

# 聚集诱导发光型荧光探针在食品中 致病菌检测中的应用研究进展

廉洁<sup>1</sup>, 孟一诺<sup>2</sup>, 祁文娜<sup>2</sup>, 谷晓思<sup>2</sup>, 孙晓萌<sup>2</sup>, 孟凡达<sup>2\*</sup>

[1. 中国人民公安大学侦查学院, 北京 100038; 2. 山东第一医科大学(山东省医学科学院) 临床与基础医学院, 济南 250000]

**摘要:** 食品安全事件中, 食源性致病菌污染是造成群体性中毒、食源性疾病、大规模食品货物召回等的重要原因。食源性致病菌可能在食品加工或流通的任何一个环节进入到食品中, 因而在食品生产、加工、包装、运输、销售整个环节中, 食源性致病菌的检测都至关重要。近年来, 聚集诱导发光(aggregation-induced emission, AIE)型荧光探针由于其高效的荧光效率和光稳定性、分子结构设计多样、检测模式灵活, 在食品安全领域致病菌快速检测中展现出了巨大的优势, 为食品中致病菌的检测、鉴别、鉴定等提供了一个优异的解决方案。本文从AIE探针的设计、检测效率、检测模式等方面综述了AIE型荧光探针在致病菌检测方面的研究进展, 讨论了其在食品安全快速检测中的优势和应用前景, 为食品安全快速检测场景下快速检测技术的开发及应用提供参考。

**关键词:** 食品安全; 聚集诱导发光; 荧光探针; 食源性致病菌

## Advance on the rapid detection technology of foodborne pathogens in food based on aggregation-induced emission fluorescent probes

LIAN Jie<sup>1</sup>, MENG Yi-Nuo<sup>2</sup>, QI Wen-Na<sup>2</sup>, GU Xiao-Si<sup>2</sup>, SUN Xiao-Meng<sup>2</sup>, MENG Fan-Da<sup>2\*</sup>

(1. College of Criminal Investigation, People's Public Security University of China, Beijing 100038, China; 2. School of Clinical and Basic Medical Sciences, Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250000, China)

**ABSTRACT:** The contamination of pathogenic bacteria is the main cause of food safety incidents, which including mass poisoning, food-borne diseases and large-scale food recalls. Foodborne pathogens may contaminate food in procedures of food processing and circulation, therefore the detection of foodborne pathogens in food is crucial in the whole procedures of food processing, packaging, transportation and sales. In recent years, aggregation-induced emission (AIE) fluorescent probes shows great advantages in extremely sensitive and rapid detection with fluorescence efficiency and photostability, diverse molecular structure designs, and flexible detection modes, which provides an excellent

**基金项目:** 山东省中医药科技项目(Q-2022141)、中央高校基本科研业务费项目(2022JKF02006)、山东省医药卫生科技发展计划项目(202011000657)、国家重点研发计划项目(2017YFC0803806)

**Fund:** Supported by the Traditional Chinese Medicine Science and Technology Project of Shandong Province (Q-2022141), the Fundamental Research Funds for the Central Universities (2022JKF02006), the Medical and Health Science and Technology Development Project of Shandong Province (202011000657), and the National Key Research and Development Program of China (2017YFC0803806)

\*通信作者: 孟凡达, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为分析化学快速检测方法开发。E-mail: mengfind@163.com

\*Corresponding author: MENG Fan-Da, Ph.D, Assistant Professor, School of Clinical and Basic Medical Sciences, Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences, No.6699, Qingdao Road, Huaiyin District, Jinan 250000, China. E-mail: mengfind@163.com

solution for the detection and identification of foodborne pathogens in food. This paper reviewed research progress of AIE fluorescent probes in the detection of pathogenic bacteria from the aspects of probe design, detection efficiency and mode, and discussed the advantages and prospects of its application in the rapid detection of food safety, which provides references for the development and application of rapid detection technology in food safety control.

**KEY WORDS:** food safety; aggregation-induced emission; fluorescent probes; foodborne pathogens

## 0 引言

食品安全是关系国计民生的大事<sup>[1]</sup>, 食品安全监测在食品安全管理工作中的作用日益凸显。目前, 食品安全问题已成为不可忽视的全球性重大挑战之一, 其中致病菌污染是造成群体性中毒、大规模货物召回等食品安全事件的重要原因, 其危害远远超过违法滥用添加剂、农药残留等食品化学性污染, 给经济和社会带来重大的损失<sup>[2-4]</sup>。常见的食源性致病菌包括大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、单核细胞增生李斯特菌等微生物, 食源性致病菌可能在食品加工或流通的任何一个环节进入到食品中, 而且具有强大的自我扩散能力, 有些甚至会通过代谢分泌有毒物质, 因而在食品生产、加工、包装、运输、销售整个环节中, 食源性致病菌的检测都至关重要。目前主流的食源性致病菌的检测方法主要有微生物培养法、免疫分析法、聚合酶链式反应、色谱质谱联用法、革兰氏染色法、化学分析法等<sup>[5-9]</sup>, 这些传统方法检测时间长、样品处理复杂、所需样品量大, 而且往往需要依赖于专业操作人员和大型仪器设备, 检测时限差。在新媒体时代, 食品安全问题引发越来越多的关注<sup>[10]</sup>, 相关部门对现场检测、溯源工作的需求很高, 特别是食品安全执法、市场监管、企业生产等场景需要快速、高通量的检测手段, 可在现场数分钟到数十分钟内得到检测结果。致病菌快速检测新方法和新技术<sup>[11-12]</sup>的研究主要集中在免疫层析技术<sup>[13-15]</sup>、基因技术<sup>[16-19]</sup>或拉曼光谱<sup>[20-24]</sup>、荧光探针<sup>[25-30]</sup>等光学检测技术方面。其中, 荧光探针技术是一种能够快速鉴定、鉴别食品中致病菌的工具, 且因其选择性高、检测速度快、操作简单、灵敏度高等优点, 得到国内外学者的广泛关注。传统有机荧光探针光稳定性较差, 存在光漂白问题, 且在高浓度条件下会发生聚集荧光猝灭现象(aggregation caused quenching, ACQ), 即随着荧光探针浓度的增加荧光强度反而会逐渐减弱甚至淬灭, 从而限制了荧光探针的使用。唐本忠院士课题组发现了聚集诱导荧光(aggregation-induced emission, AIE)分子<sup>[31]</sup>克服了这一限制, 与传统荧光探针不同, 这类 AIE 探针的单体形式不发射荧光, 当聚合时分子内旋转受限导致能量耗散被禁止而导致强荧光, 因而可用于监测弱或非发光体聚集的发光过程。AIE 探针量子效率和光稳定性高, 应用于检测领域具有极高的灵敏度<sup>[32]</sup>。利用 AIE 探针本身无荧光、聚集态强荧光, 未结合状态下背景极低, 且不需要反

