

引用格式: WANG Xuewen, XU Zhengyan, WANG Kaige, et al. Research Progress of Biosensors Based on Nano-zinc Oxide (Invited)[J]. Acta Photonica Sinica, 2022, 51(10):1016001

王雪文,徐峥妍,王凯歌,等.基于纳米氧化锌的生物传感器研究进展(特邀)[J].光子学报,2022,51(10):1016001

基于纳米氧化锌的生物传感器研究进展(特邀)

王雪文¹,徐峥妍^{1,2},王凯歌²,张志勇¹,赵武¹

(1 西北大学 信息科学与技术学院,西安 710127)

(2 西北大学 物理学院,西安 710127)

摘要:随着生物传感器应用的日益广泛,对新型生物传感器的开发已成为世界科技发展的重要战略。作为直接宽禁带半导体的氧化锌(ZnO),因具有无毒性、生物相容性良好、物理化学性能稳定等优异性能而被应用于电子器件、光电子器件、生物传感器等领域,尤其基于纳米 ZnO 的生物传感器研究已成为防疫和医疗领域的一个新热点。本文介绍了目前纳米 ZnO 的几种主要制备方法(包括水热法、磁控溅射法、溶胶凝胶法和原子层沉积法等)及其优缺点,对比分析了所制备 ZnO 的优异性能尤其增强性能的方法(如优化工艺、掺杂、复合、异质结等)。着重阐述了纳米 ZnO 材料在生物传感器领域的应用,根据其信号处理元件的工作原理不同,将 ZnO 纳米材料所制备的生物传感器分为电化学生物传感器、光学生物传感器、压电生物传感器、热学生物传感器等,分别详细介绍了其结构、工作原理及其对生物检测的突出性能与发展现状。最后,对纳米 ZnO 生物传感器目前所面临的挑战和未来的发展趋势进行了总结和展望。

关键词:氧化锌;生物传感器;纳米材料;光学传感器;电化学传感器

中图分类号: TP212.3

文献标识码: A

doi:10.3788/gzxb20225110.1016001

0 引言

纳米技术与多学科的交叉融合,被认为是 21 世纪许多新兴技术的源泉,它正引领和发展医药领域,并使药物的性能得以提升;因它与生物结合具有提高生物利用度、增加药物靶向性及其环境响应特性、控制有效成分的释放特性以降低药物毒性等优势而在药物研究和临床治疗等生物医学方面呈现出巨大的应用前景^[1]。常规的生物检测原理与传感技术结合已形成了新型生物学检测技术如生物传感器和生物芯片等,将生物学信息感应部件紧密连接或整合到传感系统内,可以实现对很多生物的特异、敏感检测,且具有快速、便携以及操作简便等优点,如酶传感器、免疫(抗原或抗体)传感器、组织传感器、分子印迹传感器等,被应用到医疗诊断、食品工业、畜牧兽医、环境监测、发酵工程等多个领域^[2]。进而将纳米技术与生物技术交叉渗透形成了纳米生物技术^[3],开发出了纳米生物传感器,相比于传统生物传感器,因纳米材料具有增强的电子转移动力学和强大的吸附能力等特点,为生物电极提供更高的稳定性,为更高的生物分子负载提供高表面积比,并为包括酶、抗体、微生物、DNA 和其他多种蛋白质等生物分子固定提供合适的微环境,因此,纳米材料不仅可以大大提高传感器的检测灵敏度,也给单分子活性的分析提供了纳米特性理论依据。纳米与生物结合还可以提高临床疗效和改良生物品种,用于微生物检测、体液代谢物监测以及组织病变如肿瘤的早期发现等方面。

金属氧化物纳米材料具有高的活性、小尺寸效应、从无结构的宽吸收转变为特征结构吸收即颜色转变、

基金项目:国家自然科学基金项目(Nos.61378083, 61405159, 62275216),陕西省创新能力支撑计划项目(Nos.2018TD-018, TZ0393)

第一作者(通讯作者):王雪文(1964—),女,教授,博士,主要研究方向为敏感材料与器件、纳米材料与器件、功能材料与器件。Email: wangxuewen@nwu.edu.cn

通讯作者:王凯歌(1970—),男,教授,博士,主要研究方向为纳米科学与技术、纳米生物光子学、物理电子学。Email: wangkg@nwu.edu.cn

收稿日期:2022-07-19; **录用日期:**2022-09-20

<http://www.photon.ac.cn>

从铁磁性向顺磁性转变等特性,其纳米颗粒分散在空气、水、固体、有机物等异质介质中会导致体系产生折射边界即介电限域效应,所以,它们在催化、探测、能源、电极材料、场效应晶体管、自驱动纳米器件等领域中都表现出广泛的应用^[4]。在各种金属氧化物中,氧化锌(Zinc Oxide, ZnO)是一种直接的、宽禁带金属氧化物半导体材料($E_g = 3.37$ eV)。与其他金属氧化物相比,ZnO纳米结构具有无毒性、稳定性高、电化学性能好、生产成本较低、生物相容性良好、结构形貌丰富等优点而备受关注,并且可以利用ZnO的等电位点较高(IEP=9.5)特点,通过静电吸附相互作用结合固定蛋白质等低等电位点的生物分子^[5]。加之,ZnO材料具有很强的紫外线吸收特性^[6]即优异的紫外线阻隔性能,添加纳米ZnO的成品织物表现出抗紫外线、抗菌和除臭剂等功能^[7];ZnO材料对一氧化碳、乙醇、氢气、二氧化氮和其他气体敏感,当ZnO吸附还原性气体时电阻率随着气体浓度的增加而降低,相反,当氧化性气体被吸附时电阻率随着气体浓度的增加而增加,已有添加催化剂的ZnO酒精、氟利昂气体传感器等产品;ZnO材料的光催化性能可用于环境保护领域,其浪涌特性的避雷器已用于电子和通信工业领域。ZnO的这些特性、功能和相应电子器件的应用都属于人类生物活动检测、监测和防护,已成为化学、物理、生物等多个学科及其交叉学科研究的热点^[8]。近年来,ZnO在生物传感器的应用研究方面逐年深入。如2006年LI Yinfeng等研制了一种基于ZnO纳米颗粒固定化酪氨酸酶的无介质苯酚生物传感器,通过静电作用将低等电点酪氨酸酶吸附在高等电点ZnO纳米颗粒表面,然后将壳聚糖成膜固定在玻碳电极上^[9];2009年CHEN Xi等研究了二氧化硅(SiO_2)缓冲层ZnO基勒夫波(Love)波生物传感器的温度稳定性^[10];2013年ZHAO M等发现了三元金属氧化物 ZnFe_2O_4 纳米颗粒的类过氧化氢酶作用,利用 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4/\text{ZnO}$ 异质结对双氧水实时、快速、便捷的传感检测^[11];2020年BAGYALAKSHMI S等将葡萄糖氧化酶固定在壳聚糖膜上制备ZnO纳米棒型酶促葡萄糖生物传感器,其氢离子浓度指数(Hydrogen Ion Concentration: pH)电极是广泛应用于血糖仪中的电化学传感器,采用电化学吸附法研究了垂直生长的ZnO纳米棒与壳聚糖结合对葡萄糖的传感^[12];2022年EVENESS J等开发了一种独特的共面电极PET-ZnO生物传感器平台的等效电路模型,这种非法拉第ZnO生物传感器在电极和活性ZnO传感器表面之间有一个热塑性聚酯(Polyethylene Terephthalate: PET)绝缘层,并用阻抗谱测量不同浓度的c-反应蛋白(CRP)^[13];2022年KIRAN G设计了基于 MgZnO/ZnO 金属氧化物半导体高电子迁移率晶体管(Metal Oxide Semiconductor High Electron Mobility Transistor, MOS HEMT)的一种纳米间隙空腔生物传感器,用于检测各种生物分子,如尿酸酶、链霉亲和素、ChOx和蛋白质^[14];2022年SHARIATI M等研发了钼掺杂ZnO纳米线场效应晶体管生物传感器,用于乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸(Deoxyribonucleic Acid, DNA)的临床诊断与聚合酶链式反应(Polymerase Chain Reaction, PCR)检测^[15]。可见,多种形貌的ZnO纳米材料已经被广泛用于构建多种新型的生物传感器,而且已经有基于ZnO的多种结构和原理的生物传感器。本文将主要介绍纳米ZnO的几种合成方法以及相关生物传感器的结构、原理和应用案例。

1 纳米 ZnO 的合成方法

ZnO纳米材料因其丰富的形状、结构和大小而具有优异的特性。零维ZnO纳米材料即量子点具有明显的量子限制效应,随着粒径的减小,能隙会增大^[16],有利于光生载流子的产生和扩散,因此,适用于光催化材料和短波长光电子器件。一维(One-dimensional: 1-D)ZnO纳米结构包括棒、管、带、环、针等形状,二维(Two-dimensional: 2-D)的有纳米板、纳米片等结构,三维(Three-dimensional, 3-D)的有花状、雪花、海胆和蒲公英(树枝状)颗粒等结构。典型形态纳米ZnO的扫描电子显微形貌如图1^[17],其中1-D ZnO纳米材料具有高的长径比、高的热传导率和高机械强度等特点;其高的长径比使得1-D ZnO的压电效应更加明显,适用于压力传感器;二维ZnO纳米材料通常优先沿c轴定向,比较适用于高频声表面波(Surface Acoustic Wave, SAW)器件;而三维ZnO纳米材料通常具有立体结构和高的表面积比,这有助于提高其表面活性,使其对

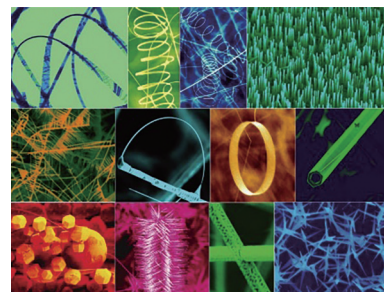


图1 不同形态ZnO纳米结构的SEM图^[17]
Fig. 1 SEM images of ZnO nanostructures with different morphologies^[17]

生物分子更敏感,因此,非常适合制备生物传感器。

就不同结构的纳米 ZnO 材料而言,ZnO 的合成工艺技术起着决定性作用,近年来已报道了大量不同的稳定 ZnO 纳米材料的合成技术如溶胶-凝胶法、水热法、磁控溅射法、原子层沉积等,其中最简单的水热法若使用的不同参数(如原料成分和比例或前驱体浓度、生长温度、催化剂和时间等),就会影响纳米 ZnO 材料结构和性能。接下来将阐述纳米 ZnO 的几种合成技术、不同工艺参数及其所合成 ZnO 的不同形貌和性能表征范例。

1.1 水热法

水热法是指将前驱体反应物溶解成溶液后放入密封的压力容器中,其溶液中的物质经过高温高压环境的反应后合成、结晶生长以制备出纳米材料的方法。相比于其他纳米材料制备技术,水热法因其设备简单并易操作、低成本、环保,并且所制备的样品纯度高、掺杂和生长均匀等优点而成为制备 1-D 和 2-D ZnO 纳米材料最常用的方法之一。

VAYSSIERES L 等^[18]在 2001 年使用水热法在导电玻璃上制备出高取向的 ZnO 三维阵列微管,其制备流程为:将放有六亚甲基四胺和硝酸锌($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)的等摩尔水溶液和导电玻璃片的反应釜放入实验室烤箱中以 95°C 的恒定温度加热数小时,随后将玻璃片上的薄膜用超纯水彻底清洗以去除残留盐或氨基络合物中的杂质,并在相似温度的空气中干燥制备出了阵列微管。2003 年他们在水溶液中生长出 ZnO 阵列纳米棒和纳米线^[19],其纳米棒以垂直方式定向、均匀地排列在基板上,且尺寸较大,其俯视图和侧视图如图 2。GREENE L E 等^[20]于 2003 年利用种子层沉积和纳米棒生长的两步水热法流程,在任意尺寸的任意衬底上合成生长出了高表面积 of ZnO 纳米线阵列,发现使用小的、均匀的 ZnO 纳米晶体作为种子层有助于生产直径相对较小的纳米线。MANVI T 等^[21]于 2014 年在铂(Pt)包覆硅衬底上先制备 ZnO 纳米籽晶层,再采用水热法合成出花状形貌 ZnO 纳米结构,并研究了此结构与单链硫代 DNA 探针的相互作用,发现其可为 DNA 分子的固定化提供一个有用的平台。

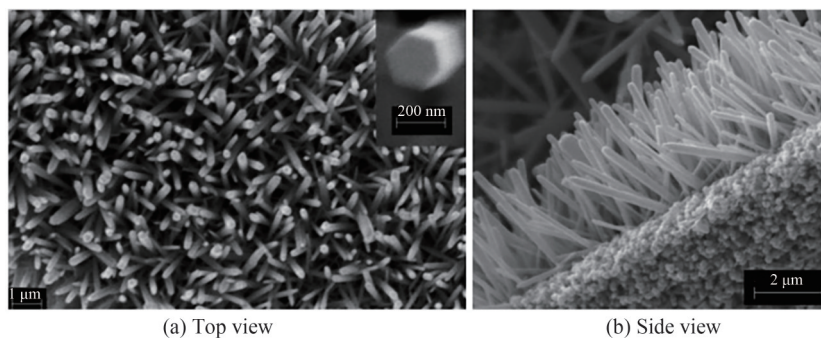


图 2 水热法制备的纳米棒^[19]

Fig. 2 Nanorods prepared by hydrothermal method^[19]

本课题组的李林等早在 2009 年就用水浴法即常压水热法,利用在硅片上先制备出的 ZnO 纳米薄膜作为晶种层,并将硝酸锌和六次甲基四胺(HTM)的水溶液在水浴中加热到 90°C 在不同的衬底上制得 ZnO 纳米棒^[22],并发现其具有良好的场发射性能,以及操作方便,设备简单,工艺成本低等优势。课题组闫军锋等在 2012 年采用水热法制备了不同浓度锑(Antimony:Sb)掺杂 3-D 菊花状 ZnO 纳米线团簇(如图 3)^[23],发现所制备的六方纤锌矿结构的 Sb 掺杂 ZnO 都具有均匀的三维菊花状结构,其长细比不同、花蕾饱和度明显不同,掺杂 Sb 的 ZnO 有良好的介电损耗特性,且随掺杂浓度的增加而增大。课题组张志勇等^[24]于 2018 年用简单的两步水热法成功合成了新型刷状(B-) $\text{SnO}_2 @ \text{ZnO}$ 分级纳米结构(HNS),开发的二氧化氮(NO_2)气体传感器性能优异,包括选择性好、超灵敏、响应快、检测范围广和检测限低,且其 HNS 独特结构是出色传感性能的主要因素,也证明了一维材料的异质组合用于优异传感应用的可能性。

水热法优点众多,可以通过控制工艺参数(合适的反应温度、反应时间等)条件、流程(两步、异质)来控制所制备纳米 ZnO 的形貌、尺寸,尤其是原料掺杂对纳米结构的形成及形貌有显著影响,可以影响其形貌或抑制纳米结构的形成,从而改善其所需性能^[25]。现代表征技术表明采用不同的生长条件所制备出不同形状的 ZnO 纳米晶体的表面表现出不同晶面,用发射的可见光来分析晶体结构和生长机理发现存在一些局限

