

化学生物传感器快速检测有机磷农药研究进展

吴 园, 刘 珂, 胡玲玲, 梁建功, 刘玲芝[†]

华中农业大学理学院, 湖北 武汉 430070

收稿日期: 2022-03-21 [†] 通信联系人 E-mail: liulingzhi_1981@mail.hzau.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金(21904046)

作者简介: 吴 园, 女, 博士, 讲师, 现从事纳米荧光探针研究。E-mail: yuanwu@mail.hzau.edu.cn

摘 要: 环境中有机磷农药的高毒性和高残留问题受到了越来越广泛的关注, 提高有机磷农药残留的检测水平刻不容缓。本文概述了近年来基于电化学、荧光、比色和拉曼信号的化学生物传感技术用于快速检测有机磷农药的研究进展, 并对有机磷农药快速检测领域目前存在的问题进行了分析, 对其未来发展趋势进行了展望。

关 键 词: 有机磷农药; 电化学信号; 荧光信号; 比色信号; 拉曼信号; 化学生物传感器

中图分类号: O657.1

文献标志码: A

文章编号: 1671-8836(2022)04-0347-12

Progress of Chemical Biosensor for Rapid Detection of Organophosphorus Pesticides

WU Yuan, LIU Ke, HU Lingling, LIANG Jiangong, LIU Lingzhi[†]

College of Science, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, Hubei, China

Abstract: The high toxicity and high residues of organophosphorus pesticides in the environment have received more and more attention, and it is urgent to improve the detection level of organophosphorus pesticides residues. This review briefly summarizes the recent research progress of chemical biosensing technologies based on electrochemical, fluorescent, colorimetric and Raman signals for the rapid detection of organophosphorus pesticides, analyzes the current problems in the field of rapid detection and forecasts its future development trend.

Key words: organophosphorus pesticide; electrochemical signal; fluorescent signal; colorimetric signal; Raman signal; chemical biosensor

0 引 言

我国从事农业生产的人口众多, 在现代农业生产实践过程中, 为预防、控制或消除害虫和杂草、调节植物生长、保证作物产量和质量、提高生产效率, 农药的使用必不可少^[1]。其中, 有机磷农药(organophosphorus pesticides, OPs)由于品种多、效率高、杀虫广、价廉和市场占有率高等优点在世界范围内被广泛使用^[2,3]。OPs 通常是油状的磷酸酯类或白色晶状的硫代磷酸酯类化合物, 常见的有对硫磷、氧乐果、乙酰甲胺磷、敌敌畏、毒死蜱、稻瘟净等, 大多

具有高毒性或中等毒性^[4]。但在实际的生产中, OPs 的有效利用率比较低, 且会随雨水冲刷进入土壤、水体、大气中, 造成严重的环境污染, 进而对人类健康造成损害^[5]。环境和农产品中残留的 OPs 经过皮肤、呼吸道、黏膜等多种途径进入人体, 长年累月在体内沉积^[6]。进入人体后的 OPs 和乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)发生反应, 致使 AChE 无法水解乙酰胆碱(acetylcholine, ACh)底物; 而 ACh 在体内大量积聚会造成持续的神经冲动, 引起毒蕈碱样中毒病症和中枢神经系统病症^[7], 多表现为神经系统、呼吸系统、消化系统等出现异常, 甚至

引用格式: 吴园, 刘珂, 胡玲玲, 等. 化学生物传感器快速检测有机磷农药研究进展[J]. 武汉大学学报(理学版), 2022, 68(4): 347-358. DOI: 10.14188/j.1671-8836.2022.0061.

WU Yuan, LIU Ke, HU Lingling, *et al.* Progress of Chemical Biosensor for Rapid Detection of Organophosphorus Pesticides [J]. *J. Wuhan Univ. (Nat. Sci. Ed.)*, 2022, 68(4): 347-358. DOI: 10.14188/j.1671-8836.2022.0061(Ch).

造成神经系统发育、生理及生殖功能病变;OPs 还可能通过作用于线粒体,改变呼吸链的呼吸作用,抑制免疫系统的功能^[8],伤害组织细胞和 DNA^[9]。

随着人们环保意识和农产品安全意识的不断增强,使用 OPs 造成的农药残留问题受到了越来越多的关注。因此,迫切需要提高 OPs 的残留分析水平,以保护生态系统和人类健康^[10]。传统的 OPs 检测方法如色谱法,包括高效液相色谱、气相色谱和气相色谱-质谱联用等技术^[11],因其稳定性好、重复度高被广泛使用,但由于需要昂贵的大型设备、样品需要预处理且耗时较长等缺点并不能用于快速检测^[12]。生物传感技术一般利用能够敏锐感受某种化学、物理信息的元件作为识别元件,特异性地快速识别复杂环境中的目标分子并与其发生作用产生生化信号;生化信号被信号转换器捕捉、转化为不同的信号种类,再经过信号放大而被记录下来^[13],从而实现定量检测。化学生物传感技术根据产生的信号种类可分为电、荧光、比色和拉曼等。近年来,基于这些信号构建的化学生物传感器快速检测技术发展迅速。本文对基于上述信号的化学生物传感技术构建的 OPs 检测方法进行总结,以期对农药残留检测相关研究人员提供参考。

1 电化学生物传感器

电化学生物传感器具有设备简单、操作简便、灵敏度高、特异性强、响应速度快、成本低等优点,且易于携带,方便用于现场检测,已被广泛应用于食品中 OPs 的实时监测^[14~16]。用于检测 OPs 的电化学传感器包括基于胆碱酯酶抑制型、非酶抑制型、抗体型及核酸适配体型的电化学生物传感器。

1.1 基于胆碱酯酶抑制型的电化学生物传感器

基于胆碱酯酶抑制型的电化学生物传感器一般以对应的 ACh 或丁酰胆碱(butrylcholine, BCh)作为底物,其检测原理可简要概括为:在电极上固定胆碱酯酶,常用的包含 AChE 和丁酰胆碱酯酶(butrylcholinesterase, BChE),AChE 或 BChE 可以催化对应的底物生成电化学活性物质,产生明显的氧化还原电化学信号;当加入有机磷农药后,胆碱酯酶的活性被抑制,电化学信号减弱,且减弱的程度与有机磷农药的浓度呈一定的线性关系,从而实现 OPs 的定量检测。然而,由于食品和环境领域对有机磷农药探针的性能要求严格,且 AChE 稳定性较差,简单地将胆碱酯酶固定在电极上已不能满足有机磷农药检测的实际需求。

近年来,用金属、碳基以及复合纳米材料等作为电化学生物传感器的基底材料,可以很好地解决电化学生物传感器检出限、灵敏度的问题,提高其选择性和灵敏度^[17],在 OPs 检测方面有着很好的应用潜力^[18~22]。在这些材料中,石墨烯具有许多独特的物理和化学性质,如良好的机械强度、导电性和生物相容性。此外,三维石墨烯(three dimensional graphene, 3DG)因其多孔网状结构,具有高孔隙率和高比表面积,可提供多个活性位点,均有助于酶的修饰。因此,Bao 等^[23]基于三维石墨烯-氧化铜纳米花复合结构(3DG-CuO NFs)开发了一种用于 OPs 检测的高灵敏度电化学生物传感器。如图 1 所示,首先在玻碳电极(glassy carbon electrode, GCE)表面修饰 3DG/CuO NFs 复合纳米材料,随后将 AChE 和带正电荷的壳聚糖(chitosan, CS)预混合后进一步修饰在电极上,AChE 催化底物乙酰硫代胆碱(acetylthiocholine, ATCh)生成的产物硫代胆碱(thiocholine, TCh)在电极上发生氧化还原反应,从而产生电化学信号。当反应体系中存在 OPs 时,OPs 会抑制 AChE 的活性,引起电化学信号的改变,从而实现对 OPs 的定量检测。在该工作中,采用具有网状结构的 3DG/CuO NFs 对电极进行修饰,不仅增加了电极的有效比表面积,还为 AChE 的负载提供了有利的微环境,从而大幅度提高电化学生物传感器的性能。在最佳检测条件下,该电化学生物传感器与马拉硫磷的浓度在 0.003~46.665 nmol/L 之间呈现较好的线性关系,检出限低至 0.92 pmol/L,且具有良好的选择性和稳定性,在实际水样品加标回收分析中回收率令人满意,表现出现场检测实际样品中 OPs 的潜力。

