

食源性病原微生物生物传感器的快速检测方法及其进展

吴泉铸^{1,2}, 陈丽叶¹, 赵超^{1,2}, 刘晓艳^{1,2}, 刘斌^{1,2*}

(1. 福建农林大学食品科学学院, 福州 350002; 2. 国家菌草工程技术研究中心, 福州 350002)

摘要: 如今, 食品中病原微生物对人们健康构成重大威胁, 快速检测成为食品工业发展的关键。为了加强食品安全监管、减少食源性病原微生物引起的食品中毒事件, 世界各国都致力于研究快速检测食源性病原微生物的方法。本文就几种常见生物传感器快速检测方法及其进展进行综述。

关键词: 食源性病原微生物; 快速检测; 生物传感器; 食品安全

Research progress on rapid detection methods of biosensors for foodborne pathogenic microorganism

WU Xiao-Qi^{1,2}, CHEN Li-Ye¹, ZHAO Chao^{1,2}, LIU Xiao-Yan^{1,2}, LIU Bin^{1,2*}

(1. College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2. China National Engineering Research Center of JUNCAO Technology, Fuzhou 350002, China)

ABSTRACT: Nowadays, pathogenic organism in foods poses a great threat to people's health. Therefore, fast detection of foodborne pathogenic organism becomes the key to the development of the food industry. In order to strengthen supervision of food safety and reduce food poisoning caused by foodborne pathogenic microorganisms the world dedicated to research the rapid detection of foodborne pathogenic organism. In this paper several common rapid detection methods based on biosensors and their progress were reviewed.

KEY WORDS: foodborne pathogenic organism; rapid detection; biosensor; food safety

1 前言

当今世界, 食品安全问题频繁发生, 其中食源性致病菌所造成的疾病是引发食品安全的关键问题。对于传统的病原菌检测方法(如分离培养、生化鉴定等)存在特异性低、费时、灵敏度不高、操作过程繁琐等局限。因此, 在当前这个什么都追求“快餐”式的社会中, 食源性病原微生物的快速检测方法逐渐

成为人们的需求并占据优势。而生物传感器是食品安全快速检测技术的重要发展方向之一, 具有分析速度快、特异性高、选择性高、操作简单、便携、灵敏及抗干扰能力强等优势^[1]。生物传感器由识别原件(如抗原、抗体、酶、微生物、核酸、细胞等)及信号转换器(光学、压电等)构成^[2]。本文介绍了几种较常见的用于检测病原微生物的生物传感器, 分别对其原理、检测方法以及在实际中的应用进行论述, 期望

基金项目: 国家自然科学基金项目(31071639)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (31071639)

*通讯作者: 刘斌, 教授, 主要研究方向为食品生物技术。E-mail: liubin618@hotmail.com

*Corresponding author: LIU Bin, Professor, China National Engineering Research Center of JUNCAO Technology, Fujian Agriculture and Forestry University, No.1, Gulou District, Fuzhou 350002, China. E-mail: liubin618@hotmail.com

能为食源性病原微生物快速检测的成熟发展提供一定的参考价值。

2 基于不同敏感元件的生物传感器

2.1 免疫传感器

免疫传感器是基于抗原抗体特异性结合原理设计的,其便捷、灵敏及可重复使用等优点受到科研工作者的青睐^[3]。免疫传感器用于致病菌检测的常见有酶免疫传感器、压电晶体免疫传感器及光学免疫传感器。光学免疫传感器可分为光纤传感器、表面等离子体共振型传感器、光栅传感器等^[4]。其中常用于病原菌检测的光学免疫传感器有光纤传感器、表面等离子体共振型传感器。

2.1.1 酶免疫传感器

由于活性成分是生物传感器的重要部分^[5],且多数溶于水。为此,测定时需要固定在载体上,而酶的固定、催化、高效及专一性,使得酶作为传感器有独特的优势。酶传感器是采用固定化酶作为敏感原件的生物传感器,选择性地将生物活性成分催化,发生氧化或者还原反应,产生电流信号、光信号及热信号,并测定电流信号、光信号及热信号与底物浓度呈现的关系。