复洗涤等过程, 可以构建免洗检测体系, 满足现场快速检测的需求。此外, AIE 分子结构设计多样<sup>[32-34]</sup>, 可结合适配体、抗体等生物分子, 而具有更高的特异性和生物相容性, 亦可结合多种发光基团, 提高检测通量和改变检测模式, 在医学检测、环境监测、法庭科学、药物研发、食品安全等不同领域有巨大的应用前景<sup>[35-39]</sup>。

AIE 探针为食品中致病菌的检测、鉴别、鉴定等提供了一个优异的解决方案, 在食品中致病菌的检测领域的研究也在不断地深入。本文综述了 AIE 在食品中致病菌检测中的应用研究进展, 从 AIE 探针的设计特点出发, 探讨不同 AIE 探针在致病菌分类和种类鉴别中的作用原理、技术特点及其应用, 为食源性致病菌检测的 AIE 探针设计提供思路, 为该技术在食品安全快速检测领域中的推广、应用提供参考和推动作用。

## 1 AIE 探针的设计

在 AIE 探针研究中, 探针本身的光学性质和选择性是研究的热点, 也是该类检测方法操作简单、灵敏度高和特异性强的根本原因。相较于其他探针, AIE 探针以具有螺旋结构的多芳烃、杂环、聚合物等有机分子为基础, 生物相容性好, 可在分子设计中加入不同基团而改变其电荷、亲疏水性、反应性、立体结构, 从而有目的地调控 AIE 探针应用于不同领域, 实现复杂基质中目标物的快速检测。ZHAO 等<sup>[40]</sup>对 AIE 探针检测致病菌进行探索, 在经典 AIE 探针分子四苯基乙烯(tetraphenyl ethylene, TPE)的基础上加入醚基和吡啶盐, 加强了供体-受体作用, 促进电子迁移, 吸收光谱红移动, 在吡啶端有两个带正电荷的氨基, 醚基端的长烷基链使分子兼具疏水性, 在水中即可形成胶束发出强荧光。该探针中两个氨基使其带正电荷, 通过静电相互作用与带负电荷的致病菌细胞包膜结合。由于 AIE 探针的特点, 在未结合状态无荧光, 只有与致病菌结合后才会聚集发光。在没有洗涤过程的情况下该 AIE 探针体系的背景发射非常低, 大大简化检测程序, 也避免了洗涤等步骤的损失, 可提高定量分析的准确性。该探针对于革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均可染色, 在荧光显微镜下 10 min 内完成致病菌成像检测。为了弄清电荷在 AIE 探针识别致病菌中的作用, 在 TPE 上分别修饰带不同正电荷、负电荷或零电荷的基团<sup>[41]</sup>, 即带有季铵、羧酸或醛基基团。这些 TPE 衍生物中, 季铵盐取代的探针在致病菌作用后显示出更强的信号, 说明 AIE 探针识别致病菌的最重要作用是静电相

互作用。除了 AIE 探针分子的设计外, AIE 探针与目标物质作用的过程中, 也会随着水解、硼酸裂解、去磷酸化、加成、环化和重排等变化<sup>[34,42]</sup>, 不仅会发生聚集状态的变化, 还会伴随着发射波长、荧光特性的改变, 这也使之成为检测领域一个备受关注的具有极高灵敏、强选择性的研究热点。在致病菌检测领域, AIE 探针除了作为具有特异性识别功能的多肽<sup>[43-44]</sup>、适配体<sup>[45]</sup>、病原体<sup>[46]</sup>结合的光学信标之外, 还可以同时作为致病菌识别和信号分子, 从不同基质中特异性地结合致病菌的特征物质或结构, 探针的性能直接决定检测效率和检测模式。在 AIE 探针设计工作中, 要综合考虑对目标物的识别、探针的高发光效率和物理稳定性, 实现对致病菌种类的特异性检测<sup>[47-48]</sup>和菌种鉴别<sup>[45,49-50]</sup>等。致病菌的性质差异是 AIE 探针识别的基础之一, 通过分析致病菌表面性质和结构组成, 调控探针所带电荷、亲脂性、水溶性等方面设计致病菌特异性识别分子<sup>[51-53]</sup>。在经典多芳基取代等 AIE 探针分子的基础上, 加入带不同电荷的离子<sup>[54]</sup>、高反应活性基团<sup>[55-58]</sup>、高水溶性基团<sup>[53,59]</sup>, 不仅影响 AIE 探针针对不同致病菌的识别, 还发现探针识别、结合靶标的速度与其结构相关, 高反应活性探针的探针与靶标之间的快速反应, 可以显著提高检测速度。

