

冯婉娴, 黄汉英, 陈翊平, 等. 基于液体颗粒计数器的铜离子快速检测方法研究[J]. 华中农业大学学报, 2022, 41(3): 252-260.
DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2022.03.029

基于液体颗粒计数器的铜离子快速检测方法研究

冯婉娴¹, 黄汉英¹, 陈翊平², 王知龙², 陈瑞²

1. 华中农业大学工学院, 武汉 430070; 2. 华中农业大学食品科学技术学院, 武汉 430070

摘要 针对水质中重金属检测方法存在操作复杂、检测周期长和检测成本高等问题, 采用电阻法研制了液体颗粒计数器并结合点击化学法构建了重金属铜离子检测方法。通过建立颗粒粒径识别模型和颗粒计数模型, 开发基于LabVIEW的颗粒计数软件, 将聚苯乙烯微球作为检测探针、颗粒计数器作为检测平台, 实现了水中铜离子的快速检测。结果显示, 颗粒粒径识别相对误差小于5%, 颗粒计数相对误差小于10%, 说明颗粒计数准确度满足要求。铜离子浓度在10~1 000 $\mu\text{mol/L}$ 时, 微球数量与铜离子浓度具有良好的线性相关性, 平均回收率在87.85%~101.08%, 检测限为2.29 $\mu\text{mol/L}$, 检测时间约4 min。结果表明, 相比常规的铜离子检测方法, 基于电阻法液体颗粒计数器的铜离子检测方法具有操作简单、检测速度快、灵敏度高、检测成本低等优势。

关键词 快速检测方法; 电阻法; 液体颗粒计数器; 粒径识别; 铜离子; 重金属污染; 水产品质量安全

中图分类号 TS207.5⁺¹ **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2022)03-0252-09

目前, 重金属污染不仅对生态环境和水产品的质量安全会产生严重的危害, 也会影响人类的身体健康, 尤其当水质环境中铜离子浓度过高时, 会造成大量水产品死亡^[1], 铜离子通过水产品进入人体, 当摄入量超过人体所需正常值后, 会损伤人体器官。因此, 建立一种检测快速、操作简单和灵敏度高的重金属铜离子检测方法具有重要的意义。

重金属常规检测方法有电化学检测法^[2]、化学传感器技术^[3]和光谱法^[4]等, 其中电化学检测法在检测前需要修饰电极, 化学传感器技术需要制备检测传感器, 操作复杂、检测周期长。光谱法是一种新型检测方法, 可实现快速、无损检测, 且灵敏度高, 但是该方法需要昂贵的检测仪器, 检测成本高。

2001年Sharpless等^[5]提出一种以碳杂原子键合成为基础的组合化学方法, 即点击化学。点击化学中有一类经典的化学反应是 Cu^+ 催化叠氮化合物和炔基化合物反应生成1, 2, 3-三唑五元环化合物, 通过五元环共价将上述2种化合物连接起来。这种方法具有条件温和、操作简单、反应快速且产物无污染的优点, 目前利用点击化学法构建生物传感器在环境监测、食品安全检测等领域有广泛的应用^[6]。

颗粒计数法主要有图像计数法^[7]、光散射法^[8]、

流式细胞术^[9]和电阻法^[10-12]等, 其中图像计数法和光散射法准确度受颗粒重叠、分层和分散程度等因素的影响, 流式细胞术适合荧光标记的颗粒, 适用场合有限。与上述方法相比, 电阻法具有分辨率高、检测快速、适用范围广的优势。本研究采用电阻法研制液体颗粒计数器, 结合点击化学法, 将聚苯乙烯微球作为检测探针, 建立一种快速检测水中铜离子的方法, 旨在为重金属铜离子的快速检测提供参考。

1 材料与方法

1.1 系统设计

电阻法液体颗粒计数系统由颗粒脉冲信号采集与处理系统和液路控制系统两部分组成^[13], 其系统结构如图1所示。

1) 颗粒脉冲信号采集与处理系统。颗粒脉冲信号采集与处理系统由电极传感器、放大电路、数据采集卡和计算机组成, 采用NI DAQ Express和LabVIEW开发了颗粒计数软件, 对颗粒脉冲信号进行存储、处理、计数和显示。电极传感器包括铂片电极和小孔管, 小孔管底部镶嵌直径7 mm、厚度0.5 mm玻璃片, 玻璃片中间打有直径50 μm 的微孔。放大电路

收稿日期: 2022-02-26

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFC1606000)

冯婉娴, E-mail: fwx_hoho@163.com

通信作者: 黄汉英, E-mail: hhywmx@mail.hzau.edu.cn

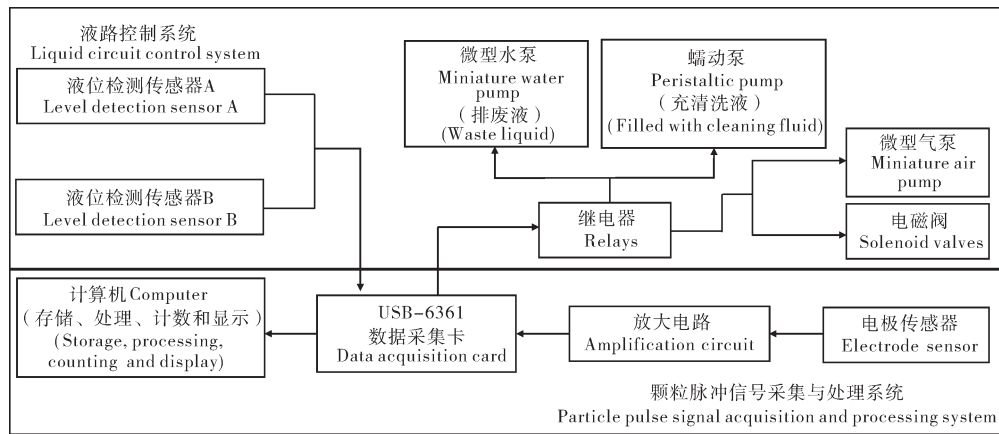


图1 系统结构框图

Fig.1 System block diagram

选用TL084C运算放大器模块。数据采集卡选用NI USB-6361数据采集卡,具有16路模拟输入端口,ADC分辨率为16位。计算机处理器选用Intel Core i5-10200H CPU,64位操作系统。

