

基于纳米金/铜有机骨架的酶传感器检测蔬菜中敌敌畏

王静静*, 居仪焰

(长垣烹饪职业技术学院, 新乡 453400)

摘要: **目的** 制备氨基化纳米金/铜有机骨架(aminated gold nanoparticles/copper-origin frameworks, AuNPs-NH₂/Cu-MOF)纳米复合材料, 并构建新型乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)传感器对蔬菜中敌敌畏进行定量分析。**方法** 采用羧甲基壳聚糖(carboxymethyl chitosan, CMCS)为交联剂, AuNPs-NH₂/Cu-MOF为修饰材料, 玻碳电极(glassy carbon electrode, GCE)为工作电极, 构建 AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE 传感器。通过对交联剂、酶固载量、抑制时间的优化, 确定传感器的最佳工作条件, 对蔬菜中敌敌畏进行检测分析。**结果** AuNPs-NH₂/Cu-MOF 不仅具有良好的导电性和生物相容性, 还可以为酶和底物提供更多的接触位点, 有效地提高传感器的灵敏度。在最佳工作条件下, 在 $1.0 \times 10^{-10} \sim 1.0 \times 10^{-5}$ g/L 之间, 敌敌畏浓度的负对数与其对传感器的抑制率呈线性关系, 检出限 1.7951×10^{-11} g/L(按抑制率 10%计算)。加标回收率在 96.28%~103.20% 之间, 检测结果与高效液相色谱法检测结果一致, 且该传感器重复性、稳定性较好, 对常见的 Pb²⁺、Zn²⁺、Ni²⁺ 和 Cd²⁺ 有良好的抗干扰能力。**结论** AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE 传感器操作简便、快捷, 可用于蔬菜中敌敌畏的快速定量分析。

关键词: 敌敌畏; 金属有机骨架; 纳米金; 传感器

Detection of dichlorvos in vegetables based on gold nanoparticles/copper-origin frameworks enzyme sensor

WANG Jing-Jing*, JU Yi-Yan

(Changyuan Culinary Vocational and Technical College, Xinxian 453400, China)

ABSTRACT: Objective To prepare aminated gold nanoparticles/copper-origin frameworks (AuNPs-NH₂/Cu-MOF) nanocomposites, and construct a new acetylcholinesterase (AChE) sensor for the detection of dichlorvos in vegetables. **Methods** AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE sensor was constructed using carboxymethyl chitosan (CMCS) as crosslinking agent, AuNPs-NH₂/Cu-MOF as modified material, and glassy carbon electrode (GCE) as working electrode. The optimum working conditions of the sensor were determined by optimizing crosslinking agent, enzyme immobilization, inhibition time to detect and analyze dichlorvos in vegetables. **Results** AuNPs-NH₂/Cu-MOF not only had good conductivity and biocompatibility, but also could provide more contact sites for enzymes and substrates, which could effectively improve the sensitivity of the sensor. Under the optimum conditions, the negative logarithm of dichlorvos

基金项目: 2020 年度河南省高等职业学校青年骨干教师培养计划(2020GZGG113)

Fund: Supported by the 2020 Training Plan for Young Backbone Teachers in Higher Vocational Schools of Henan Province (2020GZGG113)

*通信作者: 王静静, 硕士, 讲师, 主要研究方向为电化学检测及食品营养等。E-mail: 343512068@qq.com

*Corresponding author: WANG Jing-Jing, Master, Lecturer, Food College, Changyuan Culinary Vocational and Technical College, Changyuan 453400, China. E-mail: 343512068@qq.com

concentration showed a good linear relationship with its inhibition rate to the sensor in the range of 1.0×10^{-10} – 1.0×10^{-5} g/L, the limit of detection was 1.7951×10^{-11} g/L (calculated according to the inhibition rate of 10%). The recoveries were 96.28%–103.20%, the detection results were consistent with the result of high performance liquid chromatography, and the sensor had good repeatability and stability, and good anti-interference ability to common Pb^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} and Cd^{2+} . **Conclusion** AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE is easy to operate and rapid, and can be used for detecting dichlorvos in vegetables rapidly.

KEY WORDS: dichlorvos; metal origin frameworks; gold nanoparticles

0 引言

敌敌畏又名二氯松,是一种常见的有机磷农药,由于具有广谱、高效、残效期短等特性,在农业生产中被广泛应用^[1]。敌敌畏易挥发,很容易通过呼吸道、皮肤进入人体与体内的乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)结合,引起神经系统传递障碍,使人产生抽搐、头晕、恶心、四肢无力等症状,严重者甚至死亡,且长期接触敌敌畏还存在致癌的风险^[2-4]。