马静等^[6]利用静电吸附及抗原抗体特异性结合将大肠杆菌 O157:H7 固定在辣根过氧化物酶标记的电极表面,制备检测大肠杆菌的酶免疫传感器。经伏安法及电位法测定因大肠杆菌被固定在电极表面引起的电信号变化进行分析。检测极限为 1×10^2 CFU/mL,检测线性范围为 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^5$ CFU/mL。此方法检测时间仅为 20 min,比标准检测法几天检测时间大大缩短。Vanessa 等^[7]利用免疫球蛋白与酶固定在金电极表面,并用免疫学检测金黄色葡萄球菌量。检测范围 $4.4 \times 10^5 \sim 1.8 \times 10^7$ CFU/mL,最低检出限为 1.7×10^5 CFU/mL。Chan 等^[8]利用固定在氧化铝纳米多孔膜上经磁珠修饰的抗体检测大肠杆菌,磁珠与大肠杆菌结合并被捕获于纳米膜上,用电子显微镜及荧光显微镜扫描磁珠与细菌细胞结合物及细菌细胞磁性浓度,检测浓度为 1×10 CFU/mL,与传统方法相比,时间显著缩短并更灵敏,效率明显提高,更适合现代快节奏生活的需求。

2.1.2 压电晶体免疫传感器

压电晶体免疫传感器是一种测量质量的免疫型

传感器。原理是在石英晶片在振荡电路中有个频率,当样品中抗原或抗体与包被在晶片上的抗原或者抗体特异性结合时,由于负载使得晶片振荡频率改变,其改变值与吸附上的质量呈相关性。Guo 等^[9]利用纳米金修饰的抗体固定在石英晶体微平衡芯片上检测大肠杆菌,检出限为 $0 \sim 1 \log$ CFU/mL。Salmain 等^[10]利用含有葡萄球菌肠毒素抗体的晶体传感器检测牛奶中的肠毒素,检测范围 $0.05 \sim 1.00$ mg/L,检测限 0.02 mg/L,最低检测限为 0.007 mg/L,最低检测限检测时间为 25 min。

2.1.3 光纤免疫传感器

光纤传感器是在光纤一端表面固定能特异性结合致病菌如沙门氏菌、金黄色葡萄球菌等细菌的抗体^[11]。其可再与其他技术及设备结合衍生出新的检测技术。其中光纤免疫传感器具有抗外源磁场、抗腐蚀及电子频率干扰^[12]。Rowe-Taitt 等^[13]利用光纤传感器检测炭疽杆菌,检出限为 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^6$ CFU/mL,检测时间在几十分钟内完成,相比于传统细菌培养再进行理化检测,时间大大缩短且灵敏度提高。Ohk 等^[14]采用多重光纤生物传感器同时检测即食肉中李斯特菌、大肠杆菌 O157:H7 及沙门氏菌。其利用链霉亲和素包被的光导波管用生物素多克隆抗体固定置于待测悬浮液中,与致病菌免疫结合,进行测定。检出限为 1×10^3 CFU/mL。此法可同时进行多个样品检测,灵敏度高,但耗时长,需要借助仪器,且操作仪器需要专业人员,不利推广。

