

# 钌-生物质碳人工酶的制备及在比色检测杀虫剂 毒死蜱残留中的应用

曹志军, 李在均

(江南大学 化学与材料工程学院, 无锡 214122)

**摘要:** 金属纳米材料人工酶以其高稳定性和低成本的特点而被广泛用于生物传感与催化领域。本研究采用[1-甲基-3-乙基咪唑][二氰胺]离子液体([EMIM][DCA])与氯化钌反应形成[EMIM]<sub>3</sub>[Ru(DCA)<sub>6</sub>]离子液体,将蚕丝溶解于[EMIM]<sub>3</sub>[Ru(DCA)<sub>6</sub>]后经高温碳化得到钌-生物质碳纳米材料。结果显示,钌-生物质碳纳米材料具有优异的分散性,平均直径为 7.5 nm 的钌纳米粒子可均匀地分散在碳片表面,表现出较强的类氧化酶活性。基于杀虫剂毒死蜱对钌-生物质碳酶活性的抑制作用,建立了一种测定毒死蜱的比色方法。钌-生物质碳酶能催化 3,3',5,5'-四甲基联苯胺氧化生成蓝色产物。毒死蜱能抑制钌-生物质碳人工酶的活性,从而导致蓝色产物的吸光度下降。当毒死蜱浓度在 10~80 ng/mL 之间,反应体系的吸光度随毒死蜱浓度增大而线性下降,检出下限为 6.5 ng/mL。本方法的灵敏度和稳定性明显优于现有技术,已成功应用于桃果实中毒死蜱农药残留的快速测定。

**关键词:** 金属离子液体; 钌纳米粒子; 类氧化酶; 有机磷杀虫剂; 比色检测

中图分类号: TQ174 文献标志码: A

## Ruthenium-biocarbon Mimic Enzyme: Synthesis and Application in Colorimetric Detection of Pesticide Chlorpyrifos

CAO Zhijun, LI Zaijun

(School of Chemical and Material Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

**Abstract:** Metal nanomaterials as mimic enzyme have been widely used for biosensor and catalysis due to their high stability and low cost. Here, [1-methyl-3-ethylimidazole][dicyandiamide] ionic liquid ([EMIM][DCA]) reacted with ruthenium chloride to form [EMIM]<sub>3</sub>[Ru(DCA)<sub>6</sub>] ionic liquid. Silk was dissolved in the above ionic liquid and then carbonized at high temperature to obtain Ru-biomass carbon composite. The results show that Ru-biomass carbon offers excellent dispersion, small Ru nanoparticles with an average diameter of 7.5 nm which were uniformly dispersed on the surface of carbon sheets, and high oxidase-like activity. Based on the inhibition of chlorpyrifos on catalytic activity of Ru-biomass carbon, a method was established for colorimetric determination of chlorpyrifos. Chlorpyrifos obviously inhibits the catalytic activity of Ru-biochar carbon, leading to a reduced absorbance of blue product. When the concentration of chlorpyrifos was in the range from 10 to 80 ng/mL, the peak absorbance decreases linearly with the increase of chlorpyrifos concentration, giving a detection limit of about 6.5 ng/mL. The as-proposed

收稿日期: 2021-06-06; 收到修改稿日期: 2021-08-07; 网络出版日期: 2021-11-01

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFC1603001) Research and Development Program of China (2018YFC1603001)

作者简介: 曹志军(1991-), 男, 博士研究生. E-mail: 7190610007@stu.jiangnan.edu.cn

CAO Zhijun (1991-), male, PhD candidate. E-mail: 7190610007@stu.jiangnan.edu.cn

通信作者: 李在均, 教授. E-mail: zaijunli@jiangnan.edu.cn

LI Zaijun, professor. E-mail: zaijunli@jiangnan.edu.cn

method provides higher sensitivity and stability compared with present methods, and has successfully applied to detection of chlorpyrifos in peach samples.

**Key words:** metal ionic liquid; Ru nanomaterial; oxidase-like enzyme; organophosphorus insecticide; colorimetric detection

我国是水果的生产大国和消费大国<sup>[1-3]</sup>,而桃营养丰富、美味可口,在我国已有4000多年的栽培历史,栽培面积和产量均居世界第一。桃在生长期和采摘后均易感染病虫害,因此种植和贮藏过程中都需施用农药防控病虫害以提高桃品质<sup>[4-5]</sup>。毒死蜱是桃树发芽期、开花结果期以及果实成熟期常用的有机磷农药杀虫剂<sup>[6]</sup>。近年来,桃果实中的毒死蜱残留对人体健康的危害受到了广泛关注,开发准确、快速、高灵敏的毒死蜱残留检测方法具有重要的现实意义<sup>[7]</sup>。

