

电化学免疫传感技术在食品安全中的研究进展

刘情情^{1,2,3}, 詹珂^{1,2}, 胡晓飞³, 王墨涵⁴, 余秋颖^{1,2,3}, 邢广旭³,
王凡^{1,2}, 王娜^{1,2,3*}

(1. 河南农业大学食品科学技术学院, 郑州 450000; 2. 郑州市营养与健康食品重点实验室, 郑州 450000;
3. 农业农村部动物免疫学重点实验室, 郑州 450000; 4. 河南农业大学国际教育学院, 郑州 450000)

摘要: 食品安全与人类健康息息相关, 快速准确的检测技术是保障食品安全的前提。电化学免疫传感器是将特异性免疫反应与高灵敏度的传感技术相结合的一类新型生物传感器, 与传统方法相比有更高的灵敏度, 在医疗、农业、食品卫生、环境监测等领域有广泛的应用价值。本文重点就电化学免疫传感器的原理分类、纳米材料技术及其在真菌毒素、食品添加剂、食物过敏原、致病菌、农药残留等食品安全检测领域中的实际应用进行综述, 展望其在未来发展的趋势。本文旨在通过电化学免疫传感器的总结分析, 为研究者提供更多的思路 and 方向。

关键词: 生物传感器; 免疫传感器; 食品安全; 食品检测; 纳米材料

Research progress of electrochemical immunosensing technology in food safety

LIU Qing-Qing^{1,2,3}, ZHAN Ke^{1,2}, HU Xiao-Fei³, WANG Mo-Han⁴, YU Qiu-Ying^{1,2,3},
XING Guang-Xu³, WANG Fan^{1,2}, WANG Na^{1,2,3*}

(1. College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450000, China; 2. Zhengzhou Key Laboratory of Nutrition and Healthy Food, Zhengzhou 450000, China; 3. Key Laboratory of Animal Immunology, Ministry of Agriculture and Rural Areas, Zhengzhou 450000, China; 4. International Education College, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450000, China)

ABSTRACT: Food safety is closely related to human health, rapid and accurate testing technology is a prerequisite for ensuring food safety. Electrochemical immunosensors are a new class of biosensors that combine specific immune reactions with highly sensitive sensing technology, and have higher sensitivity compared with traditional methods, it has a wide range of applications in medical, agricultural, food hygiene, environmental monitoring and other fields. This paper focused on the principle classification of electrochemical immunosensors, nanomaterial technology, and their practical applications in the field of food safety detection, such as mycotoxins, food additives, food allergens, pathogenic bacteria, and pesticide residues, and looked forward to their development in the future. The purpose of this paper is to provide researchers with more ideas and directions through the summary analysis of electrochemical immunosensors.

KEY WORDS: biosensor; immunosensor; food safety; food testing; nanophase materials

基金项目: “十三五”国家重点研发计划专项(2019YFC1605700)、河南省科技攻关项目(212102110324)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of China (2019YFC1605700), and the Science and Technology Project of Henan Province (212102110324)

*通信作者: 王娜, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品免疫与营养学。E-mail: na-wang@163.com

*Corresponding author: WANG Na, Ph.D, Associate Professor, Henan Agricultural University, Wenhua Road, Zhengzhou, Henan 450000, China. E-mail: na-wang@163.com

0 引言

食品检测是保障食品安全的重要环节,随着生活水平的提高,人们对食品的安全性提出了更高的要求。农药残留和致病菌常存在于肉制品和蔬菜中,真菌毒素和过敏原主要存在于谷物坚果类食品中,食品添加剂则在各类食品中都有涉及,它们影响着人类生活的方方面面,故对它们进行检测尤为重要。目前主要靠仪器方法进行食品安全检测,例如高效液相色谱法、液相色谱-质谱法、超高效液相色谱-荧光法等,但这些方法大多比较复杂、耗时,需要昂贵的仪器或熟练的操作人员,开发更灵敏、高特异、尤其是适用于现场检测的技术迫在眉睫^[1-2]。与传统检测技术相比,电化学免疫传感器具有许多优势,例如便携、小型化,具有良好的选择性(特异性)和灵敏度,适应现场检测。此外,在电化学免疫传感器构建过程中,由于纳米材料有大的比表面积、良好的导电性和生物相容性等优点,被选为电极修饰材料,进而增加电化学免疫传感器的灵敏度。近年来,电化学免疫传感器在生物过程控制、食品质量安全、军事和医疗^[3]等领域的实际应用发展迅速。其中,在食品安全领域例如食物过敏源、真菌毒素、添加剂等的检测应用,已成为替代传统检测技术的方法之一。

本文主要综述了纳米材料在电化学免疫传感器中的应用和近年来电化学免疫传感器在食品安全领域的研究进展,简单介绍并讨论了电化学免疫传感器应用的局限性及未来发展方向,以期为研究者们提供相应理论依据,为食品安全检测提供更有力的保障。