基于胆碱酯酶的 OPs 电化学生物传感器发展较成熟,但 AChE 与底物的孵育时间较长,且其活性易受外部环境的影响,导致方法的特异性不高。而且,AChE 稳定性较差,BChE 对有机磷农药的灵敏度较差,这些缺点使得基于胆碱酯酶的电化学生物传感器的实际应用受到一定程度的限制。

1.2 基于非酶抑制型的电化学生物传感器

基于以上酶的缺陷,研究者开发出一种基于解磷定(pralidoxime, PAM)的非酶抑制方法用于各种 OPs 的定量检测。解磷定是 OPs 中毒的常用解毒剂,可缓解 OPs 毒性从而抑制乙酰胆碱酯酶活性,常用作电活性探针^[24]。如 Tunesi 等^[25]首先采用庚二酸(pimelic acid)作为模板、CuCl₂作为成核原料在氧化铟锡(indium tin oxide, ITO)电极表面原位生长有序排列的 CuO 纳米花材料,再将 CuO 纳米花修饰

的ITO电极置于含PAM的均相溶液中,在其表面固定PAM(图2(a))。其中,庚二酸作为生长模板,不仅对CuO纳米花的有序形成具有有效的生长调节作用,而且其分子中带负电荷的羧基还有助于PAM在ITO电极表面的固定。另外,CuO纳米花修饰可有效增大ITO电极的比表面积,提供足够大的电极表

面以固定PAM进行电活性测定(图2(b))。该电化学传感器成功完成了对毒死蜱、倍硫磷和甲基对硫磷三种OPs的定量检测,在 $0.01\sim 0.16\ \mu\text{mol/L}$ 浓度范围内,检出限分别达到 1.6×10^{-9} 、 2.5×10^{-9} 、 $6.7\times 10^{-9}\ \text{mol/L}$ 。此外,该传感器适用于蔬菜中毒死蜱残留的检测,具有出色的灵敏度、重现性和抗干扰能力。

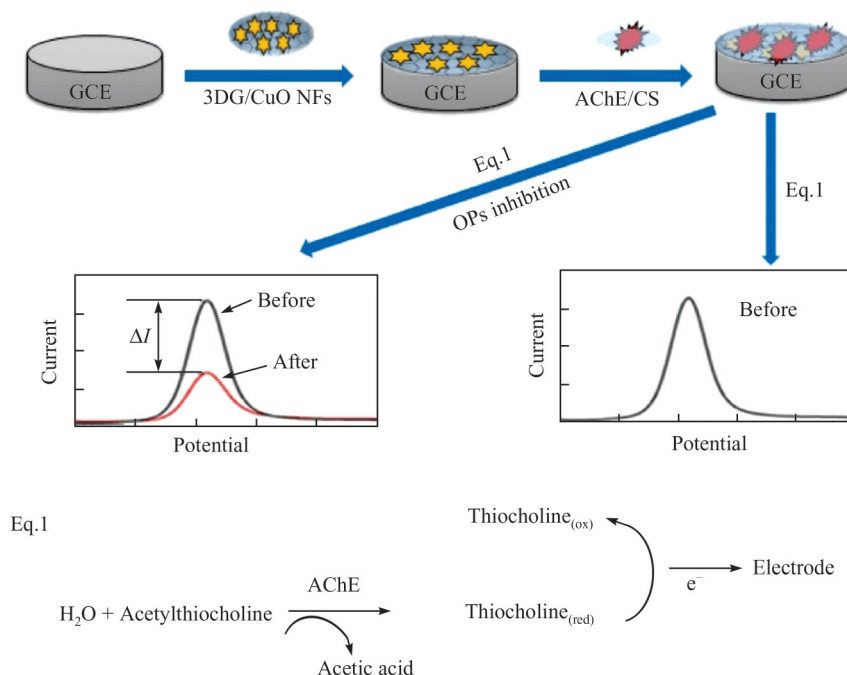


图1 3DG-CuO NFs修饰电极用于有机磷农药检测^[23]

Fig. 1 OPs detection based on 3DG-CuO NFs modified electrode^[23]

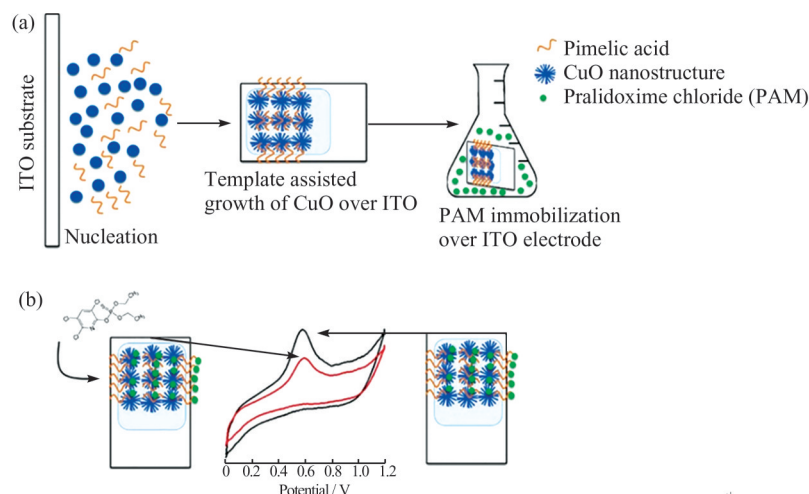


图2 ITO电极表面原位生长CuO纳米花材料(a)用于电化学检测OPs(b)^[25]

Fig. 2 *In-situ* growth of CuO nanoflowers on the surface of ITO substrate (a) for electrochemical detection of OPs (b)^[25]

1.3 基于抗体的电化学生物传感器

基于抗体的电化学生物传感器又称为电化学免疫传感器,是基于抗原-抗体特异性识别的分析检测方法,其检测OPs的原理可概括为:首先将待测OPs的抗体修饰在电极上,通过特异性识别捕获OPs,当有OPs存在时,电极表面的阻抗会发生变化

或标记的电化学活性物质的氧化还原信号会发生变化,且信号改变的程度与OPs的浓度有一定的线性关系,以此实现对OPs的定量检测。

Kaur等^[26]通过对新西兰雄性白兔皮下免疫方法制备有机磷农药马拉硫磷的抗体,并将该抗体修饰在聚-乙炔二氧噻吩和羧化多壁碳纳米管制备的

电极上,用于制备电化学免疫传感器。当溶液中存在目标物马拉硫磷时,固定在电极上的抗体可以特异性识别并捕获马拉硫磷,从而改变了该电极的电阻,使溶液中的电化学活性物质铁离子的电化学信号发生改变,且改变的强度与马拉硫磷的浓度呈现一定的线性关系。在优化的实验条件下,该电化学免疫传感器的检出限低至 1.1 fmol/L ,且可用于实际样品的加标回收检测,回收率优于液相色谱法检测马拉硫磷的回收率。

电化学免疫传感器是基于抗体-抗原之间的免疫反应,具有优异的特异性和灵敏度。但是,抗体制备需要活体,且由于有机磷农药分子量小、免疫原性低,导致其抗体制备过程异常繁琐,成本昂贵。此外,抗体存在批次差异性,其活性也容易受到外界条件的影响,不易保存和运输。这些缺点均限制了电化学免疫传感器用于实际样品中有机磷农药的检测。