目前,关于敌敌畏的检测方法主要有高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)、免疫法、荧光法等^[5-6]。这些方法虽然能实现对敌敌畏的定量分析,但由于其存在操作复杂、成本高、检出限低等缺陷,不适合对敌敌畏的快速定量分析^[7]。电化学分析法由于具有设备体积小、操作简单、成本低等优点,在对敌敌畏快速定量分析方面存在较大的潜力。目前国内外关于电化学分析法检测农药残留的方法主要有电化学直接检测法、酶传感器法及核酸适配体传感器法^[8]。电化学直接检测法虽然能够实现对农药残留的检测,但其灵敏度低;核酸适配体传感器法虽然具有较低的检出限和很好的特异性,但其操作复杂、成本高^[5]。基于有机磷农药可有效抑制乙酰胆碱酯酶对底物乙酰胆碱的催化活性制得酶生物传感器的电化学检测方法具有特异性和敏感性好、响应快速、成本低以及操作简单、受环境干扰小、易于微型化等优点,是快速检测有机磷农药残留的理想方法之一。但由于酶为生物大分子,其本身阻抗较大,单独修饰在电极表面会导致传感器灵敏度降低,因此制备一种导电性、分散性、生物相容性好的新型纳米复合材料对于制备高灵敏度的有机磷酶传感器具有重要意义。

金纳米粒子(gold nanoparticles, AuNPs)具有无毒、导电性、催化性及生物相容性良好等优点^[9-10]。金属有机骨架(metal-origin frameworks, MOF)是一种具有晶型结构的新型材料,MOF 表面具有丰富的活性位点且具有良好的生物相容性^[11-13],很适合 AChE 的固载。因此,本研究结合 AuNPs 和 MOF 的优良特性,制备具有良好导电性、催化性、生物相容性的氨基化纳米金/铜有机骨架(aminated

nanoparticles gold/copper-origin frameworks, AuNPs-NH₂/Cu-MOF)纳米复合材料^[14-15],并构建新型的 AChE 传感器来实现对敌敌畏的快速定量分析,为蔬菜中敌敌畏的快速定量分析提供新方法。

1 材料与方法

1.1 试验试剂

硝酸铜[Cu(NO₃)₂·3H₂O]、柠檬酸钠、铁氰化钾(分析纯,天津市巴斯夫化工有限公司);1,2,4-苯三甲酸、无水乙醇(分析纯,成都市联合和化工试剂研究所);氯金酸[分析纯,凯码生化(天津)有限公司];2-巯基乙胺(分析纯,上海展云化工有限公司);C3389 乙酰胆碱酯酶、氯化乙酰胆碱(acetylcholine chloride, ATCl)、N-羟基丁二酰亚胺、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺(分析纯,美国 Sigma-Aldrich 公司);敌敌畏(优级纯,中国食品药品检定研究所)。

生菜,购于当地超市。

1.2 仪器与设备

JSM-IT200 扫描电子显微镜(日本电子株式会社);CHI-660E 电化学工作站(上海辰华仪器有限公司);TG12M 型离心机(湖南凯达科学仪器有限公司);DZF6050 真空干燥箱(上海迈捷实验设备有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 AuNPs-NH₂/Cu-MOF 的制备

Cu-MOF 的制备^[12]:称取 1.75 g 的 Cu(NO₃)₂·3H₂O 和 0.84 g 的 1,2,4-苯三甲酸于 100 mL 锥形瓶中,然后向其中加入 50.0 mL 无水乙醇,搅拌均匀,置于水浴振荡器中,60 °C 条件下水浴振荡直至产生蓝色沉淀,再于 60 °C 条件下静置 24 h,冷却至室温,过滤、洗涤,最后将产物于 100 °C 条件下真空干燥 12 h 即得 Cu-MOF 备用。

AuNPs-NH₂的制备^[12]:取 20 mL 柠檬酸钠溶液(5 mg/mL)加热至沸腾,在剧烈搅拌条件下加入 3.5 mL 的氯金酸溶液(10 mg/mL),搅拌 30 min 使其充分反应后,冷却至室温。随后向冷却液中加入 5 μL 的 2-巯基乙胺溶液(4.0 mg/mL)磁力搅拌 6 h 后将混合液于 12000 r/min 条件下离心 8 min,将离心产物分别用无水乙醇、超纯水反复洗涤 3 次,将固体产物于 30 °C 条件下真空干燥 6 h 即得 AuNPs-NH₂,备用。

AuNPs-NH₂/Cu-MOF 的制备: 称取 100 mg 的 Cu-MOF 于 50 mL 锥形瓶中, 加入 20.0 mL 无水乙醇, 超声分散 10 min 后向其中加入 100 mg 的 N-羟基丁二酰亚胺和 190 mg 的 1-乙基-(3-二甲氨基丙基)碳酰二亚胺, 磁力搅拌 40 min, 最后向分散液中加入 10 mg 制备好的 AuNPs-NH₂, 继续搅拌 90 min 后将混合液于 5000 r/min 条件下离心 8 min, 将离心产物用无水乙醇、超纯水反复洗涤 3 次, 固体产物于 30 °C 条件下真空干燥, 即得 AuNPs-NH₂/Cu-MOF, 备用。

