

Journal of Electrochemistry

Volume 20

Issue 6 *Special Issue of Bioelectroanalytical Chemistry* (Editor: Professor XIA Xing-hua)

2014-12-28

Electrochemiluminescence Imaging Focusing: Array Analysis and Visualization of Latent Fingerprints

Zhen-yu ZHOU

Lin-ru XU

Bin SU

Institute of Microanalytical Systems, Department of Chemistry, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; subin@zju.edu.cn

Recommended Citation

Zhen-yu ZHOU, Lin-ru XU, Bin SU. Electrochemiluminescence Imaging Focusing: Array Analysis and Visualization of Latent Fingerprints[J]. *Journal of Electrochemistry*, 2014, 20(6): 506-514.

DOI: 10.13208/j.electrochem.140435

Available at: <https://jelectrochem.xmu.edu.cn/journal/vol20/iss6/2>

This Review is brought to you for free and open access by Journal of Electrochemistry. It has been accepted for inclusion in Journal of Electrochemistry by an authorized editor of Journal of Electrochemistry.

DOI: 10.13208/j.electrochem.140435

Artical ID:1006-3471(2014)06-0506-09

Cite this: *J. Electrochem.* 2014, 20(6): 506-514

Http://electrochem.xmu.edu.cn

电化学发光成像技术及其在阵列传感分析和潜在指纹成像分析中的应用

周镇宇, 许林茹, 苏 彬*

(浙江大学化学系微分析系统研究所, 浙江 杭州 310058)

摘要: 电化学发光成像技术作为一种新的生化分析手段, 具有设备简单、反应可控、多信息化和可视化等优点. 目前, 该技术已被用于便携式、微型化、高通量的电化学发光传感器中, 并取得了一系列创新性成果. 本文结合作者课题组的研究进展, 简要介绍了电化学发光成像技术在阵列传感分析和潜在指纹检测中的应用, 并尝试着展望了今后的发展趋势.

关键词: 电化学发光成像; 联吡啶钌; 指纹; 阵列传感分析

中图分类号: O646

文献标识码: A

电化学发光(Electrochemiluminescence, 简称 ECL)可被简称为由电化学方法激发的化学发光^[1]. 该过程中, 电极表面的生成物通过高能电子转移形成激发态, 当从激发态返回基态时可发出特定波长范围的光辐射. 电化学发光系电化学和化学发光相结合的产物, 因此具备传统化学发光灵敏度高、线性范围宽的优势, 又兼有电化学方法设备简单、操作便利等特点^[2]. 此外, 电化学发光具有良好的时空可控性, 可同时获得电化学和光学两种信号^[3-4].

目前用于电化学发光分析的装置大部分由科研人员自行搭建而成, 它包含两个最基本的构件: 一个是电化学设备, 驱动电化学反应; 另一个是光学设备, 捕获产生的光信号^[5]. 常用的光信号检测装置有光电二极管(PD), 光电倍增管(PMT)和电荷耦合装置(CCD). PD 具有响应速度快、体积小、重量轻等优势, 同时还可制备 PD 阵列, 实现快速高效的检测. PMT 的灵敏度很高, 能达到单光子计数水平. 如图 1 所示, 通常情况下 PD 和 PMT 获得的是光强度信号, 不过当结合扫描电化学显微镜(SECM)技术时, PMT 也可实现样品的成像分析^[6-7]; 相比于 PMT, 尽管 CCD 的灵敏度偏低, 但它可直接生成发光图像, 非常利于快速和大面积的成像

分析, 因此是目前电化学发光成像分析中应用最广泛的检测装置. 在获取发光图像过程中, 电化学反应产生的光信号先经光学镜头聚焦, 再由 CCD 相机采集并转换为数字信号, 最后传输给计算机进行分析处理. 此外, 根据不同的分析样本, 镜头的选择也有区别: 宏观样本(如潜在指纹)成像可选取微距镜头^[8], 而实现微观物体(如聚苯乙烯微粒)的成像则应采用光学显微镜头^[9].

电化学发光成像技术在分析领域的应用始于上世纪 80 年代. 1987 年, Engstrom 等用相机拍摄电化学发光图像, 较为全面地获取了电化学活性

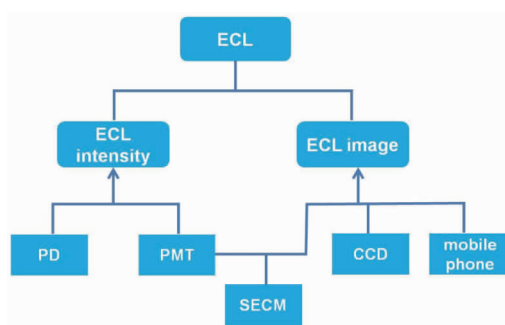


图 1 电化学发光信号的分类及信号采集装置示意图

Fig. 1 The classification of ECL signals and the corresponding detectors

收稿日期: 2014-05-28, 修订日期: 2014-07-09 * 通讯作者, Tel: (86-571)88273496, E-mail: subin@zju.edu.cn

