

# 基于聚中性红/SnO<sub>2</sub> II型异质结的卡那霉素光电化学适体传感

杨 华<sup>1</sup>, 邵孜琦<sup>1,2\*</sup>, 曾星宇<sup>1</sup>, 翁雅情<sup>1</sup>, 李嘉慧<sup>1</sup>, 谢青季<sup>1\*</sup>

(1. 湖南师范大学 化学化工学院 化学生物学及中药分析教育部重点实验室, 湖南 长沙 410081; 2. 山东省淄博生态环境监测中心, 山东 淄博 255022)

**摘要:** 通过水热法合成SnO<sub>2</sub>纳米颗粒并将其滴涂到掺氟氧化锡 (FTO) 上, 再通过循环伏安法在电极上电聚合中性红 (NR) 成聚中性红 (PNR) 薄膜, 制得PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO光阳极。利用含氨基PNR和氨基化卡那霉素 (KAN) 适体 (Apt) 与戊二醛 (GLD) 交联剂的席夫碱反应, 制得Apt/GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO光阳极。基于Apt特异性识别KAN所致构象变化和空间位阻效应, 实现了KAN的高敏PEC适体传感。利用光谱学、电化学和电子显微镜等法对所制材料和电极进行了表征。优化实验条件后, 阳极光电流变化值与0.01 nM ~ 750 nM范围的KAN浓度的常用对数值呈良好的线性关系, 检测下限 (LOD, S/N = 3) 为3 pM。将该法用于实际牛奶样品中KAN的检测获较好的回收率结果。

**关键词:** 光电化学; SnO<sub>2</sub>; 聚中性红; 适体传感; 空间位阻效应; 卡那霉素

**中图分类号:**      **文献标识码:**      **文章编号:** 1004-4957(XXXX)XX-0001-09

## Photoelectrochemical Aptasensing of Kanamycin Based on a Poly (Neutral Red) /SnO<sub>2</sub> Type-II Heterojunction

YANG Hua<sup>1</sup>, SHAO Zi-qi<sup>1,2\*</sup>, ZENG Xing-yu<sup>1</sup>, Weng Ya-qing<sup>1</sup>, LI Jia-hui<sup>1</sup>, XIE Qing-ji<sup>1\*</sup>

(1. Key Laboratory of Chemical Biology & Traditional Chinese Medicine Research (Ministry of Education of China), College of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan Normal University, Changsha 410081, China; 2. Zibo Ecological and Environmental Monitoring Center of Shandong Province, Zibo 255022, China)

**Abstract:** A poly (neutral red) (PNR) /SnO<sub>2</sub> type-II heterojunction was prepared by cyclic voltammetry electropolymerization of neutral red (NR) on a fluorine-doped tin oxide (FTO) electrode that had been cast-coated with hydrothermally synthesized SnO<sub>2</sub>. An Apt/GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO photoanode was prepared after the Schiff base reaction among aminated kanamycin (KAN) aptamer (Apt), glutaraldehyde (GLD), and amino group-bearing PNR, and the signal attenuation photoelectrochemistry analysis of KAN was then realized on the basis of the steric hindrance effect induced by the specific KAN-Apt binding. Under optimal conditions, the decline value of anodic photocurrent was linearly related to the common logarithm of KAN concentration from 0.01 nM to 750 nM, with a limit of detection (S/N=3) of 3 pM. Satisfactory recoveries were obtained for analysis of KAN in milk samples.

**Key words:** Photoelectrochemistry; SnO<sub>2</sub>; poly (neutral red); aptasensing; steric hindrance effect; kanamycin

卡那霉素 (KAN) 是一种氨基糖苷类抗生素, 对革兰氏阴性菌有强大杀灭作用且成本较低, 在畜牧业、水产养殖和医疗健康等领域有广泛应用, 但仍存在耐药性和药物残留问题, 其规范用药已成为硬性要求<sup>[1-4]</sup>。例如, 用于奶牛细菌性乳腺炎及其他感染性疾病的治疗过程中, 不合理用药和交叉污染等因素易导致牛奶中KAN残留超标, 从而污染食品和环境, 危害人类健康<sup>[5]</sup>。国际组织及各国均制定了严格的KAN残留限量标准, 我国明确规定牛奶中KAN最大残留限量为150 μg/kg<sup>[6]</sup>。目前, 已研究

**收稿日期:** XXXX-XX-XX; **修回日期:** XXXX-XX-XX

**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目 (No. 22474035, 22074039)

\* **通讯作者:** 邵孜琦, 硕士, 研究方向: 环境分析, E-mail: szq990115@163.com;

谢青季, 博士, 教授, 研究方向: 电化学分析, E-mail: xieqj@hunnu.edu.cn.

**网络首发日期:** XXXX-XX-XX

和报道了多种检测 KAN 的方法, 如高效液相色谱-质谱<sup>[7-8]</sup>、酶联免疫吸附测定法<sup>[9-10]</sup>、电化学发光<sup>[11-12]</sup> 以及表面等离子体共振<sup>[13-14]</sup> 等, 这些方法各具优缺点。显然, 研发简便高效的 KAN 检测方法和技术具有学术价值和实践意义。