2.1.4 表面等离子体共振型免疫传感器

表面等离子体共振技术(SPR)由激光源、棱镜、检测器(表面纳米金薄层固定有抗原或抗体)、偏振器等构成^[15]。原理是在等离子体表面固定一层抗原或者抗体,当抗原或抗体发生免疫反应时,吸附在表面的分子作用,使等离子体表面折射率会发生改变,根据位移大小可以检测出待测物含量。Subramanian 等^[16]利用有“三明治”构造的经烷硫醇自组装的表面等离子体迅速检测大肠杆菌。Wang 等^[17]利用基于表面等离子体传感器的凝集素检测食物样品中大肠杆菌含量,检测限为 3×10^3 CFU/mL。Lan 等^[18]利用表面等离子体检测鸡胴体中大肠杆菌量,检测结果为大肠杆菌存在量为 1×10^6 CFU/mL。Waswa 等^[19]利用发光二极管作为激发光照射金表面,折射率的改变检测牛奶、苹果汁及牛肉膏中的大肠杆菌,检测范围为 $1 \times 10^2 \sim 1 \times 10^3$ CFU/mL。

2.2 基因传感器

2.2.1 表面等离子体共振 DNA 传感器

表面等离子体共振 DNA 传感器在纳米材料(金、银、碳等)表面固定一段靶 DNA, 当与待测液中配体结合时, 金属表面对入射光的折射率发生改变, 进而改变入射光在液面与波导面的折射率, 折射率的变化传输给耦合器, 产生共振而达到检测目的。Zhang 等^[20]利用固定在等离子体共振表面经生物素标记的单链寡核苷酸捕获探针沙门氏菌 *invA* 基因。合成的靶 DNA 校正曲线在 5~1000 nmol/L 范围内有很好的线性关系, 检测限为 0.5 nmol/L; 同时检测经 PCR 扩增产物, 其检测范围为 $1 \times 10^2 \sim 1 \times 10^{10}$ CFU/mL。Zezza 等^[21]利用固定在表面等离子体共振器表面并经 PCR 扩增子序列选择的标有链霉亲和素的探针捕获 PCR 扩增的黄色镰刀菌的 DNA 片段, 检测限为 0.06 pg 黄色镰刀菌 DNA。

2.2.2 压电晶体 DNA 传感器

压电晶体 DNA 传感器原理是将固定有寡核苷酸的压电晶体表面置于单链互补序列中, 经杂交后检测其共振频率和反应前后振荡频率的变化。压电晶体 DNA 传感器的特点: 可进行 DNA 实时监测、灵敏度高, 但对于批量样品检测时响应时间长, 不利于批量检测。

Mo 等^[22]将巯基改造的大肠杆菌基因探针固定在晶体表面用于检测水中致病菌含量。用经 PCR 扩增的大肠杆菌编码区与石英晶体表面没有放射性标记的基因探针结合检测大肠杆菌, DNA 量检测结果小于 10 fg。Mao 等^[23]用巯基修饰的单核苷酸探针固定在晶体表面, 其对大肠杆菌可进行特异性识别, 与靶 DNA 互补, 改变其质量, 频率也随之变化, 结合有链霉亲和素的 Fe_3O_4 纳米作为质量变化放大剂, 使频率得到放大进行检测, 检测范围为 $2.67 \times 10^2 \sim 2.67 \times 10^6$ CFU/mL。

2.2.3 光学光纤 DNA 传感器

光纤 DNA 生物传感器是将单链 DNA 探针固定在光导纤维表面, 并与目标 DNA 杂交, 另外一端有荧光染料修饰的探针, 形成“三明治”结构, 在荧光显微镜下检测。光学传感器如表面增强拉曼光谱(SERS)即待测物吸附到粗糙金属表面增强拉曼信号^[24], 并用基因探针结合激光器、光纤等仪器进行检测。拉曼光谱具有快速、实时监测、分辨率高、稳定性好等特

点^[25-26]。Kalasinsky 等^[27]结合拉曼光谱、荧光光谱及数字成像, 在无放大或增强技术下检测复杂环境背景下的致病菌(炭疽杆菌、鼠疫杆菌、牛布鲁氏杆菌等)并构建文库。Kang 等^[28]用纳米金网上固定的 DNA 探针捕获靶 DNA, 再与携带拉曼染料的报告 DNA 探针配对, 经光谱分析及电子扫描靶 DNA 检测限为 10 pmol/L。靶 DNA 含有与检测 DNA、报告 DNA 互补的碱基, 即形成“三明治夹心”结构, 通过报告 DNA 携带的染料提高灵敏度。

