

# 基于内标法的表面增强拉曼光谱 在定量分析中的应用

毕英娜<sup>1</sup>, 刘定斌<sup>2</sup>

(1. 齐鲁师范学院化学与化工学院, 济南 250200; 2. 南开大学化学学院, 天津 300071)

**摘要** 表面增强拉曼光谱(SERS)是一种已被广泛应用于疾病诊断、药物筛选及生物分析等领域的光谱检测方法,它不仅可以提供丰富的化学指纹信息,而且具有灵敏度高、抗光漂白和光降解能力强等优点.然而,由于SERS增强基底的结构均一性差和化学分子吸附数量的不确定性,导致检测结果重现性差,其定量分析面临诸多挑战.通过引入内标信号可以消除或减少外部干扰因素,从而实现SERS的准确定量分析.本文首先阐述了内标法的机理,然后介绍了内标法的主要类型,接着举例说明了内标型SERS探针在环境分析、食品药品分析以及生物分析等领域的应用,最后展望了内标型SERS面临的挑战及未来发展方向.

**关键词** 表面增强拉曼光谱; 定量分析; 内标法

中图分类号 O657.37

文献标志码 A

doi: 10.7503/cjcu20240457

## Internal Standard Method-based Surface-enhanced Raman Spectroscopy for Quantitative Analysis

BI Yingna<sup>1</sup>, LIU Dingbin<sup>2\*</sup>

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Qilu Normal University, Jinan 250200, China;

2. College of Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071, China)

**Abstract** Surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) is a spectral detection method that has been widely used in the fields of disease diagnosis, drug screening, and biological analysis, etc. It can not only provide rich chemical fingerprint information but also has the advantages of high sensitivity, resistance to photobleaching, and photodegradation. However, due to the poor uniformity of its enhancement matrix structure and the uncertainty of the number of chemical molecules adsorbed, the reproducibility of SERS detection results is poor, which makes it face many challenges in quantitative analysis. The deployment of internal standards could eliminate the external interference factors, thus achieving accurate quantitative analysis. We set out this review with a description of the mechanism of internal-standard methods, followed by introducing their main types. Thereafter, we introduced explanations of the applications of internal-standard probes in environmental analysis, food and drug analysis, and biological analysis. We conclude with an outlook of challenges and future development directions of internal-standard SERS.

**Keywords** Surface-enhanced Raman spectroscopy; Quantitative analysis; Internal standard method

拉曼散射现象是由印度物理学家Raman<sup>[1]</sup>于1928年发现的,其依据被测物在振动频率和强度方面的特征提供物质的指纹信息,促进了新型检测方法的问世.由于待测分子的拉曼散射光大约只有入射光的 $10^{-10}$ 倍,且被分析物的拉曼散射截面较小,使得原始拉曼信号强度低,在一段时间内限制了该技术的发展和应用.1974年,Fleishmen等<sup>[2]</sup>观察到吸附在粗糙的银电极表面的吡啶具有非常强的拉曼信

收稿日期: 2024-10-09. 网络首发日期: 2024-11-13.

联系人简介: 刘定斌,男,博士,教授,主要从事分子探针的设计、制备及生物医学检测方面的研究. E-mail: liudb@nankai.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 22425401, 22174072, 82373115)资助.

Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 22425401, 22174072, 82373115).

号,他将这种增强归因于表面积效应. 1977年, van Duyne等<sup>[3]</sup>和 Creighton等<sup>[4]</sup>分别独立地从实验和理论上对这一基于粗糙表面有规律的现象进行了归纳总结,并称之为表面增强拉曼散射(Surface-enhanced Raman scattering, SERS)效应. 随后, Moskovits等<sup>[5]</sup>通过实验证明,粗糙Ag电极表面得到的增强拉曼信号归因于表面等离子激元. 1997年, Nie等<sup>[6]</sup>和 Kneipp等<sup>[7]</sup>分别首次报道了SERS用于胶体银中染料分子的单分子检测. 他们发现,在单分子检测的情况下,拉曼信号增强高达十几个数量级,这种高灵敏度的优点为未来SERS的研究奠定了基础. 自此, SERS引起了广泛关注,并逐渐发展为一个独立的研究领域.

自SERS发现至今,科研人员在其增强机理方面做了大量的理论探索和实验研究,目前广受认可的增强机制有两种:电磁场增强(Electromagnetic enhancement, EM)和化学增强(Chemical enhancement, CE)<sup>[8]</sup>. EM基于增强基底的固有特性(如材料类型、尺寸和形状等)<sup>[9]</sup>,主要通过基底表面局域场的增强和偶极起作用. 它能为任何类型的分子提供增强,并且在化学上是非选择性的. 同时,这种增强具有很强的分析物距离依赖性特征,即只有金属表面上或非常靠近金属表面的分子才具有增强效应<sup>[10]</sup>. CE效应是通过吸附的待测分子与金属基底表面之间的化学作用,使得分子极化率增大. 因此,其增强程度可以通过改变附着在金属表面的分析物的散射横截面来实现,并主要由分析物本身的化学特征决定. 在这两种机制中,电磁场增强是SERS信号整体增强的主要贡献者.

典型的SERS探针主要由四部分组成:金属纳米基底、拉曼报告分子、保护壳和靶向分子<sup>[11]</sup>(图1). 由于金属表面的局部光场,各种金属纳米结构可以为其表面的报告分子提供一定的增强信号. 但是,金属核的化学成分、尺寸和结构会极大地影响SERS信号强弱,并且这种报告分子吸附在金属颗粒表面的SERS探针通常具有稳定性差及易团聚等缺点,导致其信号容易受到周围环境的干扰. 因此,必要的保护层对于提高探针的生物相容性和减少其非特异性结合和聚集至关重要. 此外,将靶向分子添加到SERS探针中利于实现特异性分析与检测. 与其它成像和检测方法相比, SERS检测方法具有以下优势<sup>[12]</sup>: (1) 足够高的灵敏度. 已有研究<sup>[13]</sup>表明, SERS增强因子产生的信号强度与荧光相似或更优; (2) 与荧光光谱相比,拉曼信号峰宽只有1~2 nm,可以实现多重检测; (3) 拉曼散射的极短寿命允许以更快的速率弛豫激发能,使SERS信号能抗光降解或光漂白,并具有高的光稳定性; (4) 可以通过使用近红外(NIR)激发来最大限度地减少细胞和组织的自发荧光干扰. 此外,与红外光谱不同,拉曼光谱几乎没有来自水的光谱干扰,非常适合于生物体系分析.

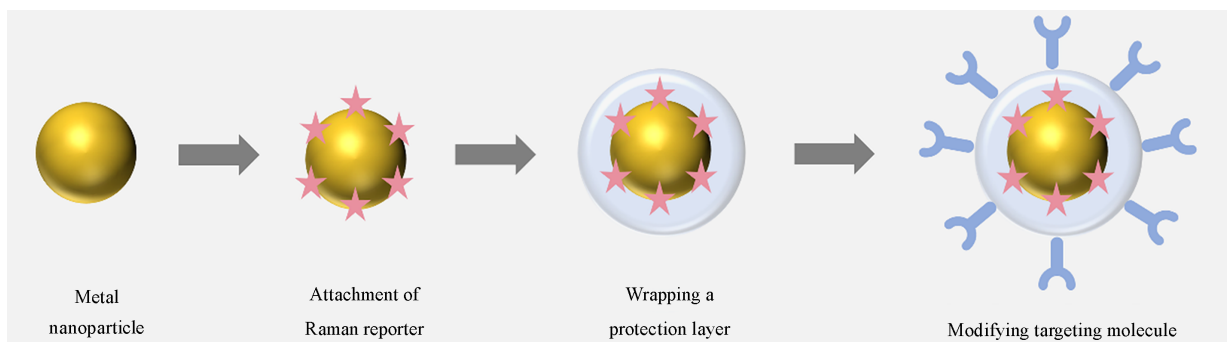


Fig. 1 General steps and criteria for the fabrication of a typical SERS probe

基于上述特性, SERS作为一种超灵敏检测方法,已被广泛应用于分析化学和生物医学领域,如蛋白质<sup>[14]</sup>、核酸<sup>[15]</sup>、生物小分子<sup>[16]</sup>和细菌<sup>[17]</sup>等的检测分析. 然而,只有当拉曼报告分子位于等离子体材料附近时,才会产生强烈的拉曼信号. 同时, SERS基底上等离子体热点分布不均及测试环境的影响,也会严重影响检测的可重复性<sup>[18,19]</sup>. 为此,研究人员通过开发和制备各种形状尺寸可控且含有大量均匀热点的SERS基底来改善基底的稳定性,提高定量分析的可靠性. 如,金属纳米颗粒修饰的硅片或硅纳米线阵列能够有效地抑制纳米颗粒不可控聚集,同时具有SERS信号强、均一性和重现性好等优点<sup>[20,21]</sup>.