1 电化学免疫传感器

电化学免疫传感器的基本原理是免疫反应,利用固定化抗原(或抗体)膜与相应的抗体(或抗原)的特异性反应,使生物敏感膜的电位发生变化,将某物质浓度信号转变为相应电信号输出,其特异性很高,具有极高的选择性和灵敏度^[4]。根据是否对免疫分子标记可分为标记型电化

学免疫传感器和非标记型电化学免疫传感器两大类。对标记型电化学免疫传感器而言,决定灵敏度和检出限高低的因素是标记抗体或抗原的物质。而非标记型电化学免疫传感器的灵敏度主要由电极修饰材料的性能决定。如表 1 所示,两种传感器已被开发并应用于多个领域的安全检测。

2 纳米材料

纳米材料因其性能优异,被广泛应用于免疫传感器中提高其检测灵敏度。以下将重点介绍碳纳米材料、金属纳米材料及其在电化学免疫传感器制作中的广泛应用^[11-12]。

2.1 碳纳米材料

石墨烯和碳纳米管是最常见的碳纳米材料,在食品安全检测领域有广泛应用。石墨烯六边形的蜂窝层状结构使其具有稳定的形态、较大的比表面积和良好的电子迁移率。碳纳米管是以石墨烯为基本单位螺旋卷曲而成的网状三维结构,其活性基团如羧基、羟基等进一步提高了传感器的导电性能。刘希雅等^[13]采用一步水热还原法制备了四氧化三铁/三维还原氧化石墨烯复合修饰材料并构建了检测牛乳中结核杆菌的电化学免疫传感器,线性范围为 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^8$ CFU/mL,检出限为 1×10^2 CFU/mL。杨弦弦^[14]利用单壁碳纳米管/壳聚糖结合伏马毒素单克隆抗体,碱性磷酸酶标记的二抗作为探针,成功制备了用于检测玉米中伏马毒素 B₁ 的标记型电化学免疫检测器,其检出限远低于欧盟标准。冷鹏等^[15]利用硫酸和硝酸将多壁碳纳米管羧基化后,与纳米金及普鲁士蓝复合,将抗体共价结合到碳纳米管上对牛奶中的大肠杆菌进行检测,检出限为 9.2 CFU/mL。

石墨烯量子点(graphene quantum dots, GQD)和金属有机框架(metal-organic frameworks, MOFs)是两种较新的碳纳米材料。其中,石墨烯量子点具有石墨烯的晶体结构,毒性低、可再生,作为荧光探针用于电化学免疫传感器。张俊梅^[16]以柠檬酸为碳源,L-半胱氨酸为氮、硫源,热分解法合成了氮、硫双掺杂的 GQD (NSGQD),对海带和茶

表 1 两种电化学免疫传感器在各领域中的应用
Table 1 Application of 2 kinds of electrochemical immunosensors in various fields

| 类型 | 检测物质 | 检出限 | 应用领域 | 参考文献 |
|------|----------|-----------------|--------|------|
| 标记型 | 卵泡刺激素 | 0.05 mIU/mL | 临床诊断 | [5] |
| | 花生过敏原 6 | 0.017 ng/mL | 食品安全检测 | [6] |
| | 双氯芬酸钠 | 0.33 pg/mL | 环境监测 | [7] |
| 非标记型 | 花生芽坏死病毒 | (5.7±0.7) ng/mL | 植物生长监测 | [8] |
| | 心肌肌钙蛋白 I | 0.58 ng/mL | 临床诊断 | [9] |
| | 磺胺吡啶 | 3 pg/mL | 食品安全检测 | [10] |

叶中的 I⁻ 及水样中的 Hg²⁺ 进行测定, 在最优条件下, I⁻ 和 Hg²⁺ 的线性范围分别为 0.04~3.0 μmol/L 和 0.3~7.0 μmol/L, 检出限分别为 4.23 nmol/L 和 20.0 nmol/L。MOFs 是金属和有机配体通过配位键结合而成的多孔材料, 具有较大比表面积, 因其导电性不强, 常与金属材料结合增加电子传导速率, WANG 等^[17]以核壳结构的双金属纳米材料 Au@Pt 为载体, 与 Ce-MOF 合成复合材料, 定量检测猪肉中 1-氨基乙内酰胺, 检出限为 1.35×10⁻⁷ μg/L。YADAV 等^[18]通过构建基于导电膜结构功能化纳米粒子二硫化钼(MoS₂)作为固定平台的无标记型免疫传感器, 用于牛奶、水、橙汁中氨基青霉素的快速检测, 线性范围为 0.0325~64 μg/mL, 检出限为 0.028 μg/mL。

