

生物传感技术在海洋监测中的应用

Applications of biosensing technology in marine monitoring

尹秀丽, 薛钦昭, 秦 伟

(中国科学院 烟台海岸带可持续发展研究所 山东 烟台, 264003)

中图分类号: TP212.3

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2011)08-0113-06

21 世纪是海洋开发的世纪, 我国将更加关注在可持续发展前提下的海洋资源的合理开发和海洋环境保护, 特别是更多地关注近海生态环境的监测和保护。用于海洋监测的生物传感器技术是一种基于生物敏感元件对污染物的生理、生化、细胞反应而建立起来的海洋生物监测技术, 有很高的灵敏度, 并可与生物个体的生长、繁殖、代谢、存活等指标直接联系起来, 从而有可能就污染对生物种群、群落乃至整个生态系统的影响做出评价和预测^[1]。监测水质新型赤潮预警系统——冷光藻青菌生物传感器的研制成功, 突出显示了生物传感器应用于海洋监测的优点。迄今为止, 人们已经开发了很多用于环境监测的传感器(生物传感器和其他类型传感器), 生物传感器具有特异性好、灵敏度高、分析速度快、能在复杂体系中在线连续监测等特点, 被广泛用于生命科学、医学检验、食品安全及环境监测等多个领域。其中, 在环境检测中的应用尤为令人瞩目。人们已经开始研究用于海洋监测的生物传感器, 本文将对生物传感器在海洋监测领域的应用做一总结。

1 生物传感器定义及分类^[2]

生物传感器是一门集微电子学、材料科学、生物技术等学科为一体的高新技术。它是由分子识别元件(感受器)和与之结合的信号转换器(换能器)两部分组成的分析工具或系统。前者可以是生物体成分(酶、抗原、抗体、激素、DNA)或生物体本身(细胞、细胞器、组织), 它们能特异地识别各种被测物质并与其反应; 后者主要有电化学电极、离子敏感场效应晶体管、热敏电阻器、光电管、光纤、压电晶体等, 其功能为将敏感元件感知的生物化学信号转变为可测

量的电信号。生物传感器按所用分子识别元件的不同, 可分为酶传感器、微生物传感器、组织传感器、细胞传感器、免疫传感器等; 按信号转换元件的不同, 可分为电化学生物传感器、半导体生物传感器、测热型生物传感器、测光型生物传感器、测声型生物传感器等; 按对输出电信号的不同测量方式, 又可分为电位型生物传感器、电流型生物传感器和伏安型生物传感器。本文按检测对象的不同对生物传感器(技术)在海洋监测中的应用进行简要总结。

2 应用于海洋领域的生物传感技术研究进展

2.1 营养盐的检测

氮、磷、硅等植物营养物质含量过多所引起的水质污染现象——富营养化, 能够加速水生生物特别是藻类的大量繁殖, 使生物种群结构发生变化, 生物多样性破坏, 从而导致水体生态平衡遭到破坏。这些营养物质包括硝酸盐、亚硝酸盐、铵盐、磷酸盐、硅酸盐等, 及时监控这些营养盐的含量对于预警赤潮等是非常必要的。已有多篇酶^[3-7]和微生物^[8-10]传感器用于检测硝酸盐和亚硝酸盐的报道。检测硝酸盐和亚硝酸盐的酶传感器主要使用硝酸盐和亚硝酸盐的还原酶, 这些酶传感器的使用主要受限于酶

收稿日期: 2009-10-10; 修回日期: 2011-04-11

基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KZCX2-YW-410); 国家自然科学基金项目(40776058); 国家高技术研究发展计划项目(2007AA09Z103); 山东省科技发展计划项目(2006GG2205033)

作者简介: 尹秀丽(1977-), 女, 博士, 从事电化学生物传感器研究, E-mail: xlyin@yic.ac.cn; 秦伟, 通信作者, 研究员, 从事海岸带环境污染监测研究, E-mail: wqin@yic.ac.cn