为减少测试环境对增强基底的影响,需要选择合适的测量条件,尽可能减少仪器因素、热效应以

及光催化反应对检测结果的影响。例如,检测装置激光光斑大小对SERS数据影响很大。为获得偏差小、精度高的实验结果,在进行检测时建议优先使用较大的激光光斑<sup>[22]</sup>。此外,SERS强度与基底表面吸附分子的数量及其取向分布情况密切相关。当分子扩散进出热点时,若热点区域中电场梯度非常大,SERS信号强度可能会有几个数量级的波动<sup>[23]</sup>。同时,只有分析物处在垂直于基底表面的振动模式才能被局部电场放大,而平行于表面的振动模式强度较弱甚至无法检测<sup>[24]</sup>。基于此,一个可行的策略是通过避免分子扩散和取向分布的波动来提高SERS检测的可靠性。

当SERS底物接触检测体系时,由于所处的环境不可避免存在其它物质,这可能导致目标分子与环境非检测物质产生相互作用,甚至湮没待测物的SERS信号。为了避免这些问题,可以在检测前采用足量的溶剂(如水、乙醇等)冲洗底物、施加负电位或使用高亲和力分子(如硫醇单层、精胺、碘离子)进行化学置换等方法<sup>[25]</sup>。例如,碘化物清洁法已成功用于取代金属溶胶和自组装基质中纳米颗粒表面的杂质,并显著提高了SERS光谱的可再现性<sup>[26]</sup>。

分析科学最重要的特色之一就是需要对待测物的含量进行绝对量化,稳定可靠和普适的定量检测能力是评估分析技术成熟度的必要条件。例如,在食品检测领域,必须精确了解任何杀虫剂或杀菌剂的种类及残留量。在医学分析检测方面,也必须以稳定和可重复的方法评估疾病的关键生物标志物的含量。然而,由于热点分布不均且重现性差,SERS的定量分析仍然充满挑战,迫切需要提升其在更广泛的应用场景中的适用性。内标法的出现使得其在定量分析方面取得新的突破。通过引入与分析物信号不重叠且无竞争性吸附的其它分子作为内标,内标与分析物经历类似的电磁和化学增强,两者的特征峰可以在单个光谱中表现出来,通过两者的峰强度比值可以提高定量检测的重现性和稳定性。同时,内标方法通过引入内标分子可以校正一系列不稳定因素:如样品制备、分子分布和实验条件波动等,从而为SERS提供自校准能力,以提高定量检测结果的准确性和可靠性。此外,嵌入式的内标法将内标分子和待分析物隔离在不同的界面上,一方面使内标分子不受环境影响,另一方面避免彼此间的竞争干扰,可以极大地提高检测可信度。本文针对“热点”效应引起的信号波动问题综述了利用内标分子来校正SERS信号的方法:对待测物检测结果进行归一化,建立浓度与信号强度之间的标准曲线,从而提高SERS定量检测的准确性和可靠性。

## 1 SERS 内标法定量的原理

图2描述了SERS内标法定量的基本原理。内标法主要通过将待测物信号强度与内标分子信号强度的比值作为归一化的相对强度(用 $k$ 代表)。通常在利用SERS内标法进行定量检测时存在一个前提假设,即拉曼报告分子和内标分子均一吸附于SERS基底表面,且两者经历相同的增强历程。由于报告分子与内标分子位于同一“热点”,两者平均理论增强因子相同。根据归一化的相对强度的定义,则有 $k = I_{RR}/I_{IS}$ (其中, $I_{RR}$ 和 $I_{IS}$ 分别表示报告分子和内标分子的增强拉曼信号)。利用Yoshida等<sup>[27]</sup>提出的双

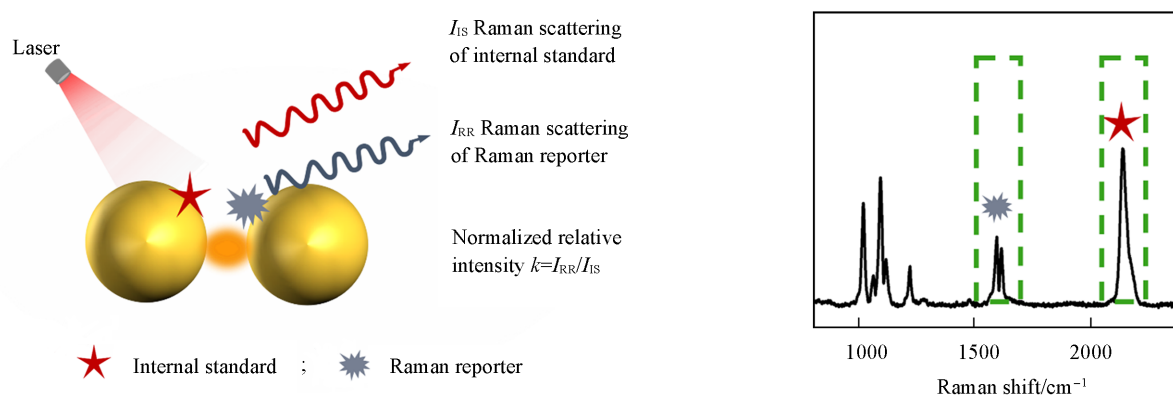


Fig. 2 Schematic diagram of internal standard method

重电磁场增强机制, 可将公式进一步展开为<sup>[28]</sup>

$$k = \frac{I_{RR}}{I_{IS}} = \frac{[M_1(\omega_L)]^2 \cdot [M_2(\omega_R)]^2}{[M_1(\omega_L)]^2 \cdot [M_2(\omega_R)]^2} \cdot \frac{\sigma'_{RR} N_{RR} I_0}{\sigma'_{IS} N_{IS} I_0} \Rightarrow k = N_{RR} \cdot a \quad (1)$$

式中:  $M_1(\omega_L)$  为由普通等离子体模式产生的 EM 场增强因子;  $M_2(\omega_R)$  为电磁辐射等离子体天线的共振发射导致的辐射因子, 量化过程中近似认为  $M_1$  和  $M_2$  数值相同;  $\sigma'_{RR}$  与  $\sigma'_{IS}$  分别为报告分子与内标分子的拉曼散射横截面积;  $N_{RR}$  与  $N_{IS}$  分别为处于“热点”处的报告分子和内标分子的数目;  $I_0$  为入射光强度;  $a$  为常数. 以上各参数经简化计算后, 可得出  $k$  值仅与报告分子数目有关, 这有效解决了基底不均匀性导致的信号波动的问题, 以利于定量分析.

上述通过使用内标法来实现定量检测的策略已被广泛应用. 目前, 已发展的 SERS 内标法主要包含 3 种类型: (1) SERS 基底的自身信号作为内标; (2) 在分析体系中加入与目标分子具有相似化学性质的内标分子; (3) 将内标分子修饰在 SERS 基底表面或者嵌入其内部.

### 1.1 固有内标法

以 SERS 基底的自身信号作为内标的方法也称为固有内标法<sup>[29,30]</sup>. 固有内标法通常将增强基质的本征 SERS 信号作为参照, 不需添加外来物, 具有制备简易、可控性强、稳定性高及实用性好等优点. 同时规避了目标物与内标分子之间的竞争性吸附, 提高了真实样品 SERS 定量检测结果的重现性和准确性. 该方法的 SERS 基底通常以固体形式存在, 如纳米阵列模板、纳米微球等. Popp 等<sup>[31]</sup>报道了一种在硅片上可高度重复制备的纳米球薄膜 (Au-FON) SERS 基底并用于检测不同商业饮料中偶氮玉红的含量. 其中, 来自硅载体的拉曼信号作为内标, 实现了偶氮玉红的简单、快速、安全检测. Rinnert 等<sup>[29]</sup>利用基于金纳米粒子包覆的聚苯乙烯 (PS) 纳米微球构建了一种内标型 SERS 基底, 用于环境中萘的定量分析. 该方法以 PS 的拉曼信号作为内标, 实现了对萘在 1~20 ppm (1 ppm=1 mg/L) 浓度范围内的定量检测. Tan 等<sup>[32]</sup>首次尝试将具有稳定拉曼信号的石墨纳米材料作为内标, 在多层磁性石墨纳米胶囊上大量修饰金纳米颗粒, 将石墨的无背景干扰拉曼谱带用于罗丹明 B (RhB) 的定量分析, 表现出极高的准确性和灵敏度. 此外, Zhang 等<sup>[33]</sup>利用自身具有拉曼信号的内标型石墨烯 SERS 基底 (G-SERS), 实现了在  $10^{-8}$ ~ $10^{-5}$  mol/L 的浓度范围内对 RhB 和结晶紫 (CV) 的原位定量检测 [图 3(B)]. 除了上述基底本身的信号可以作为固有内标外, 一些复合纳米材料基底也引起了研究者的兴趣. 例如, Jiang 等<sup>[34]</sup>开发了一种多功能聚甲基丙烯酸酯-银/类石墨氮化碳/银 (PMMA-Ag/g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub>/Ag) 杂化衬底, 以 PMMA 的本征拉曼信号作为内标, 实现了对噻苯咪唑 (TBZ) 和胭脂红酸 (CA) 的多重定量检测.