光电化学 (PEC) 分析法通过检测光激发下 PEC 活性材料 (修饰) 电极的电信号 (如光电流或光电压) 来实现对分析物的检测, 具有背景信号低、灵敏度高的优势<sup>[15]</sup>。PEC 活性材料可分为无机物、有机物及无机-有机复合物三大类型, 其中无机-有机复合物集成了无机和有机材料各自的优势, 近年来得到了广泛的研究。例如, Yang 等利用包覆锌酞菁敏化的 CdS 的藻酸钠胶束, 基于  $\text{Hg}^{2+}$  特异性结合 DNA 探针上的胸腺嘧啶而形成空间位阻较大的 T- $\text{Hg}^{2+}$ -T 复合物的原理, 实现了  $\text{Hg}^{2+}$  的高灵敏 PEC 检测<sup>[16]</sup>。SnO<sub>2</sub> 是一种 n 型金属氧化物半导体, 但其带隙 ( $E_g \approx 3.6 \text{ eV}$ ) 宽、可见光吸收能力差、光生载流子复合率较高<sup>[17-18]</sup>, 构建 SnO<sub>2</sub> 的异质结是改善其 PEC 性能的有效手段。例如, Fan 等利用氮掺杂量子点和 BiOI 共同敏化 SnO<sub>2</sub>, 基于抗原-抗体特异性亲和可增大空间位阻的原理, 实现了心肌钙蛋白 I 的高敏 PEC 免疫传感<sup>[18]</sup>。中性红 (NR) 是一种吩嗪类有机染料, 可在弱酸性条件下电氧化聚合成膜, 所得聚中性红 (PNR) 薄膜具有高稳定性和半导体特性<sup>[19]</sup>。PNR 可作为有机光敏染料有效拓宽体系的可见光吸收范围, 且其与 SnO<sub>2</sub> 匹配的能带结构有望形成 II 型异质结, 促进光生电子-空穴对的定向分离与转移, 显著抑制载流子复合, 进而大幅提升光阳极的光电流响应与光电转换效率。PEC 适体分析中常见的信号输出和放大策略之一是基于核酸适体特异性识别其底物所产生的空间位阻效应<sup>[20-21]</sup>。然而, 生物识别元件的固定过程多依赖外源粘结剂和复杂的修饰步骤, 易造成电极|溶液界面的电荷转移阻抗增大、识别位点利用率降低, 进而引发传感信号失真、稳定性下降等问题。PNR 分子链富含大量氨基活性位点, 故无需引入壳聚糖等外源助剂, 仅通过 PNR、戊二醛与氨基化适体的直接共价交联, 即可实现适体的共价固定, 从而有效降低传感界面的阻抗, 提高生物识别位点利用率。据我们所知, 基于 PNR/SnO<sub>2</sub> 异质结的 PEC 适体分析尚未见文献报道。

本文在 SnO<sub>2</sub> 纳米颗粒滴涂的掺氟氧化锡 (FTO) 上, 通过循环伏安法 (CV) 电聚合生成 PNR 薄膜, 制得 PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO 光阳极, 从而实现了协同利用有机染料的强吸光特性和异质结的能带匹配结构的光电转换效率增强。基于 PNR 自身的氨基官能团与戊二醛 (GLD) 发生席夫碱反应, 进而固定氨基化 KAN 适体 (Apt), 制得 Apt/GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO 光阳极, 从而实现了高效且便利的生物识别元件 (适体) 固定。用乙醇胺 (MEA) 封闭非特异性位点后制得 MEA/Apt/GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO 光阳极, 其 Apt 捕获 KAN 后会显著降低阳极光电流, 据此实现了 KAN 的高敏 PEC 适体分析 (图 1)。

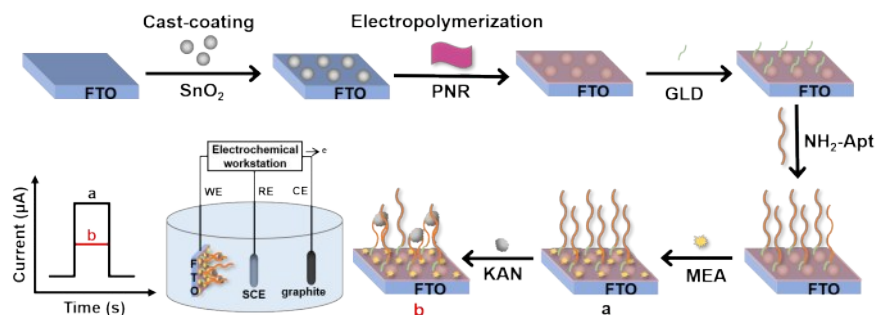


图 1 KAN/MEA/Apt/GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO 适体传感电极的制备过程及 KAN 的 PEC 分析。

Fig. 1 Illustration of preparing a KAN/MEA/Apt/GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO aptasensing electrode for PEC analysis of KAN.

## 1 实验部分

### 1.1 试剂和仪器

SnCl<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O、NaOH、NR 盐酸盐、乙醇、丙酮、磷酸氢二钾、磷酸二氢钾、MEA、抗坏血酸 (AA)、壳聚糖 (CS) 和 GLD 购自上海国药集团。硫酸卡那霉素 (KAN)、盐酸土霉素 (OTC)、盐酸林可霉素 (LIN)、盐酸氧氟沙星 (OFL) 和恩诺沙星 (ENR) 购自上海阿拉丁生物科技有限公司。氨基化 KAN 适体由上海生工生物工程有限公司合成, 序列为: 5' -NH<sub>2</sub>- (CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-TGG GGG TTG AGG CTA AGC CGA-3'。实验所用 FTO 导电玻璃购自珠海凯为光电科技有限公司。用于 PEC 测试和电极洗

涤的缓冲液分别为 pH 7.0 的 0.1 M 磷酸缓冲溶液 (PBS, 0.1 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) 和 0.01 M PBS (0.01 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>)。实验中所有溶液均采用 Milli-Q 超纯水 (Millipore, ≥ 18.2 MΩ cm) 配制。

PEC 实验均在配有可见光滤光片 (430~720 nm)、功率为 100 mW cm<sup>-2</sup> 的氙灯 (WLC02, ZAHNER-elektrik GmbH & Co. KG, Germany) 光源和 PEC 装置 (CIMPS, PP211, ZAHNER-elektrik GmbH & Co. KG, Germany) 的电化学工作站 (ZENNIUM, ZAHNER-elektrik GmbH & Co. KG, Germany) 上进行。循环伏安法 (CV)、电化学阻抗谱 (EIS) 和莫特-肖特基势垒图 (Mott-Schottky (M-S) plot) 的测试均在 CHI660E 电化学工作站 (上海辰华仪器有限公司) 上进行。以上实验均采用三电极体系, 工作电极 (WE) 为 FTO 或其修饰电极 (限定有效面积均为 0.25 cm<sup>2</sup>), 对电极 (CE) 为石墨棒 (直径为 3 mm), 参比电极 (RE) 为饱和甘汞电极 (SCE)。在 FEI Helios NanoLab 600i 扫描电子显微镜上进行扫描电子显微镜 (SEM) 表征, 其牛津能量色散 X 射线光谱 (EDS) 分析探测器用于元素分析。Ultima IV X-射线粉末衍射仪 (XRD) 用于材料的晶相分析。Thermo Scientific K-Alpha 仪器用于测定 X 射线光电子能谱 (XPS)。UV-2600i 紫外可见分光光度计用于记录紫外可见漫反射光谱 (UV-vis DRS, BaSO<sub>4</sub> 参比)。日本-岛津-IRTracer 100 傅里叶变换红外 (FT-IR) 分光光度计用于采集 FT-IR 光谱 (KBr 压片法)。