农药残留检测的主要方法是色谱法<sup>[8]</sup>、表面增强拉曼散射<sup>[9]</sup>、荧光<sup>[10]</sup>、电化学<sup>[11]</sup>和比色法<sup>[12]</sup>。色谱法是实验室常用的农药检测工具,具有较高灵敏度和特异性,但它需要经过繁琐的样品预处理,所用的仪器昂贵,需要熟练操作<sup>[13]</sup>,极大地限制了在现场快速检测中的应用。表面增强拉曼散射法具有较高的灵敏度和特异性,但检测信号不稳定限制了它的实际应用。荧光法具有速度快、灵敏度高和特异性强的优势,但生物大分子的背景荧光干扰会影响低浓度农药的准确测定<sup>[14]</sup>。电化学分析法具有较高的灵敏度和检测速度,但一些电化学活性分子可能干扰痕量农残的检测<sup>[15]</sup>。比色法成本低,操作简单、读数直观,因而受到较多的关注<sup>[16-17]</sup>。现有比色法因采用容易失活的天然氧化酶而对温度和pH敏感,难以长期储存,造成实际应用不便。与天然酶相比,金属纳米材料人工酶的稳定性更高和成本更低。然而,现有人工酶的活性明显低于天然酶<sup>[18]</sup>。

本研究采用金属型离子液体固定钌和溶解蚕丝制备了钌-生物质碳复合物,该复合物具有良好的分散性和高的类氧化酶活性,对3,3',5,5'-四甲基联苯胺氧化生成蓝色产物具有显著的催化作用。本研究基于毒死蜱对复合物催化活性的抑制作用,建立了桃果实中毒死蜱的快速、灵敏和重现性好的比色检测方法。

## 1 实验方法

### 1.1 仪器与试剂

HITACHI S4800 扫描电子显微镜购自日本

HITACHI 公司, JEM-2100(HR)透射电子显微镜购自美国 FEI 公司, D8 Advance X-射线衍射仪购自德国 Bruker AXS 公司, ESCALAB 250X X 射线光电子能谱仪购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司, TU-1901 双光束紫外-可见分光光度计购自北京普析通用仪器有限责任公司。

3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)、三氯化钌和二氰胺钠购自 Sigma-Aldrich 化学公司。根据参考文献[19]记载,本实验室合成了 CuO/Pt 纳米复合材料。所有其他试剂均购自国药集团化学试剂有限公司,均为分析级试剂。整个实验过程中使用 Milli-Q 净化系统生产的超纯水(18.2 kΩ/cm)。

### 1.2 钌-生物质碳复合物制备

将二氰胺钠(0.1 mol/L)、溴化 1-甲基-3-乙基咪唑(0.1 mol/L)和三氯化钌(0.1 mol/L)的水溶液按体积比 6:3:1 与丙酮(100 mL)混合,75 °C 回流过夜,得到黑色溶液。然后,将黑色溶液旋转蒸发除去溶剂,重新溶于丙酮,过滤、旋转蒸发除去溶剂,80 °C 真空干燥 24 h,得到[EMIM]<sub>3</sub>[Ru(DCA)<sub>6</sub>]离子液体<sup>[20]</sup>。

5 g 蚕丝分散在 2 g [EMIM]<sub>3</sub>[Ru(DCA)<sub>6</sub>]离子液体中,加水 100 mL,微波处理 15 min 再冷冻干燥。然后,转移至管式炉, N<sub>2</sub> 气氛中以 1 °C/min 的速率升温至 600 °C,保温 60 min,以 10 °C/min 升温至 900 °C,保持 120 min,自然冷却至室温,得到钌-生物质碳复合物。

### 1.3 毒死蜱检测

将 200 μL 不同浓度的毒死蜱标准溶液或样品溶液与 100 μL 钌-生物质碳复合物分散液(5 mg/mL)混合,40 °C 孵育 20 min,然后加入 300 μL TMB 溶液(10 mmol/L)和 400 μL 醋酸缓冲液(pH4.0),摇匀,放置 1 min,然后在分光光度计上扫描光谱或测定 665 nm 波长处的吸光度。

### 1.4 样品预处理

从无锡当地超市购买桃样品,去核后用超纯水清洗,室温下干燥,然后用家用搅拌机磨成果汁。将 10 g 果汁与 9 mL 0.1 mol/L 磷酸缓冲溶液(PBS, pH7.4)和 1 mL 丙酮混合,超声 10 min,以 8000 r/min 速率离心 10 min,收集的悬浮液用于毒死蜱检测。

## 2 结果与讨论

### 2.1 钌-生物质碳复合物合成

钌-生物质碳复合物的合成分三个步骤。第一步是制备钌基离子液体。首先, 溴化 1-甲-3-乙基咪唑与二氰胺钠之间进行离子交换, 生成[EMIM][DCA]离子液体。然后, 三氯化钌与上述离子液体发生配位反应得到钌基离子液体([EMIM]<sub>3</sub>[Ru(DCA)<sub>6</sub>])。上述反应中, 一个钌离子同时与六个二氰胺离子以配位键方式结合, 形成稳定的二氰胺钌阴离子。这种结合使不同钌离子彼此分隔, 阻止了钌离子在碳化过程中聚集形成较大的钌纳米粒子。另一方面, 固定钌离子降低了碳化过程中钌离子释放速率。这种缓释作用能有效调节钌离子的还原和随后的晶体生长速率, 最终形成尺寸较小的钌纳米晶体。

