

高灵敏西维因适配体传感器的制备

doi:10.3969/j.issn.1674-7100.2023.05.002

李 硕 黄 浩 胡长春
魏 丹 周 婕 邓 燕

湖南工业大学
生物医学纳米材料与器件
湖南省重点实验室
湖南 株洲 412007

摘 要: 针对农药的滥用与残留对人体和环境造成的严重危害, 亟需一种快速、灵敏的现场检测方法。采用特异性好的西维因核酸适配体和聚赖氨酸 (PLL) 修饰黑磷纳米片 (BPNSs) 构建适配体传感器, 并采用差分脉冲伏安法 (DPV) 评估适配体传感器的性能。结果显示, 其线性方程为: $\Delta I (\mu A) = 11.71 \lg C + 21.62$, 线性范围为 0.1 ng/mL~10 $\mu\text{g/mL}$, 线性相关系数 $R^2 = 0.998$, 检出限为 83.47 pg/mL。该适配体传感器具有重复性好、稳定性强及特异性高的优点。

关键词: 西维因; 核酸适配体; 黑磷纳米片; 适配体传感器

中图分类号: O657.1

文献标志码: A

文章编号: 1674-7100(2023)05-0008-07

引文格式: 李 硕, 黄 浩, 胡长春, 等. 高灵敏西维因适配体传感器的制备[J]. 包装学报, 2023, 15(5): 8-14.

1 研究背景

农药在农业发展中起着关键作用, 但过量或不合理使用农药导致的农药残留会污染土壤和水源, 进而通过食物链进入人体, 引起神经系统的疾病和癌症^[1]。农药残留对人体健康和环境安全危害巨大。因此, 需制定一套严格的农药使用标准以及相应的管理制度, 以保障人体健康和生态环境的安全^[2]。

西维因 (carbaryl, Cb) 是一种广谱的氨基甲酸酯类杀虫剂, 在农作物、树木和观赏植物的害虫防治中得到广泛应用^[3]。西维因具有较高的毒性^[4], 能抑制神经组织中的乙酰胆碱酯酶的活性, 导致乙酰胆碱累积和过量的胆碱刺激^[5], 进而引起生殖和发育毒性^[6], 包括神经发育紊乱和免疫系统的损害, 同时也会对动物早期生长发育造成不利影响^[7]。目前, 检测

西维因的方法有高效液相色谱法^[8] (high performance liquid chromatography, HPLC)、液相/气相色谱-质谱法^[9] (liquid/gas chromatography-mass spectrometry, L/GC-MS)、表面增强拉曼散射^[10] (surface-enhanced Raman scattering, SERS)、酶联免疫吸附测定^[11] (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)、电化学分析法、比色法和荧光法等。但 HPLC 等设备昂贵并且需要专业人员进行操作; ELISA 成本高, 操作复杂且抗体不易获取; 现阶段电化学分析法多以酶作为识别材料, 但酶易失活, 而且在不同批次之间存在一定的差异; 比色法和荧光法的灵敏度低。与抗体和酶相比, 适配体 (aptamer, Apt) 具有大的优势。适配体是一段经体外筛选得到的能够识别靶标的寡核苷酸序列或短的多肽, 其对相应的靶标具有高亲和力和强特异性结合^[12]。此外, 适配体还具有更

收稿日期: 2023-04-02

基金项目: 湖南省自然科学基金资助项目 (2022JJ30230)

作者简介: 李 硕 (1997-), 男, 湖南衡阳人, 湖南工业大学硕士生, 主要研究纳米材料电化学传感器,
E-mail: 2466716626@qq.com

通信作者: 邓 燕 (1971-), 女, 湖南武冈人, 湖南工业大学教授, 博士, 主要从事生物传感器与生物分析研究,
E-mail: hndengyan@126.com

高的热稳定性、制备方法简单、成本低、可重复性高、易于批量生产等优点^[13]。因此, 适配体已被用来构建生物传感器。

除此以外, 传感器的灵敏度与纳米材料密切相关。二维(2D)纳米材料因其独特的物理化学性质而引起了广泛关注。其中, 黑磷纳米片(black phosphorus nanosheets, BPNSs)作为一种新型的二维材料, 因良好的生物相容性、优良的各向异性导电性能、高载流子迁移率等特点^[14-15], 已经成为构建电化学传感器的先进材料。但是 BPNSs 不稳定, 容易在空气和水中发生降解^[16], 因此 BPNSs 的应用受到了很大的限制。高分子聚合物聚赖氨酸(poly-L-lysine, PLL)是一种具有良好生物相容性的阳离子聚合物。若将 PLL 与 BPNSs 联合使用形成复合物, 则可以增强 BPNSs 的稳定性。同时, 纳米金(AuNPs)可以增加电极表面 DNA 的固定化和信号放大, 提高修饰表面的杂交灵敏度检测能力^[17], 进而提高电化学传感器的灵敏度。

