

用于残留农药检测的碳量子点荧光探针研究进展

许子强¹, 刘 义^{2†}

1. 湖北大学 材料科学与工程学院/功能材料绿色制备与应用教育部重点实验室, 湖北 武汉 430062;
2. 天津工业大学 化学学院/分离膜和膜过程国家重点实验室, 天津 300387

收稿日期: 2021-11-02 † 通信联系人 E-mail: yiliu@whu.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金(22073025, 21603067)

作者简介: 许子强, 男, 博士, 副教授, 现从事面向生物医学分析的碳量子点的构建。E-mail: ziqiang.xu@hubu.edu.cn

摘 要: 农药的广泛使用促进了粮食作物产量的显著增加, 但农药的滥用又导致了严重的环境污染。因此, 农业产品中残留农药的实时、快速检测对于全球食物及环境安全有重要意义。碳量子点具有优异的荧光性能、可调的发射波长、优异的生物相容性以及显著的光稳定性, 可用于构建残留农药检测的荧光探针。本文简要阐明了碳量子点荧光探针用于农药检测的技术优势, 系统分析了基于金属离子、纳米颗粒、酶以及抗体的碳量子点荧光探针构建策略, 并对其在残留农药检测中的应用进行了总结和展望。本文将有助于科研工作者合理设计性能更优的碳量子点荧光探针用于残留农药检测。

关 键 词: 碳量子点; 农药检测; 荧光探针

中图分类号: O649.4

文献标志码: A

文章编号: 1671-8836(2022)02-0113-10

Research Progress of Carbon Quantum Dots Fluorescent Probes for the Detection of Pesticide Residues

XU Ziqiang¹, LIU Yi^{2†}

1. Ministry-of-Education Key Laboratory for the Green Preparation and Application of Functional Materials/School of Materials Science & Engineering, Hubei University, Wuhan 430062, Hubei, China;
2. State Key Laboratory of Separation Membrane and Membrane Process/School of Chemistry, Tiangong University, Tianjin 300387, China

Abstract: The widespread application of chemical pesticides has promoted the significant increase of grain crop yield, while its abuse has resulted in serious environmental pollution. Herein, the real-time and rapid detection of pesticide residues in agricultural products is of great significance for global food and environmental safety. Carbon quantum dots possess excellent fluorescence properties, adjustable emission wavelength, excellent biocompatibility and significant optical stability, which can be used to construct fluorescent probes for the detection of residual pesticides. This review briefly expounds the advantages of carbon quantum dots based fluorescent probe for pesticide detection, systematically analyzes the construction strategies of carbon quantum dots based fluorescent probe for residual pesticide detection via metal ions, nanoparticles, various enzymes and various antibodies, and its application in residual pesticide detection has been summarized and prospected. The conclusion of this paper will favor for researchers to reasonably design more excellent carbon quantum dots based fluorescent probes for residual pesticide detection.

Key words: carbon quantum dots; pesticide detection; fluorescent probe

引用格式: 许子强, 刘义. 用于残留农药检测的碳量子点荧光探针研究进展[J]. 武汉大学学报(理学版), 2022, 68(2): 113-122. DOI: 10.14188/j.1671-8836.2021.0304.

XU Ziqiang, LIU Yi. Research Progress of Carbon Quantum Dots Fluorescent Probes for the Detection of Pesticide Residues [J]. *J. Wuhan Univ. (Nat. Sci. Ed.)*, 2022, 68(2): 113-122. DOI: 10.14188/j.1671-8836.2021.0304(Ch).

0 引言

农药(pesticide)是农业上用于防治病虫害及调节植物生长的化学物质,因此也是水果、蔬菜及其他农作物中最重要的残留毒物,是严重及长期存在的环境威胁^[1,2]。基于不同的化学组成,农药可以分为 5 类:有机氯(organochlorine)、有机磷(organo-phosphorus)、氨基甲酸盐(carbamate)、除虫菊素(pyrethrin)、拟除虫菊素(pyrethroid)类化合物。有机磷化合物在过去的几十年里被广泛并持续地用作杀虫剂、杀蠕虫剂、杀线虫剂、杀真菌剂和除草剂,因此全球使用的农药中占比最高的为有机磷类,大约为 38%^[3,4]。有机磷农药暴露造成的神经毒性主要表现在抑制乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)的活性,该典型水解酶对于中枢神经系统的正常工作非常重要^[5]。几乎所有的有机磷农药都可以通过对 AChE 的磷酸化来抑制其活性,使 AChE 无法催化乙酰胆碱的水解,并引发乙酰胆碱的聚集,导致胆碱毒性^[6]。其他类型的农药也会损伤人体免疫系统,导致人体激素紊乱以及耐药性等问题^[7]。因此,考虑到农药的潜在毒性以及农药的残留富集性,构建面向残留农药的高灵敏度、高选择性的定量检测方法对于环境、食物的安全及人类的健康非常重要。

许多传统的方法,如气相色谱(GC)^[8]、高效液相色谱(HPLC)^[9]及质谱(MS)^[10]等均在农药的定量检测方面有广泛的应用。但这些方法复杂的操作步骤及高耗时等问题严重影响了其对农药的实时监测。荧光传感技术具有简便、快速、低成本以及高通量等特性,在监测残留农药领域的应用吸引了广泛的关注^[11]。荧光检测收集的光学信号直接来源于发光材料,所以寻找荧光量子产率高及近红外发射的发光材料对于构建面向有机磷农药的高灵敏诊断平台非常重要。有机荧光染料、荧光蛋白、稀土纳米粒子以及半导体量子点具有许多不可避免的缺点,如光漂白、价格昂贵、稳定性较低以及毒性高等,限制了其实际应用^[12]。与其他发光材料比较而言,碳量子点(carbon quantum dots, CDs)具有独特的化学结构及光学性质,如优异的荧光性能、可调的发射波长、良好的生物相容性及显著的光稳定性。同时,CDs 表面含有多种官能团,如氨基、羧基、羟基及羰基等,为其功能化应用提供了基本条件。基于以上优点,CDs 在生物传感、肿瘤治疗,尤其是环境污染监测^[13, 14]领域得到越来越广泛的应用。

