

电化学生物传感器在有机磷农药分析中的应用

梁 刚, 满 燕, 贾文坤, 潘立刚*

(北京农业质量标准与检测技术研究中心, 农业部农产品质量安全风险评估实验室(北京),
农产品产地环境监测北京市重点实验室, 北京 100097)

摘 要: 农业生产中有机磷农药的大量使用导致农产品中农药残留问题, 对人类健康产生了严重的危害。因此, 建立快速、灵敏的有机磷农药残留分析方法, 具有重要的研究意义。近年来, 电化学生物传感器因具有灵敏性高、选择性好、制备成本低、操作简单、携带方便、抗干扰性强等优点而被广泛用于农药残留分析, 成为食品安全快速检测技术重要的发展方向之一。本文主要综述了目前国内外检测有机磷农药的电化学生物传感方法。简要介绍了生物传感器的概念、检测原理, 重点讨论了电化学酶生物传感器(乙酰胆碱酯酶、丁酰胆碱酯酶、磷酸水解酶)及电化学免疫生物传感器在检测有机磷农药分析中的应用, 并对各类传感器的检测原理、最新进展及存在的优、缺点进行了阐述, 最后对电化学生物传感器存在问题的解决途径及未来发展方向进行了展望。
关键词: 电化学; 酶生物传感器; 免疫生物传感器; 有机磷农药

Application of electrochemical biosensors for the detection of organophosphorus pesticide

LIANG Gang, MAN Yan, JIA Wen-Shen, PAN Li-Gang*

(Beijing Research Center for Agricultural Standards and Testing, Risk Assessment Lab for Agro-products (Beijing),
Ministry of Agriculture, Beijing Municipal Key Laboratory of Agriculture Environment Monitoring, Beijing 100097,
China)

ABSTRACT: The excessive use of organophosphorus pesticide (OPs) in the process of agricultural production resulted in OPs residues in the agricultural products, which had been found to seriously threaten human health. Hence, it is of great significance to establish rapid and sensitive methods for analysis of OPs residues. In recent years, electrochemical biosensors have been widely used in the detection of OPs residues with the merits of high sensitivity, selectivity, low-cost, easy operation, portability and excellent capacity of resisting disturbance, and they are considered as an important development trend of rapid detection technology for food safety. This paper focused on the current development of electrochemical biosensing methods for OPs residues detection at home and abroad. This article briefly introduced the concept, working principle of the biosensor, and then highlighted the applications of electrochemical enzyme biosensors (acetylcholine esterase, butyrylcholine esterase and organophosphorus hydrolase) and electrochemical immuno biosensors in analyzing the OPs as well as the sensing mechanism, recent progresses, the merits and demerits of the individual biosensor. Finally, the potential resolutions to the existing problems and the

基金项目: 北京农业质量标准与检测技术研究中心开放课题(ZBZXKFKT201511)、北京市留学人员科技活动择优资助项目

Fund: Supported by the Open Project of Beijing Research Center for Agricultural Standards and Testing (ZBZXKFKT201511) and Technology Foundation for Selected Overseas Chinese Scholar of Beijing City

*通讯作者: 潘立刚, 研究员, 博士, 主要研究方向为农产品质量安全。E-mail: panlg@nrcita.org.cn

*Corresponding author: PAN Li-Gang, Professor, Ph.D., Beijing Research Center for Agricultural Standards and Testing, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Science, Haidian District, Shuguang Garden Middle Road, No.9, Beijing 100097, China. E-mail: panlg@nrcita.org.cn

future development of the electrochemical biosensor were prospected.

KEY WORDS: electrochemistry; immuno biosensor; enzyme biosensor; organophosphorus pesticide

1 引言

随着贸易全球化的发展,我国国际农产品贸易的范围、规模越来越大,农产品安全问题在国际农产品贸易中的地位越来越凸显重要。农产品质量安全问题主要是在农产品生产、加工、贮运过程中产生的危害人体健康的有毒生物、化学及物理性物质,包括农药残留、兽药残留、重金属、致病菌、产生的毒素、辐射污染和转基因食品等。

农残问题主要是农业生产过程中农药的大量、长期、广泛使用导致的农药残留超标问题。其中,有机磷农药因具有环境残留期短、价格低廉、药效高、杀虫谱广等优点,是目前农业生产中使用最多的农药^[1-3],因而其大量使用严重危害生态环境。残留于环境体系的有机磷农药可以通过多种途径进入人体,导致急性中毒,甚至造成大量个体死亡^[4-7],因此格外引人关注。到目前为止,传统的仪器分析方法如气相色谱法、高效液相色谱法、色谱-质谱联用法^[8-10]等仍然是农药残留检测和定量分析的“金标准”。但仪器分析法存在着仪器设备昂贵、检测成本高、前处理时间较长及过程烦琐、需专门技术人员操作、不能实现在线、野外现场检测等不足之处^[11,12],而且农残常规检测中的提取、净化、浓缩及检测等过程,每一操作步骤所用的实验方法、人员技术熟练程度、硬件设施乃至整体管理水平等多方面因素都会对测定结果产生较大影响。