因此, 本研究旨在利用本课题组筛选的西维因适配体^[18]、PLL 修饰 BPNSs (PLL-BPNSs) 以及 AuNPs, 构建高灵敏度的适配体传感器。采用差分脉冲伏安法(differential pulse voltammetry, DPV)评估构建的西维因适配体传感器的性能, 并测定样品中西维因的含量。

2 材料与方法

2.1 材料和试剂

西维因, 购自北京坛墨质检科技有限公司; 巯基乙醇(mercaptoethanol, MCH), 购自东京化工株式会社; 多聚赖氨酸, 购自生工生物工程(上海)股份有限公司; 吐温-20(Tween-20), 购自生工生物工程(上海)股份有限公司; 纳米金胶体, 购自江苏先丰纳米材料科技有限公司; 黑磷粉体, 购自深圳六碳科技有限公司; 所需的核酸适配体序列西维因适配体[ATTGGCACTCCACGCATAGGGTTATGTTAATAAGATGAACCCACGTTCCAGATGGCATCGCCTATGCGTGCTACCGTGAA-SH]和硫代引物[GCACTCCTTAACACTGACTGGCT-SH]均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

2.2 仪器

透射电子显微镜(transmission electron microscopy, TEM), Tecnai G2 F20 型, 美国 FEI 公

司; 电化学工作站, PGST AT302N 型, 瑞士万通。电化学工作站采用传统的三电极体系, 饱和甘汞电极为参比电极, 铂丝电极为对比电极, 裸电极(GCE)或 Au/PLL-BPNSs/GCE(直径: 3.0 mm)作为工作电极。

2.3 BPNSs 和 PLL-BPNSs 复合物的制备

参照 Yang G. J. 等^[14]的方法, 在 10 mL 超纯水(含体积分数为 1% 的 Tween-20)中加入 5.0 mg BP 晶体, 冰水浴中超声处理 8 h, 将得到的棕色悬浮液以 3000 r/min 离心 30 min, 除去未剥离的沉淀并取出上清液。将氩气保护的上清液再以 8000 r/min 离心 30 min, 收集棕黄色上清液, 即得到所需的 BPNSs 分散液。将 BPNSs 分散液与质量浓度为 2 mg/mL 的 PLL 混合, 在摇床中晃动 2 h, 然后在 4 °C 下孵育 12 h, 将其低温避光保存, 以便用于后续的实验应用。

2.4 Apt/AuNPs/PLL-BPNSs/GCE 的制备

将制备的 PLL-BPNSs 悬浮液(3 μL)直接滴在抛光后的 GCE 上, 氩气保护下室温干燥 12 h, 得到 PLL-BPNSs/GCE。再将 3 μL 1 mmol/L 的 AuNPs 滴到 PLL-BPNSs/GCE 复合膜上, 在氩气保护下干燥, 得到 AuNPs/PLL-BPNSs/GCE。然后, 滴加 5 μL 已活化的的巯基引物溶液(1 μmol/L)在 AuNPs 膜上, 室温孵育 40 min。修饰好的电极室温放置一段时间后, 加入 5 μL 1 μmol/L 西维因适配体与引物反应 1 h, 用 PBS 缓冲液(10 mmol/L, pH 7.4)轻轻冲洗非特异性结合的西维因适配体, 得到 Apt/Primers/AuNPs/PLL-BPNSs/GCE; 将制备好的西维因适配体传感器置于电极盒低温储存。西维因适配体传感器构建图如图 1 所示。