本文首先简单介绍了用于残留农药检测的 CDs 荧光探针的传感机制,然后从基于金属离子、纳米颗粒、天然酶及抗体 4 个角度,结合具体实例分析了用于残留农药检测的 CDs 荧光探针构建策略,并分别讨论了每种策略的机制及优缺点,最后对用于残留农药检测的 CDs 荧光检测技术进行了总结及展望。

1 CDs 荧光探针的传感机制

CDs 具有良好的水溶性、低毒性及表面易修饰等优点,被广泛应用于构建高灵敏度的、检测残留农药的荧光探针。用于残留农药检测的 CDs 荧光探针传感机制可以分为 3 类:

- 1) CDs 表面的活性基团(如合成过程中形成的羟基、羧基、氨基等)与残留农药直接作用;
- 2) 通过荧光“淬灭-恢复”(“Off-On”)的机制,将 CDs 与发光团、底物或淬灭剂结合后,再与残留农药作用;
- 3) 将 CDs 与某些特异性配体(如抗体、适配体、多肽及氨基酸)偶联,再与残留农药发生特异性结合。

根据残留农药浓度与 CDs 荧光信号改变之间的对应关系,可以构建用于目标农药检测的高效及灵敏的荧光探针。另外,将 CDs 优异的荧光性质与常用的多种传感机制(如光诱导的电子转移、荧光共振能量转移(FRET)、分子内电荷转移(ICT)、聚集诱导发光(AIE)及内过滤效应(IFE))结合,或通过功能化策略,与其他传感材料(酶及淬灭剂)结合,还可以监测荧光信号的淬灭、增敏及比率型响应行为。这些技术的运用,使用于残留农药检测的 CDs 荧光探针在灵敏度及选择性方面得到巨大和快速的发展。

2 CDs 荧光探针

根据改变 CDs 荧光信号的物质的不同,用于残留农药检测的 CDs 荧光探针可以分为以下 4 类:基于金属离子、纳米颗粒、天然酶及抗体的 CDs 荧光探针。

2.1 基于金属离子的 CDs 荧光探针

一些金属离子可以有效地淬灭 CDs 的荧光^[15]。当农药与金属离子之间的亲和力大于金属离子与 CDs 之间的亲和力时,就可以利用这些金属离子作为 CDs 信号的淬灭剂,基于金属离子、CDs 及目标农

药之间的相互作用,构建“Off-On”型的荧光探针。

基于这一原则,Wang等^[16]以硫脲作为碳源、二甘醇作为溶剂合成CDs,再以 Cu^{2+} 作为CDs的淬灭剂,利用 Cu^{2+} 与CDs表面基团及草甘膦之间的竞争性结合,实现了对草甘膦的增敏型检测。在最佳实验条件下,该方法的线性检测范围为 $0.03\sim 10\text{ }\mu\text{g/mL}$,检出限为 16 ng/mL ^[16]。近年来,可用于同时检测多种物质的多重传感平台吸引了科学界的广泛关注。Chen等^[17]对柠檬酸及丙烯酰胺的甲酰胺溶液进行溶剂热处理,成功获取了发射红色荧光的CDs。CDs的荧光可以选择性地被 Hg^{2+} 淬灭,而农药福美锌可以与 Hg^{2+} 形成更稳定的复合物,使CDs的荧光恢复,据此建立了福美锌的检测方法。在该方法中,红色荧光CDs的使用可以消除复杂体系中

自发荧光的背景干扰,增强检测的灵敏度,福美锌的检出限为 $0.55\text{ }\mu\text{g/mL}$ 。Wang等^[18]则使用辛硫磷合成了一种硫掺杂的CDs(SCDs),并利用SCDs构建了能同时检测 Hg^{2+} 及甲基硫菌灵(thiophanate methyl, TM)的“Off-On”型荧光探针(图1),对甲基硫菌灵的检出限为 7.6 nmol/L ,且其他干扰离子及农药的存在均不会影响探针的响应。

基于金属离子淬灭的CDs荧光探针具有成本低、效率高等优点,但在实际应用中存在如下缺陷:1)在传感平台构建之前,农药、金属离子及CDs之间的相互作用强度不可预测;2)农药与金属离子的相互作用较弱,导致荧光恢复效率较低,可能使检测灵敏度下降;3)金属离子的使用可能会产生一些副反应,从而影响传感平台的性能。

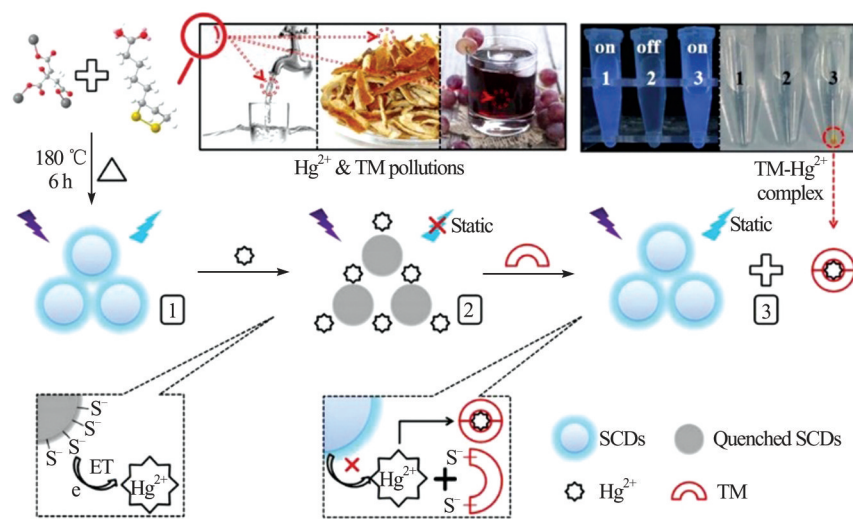


图1 利用CDs检测 Hg^{2+} 及甲基硫菌灵的示意图^[18]

Fig. 1 Schematic illustration of the detection of Hg^{2+} and thiophanate methyl by CDs^[18]