3 基于不同检测实施形式的生物传感器

3.1 生物微阵列传感器

近年来发展的生物微阵列技术如基因芯片、蛋白质芯片等, 具有高通量、快速、灵敏、准确、高特异性等特点^[29]。

3.1.1 基因芯片传感器

基因芯片即寡核苷酸探针微阵列, 将系列寡核苷酸探针微阵列固定在载体(尼龙膜、玻璃片、硅片等)上, 并利用载体上的探针与靶 DNA 杂交, 反应结果用荧光法、同位素标记法、化学发光法等显示, 根据显示结果用扫描仪或摄像机记录、分析得到有用信息。李海燕等^[30]建立了基于纳米复合探针的基因芯片膜转印核酸检测新方法, 将纳米探针同时标记检测探针与信号探针, 芯片表面捕捉探针与靶 DNA 互补固定于芯片表面, 同时检查探针再与靶 DNA 配对, 形成捕捉探针-靶 DNA-检测探针的“三明治”结构, 用显色系统将信号转印至尼龙表面, 此法可检测结核分枝杆菌靶 DNA 浓度为 1 pmol/L 或扩增产物浓度为 0.23 pmol/L。

3.1.2 蛋白质芯片传感器

蛋白质芯片亦即蛋白质微阵列^[31], 将不同序列多肽或蛋白质固定(点样)于芯片的基片上, 构成多肽或蛋白质微点阵芯片, 利用捕捉分子(蛋白质探针)与靶分子相互作用。蛋白质探针通过物理吸附、共价结合及亲和结合固定于基片上^[32-33]。由于蛋白质空间结构复杂, 蛋白质经过修饰可以得到不同结合特性的捕捉分子。蛋白质芯片灵敏度高、高通量、连续, 可分为分析检测型高密度蛋白微阵列芯片和功能型高密度蛋白微阵列芯片^[34]。Lee 等^[35]采用具有纳米特性的硅胶构成的生物活性平台, 并经异硫氰酸荧光素标记的抗体与抗原结合。生物活性平台经疏丙基三乙

氧硅烷与正硅酸乙酯溶液增强生物活性平台表面功能,表面经压力点胶机固定抗体于芯片上,并用原子力电子显微镜观察表面形态。抗原抗体结合用荧光显微镜检测,荧光强度与大肠杆菌浓度成线性关系,大肠杆菌检出限为 1×10^2 CFU/mL。

3.2 其他传感器

其他传感器如丝网印刷生物传感器、分子印迹生物传感器、阻抗滴定生物传感器和试纸条生物传感器等。

3.2.1 丝网印刷生物传感器

丝网印刷电极表面喷上相应的酶,有些再在酶上面喷上一层膜防止酶干扰。丝网电刷一般由印刷台、滚筒、频率调节器及高精度微调器组成,分为半自动及自动控制印刷过程^[36]。丝网电极基质一般有铂、银、金或石墨基底。丝网电极具有成本低、可批量生产、灵敏度高及一次性可抛特点^[37]。Viswanathan等^[38]将大肠杆菌、弯曲杆菌及沙门氏菌的抗体 1:1:1 混合固定于多层碳纳米管-聚丙烯胺修饰的丝网电极,抗体分别与 Cd、Pb、Cu 结合,此纳米晶体管能释放金属离子并用方波阳极溶出伏安法检测。检出限为沙门氏菌 400 cells/mL,弯曲杆菌 400 cells/mL,大肠杆菌 800 cells/mL,校正曲线为 $1 \times 10^3 \sim 5 \times 10^5$ cells/mL。