### 1.2 外加内标法

在分析物中加入与待测物质具有相似化学性质的内标分子也称为外加内标法. 外加内标法同样具有操作简单、快速和灵敏度高等优点. 然而, 目标分子与内标分子容易发生动态交换和竞争性吸附, 这可能会导致假阳性结果, 使检测准确性降低<sup>[35]</sup>. 为尽可能避免这种影响, 可优先选择检测体系中原有的或者对基底表面亲和力差异较小的物质作为内标<sup>[36]</sup>. 例如, Li 等<sup>[37]</sup>利用检测体系所用溶剂作为内标, 设计了一种基于银纳米簇的 SERS 系统用于药物检测, 利用内标与分析物 SERS 峰的比值实现了临床药物检测的定量分析. 但是, 该方法适用的前提是溶剂本身有区别于分析物的 SERS 信号. 然而, 很多检测体系的溶剂可能无 SERS 信号或者本身的 SERS 信号很弱, 导致该方法的适用范围受限. 此外, 像 DNA、蛋白质等复杂结构的 SERS 谱峰丰富多样, 若能筛选出具有辨识性的谱峰作为内标将有利于减少外部因素干扰, 从而提高检测结果的准确性. 例如, Ren 等<sup>[38]</sup>提出了一种利用离子修饰的 Ag 纳米颗粒 (Ag-IMNPs) 作为 SERS 基底的检测方法: 将磷酸主链的 SERS 信号作为内标, 来校准每个碱基的 SERS 信息, 以更可靠地测定 DNA 结构 [图 3(D)].

理想的内标物应具有与目标分析物尽可能相似的化学性质<sup>[39]</sup>. 其中, 同位素标记物具有与待测分子几乎相同的物化性质, 但它们的 SERS 光谱存在一定差异. 基于此, 可以开发将同位素标记物作为内标物的定量检测体系. Davison 等<sup>[40]</sup>开发了一种新的同位素编辑内部标准 (IEIS) 方法, 该方法可用于在宽浓度范围内对罗丹明 6G (R6G) 进行定量 SERS 检测, 克服了普通 SERS 基底检测结果重现性差的缺

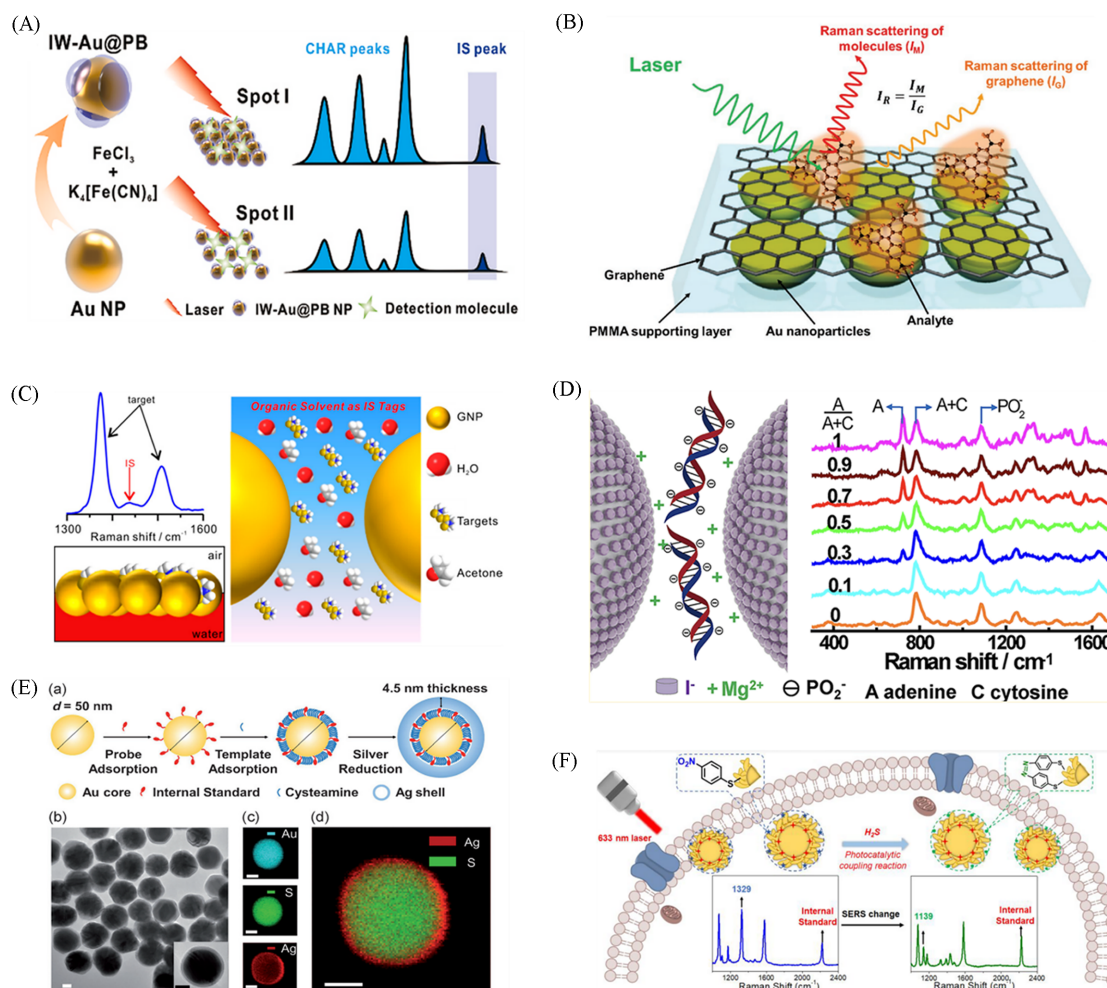


Fig. 3 Main types of SERS internal standard methods

(A, B) Intrinsic internal standard method<sup>[30,33]</sup>; (C, D) external internal standard method<sup>[36,38]</sup>; (E, F) embedded internal standard method<sup>[44,52]</sup>. (A) Copyright 2023, Elsevier; (B) Copyright 2017, John Wiley and Sons; (C) Copyright 2018, American Chemical Society; (D) Copyright 2015, American Chemical Society; (E) Copyright 2015, John Wiley and Sons; (F) Copyright 2022, American Chemical Society.

点,具有良好的准确性和再现性. Guo等<sup>[41]</sup>使用相同方法简单、快速、低成本地实现了对单核苷酸的定量检测,测量精度接近LC/MS方法. 同位素标记内标法解决了吸附能力差异及环境因素改变带来的信号波动,但也有一定局限性,如峰位移带来的谱峰间隔不够大,对仪器的光谱分辨率要求较高. 此外,同位素标记物通常很难获得且价格昂贵,限制了该方法的广泛应用.

### 1.3 嵌入内标法

将内标分子修饰在SERS基底表面或者嵌入其内部是一种应用较广泛的SERS内标法. 前者可以将报告分子和内标分子分步吸附在基底表面,也可同时引入;后者称为嵌入内标法,常见于核壳型纳米结构基底中,即将内标分子嵌入核与壳之间,而目标分子吸附在裸露的壳表面,即核-分子-壳(CMS)纳米检测体系. 嵌入内标法通常选择一些与报告分子的特征峰具有差别的有机分子,如4-巯基吡啶(4-Mpy)<sup>[42]</sup>、4-氨基苯硫酚(4-ATP)<sup>[43]</sup>和R6G<sup>[44]</sup>等,以利于实现定量分析. 嵌入内标法中的内标物与报告分子相间隔,且干扰目标物的检测. 该方法优点如下:(1)待测物与内标分子独立存在,互不干扰;(2)基底壳层的保护作用使内标分子的信号不受外部环境的影响;(3)核壳层使内标分子具有更强的SERS信号<sup>[45-47]</sup>.

内标的信号可以有效地校正由不同聚集状态和测量条件引起的信号波动. 由于壳层纳米结构的保

护和丰富的热点, CMS纳米颗粒可以产生更稳定、更强的拉曼信号. Nam等<sup>[48]</sup>用锚定在金纳米颗粒表面的DNA作为种子, 诱导合成了具有1 nm中空间隙的金纳米颗粒, 间隙中拉曼分子的SERS信号强度被放大了约2个数量级, 并实现了原位及体内外生物成像与分析检测. Duan等<sup>[49]</sup>利用含有拉曼报告分子疏水端和具有氧化还原活性酚羟基亲水端的两性嵌段共聚物, 合成了一种新型的核壳纳米颗粒. 通过调控聚合物涂层的厚度, 制得高活性的SERS探针并用于肿瘤细胞的超灵敏检测. 之后, Ren等<sup>[44]</sup>首次使用嵌入式内标物(4-巯基吡啶)构建了CMS纳米颗粒Au@CA+Mpy@Ag并进行定量SERS分析[图3(E)]. 由于壳层的保护作用, 该内标型SERS增强基底能有效地校正因粒子团聚或者测试条件变化引起的SERS信号波动. 同时, 壳层表面的所有位点均可与待测物种相互作用, 极大地提高了检测灵敏度. 该方法为SERS定量分析提供了新思路.