1.4 基于核酸适配体的电化学生物传感器

核酸适配体是一小段通过体外筛选技术得到的 DNA 或 RNA 单链序列,可通过化学方法体外合成,能够高特异性识别靶标分子,也被称为“化学抗体”^[27]。目前研究者已经开发出一系列的基于核酸适配体的电化学生物传感器用于检测 OPs,其主要检测原理可概括为:首先将标记有电化学活性物质的核酸适配体序列固定在电极上,当有目标 OPs 存

在时,目标 OPs 与核酸适配体结合后,核酸适配体发生构象变化,导致电化学活性物质与电极之间的距离发生改变,从而引起电化学信号发生变化,且信号变化的程度与 OPs 的浓度存在一定的相关性,实现对目标 OPs 的定量检测。

Qi 等^[28]利用啉虫脒(acetamiprid, Ace)和丙溴磷(profenofos, Pro)两种农药分子分别与其核酸适配体之间的高度亲和性制备了这两种农药的电化学生物传感器。如图 3 所示,首先,作者将 Ace 和 Pro 的核酸适配体序列经过巧妙设计分别形成发夹型结构 HP1 和 HP2。在没有 Ace 或 Pro 存在时,HP1 和 HP2 的发夹型结构保持不变。当有 Ace 和 Pro 存在时,HP1 和 HP2 的发夹型结构被打开,可分别与修饰有电化学活性物质的亚甲基蓝修饰的 DNA 序列(MB-DNA)和二茂铁修饰的 DNA 序列(Fc-DNA)形成部分互补序列 Ace@HP1@MB 和 Pro@HP2@Fc。在核酸外切酶 III(exonuclease III, Exo III)的辅助作用下,溶液中生成大量电活性染料标记的单链核苷酸序列。因此,两种电化学信号明显增加,可同时实现对两种农药的高灵敏检测,Ace 和 Pro 的检出限分别为 0.0048 、 0.0089 nmol/L 。与单一农药分析的电化学生物传感器相比,该方法具有相当或更低的检出限,而且实现了多种农药分子的同时检测。

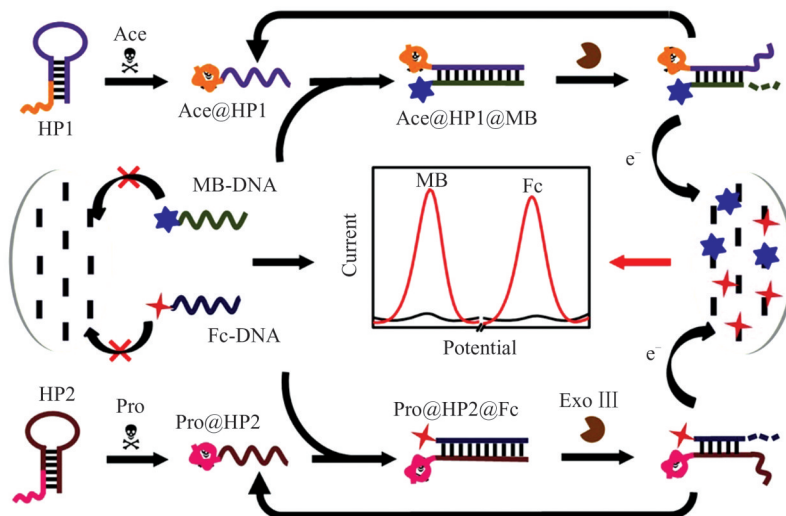


图 3 基于核酸适配体电化学生物传感器检测 OPs^[28]

Fig. 3 Electrochemical biosensor for OPs detection based on aptamers^[28]

相对基于酶和抗体的电化学生物传感器,基于核酸适配体的电化学生物传感器更稳定,而且利用核酸适配体序列的易设计性、易修饰性和 DNA 组装技术引起的构象变化可以有效实现信号放大,提高传感器的灵敏度。但目前已筛选得到的 OPs 的核酸适配体种类有限,且核酸适配体易被核酸酶降解,限

制了基于核酸适配体的电化学生物传感器的发展。

2 荧光化学生物传感器

荧光检测法是根据不同待测物质激发和发射光波长的差异^[29],且体系的荧光强度与待测物浓度

之间具有一定的线性关系,从而实现待测物的定量分析。相比于其他分析方法,基于荧光信号的化学生物传感器检测方法具有灵敏度高、选择性好、背景信号低、响应速度快和操作简单等优点,广泛用于OPs的定量检测^[30,31]。某些OPs分子中的官能团或其水解产物、还原产物能够与某些试剂发生化学反应,体系在特定波长的激发光照射下产生特定波长的发射光,从而能够直接进行定量检测。当检测灵敏度低下、OPs本身无荧光时,可以引入荧光探针进行间接检测OPs^[32]。荧光纳米材料具有荧光量子产率高、光稳定性好、比表面积大、尺寸可精准调控、抗光漂白能力强等优点,且易于功能化修饰,被广泛用于OPs的检测^[33~35]。

基于荧光纳米材料检测OPs的荧光化学生物传感器检测原理主要分为3类:1) 荧光纳米材料表面的活性基团与OPs直接作用,从而改变其荧光信号;2) 荧光纳米材料与其他发光团或猝灭剂结合后,荧光发生猝灭或者其他变化,再加入OPs后,荧光信号恢复或者发生其他变化;3) OPs结合某些特异性识别元件(如抗体、核酸适配体、酶、多肽等)引起荧光纳米材料的荧光信号发生变化。荧光信号的变化与OPs的浓度存在一定的线性关系,从而可以构建高度灵敏的荧光化学生物传感器用于检测

OPs。根据待测OPs引起的荧光纳米探针荧光强度的不同变化,可以将这些荧光探针分为猝灭型(On-Off型)、增敏型(Off-On型)和比率型。

2.1 On-Off型荧光化学生物传感器

On-Off型荧光化学生物传感器一般是指本身具有荧光,而待测物共孵育后,在特定的激发光照射下发射出的单波长荧光被猝灭的一类化学物质,其荧光的猝灭程度与待测物的浓度成一定的线性关系^[36,37]。Yan等^[38]基于碳点(carbon dots, CDs)和二氧化锰(MnO_2)纳米片之间的荧光共振能量转移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)效应开发了一种OPs荧光化学生物传感器(图4)。其中,CDs的荧光可以被吸附在其表面的 MnO_2 纳米片猝灭;BChE可催化ATCh底物生成TCh产物,随后TCh可以使吸附在CDs表面的 MnO_2 纳米片降解成 Mn^{2+} ,从而使CDs荧光恢复。然而,当有OPs存在时,OPs可以抑制BChE的酶活性,从而抑制TCh的生成和 MnO_2 的降解,同时系统的荧光强度发生变化。因此,该荧光化学生物传感器可用于OPs的定量检测。最优条件下,该传感器对对氧磷的浓度检测范围为0.05~5 ng/mL,检出限为0.015 ng/mL。采用这种方法还可以观察到样品颜色随浓度的变化,且方法操作简便、环境友好。

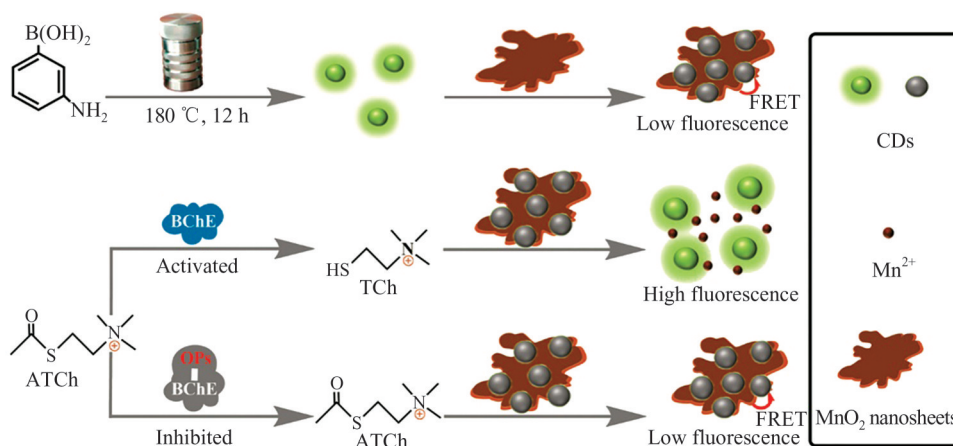


图4 基于CDs- MnO_2 纳米片检测OPs^[38]