国家自然科学基金项目(No. 21222504, No. 2133501)和浙江省杰出青年基金项目(No. R14B050003)资助

位点尺寸、几何形状和分布等相关信息^[10]. Nieman 等设计了简单的流动注射装置用于电化学反应动力学研究^[11]. 特别是近十年, 电化学发光成像技术发展迅速, 应用领域不断拓宽, 如无机和生物分子的检测^[12-13]、免疫分析^[14-15]、基因毒素的筛选^[16]以及反应机理的研究^[9]等. 在近期发表的工作中, 手机也可作为成像装置^[17-18], 这对于满足发展中国家以及偏远地区的分析测试需求有着重要的意义. 然而相关领域的研究在我国起步较晚, 也较为欠缺. 徐静娟等将电化学发光成像技术与双极电极体系结合实现了前列腺特异性抗原(PSA)的检测^[19]. 池毓务等组装了电化学成像平台用于燃料电池中电化学催化剂的筛选^[20]. 张成孝等采用二茂铁标记的多肽链作为电化学发光猝灭剂, 完成了 PSA 的灵敏检测^[21]. 本文拟结合作者课题组自身的研究工作, 重点介绍电化学发光成像技术在阵列传感分

析和潜在指纹成像分析中的应用.

1 常用 ECL 成像体系及机理

电化学发光成像分析属于电化学发光分析的一部分, 理论上用于电化学发光的反应体系均可用于成像中. 不过考虑到发光效率以及发光试剂的稳定性, 电化学发光成像主要采用钌化合物/共反应剂体系和鲁米诺/过氧化氢体系. 其它发光体系, 如 9,10-二联苯蒽/氧苯体系和共轭高分子/共反应剂体系, 可用于高频电压脉冲的电化学发光成像^[22]及纳米颗粒电子转移的研究^[23].

1.1 三联吡啶钌/共反应剂体系

三联吡啶钌/三丙胺(TPrA)是目前商业化免疫检测和 DNA 分析中应用最为广泛的电化学发光体系^[24]. 根据不同的实验条件, 该体系的反应机理大致归为 4 种途径, 如图 2 所示^[25]. 途径 1 中, $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 和 TPrA 同时在电极表面发生氧化, 生

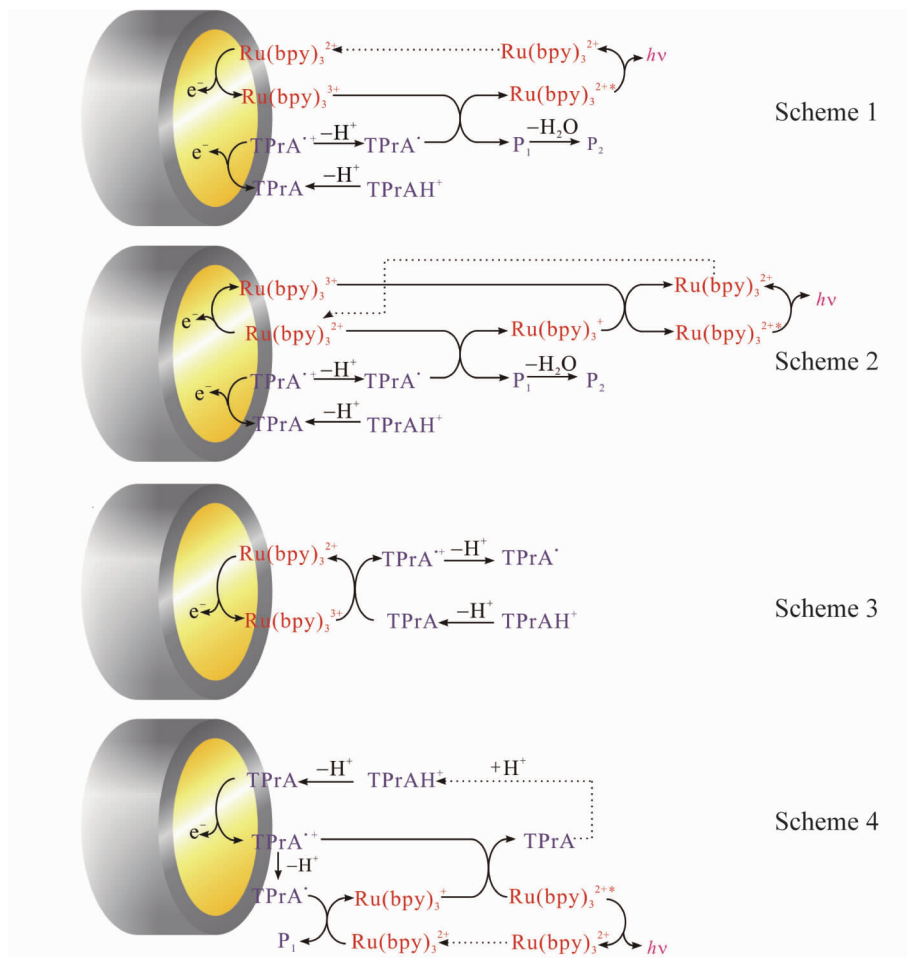


图 2 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}/\text{TPrA}$ 体系的反应机理示意图^[25]

Fig. 2 Schemes for the mechanisms of the $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}/\text{TPrA}$ system^[25]

成 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$ 和 TPrA^+ , 随之 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$ 被强还原性的 TPrA^+ 还原形成激发态, 并衰减发出光辐射. 而途径 2 中, $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+*}$ 由 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$ 和 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^+$ 通过湮灭反应所产生. 对于途径 3, 体系中的 TPrA 被电化学反应生成的 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$ 氧化, 并在脱去质子后形成 TPrA^+ . 与途径 3 相反, 途径 4 中仅有 TPrA 在电极表面发生氧化, 形成 TPrA^+ 和 TPrA^+ . $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 则被 TPrA^+ 还原生成 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^+$, 进而再与 TPrA^+ 反应产生激发态的 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+*}$. 该途径对标记 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 免疫磁珠 (或聚苯乙烯微球) 电化学发光现象的阐述有着十分重要的意义^[9].