2)液路控制系统。液路控制系统由数据采集卡、继电器、液位检测传感器等组成,数据采集卡作为控制器,具有24路数字输入/输出端口。继电器选用四路光耦隔离继电器模块,采用SRD-05VDC-SL-C电磁继电器。继电器模块通过I/O引脚与数据采集卡连接,用于控制蠕动泵、微型气泵、微型水泵和电磁阀的通断,实现充清洗液、进样和排废液。液位检测传感器选用XKC-Y26A-NPN传感器模块。

1.2 材料与仪器

羧基修饰的聚苯乙烯微球(polystyrene microspheres, PS),粒径2~9 μm, Bangs Laboratories公司;羧基修饰的磁性纳米颗粒(magnetic nanoparticles with carboxylic acid functionalized, MNP₁₀₀₀),粒径1 000 nm,质量浓度10 g/L, Thermo Fisher Scientific公司;炔基-四聚乙二醇羧酸、叠氮-四聚乙二醇羧酸, Click Chemistry Tools公司;抗坏血酸钠(sodium ascorbate, SA),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;N-羟基琥珀酰亚胺活泼酯(N-hydroxysulfosuccinimide sodium, NHS)和1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)-碳二亚胺(1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide, EDC), Sigma-Aldrich公司;磷酸盐缓冲液(phosphate buffer, PBS)(pH 7.4)、含0.05% Tween-20的磷酸盐缓冲液(phosphate buffer-tween, PBST)、五水硫酸铜、0.9%生理盐水溶液(电导率62.5 Ω·cm),国药集团化学试剂有限公司;配制试剂所用水均为去离子水。

水质样品:武汉市南湖(N30°28'27.83", E114°22'11.67")湖水、华中农业大学校内自来水、池塘水样和试验田水渠水样。

SuperMag Multitube Separator磁分离架, Ocean Nano Tech公司;台式高速离心机, Sigma公司;AA-6300C原子吸收分光光度计, Shimadzu公司;RC-2100颗粒计数器, 珠海欧美克仪器有限公司;笔者所在实验室制作的电阻法液体颗粒计数器。

1.3 信号采集与处理

1)信号采集。当颗粒通过微孔时,会引起电极两端电阻的变化,产生一个电压脉冲。电极两端电阻与溶液的电阻率、颗粒粒径和微孔尺寸有关^[14]。在恒流源电路中,当颗粒粒径增加时,电极两端电阻增加,电压脉冲峰值增大,根据电压脉冲峰值及个数可区分不同粒径颗粒并进行颗粒计数。

通过NI DAQ Express采集颗粒脉冲信号,设置采样频率1 MHz和采样通道Dev/ai0等参数,将颗粒脉冲信号存储为TDMS文件格式,运用LabVIEW对信号进行预处理、建立模型及颗粒计数。

2)信号处理。受环境干扰,信号中含有噪声,需进行预处理,将异常的脉冲剔除。将后一个脉冲峰值位置与前一个脉冲峰值位置之差与颗粒信号脉冲的脉宽进行比较。当 $W \geq 0$,判断脉冲为颗粒脉冲;当 $W < 0$,判断为异常脉冲并剔除。

$$W = W_a - W_b - K \quad (1)$$

式(1)中, W_a 为后一个脉冲峰值位置, W_b 为前一个脉冲峰值位置, K 为脉冲宽度。

1.4 模型建立

1)建立颗粒粒径识别模型。应用小波多尺度峰值检测方法提取电压脉冲峰值,将峰值按照从小到大的顺序排列,计算每种峰值的频率和累计频率。

当累计频率到达50%时,将此时的峰值作为粒径的响应电压,方法可参考国家标准GB/T 6167—2007《尘埃粒子计数器性能试验方法》。计算公式如下:

$$f_{P_i} = \frac{N_i}{\sum_{j=1}^n N_j} \quad (2)$$

$$f_{A_j} = \sum_{i=1}^j f_{P_i} \quad (3)$$

$$U_d = U_{f_{A_j}=50\%} \quad (4)$$

式(2)~(4)中, f_{P_i} 为脉冲峰值*i*的频率, N_i 为峰值*i*出现的个数, n 为样本中峰值种类, f_{A_j} 为峰值*j*的累计频率, U_d 是颗粒粒径*d*的响应电压。

采集2、3、4、5、6和9 μm 6种颗粒信号,对应颗粒质量浓度分别为0.5、0.5、1、2、2和10 mg/L。每种粒径重复测量3次,取平均值为响应电压。根据上述方法确定不同粒径的响应电压,采用幂函数拟合曲线,建立颗粒粒径识别模型。