1.3.2 AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE 的制备

玻碳电极(glassy carbon electrode, GCE)参考文献[16-18]处理, 准确吸取 5.0 μ L 的 AuNPs-NH₂/Cu-MOF 分散液(1.0 mg/mL)均匀涂布在 GCE 表面, 室温干燥, 得 AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE, 备用。准确吸取 2.0 μ L 0.3% 羧甲基壳聚糖(m:v)、4.0 μ L 的 AChE (0.1 U/ μ L)和 2.0 μ L 1.0% 牛血清蛋白溶液(m:v) (防止酶分子聚集)于 200 μ L 离心管中, 超声分散 60 s 混合均匀, 然后吸取 4.0 μ L 的混合液均匀滴加在 AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE 表面, 4 °C 下自然干燥, 即得 AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE 传感器。

1.3.3 标准曲线绘制

采用制备好的 AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE 分别对 $1.0 \times 10^{-11} \sim 1.0 \times 10^{-4}$ g/L 敌敌畏进行抑制 8 min, 分别计算出其不同质量浓度下的抑制率, 并绘制抑制率与敌敌畏质量浓度的负对数间的标准曲线。

1.3.4 样品处理

以生菜为检测对象, 本地生菜参照文献[19]进行处理, 分别制备质量浓度为 1.0×10^{-9} 、 1.0×10^{-8} 和 1.0×10^{-7} g/L 敌敌畏加标待检样, 对其进行定量分析。

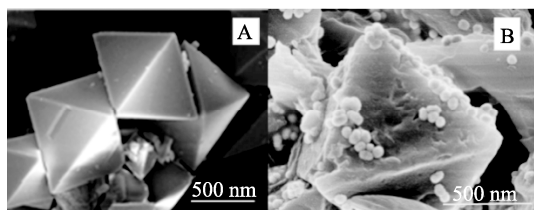
1.3.5 数据处理

采用 Origin 8.5 进行数据分析和处理。

2 结果与分析

2.1 AuNPs-NH₂/Cu-MOF 的形貌表征

采用扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)对制备好的 Cu-MOF 和 AuNPs-NH₂/Cu-MOF 进行形貌表征, 其结果如图 1 所示。



注: A: Cu-MOF; B: AuNPs-NH₂/Cu-MOF。

图 1 Cu-MOF 和 AuNPs-NH₂/Cu-MOF 的 SEM 图

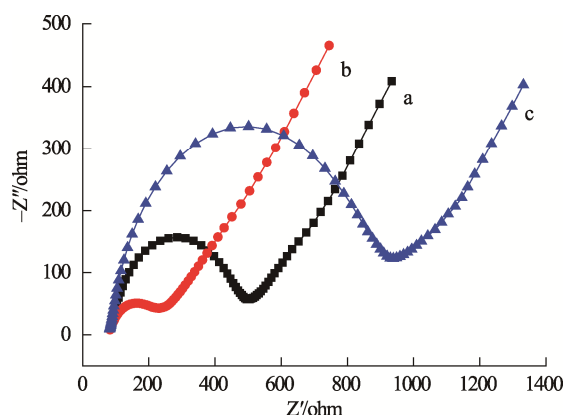
Fig.1 SEM images of Cu-MOF and AuNPs-NH₂/Cu-MOF

从图 1A 分析可知, Cu-MOF 为三维多面体结构, 且表

面光滑, 这可以为酶分子附着提供更多的活性位点^[12], 从图 1B 可知 AuNPs-NH₂ 为球形结构, 分散在 Cu-MOF 的表面, 其直径大小约为 50 nm, 这是因为 AuNPs 表面嫁接官能团氨基后可以有效地改善 AuNPs 与 Cu-MOF 的相容性, 这也说明 AuNPs 已被氨基化。

2.2 不同传感器的电化学表征

以 10 mmol/L 的铁氰化钾为电解质溶液分别对 GCE、AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE 和 AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE 进行交流阻抗(electrochemical impedance spectroscopy, EIS)表征, 结果如图 2 所示。



注: a: GCE; b: AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE; c: AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE。

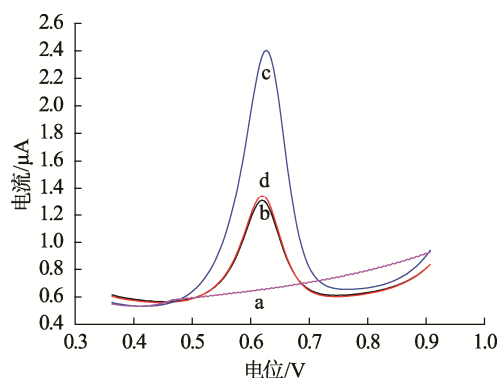
图 2 不同传感器的 EIS 曲线

Fig.2 EIS curves of different sensors

从图 2 可知, GCE 阻抗为 412.25 Ω , AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE 阻抗为 150.64 Ω , 与 GCE 相比, 阻抗降低了 63.46%, 这是因为 Cu-MOF 能够为电化学反应提供良好的电化学位点^[20], AuNPs 具有良好的导电性, 故 AuNPs-NH₂/Cu-MOF 能够有效降低 GCE 的阻抗。同样可知, AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE 的阻抗为 857.08 Ω 与 AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE 相比, 阻抗提高了 4.69 倍, 这是因为 AChE 为蛋白质大分子, 其本身阻抗较大, 因此导致传感器本身阻抗增加^[19], 这也说明 AChE 已经很好地固定在了电极表面且羧甲基壳聚糖起到了很好的交联作用。