的可利用度以及酶的成本^[11],硝酸盐和亚硝酸盐还原酶已经可以从很多生物源中分离出来^[12-14],利用溶胶-凝胶固定酶可以避免酶活性的损失^[14]。Larsen等^[15]在传感器中固定反硝化细菌(不含一氧化二氮还原酶),反硝化细菌将硝酸盐还原为一氧化二氮,使用电化学检测一氧化二氮,鉴于该传感器在淡水和海水中对亚硝酸盐和硝酸盐均有良好的响应,因此,已经实现商品化(<http://www.unisense.com>)。用于检测铵盐的生物传感器并不多,比较常见的是检测铵盐的离子选择性电极和化学传感器,但是,由于海水中高浓度的干扰离子使这些传感器不能直接应用于海水的检测。目前文献中还未见有关硅酸盐离子传感器的报道。Amine等^[16]综述了有关检测磷酸盐、硝酸盐等的生物传感器,检测磷酸盐的生物传感器主要是基于各种磷酸酯酶的生物传感器。尽管已有诸多的传感器用于检测磷酸盐,据我们所知,至今没有一台传感器能够用于海水中磷酸盐的检测(因海水中多种离子的存在,会对磷酸盐的检测造成干扰)。开发能够用于海水中磷酸盐检测的生物传感器将会填补该领域的一项空白。

2.2 生物物种检测

分子生物学以及相关生物传感器的迅速发展,拓展了它们在环境微生物多相分类中的应用。尤其在识别幼小的物种或者形态不明显的菌株等方面发挥了重要作用。同时它们在生物物种资源的分子系统和进化的研究、新的生物物种资源的发现和开发利用,如特殊生态环境中新的未知生物类群的发现、分类鉴定及应用等方面也开始大显身手。

Lee^[17]等报道了基于化学发光的生物传感器用于检测赤潮生物海洋褐胞藻(*Chattonella marina*)。2-甲基-6-(p-甲氧苯基)-3,7-二氢咪唑并[1,2-a]吡嗪-3-酮在超氧阴离子存在的情况下可以作为化学发光探针,褐胞藻能够释放超氧阴离子,通过检测超氧阴离子来间接测定褐胞藻的浓度。他们还用该传感器测定了赤潮异弯藻(*Heterosigma akashiwo*),骨条藻(*Skeletonema costatum*),角毛藻(*Chaetoceros sociale*),紫球藻(*Porphyridium cruentum*)和褐胞藻(*Chattonella antique*)。其结果是该传感器只对褐胞藻类有特征响应,对其他藻类没有响应。目前,人们研发了很多基于核酸杂交技术的生物传感器、DNA芯片和阵列,利用杂交探针来识别物种的特异序列。已有多篇综述^[18-22]概括了这些传感器、芯片和阵列的

研究进展。Monterey 海湾水产研究所一直致力于研究“环境样品处理器”,现在该仪器第二代已经研究成功并投入使用(<http://www.mbari.org/ESP>) (图1和图2),该仪器的核心技术就是利用DNA探针阵列实时原位的检测微生物及其基因产物,其中最常用的

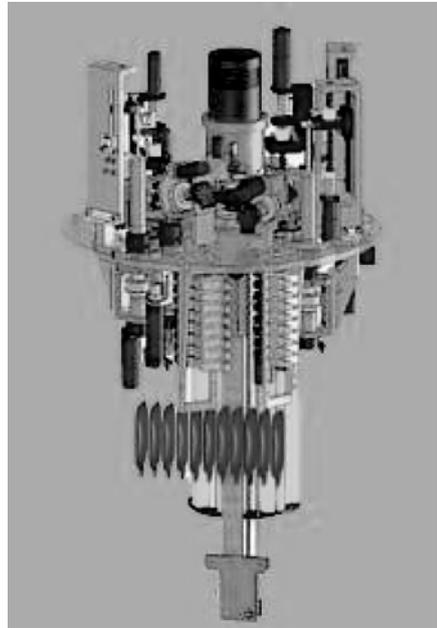


图1 环境样品处理(<http://www.mbari.org/ESP>)

