

光纤倏逝波生物传感器在食品安全检测中 应用进展

周巍^{1,2}, 张巍², 王赞², 刘涛², 张岩^{2*}

(1. 河北农业大学食品科技学院, 保定 071000; 2. 河北省食品检验研究院
河北省食品安全重点实验室, 石家庄 050071)

摘要: 光纤倏逝波生物传感主要是利用倏逝波场来激发光纤表面标记在生物分子(抗体或核酸片段)上的荧光染料, 从而检测通过特异性反应附着于纤芯表面倏逝波场范围内的生物分子的一项新兴免疫检测技术, 具有灵敏度高、特异性强、使用便捷、检测速度快等特点, 已被应用于食品安全快速检测过程中。本文对光纤倏逝波生物传感技术在食品安全检测领域的应用进行了综述, 介绍了光纤倏逝波生物传感器的原理, 通过分析光纤倏逝波生物传感器目前在食品检测项目的具体应用, 主要包括: 在食品微生物及其毒素检测中的应用, 在食品理化检测中的应用, 对其特点进行了讨论。我国在该领域的工作尚处于研发阶段, 还有大量的工作需要开展, 一旦获得成效势必给我国食品安全问题提供有力的保障, 为我国食品工业发展提供重要支撑。

关键词: 光纤倏逝波; 生物传感器; 食品安全

Progress on fiber-optic evanescent wave biosensor technique in food safety detection

ZHOU Wei^{1,2}, ZHANG Wei², WANG Zan², LIU Tao², ZHANG Yan^{2*}

(1. College of Food Science and Technology, Agricultural University of Hebei, Baoding 071000, China; 2. Hebei Food Inspection and Research Institute, Hebei Food Safety Key Laboratory, Shijiazhuang 050071, China)

ABSTRACT: Fiber-optic evanescent wave biosensor is a new immunoassay technology, with the use of exploiting the evanescent wave field to excite the fluorescent dye marked on the biological molecule (antibody or nucleic acid fragments) on the surface of fiber surface. It can detect the biological molecules adhering to the surface of fiber core within the scope of evanescent wave by specific immune reaction. With the outstanding characteristics such as high sensitivity, specificity, simplicity and high determination speed, the technology is widely used in food safety rapid detection. This study reviewed the application of fiber-optic evanescent wave biosensor in the field of food safety detection, by analyzing the specific application of food detection project in current, which mainly included: the detection application in food microorganism and toxin, the detection application in food physical and chemical, and the characteristics were discussed. Our work in this area was still in the developing stage, there were a lot of work to do, and once success would provide strong safeguard effects to China's food safety problem and important support

基金项目: 国家自然科学基金项目(31401584)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (31401584)

*通讯作者: 张岩, 博士, 正高级工程师, 主要研究方向为食品安全。E-mail: snowwinglv@126.com

*Corresponding author: ZHANG Yan, Senior Engineer, Hebei Food Inspection and Research Institute, No.537, Zhonghua South Road, Shijiazhuang 050071, China. E-mail: snowwinglv@126.com

for China's food industry development.

KEY WORDS: fiber-optic evanescent wave; biosensor; food safety

1 引言

光纤倏逝波生物传感器是现代科学技术发展的产物,将光纤技术和激光技术有机地结合在一起,应用范围较广,涵盖了医疗、军事、工业等领域^[1]。光纤倏逝波生物传感主要是利用倏逝波场来激发光纤表面标记在生物分子(抗体或核酸片段)上的荧光染料,从而检测通过特异性反应附着于纤芯表面倏逝波场范围内的生物分子^[2]。由于倏逝波的特性使得该检测技术不需要考虑干扰因子,故检测过程、检验环节相对减少,同时降低检测过程对试验结果的影响,最终提高检测效率和检验灵敏度^[3,4]。随着食品安全问题愈发受到重视,各种先进的科学技术都被引用、开发到食品检测领域,但光纤倏逝波生物传感技术在食品检测领域中的应用则相对较少。通过探究其原理,理论上可以得出光纤倏逝波生物传感器在食品安全检测方面具有很好的发展空间,并且在实际工作中也有部分研究学者进行了有益的尝试,下面将对光纤倏逝波生物传感技术在食品检测领域的应用进行介绍。