2.2 金属纳米材料

金属纳米材料具有优异的电子、光学、磁性和热性质及催化性质, 在催化技术、生物医学、材料科学和电化学传感器领域获得了广泛的应用。常用的有活性金属纳米颗粒、金属及金属氧化物纳米颗粒、过渡金属氧化物等。但单一的金属材料在实际应用中因成本太高、毒性太大等缺点受到限制。为了克服这些缺陷, 常将金属纳米材料与其他材料复合, 获得更优异的电化学性能, 满足不同实际应用中的不同需求。到目前为止, 已经有各种基于金属纳米复合材料构建的电化学免疫传感器被开发并用于食品安全检测。如 ZHU 等^[19]以氢氧化钴-纳米金颗粒修饰工作电极, 以氧化铈标记罗丹明 B 单克隆抗体, 构建了电化学免疫传感器, 用于辣椒粉和辣椒中罗丹明 B 的检测, 线性范围为 0.01~10000 ng/mL, 检出限为 0.84 pg/mL。莫晓燕^[20]采用恒电位法在丝网印刷碳电极(screen-printed carbon electrode, SPCE)上电沉积聚苯胺(polyaniline, PANI)来提升电极表面的电子传递速率, 且增大了电极比表面积, 提供更多活性位点连接 AuNPs, 构建的大肠杆菌 O157:H7 电化学免疫传感器在最优实验条件下, 线性范围为 4.0×10⁴~4.0×10⁹ CFU/mL, 检出限为 7.98×10³ CFU/mL, 奶粉中回收率在 81.00%~95.50%之间。

3 电化学免疫传感器在食品安全领域中的应用

3.1 食物过敏原检测

食物过敏会引发严重的急性超敏反应, 如皮疹、荨麻疹、腹泻, 甚至过敏性休克^[21], 是很多消费者深受困扰的问题之一, 严重威胁消费者生命健康; 目前为止还没有完全有效的治疗方法。GB/T 23779—2009《预包装食品中的致敏原成分》、GB 7718—2011《食品安全国家标准 预包装食品标签通则》中对过敏原的种类及标签标识也做出了明确规定。然而, 由于产品标签错误、生产线污染等原因, 消费者可能会误食过敏原, 因此需要实现过敏原的微量精准检测。

ROUF 等^[22]用玉米醇溶蛋白作为锚定分子, 与复合碳纳米管结合, 增强传感器对麦醇溶蛋白的检测灵敏度, 检出限低至 0.5 ppm, 与已有 ELISA 方法^[23]相比具有更低的检出限。ASHLEY 等^[24]开发了一种基于金传感芯片的直接检测传感器, 用来检测牛奶过敏原 α-酪蛋白, 检出限为 58 ng/mL, 远远超过了 α-S1-酪蛋白法检出限 2 μg/mL。MONTIEL 等^[25]首次建立了检测牛奶中 α-乳清蛋白的磁珠免疫传感器, 无需样品制备, 缩短了检测时间和基质效应, 检出限为 11.0 pg/mL, 后来也成功用于婴儿奶粉中 α-乳清蛋白的检测。同时, 该研究者^[26]将捕获抗体(antiβ-LG)共价固定到活化的羧基修饰磁珠(carboxylic-modified magnetic beads, HOOC-MB)上, 并将修饰的 MB 与辣根过氧化物酶标记的抗体(horseradish peroxidase labeled antibody, HRP-antiβ-LG)孵育, 所得改性 MB 被放置在一次性 SPCE 表面下方的磁铁上, 用来测定牛奶中 β-乳球蛋白(β-lactoglobulin, β-LG), 检测范围为 2.8~100 ng/mL, 检出限为 0.8 ng/mL, 无基质效应, 为实现现场检测打下了良好的基础。RITA 等^[27]利用金纳米颗粒的良好导电性及生物相容性, 建立了一种丝网印刷碳电极的夹心型免疫电化学免疫传感器, 并成功应用于复杂食品基质(饼干和巧克力)中, 能够检测含有 0.1%花生样品中的 Ara h 1, 检出限为 3.8 ng/mL, 12.6~2000 ng/mL 范围内均可定量检测。

近年来, 开发基于丝网印刷电极和基于磁珠吸附的新型过敏原电化学免疫传感器已成为一个趋势, 但是由于食品加工处理可致某些蛋白质降解或变性, 对目标蛋白定量检测仍面临挑战, 这就需要适时调整检测方法和策略^[28-29]。

3.2 食品违规违禁添加剂检测

食品添加剂在适量范围内使用, 可防腐, 改良食品色、香、味、形等品质, 但违禁或过量使用会对人体造成伤害^[30]。目前检测方法主要是高效液相色谱法或毛细管电泳法等^[31-32], 结果精准但耗时耗力, 免疫传感器因其优越的性能正在成为新的检测手段。