2.3 不同传感器的电化学行为

以 pH 7.5 的磷酸缓冲液(phosphatic buffer solution, PBS)为电解质溶液, 分别采用 AChE/GCE 和 AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE 对 0 和 0.5 mmol/L 的 ATCl 进行微分脉冲伏安法(differential pulse voltammetry, DPV)扫描, 然后再向 AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE 中加入敌敌畏使其质量浓度为 1.0×10^{-5} g/L, 抑制 8 min 后再对其进行 DPV 扫描, 分别记录 DPV 曲线, 其结果见图 3。



注: a: AChE/GCE (0 mmol/L ATCl); b: AChE/GCE (5 mmol/L ATCl); c: AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE (5 mmol/L ATCl); d: AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE (5 mmol/L ATCl+1.0×10⁻⁵ g/L 敌敌畏)。

图3 不同传感器的DPV曲线

Fig.3 DPV curves of different sensors

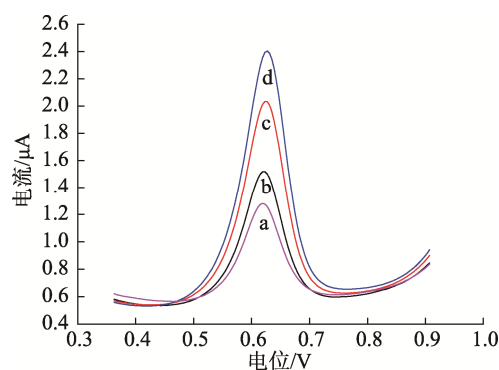
从图3分析可知, AChE/GCE在0 mmol/L的ATCl中没有氧化峰电流(oxidation peak current, I_p)产生, 而在5 mmol/L的ATCl中出现了明显 I_p , 且 I_p 为0.7145 μ A, 这是因为AChE能够催化ATCl水解产生硫代胆碱和乙酸, 且硫代胆碱电极表面发生氧化还原反应, 进而产生 I_p 。AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE在5 mmol/L ATCl中产生的 I_p 为1.798 μ A, 与AChE/GCE相比, I_p 提高了1.52倍, 这是因为Cu-MOF表面具有丰富的电活性位点, 能够为AChE与ATCl提供良好的电化学环境, 且AuNPs具有良好的导电性, 能够有效地加快电子的转移速率, 提高传感器灵敏度。当在AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE中加入敌敌畏抑制8 min后, 其 I_p 为0.7598 μ A, 与抑制前相比 I_p 降低了57.74%, 这是因为敌敌畏与AChE结合形成磷酸化乙酰胆碱酯酶, 使AChE不能与ATCl结合, 抑制了催化反应的进行, 导致 I_p 降低, 据此可对敌敌畏进行定量分析。

2.4 不同交联剂对传感器的影响

分别以0.3% (m:V)戊二醛(glutaric dialdehyde, GD)、壳聚糖(chitosan, Cs)和羧甲基壳聚糖(carboxymethyl chitosan, CMCS)为交联剂制备传感器, 以pH 7.5的PBS为电解质溶液, 对0.5 mmol/L的ATCl进行DPV扫描, 来研究不同交联剂对AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE的影响, 其结果如图4所示。

从图4可知, 在不使用交联剂时, AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE获得的 I_p 为0.687 μ A, 在以0.3% GD为交联剂制备传感器时, 在0.5 mmol/L ATCl中测得的 I_p 为0.946 μ A, I_p 增加了37.68%, 说明GD对AChE起到很好的交联效果。同样可得0.3% Cs为交联剂制备传感器时其在0.5 mmol/L ATCl中测得的 I_p 为1.443 μ A, 与以GD相比 I_p 提高了52.49%, 这是因为GD本身具有毒性, 对AChE的活性有抑制作用, 而Cs为天然的生物分子, 无毒, 不仅具有很好的交联作用, 而且具有良好的成膜特性以及生物

相容性, 可为AChE提高良好的催化环境^[21], 故能有效地提高AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE的灵敏度。在以0.3% CMCS为交联剂时, 其AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE在0.5 mmol/L ATCl中测得的 I_p 为1.798 μ A, 与Cs相比 I_p 提高了24.60%, 这是因为Cs虽然无毒、具有很好的交联作用, 但其本身溶解性差, 而CMCS具有良好的交联作用, 成膜特性好且水溶性好, 且具有良好的渗透性和吸附性^[22], 能够有效地促进AChE与ATCl的接触, 加快酶促反应, 提高AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE的灵敏度, 因此, 选取0.3% CMCS为交联剂。



注: a: 空白; b: GD; c: Cs; d: CMCS。

图4 交联剂对AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE的影响

Fig.4 Effects of crosslinking agents on AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE