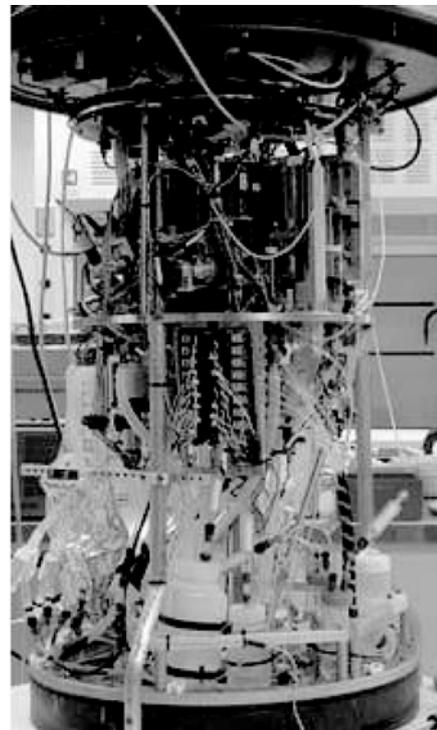


图2 第二代环境样品处理器核心部件(<http://www.mbari.org/ESP>)

技术就是夹心杂交测定和酶联免疫测定。研究该仪器主要目的是利用基因技术识别海洋微生物, 以此进一步研究它们在生物地球化学循环中的作用。目前, 该仪器可以原位收集和分析海洋下层水样, 使用分子探针自动识别微生物和它的基因产物。另外, 该仪器已经实现远程控制, 可以实时、在线、长期在海水中进行作业。该仪器的研制成功, 不但节约了收集样品的时间, 也大大降低了人们在海洋生物方面研究的成本, 为海洋生物分类识别的研究提供了更有利的技术支撑。

2.3 污染物的检测

海洋污染物主要指经由人类活动直接或间接进入海洋环境, 并能产生有害影响的物质或能量。海洋中的污染物种类多, 数量大, 且危害深远。因此, 需要严格控制这些污染物的排放, 这些污染物主要包括石油及其产品, 农药, 防污物料, 重金属离子, 毒素等。

2.3.1 有机农药

Kröger 等^[23]描述了生物传感器在海洋监测要素如营养盐、抗生物污染试剂、杀虫剂、激素干扰剂以及分子生物分类系统中的应用。分析和预测了将来用于海洋监测的传感体系所需要的条件以及可能面临的挑战。最近, Hildebrandt 等^[24]制作了一种便携式传感器, 该传感器可以检测海水以及食品中的氯吡硫磷(有机磷的一种)和氨基甲酸酯。他们将乙酰胆碱酯酶固定于丝网印刷电极上, 这样使得成本较低, 利于大批量生产和一次性使用。Zhang 等^[25]利用层层自组装技术修饰的多壁碳纳米管和乙酰胆碱酯酶传感器检测了海水中的虫螨威(氨基甲酸酯的一种), 其检测限可达到 10^{-11} g/L。用于检测杀虫剂的生物传感器大部分是基于乙酰胆碱酯酶的抑制传感器^[26-27], 其主要原因是乙酰胆碱酯酶的成本较低。另外, 还有一些免疫传感器也可用于杀虫剂的检测, 如 Penalva 等^[28]制作的检测包含 Irgarol 的杀虫剂的免疫传感器, 可用于有机提取物和海水样品检测。Mallat 等^[29-30]研发了用于检测河口水样品中的百草枯和异丙隆的生物传感器, 检测限可达到 $0.1 \mu\text{g/L}$ 。一些细胞传感器^[31-32]可用于莠去津、西玛津、异丙隆、敌草隆等的检测, 其检测限可达 $1 \mu\text{g/L}$ 。利用细胞传感器检测这些物质不但比较灵敏, 而且能够得到有关生物利用度和生理反应的一些信息, 缺点是这些传感器不像酶传感器, 只对一种物质有特异性