2)颗粒计数模型。将脉冲峰值与阈值电压 U_Y 进行比较,若脉冲峰值大于 U_Y ,则计数为一个颗粒脉冲,通过累计脉冲的数量得到颗粒的个数。计数公式如下:

$$U_{Y1} = \frac{2}{3} U_{d+1} \quad (5)$$

$$U_{Y2} = \frac{2}{3} U_d \quad (6)$$

$$N_d = N_{U_{Y1}} - N_{U_{Y2}} \quad (7)$$

式(5)~(7)中, N_d 为粒径*d*的颗粒数量, N_{U_Y} 为脉冲峰值大于 U_Y 的颗粒数量。

1.5 装置评价

1)颗粒粒径识别模型评价。采集3、4、5、6 μm 4种颗粒信号,采用颗粒数量相近且质量浓度分别为0.5、1、2、2 mg/L的溶液进行测试,每种颗粒重复测量10次,计算粒径测试相对误差 S_D 和粒径测试相对标准偏差 RSD_D ,公式如下:

$$S_D = \frac{D_s - D_v}{D_s} \times 100\% \quad (8)$$

$$RSD_D = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (D_{vi} - \bar{D}_v)^2}{n-1}} \times 100\% \quad (9)$$

2)颗粒计数模型评价。采集3、4、6、9 μm 4种颗粒信号,质量浓度分别为20、40、40、100 mg/L,每种颗粒重复测试10次,计算颗粒计数相对标准偏差 RSD_N 。

$$RSD_N = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (N_i - \bar{N}_i)^2}{n-1}} \times 100\% \quad (10)$$

3)装置评价。配制9 μm颗粒溶液(0.05~1 000 mg/L),采用本装置和RC-2100颗粒计数器分别进行测试,每种质量浓度重复测试3次,取平均值作测试值,计算颗粒计数相对误差 S_N 。

$$S_N = \frac{N_s - N_t}{N_s} \times 100\% \quad (11)$$

式(8)~(11)中, D_s 为标准颗粒粒径, D_v 为识别颗粒粒径, N_s 为RC-2100测试值, N_t 为本装置测试值。

1.6 样品制备

1)叠氮-微球偶联物(Azido-PS₄₀₀₀)的制备。取100 μL EDC(10 g/L)和50 μL NHS(10 g/L)溶液到10 μL微球(100 g/L)溶液中,在室温中振荡20 min活化微球。将上述混合溶液置于离心机中离心5 min,转速设置8 000 r/min,移除上清,用1 000 μL 0.01 mol/L PBS(pH 7.4)溶液重悬,加入23 μL叠氮-四聚乙二醇羧酸(200 mmol/L),室温振荡反应2 h。结束后,将溶液置于离心机中,条件同上,移除上清,微球溶液用1 000 μL PBST洗涤后,移除上清,用1 000 μL PBST重悬,1 mL Azido-PS₄₀₀₀(1 g/L)溶液制备完成,保存于4 °C冰箱,备用。

2)炔基-磁珠偶联物(Alkyne-MNP₁₀₀₀)的制备。取100 μL EDC(10 g/L)和50 μL NHS(10 g/L)溶液到100 μL磁珠(10 g/L)溶液中,在室温中振荡反应20 min活化磁珠。将上述混合溶液置于磁分离架上磁分离20 s,用1 000 μL 0.01 mol/L PBS(pH 7.4)溶液重悬,加入11 μL炔基-四聚乙二醇羧酸(372 mmol/L),室温上振荡2 h。结束后,将溶液磁分离20 s,移除上清,用1 000 μL PBST洗涤,磁分离后移除上清,用1 000 μL PBST重悬,1 mL Alkyne-MNP₁₀₀₀(1 g/L)溶液制备完成,保存于4 °C冰箱,备用。

1.7 测试方法

将上述步骤制备的Azido-PS₄₀₀₀和Alkyne-MNP₁₀₀₀分别稀释到50、100 mg/L,取100 μL Azido-PS₄₀₀₀和100 μL Alkyne-MNP₁₀₀₀,加入到100 μL抗坏血酸钠溶液(10 mmol/L)和100 μL Cu²⁺溶液(0.1、1、10、100、200、400、600、1 000和2 000 μmol/L)中均匀混合,室温反应10 min。实验原理如图2所示。抗坏血酸钠溶液将Cu²⁺还原成Cu⁺,Cu⁺催化叠氮和炔基特异性结合发生环加成反应,形成叠氮-微球偶联物和炔基-磁珠偶联物的复合物。

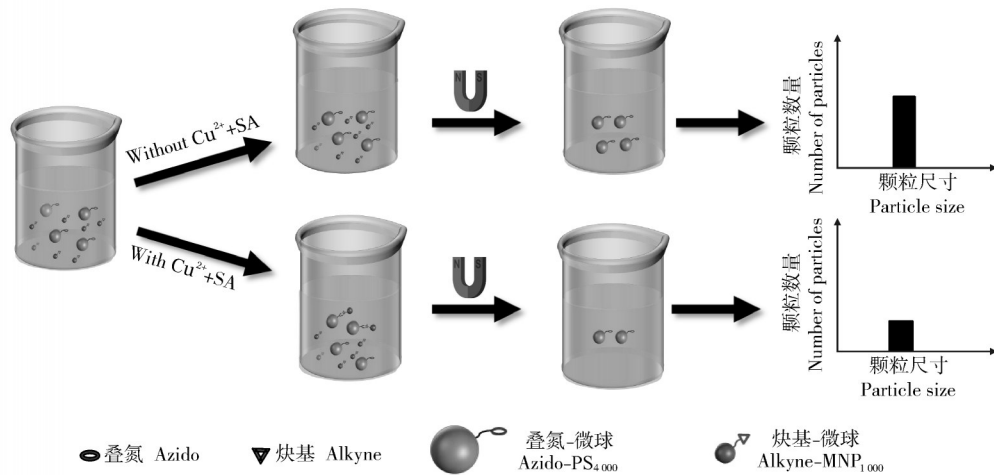


图2 叠氮-微球偶联物和炔基-磁珠偶联物的制备实验原理图
Fig.2 Experimental schematic diagram of Azido-PS₄₀₀₀ and Alkyne-MNP₁₀₀₀