HU 等^[12]首次开发了一种基于 AuNPs/Zn/Ni-ZIF-8-800@Graphene 复合材料的新型信号放大免疫传感器, 用于检测牛奶中的莫能菌素, 该方法有高灵敏度和优异的选择性, 但目前还未达到实际样品检测的阶段。LYDIA 等^[33]开发了一种基于富勒烯纳米结构的碳糊电极传感器, 用于检测香兰素, 富勒烯和多壁碳纳米管有助于碳糊的纳米结构化, 从而在线性范围内放大香草醛的信号, 检出限为 34 nmol/L, 可以无干扰地测定商用香草糖中的香草素添加剂。欧丽娟等^[34]开发了一种新型的非标记传感器用于牛奶中三聚氰胺的检测, 检出限可达 0.5 μmol/L 且回收率良好。李文杰^[35]基于自组装单分子层的表面等离子体共振技术(surface plasmon resonance, SPR)建立了一种检测沙丁胺醇的电化学免疫传感器, 把双巯基丁二酸(dimercaptosuccinic acid, DMSA)代替

单巯基单羧酸来降低空间位阻,控制抗体的构型,大大提高了芯片识别效率,其线性范围达到 5~150 ng/mL,定量限达到 5 ng/mL,在猪肉中的回收率达到 94.9%~108.0%。

3.3 食品中农药残留检测

农药可消灭害虫增加粮食产量,但大多数农药长期使用会在粮食中蓄积进而对人类生命健康造成威胁^[36]。对食物中农药残留进行常规和现场检测已成为迫切需求,免疫传感器便携、体积小,适应现场检测,正被开发为适合检测不同食品中农药残留的工具。有机磷农药由于具有在环境中的半衰期较短、对哺乳动物毒性相对较低、应用范围广泛、价格低廉等优点,占据了绝大多数市场,故本文主要针对有机磷农药残留进行举例论述。

BEATRIZ 等^[37]首次研究出一种在金纳米颗粒修饰的丝网印刷碳电极上直接检测水和西瓜中吡虫啉的竞争免疫传感器,检出限为 22 pmol/L,低于国家允许的最高限量,响应范围较宽(50~10000 pmol/L)。SUN 等^[38]利用 AuNR@Ag 作为传感器基底,结合拉曼光谱,首次开发了检测吡虫啉的光学竞争性免疫传感器,并成功用于实际样品的检测。MEHTA 等^[39]用石墨烯量子点修饰的丝网印刷免疫传感器测定对硫磷,在 10^{-2} ~ 10^6 ng/L 范围内表现出良好的线性响应,检出限为 46 pg/L,在其代谢物对氧磷存在的情况下,也能特异性检测对硫磷。

越来越多的新型免疫传感器正用于食品中有机磷的检测。但因为其属于半抗原,免疫原性低,需要与载体蛋白如卵清蛋白(ovalbumin, OVA)、牛血清白蛋白(bovine albumin, BSA)等结合,制备抗体,所以抗体生物活性易受影响,致使电化学免疫传感器在有机磷农药检测方面难有重大突破。

3.4 食品中致病菌检测

食源性致病菌感染,轻则导致腹泻、呕吐,重则危及生命,开发适用于各种食品中致病菌的快速检测方法尤为重要。目前检测手段仍然是以色谱和光谱技术为主,这些方法限制性条件多、成本高、操作烦琐^[40-41]。因此亟须探索有效、快速的检测技术,免疫传感器因其性价比高、灵敏度好等优点被越来越多地用于致病菌检测。

BEATRIZ 等^[37]利用聚二烯丙基二甲基化铵和聚苯乙烯磺酸盐作为接头,把金纳米棒组装在电极表面对抗体进行固定用于牛奶样品中金黄色葡萄球菌的检测,检测范围为 1.8×10^3 ~ 1.8×10^7 CFU/mL,是测定复杂食品样品中金黄色葡萄球菌的新手段。柴晓玲等^[42]用聚酰胺-胺型树状大分子材料结合还原石墨烯、纳米复合物作为电活性修饰膜,制备纳米免疫传感器,建立一种快速检测婴幼儿配方奶粉中阪崎肠杆菌的方法,检出限达 5.8×10^1 CFU/mL。ZHU 等^[43]设计了一种用于大肠杆菌 O157:H7 的新型非酶夹心电化学免疫传感器,双金属的

设计使传感界面面积大大增加,进而提高了检测的灵敏度,并成功应用于猪肉和牛奶样品。SLIVA 等^[44]把聚合物包合膜中原位形成金纳米颗粒作为电极修饰物用于鼠伤寒沙门氏菌的检测,检出限为 6 cell/mL。WANG 等^[45]建立了以交叉金电极为传感元件的均相吸附磁珠电化学免疫传感器,用于大肠杆菌 O157:H7 的检测,与传统检测手段相比,避免了电极修饰和样品集体吸附造成的重现性和稳定性差的问题,大大提高了检测灵敏度,检出限为 10^2 CFU/mL。