响应, 通常被一些重金属所干扰, 所以也有不利的一方面。

2.3.2 含油污水

海洋监控的另一个主要方向是污染海洋环境的油气田采出水(也叫油气田含油污水)和油井的钻井液。通常, 采出水的成分非常复杂, 其中包含防沫剂、生物杀灭剂、阻蚀剂和破乳剂等, 这些物质均能产生一系列急性的或者慢性的毒性效应。对于这样一个复杂的体系, 若使用相关的化学或者物理技术来监测, 虽然比较灵敏和准确, 专一性也较好, 但是它们不能提供这些污染物的生物相容性数据和污染物对生物体系的影响以及对环境产生的毒性效应。而生物传感体系非常适用于微生物的一般毒性测试, 从而可以得到一系列与生物体系和环境相关的数据。如 LaGier 等^[33]报道的电化学生物传感器用于检测微生物污染物以及毒藻和 Sørensen 等报道细胞传感器用于毒性的测试等^[34]。

2.3.3 防污物料

另一个广泛污染海水水体和沉积物的污染物是防污物料——有机锡化合物如三丁基锡(TBT)。有报道称 ng/L 级浓度的有机锡即会对水中生物产生毒害作用^[35], 因此这些化合物已被国际海事组织禁止使用。有机锡致毒浓度很低, 但是目前所研究的生物传感器对有机锡的最低检测限还不能检测到致毒的最低浓度, 仍有待于进一步的开发研究。Durand 等^[36]报道的基于细菌生物发光技术的生物传感器对 TBT 的检测限为 $26 \mu\text{g/L}$, 对 DBT(二丁基锡)的检测限为 $0.03 \mu\text{g/L}$ 。Thouand 等在第 8 次世界生物传感器大会上报道的在流动体系内将细菌固定于芯片上, 采用发光检测的生物传感器对 TBT 的检测限可达到 325 ng/L 。这已经是报道的最低检测限, 由此看来, 用于检测有机锡的生物传感器技术仍需进一步提升。

2.3.4 重金属污染物

海洋环境中的痕量金属具有双重作用: 在海洋的某些区域, 它们是促进藻类生长的必需物质, 而在其他的一些环境中又可以造成污染。文献中报道了很多生物传感器可用于金属离子的检测, 例如, Zeng 等^[37-38]报道的使用基于荧光的光纤生物传感器实时检测海水中游离的 Cu^{2+} 浓度, 检测限可以达到 0.1 pmol/L 。但是此传感器测量几个小时后, 由于生物污染以及 Zn 或者 Hg 的干扰而不稳定; Cathy 等^[39]制作的 Parabactin 生物传感器对 Fe(III)的检测限为

1 nmol/L; 使用 algae *C. vulgaris* 细胞制作的传感器用来检测镉离子^[40]; 酶传感器检测锌离子^[41]; DNA 传感器检测铅离子^[42]。在海洋化学中, 痕量金属的形态与分析是一个很广阔的领域, 鉴于海水中存在多种元素, 痕量金属的分析常常受到基体效应和其他共存离子的干扰, 因此研究选择性好的检测限低的生物传感器是未来的发展方向。

2.3.5 生物毒素

随着水产养殖业的迅速发展和有害赤潮的频繁爆发, 藻类和贝类的生物毒素成为人们日渐关注的问题。Campàs 等^[43]在近期发表的关于生物传感器检测海洋毒素——评价海产品的安全性中介绍了海洋毒素的分类以及他们所产生的毒性效应, 海洋毒素主要包括: 腹泻性贝毒(DSP), 麻痹性贝毒(PSP), 记忆缺损性贝毒(ASP), 神经性贝毒(NSP), Azaspiracid shellfish poisoning (AZP) toxins(一种新毒素, 主要分布在欧洲), 雪卡毒素(CFP), 河豚毒素(PFP)等几大类型, 综述了用于检测这些毒素的生物/分析技术, 着重描述了生物传感器在检测这些毒素方面的一些应用。这些生物传感器主要包括: Na⁺离子通道生物传感器用于检测 PSP 类贝毒; 免疫传感器用于检测刚田酸(DSP 的一种); 酶抑制传感器用于检测刚田酸等。展望了生物传感器作为筛选海产品毒素生物工具的美好前景。近期, Steven 等^[44]报道的检测软骨藻酸的 SPR(表面等离子共振)便携式生物传感体系检测限可达 3 μg/L, 定量范围在 4~60 μg/L, 此传感体系可用于浓缩的海藻提取液和海水中高浓度软骨藻酸的检测。Marquette 等^[45]制作了一种化学发光免疫传感器用于检测贝类中的刚田酸。目前, 在丝网印刷电极上的酶联免疫测定是毒素测定的一个重要发展方向, 这主要是因为丝网印刷电极成本低, 适于一次性和室外环境中使用, 同时, 检测限可以达到 μg/L 级甚至更低。生物传感技术在海洋监测的应用及潜在应用总结在表 1 中。