将上述混合溶液置于磁分离架上磁分离,分离完全后,取上清液,使用电阻法液体颗粒计数器对上清液中微球进行测试。

图3为微球测试示意图,测试步骤如下:

1) 充清洗液。取100 μL 上清液加入到5 mL 生理盐水中,混匀溶液,将溶液置于小孔管底部。通过数据采集卡控制蠕动泵,将清洗瓶中的液体充入到小孔管中,液体到达液位检测传感器A后,蠕动泵关闭。

2) 进样及数据采集。通过微型气泵使小孔管内部产生负压,将含有微球的样品溶液吸入到小孔管,同时数据采集卡采集颗粒数据,液体到达液位检测传感器B后,微型气泵关闭,停止进样。

3) 排废液。微型水泵和电磁阀接通,将小孔管内微球溶液排出到废液瓶,液体到达液位检测传感器A后,微型水泵和电磁阀关闭。

4) 颗粒计数。采用LabVIEW 软件对颗粒数据进行处理、计数,最后输出颗粒计数结果,根据颗粒计数结果,建立铜离子浓度标准曲线,根据标准曲线设计浓度计算软件,方便后续测试实际样品时,可通过颗粒数量直接得出铜离子浓度。

1.8 铜离子检测时间

铜离子检测时间包括样品进样操作时间和颗粒计数输出铜离子检测结果时间两部分,第一部分是充清洗液到排废液整个过程;第二部分是通过LabVIEW 进行颗粒计数到输出铜离子浓度值的时间,用电子时钟记录铜离子检测时间。

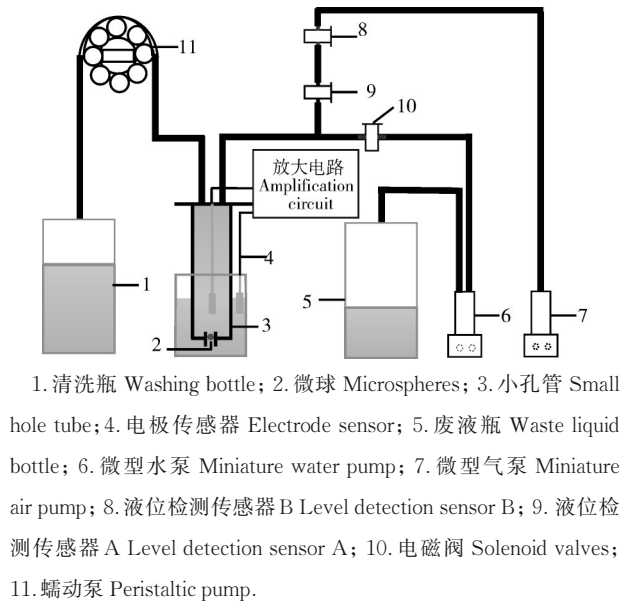


图3 微球颗粒测试示意图
Fig.3 Schematic of particle testing

1.9 对比实验

采用原子吸收分光光度法进行对比实验。原子吸收分光光度法测试步骤如图4所示。

1) 实际样品检测。取武汉南湖湖水、华中农业大学校内自来水、池塘水样、试验田水渠水样等17份实际样品,分别用本研究与原子吸收分光光度法检测水中铜离子。

2) 实际样品加标检测。选取3份实际样本,分别添加100 μL 系列浓度(10、40、80 μmol/L)铜离子溶液,用上述2种方法分别检测水中铜离子浓度,每种样品重复测试3次,计算回收率和相对标准偏差。

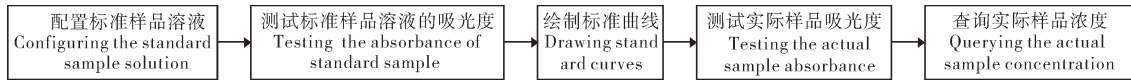


图4 原子吸收分光光度法测试步骤

Fig.4 Atomic absorption spectrophotometry test steps

2 结果与分析

2.1 颗粒脉冲信号

经测试,粒径3、4、5、6 μm颗粒脉冲信号幅值分别在0.25~0.5、1~1.5、1.5~2、2~3 V,6 μm颗粒脉冲信号幅值最大,脉冲信号脉宽为20 μs,3 μm颗粒脉冲信号幅值最小(图5),表明随着颗粒粒径变大,脉冲信号幅值变大。