TPrA 作为共反应剂已被广泛使用, 然其存在易挥发、用量多以及具有毒性等缺陷. 近期一种高效的共反应剂—二丁基氨基乙醇 (DBAE), 被逐渐用于 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 的电化学发光分析中^[26]. 当采用 Au 和 Pt 作为工作电极时, $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}/\text{DBAE}$ 体系的电化学发光强度可比 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}/\text{TPrA}$ 体系提高 10 ~ 100 倍. 此外, DBAE 毒性小, 不易挥发且水溶性好, 在电化学发光免疫分析和 DNA 探针检测中有着十分广阔的应用前景.

此外, $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ 和 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 也可作为 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 的共反应剂^[27-28], 并分别以“氧化-还原”和“还原-氧化”的形式进行电化学发光. 然而这两种共反应剂对发光的促进作用不如 TPrA 和 DBAE 明显, 在分析中较少应用.

1.2 鲁米诺/过氧化氢体系

鲁米诺是一种典型的酰肼类化学发光物质. 它也可在碱性溶液中发生电化学氧化, 并与过氧化氢作用发出强烈的蓝光, 该过程的反应机理如图 3 所示^[29]. 首先, 鲁米诺在碱性条件下失去质子, 并在电极表面发生氧化生成偶氮化合物, 而后与溶液中的过氧化氢反应形成激发态的 3-氨基邻苯二甲酸盐. 当激发态 3-氨基邻苯二甲酸盐返回基态时, 即可发出最大波长为 425 nm 的光波.

该电化学反应对过氧化氢的检测十分灵敏, 可用于过氧化氢及一些通过代谢作用生成过氧化氢的生物分子的测定. 在氧气存在的条件下, 某些氧化酶能高效快速地催化特定底物氧化产生过氧化氢. 因此, 结合专一的生物酶反应与灵敏的鲁米诺/过氧化氢发光体系, 可构建高效便捷的生物酶传感器^[30-31].

2 成像技术在阵列分析中的应用

2.1 免疫分析

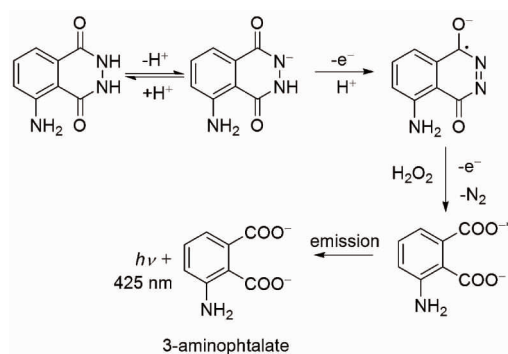


图 3 鲁米诺/过氧化氢体系的电化学发光反应机理示意图^[29]

Fig. 3 Proposed mechanism for the ECL reaction of the luminol/ H_2O_2 system^[29]

基于 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}/$ 共反应剂体系的电化学发光技术已被广泛用于临床诊断分析中^[5]. 而成像技术的运用则进一步提高了该方法的分析能力, 显示出快速分析、多组分同时检测及可视化等优势.

2011 年, Rusling 等利用碳纳米管簇和 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 掺杂的硅纳米颗粒来构建电化学发光阵列免疫传感器, 用于癌症标记蛋白的检测^[15, 32]. 他们在热解石墨电极片上固定碳纳米管以及捕获抗体, 并依次滴加抗原溶液和标记有信号分子的抗体溶液, 孵育片刻^[15]. 随之该石墨电极片被作为工作电极, 浸入含有共反应剂的容器中进行电化学成像分析. 这种采用经典夹心模式的免疫传感器获得 PSA 检测限为 $1 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 白介素-6 (IL-6) 检测限为 $0.25 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$. 之后, 该课题组又采用类似的方法, 将发光分子和待测物通过共价作用结合于树状分子上, 可使免疫球蛋白 (IgG) 的最低检测限达到皮摩尔级别^[33].

Sojic 研究组报道了一种由荧光染料编码的聚苯乙烯微球和经刻蚀并镀金的光纤束构成的新型微阵列传感器^[14]. 每一类编码的微球修饰有特定的捕获抗体, 并嵌入电极表面的小孔内. 通过免疫反应, 对应抗原和标记有 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 的抗体被相继固定到电极上, 电化学反应产生的光信号则由 CCD 相机捕获. 该方法可实现多种抗原的同时检测, 且非对应抗原和抗体之间不存在明显的交叉反应.