此外, 本课题组<sup>[50]</sup>开发了一种称之为Au@4-MB@Au NPs的CMS SERS基底, 在该基底中4-巯基苯甲腈(4-MB)既可诱导Au壳层的形成, 也可提供强而尖锐的拉曼沉默区(1800~2800 cm<sup>-1</sup>)信号. 该核-壳层状纳米结构在增强拉曼信号的同时, 几乎消除了背景噪音, 因此具有极高的信噪比. 此外, 这种结构也使4-MB在生理环境中免受可能的解吸和酶降解. 以沉默区信号为内标的SERS基底有助于实现高信噪比定量分析. Ye等<sup>[51]</sup>报道了一种1,4-苯二硫醇(BDT)嵌入的内标型金属SERS核壳纳米颗粒Au@BDT@Ag@MPBA, 用于体外和活细胞中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和胆固醇的无损检测. 一方面, Au@BDT@Ag SERS基底可通过调控银层厚度实现SERS信号可调性; 另一方面, 将BDT分子信号作为内标信号, 可以校准SERS探针的信号波动问题, 以建立较为可靠的定量检测标准. 近期, Zhang等<sup>[52]</sup>以4-巯基苯甲腈(MPBN)为内标物, 构筑了纳米花状的核壳SERS增强基底Au@MPBN@Au, 并在壳层Au表面修饰能够与H<sub>2</sub>S反应的4-硝基硫代苯酚(4-NTP)[图3(F)]. 随着H<sub>2</sub>S的加入, 4-NTP被还原为4-氨基硫代苯酚(4-ATP), 后者进一步转化为4,4'-二巯基偶氮二苯(DMAB). 在检测H<sub>2</sub>S的过程中, MPBN在2223 cm<sup>-1</sup>处的信号强度不变, 而DMAB在1139, 1387和1433 cm<sup>-1</sup>处出现3个新的特征峰. 基于其中两个峰强的比值( $I_{1139}/I_{2223}$ )可实现对H<sub>2</sub>S的定量检测, 检出限低至0.24 μmol/L. 这一无干扰、比率型的SERS检测体系有助于提高定量分析的可靠性.

嵌入内标法不需要内标分子与报告分子具有类似的分子结构, 并且可以通过选择不同拉曼截面的分子或调整分子在核上的表面覆盖率以优化SERS分析中内标物和报告分子的信号强度. 同时, 处于壳层的内标分子基本不受外界因素干扰, 且不与待测分子竞争吸附, 能够显著提高测定结果的准确性. 但是, 该种基底制备复杂, 且以溶胶的形式存在, 在检测时容易聚集. 此外, 内标分子修饰的均一度 and 可控性通常不足, 亟需发展更加均一、稳定性好的SERS检测体系.

## 2 SERS内标定量分析技术的应用

SERS不仅能提供丰富的分子信息, 而且具有获取信息快、可以无损数据采集及灵敏度高等优点, 已被广泛应用于环境监测<sup>[53]</sup>、食品安全<sup>[54,55]</sup>和生命科学<sup>[56,57]</sup>等领域.

### 2.1 在环境分析领域的应用

近年来, 随着经济社会的发展, 环境污染问题日益突出. 环境污染物因其高毒性、高积累性、致畸性及致癌性等对人类的身体健康和生产活动造成了严重威胁<sup>[58]</sup>. SERS方法因具有检测灵敏度高、可以实时原位在线监测和多通道同时检测等优势使其在环境分析领域展现了巨大的应用前景.

开发能够识别和定量监测空气中危险及有毒物质的检测方法对于改善空气质量、预防环境灾害和保护人类健康等至关重要. Pina等<sup>[59]</sup>将Au@Ag@ZIF-8薄膜沉积在平坦的SiO<sub>2</sub>/Si衬底上, 开发了一种能够对空气中化学战剂(CWA)进行可靠、快速、定量检测的超灵敏SERS传感平台[图4(A)]. 其中, ZIF-8框架不仅捕获CWA气体, 其在685 cm<sup>-1</sup>处的特征拉曼峰还可作为检测的内标, 通过比率可以实现对有毒气体CWA的定量检测. 有机氯农药(OCPs)是一类不可生物降解且易对水造成污染的有机污染物<sup>[60]</sup>. Chen等<sup>[61]</sup>利用自组装等离子体胶体金超微粒(AuSP)作为SERS底物以及同时原位提取, 实现了对水中OCPs的定量测定[图4(B)]. 制备的十八烷基胺修饰的金纳米粒子(Au-ODA)的信号可以作为内

标来校准波动的OCPs信号,且可以根据较窄的拉曼峰来实现多重检测.相比于其它方法,基于AuSP的平台具有较强的抗干扰能力和更宽的定量范围,能够提高定量分析的可靠性.Liu等<sup>[62]</sup>利用内标分子类聚氧阴离子构筑Ag<sub>6</sub>MnMo<sub>9</sub>无机SERS基底,实现了对环境污染物N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>蒸气的简单、无标记和高灵敏检测.Ag<sub>6</sub>MnMo<sub>9</sub>的拉曼信号灵敏、稳定,且多孔结构有利于银与靶向分子的相互作用.由于聚氧阴离子中Mo—O在945 cm<sup>-1</sup>处的拉曼信号与Ag<sup>+</sup>配位环境或氧化还原过程密切相关,而受八面体保护的Mn—O振动在630 cm<sup>-1</sup>处是SERS惰性的.基于此,根据I<sub>945</sub>/I<sub>630</sub>信号比可以实现对N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>的定量SERS监测.

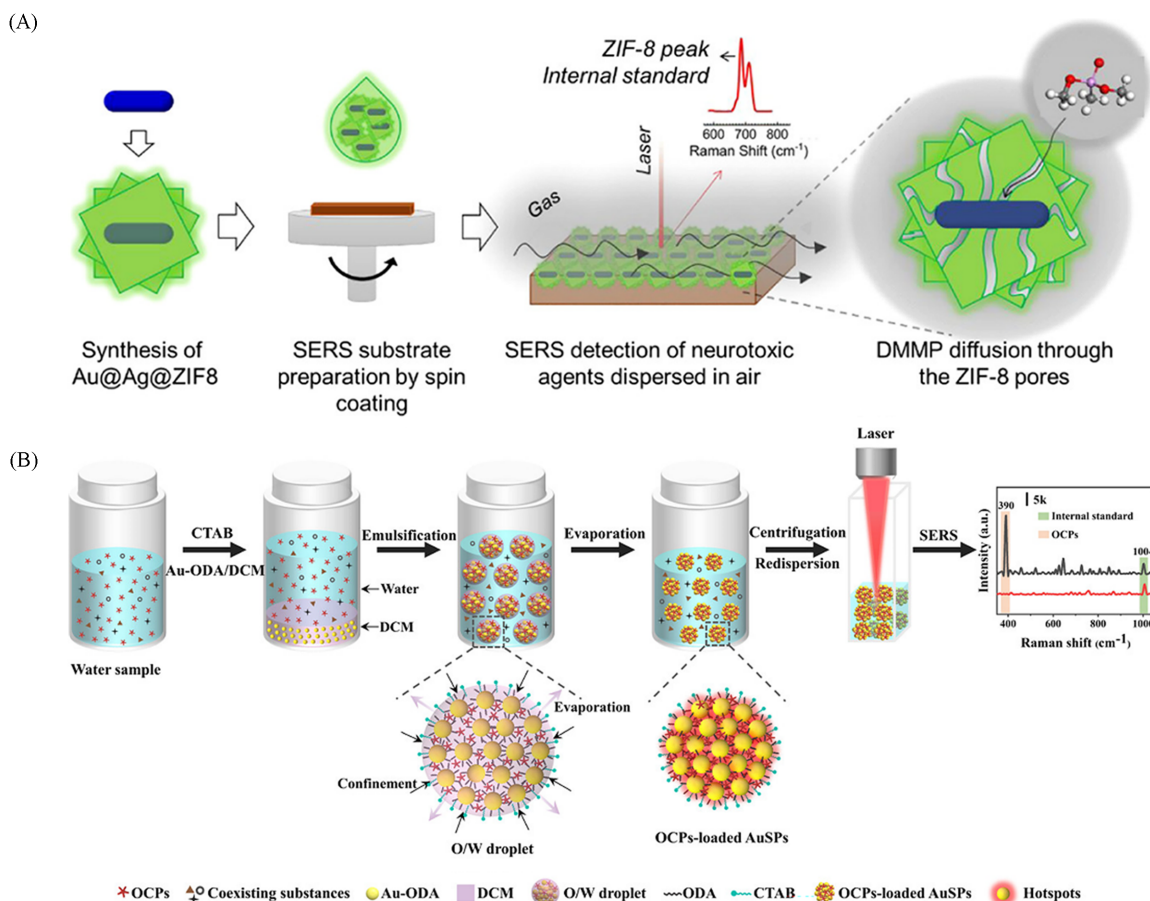


Fig. 4 Schematic overview of Au@Ag@ZIF-8 SERS substrates for gas-phase detection of neurotoxic agents in air(A)<sup>[59]</sup> and schematic illustration of simultaneous *in situ* extraction and self-assembly of AuSPs for SERS detection of OCPs in water(B)<sup>[61]</sup>

(A) Copyright 2021, American Chemical Society; (B) Copyright 2021, American Chemical Society.

