2013, 85: 292–295
- 15 Qi H, Chen YH, Cheng CH, Bard AJ. *J Am Chem Soc*, 2013, 135: 9041–9049
- 16 Shen M, Zhu XH, Bard AJ. *J Am Chem Soc*, 2013, 135: 8868–8873
- 17 Wong JM, Zhang R, Xie P, Yang L, Zhang M, Zhou R, Wang R, Shen Y, Yang B, Wang H, Ding Z. *Angew Chem Int Ed*, 2020, 59: 17461–17466

- 18 Swanick KN, Hesari M, Workentin MS, Ding Z. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 15205–15208
- 19 Swanick KN, Ladouceur S, Zysman-Colman E, Ding Z. *Angew Chem Int Ed*, 2012, 51: 11079–11082
- 20 Hesari M, Workentin MS, Ding Z. *Chem Eur J*, 2014, 20: 15116–15121
- 21 Hesari M, Workentin MS, Ding Z. *ACS Nano*, 2014, 8: 8543–8553
- 22 Hesari M, Workentin MS, Ding Z. *Chem Sci*, 2014, 5: 3814–3822
- 23 Hesari M, Swanick KN, Lu JS, Whyte R, Wang S, Ding Z. *J Am Chem Soc*, 2015, 137: 11266–11269
- 24 Hesari M, Ding Z F. *Nat Protocol*, 2021, 16: 2109
- 25 Lv Y, Zhou Z, Shen Y, Zhou Q, Ji J, Liu S, Zhang Y. *ACS Sens*, 2018, 3: 1362–1367
- 26 Bard A J, Ding Z F, Myung N. *Struct Bond*, 2005, 118: 1–57
- 27 Hesari M, Ding Z. *Acc Chem Res*, 2017, 50: 218–230
- 28 Nepomnyashchii AB, Bard AJ. *Acc Chem Res*, 2012, 45: 1844–1853
- 29 Newman B, Chen L, Henderson LC, Doeven EH, Francis PS, Hayne DJ. *Front Chem*, 2020, 8: 583631
- 30 Khan MS, Ameer H, Chi Y. *Anal Chem*, 2021, 93: 3618–3625
- 31 Wang X, Liu H, Qi H, Gao Q, Zhang C. *J Mater Chem B*, 2020, 8: 3598–3605
- 32 Yao L Y, Yang F, Hu G B, Yang Y, Huang W, Liang W B, Yuan R, Xiao D R. *Biosens Bioelectron*, 2020, 155: 8
- 33 Lv W, Ye H, Yuan Z, Liu X, Chen X, Yang W. *TrAC Trends Anal Chem*, 2020, 123: 115767
- 34 Li M, Sun Y, Chen L, Li L, Zou G, Zhang X, Jin W. *Electroanalysis*, 2010, 22: 333–337
- 35 Li L, Li M, Sun Y, Li J, Sun L, Zou G, Zhang X, Jin W. *Chem Commun*, 2011, 47: 8292–8294
- 36 Zou GZ, He YP. A detection system that can accurately collect electrochemiluminescence spectrum. CN Patent, 5719945, 2016-11-23
- 37 Zhang X, Zhang B, Miao W, Zou G. *Anal Chem*, 2016, 88: 5482–5488
- 38 He Y, Hou S, Yang L, Zhang F, Zou G. *Chem Eur J*, 2018, 24: 9592–9597
- 39 Shu J, Han Z, Zheng T, Du D, Zou G, Cui H. *Anal Chem*, 2017, 89: 12636–12640
- 40 Zhang X, Tan X, Zhang B, Miao W, Zou G. *Anal Chem*, 2016, 88: 6947–6953
- 41 Zhang P, Jiang J, Yuan R, Zhuo Y, Chai Y. *J Am Chem Soc*, 2018, 140: 9361–9364
- 42 Zhai Q, Xing H, Zhang X, Li J, Wang E. *Anal Chem*, 2017, 89: 7788–7794
- 43 Pu G, Yang Z, Wu Y, Wang Z, Deng Y, Gao YJ, Zhang Z, Lu X. *Anal Chem*, 2019, 91: 2319–2328
- 44 Zhu W, Wang C, Li X, Khan MS, Sun X, Ma H, Fan D, Wei Q. *Biosens Bioelectron*, 2017, 97: 115–121
- 45 Xue J, Yang L, Jia Y, Wang H, Zhang N, Ren X, Ma H, Wei Q, Ju H. *ACS Sens*, 2019, 4: 2825–2831
- 46 Liu J, Zhao R, Wang X, Gao X, Zou G. *Chem Commun*, 2020, 56: 5665–5668
- 47 Li Z, Wu S, Zhang B, Fu L, Zou G. *J Phys Chem Lett*, 2019, 10: 5408–5413
- 48 Li Z, Kang Q, Chen L, Zhang B, Zou G, Shen D. *Electrochim Acta*, 2020, 330: 135332
- 49 Huang Y, Long X, Shen D, Zou G, Zhang B, Wang H. *Inorg Chem*, 2017, 56: 10135–10138
- 50 Liu S, Zhang Q, Zhang L, Gu L, Zou G, Bao J, Dai Z. *J Am Chem Soc*, 2016, 138: 1154–1157
- 51 Xue J, Zhang Z, Zheng F, Xu Q, Xu J, Zou G, Li L, Zhu JJ. *Anal Chem*, 2017, 89: 8212–8216
- 52 Cao Z, Sun H, Su B. *Chem J Chin U*, 2020, 41: 1945–1955
- 53 Liu S, Zhang X, Yu Y, Zou G. *Biosens Bioelectron*, 2014, 55: 203–208
- 54 Zou G, Liang G, Zhang X. *Chem Commun*, 2011, 47: 10115–10117
- 55 Liang G, Shen L, Zhang X, Zou G. *Eur J Inorg Chem*, 2011, doi: 10.1002/ejic.201100403
- 56 Gao X, Fu K, Fu L, Wang H, Zhang B, Zou G. *Biosens Bioelectron*, 2020, 150: 111880
- 57 Zhou J, He Y, Zhang B, Sun Q, Zou G. *Talanta*, 2017, 165: 117–121
- 58 Tan X, Zhang B, Zhou J, Zou G. *ChemElectroChem*, 2017, 4: 1714–1718
- 59 Fu L, Gao X, Dong S, Hsu HY, Zou G. *Anal Chem*, 2021, 93: 4909–4915
- 60 He Y, Zhang F, Zhang B, Zou G. *Anal Chem*, 2018, 90: 5474–5480
- 61 Zhang B, Zhang F, Zhang P, Shen D, Gao X, Zou G. *Anal Chem*, 2019, 91: 3754–3758
- 62 Zou G, Tan X, Long X, He Y, Miao W. *Anal Chem*, 2017, 89: 13024–13029
- 63 Zhou J, Nie L, Zhang B, Zou G. *Anal Chem*, 2018, 90: 12361–12365