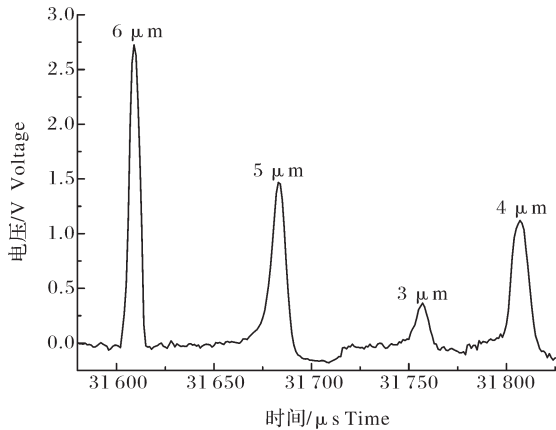


图5 颗粒脉冲信号

Fig.5 Particle pulse signal

2.2 颗粒粒径识别模型

根据本文“1.4”节中所述方法确定不同粒径颗粒的响应电压,2、3、4、5、6和9 μm颗粒的响应电压分

别为0.12、0.35、0.98、1.66、2.65和10.52 V,随着粒径增加,颗粒响应电压增加。

根据不同粒径响应电压,采用幂函数拟合曲线建立颗粒粒径识别模型,拟合曲线如图6所示。

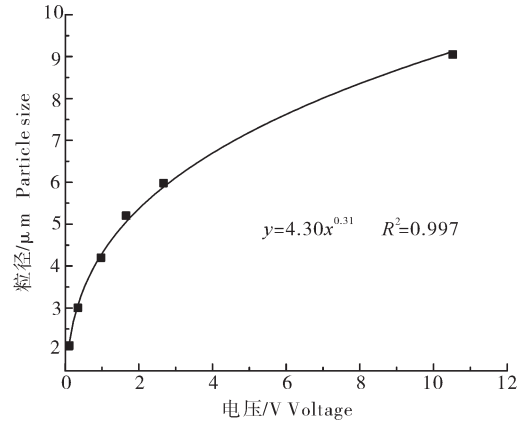


图6 颗粒粒径识别曲线

Fig.6 Particle size identification curve

2.3 装置性能

1)颗粒粒径识别模型评价。为测试颗粒计数器能否区分粒径相差1 μm的颗粒,选取了3、4、5、6 μm 4种粒径的颗粒,经10次重复测试后,粒径测试结果如表1所示,RSD_D小于1%,S_D小于5%,说明该颗粒粒径识别模型可靠,分辨率高,可准确区分不同粒径的颗粒。

表1 不同颗粒经10次重复测试的粒径结果

Table 1 Particle size results of 10 repeat test for different particles

粒径/μm Particle size	质量浓度/(mg/L) Concentration	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	RSD _D /%	S _D /%
3	0.5	3.119	3.061	3.103	3.097	3.101	3.101	3.103	3.105	3.078	3.110	0.537	3.257
4	1	4.280	4.320	4.206	4.325	4.334	4.321	4.305	4.349	4.316	4.292	0.930	2.495
5	2	5.060	5.029	5.017	4.979	5.029	4.987	5.023	4.978	5.097	4.989	0.762	3.484
6	2	5.813	5.817	5.835	5.849	5.815	5.802	5.775	5.821	5.811	5.765	0.431	2.839

2)颗粒计数模型评价。为评价颗粒计数器对粒径不同大小颗粒的计数稳定性,选取了3、4、6、9 μm 4种颗粒,颗粒计数结果如表2所示,由于粒径越小的颗粒溶液,颗粒分布越密集,所以在4种粒径的颗粒溶液中,浓度最低的3 μm溶液颗粒个数最多,浓度最高的9 μm溶液颗粒个数最少。由于3 μm颗粒脉冲信号幅值较小,颗粒计数时,将部分噪声信号计数为颗粒脉冲信号,导致粒径3 μm颗粒RSD_N较大,而4

种粒径颗粒RSD_N小于10%,说明系统计数稳定性较好。

3)装置计数精度评价。装置测试结果如图7所示,本装置测试结果拟合曲线为: $y=27.72x+330.33$, $R^2=0.994$, RC-2100颗粒计数结果拟合曲线为: $y=30.32x+155.82$, $R^2=0.997$ 。与RC-2100颗粒计数结果进行比较,颗粒计数相对误差小于10%,说明本装置计数精度较高。

表2 不同粒径的颗粒经10次重复测试的计数结果
Table 2 Particle counting results of 10 repeat test for different particle size

粒径/ μm Particle size	质量浓度/(mg/L) Concentration	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	RSD _N /%
3	20	7 210	8 084	7 587	6 907	7 472	8 117	8 443	8 313	7 463	7 243	6.78
4	40	6 620	7 425	7 310	6 953	6 410	6 747	7 147	7 136	6 537	6 894	4.90
6	40	5 080	4 696	5 244	4 661	4 921	5 329	4 669	5 070	5 136	4 965	4.54
9	100	2 195	2 254	2 187	2 075	1 961	2 056	2 051	2 009	2 040	2 061	4.81