第二步是溶解蚕丝。利用离子液体对纤维强大的溶解能力, 将蚕丝溶解在[EMIM]<sub>3</sub>[Ru(DCA)<sub>6</sub>]离子液体中, 从而使钌离子在生物质前驱体的三维空间上均匀分布, 这对改善产品分散性发挥了重要作用。

第三步是热还原。混合物在 N<sub>2</sub> 气氛中高温热解产生大量零价态钌原子, 最终形成钌纳米晶体。同时, 高温下生物质快速分解产生大量气流。这些气体可能使钌晶体从碳骨架上剥离并沿气流的方向移动, 最终形成较大的钌纳米粒子。

为解决这一问题, 本研究使用了二阶段热解方案: 1) 采用 1 °C/min 的速率升温至 600 °C, 并保温 1 h。在此慢升温 and 低温热解过程中, 生物质碳化产生的气体缓慢释放, 可有效阻止钌离子在反应体系内的移动和聚集, 有利于形成尺寸较小的钌纳米粒子。2) 初步碳化后, 反应体系温度迅速升至 900 °C, 并保持 2 h。由于第一个热解过程中生物质碳化和钌离子还原基本完成, 第二阶段的高温处理不会造成钌粒子团聚。然而, 高温处理使钌-生物质碳复合物进一步还原, 显著提高了复合物电导率, 这有利于改善催化活性。经检测, 钌-生物质碳复合物中钌的质量分数为 9.57%。

### 2.2 钌-生物质碳复合物结构

钌-生物质碳复合物中含有丰富的孔隙和三维碳骨架(图 1)。钌纳米粒子粒径在 5~10 nm 之间, 平均粒径为 7.5 nm, 均匀分布在碳骨架表面, 分散良好。这一结果与元素映像分析结果一致(图 1(E))。HRTEM 照片中晶格间距为 0.21 nm(图 1(C)), 对应于钌(101)晶面。元素映像图显示碳(C)、钌(Ru)和氮(N)在复合物中的空间分布。Ru 和 N 元素均匀地分布在碳骨架上, 证明钌-生物质碳复合物具有较好

的分散性。由于 N 元素来自于蚕丝中的含氮结构和离子液体中的二氰胺离子, Ru 仅来源于 [EMIM]<sub>3</sub>[Ru(DCA)<sub>6</sub>] 离子液体, 所以这一结果进一步证明离子液体对蚕丝有很好的溶解分散能力。钌-生物质碳复合物的 XRD 图谱(图 1(F))在 2θ=28.2°、35.5°、40.2°、55.5°和 66.5°五处有强衍射峰, 其中 2θ=28.2°的衍射峰归属于碳材料的(002)晶面, 2θ=35.5°、40.2°、55.5°和 66.5°处四个峰分别归属于钌晶体的(011)、(101)、(002)和(031)晶面。

钌-生物质碳复合物由碳(C)、钌(Ru)、氧(O)和氮(N)元素组成(图 2)。高分辨峰 C1s XPS 可分解为 C-C、C-O 和 C-N 键, 说明蚕丝和离子液体中的碳和氮基团没有完全分解。三种元素分布于生物质碳骨架, 这一结果与元素映像分析一致。因为 XPS 能谱中 Ru3d<sub>3/2</sub> 峰与 C1s 峰重叠, 影响了对钌元素化学环境分析, 所以使用 Ru3p XPS 峰代替。图 2(C)中双峰 461.8 和 484.1 eV 对应零价态钌金属<sup>[21]</sup>。N1s 光谱可分为吡啶 N 和吡咯 N(图 2(D))。

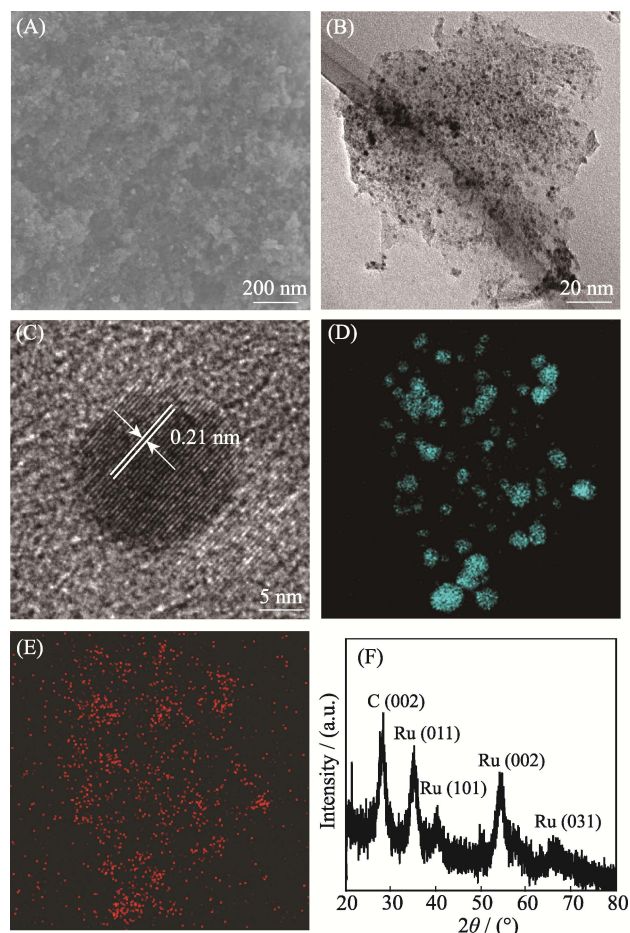


图 1 钌-生物质碳复合物的 SEM(A)、TEM(B)、HRTEM(C) 照片及钌(D)和氮(E)的元素映像图和 XRD 图谱(F)