## 1.2 PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO 电极的制备

将 FTO 导电玻璃切割为 0.5 cm × 2.0 cm 尺寸, 依次用丙酮、乙醇和超纯水超声清洗 15 min, 自然晾干。随后用绝缘胶带限定暴露的导电面积为 0.5 cm × 0.5 cm 备用。

SnO<sub>2</sub> 的合成如文献所述<sup>[22]</sup>, 稍有修改。称取 5 mmol SnCl<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 和 25 mmol NaOH 分别溶于 25 mL 超纯水, 将两溶液混合后再加入 25 mL 乙醇, 转移到 100 mL 高压反应釜中于 160 °C 下反应 12 h, 随后水洗、无水乙醇洗涤数次, 置于 60 °C 烘箱干燥过夜, 得白色粉末状 SnO<sub>2</sub>。于超纯水中超声分散 20 min, 制得 2 mg mL<sup>-1</sup> 的 SnO<sub>2</sub> 悬浊液, 用移液枪取 20 μL 滴于 FTO 导电玻璃上, 置于红外灯下干燥。

SnO<sub>2</sub>/FTO 电极上 NR 的 CV 电聚合如文献所述<sup>[23]</sup>, 稍有修改。在含 1.0 mM NR 和 0.1 M KCl 的 0.1 M PBS 缓冲液中, 设定扫速 0.1 V s<sup>-1</sup>、电位范围 -0.8 V ~ 1.4 V vs SCE, 于 SnO<sub>2</sub>/FTO 电极上 CV 电聚合 NR 3 圈, 制得 PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO 电极。类似地, 在裸 FTO 电极上电聚合 NR 制得 PNR/FTO 电极。

## 1.3 适体光电极的制备及卡那霉素分析

向 PNR 修饰电极表面滴加 10 μL 5% GLD 溶液, 室温下孵育 30 min 后用超纯水清洗电极。随后, 向电极表面滴加 10 μL 2 μM 的 Apt, 4 °C 下孵育 12 h, 用 0.01 M PBS 清洗后, 滴加 10 μL 1 mM 的 MEA 并 4 °C 下放置 1 h 以封闭非特异性位点。用 0.01 M PBS 仔细清洗三遍后, 得 MEA/Apt/GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO 电极, 4 °C 储存备用。在上述电极表面滴加 20 μL 不同浓度的 KAN 溶液, 40 °C 下孵育 70 min, 仔细清洗, 得到 KAN/MEA/Apt/GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO 适体传感电极。在 100 mW cm<sup>-2</sup> 可见光照射下, 在含 0.1 M AA 的 0.1 M PBS 中, 施加 0 V vs SCE 偏压, 每 10 s 开关灯来进行 KAN 的 PEC 定量分析。这里, AA 用作牺牲性电子供体 (空穴清除剂)。光电流响应信号均取光照下光电流的稳定平台区的平均电流值, 平行测试三次取平均值。

# 2 结果与讨论

## 2.1 PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO 电极的制备和表征

NR 的电聚合遵循阳离子自由基聚合的较复杂机制<sup>[24]</sup>。如图 2A, -0.48/-0.57 V vs SCE 处的一对峰为 NR 的可逆氧化还原峰, 0.8 V vs SCE 左右的氧化峰对应 NR 不可逆氧化为阳离子自由基和随后的聚合 (插图为 NR 及其二聚体的可能结构)<sup>[24-26]</sup>。如图 2B, -0.8 V ~ 1.4 V vs SCE 区间 CV 聚合 3 圈所得 PNR/FTO 光电极的光电流约为 1.46 μA, 而 FTO 开路吸附 120 s 或在 -0.8 V ~ 0.4 V vs SCE 间 CV 扫描 3 圈的对照电极仅流过微弱光电流 (约 0.17 μA 或 0.22 μA), 裸 FTO 电极上光电流则几乎为零。

对所制材料或电极进行了 SEM、EDS、XRD、XPS、EIS 和 PEC 表征, 如下所述。采用 SEM 表征了合成材料的形貌, 结果如图 3 所示。FTO 纳米颗粒在裸 FTO 表面均匀分布, SnO<sub>2</sub> 为亚微米级颗粒及其团聚结构, PNR 则为较均匀分布的薄膜。EDS 结果揭示了 Sn、O、C 和/或 N 元素在各电极上的合理存在, 证实了 PNR 的 CV 沉积。

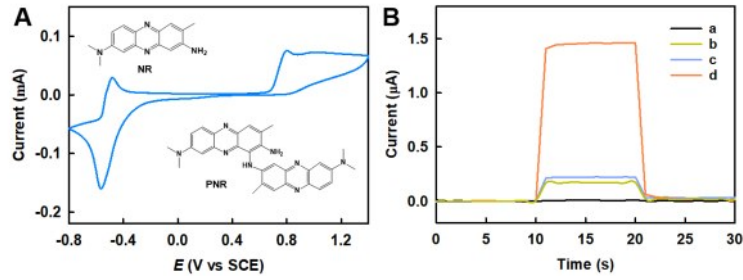


图2 在含1.0 mM NR和0.1 M KCl的0.1 M PBS溶液中, NR电聚合的CV图 (A) 和裸FTO (a)、FTO开路吸附120 s (b) 以及-0.8~0.4 (c) 和-0.8~1.4 (d) V vs SCE区间CV扫描3圈后所得电极的光电流响应 (B)。

Fig. 2 CV curve for NR electropolymerization on FTO in 0.1 M PBS containing 1.0 mM NR and 0.1 M KCl (A). Photocurrent responses (B) of bare FTO (a), FTO after open circuit adsorption of NR for 120 s (b), FTO after treatment of NR by 3-cycle potential cycling between -0.8 V and 0.4 V vs SCE (c), and PNR/FTO obtained after NR polymerization by 3-cycle potential cycling between -0.8 V and 1.4 V vs SCE (d).