2 光纤倏逝波生物传感器原理

光纤倏逝波生物传感器技术的原理相对较简单,如图1所示,主要是通过倏逝波场来激发光纤纤芯表面上标记的生物分子荧光染料,当发生特异性的生化反应时,通过光纤传导回信号放大器后进行数据处理分析,从而实现倏逝波场范围内目标物质属性及含量的检测工作。光纤倏逝波生物传感器技术需要先制备特异性的光纤倏逝波生物传感器,即通过处理二氧化硅等光纤材料的一端,通过特殊的处理将能够与目标物质发生反应的特异性物质与其连接;当光纤倏逝波生物传感器检测目标物时,光纤表面固定的特异性物质与标记荧光染料的目标物发生特异性反应,荧光染料就结合到了光纤表面,倏逝波场激发产生荧光,部分荧光进入光纤进行传导,通过信号转换器将光信号转换为物理信号,之后经过放大处理及数据处理分析得到结果。检测物质中的非目标物不能与特异性物质发生相应特异性反应,就不会有非目标物的荧光连接到光纤表面,因此即使非待测物标记了荧光染料,也不会产生任何信号对最终的检测结果造成影响^[5-9]。另外,倏逝波是光在光纤中以全反射传播时产生的部分穿透界面的波,只存在于光纤界面附近薄层内,在探测溶液中自动形成一种光学隔离,只对来自探测界面附近极薄的一层荧光分子进行荧光激发和收集,而样品中游离的荧光分子则几乎不会被激发和收集,避免了样品前处理的繁琐过程,大大缩短了检测时间,

提高了检测效率^[10-12]。

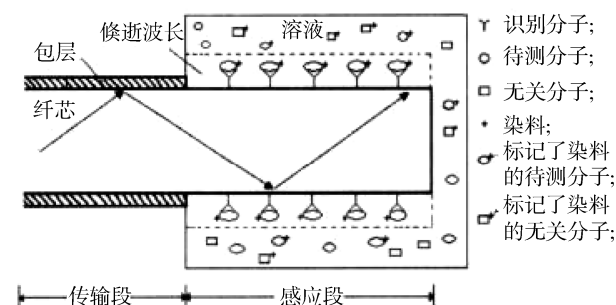


图1 光纤倏逝波传感器检测原理

Fig. 1 The detection principle of fiber-optic evanescent wave biosensor

3 光纤倏逝波生物传感器在食品检测中的应用

3.1 光纤倏逝波生物传感器在食品微生物及其毒素检测中的应用

(1) 2009年, Valadez等^[13]利用光纤倏逝波传感器对食品中常见的食源性致病菌肠炎沙门氏菌进行了检测,以受污染较多的禽类产品为目标样品,将经过生物素亲和处理后的沙门氏菌多克隆抗体固定到光纤传感器上,单克隆抗体 MAb2F-11 用于结果检测。试验结果表明,此方法纯培养的检出限为 10^3 CFU/mL,通过人工污染 10^2 CFU/mL 到鸡蛋和鸡胸中,经 2~6 h 的培养,检出限亦能达到 10^4 CFU/mL,并且此方法的特异性检测结果良好。

(2) Tempelman等^[14]于1996年对金黄色葡萄球菌毒素 B(SEB)进行了光纤倏逝波生物传感器检测的研究,开发了产品 Analyte 2000,能够很好地完成金黄色葡萄球菌肠毒素 B(SEB)的快速、高效的检测工作。通过将 SEB 特异性抗体与光纤倏逝波传感器的耦合,构建了检测器,对 SEB 抗原标准品进行逐级稀释并检测,证实了方法检出限为 0.5 ng/mL。同时,人工污染人的血液、尿液及火腿样品,也能够完成定量检测,表明了该方法应用的可行性,通过将 5 μ g 和 40 μ g 的 SEB 抗原分别加到 100 g 的火腿样本中,测定的回收率分别为 11% 和 69%,说明了该方法在实际样品的检测过程中还存在一定的缺陷。整体实验效率较高,只需 15~20 min 便可完成 SEB 的定性检测,而 4 个样品的定量分析在 45 min 内即可同时完成。

(3) 2001年, Sapsford等^[15]对几类样品中的金黄色葡萄球菌毒素 SEB 和肉毒杆菌毒素 A 进行了阵列光纤生物传感器的同步检测,结果表明该方法能够同时完成金黄色

