

分类号: TS207.7
密 级:

单位代码: 10433
学 号: 19403010081

山东理工大学

硕士学位论文

基于电化学免疫传感器菊酯类农药检测方法
及快速检测仪的研究

**Research of Detection Method and Rapid Detector for
Pyrethroid Pesticide Based on Electrochemical Immunosensor**

研 究 生: 项耀东

指 导 教 师: 郭业民 教授

申请学位门类级别: 工学硕士

学 科 专 业 名 称: 食品科学与工程

研 究 方 向: 食品质量与安全控制

论 文 完 成 日 期: 2022年03月15日

独创性声明

本人声明所呈交的论文是我个人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。尽我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得山东理工大学或其它教育机构的学位或证书而使用过的材料。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示了谢意。

研究生签名：项耀东、 时间：2022年6月7日

关于论文使用授权的说明

本人完全了解山东理工大学有关保留、使用学位论文的规定，即：学校有权保留送交论文的复印件和磁盘，允许论文被查阅和借阅；学校可以用不同方式在不同媒体上发表、传播学位论文的全部或部分内容，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编学位论文。

(保密的学位论文在解密后应遵守此协议)

研究生签名：项耀东、 时间：2022年6月7日
导师签名：刘世民 时间：2022年6月7日

摘要

蔬菜产业是农业乃至国民经济的重要组成部分,蔬菜质量安全事关人民群众生命健康。农药残留超标问题是影响蔬菜安全的重要隐患。蔬菜上市周期短,农药残留快速检测是保障蔬菜安全的有效手段,对有效保障人民健康和推动蔬菜产业发展具有重要意义。拟除虫菊酯类农药(Pyrethroids, PYRs)是一类高效、快速的杀虫剂。它们的广泛使用很容易导致其农药残留,在人体内引起震颤综合征和过敏反应。

本文以PYRs作为目标物质,以能够高效识别常用PYRs的拟除虫菊酯类农药广谱性抗体(Antibodies, Abs)作为核心识别元件,构建了1种电化学免疫传感检测方法,1种单路恒电位仪的检测核心设备,和1种基于阵列电极的四路便携式快速检测仪。实现了PYRs的快速检测,并应用于蔬菜中菊酯农药的实际样本的快速检测,检测时间在20 s,其RSD在5.33~8.31%,回收率在97.30%~102.80%,具备良好的检测性能。主要研究内容如下:

(1)为实现实验室条件下PYRs的快速初筛检测,构建可应用于便携式检测仪的PYRs传感器,本研究采用一步湿化学法构建了一种新型的广谱抗体金标探针标记的电化学免疫传感器,用于蔬菜中甲氰菊酯和溴氰菊酯的快速检测。首先Abs-AuNPs@ZIF-67金标探针由PYRs抗体和信号放大元件耦合而成,然后将Abs-AuNPs@ZIF-67探针固定在还原氧化石墨烯修饰的玻碳电极表面以制备电化学免疫传感器。该方法增强了金标抗体在电极表面的均匀分散效果,提高了广谱抗体的固定化水平。在最佳实验条件下,甲氰菊酯和溴氰菊酯浓度与电化学信号表现出了良好的相关性,线性相关系数分别为0.9941和0.9874。甲氰菊酯和溴氰菊酯的检测范围分别为 $0.286\sim 2.864\times 10^5$ nM和 $1.979\sim 1.979\times 10^5$ nM。甲氰菊酯和溴氰菊酯的检测限分别为0.0258 nM和1.712 nM。在加标样品回收实验中,电化学免疫传感器显示出较高的回收率(93.69%~102.11%)。本研究所构建的电化学免疫传感器具有较高的选择性和稳定性。这项工作制备了一种新型金标抗体探针用于快速检测蔬菜中拟除虫检测菊酯农药,并为用于检测其他农药和小分子靶标的电化学免疫传感器的构建提供了参考思路。

(2)为实现更加快速、灵敏的微量检测,本研究制备了基于三电极系统的便携式单路恒电位仪作为农药残留便携式快速检测仪的核心。该恒电位仪具备完整的三电极循环伏安电化学分析系统,采用高精密运放芯片搭建,并展现出了良好的性能。其工作电流范围在10.0~800.0 μ A时,本设计研发的基于三电极系统的便携式单路恒电位仪的平均相对误差较低,精度较高。七次循环稳定性测试显示,氧化峰的相对标准偏差(Relative Standard Deviation, RSD)为0.395,还原峰RSD为0.311,稳定性较好。各个区间的平均电流分辨率为0.01920(0.01~10.0 μ A)和0.01751(10.0~800.0 μ A),具备良好的电流分辨率。在不同铁氰化钾底液离子浓度与单路恒电位仪的CV响应峰值之间表现出了

良好的一阶线性关系。滤波前后数据方差进行对比，方差从 RC 滤波前的 40.6597 mV^2 降到了 13.4722 mV^2 ，标准差从 6.376 mV 降到了 3.670 mV ，展现出了良好的滤波效果。由此本研究设计的基于三电极系统的便携式单路恒电位仪具备良好的工作性能，可进一步用于农药残留快速检测设备的二次开发。

(3) 基于前两章所述电化学免疫传感器和单路恒电位仪的研究，本项目进一步研发出基于阵列电极的四路便携式检测仪，以应用于农药残留便携式快速检测。该恒电位仪具备四路三电极循环伏安电化学分析系统，采用高精度运放 LM4562 芯片搭建，并展现出了良好的性能。本设计研发的基于阵列电极的四路便携式检测仪的实际检测功能参数的平均相对误差较低且精度较高。在 6 个增益的可用区间内实际测量拟合方程 R^2 最低为 0.99302 结果表明该仪器具备良好的基线精度。稳定性测试显示，实际测定值与理论值间的线性关系相关系数 R^2 为 0.99552，测试表明其稳定性较好。滤波前后数据方差进行对比，方差从 RC 滤波前的 33.7329 mV^2 降到了 6.7296 mV^2 ，标准差从 5.808 mV 降到了 2.593 mV ，结果表明本研究设计的低通 RC 滤波使得噪声得到了有效的降低，具备良好的工作性能，可进一步应用于菊酯类农药残留快速检测。该设备基线精度较高、稳定性较强、滤波特性良好、操作简单，符合现场快速检测的要求。且具备样品消耗量小的特点，还具备电极微型化、电极间差异小、功能集成化程度高、节约时间和试剂成本等独特优势，具有可应用于菊酯类农药现场快速检测的优势。

关键词：拟除虫菊酯类农药；电化学免疫传感器；恒电位仪；快速检测方法；便携式快速检测仪

Abstract

Vegetable industry is an important part of agriculture and even national economy, and the quality and safety of vegetables are related to people's life and health. Excessive pesticide residue is an important hidden danger of vegetable safety. The marketing cycle of vegetables is short, and rapid detection of pesticide residues is an effective means to ensure the safety of vegetables, which is of great significance to effectively protect people's health and promote the development of vegetable industry. Pyrethroids (PYRs) are efficient and rapid insecticides. Their widespread use can easily lead to pesticide residues, causing tremor syndrome and allergic reactions in the human body.

In this study, the core recognition element was pyrethroid pesticide broad-spectrum antibody (Abs), which was capable of efficiently recognizing the common PYRs. This novel electrochemical immunosensor detection method was used to detect PYRs and detect potential antibodies in single channel potentiostat. And a four-way portable fast detector based on array electrodes was developed. The rapid detection of PYRs was realized, and it was applied to the rapid detection of insecticide in vegetables. The detection time was 20 s, the RSD was 5.33~8.31%, and the recovery was 97.30 - 102.80%. It had a good detection performance. The main research contents are as follows:

(1) In order to achieve rapid preliminary screening detection of PYRs under laboratory conditions and build PYRs sensor that could be applied to portable detector, a novel broad-spectrum antibody gold probe labeled electrochemical immunosensor was constructed in this study by one-step wet chemistry method, which was used for rapid detection of fenpropathrin and deltamethrin in vegetables. First, Abs-AuNPs@ZIF-67 gold probe was coupled with PYRs antibody and signal amplification element, then Abs-AuNPs@ZIF-67 probe was fixed on the surface of rGO modified glassy carbon electrode to prepare an electrochemical immunosensor. The method enhanced the uniform dispersion effect of gold standard antibody on the electrode surface and improved the immobilization level of broad-spectrum antibody. Under the optimal experimental conditions, the concentrations of fenpropathrin and deltamethrin showed good correlations with electrochemical signals, and linear correlation coefficients were 0.9941 and 0.9874, respectively. The detection ranges of fenpropathrin and deltamethrin were 0.286 - 2.864 $\times 10^5$ nM and 1.979 - 1.979 $\times 10^5$ nM, respectively. The detection limits of fenpropathrin and deltamethrin were 0.0258 nM and 1.712 nM, respectively. The electrochemical immunosensor showed a high recovery rate (93.69% - 102.11%) in the spiked sample

recovery experiment. The electrochemical immunosensor constructed in this study had high selectivity and stability. In this work, a novel gold-labeled antibody probe was prepared for rapid detection of pyrethrin in vegetables, and provided a reference idea for the construction of electrochemical immunosensors for detection of other pesticides and small molecular targets.

(2) In order to achieve more rapid and sensitive trace detection, a portable single-path potentiostat based on a three-electrode system was prepared in this study as the core of the portable rapid detector for pesticide residue. The potentiostat had a complete three-electrode cyclic voltammetry electrochemical analysis system, which was built by a high precision operational amplifier chip, and showed good performance. When the working current range was 10.0 - 800.0 μA , the portable single-channel potentiostat based on the three-electrode system developed in this design had low average relative error and high accuracy. The seven cycles of stability test showed that the relative standard deviation (RSD) of the oxidation peak was 0.395, and the RSD of the reduction peak was 0.311, indicating that the system had good stability. The average current resolution of each interval was 0.01920 (0.01 - 10.0 μA) and 0.01751 (10.0 - 800.0 μA), which had good current resolution. There was a good first-order linear relationship between different ionic concentration of potassium ferricyanide bottom solution and CV response peak of single channel potentiostat. The comparison of data variance before and after filtering showed that the variance decreased from 40.6597 mV^2 before RC filtering to 13.4722 mV^2 , and the standard deviation decreased from 6.376 mV to 3.670 mV, showing a good filtering effect. Therefore, the portable single-channel potentiostat based on the three-electrode system designed in this study had good working performance and could be further used in the secondary development of rapid detection equipment for pesticide residues.

(3) Based on the research of electrochemical immunosensor and single-channel potentiostat mentioned in the previous two chapters, this project further developed a four-channel portable detector based on array electrodes, which could be applied to portable rapid detection for pesticide residue. The potentiostat had four channels with the three-electrodes cyclic voltammetry electrochemical analysis system, which was built with high-precision operational amplifier LM4562 chip, and showed good performance. The average relative error of the actual functional parameters of the four-way portable detector based on the array electrodes was low and the accuracy was high. The actual measurement fitting equation R^2 in the available interval of the six gains was 0.99302 at the lowest, indicating that the instrument had good baseline accuracy. The stability test showed that

the correlation coefficient R^2 between the actual measured value and the theoretical value was 0.99552, and the test showed that the stability was good. The comparison of data variance before and after filtering showed that the variance decreased from 33.7329 mv^2 before RC filtering to 6.7296 mv^2 , and the standard deviation decreased from 5.808 mV to 2.593 mV. The results showed that the low-pass RC filtering designed in this study effectively reduced noise and had good working performance. It could be further used for rapid determination of pyrethroid pesticide residues. The equipment had a high baseline accuracy, a strong stability, good filtering characteristics, a simple operation, and met the requirements of rapid detection on site. Moreover, it has the characteristics of small sample consumption, miniaturization of electrodes, a little difference between electrodes, high functional integration, saving time and reagent cost and other unique advantages, which can be used for rapid on-site detection of pyrethroid pesticides.

Keywords: Pyrethroid pesticides; Electrochemical immunosensor; Potentiostat; Rapid detection method; Portable rapid detector

目 录

摘 要.....	I
ABSTRACT	III
目 录.....	VI
第一章 绪论.....	1
1.1 研究背景及意义	1
1.2 国内外研究现状	1
1.2.1 主要快速检测方法	2
1.2.2 基于电化学的快速检测设备	3
1.3 研究目的与主要内容	4
1.3.1 研究目的	4
1.3.2 主要内容	4
第二章 基于金标抗体探针的电化学免疫传感器的构建.....	6
2.1 引言	6
2.2 材料与方法	7
2.2.1 主要仪器及耗材	7
2.2.2 主要试剂	7
2.3 实验方法	8
2.3.1 还原氧化石墨烯的制备方法	8
2.3.2 Abs-AuNPs@ZIF-67 探针的制备方法	8
2.3.3 电化学免疫传感器的制备方法	9
2.3.4 电化学检测方法	9
2.3.5 样品预处理	10
2.4 结果与讨论	10
2.4.1 Abs-AuNPs@ZIF-67/rGO/GCE 的表征	10
2.4.2 免疫传感器条件的优化	14
2.4.3 PYRs 的电化学免疫检测	15
2.4.4 电化学免疫传感器的性能测试	17
2.4.5 PYRs 的实际样品检测	18
2.5 本章小结	19
第三章 基于三电极系统的便携式单路恒电位仪的开发.....	20
3.1 引言	20
3.2 恒电位仪的检测原理	20
3.3 便携式电化学检测恒电位仪总体方案	21
3.3.1 三电极系统的设计	22
3.3.2 电解池的等效电路	23
3.3.3 重要器件选型与设计	24
3.3.4 滤波降噪设计	26
3.3.5 印制电路板的设计	27
3.3.6 检测系统嵌入式软件设计	28

3.3.7 恒电位仪仿真测试	29
3.4 系统调试及性能测试	30
3.4.1 基于三电极系统的便携式单路恒电位仪的装配	30
3.4.2 恒电位仪精度测试	32
3.4.3 恒电位仪稳定性测试	33
3.4.4 恒电位仪分辨率测试	34
3.4.5 底液离子浓度线性度测试	35
3.4.6 恒电位仪滤波降噪测试	37
3.5 本章小结	37
第四章 基于阵列电极的四路便携式检测仪的开发	38
4.1 引言	38
4.2 阵列电极的检测原理	38
4.3 便携式检测仪总体方案	39
4.3.1 阵列传感芯片的制备	39
4.3.2 传感器的制备	41
4.3.3 三电极系统的设计	41
4.3.4 重要器件选型与设计	43
4.3.5 印制电路板的设计	43
4.3.6 检测系统嵌入式软件设计	44
4.3.7 检测仪仿真测试	45
4.4 系统调试及性能测试	46
4.4.1 基于阵列电极的四路便携式检测仪的装配	47
4.4.2 检测仪基线精度校准测试	48
4.4.3 检测仪稳定性测试	50
4.4.4 检测仪滤波测试	51
4.4.5 检测仪实际样本测试	52
4.5 本章小结	53
第五章 结论与展望	54
5.1 结论	54
5.2 展望	55
参考文献	56
攻读学位期间公开发表的论文	61
攻读学位期间参与的科研项目	62
致谢	63

第一章 绪论

1.1 研究背景及意义

我国是蔬菜生产和消费大国，农药残留超标已成为我国蔬菜质量安全重大隐患。蔬菜产业是农业乃至国民经济的重要组成部分，蔬菜质量安全事关人民群众生命健康。农药残留超标问题是影响蔬菜安全的重要隐患。蔬菜上市周期短，农药残留快速检测是保障蔬菜安全的有效手段，对有效保障人民健康和推动蔬菜产业发展具有重要意义。拟除虫菊酯类农药（Pyrethroids, PYRs）是一类高效、快速的农药杀虫剂^[1]。它们的广泛使用很容易导致其农药残留，易对人类尤其是儿童和婴儿造成神经损伤^[2]。拟除虫菊酯同其它类别的农药相比，活性更高，药效迅速，其残留可在环境中存在几个月之久^[3]，是国内外应用广泛农药杀虫剂之一^[4]，是国家农业农村部农药抽检必检项目之一^[5]。拟除虫菊酯现已成为替代高毒农药的主流品种，其中甲氰菊酯和溴氰菊酯的使用量相对较高^[6]。因此，迫切需要开发一种经济可靠、适合现场应用的检测方法和设备以适用于该农药的现场检测。免疫传感器、酶传感器、适配体传感器等新型检测技术，因其便携、快速、准确、高效等特点，在实际应用中表现出了比较好的检测效果，受到了部分科研人员的广泛关注^[7-13]。同时，由于PYRs种类较多，基于单一靶标识别的普通快速检测方法逐渐难以满足日益增长的检测需求，开发稳定性好、灵敏度高的PYRs残留快速检测方法与相配套的便携式检测设备已成为当务之急。

目前农药残留检测主要是仪器分析测试方法，该方法有较高的灵敏度和稳定性，但设备昂贵、前处理繁琐。常用快速检测方法有酶抑制法和酶联免疫分析法，但仍存在以下问题：酶抑制法中酶易于失活不易保存，检测的准确度不高；酶联免疫法制备相应的PYRs抗体成本高，不能满足大量样本快速、及时、高效的检测要求。据了解，市场上现有的快速检测仪大多数是在酶抑制法的基础上，利用显色剂显色的原理进行检测。本研究以基于拟除虫菊酯抗体为识别元件构建电化学免疫传感器对PYRs农药进行检测，同时，研制了具有操作简单、分析速度快、稳定性高、便携以及可应用于现场检测的基于阵列电极的广谱抗体农药残留快速检测仪，实现现场快速检测。

1.2 国内外研究现状

目前，常见的快速检测方法大多是基于传感检测构建，敏感识别元件与被分析物质之间发生特异性结合时发生的电子转移、共价键合、催化等生物、化学反应，会响应出相关物理、化学信号，需通过物理化学换能器转换为可视定性或可测定量的信号^[8]。由于检测速度较快、操作速度较为简单、检测性能较好等优点，搭载着不同敏感识别元件的不同换能原理的快速检测方法在PYRs残留检测方面展现出重要的应用价值和前景。

农药残留超标已成为我国蔬菜质量安全重大隐患，蔬菜上市周期短，农药残留快速检测是保障蔬菜安全的重要途径。常用的检测技术有气相色谱（Gas Chromatography, GC）、高效液相色谱（High Performance Liquid Chromatography, HPLC）及气相/液相-质谱联用技术（Liquid Chromatograph/Gas Chromatography-Mass Spectrometer, GC/LC-MS）等大型检测仪器分析方法和酶联免疫（Enzyme Linked Immunosorbent Assay, ELISA）法、酶抑制法、荧光比色法等快速检测方法。仪器分析方法具有高稳定性和高敏感性的特点，但存在仪器昂贵、操作专业且复杂等不足，不适用于现场快速检测的缺点^[14-18]。近年来包括酶联免疫法、酶抑制法、荧光比色法在内的快速检测方法迅猛发展^[19]，包括天迈生物科技有限公司、厦门欧达科仪发展有限公司、北京东西分析仪器有限公司等众多仪器厂家先后研制出多种农药残留的快速检测仪器。酶抑制法基于其原理只能检测有限的农药种类，因其采用对酶活性抑制的机制，假阳性高。酶联免疫法因样品检测成本高，步骤繁琐，限制了其在蔬菜农药残留快速检测中的应用。荧光比色法则易受蔬菜样品中色素的干扰，影响其检测结果。

电化学免疫传感器是通过将特异性识别抗体与靶标物特异性结合，而导致抗体与抗原表位的静电引力产生变化，进而导致电化学检测过程中工作界面电流信号的变化，该电化学免疫传感器将物理化学信号转换为电压、电流、电导率等电信号。基于电化学免疫传感器原理的检测方法可以通过更换不同抗体识别元件，从而实现不同种类农药的检测。电化学免疫传感器具有灵敏度高、信号响应快、易于设备微型化的优势，近年来得到广泛关注，因此本研究从电化学免疫传感检测着手，构建一种电化学免疫传感器和相配套的便携式快速检测设备用于菊酯类农药的检测。

1.2.1 主要快速检测方法

（1）酶联免疫吸附测定

酶联免疫吸附测定是目前较为成熟、常用的快速检测方法^[20]。它是利用抗原-抗体结合反应对目标物进行特异性识别从而进行定性判断以及定量检测。以 ELISA 为原理构建的检测方法具有特异性强、灵敏度高、重复性好等特点从而在诸多领域得到了广泛地应用。

（2）电化学传感器

电化学传感器因其构建过程简单且成本低廉便于实现集成化等优势，逐渐成为农药残留快速检测方法中最常用的传感技术之一，并在诸多快速检测领域得到了广泛的关注。电化学生物传感器的识别元件通常为抗原、抗体、酶、激素等，电极作为换能元件，将识别元件使用生物固定化技术固定在电极表面，生物分子间特异性识别而触发的各种物理化学信号转换为电压、电流、电导率等电信号，使用仪器或者快速检测设备可以采集信号观测这一过程从而实现目标物的检测^[21]。

（3）电化学发光传感器

电化学发光传感器 (Electrochemiluminescence, ECL) 是一种将电能转化为辐射能的方法^[8], 其发光机理主要是通过电化学对发光体系进行电信号的激励, 随着激发态物质返回到基态的过程, 伴随着光的产生^[22,23]。电化学发光传感器是一种根据反应体系的电化学发光的强度来分析物质浓度的检测技术。该传感方法以其具备的灵敏度高、操作简单、成本低等优势得到了研究人员的广泛关注。

(4) 荧光传感器

荧光传感器是将能够产生荧光信号的纳米材料与靶标抗原或抗体进行偶联标记, 随着特异性识别反应的进行, 体系中的荧光强度会因荧光淬灭而相应减弱或者因荧光集团聚集而相应增强^[8,24]。通过使用特定波长的光对整个体系进行激发, 并使用仪器对整个系统的光信号的变化进行观测, 具有较高的检测灵敏度。

1.2.2 基于电化学的快速检测设备

目前, 便携式电化学传感方法和生物传感器平台已成为检测农药的强大分析方法, 用于现场检测水果和蔬菜中的农药残留, 因为具有协同作用、系统制造程序、易于检测、可观的灵敏度和选择性等优点。研究人员基于电化学的传感检测方法研制了便携式电化学装置, 用于现场检测和现场检测农药残留。

(1) 电化学传感系统

电化学传感系统是通用且功能强大的工具, 可提供准确性、良好的精度、灵敏度和选择性, 并且具有相对低成本和简单的仪器。电化学传感依赖于测量电学指标, 例如由传感电极和目标分析物之间的相互作用和界面产生的电势、电流或电荷。通常, 电化学电解池由工作电极 (Work Electrode, WE)、对电极 (Counter Electrode, CE) 和参比电极 (Reference Electrode, RE) 组成。伏安法利用与 RE 相关的随时间变化的电压, 并测量 WE 电极和 CE 电极间发生的氧化-还原反应的电流响应。三电极系统可以简单地在单个反应池中构建, 从而有利于使用少量检测试剂实现设备的自动化和开发构建, 并可检测微量样品^[25-31]。

(2) 恒电位仪

恒电位仪是电化学传感检测系统的核心装置。研究人员使用不同的电极改进方法可以提高灵敏度。这些方法可以满足检测限要求, 灵敏度高的要求, 但需要在检测前对电极进行复杂的修饰过程且使用的电化学工作站体积较大, 不利于现场应用, 国内外不同学者对电化学传感检测系统的核心恒电位仪做了不同程度的创造性改进, 实现了现场快速检测农药残留的目的。滕渊洁等^[32]通过便携式智能手机控制的恒电位仪集成在双通道丝网印刷电极上实现了用于有机磷农药残留的电化学方法快速检测, 其敌百虫的检测限达到 10^{-7} g/mL。

(3) 阵列电极

阵列芯片检测是一种快速、准确、高通量、集成化的方法, 在医学诊断、环境监

测、食品安全等领域广泛运用^[33]。Belghiti^[34]开发了一种新的纳米粒子物理沉积方法，通过涂有金属催化剂纳米粒子的硼掺杂金刚石的多电极阵列检测对氧磷和吡虫啉农药，检测限（Limit of Detection, LOD）约 $19 \times 10^{-2} \mu\text{M}$ 和 $33 \times 10^{-2} \mu\text{M}$ 。该电极阵列在电活性和粘附性方面提供了良好的稳定性。周丹^[33]等研究人员在前期自主筛选的克百威和甲萘威单克隆抗体基础上，研究并制备出农残混合污染同步快速检测阵列芯片，建立了一种现场高灵敏同步快速检测技术，实现了在 30 min 内同步定量检测克百威和甲萘威，检测限分别为 0.11 ng/g、0.09 ng/g，线性范围分别为 0.33~3000 ng/g、0.18~1500 ng/g。然而现有应用于农药快检领域的阵列芯片较少存在配套的便携式快速检测设备中，迫切寻求一种适配阵列芯片的多通道便携式快速检测设备以实现农药残留现场快速检测。

1.3 研究目的与主要内容

1.3.1 研究目的

PYRs 是农业生产中最为常见的农药品种之一，因其药效高、杀虫谱广的特点从而被人们所经常使用。该类农药具有一定的神经毒性及生殖毒性。生产者的不合理、不规范的使用，甚至多种 PYRs 混合使用引发的 PYRs 超标和残留的问题，严重地影响了我国农产品的质量安全，存在威胁我国公共食品安全的重大隐患。

面对如此严峻的 PYRs 残留污染现状，迫切需要基于传感器的快速检测方法和相配套的设备以应对日益加快的快速检测需求。电化学免疫检测方法因其操作简单、高效灵敏、检测速度快、易于小型化便携化等特点，具极高的应用价值。同时，随着人们的生活水平和节奏的提高，日益需要可现场实时快速检测技术以应用于不同的蔬菜农药残留快速检测场景。蔬菜上市周期随着市场化的进程越来越短，农药残留快速检测是保障蔬菜安全的重要途径，迫切需求农药残留快速检测的便携式检测设备开发方案。

1.3.2 主要内容

本文以 PYRs 作为目标物质，以能够有效识别大部分 PYRs 的拟除虫菊酯农药广谱性抗体作为核心识别元件，构建了 1 种电化学免疫分析方法，1 种单路恒电位仪的检测核心设备，和 1 种基于阵列电极的四路便携式快速检测仪。实现了 PYRs 的快速检测，并应用于实际样品检测。主要研究内容如下（图 1.1）：

（1）基于 Abs-AuNPs@ZIF-67 探针的电化学免疫传感器的制备。

以 Abs-AuNPs@ZIF-67 金标探针为识别元件构建电化学生物传感器，充分发挥其灵敏度高、信号响应快、易于设备小型化等优点并为后续配套设备提供传感器方案。

（2）基于三电极系统的便携式单路恒电位仪的研制。

研制单路恒电位仪，构建便携式传感检测核心，并应用于电化学循环伏安测量。

(3) 基于阵列电极的四路便携式检测仪的研制。

研制基于阵列电极的便携式检测仪，测试其性能并应用于实际样本。

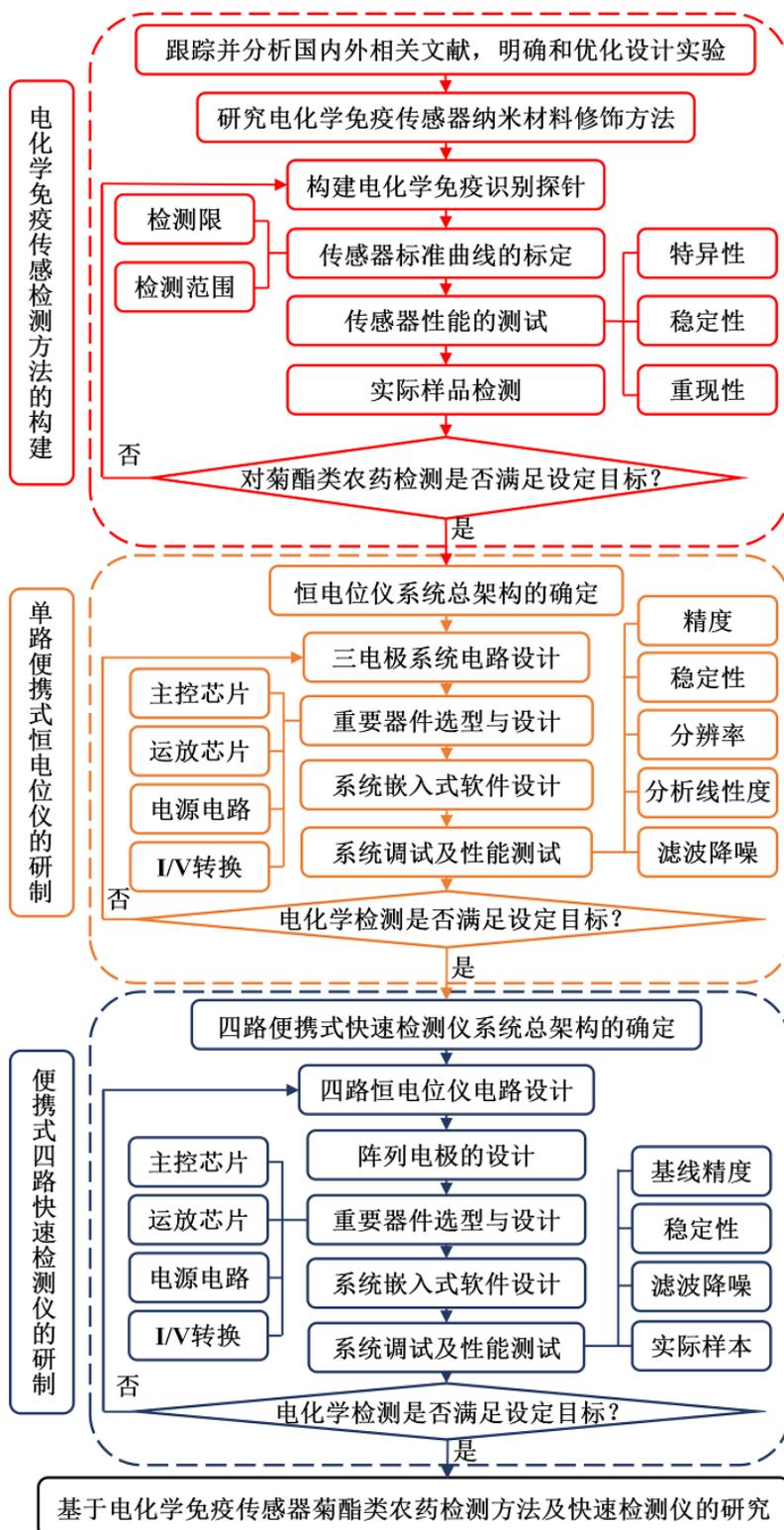


图 1.1 技术路线
Fig. 1.1 Technical route

第二章 基于金标抗体探针的电化学免疫传感器的构建

2.1 引言

抗体是一类以蛋白质成分为主的生物识别元件，拟除虫菊酯抗体可对菊酯类农药小分子目标物进行特异性识别。拟除虫菊酯是一类高效、快速的农药杀虫剂。它们的广泛使用很容易导致其农药残留，导致人类出现震颤综合征和过敏反应^[35,36]。水果和蔬菜中的甲氰菊酯和溴氰菊酯农药残留会影响人类健康，并导致与环境中的菊酯类农药积累有关的问题。因此，迫切需要开发一种经济可靠、适合现场应用的方法。特别重要的是，开发一种小分子目标检测方法，用于检测甲氰菊酯和溴氰菊酯农药^[37]。

