

生物传感技术在食品中重金属检测中的应用进展

魏 静¹, 朱 治¹, 王亚生², 吴 龙^{1,2*}

(1. 海南大学食品科学与工程学院, 海口 570228; 2. 湖北工业大学生物工程与食品学院, 武汉 430068)

摘 要: 食品重金属污染事件常见报道, 重金属在人体内积累后, 可通过干扰人体蛋白质和酶的运输而产生生理毒性。因此, 重金属的检测对于保障食品安全具有重要意义。近年来, 生物传感检测技术因其方法构建灵活、特异性强、检测效率高和易于便携化等优点, 广泛应用于临床诊断、药物分析、环境检测和食品安全领域。尤其在食品中重金属污染的检测中, 生物传感方法可提供灵活多变的检测策略, 且易于实现现场快速检测。本文总结了食品重金属污染的传统检测方法和新型检测方法, 重点介绍了荧光、表面增强拉曼、电化学、场效应晶体管等生物传感器的优缺点, 为食品中重金属污染物的检测和控制提供参考, 同时也有助于促进检测新技术的发展, 为规范食品安全和提高食品质量提供新思路。

关键词: 重金属污染; 生物传感器; 电化学传感; 表面增强拉曼散射

Applications advance of biosensing techniques on the detection of heavy metal in food

WEI Jing¹, ZHU Zhi¹, WANG Ya-Sheng², WU Long^{1,2*}

(1. College of Food Science and Engineering, Hainan University, Haikou 570228, China;
2. College of Bioengineering and Food, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China)

ABSTRACT: The accidents of heavy metal contaminations in food are commonly reported, and the accumulation of heavy metals in human body causes physiological toxicity by interfering with the transport of proteins and enzymes. Therefore, it is of great significance to detect heavy metals for food safety assurance. Recently, owing to their advantages including flexible construction process, strong specificity, high detection efficiency and convenient portability, biosensing techniques have been widely used in clinical diagnosis, drug analysis, environmental testing, and food safety detection. Especially for analyzing heavy metals contamination in food stuffs, biosensors can provide flexible detection strategies, which is readily to achieve rapid on-site testing. This review summarized both traditional methods and novel detection method for determining heavy metal in food samples, and mainly introduced the advantages and disadvantages of several newly developed biosensing techniques like fluorescence, surface enhanced Raman scattering, electrochemistry and field effect transistor, which was supposed to give a reference for detecting and controlling heavy metal in foods, as well as promote the development of new detection technology and provide new ideas for standardizing food safety and improving food quality.

基金项目: 海南省自然科学基金项目(322MS015、321QN183)、国家市场监督管理总局重点实验室(热带果蔬质量与安全)重点研究课题资助项目(ZX-2022001)

Fund: Supported by the Hainan Provincial Natural Science Foundation of China (322MS015, 321QN183), and the Key Laboratory of Tropical Fruits and Vegetables Quality and Safety for State Market Regulation (ZX-2022001)

*通信作者: 吴龙, 博士, 副教授, 主要研究方向为热带农产品质量与安全检测和快速检测方法和原理的研究。E-mail: longquan.good@163.com

*Corresponding author: WU Long, Ph.D, Associate Professor, College of Food Science and Engineering, Hainan University, 58 Renmin Ave, Meilan District, Haiko 570228, China. E-mail: longquan.good@163.com

KEY WORDS: heavy metals contamination; biosensor; electrochemical sensors; surface-enhanced Raman scattering

0 引言

安全食品是保障人民生命安全健康不可或缺的一环,不安全的食品会严重影响人体健康,而食品污染则是造成食品安全问题的主要原因之一,常见的食品污染物包括重金属、农药、生物毒素和病原体等。其中,重金属是一种普遍存在的环境污染物,会通过各种途径沿着食物链进入到人体内。食品重金属污染是由于环境污染而引起的食品重金属含量超标,重金属污染的食品会给人体健康带来很大的风险。随着环境污染严重和食品工业的快速发展,食品中重金属污染检测尤为重要^[1]。

目前食品中重金属的检测方法主要分为传统检测方法和快速检测方法两大类。传统检测食品中重金属的方法主要有原子吸收光谱法、电感耦合等离子体/质谱法、电感耦合等离子体/原子发射光谱法、紫外可见光谱法^[2]。这些方法都是借助大型仪器来检测重金属,需要熟练的操作人员、高昂的检测成本、较长检测周期,还需要对样品进行复杂的预处理,最重要的是,它们很难实现现场检测^[3]。尽管传统检测方法具有灵敏度高、检测结果准确等诸多优点,但是这些方法无法满足快速原位检测的需求,因此,迫切需要发展新的检测方法弥补传统方法的不足^[4]。