近年来,随着科技水平的发展,在农产品分析领域涌现了许多新的检测平台,电化学生物传感技术就是其中之一。电化学生物传感器具有快速、简单、廉价、灵敏度高、抗干扰性强、易于携带及微型化等优点^[13-15],使得其在农药残留分析中发挥了重要作用,具有巨大的应用潜力和良好的发展前景。随着电化学生物传感器的不断发展、改进和完善,电化学生物传感器的检测对象越来越广,检测功能越来越强,检测性能也越来越好,成为农产品安全快速检测技术重要发展方向之一^[16,17]。

本文介绍电化学酶和电化学免疫两种生物传感器在有机磷农药分析中的应用,重点阐述电化学酶生物传感器在有机磷农药分析中的研究进展,并对其发展方向进行展望。

2 生物传感器概述

2.1 生物传感器的概念及检测原理

生物传感器是一种以固定化的生物成分(酶、蛋白质、DNA、抗体、抗原、生物膜等)或生物体本身(细胞、微生物、组织等)作为识别元件,与适当的物理、化学转

换器相结合,将样品中被测物的浓度转化成数字化可测量的物理、化学信号的分析检测装置^[18]。其工作原理是待测物质经扩散作用接近生物膜敏感层,被识别分子捕获而发生一定生物、物理、化学作用,从而引起一定的信号变化,经仪器测定以相应信号输出,从而实现对目标分子的检测。

2.2 生物传感器的分类

根据生物传感器的概念其主要包括特异性、选择性识别目标待测物的生物敏感元件和信号转换元件两部分^[19]。因此,生物传感器根据分类标准不同分为多种类型^[20],如根据信号转换方式不同可以分为电化学生物传感器、光学生物传感器、场效应晶体管生物传感器、压电生物传感器、热生物传感器以及磁生物传感器;根据敏感元件不同可以分为DNA传感器、酶传感器、免疫传感器、微生物传感器、细胞传感器、组织传感器以及分子印迹生物传感器等;根据输出信号方式不同可以分为生物亲和型生物传感器、代谢型、催化型生物传感器。

3 电化学生物传感器在有机磷农药分析中的应用

电化学生物传感器是以酶、抗原/抗体、DNA等生物物质为分子识别元件并与电化学信号转换器(电极)相结合,将与目标物作用的生物学信号转换成可识别电信号的传感装置^[21]。电化学生物传感器技术具有分析速度快、准确性好、选择性高、灵敏性和特异性强等优势,且具有易于携带、操作简单、仪器价格便宜、精度高、试样需要量少、对样品的损伤程度低、环境污染小以及易于批量生产等特点^[22-24],因此电化学生物传感器引起了科研工作者极大的兴趣,被广泛用于分析检测领域。

电化学生物传感器是目前常用的有机磷农药分析手段,主要包括电化学酶生物传感器和电化学免疫生物传感器。其中电化学酶生物传感器既具有对底物的高度选择性特征,又具有电化学电极的高灵敏度的优点,主要有两种类型:电化学抑制型酶传感器和电化学水解型酶传感器,采用的分别是胆碱酯酶(乙酰胆碱酯酶、丁酰胆碱酯酶)和有机磷水解酶。本文将重点阐述电化学酶生物传感器和电化学免疫传感器在检测有机磷农药方面的应用研究。