3 总结

现代传感技术是发展海洋监测高技术的发展方向, 是海洋现场快速自动监测系统的核心部件, 也是制约海洋监测技术水平的主要因素之一。虽然已有很多的传感体系对海洋分析具有潜在的应用价值, 然而专门为海洋测定而设计的传感器的数目非常少^[46-47]。传感器的应用仍然主要集中在医疗诊断, 过

表 1 海洋中的分析物 and 使用的传感器类型总结

分析物	文献	传感器类型
硝酸盐、亚硝酸盐	[3-7]	酶传感器
	[8-10]	微生物传感器
有机农药	[24-27]	酶传感器
	[28-30]	免疫传感器
	[31-32]	细胞传感器
含油污水	[33-34]	细胞传感器
防污物料	[36]	微生物传感器
重金属污染物	[37-41]	酶传感器
	[39]	微生物传感器
	[40]	细胞传感器
	[42]	DNA 传感器
	[44]	微生物传感器
生物毒素	[44]	微生物传感器
	[45]	免疫传感器

程控制, 制药产品, 食品安全分析和国防等方面。到目前为止, 真正用于海洋环境现场在线监测的传感器只有溶解氧、电导率、氧化还原电位、浊度、氨氮, 而且这些传感器还有不少技术问题需要解决, 特别是用于定点连续长期监测的传感器。开发和研究适用于海洋监测的生物传感器, 不但可以满足监测要素的特别需要, 还可以反映海洋复杂多变的现状。通过选择新的微生物物种以及基因工程和分子生物学的引入, 可以大幅度推动生物传感器的发展。生物传感器在海水中进行作业, 迫使生物传感器必须提高其选择性、稳定性、灵敏度等, 另外, 多种信息的同时获得要求生物传感器向集成化发展。总之, 大部分用于海洋监测的生物传感技术主要存在以下问题: (1)由于海水中多种离子的存在, 导致传感器对某种检测物的灵敏度和选择性不够; (2)海水的高盐度会对传感器的外壳以及探头等造成腐蚀, 对用于定点长期监测的传感器必须解决这一问题; (3)要想监测海洋复杂多变的情况, 必须同时监测多个要素, 这就要求传感器要集成大量器件以获得多个参数。

参考文献:

- [1] 朱光文. 我国海洋监测技术研究和开发的现状和未来发展 [J]. 海洋技术, 2002, 21(2): 45-46.
- [2] 费学宁. 现代水质监测分析技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 367-367.
- [3] Aylott J W, Richardson, D J, Russell, D A. Optical bio-sensing of nitrate ions using a sol-gel immobilized ni-