与传统检测方法相比,以生物传感器检测技术为代表的快速检测方法具有携带方便、成本低、响应速度快、灵敏度高优点,可以很好地克服传统检测方法的局限,在重金属现场快速检测方面具有很大的应用潜力。随着各种功能材料的飞速发展,纳米材料和纳米技术备受各个领域研究者的广泛关注^[5]。纳米技术的快速发展为生物传感器在灵敏度、检出限、选择性和重复性等方面的性能提升提供了新的机遇^[6-8]。基于此,本文概述了各种快速检测技术,根据不同的信号传导机制分为荧光传感器、比色传感器、表面增强拉曼(surface-enhanced Raman scattering, SERS)传感器、微流控光学传感、电化学传感器、场效应晶体管(field effect transistor, FET)传感器(图 1),旨在通过介绍生物传感技术在重金属检测的研究现状,对该技术的性能和应用潜力做简单评估,以期更好地了解技术发展和应用研究之间的关系。

1 食品中重金属的来源及危害

食品中重金属污染主要指汞、镉、铅、铬及类金属砷等生物毒性显著的重金属,也指锌、铜、镍、钴、锡等毒性一般的重金属^[9]。重金属在食物链中可积累不可降解。

食品重金属污染主要来源于以下几个方面^[10]: (1)地质环境的影响,有些火山或者矿山地区附近的食品就很容易受到重金属的污染;(2)环境污染,比如重工业发达的城市会将大量的工业废气排放到空气中,这些废气含有大量的重金属,当地的农作物吸收后会导致食品中重金属的污染;(3)化肥、农兽药、饲料等的污染,这些产品的滥用会导致重金属在食品原料中持续积累,最终转移到食品产品中;(4)食品在加工、储藏、运输和销售过程中引入的外源污染,比如在储藏过程中重金属涂层发生脱落等。

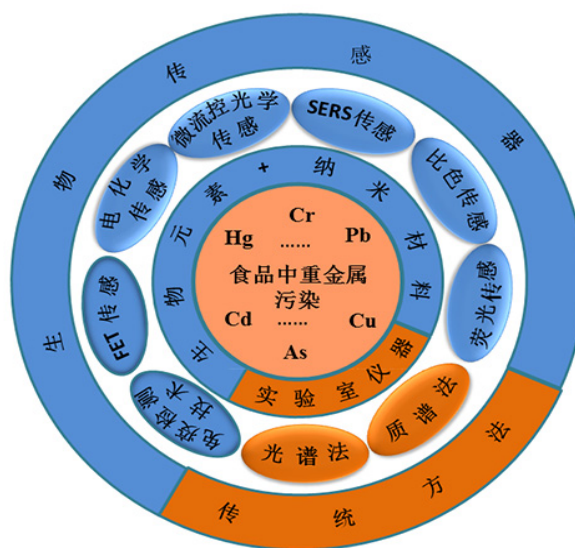


图 1 食品中重金属污染的不同检测方法分类示意图

Fig.1 Schematic presentation of different methods for detecting heavy metals in foods

食品中重金属能和人体中的蛋白质和酶的巯基(氢硫基)结合,而氢硫键则是蛋白质中半胱氨酸的侧链,从而使人体中的蛋白质变质或者抑制人体中反应酶的活性,使细胞质中毒。高兆建等^[11]通过对绿色木霉中提取的葡萄糖氧化酶的特性进行分析,发现重金属离子几乎完全抑制酶的活性。MITRA 等^[12]探讨了重金属对环境的影响和对人类健康的毒性,通过了解重金属的特点寻找针对性的解决办法。WANG 等^[13]和 GONG 等^[14]介绍了重金属对人体的危害和基于纳米技术对食品中重金属的检测技术,提出在种植、生产和加工环节中减少食品中重金属含量的思路。

由此看来,食品中重金属的危害越来越受到人们的关注,反映了该问题的迫切性和食品安全的重要性。基于上述文献报道和 GB 2762—2017《食品安全国家标准 食品

中污染物限量》的内容, 表 1 列出了各种常见重金属在食品中的分布和危害。

2 传统检测方法

通过表 1 中重金属的危害和限量指标, 可以看出控制食品中重金属的含量对保障食品安全十分必要, 要判断食品中重金属是否超标, 首先必须要知道重金属的含量。因此, 对不同食品中重金属含量的检测分析显得十分重要。传统的检测方法有分光光度法、火焰原子吸收光谱法、石