2.2 基因毒素的筛选

基于电化学发光成像技术构建的高通量、微型化生物传感器还可用于体外基因毒素的筛选. Rusling 等人将热解石墨片作为工作电极, 通过层

层滴加 DNA、细胞色素 P450 酶及连有发光体聚合物(RuPVP)的方法来构建电化学发光点阵列^[16]. 其发光信号来自于 RuPVP 和 DNA 片段内鸟嘌呤的电化学反应. 由于经酶处理的基因毒素可使点阵列中 DNA 链的构型发生扭曲,并进一步暴露其中的鸟嘌呤,使得光信号大幅度地提高. 通过比较发光强度,考察了反应时间与酶种类对 DNA 损伤程度的影响. 另外,该电化学发光点阵列还可用于测定亚硝基类化合物^[34]和单壁碳纳米管^[35]的基因毒性,以及不同细胞色素酶对烟草致癌物(NKK)的催化活性^[36]. 同时考虑到酶的制备和纯化所面临的困难,鼠肝脏微粒体和细胞色素 P450 2E1 膜也可直接作为酶源固定于发光点阵列中^[37]. 最近,该技术被应用于微流体系统中,简化了筛选有毒化学药品和代谢污染物的操作步骤^[38].

2.3 酶生物传感器

结合专一的酶促反应和高灵敏的鲁米诺/过氧化氢电化学发光体系可构建各式各样的酶生物传感器. 反应过程的过氧化氢由底物经相应的生物酶催化产生,因此这种方法能检测人体内多种重要的生物小分子(如葡萄糖、胆碱和乳酸等).

Marquette 等以酶促反应生成的过氧化氢和鲁米诺的电化学发光为基础构建了多种多功能化的生物传感芯片^[13, 30-31, 39]. 他们将 6 种不同氧化酶通过光敏聚合物(PVA-SbQ)的包埋作用固定于玻碳电极片表面形成点阵列^[13]. 在施加 0.85 V 的电压后,鲁米诺与过氧化氢的电化学反应就可被激发. 由拍摄的图像可知,只在含有与底物对应氧化酶的区域才能观察到明显的电化学发光信号. 该阵列芯片还用于人血清样品中葡萄糖、乳酸以及尿素的检测,其测量值与参考值间有着较好的一致性. 基于类似的氧化酶和鲁米诺固定策略,该课题组进一步采用印刷石墨电极来构建多参数的电化学发光生物阵列传感器^[31].

最近,作者课题组构建了一种新型的生物阵列传感器,用以检测葡萄糖、胆碱和乳酸三种生物分子. 该阵列传感器由带孔聚二甲基硅烷(PDMS)薄片和刻有“轮子”图案的氧化铟锡(ITO)导电玻璃基底构成(图 4)^[40]. 样品分析前,特定氧化酶通过壳聚糖-碳纳米管的包埋作用固定于每个圆盘形的工作电极表面. 随后,依次往每个微液池内滴加不同浓度的底物溶液(含鲁米诺). 施加合适的驱动电位后,鲁米诺与酶促生成的过氧化氢发生电

化学发光反应,产生的光信号由置于传感器上方的 CCD 相机捕获. 另外,将 3 种氧化酶固定于 ITO 玻璃基底的的不同工作电极上,该阵列传感器可实现多组分样品的分析.

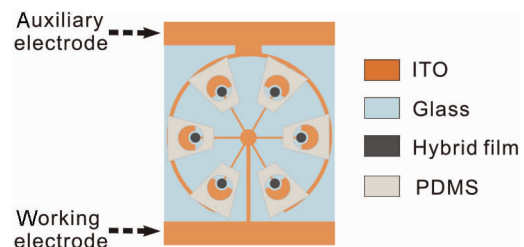


图 4 用于葡萄糖、胆碱和乳酸分析的生物阵列传感器构型图^[40]

Fig. 4 Schematic illustration of the biosensor array for detections of glucose, choline and lactate^[40]

2.4 双极电极电化学

双极电极系一段与离子导电相相连的电子导体^[41],通常被孤立于一充满电解质溶液的微通道内,因而该体系称开放式双极电极体系. 当通道两侧施加合适的电位时,双极电极两端可分别进行电化学氧化和还原反应. 由于通道内存在离子导体和电子导体,所以流经通道的电流可分为两个部分^[41]:溶液中离子导电的电流和双极电极上电子导电的法拉第电流. 另外,通过设计不同尺寸和形状的双极电极,该开放式体系可实现多样化用途^[19, 42-49](表 1).

Crooks 研究组将双极电极电化学和成像技术应用于 DNA 片段的检测^[42]. 他们首先在双极电极阴极端修饰捕获 DNA 链. 当其与标记有 Pt 纳米粒子的目标 DNA 链杂交后,由于 Pt 纳米粒子的催化作用,可使电极两端发生氧化还原反应的电势差下降. 因此通过施加合适的驱动电压,只有杂交的双极电极会发光,而未发生杂交的双极电极则无光信号. 之后,他们又在载玻片上设计了包含 1000 根金双极电极的微阵列装置^[43]. 在单一电压的驱动下,每一根双极电极的阳极端都可以发出明显的光信号,其光强度基本一致,且不相互干扰.