目前，菊酯类农药的检测方法包括酶联免疫吸附试验^[38,39]、荧光分析^[40]，化学发光^[41]和电化学免疫传感器^[42]等，由于抗体制备和样品检测成本较高，ELISA 在蔬菜农药残留快速检测中的应用受到限制。荧光比色法易受植物基质中色素的干扰，影响其准确度。电化学免疫传感器利用抗体之间的特异性结合机制来识别目标，从而改变抗体的构象和电化学传感界面上的电流信号。电化学生物传感器以其灵敏度高、信号响应快、易于设备小型化等优点成为近年来的研究热点^[43-47]。

为了灵敏地检测 PYRs 并为电化学免疫传感器构建有效的识别元件，可以获得具有大比表面积、良好生物相容性和优异检测性能的信号放大平台^[48]。贵金属材料和过渡金属合金具有良好的生物相容性、较大的比表面积和导电性等，广泛应用于免疫传感器的制备，尤其是金标抗体^[49-51]。具有极高表面积和高孔隙率的金属有机框架 (Metal-Organic Framework, MOF) 被认为是制备负载纳米颗粒的免疫传感器的潜在支撑材料^[52-55]。本研究采用一步湿化学合成法制备的 ZIF-67 (MOF 材料的一种) 具有规则的十二面体结构和较大的比表面积，为金标抗体的附着提供了丰富的表面活性位点。ZIF-67 具有构建灵敏电化学免疫传感器的巨大潜力^[56-60]。还原氧化石墨烯 (Reduced Graphene Oxide, rGO) 是石墨氧化剥离和还原后的产物，其结构与氧化石墨烯 (Graphene Oxide, GO) 非常相似。与 GO 相比，rGO 具有更好的导电性，并且比 GO 更易于分散和制备。rGO 可以直接引入到电化学传感界面的构建中。其良好的导电性和电化学传感活性使其广泛用作电化学传感器的基底材料^[61-63]。

本研究进行了甲氰菊酯和溴氰菊酯的电化学免疫传感器的构建以及金标抗体的合成。Abs-AuNPs@ZIF-67 探针通过一步湿化学合成。本研究以金标抗体探针作为识别元件，构建一种能灵敏检测蔬菜中 PYRs 残留的电化学免疫传感器。本研究制备的 AuNPs@ZIF-67 纳米复合材料具有良好的稳定性，增强了其电极表面的均匀分散效果，克服了以往抗体探针在电极表面的易于团聚问题。

2.2 材料与方法

2.2.1 主要仪器

本研究中超纯水的电阻率为 $18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ ，电化学免疫传感器构建和测试的过程通过电化学工作站实现，使用傅立叶变换红外光谱仪（Fourier Transform Infrared Spectrometer, FT-IR）获取了 FT-IR 光谱。GO 和 rGO 的紫外-可见光谱由多功能微孔板读数仪进行测量。Abs-AuNPs@ZIF-67 通过离心机制备。纳米金（Au Nanoparticles, AuNPs）和 Abs-AuNPs@ZIF-67 的透射表征（Field Emission Transmission Electron Microscope, FE-TEM）、扫描透射表征（Scanning Transmission Electron Microscopy, STEM）和能谱扫描表征（Energy Dispersive Spectrometer, EDS）通过透射电子显微镜获得。rGO 和 Abs-AuNPs@ZIF-67/rGO 的表面形貌的表征通过场发射扫描电子显微镜完成。使用高分辨率拉曼光谱仪对样品进行了拉曼光谱分析，主要的仪器型号和生产商见表 2.1。

表 2.1 主要仪器
Tab. 2.1 Main instruments

名称	型号	生产商
电子分析天平	AL104	德国梅特勒托利多仪器上海有限公司
电化学工作站	CHI660D	中国上海辰华有限公司
多功能微孔板读数仪	Varioskan-LUX	美国赛默飞公司
冰箱	BCD-576WT	海信集团有限公司
超纯水系统	Milli-Q	美国默克密理博公司
电热鼓风干燥箱	DHG-9070A	上海一恒科技有限公司
离心机	ST16R	美国赛默飞公司
透射电子显微镜	Tecnai G2 Spirit TWIN	美国 FEI 公司
场发射扫描电子显微镜	Quanta 250	美国 FEI 公司
高分辨率拉曼光谱仪	HR Evolution	法国 HORIBA JY
傅立叶变换红外光谱仪	Nicolet5700	美国热电尼高力仪器公司

2.2.2 主要试剂

在电化学传感器的三电极平台系统中，分别使用玻碳电极（Glassy Carbon Electrode, GCE）、饱和甘汞电极（Saturated Calomel Electrode, SCE）、铂电极（Platinum Electrode, PtE）作为工作电极、参比电极和对电极进行测试。 $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、牛血清白蛋白（Bovine Serum Albumin, BSA）和 1,2-二甲基咪唑均从 Sigma-Aldrich（美国）购得。整个过程中使用的试剂如 $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3$ 、 NaBH_4 、 K_2CO_3 、 H_3BO_3 、 $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 、 NaOH 等化学试剂均达到分析纯。作为关键识别成分的菊酯类农药广谱性抗体 Abs 由北京博奥龙免疫生物技术有限公司提供。氧化石墨烯由江苏先丰纳米材料科技有限公司提

供。溴氰菊酯和甲氰菊酯、丙溴磷、水胺硫磷、啉虫脒和吡虫啉由北京仪化通标科技有限公司提供，主要试剂的规格及生产商见表 2.2。

表 2.2 主要试剂

Tab. 2.2 Main reagents

名称	规格	生产商
菊酯农药广谱性抗体 (Abs)	1 mg/mL	北京博奥龙免疫技术有限公司
农药标准品	分析纯	北京仪化通标科技有限公司
氧化石墨烯 (GO)	500 mg	江苏先丰纳米材料科技有限公司
NaOH	分析纯	国药化学试剂有限公司
NaBH ₄	分析纯	国药化学试剂有限公司
C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇	分析纯	国药化学试剂有限公司
牛血清白蛋白 (BSA)	分析纯	美国西格玛奥德里奇公司
1,2-二甲基咪唑	分析纯	美国西格玛奥德里奇公司
Co(NO ₃) ₂ 6H ₂ O	分析纯	美国西格玛奥德里奇公司
HAuCl ₄ 3H ₂ O	分析纯	美国西格玛奥德里奇公司
K ₂ CO ₃	分析纯	国药化学试剂有限公司
H ₃ BO ₃	分析纯	国药化学试剂有限公司
K ₃ [Fe(CN) ₆]	分析纯	国药化学试剂有限公司
NaOH	分析纯	国药化学试剂有限公司

2.3 实验方法

2.3.1 还原氧化石墨烯的制备方法

首先，在100 mL超纯水中制备GO溶液（100 mg），并进行30 min的超声波浴以均匀分散GO胶体。在添加1 mol/L NaOH溶液以将分散剂的pH值调节至9.5后，将800 mg NaBH₄分散在100 mL GO分散剂中，并在90°C下搅拌1 h。添加NaBH₄后，棕色分散液立即变黑，表明rGO含量的增加^[61]。最后使用超纯水过滤和洗涤分散液。

2.3.2 Abs-AuNPs@ZIF-67 探针的制备方法

通过柠檬酸三钠还原制备AuNPs^[64]。通过一步湿化学方法合成AuNPs@ZIF-67这种复合材料。制备了10 ml含有33.6 mmol（2.76 g）的2-甲基咪唑甲醇混合溶液。将制备的粒径约为12 nm的AuNPs溶液离心并浓缩（12,000 rpm）至10%。使用磁力搅拌器将前两种混合溶液均匀混合以进行制备溶液A。将Co(NO₃)₃ 6H₂O（1.6 mmol, 0.46 g）添加到12 mL甲醇（溶液B）中，缓慢且均匀地将溶液A和溶液B混合，并在室温下反应3 h。该反应是通过一步湿化学法合成的，用离心机进行离心AuNPs@ZIF-67（400 rpm），然后在4°C下储存。然后，添加180 μL K₂CO₃（1 M）溶液至10 mL的AuNPs@ZIF-67溶液中，以形成碱性环境以对AuNPs@ZIF-67与Abs进行偶联。然后，加入0.1 mg/mL的PYRs广谱

抗体 (600 μL)，并在25 $^{\circ}\text{C}$ 下振荡30 min，以确保抗体蛋白质周围的正电荷簇通过静电吸附与金纳米粒子周围的负电荷形成牢固的耦合。加入BSA (1190 μL , 10%, m/v) 后进行30 min振荡混匀以封闭非特异性结合位点。在4 $^{\circ}\text{C}$ 培养3 h后离心 (4,000 rpm, 5 min) 并弃上清液。然后，加入1000 μL 硼酸盐缓冲溶液 (2.0 mM)，摇动混合物直至均匀。重复上述操作，并在4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

2.3.3 电化学免疫传感器的制备方法

图 2.1显示了在玻碳电极 (Glassy Carbon Electrode, GCE) 上制备的电化学免疫传感器的过程。首先，使用氧化铝粉末抛光后在水和乙醇的混合物中超声清洗GCE。将前期制备的rGO分散样品 (8 μL) 固定在清洁的GCE表面作为基质材料。然后将含有金标抗体探针 (Abs-AuNPs@ZIF-67) 的分散样品 (8 μL) 滴涂在基底材料表面。修饰电极在室温下干燥30 min。

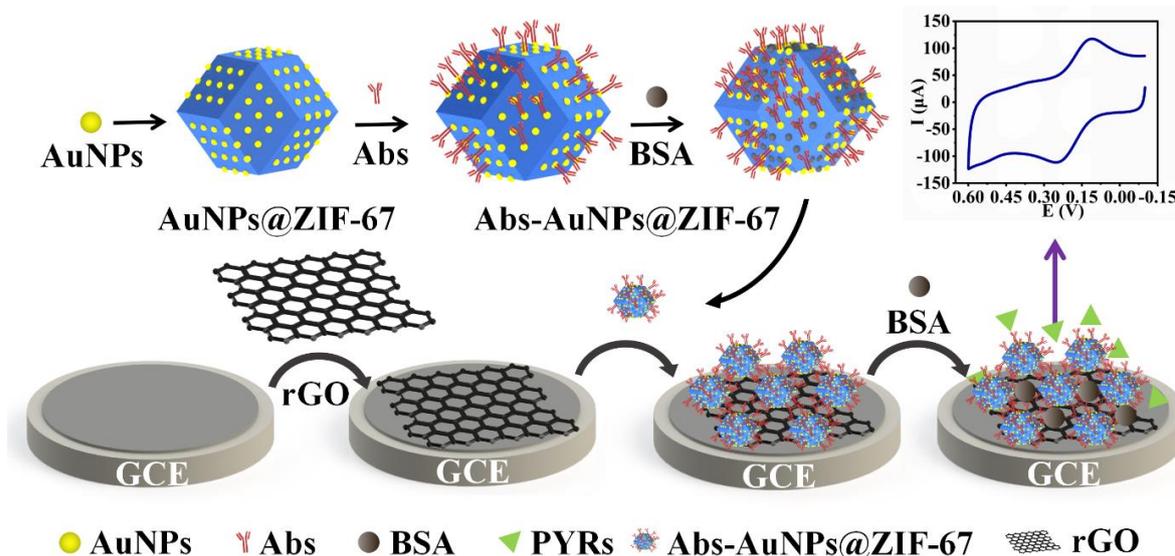


图 2.1 电化学免疫传感器的制备

Fig. 2.1 Schematic illustration for the fabrication of the electrochemical immunosensor

然后，封闭非特异性结合位点，采用 8 μL BSA (0.5 wt%) 溶液封闭修饰电极 30 min。最后，将 8 μL 的 PYRs 溶液添加到修饰电极表面，并在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 50 min。将修饰好的 GCE 工作电极表面构建电化学免疫传感器并用于进一步的实验研究。

2.3.4 电化学检测方法

随着用于 PYRs 检测的电化学免疫传感器的构建，传感器表面的电化学行为产生了相对应的电信号的变化。为了研究和分析这种变化，本研究在 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 溶液 (pH=7.4, 5.0 mM) 环境中进行了循环伏安扫描。电化学扫描的电位参数范围设定为-0.1 V 至+0.6 V，标准扫描速率为 0.05 V/s。在此过程中，在最佳实验条件下制备了两种电化学免疫传感器，并测量了它们的循环伏安 (Cyclic Voltammetry, CV) 电化学响应峰值。测量 BSA

封闭后每个电化学免疫传感器的 CV 响应值，并记为 I_1 。在清洗和吹干电极表面后，采集加入 PYRs 后的电化学免疫传感器电极的 CV 响应峰值，并将其表示为 I_2 。在计算 ΔI 值 ($\Delta I = I_2 - I_1$) 后，分析了 ΔI 与 PYR 浓度之间的关系。

2.3.5 样品预处理

从市场上购买的生菜和娃娃菜样品被粉碎成匀浆，并精确称量每个样品 (50.0 g)。每种溶液用 160.0 mL 甲醇磷酸盐缓冲溶液 (Phosphate Buffer Solution, PBS, 70%, v/v) 萃取，然后混合 2 min。均质后，用 0.22 μm 滤膜过滤后形成后续实验溶液。

2.4 结果与讨论

2.4.1 Abs-AuNPs@ZIF-67/rGO/GCE 的表征

2.4.1.1 AuNPs 的表征

FE-TEM 表征显示 (图 2.2)，AuNPs 样品呈现面心立方 (FCC) 晶格，金原子层间距为 0.24830 nm。制备的 AuNPs 呈球状 (图 2.2 A) 且分布均匀 (图 2.2 C 和 D)。图 2.2 D 表征了均匀分散在溶液中的 AuNPs 的平均粒径约在 10~12 nm。通过 FE-TEM 图像显示出了所制备的 AuNPs 形态良好且分散均匀，证明本研究制备得到了良好的 AuNPs 纳米材料。

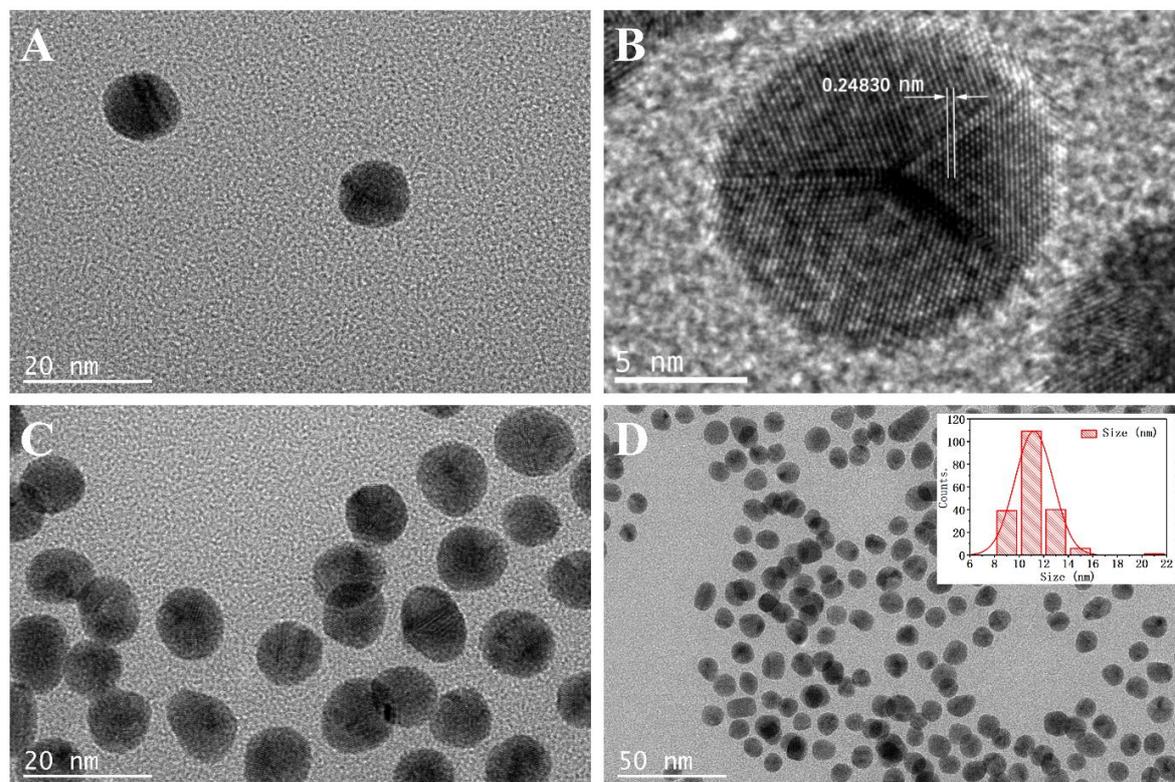


图 2.2 不同放大倍数下 AuNPs (A), (B), (C) 和 (D) 的 FE-TEM 图像; 表征 AuNPs (B) 晶格尺寸的 FE-TEM 图像; 表征 AuNPs 尺寸分布的 FE-TEM 图像 (D)

Fig. 2.2 FE-TEM images of AuNPs (A), (B), (C), (D) at different magnifications; FE-TEM images

representing the lattice size of AuNPs (B); FE-TEM image of the size distribution of AuNPs (D)

2.4.1.2 金标抗体探针 Abs-AuNPs@ZIF-67 的表征

利用紫外-可见吸收光谱评价了 AuNPs、AuNPs@ZIF-67 和 Abs-AuNPs@ZIF-67 的结合能力。图 2.3 A 为常规的金标记抗体探针的紫外-可见吸收光谱。AuNPs 的紫外可见光谱如图 2.3 A-a 所示。AuNPs 的共振波长和带宽与周围介质的颗粒大小、形状、折射率和温度有关。在 522 nm 处，出现了一个由电子振荡引起的 AuNPs 的强等离子体吸收峰。图 2.3 A-b 为 AuNPs 与抗体蛋白结合后的紫外-可见吸收光谱。经抗体耦合后，AuNPs 的等离子体吸收峰从 522 nm 红移到 537 nm。这种变化是由于 AuNPs 和 Abs 偶联后 Abs-AuNPs 周围介电性质的变化所致^[65,66]。

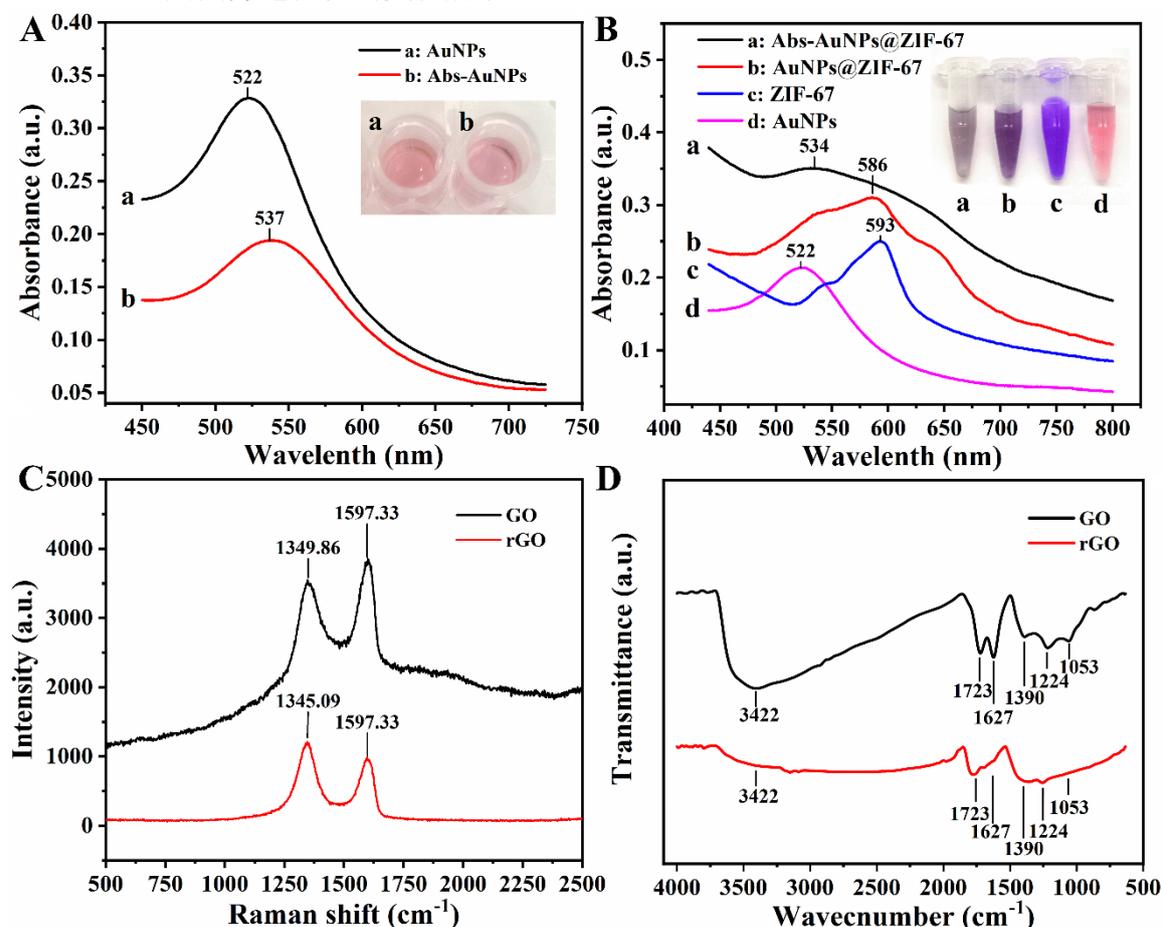


图 2.3 金标抗体探针的紫外-可见吸收光谱 (A), (B); GO 和 rGO (C) 的拉曼光谱; GO 和 rGO 的 FT-IR 光谱 (D)

Fig. 2.3 UV-Vis absorption spectra of gold-labeled antibody probes (A), (B). Raman spectra of GO and rGO (C). FT-IR spectra of GO and rGO (D)

图 2.3 B 为本研究中使用的金标抗体探针的紫外-可见吸收光谱。图 2.3 B-c 显示了 ZIF-67 的紫外-可见吸收光谱。图 2.3 B-d 显示了 AuNPs 的紫外-可见吸收光谱。图 2.3 B-b 显示了 Abs-AuNPs@ZIF-67 蛋白质的紫外-可见吸收光谱晶体的光学性质。AuNPs@ZIF-67 在 586 nm 处出现一个峰值，可能与 Co(II)离子的金属配体电荷转移 $4T_1(P) \rightarrow 4A_2(F)$ 的跃迁有关。当修饰抗体后，金标抗体探针的吸收峰从 522 nm 红移到了

534 nm, 与传统金标探针从 522 nm 红移到了 537 nm 的情况类似。这种转变的发生与 AuNPs@ZIF-67 和 Abs 的结合有关, 由于 Abs 与 AuNPs@ZIF-67 的结合导致了其金标探针周围介质性质的变化。上述分析表明本研究成功制备了 Abs-AuNPs@ZIF-67 金标抗体探针^[66]。

图 2.3 C 显示了制备的 GO 和 rGO 的拉曼光谱, 该图显示了 GO 在 1349.86 cm^{-1} 和 1597.33 cm^{-1} 处的 D 带和 G 带的明显拉曼特征伸缩振动峰^[67], 以及 rGO 在 1345.09 cm^{-1} 和 1597.33 cm^{-1} 处的 D 带和 G 带的明显拉曼特征振动峰^[68]。表征图可得知 GO 的 I_D/I_G 值小于 rGO 的 I_D/I_G 值。图 2.3 D 展示了 GO 和 rGO 的 FT-IR 光谱。从图中可以观察到, 在检测到的波长范围内存在大量官能团吸收峰。在 3422 cm^{-1} 和 1053 cm^{-1} 处观察到的强吸收峰是由于 GO 平面中羟基的拉伸振动, 1723 cm^{-1} 处为 C=O 的拉伸振动峰、 1627 cm^{-1} 和 1224 cm^{-1} 处为 C=C 的特征拉伸振动峰以及 1390 cm^{-1} 处为羧基的拉伸振动峰。这表明 GO 含有羟基和羧基等官能团^[67]。然而, 不同官能团中 rGO 的拉伸振动峰显著降低, 表明 GO 还原为 rGO 后, 大量官能团减少。拉曼光谱和 FT-IR 光谱证明所构建的电化学免疫传感器中的 rGO 已成功合成。

2.4.1.2 Abs-AuNPs@ZIF-67/rGO 的表征

使用 FE-TEM 表征 ZIF-67 上的 AuNPs。TEM、SEM 和 STEM 结果表明, AuNPs 在 ZIF-67 上均匀分散并且呈球形, ZIF-67 具有规则的十二面体结构 (图 2.4 A 和 B), 平均粒径为 200 nm。

图 2.3 显示了 AuNPs 与 ZIF-67 的成功结合。STEM 的表征图显示了 AuNPs 与 ZIF-67 的完全融合 (图 2.4 D), 证明了 AuNPs 均匀地附着在 ZIF-67 的表面。EDS 证实了复合材料中存在 AuNPs@ZIF-67 (图 2.4 C 和 2.4 E)。元素分析图谱表明复合材料由 Au 和 Co 组成 (图 2.4 F)。为了直观地了解材料的纳米结构, 对 AuNPs@ZIF-67 进行了 STEM 测试, 发现 Co 和 Au 的 STEM 表征与 Co 和 Au 的 EDS 表征能够很好地匹配, 表明 AuNPs 能够在 ZIF-67 表面得到良好的吸附和均匀的分散。Abs-AuNPs@ZIF-67/rGO 的场发射扫描电子显微镜 (Field Emission Scanning Electron Microscope, FE-SEM) 表征和 rGO 修饰电极显示出 Abs-AuNPs@ZIF-67 探针均匀固定在了 rGO 修饰电极表面 (图 2.4 F 和 2.4 H)。

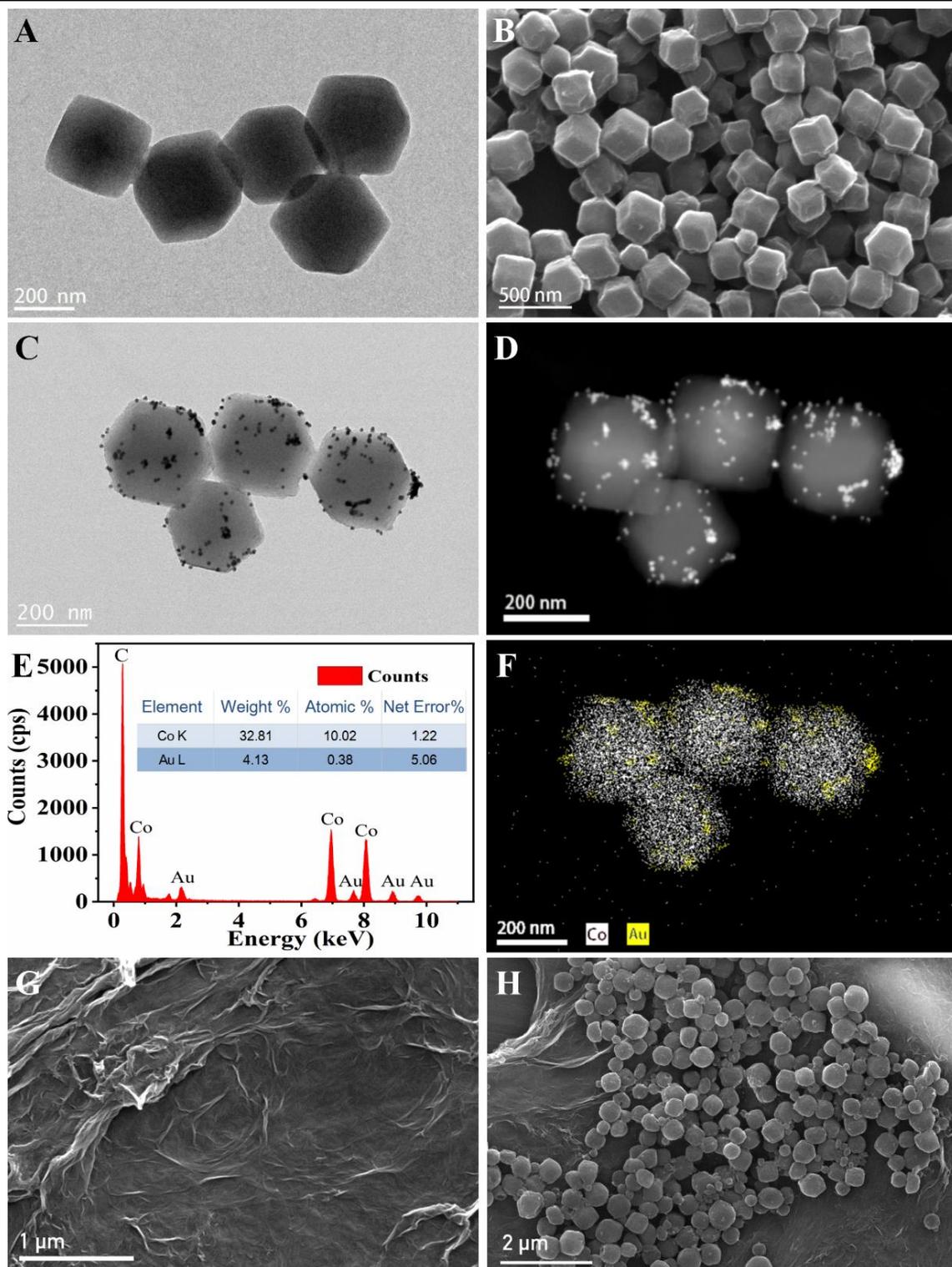


图 2.4 ZIF-67 的 FE-TEM 表征 (A)；ZIF-67 的 FE-SEM 表征 (B)；Abs-AuNPs@ZIF-67 的 FE-TEM 表征 (C)；Abs-AuNPs@ZIF-67 的 STEM 表征 (D)；Abs-AuNPs@ZIF-67 的 EDS 光谱 (E)。Co 和 Au 的元素能谱分析 (F)；rGO 的 FE-SEM 表征 (G)；Abs-AuNPs@ZIF-67/rGO 的 FE-SEM 表征 (H)