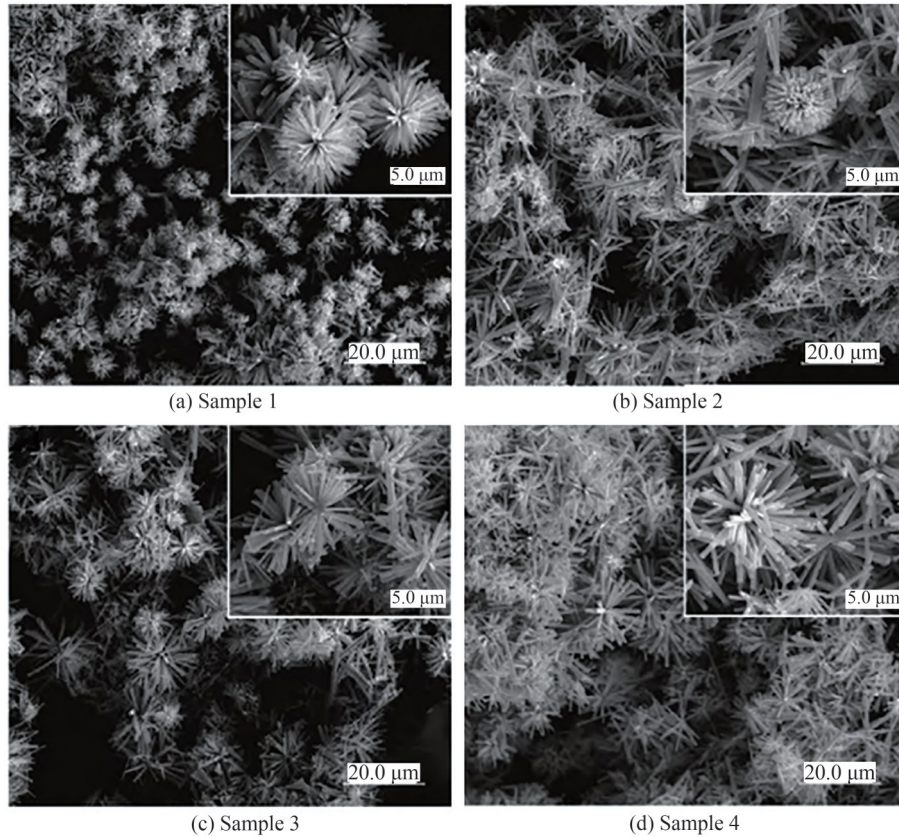


图3 不同掺杂浓度 ZnO 样品的 SEM 照片^[23]
Fig. 3 SEM images of ZnO samples with different doping concentrations^[23]

性, 锌的表面倾向于掺入杂质阳离子、氧的表面倾向于产生非辐射的深能级, 即合成材料中的晶体缺陷也是不可避免的^[26], 应用时需要采用某些方式来改进, 如纳米金修饰单个 ZnO 微棒可以增强光电性能, 修饰的 Au/ZnO 纳米材料在未来纳米光电器件和生物传感方面才有良好的应用前景^[27]。

1.2 磁控溅射法

用磁控溅射法制备纳米 ZnO 薄膜具有沉积速率高、衬底温度低、工艺易于控制等优点, 成为目前 ZnO 纳米材料制备最广泛的方法之一。2005 年 WANG W W 等^[28]通过直流反应磁控溅射将高性能铝掺杂氧化锌 (ZnO:Al) 薄膜沉积在玻璃衬底上, 其工作原理为: 让入射电子在电场作用下加速并与气体分子发生碰撞, 分子电离为离子在电场作用下也被加速且以高能量轰击 Zn:Al 靶表面, 靶材被溅射出 Zn 或 Al 原子沉积在衬底表面并与氧合成为 ZnO:Al 薄膜, 所制备薄膜的形貌、厚度和性能可以通过调节溅射功率、沉积时间和衬底温度来控制; 与相同条件下制备的纯 ZnO 薄膜相比, ZnO:Al 薄膜在 ZnO 被 Al 掺杂过程中 Zn²⁺ 替换为 Al³⁺ 改善了其结晶度, 且沉积在衬底上的溅射颗粒的能量随着溅射功率的增加而增加, 因此提高了薄膜层的密度和沉积薄膜与基板之间的附着力。2007 年 CHOOPUN S 等^[29]用射频溅射法制备出了 ZnO 纳米带, 并将其用于乙醇传感器的研究, 发现该传感器的灵敏度和响应时间与乙醇浓度和操作温度有关, 且最佳操作温度为 220°C。2015 年 GHORANNEVIS Z^[30]通过直流磁控溅射在有透明导电薄膜的玻璃衬底上制备出铝掺杂 ZnO (Al/ZnO) 薄膜, 研究了基底温度对 Al/ZnO 薄膜结构、形貌和光学性能的影响, 发现衬底温度升高会导致薄膜表面的晶粒尺寸增加, 并且光学带隙能量也因为薄膜的平均厚度增加而随着衬底温度增加。2020 年 SIVASAKTHI P 等^[31]在石墨片 (Graphite sheet, GS) 上采用射频 (Radio Frequency, RF) 磁控溅射法制备了纳米 ZnO 薄膜, 发现随着衬底温度升高薄膜的晶粒尺寸、结晶度和电化学活性表面积也会提高; 与其他温度下溅射的薄膜相比, 400°C 下所制备的 ZnO/GS 薄膜电极, 用于检测溶解的有机持久性多酚污染物 (Persistent Organic Phenolic Pollutants, POPP), 具有高灵敏度、稳定性、再现性和可重复性。2021 年 CORREA M A 团队^[32]用掠射角沉积 (Glancing Angle Deposition, GLAD) 优化磁控溅射技术制备出纯 ZnO

和非磁性金属掺杂 ZnO:Ag 薄膜,并探究了其室温磁性(Room-temperature Ferromagnetism, RTFM),发现 GLAD 技术能够控制柱状生长的倾斜度,生产出具有之字形几何形状的薄膜;且随着 Ag 浓度的增加,尽管之字形结构保持不变,但优先生长方向上具有显著的改变,掺杂 ZnO 薄膜的磁化变化是 Zn 空位及其被 Ag 原子取代的结果;因其材料的铁磁特性可以在测量过程中利用外部磁场对传感器元件进行多功能化,为 ZnO 薄膜组成多功能系统以及在生物传感器方面的应用提供了巨大潜力。2022 年 SEOKWON L 等^[33]用 RF 磁控溅射在 P 型硅(100)晶片上沉积铜(Cu)层后生长合成了四英寸(1 英寸=2.54 cm)ZnO 纳米结构,提高了其作为锂离子电池负极材料的电化学性能;在沉积过程中使用氢(H₂)对 ZnO 薄膜进行还原,与传统方法相比受 H₂还原的 ZnO 纳米材料具有更高的电子迁移率、更低的电阻率和较低的粗糙程度;且由其循环伏安(Cyclic Voltammetry, CV)曲线可知,其氧化还原反应性能随负极材料的增加而提高,所以,ZnO 纳米结构可作为电化学传感器电极或辅助材料,能用于多种生物效应及其产物或生存介质变化的测定。

2019 年本课题组^[34]使用磁控溅射法设计并制备了一种新型一维结构的 ZnO 和碳纳米纤维复合材料,图 4 给出不同放大倍数的 ZnO@CNFs 的高分辨率透射电镜(High Resolution Transmission Electron Microscope, HRSEM)图像,鳞片状的 ZnO 完全覆盖在碳纳米纤维,这种新复合结构的光致发光特性具有很强的紫外线与可见光发射比。随后 2020 年^[35]用射频磁控溅射法在少层石墨烯薄膜表面沉积 ZnO 薄膜,并研究其光致发光性能,优化了在几层石墨烯表面生长 ZnO 的工作压力、射频功率和 Ar:O₂气体流量比等工艺条件,获得的 ZnO/石墨烯复合薄膜具有较强的紫外发射和相对较低的可见光发射,可用于光学生物传感器的紫外光源、紫外发射灯等方面。

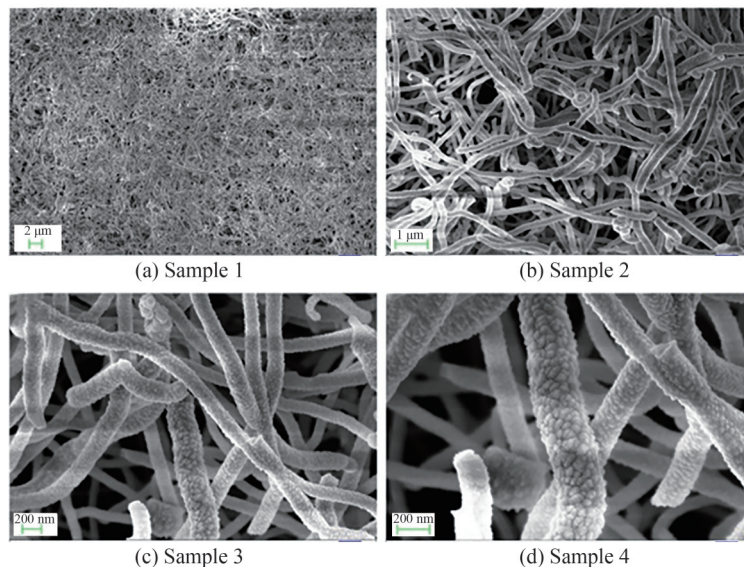


图 4 不同放大倍数的 ZnO@CNFs 的 HRSEM 图像^[34]
Fig. 4 HRSEM images of ZnO@CNFs at different magnifications^[34]

实际上磁控溅射法也有一些局限性:由于对高真空和惰性气体的要求,设备比较复杂且高能粒子很容易损坏已经生长的薄膜表面,导致薄膜中的缺陷浓度增加;作用在靶材上的不均匀磁场必然导致等离子体会聚效应的不均匀,不可避免地在靶材上产生不均匀的蚀刻即降低了靶标的利用率,且无法在低温下实现强磁材料的高速溅射,所制备的 ZnO 也存在表面粗糙度大、均匀性差、致密性不足等一系列问题^[8]。若对溅射的薄膜材料进一步高温退火可以稳定其光学和电学性能,因此,高温退火的 ZnO/Ag/ZnO 和 AZO/Ag/AZO 可作为光电转换传感器电极。

1.3 溶胶-凝胶法

早在 1991 年 SPANHEL L 和 ANDERSON M A. 提出用溶胶-凝胶法制备零维纤锌矿型 ZnO 纳米团簇的方法^[36],以无机盐或金属醇盐为前驱体,经水解缩聚过程逐渐胶化,再经烧结处理得到纳米粉体;用乙酸锌和乙醇合成了高度浓缩的 ZnO 胶体纳米晶体,其大小从 3.5~5.5 nm;利用超声波在几分钟内产生的 ZnO 胶体初

级团簇聚集物,在稀释的悬浮液中观察到“初级”团簇中的激子跃迁,形成了自诱导的ZnO凝胶晶体生长,进而提出了基于聚合的电子相关图和晶体生长机理。2005年HOSSAIN M K等^[37]改进了该技术,使用回流技术获得长度为700 μm 的ZnO纳米带,提出具有较大表面原子/体积原子比的纳米物体如纳米粒子和纳米线传感材料与分析物分子之间的表面和界面相互作用可通过电导变化来测量,可用于气体传感器相关领域。2008年RANIS等^[38]以醋酸锌二水合物作为前驱体,使用氢氧化钠(NaOH)代替氢氧化锂(LiOH)合成了纳米ZnO,并研究溶胶的pH值从6到11变化时对纳米ZnO的影响,所合成的ZnO粉末的SEM显微照片如图5,发现粉末的大小和结晶度强烈依赖于溶胶的pH值,优化后成功获得了最大微晶粒尺寸为14 nm,且发现其纳米颗粒的光学性质在碱性条件下更好。ZAK A K等^[39]采用溶胶凝胶法在高煅烧温度(即650 $^{\circ}\text{C}$)下合成了镁(Mg)掺杂的纳米ZnO,Mg掺杂合成的ZnO纳米材料呈球形、结晶度高、属于六方的wurtzite晶相;且Mg掺杂在一定程度上控制了纳米ZnO的光学性质,随着掺杂Mg剂量的增加其带隙增加,并最大限度地减少了结构缺陷。

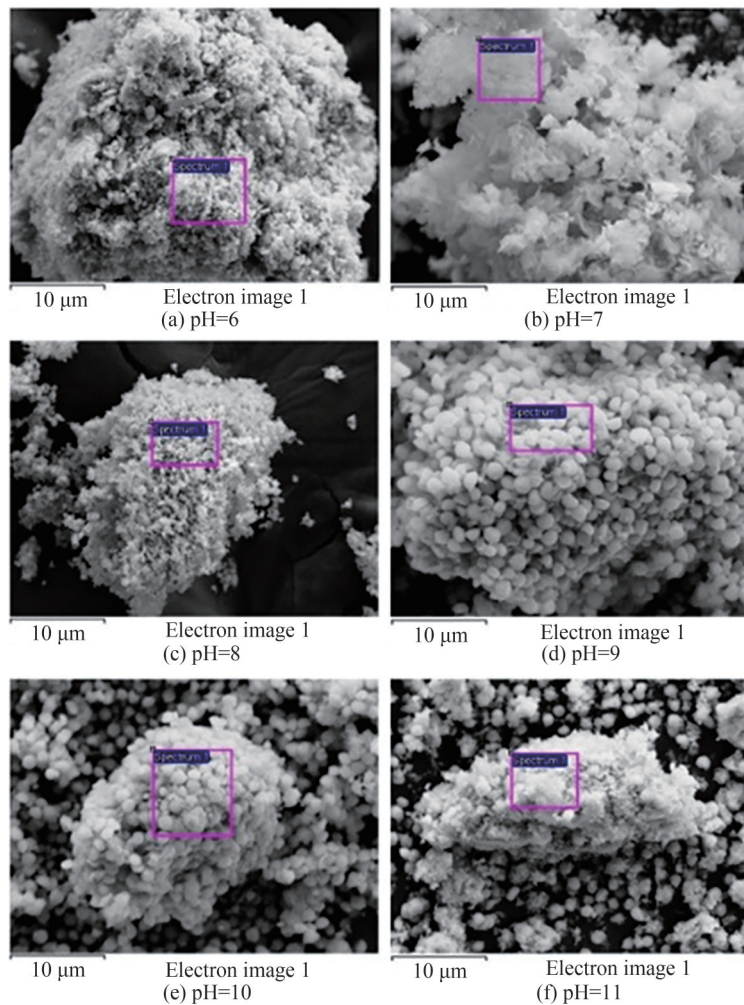


图5 不同pH值下合成ZnO粉末的SEM图^[38]
Fig. 5 SEM micrographs of ZnO powders at different pH values^[38]

本课题组在2007年^[40]采用溶胶-凝胶法制备出掺杂钴(Co)的六角纤锌矿结构的ZnO纳米粉体,且因Co杂质可能是间隙原子替代锌离子而使得晶格常数变小,提高退火温度会增大晶粒尺寸有利于其室温铁磁性。在2009年^[41]采用二步溶胶-凝胶工艺制备出了ZnO-SnO₂薄膜,测试发现在锌锡摩尔比为9/12、退火温度为500 $^{\circ}\text{C}$ 时,薄膜的透过率达90%,电阻率为 $3.15 \times 10^{-3} \Omega \cdot \text{cm}$,表明制备出的透明导电薄膜性能优异。2010年^[42]用溶胶-凝胶技术制备出了六角纤锌矿结构的短六棱柱状纳米ZnO粉体,发现平均晶粒度和颗粒度随着煅烧温度的升高而增大,用波导法测试发现样品在X波段具有较大的电磁损耗特性。进而2017年^[43]结合溶胶-凝胶法和低压化学气相淀积(Low Pressure Chemical Vapor Deposition, LPCVD)在铜衬底上制备

纳米 ZnO/石墨烯薄膜,表征发现 ZnO 属于六方纤锌矿结构,其晶体质量随退火温度升高而提高;ZnO/石墨烯纳米薄膜的紫外光谱(visible spectroscopy,UV)发射峰在 386 nm 处弯曲源于新的石墨烯相关峰以及中性受体或深层给体结合的激子跃迁,具有更高的晶体质量、更低的缺陷浓度、更好的光学性能。

近两年为了改进薄膜的性能, JING Jipeng 等^[44]采用溶胶-凝胶衍生的锂(Li)掺杂 ZnO (LZO)薄膜作为倒置红色量子点发光二极管(Quantum Dot Light Emitting Diodes, QLED)的电子传输层(Electron Transport Layer, ETL),实现低成本、高效率的 QLED,证明了 Li 掺杂可以调节 ZnO 薄膜的导带最小值、氧缺陷的密度和薄膜的电导率,红色 QLED 与 ZnO:Li ETL 器件的最大外量子效率(EQE)和电流效率都高于纯 ZnO ETL 器件;ZHENG Jiabin 等采用^[45]一种原位诱导氧化锌(ic-ZnO)结晶策略,有效地降低器件的界面电荷复合,满足高性能有机生物器件的应用要求。