## 2.2 在食品药品分析领域的应用

食品中若残留农药、非法添加剂、食源性病原体和抗生素等污染物,会对人类健康构成巨大威胁<sup>[63]</sup>.作为一种快速的指纹识别和无损检测技术,SERS能够对食品表面的污染物进行特异性检测,并有望成为满足日益增长的食品安全分析方法之一.

福美双是一种二硫代氨基甲酸酯杀菌剂,常用作水果和蔬菜的防腐剂,其在蔬果中残留会危害人类健康.Chen等<sup>[64]</sup>使用含有对甲苯磺酸纤维素(CTSA)的福美双捕集AuNP作为SERS平台,通过残留物扩散和DCM溶剂蒸发过程,高选择性地检测土壤、水果和蔬菜中的福美双残留物[图5(A)].利用CTSA的信号作为内标来校准福美双的绝对SERS强度,该方法能够实现可靠且优异的重复性检测.Li等<sup>[65]</sup>通过使用可以使金纳米颗粒均匀分布,且在1066 cm<sup>-1</sup>处具有特征拉曼信号的二嵌段共聚物聚(4-乙烯基吡啶,P4VP),制备了一种新型的内标SERS基底.利用该SERS平台实现了食品中微量温石

棉的快速、准确定量检测. Jiang等<sup>[66]</sup>通过逐层组装技术构建了PDMS@Ag纳米立方体(AgNCs)@ZIF-67,并用于检测橙汁中的微量槲皮素.以PDMS框架在2905 cm<sup>-1</sup>处的固有拉曼信号用作内标,提高了这种检测的可靠性.芬太尼作为一种强效的合成阿片类药物,很容易掺入非法药物,这增加了药物过量的风险,对公众健康存在潜在威胁.Yin小组<sup>[67]</sup>合成了一种对芬太尼具有强亲和力的NH<sub>2</sub>-MIL-101@AuNPs SERS纳米颗粒,用于芬太尼的痕量检测[图5(B)].其中,芬太尼在1000 cm<sup>-1</sup>处具有特征拉曼峰,而其同位素在958 cm<sup>-1</sup>的拉曼峰作为内标,通过利用两峰强度的比值,实现了对芬太尼在5~200 ng/mL浓度范围内的线性检测,LOD(3 S/N)和相关系数(*r*)分别为0.46 ng/mL和0.99.

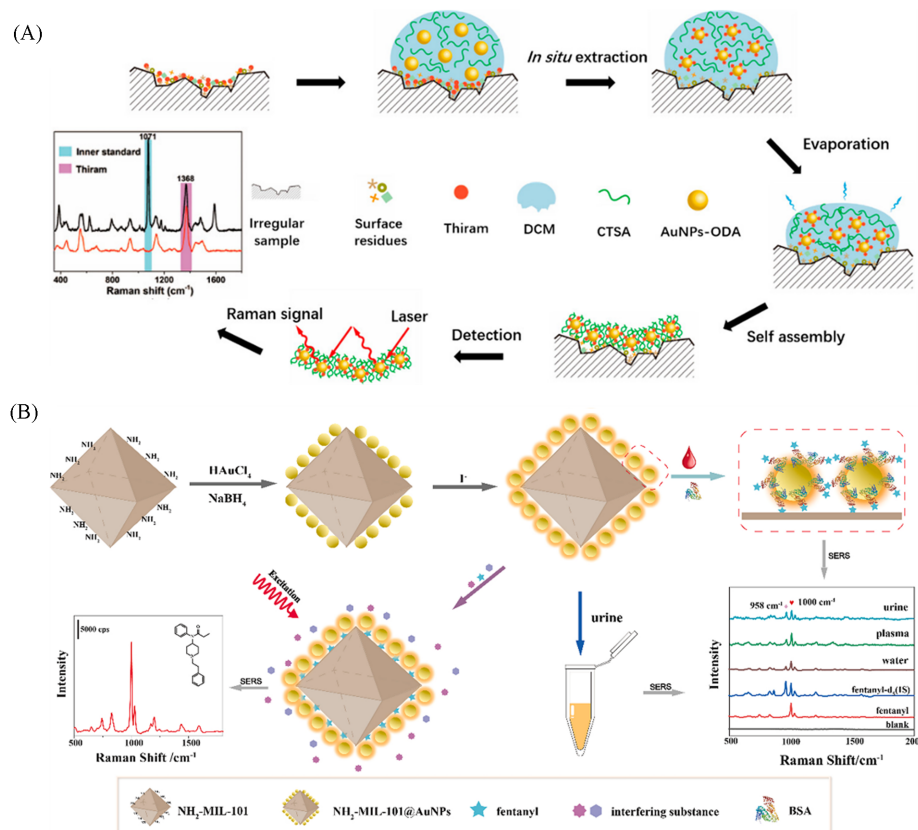


Fig. 5 Schematic representation of simultaneous *in situ* extraction and fabrication of SERS substrate in the detection of thiram residue on irregular samples(A)<sup>[64]</sup> and schematic illustration of NH<sub>2</sub>-MIL-101@AuNPs preparation and its application in multiple complex samples(B)<sup>[67]</sup>

(A) Copyright 2018, American Chemical Society; (B) Copyright 2023, Elsevier.

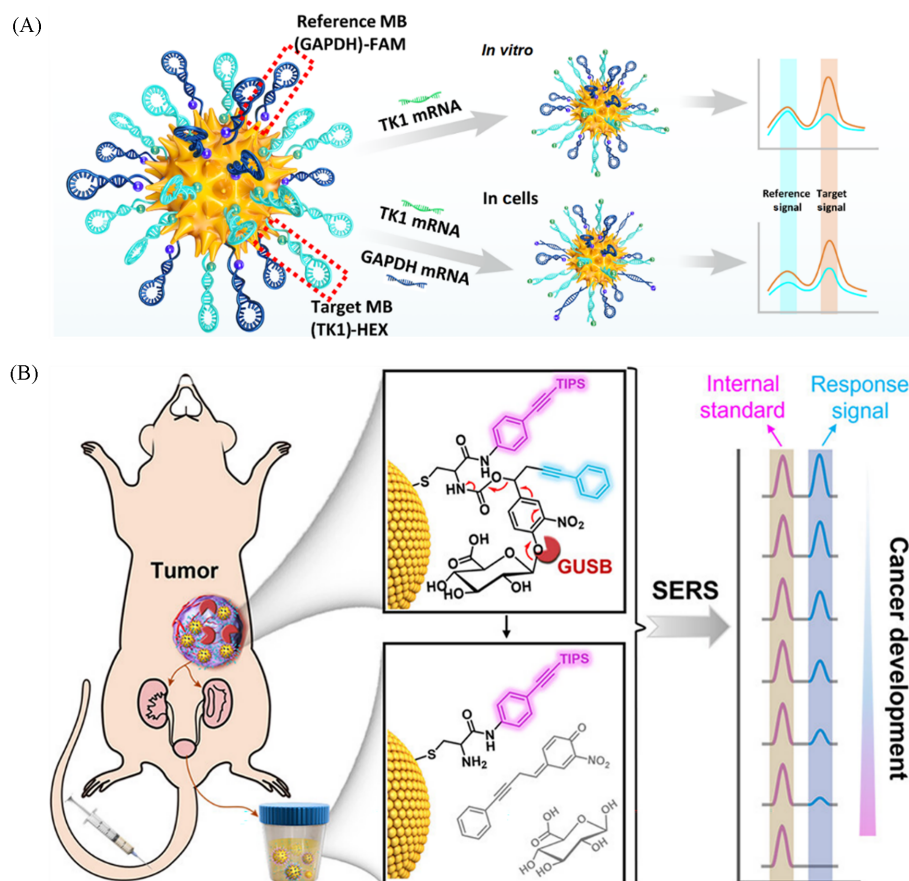
### 2.3 在生物分析领域的应用

生物过程涉及各种生物分子(如蛋白质、核酸和代谢产物)在时间和空间上的构象、分布和相互作用的动态变化.疾病的存在和进化通常涉及生物分子的过量、缺乏或功能失调等原因.建立可靠和高度灵敏的诊断方法,监测与这些生物分子相关的动态变化事件和生物系统内微环境的变化,有助于更好地了解生命过程和各种疾病的进化机制.