致病菌属于大分子蛋白,表面有很多抗原决定簇,可能会出现假阳性或假阴性结果。为确保检测准确度,研究者们开发了很多夹心型电化学免疫传感器,利用两个抗体共同捕获同一个抗原,大大提高了检测的特异性,且已广泛应用于多种致病菌检测^[46]。自组装传感器和基于磁珠吸附的传感器在特异性良好的基础上又不用复杂的样品前处理,是目前研究的热点。

3.5 食品中真菌毒素检测

真菌毒素是真菌产生的次生代谢产物,主要包括黄曲霉毒素、镰刀霉毒素等,受全球气候变暖、干旱等影响,食用和饲用农产品被真菌毒素污染日趋严重,世界各地对于真菌毒素的报道日渐增多,受污染的也不仅限于玉米、小麦、花生等谷物,亦有干果、水果、中药材、牛奶等,对人类的健康造成了极大的威胁^[47]。对此,国家制定了严格的检出限标准,电化学免疫传感器的简便性使其正逐步成为真菌毒素检测的研究热点。

MYNDRUL 等^[48]通过金属辅助化学蚀刻程序制备多孔硅胶层与抗体结合,建立了一种用于检测果汁中低浓度赭曲霉毒素 A (ochratoxin A, OTA)的光致发光免疫传感器,线性检测范围在 0.001~100 ng/mL。ROCCO 等^[49]建立了检测 OTA 的无标记型阻抗免疫传感器,利用碳二亚胺介导的酰胺偶联反应,将特异性 OTA 抗体固定在 4-巯基苯甲酸修饰的丝网印刷金电极上,检出限为 0.19 ng/mL。VALERII 等^[50]建立了一种聚丙烯腈/氧化锌(polyacrylonitrile, PAN/ZnO)纳米纤维的光致发光免疫传感器,通过集成电纺丝和原子层沉积(atomic layer deposition, ALD)技术制造的集成 PAN/ZnO 纳米纤维的微流控设备检测黄曲霉毒素 B₁ (aflatoxin B₁, AFB₁),检出限约 39 pg/mL,线性范围为 0.1~20 ng/mL。WANG 等^[51]首次利用多功能化还原氧化石墨烯掺杂聚吡咯/吡咯丙酸纳米复合材料,建立了一种新型的阻抗免疫传感器检测 AFB₁,检测范围为 10^{-1} fg/mL~ 10^{-1} pg/mL,检出限为 10 fg/mL。孙超楠^[52]开发了一种基于 ZnCdS@ZnS 量子点的无标记物电致发光免疫传感器,用于莲子中 AFB₁ 的检测,线性范围为 0.05~100 ng/mL,检出限为 0.01 ng/mL,该传感器具有良好的回收率、重复性、稳定性及特异性。

4 总结与展望

目前, 对于电化学免疫传感器的研究、应用与发展, 受限于以下 4 个因素。第一, 生物识别分子与材料结合的稳定性。主要从纳米材料和碳基材料出发, 研制导电性更高、生物相容性更好的新型纳米材料, 满足免疫传感器在食品安全领域的实际应用需求; 第二, 信号的有效放大。优化信号探针是提高传感器信号的有效途径, 确保痕量精准检测; 第三, 成本的降低。金属材料导电性能和生物相容性优异但价格昂贵, 构建更加经济、灵敏的信号放大策略, 实现低成本高效检测尤为重要; 第四, 集成化和微型化, 免疫传感器向固态电子器件发展的同时, 与手机、电脑芯片智能化联结, 达到实验成果从实验室到现场的跨越, 为食品安全保驾护航。