葡萄球菌毒素 SEB 和肉毒杆菌毒素 A 的检测, 且检测效率没有降低。该方法仅对 SEB 抗原标准品进行逐级稀释并检测, 证实了方法检出限为 0.1 ng/mL。人工污染金黄色葡萄球菌毒素 SEB 到食品样品中, 主要包括: 番茄、番茄汁、青豆、青豆汁、甜玉米、甜玉米汁、蘑菇和金枪鱼等食品样品, 试验表明该方法在上述食品样品中的检出限分别为: 0.1、0.1、0.5、0.1、0.5、0.5、0.5、0.5 ng/mL。该方法在不同食品样品中均能实现金黄色葡萄球菌毒素 SEB 的检测, 为倏逝波光纤传感器在食品领域的检测应用奠定了基础, 同时为高通量的检测技术开发提供了思路。

(4) 单核细胞增生李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*) 简称单增李斯特菌, 是一种人畜共患病的病原菌。它能引起人畜的李氏菌病, 感染后主要表现为败血症、脑膜炎和单核细胞增多。2003 年, Geng 等^[16]通过光纤倏逝波生物传感器技术, 完成了食品中单核细胞增生李斯特氏菌的检测, 具有较好的方法检出限和特异性。该方法主要以光纤倏逝波生物传感器 Analyte 2000 为检测器, 对于单核细胞增生李斯特菌在不同培养条件下进行了试验, 结果表明在培养温度 37 °C 的条件下, 该方法的最低检出限为 4.3×10^3 CFU/mL, 而在培养温度 10 °C 条件下且培养基中氯化钠的含量为 3.5%, 单核细胞增生李斯特氏菌的最低检出限为 2.8×10^7 CFU/mL, 可以说明培养条件对该方法的检测起着至关重要的作用。为了更好地验证该方法的实际应用价值, 人工污染乳酸菌和单核增生李斯特菌到样品中进行检测, 结果表明最低检出限为 4.1×10^4 CFU/mL。

(5) 2014 年, 刘金华等^[17]利用光纤倏逝波生物传感器技术建立了食品中大肠杆菌 O157:H7 的快速检测方法。该方法用大肠杆菌 O157:H7 的特异性抗体包被聚苯乙烯光纤制备检测探针, 用纳米量子点 CdFe 标记的抗大肠杆菌 O157:H7 多克隆抗体进行偶联, 最终完成检测抗体的制备, 并确定该方法检测与大肠杆菌 O157:H7 亲缘关系较近的其他 12 种食源性致病菌的特异性良好, 该方法检测灵敏度可以达到 50 CFU/mL, 同时通过对人工污染鸡肉样品的检测确证了方法对实际样品检测的可行性。可以证明利用光纤倏逝波生物传感器检测食品中污染的大肠杆菌 O157:H7 方法快速、准确, 具有较强应用价值。

(6) 2014 年, 刘金华等^[18]利用光纤倏逝波生物传感器技术建立了食品中单核细胞增生李斯特氏菌的快速检测方法。该方法用单核细胞增生李斯特氏菌的特异性抗体包被聚苯乙烯光纤制备检测探针, 用纳米量子点 CdFe 标记的抗单核细胞增生李斯特氏菌多克隆抗体进行偶联, 最终完成检测抗体的制备, 并确定该方法检测与单核细胞增生李斯特氏菌亲缘关系较近的其他 9 种食源性致病菌的特异性良好, 该方法检测灵敏度可以达到 30 CFU/mL, 同时通过对人工污染鸡肉样品的检测确证了方法对实际样品检测的可行性。可以证明利用光纤倏逝波生物传感器检测食品中

污染的单核细胞增生李斯特氏菌方法高效、便捷, 具有很好的实际应用价值。

3.2 光纤倏逝波生物传感器在食品理化检测中的应用

(1) 2002 年, Kumar 等^[19]利用光纤倏逝波传感器对水中的痕量亚硝酸盐进行了检测, 通过适当的化学试剂对水中的亚硝酸盐进行富集, 利用塑料包裹的二氧化硅光纤作为检测的传感器。该方法能够完成 1 μg/L 亚硝酸盐的检测, 检测范围在 1~1000 μg/L, 此方法灵敏度高, 能够用于饮用水中痕量亚硝酸盐的检测。