溶胶-凝胶法制得的样品纯度高、合成简单、粒径可控,易于在反应过程进行均匀定量的掺杂,且与其他制备方法相比反应温度较为低,但是目前使用的原料成本较高、反应复杂制备时间较长、变量较多,限制了大批量工业化生产。

1.4 原子层沉积法

早在 2001 年, YAMAMOTO Y 等^[46]以硼作为 n 型掺杂剂、用光原子层沉积技术(photo Atomic layer deposition, photo-ALD)生长出了低电阻率、高稳定性的 ZnO 薄膜。其工作原理为:以氩气为载气,将二甲基锌(Diethyl Zinc, DEZ)和水(H₂O)反应物气体交替送入生长室,电脑控制气阀的开、关顺序,改变 DEZ 和 H₂O 的流速,紫外线通过室顶的石英窗照射到衬底上使反应物反应合成 ZnO,通过插入遮光板可以改变 UV 照射到生长基质上的强度和实现原子层生长,通过控制入射光的强度在不同紫外光照射条件下研究了 ZnO 薄膜的生长机理;并优化硼源 B₂H₆ 的引入周期得到最低电阻率薄膜,且生长的 ZnO 薄膜在空气暴露下表现出良好的电性能稳定性。

为了提高晶体质量,2007 年 LIM J 等^[47]研究了 ALD 工艺参数和退火衬底温度对 ZnO 薄膜的影响,发现 ZnO 薄膜的生长速率随着衬底温度的升高而增加,且通过增加沉积循环时间或进行退火处理可以提高 ZnO 薄膜的结晶度、增大晶粒尺寸,晶粒形状由长条形蠕虫状变为圆形,在 O₂ 气氛下不同温度退火的 SEM 显微形貌如图 6。可以看出晶体质量主要取决于衬底温度,且高温退火 ZnO 有更好的发光性能,表明 ALD 是一种很有前途的制备 ZnO 等复合半导体薄膜的方法。2008 年 GUZIEWICZ E 等^[48]以二甲基锌和水作为前驱体用 ALD 方法合成了 ZnO 薄膜,当沉积温度降低到 200℃ 以下所制备的 ZnO 层是多晶的,且在室温下显示出光致发光(Photoluminescence Spectroscopy, PL);当沉积温度降低到 100℃ 时发现 ZnO 的缺陷相关的 PL 强度也较低,证明通过 ALD 进行的低温生长可以生产高质量的 ZnO 薄膜,具有低效的非辐射衰减通道和热力学阻断的自补偿过程。

2020 年 FANG L 等^[49]用 ALD 制备出厚度低至几纳米的超薄 ZnO 薄膜,研究了不同厚度 ZnO 薄膜的化学组成、晶体结构、光学性能和光致发光特性,发现薄膜中锌原子和氧原子分布均匀,随着薄膜厚度的减小折射率和消光系数都单调减小,当薄膜的厚度减小至几纳米时 PL 光谱的激子发射峰会向更高能量移动,表明在超薄 ZnO 薄膜的光电器件的设计和优化方面具有应用潜力。

1.5 其他制备方法

纳米 ZnO 的制备技术还有电化学沉积、化学气相沉积(Cheical Vapor Deposition, CVD)等方法。前者常用于低温合成 ZnO 薄膜,可以通过调整电化学参数(如沉积时间、温度和离子浓度^[50]等)来控制其薄膜的厚度、形貌和光电特性;但由于电解质的复杂性以及 ZnO 合成过程中可能存在其他化学反应,合成的 ZnO 材

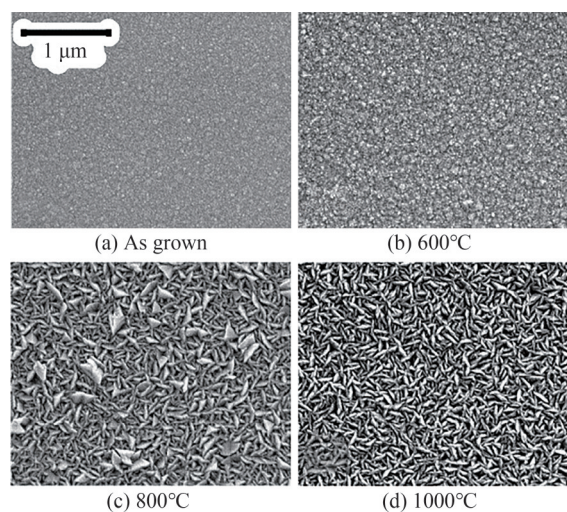


图 6 ZnO 薄膜在 O₂ 气氛下不同温度退火的 SEM 显微图^[47]
Fig. 6 SEM micrographs of ZnO films annealed at different temperatures under O₂ atmosphere^[47]

料不纯,对其 ZnO 的晶体质量有显著影响,因此工艺参数必须优化才能合成良好的材料。后者是制备 1-D ZnO 纳米材料的常用方法,其厚度、形貌和尺寸受合成温度、压力、催化剂和反应时间等因素的影响;高温 CVD 合成的 ZnO 往往具有较高的晶体质量^[51],实现了 ZnO 纳米棒的高度可控导向生长,但高温工艺可能会对衬底造成损伤使其不适合某些柔性聚合物基板;喷雾化学气相沉积(mist-CVD)技术^[52]在较低温度下 SiO₂层上生长出了二维(2D)ZnO 纳米片,可用于发光二极管(Light Emitting Diode,LED)器件及其相应光传感器中。为了扩大 ZnO 的适用范围,研究人员利用交替脉冲激光沉积法,在室温下生长了一层平均面内尺寸为 1.8~3.6 nm 的多层氧化铝包覆的 ZnO 量子点,其体带隙约为 3.3 eV,且在光学中观察到这些点的带隙蓝移与尺寸有关,达 4.5 eV 吸光度光谱,此蓝移可以用弱约束和强约束条件下的有效质量近似来解释。SHI Feng 等^[53]采用 ZnCl₂的简单热溶剂法制备了燕窝状 ZnO(BN-ZnO)纳米结构,其 BN-ZnO 的 SEM 图像如图 7,并将葡萄糖氧化酶(Glucose oxidase,GOx)固定在纳米结构的 BN-ZnO 修饰电极上开发了一种基于电化学的葡萄糖生物传感器;生成的 BN-ZnO 纳米结构外观均匀具有较大的比表面积,可以负载大量的 GOx 分子;同时 BN-ZnO 提供了一个极好的微环境来保留酶的生物活性,并促进 GOx 和电极表面之间的直接电子转移。因此,用 BN-ZnO 纳米结构修饰的生物传感器比其他结构的生物传感器会显示出更好的检测范围。CHAKRABORTY B 等^[54]利用电子束蒸发技术制备了 ZnO 薄膜晶体管(Thin Film Transistor, TFT)生物传感器,并通过改变不同的沉积参数(时间和电流)以改变表面粗糙度和缺陷状态密度,用于抗 PSA 抗体的功能化来检测前列腺特异性抗原(Prostate Specific Antigen, PSA),该传感器与现有的 ZnO 纳米生物传感器相比灵敏度优化了 15 倍,表明传感器的跨导随着缺陷密度的增加而单调地降低,但由于空间位阻效应的增强超过了一定的表面粗糙度,抗体结合密度具有非单调行为。综上所述,通过不同的方法可以合成具有不同形貌特征的 ZnO 纳米材料,为 ZnO 传感器尤其其纳米生物传感器的研究奠定了良好的基础。

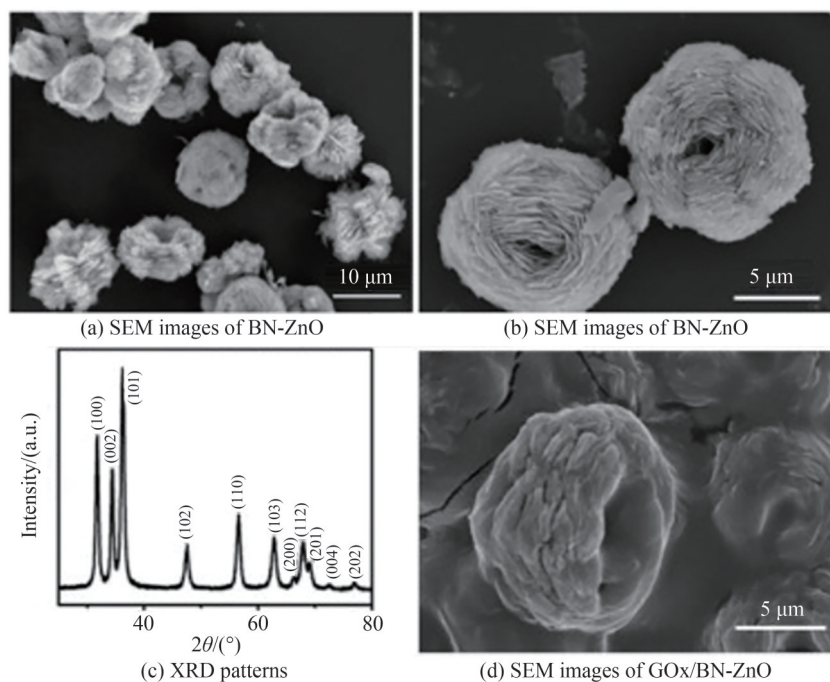


图 7 BN-ZnO 及 GOx/BN-ZnO SEM 图与 XRD 图谱^[53]
Fig. 7 BN-ZnO and GOx/BN-ZnO SEM diagrams and XRD diagrams^[53]

2 纳米 ZnO 在生物传感器方面的应用

生物传感器^[55]是一种利用生化相互作用导致的生物基质物理或化学性质的改变对生物物质敏感、并将其浓度转换为电信号进行检测的装置或仪器,它由固定化的生物基质敏感材料作识别元件(包括酶、抗体、受体、细胞、微生物、组织、核酸等生物活性物质的生物选择膜),适当的理化换能器(如光敏管、氧电极、压电晶体、场效应管等器件)及信号处理装置等三部分构成的分析工具或系统。其工作原理为:被测分析目标生

物质经过分子识别(亲和、催化剂相互作用),会引起某种物理或化学变化,这种信号继而由相应的换能器转换为可以测定的电信号,再经过信号处理装置进行二次处理并传出显示,如图8。其中测定电信号的方法有:声学、光学或比色法、电位法、阻抗法、安培法、电导法等方法,安培法能把电子直接转移安培的生物传感器有三种类型:非介导型、介导型和基于电子直接转移的安培生物传感器,由于其自身的优点而被广泛应用于医疗诊断商用设备中。被誉为“生物传感器之父”的Clark,通过将葡萄糖氧化酶固定在隔膜氧电极上制备出了首个生物传感器。若改用其他微生物或酶等固化膜,就可以制备出检测其对应分析物的其他传感器,这就是第一代生物传感器即无介质安培型生物传感器,它是将酶或微生物等生物分子经过物理或化学手段结合至传感器表面,再以电化学技术对分析物进行检测,如在金和碳表面上固定氧化还原蛋白或酶形成检测电极等。然而它在检测时由于过度依赖于溶液中氧的浓度,受到外界干扰较大,导致传感器的灵敏度和特异性选择相对较差,并且只能得到较高的检测限。第二代生物传感器被称为介体型生物传感器,是采用化学介体或特定的生物分子作为生物感应元件,用小分子电子媒介代替氧沟通酶活性中心与电极之间的电子通道,通过检测媒介体电流变化来检测底物浓度变化。如核酸适配体传感器利用双链DNA或单链DNA/核糖核酸(Ribonucleic Acid, RNA)分子像抗体一样可以与靶分子特异性结合,其能结合的分子更为广泛且具有比抗体更容易获取、储存的特点;如转录因子传感器利用配体依赖型激活的转录因子与任意输出通量偶联后在同一启动子的控制下进行转录调节的感测作用,因小分子对转录因子的变构调节是自然界普遍存在的感测机制,其表达水平与癌症、炎症、异常激素响应、发育障碍等一系列疾病的发生和发展密切相关。与第一代相比其检测灵敏度、抗干扰能力等方面性能明显提高。随着纳米技术、微流控技术等科技的发展,科学家们将纳米技术与传统生物技术相结合,研究出了超灵敏、快速、化学稳定性与生物相容性更好的第三代生物传感器即纳米生物传感器。它通过生物感应元件和分析物相互作用产生的信号变化并用不同的信号处理元件来进行检测,取消了电子中介体,酶和电极之间直接实现电子传递,其传导效率更高、受到的干扰更少、准确性更好等优势会具有巨大的应用潜力^[56]。

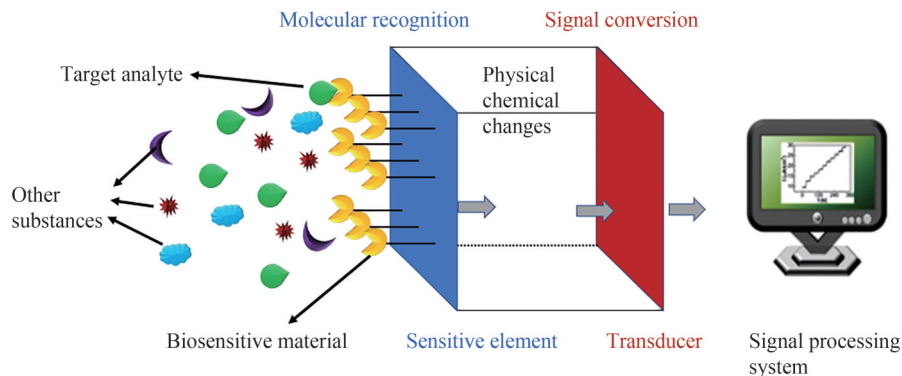


图8 生物传感器工作原理示意

Fig. 8 Schematic of the working principle of the biosensor

ZnO纳米材料的各种独特优点能使不同类型的生物分子成功地固定在其表面上,因此在生物传感器领域具有广泛的应用前景。作为检测材料最常用的分析物包括:分子量较低的分子(多巴胺、尿酸、尿素和核黄素),蛋白质(牛血清白蛋白(Bovine Albumin, BSA)、免疫球蛋白、链霉亲和素),核酸(RNA和DNA),细胞(癌细胞、感染细胞)和细菌等。根据信号处理元件的工作原理不同,可以将ZnO纳米材料所制备的生物传感器分为电化学生物传感器、光学生物传感器、压电生物传感器、热学生物传感器等^[57]。

2.1 基于电化学 ZnO 生物传感器

电化学生物传感器是电子检测技术和生物科学的综合产品,在食品工业、生物技术、环境监测、医学领域、发酵工业等领域中都有巨大的市场应用需求。它们通常将电极作为转换元件和固定载体,使用生物材料作为分子识别物固定在电极表面,然后通过生物分子间的特异性识别作用,将目标分子与其反应信号转换成电流或电势等可测量的电信号,再使用三电极系统进行CV,电化学阻抗谱(Electrochemical Impedance Spectroscopy, EIS)和差分脉冲伏安法(Differential Pulse Voltammetry, DPV)等电化学方法进行检测,从而