3.1 电化学乙酰胆碱酯酶生物传感器对有机磷农药分析检测

电化学乙酰胆碱酯酶生物传感器检测有机磷农药的原理主要是基于有机磷农药对乙酰胆碱酯酶的抑制作用^[25]。

最初人们只是将胆碱酯酶直接固载于电极表面用于有机磷农药的分析, 如 Albareda-Sirvent 等^[26]将乙酰胆碱酯酶固定在铜丝碳糊电极表面, 对对氧磷进行了分析检测, 检测限为 0.1 nmol/L。该课题组将此酶传感器用于果汁样品分析, 对氧磷回收率接近于 100%, 证明该酶传感器可用于实际样品中对氧磷的分析。随着生物传感技术和纳米技术的发展, 科研工作者将纳米材料、量子点等用于生物传感领域, 大大提高了传感器的灵敏度。Liu 等^[27]采用电沉积法制备纳米 ZrO_2 修饰的金电极, 基于 ZrO_2 对磷酸基团的强吸附作用, 实现了对甲基对硫磷的高灵敏检测, 检测限达到了 3.8×10^{-9} mol/L, 该方法有望用于实际样品中甲基对硫磷的分析。此后该课题组将碳纳米管 (CNT) 修饰于玻碳电极 (GCE) 表面, 制备了“三明治”型“PPDA/乙酰胆碱酯酶/PPDA/CNT/GCE”传感界面, 基于碳纳米管良好的导电性实现了对氧磷的高灵敏、快速检测, 检测限达到了 4.0×10^{-13} mol/L。此外, 该传感器亦实现了乙酰胆碱酯酶活性的再生, 从而可以实现对氧磷的多次检测^[28]。Du 等^[29]制备了 CdTe 量子点/金纳米粒子/壳聚糖修饰玻碳电极传感界面, 基于量子点和纳米金较好的导电特性, 实现了对久效磷农药的高灵敏检测, 检测限为 1.3×10^{-9} mol/L。Wang 课题组^[30]将金纳米粒子、还原石墨烯复合材料修饰于电极表面, 制备了乙酰胆碱酯酶/金纳米粒子/还原石墨烯修饰的传感界面, 基于金纳米粒子和还原石墨烯的双重电信号放大作用, 实现了对氧磷农药的高灵敏检测, 检测限达到了 1×10^{-13} mol/L。

Song 等^[31]采用乙酰胆碱酯酶/普鲁士蓝-壳聚糖复合物 (PB-CHI) 修饰的玻碳电极实现了对氨基甲酸酯类农药的检测。电极表面纳米尺度的普鲁士蓝对硫代胆碱 (硫代乙酰胆碱在乙酰胆碱酯酶作用下的水解产物) 具有较强的电催化活性, 当氨基甲酸酯农药存在时, 酶活性受到抑制, 电流信号强度下降, 从而实现对氨基甲酸酯农药的高灵敏、快速检测。Wang 等^[2]制备了钯纳米线-氮掺杂石墨烯复合材料修饰的玻碳电极, 并将乙酰胆碱酯酶固载于上述电极表面, 当酶底物硫代乙酰胆碱水解后, 其水解产物硫代胆碱的在电极表面氧化产生电流, 基于电流强度的变化实现了乙基对氧磷的检测, 检测限 1.3×10^{-9} mol/L, 该方法成功用于实际白菜样品乙基对氧磷的分析, 检测量 4×10^{-9} mol/L。

需要指出的是, 乙酰胆碱酯酶生物传感器在检测过程中容易受到某些重金属离子如 Fe、Pb、Cu、Zn 等的干扰^[32], 对测定结果产生较大的影响。Stein 课题组^[33]研究发现, 牛血清白蛋白与酶共孵育后得到的敏感膜可有效地消除上述重金属离子的干扰, 因此在制备传感界面的过程中, 可采用该方法处理传感膜从而使检测结果更加准确。

3.2 电化学丁酰胆碱酯酶生物传感器对有机磷农药分析检测

电化学丁酰胆碱酯酶生物传感器检测有机磷农药的

原理与乙酰胆碱酯酶传感器的检测原理相同, 也是基于有机磷农药对丁酰胆碱酯酶活性的抑制作用。研究表明, 丁酰胆碱酯酶比乙酰胆碱酯酶的稳定性要高, 但是科研工作者多是采用乙酰胆碱酯酶生物传感器用于有机磷农药的分析检测, 这主要是因为对于大部分有机磷农药来说, 丁酰胆碱酯酶传感器检测的灵敏度相对较差^[34]。一些国内外课题组亦制备了丁酰胆碱酯酶传感器用于有机磷农药的分析。如 Campanella 等^[35]将丁酰胆碱酯酶及胆碱氧化酶同时固载于渗透膜修饰的克拉克氧电极表面, 并成功用于有机磷农药的分析。李生发课题组^[36]制备了硫代丁酰胆碱酯酶修饰的银基汞膜电极传感器对有机磷农药进行了检测, 基于硫代丁酰胆碱在 -0.55 V 氧化电流的信号变化实现了对敌百虫、对硫磷、辛硫磷及亚胺硫磷等有机磷农药的灵敏检测。Kumaran 等^[37]将丁酰胆碱酯酶吸附在预先活化的尼龙—聚酰胺膜上, 并用尼龙网将载酶膜片固定在 pH 电极表面, 并用于测定土壤中有机磷农药乙基对硫磷和速灭磷, 测定检出限分别为 1.3×10^{-5} mol/L 和 6.2×10^{-6} mol/L。Imato 课题组^[38]制备了丁酰胆碱酯酶固载的 PVC 膜传感界面, 并对有机磷农药多虫磷进行了分析, 检测限达到亚微摩尔级。Arduini 等^[39]对电极材料进行了改进, 将电活性物质普鲁士蓝修饰于丝网印刷碳电极表面, 后将丁酰胆碱酯酶固载于上述传感界面, 以硫代丁酰胆碱为酶底物, 实现了对有机磷农药对氧磷、甲基毒死蜱的检测, 检测限分别为 1.45×10^{-8} mol/L、 3.1×10^{-9} mol/L。该传感器亦应用于废水及河水中有有机磷农药的分析, 回收率 107%~113%。