Xu等<sup>[68]</sup>利用规则排列的金@银/氧化石墨烯(Au@AgNPs/GO)基底,以4-NTP分子为内标,构建了比率型SERS生物传感器,用于外泌体的定量检测.只有和上皮细胞黏附分子(EpCAM)和人表皮生长因子受体2(HER2)蛋白高表达的外泌体被V形双链DNA识别并引发竞争反应.在外泌体存在的情况下,形成了V形双链DNA/外泌体复合物,V形双链DNA可以从SERS底物中分离出来,3'端修饰的罗丹明X的SERS信号减弱,而底物上4-NTP的SERS信号保持稳定.比率SERS策略在临床血清样品的测定以及乳腺癌的早期诊断中展现出良好的应用前景.Ye等<sup>[51]</sup>合成了以1,4-苯二硫醇(BDT)为内标分子的Au@BDT@Ag@MPBA金银核壳纳米探针,结合机器算法,同时实现了体外溶液及活细胞中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和胆

固醇的定量检测. 该探针具有良好的重现性和灵敏性.

目前, 很多用于内标型SERS检测探针的报告分子(如芳香类化合物结晶紫、罗丹明、荧光素和4-巯基吡啶等)的特征拉曼信号在 $500\sim 1700\text{ cm}^{-1}$ 之间, 而绝大多数生物分子(蛋白质、核酸和细胞色素C等)的拉曼信号也在此区间, 两者可能相互重叠, 会对定量检测造成一定干扰. 基于此, 将位于拉曼沉默区的报告分子作为内标分子, 可以显著提高检测的准确性与可靠性. Chen等<sup>[69]</sup>以乙腈为内标, 开发了一种炔烃功能化的石墨烯负载金纳米晶体(AGIAN)SERS纳米探针, 用于碱性磷酸酶(ALP)的定量分析. 来自炔烃分子和乙腈溶剂的特征峰在拉曼静默区均较强且分离开来, 同时没有与生物系统重叠的信号, 从而获得更可靠的分析结果, 为SERS在生物体系的分析提供了一种新颖的解决方案. Fan等<sup>[70]</sup>开发了一种基于内标的比率SERS纳米传感器[图6(A)]. 两种携带拉曼报告分子的分子信标(MBs)被同时锚定在海胆状金纳米团簇(AuNCs)上. 携带六氯荧光素(Hex)的TK1 MBs用于捕获肿瘤标志物TK1 mRNA, 携带[5(6)-羧基荧光素]FAM的GAPDH MBs可提供细胞内参信号. 利用比率测量法( $I_{745}/I_{645}$ )实现了对TK1 mRNA的稳定(变异系数0.3%)、高灵敏度(检测限 $3.4\text{ pmol/L}$ )及高特异性(能够识别单碱基错配)检测. 经进一步比率化处理, 探针可在拉曼成像中有效区分肿瘤细胞与正常细胞, 清晰显示肿瘤细胞的轮廓. 该研究显示了引入细胞内标对于生物靶标SERS检测的重要意义, 并广泛适用于多种生物分子检测和成像.



**Fig. 6** Schematic diagram of the testing principle of intracellular and extracellular multiple ratio gold nanoprobe(A)<sup>[70]</sup> and schematic illustration of the self-referenced renal-clearable synthetic biomarker(Glu-RR-AuNC) for quantitative urinary monitoring of cancer development(B)<sup>[71]</sup>

(A) Copyright 2021, Tsinghua University Press and Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature;

(B) Copyright 2023, American Chemical Society.

近期, 本课题组<sup>[71]</sup>通过化学方法合成了含有内标信号( $2154\text{ cm}^{-1}$ ), 能够用于癌症早期诊断和定量检测的酶响应激活型拉曼探针(Glu-RR-AuNC)[图6(B)]. 该探针可被过表达的 $\beta$ -葡萄糖苷酸酶(GUSB,

肿瘤生物标志物)特异性切割,产生保留内标信号且具有肾清除能力的金纳米簇 AuNC,经过肾代谢后在尿液中通过 Au 生长产生更强的 SERS 信号进行分析. 与之前报道的人工合成尿液生物标志物相比<sup>[72]</sup>,该探针的内标信号不仅可以作为癌症发展监测的定量分析手段,还可以作为肾脏代谢的评价指标,从而排除尿液样本的异质性. 此外,该探针的读出信号处于生物拉曼沉默区,无背景干扰问题,在灵敏度和准确性方面优于其它非侵入性的诊断方法. 该方法的独特之处是通过化学合成的手段将内标和报告分子合二为一,有效避免了在 SERS 基底修饰内标和报告分子时存在的竞争吸附. 同时,内标和报告分子的峰位置都处于拉曼沉默区,可以避免生物体自身背景信号的影响,检测结果的可靠性好.

此外,作为蓝色染料的普鲁士蓝(PB)是一种氰基搭桥、水溶性好的配位化合物,已广泛应用于分析检测和光热治疗等领域<sup>[73,74]</sup>. 普鲁士蓝纳米晶体不仅可以作为生物材料的亲水保护层,其氰基还可以产生沉默区拉曼信号. 基于此,本课题组<sup>[75]</sup>首次将其包覆在金纳米颗粒表面,利用其具有高强度和零背景共振拉曼峰的优点,用于肿瘤细胞表面癌症标志物的高信背比检测[图 7(A)]. 同时,基于 PB 具有孔状结构的特点,将其包覆在对巯基吡啶修饰的金纳米颗粒表面,构筑了一种能够实时、准确定量检测活细胞中 pH 值的比率型 SERS 探针<sup>[76]</sup>[图 7(B)]. PB 不仅作为保护层,以排除细胞中其它生物分子的干扰;还作为内标分子,实现了对 pH 值的高灵敏、无背景的定量检测. 此外,基于 PB 具有内标和光热的优点, Liu 等<sup>[77]</sup>报道了一种用于 SERS 检测和光热消除细菌的集成纳米平台. 该平台采用蠕虫状等离子体金膜(pAu)作为 SERS 活性底物,用含有 4-巯基苯基硼酸(4-MPBA)和 4-巯基苯腈(4-MBN)的混合自组装单层膜(SAM)修饰 pAu(简称 SAM/pAu),以万古霉素修饰的核壳普鲁士蓝包覆金纳米粒子(Au@PB@Van NPs)作为 SERS 标签[图 7(C)]. 其中,4-MPBA 用于捕获细菌,4-MBN 用作内标分子. 多功能 SERS 平台显著降低了检测背景,消除了潜在干扰,提高了检测的再现性,能同时可靠地检测和原位光热消除全血样品中的细菌菌落,为细菌感染引起的严重疾病的早期诊断提供了新的方法. Li 等<sup>[78]</sup>在金纳米颗粒表面搭载一定厚度的 PB,利用 PB 典型的沉默区信号作为内标,实现了对多巴胺和结晶紫的定量检测.

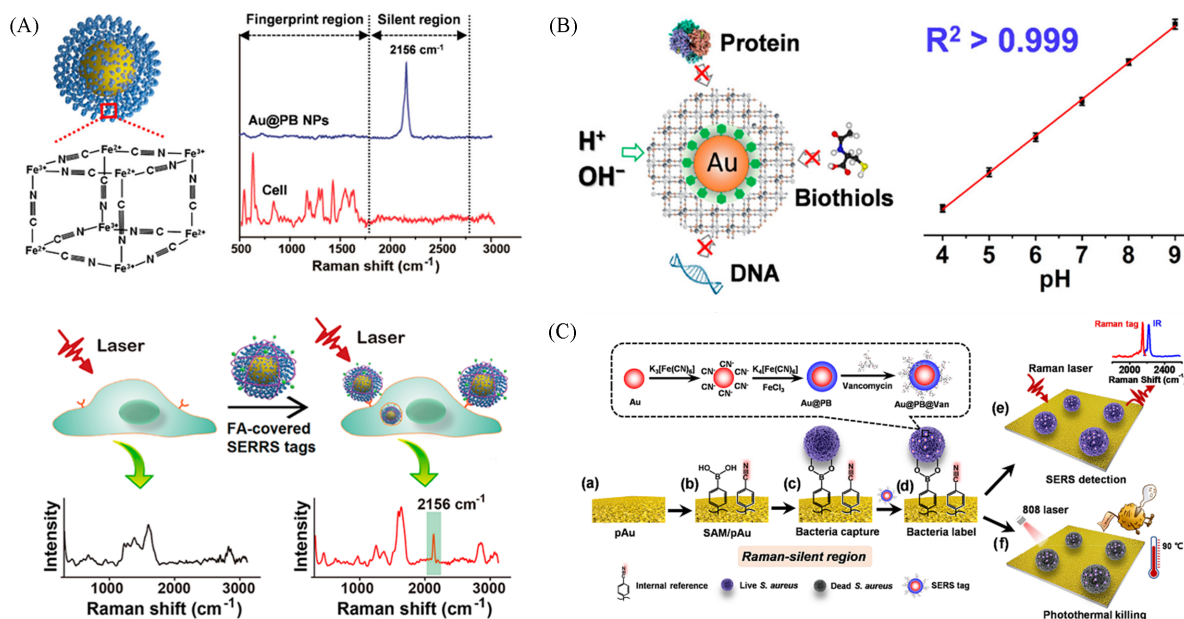


Fig. 7 Schematic illustration of Au@PB NPs and their Raman signals compared with cells and the FA functionalized SERRS tag used for HeLa cell imaging(A)<sup>[75]</sup>, PB as a background-free internal standard for probe profiling in live cells(B)<sup>[76]</sup>, and schematic diagram of the detection and elimination process of bacteria based on the multifunctional SERS platform(C)<sup>[77]</sup>

(A) Copyright 2017, American Chemical Society; (B) Copyright 2020, American Chemical Society; (C) Copyright 2021, American Chemical Society.