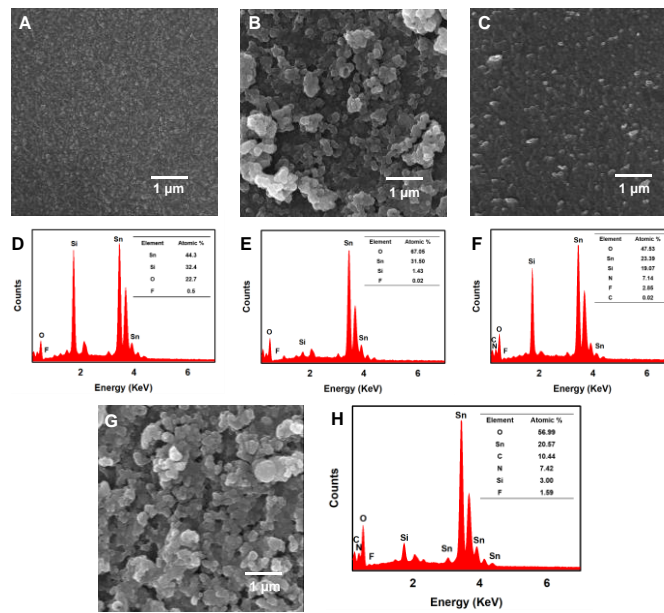


图3 裸FTO (A, D)、SnO<sub>2</sub>/FTO (B, E)、PNR/FTO (C, F) 和PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO (G, H) 的SEM和EDS图。

Fig. 3 SEM and EDS results of bare FTO (A, D), SnO<sub>2</sub>/FTO (B, E), PNR/FTO (C, F) and PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO (G, H).

如图4A所示, SnO<sub>2</sub>在26.6°、33.9°、37.9°、51.8°的XRD特征衍射峰分别对应(110)、(101)、(200)、(211)晶面,与四方相SnO<sub>2</sub>(JCPDS NO. 41-1445)一致。PNR/SnO<sub>2</sub>中,以上SnO<sub>2</sub>的特征XRD衍射峰均存在,且无其他新峰出现,表明PNR为非晶态。496.0 eV和487.5 eV处的两个XPS典型峰分别对应Sn(IV)的Sn 3d<sub>3/2</sub>和Sn 3d<sub>5/2</sub><sup>[27]</sup>; 531.8 eV和530.4 eV处的XPS拟合峰分别归因于SnO<sub>2</sub>表面上的化学吸附氧和SnO<sub>2</sub>的晶格氧(Sn-O)<sup>[28]</sup>; 398.5 eV、399.1 eV和400.1 eV处的XPS拟合峰分别对应于=N-、-NH-和-NH<sub>2</sub>。

各电极在含 2.0 mM K<sub>4</sub> [Fe (CN)<sub>6</sub>] 和 0.1 M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 的 0.1 M PBS (pH 7.00) 中的 EIS 如图 5A 所示。电荷转移电阻 ( $R_{ct}$ ) 排序为裸 FTO (0.128 k $\Omega$ ) < SnO<sub>2</sub>/FTO (2.41 k $\Omega$ ) < PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO (5.21 k $\Omega$ ) < PNR/FTO (6.72 k $\Omega$ )，缘于 PNR 薄膜的较低导电性、SnO<sub>2</sub> 的半导体导电性以及 PNR/SnO<sub>2</sub> 异质结对 PNR 导电性的改善。如图 5B 所示，在含 0.1 M AA 的 0.1 M PBS (pH 7.00) 中、0 V 偏压下，裸 FTO 几乎没有光电流，SnO<sub>2</sub>/FTO 电极和 PNR/FTO 电极的光电流分别为 0.25  $\mu$ A 和 1.48  $\mu$ A，而 PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO 的光电流则高达 16.2  $\mu$ A，表明 SnO<sub>2</sub> 和 PNR 之间形成了异质结从而显著提高了光生载流子的分离和转移效率。如图 5C 所示，在 10 次开关灯循环后，光电流衰减很小，表明 PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO 光电极具有良好的稳定性。

## 2.2 PEC 适体电极的构建与表征

在含 2.0 mM K<sub>4</sub> [Fe (CN)<sub>6</sub>] 和 0.1 M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 的 0.1 M PBS (pH 7.00) 中进行 EIS 测试，结果如图 5D 所示， $R_{ct}$  排序为 PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO (5.21 k $\Omega$ ) < GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO (11.2 k $\Omega$ ) < Apt/GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO (19.3 k $\Omega$ ) < MEA/Apt/GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO (25.3 k $\Omega$ ) < KAN/MEA/Apt/GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO (38.9 k $\Omega$ )。PEC 适体电极构建过程的光电流响应如图 5E 所示，排序如下：PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO (16.2  $\mu$ A) > GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO (12.4  $\mu$ A) > Apt/GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO (10.4  $\mu$ A) > MEA/Apt/GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO (9.49  $\mu$ A) > KAN/MEA/Apt/GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO (3.52  $\mu$ A)。当 KAN 被捕获之后，光电流明显下降。EIS 结果和光电流值的变化共同表明 PEC 适体电极的成功构建。

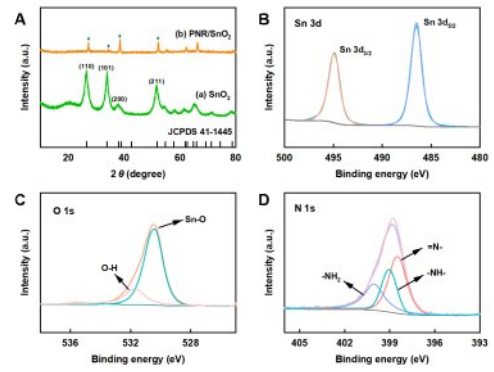


图 4 SnO<sub>2</sub> (a) 和 PNR/SnO<sub>2</sub> (b) 的 XRD 图 (A)。Sn 3d (B)、O 1s (C) 和 N 1s (D) 的高分辨 XPS 谱图。

Fig. 4 XRD patterns (A) of SnO<sub>2</sub> (a) and PNR/SnO<sub>2</sub> (b). High resolution XPS spectra of Sn 3d (B), O 1s (C), and N 1s (D).