与开放式双极体系相对应,还有闭合式双极电极的体系. 该体系中,驱动电极分别位于两个分隔的电化学池内,两反应池之间用一根导线相连. 施加电位后,导线(双极电极)两端能分别发生氧化还原反应. 池毓务课题组结合该体系设计了一

表 1 基于电化学发光成像的双极电极体系的应用
Tab. 1 The application of bipolar electrode system based on ECL imaging

Bipolar electrode system	Shape	Application	Ref.
Open	Rectangle	DNA analysis	[42]
		Large-scaled microarray	[43]
Open	Trangle	Snapshot voltammetry	[44]
Open	Square	Two-dimensional bipolar electrochemistry	[45]
Open	Sphere	Cargo transport with light emission	[46-47]
Open	Microband	Microelectrochemical integrated circuits	[48]
Open (two channels)	Z shape	Detection of glycated hemoglobin	[49]
Open (two channels)	U shape	Detection of prostate-specific antigen	[19]
Closed	-	Screening electrocatalysts	[20]
Closed	-	Detection of quinone and hydrogen	[50]

个电化学成像平台用于燃料电池中电化学催化剂的高通量筛选^[20]. 由于双极电极上的氧化反应和还原反应被限制于两个不同的电化学池内, 该闭合式双极电极体系可用于难溶性有机氧化物的检测. 作者课题组采用 PDMS 和 ITO 导电芯片构建了微液滴阵列传感器(图 5), 实现了醌类物质的检测^[50]. 此外, 在双极电极阴极端修饰辣根过氧化物酶, 该传感器还可用于过氧化氢快速灵敏的检测. 分隔的电化学池之间只有电子导体, 与开放式双极电极体系通常所需几十伏的驱动电位相比^[42, 44, 51], 闭合式体系的驱动电位仅需 ~4 V.

3 成像技术在指纹分析中的应用

指纹是人手指上的摩擦脊接触物体后留下的印迹. 长久以来, 指纹一直是刑事侦查和身份识别方面不可或缺的工具, 同时也在日常生活的安全

检查以及访问控制等领域担任着重要作用. 作者课题组首次将电化学发光方法用于潜在指纹反相和正相两种模式的成像分析(图 6)^[8]. 反相模式中, 指纹含有的有机脂肪酸等惰性物质会抑制电子转移, 因此 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}/\text{TPrA}$ 体系的电化学发光只发生于不覆盖有指纹的电极表面. 而正相模式中, 电化学发光活性分子 ($\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dcbpy})\text{NHS}$) 可通过分子上的 N-羟基琥珀酰亚胺酯与指纹氨基酸的氨基发生共价结合, 从而标记到指纹上. 在加入共反应剂溶液, 且施予一定电位后, 只有指纹覆盖的区域才会发生电化学发光反应, 并显现出指纹的形态.

在此基础上, 作者课题组进一步研究和完善了不同承载客体及多种电化学发光体系在潜在指纹显现技术方面的应用, 拓展了该方法的实用性.

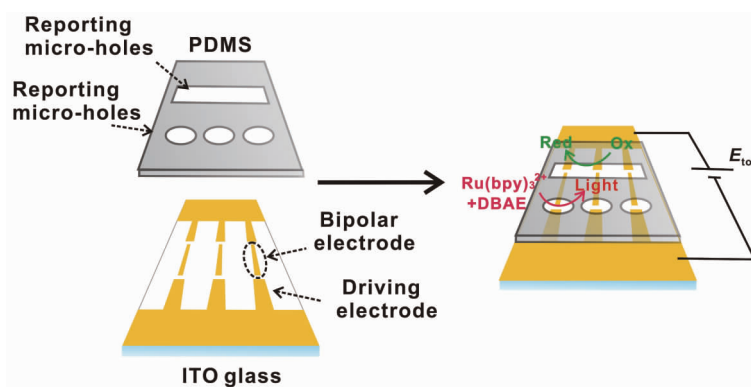


图 5 基于双极电极电化学发光成像的微流控液滴阵列传感器示意图^[50]

Fig. 5 Schematic illustration of the microfluidic droplet sensor based on bipolar electrochemistry and ECL imaging^[50]

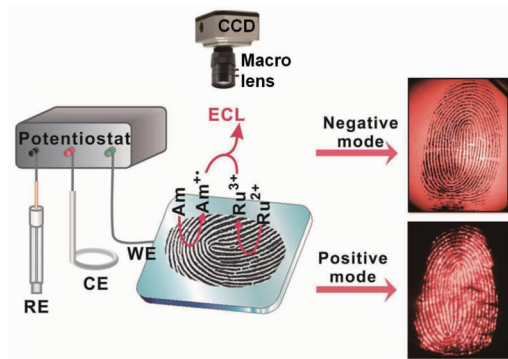


图6 显现潜在指纹的电化学发光成像系统的构型示意图,及反相模式与正相模式显现出的指纹图像^[8]

Fig. 6 Negative and positive imaging of a latent fingerprint on the ECL imaging system^[8]

如在一种常见鉴识客体——不锈钢片上,成功实现了潜在指纹的显现^[52].此外,可通过采集胶带将日常物面(如硬币、桌面、光盘和电脑屏等)上的残留指纹转移到不锈钢导电基底上,体现了该方法的实用价值.作者课题组还基于红荧烯的共反应剂型电化学发光原理,以TPrA或DBAE为共反应剂,实现了潜在指纹快速简便的检测^[53].而后,利用鲁米诺/ $K_2S_2O_8$ (或 H_2O_2)进一步拓宽了电化学发光反应体系^[54].与三联吡啶钌和红荧烯相比,鲁米诺/共反应剂体系在0.8 V(vs. Ag/AgCl)电位下即可产生明显的电化学发光,大大降低了反应电位.