### 3 总结与展望

SERS是一种快速发展的超灵敏分析方法,以低成本、高灵敏度、操作简单和分析迅速的特点备受关注。然而,SERS的精确定量分析仍然存在一些问题:(1)可重复的、均一性好的SERS基底制备比较困难;(2)SERS底物的复杂特性(空间和时间)较大;(3)SERS增强对分析物和SERS底物之间的距离依赖性较强<sup>[79]</sup>;(4)SERS增强随基底上分析物表面覆盖范围的变化使得定量检测的准确性难以保证(与SERS活性热点的分布有关)<sup>[9]</sup>。

基于此,发展能够用于定量检测的内标型SERS探针十分必要。首先,开发用于合成更灵敏、更稳定、具有高密度“热点”和均一SERS基底的制备方法<sup>[80]</sup>。一方面,构成热点的基底材料应具有均匀的尺寸和形态;另一方面,内标物和拉曼报告分子在热点区域的数量和分布应均一。近年来,研究者努力开发非典型SERS基底配置,如纳米空穴、光栅或微针阵列,这非常有利于单分子水平的SERS动态传感应用,尤其是在生命科学领域。此外,将一些二维超薄层材料(如石墨烯和过渡金属硫化物)修饰在传统金属SERS基底上,显著增强它们对分析物分子的亲和力,从而使得分子分布均一且吸附含量增加,且其原子级厚度不会损害基底的增强能力,以进一步提高检测的灵敏度和选择性。其次,在SERS光谱测量过程中,需要严格控制影响SERS检测信号的实验条件,包括激光功率、激发波长、聚焦位置以及测试时长和温度等<sup>[81]</sup>。定期校准拉曼仪器非常重要,以便其光谱位置和强度处于标准化条件下。当然,也可考虑使用低倍物镜将激光光斑的尺寸增加到10 μm以上以激发体积中大量分子的平均,从而获得更可重现的SERS信号。此外,通过在超高真空和超低温下进行SERS测量,更全面地阐明反应机理和增强机制。实际的分析场景通常是复杂的,其中一些干扰物质可能会导致SERS探针结构聚集或者裂解,从而导致信号产生严重的波动,需要开发稳定性好的SERS探针。SERS测量提供了样品的特征分子指纹图谱。这种指纹可以通过化学计量学和机器学习等人工智能(AI)方法进行利用,并转化为生物标志物等高级信息。为了充分利用SERS和拉曼数据的潜力,正在构建基于AI的数据分析管道,以便在拉曼数据转换为高级信息之前对其进行校正、标准化和清理。随着AI技术的快速发展,将高灵敏的SERS检测方法 with 荧光光谱、红外光谱以及定量核磁等手段相结合,通过构建数据网络信息库,以提高检测的可靠性和灵敏性,也是未来可能的发展方向之一。

我们预测,随着SERS定量检测的进一步发展,这项技术将真正从实验室环境转化为临床场景。此外,由于手持式拉曼光谱固有的便携性和可用性,SERS将成为家庭检测和个性化医疗的一种有吸引力的即时技术,取代更繁琐和昂贵的分析方法。

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Raman C. V., Krishnan K. S., *Nature*, **1928**, *121*(3048), 501—502
- [ 2 ] Fleischmann M., Hendra P., McQuillan A., *Chem. Phys. Lett.*, **1974**, *26*(2), 163—166
- [ 3 ] Jeanmaire D. L., van Duyne R. P., *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.*, **1977**, *84*(1), 1—20
- [ 4 ] Albrecht M. G., Creighton J. A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, *99*(15), 5215—5217
- [ 5 ] Moskovits M., *J. Chem. Phys.*, **1978**, *69*(9), 4159—4161
- [ 6 ] Nie S., Emory S. R., *Science*, **1997**, *275*(5303), 1102—1106
- [ 7 ] Kneipp K., Wang Y., Kneipp H., Perelman L. T., Itzkan I., Dasari R. R., Feld M. S., *Phys. Rev. Lett.*, **1997**, *78*(9), 1667
- [ 8 ] Lee S., Dang H., Moon J. I., Kim K., Joung Y., Park S., Yu Q., Chen J., Lu M., Chen L., Joo S., Choo J., *Chem. Soc. Rev.*, **2024**, *53*, 5394—5427
- [ 9 ] Ying Y., Tang Z., Liu Y., *Nanoscale*, **2023**, *15*(26), 10860—10881
- [ 10 ] Xu Y., Dong Q., Cong S., Zhao Z., *Analysis & Sensing*, **2024**, *4*, e202300067
- [ 11 ] Liu H., Gao X., Xu C., Liu D., *Theranostics*, **2022**, *12*(4), 1870—1903
- [ 12 ] Li Q., Huo H., Wu Y., Chen L., Su L., Zhang X., Song J., Yang H., *Adv. Sci.*, **2023**, *10*(8), 2202051
- [ 13 ] Jiang C., Liu R., Han G., Zhang Z., *Chem. Commun.*, **2013**, *49*, 6647—6649
- [ 14 ] Cai L., Fang G., Tang J., Cheng Q., Han X., *Int. J. Mol. Sci.*, **2022**, *23*(22), 13868
- [ 15 ] Wu L., Dias A., Dieguez L., *Biosens. Bioelectron.*, **2022**, *204*, 114075
- [ 16 ] Jebakumari K. A. E., Murugasenapathi N. K., Palanisamy T., *Biosensors*, **2023**, *13*(1), 102