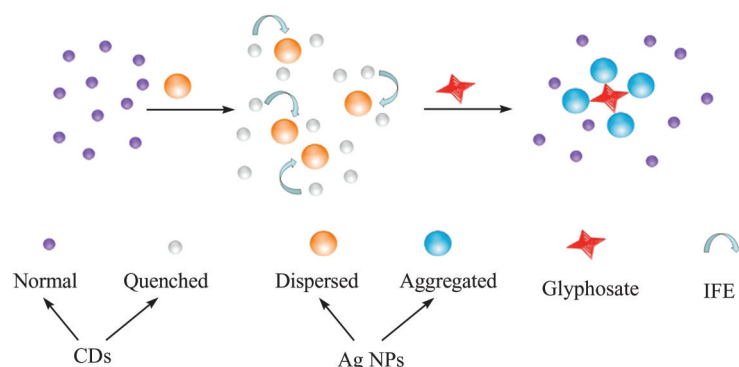
2.2 基于纳米颗粒的CDs荧光探针

纳米颗粒是指尺寸在 $1\sim 100\text{ nm}$ 之间的一种超小粒子,具有独特的光、电、磁及热的特性。除CDs外,半导体量子点、贵金属纳米颗粒(纳米金、纳米银)、贵金属纳米团簇均在农药检测领域有深入的研究^[19~22]。通过选择、组合、利用多种纳米颗粒的特征,可以设计杂化纳米材料,用于构建较高检测灵敏度、选择性及实用性的荧光探针。纳米颗粒通常可以作为CDs的荧光淬灭剂、增强剂及比率型传感的底物。

常规的纳米颗粒可以有效地淬灭CDs的荧光,也可以与多种不同的农药相互作用,使CDs的荧光恢复。Wang等^[23]发现羊毛衍生CDs的荧光可以通过内过滤效应被银纳米颗粒(Ag NPs)淬灭,而草甘膦(glyphosate)可以诱导银纳米颗粒的聚集,使CDs的荧光恢复,据此构建了对残留草甘膦的定量检测

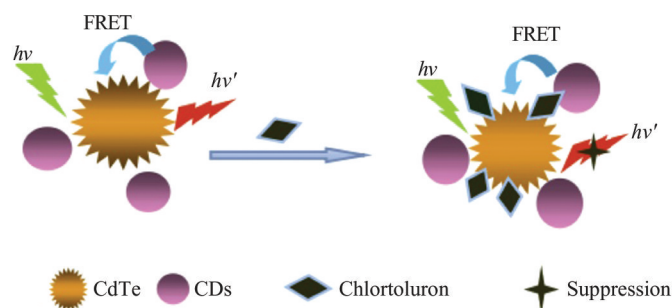
方法(图2)。在最佳实验条件下,草甘膦的线性检测范围为 $0.025\sim 2.500\text{ }\mu\text{g/mL}$,检出限为 12 ng/mL 。Sajwan等^[24]同样基于金纳米颗粒(Au NPs)对CDs的内过滤效应,构建了一种快速、灵敏且简便的检测涕灭威的荧光传感平台。随着CDs的加入,金纳米颗粒在静电作用力的诱导下发生聚集,使CDs的荧光被淬灭;而随着涕灭威的加入,金纳米颗粒通过 $\text{Au}-\text{N}$ 键或 $\text{Au}-\text{S}$ 键与涕灭威发生相互作用,在CDs与金纳米颗粒之间形成一个插入层,减弱了金纳米颗粒的内过滤效应,使CDs荧光恢复。该方法的线性检测范围为 $3.8\sim 76.0\text{ }\mu\text{g/L}$,检出限为 $3.02\text{ }\mu\text{g/L}$ 。

其他纳米颗粒也可以作为CDs传感系统中的信号增强剂,获得较高的荧光检测灵敏度。这种信号增强可能来源于金属纳米颗粒附近的局域场增

图2 基于 Ag NPs 对 CDs 的内过滤效应的草甘膦荧光检测^[23]Fig. 2 Fluorescent detection of glyphosate based on the IFE of Ag NPs on the CDs^[23]

强效应,即通过非辐射相互作用或辐射衰减工程介导的等离子体耦合效应,这类效应统称为金属增强荧光(metal-enhanced fluorescence, MEF)效应^[25]。最近, Jiménez-López 等^[26]利用石墨烯量子点(graphene quantum dots, GQDs)以及半胱氨酸包裹的银纳米颗粒构建了一种用于草甘膦检测的分析平台。由于 GQDs 与银纳米颗粒表面的等离子体耦合作用,导致银纳米颗粒辐射衰减速率以及荧光发射的增强,而草甘膦的加入能淬灭 GQDs-银纳米颗粒复合系统的荧光,从而实现对草甘膦的灵敏检测,检出限低至 9 ng/mL。然而 MEF 效应的机制非常复杂,且目前 MEF 效应的机理尚不清晰,限制了基于 MEF 及 CDs 的荧光探针的设计开发。荧光共振能量转移(FRET)效应也是一个非辐射的能量转移过

程,主要通过供体/受体分子之间的偶极相互作用,将能量从供体荧光分子传递给邻近的受体分子,使供体荧光强度下降及受体荧光强度增加^[12]。研究者^[27]利用 CdTe 量子点(能量受体)及 CDs(能量供体)构建了一种基于 FRET 效应的荧光探针(图 3),可以高灵敏、选择性地检测绿麦隆(chlortoluron)。在实验中,首先发生从 CDs 到 CdTe 量子点的荧光共振能量转移,使 CdTe 量子点荧光增强,同时 CDs 的荧光被淬灭;但由于绿麦隆与 CdTe 量子点之间的相互作用力更强,所以随着绿麦隆的加入, CdTe 量子点的荧光被淬灭,而 CDs 的荧光随之增强。在最佳实验条件下,该探针对农药的线性检测范围为 0.24~85.00 nmol/L,检出限为 0.078 nmol/L,常见的阳离子及阴离子不会对该农药的检测造成干扰。

图3 绿麦隆对 CdTe-CDs 体系的荧光淬灭^[27]Fig. 3 Fluorescence quenching of CdTe-CDs system by chlortoluron^[27]

2.3 基于天然酶的 CDs 荧光探针

天然酶是一种具有独特催化功能的特异性蛋白,在体内无毒且环境友好,可以高效地催化各种生物化学反应^[28,29]。酶对其催化底物具有很强的特异性,因此基于酶的生物传感器在分析领域吸引了广泛的关注^[30]。在用于残留农药检测的基于酶的 CDs 荧光探针中,有两种主要的检测机制:1) 抑制机制,即农药通过阻断酶的活性位点抑制酶的活