Fig. 2.4 FE-TEM images of ZIF-67 (A); FE-SEM images of ZIF-67 (B); FE-TEM images of Abs-AuNPs@ZIF-67 (C); STEM images of Abs-AuNPs@ZIF-67 (D); EDS spectra of Abs-AuNPs@ZIF-67 (E); Elemental mapping of Co and Au (F); FE-SEM images of rGO (G); FE-SEM images of Abs-AuNPs@ZIF-67/rGO (H)

2.4.2 免疫传感器条件的优化

为了探索最佳的电化学免疫传感器的性能，本研究系统地进行了不同的实验参数下的最优条件的优化。抗体和 AuNPs 之间的耦合效率会对电化学免疫传感器的性能产生很大影响，影响其传感器界面的电荷转移效率。我们知道，传感器表面抗体数量的增加会加大该项检测的灵敏度，但同时也会增加检测的成本。同时，过多抗体的偶联会降低 Abs-AuNPs 的导电性。在这项工作中，研究了偶联不同浓度的抗体和 AuNPs 对传感器界面电导率的影响。当抗体浓度为 6.0 $\mu\text{g/mL}$ 时，实验得到较大的 ΔI 值（图 2.5 A）。该浓度下的平均偏差最小，表明在此条件下制备的电化学免疫传感器具有最佳稳定性。因此，本研究选择 6.0 $\mu\text{g/mL}$ 作为最佳抗体浓度。

其次，研究了孵育时间对电化学免疫传感器的影响，研究确定在电化学免疫传感器表面 Abs-AuNPs@ZIF-67 和 PYRs 相互作用的最小孵育时间。采用孵育时间分别为 25 min、30 min、35 min、40 min 和 45 min 的条件进行参数优化。当目标农药存在于溶液中时，免疫传感器界面表面形成了 PYRs-Abs 复合物，削弱了电子转移能力，导致了其峰值电流降低。抗体的孵育时间对免疫传感器性能的影响也非常大。短时间的孵育可能会影响目标农药与抗体的结合程度，而长时间的孵育可能导致抗体在一定程度上失活。传感器表面的配合物的数量与菊酯类农药小分子和金标抗体的孵育时间有关。因此，金标抗体与菊酯类农药之间的特异性识别受到孵育时间的影响。随着孵育时间的增加，越来越多的菊酯农药分子被捕捉到传感器表面，导致 ΔI 逐渐增加（图 2.5 B）。当孵育时间达到临界点（40 min）时，传感器表面的络合物数量达到饱和。当孵育时间进一步增加时， ΔI 值并没有显著的变化。因此，选择 40 min 作为该电化学免疫传感器和农药靶标的最佳孵育时间。

此外，底液的 pH 值是电化学免疫传感器的重要影响因素之一，pH 值影响了抗体的生物活性和电化学免疫传感器的电化学性能。本研究在前期最佳影响因素下，选择了一系列 pH 梯度的铁氰化钾溶液进行测试。如图 2.5 C 所示，电化学免疫传感器的电化学响应信号随着 pH 值从 6.0 到 7.5 的增加而增加，在 7.5 出现了最大响应信号，然后随着 pH 值的进一步增加而降低，由此选择该条件作为最佳实验条件。

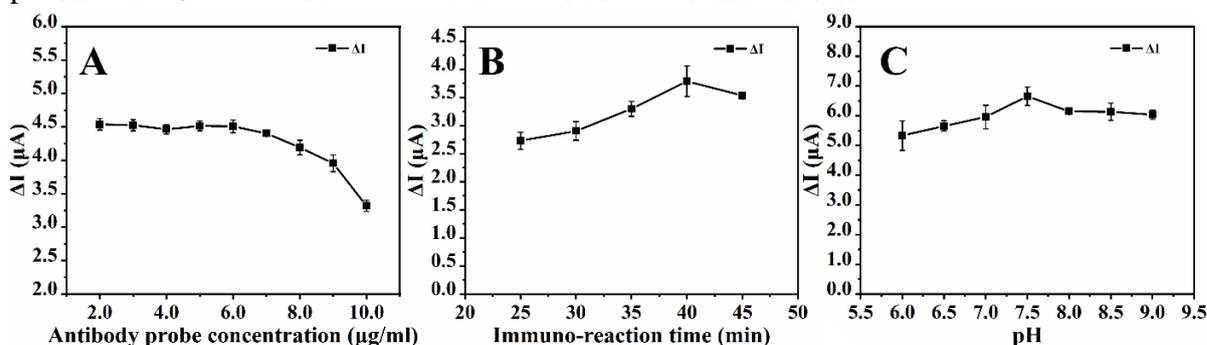


图 2.5 电化学免疫传感器实验参数的优化：抗体探针浓度 (A)；孵育时间 (B)；pH 值 (C)
Fig. 2.5 Optimization of experimental parameters for the electrochemical immunosensor: (A) Antibody probe concentration; (B) Incubation time; (C) pH value

2.4.3 PYRs 的电化学免疫检测

如图 2.6 A 所示, 我们使用 CV 评估了该电化学免疫传感器的电化学特性。CV 循环伏安曲线显示 GCE 电极 (e) 传感器表面上有一对可逆的氧化还原峰。当在电极表面修饰 rGO 后, 由于 rGO (d) 的良好的导电性, 电极的峰值电流显著增加。当 rGO 基底被 Abs-AuNPs@ZIF-67 修饰后, 其峰值电流降低 (c)。其峰值电流的降低是由于有机金属框架结构和其表面的金标抗体的修饰, 从而降低了传感界面的导电性。当 BSA 被添加到电化学免疫传感器的表面以阻断非特异性结合位点时, 该电化学免疫传感器的峰值电流继续降低 (b)。当 PYRs 添加在传感器表面后, 其传感器的峰值电流再次降低 (a), 是因为 PYRs 和 Abs 之间形成络合物进一步降低了该系统中的电子转移能力。

电化学阻抗谱 (Electrochemical Impedance Spectroscopy, EIS) 是一种监测传感器界面特性的有效方法, 使用 ZView 软件对每个修饰步骤绘制奈奎斯特图, 从而进一步评估其电荷转移系数^[69,70]。如图 2.6 B 中所示对其进行 Randle 等效电路分析, EIS 阻抗特性图中半圆的直径代表电荷转移电阻 (Charge Transfer Resistance, R_{ct}), rGO/GCE (d) 的 R_{ct} 高于 GCE (e), 表明 rGO 促进了电极反应过程中的电子转移。金标抗体探针修饰的电极的 R_{ct} 值 (c) 明显大于 rGO/GCE (d)。当 BSA (b) 和 PYRs (a) 在电极上进一步修饰时, R_{ct} 逐步增加。本实验中测得的传感器每个修饰步骤下的 EIS 和 CV 是一致的。这些结果证明了本电化学免疫传感器的成功组装。

在电化学免疫传感器的最佳工作条件下, 我们研究了 PYRs 的浓度 (C) 与电化学氧化还原峰信号 (ΔI) 的相对差异之间的相关性。随着 PYR 样品浓度的增加, 更多的 PYRs-Abs 结合到电化学免疫传感器的界面上, 增加了免疫传感器表面的阻抗, 削弱了电子转移能力, 从而增加 ΔI 。图 2.6 C 和图 2.6 E 分别显示了不同甲氰菊酯和溴氰菊酯浓度的 CV 关系。图 2.6 D 和图 2.6 F 分别显示了 ΔI 与甲氰菊酯和溴氰菊酯浓度对数之间的线性相关性。线性相关系数 (R^2) 分别为 0.9941 和 0.9874。线性方程组分别表示为 $\Delta I=3.5616+1.76129\text{Log}C$ 和 $\Delta I=0.09932+1.58283\text{Log}C$ 。通过将三次试验后测定的阴性样品的平均值 (B_0) 和标准偏差 (Standard Deviation, SD) 代入计算公式 ($\text{LOD}=B_0-3*SD$), 可以获得该 LOD。甲氰菊酯和溴氰菊酯的 LOD 分别为 0.009 ng/mL (0.0258 nM) 和 0.865 ng/mL (1.712 nM)。甲氰菊酯和溴氰菊酯的检测范围分别为 $0.1\sim 1.0\times 10^5$ ng/mL ($0.286\sim 2.864\times 10^5$ nM) 和 $1.0\sim 1.0\times 10^5$ ng/mL ($1.979\sim 1.979\times 10^5$ nM)。

我们将这些参数与其他类型传感器, 如电化学发光传感器和表面增强拉曼光谱传感器 (Surface-enhanced Raman Spectroscopic Sensor, SERS) 的参数进行了比较, 如表 2.3 所示。结果表明, 本研究构建的电化学免疫传感器检测线性范围宽, 检测限低, 表明本研究工作具有菊酯类农药检测的应用价值和小分子目标物检测的潜力。

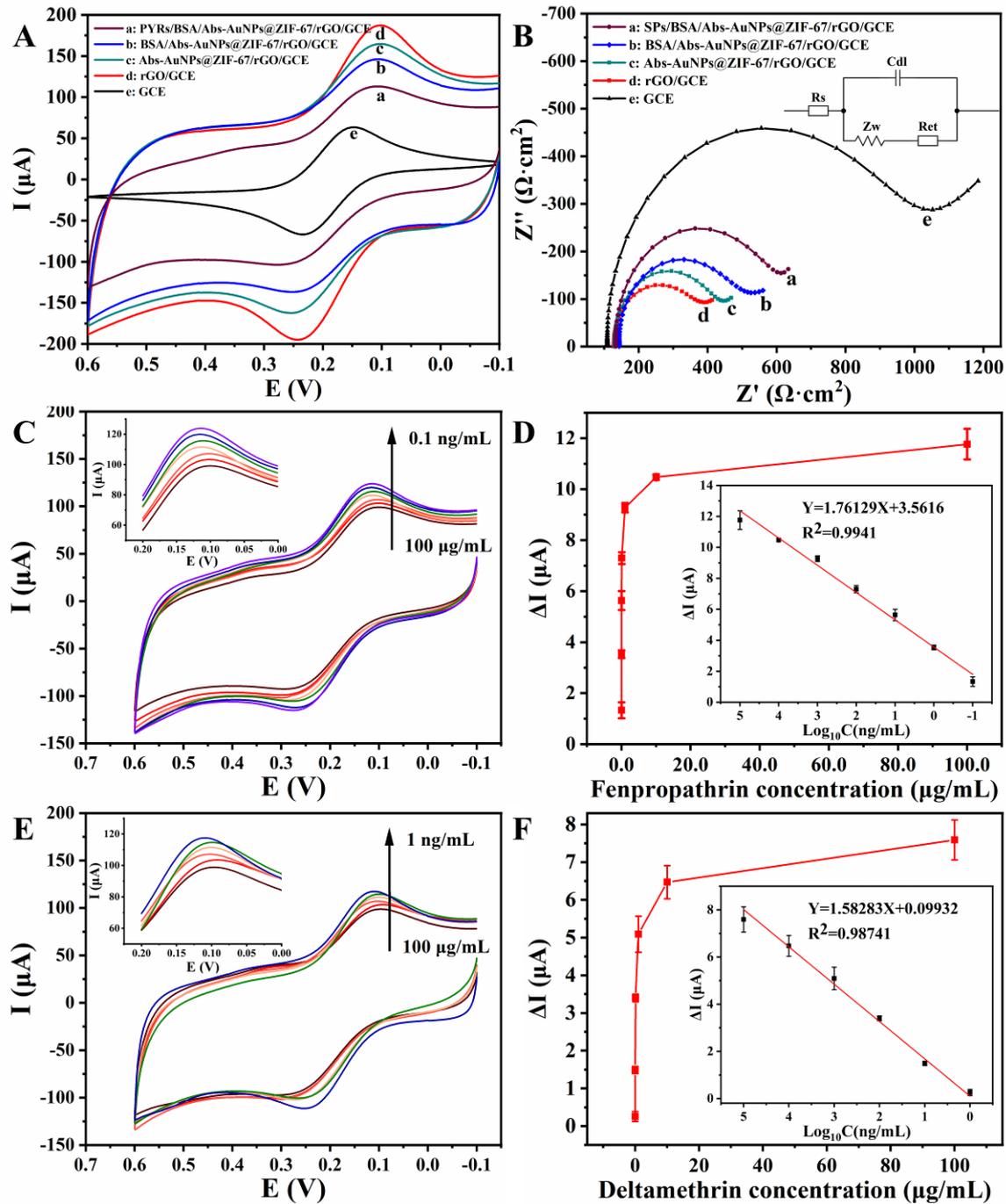


图 2.6 在铁氰化钾底液中传感器不同组装步骤的 CV (A) 和 EIS (B) 表征；不同浓度的甲氧菊酯 (0.1 ng/mL, 1 ng/mL, 10 ng/mL, 100 ng/mL, 1 μ g/mL, 10 μ g/mL, 100 μ g/mL) 的传感器 CV 曲线 (C)；不同浓度溴氰菊酯 (1 ng/mL, 10 ng/mL, 100 ng/mL, 1 μ g/mL, 10 μ g/mL, 100 μ g/mL) 的传感器 CV 曲线 (E)；甲氧菊酯 (D) 和溴氰菊酯 (F) 浓度的对数和 CV 强度间的线性关系
 Fig. 2.6 Characterization of different modification steps by CV (A) and EIS (B) in 5.0 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ containing 0.1 M KCl (pH 7.4). Typical CV curves of the developed sensor in with different concentrations of (C) fenpropathrin (0.1 ng/mL, 1 ng/mL, 10 ng/mL, 100 ng/mL, 1 μ g/mL, 10 μ g/mL, 100 μ g/mL) and (E) deltamethrin (1 ng/mL, 10 ng/mL, 100 ng/mL, 1 μ g/mL, 10 μ g/mL, 100 μ g/mL). The linear relationship between the CV intensity and the logarithm of the concentrations of fenpropathrin (D) and deltamethrin (F)

表 2.3 与其他类型的 PYRs 检测电化学传感器的比较
Table 2.3. Comparison with other types of electrochemical sensors for PYRs detection

检测方法	农药	检测范围 (nM)	LOD (nM)	参考文献
电化学发光 (ECL)	氯菊酯	2.6~4.3×10 ⁵	2.9	[43]
表面增强拉曼 (SERS)	氯菊酯	100.0~2.0×10 ⁵	3.5	[71]
表面增强拉曼 (SERS)	氟氯氰菊酯	46.052~2.302×10 ⁶	0.115	[72]
表面增强拉曼 (SERS)	氟氯氰菊酯	0.1~1.0×10 ⁴	0.1	[73]
表面增强拉曼 (SERS)	氯氰菊酯	10 ³ ~10 ⁶	10 ³	[74]
电化学检测方法	甲氰菊酯	0.286~2.864×10 ⁵	0.0258	本研究
	溴氰菊酯	1.979~1.979×10 ⁵	1.712	

2.4.4 电化学免疫传感器的性能测试

本研究的电化学免疫传感器的性能通过特异性、重现性和抗干扰性等重要指标进行评估。选择新烟碱类杀虫剂农药啶虫脒和吡虫啉 (图 2.7 A-e 和 2.7 A-f) 以及有机磷类农药丙溴磷和水胺硫磷 (图 2.7 A-g 和 2.7 A-h) 作为干扰农药, 以探索不同干扰物质在孵育前后传感器电化学响应信号的变化。图 2.7 A-j 显示了在没有靶标的情况下的混合溶液。图 2.7 A-c 显示了菊酯类 (甲氰菊酯) 和非菊酯类 (啶虫脒、吡虫啉、丙溴磷、水胺硫磷) 混合溶液的检测结果。图 2.7 A-d 显示了菊酯类 (溴氰菊酯) 和非菊酯类 (啶虫脒、吡虫啉、丙溴磷、水胺硫磷) 混合溶液的检测结果。图 2.7 A-i 显示了标准溶液混合物的数据 (甲氰菊酯、溴氰菊酯、啶虫脒、吡虫啉、丙溴磷和水胺硫磷)。相对较小的 ΔI 值表明金标抗体探针很难与这些干扰农药分子结合。与非靶标物体不同, 图 2.7 中的 A-a、A-b、A-c 和 A-d 分别显示了相对较大的 ΔI 值, 由此可证明该电化学免疫传感器具有良好的抗干扰性和特异性。为了验证所构建的电化学免疫传感器的重现性, 在相同条件下制备了四个不同电极的电化学免疫传感器, 分别检测 6.00 ng/mL 和 1.00 $\mu\text{g/mL}$ 甲氰菊酯和溴氰菊酯。四个电极的相对标准偏差 (Relative Standard Deviation, RSD) 分别为 1.63% 和 2.26%, 表明该电化学免疫传感器在重现性方面表现良好 (图 2.7 B)。

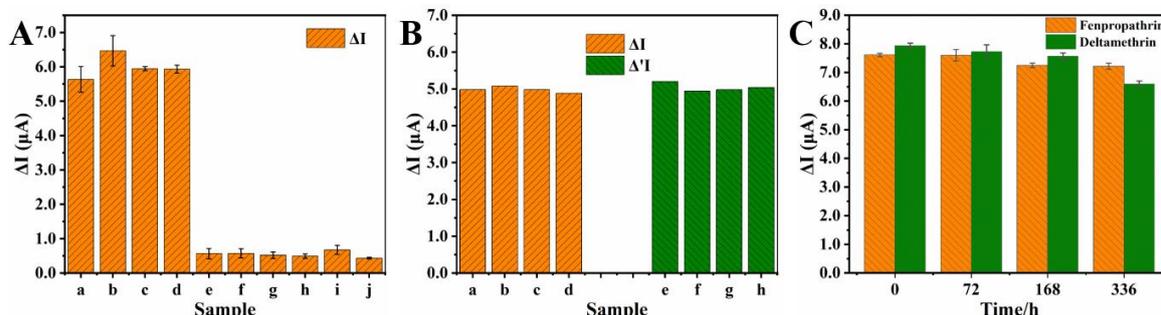


图 2.7 (A) 免疫传感器的特异性; (B) 免疫传感器的重现性; (C) 免疫传感器的稳定性
Fig. 2.7 (A) Specificity of immunosensor. (B) Reproducibility of immunosensor. (C) Stability of immunosensor

本研究还测试了电化学免疫传感器的稳定性: 将制备的电化学免疫传感器在 4°C 下储存, 并在 0 h、72 h、168 h 和 336 h 后进行测试。甲氰菊酯和溴氰菊酯电化学免疫传

传感器的电化学信号分别为初始信号的 94.83%~99.82%和 83.19%~97.48%，所构建的电化学免疫传感器表现出良好的稳定性（图 2.7 C）。

2.4.5 PYRs 的实际样品检测

用于本项实际样本测试的生菜和娃娃菜从当地超市采购,使用气相色谱-质谱联用仪器分析技术检测后未检出菊酯农药残留。于是采用标准加入法在样品中加入不同浓度的甲氰菊酯及溴氰菊酯标准溶液以进行加标回收率测试。通过预处理后的样品进行加标试验结果如表 2.4 所示,回收率为 93.69%~102.11%,相对标准偏差为 1.27%~4.38%。结果表明,用该方法构建的电化学免疫传感器具有较高的回收率和较低的 RSD。表 2.4 显示,构建的电化学免疫传感器的回收率大于 90%。气相色谱-质谱联用技术 (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS) 检测结果如表 2.5 所示。结果表明,所制备的电化学免疫传感器具有较高的特异性和良好的重复性,在蔬菜中甲氰菊酯和溴氰菊酯的检测具有很大的应用潜力。

表 2.4 样品中传感器的回收率 (n=3)
Table 2.4 Recovery of the sensor in samples (n=3)

样品	农药种类	加标量(ng/mL)	测量值 (ng/mL)	RSD (%)	回收率 (%)
		0	0	-	-
生菜	甲氰菊酯	100.00	93.69	1.85	93.69
		1000.00	1021.07	4.38	102.11
		0	0	-	-
娃娃菜	溴氰菊酯	71.70	68.22	1.54	95.15
		717.00	726.83	3.61	101.37
		0	0	-	-
娃娃菜	甲氰菊酯	100.00	98.73	2.64	98.73
		1000.00	997.12	2.59	99.71
		0	0	-	-
娃娃菜	溴氰菊酯	71.70	70.62	1.27	98.49
		717.00	708.93	3.23	98.87

表 2.5 GC-MS 检测结果 (n=3)
Table 2.5 Detection results for GC-MS

样品	农药种类	加标量 (ng/mL)	测量值 (ng/mL)	RSD (%)	回收率 (%)
生菜	甲氰菊酯	0	0	-	-
		100.00	110.21	2.62	110.21
娃娃菜	溴氰菊酯	0	0	-	-
		71.70	76.20	5.30	94.01

2.5 本章小结

本研究采用一步湿化学法合成了 Abs-AuNPs@ZIF-67 金标探针并构建了一种新型的基于该金标探针的电化学免疫传感器,用于蔬菜中甲氰菊酯和溴氰菊酯的快速检测。首先 Abs-AuNPs@ZIF-67 金标探针由 PYRs 抗体和信号放大元件耦合而成,然后将 Abs-AuNPs@ZIF-67 探针固定在 rGO 修饰的 GCE 电极表面以制备电化学免疫传感器。该方法增强了金标抗体在电极表面的均匀分散效果,提高了广谱抗体的固定化水平。在最佳实验条件下,甲氰菊酯和溴氰菊酯浓度与电化学信号表现出了良好的相关性,线性相关系数分别为 0.9941 和 0.9874。甲氰菊酯和溴氰菊酯的检测范围分别为 $0.286\sim 2.864\times 10^5$ nM 和 $1.979\sim 1.979\times 10^5$ nM。甲氰菊酯和溴氰菊酯的检测限分别为 0.0258 nM 和 1.712 nM。在加标样品回收实验中,电化学免疫传感器显示出较高的回收率(93.69%~102.11%)。本研究所构建的电化学免疫传感器具有较高的选择性和稳定性。这项工作制备了一种新型金标抗体探针用于快速检测蔬菜中拟除虫检测菊酯农药,并为用于检测其他农药和小分子靶标的电化学免疫传感器的构建提供了参考思路。

第三章 基于三电极系统的便携式单路恒电位仪的开发

3.1 引言

便携式检测仪能快速检测出各种农产品中农药残留,广泛应用于蔬菜瓜果、药材、水产品、肉制品、腌菜类等检测,电化学生物传感器应用于农药残留的监测已引起了人们的广泛关注^[75],在各种农药残留检测技术中,经典技术如实验室用的大型气相、液相色谱仪,虽然检测精度高,但操作复杂,成本高昂,且难以实现现场快速检测;而现有的快速检测产品往往存在精度不高、设备结构复杂、不易操作等问题,相比传统的高效液相、气相色谱以及其他实验室检测方法,电化学生物传感器具有检测速度快、容易操作,价格低廉、灵敏度高等优点;并且经过微型化改造的、用生物传感器制作的农药残留检测仪容易携带,便于在户外进行实地检测。便携式恒电位仪的核心即为基于三电极系统的单路恒电位仪^[76],本研究基于此需求开发了一套基于三电极系统的便携式单路恒电位仪。

近年来,食品中农药残留事件呈高发态势,食品安全检测领域的农药快速检测成套技术具有巨大的需求,同时对仪器产品检测拟除虫菊酯农药残留的有效性、及时性、准确性及可靠性等也提出了更高的要求。与上述方法相比,电化学分析法具有分析仪器装置简单,体积小,价格低廉且恒电位仪测量原理简单,其测量的信号是电位、电流等电信号,可直接采集信号并进行记录的优点^[32,77-79]。其信号发生装置和信号采集装置都是常用电器元件,价格便宜,当前,基于恒电位仪的快速检测仪正逐步向自动化、便携式、小型化的方向发展^[75,77],使居民大规模应用电化学分析检测仪器成为可能。电化学分析方法快速、准确、灵敏,测定拟除虫菊酯类农药的浓度甚至可以低至 10^{-12} mol/L,可满足实现现场连续分析的需求^[77]。

而便携式检测仪的核心是便携式单路恒电位仪,基于此类需求,故而研发出一种基于三电极系统的便携式单路恒电位仪,以满足国内环境和食品安全快速检测的需要。研制经过微型化改造、使用生物传感器构建的农药残留检测仪容易携带,便于蔬菜中农药实时检测,对农产品安全和食品安全具有重大的意义。所以便携式单路恒电位仪的研发具有重大的意义。

3.2 恒电位仪的检测原理

循环伏安法是在电极之间施加一定电势的条件下测量电流改变的一种常用的电流型电化学分析方法,是一种常用的恒电位仪的检测功能方法^[80-84]。便携式恒电位仪在三电极系统的 CE 施加一个正负相交替的三角脉冲电压,同时在每一个电压点采集相应的电流信号并进行记录。该循环伏安曲线可分为还原曲线和氧化曲线上两部分,分别对应于三角波的下降段和上升段^[85]。电解质中存在氧化态 O , 与还原态 R 。循环伏安检测

技术测试电位向负相移动时在工作电极表面产生还原反应，如式 3.1 (ne 为电子， R 为还原态)：



而电位向正相移动时，还原产物在工作电极上被重新氧化，如式 3.2：



因此在一次三角脉冲波的扫描之后，在工作电极的表面完成了一次还原和氧化过程的循环，通过记录循环伏安曲线能够实时监测其电极表面的电化学反应过程，为其工作电极表面的电化学反应行为提供了丰富的观测分析信息来源。本研究使用循环伏安法来实现基于电化学参数分析在便携式恒电位仪系统中的电化学检测和分析。

循环伏安检测过程中产生的氧化和还原电流大小与电解质溶液中目标分析物的浓度成线性关系。便携式恒电位仪系统采用循环伏安法作为主要的电化学检测方法，故下位机的硬件电路设计和软件设计应均基于循环伏安法的工作原理和循环伏安曲线的形成。

3.3 便携式电化学检测恒电位仪总体方案

恒电位仪是电化学分析和测试中的重要仪器^[86-88]，通过恒电位仪电路控制对电极电位的变化，以达到电化学检测的目的，是电化学分析技术的核心功能电路。本研究所开发的电化学恒电位仪总体方案包含电压跟随器、电流跟随器、加法器、减法器、微控制单元、数模转换单元、模数转换单元、数据采集电路单元、输出信号低通滤波电路单元、I/V 信号转换单元、运算放大电路单元、脉冲信号低通滤波电路单元、脉冲信号发生器电路单元、多通道继电器单元等。

首先通过主控芯片 (Micro Control Unit, MCU) 控制脉冲信号发生器，经数模转换模块 (Digital to Analog Converter, DAC) 产生周期为 20 s，振幅为 700 mV 的三角脉冲波，进而通过集成的减法器电路在一个基准电压下对其进行电位下移，使其成为正负相交替的三角脉冲波，达到三电极循环伏安检测技术的设计需求。

该便携式单路恒电位仪通过高精密仪器仪表运放将正负相交替的三角脉冲波施加于三电极系统，该便携式单路恒电位仪的 CE 电极和 WE 电极之间形成一个闭合回路，RE 电极和 CE 电极之间形成一个反馈回路，通过滤波模组实现低通滤波，降低信号的噪声干扰。通过 I/V 转换后经增益放大电路放大并采集其电流信号，进而通过模数转换对其电压进行采样、量化、编码。进一步的，将其采集到的信号送入微处理器进行数据处理。

通过对三电极系统施加一个正负相交替的三角脉冲扫描电压^[89]，电流信号通过恒电位仪实现电化学分析，并将电流信号经 I/V 转换后再经放大电路放大以便测量其微弱的电流信号，然后通过单片机模数转换模块 (Analog to Digital Converter, ADC) 对恒电位

仪中的电位信号进行接收采集处理，然后经通过串口通讯将数据信息和图表实时显示在串口屏（Human and Machine Interface, HMI）上。

3.3.1 三电极系统的设计

本研究开发的便携式单路恒电位仪的三电极系统包括 CE 电极、WE 电极和 RE 电极。随着电化学反应的进行，三电极体系中 WE 电极与 RE 电极之间的电势将会偏离反应之前的设定值，故而，为了保证工作电极相对于参比电极的电势不变，必须使用恒电位电路系统来不断调节施加在它们之间的电势，从而使电化学反应过程中两电极之间的电势保持恒定^[90]。恒电位电路在整个电化学分析检测过程中起到非常关键的作用，恒电位电路的两个主要作用分别是：第一，使施加在参比电极和工作电极之间的电位保持恒定；第二，将电极反应产生的电流从对电极引出，构成电流回路。

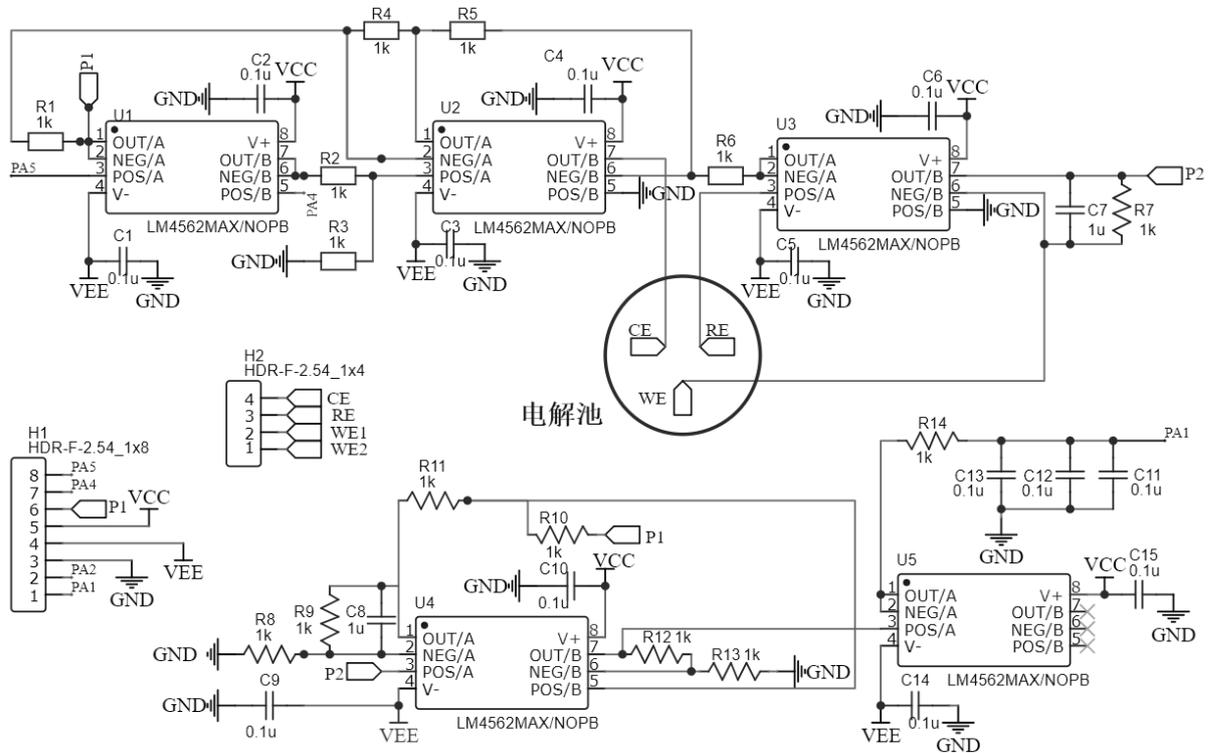


图 3.1 单路恒电位仪电路设计

Fig. 3.1 Circuit design of single-channel potentiostat

应用于电化学反应三电极系统的循环伏安技术的电位范围为-0.1~0.6V，该微控制器的 ADC 和 DAC 的电压采集和施加信号范围为 0 V~3.3 V，故而需要使用减法器电路将 DAC 施加的激励信号进行电位下移，从而实现产生负向的电压，达到三电极循环伏安检测技术的需求。然后在 WE 端采集的信号会因此存在负相电位，此时还需要使用加法器电路将 WE 端采集的电信号进行电位抬升，达到微控制器的 ADC 电压采集范围，满足其电化学三电极系统的循环伏安检测需求。本研究开发的基于三电极系统的便携式单路恒电位仪的电路图如图 3.1 所示。