参考文献

- [1] 韩冰雪, 张雨桐, 王明微, 等. 食品检验在保障食品安全中的重要性及局限性分析[J]. 农家参谋, 2020, (11): 201.
HAN BX, ZHANG YT, WANG MW, *et al.* Analysis on the importance and limitations of food inspection in ensuring food safety [J]. Farm Staff, 2020, (11): 201.
- [2] SHI L. A simple electrochemical immunosensor for highly sensitive detection of aflatoxin B₁ based on gold nanoparticle decorated carboxylated graphene oxide [J]. Int J Electrochem Sci, 2020, (15): 1655–1668.
- [3] 肖飞. 新型电化学免疫传感器的制备及其在食品安全检测中的应用研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2012.
XIAO F. Preparation of a new type of electrochemical immunosensor and its application in food safety detection [D]. Shanghai: East China Normal University, 2012.
- [4] 王延新, 谢书宇, 陈冬梅, 等. 电化学免疫传感器在食品安全检测中的研究进展[J]. 畜牧兽医学报, 2018, 49(7): 1334–1342.
WANG YX, XIE SY, CHEN DM, *et al.* Progress in the application of electrochemical immunosensor in food safety detection [J]. Acta Vet Zootech Sin, 2018, 49(7): 1334–1342.
- [5] FAN Y, GUO YH, SHI SY, *et al.* An electrochemical immunosensor based on reduced graphene oxide/multiwalled carbon nanotubes/thionine/gold nanoparticle nanocomposites for the sensitive testing of follicle-stimulating hormone [J]. Anal Methods, 2021, 13(34): 3821–3828.
- [6] FREITAS M, NEVES MMPS, NOUWS HPA, *et al.* Electrochemical immunosensor for the simultaneous determination of two main peanut allergenic proteins (arah1 and arah6) in food matrices [J]. Foods, 2021, 10(8): 1718–1718.
- [7] 王超. 基于信号放大新策略的电化学发光免疫传感及其在食品和环境安全中的应用[D]. 江苏: 苏州大学, 2019.
WANG C. Amplified and transmitted luminescence immunosensing based on new strategy signal and its application in food and environmental safety [D]. Jiangsu: Soochow University, 2019.
- [8] CHAUDHARY M, VERMA S, KUMAR A, *et al.* Graphene oxide based electrochemical immunosensor for rapid detection of groundnut bud necrosis orthotospovirus in agricultural crops [J]. Talanta, 2021, 235: 122717.
- [9] WANG L, HAN YF, WANG HC, *et al.* A mxene-functionalized paper-based electrochemical immunosensor for label-free detection of cardiac troponin I [J]. J Semicond, 2021, 42(9): 8.
- [10] WANG AP, ZHANG CY, YOU XJ, *et al.* A novel electrochemical immunosensor for sulfadimidine detection based on staphylococcal protein A-AuNPs/Ag-GO-nfmodified electrode [J]. Chem Sel, 2021, 6(32): 8262–8269.
- [11] 张俊, 任群翔, 隋丽丽, 等. 纳米材料在电化学免疫传感器中的应用[J]. 化工管理, 2021, (7): 78–79.
ZAHNG J, REN QX, SUI LL, *et al.* The application of nanomaterials in electrochemical immunosensor [J]. Chem Ind Manage, 2021, (7): 78–79.
- [12] HU M, HU XF, ZHANG YP, *et al.* Label-free electrochemical immunosensor based on AuNPs/Zn/Ni-ZIF-8-800@graphene composites for sensitive detection of monensin in milk [J]. Sensor Actuat B-Chem, 2019, 288: 571–578.
- [13] 刘希雅, 田春妹, 郑鹭飞, 等. 磁性三维还原石墨烯的制备及其在电化学免疫检测牛乳中结核杆菌 H37Ra 的应用[J]. 食品科学, 2020, 41(22): 308–314.
LIU XY, TIAN CM, ZHENG LF, *et al.* Preparation of magnetic three-dimensional reduced graphene and its application in electrochemical immunoassay of mycobacterium tuberculosis H37Ra in milk [J]. Food Sci, 2020, 41(22): 308–314.
- [14] 杨弦弦. 基于单壁碳纳米管/壳聚糖检测伏马毒素 B₁ 的高效电化学传感器的研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2016.
YANG XX. Highly efficient electrochemical sensor based on single-walled carbon nanotubes/chitosan for the detection of fumonisin B₁ [D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2016.
- [15] 冷鹏, 赵媛, 刘素. 基于普鲁士蓝-碳纳米管-纳米金复合材料的电化学免疫传感器的构建[J]. 化学分析计量, 2016, 25(3): 106–110.
LENG P, ZHAO Y, LIU S. Electrochemical immunosensor based on prussian blue-carbon nanotube-gold nanoparticles composite for *E. coli* detection [J]. Chem Anal Meter, 2016, 25(3): 106–110.
- [16] 张俊梅. 氮硫共掺杂石墨量子点参与的化学发光及其分析应用[D]. 山西: 山西师范大学, 2019.
ZHANG JM. Chemiluminescence of nitrogen-sulfur co-doped graphene quantum and its analytical applications [D]. Shanxi: Shanxi Normal University, 2019.
- [17] WANG BT, HE BS, GUO R, *et al.* A competitive-type electrochemical immunosensor based on Ce-MOF@Au and MB-Au@Pt core-shell for nitrofurans metabolites residues detection [J]. Bioelectrochemistry, 2021, 142: 107934.
- [18] YADAV AK, VERMA D, LAKSHMI GBVS, *et al.* Fabrication of label-free and ultrasensitive electrochemical immunosensor based on molybdenum disulfide nanoparticles modified disposable ITO: An analytical platform for antibiotic detection in food samples [J]. Food Chem, 2021, 363: 130245.
- [19] ZHU L, DONG XX, GAO CB, *et al.* Development of a highly sensitive and selective electrochemical immunosensor for controlling of rhodamine B abuse in food samples [J]. Food Control, 2022, 133: 108662.