- trate reductase [J]. *Analyst*, 1997, 122(1): 77-80.
- [4] Chen H, Mousty C, Cosnier S, et al. Highly sensitive nitrite biosensor based on the electrical wiring of nitrite reductase by [ZnCr-AQS] LDH [J]. *Electrochemistry Communications*, 2007, 9: 2240-2245.
- [5] Zhang Z Q, Xia S Q, Leonard D, et al. A novel nitrite biosensor based on conductometric electrode modified with cytochrome c nitrite reductase composite membrane [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2009, 24(6): 1574-1579.
- [6] Almeida M G, Silveira C M, Moura J J G. Biosensing nitrite using the system nitrite reductase/Nafion/methyl viologen - A voltammetric study [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2007, 22(11): 2485-2492.
- [7] Zhang Z Q, Xia S Q, Leonard D, et al. A novel nitrite biosensor based on conductometric electrode modified with cytochrome c nitrite reductase composite membrane [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2009, 24(6): 1574-1579.
- [8] Mbeunkui F, Richaud C, Etienne A L, et al. Bioavailable nitrate detection in water by an immobilized luminescent cyanobacterial reporter strain [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2002, 60(3): 306-312.
- [9] Nielsen M, Larsen L H, Jetten M S M, et al. Bacterium-based NO₂- biosensor for environmental applications [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(11): 6551-6558.
- [10] DeAngelis K M, Ji P S, Firestone M K, et al. Two novel bacterial biosensors for detection of nitrate availability in the rhizosphere [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(12): 8537-8547.
- [11] Dutt J, Davis J. Current strategies in nitrite detection and their application to field analysis [J]. *Journal of Environmental Monitoring*, 2002, 4(3): 465-471.
- [12] Sasaki S, Karube I, Hirota N, et al. Application of nitrite reductase from *Alcaligenes faecalis* S-6 for nitrite measurement [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 1998, 13(1): 1-5.
- [13] Wu Q, Storrier G D, Pariente F, et al. A nitrite biosensor based on a maltose binding protein nitrite reductase fusion immobilized on an electropolymerized film of a pyrrole-derived bipyridinium [J]. *Analytical Chemistry*, 1997, 69(23): 4856-4863.
- [14] Ferretti S, Lee S K, MacCraith B D, et al. Optical biosensing of nitrite ions using cytochrome cd1 nitrite reductase encapsulated in a sol-gel matrix [J]. *The Analyst*, 2000, 125(11): 1993-1999.
- [15] Larsen L H, Kjaer T, Revsbech N P. A Microscale NO₃⁻ biosensor for environmental applications [J]. *Analytical Chemistry*, 1997, 69(17): 3527-3531.
- [16] Amine A, Palleschi G. Phosphate, nitrate, and sulfate biosensors [J]. *Analytical Letters*, 2004, 37(1): 1-19.
- [17] Lee T, Gotoh N, Niki E, et al. Chemiluminescence detection of red tide phytoplankton *Chattonella marina* [J]. *Analytical Chemistry*, 1995, 67(1): 225-228.
- [18] Khanna V K. Existing and emerging detection technologies for DNA (deoxyribonucleic acid) finger printing, sequencing, bio- and analytical chips: a multidisciplinary development unifying molecular biology, chemical and electronics engineering [J]. *Biotechnology Advances*, 2007, 25(1): 85-98.
- [19] Drummond T G, Hill M G, Barton J K. Electrochemical DNA sensors [J]. *Nature Biotechnology*, 2003, 21(10): 1192-1199.
- [20] Teles F R R, Fonseca L R. Trends in DNA biosensors [J]. *Talanta*, 2008, 77(2): 606-623.
- [21] Palchetti I, Mascini M. Nucleic acid biosensors for environmental pollution monitoring [J]. *Analyst*, 2008, 133(7): 846-854.
- [22] Kerman K, Kobayashi M, Tamiya E. Recent trends in electrochemical DNA biosensor technology [J]. *Measurement Science and Technology*, 2004, 15(2): R1-R11.
- [23] Kröger S, Piletsky S, Turner A P F. Biosensors for marine pollution research, monitoring and control [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2002(1-12), 45: 24-34.
- [24] Hildebrandt A, Bragós R, Lacorte S, et al. Performance of a portable biosensor for the analysis of organophosphorus and carbamate insecticides in water and food [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2008, 133(1): 195-201.
- [25] Zhang S, Shan L, Zheng Y, et al. Study of enzyme biosensor for monitoring carbamate pesticides in seawater [C]//Peng Y, Weng X. IFMBE Proceedings, 19. Beijing: Springer Berlin Heidelberg, 2008: 323-325.
- [26] Istamboulie G, Fournier D, Marty J L, et al. Phosphotriesterase: A complementary tool for the selective detection of two organophosphate insecticides: chlorpyrifos and chlorfenvinfos [J]. *Talanta*, 2009, 77(5): 1627-1631.
- [27] Stoytcheva M, Zlatev R, Velkova Z, et al. Hybrid electrochemical biosensor for organophosphorus pesti-