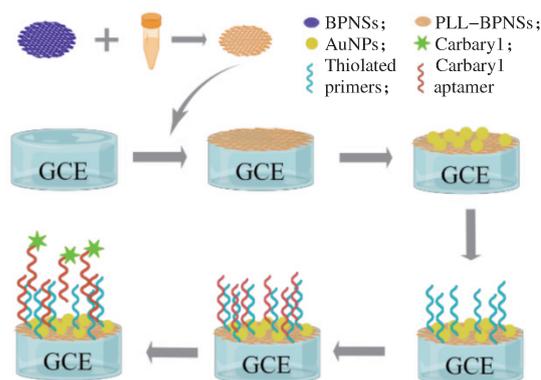


图 1 西维因适配体传感器流程构建图

Fig. 1 Flow chart of carbaryl aptamer sensor

2.5 西维因的电化学检测

在修饰后的适配体传感器表面滴注 5 μL 不同质量浓度的西维因溶液 (0.1 ng/mL~10 $\mu\text{g/mL}$), 室温孵育 60 min。待西维因适配体与溶液中西维因充分结合后, 用 PBS 缓冲液轻轻冲洗。再利用电化学阻抗谱 (electrochemical impedance spectroscopy, EIS) 对改性电极进行电化学表征。测试条件: 在 0.1~10⁵ Hz 的频率范围内, 在含有 0.5 mmol/L $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 和 0.1 mol/L KCl 的 10 mmol/L PBS 缓冲溶液中进行。采用 DPV 测定样品中西维因的浓度。DPV 参数为: 扫描范围 -0.2~-0.6 V, 振幅 0.05 V, 脉冲宽度 0.2 s, 脉冲时间 0.5 s。

3 结果与讨论

3.1 PLL-BPNSs 纳米复合材料的表征

利用 TEM 分析了聚赖氨酸修饰 BPNSs 的结构, 结果如图 2 所示。由图可知, 在低倍放大的 TEM 图像中, 制备的 BPNSs 表现出较薄的层状结构和光滑的表面形貌, 其平均片直径约为 600 nm。这说明液相超声剥离法制备的 BPNSs 具有少层的纳米片结构。

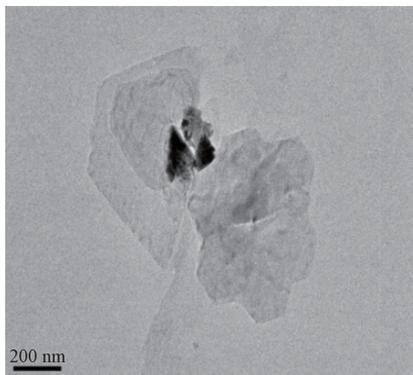
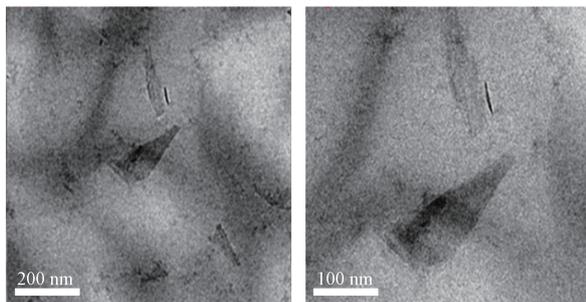


图 2 BPNSs 的 TEM 图

Fig. 2 TEM image of BPNSs



a) 200 nm b) 100 nm

图 3 聚赖氨酸包覆黑磷纳米片的 TEM 图

Fig. 3 TEM image of polylysine-coated black phosphorus nanosheets

图 3 为在低倍透射电子显微镜下 PLL-BPNSs 复合物的 TEM 图。由图可知, BPNSs 分散在聚赖氨酸中, 并被聚赖氨酸很好地包覆, 当 BPNSs 与聚赖氨酸反应时, 表面粗糙度显著增加; 少层 BPNSs 的外表面被完全覆盖, 导致形态学改变。

3.2 修饰电极的电化学表征

为了研究修饰电极的界面传输特性, 在含有 0.1 mol/L KCl 和 0.5 mmol/L $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 的 10 mmol/L PBS 缓冲液中对 GCE、PLL-BPNSs/GCE、AuNPs/PLL-BPNSs/GCE、Primer/AuNPs/PLL-BPNSs/GCE 和 Apt/Primer/AuNPs/PLL-BPNSs/GCE 进行 EIS 测试, 结果如图 4 所示。

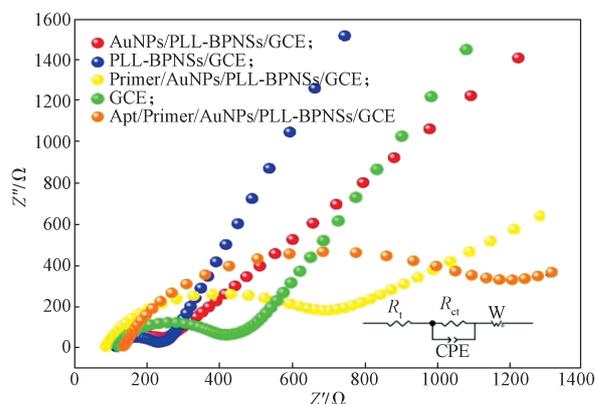


图 4 开路电位条件下 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 溶液中修饰电极的奈奎斯特图

Fig. 4 Nyquist diagram of modified electrodes in $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ solution at open-circuit potential