性,从而诱发荧光信号响应;2) 催化机制,即以农药作为酶的底物,影响催化过程,进而影响荧光信号响应。其中,基于酶抑制机制的 CDs 荧光探针在农药的分析检测中起到了十分重要的作用。

胆碱酯酶(cholinesterase, ChE)包括乙酰胆碱酯酶(AChE)及丁酰胆碱酯酶(BChE),是有机磷类、氨基甲酸酯类农药的监测中使用最广泛的两种酶^[31]。有机磷中含有不同比例的 C、N、O、S 包围的

磷酸酯键,可以通过亲核反应进攻胆碱酯酶的丝氨酸残基^[7]。磷酸化的胆碱酯酶无法催化底物的水解以及抑制硫代胆碱的形成,而硫代胆碱可以竞争性地与 Ellman 试剂、金属离子及贵金属纳米颗粒相互作用,并直接/间接地调节其与 CDs 的相互作用。在所有用于残留农药检测的基于 CDs 及胆碱酯酶的分析策略中,硫代胆碱调控的策略在农药检测中具有较高的地位。

由于金属离子(如 Cu^{2+} 、 Au^{3+})与巯基($-\text{SH}$)之间具有较强的亲和力,因此金属离子可以与硫代胆

碱形成较强的配合物,用于残留农药检测的 CDs 荧光探针的构建^[32, 33]。Hou 等^[32]基于 Cu^{2+} 与 CDs 的体系构建了一种用于敌敌畏(dichlorvos)检测的荧光探针(图4)。首先 CDs 的荧光可以被 Cu^{2+} 选择性地淬灭;然后,当 AChE 及硫代乙酰胆碱存在时, AChE 催化硫代乙酰胆碱水解,形成硫代胆碱,通过硫代胆碱与 Cu^{2+} 之间更强的亲和力,使 CDs 的荧光恢复。当 AChE 的抑制剂(敌敌畏)存在时, AChE 无法催化硫代乙酰胆碱的水解,使 CDs 的荧光保持淬灭状态,从而实现对敌敌畏的定量检测。

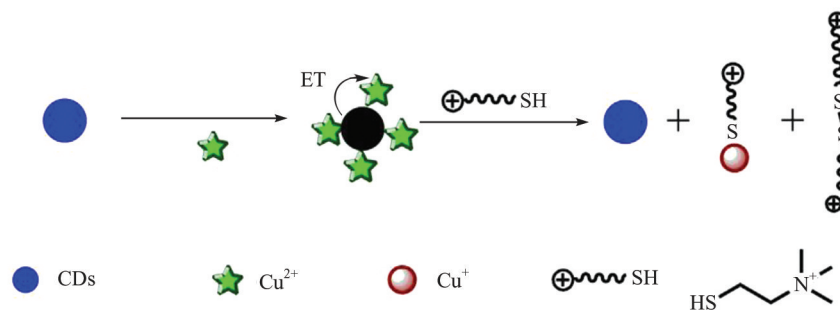


图4 基于 Cu^{2+} 及 AChE 的用于敌敌畏检测的 CDs 荧光探针^[32]

Fig. 4 Fluorescent probe for dichlorvos detection based on Cu^{2+} and AChE^[32]

还原性的 Ellman 试剂(5,5-二硫代二苯(2-硝基苯甲酸),DTNB)也常用于残留农药检测的 CDs 荧光探针的构建。DTNB 可以作为硫代胆碱的显色试剂,验证硫代乙酰胆碱的水解产物的形成,从而根据颜色信息的变化定量计算残留农药的浓度^[34, 35]。根据这一特性, Li 等^[34]基于 AChE 对 CDs 荧光淬灭的调控,构建了一种无标记的残留有机磷农药检测的双模式(荧光、比色)平台。AChE 可以催化硫代乙酰胆碱水解形成硫代胆碱,进而使 DTNB 降解生成黄色的 5-硫代-2-硝基苯甲酸(TNBA)。而带正电的 TNBA 可以吸附在 CDs 表面,通过动态淬灭的方式淬灭 CDs 的荧光。当有机磷农药存在时, AChE 的活性被抑制,从而使 CDs 的荧光仍然保持。在最佳实验条件下,该检测平台对对氧磷的检出限为 0.4 ng/mL。然而, AChE 对有机磷农药的选择性较差,使该检测平台在检测实际样品时受到了一定的限制。

将 CDs 与其他功能性纳米材料结合也是一种构建理想探针的有效策略^[36]。Chen 等^[37]通过水热法制备了一种荧光发射波长位于 490 nm 的 CDs 探针,其荧光强度会被金纳米颗粒有效地淬灭。而 AChE 催化硫代乙酰胆碱生成的硫代胆碱,会诱导金纳米颗粒的聚集,伴随着其在 520 nm 处吸收峰的下降,并最终使 CDs 的荧光恢复。而农药西维因的存在会抑制 AChE 的活性以及金纳米颗粒的聚集,

使 CDs 荧光保持淬灭的状态。在最佳实验条件下,该方法的线性检测范围为 0.20~150.00 $\mu\text{g/mL}$ 。Yan 等^[38]基于 CDs 和 MnO_2 纳米片成功实现了对有机磷农药的定量检测。首先对 3-氨基苯硼酸进行水热处理得到荧光 CDs,再用 MnO_2 纳米片通过 FRET 效应淬灭 CDs 的荧光。在 BChE 及硫代乙酰胆碱存在时,酶的水解产物(硫代胆碱)可以高效诱发 MnO_2 纳米片的降解,从而使 CDs 荧光恢复。而有机磷作为酶的抑制剂,可以阻止硫代胆碱的形成及 MnO_2 纳米片的降解,使 CDs 的荧光保持淬灭的状态。在最佳实验条件下,该方法可以有效地检测对氧磷,线性检测范围为 0.05~5.00 ng/mL,检出限为 0.015 ng/mL。Huang 等^[39]构建了一种用于残留农药检测的 Cu^{2+} 及 CDs/CdTe 量子点杂化水凝胶的比率型探针(图5)。其原理为: CdTe 量子点的荧光可以被 Cu^{2+} 动态淬灭,而 CDs 的荧光对 Cu^{2+} 无响应,同时 AChE 催化乙酰硫代胆碱水解形成的硫代胆碱(TCh),可以通过强的 Cu—S 键与 Cu^{2+} 结合,从而使 CdTe 量子点的荧光恢复。当酶的竞争性抑制剂(敌敌畏)存在时,会抑制硫代胆碱—Cu 复合物的形成,从而改变 CDs 的比率型荧光信号。这种可携带的诊断试剂盒的线性检测范围为 1~40 ng/mL,检出限为 0.38 ng/mL。