Fig. 1 SEM (A), TEM (B), HRTEM images (C), and elemental mappings of Ru (D) and N (E) elements and XRD pattern (F) of the as-prepared Ru-biomass carbon composite

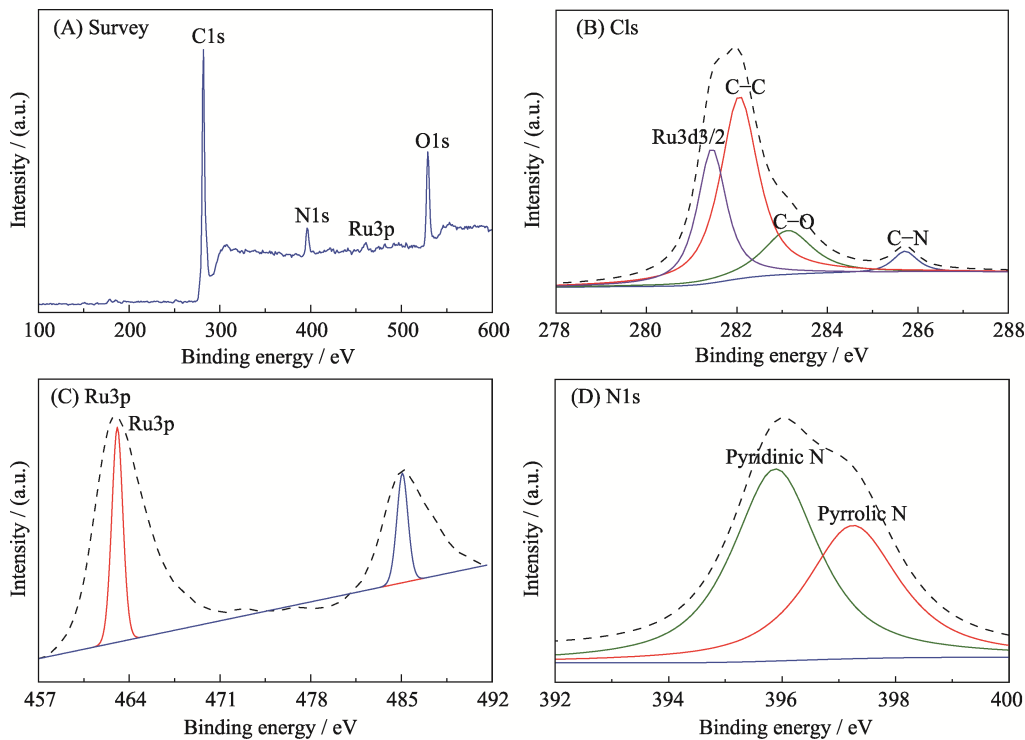


图 2 钌-生物质碳复合物的 XPS 总谱(A)、高分辨 C1s(B)、Ru3p(C)和 N1s(D)XPS 分谱

Fig. 2 Total XPS spectrum (A), high-resolution C1s (B), Ru3p (C) and N1s (D) XPS spectra of Ru-biomass carbon composite

### 2.3 类氧化酶活性

采用 TMB 氧化生成蓝色化合物作为模型反应, 分别考察不同材料对反应的催化行为(图 3)。在单独生物质碳存在下, 显色体系为无色溶液, 吸收光谱没有任何吸收峰, 接近一条直线, 吸光度很小, 说明生物质碳对反应没有任何催化作用。在钌纳米粒子存在下, 显色体系呈浅蓝色, 665 nm 处出现一个较强的吸收峰, 说明钌纳米粒子具有显著的催化作用。当钌纳米粒子被钌-生物质碳复合物替代后, 体系的吸光度迅速增大, 证明复合物的催化活性优于

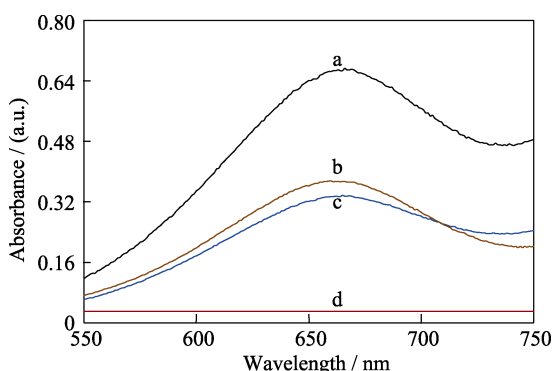


图 3 钌-生物质碳复合物(a)、CuO/Pt 复合物(b)、钌纳米粒子(c)和生物质碳(d)催化体系的 UV-Vis 吸收光谱

Fig. 3 Absorption spectra of the reaction system catalysis by Ru-biomass carbon composite (a), CuO/Pt composite (b), Ru nanoparticles (c), and biomass carbon (d)