- 64 Yu L, Li M, Kang Q, Fu L, Zou G, Shen D. *Biosens Bioelectron*, 2021, 176: 112934
- 65 Ma C, Cao Y, Gou X, Zhu JJ. *Anal Chem*, 2020, 92: 431–454
- 66 Zou GZ, He YP. A detection system for collecting dual-wavelength electrochemiluminescence intensity. CN Patent, 2041860, 2016-11-30
- 67 Zou GZ, Liang GD. Method for preparing water-soluble CdTe quantum dots. CN Patent, 1870459, 2010-10-27
- 68 Zou GZ, Liu SF. Method for preparing water-soluble CdSe quantum dots. CN Patent, 2766463, 2012-11-07
- 69 Zou GZ, Liu SF. Method for preparing water-soluble ZnSe quantum dots. CN Patent, 3011094, 2013-04-03
- 70 Zou GZ, Liu SF. Monochromatic electrochemiluminescence detection method based on quantum dots. CN Patent, 4062286, 2014-09-24
- 71 Zou GZ, Liu SF, Liang GD. A near-infrared electrochemiluminescence immunoassay method. CN Patent, 2749452, 2012-10-24
- 72 Zou GZ, Zhang X. A monochromatic ECL immunoassay detection method based on green light quantum dots. CN Patent, 4764737, 2015-07-08
- 73 Zou GZ, Zhang X. Spectrum-based electrochemiluminescent immunoassay with ternary CdZnSe nanocrystals as labels. CN Patent, 6053823, 2016-10-26
- 74 Zou GZ, Zhou J. Spectrum-resolved triplex-color electrochemiluminescence multiplexing immunoassay with highly-passivated nanocrystals as tags. CN Patent, 6124487, 2020-10-02
- 75 Liang G, Shen L, Zou G, Zhang X. *Chem Eur J*, 2011, 17: 10213–10215
- 76 Liang G, Liu S, Zou G, Zhang X. *Anal Chem*, 2012, 84: 10645–10649
- 77 Liu S, Zhang X, Yu Y, Zou G. *Anal Chem*, 2014, 86: 2784–2788
- 78 He Y, Yang L, Zhang F, Zhang B, Zou G. *J Phys Chem Lett*, 2018, 9: 6089–6095
- 79 Zhang F, Zhong H, Chen C, Wu X, Hu X, Huang H, Han J, Zou B, Dong Y. *ACS Nano*, 2015, 9: 4533–4542
- 80 Huang Y, Fang M, Zou G, Zhang B, Wang H. *Nanoscale*, 2016, 8: 18734–18739
- 81 Tan X, Zhang B, Zou G. *J Am Chem Soc*, 2017, 139: 8772–8776
- 82 Jia J, Fu K, Hou S, Zhang B, Fu L, Hsu HY, Zou G. *J Phys Chem C*, 2019, 123: 29916–29921
- 83 Chen L, Kang Q, Li Z, Zhang B, Zou G, Shen D. *New J Chem*, 2020, 44: 3323–3329
- 84 Fu L, Fu K, Hsu HY, Gao X, Zou G. *J Electroanal Chem*, 2020, 876: 114546
- 85 Fu K, He Y, Zhang B, Gao X, Zou G. *J Electroanal Chem*, 2020, 858: 113835
- 86 Cai Z, Li F, Xu W, Xia S, Zeng J, He S, Chen X. *Nano Res*, 2018, 11: 1447–1455
- 87 Cao Y, Zhu W, Li L, Zhang Z, Chen Z, Lin Y, Zhu JJ. *Nanoscale*, 2020, 12: 7321–7329
- 88 Cao Y, Zhu W, Wei H, Ma C, Lin Y, Zhu JJ. *Anal Chem*, 2020, 92: 4123–4130
- 89 Zhou Y, Chai Y, Yuan R. *Anal Chem*, 2019, 91: 14618–14623
- 90 Zhou Y, Wang H, Zhang H, Chai Y, Yuan R. *Anal Chem*, 2018, 90: 3543–3549
- 91 Wang N, Gao H, Li Y, Li G, Chen W, Jin Z, Lei J, Wei Q, Ju H. *Angew Chem Int Ed*, 2021, 60: 197–201
- 92 Wang N, Wang Z, Chen L, Chen W, Quan Y, Cheng Y, Ju H. *Chem Sci*, 2019, 10: 6815–6820
- 93 Lv H, Chen A, Cheng W, Kong L, Zhao M, Ding S, Ju H, Cheng W. *Anal Chem*, 2020, 92: 15624–15631
- 94 Liu H, Liu Z, Yi J, Ma D, Xia F, Tian D, Zhou C. *Sens Actuat B-Chem*, 2021, 331
- 95 Zhu D, Zhang Y, Bao S, Wang N, Yu S, Luo R, Ma J, Ju H, Lei J. *J Am Chem Soc*, 2021, 143: 3049–3053
- 96 Long X, Tan X, He Y, Zou G. *J Mater Chem C*, 2017, 5: 12393–12399
- 97 Long X, Zhang F, He Y, Hou S, Zhang B, Zou G. *Anal Chem*, 2018, 90: 3563–3569
- 98 Fu L, Zhang B, Long X, Fu K, Gao X, Zou G. *Anal Chem*, 2019, 91: 10221–10226
- 99 Fu L, Zhang B, Fu K, Gao X, Zou G. *Anal Chem*, 2020, 92: 6144–6149
- 100 Fu L, Fu K, Gao X, Dong S, Zhang B, Fu S, Hsu HY, Zou G. *Anal Chem*, 2021, 93: 2160–2165
- 101 Li L, Liu H, Shen Y, Zhang J, Zhu JJ. *Anal Chem*, 2011, 83: 661–665
- 102 Jia X, Li J, Wang E. *Chem Commun*, 2014, 50: 9565–9568
- 103 Jia X, Li J, Zhang X, Wang E. *Chem Commun*, 2015, 51: 17417–17419
- 104 Zhai Q, Xing H, Fan D, Zhang X, Li J, Wang E. *Sens Actuat B-Chem*, 2018, 273: 1827–1832
- 105 Fang YM, Song J, Li J, Wang YW, Yang HH, Sun JJ, Chen GN. *Chem Commun*, 2011, 47: 2369–2371
- 106 Yang L, Zhang B, Fu L, Fu K, Zou G. *Angew Chem Int Ed*, 2019, 58: 6901–6905
- 107 Zhang F, He Y, Fu K, Fu L, Zhang B, Wang H, Zou G. *Biosens Bioelectron*, 2018, 115: 77–82