3.2.2 电阻抗滴定生物传感器

电阻抗滴定传感器是通过微生物孵化(生长、代谢),将不易导电的惰性物质转变为易导电的小分子如氨基酸、肽等,通过建立电导变化与微生物生长曲线关系,推算出原始菌落数^[39]。电导变化通常是将修饰的检测探针固定在电极表面,与蛋白质的结合,检测电流信号。其中以叉指微电极的为代表的阻抗传感器由于体积小、灵敏而常作为病原微生物的检测技术^[40]。Chowdhury等^[41]通过将含有金-聚苯胺-戊二醛-抗体的电极浸入不同浓度的样液 10 min,使得抗体与大肠杆菌充分结合,测定孵化前后电极阻抗值的变化,推算大肠杆菌浓度。检测结果为 1×10^2 CFU/mL,检测上限为 1×10^7 CFU/mL。该探针也用于跟其他两种相似细菌进行检测,检测结果符合要求,此方法优于基于 DNA 及其他二抗标记的方法。阻抗用于检测由于成本低,时间仅为几十分钟,被广泛应用于致病菌检测。

3.2.3 试纸条生物传感器

试纸条生物传感器近几年由于其携带方便、易操

作、检测灵敏度高、时间短、成本低等优点,已经实现工业化生产,运用于致病菌的检测。随着生物技术、电化学技术的不断深入发展,已经有不少试纸条相关新产品面市。其原理是样液经样品槽流经检测线及控制线,样液与检测线上的固定抗原或抗体探针发生免疫作用结合,并显现颜色,未结合的抗体被控制线上的二抗或抗体捕获,剩余的样液则被吸收槽吸收。因纳米金比表面积大,利于与其他识别原件结合,更快传递电子,使信号得到放大,因而试纸条生物传感器常应用到纳米金^[42]。Pengsuk等^[43]将纳米金固定在样品槽隔壁的玻璃纤维槽表面,羊抗鼠免疫球蛋白抗体喷在纤维膜条带上(检测线、控制线),样液中的抗原与检测线上胶体金单克隆抗体结合形成复合物,检测线出现红紫色色带。检测灵敏度 1×10^4 CFU/mL, 12 h 预孵化后检出限为 1 CFU/mL。

4 展 望

当今世界食品安全问题凸显,食品安全仍然是各国关注的焦点。如何更有效地实行快速检测是食品在生产、加工、销售环节的重点。为此,要充分利用生物传感器快速检测、灵敏、便捷、易操作的特点。但如今出现的技术都有其缺陷如耗时、携带不方便、需要专人操作、成本高、特异性不高,有的仍只限于实验室,还没办法产业化生产。今后快速检测方法以生物传感器为重点,多种方法相融合,结合高通量的芯片技术及设计出能一次识别多个致病菌的探针、特异性更强的探针,提高灵敏度,促使快速检测技术真正多元化、大众化。

参考文献

- [1] 白冰,赵玲,王程程,等.生物传感器在检测食品品质及其质量安全中的应用[J].食品安全质量检测学报,2012,3(5): 414-420.
Bai B, Zhao L, Wang CC, et al. Application of biosensor in the detection for food quality and its safety [J]. J Food Safe Qual, 2012, 3(5): 414-420.
- [2] 许艳丽,鲍蕾,静平,等.生物传感器在生物毒素检测中的应用进展[J].食品安全质量检测学报,2012,3(5): 432-436.
Xu YL, Bao L, Jing P, et al. Research and application of biosensor on detection of biotoxin [J]. J Food Safe Qual, 2012, 3(5): 432-436.
- [3] 姚学鹏,刘绍琴.生物传感器用于农药残留检测的研究进展:现状、挑战及未来展望[J].食品安全质量检测学报,2013,4(1):