## 2 AIE 探针在致病菌分类中的应用

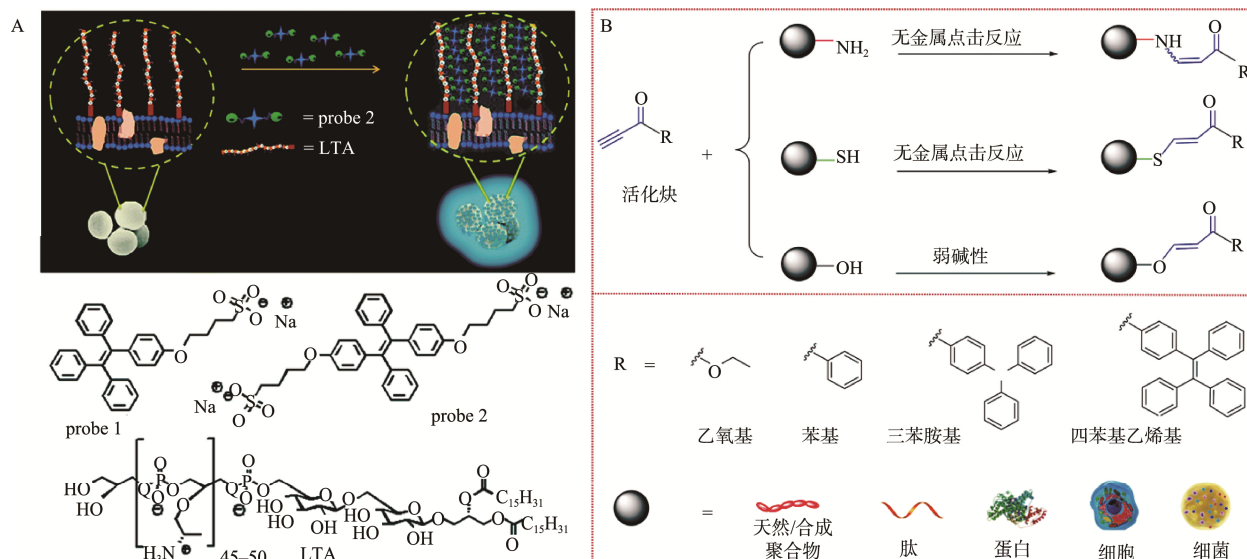
### 2.1 基于探针静电作用的致病菌分类

在致病菌中, 革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌具有性质迥异的膜结构, 可以作为 AIE 探针识别的目标。革兰氏阳性菌具有较厚的含有脂磷壁酸(lipoteichoic acid, LTA)的肽聚糖细胞壁结构, 在革兰氏染色实验中呈紫色/蓝色; 革兰氏阴性菌的细胞壁较薄, 外膜不含 LTA, 主要由薄的肽

聚糖层和插入脂多糖的磷脂外双层组成, 在革兰氏染色实验中呈红色至粉红色<sup>[52]</sup>。与没有 LTA 的革兰氏阴性菌相比, 革兰氏阳性菌中 LTA 插入数 10 nm 厚的肽聚糖层, 占整个细胞壁的 90%左右, 是区别两类菌的关键特征<sup>[53]</sup>。革兰氏阳性菌特有的 LTA 分子中有多羟基、酯基、磷酸酯基和氨基官能团, 在水环境中, 氨基部分带正电荷, 在经典 AIE 探针分子 TPE 上加入磺酸基, 利用磺酸基与 LTA 的氨基发生相互作用, 识别革兰氏阳性菌。单磺酸基和双磺酸基修饰的 AIE 探针均可以快速检测革兰氏阳性菌, 但因双磺酸基探针的水溶性和灵敏度更高, 可以实现致病菌的免洗检测, 更适合快速分析领域。采用带负电荷的强水溶性双磺酸基 AIE 探针 Probe 2(图 1A)<sup>[54]</sup>构建的革兰氏阳性菌的免洗检测体系中, AIE 探针与金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌等革兰氏阳性菌共同孵育后, 探针在革兰氏阳性菌表面聚集呈蓝色荧光, 实现了革兰氏阳性菌的高选择性检测和成像。该探针还成功地应用于食品检测, 在样品中孵育 16 h 检出人为污染金黄色葡萄球菌的苹果汁, 证明了该系统检测实际样品的能力。

### 2.2 基于氢键作用的死菌鉴别

AIE 探针在静电作用与致病菌结合的同时, 还会诱导菌聚集或代谢变化而导致致病菌状态改变, 由此带来一定的杀菌、抗菌效果。同时, 基于静电吸附原理的 AIE 探针检测对活菌和死菌的作用是相同的, 因此这类方法只能区分革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌。为了测定致病菌活力, 选择性地检测活菌或死菌, 必须开发其他类型的 AIE 探针。在 AIE 分析方法中, 通过在 TPE 上引入两个苯硼酸基团可得到 *D*-葡萄糖的 AIE 活性检测探针(TPE-2BA), TPE-2BA 通



注: A 为基于磺酸基 AIE 探针的革兰氏阳性致病菌检测策略<sup>[54]</sup>(Copyright of © 2018, Royal Society of Chemistry); B 为基于活化炔经探针与目标物自有官能团发生点击反应的检测策略<sup>[58]</sup>(Copyright of © 2018, American Association for the Advancement of Science)。

图 1 用于致病菌检测的 AIE 探针设计示意图

Fig.1 Design schematic illustrations of AIE probes for the detection of pathogens