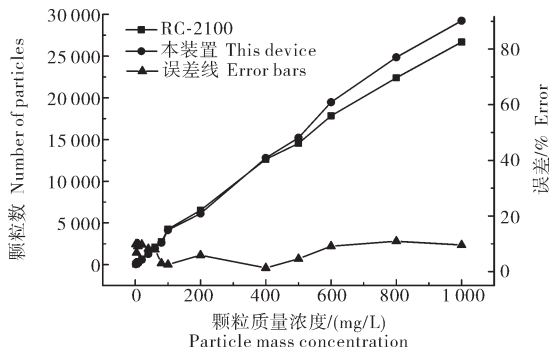


图7 装置对比结果

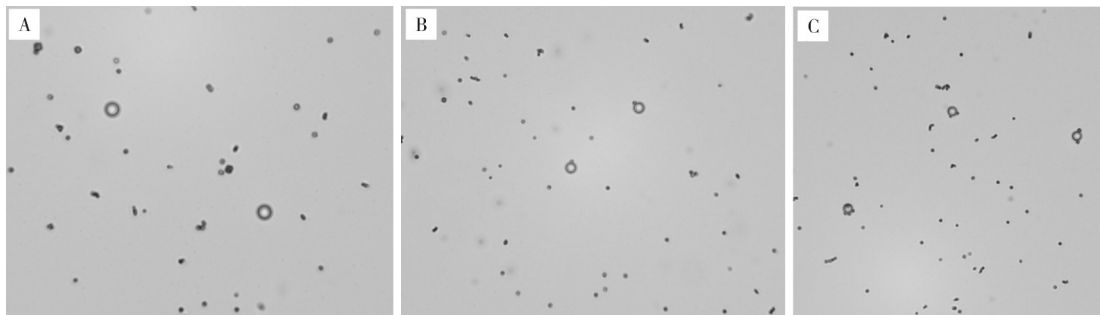
Fig.7 Device comparison

2.4 微球-磁珠复合物的表征

根据上述装置评价结果可知,本装置粒径测试 S_D 小于5%,说明本装置可准确区分不同粒径颗粒,根据颗粒计数结果可知,4、6、9 μm 3种颗粒的RSD_N

均小于5%,由于粒径越大的微球与1 μm 磁珠结合时,会影响磁分离效果,本研究选用4 μm 微球和1 μm 磁珠进行试验。

Azido-PS₄₀₀₀与Alkyne-MNP₁₀₀₀复合物的显微镜表征结果如图8所示。图8A~C分别是添加铜离子浓度为0、10、20 $\mu\text{mol/L}$ 的表征结果,结果显示,未添加铜离子的Azido-PS₄₀₀₀与Alkyne-MNP₁₀₀₀不会结合在一起(图8A),而添加了铜离子后,会形成Azido-PS₄₀₀₀与Alkyne-MNP₁₀₀₀复合物(图8B、C),这是由于Cu⁺使Azido-PS₄₀₀₀和Alkyne-MNP₁₀₀₀发生了环加成反应,导致磁珠和微球进行了结合,随着铜离子浓度增加,磁珠和微球结合效果更明显,证实Azido-PS₄₀₀₀与Alkyne-MNP₁₀₀₀成功结合。



A: 0 $\mu\text{mol/L}$; B: 10 $\mu\text{mol/L}$; C: 20 $\mu\text{mol/L}$.

图8 微球和磁珠结合的显微镜照片

Fig.8 Microscopic images of magnetic beads and bead binding

2.5 标准曲线

图9为本研究方法建立的铜离子浓度标准曲线。由图9A可知,当铜离子浓度从10 $\mu\text{mol/L}$ 上升到500 $\mu\text{mol/L}$ 时,颗粒个数明显下降。如图9B所示,在对数坐标系下,当铜离子浓度为10~1 000 $\mu\text{mol/L}$,线性方程为: $y=4\ 224.42-424.79x$ ($x=\lg[\text{Cu}^{2+}]$), $R^2=0.997$,铜离子浓度与颗粒个数之间的线性关系良好。检测限(limit of detection, LOD)为2.29 $\mu\text{mol/L}$ 。

图10为原子吸收分光光度法建立的铜离子浓度标准曲线。由图10可知,当铜离子浓度在0~100 $\mu\text{mol/L}$,线性方程为: $y=0.0075x-0.0101$, $R^2=0.998$,LOD为0.47 $\mu\text{mol/L}$ 。

综上,2种方法的标准曲线的线性度良好,检测限低,灵敏度高。

2.6 铜离子检测时间

铜离子检测时间约4 min,其中进样操作约2 min,颗粒计数及结果输出约2 min。与量子点荧

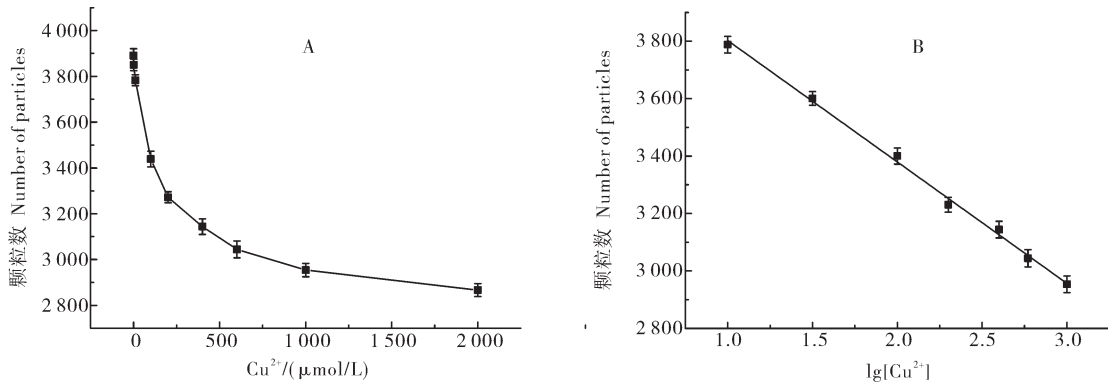


图9 本研究方法的标标准曲线(A)和线性范围(B)

Fig.9 The standard curve of this research method(A) and linear range(B)