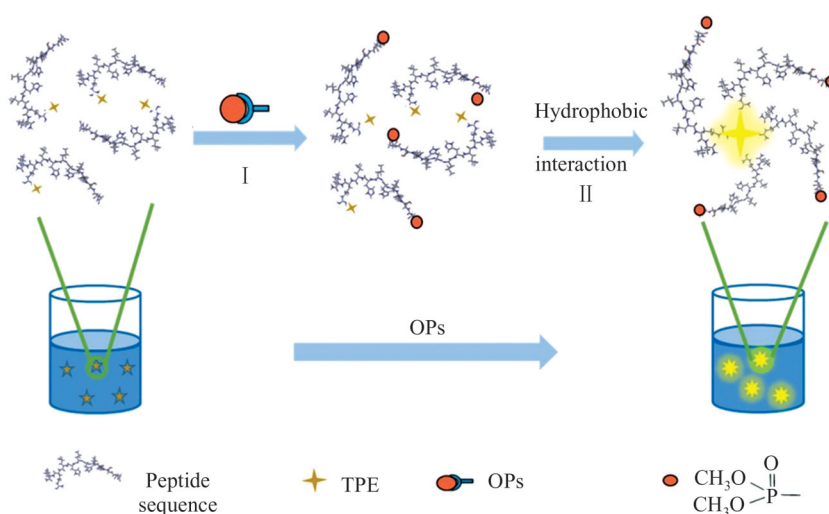
Fig. 4 OPs detection based on CDs- MnO_2 nanosheets^[38]

2.2 Off-On型荧光化学生物传感器

Off-On型荧光化学生物传感器一般是指本身没有荧光或荧光很弱,在加入待测物后荧光增强或恢复的一类化学物质^[39]。

Wang等^[40]构建了一种四苯基乙烯(tetraphenyl-ethylene, TPE)修饰的多肽化学生物传感器,其中TPE分子具有聚集诱导发光(aggregation induced emission, AIE)特性,在分散状态下无荧光,聚集后

发射荧光(图5)。OPs可以特异性地与TPE-多肽传感器结合,使修饰有TPE分子的多肽传感器发生自组装聚集而发射荧光。根据TPE的聚集程度与OPs浓度的相关性可实现对OPs的检测,检出限为0.6 $\mu\text{mol/L}$,可用于实际样品的检测。用于OPs检测的Off-On型探针不如On-Off型探针常见,但由于其荧光信号是从无到有,故其灵敏度明显较后者高^[41~43]。

图5 TPE修饰的多肽传感器检测OPs^[40]Fig. 5 TPE-modified peptide sensor for OPs detection^[40]

2.3 比率型荧光化学生物传感器

比率型荧光化学生物传感器一般是指在同一激发光照射下会发射出两个不同波长的光,而在加入待测物后,利用这两个发射波长下的荧光强度变化的比值实现对待测物的定量检测的一类化学物质,可以降低光漂白和仪器光源带来的检测误差^[44]。Zhang等^[45]开发了一种多巴胺二硫代氨基甲酸酯(dopamine dithiocarbamate, DDTC)修饰的锰掺杂ZnS半导体双荧光发射纳米传感器用于OPs的检测。在单波长激发下,该探针在600 nm和435 nm波长处表现出分辨率良好的红色和蓝色双荧光发射谱带,探针与表面修饰的DDTC可发生光致电子转移(photoinduced electron transfer, PET)效应,使探针600 nm处的红色荧光被猝灭;当加入硫代磷酸二乙酯(diethylphosphorothioate, DEP)类OPs后,由于DEP与DDTC之间的强配位作用,DEP取代DDTC与传感器发生反应,导致PET效应消失,使探针600 nm处的红色荧光恢复。整个过程中,探针在435 nm处的蓝色荧光强度几乎没有发生变化,可作为内参实现DEP类OPs的比率型荧光检测,在0~100 μmol/L范围内检出限为1.8 μmol/L。

基于荧光纳米材料的化学生物传感器的荧光信号直接来源于发光纳米材料,所以制备发射近红外光且荧光量子产率高的荧光纳米材料对于开发面向OPs的高灵敏检测平台至关重要。虽然在过去几十年里已经开发出许多不同的荧光纳米材料,如各种半导体发光量子点、碳点、上转换纳米材料、硫点、石墨烯量子点、二氧化硅量子点等,但基于荧光纳米材料构建OPs化学生物传感器仍有许多发展空间,如高发光性能的荧光纳米材料的开发及其

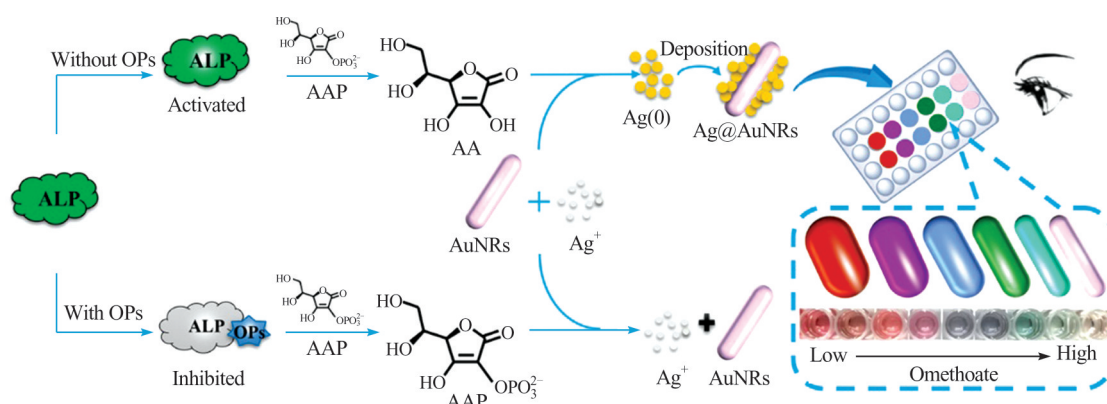
发光机制的研究仍然较为缺乏;其次,荧光传感器依赖昂贵的大型荧光检测设备,限制了其在OPs实时、原位检测方面的应用。

3 比色化学生物传感器

比色法是通过待测物引起的肉眼可见的颜色变化实现对待测物检测的方法。比色法可通过测定样品的紫外-可见吸收光谱对待测物进行定量分析,具有设备简单、成本低、响应速度快,可视化、可实时监测等优点,是目前比较普遍的检测OPs的方法^[46,47]。比色化学生物传感器主要基于具有表面等离子体共振(surface plasmon resonance, SPR)性质的贵金属纳米材料和纳米酶构建。

3.1 基于贵金属纳米材料的比色化学生物传感器

贵金属纳米颗粒具有SPR性质,其SPR吸收峰容易受到待测物直接或间接触发而变化,从而导致明显的颜色变化^[48]。Zhang等^[49]开发了一种超灵敏检测氧乐果的多色比色传感器(图6)。碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)可催化抗坏血酸2-磷酸(ascorbic acid 2-phosphate, AAP)生成抗坏血酸(ascorbic acid, AA);溶液中的银离子被AA还原生成金属银(Ag),沉积在金纳米棒(gold nanorods, Au NRs)表面形成Ag/Au核壳纳米棒(Ag@Au NRs),导致Au NRs纵向的SPR吸收峰发生一系列蓝移和高分辨率多色变化;氧乐果可抑制ALP的活性,进而阻碍ALP诱导的银金属化,且氧乐果的浓度直接影响产生的AA的浓度,最终决定了Au NRs上Ag壳沉积的程度。因此,可通过Au NR纵向SPR吸收峰强度与氧乐果浓度之间的线性关系定