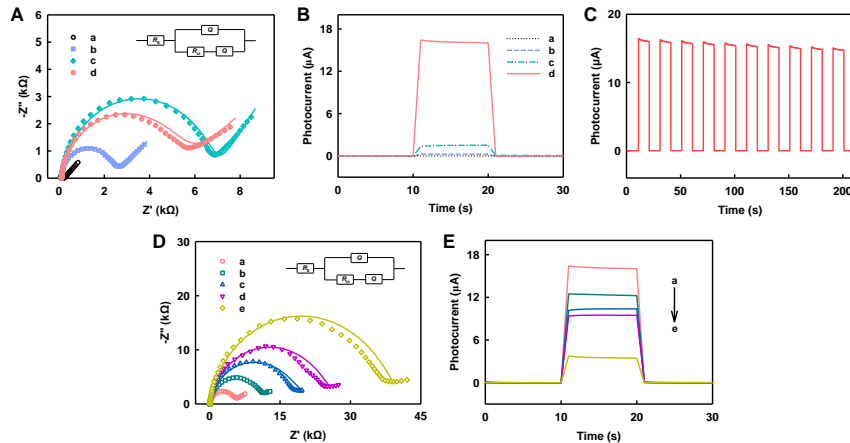


图 5 FTO (a)、SnO<sub>2</sub>/FTO (b)、PNR/FTO (c) 和 PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO (d) 的 EIS (A) 和光电流响应 (B)，PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO 光电流的稳定性 (C)，PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO (a)、GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO (b)、Apt/GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO (c)、MEA/Apt/GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO (d)、KAN/Apt/GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO (e) 电极的 EIS (D) 和光电流响应 (E)。KAN 浓度为 500 nM。EIS 实验：含 2.0 mM K<sub>4</sub> [Fe (CN)<sub>6</sub>] 和 0.1 M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 的 0.1 M PBS (pH 7.00)，100 kHz ~ 0.01 Hz，0.20 V，200 s 静止时间，符号：实验值；曲线：Randles 等效电路 (插图) 拟合结果。光电流实验：含 0.1 M AA 的 0.1 M PBS (pH 7.00)，0 V 偏压 vs SCE。

Fig. 5 EIS (A) and photocurrent response (B) of FTO (a), SnO<sub>2</sub>/FTO (b), PNR/FTO (c) and PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO (d), and stability of PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO photocurrent (C). EIS (D) and photocurrent (E) results of PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO (a), GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO (b), Apt/GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO (c), MEA/Apt/GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO (d), and KAN/Apt/GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO (e) electrodes. 500 nM KAN. EIS experiments: 0.1 M PBS (pH 7.00) containing 2.0 mM K<sub>4</sub> [Fe (CN)<sub>6</sub>] and 0.1 M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 100 kHz~0.01 Hz, 0.20 V (formal potential), 200 s quiet time (to achieve a 1:1 ratio of Fe (CN)<sub>6</sub><sup>3-4-</sup> concentrations near the electrode surface); circles: experimental; curves: fitted to Randles equivalent circuit (inset). Photocurrent experiments: 0.1 M PBS (pH 7.00) containing 0.1 M AA, 0 V vs SCE.

如图6所示, SnO<sub>2</sub>的吸收边为358 nm, 与文献吻合<sup>[29]</sup>。与单一材料相比, 形成PNR/SnO<sub>2</sub>异质结后, 吸收带明显红移。根据方程 $\alpha h\nu = A (h\nu - E_g)^n$ 可推算半导体材料的带隙 ( $E_g$ ), 式中 $\alpha$ 为吸收系数,  $\nu$ 为入射光子频率 ( $s^{-1}$ ),  $E_g$ 为吸收带隙 (eV),  $h$ 为普朗克常数 ( $6.63 \times 10^{-34}$  J s),  $A$ 为常数, 参数 $n$ 代表不同类型的电子跃迁。SnO<sub>2</sub>为直接带隙半导体, 利用 $(\alpha h\nu)^2$ 对 $h\nu$ 作图, 可推算出其带隙为3.65 eV, 与文献值一致<sup>[30]</sup>。而PNR的带隙宽为2.08 eV。通过M-S测试可得SnO<sub>2</sub>与PNR曲线斜率为正, 均表现为n型半导体, 则二者的平带电势 ( $E_f$ ) 相当于SnO<sub>2</sub>的导带 ( $E_{CB}$ ) 或PNR的最低能级占据轨道 ( $E_{LUMO}$ ) 位置, 故SnO<sub>2</sub>的 $E_{CB}$ 为-0.46 V (vs SCE), PNR的 $E_{LUMO}$ 为-0.61 V (vs SCE)。根据 $E_{RHE} = E_{SCE} + 0.05916 \text{ pH} + 0.241$ 换算, 得SnO<sub>2</sub>和PNR的 $E_{CB}$ 和 $E_{LUMO}$ 分别为0.20 V (vs RHE) 和0.05 V (vs RHE), 根据 $E_g = E_{VB} - E_{CB}$ , SnO<sub>2</sub>和PNR的 $E_{VB}$ 和 $E_{HOMO}$ 分别为3.85 V (vs RHE) 和2.13 V (vs RHE), 与文献值基本吻合<sup>[22]</sup>。

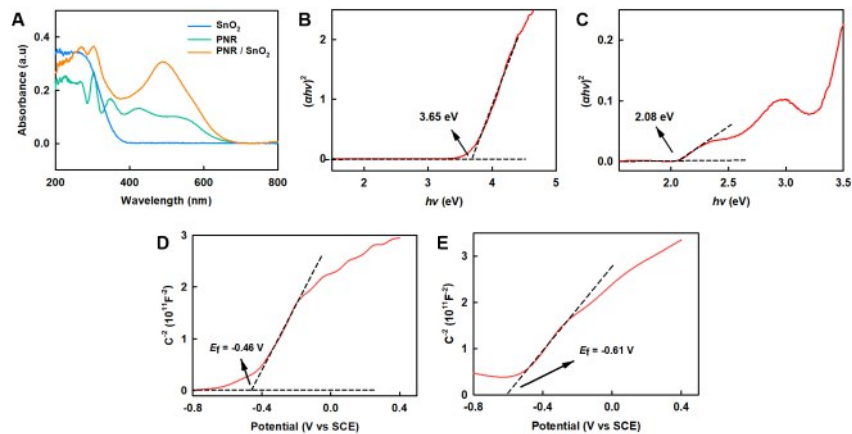


图6 SnO<sub>2</sub>、PNR和PNR/SnO<sub>2</sub>的UV-vis DRS (A)。SnO<sub>2</sub> (B、D)和PNR (C、E)的Tauc plots和M-S plots。Mott-Schottky实验: 0.2 M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>溶液, 1000 Hz。

Fig. 6 UV-Vis DRS (A). Tauc plots of SnO<sub>2</sub> (A) and PNR (B). M-S plots of SnO<sub>2</sub> (C) and PNR (D). Mott Schottky experiment: 0.2 M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solution at 1000 Hz.