单独的钌纳米粒子。由于钌-生物质碳复合物是由钌纳米粒子和生物质碳组成, 这一结果还说明钌纳米粒子与生物质碳的结合产生了明显的协同催化效应, 使其类氧化酶活性高于 CuO/Pt<sup>[19]</sup>。一方面, 生物质碳骨架的多孔结构有利于 TMB 分子进入到催化剂内部, 促进催化剂和 TMB 的充分接触和电子转移。另一方面, 生物质碳的阻隔导致形成小尺寸的 Ru 纳米粒子。小尺寸使钌原子充分暴露, 使更多的钌原子能与 TMB 分子接触, 从而表现出更高的催化活性。以上因素可加快 TMB 的氧化反应, 导致 665 nm 处吸光度明显增大。

为理解该催化作用机理, 本实验分别考察了钌-生物质碳复合物在氮气、空气和氧气饱和溶液中的催化行为。从图 4 可知, 氮气饱和溶液的吸光度接近 0, 说明在缺少氧气的条件下钌-生物质碳复合物不催化 TMB 生成蓝色化合物。空气饱和溶液的吸光度明显高于氮气饱和溶液的吸光度, 说明氧气在催化反应中发挥着重要作用。相对于空气饱和溶液, 氧气饱和溶液的吸光度更高, 证明钌-生物质碳复合物在氧气饱和条件下具有更好的催化活性。这应归因于纯氧气的氧含量高于空气中的氧含量。以上结果还证明, 钌-生物质碳复合物在 TMB 氧化反应中具有氧化酶样活性, 即类氧化酶活性。按文献报道<sup>[22]</sup>, 该活性可能来源于钌-生物质碳复合物对氧气活化生成活性氧的催化能力。

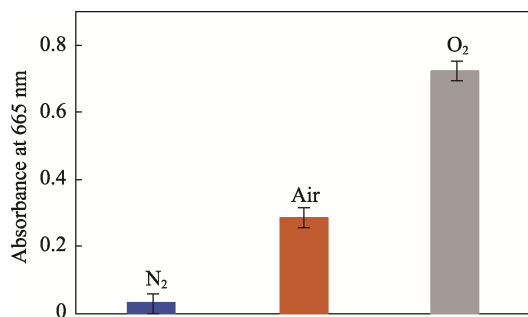


图 4 钌-生物质碳复合物催化在氮气、空气和氧气饱和的 TMB 溶液中的 665 nm 波长处的吸光度

Fig. 4 Absorbances at 665 nm of the N<sub>2</sub>, air and O<sub>2</sub> saturated TMB solutions with catalysis by Ru-biomass carbon composite

## 2.4 实验条件优化

为优化钌-生物质碳复合物类氧化酶反应条件, 本实验分别考察了介质酸度、反应时间、反应温度和催化剂用量对反应体系吸光度的影响(图 5)。介质 pH 对显色反应吸光度影响较大(图 5(A))。TMB 的解离和质子化使不同 pH 下 TMB 的存在形式有较大差异。由于解离和质子化产物与氧气反应的难度各不相同, 因此不同 pH 介质下反应体系的吸光度存在明显差异, 当介质 pH 为 4 时, 体系吸光度达到最大。当反应时间短于 20 min 时, 反应体系吸光度随反应时间延长而迅速增大(图 5(B)), 当反应时间超过 20 min, 体系吸光度趋于稳定。当反应温度低于

30 °C 时, 反应体系吸光度随温度升高而迅速增大(图 5(C)), 当温度超过 30 °C 时, 吸光度趋于稳定。催化剂用量也是影响反应速率的重要因素, 当催化剂用量低于 4 mg/mL 时, 随着催化剂用量增大吸光度快速增强(图 5(D)), 当催化剂用量大于 4 mg/mL 时, 吸光度的增加变缓。综合考虑提高灵敏度、缩短分析时间和降低分析成本等的因素, 确定后续实验条件为: pH 4.0、反应时间 20 min、反应温度 40 °C 和催化剂用量 5 mg/mL。

## 2.5 毒死蜥对体系催化活性的抑制及其检测性能

为了研究毒死蜥对钌-生物质碳复合物人工酶活性的影响, 将毒死蜥加入到钌-生物质碳复合物溶液中, 按上述最佳实验条件分析毒死蜥对体系催化活性的抑制及其检测性能。

为验证检测毒死蜥方法的可行性, 本实验分别测定了反应体系在不同毒死蜥浓度下的吸收光谱和在 665 nm 处的吸光度。图 6(A)中, 随着毒死蜥浓度增大, 反应体系的吸光度下降。这是因为毒死蜥浓度越高, 对钌-生物质碳复合物催化活性的抑制越强, 氧化反应速度变慢, 从而导致吸光度下降。进一步, 图 6(B)中当毒死蜥浓度在 10~80 ng/mL 范围内时吸光度随毒死蜥浓度增大而线性降低。相关线性回归方程为  $A = -0.0055 \times C_{\text{Chlorpyrifos}} + 0.5651$ , 相关