2.5 传感器制备条件的优化

分别采用0.06、0.08、0.10、0.12、0.14、0.16 U的AChE和3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0 μ L的AuNPs-NH₂/Cu-MOF分散液(1.0 mg/mL)制备AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE, 并对0.5 mmol/L ATCl进行DPV扫描, 来研究不同固定酶量和AuNPs-NH₂/Cu-MOF的修饰量对传感器的影响, 其结果如图5所示。

从图5分析可知, AChE和AuNPs-NH₂/Cu-MOF对传感器均有较大影响, 其都呈现先增大后减小的趋势。当AChE的固载量为0.10 U时AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE对0.5 mmol/L的ATCl的DPV扫描效果最好, 这是因为AChE虽然能够有效地催化电极表面的ATCl水解, 但传感器的接触面有限, 当过多的AChE负载到传感器表面后, 过多的AChE不能有效地与ATCl进行接触, 因此起不到催化效果, 且AChE为蛋白质大分子, 本身阻抗较大, 当其使用量过多时会导致传感器阻抗增大, 降低 I_p 。AuNPs-NH₂/Cu-MOF虽然能够增加传感器的导电性, 为酶和底物的催化反应提供较多的活性位点, 但当其使用量过多时会导致传感器本身涂层较厚, 导致过多的活性位点被覆盖, 且较厚的涂层也会增大电极阻抗, 进而导致 I_p 减小^[23-24]。因此, 综上所述AChE的固载量选取0.10 U, AuNPs-NH₂/Cu-MOF的修饰量选取5.0 μ L。

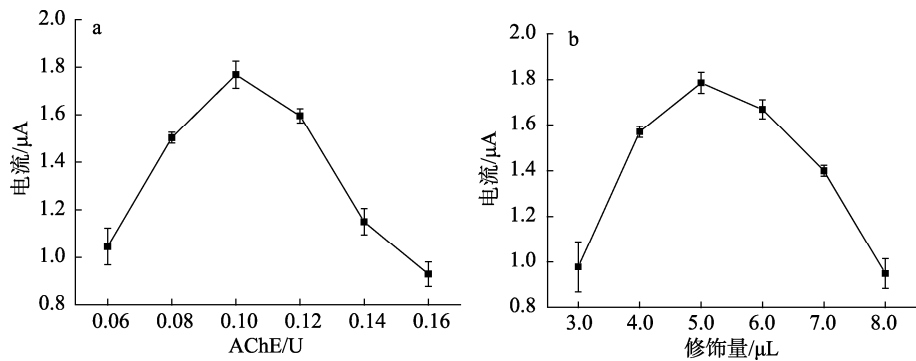


图 5 AChE (a)和 AuNPs-NH₂/Cu-MOF (b)对传感器的影响($n=3$)
Fig.5 Effects of AChE (a) and AuNPs-NH₂/Cu-MOF (b) on sensors ($n=3$)

2.6 抑制时间对传感器的影响

采用制备好的 AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE 对 0.5 mmol/L ATCl 进行 DPV 扫描, 记录氧化峰电流 I_{p0} , 然后向其中加入敌敌畏使其质量浓度为 1.0×10^{-5} g/L, 每隔 2 min 对其进行 DPV 扫描一次分别记录氧化峰电流 I_{p2} 、 I_{p4} 、...、 I_{pn} 。根据公式: 抑制率= $(I_{p0}-I_{pn})/I_{p0}$ 计算出其每隔 2 min 的抑制率, 其结果如图 6 所示。

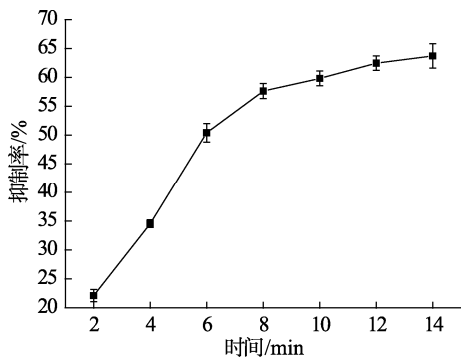


图 6 抑制时间对传感器抑制率的影响($n=3$)
Fig.6 Effects of inhibition times on inhibition rates of sensor ($n=3$)

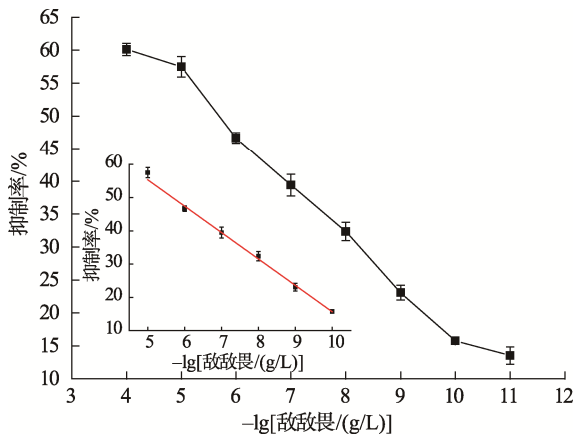
由图 6 可知, 敌敌畏对传感器的抑制率虽然随着抑制时间的延长, 逐渐增加, 但其抑制效果逐渐降低且到 8 min 后其抑制率逐渐趋于平缓, 这是因为, 随着时间的延长, 电极表面的敌敌畏分子和底物 ATCl 与 AChE 竞相结合已逐渐达到平衡, 其抑制效果逐渐趋于平缓^[25-26]。因此, 综上所述抑制时间选取 8 min。