- [20] 莫晓燕. 基于聚苯胺及其纳米复合材料对 *E. coli* O157:H7 可再生免疫传感器的研究[D]. 浙江: 浙江工商大学, 2019.
MO XY. Immunosensor based on polyaniline and its nanocomposites for *E. coli* O157:H7 [D]. Zhejiang: Zhejiang Gongshang University, 2019.
- [21] 傅玲琳, 王彦波. 食物过敏: 从致敏机理到控制策略[J]. 食品科学, 2021, 42(19): 1-19.
FU LL, WANG YB. Food allergy: From sensitization mechanism to control strategy [J]. Food Sci, 2021, 42(19): 1-19.
- [22] ROUF TB, DIZA-AMAYA S, STANCIU L, *et al.* Application of corn zein as an anchoring molecule in a carbon nanotube enhanced electrochemical sensor for the detection of gliadin [J]. Food Control, 2020, 117: 107350.
- [23] CAVALETTI L, TARAVELLA A, CARRANO L, *et al.* E40, a novel microbial protease efficiently detoxifying gluten proteins, for the dietary management of gluten intolerance [J]. Sci Rep, 2019, 9(4): 493-525.
- [24] ASHLEY J, PIEKARSKA M, SRGERS C, *et al.* An SPR based sensor for allergens detection [J]. Biosens Bioelectron, 2017, 88: 109-113.
- [25] MONTIEL VR, CAMPUZANO S, REBECA M, *et al.* Electrochemical magnetic beads-based immunosensing platform for the determination of α -lactalbumin in milk [J]. Food Chem, 2016, 213: 595-601.
- [26] MONTIEL VR, CAMPUZANO S, CONZUELO F, *et al.* Electrochemical magnetoimmunosensing platform for determination of the milk allergen β -lactoglobulin [J]. Talanta, 2015, 131: 156-162.
- [27] RITA CA, FILIPA BP, HENRI PAN, *et al.* Detection of Ara h 1 (a major peanut allergen) in food using an electrochemical gold nanoparticle-coated screen-printed immunosensor [J]. Biosens Bioelectron, 2015, 64: 19-24.
- [28] 黄忠民, 孟利军, 艾志录, 等. 加工对食物过敏蛋白致敏性影响的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(11): 208-212.
HUANG ZM, MENG LJ, AI ZL, *et al.* Research progress on the effects of processing on the allergenicity of food allergic proteins [J]. Food Res Dev, 2020, 41(11): 208-212.
- [29] STEGHOFER S, LIMBURN R, MARGAS E. Microbiological assessment of heat treatment of broiler mash at laboratory scale to evaluate *Salmonella* reduction during feed conditioning [J]. J Appl Poul Res, 2020, 30: 100122.
- [30] 安晓松. 食品添加剂的使用及其对食品安全的影响[J]. 食品安全导刊, 2021, (25): 180-181.
AN XS. Discussion on the use of food additives and their influence on food safety [J]. Chin Food Saf Magaz, 2021, (25): 180-181.
- [31] MINIOTI KS, SAKELLARIOU CF, THOMAIDIS NS. Determination of 13 synthetic food colorants in water-soluble foods by reversed-phase high performance liquid chromatography coupled with diode-array detector [J]. Anal Chim Acta, 2007, 583(1): 103-110.
- [32] DOSSI N, TONIOLO R, SUSMEL S, *et al.* Simultaneous RP-LC determination of additives in soft drinks [J]. Chromatographia, 2006, 63(11-12): 557-562.
- [33] LYDIA T, MUSTAPHA B, SALIHA BB, *et al.* Fullerene-MWCNT nanostructured-based electrochemical sensor for the detection of vanillin as food additive [J]. J Food Compos Anal, 2021, 100: 103811.
- [34] 欧丽娟, 孙爱明, 吕小龙, 等. 三聚氰胺-铜(II)配合物抑制 AT-双链铜纳米颗粒合成荧光检测三聚氰胺[J]. 光谱学与光谱分析, 2017, 37(12): 3947-3952.
OU LJ, SUN AIM, LV XL, *et al.* Fluorescent sensor for Melamine based on its copper interrupted of AT-dsDNA copper nanoparticles [J]. Spectrosc Spect Anal, 2017, 37(12): 3947-3952.
- [35] 李文杰. 基于自组装单分子层的 SPR 免疫传感器检测沙丁胺醇的应用[D]. 山东: 齐鲁工业大学, 2020.
LI WJ. Application of SPR immunosensor based on self-assembled monolayer for detection of salbutamol [D]. Shandong: Qilu University of Technology, 2020.
- [36] XU ZL, LI LX, XU Y, *et al.* Pesticide multi-residues in *Dendrobium officinale* Kimura et Migo: Method validation, residue levels and dietary exposure risk assessment [J]. Food Chem, 2021, 343: 128490.
- [37] BEATRIZ PF, JOSEP VM, ANTONIO AF, *et al.* Direct competitive immunosensor for imidacloprid pesticide detection on gold nanoparticle-modified electrodes [J]. Talanta, 2020, 209: 120465.
- [38] SUN Y, ZHANG N, HAN C, *et al.* Competitive immunosensor for sensitive and optical anti-interference detection of imidacloprid by surface-enhanced Raman scattering [J]. Food Chem, 2021, 358: 129898.
- [39] MEHTA J, BHARDWAJ N, BHARDWAJ SK, *et al.* Graphene quantum dot modified screen printed immunosensor for the determination of parathion [J]. Anal Biochem, 2017, 523: 1-9.
- [40] OZGUR G, SEREN C, BULENT K. Quantification of pesticide residues in gherkins by liquid and gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry [J]. J Food Compos Anal, 2021, 96: 103755.
- [41] MIKAC L, KOVACEVIC E, UKIC S, *et al.* Detection of multi-class pesticide residues with surface-enhanced Raman spectroscopy [J]. Spectrochim Acta A, 2021, 252: 119478-119478.
- [42] 柴晓玲, 郝雅茹, 王佳蕊, 等. 基于 PAMAM 树枝状大分子纳米免疫传感器快速检验婴幼儿奶粉中的阪崎肠杆菌[J]. 中国食品学报, 2020, 20(8): 264-269.
CHAI XL, HAO YR, WANG JR, *et al.* Rapid detection of enterobactersakazakii in infant formula powders by nano-immunosensor based on dendrimer-PAMAM [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2020, 20(8): 264-269.
- [43] ZHU FJ, ZHAO GY, DOU WC. A non-enzymatic electrochemical immunoassay for quantitative detection of *Escherichia coli* O157:H7 using Au@Pt and grapheme [J]. Anal Biochem, 2018, 559: 34-43.
- [44] SILVA NFD, MAGALHAES JMCS, BARROSO MF, *et al.* In situ formation of gold nanoparticles in polymer inclusion membrane: Application as platform in a label-free potentiometric immunosensor for salmonella typhimurium detection [J]. Talanta, 2019, 194: 134-142.
- [45] WANG SJ, SUN CY, HU QS, *et al.* A homogeneous magnetic bead-based impedance immunosensor for highly sensitive detection of *Escherichia coli* O157:H7 [J]. Biochem Eng J, 2020, 156: 107513.
- [46] 丁文龙. 无酶信号放大型纳米探针的构建及其在金黄色葡萄球菌检测中的应用[D]. 江苏: 江苏大学, 2020.
DING WL. Construction of enzyme-free signal amplification nanoprobe and its application in detection of *Staphylococcus aureus* [D]. Jiangsu: Jiangsu University, 2020.
- [47] 袁航. 粮食中主要真菌毒素危害及联合毒性研究进展[J]. 食品与机械, 2019, 35(11): 223-227.
YUAN H. Research progress on hazards and toxicity of major mycotoxin