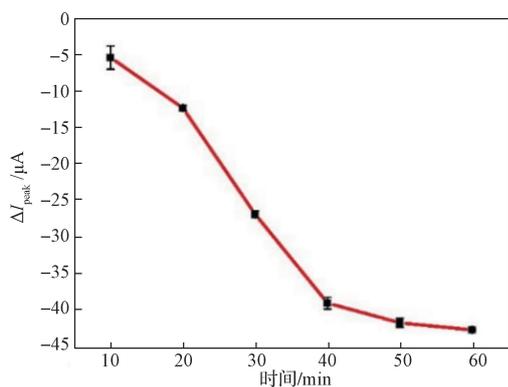
EIS 的奈奎斯特图中的半圆直径等于电子转移电阻 (R_{ct}) 的值。由图 4 可知, 裸 GCE 的阻抗值在 PLL-BPNSs 修饰之后降低, 这可以通过奈奎斯特曲线半圆直径的减小来反映。这是由于 BPNSs 优异的电导率增强电子转移速率, 导致电阻降低。再用 AuNPs 修饰后, 由于 AuNPs 比表面积大, 电子转移速率进一步加快。当西维因巯基引物通过 Au-S 键共价修饰到电极表面后, DNA 引物阻碍了电子传递, 电极表面的阻抗值显著增加。当 DNA 引物与西维因适配体杂交后, 奈奎斯特曲线的半圆直径进一步增加, 测得的阻抗最大。这是因为核酸适配体和引物的特异性结合形成的空间构象进一步增加了电极的空间位阻。由此表明, 西维因适配体传感器成功建立。

3.3 实验参数的优化

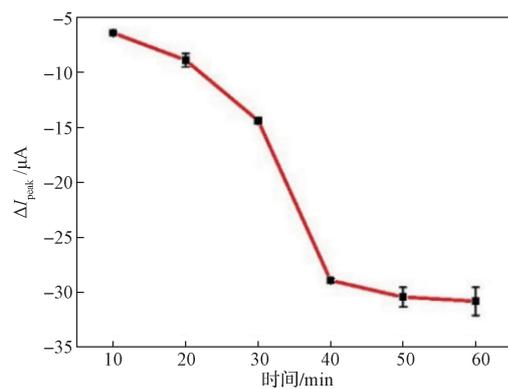
巯基引物起着连接适配体与电极表面的作用, 因此巯基引物在电极上的孵育时间也决定了适配体传

传感器的性能。在修饰电极 AuNPs/PLL-BP/GCE 上分别加入 5 μL 由 1 mmol/L TCEP 活化的 1 μL 巯基引物, 孵育 10~60 min, 然后在 $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 混合液体系中进行 DPV 检测, 结果如图 5a 所示。由图可知, 在去除空白信号电流后, 通过变化值可发现, 在 10~40 min 时, 电流峰值显著降低, 这是由于西维因巯基引物孵育时间增长, 更多的引物结合到电极表面, 导致 DNA 相对分子质量增加。在 40~60 min 时, 电流下降变缓慢, 由此可判断引物的负载量已接近饱和。这是由于巯基引物带负电荷, 互相产生排斥, 直到电极表面电荷趋向于稳定。综上所述, 巯基引物孵育时间选择 40 min 为宜。

适配体与引物通过氢键有效结合, 并通过碱基对之间的氢键富集在电极表面。为了缩短传感器的制备时间, 还应优化西维因适配体与巯基引物的结合时间。制备 Primer/AuNPs/PLL-BPNSSs/GCE 电极时, 表面需用 MCH 封闭液封闭 0.5 h, 以阻断电极表面剩余的活性位点, 防止其非特异性吸附。将 5 μL 1 $\mu\text{mol/L}$ 的西