过与 *D*-葡萄糖上的两个羟基形成氢键以实现特异性的结合与检测<sup>[55]</sup>。考虑肽聚糖同样存在着多羟基结合位点,在进行革兰氏阴性菌大肠杆菌检测时,TPE-2BA 探针在死大肠杆菌溶液的荧光强度是活菌的 12 倍以上,实现了死菌和活菌的区分<sup>[56]</sup>。为探究探针的区分能力,该研究还设计了溶菌酶、胰蛋白酶实验,分别排除细胞壁、膜蛋白作为探针结合位点的可能性,并通过 DNA 染料碘化丙啶(propidium iodide, PI)与探针的加入顺序及与单链 DNA、双链 DNA 的反应,证明了 TPE-2BA 对死菌的识别是由于可以穿过死菌受损的细胞膜与原生质内双链 DNA 凹槽结合而染色的机制。对于活菌来说,TPE-2BA 中两个未修饰硼酸的苯基可以在致病菌表面旋转,无法显示荧光。在此基础上,推测多硼酸取代可以限制苯环的自由旋转,这类探针可通过与顺式二醇反应对致病菌染色,不因静电作用引起致病菌聚集或代谢。基于此合成三硼酸取代 TPE 探针(TPE-3BA)、四硼酸取代 TPE 探针(TPE-4BA)并进行活菌检测探索,先添加 TPE 衍生物(TPE-3BA 或 TPE-4BA)与样品孵育 30 min,再加入 PI 孵育 20 min,两类探针结合实现了死菌和活菌的区分,死菌同时显示蓝色(TPE)和红色(PI),而活菌仅有蓝色荧光<sup>[57]</sup>。该探针对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均有快速识别的能力,是一类快速区分死菌和活菌的工具。

### 2.3 基于点击反应的致病菌分类

活化炔烃 AIE 探针 [N-(4-ethynylcarbonylphenyl)diphenylamine, alkyne-TPA] 同样以革兰氏阳性菌的 LTA 为靶标,通过点击反应与革兰氏阳性菌 LTA 上氨基结合,实现快速鉴定革兰氏阳性菌的目的<sup>[58]</sup>。在温和条件下,该探针在 2 min 即可与金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌两类革兰氏阳性菌发生反应而出现聚集探针的强荧光,革兰氏阴性菌孵育 10 min 后基本荧光。在两类革兰氏阳性菌样品中加入 alkyne-TPA 和正丁胺的混合物,即使孵育 30 min 后也未出现荧光,证明了该探针对革兰氏阳性菌的鉴定源自探针与 LTA 上氨基的快速反应。带有炔烃的 AIE 探针还通过无金属催化的点击反应与氨基、巯基、羟基非常迅速和充分(图 1B),这一策略可以扩展到其他致病菌分析领域。

### 2.4 基于探针微环境响应的致病菌分类

在 AIE 探针的作用过程中,识别基团与分析物结合时,诱导荧光团的化学环境会发生变化,从而导致颜色变化、光谱偏移和荧光强度的增强/减弱,可在即时检测时作为评判指标进行快速结果判读。具有供体-受体结构的荧光团对微环境敏感,并且会根据扭曲的分子内电荷转移效应(twisted intramolecular charge transfer, TICT)显示随微环境变化的荧光颜色转变。由苯基连接二苯基异喹啉(diphenyl isoquinolinium, IQ)和香豆素衍生物(coumarin-derived moiety, Cm)的 AIE 探针(IQ-Cm),以膜活

性香豆素单元为识别基团,以可旋转的苯基为连接基团使 IQ-Cm 具有扭曲的供体-受体和多转子结构,可在 30 min 内肉眼快速区分革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌和真菌<sup>[59]</sup>。IQ-Cm 以阳离子异喹啉部分和膜活性香豆素单元作为靶向和相互作用基团,带正电荷的 IQ 部分可与带负电荷的致病菌结合,香豆素被引入可促使 IQ-Cm 有效地与膜的相互作用,香豆素上的二乙氨基可作为强电子供体,提高探针的荧光性能。受不同种类致病菌的外包膜和细胞质成分的内在结构差异驱动,IQ-Cm 可以选择性地定位在革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌、真菌 3 类致病菌的不同位点,探针对环境十分敏感,在 3 类致病菌不同微环境中显示出不同的颜色。IQ-Cm 与致病菌样品反应 10 min 即可分别显示出 3 种肉眼可识别的颜色,其中大肠杆菌(革兰氏阴性菌)呈淡粉色、金黄色葡萄球菌(革兰氏阳性菌)呈橙红色、白色念珠菌(真菌)呈亮黄色。通过电位实验证明,IQ-Cm 主要进入金黄色葡萄球菌和白色念珠菌的内部,但通过静电相互作用附着在大肠杆菌表面。进入金黄色葡萄球菌和白色念珠菌后,IQ-Cm 围绕苯基连接基团的分子内运动受到了内部环境的限制,基于 AIE 探针限制分子内运动的机制而发强光。但是大肠杆菌表面的 IQ-Cm 几乎不受限制地进行转动,只能穿过少数外膜受损的大肠杆菌或死菌的细胞膜,因此 IQ-Cm 在大肠杆菌样品中仅呈现淡粉色。除了肉眼观察外,IQ-Cm 还可以在荧光显微镜下在细胞水平上直接区分 3 类致病菌,作为一种快速和定性识别致病菌类型的有效方法,可为快速医学诊断、即时监测和食品快速检测领域提供了一个非常有前景的平台。

### 2.5 基于特异性结合的致病菌分类

在致病菌分类检测中,带正电荷的 AIE 探针是最常见的,而阴离子或中性探针检测革兰氏阳性菌的活性不足。利用万古霉素(Van)与革兰氏阳性菌细胞壁上肽聚糖序列的特异性亲和力,万古霉素结合的 AIE 探针实现了革兰氏阳性菌的裸眼检测<sup>[60]</sup>。由吩噻嗪(phenothiazine, PH)和茛二酮(indanedion, ID)组成的中性 AIE 探针(PH-ID)具有很高的光稳定性,对脂滴有高分辨和选择性,可应用与致病菌分类的鉴别<sup>[61]</sup>。PH-ID 与革兰氏阳性菌孵育发出红色荧光,而与革兰氏阴性菌共同孵育无荧光,该方法可在 10 min 内检测出革兰氏阳性菌。PH-ID 可与人为构建的脂多糖缺陷鲍曼不动杆菌结合发出荧光,说明革兰氏阴性菌外膜的脂多糖是 PH-ID 对革兰氏阳性菌产生特异性的原因,也说明了膜靶向探针的作用机制,为同类探针的开发指明了方向。