(2) 2003 年, Lee 等^[20]通过两种不同的光纤倏逝波传感器对水中的痕量 Fe^{3+} 进行检测, 并通过 LabVIEW 进行分析。一种是利用多态的二氧化硅光纤作为传感器, 另一种是利用多态的微弯塑料光纤作为传感器, 后者在缩短传感长度、双模式检测等方面都具有很强的优势, 两种不同的光纤倏逝波传感器均能够完成 1 μg/L Fe^{3+} 的检测, 检测范围在 1 μg/L~50 μg/mL, 此方法灵敏度高, 能够用于饮用水中痕量 Fe^{3+} 的检测。

(3) 2010 年, Xiong 等^[21]开发建立了一种基于 griess- illosvay 反应的亚硝酸盐光纤倏逝波传感器检测方法, 该方法设计新颖, 采用微量检测技术即可完成检测工作。在传感器的设计方面, 是将光纤与毛细管结合, 最终形成一个环形的微柱体检测原件, 特异性强的亚硝酸盐试剂通过偶氮染料结合到光纤芯的表面, 构成亚硝酸盐检测器, 将该检测器放入样品中后通过亚硝酸盐和特异性试剂反应产生倏逝波, 最终完成检测工作。该方法在 0.05~10 mg/L 的范围内, 其检测信号的吸光度值与浓度具有很好的线性关系, 最低检出限为 0.02 mg/L, 标准偏差为 2.6% ($n=8$)。该方法能够检测出矿泉水、自来水、雨水、海水中的亚硝酸盐含量, 且与标准检测方法结果一致, 说明该方法在实际样品的检验中具有很好的应用价值和前景。

4 展 望

光纤倏逝波生物传感器技术尚属新兴技术, 在医疗、军事、工业等领域应用较广, 且具备一定的应用基础, 在食品安全检测领域实际应用并不多见, 但是以现有的技术基础和试验条件, 越来越多食品安全检测项目的光纤倏逝波生物传感器会被研制和开发出来。

光纤倏逝波生物传感器技术具有其他技术不可比拟的技术优势, 能够在很大程度上简化食品安全检测项目的检验流程, 缩短检测时间, 提高检验工作效率, 同时减少因检测环节多而造成的人为因素结果偏离。光纤倏逝波生物传感器技术的检出限相对较低, 能够满足食品中各种检验项目的微量检测需求, 减少对大型分析仪器的依赖; 且该技术的特异性较强, 能够应对食品检验项目中基质成分复杂繁多的问题, 提高检出率, 缩短食品检测样品提取纯

化的时间。光纤倏逝波生物传感器技术随着相关小型仪器的开发,能够满足食品样品现场检测的需求,对企业质量控制、监管现场执法都具有十分重要的意义,并且通过缩短检测时间,可以延长食品的货架期,节约成本。当然,光纤倏逝波生物传感器技术也有着自身的劣势,就是该技术无法完成高通量的检测,这在一定程度上制约其发展,但是上述该技术的优势可以很好的弥补其不足。

当前很多国家对光纤倏逝波生物传感器技术都十分的重视,均投入了大量的人力物力,也已经取得了一定的研究成果,我国在该领域的工作尚处于研发阶段,还有大量的工作需要开展,一旦获得成效势必给我国食品安全问题提供有力的保障,为我国食品工业发展提供重要支撑。