- cides quantification [J]. *Electrochimica Acta*, 2009, 54(6): 1721-1727.
- [28] Penalva J, González-Martínez M A, Puchades R, et al. Immunosensor for trace determination of Irgarol 1051 in seawater using organic media [J]. *Analytica Chimica Acta*, 1999, 387(3): 227-233.
- [29] Mallat E, Barzen C, Abuknesha R, et al. Fast determination of paraquat residues in water by an optical immunosensor and validation using capillary electrophoresis-ultraviolet detection [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2001, 427(2): 165-171.
- [30] Mallat E, Barzen C, Abuknesha R, et al. Part per trillion level determination of isoproturon in certified and estuarine water samples with a direct optical immunosensor [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2001, 426(2): 209-216.
- [31] Tonnina D, Campanella L, Sammartino M P, et al. Integral toxicity test of sea waters by an algal biosensor [J]. *Annali di Chimica*, 2002, 92(2): 477-484.
- [32] Vedrine C, Leclerc J C, Durrieu C, et al. Optical whole-cell biosensor using *Chlorella vulgaris* designed for monitoring herbicides [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2003, 18(4): 457-463.
- [33] LaGier M J, Jack W F B, Goodwin K D. Electrochemical detection of harmful algae and other microbial contaminants in coastal waters using hand-held biosensors [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2007, 54(6): 757-770.
- [34] Sørensen S J, Burmølle M, Hansen L H. Making bio-sense of toxicity: new developments in whole-cell biosensors [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2006, 17(1): 11-16.
- [35] Matthiessen P, Gibbs P E. Critical appraisal of the evidence for tributyltin-mediated endocrine disruption in mollusks [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1998, 17(1): 37-43.
- [36] Durand M J, Thouand G, Dancheva-Ivanova T, et al. Specific detection of organotin compounds with a recombinant luminescent bacteria [J]. *Chemosphere*, 2003, 52(1): 103-111.
- [37] Zeng H H, Thompson R B, Maliwal B P, et al. Real-time determination of picomolar free Cu(II) in seawater using a fluorescence-based fiber optic biosensor [J]. *Analytical Chemistry*, 2003, 75(24): 6807-6812.
- [38] Thompson R T, Zeng H H, Fierke C A, et al. Real-time *in situ* determination of free Cu(II) at picomolar levels in sea water using a fluorescence lifetime-based fiber optic biosensor [J]. *Proc SPIE*, 2002, 4625: 137-143.
- [39] Chung Chun Lam C K S, Jickells T D, Richardson D J, et al. Fluorescence-based siderophore biosensor for the determination of bioavailable iron in oceanic waters [J]. *Analytical Chemistry*, 2006, 78(14): 5040-5045.
- [40] Chouteau C, Dzyadevych S, Chovelon J M, et al. Development of novel conductometric biosensors based on immobilised whole cell *Chlorella vulgaris* microalgae [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2004, 19(9): 1089-1096.
- [41] Thompson R B, Jones E R. Enzyme-based fiber optic zinc biosensor [J]. *Analytical Chemistry*, 1993, 65(6): 730-734.
- [42] Lu Y, Liu J, Li J, et al. New highly sensitive and selective catalytic DNA biosensors for metal ions [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2003, 18(5-6): 529-540.
- [43] Campàs M, Prieto-Simón B, Marty J L. Biosensors to detect marine toxins: Assessing seafood safety [J]. *Talanta*, 2007, 72(3): 884-895.
- [44] Stevens R C, Soelberg S D, Eberhart B T L, et al. Detection of the toxin domoic acid from clam extracts using a portable surface plasmon resonance biosensor [J]. *Harmful Algae*, 2007, 6(2): 166-174.
- [45] Marquette C A, Coulet P R, Blum L J. Semi-automated membrane based chemiluminescent immunosensor for flow injection analysis of okadaic acid in mussels [J]. *Analytica Chimica Acta*, 1999, 398(2-3): 173-182.
- [46] Kröger S, Law R J. Biosensors for marine applications We all need the sea, but does the sea need biosensors? [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2005, 20(10): 1903-1913.
- [47] Kröger S, Law R J. Sensing the sea [J]. *Trends in Biotechnology*, 2005, 23(5): 250-256.

(本文编辑: 张培新)