上述研究表明,将基于静电作用、化学反应、微环境响应、特异性结合或阻碍等不同作用的 AIE 探针应用于致病菌检测领域,可实现致病菌的准确分类,甚至是可以直接用肉眼判读结果。然而,检测时间因作用强弱而差别很大,如何优化检测体系,设计更高效的分类识别探针以适应复杂的食品基质是一个重要的发展方向。更值得注意的是,致病菌分类只是致病菌检测的开始,致病菌种类的精

确鉴别是致病菌检测的核心工作。

### 3 AIE 探针在致病菌种类鉴别方面的应用

AIE 探针在区分不同种类的细菌方面也进行了探索, 为致病菌的鉴别提供更为精确的信息<sup>[62]</sup>。针对不同 AIE 探针与不同致病菌的静电作用差异, 通过在经典 AIE 探针分子 TPE 的基础上添加不同数量醛基、羧基和氨基, 6 种带不同正电荷、负电荷或零电荷的 AIE 探针(TPEMN、TPEDN、TPEMC、TPEDC、TPEMA、TPEDA)<sup>[63]</sup>分别在单独的传感器通道上与单核细胞增生李斯特菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌 3 种革兰氏阳性菌和大肠杆菌、肺炎克雷伯菌、霍乱弧菌、鼠疫耶尔森菌和铜绿假单胞菌 5 种革兰氏阴性菌作用, 进行了检测鉴别能力的比较, 并证实了探针的静电作用和疏水作用是识别致病菌的主要作用机制。对反应 5 min 后的 6 种 AIE 探针的六荧光传感器通道结果进行线性判别分析(linear discriminant analysis, LDA), 发现所有数据点都很好地聚集在一起, LDA 分组与致病菌种类一致, 识别率达到 100%, 证明了所设计 AIE 探针具有广谱的致病菌成像能力和定量分析能力。

在不同致病菌种类识别方面, AIE 探针的静电作用和亲疏水性起到了关键的作用。在精确控制探针性质方面, 通过计算正辛醇/水分配系数  $\log P$  (ClogP) 值(从 3.426 到 6.071), 在经典 TPE 分子上以烷氧基为连接基团引入带有一系列疏水性差异的季铵盐, 可得到一系列精确调节亲疏水性的带正电荷 AIE 探针 TPE-ARs<sup>[64]</sup>, 从而探究调控 AIE 探针与致病菌间的静电和疏水相互作用。探针亲疏水性的微小差异会导致探针的不同聚集行为, 进一步放大探针与致病菌间的相互作用差异, 从而使特征荧光响应信号的差异变大, 实现对致病菌的准确鉴定。同时, 探针分子的烷氧基连接基团还可以提高探针的水溶性和柔韧性, 带来反应速度的提高。按照  $\log P$  的大小, 将 7 个 TPE-Ars 分为 A、B、C 3 组, 其中 A 组探针对于革兰氏阳性菌和真菌荧光响应强, 对革兰氏阴性菌相对较弱; B 组对 3 类菌呈现相似的荧光响应; C 组与 A 组相反, 对革兰氏阴性菌荧光响应强; 再根据荧光信号强度, 将 B 组进一步分为 B<sub>1</sub> 和 B<sub>2</sub>。在兼顾荧光响应差异和荧光传感器设计简单的情况下, 将上述探针进行组合(AB<sub>1</sub>C、AB<sub>2</sub>C、AB<sub>1</sub>B<sub>2</sub>、B<sub>1</sub>B<sub>2</sub>C)创建多个传感器阵列, 可在 30 min 内检测和区分不同的致病菌。借助线性判别分析方法进行传感器阵列的荧光信号处理, 该方法以接近 100% 的准确率有效地识别出 7 种不同的致病菌, 可区分正常细菌和耐药细菌, 该检测过程快速可靠, 无需洗涤步骤, 可以高通量、快速地为致病菌检测和监测提供及时可靠的信息。

目前, AIE 探针在致病菌快速检测产品开发方面, 也进行了成功的探索。对于大肠杆菌 O157:H7 的检测, AIE 探针 1,1,2,2-四(4-羧基联苯)乙烯[1,1,2,2-tetra(4-carboxylbiphenyl)ethylene, TCBPE]可通过羧基反应结合

大肠杆菌作为抗原, 与大肠杆菌抗体共同构建出侧向层析试纸条<sup>[46]</sup>, 通过荧光手电筒观察试纸条反应结果, 检出了牛奶、果冻、牛肉样品中人为添加的大肠杆菌 O157:H7, 证明了基于 AIE 检测产品的可行性。其中, 牛肉样品直接检测出现假阴性, 需要离心除去食品基质的干扰, 体现了实际样品检测的复杂性。研究中, 将 26 种食源性致病菌在具有最佳 TCBPE 浓度的合适培养基中孵育, 证明了 AIE 试纸条测试对大肠杆菌的特异性, 并考察了室温下干燥条件下储存 3 个月的稳定性。与传统的免疫层析试纸条相比, AIE 试纸条不需要纳米材料, 产品开发难度和成本更低, 在商品化和市场推广方面有巨大的前景, 但这种试纸条仍然需要 AIE 探针与抗原抗体结合使用, 单纯 AIE 识别体系的商品化进程在食品检测领域可能还要走很久。在致病菌鉴别方面, AIE 探针的精密分子设计和在特异性识别方面体现了优异的性能, 在检测速度、检测通量、灵敏度方面有显著的优势, 但致病菌种类有限, 且在实际食品样品检测方面的应用和成熟产品相对较少, 需要更深入、有针对性的研究和在实际样品检测方面的深入转化。