3.3 电化学磷酸水解酶生物传感器对有机磷农药分析检测

有机磷农药是磷酸酯类化合物, 在磷酸水解酶 (phosphohydrolase, OPH) 的作用下可以发生水解作用。研究发现对氧磷及甲基对氧磷等农药水解后生成对硝基苯酚, 而对硝基苯酚在电极表面氧化时产生电化学信号, 且电流信号大小与对硝基苯酚的浓度成正比, 根据对硝基苯酚与有机磷农药的关系便可确定待测溶液中有有机磷农药的含量^[40]。因此, 磷酸水解酶传感器与酶抑制传感器相比选择性较好, 可以实现对硫磷、对氧磷类有机磷农药的检测。

Mulchandani 课题组^[41]制备了 OPH-Nafion 膜修饰的丝网印刷碳电极, 当对氧磷、甲基对氧磷农药在 OPH 作用下水解生成对硝基苯酚后, 对硝基苯酚在电极界面被氧化, 根据其氧化电流信号实现对氧磷及甲基对氧磷农药的高灵敏检测, 检测限达到了 10^{-8} mol/L, 该传感器亦成功应用于河水中有有机磷农药的分析。Lee 课题组^[42]对电极材料进行了改进, 将多孔碳 (MC)-炭黑 (CB) 修饰到玻碳电极表面, 制备了 OPH/(MC-CB)/GC 传感界面, 并成功用于对氧磷农药的检测, 结果表明 MC-CB 材料用于电极界面的改进, 要比其他碳材料如碳纳米管等的性能要好, 检测限达到了 0.12×10^{-6} mol/L。Zhao 课题组^[43]制备了纳米金包覆的磁性

Fe₃O₄颗粒,然后将磷酸水解酶负载到金膜表面,并通过磁场效应将上述水解酶包覆的磁性传感颗粒固定于丝网印刷碳电极表面。当存在甲基对硫磷农药时,其水解产物对硝基苯酚可以在电极表面发生氧化,根据其氧化产生电流信号的变化从而实现了甲基对硫磷的高灵敏、选择性检测,检测限达到 3.8×10^{-10} mol/L。与酶抑制传感器相比,此类传感器因水解酶活性不受农药的影响,故可以重复多次使用,从而降低了检测的成本和效率。研究发现,一些不适用于单一磷酸水解酶修饰传感界面检测的有机磷农药可以通过修饰多酶传感界面的途径解决。Sahin 等^[44]研究发现除线磷在单一磷酸水解酶修饰传感界面无电化学响应信号,而在磷酸水解酶/辣根过氧化物酶 (OPH/HRP) 双酶修饰的电极界面则具有较好的电流信号,从而实现了除线磷农药的分析检测,检测限 2.4×10^{-5} mol/L。多酶传感器的成功制备扩大了有机磷农药的检测范围。

此外,对氧磷、对硫磷类农药在碱性条件下亦可发生水解作用生成对硝基苯酚,因此用碱性溶液替代磷酸水解酶可以大大降低实验的操作难度、检测成本等。在此基础上, Li 等^[45]制备了 TiO₂ 修饰的 ITO 电极,采用光电化学方法实现了甲基对硫磷的检测,检测限达到了 8.0×10^{-11} mol/L。此外,该方法亦成功用于实际样品蔬菜中甲基对硫磷的分析,结果与仪器 GC-MS 分析结果一致。

3.4 电化学免疫生物传感器对有机磷农药分析检测

有机磷农药的种类很多,其中有机磷农药及氨基甲酸酯类等农药均会对胆碱酯酶的活性产生抑制作用,因此该类电化学酶传感器只能测出农药的总量,不能进行农药的识别研究,选择性较差,这也导致了其在农药残留痕量检测中容易出现错检、漏检的现象。而电化学免疫传感器具有特异性强、方便快捷的特点,可以弥补电化学酶生物传感方法的不足,同时可以将纳米材料如金纳米粒子、碳纳米材料、电信号标记分子等用于电极界面的修饰,从而可以实现有机磷农药的高灵敏检测,因此电化学免疫生物传感器在检测有机磷农药残留方面具有巨大的应用潜力。

