

智能手机联用的有机磷农残速测设备及芯片

王继楠 夏中良 苏岩 何勇 万莹
(南京理工大学机械工程学院 南京 210094)

摘要:常用的杀虫剂中,有机磷类农药是其中使用最广的一种,它会对人类健康和自然环境造成严重的影响。而要对食品和水中微量的有机磷类农药进行检测,需要发展快速、灵敏、便携的有机磷农药检测设备。本文提出了一种手持设备和丝网印刷电极(SPE)芯片,用于快速、准确、一步式检测有机磷农药残留。手持设备与智能手机通过蓝牙进行数据传输,利用三电极传感芯片与乙酰胆碱酯酶的抑制反应,实现对敌百虫农药的检出限为1 ng/mL,检测时间小于5 min,单次检测成本低于1元。该平台也可以用于床边检测(POCT)以及其他目标的快速检测。

关键词:电化学传感器;丝网电极;便携式;有机磷农残检测;低功耗

中图分类号: TN06 TH832 **文献标识码:** A **国家标准学科分类代码:** 460.40

Handhold, one-step, and rapid electrochemical biosensor platform with smartphone interface

Wang Jinan Xia Zhongliang Su Yan He Yong Wan Ying

(School of Mechanical Engineering, Nanjing University of Science and Technology, Nanjing 210094, China)

Abstract: Organophosphorous pesticide (OP), one of the most commonly used pesticides, could have serious adverse effects on human health and the environment. As the maximum residue limit (MRL) of OPs in food and water is low, it is in great demand to develop integrated, portable, user-friendly devices for the rapid and sensitive detection of OP residue. This work aims to present a homemade handhold device and screen printing electrode (SPE) chip for rapid, sensitive, and one-step detection of OPs. A handhold device was designed and fabricated to connect with smartphone to read-out the electrochemical signals. Taking advantage of a three-electrode sensor chip and the inhibiting reaction of acetylcholine esterase (AChE), Trichlorophon can be detected in a considerable low detection limit of 1 ng/mL. By using the as-fabricated device and chip, the detection time was only 5 min and each test costs less than ¥1. The platform will allow point-of-care testing (POCT) of OPs and other targets, which shows promise for healthy and environmental monitoring.

Keywords: electrochemical biosensor; screen printing electrode; portable; detection of organophosphorus pesticides the advantages of rapid; low-cost ideas

0 引言

由于农业和工业生产中农药的过度使用,农药残留已经成为人体健康和生态环境的重要威胁^[1-2]。政府已设置了各类农药的最大残留限量(MRL)标准^[3]。有机磷农药(OP)是使用最广的一类杀虫剂,它可以通过结合人体内的神经递质乙酰胆碱酯酶(AChE)^[4]并使其失活,从而破坏神经系统,危害身体健康。有机磷农药的降解半衰期通常是数周至数月,但研究表明,食物中的有机磷农药可以在某些情况下在动物、水果和蔬菜中长期积累。因此,即使是微量有机磷农药残留也会对人体健康造成严重

影响^[5]。

传统的有机磷农药残留检测,通常使用液相色谱仪和气象色谱仪^[6]等大型仪器,检测耗时长,检测成本高。目前常用的农药速测仪虽然可以定量检测农药残留水平,但是其操作流程复杂,非专业人员很难进行简单操作。因此,开发一种针对有机磷农药的集成化、自动化、满足现场快速检测(POCT)的检测装置,具有重要意义^[7-8]。电化学传感器的不断发展,为快速定量检测有机磷农药提供了新的方法。通过在电化学生物传感器上固定乙酰胆碱酯酶^[9-10],对于有机磷农药具有很强的检测特异性和灵敏度,同时它便于小型化、集成化和低成本,满足现场检测的