- 54–60.
- Yao XP, Liu SQ. Biosensors for detection of pesticide residues: current status, challenges and future perspectives [J]. *J Food Safe Qual*, 2013, 4(1): 54–60.
- [4] 孙艳, 孙锋, 杨玉孝, 等. 光学免疫传感器技术与应用[J]. *传感器技术*, 2002 (7): 5–8.
- Sun Y, Sun F, Yang YX, *et al*. Optical immunosensors technology and application [J]. *Trans Technol*, 2002 (7): 5–8.
- [5] 钱军民, 奚西峰, 黄海燕, 等. 我国酶传感器研究新进展[J]. *石化技术与应用*, 2002, 20(5): 333–337.
- Qian JM, Xi XF, Huang HY, *et al*. Enzyme biosensor research progress in our country [J]. *Petrochem Technol Appl*, 2002, 20(5): 333–337.
- [6] 马静, 张伟尉, 李闻, 等. 基于纳米金固定大肠杆菌 O157:H7 酶免疫传感器的研究[J]. *中国卫生检验杂志*, 2007, 17(12): 2156–2158.
- Ma J, Zhang WW, Li W, *et al*. Enzyme immunosensor for E. coli O157:H7 based on nano Au associated immobilization [J]. *Chin J Health Lab Tech*, 2007, 17(12): 2156–2158.
- [7] Vanessa EG, Campuzano S, Maria P, *et al*. Immunosensor for the determination of *Staphylococcus aureus* using a tyrosinase mercaptopropionic acid modified electrode as an amperometric transducer [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2008, 391(3): 837–845.
- [8] Chan KY, Ye WW, Zhang Y, *et al*. Ultrasensitive detection of *E. coli* O157:H7 with biofunctional magnetic bead concentration via nanoporous membrane based electrochemical immunosensor [J]. *Biosen Bioelectron*, 2013, 41: 532–537.
- [9] Guo X, Lin CS, Chen SH, *et al*. A piezoelectric immunosensor for specific capture and enrichment of viable pathogens by quartz crystal microbalance sensor, followed by detection with antibody-functionalized gold nanoparticles [J]. *Biosen Bioelectron*, 2012, 38(1): 177–183.
- [10] Salmain M, Ghasemi M, Boujday S, *et al*. Elaboration of a reusable immunosensor for the detection of staphylococcal enterotoxin A (SEA) in milk with a quartz crystal microbalance [J]. *Sensor Actuat B Chem*, 2012, 173: 148–156.
- [11] 黄素珍, 陈汉中. 免疫分析技术在鲜肉检测中的应用[J]. *食品卫生*, 2000 (9): 31–34.
- Huang SZ, Chen HZ. Immunoassay technology in the application of fresh meat [J]. *Meat Hyg*, 2000 (9): 31–34.
- [12] 魏华, 姜永强, 赵永凯, 等. 用光纤生物传感器检测炭疽杆菌、鼠疫杆菌及葡萄球菌肠毒素 B[J]. *生物技术通讯*, 2006, 17(3): 374–377.
- Wei H, Jiang YQ, Zhao YK, *et al*. Detection of *Bacillus anthracis*, *Yersinia pestis* and *Staphylococcal Enterotoxin B* with a fiber optic biosensor [J]. *Lett Biotech*, 2006, 17(3): 374–377.
- [13] Rowe-Taitt CA, Golden JP, Feldstein MJ, *et al*. Array biosensor for detection of biohazards [J]. *Biosen Bioelectron*, 2000, 14(10/11): 785–794.