Hu 课题组^[46]将对氧磷农药的抗体负载于金纳米粒子表面,进而将抗体包覆的金纳米粒子修饰于玻碳电极,基于金纳米粒子的优良导电性及生物兼容性,实现了对氧磷农药的高灵敏检测,检测限达到 3.9×10^{-8} mol/L。Liu^[47]将碳纳米材料引入电极界面,制备了碳纳米管/二茂铁/抗原修饰的传感界面,基于免疫竞争法实现了对氧磷农药的检测,检测限达到 7.3×10^{-9} mol/L。有机磷农药种类多、数目大,因此研制高通量、特异性电化学生物传感器是其发展方向之一,可以实现批量检测、提高分析效率、降低假阳性等,具有重要的研究意义。Cao 等^[48]将 Protein A 固定于阵列电极表面,然后通过 Protein A 与抗体的特异性作用将毒死蜱单克隆抗体固载于电极表面,制备了一种集成电化学阵列免疫传感器,成功的实现了有机磷农药毒死蜱的快

速、专一、高灵敏、高通量检测,最后得到的检测限为 4×10^{-11} mol/L。此外,电化学免疫生物传感器不仅可以实现目标有机磷农药的检测,而且可以用于有机磷农药毒性风险分析,如 Wang 等^[49]搭建了免疫色谱电化学生物传感器,实现了对毒死蜱代谢产物三氯吡啶醇的检测,该传感器在暴露毒死蜱农药的白鼠血浆中成功检测到三氯吡啶醇,因此该传感器有望用于毒死蜱暴露人群风险评估。

4 电化学生物传感器优、缺点及解决途径

综上所述,电化学胆碱酯酶生物传感器可以实现对有机磷类农药、氨基甲酸酯类农药的高灵敏、快速检测,而有机磷水解酶生物传感器则可以实现对氧磷、对硫磷类有机磷农药的快速、选择性定量分析。但是电化学酶传感器依然存在不足之处,主要表现在酶传感电极的制备过程比较繁琐、酶在电极表面固定时容易损失酶活性、酶活性保存时间有限、使用时对环境及样品条件的要求比较高等。电化学蛋白酶传感器的这些缺点会直接导致电化学测定结果偏差较大,传感器的重现性和稳定性较差等问题。电化学免疫传感器虽然具有特异性强的优点,但是电化学免疫传感法存在抗原、抗体的开发过程需要投入较多资金和较长时间,抗体制备难度较大,易失活、对结构类似的化合物有一定的交叉反应、只适用于单一农药残留的检测分析问题。因此,电化学生物传感器在检测有机磷类农药方面仍面临挑战,寻求新的特异性识别有机磷类农药的生物识别分子(如核酸适配体、合成生物大分子等),有望解决这一问题。到目前为止,通过 SELEX 技术筛选得到的有机磷农药适体 DNA 数量较少,因此基于适体 DNA 生物传感器检测有机磷农药的生物传感方法的研究还相对较少,如 Wang 等^[50]构建了适体生物传感器实现了氧化乐果的检测,检测限为 1.0×10^{-7} mol/L。Bala 等^[51]建立了检测甲拌磷的适体生物传感方法,检测限为 1.0×10^{-11} mol/L。因此,将有机磷农药适体 DNA 修饰于电极表面,开发电化学适体 DNA 生物传感器并与电化学酶生物传感法、电化学免疫传感法相结合,有望在将来更好的实现有机磷农药的检测。

此外,光学生物传感法如比色法^[4,52]、荧光光谱法^[3,53]、化学发光法^[54,55]因具有分析速度快、灵敏度高、特异性强等优点,也是目前有机磷农药快速分析的重要研究方向之一,因此我们亦可将电化学、光学等两种生物传感法相结合、互为补充,从而可以实现有机磷农药的快速、灵敏、特异性检测。

5 展望

电化学生物传感器的研发不仅实现了有机磷农药的快速、简单、高灵敏分析,也为食品农药残留分析提供了快速筛查的工具,降低了食品安全风险,但电化学生物传感检测技术仍面临着许多挑战,仍需不断发展、提高、完

善, 如酶、免疫生物传感器的检测限还不能达到分析仪器的标准, 尚需研发高性能电极及修饰材料 (如纳米复合材料^[56]); 传感器的选择性不高, 仍需开发新型传感器 (如适体生物传感器^[50,51]) 以实现目标有机磷农药的选择性、特异性分析; 发展新的酶固定技术及固定材料的研究, 减少固定化酶活力的损失; 与其它分析技术系统联用使其向高通量、微型化方向发展 (如阵列传感器^[57]); 探究胆碱酯酶活性复活技术以降低检测成本等^[28]。这些问题的存在制约了电化学生物传感器检测有机磷农药的分析性能, 迫切需要解决, 是分析工作者将来关注的课题, 具有重要的研究价值。