最近,作者课题组结合电化学发光酶联免疫分析技术,实现了潜在指纹中人表皮生长因子(Epidermal growth factor, EGF)、溶菌酶以及人汗腺抗菌肽 Dermcidin 等目标代谢物的特异性检测^[55].图7为其过程,首先一抗与生物素化的二抗通过特异性的免疫作用与指纹中的目标代谢物(抗原)结合,随之再与辣根过氧化氢酶(HRP)标记的链霉亲和素作用,将HRP修饰到指纹上.当施加合适的负电位,溶液中的溶解氧在电极表面还原生成 H_2O_2 ,并在HRP催化作用下,与鲁米诺产生化学发光,从而呈现出指纹的结构.该方法在进行潜在指纹显现的同时,还实现人汗腺代谢物的特异性识别,有望构筑一种简单、便携、通用的指纹检测技术,用于兴奋剂及爆炸物检测、病患临床诊断等领域,有着重要的医学诊断和安全保障价值.

4 展望

近年来,电化学发光成像技术在物质分析方面展现出来的诸多独特优势,使其越发受到关注.

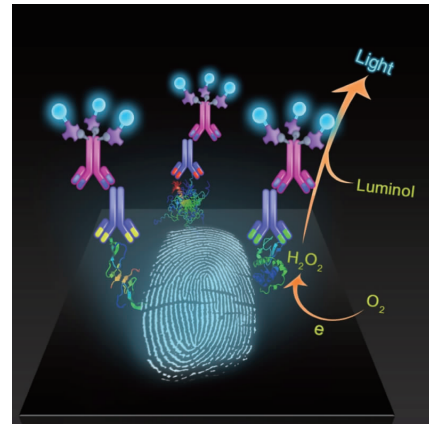


图7 电化学发光酶联免疫分析法用于汗潜指纹中EGF、溶菌酶和人汗腺抗菌肽 Dermcidin 的检测^[55]

Fig. 7 The detections of EGF, lysozyme and dermcidin in a latent fingerprint by enzyme immunoassay and ECL imaging^[55]

作者课题组结合电化学发光成像高通量、多信息化和可视化等特点,将其应用于潜在指纹显现、成分识别以及阵列分析等领域,并取得了初步的研究进展.就其未来的研究方向,可能围绕以下几个方面展开:1)通过基底材料的改进和电极表面的修饰来提高成像技术的灵敏度和选择性.2)拓展电化学发光成像技术在芯片实验室和微全分析体系的应用,发展智能化、集成化的便携式电化学发光分析装置,实现临床诊断和环境污染源的实时监测.3)探索新型高效的电化学发光体系,并将其用于开发灵活的发光设备及多色电化学发光成像分析.

参考文献 (References):

- [1] Knight A W. A review of recent trends in analytical applications of electrogenerated chemiluminescence[J]. *TrAC-Trends in Analytical Chemistry*, 1999, 18(1): 47-62.
- [2] Richter M M. Electrochemiluminescence (ECL)[J]. *Chemical Reviews*, 2004, 104(6), 3003-3036.
- [3] Zhou H, Kasai S, Matsue T. Imaging localized horseradish peroxidase on a glass surface with scanning electrochemical/chemiluminescence microscopy[J]. *Analytical Biochemistry*, 2001, 290(1): 83-88.
- [4] Lei R, Stratmann L, Schafer D, et al. Imaging biocatalytic activity of enzyme-polymer spots by means of combined scanning electrochemical microscopy/electrogenerated chemiluminescence[J]. *Analytical Chemistry*, 2009, 81(12): 5070-5074.
- [5] Hu L Z, Xu G B. Applications and trends in electrochemi-