实现对目标物的定性或定量分析。例如用于检测脑膜炎的DNA生物传感器,是通过在Ni-ZnO/ITO电极表面,即Ni掺杂纳米ZnO基体(正电位点IEP \sim 9.5))上利用静电相互作用固定单链硫代DNA(ss DNA负电位点IEP \sim 4.2)寡核苷酸的方法制备成生物电极,在亚甲基蓝(Methylene Blue, MB)介导的缓冲液中的目标分子对ss-DNA/Ni-ZnO/ITO生物电极的响应使用DPV进行检测,其传感(非互补和互补目标溶液杂交)响应用EIS进行研究。图9为镍掺杂氧化锌(Ni-ZnO)薄膜用于制造高度稳定和灵敏的DNA电化学生物传感器传感机制示意图^[58]。又如采用水热合成法在镀铂的硅衬底上合成了花状的ZnO纳米结构^[21],采用CV和EIS研究了N.型脑膜炎奈瑟单链硫化物DNA(ss th-DNA)探针在纳米结构ZnO(ZNF)基体表面的相互作用;采用DPV和EIS研究DNA生物电极(ss th-DNA/ZNF/Pt/Si)的电化学传感响应行为,其DNA生物传感器可在5 \sim 240 ng μL^{-1} 范围内对互补目标ss-DNA进行定量检测,线性良好、灵敏度高,且检出限约为5 ng μL^{-1} 。结果表明所制备的花朵状ZnO纳米结构为DNA分子的固定化提供了一个有用的平台。

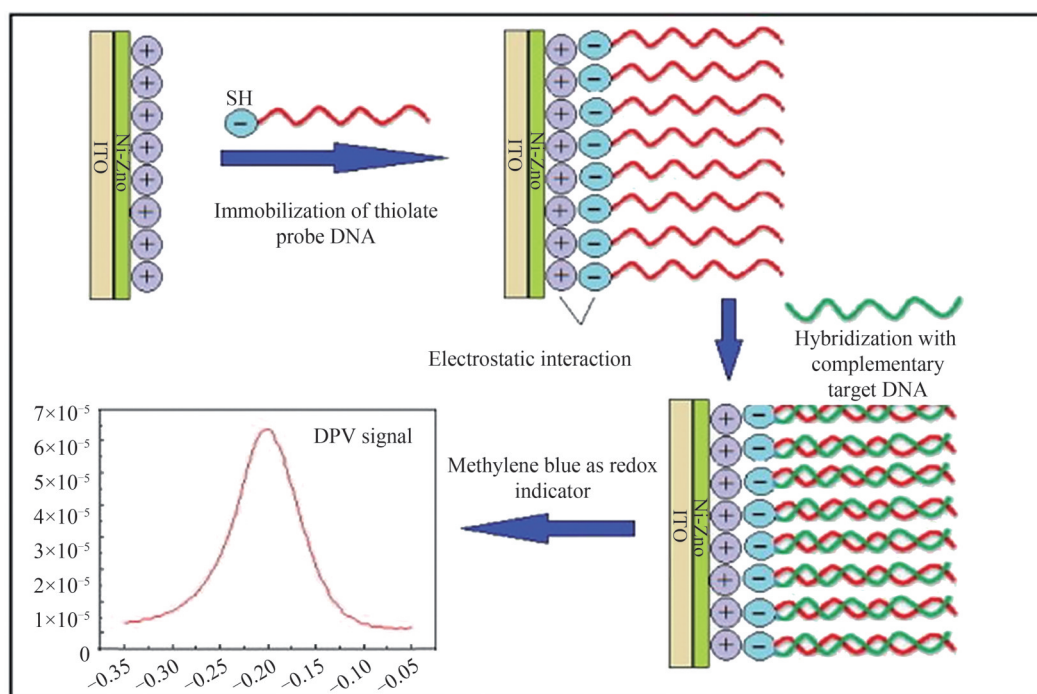


图9 SH标记探针DNA的电化学传感机制示意^[58]

Fig. 9 Schematic diagram of electrochemical sensing mechanism of SH-labeled probe DNA^[58]

酶电极属于电化学电极,其成功操作的关键因素是在电极表面有效地固定生物实体。壳聚糖(Chitosan, CHIT)是一种天然聚合物,其生物降解性、无毒性 and 生物相容性使其成为一种很有前途的固定化酶基质,它包含氨基可提供与生物分子相容的亲水环境。将水热法合成的纳米花状ZnO分散在壳聚糖溶液中形成ZnO/壳聚糖复合基质,结合了无机物和有机物的优点来固定化辣根过氧化物酶,制备出玻璃碳电极/ZnO/玻璃碳电极(CHIT)/辣根过氧化物酶(Horseradish Peroxidase, HRP)电极,用作过氧化氢(H_2O_2)生物传感器^[59]。常见的消毒剂、杀菌剂 H_2O_2 被摄入后,会与体内抗氧化物质发生反应,消耗抗氧化物质,加速人体衰老、降低抵抗力, H_2O_2 生物传感器被广泛用于生物体、牛奶、染发剂、面膜、废水中微量 H_2O_2 的检测和监测。

利用在导电氟掺杂氧化锡(FTO)电极上水热生长垂直排列的ZnO纳米棒(NRs),2021年NAGAL V等^[60]将大量尿酸酶固定在ZnO NRs表面制造了一种高灵敏度的尿酸(Uric Acid, UA)生物传感器,其增强性能可归因于垂直排列的ZnO NRs提供了用于固定大量尿酸酶的高表面积,可以固定大量的酶,在很宽的浓度线性范围内显示出高的生物传感活性,可扩展到制备不同的ZnO NRs基化学/生物传感器件。利用在氧化铟锡(ITO)电极上电沉积氧化石墨烯(Electrodeposition Graphene Oxide: ERGO)/ZnO纳米复合材料,2022年ERYİĞİT M等^[61]用ITO-ERGO/ZnO电极的无酶生物传感器通过电流法对UA进行检测,使UA在一定浓度范围内灵敏度进一步提高;此电极的主要优点是检测限相对较低、选择性高、重复性好和长期稳定

性好,且所设计的生物传感器的制造过程简单且价格低廉。除了用于小分子UA的检测,基于ZnO的电化学生物传感器还有效地用于检测如葡萄糖、农药、赖氨酸、多巴胺等多种分析物。如2020年VERMA S等^[62]提出一种酪氨酸酶偶联ZnO还原氧化石墨烯(Tyr/ZnO-rGO)纳米复合系统生物传感器,用于快速灵敏地检测多巴胺(dopamine:DA),其在低检出限和高灵敏度等方面的显著提高主要归因于低电化学带隙的ZnO-rGO快速且无阻碍的电子转移机制,所建立的生物传感系统在神经元疾病临床诊断中有高诊断潜力。2021年RASHED M A等^[63]采用介孔碳掺杂ZnO(Meso-C/ZnO)纳米复合修饰玻碳电极(Glassy Carbon Electrode, GCE)对过氧化氢(H₂O₂)进行了电化学研究,所制备的生物传感器具有高选择性和灵敏度。2020年WANG J等^[64]制备了基于金属有机骨架(Metal ORGANIC FRAMEWORK, MOF)衍生的NiO@ZnO空心球的新型电化学传感器,对异烟肼(Isoniazid, INZ)检测具有良好的电化学响应,但在实际应用中存在电极污垢问题。2021年DAIZY M等^[65]通过氧化锌空心球(ZnO HS)和分子印迹聚合物(Molecular Imprinted Polymer, MIP)对GCE进行功能化,研制了一种高灵敏度的电化学传感器用于选择性检测甲基对硫磷(MP),有效避免农作物的杀虫剂残留。FALLATAH A H等^[66]在多孔柔性基材(如碳纸和碳布)上开发了一种基于ZnO的生物传感器,先在柔性底物上电沉积ZnO,将乙酰胆碱酯酶(Acetyl Cholinesterase, AChE)固定在ZnO上,用于检测对氧磷(OP)等农药。GUNAVATHAN S D等^[67]通过使用ZnO纳米棒与聚噻吩(PT)的纳米复合材料成功制备了L-色氨酸的增强电化学伏安生物传感。MYNDRUL V团队^[68]提出了一种基于新型2D材料——过渡金属碳化物(MXene)纳米片修饰四足(TPs)ZnO纳米结构的皮肤可连接和可拉伸电化学传感器,以无创连续检测汗液中的葡萄糖;ZnO-TPs的高比表面积和MXene(Ti₃C₂T_x)纳米片的优异导电性使其能够对汗液样品具有更高灵敏度、宽线性检测范围,以满足人体汗液中葡萄糖检测的应用,在生物医学应用中具有很大的潜力。

2.2 基于光学ZnO生物传感器

通常光学生物传感器是由生物敏感元件和将生物信号转换为光学信号的转换元件构成,其生物敏感元件与目标分析物相互作用会引起物理化学反应并引起光信号的变化,通过检测波长、相位、强度、偏振角等光学参数对目标分析物进行定性或定量分析^[69]。光学生物传感器具有以下优点:1)光学信号的传播不会受到电磁干扰,因此其传感器的稳定性很好;2)它检测光信号的灵敏度较高。根据光学元件的不同,它可分为表面等离子体共振(Surface Plasmon Resonance, SPR)生物传感器、光纤生物传感器、椭圆偏光学生物传感器等。其中SPR生物传感器是研究最广泛的光学生物传感器之一。

2.2.1 SPR生物传感器

KIM H M等^[70]搭建了一种基于由光纤、ZnO NWs和Au NPs组成的3D结构区域化等离子体共振(Localized Surface Plasmon Resonance, LSPR)生物传感器,其光纤FO-LSPR传感器系统构成如图10。与2D结构的生物传感器相比,3D生物传感器对PSA的灵敏度显著提高,这是由于其森林般的结构特征(如图10(a))将光线聚焦在传感区域,增强了Au NPs的表面积,其ZnO NWs的多孔结构构成了靶分子进入Au NPs表面的快速通道。测量不同溶液的光谱折射率如图10(b),依此得到溶液的浓度。其SPR技术原理示意如图10(c),利用了衰减全内反射原理,当P偏振光从光密介质以大于临界角入射到光疏介质时,会有部分光形成消逝波进入到光疏介质中,其强度以指数规律衰减;当消逝波与金属表面等离子体波将发生能量耦合,满足共振条件产生共振时,金属与溶液(经过介质通道)的界面上将有电子被激发产生振荡电荷,入射光能量部分地转移给表面等离子体波,使反射光强急剧下降从而形成表面等离子体波,检测到的反射光强度会大幅度地减弱,这就是表面等离子体共振现象。测量曲线在582 nm处其强度随折射率从1.33~1.38在0.01区间线性增加,LSPR光谱的测量结果证实了所提出的FO-LSPR传感器的应用前景广阔。

因ZnO和石墨烯都具有优异的化学稳定性、光吸收能力、生物相容性和独特的电学和光学性质,PAL S等^[71]研发出一种由SF10棱镜-Au-ZnO-石墨烯-磷酸缓冲盐溶液(Phosphate Buffered Saline, PBS)组成的基于SPR的DNA杂交生物传感器。在633 nm工作波长上用角度查询法检测DNA杂交,针对石墨烯在室温下化学势的不同值,对其性能参数,即灵敏度(S)、检测精度(DA)和优值(FoM)进行了评估,优化出出色的灵敏度。基于SPR的电磁(Electro Magnetic, EM)增强作用,WANG Y等^[72]制备了掺Ga的ZnO纳米颗粒,并将其用作表面增强拉曼散射(Surface-enhanced Raman Scattering, SERS)基底,在可见光、近红外和中红

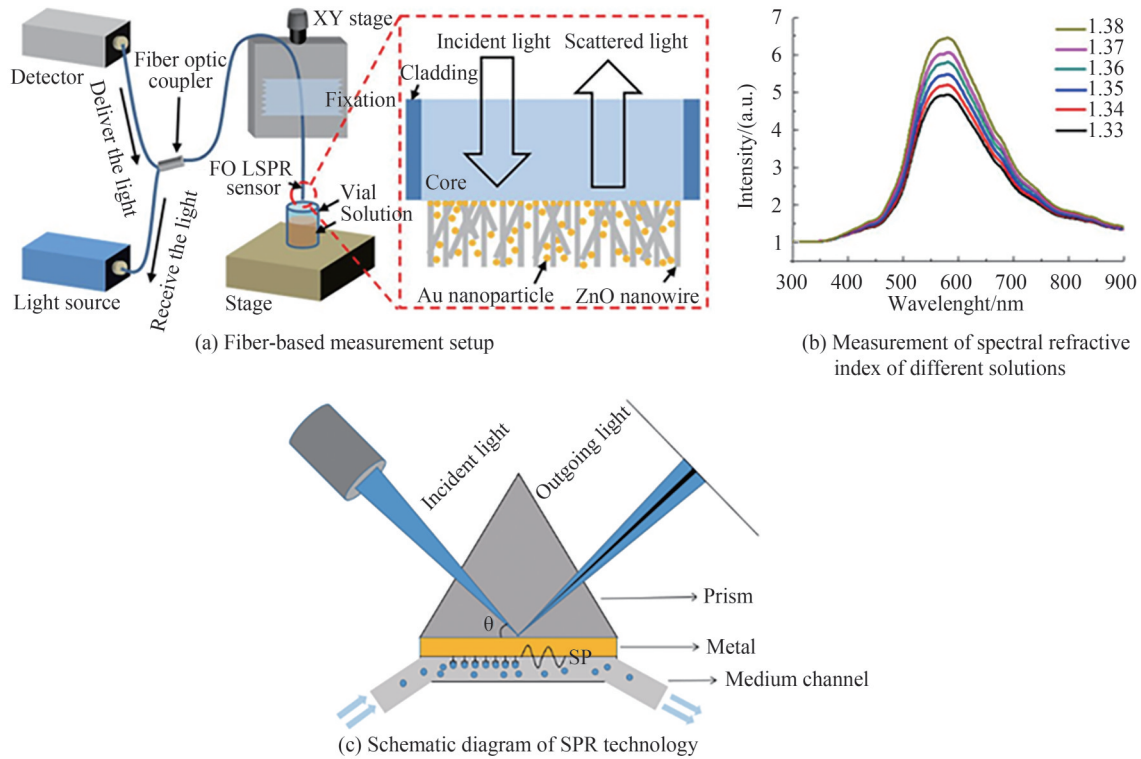


图 10 3D 光纤 FO-LSPR 传感器系统^[70]
Fig. 10 3D fiber optic FO-LSPR sensor system^[70]

外区域均表现出明显的 SPR 吸收,其光谱增强取决于掺杂比、激发波长和附近的 SPR 吸收,发现掺杂率为 5% 的 Ga 掺杂 ZnO 纳米粒子自由载流子密度最高、SERS 谱最强,且拓宽了 SERS 掺杂半导体基底增强机制的应用范围,为基于半导体的 SERS 基底设计提供了依据。

为了提高灵敏度,出现了多种改进型生物传感器。MUDGAL N 等^[73]2020 年提出了一种基于 ZnO 和双金属层的新型 SPR 生物传感器,其结构由 SF10 玻璃棱镜、ZnO、Ag、Au、BaTiO₃ 和石墨烯组成。石墨烯由于其高生物分子吸附能力和大表面积,成为 SPR 生物传感器顶层的选择。经过优化层厚度得到折射率在传感介质中由 $n=1.33\sim 1.45$ 范围以 0.04 阶跃逐渐变化,与其他基于 MoS₂-石墨烯的 SPR 生物传感器相比,该生物传感器获得了很高灵敏度。2021 年 CHEN H 等^[74]提出了一种由交替的 Ag/ZnO 层组成的双曲超材料的表面等离子体共振 (Hyperbolic Metamaterials Surface Plasma Resonance, HMM-SPR) 传感器,其中 ZnO 层用于保护 Ag 层免受氧化,与传统的银基 SPR 传感器 (Ag-SPR) 相比,由 Ag/ZnO 多层组成的 HMM 结构可以大大提高 SPR 传感器的灵敏度。2022 年 YADAV A 等^[75]提出了优化结构,通过在夹在 Au 和 Ag 双金属层之间的 ZnO 上添加几层黑磷 (Black Phosphorus, BP) 来提高基于 SPR 的生物传感器对葡萄糖检测的灵敏度。由于 BP 在入射波长为 633 nm 处具有高吸收系数,可以通过在 Au/ZnO/Ag 层上添加五个单位的纳米 BP 片层使其灵敏度进一步提高至 3 倍,为更高的准确度和更快的传感器响应检测葡萄糖浓度水平提供了可能性。2022 年 YANG H 等^[76]研究了一种基于 ZnO/Au 纳米材料的 SPR 生物传感器,并使用生物素-链霉亲和素进行二级信号扩增的新型三明治结构用于检测免疫球蛋白 G (Immunoglobulin G: hIgG),可以获得 hIgG 的最小检测浓度,检测了兔 IgG、牛 IgG 和 hIgG 的不同测定方法下对不同抗原测量的共振波长的变化,发现与没有反应 SPR 信号的其他抗原相比,在一定范围内对 hIgG 的有着高特异性,即加标后的回收率具有良好的选择性和灵敏度,此检测策略可以扩展到其他具有相应表位的诊断标志物的临床测定。