- [14] Ohk SH, Bhunia AK. Multiplex fiber optic biosensor for detection of *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* from ready-to-eat meat samples [J]. *Food Microbiol*, 2013, 33(2): 166–171.
- [15] Sípová H, Homola J. Surface plasmon resonance sensing of nucleic acids: A review [J]. *Anal Chimica Acta*, 2013, 773: 9–23.
- [16] Subramanian A, Irudayaraj J, Ryan T. A mixed self-assembled monolayer-based surface plasmon immunosensor for detection of *E. coli* O157:H7 [J]. *Biosen Bioelectron*, 2006, 21 (7): 998–1006.
- [17] Wang YX, Ye ZZ, Si CY, *et al*. Monitoring of *Escherichia coli* O157:H7 in food samples using lectin based surface plasmon resonance biosensor [J]. *Food Chem*, 2013, 136(3/4): 1303–1308.
- [18] Lan YB, Wang SZ, Yin YG, *et al*. Using a surface plasmon resonance biosensor for rapid detection of salmonella typhimurium in chicken carcass [J]. *J Bionic Eng*, 2008, 5(3): 239–246.
- [19] Waswa J, Irudayaraj J, DebRoy C. Direct detection of *E. coli* O157:H7 in selected food systems by a surface plasmon resonance biosensor [J]. *LWT-Food Sci Tech*, 2007, 40(2): 187–192.
- [20] Zhang DC, Yan YR, Li Q, *et al*. Label-free and high-sensitive detection of *Salmonella* using a surface plasmon resonance DNA-based biosensor [J]. *J Biotechnol*, 2012, 160(3/4): 123–128.
- [21] Zezza F, Pascale M, Mulè G, *et al*. Detection of *Fusarium culmorum* in wheat by a surface plasmon resonance based DNA sensor [J]. *J Microb Method*, 2006, 66(3): 529–537.
- [22] Mo XT, Zhou YP, Lei H, *et al*. Microbalance-DNA probe method for the detection of specific bacteria in water [J]. *Enzyme Microb Tech*, 2002, 30(5): 583–589.
- [23] Mao XL, Yang LJ, Su XL, *et al*. A nanoparticle amplification based quartz crystal microbalance DNA sensor for detection of *Escherichia coli* O157:H7 [J]. *Biosen Bioelectron*, 2006, 21(7): 1178–1185.
- [24] 汪朋, 姚卫蓉. 表面增强拉曼散射光谱检测食源性细菌的增强方式[J]. *食品工业科技*, 2012, 4(33): 427–433.
- Wang P, Yao WR. The enhanced mode in SERS detection of food-borne bacteria [J]. *Sci Tech Food Ind*, 2012, 4(33): 427–433.
- [25] 孙美娟, 刘军贤, 王雪, 等. 拉曼光谱技术在微生物学中的应用[J]. *生物技术通报*, 2012, (10): 64–68.
- Sun MJ, Liu JX, Wang X, *et al*. Application of raman spectroscopy in the microbiology [J]. *Biotech Bull*, 2012, (10): 64–68.
- [26] 胡娟, 张春阳. 应用于基因分析的最新 SERS 技术[J]. *化学进展*, 2010, 8(22): 1642–1647.