2.7 标准曲线的绘制

在最佳试验条件下采用制备好的 AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE 分别对 1.0×10^{-11} 、 1.0×10^{-10} 、.....、 1.0×10^{-4} g/L 敌敌畏进行定量分析, 其结果如图 7 所示。

从图 7 可知, 敌敌畏质量浓度的负对数与其对传感器的抑制率在 $1.0\times10^{-10}\sim1.0\times10^{-5}$ g/L 呈线性关系, 线性方程 $Y=-7.9291X+94.9676$, $r^2=0.9973$ [X 为敌敌畏质量浓度(g/L)

的负对数; Y 为抑制率, %], 检出限为 1.7951×10^{-11} g/L(按抑制率 10%计算^[27-29]), 检出限较低、线性范围较宽。



注: 内嵌图为线性拟合曲线。
图 7 敌敌畏质量浓度的负对数与抑制率间的关系曲线($n=3$)
Fig.7 Relationship curves between the concentration of minus log of the mass concentration of dichlorvos and inhibition rate ($n=3$)

2.8 实际样品检测

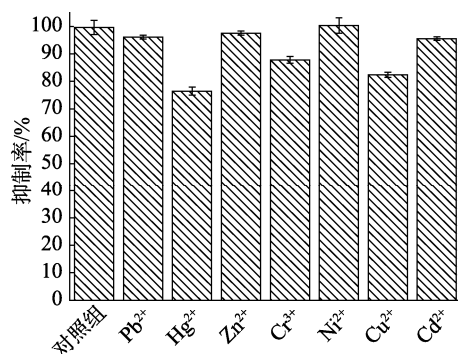
以本地生菜为实际样品, 分别对 1.0×10^{-9} 、 1.0×10^{-8} 和 1.0×10^{-7} g/L 的敌敌畏进行加标回收率试验并和 HPLC 检测结果进行比对, 其结果见表 1。

表 1 敌敌畏检测结果($n=3$)				
Table 1 Detection results of detecting dichlorvos ($n=3$)				
方法	加标浓度 /(g/L)	检测浓度 /(g/L)	回收率 /%	相对标准偏差 /%
本试验	1.0×10^{-9}	1.032×10^{-9}	103.20	0.982
	1.0×10^{-8}	9.735×10^{-9}	97.35	1.273
	1.0×10^{-7}	9.628×10^{-8}	96.28	2.518
HPLC	1.0×10^{-9}	9.897×10^{-10}	98.97	1.014
	1.0×10^{-8}	1.014×10^{-8}	101.40	0.823
	1.0×10^{-7}	9.803×10^{-8}	98.03	1.197

从表 1 可知, 采用 AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE 对敌敌畏的加标回收率在 96.28%~103.20%之间且检测结果与 HPLC 检测结果一致, 精密度较高。

2.9 传感器的抗干扰性研究

分别向 1.0×10^{-6} g/L 敌敌畏中加入 50 倍的 Pb²⁺、Cu²⁺、Zn²⁺、Ni²⁺、Cd²⁺、Cr³⁺和 Hg²⁺, 对其进行检测分析, 同时设置不加干扰物的检测对象做空白对照, 对其抗干扰特性进行研究, 其结果如图 8 所示。



注: 干扰物共存状态下的抑制效果。

图 8 常见重金属离子对传感器的影响($n=3$)

Fig.8 Influences of common heavy metal ions on the sensor ($n=3$)

从图 8 可知, 对照组对 1.0×10^{-6} g/L 敌敌畏的检测结果为 0.996×10^{-6} g/L, 加入 50 倍的常见 Pb²⁺、Zn²⁺、Ni²⁺和 Cd²⁺, 对敌敌畏的检测结果为 0.956×10^{-6} ~ 1.003×10^{-6} g/L, 与对照组相比, 其影响均小于 5%, 这说明 AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE 对 Pb²⁺、Zn²⁺、Ni²⁺和 Cd²⁺有良好的抗干扰能力。加入 50 倍的 Hg²⁺、Cr³⁺和 Cu²⁺后, 对 1.0×10^{-6} g/L 敌敌畏的检测结果分别为 0.764×10^{-6} 、 0.878×10^{-6} 和 0.824×10^{-6} g/L, 与对照组相比分别降低了 23.29%、11.85% 和 17.27%, 这可能是因为一方面 Hg²⁺、Cr³⁺和 Cu²⁺抑制了 AChE 的活性, 使其催化效果减弱, 另一方面可能因为 Hg²⁺、Cr³⁺和 Cu²⁺与催化产物硫代胆碱结合, 进而导致其峰电流降低, 对检测结果产生干扰^[30]。这说明 AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE 对常见的 Hg²⁺、Cr³⁺和 Cu²⁺抗干扰能力相对较弱。