除使用单一酶外,也可以采取多种酶联用的方法构建残留农药检测的 CDs 荧光探针。由于胆碱

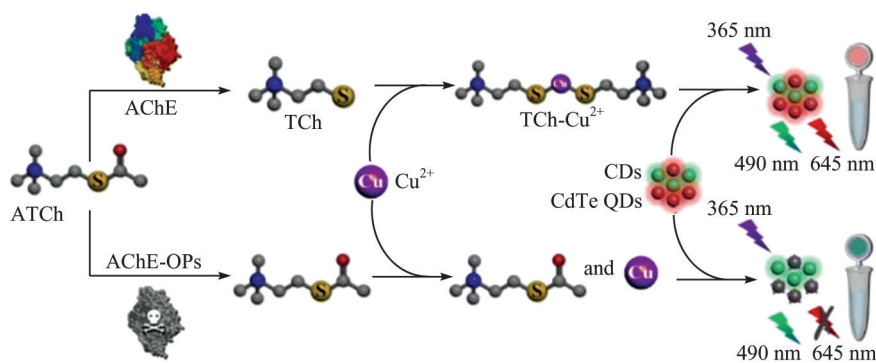


图 5 用于检测敌敌畏的基于 Cu^{2+} 及 CDs/CdTe 的比率型荧光探针^[39]

Fig. 5 Ratiometric fluorescent probe for dichlorvos detection based on Cu^{2+} and CDs/CdTe^[39]

氧化酶(ChOx)的高催化活性及高选择性,基于ChOx的多种酶体系在残留农药检测的 CDs 荧光探针构建方面也有广泛应用^[40]。通常情况下,胆碱酯酶可以催化乙酰胆碱水解产生胆碱,作为ChOx的底物催化产生 H_2O_2 及甜菜碱^[41]。通过检测 H_2O_2 的荧光探针可以监测整个生物催化过程。Sahub等^[42]构建了一种用于监测有机磷农药的 GQDs/酶的纳米检测平台(图 6)。AChE 及 ChOx 的酶联反应会

产生一定量的 H_2O_2 , H_2O_2 可以有效淬灭 GQDs 的荧光,而有机磷农药又会使 GQDs 的荧光恢复,且荧光的恢复与有机磷农药的浓度相关。在最佳实验条件下, GQDs/AChE/ChOx 对有机磷的检出限为 $0.172 \mu\text{g/mL}$ 。由于单独的酶对相应的底物具有较好的特异性,所以多种酶联用的检测平台具有较好的抗干扰能力。但该检测策略存在反应时间较长、反应条件也更加苛刻的问题。

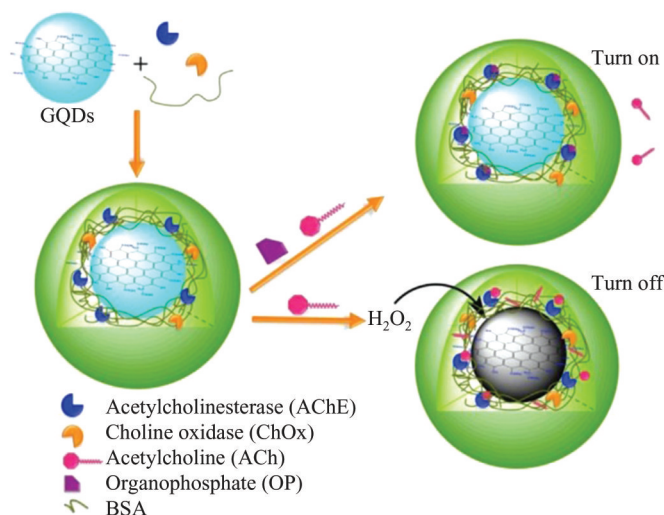


图 6 用于有机磷农药检测的基于 GQDs/AChE/ChOx 体系的荧光探针^[42]

Fig. 6 Fluorescent probe for organophosphate pesticide detection based on GQDs/AChE/ChOx system^[42]

除了抑制策略之外,利用有机磷水解酶(organophosphorus hydrolase, OPH)对农药的催化作用也可以检测残留农药。有机磷农药可作为 OPH 的底物,因此通过定量分析 OPH 催化转化的产物,对有机磷农药进行定量分析。OPH 是一种酰胺水解酶家族的脯氨酰氨基酸酶^[43],可以催化水解多种农药(如二嗪农及甲基对硫磷)。由于水解反应的不可逆性,故该反应的催化转化效率较高,但同时酶催化水解产物的活性也较高,很容易引发荧光信号的改变。因此,将 OPH 与 CDs 结合在一起,可用于

检测甲基对硫磷。甲基对硫磷的水解产物(*p*-硝基苯酚)能淬灭 CDs 的荧光,可据此建立残留甲基对硫磷的检测方法^[44]。OPH 对目标农药的特异性识别和降解功能对于发展绿色探针非常重要。然而,与 AChE 比较,OPH 的催化机制尚不明确且其催化活性较差,检测的灵敏度也低于基于抑制机制的 CDs 荧光探针。

2.4 基于抗体的 CDs 荧光探针

抗体免疫球蛋白(immunoglobulin G, IgG)是一种由外源性物质(抗原)的刺激产生的具有保护性

功能的蛋白,基于抗体的竞争性结合反应,广泛地应用于各种疾病的预防、诊断及治疗^[45]。抗原与抗体之间的特异性识别可以作为生物识别元件,用于生物传感器件的构建^[46,47]。通常情况,需要CDs对抗体-抗原的免疫反应足够敏感,将免疫应答转变为荧光信号的淬灭或增强,通过“三明治”结构或直接/间接的竞争性原则构建可靠的免疫荧光探针。对农药分子进行衍生化修饰,可以使其满足免疫荧光检测的需求,但步骤非常繁琐且低效。因此,直接或间接的竞争性策略在设计用于残留农药检测的CDs及抗体的免疫荧光探针中非常有效^[48]。Wang等^[49]基于