收稿日期:2016-11

需求。本文将介绍一种手持式有机磷农药快速检测系统,它由丝网印刷电极(SPE)芯片和手持检测仪两部分组成。

1 手持式农残检测仪的设计

手持式农残检测仪系统包括单片机系统、D/A 转换模块、恒电位电路模块、微弱电流检测模块以及蓝牙通信模块组成。系统结构如图 1 所示。

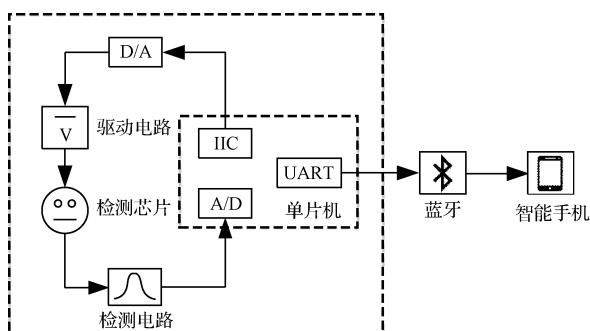


图 1 手持式农残检测仪系统结构

1.1 单片机系统

本系统选取的控制器为 Atmel 公司的 ATmega8 型号单片机,它是一款高性能、低功耗的 8 位 AVR 微处理器,具有 10 位 A/D 采样通道, I²C 通信接口、串行 UART 口以及 2 路 16 位定时器/计数器。它在系统中作为有机磷检测的控制器,控制 D/A 模块产生模拟的驱动信号,同时将微弱电流检测模块得到的电压信号采集到 ATmega8 中,在单片机内部通过计算得到相对应的检测结果,最后把结果通过蓝牙通信模块发送给智能手机,并在手机上进行结果显示。

1.2 D/A 转换模块

D/A 转换由数模转换芯片 DAC7571 完成。它通过 I²C 接口与 ATmega8 通信,接收到单片机的数字信号后,将其转换为模拟电压。DAC7571 的参考电压为 +5 V,因此它可以输出 0~+5 V 之间的模拟电压。

1.3 恒电位模块

恒电位模块的功能是保持工作电极与参考电极之间的电压稳定,因此恒电位模块的精度直接决定了电路的性能。文中选用 AD8609 作为恒电位模块的主要芯片,它包含 4 路低漂移轨至轨精密运算放大器,恒电位模块的电路如图 2 所示。

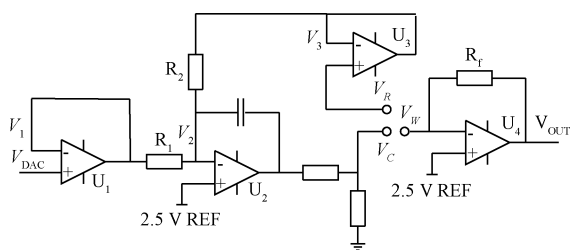


图 2 恒电位模块电路

恒电位模块的输出电压关系式为:

$$V_w - V_R = 2.5 - (2V_2 - V_1) = V_{DAC} - 2.5 \quad (1)$$

由式(1)可知,随着 V_{DAC} 在 0~+5 V 之间变化,工作电极和参考电极之间的电压在 -2.5~+2.5 V 之间变化。

1.4 微弱电流检测模块

手持式农残检测仪,通过运放 U_4 和跨阻 R_f 构成的放大电路将流经工作电极的电流转换成电压信号,同时将其放大,如图 3 所示。

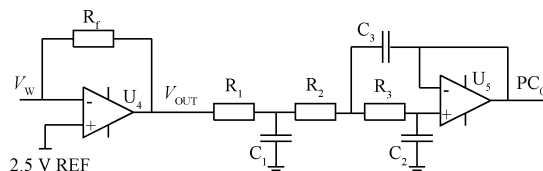


图 3 微弱电流检测电路

同时利用运放 U_5 构成 3 阶巴特沃兹滤波器,用于滤除 30 Hz 以上的信号,同时还可以减少偶数阶滤波器对于高频信号的泄露。

1.5 软件设计

手持式农残检测仪的单片机程序使用 C 语言在 ICC For AVR 平台上编译,通过 JTAG 接口下载到 ATmega8 中。用于接收蓝牙数据的手机 APP 使用 APP Inventor II 平台编写,如图 4 所示。