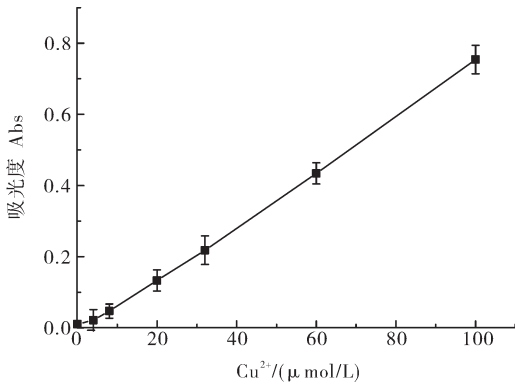


图10 原子吸收分光光度法标准曲线

Fig.10 Atomic absorption spectrophotometer standard curve

光传感器 (10 min)^[15]、阳极溶出伏安法 (6 min)^[16]和生物传感器 (48 min)^[17]等检测方法相比,本研究测试时间更短。

2.7 检测结果对比

本研究方法与原子吸收分光光度法均未在实际水质样品中检测出铜离子,结果显示实际水质样品中不含铜离子。

表3为实际样品加标测试结果,由表3可知,本研究方法平均回收率为87.85%~101.08%,相对标准偏差为4.35%~6.53%,原子吸收分光光度法平均

回收率为94.57%~102.01%,相对标准偏差为3.74%~4.56%,本研究方法与原子吸收分光光度法相比,平均回收率相差不大,且不需要昂贵的检测设备,检测成本降低。并且在检测铜离子浓度过程中,原子吸收分光光度法在测得吸光度后,仍需通过查询铜离子标准曲线才能计算出铜离子浓度值,而本研究方法可通过颗粒计数软件直接得出铜离子浓度值,操作更简便。

3 讨论

本研究采用电阻法研制了液体颗粒计数系统,通过确定不同粒径的响应电压,建立了颗粒粒径识别模型和颗粒计数模型。结果表明,粒径识别相对误差小于5%,与RC-2100颗粒计数器测试结果对比发现,颗粒计数相对误差小于10%,说明本系统可识别不同粒径的颗粒并计数,检测精度较高。通过结合点击化学法,本研究构建了基于电阻法液体颗粒计数器的铜离子快速检测方法,检测时间约4 min,与量子点荧光传感器、阳极溶出伏安法和生物传感器相比,本方法检测时间更短,省略了复杂样品制备的步骤,操作方法更简单,检测速度明显提高。与暗场成像的LSPR传感器检测铜离子的方法^[3](检测限为

表3 实际样品分析结果(n=3)

Table 3 Results of actual sample analysis (n=3)

加标样品浓度/(μmol/L) Concentration of standard sample	本方法 This method			原子吸收分光光度法 Atomic absorption spectrophotometry		
	检测浓度/(μmol/L) Concentration	回收率/% Recovery rate	RSD/%	检测浓度/(μmol/L) Concentration	回收率/% Recovery rate	RSD/%
10	9.31±0.013	93.11	5.78	9.78±0.022	97.82	4.56
40	35.27±0.054	87.85	6.53	37.96±0.045	94.57	3.74
80	80.87±0.076	101.08	4.35	81.61±0.034	102.01	3.86

9.69 $\mu\text{mol/L}$)对比,本研究使用聚苯乙烯微球作为检测探针,提高了铜离子检测的灵敏度,检测限(2.29 $\mu\text{mol/L}$)更低,灵敏度更高,且满足我国现行国标GB 5749—2006《生活饮用水卫生标准》中水中铜离子浓度检测限的要求(15.6 $\mu\text{mol/L}$)。对比实验表明,本研究方法和原子吸收分光光度法在检测实际样品时,测试结果基本一致,但原子吸收分光光度计仪器昂贵,而本研究方法无需昂贵的检测仪器,检测成本降低,直接输出铜离子浓度值,省去了人工查询标准曲线的步骤,操作更简便。综上,基于电阻法液体颗粒计数器的铜离子检测方法具有操作简单、检测速度快、灵敏度高、检测成本低等优势。

本研究利用抗坏血酸将 Cu^{2+} 还原成 Cu^+ 、 Cu^+ 催化叠氮和炔基进行反应的原理,根据聚苯乙烯微球数量的变化从而实现铜离子的快速检测,而重金属污染包括Zn、Cr、Hg等多种元素,后续将进一步研究基于电阻法液体颗粒计数系统的多种重金属同时检测方法,以提高该方法的检测效率。