### 4 结束语

食品安全是关乎人民健康的重要问题, 快速高效的检测手段能够为食品安全的全过程监管提供有效手段, 而在技术层面上助力加强食品安全的监管和执法力度。致病菌及真菌毒素污染是导致食源性疾病的重要因素, 随着人们对食品安全关注度的提高, 传统的致病菌检测逐渐难以满足食品安全执法、市场监管、企业质量监督等场景下快速检测的需求。AIE 荧光探针在致病菌及检测中的相关研究工作, 通过不同的分子设计及修饰, 探针分子和检测策略设计巧妙, 具有高特异性、高灵敏度、快速、免清洗和高通量的特点。通过优化荧光探针的设计, 已经积累了丰富的探针分子设计经验, 可以从分子角度调控 AIE 探针的反应速度、特异性、灵敏度和便捷性, 实现多种致病菌或者真菌毒素的快速、同时、更精确的检测, 进一步的提高效率, 从而满足实际生产工作中的更高效的检测需求。

AIE 荧光探针已有诸多巧妙的设计着眼于食品安全检测领域, 为致病菌快速检测提供了可行的技术平台, 但目前的研究并未完全覆盖常见沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、蜡芽芽孢杆菌、单核细胞增生李斯特菌、副溶血性弧菌、致泻大肠埃希氏菌、克罗诺杆菌属(阪崎肠杆菌)等致病菌种类, 还在特异性荧光探针种类、食品样品种类、检测通量等方面存在一定的局限性, 深入研究 AIE 探针设计与致病菌表层结构特征的关系, 推进 AIE 探针在不同实际食品样品中的检测应用研究, 进一步开发类似于侧向层析、便携式传感器等高效、简便、成本低廉的快速检测方法, 对于食品安全监测和执法, 尤其是致病菌检测具有重要意义。

相对于传统检测方法, AIE 荧光探针具有信噪比高、光

稳定性强、操作简便等优异特征, 从而在食品中病原菌的检测中展现出良好的性能, 而且可以同时实现多种病原菌的同时检测, 可以为食品安全的市场监管提供及时可靠的参考。但是目前尚无可靠的商业化的 AIE 探针应用于食源性致病菌的多重检测中, 该类检测方法仍需要继续开发。尽管基于 AIE 荧光探针的食源性致病菌检测方法已经极大的推动了检测手段的变革和创新, 但是仍需进一步提高基于 AIE 荧光探针在食源性致病菌检测中的灵敏度、特异性、稳定性、检测速度、便捷性、多重检测功能, 使其操作性更强、智能化程度更高, 从而更好地为食品安全监管保驾护航。