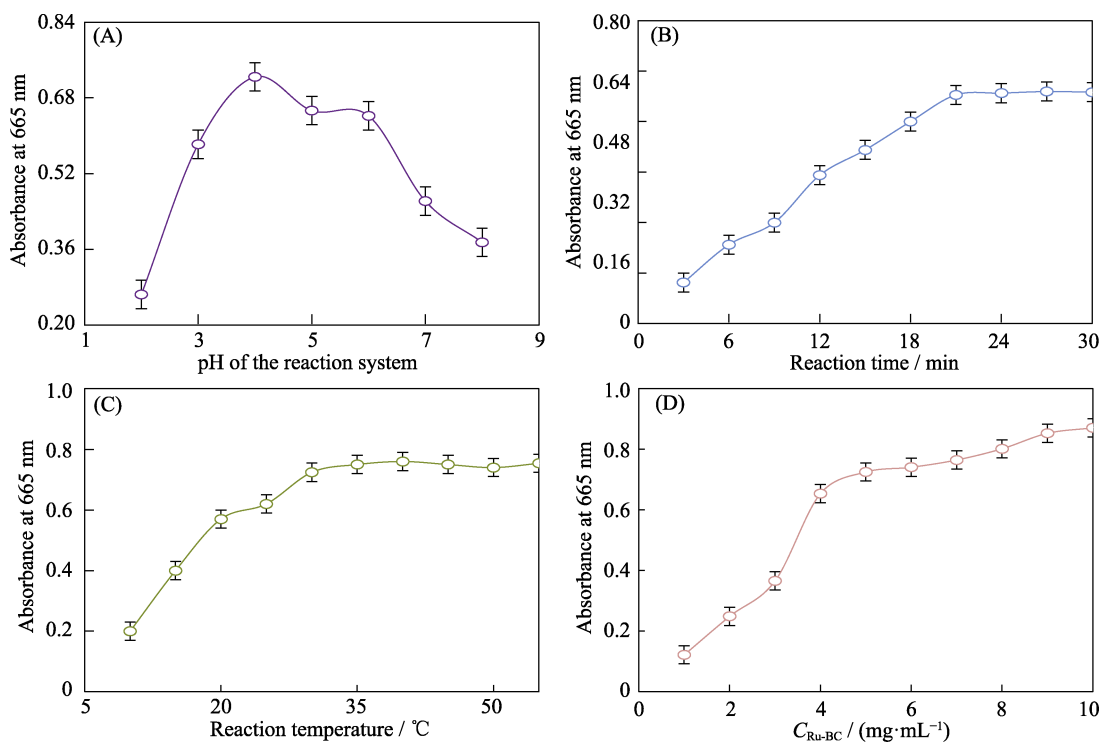


图 5 介质 pH(A)、反应时间(B)、反应温度(C)和催化剂用量(D)与反应体系吸光度的关系曲线

Fig. 5 Relationship curves of pH (A), reaction time (B), reaction temperature (C), and catalyst amount (D) with the absorbance of the reaction system

系数为 0.989。基于 3 倍信噪比, 测得方法检出下限为 6.5 ng/mL。以 30 个相同浓度(10 ng/mL)的毒死蜱样品为例, 验证了该方法的重现性。实验结果的相对标准偏差为 3.25%, 重现性较好。为了便于比较, 有机磷农药方法的测定分析参数(表 1)显示, 本方法所需检测时间较短, 只需 20 min, 检出限也显著低于现有方法。特别地, 本方法无需使用生物酶, 所使用的钌-生物质碳复合物制备简单, 易于储存, 用于检测桃果实中毒死蜱具有较大优势。

检测的特异性对获得可靠的分析结果至关重要。当体系中存在 2 mg/mL 的  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Na}^{+}$ 、

$\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{CO}_3^{2-}$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$ 和  $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ 时, 体系吸光度受到的影响小于 5%。当体系中存在 1 mg/mL 葡萄糖、抗坏血酸和柠檬酸时, 吸光度基本不变。以上结果证明, 本方法具有较好的特异性, 可直接应用于桃中毒死蜱的测定。

## 2.6 桃果实中毒死蜱的比色测定

将钌-生物质碳复合物体系应用于桃果实中毒死蜱残留量的比色测定, 并进行了加标回收率实验。从表 2 可知, 本方法测定结果与 GC-MS 法测定结果一致, 回收率在 99.6%~101.8%之间, 证明本方法具有较高的准确性。