基于上述能带结构数据, 提出了可能的电荷转移机制。如图7所示, 首先光活性材料SnO<sub>2</sub>和PNR在可见光激发下产生光生电荷的分离, 光生 $e^-$ 从具有更负LUMO的PNR转移到SnO<sub>2</sub>的CB, 然后转移到FTO基底电极上输出阳极光电流, 而光生 $h^+$ 从具有更正VB的SnO<sub>2</sub>转移到PNR的HOMO, 随后与电解质溶液中的空穴清除剂AA反应而被中和。进一步修饰交联剂GLD、Apt和非特异性位点封闭剂MEA之后, 光电流会降低。当适体特异性捕获KAN之后, 空间位阻增大, 因而AA到达电极表面的阻力增大, 难以及时与光生 $h^+$ 反应, 造成光电流的显著降低。因此, 该信号衰减型PEC适体传感器在原理上是可行的。

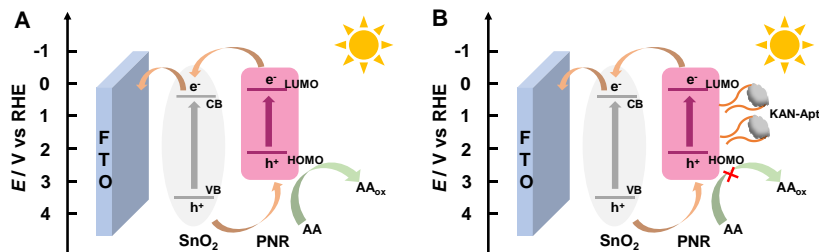


图7 PEC适体传感的可能电荷转移路径 (A) 和检测原理 (B)。

Fig. 7 Possible charge transfer pathway (A) and PEC-analysis principle (B).

### 2.3 PEC适体传感的分析性能

为了获得最佳的光电流响应, 优化了每毫升分散液中SnO<sub>2</sub>的质量、PNR的聚合圈数及聚合条件、AA浓度 ( $c_{AA}$ )、偏压、Apt的浓度 ( $c_{Apt}$ ) 和KAN捕获时间 ( $t_{KAN}$ )。如图8所示, SnO<sub>2</sub>为2 mg mL<sup>-1</sup>, PNR的聚合3圈时, 光电流响应最大。AA浓度在0.1 M时光电流最大。施加0 V偏压时, 光电流信号大且

背景电流较低。Apt 浓度为 2  $\mu\text{M}$  时，光电流已基本达到最小值。光电流随着 KAN 与 Apt 孵育时间的增加而降低，70 min 孵育时间后光电流趋于稳定。因此，优化后的实验最佳条件为： $m_{\text{SnO}_2} = 2.0 \text{ mg mL}^{-1}$ ， $c_{\text{AA}} = 0.1 \text{ M}$ ，偏压为 0 V vs SCE， $c_{\text{Apt}} = 2 \mu\text{M}$ ， $t_{\text{KAN}} = 70 \text{ min}$ 。另外，我们也尝试了额外用壳聚糖的氨基来固定 Apt，发现 PNR 的氨基已足够用于固定 Apt，且额外使用壳聚糖会因其绝缘性而降低光电流响应（图略），表明可直接连接生物分子的光电活性材料是更有效的 PEC 生物传感材料。

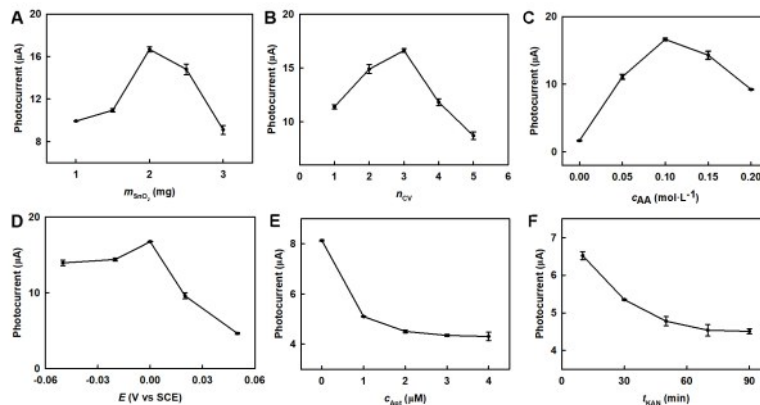


图 8 SnO<sub>2</sub> 的添加量优化 (A)、PNR 聚合圈数的优化 (B)、AA 浓度的优化 (C)、偏压的优化 (D)、Apt 浓度的优化 (E) 和 KAN 孵育时间 (F) 的优化。

Fig. 8 Optimization of SnO<sub>2</sub> dosage (A), number of CV cycles for NR electropolymerization (B), AA concentration (C), bias (D), Apt concentration (E), and KAN incubation time (F).