a) 巯基引物孵育时间



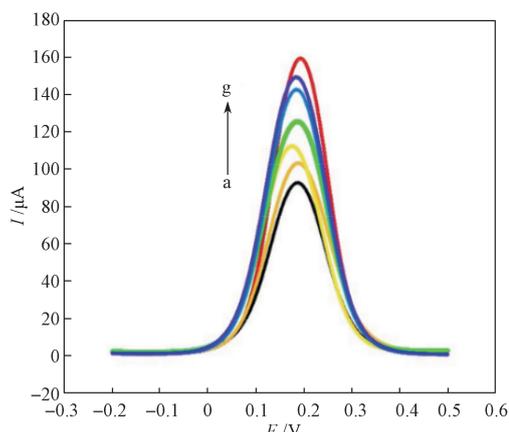
b) 适配体孵育时间

图 5 在 $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 混合液系统中的 DPV 响应曲线Fig. 5 DPV response curves in the $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ mixed liquid system

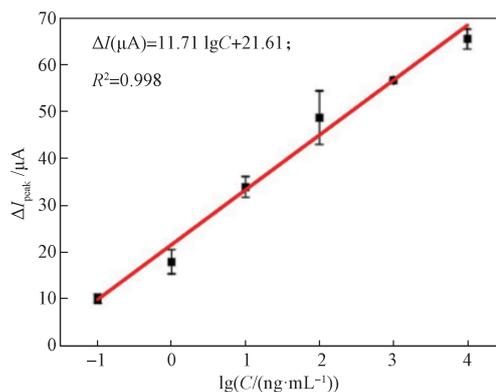
维因适配体滴在修饰后的电极表面, 分别孵育 10~60 min, 然后进行 DPV 检测, 结果如图 5b 所示。由图可知, 在 $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 混合溶液体系中, DPV 电流的峰值变化值随时间逐渐降低, 尤其是在 10~40 min 时, 电流峰值显著降低, 在孵育 40 min 后趋于稳定。西维因适配体已被电极表面上的巯基引物配对捕获并充分结合, 说明适配体基本负载完毕。所以, 西维因适配体最佳孵育时间为 40 min。

3.4 不同浓度西维因在 Apt/Primer/AuNPs/PLL-BPNSSs/GCE 上的响应

当电解质溶液中含有西维因农药时, 西维因适配体能够特异性识别并捕获溶液中的西维因, 使西维因适配体的形态和结构发生变化。西维因农药和西维因适配体结合使适配体脱落, 导致电极表面空间位阻变小, 检测系统的峰值电流增大。图 6 显示 Apt/Primer/AuNPs/PLL-BP/GCE 对不同浓度 (a~g 的质量浓度分别为: 0, 0.1, 1.0, 10.0, 100.0, 1000.0, 10 000.0 ng/mL) 西维因的电流响应情况。



a) DPV 图



b) 响应电流 - 浓度的线性关系

图 6 响应电流峰值与西维因浓度的关系

Fig. 6 Relationship between peak response current and carbaryl concentration

由图 6a 可知, 电流随着西维因浓度的增加而逐渐增大。其原因是随着西维因浓度的增加, 更多的西维因适配体与西维因特异性结合, 并与引物分离, 加速了传感器上的电子转移。因此, 西维因适配体传感器的 DPV 电信号响应值的变化, 能反映出电极表面的西维因适配体结合西维因后游离到溶液中的状态变化。

由图 6b 可知, 西维因农药质量浓度在 0.1~10 000.0 ng/mL 范围内, DPV 响应电流峰值变化与西维因浓度线性关系呈正相关, 其线性拟合方程为:

$$\Delta I(\mu A)=11.71 \lg C+21.62。$$

线性相关系数 $R^2=0.998$, 通过 ($S/N=3$) 得出其检测限为 83.47 pg/mL。

3.5 重复性、稳定性和特异性

在上述最佳条件下, 制备 6 支西维因巯基引物等修饰玻碳电极的传感器, 构建三电极检测系统, 在 5 μ L 1 μ mol/L 西维因适配体孵育后, 最后在 $K_3[Fe(CN)_6]$ 混合电解池中进行 DPV 检测, 其相对标准偏差约为 1.8%, 重复性已满足使用标准 (图 7)。