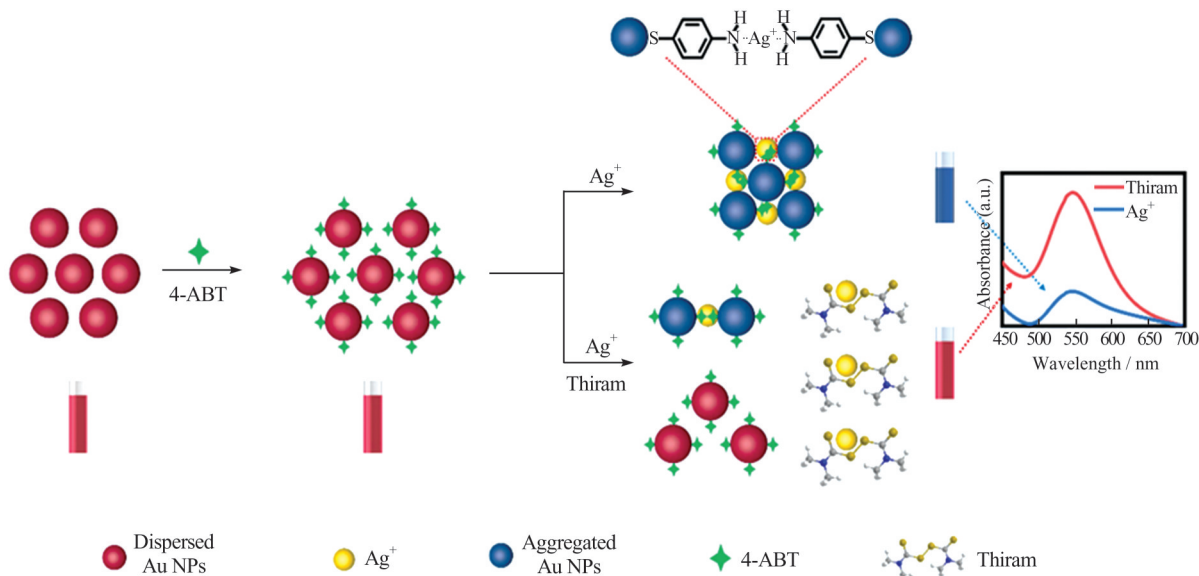
图6 ALP诱导的银金属化的 Au NRs 用于氧乐果的多色比色检测^[49]Fig. 6 Multicolor colorimetric determination of omethoate based on ALP-induced silver metallization of Au NRs^[49]

量检测氧乐果的浓度。同时,对应的多色变化可实现肉眼半定量检测氧乐果。该方法检出限为 83.2 ng/L,用于检测实际样品,回收率(95.67%~108.92%)好,有望用于食品中氧乐果的快速视觉检测。

尽管上述基于金纳米材料的比色方法具有很高的灵敏度,但实验中许多参数条件,如离子浓度、pH值和温度等可能会导致金纳米材料的非特异性聚集,使SPR吸收峰发生变化,引起假阳性信号^[50]。因此,有必要开发更高稳定性、灵敏度和选择性的OPs比色分析法。

本课题组^[51]基于金纳米颗粒(gold nanoparticles, Au NPs)的抗聚集机制开发了一种简单快速的福美双比色传感器,其原理如图7所示。一定浓度的 Ag^+ 可诱导4-氨基苯硫酚(4-aminothiophenol, 4-ABT)修饰的Au NPs(Au NPs@4-ABT)聚集,

导致分散的Au NPs@4-ABT由酒红色变为蓝紫色。然而,这种聚集效应可以被福美双和 Ag^+ 之间的强螯合作用力所抑制,即将 Ag^+ 和福美双预孵育后添加到Au NPs@4-ABT传感器中之后,福美双和 Ag^+ 形成稳定的福美双- Ag^+ 复合物,Au NPs@4-ABT能够被很好地再分散。这种抗聚集效应导致Au NPs@4-ABT传感器的紫外-可见吸收光谱发生明显变化,体系颜色由蓝紫色变为酒红色。肉眼可见的颜色变化和产生的线性紫外-可见吸收信号可准确地检测福美双残留,检出限低至0.04 $\mu\text{mol/L}$ 。该方法操作简单,不需要昂贵的仪器和复杂的设计、合成或修饰。此外,该传感器灵敏度高、选择性好、响应速度快,可在加入全部样品后15 min内完成对福美双的检测,可实现实际样品如土壤和苹果中福美双残留的检测,有望用于福美双残留的现场快速可视化检测。

图7 Au NPs@4-ABT 传感器比色法检测福美双^[51]Fig. 7 Colorimetric detection of thiram via Au NPs@4-ABT sensor^[51]

3.2 基于纳米酶的比色化学生物传感器

随着天然酶在 OPs 检测中的应用越来越多,其缺陷也越发明显。首先,天然酶的催化条件苛刻,其活性容易在强酸、强碱或高温条件下减弱甚至失活;其次,天然酶的制备耗时长且成本高,储存条件苛刻;另外,天然酶在使用中难以回收,多为一次性使用。因此,近年来研究者开发出许多基于纳米材料的酶的模拟物,称为纳米酶^[52, 53]。基于纳米酶构建的显色体系用于 OPs 检测的文献^[54~56]很多,也有相关的综述^[57],感兴趣的研究者可以追溯进行详细了解。Zhang 等^[58]采用聚丙烯酸(polyacrylic acid, PAA)包覆的氧化铈纳米粒子(PAA-CeO₂)作为氧化酶模拟物和 OPs 作为抑制乙酰胆碱酯酶活性的抑制剂,制备了一种可供现场快速检测 OPs 的比色化学生物传感器。其中,PAA-CeO₂纳米酶可以催化四甲基联苯胺(tetramethylbenzidine, TMB)的氧化,产生从无色到蓝色的显色反应;AChE 可催化其 ATCh 底物生成一种具有还原性的含硫醇化合物 TCh, TCh 可以减少 PAA-CeO₂纳米酶对 TMB 的催化氧化。当反应体系中存在 OPs 时,AChE 的酶活性会受到 OPs 的抑制,产生较少的 TCh,导致更多的 TMB 被 PAA-CeO₂纳米酶催化氧化,溶液显示出的蓝色深浅与 OPs 的浓度存在一定的线性关系。作者将该策略应用于敌敌畏和甲基对氧磷的检测,检出限分别为 8.62 μg/L 和 26.73 μg/L。利用纳米酶开发的 OPs 比色传感器不但成本低廉、容易操作,而且稳定性强、灵敏度高、变色明显、检测快速,有望用于有机磷等农药现场快速检测。

基于贵金属 SPR 效应构建的比色化学生物传感器在检测过程中易受到外界干扰因素的影响,如温度、pH 值、缓冲溶液种类、离子强度、金属离子等都可能干扰传感器的性能。基于纳米酶构建 OPs 比色化学生物传感器仍处于起步阶段,面临许多挑战,如许多纳米酶的催化机理还不明确,难以实现对天然酶更加完美的模拟和对纳米酶的催化活性进行高度精准调控等。因此,需要研究者继续深耕纳米酶领域,明确纳米酶催化机理,同时通过调控纳米颗粒的形貌、尺寸、化学掺杂、表面修饰等方面来提高纳米酶的催化活性,进一步实现精准调控纳米酶活性,以开发出更多更高效的纳米酶平台用于 OPs 低成本快速现场可视化检测。