在最优 PEC 分析条件下，适体电极的光电流随 KAN 浓度的增大而减小。如图 9A 和 B 所示，光电流与 0.01 nM ~ 750 nM 范围的 KAN 浓度的常用对数值呈线性关系，线性回归方程为  $\Delta I = -0.992 \lg c_{\text{KAN}} + 6.53$  ( $R^2 = 0.997$ )，LOD 为 3 pM ( $S/N = 3$ )。R<sup>2</sup> 为通过最小二乘法进行线性拟合所得的线性相关系数的平方，平行实验次数  $n = 3$ 。如图 9C 所示，同时制备 5 根平行传感电极，同一条件下对 50 nM KAN 进行检测，相对标准偏差 (RSD) 为 2.3%，表明传感电极具有良好的重现性。与 KAN ( $c_{\text{KAN}} = 50 \text{ nM}$ ) 的光电流响应相比，100 nM 的 OFL、LIN、ENR 和 OTC 的光电流响应明显更小，表明该传感电极的选择性较好。在最优条件下检测 50 nM 的 KAN，光电流经 20 个开关灯循环后衰减很小，表明 PEC 传感电极具有良好的稳定性。如表 1 所列，与已报道的 KAN 检测方法相比，本文基于 PNR/SnO<sub>2</sub> 异质结的 PEC 适体传感方法具有较宽的线性范围和较低的下限。

将市售常温牛奶在 10000 rpm 下离心 10 min，静置 10 min 以除去上层脂肪，然后用 0.45  $\mu\text{M}$  超滤膜过滤三次，以分离牛奶中可能的脂肪球、蛋白质胶束和其他颗粒。取 0.2 mL 预处理后的牛奶样品用 0.1 M PBS 稀释，并加标制备 KAN 浓度各为 10、50 或 500 nM 的 1 mL 试液。在优化的实验条件下进行 PEC 测试，结果如表 2。实验的回收率 (94.6%~102%) 和 RSD (2.4%~6.2%) 均可接受，表明该 PEC 方法具有检测实际样品中 KAN 含量的应用潜力。

### 3 结 论

本文聚焦有机染料对无机半导体的敏化效应和异质结效应，以 PNR/SnO<sub>2</sub> II 型异质结作为基底光阳极材料，有效促进了光生载流子分离并提升了光电流响应。利用 PNR 自身的氨基官能团，通过戊二醛交联作用固定氨基修饰的 KAN 适体，以实现生物识别元件的原位固定、简化电极制备流程并显著提高传感灵敏度，制备了一种检测 KAN 的高性能 PEC 适体传感器。基于适体与 KAN 亲和所致构象变化而增大空间位阻、引起阳极光电流显著降低的原理，实现了 KAN 的高敏 PEC 检测。在最优的实验条件下，PEC 适体传感电极的光电流下降值与 0.01 nM ~ 750 nM 范围的 KAN 浓度的常用对数值呈线性关系，LOD 为 3 pM，具有良好的重现性、稳定性、选择性和检测实际样品中 KAN 的潜力。通过电聚合法可便利实现半导体的聚合物染料敏化和生物分子固定，对促进 PEC 分析领域的发展具有一定的参考价值。

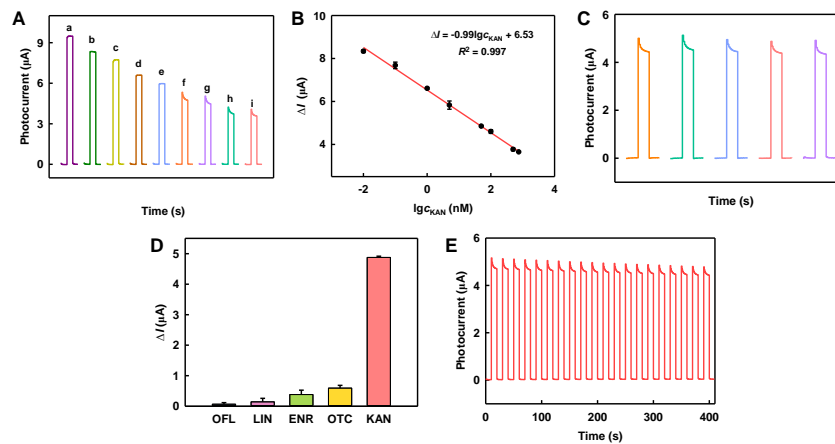


图9 不同浓度KAN (a~i: 0 nM、0.01 nM、0.1 nM、1 nM、5 nM、50 nM、100 nM、500 nM、750 nM) 的光电流响应 (A) 和相应的校准曲线 (B),  $n = 3$ ,  $\Delta I = I_{\text{ON}} - I_{\text{OFF}}$ , 其中  $I_{\text{ON}}$  是KAN/MEA/Apt/GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO电极的光电流,  $I_{\text{OFF}}$  是KAN/MEA/Apt/GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO电极的暗电流。PEC适配传感电极检测50 nM KAN的重现性 (C)、选择性 (D) 和稳定性 (E), 所有干扰物浓度均为100 nM,  $\Delta I = I_0 - I$ , 其中  $I_0$  是MEA/Apt/GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO电极的光电流,  $I$  是与KAN孵育过后的最终光电流。

Fig. 9 Photocurrent response (A) of KAN at different concentrations (a~i: 0 nM, 0.01 nM, 0.1 nM, 1 nM, 5 nM, 50 nM, 100 nM, 500 nM, 750 nM) and corresponding calibration curve (B,  $n=3$ ).  $\Delta I = I_{\text{ON}} - I_{\text{OFF}}$ , where  $I_{\text{ON}}$  is the photocurrent of the KAN/MEA/Apt/GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO electrode,  $I_{\text{OFF}}$  is the dark current of the KAN/MEA/Apt/GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO photoelectrode. The reproducibility (C), selectivity (D) and stability (E) of 50 nM KAN detected by the PEC aptasensing electrode. The concentrations of all potential interferences are 100 nM, and  $\Delta I = I_0 - I$ , where  $I_0$  is the photocurrent of MEA/Apt/GLD/PNR/SnO<sub>2</sub>/FTO electrode,  $I$  is the photocurrent of the final photoelectrode after incubation with KAN.

表1 KAN传感器的性能比较

Table 1 Performance comparison of KAN sensors

Technique	Linear range (nM)	LOD (nM)	Reference
FL	40 ~ 350	0.3	[31]
CL	1 ~ 100	1.49	[32]
EC	50 ~ 1000	6.04	[33]
PEC	1 ~ 1000	0.127	[34]
PEC	0.5 ~ 650	0.1	[1]
PEC	0.01 ~ 750	0.003	This work

\* FL: Fluorescence; CL: Chemiluminescence; EC: Electrochemistry.