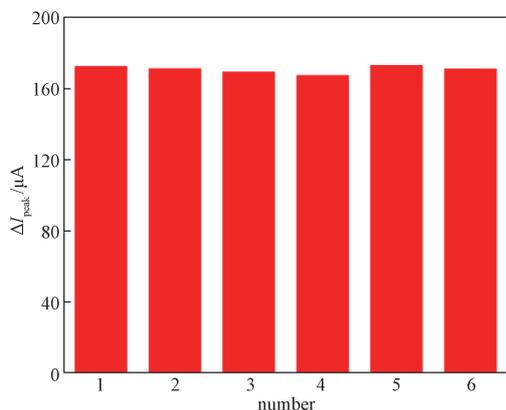


图 7 适配体传感器的重复性

Fig. 7 Repeatability of aptamer sensors

为了评价适配体传感器的稳定性, 将西维因适配体传感器置于 4 $^{\circ}$ C 环境下保存, 并在 0, 7, 14 d 分别对 DPV 峰值电流变化进行检测, 结果如图 8 所示。由图 8 可知, 7 d 后 DPV 峰值电流相较于初始值没有明显变化; 14 d 后, 相应的 DPV 峰值电流约为初始值的 77.15%, 适配体传感器的电流信号基本稳定, 这说明该适配体传感器的稳定性达到使用要求。

传感器的特异性也很重要, 为了测试西维因适配体传感器对西维因农药是否具有专一的识别能力, 需要对其进行其它农药干扰物的特异性实验。实验

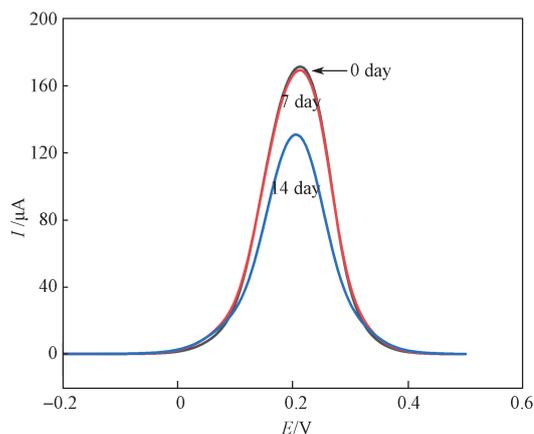


图 8 适配体传感器稳定性

Fig. 8 Stability of aptamer sensors

中, 空白组为无西维因 PBS 缓冲液的传感器, 实验组为 10 ng/mL 的异丙威 (isoproc carb, Ic)、仲丁灵 (butralin, Bt)、噻虫嗪 (thiamethoxam, Tt)、百菌清 (chlorothalonil, Ct) 及西维因 (Cb) 和含有西维因的混合液 (Mix)。在特异性的研究中, 适配体传感器与上面列出的 4 种农药、目标测定物 (Cb) 和混合物 (Mix) 一起孵育, 在 $K_3[Fe(CN)_6]$ 混合电解池中检测各农药的 DPV 峰值 (见图 9), 并与空白组对照差异来评估适配体传感器的特异性。由图 9 可知, 含有西维因溶液和含西维因的农药组合的实验组, 其 DPV 峰的强度比其他农药高一倍以上, 说明该传感器对西维因具有较强的选择特异性。

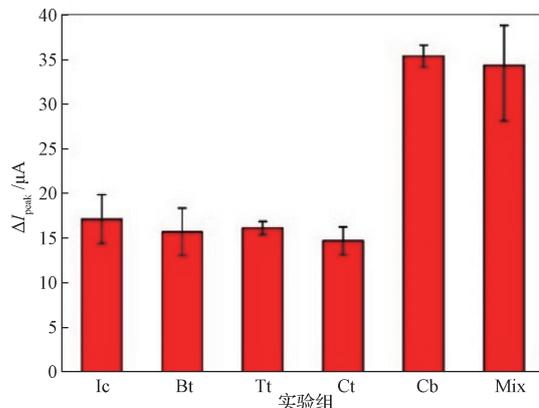


图 9 适配体传感器在不同农药中 DPV 电流响应

Fig. 9 DPV current response of the aptamer sensor in different pesticides

3.6 实际样本分析

为了验证传感器在实际样本检测中的效果, 采用标准加入法检测了株洲神龙湖水体样本, 结果如表 1 所示。由表可知, 西维因样本的质量浓度分别

为 0.1, 1.0, 10 000.0 ng/mL, 回收率分别为 121.90%、90.22% 和 81.83%, 相对标准偏差 (RSD) 分别为 10.12%、1.73% 和 1.84% ($n=3$), 表明该传感器可以用于西维因农药的检测。

表 2 为本研究制备的适配体传感器与已报道的西维因检测传感器的性能对比。由表可知, 与其它检测西维因农药的传感器相比, 本研究基于功能化黑磷纳米片和核酸适配体所构建的传感器, 对西维因有更宽