2.2.2 SERS 生物传感器

基于 SERS 的 DNA 生物传感器的研究愈加迫切,其基底材料是纳米复合固体,能同时测定多种分析物,在药物安全和质量监测中更受欢迎。本课题组^[77]提出并实现了一种基于阳极氧化铝表面的 nanoPAA (聚丙烯酸)-CuCl₂/ZnCl₂-AuL 纳米复合固体 SERS 基底材料制备方法,所制备 SERS 活性固体纳米复合材料的

流程工艺示意图及 SEM 照片如图 11。该种材料形貌可控、结构坚固、物化性能稳定、可大面积生长,将其用作表面增强拉曼光谱 SERS 活性基底,具有可重复性、灵敏度高、热点均匀等优越的性能。利用该复合纳米材料作为 SERS 活性基底检测样品罗丹明 6G(R6G)^[78],具有高灵敏度和高光谱重现性,SERS 增强因子为 2.30×10^7 ,R6G 样品浓度检测限可达 10^{-10} mol/L,达到单分子检测水平。基于该纳米复合材料基底的 SERS 技术^[79]研究 DNA 分子与表面活性剂 CTAB/SDS 作用特性,并在分子水平阐明了 DNA 分子在活性剂作用下的压缩与解压缩机制,揭示药物阿霉素(Adriamycin; DOX)分子与 DNA 分子间作用机制。进而制备了一种稳定的纳米聚丙烯酸-ZnO/ZnCl₂ 复合材料^[80],发现其可变的三维结构形态和持续的超亲水性,有利于改进 DNA 生物传感器的性能。

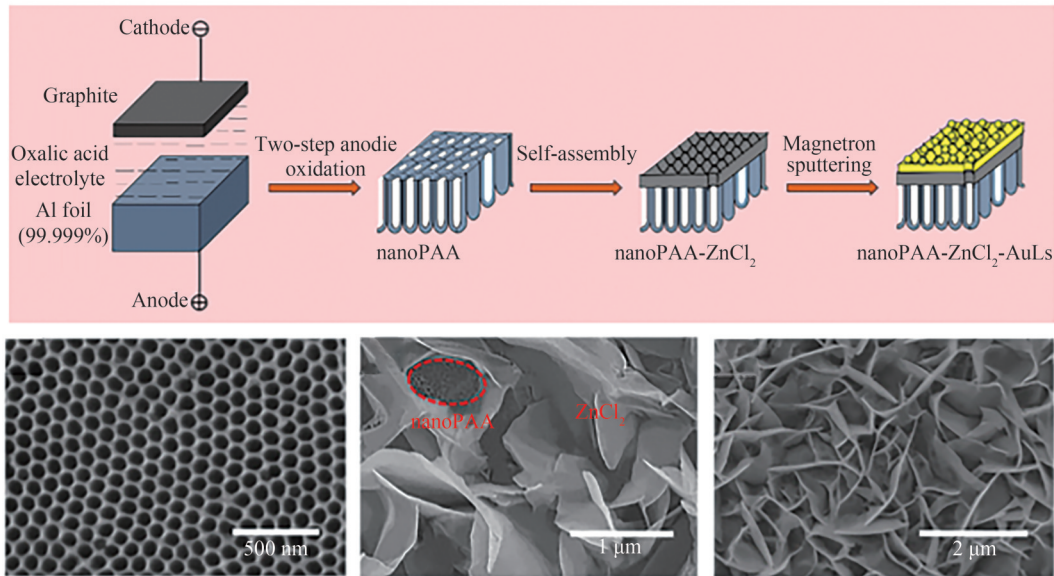


图 11 NanoPAA-ZnCl₂/CuCl₂-Au 的流程工艺示意及 SEM 图^[77]
Fig. 11 Process and physical SEM photos of nanoPAA-ZnCl₂/CuCl₂-Au^[77]

ZnO/Ag 纳米棒也可作为一种显著的 SERS 底物^[81],通过协同电荷转移效应实现口服降糖药吡格列酮和苯双胍的同时检测。以 R6G 为探针分子的纳米棒 ZnO/Ag 异质结构基底表现出了优异的 SERS 性能,具有增强因子高、稳定性和均匀性好、可转移到各种刚性和柔性基底上等特点,可用于高性能的化学和生化传感器。ZnO/Ag 衬底用于分离和同时检测人尿液中两种口服降糖药(OADs)吡格列酮(Pioglitazone, PIO)和苯双胍(Phenformin, PHE),具有较宽的线性范围、较低的检出限、良好的选择性和高的回收率,该衬底也适用于临床对 OADs 的快速、无创检测,其双重检测模型有望为药物管制和监测提供有力的工具。进而采用 SERS 技术研究了镀 Ag 花状 ZnO 纳米棒阵列的光学稳定性^[82],证明了 Ag 和 ZnO NRs 之间的电子转移对 SERS 衬底中银的光学稳定性的重要性,发现 ZnO NR/Ag 阵列能够检测到低至 10^{-14} mol/L 的 R6G 分子,并具有长期的光学稳定性。

2.2.3 干涉反射光谱法生物传感器

鉴于 SERS 和 SPR 等光学的生物传感器的主要缺点是成本高,干涉反射光谱法(Interference Reflectance Spectroscopy, IRS)是一种光学非接触、低成本的传感器,已被用于生物分子的检测。基于 IRS 的高灵敏度的细胞色素 c(作为癌症标志物)生物传感器^[83],其基底为胰蛋白酶修饰的纳米多孔阳极氧化铝(Porous Anodic Alumina, PAA)。IRS 传感器对细胞色素 c 的传感原理是:在 3-氨基丙基三甲氧基硅烷(NAA-NH₂)上固定化的胰蛋白酶酶解细胞色素 c 后,细胞色素 c 转化为血红素肽片段,此片段在 H₂O₂ 存在下将 2,2'-氮-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)(ABTS)氧化为绿色的 ABTS 阴离子自由基,电荷耦合器件(Charge-coupled Device, CCD)检测到反射光强度变化,带绿条纹的 ABTS 阴离子自由基溶液吸附白光,使 NAA 向 CCD 反射的光强度降低。在 1~100 nmol/L 范围内,白光强度的下降与细胞色素 c 浓度呈对数关系,细胞色素 c 的检测限为 0.5 nmol/L。该生物传感器具有较高的选择性、灵敏度和良好的稳定性。如在无

溶剂条件下, JERRY P H L 等^[84]研究了苯甲醛和氰乙酸乙酯在 ZnO 上的液相缩合反应, 氰乙酸乙酯在 ZnO 上吸附可生成烯醇中间体, 苯甲醛在 ZnO 上吸附可生成乙醛型中间体。以上案例测试得到的干涉反射光谱 (Fourier Transform infrared, FTIR), 可应用于各类材料 (包括有机、无机) 样品的定性和定量分析, 不仅能准确地确定材料的各种化学成分, 还可以采用对比分析的方法, 快速有效地得到结果, 预示着 IRS 生物传感器再结合生物相容的多结构 ZnO, 将来会实现更大的检测远景。

2.3 基于场效应晶体管 ZnO 生物传感器

自 1970 年 BERGVELD P 等^[85]将 MOS 管与玻璃电极结合, 制备出首个用于生物检测的离子敏感场效应晶体管 (Ion-sensitive Field Effect Transistor: ISFET), 便开始了基于 FET 生物传感器的大量研究。近年来, FET 生物传感器逐渐发展, 它们不仅用于测量电化学和生物环境中的离子活性, 而且已成为生物科学和医学诊断中定性或定量分析的重要工具。ISFET 生物传感器的结构有两类, 如图 12, 图 (a) 为底栅型 FET 结构, 图 (b) 为有绝缘隔离的顶栅型结构^[86], 它们与分析液接触的材料都是纳米线上固定的生物分子, 图 (c) 为固定的生物分子与其目标分析物的反应示意图, 由源极、栅极、漏极与介电层几部分构成, 源漏两极之间的介电层可以是 SiO₂ 和氮化硅。若测量 pH 值可采用玻璃栅极的传感器; 若栅极用碳纳米管、ZnO 纳米线等材料, 将具有特异性选择的生物分子固定在纳米材料表面可以实现对目标分析物的检测。其工作原理为: 当分析物靠近栅极表面与生物相互作用时, 会影响纳米材料电荷密度, 从而影响 FET 的导电性, 通过对漏极电流的测定实现对分析物的定性定量检测, 如基于 FET 的纳米线 (NWs) 生物传感器, 利用其一维 NWs 提供优良的表面体积比使其更适合高灵敏的传感应用。ZnO 因其多方面的特性而在 FET 基生物传感器制造中备受关注, 如高等电子点 (IEP: 9.5) 的 ZnO 可以高负载低 IEP 酶/蛋白质等等, 结合生物识别的出色的特异性、灵敏度、无标记、高选择性和快速响应特点, 用于不同生物分子如葡萄糖、胆固醇、尿酸、尿素、激素、蛋白质、核苷酸、生物标志物等的检测; 如基于掺杂铝 ZnO 纳米线场效应晶体管生物传感器用于临床医学诊断的乙肝病毒 DNA 传感分析。它们还具有重量轻、大规模生产成本低、体积小以及用于生物分子检测的大规模可以兼容集成到单个芯片中等优势, 已经成为生物科学和医学诊断中定性或定量分析的重要工具, 无论是药理研究、化学分析、食品质检、还是医学检验, 已经表现出远超前于其他传感器的优越性^[86]。

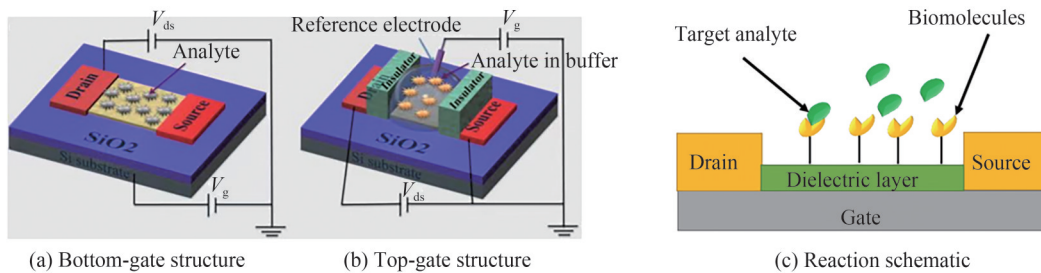


图 12 FET 生物传感器结构^[86]
Fig. 12 FET biosensor structure^[86]

为进一步改进生物传感器的电稳定性, DU X 等报道了底栅型铟镓 ZnO (IGZO) FET^[87]场效应晶体管葡萄糖生物传感器, 如图 13。其中图 (a) 是电极结构, 其栅电极是梳状的, 其间是 NWs 材料, 通过与葡萄糖氧化酶 (GOx) 交联的氨基硅烷基团对 IGZO-FET 的反向通道进行了功能化, 图 (b) 为实验装置及其检测液的通路, 图 (c) 为不同浓度葡萄糖作用下 GOx 功能化 IGZO-FET 的转移特性, 图 (d) 为带正电的氨基硅烷基团作为电子受体的作用以及带正电的氨基硅烷基团对 IGZO 表面能带弯曲的影响。实验结果表明该生物传感器对葡萄糖浓度的变化具有高度敏感性, 实现了无创连续血糖监测, 利用 IGZO 的透光性还提供了将完全透明的传感器集成到隐形眼镜中的潜力。为了同时检测多个对象, 基于 ZnO NRs 利用不同的检测剂, 2021 年 BHA t K S 等^[88]开发了多离子阵列传感器 (ZnO NRs FET-MIS), 在 ZnO NRs 上分别与 Co (通过物理气相沉积), Ag (溅射沉积) 和 MnO₂ (物理沉积) 后, 在 Co@ZnO NRs, Ag@ZnO NRs, and MnO₂@ZnO NRs 上分别固定 POx、NR 和 VM 酶检测剂, 用于检测水培的营养液中的矿物质离子, 此传感器对 PO₄³⁻、NO₃⁻ 和 K 离子在宽线性范围内提供快速响应, 具有高灵敏度和低检测限, 并且能够选择性地同时互不干扰地检测三个不同的矿物离子, 这在智能农场的水培栽培方面和保水系统方面都具有巨大的潜力。

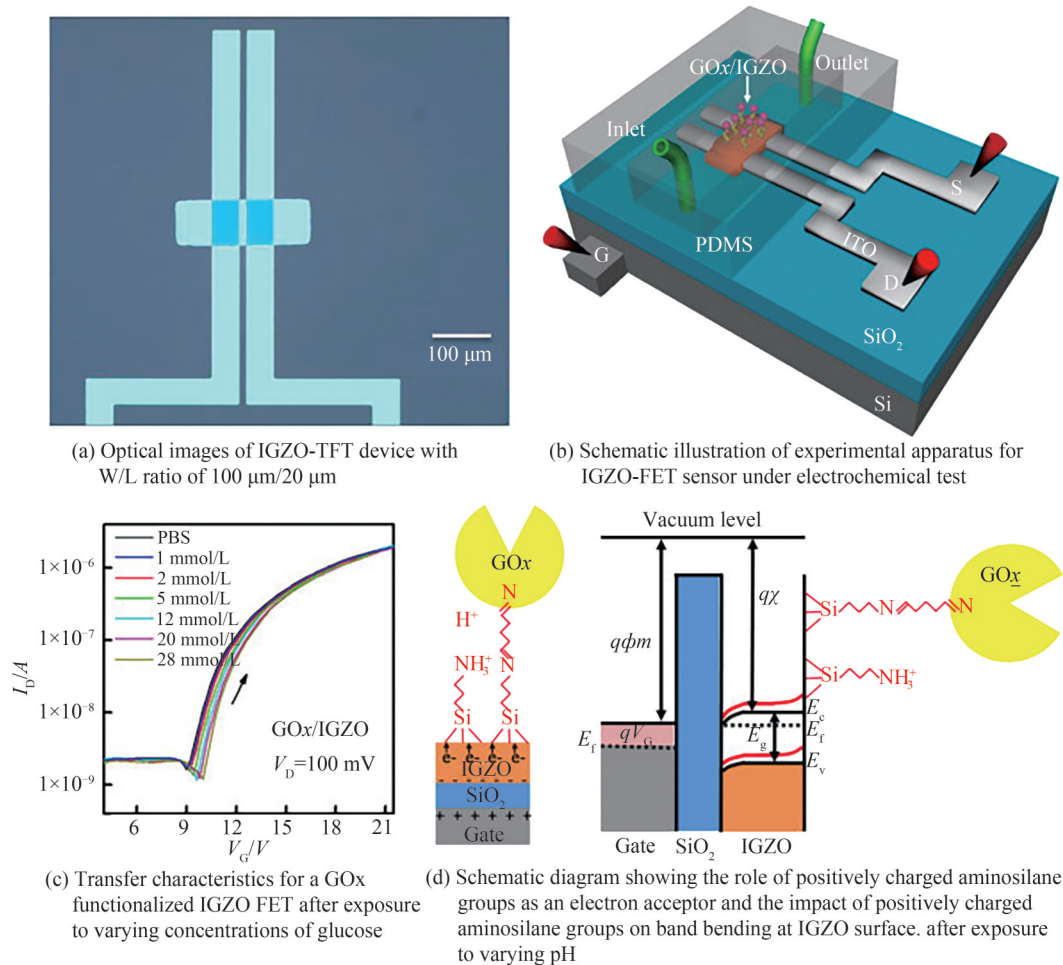


图 13 IGZO-FET 场效应晶体管葡萄糖生物传感器^[87]
 Fig. 13 IGZO-FET Field Effect Transistor Glucose Biosensor^[87]