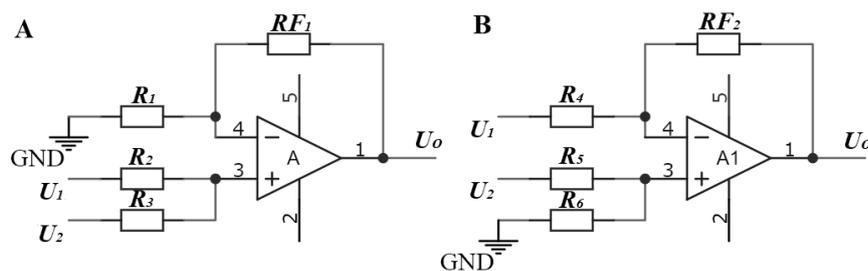


图 3.2 加法器电路 (A) 与减法器电路 (B)

Fig. 3.2 Adder circuit (A) and subtracter circuit (B)

加法器电路用于可变电压的电路, 可将 U_1 处的电压进行电位上移, 运算放大器、电阻 R_1 、 R_2 、 R_3 和 RF_1 组成了加法器电路, 加法器电路的正输入端接 U_1 , 基准电压从 U_2 端接入, 加法器电路的输出端为 U_o , 由于 U_2 处的电压为实时变化的电压, 因此, U_o 输出端的电压可随着 U_2 电压变化而进行实时上移处理, 从而实现实时利用加法器电路输出电位上移后的目标电压, 如图 3.2 A。减法器电路输出端电压计算如下式:

$$U_o = \frac{RF_1}{R_1} U_1 + \frac{RF_1}{R_2} U_2 \quad (3.3)$$

如果取 $R_1=R_2=R_3$, 则, $U_o=U_1+U_2$ 。

而减法器电路是用于提供可变电压的电路, 可将 U_2 处的电压进行电位下移, 运算放大器、电阻 R_4 、 R_5 、 R_6 和 RF_2 组成了减法器电路, 减法器电路的正输入端接 U_2 , 基准电压从 U_1 端接入, 减法器电路的输出端 U_o , 由于 U_2 处的电压为实时变化的电压, 因此, U_o 输出端的电压可随着 U_2 电压变化而实时产生变化, 从而实现实时利用减法器电路输出电位下移后的目标电压, 如图 3.2 B。减法器电路输出端电压计算如下式:

$$U_o = \frac{RF_2 + R_5}{R_4} \times U_1 - \frac{R_6}{(R_4 + RF_2)R_5} U_2 - \frac{RF_2}{R_6} U_2 \quad (3.4)$$

若 $R_4=R_5$, $R_6=RF_2$, 则输出电压为:

$$U_o = (U_1 - U_2) \frac{RF_2}{R_4} \quad (3.5)$$

若 $R_4=R_5=R_6=RF_2$, 则输出电压 $U_o=U_1-U_2$ 。

3.3.2 电解池的等效电路

研究开发便携式电化学分析测试单路恒电位仪设备, 最基本测试设备的工具需求是一个稳定可靠的模拟电解池电路。电解池在电化学脉冲信号的激励下, 其底液会产生各种电化学反应, 这是一系列非常复杂的反应系统, 整个系统的电解反应不能等同于简单的电路模型。但是如果仅仅从探究微小电位变化下的电解池反应状态的角度进行研究, 从调试测试其电化学分析测试设备的方面考虑, 可以采用电子元件组成的简化电路来模拟电解池。

我们利用三电极系统监测其反应体系的电化学信号的变化的时候, 在 CE 端施加一

个激励电压信号，电解池内存在一定电容可等效为电容器，同时电解池中的底液、电极表面和电极自身也存在一定的电阻，可等效为电阻器。由此可以将电解池简单等效为由电容电阻组合而成的电解池等效电路，如图 3.3 所示。 R_{WE} 表示工作电极和参比电极间的等效电阻， C_{WE} 表示工作电极和参比电极间电容， Z_{CE} 表示参比电极和对电极之间的等效电阻， C_{CE} 表示参比电极和对电极之间的等效电容，溶液电阻可等效为 R_S 电阻。实际可将图 3.3 A 所示的等效电路可以进一步简化为图 3.3 B 的形式。

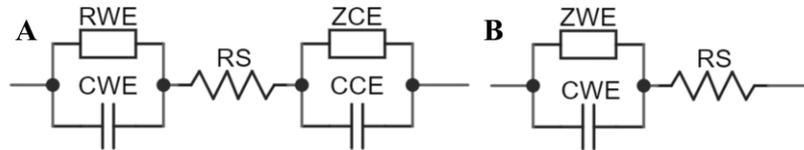


图 3.3 底液等效电路 (A)；底液简化等效电路 (B)

Fig. 3.3 Equivalent circuit of bottom liquid (A); Simplified equivalent circuit of bottom liquid (B)

3.3.3 重要器件选型与设计

3.3.3.1 主控芯片的选型

本研究开发的便携式单路恒电位仪对主控芯片的响应速率、数模转换和模数转换的速率的要求很高，需要在采集微弱电信号的同时，还要进行信号放大和数据处理，并且有低噪声的需求，还要有合适的串口和屏幕进行实时通讯，以进行数据的展示和存储、上传等功能，因此本研究开发的便携式单路恒电位仪对主控制器的性能要求较高。

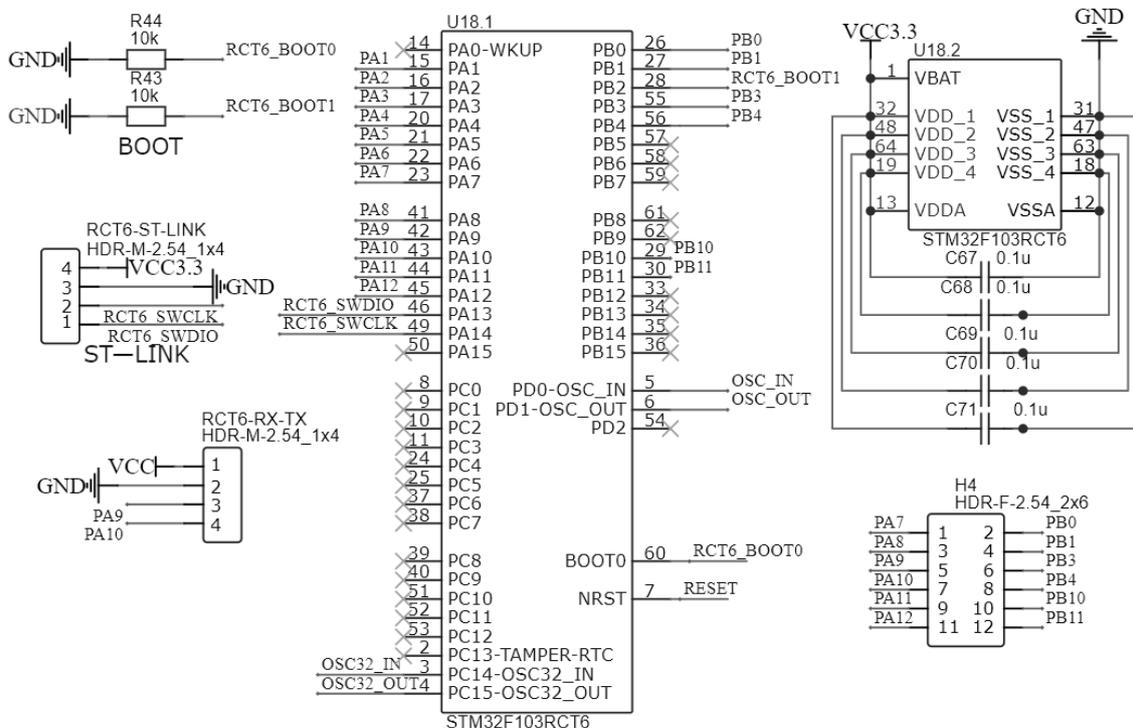


图 3.4 主控芯片及最小系统电路

Fig. 3.4 Main control chip and minimum system circuit

为满足以上的功能需求，本研究采用基于 Cortex-M3 架构的 STM32F103RCT6 嵌入式主控芯片作为该便携式单路恒电位仪的微控制器。该芯片的主频达到 72 MHz，具有丰富的系统资源，具有高精度的 12 位 ADC，ADC 的转换时间在最大时钟频率 72 MHz 下可以达到 1.17 us，满足了单路恒电位仪的设计需要。如图 3.4 所示为微控制器最小系统。

3.3.3.2 运算放大器的选型

信号放大模块对恒电位仪采样的精度有着重要影响，本研究采用超低失真、低噪声、高转换率、高精密度运算放大器 LM4562 作为便携式单路恒电位仪的核心运放芯片。LM4562 具有在 $\pm 2.5\text{ V} \sim \pm 17\text{ V}$ 的宽电源范围下工作的能力，其转换率高达 $+20\text{ V}/\mu\text{s}$ ，输出电流能力为 $+26\text{ mA}$ ，其直流增益线性误差 0.000009% 。LM4562 运放具有极低的电压噪声密度 ($2.7\text{ nV}/\text{Hz}$) 和极低的总谐波失真+噪声 ($\text{THD+N}=0.00003\%$)，且该型运放具备卓越的共模抑制比 (120 dB) 和电源抑制比 (120 dB) 可轻松满足最苛刻的应用场景。LM4562 运算放大器具备了优秀的直流特性，这些特性使得 LM4562 特别适用于高增益的测量设备和放大传感器的微弱信号处理等方面，特别匹配于本研究的单路恒电位仪的设计需求。

3.3.3.3 电源电路设计

电源电路是整个便携式单路恒电位仪的能量来源，该部分设计的好坏直接影响整个单路恒电位仪是否性能完善、能否稳定运行。由于电路中的多数集成运放有双电源供电需求，本研究开发的电源电路采用基于 TPS5430 芯片的双电源供电电源电路设计，具备小型化、稳定可靠的特点，非常适合便携式检测设备设计开发的需要。本研究采用的双电源开关电源电路图如图 3.5 所示。

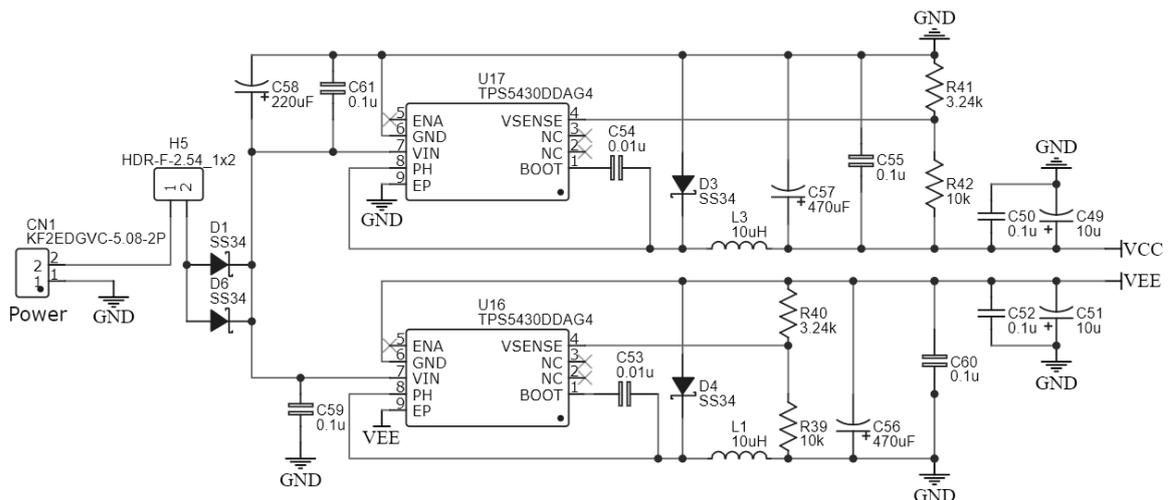


图 3.5 本研究所使用的开关电源电路

Fig. 3.5 Switching power supply circuit used in this study

3.3.3.4 I/V 转化电路设计

恒电位仪的 WE 端接收到的电流非常的微小，一般在 μA 级甚至 nA 级，因此电化

学信号的关键即将微弱的电流信号转换成可以准确测量的电压信号，加以放大进行测量并减少其误差。本研究采用的 I/V 转化电路选用运算放大器搭建如图 3.6 所示。

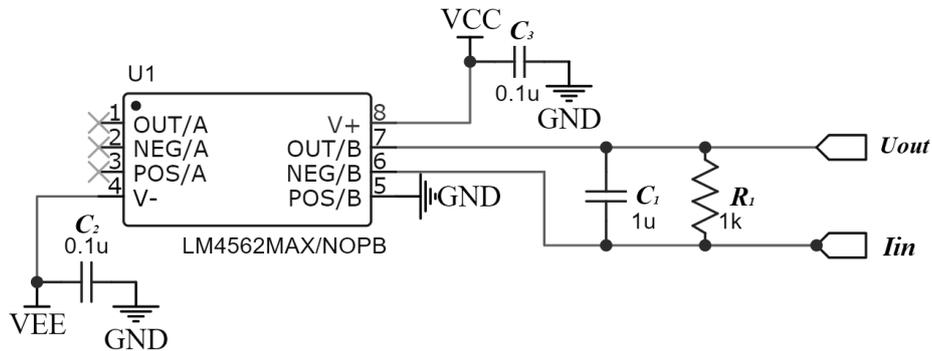


图 3.6 本研究所搭建的 I/V 转换电路

Fig. 3.6 I/V conversion circuit built in this study

图中所示将电容与电阻并联以消除运放的输入感抗，电路要求的运算放大器失真度要低、背景噪声要低、转换速率要高。因此本研究选用超低失真、低噪声、高转换速率的运算放大器 LM4562，能可靠的对电流进行高速转换，该 I/V 转化电路的输出端电压可从下式得出：

$$U_{out} = -I_{in} \times R_f \tag{3.6}$$

式中， I_{in} 为输入端电流， U_{out} 为输出端电压， R_f 为跨阻阻抗。

3.3.4 滤波降噪设计

本研究为降低功能模块中运放在通断瞬间产生的冲击电流干扰，在电路设计初期即采取了相应防护措施，在每个功能运放模块的双电源引脚与地线间加入一个滤波电容。

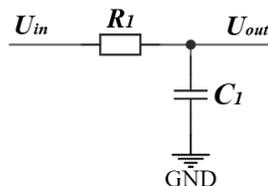


图 3.7 低通滤波电路

Fig. 3.7 Low pass filter circuit

基础低通滤波电路在项目设计开发中较常使用，如图 3.7。该低通滤波器的主要作用是通过其频率在截止频率 f_c 以下低频段信号的同时滤除掉高于截止频率 f_c 的信号。在信号输入端 U_{in} 的频率低于截止频率 f_c 时，由于此时 C_f 的电容容抗很大对其通过的信号并不进行分流。当 U_{in} 进入的信号频率高于截止频率 f_c 时，由于此时的 C_f 容抗已很小，会将通过 R_f 的高频信号从由 C_f 处分流至接地（Ground, GND）端。该 RC 低通滤波器的截止频率 f_c 由下式决定：

$$f_c = \frac{1}{2\pi R_f C_f} \tag{3.7}$$

式中变量 f_c 为截止频率， R_f 为电阻阻值， C_f 为电容容值。

3.3.5 印制电路板的设计

本研究开发的基于三电极系统的便携式单路恒电位仪的印制电路板（Printed Circuit Board, PCB）遵循了电磁兼容性的设计原则。本研究在确保不影响系统各项功能参数性能的前提下进行了各项电磁兼容优化处理：

（1）在保证其系统稳定可靠的前提下，为降低噪声干扰在最大限度内减小了 PCB 板的尺寸，又满足了其整体系统便携的设计需求。

（2）对相关电路模组进行了优化布局，按照其电路电流信号导通的次序进行了合理优化排布。功能模块电路排布远离了开关电源电路，避免了开关电源产生的高频干扰信号对功能模块的电磁干扰。功能单元相关的元器件紧凑地靠在一起，保证了其布线合理有序，减少了电路电磁干扰。

（3）本研究开发的电路板使用元器件在同侧排布的双层板结构，有效降低了其单路恒电位仪的电磁干扰。

（4）外部时钟晶振会对功能电路模块产生一定的电磁干扰，本研究开发的单路恒电位仪中的外部时钟晶振附近不进行排线，避免了电信号受到振荡电路的电磁干扰。

本研究的 PCB 布局及实际焊接电路板如图 3.8。本研究开发的恒电位仪系统的 PCB 板设计全面考虑了电磁兼容性原则，较好地消除了噪声，使得电路抗电磁干扰得到了较大提升，增强了该电路的在复杂环境下的抗干扰能力，确保了该 PCB 板满足各项功能参数的最佳性能。

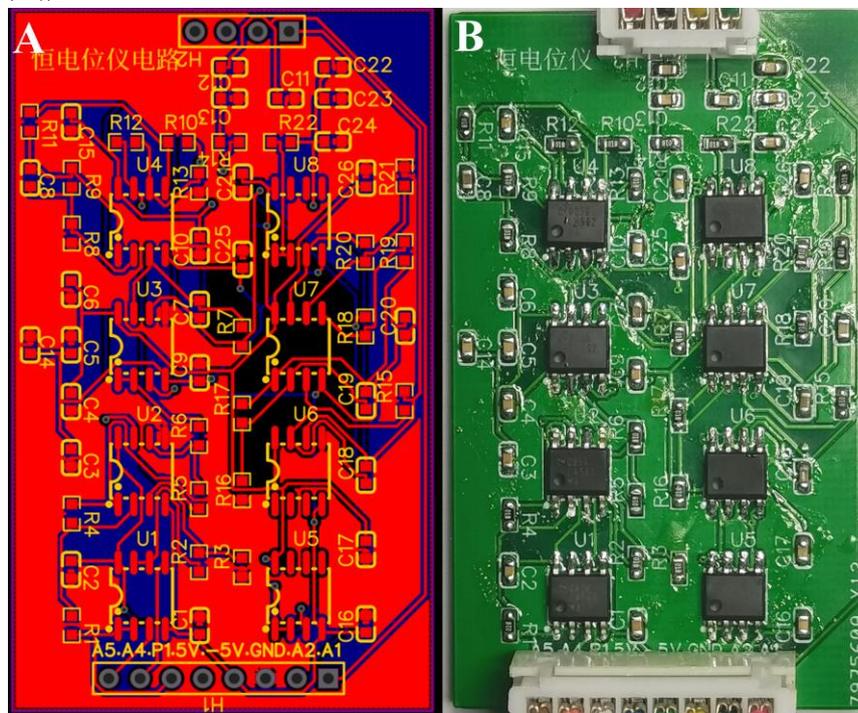


图 3.8 PCB 布局 (A) 及实际焊接电路板 (B)

Fig. 3.8 PCB layout (A) and actual welding circuit board (B)

3.3.6 检测系统嵌入式软件设计

嵌入式软件设计使用 Keil 5 进行嵌入式软件设计，整个系统整体逻辑如图 3.9。下位机和上位机之间使用串行接口电路进行串口通讯，本研究开发采用串口屏作为单路恒电位仪的上位机进行人机界面交互。使用波特率为 9600、采用 8 位数据、停止位为 1 的串口通信协议。在下位机程序中写入相关指令接收程序，在上位机程序中实现控件触发指令，从而可在上位机程序中点击相关控件向单片机发送相关指令来控制下位机的运作，规定其开始、停止检测指令分别为 57、58。由此实现了单片机与串口屏之间的通讯和上位机下位机间的有序联动（图 3.9）。

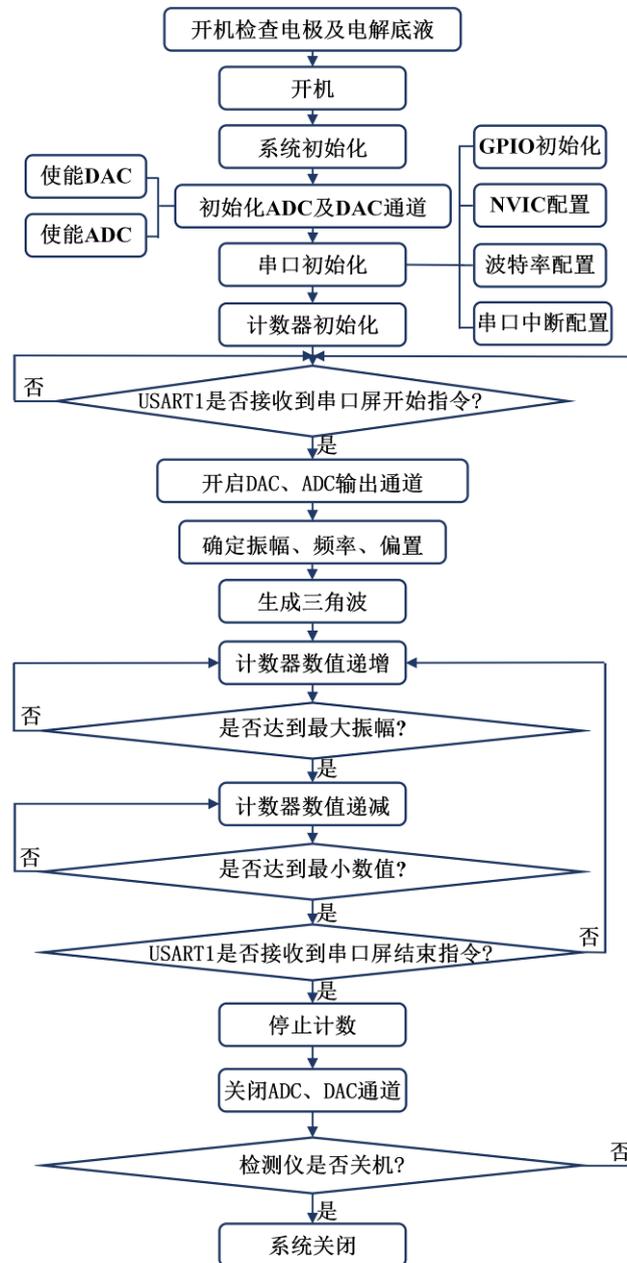


图 3.9 下位机主逻辑

Fig. 3.9 Main logic of the lower computer

3.3.7 恒电位仪仿真测试

恒电位仪电路仿真测试就是用仿真模拟软件对绘制完毕的电路图(图 3.10)进行功能仿真模拟测试,是一种优化电路设计和实时功能模拟的良好工具,可以根据仿真结果对后续的电化学进行针对性的改进和调整。本研究采用目前一款且研人员常用的性能优秀电路仿真测试软件 Multisim 14.2,其仿真元器件种类覆盖较全面且具有可视化交互仿真等优势。基于三电极系统的便携式恒电位仪电路仿真如下:

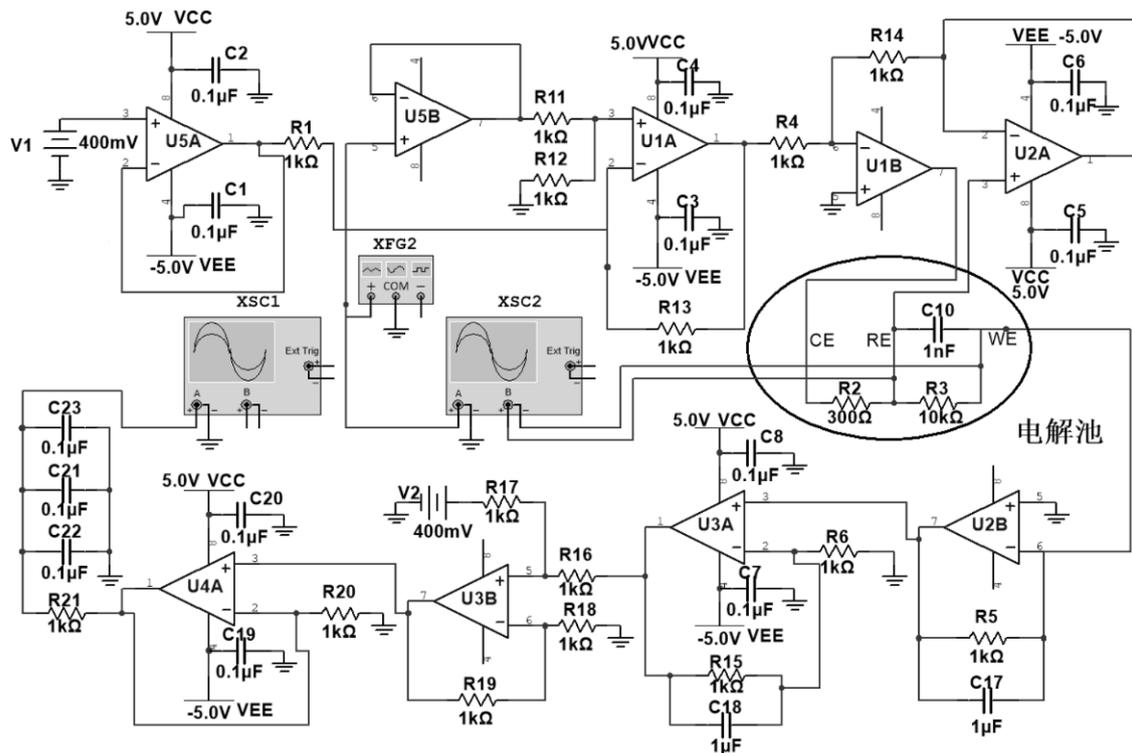


图 3.10 单路电化学恒电位仿真设计

Fig. 3.10 Single circuit electrochemical potentiostatic simulation design

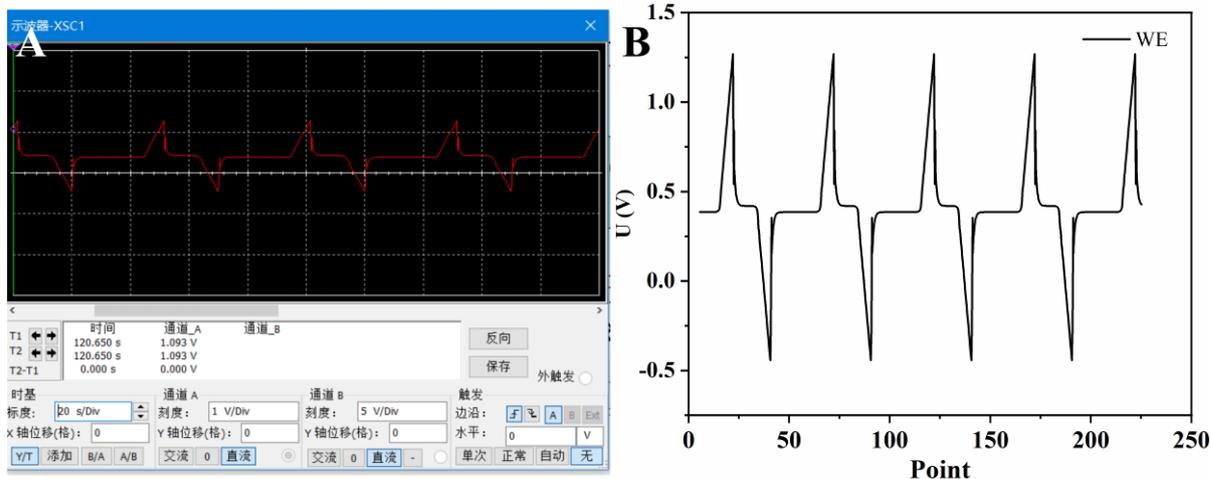


图 3.11 单路电化学恒电位输出端 Multisim 仿真结果

Fig. 3.11 Simulation results of single electrochemical potentiostatic output terminal Multisim

本研究的电路仿真实验(图 3.10)将电解池等效电路 R_3 的阻值的变化代表溶液的

阻抗变化，本研究将恒电位仪通过不同的 R_3 的阻值（10 k Ω 、20 k Ω 、40 k Ω ）进行电流瞬态仿真分析。为对本研究设计采用的基于三电极系统的便携式单路恒电位仪的瞬态达到理论值的响应速率及稳定性状况，采用周期为 100 Hz 的方波信号施加于恒电位电路的 CE 端，以达到驱动电压的目的（图 3.12）。 R_2 为 300 Ω 的等效电阻， C_{10} 为 1 nF， V_{in} 采用为 1.2 V 电压的方波脉冲信号（100 Hz），电路中 V_{out} 是四路恒电位系统的输出电压， V_{rw} 为 WE 与 RE 电极之间的电压差，实验表明该电路系统中 V_{rw} 在几微秒内的达到了恒定的理论值，随着阻值的不断变化，达到稳定的时间在极小的范围内稍增（0.000798~0.00273 s），其输出端单路电化学恒电位输出端 Multisim 仿真结果（图 3.11）具有典型的 WE 端电化学信号的特征，其仿真结果显示，该设备的瞬态响应速率较好且很快达到了理论电压值，其仿真测试的结果较为理想，可良好地给后续实际四路恒电位电路设计做出指导（图 3.12）。