- [17] Liu L., Ma W., Wang X., Li S., *Biosensors*, **2023**, *13*(3), 350
- [18] Shi L., Zhang L., Tian Y., *Analysis & Sensing*, **2023**, *3*(2), e202200064
- [19] Li C., Huang Y., Li X., Zhang Y., Chen Q., Ye Z., Alqarni Z., Bell S. E. J., Xu Y., *J. Mater. Chem. C*, **2021**, *9*(35), 11517—11552
- [20] Sultangaziyev A., Ilyas A., Dyussupova A., Bukasov R., *Biosensors*, **2022**, *12*(11), 967
- [21] Vendamani V. S., Rao S. V. S. N., Pathak A. P., Soma V. R., *ACS Appl. Nano Mater.*, **2022**, *5*(4), 4550—4582
- [22] Zhang X., Fan A., Pan Y., Liu X., Zhao Z., Song Y., Zhang X., *ACS Appl. Nano Mater.*, **2022**, *5*(10), 15738—15747
- [23] Xi W. J., Shrestha B. K., Haes A. J., *Anal. Chem.*, **2018**, *90*(1), 128—143
- [24] Le Ru E. C., Auguie B., *ACS Nano*, **2024**, *18*(14), 9773—9783
- [25] Pérez-Jiménez A. I., Lyu D., Lu Z., Liu G., Ren B., *Chem. Sci.*, **2020**, *11*(18) 4563—4577
- [26] Shen Y., Yue J., Xu W., Xu S., *Theranostics*, **2021**, *11*(10), 4872—4893
- [27] Yoshida K., Itoh T., Tamaru H., Biju V., Ishikawa M., Ozaki Y., *Phys. Rev. B*, **2010**, *81*(11), 115406
- [28] Xing H. J., Yin Z. H., Zhang J., Zhu Y., *Laser & Optoelectronics Progress*, **2020**, *57*(3), 10
- [29] Péron O., Rinnert E., Toury T., de la Chapelle M. L., Compere C., *Analyst*, **2011**, *136*(5), 1018—1022
- [30] Wang T., Ji B., Cheng Z., Chen L., Luo M., Wei J., Wang Y., Zou L., Liang Y., Zhou B., Li P., *Biosens. Bioelectron.*, **2023**, *228*, 115191
- [31] Peksa V., Jahn M., Štolcová L., Schulz V., Proška J., Procházka M., Weber K., Cialla-May D., Popp J., *Anal. Chem.*, **2015**, *87*(5), 2840—2844
- [32] Zou Y., Chen L., Song Z., Ding D., Chen Y., Xu Y., Wang S., Lai A., Zhang Y., Sun Y., Chen Z., Tan W., *Nano Res.*, **2016**, *9*, 1418—1425
- [33] Tian H. H., Zhang N., Tong L. M., Zhang J., *Small Methods*, **2017**, *1*(6), 1700126
- [34] Li X. T., Liu H. M., Chen Y., Gu C. J., Wei G. D., Zhou J., Jiang T., *ACS Sustainable Chem. Eng.*, **2021**, *9*(38), 12885—12898
- [35] Wu Y., Liu J., Xu R., Li J., Fu C., Shi W., Chen J., *Microchem. J.*, **2024**, 110127
- [36] Yu F., Su M., Tian L., Wang H., Liu H., *Anal. Chem.*, **2018**, *90*(8), 5232—5238
- [37] Wang Y. P., Yu C. W., Ji H. Y., Liu Z. H., Wang X. T., Ji Y. H., Sun X. M., Zhao Y., Qiu X. H., Zhang T., Li J., Liu X., Lv X. P., Cai B. Z., Zhao Y. Q., Huang J. A., Li Y., *Chemical Engineering Journal*, **2023**, *452*, 139588
- [38] Xu L. J., Lei Z. C., Li J. X., Zong C., Yang C. J., Ren B., *J. Am. Chem. Soc.*, **2015**, *137*(15), 5149—5154
- [39] Cheng H. W., Tsai H. M., Wang Y. L., *Anal. Chem.*, **2023**, *95*(46), 16967—16975
- [40] Zhang D. M., Xie Y., Deb S. K., Davison V. J., Ben-Amotz D., *Anal. Chem.*, **2005**, *77*(11), 3563—3569
- [41] Yin P. G., Jiang L., Lang X. F., Guo L., Yang S. H., *Biosens. Bioelectron.*, **2011**, *26*(12), 4828—4831
- [42] Li G., Hao Q., Li M., Zhao X., Song W., Fan X., Qiu T., *Adv. Mater. Interfaces*, **2023**, *10*(7), 2202127
- [43] Yan X., Zhao H., Shi X., Yang Z., Ma J., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2023**, *15*(10), 13427—13438
- [44] Shen W., Lin X., Jiang C. Y., Li C. Y., Lin H. X., Huang J. T., Wang S., Liu G. K., Yan X. M., Zhong Q. L., Ren B., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **2015**, *54*(25), 7308—7312
- [45] Guo J., Liu Y., Ju H., Lu G., *Trac-Trend Anal. Chem.*, **2022**, *146*, 116488
- [46] Ma H., Pan S. Q., Wang W. L., Yue X. X., Xi X. H., Yan S., Wu D. Y., Wang X., Liu G., Ren B., *ACS Nano*, **2024**, *18*(22), 14000—14019
- [47] Fu B. B., Tian X. D., Song J. J., Wen B. Y., Zhang Y. J., Fang P. P., Li J. F., *Anal. Chem.*, **2022**, *94*(27), 9578—9585
- [48] Lim D. K., Jeon K. S., Hwang J. H., Kim H., Kwon S., Suh Y. D., Nam J. M., *Nat. Nanotechnol.*, **2011**, *6*(7), 452—460
- [49] Song J., Duan B., Wang C., Zhou J., Pu L., Fang Z., Wang P., Lim T. T., Duan H., *J. Am. Chem. Soc.*, **2014**, *136*(19), 6838—6841
- [50] Ma S., Li Q., Yin Y., Yang J., Liu D., *Small*, **2017**, *13*(15), 1603340
- [51] Jiang X., Tan Z. Y., Lin L., He J., He C., Thackray B. D., Zhang Y. Q., Ye J., *Small Methods*, **2018**, *2*(11), 1800182
- [52] Chen S., Fan J. Y., Lv M. Y., Hua C. F., Liang G. L., Zhang S. H., *Anal. Chem.*, **2022**, *94*(42), 14675—14681
- [53] Terry L. R., Sanders S., Potoff R. H., Krueh J. W., Jain M., Guo H., *Anal. Sci. Adv.*, **2022**, *3*(3/4), 113—145
- [54] Chen C., Wang X., Wang R., Waterhouse G. I. N., Xu Z., *J. Future Foods*, **2024**, *4*(4), 309—323
- [55] Guo Z., Wu X., Jayan H., Yin L., Xue S., El-Seedi H. R., Zou X., *Food Chem.*, **2023**, *434*, 137469
- [56] Chen Y., An Q., Teng K., Liu C., Sun F., Li G., *Chem. Asian J.*, **2023**, *18*(4), e202201194
- [57] Li Y., Jiang G., Wan Y., Dauda S. A., Pi F., *Talanta*, **2024**, *276*, 126283
- [58] Aziz K. H. H., Mustafa F. S., Omer K. M., Hama S., Hamarawf R. F., Rahman K. O., *RSC Adv.*, **2023**, *13*(26), 17595—17610
- [59] Lafuente M., Marchi S. D., Urbiztondo M., Pastoriza-Santos I., Pérez-Juste I., Santamaría J., Mallada R., Pina M., *ACS Sens.*, **2021**, *6*(6), 2241—2251
- [60] Tsygankov V. Y., *Water Res.*, **2019**, *161*, 43—53
- [61] Li R., Chen M., Yang H., Hao N., Liu Q., Peng M., Wang L., Hu Y., Chen X., *Anal. Chem.*, **2021**, *93*(10), 4657—4665
- [62] Wang J., Zhang J. Y., Zhu W. J., Qi B., Wang J. P., Gao G. G., Fan L. L., Liu H., *J. Mater. Chem. C*, **2023**, *11*(8), 3050—3058
- [63] Zhang J., Huang H., Song G., Huang K., Luo Y., Liu Q., He X., Cheng N., *Biosens. Bioelectron.*, **2022**, *202*, 114003
- [64] Chen M., Luo W., Liu Q., Hao N., Zhu Y., Liu M., Wang L., Yang H., Chen X., *Anal. Chem.*, **2018**, *90*(22), 13647—13654
- [65] Gao J., Zhao C., Zhang Z., Li G., *Analyst*, **2017**, *142*(16), 2936—2944



- [66] Fang X., Ma J., Gu C., Xiong W., Jiang T., *Sens. Actuators B: Chem.*, **2023**, 378, 133176
- [67] Li X., Sun L., Xu B., Dai L., Xiao Y., Ding Y., Liu Q., Meng M., Xi R., Guo L., Yin Y., *Sens. Actuators B: Chem.*, **2023**, 385, 133710
- [68] Zhang Q., Ma R., Zhang Y., Zhao J., Wang Y., Xu Z., *ACS Sens.*, **2023**, 8(2), 875—883
- [69] Zhao X., Zhao S., Song Z. L., Zhang X., Zhang S., Song W., Chen Z., *Sens. Actuators B: Chem.*, **2021**, 331, 129373
- [70] Liang X., Zhang P., Ma M., Yang T., Zhao X., Zhang R., Jing M., Song R., Wang L., Fan J., *Nano Res.*, **2022**, 15(4), 3487—3495
- [71] Wang F., Sun N., Li Q., Yang J., Yang X., Liu D., *J. Am. Chem. Soc.*, **2022**, 145(2), 919—928
- [72] Warren A. D., Kwong G. A., Wood D. K., Lin K. Y., Bhatia S. N., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2014**, 111(10), 3671—3676
- [73] Liu Y., Zhu W., Hua J., Shen A., *Nanoscale Adv.*, **2021**, 3, 6568—6579
- [74] Lu K., Zhu X. Y., Li Y., Gu N., *J. Mater. Chem. B*, **2023**, 11(24), 5272—5300
- [75] Yin Y., Li Q., Ma S., Liu H., Dong B., Yang J., Liu D., *Anal. Chem.*, **2017**, 89(3), 1551—1557
- [76] Bi Y., Di H., Zeng E., Li Q., Li W., Yang J., Liu D., *Anal. Chem.*, **2020**, 92(14), 9574—9582
- [77] Gao X., Yin Y., Wu H., Hao Z., Li J., Wang S., Liu Y., *Anal. Chem.*, **2021**, 93(3), 1569—1577
- [78] Li M., Wang J. Y., Chen Q. Q., Lin L. H., Radjenovic P., Zhang H., Luo S. H., Tian Z. Q., Li J. F., *Anal. Chem.*, **2019**, 91(23), 15025—15031
- [79] Deriu C., Thakur S., Tammara O., Fabris L., *Nanoscale Adv.*, **2023**, 5(8), 2132—2166
- [80] Son J., Kim G. H., Lee Y., Lee C., Cha S., Nam J., *J. Am. Chem. Soc.*, **2022**, 144(49), 22337—22351
- [81] Wang X., Zeng J., Sun Q., Yang J., Xiao Y., Zhuo Z., Yan B., Li Y., *Sens. Actuators B: Chem.*, **2021**, 343, 130084

(Ed.: N, K)