为了开发可靠、高效的生物监测,2022年 SHARIATI M 等^[15]提出了一种乙型肝炎病毒(Hepatitis B Virus, HBV)DNA 诊断的 FET 生物传感装置,可以实现快速无标记的检测,其栅极上通过物理气相沉积(PVD)生长机制合成的钼掺杂 ZnO 纳米线,其生物传感器装置及掺杂 ZnO NWs 的表征如图 14。其中图(a)为其生物传感器装置,图(b)为漏极与源极间距为 300 nm 的叉指电极结构,图(c)为栅极上 ZnO NWs 的 FESEM 图像,(d)是掺杂 ZnO NW 的 TEM 和 HRTEM 图像。研究发现其中钼掺杂剂可以为 DNA 的吸附和电荷转移带来空位,利用 PCR 验证的样本有真阳性(True Positive, TP)、真阴性(True Negative, TN)、假阳性(False Positive, FP)和假阴性(False Negative, FN),可实现对 TP、TN、FP 和 FN 样本的临床检测,并可区分不同的临床样本,且发现该生物传感器相比于传统的 PCR 测试具有显著的响应。为了改进电性能,OGURCOVS A 团队^[89]用磁控溅射在室温下制造出基于 Al:ZnO 薄膜晶体管(Thin Film Transistor, TFT)的、沟道长度/宽度比为 12.35、沟道厚度为 50 nm 的 FET 生物传感器,它是通过聚酰亚胺基板上的水电解质进行栅控的,表现出高场效应迁移率(μ 为 6.85 cm^2/Vs),并研究了 DNA 适配体浓度对水栅控 Al:ZnO TFT 生物传感器电导率的影响,其良好的电性能、低温处理和低工作电压使此器件有望用于温度敏感基底上的生物传感方面,其聚合物衬底也使其 FET 器件可以用于柔性电子领域。

为提高分离扩展栅场效应晶体管(SEGFET)生物传感器的检测稳定性,ZHANG Q 等^[90]用有机电子学对离子敏感浮栅进行了表面功能化,其结构分为两个核心组件:FET 和传感垫,它们在空间中相互隔离,其 FET 将因为不会受到生物溶液的化学腐蚀/损坏提供高重复性和稳定性。YU J 等^[91]提出将分离扩展栅极 AlGaAs/GaAs 高电子迁移率晶体管(High Electron Mobility Transistor, HEMT)生物传感器用于前列腺特异性抗原(PSA)检测,如图 15,图(a)为 HEMT 的结构(包括衬底、缓冲层、沟道层、栅极下的介质层和源漏

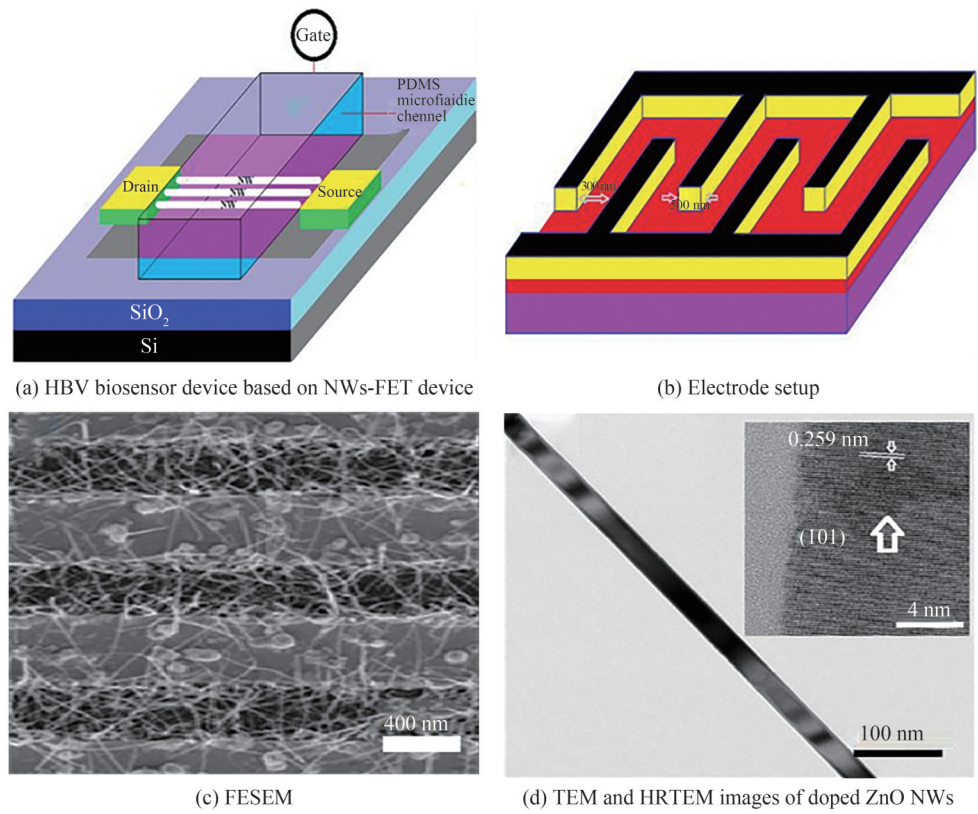


图 14 生物传感器装置及其纳米线表征^[15]
 Fig. 14 Characterization of biosensor device and its nanowires^[15]

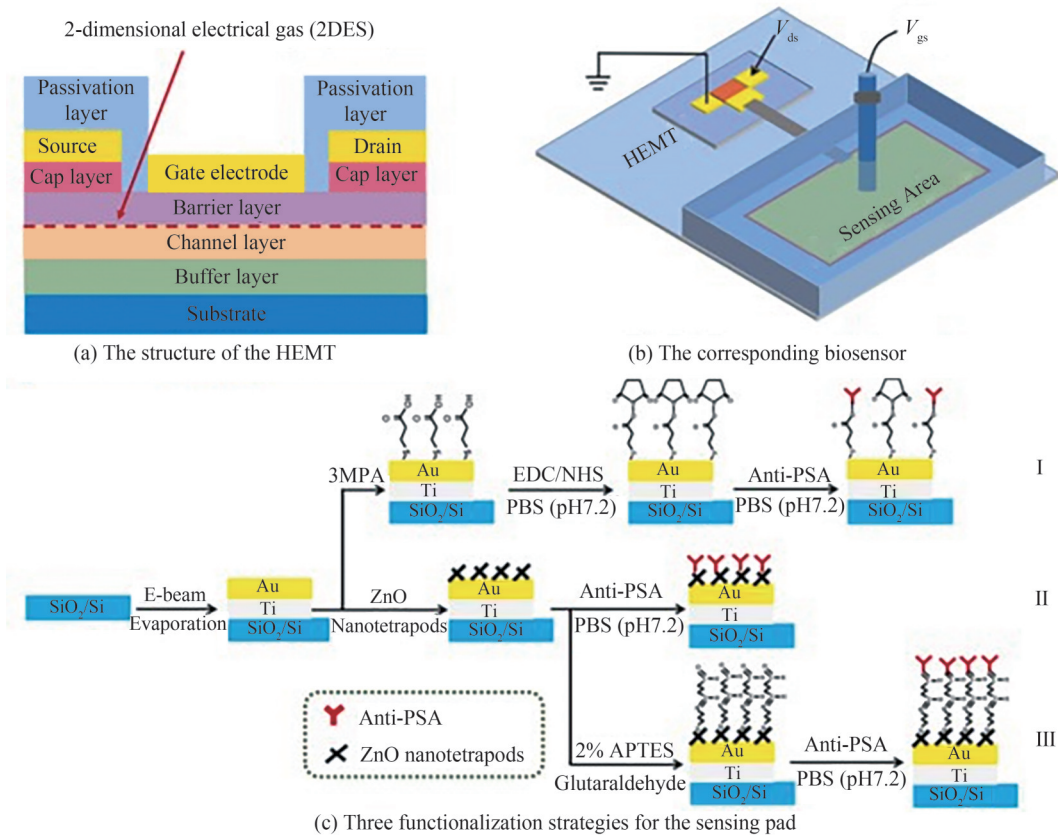


图 15 分离扩展栅极 AlGaAs/GaAs HEMT 生物传感器^[91]
 Fig. 15 Separated extended gate AlGaAs/GaAs HEMT biosensor^[91]

极),图(b)为相应的生物传感器(其敏感区与HEMT分离),图(c)为感应垫的三种功能化策略。其中使用普通的金膜(在Ti/SiO₂/Si上)作为传感垫,生物传感器的检测性能和稳定性是不理想的。通过ZnO修饰金膜表面(即ZnO/Ti/SiO₂/Si上),将具有四足结构的纳米氧化锌(T-ZnO)把四足类药物引入传感垫上,形成一个三维(3D)凹面检测前沿,此3D凹面检测前沿的T-ZnO可以提供更多的生物修饰位点、具有较弱的德拜屏蔽,从而大大提高检测范围和灵敏度。四足构型的亲水性T-ZnO纳米结构可以有效释放水(湿气),减少Au膜上的应力 and 侵蚀作用,有助于提高生物传感器在生物溶液中的长期空气稳定性和测试重复性。化学修饰法可以提供更多的生物修饰位点和更大的电容调节能力,能进一步提高了检测范围和灵敏度。此外,构建检测前沿的优化功能化策略可以成为实现高性能场效应晶体管生物传感器的通用技术。

2.4 其他 ZnO 生物传感器

压电生物传感器是利用压电材料对表面电极区附着质量的敏感性,并结合生物分子之间的特异性识别,使压电晶体表面产生微小的压力变化,引起其振动频率改变来测试生物分子的检测方法。具有非中心对称纤锌矿结构的ZnO是一种广泛用于压电生物传感器的典型压电材料^[92],压电ZnO基复合材料已被用于心脏手术植入式生物医学系统的灵敏的传感器。ZHANG X等^[93]设计并制备了柔性微米ZnO复合材料的压电生物传感器,先采用化学浴沉积(Chemical Bath Deposition, CBD)工艺在水溶液中成功地合成了ZnO微米棒(MR),通过改变不同形状、浓度和填料的连通性以提高ZnO压电复合材料的机械、介电和压电性能;并研究了提高其压电响应的优化策略,通过CBD和介电泳(Dielectrophoresis, DEP)工艺的结合排列ZnO MR压电复合材料开发出创新的紧凑和生物相容的力传感装置,这种技术实现了二尖瓣(Mitral Valve, MV)的实时精确表征,为在协助外科医生MV修复手术中提供了坚实的科技支撑。

基于肌酐酶修饰的ZnO NWs的自供电的压电生物传感器,是2021年WANG M等^[94]制备的,其制备流程和结构如图16。该流程包括水热合成、转移印刷、光刻、钛电极的电子束蒸发和ZnO纳米线的酶培养等,在特异性检测汗液中的肌酐时其压电输出电压由压电效应和酶促反应(压电-酶-反应效应)的耦合效应提供并且依赖于肌酐浓度,因此,压电输出不仅可提供电能还可以视为生物传感信号,此研究结果可用于检测人体的肌酐水平,在预测相关疾病方面具有很大的潜力。随后NING Z团队^[95]通过ZnO纳米阵列的水伏-生物传感耦合效应,实现了婴儿尿布中用于实时监测新生儿黄疸的自供电可穿戴生物传感器,该装置的生物传感工作机理如图17。其中图(a)、(b)为自供电穿戴式生物传感器的发电过程:当液体被吸到ZnO纳米阵列表面时,由于CE(接触起电)效应,ZnO中的自由电子可以移动到液滴与ZnO接触区域附近,导致电荷转移,ZnO会由于其表面的固-液接触带电而产生负电荷。图(c)~(f)显示了该装置的生物传感过程:当设备利用ZnO纳米阵列上流动的尿液与胆红素钠接触时,胆红素与胆红素氧化酶(Box)之间会发生酶促反应;可产生依赖于胆红素(浓度不同溶液的pH不同)的水伏输出;证实氢氧根离子确实能影响器件的输出电压,表明该装置的生物传感行为可以归因于酶反应和水伏打效应的耦合。其水电压输出既可以作为电源,也可以作为生物传感信号,因此该装置无需外接电源,且系统可以独立工作。这项工作可以促进下一代生物传感器和生理监测系统的发展,能扩大自供电技术在智能医疗领域的应用。

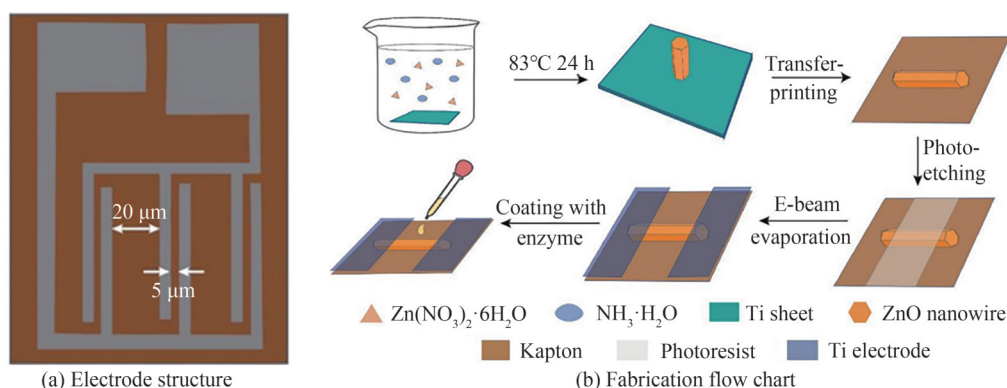
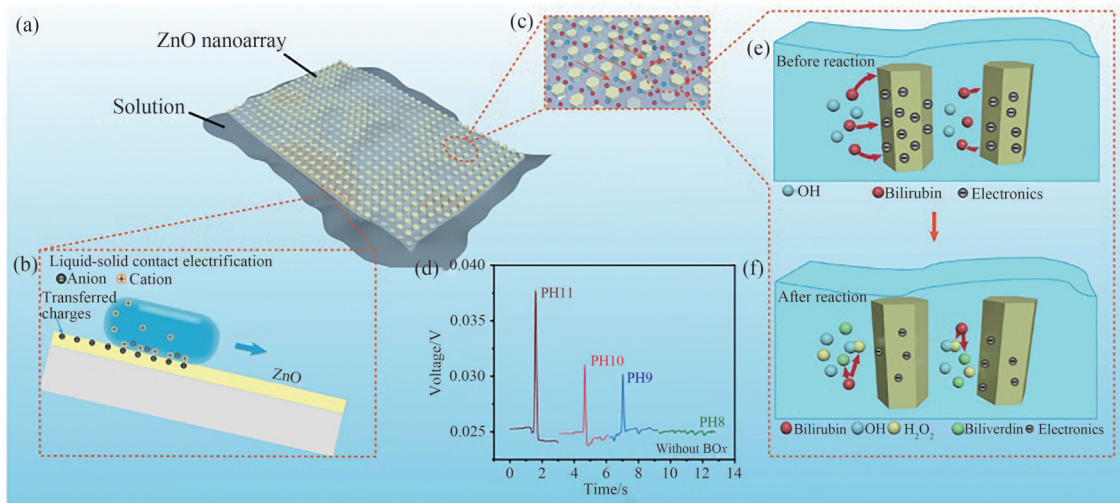


图16 自供电肌酐生物传感器^[94]
 Fig. 16 Self-powered creatinine biosensor^[94]

图 17 自供电可穿戴生物传感器的工作机理示意^[95]Fig. 17 Schematic diagram of self-powered wearable biosensors in baby diapers^[95]