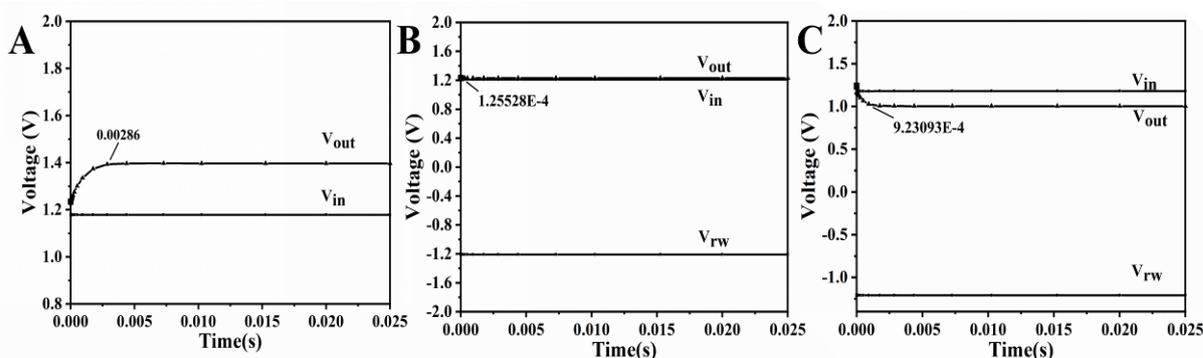


图 3.12 恒电位电路瞬态仿真分析图 (A), (B), (C) 分别为 R_3 分别为 10 k Ω , 20 k Ω , 40 k Ω 时的瞬态仿真图

Fig. 3.12 (A), (B) and (C) of the potentiostatic circuit are the transient simulation diagrams when R_3 is 10 k Ω , 20 k Ω and 40 k Ω , respectively

3.4 系统调试及性能测试

检测设备实验室阶段的系统调试和性能测试是评价检测仪性能的重要组成部分。本研究对便携式单路恒电位仪在装配、精度、稳定性、分辨率、对底液离子浓度的线性度和滤波噪声指标进行了性能评估测试。

3.4.1 基于三电极系统的便携式单路恒电位仪的装配

本研究开发的便携式单路恒电位仪如图 3.13 所示其基本规格为 180.00×170.00×55.00 mm，外部壳体部分采用 3D 光固化打印制备，为黑色生物基树脂材质。主要由两部分组成，恒电位仪主体部分包含主控板、锂电池、5 寸串口屏、玻璃质电解池，三电极系统部分包含 WE 电极、CE 电极、RE 电极以及各个电极接口端子。



图 3.13 研制的基于三电极系统的便携式单路恒电位仪

Fig. 3.13 Portable potentiostat based on three electrode system was developed

研制的基于三电极系统的便携式单路恒电位仪的数据接口为串口数据传输接口（图 3.14 A），反应池集成在便携式检测仪的侧方（图 3.14 B），设备总开关位于设备的左后侧（图 3.14 C）。设备整体集成程度高，总体小型化，单手可持，具备便携快速检测的能力。

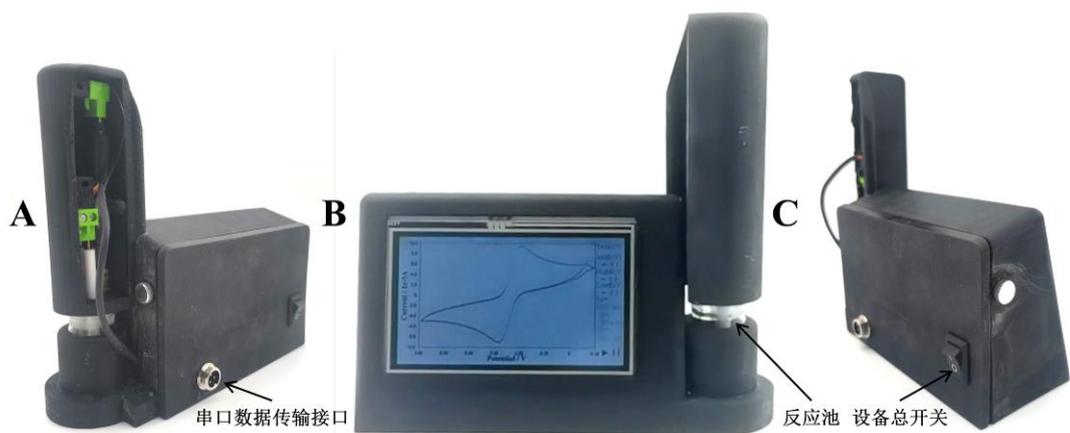


图 3.14 便携式单路恒电位仪实时检测图。(A)，(B)，(C) 分别为右后侧、正面、左后侧

Fig. 3.14 Portable single-channel potentiostat real-time detection diagram. (A), (B) and (C) are the right rear side, front side and left rear side respectively

本检测仪开机之后经过检测运行后从 CE 端检测到施加的正负相交替的标准三角脉冲波（图 3.15 A），从 WE 端采集到的信号如图 3.15 B 所示，具有明显的三电极系统特征。经过与标准电化学工作站的对比测试，两个裸电极的循环伏安法测定的图谱相近，具有明显的循环伏安功能特征，可进一步对其性能进行测试。

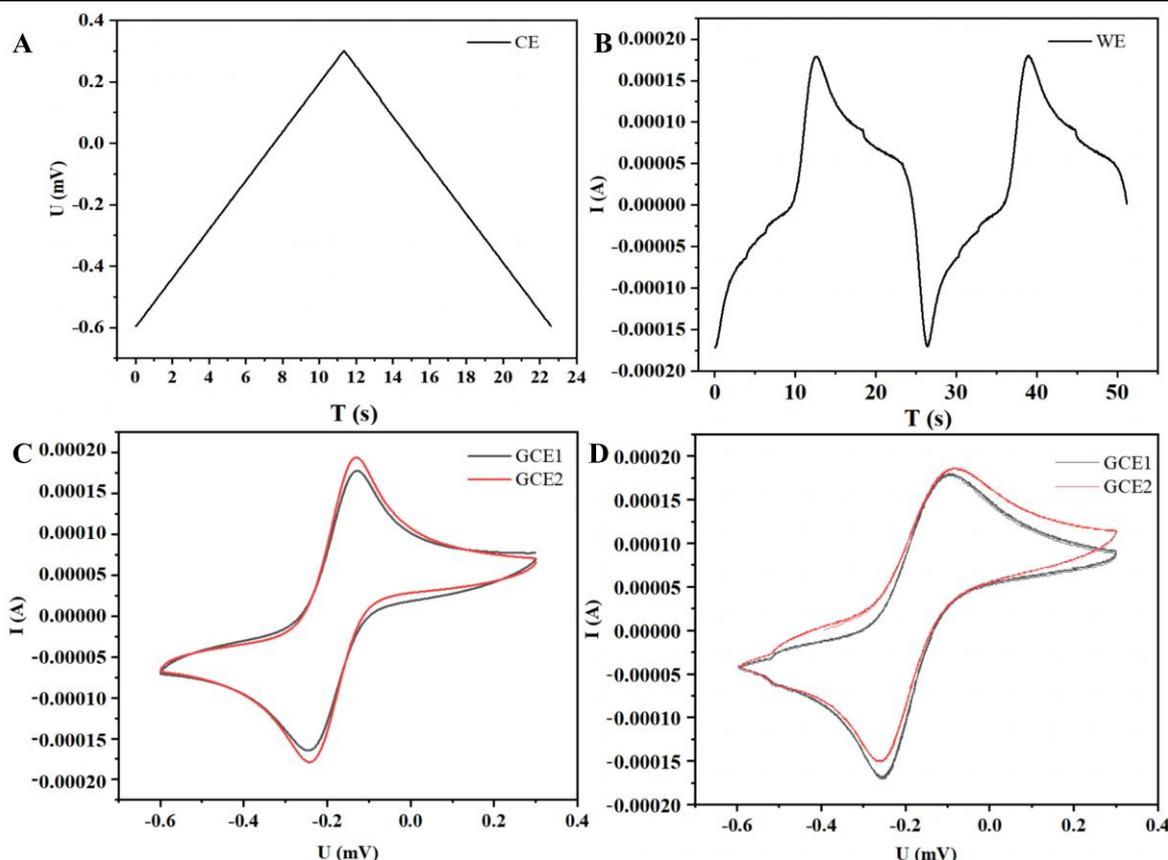


图 3.15 CE 端施加的正负相交替的三角脉冲波 (A)；WE 端采集的信号 (B)；(C)，(D) 分别为两个玻碳电极在电化学工作站和单路恒电位仪测试图

Fig 3.15 Delta pulse wave (A) with alternating positive and negative phases applied at CE end; Signal collected by WE terminal (B); (C) and (D) are the test charts of two glassy carbon electrodes in electrochemical workstation and single path potentiostat respectively

3.4.2 恒电位仪精度测试

基于三电极系统的便携式单路恒电位仪的精度测试是衡量该系统的精度的重要性能测试指标，精度表示的是其电流测量值与理论真实值间的接近程度，其测量值为单路恒电位仪的采集信号数值。在单路恒电位仪的电流测量范围内，间隔选取个 50 采样点且在每个点电流测量三次取平均值并求出每个点的电流测量值与理论值的最大相对误差、最小相对误差和平均相对误差。实验测定的具体的数据分析结果见图 3.16，其精度的相对误差统计值见表 3.1。

表 3.1 测试电流的相对误差表
Table 3.1 Test current relative error table

电流值范围 μA	最大相对误差 (%)	最小相对误差 (%)	平均相对误差 (%)
0.01~10.0	12.861	0.306	5.179
10.0~800.0	8.310	0.024	2.255

从表中可知，当电流较大，电流范围在 10.0~800.0 μA 时，本研究开发的基于三电极系统的便携式恒电位仪达到 2.255% 较低的平均相对误差，表明其在常用电流区间内的

精度较高。当电流极小时，电流范围在其 0.01~10.0 μA 时平均相对误差达到了 5.179% 较大，但是在此电流测量范围区间内处于单路恒电位仪循环伏安曲线的截止区，并不会对实际测量结果产生显著影响，因此本研究开发的便携式恒电位仪精度完全达到了设计需要。

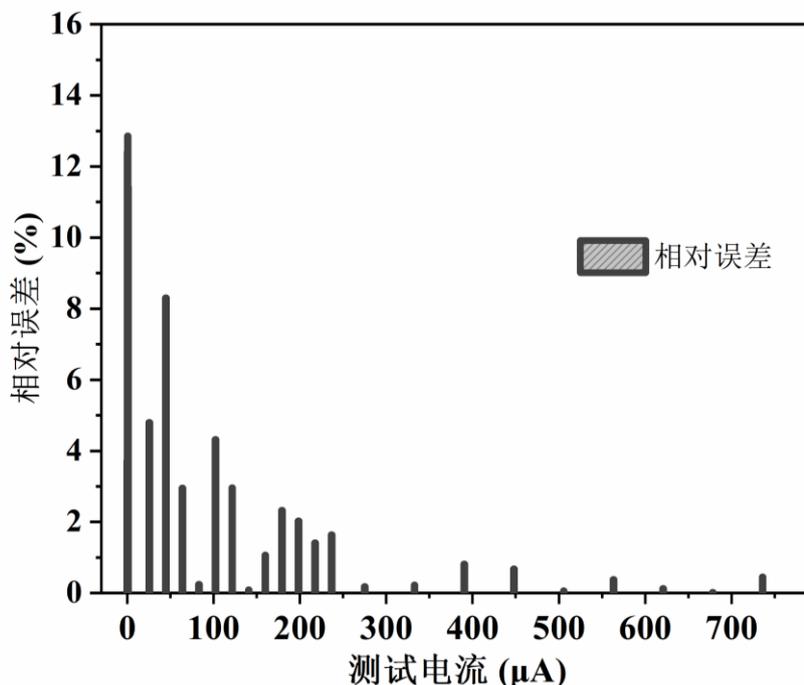


图 3.16 电流理论值与测量值的相对误差图

Fig 3.16 Diagram of relative error between theoretical and measured current values

3.4.3 恒电位仪稳定性测试

对基于三电极系统的便携式单路恒电位仪的系统稳定性进行了测试，本研究的系统稳定性测试包含恒电位仪的图谱峰值的稳定性以及多个 PCB 板的板间稳定性。

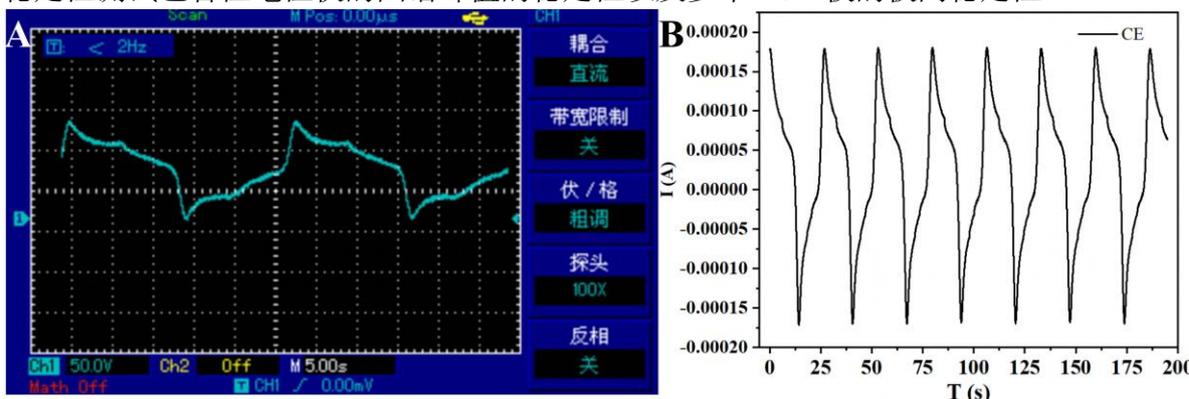


图 3.17 单路恒电位器电化学稳定性测试：(A) CE 端示波器测试；(B) 七次循环稳定性测试
 Fig 3.17 Electrochemical stability test of single channel potentiostat: (A) CE terminal oscilloscope test; (B) Seven cycle stability tests

首先测试恒电位仪的图谱峰值的稳定性，使用 5.0 mM 的铁氰化钾作为测试的标准底液。电化学 CV 环境在电位范围为-0.1~0.6 V，电位增量 35 mV/s，振幅 700 mV 的参

数下平行测量三次并取其电流平均值，分析 RE 电极与 WE 电极之间电压实际测量值和理论值的相关关系。具体的曲线图如图 3.17 所示。计算出来的氧化峰平均值为 0.0001854 A，还原峰为-0.0001504 A，氧化峰 RSD 为 0.395，还原峰 RSD 值为 0.311，表明其恒电位仪系统的稳定性较好。

表 3.2 单路恒电位器的电化学性能测试
Table 3.2 Electrochemical performance test of single channel potentiostat

相关峰	底液浓度 (ng/mL)	标准差 (A)	平均值 (A)	RSD (%)
氧化峰	5	7.3312×10^{-07}	0.0001854	0.395
还原峰	5	4.679×10^{-07}	-0.0001504	0.311

其次，进行多个便携式单路恒电位仪 PCB 板之间的稳定性测试，为了保证多个 PCB 板间性能一致，避免出现某个 PCB 板的稳定性出现较大偏差，避免在一个板子上建立的检测体系不适用于其他的单路恒电位仪，需进行多个 PCB 板的板间稳定性测试。本研究采用在相同的外部环境下和相同的底液浓度环境下进行循环伏安测试，四个单路恒电位仪 PCB 板使用循环伏安法测量三次并取平均值如图 3.18。实际测试可知四个相同的单路恒电位仪 PCB 板跑出的循环伏安图谱间的氧化峰、还原峰及氧化还原峰间的电位差相差极小，实测扫描电压的和理论电压值之间呈现良好的一阶线性关系，其 R^2 达到 0.99904，表明其单路恒电位电路工作良好，稳定性高，且板间稳定性能较好。保证了多个 PCB 板间性能一致，避免了某个 PCB 板出现较大偏差，测试得知本研究开发的单路恒电位仪具备良好的稳定性。

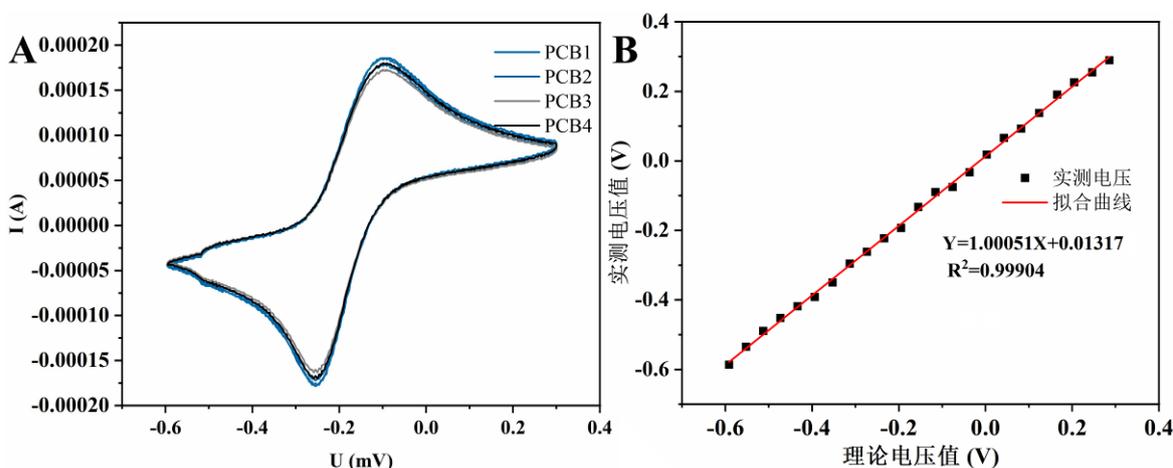


图 3.18 四块不同 PCB 板的平行测量循环伏安曲线 (A)；扫描电压的电压理论值与实测值 (B)

Fig 3.18 Parallel measurement cyclic voltammetry curves of four different PCB boards (A); Theoretical and measured voltage values of scanning voltage (B)

3.4.4 恒电位仪分辨率测试

本研究开发的基于三电极系统的便携式单路恒电位仪的设计可用电流测量范围为 0~0.8 mA。进行单路恒电位仪的性能测试需要对实际的测量范围内的恒电位仪的分辨率

进行测试。在 WE 端采集其电压信号并进行 I/V 转换，本研究通过不同的跨阻放大电路实现两个电流区间的信号放大和采集。在两个电流区间内每个测试点进行三次平行测量并取平均得到该测试电流区间内的实际测量电流值，在两个电流区间（0.01~10.0 μA、10.0~800.0 μA）内每个测试点的电流值的标准偏差大小可以反映出便携式单路恒电位仪的电流分辨率，该研究实验的测试结果与理论值的比较如图 3.19 所示。

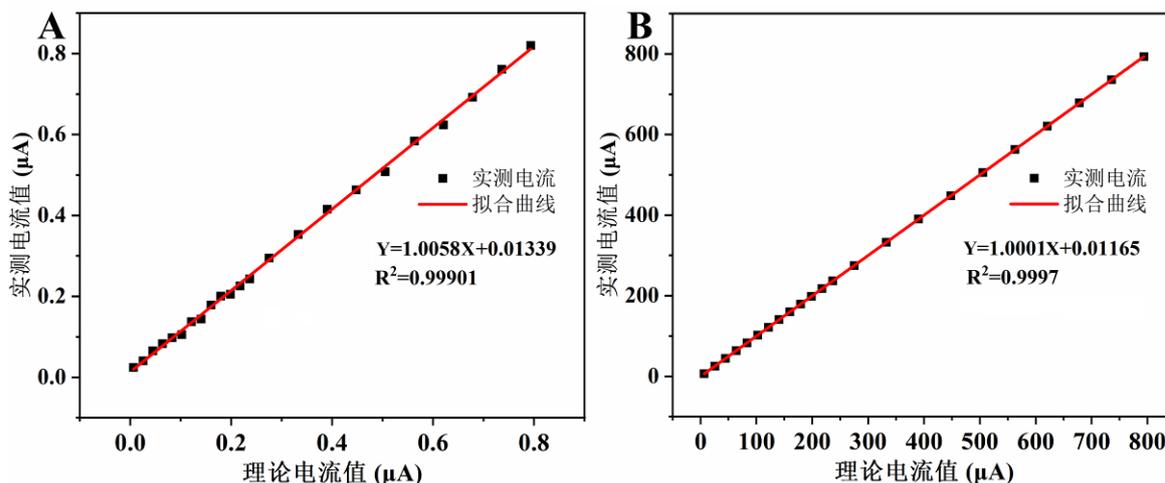


图 3.19 0.01~10.0 μA 电流测试结果 (A)；10.0~800.0 μA 电流测试结果 (B)

Fig 3.19 0.01 - 10.0 μA current test results (A); 10.0 - 800.0 μA current test results (B)

通过实验实际测试结果求出每个恒电位仪电流测试点的标准偏差如表 3.3 所示，从表中可以看出，各个区间的平均电流分辨率为 0.01920（0.01~10.0 μA）和 0.01751（10.0~800.0 μA），其电流分辨率较高较好地满足了功能需求。

表 3.3 测试电流的相对误差表

Table 3.3 Test current relative error table

电流值范围 (μA)	最大标准偏差 (μA)	最小标准偏差 (μA)	平均标准偏差 (μA)	电流分辨率 (μA)
0.01~10.0	0.81957	0.02415	0.31586	0.01920
10.0~800.0	0.63657	0.01933	0.32795	0.01751

3.4.5 底液离子浓度线性度测试

电化学分析的氧化峰及还原峰值受到不同浓度底液的影响，并呈现一定的线性关系，该项指标可以作为研究人员测试开发电化学分析设备的可靠性参数。本研究验证了基于三电极系统的便携式单路恒电位仪的电化学响应信号与底液浓度的相关线性关系，在不同浓度梯度的铁氰化钾溶液环境下探究了该设备循环伏安的响应信号与底液离子浓度之间的线性关系，实验表明该设备上表现出了较好的线性关系（如图 3.20 和图 3.21）。

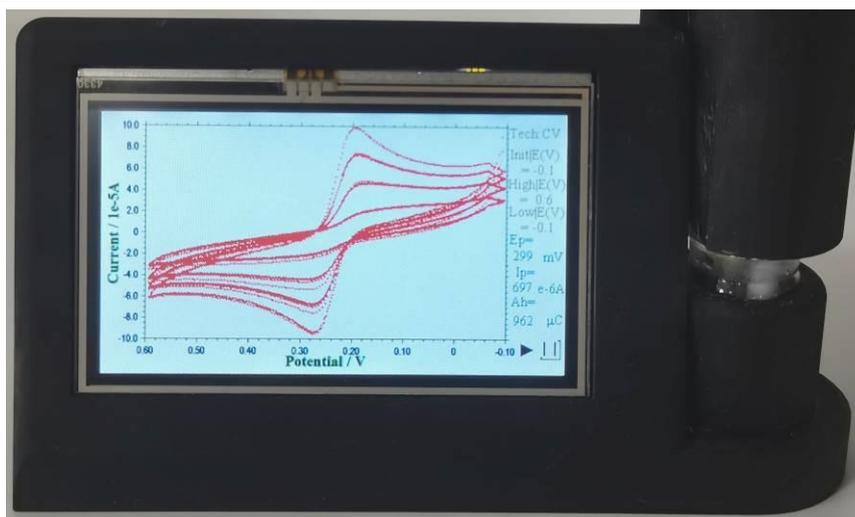


图 3.20 实测不同底液浓度下的循环伏安图

Fig 3.20 Measured cyclic voltammetry at different concentration of bottom liquid

为了验证基于三电极系统的便携式单路恒电位仪的循环伏安法能否正常工作且使用该设备测量的 CV 峰高能否正确反映出底液的阻抗大小，本研究测量了不同浓度梯度的底液环境下测定的循环伏安曲线的拟合相关系数，并将其作为验证基于三电极系统的便携式单路恒电位仪能否正常工作的基础，本研究对此设备进行底液离子浓度线性度测试：配置浓度分别为 1.0 mM、2.0 mM、3.0 mM、4.0 mM、5.0 mM 的铁氰化钾溶液，其电化学 CV 分析参数电位在 -0.1~0.6 V 的范围，其电位增量在 35 mV/s，振幅 700 mV，平行五次循环伏安测试并取平均值。

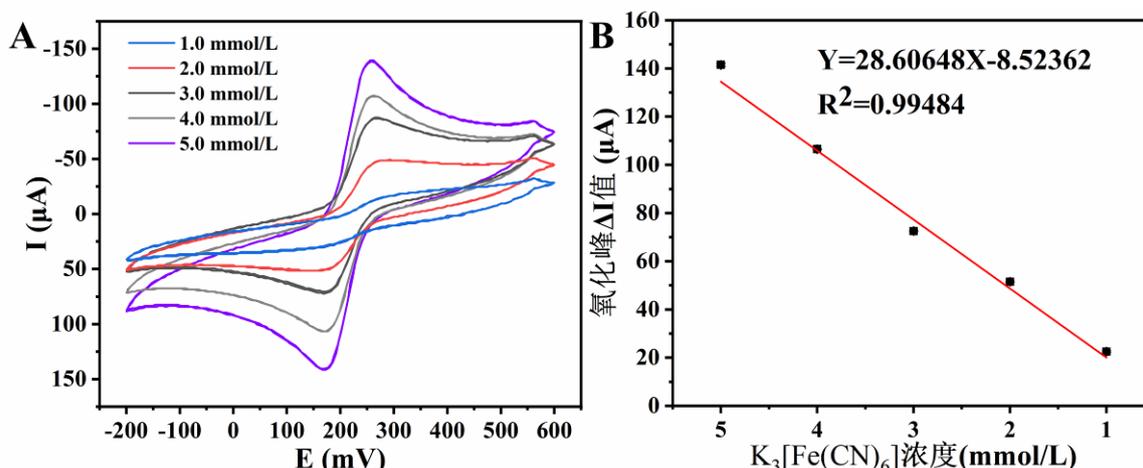


图 3.21 不同底液浓度下的循环伏安图 (A)；底液离子浓度与氧化峰电流值的线性关系 (B)

Fig 3.21 Cyclic voltammetry under different substrate concentration (A) and linear relationship between substrate ion concentration and oxidation peak current (B)

所得不同浓度梯度下的循环伏安曲线如图 3.21 A 所示。将五次测量的氧化峰峰值的平均值与底液浓度进行线性拟合，氧化峰峰高与浓度的线性关系如图 3.21 B 所示其相关系数 R^2 为 0.99484，表明基于三电极系统的便携式单路恒电位仪的电化学分析测试工作性能正常且在不同浓度底液中其电化学响应信号的线性相关度良好。

3.4.6 恒电位仪滤波降噪测试

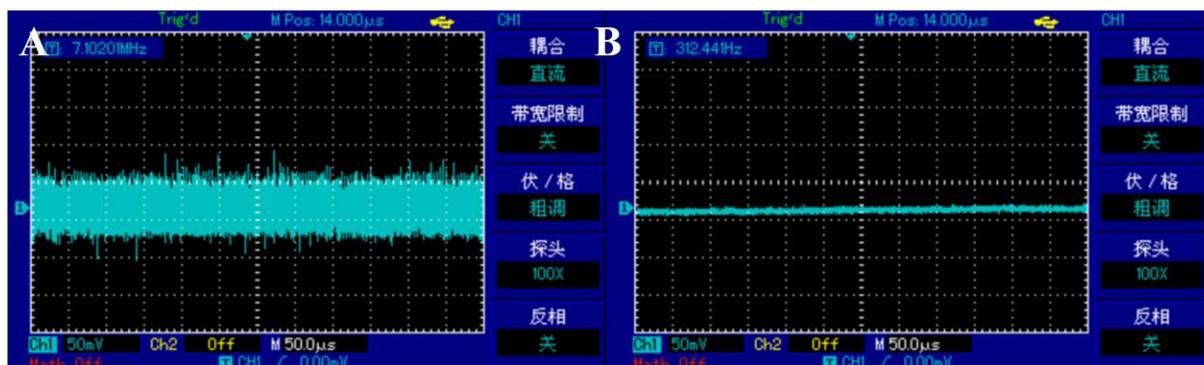


图 3.22 RC 滤波前输出的波形图 (A)；RC 滤波后输出的波形图 (B)

Fig 3.22 Waveform diagram output before RC filtering (A); Waveform diagram output after RC filtering (B)

本研究使用低通电阻-电容 (Resistance-Capacitance Circuits, RC) 电路滤波, 过滤掉高频噪声, 得到了良好的滤波降噪效果 (图 3.22), 所对应的截止频率为 0.1 Hz, 但是为了更好验证 RC 滤波电路的有效性, 将滤波前后噪声方差与标准差作为评价指标, 对于滤波前后数据方差进行对比, 方差从 RC 滤波前的 40.6597 mV^2 降到了 13.4722 mV^2 , 标准差从 6.376 mV 降到了 3.670 mV, 结果表明本研究的低通 RC 滤波使得基于三电极系统的便携式单路恒电位仪的噪声得到了有效的降低。结果如表 3.4 所示:

表 3.4 电压输出端的噪声测试
Table 3.4 Voltage output noise test

输出端噪声参数	噪声测试方差 (mV^2)	噪声测试标准差 (mV)
RC 滤波前	40.6597	6.376
RC 滤波后	13.4722	3.670

3.5 本章小结

综上, 研发出一种基于三电极系统的便携式单路恒电位仪, 以应用于农药残留便携式快速检测设备。该恒电位仪具备完整的三电极循环伏安电化学分析系统, 采用高精密运放芯片搭建, 并展现出了良好的性能。其工作电流范围在 $10.0\sim 800.0 \mu\text{A}$ 时, 本设计研发的基于三电极系统的便携式单路恒电位仪的平均相对误差较低, 精度较高。七次循环稳定性测试显示, 还原峰 RSD 为 0.311, 稳定性较好。各个区间的平均电流分辨率为 0.01920 ($0.01\sim 10.0 \text{ Ma}$) 和 0.01751 ($10.0\sim 800.0 \mu\text{A}$), 具备良好的电流分辨率。在不同铁氰化钾底液离子浓度与单路恒电位仪的 CV 响应峰值之间表现出了良好的一阶线性关系。滤波前后数据方差进行对比, 方差从 RC 滤波前的 40.6597 mV^2 降到了 13.4722 mV^2 , 标准差从 6.376 mV 降到了 3.670 mV, 展现出了良好的滤波效果。由此本研究设计的基于三电极系统的便携式单路恒电位仪具备良好的工作性能, 可进一步用于农药残留快速检测设备的二次开发。

第四章 基于阵列电极的四路便携式检测仪的开发

4.1 引言

电化学免疫传感器属于生物传感器的一种,是通过将电化学分析方法和免疫技术结合在一起构建而成的器件^[91],电化学免疫传感器的工作原理和传统的免疫分析方法很相似,它们都是把抗原或者抗体通过物理或化学方法固定到某种界面上^[16],然后用直接法或间接法来检测抗体或抗原等目标物,基于抗原-抗体的特异性作用使得免疫传感器具有高灵敏性高特异性的特点,而基于纳米级优良材料修饰的电化学免疫传感器可使其检出限大大降低,检测时间极大缩短,检测效率极大提高,而其便携式的检测设备和较为简洁的操作流程非常适用于现场快速检测。