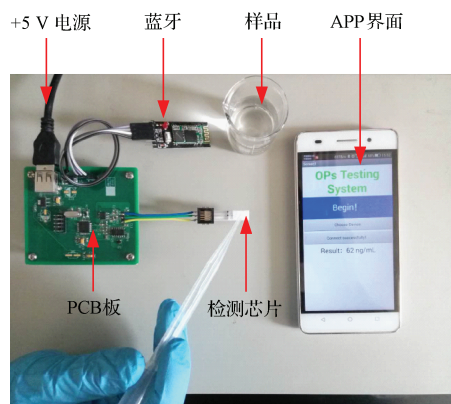


图 4 有机磷农药速测平台示意图

2 生物芯片的制作

2.1 丝网印刷电极的制作

选用 PVC(聚氯乙烯)作为基材制作丝网印刷电极,工作电极和对电极的材料为导电碳浆(昆山海斯电子有限公司),参比电极的材料为导电银浆(昆山海斯电子有限公司),进样通道是喷蜡打印机(日本富士施乐 Phaser 8560DN)在滤纸上打印并热烘后制得。

电化学生物传感器的结构如图 5(a)所示,包括丝网印刷电极、样品层、检测层。丝网印刷电极的结构如图 5(b)所示,首先在 PVC 表面采用丝网印刷的方式,印刷一层导电银层,提高印刷电极的导电性,印刷后在 130℃ 的环境下高温烘

烤 20 min。然后在工作电极和对电极的位置上,通过丝网印刷的方式印刷一层导电碳浆。

两个滤纸层是待测液流动和进行反应的区域。样品层上的通道由喷蜡打印机打印的图案组成,打印后在 130℃ 下热烘 30 s,印在滤纸表面的蜡材料融化渗入滤纸材料中,形成疏水围堰,待测液可在疏水围堰围成的亲水区域,依靠滤纸纤维材料的毛细作用向前流动。

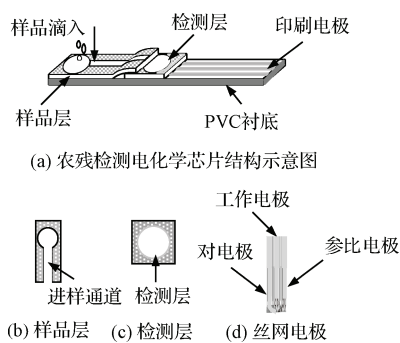


图 5 电化学生物传感器结构

2.2 生物酶的固定

将 0.5 mg 的碳纳米管(CNT)溶于 1 mL 去离子水,并采用超声分散法制得 0.5 mg/mL 悬浊液。取相同体积的悬浊液和乙酰胆碱酯酶溶液(浓度 5 mg/mL,溶解于 0.1 mol/L PBS 缓冲液中,PH=7)充分混合均匀。取 2 μ L 混合液滴加在工作电极表面,放入 4℃ 环境中保存。

2.3 有机磷农药检测实验

敌百虫(典型有机磷类农药)购自上海朝瑞生物技术有限公司。PBS(0.1 M, pH=7.2)在实验中作为缓冲液使用。所有溶液均用去离子水(18 M Ω /cm 阻值)配制。

敌百虫农药用 PBS 稀释成不同浓度,添加至农残检测芯片上,并等待 5 min,用以充分浸润反应区域并完成反应。以 50 mV/s 的速度进行循环伏安扫描,经过扫描,将实验电位确定在 -150 mV,在此电压下进行 80 s 的时间电流扫描,此时反应产生的电流能够达到稳定状态。

3 结果与讨论

如图 6 所示,CNT 修饰后的丝印电极的峰电流大于裸露的丝印电极,这意味着 CNT 可以有效提高电子传递效率。在固定了乙酰胆碱酯酶的丝印电极上,由于乙酰胆碱酯酶催化底物反应,还原峰(约 -0.15 V 处)明显增加,两个氧化峰减少成一个。

使用时间电流法对于敌百虫农药进行定量测试,如图 7 所示,测定 1~1 000 ng/mL,结果表明电化学芯片的有效性。

如图 8 所示,电化学芯片的线性响应区间为 1~1 000 ng/mL,检出下限为 1 ng/mL。考虑到检测时间只需 5 min,以及极低的检测成本,本检测平台的有效性得到了充分的验证。