4 拉曼化学生物传感器

单色光照射样品时会发生光散射,一部分散射

光与入射光的波长不同,这种偏移的散射光的光谱就是拉曼光谱^[59]。一般样品中的分子拉曼散射信号不强,不足以用于构建高灵敏拉曼化学生物传感器。因此,研究者基于表面增强拉曼光谱(surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS)技术,通过贵金属(如金、银等)的表面吸附,增强样品的拉曼散射信号,实现了 OPs 残留的高灵敏度、快速检测^[60~63]。Yaseen 等^[64]基于银包金纳米粒子(Au@Ag NPs)的 SERS 方法用于标准溶液和桃子提取物中同时检测多类农药残留,探针中的 Au 核和 Ag 壳表现出显著的拉曼增强效果,可以识别不同农药(噻虫啉、丙溴磷和恶唑啉)的特征波数,桃提取物中噻虫啉的检出限为 0.1 mg/kg,丙溴磷和恶唑啉的检出限均为 0.01 mg/kg,且具有一定的回收率(78.6%~162.0%)和较高的准确度。

随着便携式拉曼光谱仪的问世,SERS 技术得以推广和普及,在检测 OPs 领域发展快速,且发展前景良好。但是基于 SERS 技术开发的便携式拉曼光谱仪仍存在问题,如激光的光源不够稳定,在使用过程中由于温度的细微变化,造成发射出的激光波长漂移;另外,SERS 检测中的基底需要继续优化,比如构建稳定性高、重复性好的高效柔性基底,进一步提高 SERS 探针的灵敏度、长期稳定性和降低成本。

5 总结与展望

化学生物传感器的开发研究为检测 OPs 残留的研究提供了很多可靠的检测方法,已成为科技发展的热点。本文总结了近年来基于电、荧光、比色和拉曼信号构建的化学生物传感器用于快速检测 OPs 的研究进展(表 1)。随着纳米技术的发展,基于纳米材料的化学生物传感器克服了传统大型昂贵仪器用于定量分析的局限性,具有较高的灵敏度和特异性,在 OPs 残留检测领域应用广泛。但是,这些化学生物传感器在以下方面仍存在亟待解决的问题:1) 尚未实现多种农药的同步鉴定和监测;2) 基于电、荧光、比色和拉曼信号的化学生物传感器便携式设备的检测准确性有待进一步提高;3) 用于构建化学生物传感器的纳米材料的可重复性、稳定性与表面改性研究方面尚需进一步探索;4) 用于构建化学生物传感器的天然酶的稳定性和使用寿命有待提高,能特异性地与 OPs 结合的识别分子需要进一步研究;5) 生物识别分子在实际样品检测过程中不可控因素太多,需深入研究和优化其使用条

表1 检测OPs的化学生物传感器性能

Table 1 Performance of chemical biosensors for the detection of OPs

信号类型	生物传感器类型	有机磷农药	线性范围	检出限	参考文献
电化学	胆碱酯酶抑制型传感器	马拉硫磷	0.003~46.665 nmol/L	0.92 pmol/L	[23]
		毒死蜱		1.6×10^{-9} mol/L	
	非酶抑制型	倍硫磷	0.01~0.16 μmol/L	2.5×10^{-9} mol/L	[25]
		甲基对硫磷		6.7×10^{-9} mol/L	
	抗体型	马拉硫磷	$0.1\times 10^{-12}\sim 1.0\times 10^{-6}$ mol/L	1.1×10^{-15} mol/L	[26]
	核酸适配体型	啉虫脒	0.025~30 nmol/L	0.004 8 nmol/L	[28]
丙溴磷		0.03~30 nmol/L	0.008 9 nmol/L		
荧光	猝灭型	对氧磷	0.05~5 ng/mL	0.015 ng/mL	[38]
	增敏型	甲基对硫磷	1~100 μmol/L	0.6 μmol/L	[40]
	比率型	硫代磷酸二乙酯类	0~100 μmol/L	1.8 μmol/L	[45]
比色	金纳米棒型	氧乐果	20~10 000 μg/L	83.2 ng/L	[49]
	抗纳米金聚集型	福美双	0.05~2.0 μmol/L	0.04 μmol/L	[51]
		敌敌畏	0~0.7 μg/mL	8.62 μg/L	
	纳米酶型	甲基对氧磷	0~2.0 μg/mL	26.73 μg/L	[58]
拉曼	表面增强型	噻虫啉	0.1~100 mg/kg	0.1 mg/kg	[64] [*]
		丙溴磷	0.01~100 mg/kg	0.01 mg/kg	
		恶唑啉	0.01~100 mg/kg	0.01 mg/kg	

注:*文献[64]的线性范围和检出限数据来自桃子提取物

件和适用范围;6)农产品或者土壤等生态样品复杂,样品预处理过程需要进一步简化,且需要进一步降低背景干扰。

目前,化学生物传感器的主要发展趋势如下:1)构建便携和低成本的高通量化学生物传感器;2)不断简化样品的前处理过程,降低背景干扰,不断提高检测方法的准确性;3)高通量、高效率地筛选特异性识别农药的核酸适配体,降低生物识别分子的成本,同时提高其稳定性;4)通过将各种检测技术相互结合、优势互补,不断提高检测的灵敏度、准确度,同时发展多种OPs的现场快速检测技术。因此,随着新技术的不断成熟和基于电、荧光、比色和拉曼信号等的化学生物传感器的发展,未来很有希望开发出一系列新型多元化学生物传感器,实现现场实时、同步监测复杂样品中多种农药残留。

参考文献:

[1] SATOH M. Situation of pesticide use in China and food safety[J]. *Journal of Pesticide Science*, 2006, **31**(1): 57-61. DOI:10.1584/jpestics.31.57.

[2] OCK J, KIM J, CHOI Y H. Organophosphate insecticide exposure and telomere length in US adults[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, **709**: 135990. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.135990.

[3] AKANDE M G, SANNI F S, ENEFE N G. Human

health risk evaluation of organophosphate insecticide residues in post-harvest cowpea in gwagwalada, Abuja, Nigeria[J]. *Journal of Health & Pollution*, 2020, **10**(28): 201203. DOI:10.5696/2156-9614-10.28.201203.

[4] SRIVASTAVA S, GHORPADE R, SATHE M. Development of immunochromatographic assay for identification of organophosphate pesticides in environmental samples[J]. *Journal of Immunoassay and Immunochemistry*, 2016, **37**(2): 167-188. DOI: 10.1080/15321819.2015.1106948.

[5] SAHIN C, KARPUZCU M E. Mitigation of organophosphate pesticide pollution in agricultural watersheds[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, **710**: 136261. DOI:10.1016/j.scitotenv.2019.136261.

[6] MISIK J, PAVLIKOVA R, JOSSE D, *et al.* *In vitro* skin permeation and decontamination of the organophosphorus pesticide paraoxon under various physical conditions-evidence for a wash-in effect[J]. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 2012, **22**(7): 520-525. DOI: 10.3109/15376516.2012.686535.

[7] CHO N J, PARK S, LYU J, *et al.* Prediction model of acute respiratory failure in patients with acute pesticide poisoning by intentional ingestion: Prediction of respiratory failure in pesticide intoxication (PREP) scores in cohort study[J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2022, **11**(4): 1048. DOI:10.3390/jcm11041048.