参考文献

- [1] Liu D, Chen W, Wei J, *et al.* A highly sensitive, dual-readout assay based on gold nanoparticles for organophosphorus and carbamate pesticides [J]. *Anal Chem*, 2012, 84(9): 4185–4191.
- [2] Wang B, Ye C, Zhong X, *et al.* Electrochemical biosensor for organophosphate pesticides and huperzine-a detection based on pd wormlike nanochains/graphitic carbon nitride nanocomposites and acetylcholinesterase [J]. *Electroanalysis*, 2015, 27: 1–9.
- [3] Zhang K, Yu T, Liu F, *et al.* Selective fluorescence turn-on and ratiometric detection of organophosphate using dual-emitting mn-doped zns nanocrystal probe [J]. *Anal Chem*, 2014, 86(23): 11727–11733.
- [4] Qian S, Lin H. Colorimetric sensor array for detection and identification of organophosphorus and carbamate pesticides [J]. *Anal Chem*, 2015, 87(10): 5395–5400.
- [5] Liu B, Zhou P, Liu X, *et al.* Detection of pesticides in fruits by surface-enhanced raman spectroscopy coupled with gold nanostructures [J]. *Food Bioprocess Technol*, 2013, 6(3): 710–718.
- [6] Liang M, Fan K, Pan Y, *et al.* Fe₃O₄ magnetic nanoparticle peroxidase mimetic-based colorimetric assay for the rapid detection of organophosphorus pesticide and nerve agent [J]. *Anal Chem*, 2012, 85: 308–312.
- [7] Fu G, Chen W, Yue X, *et al.* Highly sensitive colorimetric detection of organophosphate pesticides using copper catalyzed click chemistry [J]. *Talanta*, 2013, 103(15): 110–115.
- [8] Zhao XH, Wang HM. A study of the degradation of organophosphorus pesticides in river waters and the identification of their degradation products by chromatography coupled with mass spectrometry [J]. *Arch Environ Contam Toxicol*, 2009, 56(4): 646–653.
- [9] Molina C, Honing M, Barceló D. Determination of organophosphorus pesticides in water by solid-phase extraction followed by liquid chromatography/high-flow pneumatically assisted electrospray mass spectrometry [J]. *Anal Chem*, 1994, 66(24): 4444–4449.
- [10] Chamkasem N, Ollis LW, Harmon T, *et al.* Analysis of 136 pesticides in avocado using a modified QuEChERS method with LC-MS/MS and GC-MS/MS [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(10): 2315–2329.
- [11] Liang G, Li T, Li XH, *et al.* Electrochemical detection of the amino-substituted naphthalene compounds based on intercalative interaction with hairpin DNA by electrochemical impedance spectroscopy [J]. *Biosens Bioelectron*, 2013, 48(15): 238–243.
- [12] Liang G, Liu XH. G-quadruplex based impedimetric 2-hydroxyfluorene biosensor using hemin as a peroxidase enzyme mimic [J]. *Microchim Acta*, 2015, 182(12): 2233–2240.
- [13] Andresescu S, Sadik OA. Trends and challenges in biochemical sensors for clinical and environmental monitoring [J]. *Pure Appl Chem*, 2004, 76(4): 861–878.
- [14] Purohit H. Biosensors as molecular tools for use in bioremediation [J]. *J Clean Prod*, 2003, 11(3): 293–301.