表2 牛奶样品中KAN的标准加入法检测 ( $n = 3$ )

Table 2 Determination of KAN in milk samples by standard addition method ( $n = 3$ )

Sample No.	Added (nM)	Found (nM)	RSD (%)	Recovery (%)
1	0.00	Not detected	—	—
2	10.0	10.2	2.4	102
3	50.0	49.8	6.2	99.6
4	500	473	2.6	94.6

#### 参考文献:

- [1] Wang Y, Jin D B, Zhang X Q, Zhao J K, Hun X. *Microchim. Acta*, **2022**, 189 (5): 193.
- [2] Wang C K, Chen D, Wang Q Q, Tan R. *Biosens. Bioelectron.*, **2017**, 91: 262–267.
- [3] Takahashi Y, Igarashi M. *J. Antibiot.*, **2018**, 71 (1): 4–14.
- [4] Rutenburg A M, Koota G M, Schweinburg F B. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1958**, 76 (2): 348–362.
- [5] Jiang Y F, Sun D W, Pu H B, Wei Q Y. *J. Food Meas. Charact.*, **2020**, 14 (6): 3184–3193.
- [6] Cui W L, Liu J R, Zhao W Q, Zhang J Y, Wang Y Y, Li Q, Wang R, Qiao M, Xu S C. *J. Food Compos. Anal.*, **2023**, 120: 105300.
- [7] Lehotay S J, Lightfield A R. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2018**, 410 (3): 1095–1109.
- [8] Zhang X P, Wang J J, Wu Q H, Li L, Wang Y, Yang H L. *Molecules*, **2019**, 24 (10): 1902.
- [9] Dijkstra J A, Voerman A J, Greijdanus B, Touw D J, Alffenaar J W C. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2016**, 60 (8): 4646–4651.
- [10] Wei D L, Meng H, Zeng K, Huang Z. *Anal. Methods*, **2019**, 11 (1): 70–77.
- [11] Cheng S T, Xu R, Yang F Z, Huang J C, Sun X, Huang X, Li H, Li F L, Guo Y M, Hasanzadeh M, Zhu Y

- L. *Bioelectrochem.*, **2022**, 147: 108174.
- [12] Zhang X Y, Du Y, Liu X J, Feng R, Jia Y, Ren X, Zhang N, Liu L, Wei Q, Ju H X. *Food Chem.*, **2023**, 420: 136083.
- [13] Wang X M, Chen C, Waterhouse G I N, Qiao X G, Xu Z X, *Food Chem.*, **2021**, 362: 130261.
- [14] Yao Y, Hu T, Chai Y Q, Ju J H, Zhang J H, Shen W, Shi H W, Liu C, Huang C, Tang S. *Sens. Actuators B: Chem.*, **2022**, 366: 131993.
- [15] Chen L, Tong J B, Yang M H. *Mater. Lett.*, **2021**, 305: 130798.
- [16] Yang X Y, Zhang M J, Chen Z X, Bu Y W, Gao X, Sui Y K, Yu Y Q. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2021**, 13 (14): 16828–16836.
- [17] Tekalgne M A, Hasani A, Heo D Y, Le Q V, Nguyen T P, Lee T H, Ahn S H, Jang H W, Kim S Y. *J. Phys. Chem. C*, **2020**, 124 (1): 647–652.
- [18] Fan D W, Liu X, Shao X S, Zhang Y, Zhang N, Wang X Y, Wei Q, Ju H X. *Microchim. Acta*, **2020**, 187 (6): 332.
- [19] Pauliukaite R, Brett C M A. *Electroanalysis*, **2008**, 20 (12): 1275–1285.
- [20] Xiao G, Li J Z, Zhao B X, Yue Z. *Chemosensors*, **2025**, 13 (9): 344.
- [21] Liu Q, Zhang H, Jiang H H, Yang P L, Luo L J, Niu Q J, You T Y. *Biosens. Bioelectron.*, **2022**, 216: 114634.
- [22] Wen X J, Niu C G, Zhang L, Zeng G M. *ACS Sustain. Chem. Eng.*, **2017**, 5 (6): 5134–5147.
- [23] Gonçalves A R, Ghica M E, Brett C M A. *Electrochim. Acta*, **2011**, 56 (10): 3685–3692.
- [24] Barsan M M, Pinto E M, Brett C M A. *Electrochim. Acta*, **2008**, 53 (11): 3973–3982.
- [25] Yang C M, Yi J L, Tang X J, Zhou G Z, Zeng Y. *React. Funct. Polym.*, **2006**, 66 (11): 1336–1341.
- [26] Benito D, García-Jareño J J, Navarro-Laboulais J, Vicente F. *J. Electroanal. Chem.*, **1998**, 446 (1–2): 47–55.
- [27] Yang H M, Nan C, Gao N, Zhou W J, Gao F F, Dong D, Dou D Y, Liu Y J, Liang Z H, Yang D H. *Electrochim. Acta*, **2022**, 430: 141086.
- [28] Qiao X Q, Zhang Z W, Hou D F, Li D S, Liu Y L, Lan Y Q, Zhang J, Feng P Y, Bu X H. *ACS Sustain. Chem. Eng.*, **2018**, 6 (9): 12375–12384.
- [29] Hu W G, Quang N D, Majumder S, Jeong M J, Park J H, Cho Y J, Kim S B, Lee K B, Kim D J, Chang H S. *Appl. Surf. Sci.*, **2021**, 560: 149904.
- [30] Ratnayake S P, Ren J W, Murdoch B J, Embden J V, Gómez D E, Mcconville C F, Gaspera E D. *ACS Appl. Energy Mater.*, **2022**, 5 (9): 10359–10365.
- [31] Chen J, Li Z H, Ge J, Yang R, Zhang L, Qu L B, Wang H Q, Zhang L. *Talanta*, **2015**, 139: 226–232.
- [32] Sharma T K, Ramanathan R, Weerathunge P, Mohammadtaheri M, Daima H K, Shukla R, Bansal V. *Chem. Commun.*, **2014**, 50 (100): 15856–15859.
- [33] Gao X L, Sun Z C, Wang X Y, Zhang W Q, Wang Y, Han J, Sun X, Guo Y M, Li F L, Xu S C. *Sens. Actuators B: Chem.*, **2022**, 373: 132706.
- [34] Dong W X, Li Z P, Wen W, Feng S S, Zhang Y J, Wen G M. *RSC Adv.*, **2021**, 11 (45): 28320–28325.

(责任编辑:)