- luminescence[J]. *Chemical Society Reviews*, 2010, 39(8): 3275-3304.
- [6] Maus R G, Wightman R M. Microscopic imaging with electrogenerated chemiluminescence[J]. *Analytical Chemistry*, 2001, 73(16): 3993-3998.
- [7] Zu Y B, Ding Z F, Zhou J F, et al. Scanning optical microscopy with an electrogenerated chemiluminescent light source at a nanometer tip[J]. *Analytical Chemistry*, 2001, 73(10): 2153-2156.
- [8] Xu L R, Li Y, Wu S Z, et al. Imaging latent fingerprints by electrochemiluminescence[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2012, 124(32): 8192-8196.
- [9] Sojic N, Sentic M, Milutinovic M, et al. Mapping the electrogenerated chemiluminescence reactivity in space: Mechanistic insight into model systems used in immunoassays[J]. *Chemical Science*, 2014, 5: 2568-2572.
- [10] Engstrom R C, Johnson K W, DesJarlais S. Characterization of electrode heterogeneity with electrogenerated chemiluminescence[J]. *Analytical Chemistry*, 1987, 59(4): 670-673.
- [11] Shultz L L, Stoyanoff J S, Nieman T A. Temporal and spatial analysis of electrogenerated Ru(bpy)₃³⁺ chemiluminescent reactions in flowing streams [J]. *Analytical Chemistry*, 1996, 68(2): 349-354.
- [12] Chovin A, Garrigue P, Sojic N. Electrochemiluminescent detection of hydrogen peroxide with an imaging sensor array[J]. *Electrochimica Acta*, 2004, 49(22): 3751-3757.
- [13] Marquette C A, Degiuli A, Blum L J. Electrochemiluminescent biosensors array for the concomitant detection of choline, glucose, glutamate, lactate, lysine and urate[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2003, 19(5): 433-439.
- [14] Deiss F, LaFratta C N, Symer M, et al. Multiplexed sandwich immunoassays using electrochemiluminescence imaging resolved at the single bead level[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2009, 131(17): 6088-6089.
- [15] Sardesai N P, Barron J C, Rusling J F. Carbon nanotube microwell array for sensitive electrochemiluminescent detection of cancer biomarker proteins[J]. *Analytical Chemistry*, 2011, 83(17): 6698-6703.
- [16] Hvastkovs E G, So M, Krishnan S, et al. Electrochemiluminescent arrays for cytochrome P450-activated genotoxicity screening. DNA damage from benzo a pyrene metabolites[J]. *Analytical Chemistry*, 2007, 79(5): 1897-1906.
- [17] Delaney J L, Hogan C F, Tian J, et al. Electrogenerated chemiluminescence detection in paper-based microfluidic sensors[J]. *Analytical Chemistry*, 2011, 83(4): 1300-1306.
- [18] Hao N, Xiong M, Zhang J D, et al. Portable thermo-powered high-throughput visual electrochemiluminescence sensor[J]. *Analytical Chemistry*, 2013, 85(24): 11715-11719.
- [19] Wu M S, Yuan D J, Xu J J, et al. Electrochemiluminescence on bipolar electrodes for visual bioanalysis [J]. *Chemical Science*, 2013, 4(3): 1182-1188.
- [20] Lin X M, Zheng L Y, Gao G M, et al. Electrochemiluminescence imaging-based high-throughput screening platform for electrocatalysts used in fuel cells[J]. *Analytical Chemistry*, 2012, 84(18): 7700-7707.
- [21] Qi H L, Li M, Dong M M, et al. Electrogenerated chemiluminescence peptide-based biosensor for the determination of prostate-specific antigen based on target-induced cleavage of peptide[J]. *Analytical Chemistry*, 2014, 86(3): 1372-1379.
- [22] Wightman R M, Curtis C L, Flowers P A, et al. Imaging microelectrodes with high-frequency electrogenerated chemiluminescence[J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 1998, 102(49): 9991-9996.
- [23] Chang Y L, Palacios R E, Fan F R F, et al. Electrogenerated chemiluminescence of single conjugated polymer nanoparticles[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2008, 130(28): 8906-8907.
- [24] Miao W J. Electrogenerated chemiluminescence and its biorelated applications[J]. *Chemical Reviews*, 2008, 108(7): 2506-2553.
- [25] Miao W J, Choi J P, Bard A J. Electrogenerated chemiluminescence 69: The tris(2,2'-bipyridine)ruthenium(II), (Ru(bpy)₃)²⁺/tri-n-propylamine (TPRA) system revisited—A new route involving TPRA^{•+} cation radicals[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2002, 124(48): 14478-14485.
- [26] Liu X Q, Shi L H, Niu W X, et al. Environmentally friendly and highly sensitive ruthenium(II) tris(2,2'-bipyridyl) electrochemiluminescent system using 2-(dibutylamino) ethanol as co-reactant[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2007, 119(3): 425-428.
- [27] Chang M M, Saji T, Bard A J. Electrogenerated chemiluminescence. 30. Electrochemical oxidation of oxalate ion in the presence of luminescers in acetonitrile solutions[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1977, 99(16): 5399-5403.
- [28] White H S, Bard A J. Electrogenerated chemiluminescence. 41. Electrogenerated chemiluminescence and chemiluminescence of the Ru(2,2'-bpy)₃²⁺-S₂O₈²⁻ system in acetonitrile-water solutions[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1982, 104(25): 6891-6895.
- [29] Fähnrich K A, Pravda M, Guilbault G G. Recent applications of electrogenerated chemiluminescence in chemical analysis[J]. *Talanta*, 2001, 54(4): 531-559.