- [15] Nakamura H, Karube I. Current research activity in biosensors [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2003, 377 (3): 446–468.
- [16] Alocilja EC, Radke SM. Market analysis of biosensors for food safety [J]. *Biosens Bioelectron*, 2003, 18 (5): 841–846.
- [17] Munna ST, Raghuraj SC, Aaydha CV. Biosensors for pesticides and foodborne pathogens [M]. Florida: CRC Press, 2010.
- [18] Rana J, Jindal J, Beniwal V, *et al.* Utility biosensors for applications in agriculture-a review [J]. *J Am Sci*, 2010, 6(9): 353–375.
- [19] Rogers K, Williams L. Biosensors for environmental monitoring: a regulatory perspective [J]. *Trends Anal Chem*, 1995, 14(7): 289–294.
- [20] 王建龙, 张悦, 施汉昌, 等. 生物传感器在环境污染监测中的应用研究 [J]. *生物技术通报*, 2000, (3): 13–18.
- [21] Wang JL, Zhang Y, Shi HC, *et al.* Application of biosensor in environmental pollutants monitoring [J]. *Biotech Inf*, 2000, (3): 13–18.
- [22] 梁刚, 刘新会. 电化学 DNA 生物传感器在检测环境有机污染物中的应用 [J]. *环境化学*, 2013, 32(7): 1388–1397.
- [23] Liang G, Liu XH. Application of electrochemical DNA biosensor for the detection of environmental organic pollutants [J]. *Environ Chem*, 2013, 32(7): 1388–1397.
- [24] Rodriguez-Mozaz S, Marco MP, Alda MJ, *et al.* Biosensors for environmental applications: future development trends [J]. *Pure Appl Chem*, 2004, 76(4): 723–752.
- [25] Rodriguez-Mozaz S, Alda MJ, Marco MP, *et al.* Biosensors for environmental monitoring: a global perspective [J]. *Talanta*, 2005, 65(2): 291–297.
- [26] Karube I, Nomura Y, Arikawa Y. Biosensors for environmental control [J]. *Trends Anal Chem*, 1995, 14 (7): 295–299.
- [27] 李彦文. 生物传感器及其在环境监测方面的应用 [J]. *环境保护科学*, 2004, 30(121): 35–38.
- [28] Li YW. Biosensor and the applications on environmental monitoring [J]. *Environ Prot Sci*, 2004, 30(121): 35–38.
- [29] Albareda-Sirvent M, Merkoçi A, Alegret S. Pesticide determination in tap water and juice samples using disposable amperometric biosensors made using thick-film technology [J]. *Anal Chim Acta*, 2001, 442(1): 35–44.
- [30] Liu G, Lin Y. Electrochemical sensor for organophosphate pesticides and nerve agents using zirconia nanoparticles as selective sorbents [J]. *Anal Chem*, 2005, 77(18): 5894–5901.
- [31] Liu G, Lin Y. Biosensor based on self-assembling acetylcholinesterase on carbon nanotubes for flow injection/amperometric detection of organophosphate pesticides and nerve agents [J]. *Anal Chem*, 2006, 78(3): 835–843.
- [32] Du D, Chen S, Song D, *et al.* Development of acetylcholinesterase biosensor based on CdTe quantum dots/gold nanoparticles modified chitosan microspheres interface [J]. *Biosens Bioelectron*, 2008, 24(3): 475–479.
- [33] Wang Y, Zhang S, Du D, *et al.* Self assembly of acetylcholinesterase on a gold nanoparticles-graphene nanosheet hybrid for organophosphate pesticide detection using polyelectrolyte as a linker [J]. *J Mater Chem*, 2011, 21(14): 5319–5325.
- [34] Song Y, Zhang M, Wang L, *et al.* A novel biosensor based on