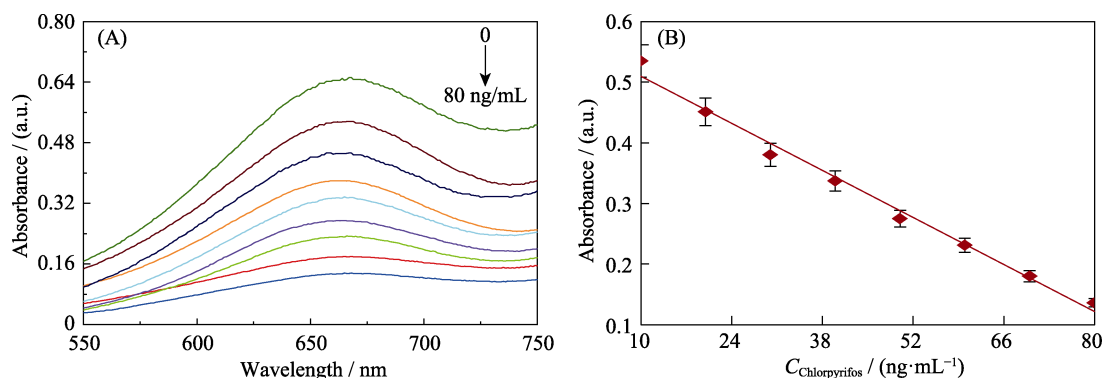


图 6 在 0、10、20、30、40、50、60、70 和 80 ng/mL 毒死蜱存在下反应体系的吸收光谱(A)和 665 nm 处的吸光度与毒死蜱浓度的关系曲线(B)

Fig. 6 Absorption spectra of the reaction system in the presence of 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 and 80 ng/mL chlorpyrifos (A) and calibration plot of the absorbance at 665 nm varied with the chlorpyrifos concentration (B)

表 1 不同纳米酶比色法检测有机磷农药的比较

Table 1 Comparison of colorimetric methods with different nanozyme materials for detection of organophosphorus pesticides

Chromogenic system	Analysis time/min	Linear range/(ng·mL <sup>-1</sup> )	Detection limit/(ng·mL <sup>-1</sup> )	Ref.
Gold nanoclusters	40	1500–45000	6000	[23]
Acetylcholine	55	10000–140000	4000	[24]
Cu-Ag/rGO	30	300–9000	1080	[25]
Hemin regulated by oligonucleotide	62	2000–100000	600	[26]
CuO/Pt	50	300–180000	238.8	[19]
Fe-N-C	76	100–10000	97	[27]
Cu NPs	10	300–3000	20.4	[28]
Ru-biomass carbon composite	20	5–80	6.57	This work

表 2 桃样品中毒死蜱检测结果

Table 2 Results for detection of chlorpyrifos in peach (n=5)

Sample	Chlorpyrifos added/(ng·mL <sup>-1</sup> )	Chlorpyrifos detected by proposed method/(ng·mL <sup>-1</sup> )	Chlorpyrifos founded by GC-MS/(ng·mL <sup>-1</sup> )	Recovery/%
Honey peach	0	(5.9±0.15)	(6.02±0.12)	101.8
	10.0	(16.2±0.18)	(16.05±0.10)	
Nectarine	0	(9.98±0.07)	(9.95±0.07)	99.6
	10.0	(19.91±0.27)	(20.1±0.27)	
Peento	0	(4.96±0.11)	(5.07±0.05)	101.6
	10.0	(15.2±0.19)	(15.07±0.25)	

### 3 结论

离子液体与贵金属离子的共价结合,可实现对热解过程中贵金属离子的缓释作用,从而形成尺寸极小的贵金属纳米粒子。利用离子液体对生物质优异的溶解能力,可实现贵金属粒子在碳材料中的均匀分散,贵金属纳米粒子与生物质碳均匀结合可提高其催化活性。有机磷农药对贵金属-生物质碳复合物氧化酶活性的抑制作用,可实现生鲜食品中农药残留的快速检测。本研究还为制备高分散性金属-生物质碳复合物提供了一种新途径。