### 参考文献

- [1] GIZAW Z. Public health risks related to food safety issues in the food market: A systematic literature review [J]. *Environ Heal Prev Med*, 2019, 24(1): 1–21.
- [2] TRUCHADO P, RANDAZZO W. New challenges for detection and control of foodborne pathogens: From tools to people [J]. *Foods*, 2022, 11(12): 1788.
- [3] TAO Q, WU Q, ZHANG ZH, *et al.* Meta-analysis for the global prevalence of foodborne pathogens exhibiting antibiotic resistance and biofilm formation [J]. *Front Microbiol*, 2022, 13: 906490.
- [4] 赖文珊, 武爱波, 刘弘, 等. 果蔬中常见真菌毒素的检测研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(4): 1286–1293.  
LAI WS, WU AIB, LIU H, *et al.* Research progress on the detection of common mycotoxins in fruits and vegetables [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(4): 1286–1293.
- [5] WANG B, PARK B. Immunoassay biosensing of foodborne pathogens with surface plasmon resonance imaging: A review [J]. *J Agric Food Chem*, 2020, 68(46): 12927–12939.
- [6] MARTINEZ L, HE L. Detection of mycotoxins in food using surface-enhanced Raman spectroscopy: A review [J]. *ACS Appl Bio Mater*, 2021, 4(1): 295–310.
- [7] SHAN S, LAI W, XIONG Y, *et al.* Novel strategies to enhance lateral flow immunoassay sensitivity for detecting foodborne pathogens [J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(3): 745–753.
- [8] FU ZF, ZHOU H, ZHANG GL, *et al.* Research progress on methods for the rapid detection of food-borne pathogenic bacteria and spoilage bacteria [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(3): 859–865.
- [9] DUAN N, WANG H, LI Y, *et al.* The research progress of organic fluorescent probe applied in food and drinking water detection [J]. *Coord Chem Rev*, 2021, 427: 213557.
- [10] LUO JD, XIE Z, XIE Z, *et al.* Aggregation-induced emission of 1-methyl-1,2,3,4,5-pentaphenylsilole [J]. *Chem Commun*, 2001, 18: 1740–1741.
- [11] LAW JW, MUTALIB NS, CHAN KG, *et al.* Rapid methods for the detection of foodborne bacterial pathogens: Principles, applications, advantages and limitations [J]. *Front Microbiol*. 2015, 5: 770.
- [12] CHUNG B, PARK C, CHO SY, *et al.* Multiplex identification of drug-resistant Gram-positive pathogens using stuffer-free MLPA system [J]. *Electrophoresis*, 2016, 37(23–24): 3079–3083.
- [13] LI Q, REN S, LYU Q, *et al.* Research progress on lateral flow chromatography strips in biological and food safety detection [J]. *Int J Biomed Eng*, 2017, (6): 315–322.
- [14] CHO IH, IRUDAYARAJ J. Lateral-flow enzyme immune concentration for rapid detection of *Listeria monocytogenes* [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2013, 405(10): 3313–3319.
- [15] ZHAO X, JIN X, LIN Z, *et al.* Simultaneous rapid detection of aflatoxin B<sub>1</sub> and ochratoxin A in spices using lateral flow immuno-chromatographic assay [J]. *Foods*, 2021, 10(11): 2738.
- [16] SUO B, HE Y, PAOLIG, *et al.* Development of all oligonucleotide-based microarray to detect multiple foodborne pathogens [J]. *Mol Cell Probes*, 2010, 24(2): 77–86.
- [17] ARANCIA S, CARATTOLI A, VALLE RL, *et al.* Use of 65 k damanno protein gene primers in real time PCR identification of *Candida albicans* in biological samples [J]. *Mol Cell Probe*, 2006, (20): 263–268.
- [18] GOTOM, HAYASHIDANI H, TAKATORI K, *et al.* Rapid detection of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* harbouring genes for four classical enterotoxins, SEA, SEB, SEC and SED by loop-mediated isothermal amplification assay [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2007, 45(1): 100–107.
- [19] PRIYANKA B, PATIL RK, DWARAKANATH S. A review on detection methods used for foodborne pathogens [J]. *Indian J Med Res*, 2016, 144(3): 327–338.
- [20] MEISEL S, STÖCKEL S, RÖSCH P, *et al.* Identification of meat-associated pathogens via Raman microspectroscopy [J]. *Food Microbiol*, 2014, 38: 36–43.
- [21] YU S, LI H, LI X, *et al.* Classification of pathogens by Raman spectroscopy combined with generative adversarial networks [J]. *Sci Total Environ*, 2020, 726: 138477.
- [22] BERRY ME, KEARNS H, GRAHAM D, *et al.* Surface enhanced Raman scattering for the multiplexed detection of pathogenic microorganisms: Towards point-of-use applications [J]. *Analyst*, 2021, 146(20): 6084–6101.
- [23] WANG P, SUN Y, LI X, *et al.* Recent advances in dual recognition based surface enhanced Raman scattering for pathogenic bacteria detection: A review [J]. *Anal Chim Acta*, 2021, 1157: 338279.
- [24] YAN S, WANG S, QIU J, *et al.* Raman spectroscopy combined with machine learning for rapid detection of food-borne pathogens at the single-cell level [J]. *Talanta*, 2021, 226: 122195.
- [25] SOHN M, HIMMELSBACH DS, BARTON FE, *et al.* Fluorescence spectroscopy for rapid detection and classification of bacterial pathogens [J]. *Appl Spectrosc*, 2009, 63(11): 1251–1255.
- [26] BURRIS KP, STEWART CN. Fluorescent nanoparticles: Sensing pathogens and toxins in foods and crops [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2012, 28(2): 143–152.
- [27] ROHDE A, HAMMERL JA, DAHOUK SA. Detection of foodborne bacterial zoonoses by fluorescence *in situ* hybridization [J]. *Food Control*, 2016, 69: 297–305.
- [28] HILDEBRANDT P, SURMANN K, SALAZAR MG, *et al.* Alternative fluorescent labeling strategies for characterizing gram-positive pathogenic bacteria: Flow cytometry supported counting, sorting, and proteome analysis of *Staphylococcus aureus* retrieved from infected host cells [J]. *Cytometry A*, 2016, 89(10): 932–940.
- [29] BORJIHAN Q, WU H, DONG A, *et al.* AIEgens for bacterial imaging and ablation [J]. *Adv Health Mater*, 2021, 10(24): e2100877.
- [30] LIU R, ALI S, HARUNA S, *et al.* Development of a fluorescence sensing platform for specific and sensitive detection of pathogenic bacteria in food samples [J]. *Food Control*, 2021, 131: 108419.
- [31] ZHAO Z, TANG BZ. AIE study: A stepping stone to aggregate science [J]. *Natl Sci Rev*, 2021, 8(6): 79.
- [32] NIU GL, ZHANG R, SHI X, *et al.* AIE luminogens as fluorescent bioprobes [J]. *TrAC-Trends Anal Chem*, 2020, 123: 115769.
- [33] QIAN J, TANG BZ. AIE luminogens for bioimaging and theranostics: From organelles to animals [J]. *Chem*, 2017, 3(1): 56–91.
- [34] WANG H, ZHAO E, LAM JWY, *et al.* AIE luminogens: Emission brightened by aggregation [J]. *Materials*, 2015, 18(7): 365–377.