- Hu J, Zhang CY. Surface-enhanced raman scattering technology and its application to gene analysis [J]. Prog Chem, 2010, 8(22): 1642–1647.
- [27] Kalasinsky KS, Hadfield T, Shea AA, *et al.* Raman chemical imaging spectroscopy reagentless detection and identification of pathogens: signature development and evaluation [J]. Anal Chem, 2007, 79(7): 2658–2673.
- [28] Kang T, Yoo SM, Yoon I, *et al.* Patterned multiplex pathogen DNA detection by Au particle-on-wire SERS sensor [J]. Am Chem Soc, 2010, 10(4): 1189–1193.
- [29] 李海燕. 纳米金复合探针结合基因芯片在鉴别结核分枝杆菌中的应用[D]. 华东师范大学, 2010.
- Li HY. Detection of Mycobacterium tuberculosis using DNA chip and multi-component gold nanoparticle probes [D]. East China Normal University, 2010.
- [30] 李海燕, 景奉香, 高秋月, 等. 基于纳米金复合探针的基因芯片膜转印检测法[J]. 生物工程学报, 2010, 26(8): 1135–1142.
- Li HY, Jing FZ, Gao QY, *et al.* Membrane transfer-based colorimetric DNA detection using enzyme modified gold nanoparticles [J]. Chin J Biotech, 2010, 26(8): 1135–1142.
- [31] LaBaer J, Ramachandran N. Protein microarrays as tools for functional proteomics [J]. Curr Opin Chem Biol, 2005, 9(1): 14–19.
- [32] Rusmini F, Zhong ZY, Feijen J. Protein immobilization strategies for protein biochips [J]. Biomacromolecules, 2007, 8(6): 1775–1789.
- [33] Jonkheim P, Weinrich D, Niemeyer C M, *et al.* Chemical strategies for generating protein biochips [J]. Angew Chem Int Edit, 2008, 47(50): 9618–9647.
- [34] 杨国香, 胡朝军. 高密度蛋白微阵列芯片技术及其在疾病研究中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(5): 601–603.
- Yang GX, Hu CJ. Protein microarrays chip technology and in the application of diseases research [J]. Int J Lab Med, 2011, 32(5): 601–603.
- [35] Lee W, Park KS, Kim YW, *et al.* Protein array consisting of sol-gel bioactive platform for detection of *E. coli* O157:H7 [J]. Biosens Bioelec, 2005(20): 2292–2299.
- [36] 张先恩. 生物传感器[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- Zhang XZ. Biosensors [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005.
- [37] 王欢, 张勇, 冯锐, 等. 丝网印刷电极在食品安全检测中的应用进展[J]. 分析测试技术与仪器, 2012, 18(3): 154–158.
- Wang H, Zhang Y, Feng R, *et al.* The process of Screen-printed electrode in the food safety testing [J]. Anal Test Tech Instrum, 2012, 18(3): 154–158.
- [38] Viswanathan S, Rani C, Ho JA. Electrochemical immunosensor for multiplexed detection of food-borne pathogens using nanocrystal bioconjugates and MWCNT screen-printed electrode [J]. Talanta, 2012, 94: 315–319.
- [39] 周向华, 王衍彬, 叶兴乾, 等. 电阻抗法在食品微生物快速检测中的应用[J]. 粮油加工与食品机械, 2003 (10): 73–75.
- Zhou XH, Wang YB, Ye XQ, *et al.* Impedance biosensor in the application of the rapid detection for food microorganism [J]. Mach Cereal Oil Food Proc, 2003 (10): 73–75.
- [40] 叶尊忠, 王婷, 王一嫄, 等. 阻抗生物传感器连续叠加法检测毒死蜱研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2012, 3(6): 676–680.
- Ye ZZ, Wang T, Wang YX, *et al.* Additive assay method for detection of chlorpyrifos using impedance biosensor [J]. J Food Safe Qual, 2012, 3(6): 676–680.
- [41] Chowdhury AD, De A, Chaudhuri CR, *et al.* Label free polyaniline based impedimetric biosensor for detection of *E. coli* O157:H7 Bacteria [J]. Sensor Actuat B Chem, 2012, 171/172: 916–923.
- [42] 张伟龙, 贾飞, 何良兴, 等. 基于电沉积壳聚糖-碳酸钙-纳米金的有机磷农药生物传感器[J]. 食品安全质量检测学报, 2012, 3(5): 437–442.
- Zhang WL, Jia F, He LX, *et al.* Electrodeposited chitosan-calcium carbonate-gold nanoparticles composite film based biosensor for organophosphorous pesticide [J]. J Food Safe Qual, 2012, 3(5): 437–442.
- [43] Pengsuk C, Chaivisuthangkura P, Longyant S, *et al.* Development and evaluation of a highly sensitive immunochromatographic strip test using gold nanoparticle for direct detection of *Vibrio cholerae* O139 in seafood samples [J]. Biosens Bioelectron, 2013, 42: 229–235.

(责任编辑: 赵静)

作者简介



吴泉铸, 硕士研究生, 主要研究方向为食品生物技术。
E-mail: xqgift@163.com



刘斌, 博士, 教授, 主要研究方向为食品生物技术。
E-mail: liubin618@hotmail.com