2.10 重复性和稳定性研究

在最佳试验条件下采用制备好的 AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE 对 0.5 mmol/L 的 ATCl 进行连续 DPV 扫描 8 次对其重复性进行研究, 结果表明, 8 次测得的 I_p 的相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD) 为 1.875%, 说明其精密度较高, 重复性较好。将制备好的 AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE 置于 4℃ 环境中保存, 每隔 5 d 对 0.5 mmol/L 的 ATCl 进行 DPV 扫描对其稳定性进行研究。结果表明, 15 d 后其峰电流仍可达到最初状态的 94.01%, 25 d 后其仍可达到最初状态的 82.07%, 说明其稳定性较好, 可批量制备, 保存使用。

3 结 论

本研究制备了 AuNPs-NH₂/Cu-MOF 新型纳米材料, 并构建 AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE 传感器对蔬菜中的敌敌畏进行检测分析。研究发现, AuNPs-NH₂/Cu-MOF 除具有其他纳米材料导电性好的优良特性外, 其还能作为酶和底物的反应提供更多的接触位点和良好的电化学反应环境。制备的 AChE/AuNPs-NH₂/Cu-MOF/GCE 不仅具有较低的检出限和较宽的线性范围, 其还具有良好的重复性和稳定性并且对常见的 Pb²⁺、Zn²⁺、Ni²⁺和 Cd²⁺具有较好的抗干扰能力, 由于在实际检测过程中亦有可能有有机氯、氨基甲酸之类等农药的存在, 因此对此类干扰物的研究也具有重要的意义, 这也是后续作者研究中的主要内容, 这必将为加快酶传感器快速检测有机磷农药的普及应用起到促进作用。

参考文献

- [1] SONG YH, CHEN JY, SUN M, *et al.* A simple electrochemical biosensor based on AuNPs/MPS/Au electrode sensing layer for monitoring carbamate pesticides in real samples [J]. *J Hazard Mater*, 2016, 304: 103–109.
- [2] FU JY, AN XS, YAO Y, *et al.* Electrochemical aptasensor based on one step co-electrodeposition of aptamer and GO-CuNPs nanocomposite for organophosphorus pesticide detection [J]. *Sens Actuators B Chem*, 2019, 287: 503–509.
- [3] WANG TL, LIU YQ. A lanthanide-based ratiometric fluorescent biosensor for the enzyme-free detection of organophosphorus pesticides [J]. *Anal Methods-UK*, 2021, 13: 2005–2010.
- [4] HUA XD, QIAN GL, YANG JF, *et al.* Development of an immunochromatographic assay for the rapid detection of chlorpyrifos-methyl in water samples [J]. *Biosens Bioelectron*, 2010, 26: 189–194.
- [5] HU HY, WANG B, LI YR, *et al.* Acetylcholinesterase sensor with patterned structure for detecting organophosphorus pesticides based on titanium dioxide sol-gel carrier [J]. *Electroanal*, 2020, 32(8): 1834–1842.
- [6] HUA QT, RUECHA N, HIRUTA YK, *et al.* Disposable electrochemical biosensor based on surface-modified screen-printed electrodes for organophosphorus pesticide analysis [J]. *Anal Methods-UK*, 2019, 11: 3439–3445.
- [7] LANG QL, HAN L, HOU CT, *et al.* A sensitive acetylcholinesterase biosensor based on gold nanorods modified electrode for detection of organophosphate pesticide [J]. *Talanta*, 2016, 156–157: 34–41.
- [8] MA L, HE Y, WANG YR, *et al.* Nanocomposites of Pt nanoparticles anchored on UiO66-NH₂ as carriers to construct acetylcholinesterase biosensors for organophosphorus pesticide detection [J]. *Electrochim Acta*, 2019, 318: 525–533.
- [9] JIANG B, DONG P, ZHENG JB. A novel acetylcholinesterase biosensor based on ionic liquids-AuNPs-porous carbon composite matrix for detection of organophosphate pesticides [J]. *Sens Actuators B Chem*, 2015, 211: 290–296.
- [10] WANG CK, CHEN D, WANG QQ, *et al.* Kanamycin detection based on the catalytic ability enhancement of gold nanoparticles [J]. *Biosens Bioelectron*, 2017, 91: 262–267.