[8] FUKUYAMA T, KOSAKA T, TAJIMA Y, *et al.*

- Prior exposure to organophosphorus and organochlorine pesticides increases the allergic potential of environmental chemical allergens in a local lymph node assay [J]. *Toxicology Letters*, 2010, **199**(3): 347–356. DOI:10.1016/j.toxlet.2010.09.018.
- [9] LU X T, MA Y, WANG C, *et al.* Cytotoxicity and DNA damage of five organophosphorus pesticides mediated by oxidative stress in PC12 cells and protection by vitamin E[J]. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 2012, **47**(5): 445–454. DOI:10.1080/03601234.2012.663312.
- [10] LIU Z H, XIA X, ZHOU G X, *et al.* Acetylcholinesterase-catalyzed silver deposition for ultrasensitive electrochemical biosensing of organophosphorus pesticides [J]. *Analyst*, 2020, **145**(6): 2339–2344. DOI:10.1039/c9an02546d.
- [11] 蒲继锋, 潘虎, 代艳娜, 等. 气相色谱法测定茄果类蔬菜中 12 种有机磷类农药残留 [J]. 食品安全质量检测学报, 2020, **11**(4): 1192–1196. DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.2020.04.038.
- PU J F, PAN H, DAI Y N, *et al.* Determination of 12 kinds of organophosphate pesticide residues in solanaceous vegetables by gas chromatography [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2020, **11**(4): 1192–1196. DOI:10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.2020.04.038(Ch).
- [12] PERIS M, ESCUDER-GILABERT L. A 21st century technique for food control: Electronic noses [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2009, **638**(1): 1–15. DOI:10.1016/j.aca.2009.02.009.
- [13] CAMPANELLA L, LELO D, MARTINI E, *et al.* Organophosphorus and carbamate pesticide analysis using an inhibition tyrosinase organic phase enzyme sensor; comparison by butyrylcholinesterase + choline oxidase opee and application to natural waters [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, **587**(1): 22–32. DOI:10.1016/j.aca.2007.01.023.
- [14] YAO Y Y, ZHANG L, XU J K, *et al.* Rapid and sensitive stripping voltammetric analysis of methyl parathion in vegetable samples at carboxylic acid-functionalized SWCNTs- β -cyclodextrin modified electrode [J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2014, **713**: 1–8. DOI: 10.1016/j.jelechem.2013.11.024.
- [15] MULCHANDANI A, CHEN W, MULCHANDANI P, *et al.* Biosensors for direct determination of organophosphate pesticides [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2001, **16**(4/5): 225–230. DOI:10.1016/S0956-5663(01)00126-9.
- [16] DZYADEVYCH S V, SOLDATKIN A P, ARKHYPOVA V N, *et al.* Early-warning electrochemical biosensor system for environmental monitoring based on enzyme inhibition [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2005, **105**(1): 81–87.
- [17] NOORI J S, MORTENSEN J, GETO A. Recent development on the electrochemical detection of selected pesticides: A focused review [J]. *Sensors (Basel, Switzerland)*, 2020, **20**(8): 2221. DOI:10.3390/s20082221.
- [18] YOLA M L. Electrochemical activity enhancement of monodisperse boron nitride quantum dots on graphene oxide: Its application for simultaneous detection of organophosphate pesticides in real samples [J]. *Journal of Molecular Liquids*, 2019, **277**: 50–57. DOI:10.1016/j.molliq.2018.12.084.
- [19] RANA S, KAUR R, JAIN R, *et al.* Ionic liquid assisted growth of poly (3, 4-ethylenedioxythiophene)/reduced graphene oxide based electrode: An improved electrocatalytic performance for the detection of organophosphorus pesticides in beverages [J]. *Arabian Journal of Chemistry*, 2019, **12**(7): 1121–1133. DOI: 10.1016/j.arabjc.2018.08.008.
- [20] FU J Y, YAO Y, AN X S, *et al.* Voltammetric determination of organophosphorus pesticides using a hairpin aptamer immobilized in a graphene oxide-chitosan composite [J]. *Mikrochimica Acta*, 2019, **187**(1): 36. DOI: 10.1007/s00604-019-4022-4.
- [21] CHEN H M, ZHANG H, YUAN R, *et al.* Novel double-potential electrochemiluminescence ratiometric strategy in enzyme-based inhibition biosensing for sensitive detection of organophosphorus pesticides [J]. *Analytical Chemistry*, 2017, **89**(5): 2823–2829. DOI: 10.1021/acs.analchem.6b03883.
- [22] NESAKUMAR N, SETHURAMAN S, KRISHNAN U M, *et al.* Electrochemical acetylcholinesterase biosensor based on ZnO nanocuboids modified platinum electrode for the detection of carbosulfan in rice [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2016, **77**: 1070–1077. DOI:10.1016/j.bios.2015.11.010.
- [23] BAO J, HUANG T, WANG Z N, *et al.* 3D graphene/copper oxide nano-flowers based acetylcholinesterase biosensor for sensitive detection of organophosphate pesticides [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2019, **279**: 95–101. DOI:10.1016/j.snb.2018.09.118.
- [24] ZHENG Q Q, CHEN Y, FAN K, *et al.* Exploring pralidoxime chloride as a universal electrochemical probe for organophosphorus pesticides detection [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2017, **982**: 78–83. DOI:10.1016/j.aca.2017.06.006.
- [25] TUNESI M M, KALWAR N, ABBAS M W, *et al.* Functionalised CuO nanostructures for the detection of organophosphorus pesticides: A non-enzymatic inhibition approach coupled with nano-scale electrode engineering to improve electrode sensitivity [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, **260**: 480–489. DOI:10.1016/j.snb.2018.01.084.
- [26] KAUR N, BHATNAGAR A, BHALLA A, *et al.* Determination of an organophosphate pesticide using antibody

- immobilised hybrid nanocomposites[J]. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 2021, **101**(11): 1485–1498. DOI:10.1080/03067319.2019.1685665.
- [27] XIE M J, ZHAO F G, ZHANG Y P, *et al.* Recent advances in aptamer-based optical and electrochemical biosensors for detection of pesticides and veterinary drugs[J]. *Food Control*, 2022, **131**: 108399. DOI:10.1016/j.foodcont.2021.108399.
- [28] QI H J, LI H Y, LI F. Aptamer recognition-driven homogeneous electrochemical strategy for simultaneous analysis of multiple pesticides without interference of color and fluorescence[J]. *Analytical Chemistry*, 2021, **93**(21): 7739–7745. DOI:10.1021/acs.analchem.1c01252.
- [29] 左李美, 李晓娇, 侯洪波. 构建酶生物传感器检测有机磷农药的纳米材料研究进展[J]. 当代化工研究, 2019(13): 119–122. DOI:10.3969/j.issn.1672–8114.2019.13.053.
- ZUO L M, LI X J, HOU H B. Progress in the application of nanomaterials to the detection of organophosphorus pesticides by enzyme biosensors[J]. *Modern Chemical Research*, 2019(13): 119–122. DOI:10.3969/j.issn.1672–8114.2019.13.053 (Ch).
- [30] MACDOUGALL D. The potential of fluorescence for pesticide residue analysis[J]. *Residue Reviews*, 1964, **5**: 119–129.
- [31] BIAN H Y, YAO H, LIN G H, *et al.* Multiple kinds of pesticides detection based on back-propagation neural network analysis of fluorescence spectra[J]. *IEEE Photonics Journal*, 2020, **12**(2): 1–9. DOI:10.1109/JPHOT.2020.2973653.
- [32] HUANG H, LI J, LIU M X, *et al.* pH-controlled fluorescence changes in a novel semiconducting polymer dot/pyrogallol acid system and a multifunctional sensing strategy for urea, urease, and pesticides[J]. *Analytical Methods*, 2017, **9**(47): 6669–6674. DOI:10.1039/c7ay02284k.
- [33] LIN B X, YAN Y, GUO M L, *et al.* Modification-free carbon dots as turn-on fluorescence probe for detection of organophosphorus pesticides[J]. *Food Chemistry*, 2018, **245**: 1176–1182. DOI:10.1016/j.foodchem.2017.11.038.
- [34] WANG Q, YIN Q B, FAN Y, *et al.* Double quantum dots-nanoporphyrin fluorescence-visualized paper-based sensors for detecting organophosphorus pesticides[J]. *Talanta*, 2019, **199**: 46–53. DOI:10.1016/j.talanta.2019.02.023.
- [35] LEVINE M. Fluorescence-based sensing of pesticides using supramolecular chemistry[J]. *Frontiers in Chemistry*, 2021, **9**: 616815. DOI:10.3389/fchem.2021.616815.
- [36] CHANG M M F, GINJOM I R, NG S M. Single-shot ‘turn-off’ optical probe for rapid detection of paraoxon-ethyl pesticide on vegetable utilising fluorescence carbon dots[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2017, **242**: 1050–1056. DOI:10.1016/j.snb.2016.09.147.
- [37] CHEN J B, LI B S, XIONG Y, *et al.* A novel turn-off fluorescent probe based on TICT for the detection of NO₂ and nitramines with high sensitivity and selectivity[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, **255**: 275–282. DOI:10.1016/j.snb.2017.07.145.
- [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] SU J X, FENG C C, WU Y, *et al.* A novel gold-nano-cluster-based fluorescent sensor for detection of sodium 2-mercaptoethanesulfonate [J]. *RSC Advances*, 2019, **9**(33): 18949–18953. DOI:10.1039/c9ra01563a.
- [40] WANG J Y, ZHANG J Y, WANG J, *et al.* Fluorescent peptide probes for organophosphorus pesticides detection[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, **389**: 122074. DOI:10.1016/j.jhazmat.2020.122074.
- [41] YILDIZ I, TOMASULO M, RAYMO F M. A mechanism to signal receptor-substrate interactions with luminescent quantum dots[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, **103**(31): 11457–11460. DOI:10.1073/pnas.0602384103.
- [42] XIA Y S, SONG L, ZHU C Q. Turn-on and near-infrared fluorescent sensing for 2, 4, 6-trinitrotoluene based on hybrid (gold nanorod)-(quantum dots) assembly[J]. *Analytical Chemistry*, 2011, **83**(4): 1401–1407. DOI:10.1021/ac1028825.
- [43] WANG S H, HAN M Y, HUANG D J. Nitric oxide switches on the photoluminescence of molecularly engineered quantum dots[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2009, **131**(33): 11692–11694. DOI:10.1021/ja904824w.
- [44] LEI X X, FU Y Y, WU Y, *et al.* A ratiometric fluorescent probe for pH detection based on Ag₂S quantum dots-carbon dots nanohybrids[J]. *Royal Society Open Science*, 2020, **7**(7): 200482. DOI:10.1098/rsos.200482.
- [45] 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]. *Analytical Chemistry*, 2014, **86**(23): 11727–11733. DOI:10.1021/ac503134r.
- [46] KALYANI N, GOEL S, JAISWAL S. On-site sensing of pesticides using point-of-care biosensors: A review[J]. *Environmental Chemistry Letters*, 2021, **19**(1): 345–354. DOI:10.1007/s10311-020-01070-1.
- [47] BORDBAR M M, NGUYEN T A, ARDUINI F, *et al.* A paper-based colorimetric sensor array for discrimination