电化学工作站和信号采集系统的小型化和便携式,便于将装置携带于现场进行实时检测^[92-95]。基于阵列电极的电化学传感检测具备样品消耗量小、电极间差异小、高灵敏、微型化、功能集成化程度高、节约时间和试剂等独特优势,此外,阵列芯片还可以作为平台结合便携式电化学检测设备进行电化学检测,可极大提高其检测能力和效率。

本研究将电化学免疫分析与电化学传感检测仪器仪表技术相结合而开发了基于阵列电极的四路便携式检测仪,应用于拟除虫菊酯类农药残留的现场快速检测。为简化电化学免疫传感器制备过程,增强识别探针在电极上的固定效果,采用固定修饰在阵列电极表面,以实现菊酯类农药的特异性快速检测,减少检测时间和成本。

因此,开发一种结合阵列电极芯片及相对应适配的四路恒电位仪电路,其电路稳定可靠、高度适配阵列电极芯片,可实现多路实时检测,该电路是相关农药快速检测仪的核心功能电路。

4.2 阵列电极的检测原理

阵列芯片检测是一种快速、准确、高通量、集成化的方法,广泛被科研人员应用于医学诊断、环境监测、食品安全等研究领域^[33,96]。恒电位仪测量原理简单,其测量的信号是电位、电流等电信号,可直接采集信号并进行记录^[83,97-99]。阵列电极相配套的四路便携式检测仪的核心是四路恒电位仪,同样是基于恒电位仪开发,从单路恒电位系统增辟到了四路,但同样具备单路恒电位仪的便携且体积小的优势。阵列电极是同样采用三电极系统,是在单路的三电极系统的基础上进一步集成化的改进。本研究构建了一种结合阵列电极芯片以及电化学免疫传感器的构建方法和四路便携式检测仪,其具有设备制作使用方便、耗材成本低、检测结果重复性好、多个电极并行检测,极大提高了其检测效率。

4.3 便携式检测仪总体方案

基于阵列电极的四路便携式检测仪的总体开发方案为：基于阵列电极的四路便携式检测仪包括电压跟随器、电流跟随器、加法器、减法器、微控制单元、数模转换单元、模数转换单元、数据采集电路单元、输出信号低通滤波电路单元、I/V 信号转换单元、运算放大电路单元、脉冲信号低通滤波电路单元、脉冲信号发生器电路单元、多通道继电器单元。其中阵列电极包括 CE 电极、 2×2 阵列的 WE 电极和 RE 电极等。其中，恒电位仪的微控制器采用 32 位高性能的内置多通道高精度数模转换单元、多通道模数转换单元的 MCU (ARM Cortex-M7) 处理器，信号放大及处理电路采用具有低背景噪声、低功耗、高精度、低输入偏置、高共模抑制比等优良特性的 LM4562 运算放大器。采用 RC 滤波电路来降低整体电路系统噪声，提升系统的抗干扰能力，通过 AD 采样将模拟信号转换成数字信号，并送入 MCU 进行计算及数据输出和图表展示处理。

本研究应用于前期研究构建的电化学免疫传感器修饰阵列电极表面，采用生物点样技术逐次滴加或并行滴加，使每个工作电极表面均可构建一个完整的特异性的免疫传感器，其步骤为：

- (1) 制备金标探针样液，对所述的样液进行震荡分散；

- (2) 将其震荡分散后的样液通过生物点样仪滴加到阵列电极活化之后的工作电极表面；

- (3) 通过电化学恒电位仪给予所述阵列电极一个正负相交替的三角脉冲波，使其在电化学循环伏安法下，通过氧化峰及还原峰等电流或者电压的波形变化实现以所述构建的电化学免疫阵列传感器为核心的样品中 PYRs 的多通道检测。为选取性能最佳的纳米复合材料修饰于传感界面提供强有力的数据支撑，借助电化学沉积法或者物理吸附滴涂法修饰纳米复合材料与生物传感界面，其关键点为：

- (1) 在电极阵列中，采用圆形电极结构使电极表面积最大化并减少尖角效应；

- (2) 采用抗体作为识别元件修饰电极阵列中的每一个工作电极表面；

- (3) 在电极表面修饰识别元件，可通过生物点样仪采用逐次加载或并行加载；

- (4) 在电极的表面进行充分的 BSA 封闭以降低其工作界面上的非特异性吸附。

电化学反应体系在其工作界面上进行了一系列的电化学反应，当固定在电极表面的菊酯类农药抗体捕捉住待检目标物后，影响了其电工作界面前后的氧化还原反应进程，从而影响了从 WE 端采集到的电化学反应曲线的峰值。

4.3.1 阵列传感芯片的制备

单个阵列芯片上集成 4 个 (2×2) WE 电极阵列，单个阵列电极中 WE 电极共用一个 RE 电极和一个 WE 电极，阵列电极芯片图纸使用计算机辅助设计 (Computer Aided Design, CAD) 软件进行绘制：工作电极为相同半径 0.7036 mm，厚度为 100 nm，

材质为金的圆形电极片，参比电极为相同边长 0.1759 mm，厚度为 100 nm，材质为金的正方形电极片，对电极为内径为 1.0554 mm，外径为 1.2312 mm，厚度为 100 nm 的 C 型电极片，相邻工作电极之间的间距为 3.5 mm（如图 4.1）。

阵列电极接口规格为单个引脚为 0.8 mm×2.9 mm 金属开窗，纵向阵列 8 个，其引脚间距为 1.1 mm，整体阵列芯片为 9.7 mm×20 mm×0.5 mm，其引脚规格与标准 Micro SD 卡引脚规格相同，与构建的标准信号放大模块接口规格相同，使其能够紧密契合卡槽。

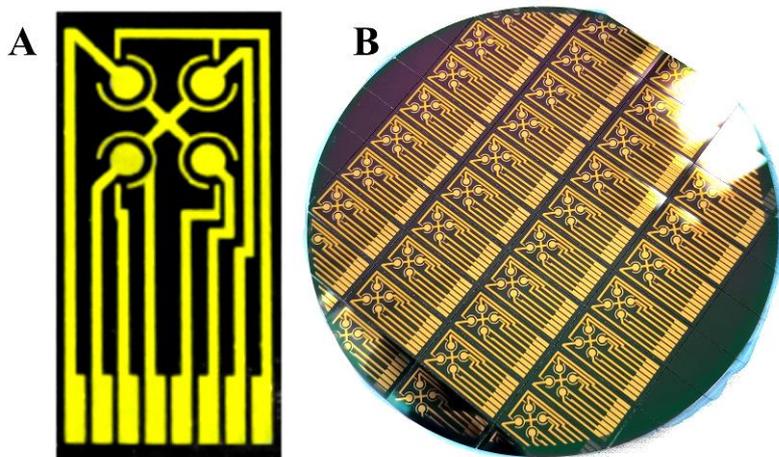


图 4.1 单个阵列芯片 (A) 与阵列芯片晶圆 (B)
Fig 4.1 Single array chip (A) and array chip wafer (B)

阵列电极芯片的制备方法：

(1) 首先将底层硅片进行清洁除尘并在氧气的气氛中热氧化在其表面生成一层约 300 nm 的 SiO_2 层。

(2) 经过涂胶后进行金属图形化标准光刻，镜检后打底膜，溅射上 20 nm 的钛（作为粘合层）和约 100 nm 的金，之后进行光刻开窗（刻蚀露出黄色电极区域）即在硅表面形成电极阵列。

(3) 随后将表面清洁干燥后，利用等离子体增强化学蒸镀工艺在氧气的气氛中在非电极工作面上热氧化生长一层 350 nm 的 SiO_2 层，随后将硅片在氧气气氛下，500°C 退火 30 分钟，并去胶。即在硅表面形成电极阵列。

(4) 电极阵列划片，按照设计尺寸制备电极阵列，整体阵列芯片为 9.7 mm×20 mm，制备好的电极阵列精确切割备用。

(5) 使用活性离子刻蚀技术刻蚀引线连接区后进行阵列电极的划片分装。

4.3.2 传感器的制备

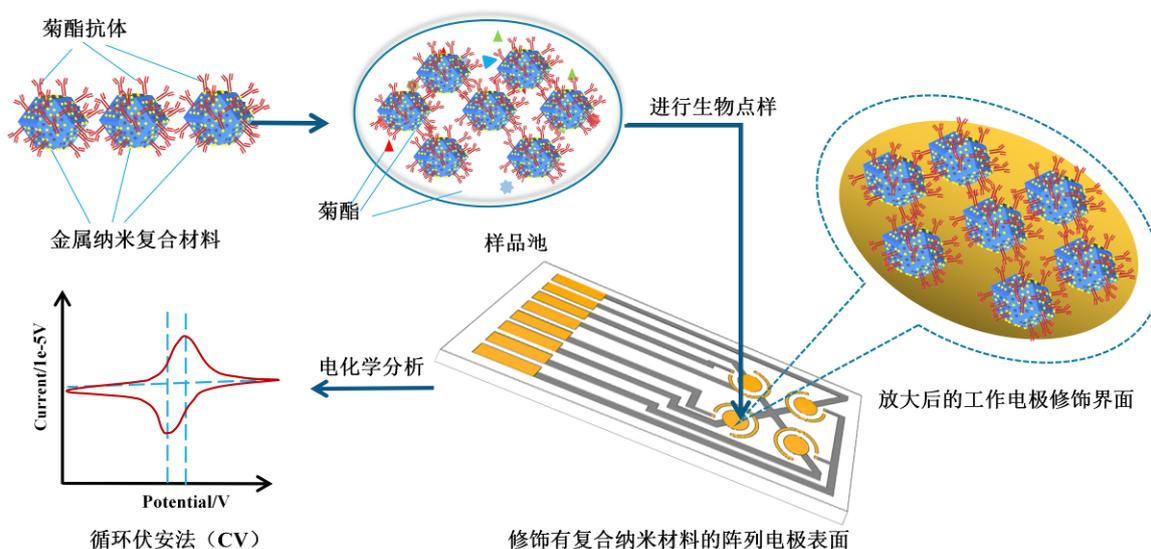


图 4.2 基于阵列电极的电化学免疫传感器的构建

Fig 4.2 Assembly of electrochemical immunosensor based on array electrode

基于阵列电极的四路便携式检测仪的电化学免疫传感器构建的步骤如图 4.2:

(1) 阵列电极的活化

将划好片的阵列电极分装，活化，经过四路电化学 CV 循环，一个循环后将阵列电极表面的金层活化，以便于后期识别元件的吸附和修饰。

(2) 识别元件的修饰

进行阵列传感界面的修饰，在阵列电极表面修饰 Abs-AuNPs@ZIF-67 金标探针以进行菊酯农药特异性识别。利用循环伏安法对所制备的纳米材料的电化学性能进行分析，为选取性能最佳的纳米复合材料修饰于传感界面提供强有力的数据支撑，借助电化学沉积法或者物理吸附滴涂法修饰纳米复合材料与生物传感界面。

(3) 通过生物点样仪对阵列电极表面进行封闭处理

通过生物点样仪使用 BSA 封闭液在阵列电极表面进行逐次加载或并行加载，对阵列电极进行充分的封闭处理以降低非特异性吸附。

4.3.3 三电极系统的设计

本研究开发的三电极系统采用多个 WE 电极共用一个 RE 电极和一个 CE 电极的方式，将 WE 电极做成阵列排列，微控制单元输出的信号通过数模转换单元输出一个正负相交替的三角脉冲波，其电信号通过电压跟随器、加法器抬升相位、恒电位仪负反馈电路后，进入四路工作电极，经四路 I/V 信号转换单元转换，又经过四路减法器降低相位，经四路运算放大电路单元、模数转换单元后，进入四路数据采集电路单元。将采集到的电流信号送入微控制单元进行数据处理及存储和展示，其原理图见图 4.3。

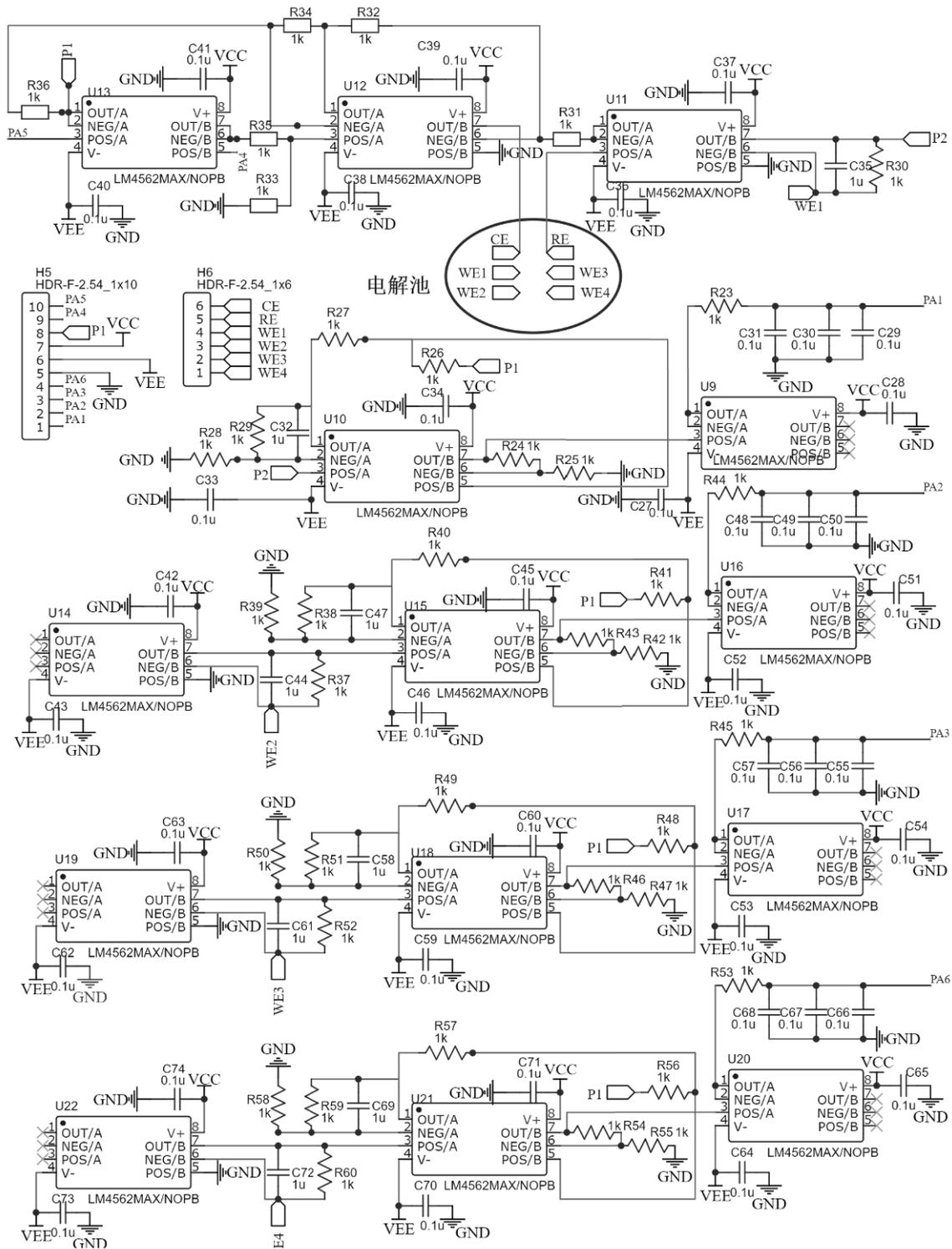


图 4.3 基于阵列电极的四路便携式检测仪核心电路设计

Fig. 4.3 Core circuit design of four-channel portable detector based on array electrode

4.3.4 重要器件选型与设计

4.3.4.1 主控芯片的选型

主控芯片的选型同本设计的第三章，四路便携式恒电位仪的功能需求较单路便携式恒电位仪增加较少，四路便携式检测仪的主控芯片仍然选择基于 ARM Cortex-M3 的 STM32F103RCT6。

4.3.4.2 运算放大器的选型

主要的运算放大器的选型同本设计的第三章，高精度运放 LM4562 可满足功能需求。

4.3.4.3 电源电路设计

电源电路设计同本文第三章，由于四路便携式检测仪的功率为 2.4 W，本电源电路设计可支撑该仪器的功耗。

4.3.4.4 I/V 转化电路设计

I/V 转化电路设计同本文第三章，四路便携式检测仪的电流检测范围较单路恒电位仪小，故该设计的 I/V 转化电路可满足功能需求。

4.3.5 印制电路板的设计

PCB 的设计思路和方案同本设计的第三章，是在单路恒电位仪的基础之上的改进型，四路工作电极共用一套对电极和参比电极，实际的 PCB 布局及焊接电路板见图 4.4。

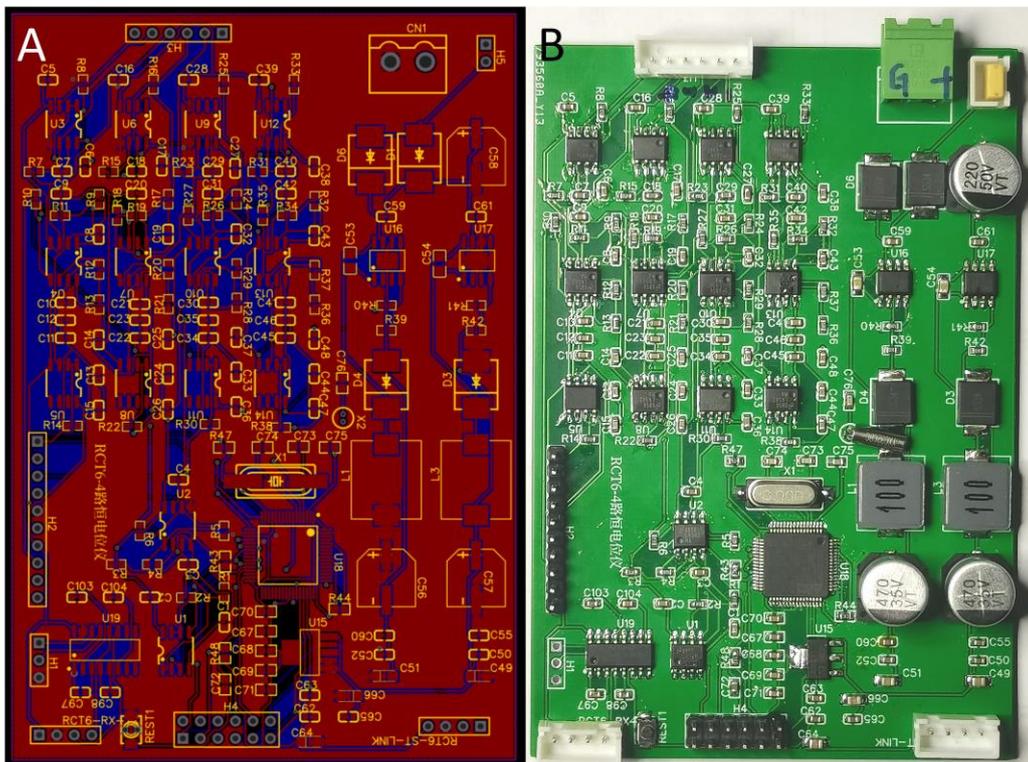


图 4.4 PCB 布局 (A) 及实际焊接电路板 (B)
Fig. 4.4 PCB layout (A) and actual welding circuit board (B)

4.3.6 检测系统嵌入式软件设计

嵌入式软件设计同本设计的第三章，在单路恒电位仪设计的基础之上，增辟了四路ADC，以实现四路恒电位仪的实时数据采集（图 4.5）。

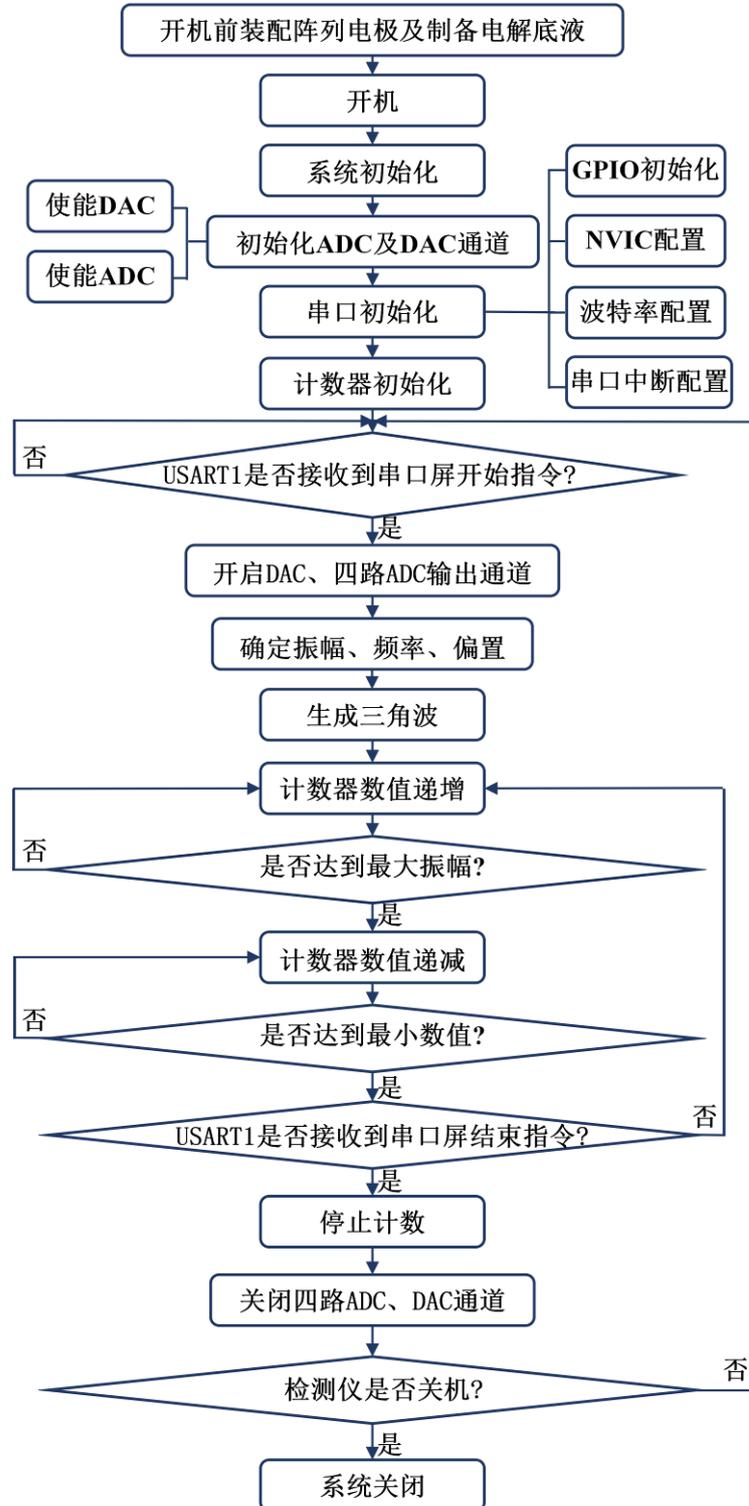


图 4.5 下位机主逻辑

Fig. 4.5 Main logic of the lower computer

4.3.7 检测仪仿真测试

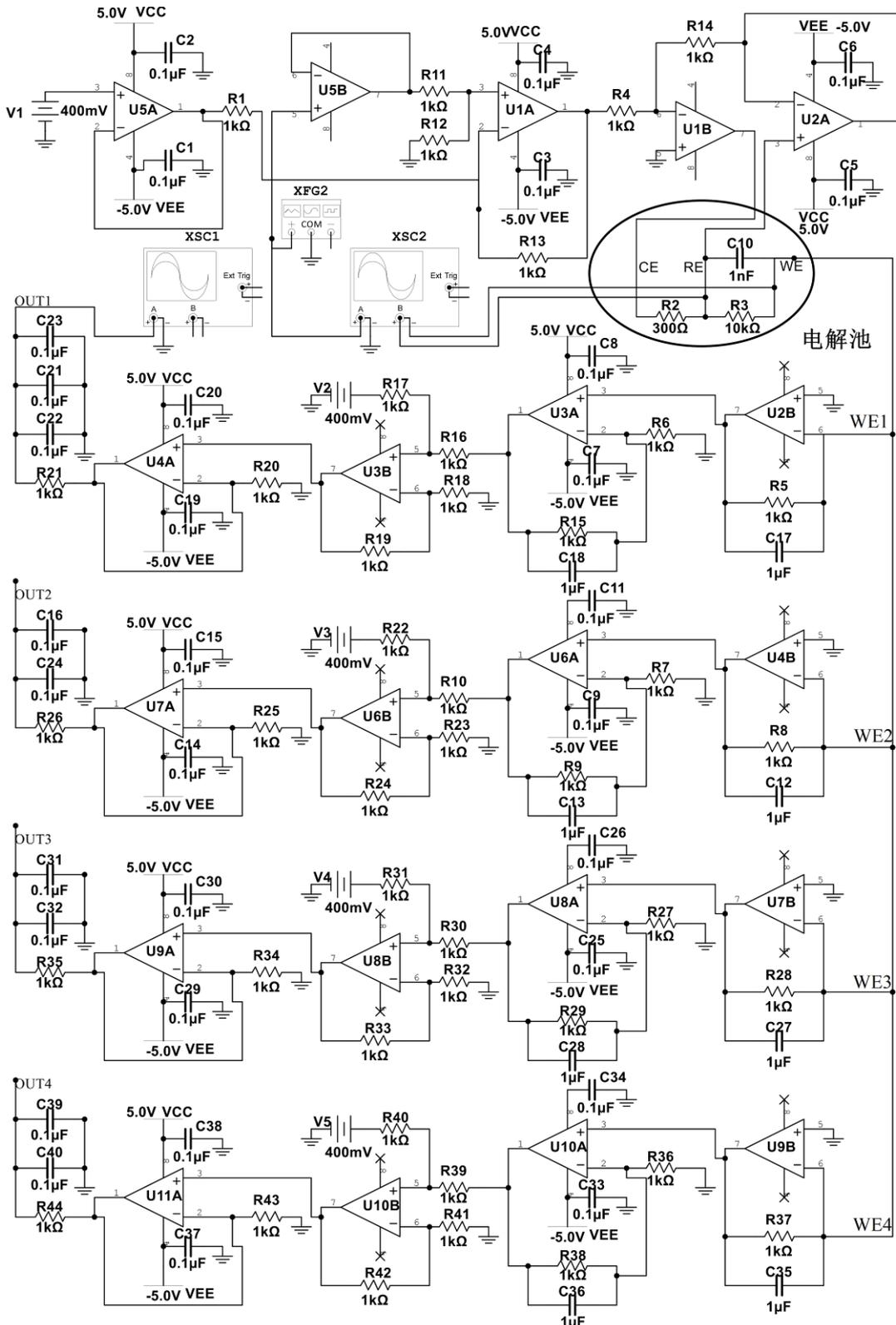


图 4.6 基于阵列电极的四路便携式检测仪核心电路仿真设计

Fig. 4.6 Simulation design of core circuit of four-channel portable detector based on array electrode

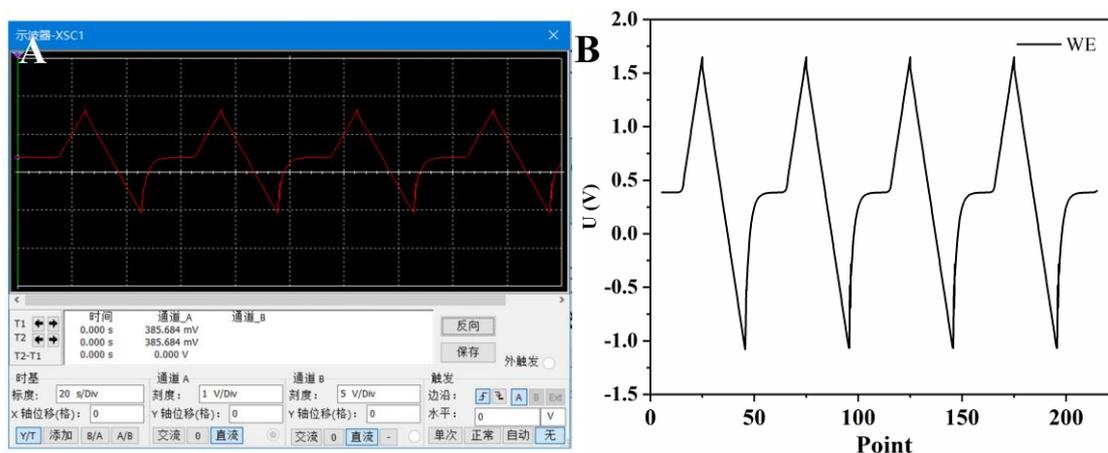


图 4.7 四路电化学恒电位输出端 Multisim 仿真结果

Fig. 4.7 Simulation results of four-channel electrochemical potentiostatic output terminal Multisim

本研究的电路仿真实验（图 4.6）将电解池等效电路 R_3 的阻值的变化代表溶液的阻抗变化，本研究将恒电位仪通过不同的 R_3 的阻值（10 k Ω 、20 k Ω 、40 k Ω ）进行电流瞬态仿真分析。为对本研究设计采用的四路便携式检测仪的核心恒电位仪的瞬态达到理论值的响应速率及稳定性状况，采用周期为 100 Hz 的方波信号施加于恒电位电路的 CE 端，以达到驱动电压的目的（图 4.7）。 R_2 为 300 Ω 的等效电阻， C_{10} 为 1 nF， V_{in} 采用为 1.2 V 电压的方波脉冲信号（100 Hz），电路中 V_{out} 是四路恒电位系统的输出电压， V_{rw} 为 WE 与 RE 电极之间的电压差，实验表明该电路系统中 V_{rw} 在几微秒内的达到了恒定的理论值，随着阻值不断变化，达到稳定的时间在极小的范围内稍增（0.00111~0.00152 s），其仿真结果显示，该设备的瞬态响应速率较好且很快达到了理论电压值，其仿真测试的结果较为理想，可良好地给后续实际四路恒电位电路设计做出指导（图 4.8）。