- acetylcholinesterase/prussian blue-chitosan modified electrode for detection of carbaryl pesticides [J]. *Electrochim Acta*, 2011, 56(21): 7267–7271.
- [32] Verma N, Bhardwaj. A biosensor technology for pesticides—a review [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2015, 175(6): 3093–3119.
- [33] Stein K, Schmechel S. Influence of heavy metal ions in drinking water on the activity of the ache-biosensor [J]. *J Prakt Chem*, 1996, 338(2): 114–120.
- [34] Van-Dyk JS, Pletschke B. Review on the use of enzymes for the detection of organochlorine, organophosphate and carbamate pesticides in the environment [J]. *Chemosphere*, 2011, 82 (3): 291–307.
- [35] Campanella L, Achilli M, Sammartino MP, *et al.* Butyrylcholine enzyme sensor for determining organophosphorus inhibitors [J]. *Bioelectrochem Bioenerg*, 1991, 26(2): 237–249.
- [36] 李发生, 布特尼科夫. 丁酰胆碱酯酶传感器用于有机磷农药测定[J]. *化学传感器*, 1994, 14 (2): 107–110.
- Li FS, Budnikov HK. Butyrylcholine enzyme sensor for the detection of organophosphate pesticides [J]. *Chem Sens*, 1994, 14(2): 107–110.
- [37] Kumaran S, Morita M. Application of a cholinesterase biosensor to screen for organophosphorus pesticides extracted from soil [J]. *Talanta*, 1995, 42(4): 649–655.
- [38] Imato T, Ishibashi N. Potentiometric butyrylcholine sensor for organophosphate pesticides [J]. *Biosens Bioelectron*, 1995, 10(5): 435–441.
- [39] Arduini F, Ricci F, Tuta CS, *et al.* Detection of carbamic and organophosphorous pesticides in water samples using a cholinesterase biosensor based on prussian blue-modified screen-printed electrode [J]. *Anal Chim Acta*, 2006, 580(2): 155–162.
- [40] 全爽, 李晔, 金丽华, 等. 有机磷水解酶及其在传感器应用中的研究进展 [J]. *生态科学*, 2015, 34(1): 198–204.
- Quan S, Li Y, Jin LH, *et al.* The research progress of organophosphorus hydrolase and application in sensor [J]. *Ecol Sci*, 2015, 34(1): 198–204.
- [41] Mulchandani A, Mulchandani P, Chen W, *et al.* Amperometric thick-film strip electrodes for monitoring organophosphate nerve agents based on immobilized organophosphorus hydrolase [J]. *Anal Chem*, 1999, 71(11): 2246–2249.
- [42] Lee JH, Park JY, Min K, *et al.* A novel organophosphorus hydrolase-based biosensor using mesoporous carbons and carbon black for the detection of organophosphate nerve agents [J]. *Biosens Bioelectron*, 2010, 25(7): 1566–1570.
- [43] Zhao Y, Zhang W, Lin Y, *et al.* The vital function of $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Au}$ nanocomposites for hydrolase biosensor design and its application in detection of methyl parathion [J]. *Nanoscale*, 2013, 5(3): 1121–1126.
- [44] Sahin A, Dooley K, Cropek DM, *et al.* A dual enzyme electrochemical assay for the detection of organophosphorus compounds using organophosphorus hydrolase and horseradish peroxidase [J]. *Sensor Actuat B-Chem*, 2011, 158(1): 353–360.
- [45] Li H, Li J, Xu Q, *et al.* A derivative photoelectrochemical sensing platform for 4-nitrophenolate contained organophosphates pesticide based on carboxylated perylene sensitized nano- TiO_2 [J]. *Anal Chim Acta*, 2013, 766: 47–52.
- [46] Hu SQ, Xie JW, Xu QH, *et al.* A label-free electrochemical immunosensor based on gold nanoparticles for detection of paraoxon [J]. *Talanta*, 2003, 61(6): 769–777.
- [47] Liu G, Song D, Chen F. Towards the fabrication of alabel-free amperometric immunosensor using SWNTs for direct detection of paraoxon [J]. *Talanta*, 2013, 104: 103–108.
- [48] Cao Y, Sun X, Guo Y, *et al.* An electrochemical immunosensor based on interdigitated array microelectrode for the detection of chlorpyrifos [J]. *Bioprocess Biosyst Eng*, 2015, 38(2): 307–313.
- [49] Wang L, Lu D, Wang J, *et al.* A novel immunochromatographic electrochemical biosensor for highly sensitive and selective detection of trichloropyridinol, abiomarker of exposure to chlorpyrifos [J]. *Biosens Bioelectron*, 2011, 26(6): 2835–2840.
- [50] Wang P, Wan Y, Ali A, *et al.* Aptamer-wrapped gold nanoparticles for the colorimetric detection of mmethoate [J]. *Sci China Chem*, 2015, 58: 1–6.
- [51] Bala R, Sharma RK, Wangoo N. Development of gold nanoparticles-based aptasensor for the colorimetric detection of organophosphorus pesticide phorate [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2015, Doi: 10.1007/s00216-015-9085-4.
- [52] Meng X, Schultz CW, Cui C, *et al.* On-site chip-based colorimetric quantitation of organophosphorus pesticides using an office scanner [J]. *Sensor Actuat B-Chem*, 2015, 215: 577–583.
- [53] Kolosova AY, Park JH, Eremin SA, *et al.* Fluorescence polarization immunoassay based on a monoclonal antibody for the detection of the organophosphorus pesticide parathion-methyl [J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51(5): 1107–1114.
- [54] Ban R, Zhu JJ, Zhang JR. Manganese-doped ZnS quantum dots as a phosphorescent probe for use in the bi-enzymatic determination of organophosphorus pesticides [J]. *Microchim Acta*, 2014, 181(13–14): 1591–1599.
- [55] Yu T, Ying TY, Song YY, *et al.* A highly sensitive sensing system based on photoluminescent quantum dots for highly toxic organophosphorus compounds [J]. *RSC Adv*, 2014, 4(16): 8321–8327.
- [56] Jiang D, Du X, Liu Q, *et al.* Silver nanoparticles anchored on nitrogen-doped graphene as a novel electrochemical biosensing platform with enhanced sensitivity for aptamer-based pesticide assay [J]. *Analyst*, 2015, 140(18): 6404–6411.
- [57] Liu Y, Jia SP, Guo LH. Development of microplate-based photoelectrochemical DNA biosensor array for high throughput detection of DNA damage [J]. *Sensor Actuat B-Chem*, 2012, 161(1): 334–340.

(责任编辑: 金延秋)

作者简介



梁 刚, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为 POPs、有机农药等污染物电化学、光学生物传感分析。
E-mail: lghbsd2006@163.com



潘立刚, 博士, 研究员, 主要研究方向为农产品质量安全。
E-mail: panlg@nrcita.org.cn