- [11] HOSSEINI H, AHMAR H, DEGHANI A, *et al.* Au-SH-SiO₂ nanoparticles supported on metal-organic framework (Au-SH-SiO₂@Cu-MOF) as a sensor for electrocatalytic oxidation and determination of hydrazine [J]. *Electrochim Acta*, 2013, 88: 301–309.
- [12] DANG WJ, SUN YM, JIAO H, *et al.* AuNPs-NH₂/Cu-MOF modified glassy carbon electrode as enzyme-free electrochemical sensor detecting H₂O₂ [J]. *J Pre-proof*, 2020, 856: 1135–1158.
- [13] NIVETHA R, SAJEEV A, PAUL AM, *et al.* Cu based metal organic framework (Cu-MOF) for electrocatalytic hydrogen evolution reaction [J]. *Mater Res Express*, 2020, 7: 305–343.
- [14] XUE Z, JIA L, ZHU RR, *et al.* High-performance non-enzymatic glucose electrochemical sensor constructed by transition nickel modified Ni@Cu-MOF [J]. *Electroanal Chem*, 2020, 858: 1–6.
- [15] ZHANG X, LUO JS, TANG PY, *et al.* Ultrasensitive binder-free glucose sensors based on the pyrolysis of in situ grown Cu-MOF [J]. *Sens Actuators B Chem*, 2018, 254: 272–281.
- [16] ZHOU Q, YANG L, WANG GC, *et al.* Acetylcholinesterase biosensor based on SnO₂ nanoparticles-carboxylic graphene-nafion modified electrode for detection of pesticides [J]. *Biosens Bioelectron*, 2013, 49: 25–31.
- [17] NILUKA MD, JALIY SA, TOVA AS, *et al.* Highly sensitive plasmonic metal nanoparticle-based sensors for the detection of organophosphorus pesticides [J]. *Talanta*, 2019, 200: 218–227.
- [18] LIU Q, FEI AR, HUAN J, *et al.* Effective amperometric biosensor for carbaryl detection based on covalent immobilization of acetylcholinesterase on multiwall carbon nanotubes/graphene oxide nanoribbons nanostructure [J]. *Electroanal Chem*, 2015, 740: 8–13.
- [19] 金华丽, 姜海洋. 基于氮掺杂碳球生长金酶传感器检测蔬菜中的克百威[J]. *食品科学*, 2017, 38(24): 296–301.
- JIN HL, JIANG HY. Development of acetylcholinesterase biosensor for detection of carbofuran in vegetables based on nitrogen-doped carbon sphere-gold nanoparticles composite modified electrode [J]. *Food Sci*, 2017, 38(24): 296–301.
- [20] HASSAN KM, MEHMET LY, NECIP A, *et al.* A novel detection method for organophosphorus insecticide fenamiphos: Molecularly imprinted electrochemical sensor based on core-shell Co₃O₄@MOF-74 nanocomposite [J]. *J Colloid Interf Sci*, 2021, 592: 174–185.
- [21] YAO Y, WANG GX, CHU GL, *et al.* Development of a novel biosensor based on gold nanocages/graphene oxide-chitosan modification of acetylcholinesterase for organophosphorus pesticides detection [J]. *New J Chem*, 2019, 43: 13816–13826.
- [22] WEI XP, LUO YL, XU F, *et al.* In-situ non-covalent dressing of multi-walled carbon nanotubes@titaniumdioxides with carboxymethyl chitosan nanocomposite electrochemical sensors for detection of pesticide residues [J]. *Mater Design*, 2016, 111: 445–452.
- [23] 曾高英. 基于纳米金复合材料传感器的有机磷农药检测研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2013.
- ZENG GY. Biosensor based on gold nanocomposite for determination of organophosphate pesticides [D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2013.
- [24] DONG J, LIU T, MENG XM, *et al.* Amperometric biosensor based on immobilization of acetylcholinesterase via specific binding on biocompatible boronic acid-functionalized Fe@Au magnetic nanoparticles [J]. *J Solid State Electrochem*, 2012, 16: 3783–3790.
- [25] ZHU WX, LIN W, LI TB, *et al.* Facile green synthesis of graphene-Au nanorod nanoassembly for on-line extraction and sensitive stripping analysis of methyl parathion [J]. *Electrochim Acta*, 2014, 146: 419–428.
- [26] YIN HS, AI SY, XU J, *et al.* Amperometric biosensor based on immobilized acetylcholinesterase on gold nanoparticles and silk fibroin modified platinum electrode for detection of methyl paraoxon, carbofuran and phoxim [J]. *J Electroanal Chem*, 2009, 637: 21–27.
- [27] WEI M, WANG JJ, GUO JX, *et al.* Nanoparticles-polyaniline-multiwalled carbon nanotubes for determination of organophosphate pesticides [J]. *Asian J Chem*, 2014, 15: 4679–4683.
- [28] ZHAI C, GUO Y, SUN X, *et al.* An acetylcholinesterase biosensor based on graphene-gold nanocomposite and calcined layered double hydroxide [J]. *Enzyme Microb Technol*, 2014, 58(59): 8–13.
- [29] HUO DQ, LI Q, ZHANG YC, *et al.* A highly efficient organophosphorus pesticides sensor based on CuO nanowires-SWCNTs hybrid nanocomposite [J]. *Sens Actuators B Chem*, 2014, 199: 410–417.
- [30] NIDHI C, JAGRITI N, PUNDIR CS. Immobilization of rat brain acetylcholinesterase on ZnS and poly (indole-5-carboxylic acid) modified Au electrode for detection of organophosphorus insecticides [J]. *Biosens Bioelectron*, 2011, 29: 82–88.

(责任编辑: 郑 丽 韩晓红)

作者简介



王静静, 硕士, 讲师, 主要研究方向为电化学检测及食品营养等。
E-mail: 343512068@qq.com