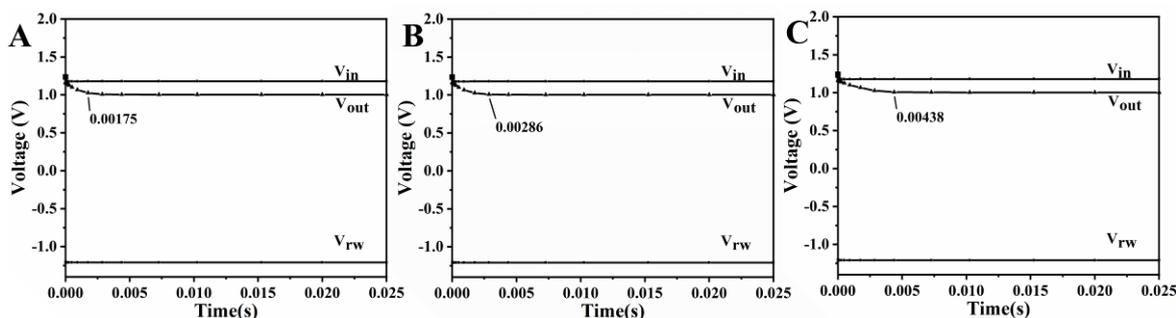


图 4.8 恒电位电路瞬态仿真分析图 (A)，(B)，(C) 为 R_3 分别在 10 k Ω 、20 k Ω 、40 k Ω 时的瞬态仿真图

Fig. 4.8 Transient simulation analysis diagram of potentiostatic circuit. (A), (B) and (C) were the transient simulation diagrams of R_3 at 10 k Ω , 20 k Ω and 40 k Ω , respectively

4.4 系统调试及性能测试

检测设备实验室阶段的系统调试和性能测试是评价检测仪性能的重要组成部分。本研究对四路便携式检测仪在装配、精度、稳定性、滤波噪声和实际样本检测指标进行了

性能评估测试。

4.4.1 基于阵列电极的四路便携式检测仪的装配

本研究设计开发的基于阵列电极的四路便携式检测仪如图 4.9 所示其规格为 210.00×50.00×55.00 mm，外部壳体部分采用 3D 光固化打印制备，为黑色生物基树脂材质。主要由三部分组成，四通道恒电位仪主体部分包含电解池基座、主控板、锂电池、5 寸串口屏、玻璃质电解池，恒电位仪部分包含以及阵列电极接口部分及阵列电极。



图 4.9 研制的基于阵列电极的便携式检测仪

Fig. 4.9 A portable detector based on array electrode was developed

研制的基于阵列电极的四路便携式检测仪的阵列芯片接口设计为标准的 Micro SD 接口(图 4.10 A)，电化学反应池集成在四路便携式检测仪下方与底座之间(图 4.10 B)。设备整体集成程度高，总体小型化，单手可持，具备便携快速检测的能力。

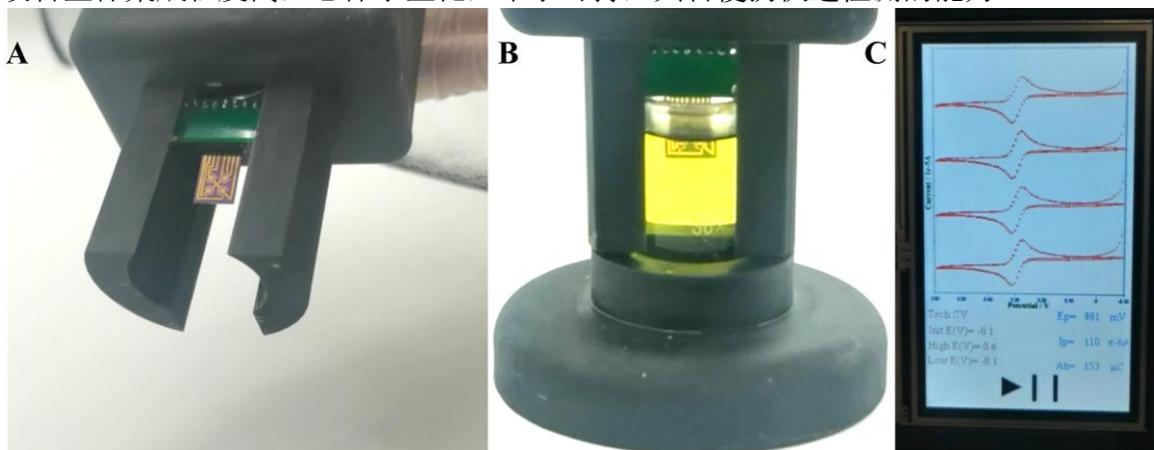


图 4.10 阵列电极接口 (A)；电解反应池 (B)；实测分析图 (C)

Fig. 4.10 Array electrode interface (A); Electrolytic reaction cell (B); Measured analysis diagram (C)

本检测仪开机之后经过检测运行程序,使用示波器从 WE 端采集到的信号如图 4.11 所示,具有明显的三电极系统的循环伏安功能特征,可进一步对其性能进行测试。

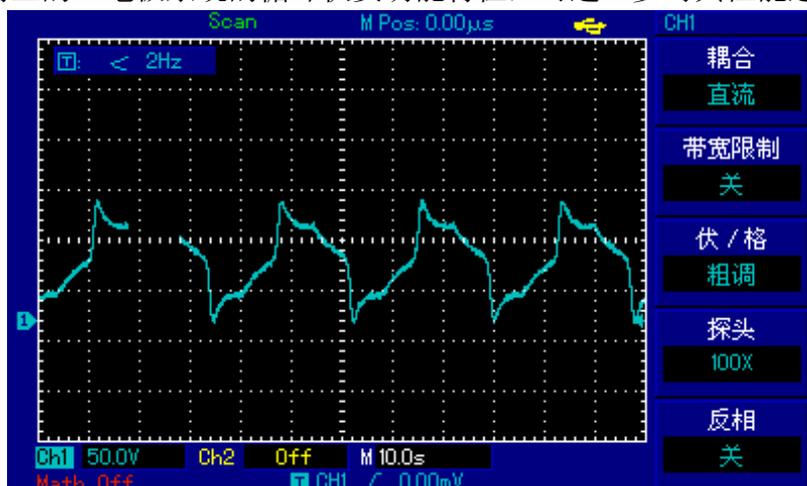


图 4.11 CE 端示波器测试
Fig. 4.11 CE terminal oscilloscope test

4.4.2 检测仪基线精度校准测试

基线漂移是影响电化学分析的一种常见的现象,给定量分析测试带来重大影响^[85]。基线漂移会极大影响数据的分析和测试,因此基线精度校准具有很大的必要性(图 4.12)。

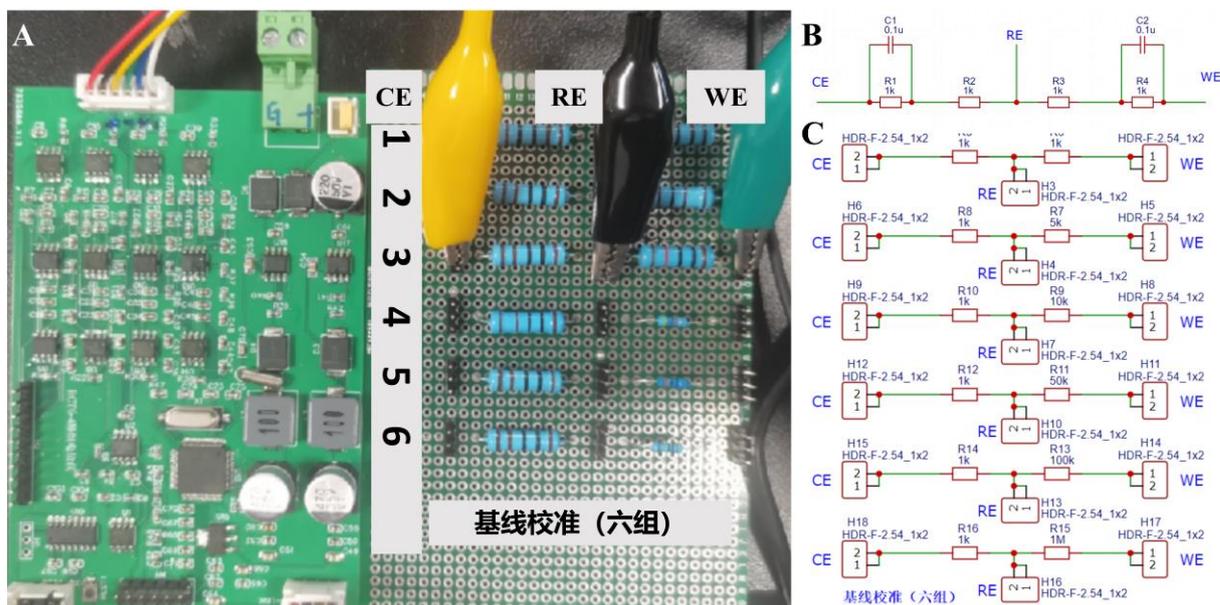


图 4.12 下位机基线校准测试: (A) 四通道恒电位仪及三电极等效电路实物图; (B) 等效电路示意图; (C) 增益为 1 kΩ, 5 kΩ, 10 kΩ, 50 kΩ, 100 kΩ 和 1000 kΩ 的等效电路图

Fig. 4.12 Baseline calibration test of lower computer. (A) Physical drawing of four-channel potentiostat and three-electrode equivalent circuit; (B) Schematic diagram of equivalent circuit; (C) Equivalent circuit diagrams for gain of 1kΩ, 5 kΩ, 10 kΩ, 50 kΩ, 100 kΩ and 1000 kΩ

基于阵列电极的四路便携式检测仪的电化学响应信号大小受到电极间及电极表面的阻抗变化影响,根据电解池的等效电路及等效模型,到电解反应稳定的时候电极间的

阻抗可等效为纯电阻，可将三电极系统进一步简化为纯电阻电路，如图 4.12 (C)。将纯电阻电路的RE 电极与 WE 间的阻值大小做 6 个增益(1 kΩ, 5 kΩ, 10 kΩ, 50 kΩ, 100 kΩ, 1000 kΩ) 的改变，通过测试四通道恒电位仪在该 6 种增益下的基线，若该基线的各个点都满足：

$$I_{out} = \frac{V_{in}}{R_w} \tag{4.1}$$

即视为该三电极系统可实现基线精度校准。基于阵列电极的四路便携式检测仪基线校准测试的电位范围为：-0.1~0.6 V，增益为：1 kΩ, 5 kΩ, 10 kΩ, 50 kΩ, 100 kΩ, 1000 kΩ，扫描速率为：35 mV/s，采样间隔为：0.005 V（280 个采样点，图 4.13）。

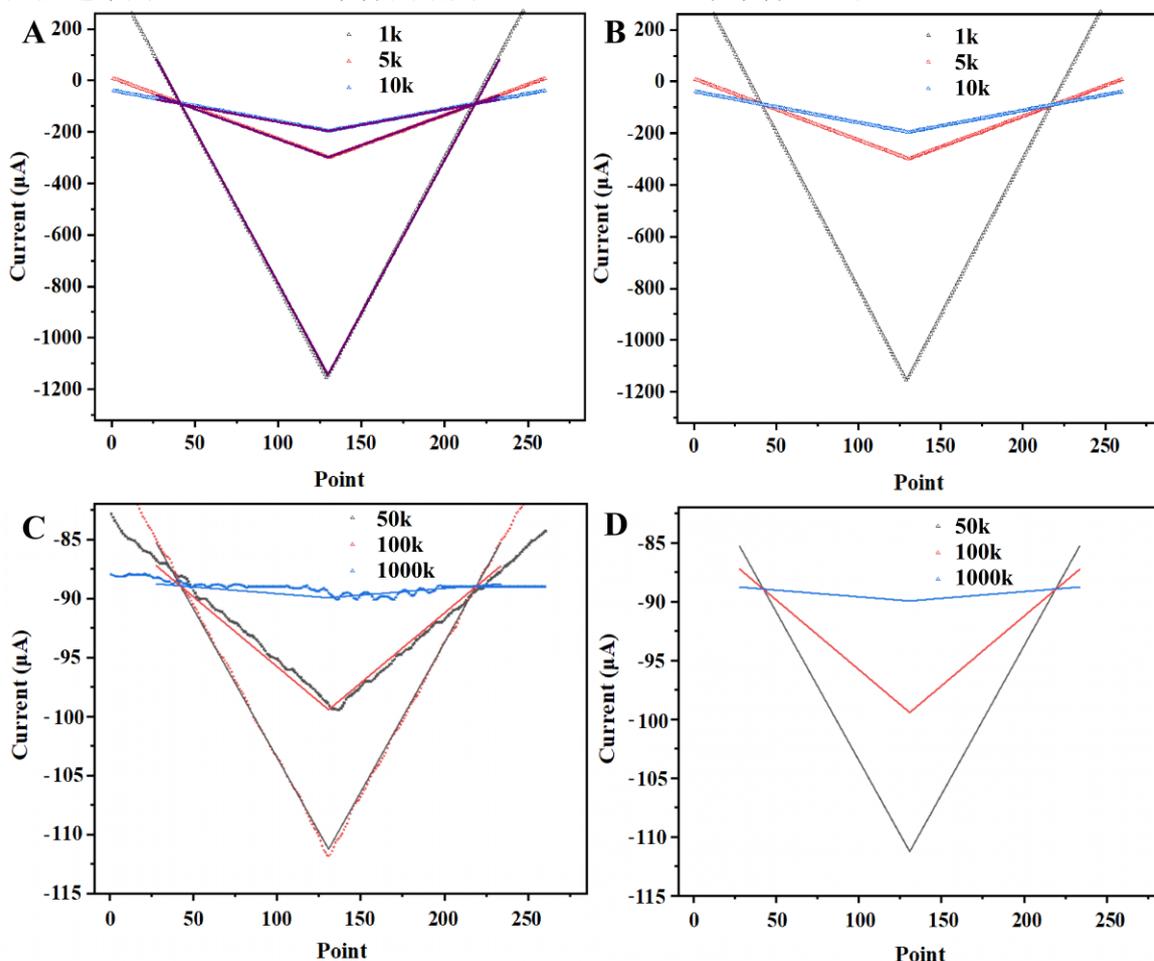


图 4.13 增益为 1 kΩ, 5 kΩ, 10 kΩ, 50 kΩ, 100 kΩ 和 1000 kΩ 的基线校准结果：(A)，(C) 为电化学工作站与便携式检测仪的基线校准结果；(B)，(D) 为电化学工作站基线测试结果
Fig. 4.13 Baseline calibration results with gains of 1 kΩ, 5 kΩ, 10 kΩ, 50 kΩ, 100 kΩ and 1000 kΩ: (A) and (C) were baseline calibration results of electrochemical workstation and portable detector; (B) and (D) were the baseline test results of electrochemical workstation

实验过程中本研究的基于阵列电极的四路便携式恒电位仪在没有经过基线精度校准前，理论基线和实际测量基线间有一定的相对差距，遂将各个增益下获得的实测基线和理论基线进行线性拟合，得出在 6 个增益下该便携式恒电位仪的实测结果拟合方程如

下表 4.1 所示。随后根据其拟合度调整下位机的 ADC 采集信号基线，实现便携式恒电位仪基线精度校准的目的。可由下表得出拟合方程相关系数随着增益不断增加而减小，且其 F 值逐渐减小，通过电解池等效电路增益电阻的电流逐渐减小，随之采集到的电流信号也逐渐减小。当采集到的电流信号达到其分辨率之下的时候，且系统整体存在一定的底噪，影响其最大增益效果下的电流测量，故在 1000 k Ω 时，该增益下的实际测量电流结果的线性关系相较于其他的几个增益要差，相关系数较低，故而验证其恒电位仪的增益区间为 1 k Ω ~100 k Ω ，在此区间下，相关系数较好且 F 值较大，基线校准精度较好。

表 4.1 6 个增益下的四路便携式检测仪的基线校准拟合方程

Table 4.1 Baseline calibration fitting equation of four channel portable detector under 6 gains

增益	拟合方程	相关系数 R^2	F 值
1 k Ω	$Y=12.16157X-2,726.94064$	0.99998	4,616,230.58754
5 k Ω	$Y=12.16157X-607.88833$	0.99991	759,061.39783
10 k Ω	$Y=12.16157X-352.32294$	0.99978	325,343.06901
50 k Ω	$Y=12.16157X-145.84434$	0.99769	30,206.59128
100 k Ω	$Y=12.16157X-115.00889$	0.99302	9,963.36754
1000 k Ω	$Y=12.16157X-91.10771$	0.34077	37.18396

本研究在成功将基线进行精度校准之后，随后使用图 4.12 (C) 中的电解池纯电阻等效电路对本项研究的基于阵列电极的四路便携式检测仪进行 6 个增益下的基线测试图 4.13 (A)，每一组数据进行 10 次测量并计算其平均值，之后在等同的实验条件下使用标准电化学工作站进行 6 个增益的测量并进行比较，如图 4.13 A 和 C 所示，基于阵列电极的四路便携式恒电位仪的基线精度在校准之后的测试结果 (图 4.13 B 和 D) 与电化学工作站的测试结果几乎全部重合且都满足式 (4.1)。该实验表明本研究的基于阵列电极的四路便携式检测仪的基线精度在 6 个增益下实现了校准，其结果证实该系统的测量下限可达 μA 及以下量级。

4.4.3 检测仪稳定性测试

对基于阵列电极的四路便携式检测仪的系统稳定性进行测试，本研究的系统稳定性测试包含恒电位仪的图谱峰值的稳定性以及同一阵列电极内多个 WE 电极间的稳定性。

首先测试恒电位仪的图谱峰值的稳定性，使用 5.0 mM 的铁氰化钾作为测试的标准底液。电化学 CV 环境在电位范围为 -0.1~0.6 V，电位增量 35 mV/s，振幅 700 mV 的参数下平行测量三次并取其电流平均值，分析 RE 电极与 WE 电极之间电压实际测量值和理论值的相关关系。具体的曲线图如图 4.14 所示。拟合得到的线性方程其 $R^2=0.99552$ ，足以说明基于阵列电极的四路便携式检测仪系统的稳定性良好。

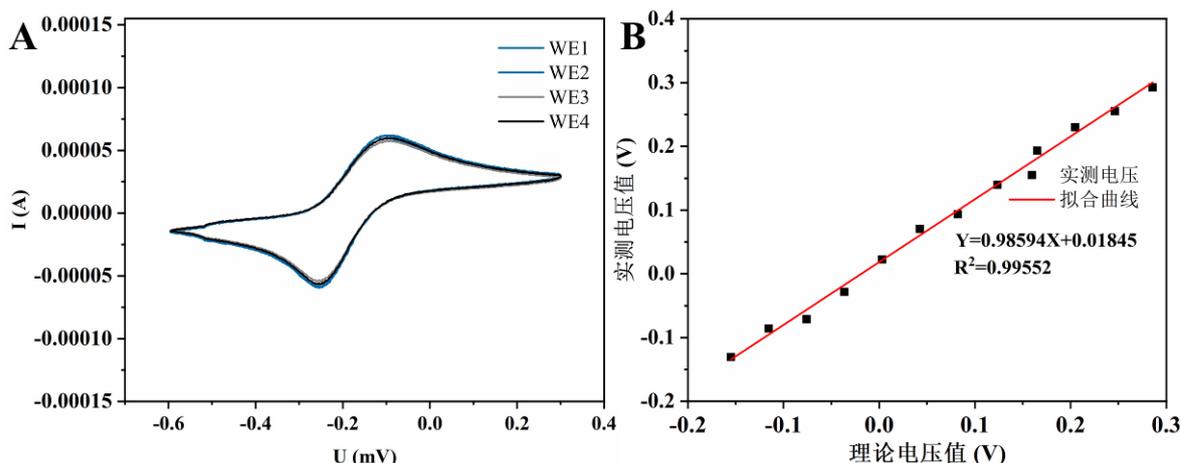


图 4.14 四通道阵列电极的各个 WE 间的循环伏安曲线 (A); -0.15 V~0.3 V 电压扫描实际测定值与理论电压值间线性关系 (B)

Fig. 4.14 Cyclic voltammety curves between each WE of the four-channel array electrode (A); -0.15 V - 0.3 V voltage scan between the actual measured value and the theoretical value of linear relationship

其次对同一阵列电极多个 WE 电极之间的稳定性进行测试, 为了保证同一阵列电极多个 WE 电极间差异性小, 避免出现某个 WE 电极的稳定性较好或较差从而影响其传感性能, 需对同一阵列电极多个 WE 电极之间进行稳定性测试, 使用电化学循环伏安技术在相同的外部实验条件及同种底液下进行稳定性测试, 且每个 WE 电极使用循环伏安法测量两次如图 4.14 所示。从图可知, 同一阵列电极多个 WE 电极之间得出还原峰电位差值和氧化还原峰电位差值极小证明了四路阵列电极间的差异小, 由此可得本研究开发的基于阵列电极的四路便携式检测仪的工作性能良好且 WE 电极间稳定性能较好。

4.4.4 检测仪滤波测试

本研究使用低通 RC 滤波, 过滤掉高频噪声, 得到了良好的滤波降噪效果(图 4.15)。

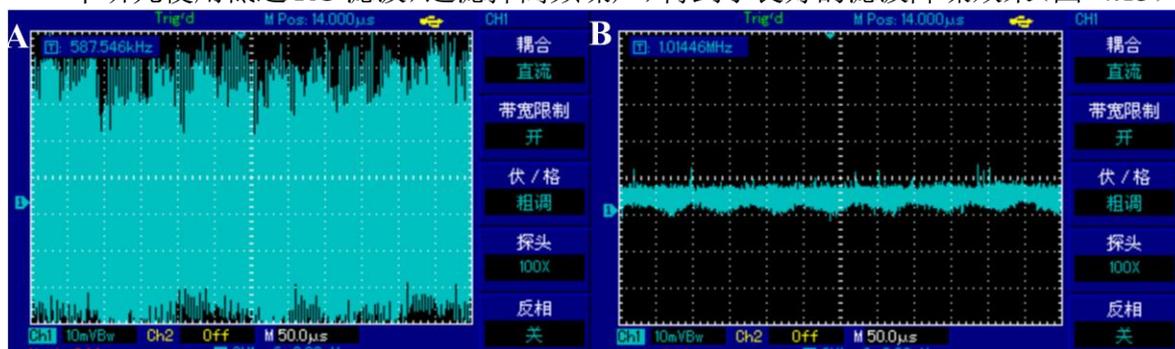


图 4.15 RC 滤波前输出的波形图 (A); RC 滤波后输出的波形图 (B)

Fig 4.15 Waveform diagram output before RC filtering (A); Waveform diagram output after RC filtering (B)

所对应的截止频率为 0.1 Hz, 但是为了更好验证 RC 滤波电路的有效性, 将滤波前后噪声方差与标准差作为评价指标, 对于滤波前后数据方差进行对比, 方差从 RC 滤波前的 33.7329 mV² 降到 6.7296 mV², 标准差从 5.808 mV 降到 2.593 mV, 结果表明本研究的低通 RC 滤波使得四路便携式检测仪噪声得到了有效的降低, 结果如表 4.2 所示。

表 4.2 电压输出端的噪声测试
Table 4.2 Voltage output noise test

输出端噪声参数	噪声测试方差 (mV^2)	噪声测试标准差 (mV)
RC 滤波前	33.7329	5.808
RC 滤波后	6.7296	2.593

4.4.5 检测仪实际样本测试

基于阵列电极的四路便携式检测仪的实际样本检测在 5.0 mM 的 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 溶液 ($\text{pH}=7.4$) 的底液环境中, 其 CV 参数电位在 $-0.1\sim-0.6\text{ V}$ 的范围, 其电位增量在 35 mV/s , 振幅 700 mV , 同时在前所构建的电化学免疫传感器的最佳实验条件下监测基于阵列电极的四路便携式检测仪的电化学信号响应。其初始的 CV 响应峰值标记为 I 。随后将两种不同浓度的 PYRs 农药滴加在所构建的电化学免疫传感器上, 每个传感器 $8\ \mu\text{L}$, 于室温的环境进行 40 min 的孵育过程。对该电化学免疫传感器的表面进行冲洗和吹干处理, 随后进行电化学 CV 监测以测定其响应值 I_0 。随后对 ΔI ($\Delta I=I-I_0$) 的值进行测算, 并研究该 ΔI 值与农药浓度之间的相关关系。表 4.3 分别显示了 ΔI 与两种 PYRs 农药浓度对数值之间的线性关系, 其相关系数在 $0.99733\sim 0.98912$ 之间可以接受。其检测限从 0.002 到 0.29 nM 。

表 4.3 基于阵列电极的四路便携式检测仪检测 PYRs 农药的相关系数

Table 4.3 Correlation coefficient of pyrs pesticides detected by four channel portable detector based on array electrode

分析物	线性方程	检测范围 (nM)	相关系数	检测时间 (s)	检出限 (nM)
甲氰菊酯	$I=0.31323\text{LogC}+1.93226$	$0.01\sim 100$	0.99733	20	0.002
溴氰菊酯	$I=0.0972\text{LogC}+0.7423$	$1\sim 1000$	0.98912	20	0.29

用于本项实际样本测试的生菜和娃娃菜从当地超市采购, 使用气相色谱-质谱联用仪器分析技术检测后未检出菊酯农药残留。于是采用标准加入法在样品中加入不同浓度 (10 nM 、 100 nM) 的甲氰菊酯及溴氰菊酯标准溶液以进行加标回收率测试。将 10 g 样品进行打浆, 使用离心机进行 15 min 离心 (6000 rpm) 后使用 $0.22\ \mu\text{m}$ 滤膜将上清液过滤, 将提取液通过本研究制备的阵列电极四路便携式检测仪测定。基于阵列电极的四路便携式检测仪实际样品检测结果如表 4.4 所示, 检测时间在 20 s , 回收率在 $97.30\%\sim 102.80\%$ 之间, 该结果表明该制备的电化学免疫传感器及基于阵列电极的四路便携式检测仪可用于实际样品的检测分析。

表 4.4 PYRs 基于阵列电极的四路便携式检测仪实际样品检测

Table 4.4 PYRs four channel portable detector based on array electrode for actual sample detection

样品	分析物	加标量 (nM)	检出量 (nM)	RSD (%)	检测时间 (s)	回收率 (%)
生菜	甲氰菊酯	10	10.28	5.33	20	102.80
	甲氰菊酯	100	101.23	9.23	20	101.23
娃娃菜	溴氰菊酯	10	9.73	9.12	20	97.30
	溴氰菊酯	100	102.69	8.31	20	102.69

4.5 本章小结

基于以上探究,本项目研发出基于阵列电极的四路便携式检测仪,以应用于农药残留便携式快速检测设备。该恒电位仪具备四路三电极循环伏安电化学分析系统,采用高精密运放 LM4562 芯片搭建,并展现出了良好的性能。本设计研发的基于阵列电极的四路便携式检测仪的实际检测功能参数的平均相对误差较低且精度较高。稳定性测试显示,实际测定值与理论值间的线性关系相关系数 R^2 为 0.99552,测试表明其稳定性较好。在 6 个增益的可用区间内的实际测量拟合方程 R^2 最低为 0.99302 结果表明该仪器具备良好的基线精度。滤波前后数据方差进行对比,方差从 RC 滤波前的 33.7329 mV^2 降到了 6.7296 mV^2 ,标准差从 5.808 mV 降到了 2.593 mV ,结果表明本研究设计的低通 RC 滤波使得噪声得到了有效的降低,具备良好的工作性能,可应用于菊酯类农药残留快速检测。该设备基线精度较高、稳定性较强、滤波特性良好、操作简单,灵敏度高,成功应用于实际样本检测,符合现场快速检测的要求。且具备样品消耗量小的特点,还具备电极间差异小、高灵敏、微型化、功能集成化程度高、节约时间和试剂等独特优势,具有可应用于菊酯类农药现场实地检测的优势。

第五章 结论与展望

5.1 结论

本文以 PYRs 作为目标物质, 以 Abs 作为核心识别元件, 构建了 1 种电化学免疫分析方法和 1 种单路便携式恒电位仪及 1 种在单路恒电位仪的设计基础上改进的基于阵列电极的便携式检测仪, 可基本满足不同的快速检测要求。主要结论如下:

(1) 为实现实验室条件下 PYRs 的快速初筛检测, 构建可应用于便携式检测仪的 PYRs 传感器, 本研究采用一步湿化学法构建了一种新型的广谱抗体金标探针标记的电化学免疫传感器, 用于蔬菜中甲氰菊酯和溴氰菊酯的快速检测。首先 Abs-AuNPs@ZIF-67 金标探针由 PYRs 抗体和信号放大元件耦合而成, 然后将 Abs-AuNPs@ZIF-67 探针固定在 rGO 修饰的 GCE 电极表面以制备电化学免疫传感器。该方法增强了金标抗体在电极表面的均匀分散效果, 提高了广谱抗体的固定化水平。在最佳实验条件下, 甲氰菊酯和溴氰菊酯浓度与电化学信号呈现出良好的相关性, 线性相关系数分别为 0.9941 和 0.9874。甲氰菊酯和溴氰菊酯的检测范围分别为 $0.286\sim 2.864\times 10^5$ nM 和 $1.979\sim 1.979\times 10^5$ nM。甲氰菊酯和溴氰菊酯的检测限分别为 0.0258 nM 和 1.712 nM。在加标样品回收实验中, 电化学免疫传感器显示出较高的回收率 (93.69%~102.11%)。本研究所构建的电化学免疫传感器具有较高的选择性和稳定性。这项工作制备了一种新型金标抗体探针用于快速检测蔬菜中拟除虫菊酯农药, 并为用于检测其他农药和小分子靶标的电化学免疫传感器的构建提供了参考思路。

(2) 为实现更加快速、灵敏的微量检测, 本研究制备了基于三电极系统的便携式单路恒电位仪作为农药残留便携式快速检测仪的核心。该恒电位仪具备完整的三电极循环伏安电化学分析系统, 采用高精密运放芯片搭建, 并展现出了良好的性能。其工作电流范围在 10.0~800.0 μ A, 本设计研发的基于三电极系统的便携式单路恒电位仪的平均相对误差较低, 精度较高。七次循环稳定性测试显示, 氧化峰 RSD 为 0.395, 还原峰 RSD 为 0.311, 稳定性较好。各个区间的平均电流分辨率为 0.01920 (0.01~10.0 μ A) 和 0.01751 (10.0~800.0 μ A), 具备良好的电流分辨率。在不同铁氰化钾底液离子浓度与单路恒电位仪的 CV 响应峰值之间表现出了良好的一阶线性关系。滤波前后数据方差进行对比, 方差从 RC 滤波前的 40.6597 mV^2 降到了 13.4722 mV^2 , 标准差从 6.376 mV 降到了 3.670 mV, 展现出了良好的滤波效果。由此表明本研究设计的基于三电极系统的便携式单路恒电位仪具备良好的工作性能, 可进一步用于农药残留快速检测设备的二次开发。

(3) 基于以上探究, 本项目研发出基于阵列电极的四路便携式检测仪, 以应用于农药残留便携式快速检测设备。该恒电位仪具备四路三电极循环伏安电化学分析系统, 采用高精密运放 LM4562 芯片搭建, 并展现出了良好的性能。本设计研发的基于阵列电