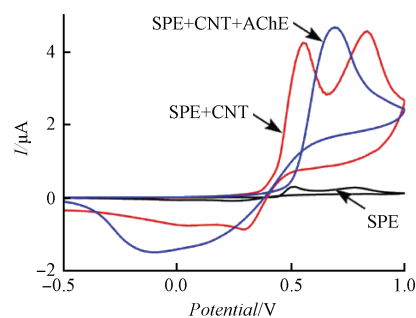


图 6 SPE, CNT 修饰 SPE, 酶+ CNT 修饰 SPE 在 CV 扫描下的响应

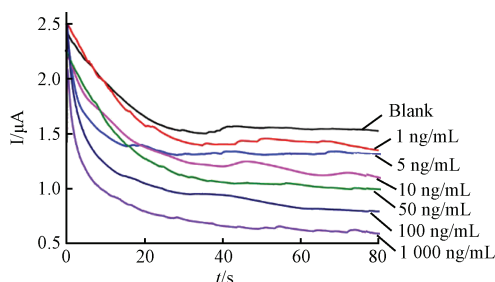


图 7 不同浓度敌百虫农药溶液(0, 1, 5, 10, 50, 100, 1 000 ng/mL)的时间电流响应

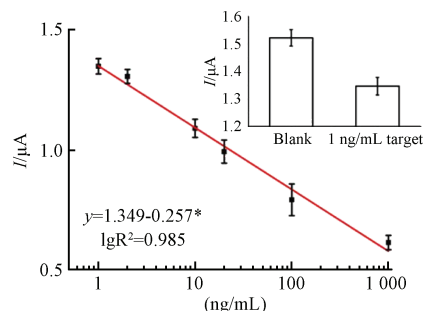


图 8 敌百虫农药浓度对电流的线性拟合曲线

4 结论

本文提出并验证了一种用于有机磷农药快速、定量、一步式检测的电化学生物芯片及系统,结果证明其可以在保证检测精度的前提下,实现低功耗和低成本测量有机磷农药,其响应电流值与有机磷农残浓度在 1~1 000 ng/mL 范围内呈对数线性关系。

参考文献

- [1] AKOTO O, ANDOH H, DARKO G, et al. Health risk assessment of pesticides residue in maize and cowpea from Ejura, Ghana[J]. Chemosphere, 2013, 92(1):67-73.
- [2] BRUZZONITI M C, CHECCHINI L, CARLO R M D, et al. QuEChERS sample preparation for the determination of pesticides and other organic residues in

- environmental matrices: a critical review[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2014, 406(17): 4089-116.
- [3] 王晓朋, 曾梅, 万德慧, 等. 化学发光生物传感器法测定食品中有机磷与氨基甲酸酯类农药残留[J]. *食品安全质量检测学报*, 2014(12):4163-4171.
- [4] LI X, ZHENG Z, LIU X, et al. Nanostructured photoelectrochemical biosensor for highly sensitive detection of organophosphorous pesticides[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2015, 64(2):1-5.
- [5] DARKO G, ACQUAAH S O. Levels of organochlorine pesticides residues in meat [J]. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2007, 4(4):521-524.
- [6] YU R, LIU Q, LIU J, et al. Concentrations of organophosphorus pesticides in fresh vegetables and related human health risk assessment in Changchun, Northeast China[J]. *Food Control*, 2016, 60(2): 353-360.
- [7] XU Y, TANG X, LI H, et al. Rapid detection of four organophosphorous and neonicotinoid toxicants using bi-enzyme tracer competitive enzyme-linked immunosorbent assay [J]. *Food Analytical Methods*, 2014, 7(6):1186-1194.
- [8] 康长安, 何娟, 杨柳, 等. 色谱、光谱及联用技术在多农药残留检测中的应用[J]. *环境监测管理与技术*, 2007, 19(4):9-14.
- [9] 张宁. 果蔬中有机磷农药残留快速检测方法研究[J]. *安徽农业科学*, 2005, 33(8):1471-1472.
- [10] 王丽红, 张林, 陈欢林. 有机磷农药酶生物传感器研究进展[J]. *化学进展*, 2006, 18(4):440-452.

作者简介

王继楠, 2014年于南京理工大学获得学士学位, 现为南京理工大学研究生, 主要研究方向为电化学生物传感器。

E-mail:eric.ti.wong@foxmail.com