- in grain [J]. Food Mach, 2019, 35(11): 223–227.
- [48] MYNDRUL V, VITER R, SAVCHUK M, *et al.* Porous silicon based photoluminescence immunosensor for rapid and highly-sensitive detection of ochratoxin A [J]. Biosens Bioelectron, 2018, 102: 661–667.
- [49] ROCCO C, DAVID A, BENEDETTA B, *et al.* Electrochemical and morphological layer-by-layer characterization of electrode interfaces during a label-free impedimetric immunosensor build-up: The case of ochratoxin A [J]. Appl Surf Sci, 2021, 567: 150791.
- [50] VALERII M, EMERSON C, MIKHAEL B, *et al.* Photoluminescence label-free immunosensor for the detection of aflatoxin B₁ using polyacrylonitrile/zinc oxide nanofibers [J]. Mat Sci Eng C-Mater, 2021, 118: 111401.
- [51] WANG D, HU WH, XIONG YH, *et al.* Multifunctionalized reduced graphene oxide-doped polypyrrole/pyrrolepropyic acid nanocomposite impedimetric immunosensor to ultra-sensitively detect small molecular aflatoxin B₁ [J]. Biosens Bioelectron, 2015, 63: 185–189.
- [52] 孙超楠. 基于量子点的荧光微球试纸条和电致化学发光传感器的莲子中黄曲霉毒素 B₁ 检测方法研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2020.

SUN CN. Research on the detection method for aflb1 in lotus seeds by using quantum dots based fluorescent microsphere test strip and electrochemiluminescence sensor [D]. Beijing: Peking Union Medical College, 2020.

(责任编辑: 张晓寒 韩晓红)

作者简介



刘情情, 硕士研究生, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: 3412815769@qq.com



王 娜, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品免疫与营养学。

E-mail: na-wang@163.com