一种多功能生物芯片也被研发出来,GEDDA G等^[96]制备出基质辅助激光解吸/电离质谱(Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization-Mass Spectrometry, MALDI-MS)分析的表面改性 ZnO 纳米棒阵列生物芯片,展示了使用表面改性 ZnO NR 阵列芯片对纳米液滴中的细菌进行片上检测、预浓缩、分离以及随后的 MALDI-MS 分析。其表面改性的 ZnO NR 阵列是用化学方法在铝箔上制备的,研究了在 ZnO NR 阵列芯片上标准蛋白的 MALDI-MS 谱,发现表面改性的 ZnO NR 阵列衬底显著提高了分析物的电离,并有效地抑制了背景噪声,得到了干净的质谱高分辨率和优良信号强度,最低可检测浓度细菌细胞为 1.9×10^2 cfu μL^{-1} ,样品分析所需的最小体积为 50 μL 。因此,可作为一种有效的亲和探针,用于海水和尿液中细菌的检测和分离,该多功能生物芯片将来可以作为一种有效的细菌检测平台。

一种基于 ZnO 和还原氧化石墨烯(rGO)络合物(ZnO@rGO)^[97]的三明治型低噪声功率放大器(Low Noise Amplifier, LNA)电化学生物芯片被构建。它以金纳米笼子(Au NCs)为支撑进行信号放大,合成了 Au NC 和巯基(SH)修饰的锁定核酸-1(Au NC@LNA-1)探针,并在生物芯片表面形成稳定的 Au-S 键;通过互补碱基配对与 NDM-1 连接,形成 Au NC@LNA-1/NDM-1/Au NC@LNA-2“三明治状”复合物。该复合物可以与目标序列的额外副本结合,进一步放大它的检测信号;发现特异性 LNA 探针能识别出单碱基错配,并对目标 DNA 分子表现出亲和力,导致 NDM-1 在复杂的临床细菌样本中无需 PCR 扩增即可直接检测,表明其 NDM-1 耐药菌的超灵敏检测在早期临床诊断方面的潜在应用。

3 总结与展望

本文在生物传感器和纳米 ZnO 材料的优势背景基础上,阐述了 ZnO 纳米结构和生物传感器的结合不仅拓宽了半导体纳米材料的应用领域,而且促进了生物传感器的技术革新,并提高了生物传感器在各个领域的应用地位。首先介绍了 ZnO 纳米材料的几种主要合成方法及其表征,不同形貌、不同掺杂改性纳米 ZnO 和不同异构复合改性及其在光催化、传感、光电器件等应用价值。随后归纳了基于纳米 ZnO 的生物传感器的发展和应用情况,主要包括电化学传感器、光学传感器和场效应晶体管传感器方面,以及利用新技术如压电 ZnO 纳米生物传感器、ZnO 生物传感芯片;分别描述了每种传感器的结构、传感机制和近期研究进展。尽管近年来一些 ZnO 纳米生物传感器已经实现了良好的传感性能,但仍有许多挑战待克服。首先,虽然 n 型 ZnO 材料的制备已经趋于成熟,但是高质量稳定的 p 型 ZnO 纳米材料依旧是成为材料合成的瓶颈,严重制约了 ZnO 纳米生物传感器的发展。其次,如何进一步提高 ZnO 纳米生物传感器的响应性与灵敏度依旧是一个值得研究的方向。最后,目前 ZnO 纳米生物传感器多是单功能的,如何实现高度集成和多功能化的 ZnO 纳米生物传感器是未来发展的必然趋势。

为了解决以上问题,未来 ZnO 纳米生物传感器的研究将集中于以下几个方面:p 型纳米 ZnO 的合成需

要进一步进行完善以制备高质量稳定 p 型 ZnO 纳米材料;通过进行掺杂、或引入表面催化剂或不同表面的异质复合来改进纳米 ZnO 的敏感性能,从而提高生物传感器的灵敏度与响应性;通过优化器件结构,减小器件的物理尺寸,增加 ZnO 与其他材料的兼容性等方面来提高生物传感器的集成度,有助于开发多元化、及时检测的微型设备。另外研究不同结构 ZnO 对各种生物分子的敏感性、不同生物分子在纳米 ZnO 表面的固定技术,以实现具有更多功能的生物传感器,也为 ZnO 纳米生物传感器在医学领域的深入拓展提供巨大潜力。

参考文献

- [1] LIU Tao, ZHANG Wenjun, ZHANG Guofeng, et al. Application of nanotechnology in traditional Chinese medicine [J]. *Pharmaceutical Research*, 2022, 41(3): 187-201.
刘涛, 张文君, 张国锋, 等. 纳米技术在中药中的应用[J]. *药学研究*, 2022, 41(3): 187-201.
- [2] HAN Xueqing, YANG Zexiao, LIN Xiangmei. A promising biological detection technology—biosensor [J]. *China Biotechnology*, 2008, 28(5): 141-147.
韩雪清, 杨泽晓, 林祥梅. 极具应用前景的生物学检测技术——生物传感器[J]. *中国生物工程*, 2008, 28(5): 141-147.
- [3] WANG Lijiang, CHEN Songyue, LIU Qingjun, et al. Application of nanotechnology in biosensors and detection [J]. *Journal of Sensing Technology*, 2006, 19(3): 581-587.
王丽江, 陈松月, 刘清君, 等. 纳米技术在生物传感器及检测中的应用[J]. *传感技术学报*, 2006, 19(3): 581-587.
- [4] MAO Weiwei. Preparation of metal oxide nanostructures and research on electrochemical glucose sensing [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2019: 16-25.
冒伟伟. 金属氧化物纳米结构的制备及电化学葡萄糖传感研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2019: 16-25.
- [5] ANDREJ D, MARIJA K. Effect of pH and impurities on the surface charge of zinc oxide in aqueous solution [J]. *Journal of the European Ceramic Society*, 2000, 20(6): 667-673.
- [6] NEWMAN M D, STOTLAND M, ELLIS J I. The safety of nanosized particles in titanium dioxide- and zinc oxide-based sunscreens [J]. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2009, 61(4): 685-692.
- [7] HATAMIE A, KHAN A, GOLABI M, et al. Zinc oxide nanostructure-modified textile and its application to biosensing, photocatalysis, and as antibacterial material [J]. *Langmuir*, 2015, 31(39): 10913-10921.
- [8] BARMAN B, SWAMI S K, DUTTA V. Fabrication of highly conducting ZnO/Ag/ZnO and AZO/Ag/AZO transparent conducting oxide layers using RF magnetron sputtering at room temperature [J]. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 2021, 129: 105801.
- [9] YIN Fengli, ZHI Minliu, YAN Liliu, et al. A mediator-free phenol biosensor based on immobilizing tyrosinase to ZnO nanoparticles [J]. *Analytical Biochemistry*, 2006, 349(1): 33-40.
- [10] CHEN Xi, LIU Dali. Temperature stability of ZnO-based love wave biosensor with SiO₂ buffer layer [J]. *Sensors and Actuators A: Physical*, 2009, 156(2): 317-322.
- [11] ZHAO M, HUANG J, ZHOU Y, et al. Controlled synthesis of spinel ZnFe₂O₄ decorated ZnO heterostructures as peroxidase mimetics for enhanced colorimetric biosensing [J]. *Chemical Communications*, 2013, 49(69): 7656-7658.
- [12] BAGYALAKSHMI S, SIVAKAMI A, BALAMURUGAN K S. A ZnO nanorods based enzymatic glucose biosensor by immobilization of glucose oxidase on a chitosan film [J]. *Obesity Medicine*, 2020, 18: 100229.
- [13] EVENESS J, CAO L, KIELY J, et al. Equivalent circuit model of a non-faradaic impedimetric ZnO nano-crystal biosensor [J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2022, 906: 116003.
- [14] KIRAN G, KRISHNA R, DWIVEDI P, et al. Analytical modeling of MgZnO/ZnO MOSHEMT based biosensor for biomolecule detection [J]. *Micro and Nanostructures*, 2022, 163: 107130.
- [15] SHARIATI M, SADEGHI M, REZA SHOJAEI S H. Sensory analysis of hepatitis B virus DNA for medicinal clinical diagnostics based on molybdenum doped ZnO nanowires field effect transistor biosensor: a comparative study to PCR test results [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2022, 1195: 339442.
- [16] BARIK S, SRIVASTAVA AK, MISRA P, et al. Alumina capped ZnO quantum dots multilayer grown by pulsed laser deposition [J]. *Solid State Communications*, 2003, 127(6): 463-467.
- [17] WANG Z L. Nanostructures of zinc oxide [J]. *Materials Today*, 2004, 7(6): 26-33.
- [18] VAYSSIERES L, KEIS K, HAGFELDT A, et al. Three-dimensional array of highly oriented crystalline ZnO microtubes [J]. *Chemistry of Materials*, 2001, 13(12): 4395-4395.
- [19] VAYSSIERES L. Growth of arrayed nanorods and nanowires of ZnO from aqueous solutions [J]. *Advanced Materials*, 2003, 15(5): 464-466.
- [20] GREENE L E, LAW M, GOLDBERGER J, et al. Low-temperature wafer-scale production of ZnO nanowire arrays [J]. *Angewandte Chemie-International Edition*, 2003, 42(26): 3031-3034.
- [21] TAK M, GUPTA V, TOMAR M. Flower-like ZnO nanostructure based electrochemical DNA biosensor for bacterial

- meningitis detection[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2014, 59: 200-207.
- [22] LI Lin, WANG Xuewen, ZHANG Zhiyong, et al. Preparation of ZnO nanorods by water bath method and their field emission properties [J]. *Acta Photonica Sinica*, 2009, 38(10):2525-2529.
李林, 王雪文, 张志勇, 等. 水浴法制备 ZnO 纳米棒及其场发射性能[J]. *光子学报*, 2009, 38(10): 2525-2529.
- [23] YAN Junfeng, YOU Guitian, ZHANG Zhiyong, et al. Effect of Sb-doping on the morphology and dielectric properties of chrysanthemum-like ZnO nanowire clusters[J]. *Chinese Physics B*, 2012, 21(9): 098001.
- [24] ZHANG Z, XU M, LIU L, et al. Novel SnO₂@ZnO hierarchical nanostructures for highly sensitive and selective NO₂ gas sensing[J]. *Sensors and Actuators B*, 2018, 257: 714-727.
- [25] ZHANG Shilong, LI Zhendong, XU Ruicheng, et al. Research progress on the preparation of nanowires by hydrothermal method [J]. *Journal of Synthetic Crystals*, 2019, 48(3): 461-469.
张仕龙, 李震东, 徐瑞成, 等. 水热法制备纳米线研究进展[J]. *人工晶体学报*, 2019, 48(3): 461-469.
- [26] SEKIGUCHI T, MIYASHITA S, OBARA K, et al. Hydrothermal growth of ZnO single crystals and their optical characterization[J]. *Journal of Crystal Growth*, 2000, 214/215:72-76.
- [27] KHAN R, UTHIRAKUMAR P, BAE K B, et al. Localized surface plasmon enhanced photoluminescence of ZnO nanosheets by Au nanoparticles[J].*Materials Letters*, 2016, 163:8-11.
- [28] WANG W W, DIAO X G, WANG Z, et al. Preparation and characterization of high-performance direct current magnetron sputtered ZnO: Al films[J].*Thin Solid Films*, 2005, 491(1/2): 54-60.
- [29] CHOOPUN S, HONGSITH N, MANGKORNTONG P, et al. Zinc oxide nanobelts by RF sputtering for ethanol sensor [J]. *Physica E*, 2007, 39: 53-56.
- [30] GHORANNEVIS Z, HOSSEINNEJAD M T, HABIBI M, et al. Effect of substrate temperature on structural, morphological and optical properties of deposited Al/ZnO films[J]. *Journal of Theoretical and Applied Physics*, 2015, 9(1): 33-38.
- [31] SIVASAKTHI P, AMIR H, SORNAMBIKAI S, et al. Substrate temperature induced enhanced selectivity and sensitivity for nanomolar gallic acid detection on RF magnetron sputtered ZnO/GS thin film electrode [J]. *Sensors and Actuators A*, 2020, 315: 112368.
- [32] CORREA M A, FERREIRA A, TROMER R M, et al. Improving the room-temperature ferromagnetism in ZnO and low-doped ZnO:Ag films Using GLAD Sputtering[J]. *Materials*, 2021, 14(18): 5337.
- [33] LEE S, JOUNG Y H, YOON Y K, et al. Preparation of a ZnO nanostructure as the anode material using RF magnetron sputtering system[J]. *Nanomaterials*, 2022; 12(2): 215-219.
- [34] CHEN C, HE G, ZHANG Z Y, et al. Growth mechanism of novel scaly CNFs@ZnO nanofibers structure and its photoluminescence property[J]. *Applied Surface Science*, 2019, 491: 75-82.
- [35] CHEN C, HAUFFMAN T, ZHANG Z Y, et al. Exploration and mechanism analysis: the maximum ultraviolet luminescence limits of ZnO/few-layer graphene composite films [J]. *Applied Surface Science*, 2020, 503: 144169.
- [36] SPANHEL L, ANDERSON M A. Semiconductor clusters in the sol-gel process-quantized aggregation, gelation, and crystal-growth in concentrated ZnO colloids[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1991, 113(8): 2826-2833.
- [37] HOSSAIN M K, GHOSH S C, BOOTONGKANG Y, et al. Growth of zinc oxide nanowires and nanobelts for gas sensing[J]. *Journal of Metastable and Nanocrystalline Materials*, 2005, 23: 27-30.
- [38] RANI S, SURI P, SHISHODIA P, et al. Synthesis of nanocrystalline ZnO powder via sol-gel route for dye-sensitized solar cells[J]. *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 2008, 92(12): 1639-1645.
- [39] ZAK A K, YOUSEFI R, MAJID W H, et al. Facile synthesis and X-Ray peak broadening studies of Zn_{1-x}Mg_xO nanoparticles[J]. *Ceramics International*, 2012, 38: 2059-2064.
- [40] JI Hongfen, ZHANG Zhiyong, CHONG Lanxiang, et al. Experimental study on the preparation of Co-doped ZnO nanopowders by sol-gel method[J]. *Functional Materials*, 2009, 38(S): 1018-1021.
纪红芬, 张志勇, 种兰祥, 等. 溶胶-凝胶法制备 Co 掺杂 ZnO 纳米粉体的实验研究[J], *功能材料*, 2009, 38(S):1018-1021.
- [41] WANG Feng, ZHANG Zhiyong, YAN Junfeng, et al. Preparation and properties of ZnO-SnO₂ transparent conductive thin films[J]. *Chinese Journal of Photonics*, 2009, 38(12): 3121-3125.
王峰, 张志勇, 闫军锋, 等. ZnO-SnO₂透明导电薄膜的制备及性能研究[J]. *光子学报*, 2009, 38(12): 3121-3125.
- [42] YAN Junfeng, ZHANG Zhiyong, YOU Tiangui, et al. Preparation and electromagnetic properties of Nano-ZnO powder [J]. *Journal of Northwestern University (Natural Science Edition)*, 2010, 40(5): 787-792.
闫军锋, 张志勇, 游天桂, 等. 纳米 ZnO 粉体的制备及其电磁性能[J]. *西北大学学报(自然科学版)*, 2010, 40(5): 787-792.
- [43] LIU Jin, LV Yuanyuan, ZHANG Zhiyong, et al. ZnO/graphene films prepared by sol-gel method and the effect of annealing temperature on their photoluminescence (English) [J]. *Rare Metal Materials and Engineering*, 2017, 46(4):