参考文献 References

- [1] 张梦娇,冯朝岭,刘小标,等. 重金属离子检测方法研究进展[J]. 科学技术与工程, 2020, 20(9): 3404-3413. ZHANG M J, FENG C L, LIU X B, et al. Research process on detection method for heavy metal ions[J]. Science technology and engineering, 2020, 20(9): 3404-3413 (in Chinese with English abstract).
- [2] 郝卓莉. 饮用水中重金属镉的电化学检测[J]. 食品工业, 2021, 42(9): 283-287. HAO Z L. Electrochemical detection of cadmium in drinking water[J]. The food industry, 2021, 42(9): 283-287 (in Chinese with English abstract).
- [3] 刘萍,刘国华,张维. 基于暗场成像的LSPR传感器对铜离子的高灵敏度检测研究[J]. 南开大学学报(自然科学版), 2019, 52(3): 50-54. LIU P, LIU G H, ZHANG W. Study on high sensitivity detection of Cu ions using localized surface plasmon resonance sensors based on dark field imaging[J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Nankaiensis, 2019, 52(3): 50-54 (in Chinese with English abstract).
- [4] 孟梅. 水中重金属光谱检测技术研究[J]. 绿色科技, 2019(12): 117, 134. MENG M. Research on spectral detection technology of heavy metals in water[J]. Journal of green science and technology, 2019(12): 117, 134 (in Chinese).
- [5] KOLB H C, FINN M G, SHARPLESS K B. Click chemistry: diverse chemical function from a few good reactions[J]. Angewandte chemie international edition, 2001, 40(11): 2004-2021.
- [6] 董永贞,吴紫荆,王知龙,等. 磁弛豫生物传感器在食品安全快速检测中的应用研究进展[J]. 华中农业大学学报, 2021, 40(1): 137-146. DONG Y Z, WU Z J, WANG Z L, et al. Progress of magnetic relaxation switching biosensor for rapid detection in food safety[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2021, 40(1): 137-146 (in Chinese with English abstract).
- [7] 康世英,姚斌. 基于计算机视觉的粮种颗粒快速计数方法[J]. 自动化技术与应用, 2019, 38(8): 98-101, 106. KANG S Y, YAO B. A fast seeds counting method based on computer vision[J]. Techniques of automation and applications, 2019, 38(8): 98-101, 106 (in Chinese with English abstract).
- [8] 吴丽,王晓伟,路兴杰,等. 颗粒测试技术发展现状及应用进展[J]. 工业计量, 2019, 29(1): 1-8. WU L, WANG X W, LU X J, et al. Development status and application progress of particle testing technology[J]. Industrial metrology, 2019, 29(1): 1-8 (in Chinese with English abstract).
- [9] 王锐敏,贾瑞宝,逯南南,等. 流式细胞术在水质检测领域的研究进展[J]. 中国环境监测, 2020, 36(3): 114-121. WANG R M, JIA R B, LU N N, et al. Progress of flow cytometry in the field of water quality testing[J]. Environmental monitoring in China, 2020, 36(3): 114-121 (in Chinese with English abstract).
- [10] COULTER W H. High speed automatic blood cell counter and cell size analyzer[C]// American Institute of Physics. Proceedings of the National Electronics Conference. [S.l.]: [s.n.], 1956:1034-1044.
- [11] 杨文志,王晓东,李橙. 库尔特原理及其应用[J]. 工程研究——跨学科视野中的工程, 2016, 8(6): 582-592. YANG W Z, WANG X D, LI C. Coulter principle and its application[J]. Journal of engineering studies, 2016, 8(6): 582-592 (in Chinese with English abstract).
- [12] COULTER W H. Means for counting particles suspended in a fluid: US2656508[P]. 1953-10-20.
- [13] 陈翊平,黄汉英,王知龙,等. 一种用于检测微米颗粒的多通道颗粒检测装置及检测方法: 中国, CN111413264B[P]. 2021-04-06. CHEN Y P, HUANG H Y, WANG Z L, et al. Multi-channel particle detection device and detection method for detecting micron particles: CN111413264B [P]. 2021-04-06 (in Chinese).
- [14] DEBLOIS R W, BEAN C P. Counting and sizing of submicron particles by the resistive pulse technique[J]. Review of scientific instruments, 1970, 41(7): 909-916.
- [15] 赵心语,耿宇昊,田震昊,等. CdSe@ZnS量子点荧光传感器在水体铜离子污染检测中的应用[J]. 化工学报, 2021, 72(2): 1142-1148, 1206. ZHAO X Y, GENG Y H, TIAN Z H, et al. Application of CdSe@ZnS quantum dot fluorescence sensor in detection of copper ion pollution in water[J]. CIESC journal, 2021, 72(2): 1142-1148, 1206 (in Chinese with English abstract).
- [16] 蔡良圣,林君,辛青,等. 电化学微传感器检测水中痕量铜离子[J]. 中国环境科学, 2020, 40(8): 3394-3400. CAI L S, LIN J, XIN Q, et al. The detection of copper ion in water with electrochemical microsensors[J]. China environmental science, 2020, 40(8): 3394-3400 (in Chinese with English abstract).
- [17] STEIN N E, HAMELERS H V M, BUISMAN C N J. Stabilizing the baseline current of a microbial fuel cell-based biosensor through overpotential control under non-toxic conditions[J]. Bioelectrochemistry, 2010, 78(1): 87-91.

A method of rapidly detecting Cu^{2+} based on liquid particle counter

FENG Wanxian¹, HUANG Hanying¹, CHEN Yiping², WANG Zhilong², CHEN Rui²

1. *College of Engineering, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;*

2. *College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China*

Abstract A liquid particle counter was developed with electrical resistance method and a method of detecting heavy metal Cu^{2+} combined with the click chemistry method to solve the problems including the complicated operation, long cycle of detection and high cost of detection existed in the current methods of detecting heavy metals in water quality. A model for identifying the particle size and a model for particle counting were established. A particle counting software based on LabVIEW was developed. A rapid method of detecting Cu^{2+} in water was realized by using polystyrene microspheres as detection probes and particle counters as detection platforms. The results showed that the relative error of particle size identification and particle counting was less than 5% and 10%, indicating that the accuracy of particle counting meets the requirements. When the concentration of Cu^{2+} was 10-1 000 $\mu\text{mol/L}$, there was a good linear correlation between the number of polystyrene microspheres and the concentration of Cu^{2+} . The average recovery rate was between 87.85% and 101.08%. The detection limit was 2.29 $\mu\text{mol/L}$. The time of detection was about 4 min. Compared with the traditional method of detecting Cu^{2+} , the method of detecting Cu^{2+} with a liquid particle counter based on the electrical resistance method has the advantages of simple operation, fast speed of detection, high sensitivity and low cost of detection.

Keywords rapid detection method; electrical resistance method; liquid particle counter; particle size identification; Cu^{2+} ; heavy metal pollution; safety of aquatic product quality

(责任编辑:赵琳琳)