的线性检测范围, 检出限低几个数量级。

表 1 检测河水样本中的 Cb

Table 1 Detection of Cb in river water samples

样品	初始质量浓度 / (ng·mL ⁻¹)	检测质量浓度 / (ng·mL ⁻¹)	回收率 / %	相对标准偏差 / % ($n=3$)
	0.1	0.1219	121.90%	10.12%
河水	1.0	0.9022	90.22%	1.73%
	10000.0	8182.7600	81.83%	1.84%

表 2 与西维因已有的检测方法对比

Table 2 A comparison of the proposed method with other reported methods for carbaryl detection

检测方法	线性范围	检出限	样品	参考文献
比色法	0.01~0.25 ng/mL	0.008 ng/mL	水	[19]
PPy-IC-DS1- AuNP-AChE 生物传感器	0.05~0.25 ng/mL	0.033 ng/mL	自来水	[20]
HFF-QCM 免疫传感器	16~206 µg/kg	0.05 µg/L	蜂蜜	[21]
CdTe QDs 荧光传感器	0.05~14.00 µg/mL	1.2×10^{-4} µg/mL	苹果	[22]
PLL-BPNSs-Apt 传感器	0.1 ng/mL~10.0 µg/mL	83.47 pg/mL	水	本文

4 结论

本文构建了 PLL 修饰 BPNSs 的西维因适配体传感器。PLL 通过非共价相互作用使 BPNSs 表面功能化, AuNPs 通过自组装结合到 PLL-BPNSs 上得到 AuNPs/PLL-BPNSs。组装的 AuNPs/PLL-BPNSs 基质对于促进电子转移和结合硫代引物非常有效。使用特定的 DNA 适配体可以靶向并结合西维因, 同时, 适配体与引物间的氢键使得西维因核酸适配体富集在电极表面。除此以外, 高亲和力适配体与纳米材料结构的协同作用使得该传感器展现出高度的选择性和灵敏度。研究结果显示, 该传感器线性范围为 0.1 ng/mL~10 µg/mL, 检出限低至 83.47 pg/mL。该传感器具有可靠的重复性、良好的稳定性和专一的特异性, 并可应用于实际样本的检测。

参考文献:

- [1] YANG J, CHEN S W, ZHANG B W, et al. Non-Biological Fluorescent Chemosensors for Pesticides Detection[J]. *Talanta*, 2022, 240: 123200.
- [2] GORI M, THAKUR A, SHARMA A, et al. Organic-Molecule-Based Fluorescent Chemosensor for Nerve Agents and Organophosphorus Pesticides[J]. *Topics in Current Chemistry*, 2021, 379(5): 33.
- [3] BYRD J D Jr, YORK A C. Interactions of Carbaryl and Dimethoate with Sethoxydim[J]. *Weed Technology*, 1988, 2(4): 433-436.
- [4] DERBALAH A, CHIDYA R, KAONGA C, et al. Carbaryl Residue Concentrations, Degradation, and Major Sinks in the Seto Inland Sea, Japan[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, 27(13): 14668-14678.
- [5] BEAUVAIS S L, JONES S B, PARRIS J T, et al. Cholinergic and Behavioral Neurotoxicity of Carbaryl and Cadmium to Larval Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*)[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2001, 49(1): 84-90.
- [6] LIN C C, HUI M N Y, CHENG S H. Toxicity and Cardiac Effects of Carbaryl in Early Developing Zebrafish (*Danio Rerio*) Embryos[J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2007, 222(2): 159-168.
- [7] ÇAKI Cİ Ö. Histopathological Study of Toxic Effects of Carbaryl on Digestive Tract of *Bufotes Variabilis* (Anura: Bufonidae)[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23(13): 13432-13437.
- [8] ABDULLAH ALFARIS N, ZAIDAN ALTAMIMI J, ALOTHMAN Z A, et al. Development of a Sensitive Liquid-Liquid Extraction and Ultra-Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Method for the Analysis of Carbaryl Residues in Fresh Vegetables Sold in Riyadh[J]. *Journal of King Saud University-Science*, 2020, 32(4): 2414-2418.
- [9] HABIL A M A, ALHENAKI B, EL-MARGHANY A, et al. Metal Organic Framework-Based Dispersive Solid-Phase Microextraction of Carbaryl from Food and Water Prior to Detection by Ultra-Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry[J].