免疫荧光策略构建了一种针对草甘膦(glyphosate, GLY)的荧光检测方法(图7)。他们将环境友好的CDs与草甘膦的抗体偶联在一起形成IgG-CDs,可以特异性地识别草甘膦。而IgG-CDs可以原位地对植物组织中草甘膦的分布进行分析。考虑到多余的IgG-CDs可能对草甘膦的检测产生影响,他们进一步构建了一种基于磁性 Fe_3O_4 及草甘膦的抗原磁性微球用于偶联多余的IgG-CDs,实现了对草甘膦的检测,线性检测范围为 $0.01\sim 80.00\text{ }\mu\text{g/mL}$,检出限为 8 ng/mL ,在实际样品(如河水、茶叶及土壤)中的回收率为 $87.4\%\sim 103.7\%$ 。

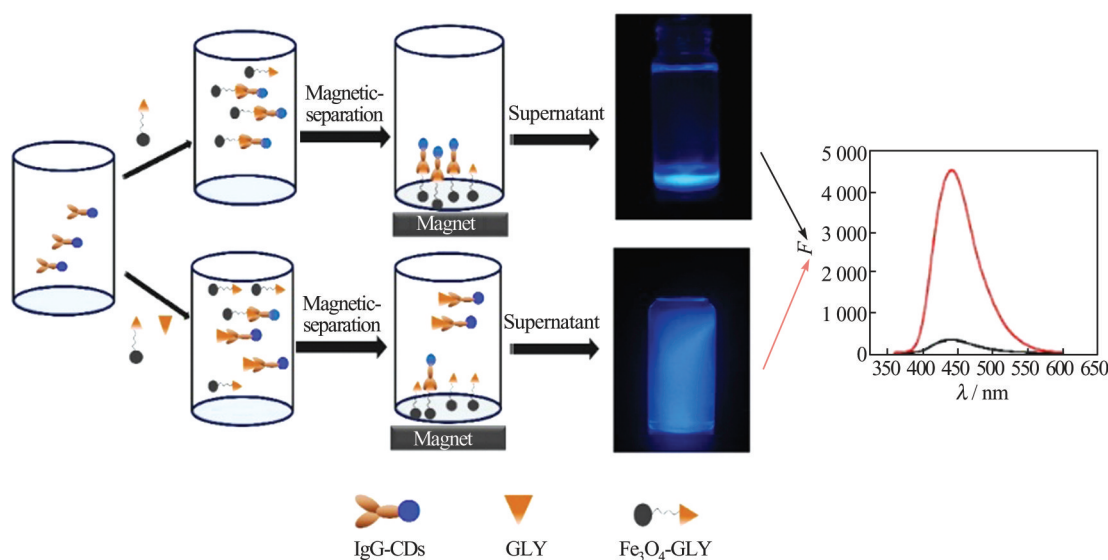


图7 用于草甘膦检测的免疫荧光检测^[49]

Fig. 7 The immunofluorescence detection of glyphosate^[49]

用于残留农药检测的CDs及抗体免疫荧光探针具有非常多的优越性,但也存在如下缺陷:1) 抗体与CDs的偶联效率较低;2) 免疫荧光检测的耗时较长;3) 抗体的稳定性有待进一步提高。这些缺陷限制了它在快速分析领域的应用。

3 总结及展望

全球范围内的农药污染问题日益严重,促进了残留农药检测技术的迅速发展。虽然已有文献总结了用于残留农药检测的分析技术,但基于CDs荧光的检测方法仍有许多发展空间。CDs具有非常优异的荧光性质,突出的生物相容性以及良好的水溶性,是开发高灵敏残留农药检测技术的理想材料。CDs作为发光团、识别原件或催化剂,可以单独与其他材料联合用于构建检测残留农药的精确探针。通过调节合成方法、条件,可以调控CDs的性质,开发多种多样的荧光探针。

基于已有的研究,用于残留农药检测的CDs荧光探针的研究主要面临如下挑战:

1) 高发光性能CDs的开发应用仍然较为缺乏。虽然目前许多工作报道了CDs具有近红外发光、磷光以及上转换荧光的特性,但这些特性很少用于相关探针的构建。近红外荧光、磷光及上转换荧光CDs的使用可以有效消除复杂生物基质中的背景干扰,极大地提高其在实际样品分析中的准确性。另外,将CDs与其他荧光纳米材料联合使用,构建双发射的比率型荧光探针,可以提供内置校准功能,减少仪器及环境因素的系统误差。

2) CDs的发光机制仍然存在一定的争议。关于CDs发光机制的研究有限,在一定程度上限制了CDs在残留农药检测领域的广泛应用。因此,全面、深入地研究CDs的发光机制对指导CDs的设计合成,提高其检测残留农药的性能具有重要意义。

3) 严重依赖大型荧光检测设备。目前,用于残

留农药检测的 CDs 荧光探针严重依赖大型的荧光检测设备,对农药的实时、原位检测造成障碍。因此,需要开发便携性的微型化荧光检测设备,以方便用于不同领域实际样品中的残留农药检测。

总之,在未来的研究中,研究者们需要从不同的传感机制和合成策略中提取有益的思路,努力开发现有 CDs 的潜力及优势,实现残留农药的实时、快速、原位、高灵敏检测。

参考文献:

- [1] FANG L, LIAO X F, JIA B Y, *et al.* Recent progress in immunosensors for pesticides [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2020, **164**: 112255. DOI: 10.1016/j.bios.2020.112255.
- [2] SINGH R, KUMAR N, MEHRA R, *et al.* Progress and challenges in the detection of residual pesticides using nanotechnology based colorimetric techniques [J]. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, 2020, **26**: e00086. DOI: 10.1016/j.teac.2020.e00086.
- [3] SINGH B K. Organophosphorus-degrading bacteria: Ecology and industrial applications [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2009, **7** (2): 156-164. DOI: 10.1038/nrmicro2050.
- [4] DINCER C, BRUCH R, COSTA-RAMA E, *et al.* Disposable sensors in diagnostics, food, and environmental monitoring [J]. *Advanced Materials*, 2019: 1806739. DOI: 10.1002/adma.201806739.
- [5] PUNDIR C S, MALIK A, PREETY. Bio-sensing of organophosphorus pesticides: A review [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2019, **140**: 111348. DOI: 10.1016/j.bios.2019.111348.
- [6] CHAPALAMADUGU S, CHAUDHRY G R. Microbiological and biotechnological aspects of metabolism of carbamates and organophosphates [J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 1992, **12** (5/6): 357-389. DOI: 10.3109/07388559209114232.
- [7] SU D D, LI H X, YAN X, *et al.* Biosensors based on fluorescence carbon nanomaterials for detection of pesticides [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2021, **134**: 116126. DOI: 10.1016/j.trac.2020.116126.
- [8] GE X X, ZHOU P, ZHANG Q H, *et al.* Palladium single atoms on TiO₂ as a photocatalytic sensing platform for analyzing the organophosphorus pesticide chlorpyrifos [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2020, **59** (1): 232-236. DOI: 10.1002/anie.201911516.
- [9] YANG T X, GUO X Y, WANG H, *et al.* Au dotted magnetic network nanostructure and its application for on-site monitoring femtomolar level pesticide [J]. *Small*, 2014, **10** (7): 1325-1331. DOI: 10.1002/sml.201302604.
- [10] RAJSKI Ł, MARTÍNEZ-BUENO M J, FERRER C, *et al.* LC-ESI-QOrbitrap™ MS/MS within pesticide residue analysis in fruits and vegetables [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2019, **118**: 587-596. DOI: 10.1016/j.trac.2019.06.032.
- [11] CHEN L, TIAN X, LI Y, *et al.* Broad-spectrum pesticide screening by multiple cholinesterases and thiocholine sensors assembled high-throughput optical array system [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, **402**: 123830. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.123830.
- [12] ZHANG X, LIAO X F, HOU Y J, *et al.* Recent advances in synthesis and modification of carbon dots for optical sensing of pesticides [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, **422**: 126881. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2021.126881.
- [13] LI H X, YAN X, KONG D S, *et al.* Recent advances in carbon dots for bioimaging applications [J]. *Nanoscale Horizons*, 2020, **5** (2): 218-234. DOI: 10.1039/c9nh00476a.
- [14] CHUNG S, REVIA R A, ZHANG M Q. Graphene quantum dots and their applications in bioimaging, bio-sensing, and therapy [J]. *Advanced Materials*, 2021, **33** (22): 1904362. DOI: 10.1002/adma.201904362.
- [15] GAST M, SOBEK H, MIZAIKOFF B. Advances in imprinting strategies for selective virus recognition a review [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2019, **114**: 218-232. DOI: 10.1016/j.trac.2019.03.010.
- [16] WANG L, BI Y D, GAO J, *et al.* Carbon dots based turn-on fluorescent probes for the sensitive determination of glyphosate in environmental water samples [J]. *RSC Advances*, 2016, **6** (89): 85820-85828. DOI: 10.1039/c6ra10115a.
- [17] CHEN Y Q, SUN X B, WANG X Y, *et al.* Carbon dots with red emission for bioimaging of fungal cells and detecting Hg²⁺ and ziram in aqueous solution [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2020, **233**: 118230. DOI: 10.1016/j.saa.2020.118230.
- [18] WANG S, CHEN H Y, XIE H L, *et al.* A novel thioctic acid-carbon dots fluorescence sensor for the detection of Hg²⁺ and thiophanate methyl via S-Hg affinity [J]. *Food Chemistry*, 2021, **346**: 128923. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.128923.
- [19] SAIEN J, KHEZRIANJOO S. Degradation of the fungicide carbendazim in aqueous solutions with UV/TiO₂ process: Optimization, kinetics and toxicity studies [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, **157** (2/3): 269-276. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2007.12.094.
- [20] SHARMA D, WANGOO N, SHARMA R K. Sensing platform for pico-molar level detection of ethyl parathion using Au-Ag nanoclusters based enzymatic strategy [J].