- [30] Marquette C A, Blum L J. Conducting elastomer surface texturing: A path to electrode spotting: Application to the biochip production[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2004, 20(2): 197-203.
- [31] Corgier B P, Marquette C A, Blum L J. Screen-printed electrode microarray for electrochemiluminescent measurements[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2005, 538(1): 1-7.
- [32] Sardesai N P, Kadimisetty K, Faria R, et al. A microfluidic electrochemiluminescent device for detecting cancer biomarker proteins[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2013, 405(11): 3831-3838.
- [33] Venkatanarayanan A, Crowley K, Lestini E, et al. High sensitivity carbon nanotube based electrochemiluminescence sensor array[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2012, 31(1): 233-239.
- [34] Krishnan S, Hvastkovs E G, Bajrami B, et al. Genotoxicity screening for N-nitroso compounds. Electrochemical and electrochemiluminescent detection of human enzyme-generated DNA damage from N-nitrosopyrrolidine [J]. *Chemical Communications*, 2007, 17: 1713-1715.
- [35] Pan S M, Sardesai N P, Liu H Y, et al. Assessing DNA damage from enzyme-oxidized single-walled carbon nanotubes[J]. *Toxicology Research*, 2013, 2(6): 375-378.
- [36] Krishnan S, Hvastkovs E G, Bajrami B, et al. Human cyt P450 mediated metabolic toxicity of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) evaluated using electrochemiluminescent arrays [J]. *Molecular Biosystems*, 2009, 5(2): 163-169.
- [37] Krishnan S, Hvastkovs E G, Bajrami B, et al. Synergistic metabolic toxicity screening using microsome/DNA electrochemiluminescent arrays and nanoreactors[J]. *Analytical Chemistry*, 2008, 80(14): 5279-5285.
- [38] Wasalathanthri D P, Malla S, Bist I, et al. High-throughput metabolic genotoxicity screening with a fluidic microwell chip and electrochemiluminescence[J]. *Lab on A Chip*, 2013, 13(23): 4554-4562.
- [39] Marquette C, Blum L J. Self-containing reactant biochips for the electrochemiluminescent determination of glucose, lactate and choline[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2003, 90(1): 112-117.
- [40] Zhou Z, Xu L, Wu S, et al. A novel biosensor array with a wheel-like pattern for glucose, lactate and choline based on electrochemiluminescence imaging[J]. *Analyst*, 2014, 139(19): 4934-4939.
- [41] Mavre F O, Anand R K, Laws D R, et al. Bipolar electrodes: A useful tool for concentration, separation, and detection of analytes in microelectrochemical systems[J]. *Analytical Chemistry*, 2010, 82(21): 8766-8774.
- [42] Chow K F, Mavre F, Crooks R M. Wireless electrochemical DNA microarray sensor[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2008, 130(24): 7544-7545.
- [43] Chow K F, Mavre F, Crooks J A, et al. A Large-scale, wireless electrochemical bipolar electrode microarray[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2009, 131(24): 8364-8365.
- [44] Chang B Y, Mavre F, Chow K F, et al. Snapshot voltammetry using a triangular bipolar microelectrode[J]. *Analytical Chemistry*, 2010, 82(12): 5317-5322.
- [45] Fosdick S E, Crooks J A, Chang B Y, et al. Two-dimensional bipolar electrochemistry[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2010, 132(27): 9226-9227.
- [46] Sentic M, Loget G, Manojlovic D, et al. Light-emitting electrochemical "swimmers"[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2012, 51(45): 11284-11288.
- [47] Bouffier L, Zigah D, Adam C, et al. Lighting up redox propulsion with luminol electrogenerated chemiluminescence[J]. *ChemElectroChem*, 2014, 1(1): 95-98.
- [48] Chang B Y, Crooks J A, Chow K F, et al. Design and operation of microelectrochemical gates and integrated circuits[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2010, 132(43): 15404-15409.
- [49] Chang B Y, Chow K F, Crooks J A, et al. Two-channel microelectrochemical bipolar electrode sensor array [J]. *Analyst*, 2012, 137(12): 2827-2833.
- [50] Wu S Z, Zhou Z Y, Xu L R, et al. Integrating bipolar electrochemistry and electrochemiluminescence imaging with microdroplets for chemical analysis[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2014, 53: 148-153.
- [51] Zhan W, Alvarez J, Crooks R M. Electrochemical sensing in microfluidic systems using electrogenerated chemiluminescence as a photonic reporter of redox reactions[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2002, 124(44): 13265-13270.
- [52] Xu L R, Li Y, He Y Y, et al. Non-destructive enhancement of latent fingerprints on stainless steel surfaces by electrochemiluminescence [J]. *Analyst*, 2013, 138(8): 2357-2362.
- [53] Li Y, Xu L R, He Y Y, et al. Enhancing the visualization of latent fingerprints by electrochemiluminescence of rubrene[J]. *Electrochemistry Communications*, 2013, 33: 92-95.
- [54] Xu L R(许林茹), He Y Y(何亚芸), Su B(苏彬). Development of latent fingerprints based on electrochemiluminescence imaging of luminol[J]. *Chemistry Online(化学通报)*, 2014, 77(1): 86-89.
- [55] Xu L, Zhou Z, Zhang C, et al. Electrochemiluminescence Imaging of latent fingermarks through the immunodetection of secretions in the human perspiration[J]. *Chemical Communications*, 2014, 50(65): 9097-9100.

Electrochemiluminescence Imaging Focusing: Array Analysis and Visualization of Latent Fingerprints

ZHOU Zhen-yu, XU Lin-ru, SU Bin*

*(Institute of Microanalytical Systems, Department of Chemistry, Zhejiang University,
Hangzhou 310058, China)*

Abstract: Electrochemiluminescence (ECL) imaging, as a novel and powerful analytical method, possesses many distinct advantages, including simplicity, high controllability, high-throughput and visualization. In recent years, it has been used in developing portable and miniaturized ECL sensor, and made remarkable achievements. In this review, the progress of ECL imaging, focusing on array analysis and visualization of latent fingerprints, has been introduced briefly based on our recent investigations and an attempt has been made to propose the future research trend.

Key words: electrochemiluminescence imaging; tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II); fingerprints; array analysis