- Separations, 2022, 9(2): 32.
- [10] CHESHARI E C, REN X H, LI X. Core-Shell Magnetic Ag-Molecularly Imprinted Composite for Surface Enhanced Raman Scattering Detection of Carbaryl[J]. Journal of Environmental Science and Health Part B, Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes, 2021, 56(3): 222-234.
- [11] SUN J W, ZHANG Y, WANG S. Development of Chemiluminescence Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Screening of Metolcarb and Carbaryl in Orange Juice, Cabbage and Cucumber[J]. Food Additives & Contaminants: Part A, 2010, 27(3): 338-346.
- [12] MOU Q B, XUE X Y, MA Y, et al. Efficient Delivery of a DNA Aptamer-Based Biosensor into Plant Cells for Glucose Sensing Through Thiol-Mediated Uptake[J]. Science Advances, 2022, 8(26). DOI: 10.1126/sciadv.abo0902.
- [13] CHEN Z L, XIE M J, ZHAO F G, et al. Application of Nanomaterial Modified Aptamer-Based Electrochemical Sensor in Detection of Heavy Metal Ions[J]. Foods, 2022, 11(10): 1404.
- [14] YANG G J, HUANG H, XIAO Z Q, et al. A Novel Strategy for Liquid Exfoliation of Ultrathin Black Phosphorus Nanosheets[J]. Journal of Biomedical Nanotechnology, 2020, 16(4): 548-552.
- [15] ESWARAI AH V, ZENG Q S, LONG Y, et al. Black Phosphorus Nanosheets: Synthesis, Characterization and Applications[J]. Small, 2016, 12(26): 3480-3502.
- [16] WU S, HE F, XIE G X, et al. Black Phosphorus: Degradation Favors Lubrication[J]. Nano Letters, 2018, 18(9): 5618-5627.
- [17] COUTINHO C, SOMOZA Á. MicroRNA Sensors Based on Gold Nanoparticles[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2019, 411(9): 1807-1824.
- [18] LIU Y, YANG G J, LI T T, et al. Selection of a DNA Aptamer for the Development of Fluorescent Aptasensor for Carbaryl Detection[J]. Chinese Chemical Letters, 2021, 32(6): 1957-1962.
- [19] PENG L, ZHU J, YANG B, et al. A Green Photocatalytic-Biosensor for Colorimetric Detection of Pesticide (Carbaryl) Based on Inhibition of Acetylcholinesterase[J]. Talanta, 2022, 246: 123525.
- [20] LOGUERCIO LARA F, ANDERSON T, PEDRO D, et al. Efficient Acetylcholinesterase Immobilization for Improved Electrochemical Performance in Polypyrrole Nanocomposite-Based Biosensors for Carbaryl Pesticide[J]. Sensors and Actuators: B Chemical, 2021, 339. DOI: 10.1016/J.SNB.2021.129875.
- [21] CERVERA-CHINER L, MARCH C, ARNAU A, et al. Detection of DDT and Carbaryl Pesticides in Honey by Means of Immunosensors Based on High Fundamental Frequency Quartz Crystal Microbalance (HFF-QCM)[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2020, 100(6): 2468-2472.
- [22] SHAHDOST-FARD F, FAHIMI-KASHANI N, HORMOZI-NEZHAD M R. A Ratiometric Fluorescence Nanoprobe Using CdTe QDs for Fast Detection of Carbaryl Insecticide in Apple[J]. Talanta, 2021, 221: 121467.

(责任编辑:李玉华)

Preparation of Novel Carbaryl Aptamer Sensors

LI Shuo, HUANG Hao, HU Changchun, WEI Dan, ZHOU Jie, DENG Yan

(Hunan Key Laboratory of Biomedical Nanomaterials and Devices, Hunan University of Technology, Zhuzhou Hunan 412007, China)

Abstract: A rapid and sensitive on-site detection method is urgently needed to address the serious harm caused by pesticide abuse and residues to human body and environment. The aptamer sensors were constructed using specific carbaryl nucleic acid aptamers and polylysine (PLL) modified black phosphorus nanosheets (BPNSs), while the performance of the sensors was evaluated using differential pulse voltammetry (DPV). The results showed the linear equation as $\Delta I (\mu A) = 11.71 \lg C + 21.62$, linear range 0.1 ng/mL~10 μ g/mL, the linear correlation coefficient $R^2=0.998$, and the detection limit being 83.47 pg/mL. The sensor has the advantages of good repeatability, stability and specificity.

Keywords: carbaryl; aptamer; black phosphorus nanosheets; aptamer sensor