- and simultaneous determination of organophosphate and carbamate pesticides in tap water, apple juice, and rice [J]. *Mikrochimica Acta*, 2020, **187**(11): 621. DOI: 10.1007/s00604-020-04596-x.
- [48] FAHIMI-KASHANI N, HORMOZI-NEZHAD M R. Gold-nanoparticle-based colorimetric sensor array for discrimination of organophosphate pesticides [J]. *Analytical Chemistry*, 2016, **88**(16): 8099-8106. DOI: 10.1021/acs.analchem.6b01616.
- [49] ZHANG Q T, YU Y Y, YUN X J, *et al.* Multicolor colorimetric sensor for detection of omethoate based on the inhibition of the enzyme-induced metallization of gold nanorods [J]. *ACS Applied Nano Materials*, 2020, **3**(6): 5212-5219. DOI: 10.1021/acsanm.0c00641.
- [50] GHOSH S K, PAL T. Interparticle coupling effect on the surface plasmon resonance of gold nanoparticles: From theory to applications [J]. *Chemical Reviews*, 2007, **107**(11): 4797-4862. DOI: 10.1021/cr0680282.
- [51] LIU K, JIN Y, WU Y, *et al.* Simple and rapid colorimetric visualization of tetramethylthiuram disulfide (thiram) sensing based on anti-aggregation of gold nanoparticles [J]. *Food Chemistry*, 2022, **384**: 132223. DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.132223.
- [52] HUANG Y Y, REN J S, QU X G. Nanozymes: classification, catalytic mechanisms, activity regulation, and applications [J]. *Chemical Reviews*, 2019, **119**(6): 4357-4412. DOI: 10.1021/acs.chemrev.8b00672.
- [53] GAO L Z, FAN K L, YAN X Y. Iron oxide nanozyme: A multifunctional enzyme mimetic for biomedical applications [J]. *Theranostics*, 2017, **7**(13): 3207-3227. DOI: 10.7150/thno.19738.
- [54] ZHU Y Y, WU J, HAN L J, *et al.* Nanozyme sensor arrays based on heteroatom-doped graphene for detecting pesticides [J]. *Analytical Chemistry*, 2020, **92**(11): 7444-7452. DOI: 10.1021/acs.analchem.9b05110.
- [55] EFREMENKO E N, LYAGIN I V, KLYACHKO N L, *et al.* A simple and highly effective catalytic nanozyme scavenger for organophosphorus neurotoxins [J]. *Journal of Controlled Release*, 2017, **247**: 175-181. DOI: 10.1016/j.jconrel.2016.12.037.
- [56] GHEORGHE I, CZOBOR I, LAZAR V, *et al.* Present and Perspectives in Pesticides Biosensors Development and Contribution of Nanotechnology [J]. *New Pesticides and Soil Sensors*, 2017: 337-372. DOI: 10.1016/b978-0-12-804299-1.00010-2.
- [57] ZHU H J, LIU P, XU L Z, *et al.* Nanozyme-participated biosensing of pesticides and cholinesterases: A critical review [J]. *Biosensors*, 2021, **11**(10): 382. DOI: 10.3390/bios11100382.
- [58] ZHANG S X, XUE S F, DENG J J, *et al.* Polyacrylic acid-coated cerium oxide nanoparticles: An oxidase mimic applied for colorimetric assay to organophosphorus pesticides [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2016, **85**: 457-463. DOI: 10.1016/j.bios.2016.05.040.
- [59] FERRARI A C, MEYER J C, SCARDACI V, *et al.* Raman spectrum of graphene and graphene layers [J]. *Physical Review Letters*, 2006, **97**(18): 187401. DOI: 10.1103/PhysRevLett.97.187401.
- [60] LI J L, SUN D W, PU H B, *et al.* Determination of trace thiophanate-methyl and its metabolite carbendazim with teratogenic risk in red bell pepper (*Capsicum annuum* L.) by surface-enhanced Raman imaging technique [J]. *Food Chemistry*, 2017, **218**: 543-552. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.09.051.
- [61] WANG K Q, SUN D W, PU H B, *et al.* Surface-enhanced Raman scattering of core-shell Au@Ag nanoparticles aggregates for rapid detection of difenoconazole in grapes [J]. *Talanta*, 2019, **191**: 449-456. DOI: 10.1016/j.talanta.2018.08.005.
- [62] YASEEN T, SUN D W, PU H B, *et al.* Detection of omethoate residues in peach with surface-enhanced Raman spectroscopy [J]. *Food Analytical Methods*, 2018, **11**(9): 2518-2527. DOI: 10.1007/s12161-018-1233-y.
- [63] JIANG Y F, SUN D W, PU H B, *et al.* Surface enhanced Raman spectroscopy (SERS): A novel reliable technique for rapid detection of common harmful chemical residues [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2018, **75**: 10-22. DOI: 10.1016/j.tifs.2018.02.020.
- [64] YASEEN T, PU H B, SUN D W. Fabrication of silver-coated gold nanoparticles to simultaneously detect multi-class insecticide residues in peach with SERS technique [J]. *Talanta*, 2019, **196**: 537-545. DOI: 10.1016/j.talanta.2018.12.030.

□