极的四路便携式检测仪的实际检测功能参数的平均相对误差较低且精度较高。稳定性测试显示,实际测定值与理论值间的线性关系相关系数 R^2 为 0.99552,测试表明其稳定性较好。在 6 个增益的可用区间内的实际测量拟合方程 R^2 最低为 0.99302 结果表明该仪器具备良好的基线精度。滤波前后数据方差进行对比,方差从 RC 滤波前的 33.7329 mV^2 降到了 6.7296 mV^2 ,标准差从 5.808 mV 降到了 2.593 mV ,结果表明本研究设计的低通 RC 滤波使得噪声得到了有效的降低,具备良好的工作性能,可应用于菊酯类农药残留快速检测。该设备基线精度较高、稳定性较强、滤波特性良好、操作简单、灵敏度高,已成功应用于实际样本检测,符合现场快速检测的要求。该仪器不仅具备样品消耗量小的特点,还具备电极间差异小、高灵敏、微型化、功能集成化程度高、节约时间和试剂等优势,具有可应用于菊酯类农药现场实地检测的优势。

诚然,由于广谱性抗体自身的特点和局限性,无法对每种 PYRs 实现同等程度地识别。但本研究的拟除虫菊酯的快速检测方法和快速检测设备,基本满足了的菊酯类农药的现场快速检测需求,并为后续的更加智能化、自动化的检测仪开发方案提供了参考。

5.2 展望

本文以拟除虫菊酯抗体作为核心识别元件,构建了 1 种电化学免疫分析方法,1 种基于三电极系统的便携式恒电位仪和 1 台基于阵列电极的四路便携式农药残留快速检测仪,其性能测试表现出了良好的效果。但该项工作仍有些许的不足,我们需要对该项工作进行进一步进行讨论研究。根据作者在相关实验项目的研究基础及经验,对本研究工作做出后续探索展望:

(1) 在传感器的构建上,所使用的识别元件需要进一步的筛选和合成。该识别元件针对菊酯类农药目标物,对不同种的目标物亲和力略有差别。因此需要以高效的筛选方法,筛选出针对不同靶标的更高效的抗体识别元件。

(2) 在检测仪的研发上,可以着眼于智能化、自动化的开发方案,以寻求更高效的数据传输处理过程,更明晰的数据结果图表展示,更便捷的操作方式,可进一步提高工作效率,进一步挖掘其应用于现场快速检测的潜力。

参考文献

- [1] Galadima M, Singh S, Pawar A, et al. Toxicity, microbial degradation and analytical detection of pyrethroids: A review[J]. *Environmental Advances*, 2021, 5: 100105.
- [2] Li X, Yang T, Song Y, et al. Surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS)-based immunochromatographic assay (ICA) for the simultaneous detection of two pyrethroid pesticides[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2019, 283: 230-238.
- [3] Firouzsalar N Z, Shakerkhatibi M, Pourakbar M, et al. Pyrethroid pesticide residues in a municipal wastewater treatment plant: Occurrence, removal efficiency, and risk assessment using a modified index[J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2019, 29: 100793.
- [4] Jurewicz J, Radwan P, Wielgomas B, et al. Exposure to pyrethroid pesticides and ovarian reserve[J]. *Environment International*, 2020, 144: 106028.
- [5] 董记萍, 付鑫羽, 白孟卿, 等. 近 3 年我国农药产品质量情况分析[J]. *农药科学与管理*, 2019, 40(7): 13-21.
- [6] 李新. 拟除虫菊酯类杀虫剂研发及市场概况[J]. *农药*, 2016, 55(9): 625-630.
- [7] Fang L, Liao X, Jia B, et al. Recent progress in immunosensors for pesticides[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2020, 164: 112255.
- [8] 董浩玮. 基于广谱性抗体识别的有机磷农药残留快速检测方法研究[D]. 淄博: 山东理工大学, 2021.
- [9] Dorozhko E V, Gashevskaya A S, Korotkova E I, et al. A copper nanoparticle-based electrochemical immunosensor for carbaryl detection[J]. *Talanta*, 2021, 228: 122174.
- [10] Bucur B, Munteanu F-D, Marty J-L, et al. Advances in enzyme-based biosensors for pesticide detection[J]. *Biosensors*, 2018, 8(2): 27.
- [11] Kaur J, Singh P K. Enzyme-based optical biosensors for organophosphate class of pesticide detection[J]. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2020, 22(27): 15105-15119.
- [12] Bala R, Dhingra S, Kumar M, et al. Detection of organophosphorus pesticide—Malathion in environmental samples using peptide and aptamer based nanoprobe[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2017, 311: 111-116.
- [13] Talari F F, Bozorg A, Faridbod F, et al. A novel sensitive aptamer-based nanosensor using rGQDs and MWCNTs for rapid detection of diazinon pesticide[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2021, 9(1): 104878.
- [14] 张少恩, 桑丽雅, 王振国, 等. 有机磷农药快速检测方法的研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(9): 2629-2633.
- [15] 张秀宇, 何涛, 尹华涛, 等. 饮用水生物性污染物快速检测技术研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(21): 7253-7259.
- [16] 高栋, 陈秀金, 李兆周, 等. 电化学传感器在赭曲霉毒素 A 检测中的应用研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(22): 295-300.
- [17] 陈林林, 张佳欣, 范天娇, 等. 纳米基电化学传感器在兽药残留检测中的应用[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(18): 7112-7118.
- [18] 李俊杰, 侯长军, 霍丹群, 等. 有机磷农药快速检测方法与技术进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2013, (1): 19-26.
- [19] 陈亨业, 邓高琼, 付海燕, 等. 农产品中内吸性农药残留检测技术与研究进展[J]. *化学试剂*, 2020, 42(10): 1139-1147.
- [20] 邢玮玮, 陈燕敏. 酶联免疫吸附分析法测定食品中有机磷农药残留[J]. *科技通报*, 2018, 34(8): 50-53, 62.
- [21] 温路新, 徐溢, 项松涛, 等. 基于生物传感器的内毒素检测研究进展[J]. *化学通报*, 2018, 81(1): 29-36.
- [22] 张家一, 罗莉君, 刘晓红, 等. 电化学发光传感器在农业传感领域中的研究进展[J]. *应用化学*, 2019, 036(004): 379-391.
- [23] Kamyabi M A, Moharramnezhad M. An enzyme-free electrochemiluminescence sensing probe based on ternary nanocomposite for ultrasensitive determination of chlorpyrifos[J]. *Food Chemistry*, 2021, 351: 129252.
- [24] Su D, Li H, Yan X, et al. Biosensors based on fluorescence carbon nanomaterials for detection of

- pesticides[J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2021, 134: 116126.
- [25] Ferrari A G-M, Carrington P, Rowley-Neale S J, et al. Recent advances in portable heavy metal electrochemical sensing platforms[J]. *Environmental Science: Water Research & Technology*, 2020, 6(10): 2676-2690.
- [26] Usmani Z, Sharma M, Awasthi A K, et al. Minimizing hazardous impact of food waste in a circular economy—Advances in resource recovery through green strategies[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 416: 126154.
- [27] Choi J R, Yong K W, Choi J Y, et al. Emerging point-of-care technologies for food safety analysis[J]. *Sensors*, 2019, 19(4): 817.
- [28] Kaushik A K, Dhau J S, Gohel H, et al. Electrochemical SARS-CoV-2 sensing at point-of-care and artificial intelligence for intelligent COVID-19 management[J]. *ACS Applied Bio Materials*, 2020, 3(11): 7306-7325.
- [29] Sfragano P S, Laschi S, Palchetti I. Sustainable printed electrochemical platforms for greener analytics[J]. *Frontiers in Chemistry*, 2020: 644.
- [30] Felix F S, Angnes L. Electrochemical immunosensors—a powerful tool for analytical applications[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2018, 102: 470-478.
- [31] Teymourian H, Parrilla M, Sempionatto J R, et al. Wearable electrochemical sensors for the monitoring and screening of drugs[J]. *ACS sensors*, 2020, 5(9): 2679-2700.
- [32] Shi Q, Teng Y, Zhang Y, et al. Rapid detection of organophosphorus pesticide residue on Prussian blue modified dual-channel screen-printed electrodes combing with portable potentiostat[J]. *Chinese Chemical Letters*, 2018, 29(9): 1379-1382.
- [33] 周丹, 闵亚杰, 戚欣, 等. 基于阵列芯片现场高灵敏同步快速检测粮油中氨基甲酸酯类农药残留混合污染[J]. *中国油料作物学报*, 2020, 42(3): 341-349.
- [34] Belghiti D, Zadeh-Habchi M, Scorsone E, et al. Boron doped diamond/metal nanoparticle catalysts hybrid electrode array for the detection of pesticides in tap water[J]. *Procedia Engineering*, 2016, 168: 428-431.
- [35] Zhao Y, Du D, Li Q, et al. Dummy-surface molecularly imprinted polymers based on magnetic graphene oxide for selective extraction and quantification of pyrethroids pesticides in fruit juices[J]. *Microchemical Journal*, 2020, 159: 105411.
- [36] Fruhmman P, Sanchis A, Mayerhuber L, et al. Immunoassay and amperometric biosensor approaches for the detection of deltamethrin in seawater[J]. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2018, 410(23): 5923-5930.
- [37] Camilo D E, Miyazaki C M, Shimizu F M, et al. Improving direct immunoassay response by layer-by-layer films of gold nanoparticles—antibody conjugate towards label-free detection[J]. *Materials Science and Engineering: C*, 2019, 102: 315-323.
- [38] Dávila E L, Houbraken M, Unday Z G, et al. ELISA, a feasible technique to monitor organophosphate, carbamate, and pyrethroid residues in local vegetables. Cuban case study[J]. *SN Applied Sciences*, 2020, 2(9): 1-12.
- [39] Huo J, Li Z, Wan D, et al. Development of a highly sensitive direct competitive fluorescence enzyme immunoassay based on a nanobody—alkaline phosphatase fusion protein for detection of 3-phenoxybenzoic acid in urine[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(43): 11284-11290.
- [40] Veneciano R I, Parra V S, Quiroz W, et al. Deltamethrin determination in natural water samples via photochemically-induced fluorescence coupled to third-order multivariate calibration[J]. *Microchemical Journal*, 2020, 159: 105561.
- [41] Al Yahyai I, Hassanzadeh J, Al-Lawati H A. A novel and selective multi-emission chemiluminescence system for the quantification of deltamethrin in food samples[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2021, 327: 128927.
- [42] El-Moghazy A Y, Huo J, Amaly N, et al. An innovative nanobody-based electrochemical immunosensor using decorated nylon nanofibers for point-of-care monitoring of human exposure to pyrethroid insecticides[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2020, 12(5): 6159-6168.
- [43] Zhao Y, Tian L, Wu S, et al. Ultrasensitive electrochemiluminescence biosensor for permethrin based on iron oxide nanomaterials and Au nanoparticles[J]. *Microchemical Journal*, 2021, 168: 106487.
- [44] Vogiazzi V, De La Cruz A, Mishra S, et al. A comprehensive review: Development of electrochemical biosensors for detection of cyanotoxins in freshwater[J]. *ACS sensors*, 2019, 4(5):

- 1151-1173.
- [45] Hou L, Zhang X, Huang Y, et al. A ratiometric electrochemical biosensor via alkaline phosphatase mediated dissolution of nano-MnO₂ and Ru (III) redox recycling for the determination of dimethoate[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2021: 114400.
- [46] Bao J, Huang T, Wang Z, 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.
- [47] Fu J, An X, Yao Y, et al. Electrochemical aptasensor based on one step co-electrodeposition of aptamer and GO-CuNPs nanocomposite for organophosphorus pesticide detection[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2019, 287: 503-509.
- [48] Zhao Y, Zeng H, Zhu X-W, et al. Metal-organic frameworks as photoluminescent biosensing platforms: mechanisms and applications[J]. *Chemical Society Reviews*, 2021.
- [49] Zhang L, Mazouzi Y, Salmain M, et al. Antibody-gold nanoparticle bioconjugates for biosensors: synthesis, characterization and selected applications[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2020, 165: 112370.
- [50] Zhou S, Hu J, Chen X, et al. Hydrazide-assisted directional antibody conjugation of gold nanoparticles to enhance immunochromatographic assay[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2021, 1168: 338623.
- [51] Li M, He B. Ultrasensitive sandwich-type electrochemical biosensor based on octahedral gold nanoparticles modified poly (ethylenimine) functionalized graphitic carbon nitride nanosheets for the determination of sulfamethazine[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2021, 329: 129158.
- [52] Chen X, Zhao J-X, Wang J-W, et al. Doping ZIF-67 with transition metals results in bimetallic centers for electrochemical detection of Hg (II)[J]. *Electrochimica Acta*, 2021, 387: 138539.
- [53] Meng W, Wen Y, Dai L, et al. A novel electrochemical sensor for glucose detection based on Ag@ ZIF-67 nanocomposite[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 260: 852-860.
- [54] Selvam S P, Kadam A N, Maiyelvaganan K R, et al. Novel SeS₂-loaded Co MOF with Au@ PANI comprised electroanalytical molecularly imprinted polymer-based disposable sensor for patulin mycotoxin[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2021, 187: 113302.
- [55] Silva J Y R, Proenza Y G, Da Luz L L, et al. A thermo-responsive adsorbent-heater-thermometer nanomaterial for controlled drug release:(ZIF-8, EuxTby)@ AuNP core-shell[J]. *Materials Science and Engineering: C*, 2019, 102: 578-588.
- [56] Xu L, Xiong Y, Dang B, et al. In-situ anchoring of Fe₃O₄/ZIF-67 dodecahedrons in highly compressible wood aerogel with excellent microwave absorption properties[J]. *Materials & Design*, 2019, 182: 108006.
- [57] Abdelhameed R M, Abu-Elghait M, El-Shahat M. Hybrid three MOFs composites (ZIF-67@ ZIF-8@ MIL-125-NH₂): Enhancement the biological and visible-light photocatalytic activity[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2020, 8(5): 104107.
- [58] Cui W, Kang X, Zhang X, et al. Facile synthesis of porous cubic microstructure of Co₃O₄ from ZIF-67 pyrolysis and its Au doped structure for enhanced acetone gas-sensing[J]. *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures*, 2019, 113: 165-171.
- [59] Liu L, Hao Y-J, Li Z, et al. Visible colorimetric sensing of cysteine based on Au nanoparticle modified ZIF-67[J]. *Chemical Papers*, 2020, 74(6): 1839-1847.
- [60] Liu X, Chen W, Lian M, et al. Enzyme immobilization on ZIF-67/MWCNT composite engenders high sensitivity electrochemical sensing[J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2019, 833: 505-511.
- [61] Hu J, Kong G, Zhu Y, et al. Ultrafast room-temperature reduction of graphene oxide by sodium borohydride, sodium molybdate and hydrochloric acid[J]. *Chinese Chemical Letters*, 2021, 32(1): 543-547.
- [62] Dai P, Yao Y, Hu E, et al. Self-assembled ZIF-67@ graphene oxide as a cobalt-based catalyst precursor with enhanced catalytic activity toward methanolysis of sodium borohydride[J]. *Applied Surface Science*, 2021, 546: 149128.
- [63] He G, Li Y, Wu L, et al. Synergy of core-shell Cu@ rGO hybrids for significantly improved thermal and tribological properties of polyimide composites[J]. *Tribology International*, 2021, 161: 107091.
- [64] Dong H, Zhao Q, Li J, et al. Broad-spectrum electrochemical immunosensor based on one-step electrodeposition of AuNP-Abs and Prussian blue nanocomposite for organophosphorus pesticide detection[J]. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2021, 44(3): 585-594.

- [65] Qiao F-Y, Liu J, Li F-R, et al. Antibody and DNA dual-labeled gold nanoparticles: Stability and reactivity[J]. *Applied surface science*, 2008, 254(10): 2941-2946.
- [66] Nghiem T H L, La T H, Vu X H, et al. Synthesis, capping and binding of colloidal gold nanoparticles to proteins[J]. *Advances in Natural Sciences: nanoscience and nanotechnology*, 2010, 1(2): 025009.
- [67] Surekha G, Krishnaiah K V, Ravi N, et al. FTIR, Raman and XRD analysis of graphene oxide films prepared by modified Hummers method[C]. *Journal of Physics: Conference Series*, 2020: 012012.
- [68] Sengunthar P, Bhavsar K, Balasubramanian C, et al. Physical properties and enhanced photocatalytic activity of ZnO-rGO nanocomposites[J]. *Applied Physics A*, 2020, 126(7): 1-9.
- [69] Ye C, Chen X, Zhang D, et al. Study on the properties and reaction mechanism of polypyrrole@ norfloxacin molecularly imprinted electrochemical sensor based on three-dimensional CoFe-MOFs/AuNPs[J]. *Electrochimica Acta*, 2021, 379: 138174.
- [70] Zhao H, Liu T, Cui L, et al. Label-free and Dual-amplified Electrochemical Bioanalysis of MUC1 Based on an Inorganic-organic Polymer Hybrid Mimic Peroxidase (AuNPs@Cu₇S₄@ Cu/Mn-AzoPPOP) and Catalytic Hairpin Assembly[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2021, 345: 130332.
- [71] Pham T B, Hoang T H C, Pham V H, et al. Detection of Permethrin pesticide using silver nano-dendrites SERS on optical fibre fabricated by laser-assisted photochemical method[J]. *Scientific reports*, 2019, 9(1): 1-10.
- [72] Xu J, Zhang R, Liu C, et al. Highly Selective Electrochemiluminescence Sensor Based on Molecularly Imprinted-quantum Dots for the Sensitive Detection of Cyfluthrin[J]. *Sensors*, 2020, 20(3): 884.
- [73] Wang Y, Li H, Wang X, et al. Preparation of a high-performance magnetic molecularly imprinted sensor for SERS detection of cyfluthrin in river[J]. *Journal of Raman Spectroscopy*, 2019, 50(7): 926-935.
- [74] Leung W, Limwichean S, Nuntawong N, et al. Rapid Detection of Cypermethrin by Using Surface-Enhanced Raman Scattering Technique[C]. *Key Engineering Materials*, 2020, 853: 102-106.
- [75] Umapathi R, Ghoreishian S M, Sonwal S, et al. Portable electrochemical sensing methodologies for on-site detection of pesticide residues in fruits and vegetables[J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2022, 453: 214305.
- [76] 郝喜娟, 赵沈飞, 张春媚, 等. 基于纳米仿生酶构建电化学传感器用于活性氧检测[J]. *材料导报*, 2021, 35(3): 3183-3193,3218.
- [77] 宾俊. 便携式重金属智能分析仪的设计与实现[D]. 长沙: 中南大学, 2014.
- [78] Raymundo-Pereira P A, Gomes N O, Shimizu F M, et al. Selective and sensitive multiplexed detection of pesticides in food samples using wearable, flexible glove-embedded non-enzymatic sensors[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2021, 408: 127279.
- [79] Nagabooshanam S, Roy S, Mathur A, et al. Electrochemical micro analytical device interfaced with portable potentiostat for rapid detection of chlorpyrifos using acetylcholinesterase conjugated metal organic framework using Internet of things[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 1-9.
- [80] Ainla A, Mousavi M P, Tsaloglou M-N, et al. Open-source potentiostat for wireless electrochemical detection with smartphones[J]. *Analytical Chemistry*, 2018, 90(10): 6240-6246.
- [81] Dorta-Quifones C I, Huang M, Ruelas J C, et al. A bidirectional-current CMOS potentiostat for fast-scan cyclic voltammetry detector arrays[J]. *IEEE Transactions on Biomedical Circuits and Systems*, 2018, 12(4): 894-903.
- [82] Lopin P, Lopin K V. PSoC-Stat: A single chip open source potentiostat based on a Programmable System on a Chip[J]. *Plos One*, 2018, 13(7): e0201353.
- [83] 徐莹, 张海靖, 代燕, 等. 基于多层修饰电极在便携式恒电位仪系统中的电化学算法优化[J]. *中国生物医学工程学报*, 2020, 39(4): 449-458.
- [84] Ahmad R, Surya S G, Sales J B, et al. KAUSTat: A Wireless, Wearable, Open-Source Potentiostat for Electrochemical Measurements[C]. *2019 IEEE SENSORS*, 2019: 1-4.
- [85] 代燕. 基于电化学参数分析的便携式恒电位仪系统设计及应用[D]. 杭州: 杭州电子科技大学, 2020.
- [86] 徐莹, 罗玉林, 郭淼. 检测微量维生素 B2 的便携式恒电位仪平台设计[J]. *中国生物医学工程学报*, 2017, 36(2): 187-194.

- [87] Pungjunun K, Nantaphol S, Praphairaksit N, et al. Enhanced sensitivity and separation for simultaneous determination of tin and lead using paper-based sensors combined with a portable potentiostat[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2020, 318: 128241.
- [88] Ji D, Liu L, Li S, et al. Smartphone-based cyclic voltammetry system with graphene modified screen printed electrodes for glucose detection[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2017, 98: 449-456.
- [89] Aymerich J, Márquez A, Terés L, et al. Cost-effective smartphone-based reconfigurable electrochemical instrument for alcohol determination in whole blood samples[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2018, 117: 736-742.
- [90] 周红标, 李珊, 储程链, 等. 基于STM32和LabVIEW的白酒电子舌的设计[J]. *计算机测量与控制*, 2014, 22(3): 866-868, 881.
- [91] 王延新, 谢书宇, 陈冬梅, 等. 电化学免疫传感器在食品安全检测中的研究进展[J]. *畜牧兽医学报*, 2018, 49(7): 1334-1342.
- [92] Serafín V, Martínez-García G, Aznar-Poveda J, et al. Determination of progesterone in saliva using an electrochemical immunosensor and a COTS-based portable potentiostat[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2019, 1049: 65-73.
- [93] Bianchi V, Boni A, Fortunati S, et al. A Wi-Fi cloud-based portable potentiostat for electrochemical biosensors[J]. *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement*, 2019, 69(6): 3232-3240.
- [94] Ning Z, Huang J, Guo S, et al. A Portable Potentiostat for Three-Electrode Electrochemical Sensor[C]. *Journal of Physics: Conference Series*, 2020: 042049.
- [95] Hoilett O S, Walker J F, Balash B M, et al. KickStat: A coin-sized potentiostat for high-resolution electrochemical analysis[J]. *Sensors*, 2020, 20(8): 2407.
- [96] Osaki S, Wakida S-I, Saito M, et al. Towards On-site Determination of Secretory IgA in Artificial Saliva with Gold-Linked Electrochemical Immunoassay (GLEIA) Using Portable Potentiostat and Disposable Printed Electrode[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2021, 193(5): 1311-1320.
- [97] Cordova-Huaman A V, Jauja-Ccana V R, La Rosa-Toro A. Low-cost smartphone-controlled potentiostat based on Arduino for teaching electrochemistry fundamentals and applications[J]. *Heliyon*, 2021, 7(2): e06259.
- [98] Huang C-Y, Huang H-T, Yuan R-T. Design of a portable mini potentiostat for electrochemical biosensors[C]. 2017 IEEE 2nd Advanced Information Technology, Electronic and Automation Control Conference (IAEAC), 2017: 200-203.
- [99] 李晶, 滕霞, 刘传银. 电化学生物传感器测定甲胎蛋白的研究进展[J]. *化学研究与应用*, 2015(1): 20-27.

攻读学位期间公开发表的论文

- [1] **Yaodong Xiang**, Haowei Dong, Rui Xu, Jingcheng Huang, Guangxian Wang, Fukai Guan, Honggang Fang, Yemin Guo*, Mohamed Bedair Mohamed Ahmed*. Novel electrochemical immunosensor based on an Abs-AuNPs@ZIF-67 probe for the simultaneous detection of fenpropathrin and deltamethrin in vegetables[J]. International Journal of Electrochemical Science, 2022, 17(220439): 2. (SCI 四区, IF=1.765)
- [2] Jingcheng Huang, **Yaodong Xiang**, Jiansen Li, Qianqian Kong, Hongguo Zhai, Rui Xu, Fengzhen Yang, Xia Sun*, YeminGuo. A novel electrochemiluminescence aptasensor based on copper-gold bimetallic nanoparticles and its applications[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2021, 194: 113601. (SCI 一区, IF=10.618)
- [3] Yemin Guo, Fengzhen Yang, Yao Yao, Jiansen Li, Shuting Cheng, Haowei Dong, Hui Zhang, **Yaodong Xiang**, Xia Sun*. Novel Au-tetrahedral aptamer nanostructure for the electrochemiluminescence detection of acetamiprid[J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 401: 123794. (SCI 一区, IF=10.588)
- [4] Fengzhen Yang, Jiansen Li, Haowei Dong, Guanjie Wang, Jie Han, Rui Xu, Qianqian Kong, Jingcheng Huang, **Yaodong Xiang**, Qingqing Yang, Xia Sun, Yemin Guo*. Novel label-free electrochemiluminescence aptasensor using a tetrahedral DNA nanostructure as a scaffold for ultrasensitive detection of organophosphorus pesticides in a luminol-H₂O₂ system[J]. Analyst, 2022. (SCI 三区, IF=4.616)
- [5] Haowei Dong[#], Xingshuang An[#], **Yaodong Xiang**, Fukai Guan, Qi Zhang, Qingqing Yang, Xia Sun, Yemin Guo*. Novel time-resolved fluorescence immunochromatography paper-based sensor with signal amplification strategy for detection of deoxynivalenol[J]. Sensors, 2020, 20: 6577. (SCI 三区, IF=3.576)
- [6] Jiansen Li, Fengzhen Yang, Jingcheng Huang, **Yaodong Xiang**, Bao Wang, Xia Sun, Yuan Liu, Qianqian Kong, Wei Chen, Pei Li, Yemin Guo*. Novel pyramidal DNA nanostructure as a signal probe carrier platform for detection of organophosphorus pesticides[J]. Food Analytical Methods, 2022: 1-12. (SCI 二区, IF=3.366)
- [7] Haowei Dong, Qingxue Zhao, Jiansen Li, **Yaodong Xiang**, Huimin Liu, Yemin Guo*, Qingqing Yang, Xia Sun. Broad-spectrum electrochemical immunosensor based on one-step electrodeposition of AuNP-Abs and Prussian blue nanocomposite for organophosphorus pesticide detection[J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2021, 44: 585-594. (SCI 三区, IF=3.210)

获奖情况

- [1] 2022年03月, 获山东省省级优秀毕业生;
- [2] 2021年10月, 获山东理工大学研究生一等学业奖学金;
- [3] 2021年10月, 获山东理工大学优秀学生干部;
- [4] 2021年09月, 获“挑战杯”第十七届全国大学生课外学术科技作品竞赛, 全国三等奖(1/7);
- [5] 2021年06月, 获山东理工大学研究生竞赛类优秀成果单项奖;
- [6] 2022年06月, 获“沃得杯”第七届国际大学生智能农业装备创新大赛, 全国二等奖(2/5);
- [7] 2021年06月, 获“挑战杯”第十七届山东省大学生课外学术科技作品竞赛, 特等奖(1/7);
- [8] 2020年12月, 获“中联重科”杯第六届全国大学生智能农业装备国际创新大赛, 特等奖(2/5);
- [9] 2020年12月, 获山东省科技创新大赛, 山东理工大学一等奖(1/5)。

攻读学位期间参与的科研项目

- [1] 基于三维纳米适配体传感器的蔬菜中有机磷农药多残留同步检测方法研究. 国家自然科学基金面上项目, 项目号: 31772068
- [2] 基于广谱性抗体识别的阵列多传感农药多残留快速检测技术研究与应用. 山东省自然科学基金重大基础研究项目, 项目号: ZR2018ZC0126
- [3] 蔬菜质量安全精准追溯技术体系研究与应用. 山东省重大科技创新工程项目, 项目号: 2018CXGC0214

致谢

还记得当初在实验室给师姐打下手的那些时光，转眼间就到我被师弟师妹们送别了。这三年求学路，见过许多聚散，风里也走，雨里也去，增添了一些积淀。回首这三年，满满的都是科研和生活的欢乐和汗水，印下了我的成长痕迹。

感谢我的导师郭业民教授，治学严谨，于细微处显精神，于寻常中下功夫。三年来，导师渊博的专业知识，精益求精的工作作风，诲人不倦的高尚师德，无微不至的关怀，对我影响极其深远。春风化雨般不知不觉让我渐渐成长，细致入微地使我有极大的提高。导师不仅毫无保留的指点我学习工作，使我的科研能力和理论水平得到了很大提升，还在生活上给予了很大的关心和照顾。不仅提高了专业技能，还让我拓宽了眼界。历时三载，已然成为我人生的导师。师恩似海，感激之情难以言喻。

感谢孙霞教授对我的鞭策与鼓励，感谢三年来一直对我的关心，从论文到比赛，都倾注了心血，为我们提出了各种中肯的建议和意见。论文的完成也离不开其他各位老师、同学和朋友的关心与帮助。感谢杨青青、张妍妍、夏连明、刘战丽、李发兰、宿佃斌等老师们对我的关怀和帮助。感谢王广现师哥在我生日当晚香喷喷的鸡蛋泡面和那些分享给大家的美食，感谢董浩玮师姐在我无数个不懂事瞬间给予的指导，感谢安兴爽师哥、褚光雷师哥、岳凤玲师姐在实验上的帮助，感谢张慧、程淑婷等师姐的关怀。感谢杨凤珍同学三年以来的同门之友谊，感谢徐睿同学一起面对挑战的战友般的情谊，那些时光将永远留在心底。忘不了和黄靖程同学共同探讨实验共同分享美食的点点滴滴、忘不了和刘俊杰班长共同分担班级工作的种种回忆，忘不了李建森、孔倩倩、王豹、尹佳琪、张梅、查传云、王晓敏等同学的关心和帮助。感谢沈政、管福凯、王冠杰、方洪刚、徐德岩、韦琳、张佳丽、张凤娟、耿令军、王悦、翟洪国、韩杰、袁贝、孙家帅、白梦圆、胡孟娇、孟晓娅、何振营还有 201 办公室的陈晓峰，刘文正、桑茂盛、陈土豪、张璐、段晓仪等师弟师妹的关怀。感谢李鹏程、贺明、陈炫宏等同学的关心和照顾。感谢张姗姗同学的关心和照顾，我们一同成长和成熟。

感谢我的父母和亲人们，你们给予了我科研和生活的支撑。感谢这么多年来你们无怨无悔的付出，永不停歇的照顾，感谢你们在我迷茫时对我最坚定的支持。你们是我前进的动力，也是我最坚强的后盾。

谨此，纪念那些阳光和阴雨的日子。忘不了这青春的三年，忘不了这段平凡而又精彩的时光，忘不了这一群可爱的人。但行好事，莫问前程；安在当下，乐住心中。

三月十五日夜 于淄博