- 888-892.
- 刘进,吕媛媛,张志勇,等.溶胶-凝胶法制备氧化锌/石墨烯薄膜和退火温度对其光致发光的影响(英文)[J].稀有金属材料与工程,2017,46(4):888-892.
- [44] JING Jipeng, LIN Lihua, YANG Kaiyu, et al. Highly efficient inverted quantum dot light-emitting diodes employing sol-gel derived Li-doped ZnO as electron transport layer[J]. *Organic Electronics*, 2022, 103: 106466.
- [45] ZHENG Jiabin, LUO Yinqi, WEN Xinbo, et al. Induced crystallization of sol-gel-derived zinc oxide for efficient non-fullerene polymer solar cells[J]. *Journal of Materials Chemistry A*, 2021, 9: 9616-9623.
- [46] YAMAMOTO Y, SAITO K, TAKAHASHI K, et al. Preparation of boron-doped ZnO thin films by photo-atomic layer deposition[J]. *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 2001, 65(1-4): 125-132.
- [47] LIM J, LEE C. Effects of substrate temperature on the microstructure and photoluminescence properties of ZnO thin films prepared by atomic layer deposition[J]. *Thin Solid Films*, 2007, 515(7-8): 3335-3338.
- [48] GUZIEWICZ E, KOWALIK IA, GODLEWSKI M, et al. Extremely low temperature growth of ZnO by atomic layer deposition[J]. *Journal of Applied Physics*, 2008, 103(3): 033515.
- [49] FANG L, LI H, MA X, et al. Optical properties of ultrathin ZnO films fabricated by atomic layer deposition [J]. *Applied Surface Science*, 2020, 527: 146818.
- [50] HAGA H, JINNAI M, OGAWA S, et al. Rapid fabrication of ZnO film by electrochemical deposition method from aqueous solution[J]. *Electrical Engineering in Japan*, 2021, 214(2): 357-363.
- [51] KUMAR S, SAHARE P D, KUMAR S. Optimization of the CVD parameters for ZnO nanorods growth: Its photoluminescence and field emission properties[J]. *Materials Research Bulletin*, 2018, 105: 237-245.
- [52] NARIN P, KUTLU-NARIN E, LISESIVDIN S B. Growth dynamics of mist-CVD grown ZnO nanoplatelets [J]. *Physica B-Condensed Matter*, 2021, 614: 413028.
- [53] SHI F, XU J, HU Z, et al. Bird nest-like zinc oxide nanostructures for sensitive electrochemical glucose biosensor[J]. *Chinese Chemical Letters*, 2021, 32(10): 3185-3188.
- [54] CHAKRABORTY B, SAHA R, CHATTOPADHYAY S, et al. Impact of surface defects in electron beam evaporated ZnO thin films on FET biosensing characteristics towards reliable PSA detection[J]. *Applied Surface Science*, 2021, 537: 147895.
- [55] DZYADEVYCH S V, ARKHYPOVA V N, SOLDATKIN A P, et al. Amperometric enzyme biosensors: past, present and future[J]. *ITBM-RBM*, 2008, 29: 171-180.
- [56] ZHU Qiangyun, LI Lun, CHEN Xuelan. Development and application of biosensors[J]. *Health Research*, 2019, 48(3): 512-516.
- 朱蕾云,李伦,陈雪岚.生物传感器发展及其应用[J].卫生研究,2019,48(3):512-516.
- [57] MONOŠÍK R, STREĎANSKÝ M, ŠTURDÍK E. Biosensors-classification, characterization and new trends[J]. *Acta Chimica Slovaca*, 2012, 5(1): 109-120.
- [58] TAK M, GUPTA V, TOMAR M. An electrochemical DNA biosensor based on Ni doped ZnO thin film for meningitis detection[J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2017, 792: 8-14.
- [59] LIU Y L, YANG Y H, YANG H F, et al. Nanosized flower-like ZnO synthesized by a simple hydrothermal method and applied as matrix for horseradish peroxidase immobilization for electro-biosensing[J]. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2005, 99(10): 2046-2053.
- [60] NAGAL V, KUMAR V, KHAN M, et al. A highly sensitive uric acid biosensor based on vertically arranged ZnO nanorods on a ZnO nanoparticle-seeded electrode[J]. *New Journal of Chemistry*, 2021, 45(40): 18863-18870.
- [61] ERYIGIT M, URHAN BK, DOGAN HO, et al. ZnO nanosheets-decorated ERGO layers: an efficient electrochemical sensor for non-enzymatic uric acid detection[J]. *IEEE Sensors Journal*, 2022, 22(6): 5555-5561.
- [62] VERMA S, ARYA P, SINGH A, et al. ZnO-rGO nanocomposite based bioelectrode for sensitive and ultrafast detection of dopamine in human serum[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2020, 165: 112347.
- [63] RASHED M A, FAISAL M, HARRAZ F A, et al. A highly efficient nonenzymatic hydrogen peroxide electrochemical sensor using mesoporous carbon doped ZnO nanocomposite[J]. *Journal of the Electrochemical Society*, 2021, 168(2): 027512.
- [64] WANG J, ZHAO J, YANG J, et al. An electrochemical sensor based on MOF-derived NiO@ZnO hollow microspheres for isoniazid determination[J]. *Microchimica Acta*, 2020, 187: 380-388.
- [65] DAIZY M, ALI M R, BACCHU M S, et al. ZnO hollow spheres arrayed molecularly-printed-polymer based selective electrochemical sensor for methyl-parathion pesticide detection[J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2021, 24: 101847.
- [66] FALLATAH A, KUPERUS N, ALMOMTAN M, et al. Sensitive biosensor based on shape-controlled ZnO nanostructures grown on flexible porous substrate for pesticide detection[J]. *Sensors*, 2022, 22(9): 3522-3529.
- [67] GUNAVATHANA S D, GIRIJA S, WILSON J, et al. ZnO nanorods bonded polythiophene nanocomposite: an

- enhanced electrochemical voltammetric biosensing of L-tryptophan[J]. *Bulletin of Materials Science*, 2022, 45(2): 57.
- [68] MYNDRUL V, COY E, BABAYEVSKA N, et al. MXene nanoflakes decorating ZnO tetrapods for enhanced performance of skin-attachable stretchable enzymatic electrochemical glucose sensor [J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2022, 207: 114141.
- [69] GUO Shouyue, SHAN Shijun, DENG Lingfu. The principle of SPR prism sensor to measure the refractive index of liquid [J]. *Physical Experiments*, 2006, 11: 39-42.
郭守月, 单士军, 邓灵福. SPR棱镜传感器测量液体折射率的原理[J]. *物理实验*, 2006, 11: 39-42.
- [70] KIM H M, PARK J H, LEE S K. Fiber optic sensor based on ZnO nanowires decorated by Au nanoparticles for improved plasmonic biosensor[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9: 15605.
- [71] PAL S, PRAJAPATI Y K, SAINI J P. Influence of graphene's chemical potential on SPR biosensor using ZnO for DNA hybridization[J]. *Optical Review*, 2020, 27: 57-64.
- [72] WANG Y, ZHANG M, MA H, et al. Surface plasmon resonance from Gallium-Doped Zinc Oxide nanoparticles and their electromagnetic enhancement contribution to surface-enhanced raman scattering [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2021, 13(29): 35038-35045.
- [73] MUDGAL N, SAHARIA A, AGARWAL A, et al. ZnO and bi-metallic (Ag-Au) layers based surface plasmon resonance (SPR) biosensor with BaTiO₃ and graphene for biosensing applications[J]. *IETE Journal of Research*, 2020, 12: 1844074.
- [74] CHEN S, HU S, WU Y, et al. Ultrasensitive biosensor with hyperbolic metamaterials composed of silver and Zinc Oxide [J]. *Nanomaterials*, 2021, 11(9): 2220.
- [75] YADAV A, KUMAR A, SHARAN P. Sensitivity enhancement of a plasmonic biosensor for urine glucose detection by employing black phosphorous[J]. *Journal of the Optical Society of America B-Optical Physics*, 2022, 39(1): 200-206.
- [76] YANG H, ZHAO X, ZHANG Z, et al. Biotin-streptavidin sandwich integrated PDA-ZnO@Au nanocomposite based SPR sensor for hlgG detection[J]. *Talanta*, 2022, 246: 123496.
- [77] HAO Bojuan, WANG Kaige, ZHOU Yukun, et al. Label-free detecting the compaction and decompaction of ctDNA molecules induced by surfactants with SERS based on nanoPAA-ZnCl₂-AuLs solid substrate[J]. *ACS Omega*, 2020, 52: 1109-1119.
- [78] SUIChaofan, WANG Kaige, WANG Shuang, et al. SERS activity with tenfold detection limit optimization on a type of nanoporous AAO-based complex multilayer substrate[J]. *Nanoscale*, 2016, 8(11): 5920-5927.
- [79] ZHANG Ruihong, ZHU Jie, SUN Dan, et al. The mechanism of dynamic interaction between doxorubicin and calf thymus DNA at the single-molecule level based on Confocal Raman spectroscopy[J]. *Micromachines*, 2022, 13(6): 940.
- [80] ZHOU Yukun, DANG Yang, WANG Kaige, et al. A stable nanoPAA-ZnO/ZnCl₂ composite with variable 3D structured morphology and sustained superhydrophilicity[J]. *Langmuir*, 2021, 37: 5457-5463.
- [81] LIU Chunyan, XU Xiaohui, WANG Changding, et al. ZnO/Ag nanorods as a prominent SERS substrate contributed by synergistic charge transfer effect for simultaneous detection of oral antidiabetic drugs pioglitazone and phenformin [J]. *Sensors & Actuators: B: Chemical*, 2020, 307: 127634.
- [82] SUN Q, ZHANG Q Y, ZHOU N, et al. Silver-coated flower-like ZnO nanorod arrays: ultrastable SERS substrates and the mechanisms of optical stability[J]. *Applied Surface Science*, 2020, 526: 146565.
- [83] AMOUZADEH T M, FERRE-BORRULL J, MARSAL L F, et al. Highly sensitive IRS based biosensor for the determination of cytochrome c as a cancer marker by using nanoporous anodic alumina modified with trypsin[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2020, 149: 111828.
- [84] LI J P H, KENNEDY E M, ADESINA A A, et al. Mechanistic insights into the Knoevenagel condensation reaction over ZnO catalysts: direct observation of surface intermediates using in situ FTIR[J]. *Journal of Catalysis*, 2019, 369: 157-167.
- [85] BERGVELD P. Development of an ion-sensitive solid-state device for neurophysiological measurements [J]. *IEEE Transactions on Bio-medical Engineering*, 1970, 17(1): 70-71.
- [86] AHMAD R, MAHMOUDI T, AHN M S, et al. Recent advances in nanowires-based field-effect transistors for biological sensor applications. [J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2018, 100: 312-325.
- [87] DU X, LI Y, MOTLEY JR, et al. Glucose sensing using functionalized amorphous In-Ga-Zn-O field-effect transistors [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2016, 8(12): 7631-7637.
- [88] BHAT K S, AHMAD R, MAHMOUDI T, et al. High performance chemical sensor with field-effect transistors array for selective detection of multiple ions [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2021, 417: 128064.
- [89] OGURCOVS A, KADIWALA K, SLEDEVSKIS E, et al. Effect of DNA aptamer concentration on the conductivity of a water-gated Al:ZnO thin-film transistor-based biosensor[J]. *Sensors*, 2022, 22(9): 3408.
- [90] ZHANG Q, MAJUMDAR H S, KAISTI M, et al. Surface functionalization of ion-sensitive floating-gate field-effect transistors with organic electronics[J]. *IEEE Transactions on Electron Devices*, 2015, 62: 1291-1298.
- [91] YU J, GAO G, SUN B, et al. Optimization of sensing-pad functionalizing strategy toward separative extended-gate FET

- biosensors for PSA detection[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2022, 211: 114597.
- [92] ZHANG K M, ZHAO Y P, HE F Q, et al. Piezoelectricity of ZnO films prepared by sol-gel method[J]. *Chinese Journal of Chemical Physics*, 2007, 20: 721-726.
- [93] ZHANG X, VILLAFUERTE J, CONSONNI V, et al. Optimization strategies used for boosting piezoelectric response of biosensor based on flexible micro-ZnO composites[J]. *Biosensors-Basel*, 2022, 12(4): 245.
- [94] WANG M, ZI G, LIU J, et al. Self-powered biosensor for specifically detecting creatinine in real time based on the piezo-enzymatic-reaction effect of enzyme-modified ZnO nanowires[J]. *Biosensors-Basel*, 2021, 11(9): 342.
- [95] NING Z, LONG Z, YANG G, et al. Self-powered wearable biosensor in a baby diaper for monitoring neonatal jaundice through a hydrovoltaic-biosensing coupling effect of ZnO nanoarray[J]. *Biosensors-Basel*, 2022, 12(3): 164.
- [96] GEDDA G, WU Huifen. Fabrication of surface modified ZnO nanorod array for MALDI-MS analysis of bacteria in a nanoliter droplet: a multiple function biochip[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2019, 288: 667-677.
- [97] ZHANG Liqun, LIANG Wenbin, RAN Qiaosheng, et al. Ultrasensitive detection of NDM-1 resistant bacteria based on signal amplification with sandwich-type LNA electrochemical biochips[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2020, 306: 127556.

Research Progress of Biosensors Based on Nano-zinc Oxide (Invited)

WANG Xuewen¹, XU Zhengyan^{1,2}, WANG Kaige², ZHANG Zhiyong¹, ZHAO Wu¹

(1 *School of Information Science and Technology, Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710072, China*)

(2 *School of Physics, Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710072, China*)

Abstract: With the increasing application of biosensors, the development of new biosensors has become an important strategy for the development of science and technology in the world. Scientists have cross-infiltrated nanotechnology and biotechnology to form nanobiotechnology, and develop nanobiosensors. Compared with traditional biosensors, due to the enhanced electron transfer kinetics and strong adsorption capacity of nanomaterials, it provides higher stability for bioelectrodes, high surface-to-volume ratio for higher biomolecule loading, and a high level of stability for the bioelectrode. Biomolecules including enzymes, antibodies, microorganisms, DNA and other proteins can be immobilized to provide a suitable microenvironment. Therefore, nanomaterials can not only greatly improve the detection sensitivity of the sensor, but also provide a theoretical basis for the analysis of single molecule activity. The combination of nano and biology can also improve clinical efficacy and improve biological species, which can be used for microbial detection, monitoring of body fluids metabolites, and early detection of tissue lesions such as tumors. As a direct wide-bandgap semiconductor, ZnO has been used in electronic devices, optoelectronic devices, biosensors and other fields due to its excellent properties such as non-toxicity, good biocompatibility, stable physical and chemical properties, and it can take advantage of its high isoelectric point to bind and immobilize biomolecules with low isoelectric points such as proteins through electrostatic adsorption interactions. In particular, the research of biosensors based on nano-ZnO has become a new hot spot in the field of epidemic prevention and medical treatment. In this paper, we introduce several main preparation methods of nano-ZnO (including hydrothermal method, magnetron sputtering method, sol-gel method and atomic layer deposition method, etc.), their advantages and disadvantages, the excellent properties of the as-prepared ZnOs and the methods to enhance their properties (such as process optimization, doping, recombination, heterojunction, etc.) are comparatively analyzed. The article focuses on the application of nano-ZnO materials in the field of biosensors. The various unique advantages of ZnO nanomaterials enable different types of biomolecules to be successfully immobilized on their surfaces, so they have broad application prospects in the field of biosensors. The analytes most commonly used as detection materials include: lower molecular weight molecules (dopamine, uric acid, urea, and riboflavin), proteins (bovine serum albumin, immunoglobulin, streptavidin), nucleic acids (RNA, DNA), cells (cancer cells, infected cells), bacteria and many more. According to the different working principles of their signal processing components, the biosensors prepared by ZnO nanomaterials are divided into electrochemical sensors, optical sensors and field effect transistor sensors, and the use of new technologies such as piezoelectric ZnO nanobiosensors, ZnO biosensors chip and so on. Then the chitosan film is formed and fixed

on the glassy carbon electrode. The hydrogen ion concentration index electrode is an electrochemical sensor widely used in blood glucose meters. The glucose sensing of vertically grown ZnO nanorods combined with chitosan is investigated. And we introduce their structures, working principles and their outstanding performance and development status for biological detection in detail respectively. Finally, we prospect and summarize the current challenges and future development trends of nano-ZnO biosensors.

Key words: Zinc oxide; Biosensors; Nanomaterials; Optical sensors; Electrochemical sensors

OCIS Codes: 160.4236; 160.6000; 280.1415