- [35] CHEN YC, LAM JWY, KWOK R. Aggregation-induced emission: Fundamental under standing and future developments [J]. *Mater Horiz*, 2019, 6: 428–433.
- [36] LIAN J, WANG YP, SUN XM. Progress on multifunction enzyme-activated organic fluorescent probes for bioimaging [J]. *Front Chem*, 2022, 10: 935586.
- [37] LUU T, LI W, O'BRIEN-SIMPSON NM, *et al.* Recent applications of aggregation induced emission probes for antimicrobial peptide studies [J]. *Chem-Asian J*, 2021, 9: 1027–1040.
- [38] MEI J, HUANG YH, TIAN H. Progress and trends in AIE-based bioprobes: A brief overview [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10(15): 12217–12261.
- [39] LIAN J, MENG F, WANG W, *et al.* Recent trends in fluorescent organic materials for latent fingerprint imaging [J]. *Front Chem*, 2020, 8: 594864.
- [40] ZHAO EG, CHEN YL, CHEN SJ, *et al.* A luminogen with aggregation-induced emission characteristics for wash-free bacterial imaging, high-throughput antibiotics screening and bacterial susceptibility evaluation [J]. *Adv Mater*, 2015, 27(33): 4931–4937.
- [41] LIU GJ, TIAN SN, LI CY, *et al.* Aggregation-induced-emission materials with different electric charges as an artificial tongue: Design, construction, and assembly with various pathogenic bacteria for effective bacterial imaging and discrimination [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9: 28331–28338.
- [42] WANG D, TANG BZ. Aggregation-induced emission luminogens for activity-based sensing [J]. *ACC Chem Res*. 2019, 52(9): 2559–2570.
- [43] LI NN, LI JZ, LIU P, *et al.* An antimicrobial peptide with an aggregation-induced emission (AIE) luminogen for studying bacterial membrane interactions and antibacterial actions [J]. *Chem Commun (Camb)*, 2017, 53(23): 3315–3318.
- [44] PARDOUX É, BOTURYN D, ROUPIOZ Y, *et al.* Antimicrobial peptides as probes in biosensors detecting whole bacteria: A review [J]. *Molecules*, 2020, 25(8): 1998.
- [45] GUO YY, ZHAO C, LIU Y, *et al.* A novel fluorescence method for the rapid and effective detection of *Listeria monocytogenes* using aptamer-conjugated magnetic nanoparticles and aggregation-induced emission dots [J]. *Analyst*, 2020, 145(11): 3857–3863.
- [46] LIU C, FANG SQ, TIAN YC, *et al.* An aggregation-induced emission material labeling antigen-based lateral flow immunoassay strip for rapid detection of *Escherichia coli* O157:H7 [J]. *SLAS Technol*, 2021, 26(4): 377–383.
- [47] HU F, QI G, KENRY, *et al.* Visualization and *in situ* ablation of intracellular bacterial pathogens through metabolic labeling [J]. *Angew Chem Int Edit*, 2020, 59(24): 9288–9292.
- [48] WANG ZM, XING B. Small-molecule fluorescent probes: Big future for specific bacterial labeling and infection detection [J]. *Chem Commun*, 2021, 58(2): 155–170.
- [49] HE X, YANG Y, GUO Y, *et al.* Phage-guided targeting, discriminative imaging, and synergistic killing of bacteria by AIE bioconjugates [J]. *J Am Chem Soc*, 2020, 142(8): 3959–3969.
- [50] AI WT, YANG Z, MA Y, *et al.* Combined tetraphenylethylene fluorogens with positive charge for imaging capsule-covered pathogens [J]. *Analyst*, 2020, 145(20): 6435–6440.
- [51] SAYED MS, XU KF, JIA HR, *et al.* Naphthalimide-based multifunctional AIEgens: Selective, fast, and wash-free fluorescence tracking and identification of Gram-positive bacteria [J]. *Anal Chim Acta*, 2021, 1146: 41–52.
- [52] MAI-PROCHNOW A, CLAUSON M, HONG JM, *et al.* Gram positive and Gram negative bacteria differ in their sensitivity to cold plasma [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 38610.
- [53] ENGLER AC, WIRADHARMA N, ONG ZY, *et al.* Emerging trends in macromolecular antimicrobials to fight multi-drug-resistant infections [J]. *Nano Today*, 2012, 7: 201–222.
- [54] NAIK VG, HIREMATH SD, DAS A, *et al.* Sulfonate-functionalized tetraphenylethylenes for selective detection and wash-free imaging of Gram-positive bacteria [J]. *Mater Chem Front*, 2018, 2(11): 2091–2097.
- [55] LIU Y, DENG C, TANG L, *et al.* Specific detection of *D*-glucose by a tetraphenylethylene-based fluorescent sensor [J]. *J Am Chem Soc*, 2011, 133(4): 660–664.
- [56] ZHAO E, HONG Y, CHEN S, *et al.* Highly fluorescent and photostable probe for long-term bacterial viability assay based on aggregation-induced emission [J]. *Adv Healthcare Mater*, 2014, 3: 88–96.
- [57] KONG TT, ZHAO Z, YING L, *et al.* Detecting live bacteria instantly utilizing AIE strategies [J]. *J Mater Chem B*, 2018, 6: 5986–5991.
- [58] HU XL, ZHAO X, HE B, *et al.* A simple approach to bioconjugation at diverse levels: Metal-free click reactions of activated alkynes with native groups of biotargets without prefunctionalization [J]. *Research*, 2018, 2018: 3152870.
- [59] ZHOU CC, JIANG M, DU J, *et al.* One stone, three birds: One AIEgen with three colors for fast differentiation of three pathogens [J]. *Chem Sci*, 2020, 11(18): 4730–4740.
- [60] FENG G, YUAN Y, FANG H, *et al.* A light-up probe with aggregation-induced emission characteristics (AIE) for selective imaging, naked-eye detection and photodynamic killing of Gram-positive bacteria [J]. *Chem Commun (Camb)*, 2015, 51(62): 12490–12493.
- [61] WANG XH, SONG MR, LIU YW, *et al.* Lipid droplet-specific red aggregation-induced emission luminogens: Fast light-up of gram-positive pathogens for identification of bacteria [J]. *ACS Mater Lett*, 2022, 4(8): 1523–1530.
- [62] LI ZL, XU L, YUAN H, *et al.* Fluorescent sensor array based on aggregation-induced emission luminogens for pathogen discrimination [J]. *Analyst*, 2022, 147(13): 2930–2935.
- [63] LIU GJ, TIAN SN, LI CY, *et al.* Aggregation-induced-emission materials with different electric charges as an artificial tongue: design, construction, and assembly with various pathogenic bacteria for effective bacterial imaging and discrimination [J]. *ACS Appl Mater Int*, 2017, 9(34): 28331–28338.
- [64] ZHOU CC, XU W, ZHANG P, *et al.* Engineering sensor arrays using aggregation-induced emission luminogens for pathogen identification [J]. *Adv Funct Mater*, 2019, 29(4): 1805986.

(责任编辑: 郑 丽 张晓寒)

## 作者简介



廉 洁, 博士, 副教授, 主要研究方向为理化物证检验技术和食药环快速检验技术。  
E-mail: lianjie@ppsuc.edu.cn



孟凡达, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为分析化学快速检测方法开发。  
E-mail: mengfinda@163.com