参考文献

- [1] Ligler F, Anderson GP, Davidson GP, *et al.* Remote sensing using an airborne biosensor [J]. *Environ Sci Technol*, 1998,32:2461–2466.
- [2] Hale ZM, Payne FP, Marks RS, *et al.* The single mode tapered optical fibre loop immunosensor [J]. *Biosens Bioelectron*, 1996,11:137–148.
- [3] Jung CC, Saaski EW, McCrae DA, *et al.* RAPTOR: a fluoroimmunoassay-based fiber optic sensor for detection of biological threats [J]. *IEEE Sens*, 2003, 3: 352–360.
- [4] Ulbrich R, Golbik R, Schellenberger A. Protein adsorption and leakage in a carrier-enzyme system [J]. *Biotechnol Bioeng*, 1991, 37: 280–287.
- [5] Carolina B, Fabio VBN, *et al.* Tapered plastic optic fiber-based biosensor tests and application [J]. *Biosens Bioelectron*, 2011, 30(1): 328–332.
- [6] 单聪, 陈西平. 光纤倏逝波生物传感器在微生物检测中的应用[J]. *卫生研究*, 2010, 39(2): 254–257.
Shan C, Chen XP. Fiber optic evanescent wave biosensor in microbial detection [J]. *J Hyg Res*, 2010, 39(2): 254–257.
- [7] 徐锁生, 魏华. 光纤倏逝波生物传感器及其研究进展[J]. *生物技术通讯*, 2008, 19(1): 148–151.
Xu SS, Wei H. Evanescent wave fiber optic biosensor and its progress [J]. *Lett Biotechnol*, 2008, 19(1): 148–151.
- [8] Rabbany SY, Donner BL, Ligler FS. Optical immunosensors [J]. *Crit Rev Biomed Eng*, 1994, 22 (5-6): 307–346.
- [9] Duveneck GM, Widmet HM. Fiber optic evanescent wave biosensor [J]. *Proc SPIE*, 1991, 1510: 138–147.
- [10] Anderson GP, Rowe-taitt CA, Ligler FS. Raptor: a portable, automated biosensor [R] // *Proceedings of the first joint conference on point detection for chemical and biological defense*. Williamsburg, 2000: 138–144.
- [11] Vo-dinh T, Cullum B. Biosensors and biochips: advances in biological and medical diagnostics [J]. *Fresenius J Anal Chem*, 2000, 366 (6-7): 540–551.
- [12] Hulanicki A, Glab S, Ingman F. Chemical sensors: definitions and classification [J]. *Pure Appl Chem*, 1991, 63(9): 1247–1250.
- [13] Valadez AM, Lana CA, Tu SI, *et al.* Evanescent wave fiber optic biosensor for salmonella detection in food [J]. *Sensors*, 2009, 9: 5810–5824.
- [14] Tempelman LA, King KD, Anderson GP, *et al.* Quantitating staphylococcal enterotoxin B in diverse media using a portable fiber optic biosensor [J]. *Anal Biochem*, 1996, 233(1): 50–57.
- [15] Sapsford KE, Taitt CR, Loo N, *et al.* Biosensor detection of Botulinum toxoid A and Staphylococcal enterotoxin B in food [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2005, 71(9): 5590–5592.
- [16] Geng T, Morgan MT, Bhunia AK. Detection of low levels of *Listeria monocytogenes* cells by using a fiber-optic immunosensor [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70(10): 6138–6146.
- [17] 刘金华, 刘韬, 孟日增. 利用光纤倏逝波生物传感器检测食品中大肠杆菌 O157:H7 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2014, 5(4): 1142–1146.
Liu JH, Liu T, Meng RZ. Detecting *Escherichia coli* O157:H7 with the fiber-optic evanescent wave biosensor in foods [J]. *J Food Saf Qual*, 2014, 5(4): 1142–1146.
- [18] 刘金华, 刘韬, 孟日增. 一种基于光纤倏逝波生物传感器检测单核细胞增生李斯特氏菌方法的建立[J]. *中国实验诊断学*, 2014, 18(7): 1045–1047.
Liu JH, Liu T, Meng RZ. Establish a method for detecting *Listeria monocytogenes* with the fiber-optic evanescent wave biosensor [J]. *Chin J Lab Diagn*, 2014, 18(7): 1045–1047.
- [19] Kumar PS, Vallabhan CG, Nampoori VP, *et al.* A fibre optic evanescent wave sensor used for the detection of trace nitrites in water [J]. *J Optics A*, 2002, 4 (3): 2088–2096.
- [20] Lee ST, Kumar PS, Unnikrishnan KP, *et al.* Evanescent wave fibre optic sensors for trace analysis of Fe^{3+} in water [J]. *Measur Sci Technol*, 2003, 14(6): 2356–2369.
- [21] Xiong Y, Zhu DQ, Duan CF, *et al.* Small-volume fiber-optic evanescent-wave absorption sensor for nitrite determination [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2010, 396(2): 943–948.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



周 巍, 工程师, 在读博士生, 主要研究方向为农产品加工及贮藏工程。
E-mail: zhouwei0311@163.com



张 岩, 博士, 正高级工程师, 主要研究方向为食品安全。
E-mail: snowwinglv@126.com