- Talanta*, 2021, **221**: 121267. DOI: 10.1016/j.talanta.2020.121267.
- [21] DENG W Q, CHEN P P, HU P Y, *et al.* Enzymatic reaction modulated synthesis of quantum dots for visual detection of cholinesterase activity and inhibitor[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2019, **292**: 180–186. DOI:10.1016/j.snb.2019.04.136.
- [22] YUAN P Y, MA R Z, XU Q H. Highly sensitive and selective two-photon sensing of cartap using Au@Ag core-shell nanoparticles[J]. *Science China Chemistry*, 2016, **59** (1): 78–82. DOI:10.1007/s11426-015-5532-5.
- [23] WANG L, BI Y D, HOU J, *et al.* Facile, green and clean one-step synthesis of carbon dots from wool: Application as a sensor for glyphosate detection based on the inner filter effect [J]. *Talanta*, 2016, **160**: 268–275. DOI:10.1016/j.talanta.2016.07.020.
- [24] SAJWAN R K, LAKSHMI G B V S, SOLANKI P R. Fluorescence tuning behavior of carbon quantum dots with gold nanoparticles via novel intercalation effect of aldicarb [J]. *Food Chemistry*, 2021, **340**: 127835. DOI:10.1016/j.foodchem.2020.127835.
- [25] JEONG Y, KOOK Y M, LEE K, *et al.* Metal enhanced fluorescence (MEF) for biosensors: General approaches and a review of recent developments [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2018, **111**: 102–116. DOI:10.1016/j.bios.2018.04.007.
- [26] JIMÉNEZ-LÓPEZ J, LLORENT-MARTÍNEZ E J, ORTEGA-BARRALES P, *et al.* Graphene quantum dots-silver nanoparticles as a novel sensitive and selective luminescence probe for the detection of glyphosate in food samples[J]. *Talanta*, 2020, **207**: 120344. DOI:10.1016/j.talanta.2019.120344.
- [27] TAO H L, LIAO X F, SUN C, *et al.* A carbon dots-CdTe quantum dots fluorescence resonance energy transfer system for the analysis of ultra-trace chlortoluron in water [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2015, **136**: 1328–1334. DOI:10.1016/j.saa.2014.10.020.
- [28] LEE S W, LEE K Y, SONG Y W, *et al.* Direct electron transfer of enzymes in a biologically assembled conductive nanomesh enzyme platform[J]. *Advanced Materials*, 2016, **28**(8): 1577–1584. DOI:10.1002/adma.201503930.
- [29] GAO J, ZHAN J, YANG Z M. Enzyme-instructed self-assembly (EISA) and hydrogelation of peptides [J]. *Advanced Materials*, 2020, **32**(3): 1805798. DOI:10.1002/adma.201805798.
- [30] YAN X, WANG T T, YAO D, *et al.* Interfacial assembly of signal amplified multienzymes and biorecognized antibody into proteinosome for an ultrasensitive immunoassay [J]. *Small*, 2019, **15**(15): 1900350. DOI:10.1002/smll.201900350.
- [31] GRIMSTER N P, STUMP B, FOTSING J R, *et al.* Generation of candidate ligands for nicotinic acetylcholine receptors via *in situ* click chemistry with a soluble acetylcholine binding protein template[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2012, **134**(15): 6732–6740. DOI: 10.1021/ja3001858.
- [32] HOU J Y, DONG G J, TIAN Z B, *et al.* A sensitive fluorescent sensor for selective determination of dichlorvos based on the recovered fluorescence of carbon dots-Cu (II) system [J]. *Food Chemistry*, 2016, **202**: 81–87. DOI:10.1016/j.foodchem.2015.11.134.
- [33] WANG M, LI M M, LU J, *et al.* “Off – On” fluorescent sensing of organophosphate pesticides using a carbon dot-Au (III) complex [J]. *RSC Advances*, 2018, **8** (21) : 11551–11556. DOI:10.1039/c7ra13404e.
- [34] LI H X, YAN X, LU G Y, *et al.* Carbon dot-based bio-platform for dual colorimetric and fluorometric sensing of organophosphate pesticides[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, **260**: 563–570. DOI: 10.1016/j.snb.2017.12.170.
- [35] YANG M L, LIU M W, WU Z P, *et al.* Carbon dots co-doped with nitrogen and chlorine for “off-on” fluorometric determination of the activity of acetylcholinesterase and for quantification of organophosphate pesticides[J]. *Microchimica Acta*, 2019, **186** (8) : 1–8. DOI: 10.1007/s00604-019-3715-z.
- [36] ZHAO D, CHEN C X, SUN J, *et al.* Carbon dots-assisted colorimetric and fluorometric dual-mode protocol for acetylcholinesterase activity and inhibitors screening based on the inner filter effect of silver nanoparticles[J]. *The Analyst*, 2016, **141** (11) : 3280–3288. DOI: 10.1039/c6an00514d.
- [37] CHEN Y Y, QIN X, YUAN C L, *et al.* Double responsive analysis of carbaryl pesticide based on carbon quantum dots and Au nanoparticles[J]. *Dyes and Pigments*, 2020, **181**: 108529. DOI:10.1016/j.dyepig.2020.108529.
- [38] YAN X, SONG Y, ZHU C Z, *et al.* MnO₂ nanosheet-carbon dots sensing platform for sensitive detection of organophosphorus pesticides [J]. *Analytical Chemistry*, 2018, **90** (4) : 2618–2624. DOI: 10.1021/acs.analchem.7b04193.
- [39] HUANG S, YAO J D, LI B, *et al.* Integrating target-responsive CD-CdTe QD-based ratiometric fluorescence hydrogel with smartphone for visual and on-site determination of dichlorvos [J]. *Microchimica Acta*, 2021, **188** (10) : 1–10. DOI:10.1007/s00604-021-04982-z.
- [40] JIN R, KONG D S, ZHAO X, *et al.* Tandem catalysis

- driven by enzymes directed hybrid nanoflowers for on-site ultrasensitive detection of organophosphorus pesticide[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2019, **141**: 111473. DOI: 10.1016/j.bios.2019.111473.
- [41] LI H T, SUN C H, VIJAYARAGHAVAN R, *et al.* Long lifetime photoluminescence in N, S co-doped carbon quantum dots from an ionic liquid and their applications in ultrasensitive detection of pesticides [J]. *Carbon*, 2016, **104**: 33-39. DOI:10.1016/j.carbon.2016.03.040.
- [42] SAHUB C, TUNTULANI T, NHUJAK T, *et al.* Effective biosensor based on graphene quantum dots via enzymatic reaction for directly photoluminescence detection of organophosphate pesticide [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, **258**: 88-97. DOI: 10.1016/j.snb.2017.11.072.
- [43] Casida J E. Organophosphorus xenobiotic toxicology [J]. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 2017, **57** (1): 309-327. DOI: 10.1146/annurev-pharmtox-010716-104926.
- [44] SONG W, ZHANG H J, LIU Y H, *et al.* A new fluorescence probing strategy for the detection of parathion-methyl based on N-doped carbon dots and methyl parathion hydrolase [J]. *Chinese Chemical Letters*, 2017, **28**(8): 1675-1680. DOI:10.1016/j.cclet.2017.05.001.
- [45] CARTER P J. Potent antibody therapeutics by design[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2006, **6** (5): 343-357. DOI:10.1038/nri1837.
- [46] MASUD M K, NA J, YOUNUS M, *et al.* Superparamagnetic nanoarchitectures for disease-specific biomarker detection[J]. *Chemical Society Reviews*, 2019, **48**(24): 5717-5751. DOI:10.1039/c9cs00174c.
- [47] FARKA Z, JUŘÍK T, KOVÁŘ D, *et al.* Nanoparticle-based immunochemical biosensors and assays: Recent advances and challenges[J]. *Chemical Reviews*, 2017, **117** (15): 9973-10042. DOI:10.1021/acs.chemrev.7b00037.
- [48] TANG W X, WANG D, WANG J Q, *et al.* Pyrethroid pesticide residues in the global environment: An overview [J]. *Chemosphere*, 2018, **191**: 990-1007. DOI:10.1016/j.chemosphere.2017.10.115.
- [49] WANG D, LIN B X, CAO Y J, *et al.* A highly selective and sensitive fluorescence detection method of glyphosate based on an immune reaction strategy of carbon dot labeled antibody and antigen magnetic beads[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, **64** (30): 6042-6050. DOI:10.1021/acs.jafc.6b01088.

□