### 参考文献:

- [1] DENG X, LIU Y. Detection and analysis of pesticide residues in vegetables in Cenxi city. *South China Agriculture*, 2021, **15**(3): 177–178.
- [2] FAN X, ZHOU X, ZHOU D. Analysis on the management of vegetable quality and safety. *Hubei Agricultural Sciences*, 2007, **46**(4): 484–485.
- [3] YANG L. Study on the main detection techniques of pesticide residues in vegetables. *Modern Horticulture*, 2021, **3**(56): 133–134.
- [4] DAI Y. Determination of pesticide residues in fruits and vegetables. *South China Agriculture*, 2021, **15**(2): 236–237.
- [5] GENG J, ZHAO X, CHEN Y, *et al.* Pesticide use status and countermeasures of strawberry. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2016, **28**(5): 628–633.
- [6] CHEN T. Rapid determination of organophosphorus and carbamate pesticide residues in vegetables. *Agricultural Technology and Information*, 2016, **18**: 29–31.
- [7] LONG B. Rapid Detection of Organophosphorus Pesticides in Vegetables and Water by Enzyme Biosensor. Changsha: Master Dissertation of Hunan University, 2018.
- [8] WANG S, FODJO E, KONG C, *et al.* Multi-residue screening of pesticides in aquaculture waters through ultra-high-performance liquid chromatography-Q/orbitrap mass spectrometry. *Water*, 2020, **12**(5): 1238.
- [9] SUKMANEE T, WONGRAVEE K, EKGASIT S, *et al.* Facile and sensitive detection of carbofuran carbamate pesticide in rice and soybean using coupling reaction-based surface-enhanced Raman scattering. *Anal. Sci.*, 2017, **33**(1): 89–94.
- [10] LIANG B, HAN L. Displaying of acetylcholinesterase mutants on surface of yeast for ultra-trace fluorescence detection of organophosphate pesticides with gold nanoclusters. *Biosens. Bioelectron*, 2020, **148**: 111825.
- [11] LIU X, SAKTHIVEL R, LIU W, *et al.* Ultra-highly sensitive organophosphorus biosensor based on chitosan/tin disulfide and British housefly acetylcholinesterase. *Food Chem.*, 2020, **324**: 126889.
- [12] YAN X, SONG Y, WU X, *et al.* Oxidase mimicking activity of ultrathin MnO<sub>2</sub> nanosheets in colorimetric assay of acetylcholinesterase activity. *Nanoscale*, 2017, **9**: 2317–2323.
- [13] YANG L, WANG J, QU L, *et al.* An enzyme inhibition-based lab in-a-syringe device for point-of-need determination of pesticides. *Analyst*, 2020, **145**: 3958–3966.
- [14] CHU H, HU J, LI Z, *et al.* Electrochemical aptasensor for detection of acetamiprid in vegetables with graphene aerogel glutamic acid functionalized graphene quantum dot/gold nanostars as redox probe with catalyst. *Sens. Actuators B Chem.*, 2019, **298**: 126866.
- [15] JIE G, ZHAO Y, WANG X, *et al.* Multiplexed fluorescence detection of microRNAs based on novel distinguishable quantum dot signal probes by cycle amplification strategy. *Sens. Actuators B Chem.*, 2017, **252**: 1026–1034.
- [16] HUANG L, SUN D, PU H, *et al.* A colorimetric paper sensor based on the domino reaction of acetylcholinesterase and degradable  $\gamma$ -MnOOH nanozyme for sensitive detection of organophosphorus pesticides. *Sens. Actuators B Chem.*, 2019, **290**: 573–580.
- [17] CHENG Q, YANG Y, YANG L. Pt-Au dendritic nanoparticles with high oxidase-like activity for detection of ascorbic acid. *Journal of Inorganic Materials*, 2020, **10**: 1169–1176.
- [18] HU Y, WANG J, WU Y. A simple and rapid chemosensor for colorimetric detection of dimethoate pesticide based on the peroxidase-mimicking catalytic activity of gold nanoparticles. *Anal. Methods*, 2019, **11**: 5337–5347.
- [19] WANG X, HAN Q, CAI S, *et al.* Excellent peroxidase mimicking property of CuO/Pt nanocomposites and their application as an ascorbic acid sensor. *Analyst*, 2017, **142**: 2500–2506.
- [20] PARAKNOWITSCH J P, SUKHBAT O, ZHANG Y, *et al.* One-pot synthesis of metal-doped mesoporous materials from (dicyanamido)metallate precursors. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2012, **26**: 4105–4116.
- [21] WANG P, XU Y, LIU H, *et al.* Carbon/carbon nanotube-supported RuO<sub>2</sub> nanoparticles with a hollow interior as excellent electrode materials for supercapacitors. *Nano Energy*, 2015, **15**: 116–124.
- [22] LI N, LI R, WANG Q, *et al.* Colorimetric detection of chlorpyrifos in peach based on cobalt-graphene nanohybrid with excellent oxidase-like activity and reusability. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, **415**: 125752.
- [23] LI H, GUO Y, XIAO L, *et al.* Selective and sensitive detection of acetylcholinesterase activity using denatured protein-protected gold nanoclusters as a label-free probe. *Analyst*, 2013, **139**(1): 285–289.
- [24] HAN T, WANG G. Peroxidase-like activity of acetylcholine-based colorimetric detection of acetylcholinesterase activity and an organophosphorus inhibitor. *J. Mater. Chem. B*, 2019, **7**(16): 2613–2618.
- [25] DARABDHARA G, SHARMA B, DAS M A, *et al.* Cu-Ag bimetallic nanoparticles on reduced graphene oxide nanosheets as peroxidase mimic for glucose and ascorbic acid detection. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 2017, **238**: 842–851.
- [26] LUO D, CHEN H, ZHOU P, *et al.* Oligonucleotides and pesticide regulated peroxidase catalytic activity of hemin for colorimetric detection of isocarbophos in vegetables by naked eye. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2019, **411**: 7857–7868.
- [27] WU Y, JIAO L, LUO X. Oxidase-like Fe-N-C single-atom nanozymes for the detection of acetylcholinesterase activity. *Small*, 2019, **15**(43): 1903108.
- [28] WANG N, LI B, QIAO F, *et al.* Humic acid-assisted synthesis of stable copper nanoparticles as a peroxidase mimetic and their application in glucose detection. *Journal of Materials Chemistry B*, 2015, **3**(39): 7718–7723.