Progress in spectrum-based electrochemiluminescence quantitative analysis

Li Fu[†], Xuwen Gao[†], Shuangtian Dong, Jingna Jia, Yuqi Xu, Guizheng Zou^{*}

School of Chemistry and Chemical Engineering, Shandong University, Jinan 250100, China

[†]These authors contributed equally to this work.

^{*}Corresponding author (email: zouguizheng@sdu.edu.cn)

Abstract: Electrochemiluminescence (ECL) is the light emission triggered by electrochemical redox, and has been developed as an analytical technology with the combined merits of electrochemistry and chemiluminescence. ECL has been widely used in varied domains, but unfortunately its intensity usually changes along with the proceeding of electrochemical reaction, which makes it difficult to accurately determine ECL spectrum in a wavelength-scanning way with photomultiplier tube (PMT) as detector. The PMT-based traditional ECL analyzers are commonly designed with a dispersion-free architecture and can only perform ECL analysis in a total light intensity-detecting way. The development of ECL spectrum analyzer and corresponding technologies is being achieved in an alternative way by employing a grating as dispersion device and a charge-coupled device (CCD) as a detector, which can record the ECL by exposing the dispersed ECL to CCD, and figure out the corresponding spectrum with varied elements of CCD. This article briefed the developing history of ECL setups, reviewed the progress of monochromatic ECL systems, technologies and devices qualified for spectrum-resolved ECL quantitative analysis, and also prospected the development of spectrum-resolved ECL quantitative analysis as well as the industrialization and localization of ECL spectrum analyzers.

Keywords: electrochemiluminescence, quantitative analysis, spectrum-resolved, waveband-resolved, multiplexing bioassay

doi: [10.1360/SSC-2021-0022](https://doi.org/10.1360/SSC-2021-0022)