墨炉原子吸收光谱法、原子荧光光谱法、电感耦合等离子体/原子发射光谱法、电感耦合等离子体/质谱法等, 上述方法的特点是检测精度高且检出限低, 比较适合在实验室使用^[15-16]。表 2 简单列出了不同检测方法对食品中重金属检测的应用、检出限及其方法的优缺点, 通过列表可以看出, 应用传统方法检测食品中的重金属时, 需要复杂而耗时的前处理, 并且所使用的仪器比较昂贵、体积比较大, 无法快速进行现场检验。因此, 有必要发展新的检测技术用于满足现场食品中重金属的快速分析检测。

表 1 食品中代表性有毒重金属的危害及其限量指标

Table 1 Adverse effects of representative toxic heavy metals in food and their maximum residue limits

重金属	食品分类	危害	限量指标/(mg/kg)
铅(Pb)	谷物及其制品、蔬菜水果及其制品、食用菌及其制品、豆类及其制品、藻类、坚果、肉	肾损伤、认知障碍、高血压	0.02~1.0
汞(Hg)	水产品及其制品、谷物及其制品、蛋制品、食用菌及其制品、饮料类	母体和胎儿毒性; 智力低下、脑瘫、耳聋、失明、构音障碍; 胃肠道毒性: 肠黏膜坏死、腹痛、呕吐、血性腹泻	总汞: 0.001~0.1 甲基汞: 0.5~1.0
镉(Cd)	谷物及其制品、蔬菜水果及其制品、食用菌及其制品、豆类及其制品、蛋制品、乳制品	肾脏(近端肾小管细胞)、肺、肝和血管系统损伤	0.003~0.5
铬(Cr)	谷物及其制品、蔬菜及其制品、豆类及其制品、乳制品、水产品	皮疹、胃溃疡、免疫系统减弱、肾脏和肝脏损伤、遗传物质改变、肺癌; 呼吸系统问题: 鼻炎、咽炎、喉炎、支气管炎	0.3~2.0
锡(Sn)	饮料类、婴幼儿配方食品、婴幼儿辅助食品	威尔逊氏病、上呼吸道刺激、鼻黏膜、溶血性贫血、上腹痛、恶心、头晕	50~250
镍(Ni)	氢化植物油及氢化植物油为主的产品	尘肺、哮喘、肺癌和喉癌	1.0
锌(Zn)	谷物及其制品、蔬菜水果及其制品、食用菌及其制品、豆类及其制品、蛋制品、乳制品	心动过速、消化不良、恶心、头痛、鼻癌和肺癌、哮喘、呕吐、腹泻、低血糖、胰腺炎和肝实质损害、生长和繁殖障碍	总锌: 0.01~0.5 无机锌: 0.1~0.5

表 2 传统分析方法对食品中重金属的检测

Table 2 Traditional analytical methods for the detection of heavy metals in foods

传统检测方法	检出限	优缺点	相关文献
分光光度法	Cu、Co、N: 0.10、0.15、0.13 μg/L	优点: 检测速度快、检测范围广、操作简单、成本低、不消耗样品 缺点: 灵敏度相对较低、准确度不高	[17]
火焰原子吸收光谱法	Cd、Pb、Fe、Cu、Mn: 0.08、0.07、26、28、20 μg/L	优点: 精密度高、重现性好、背景噪声低、抗干扰能力强 缺点: 原子化效率低、要求液体、检测的重金属种类有限	[18]
石墨炉原子吸收光谱法	Pb、Cd、Cr、Cu、Ni: 1.04、0.098、1.24、3.44、1.76 μg/L	优点: 精度高、灵敏度高、选择性好、样品用量少 缺点: 分析范围较窄、检测速度较慢、检测成本较高	[19]
原子荧光光谱仪	As、Sb、Se、Hg: 0.051、0.034、0.050、0.0058 μg/L	优点: 灵敏度高、无基体干扰、线性范围宽、适合多元素检测 缺点: 干扰多、易污染、易猝灭	[20]
电感耦合等离子体/原子发射光谱法	Ag、Ba、Pb、Cd、Cr、Cu、Fe、Mn、Ni: 0.12、0.28、7.50、1.69、0.15、3.30、1.44、0.53、1.54 mg/kg	优点: 适用于痕量重金属检测、灵敏度高、可多组分同时检测 缺点: 需要昂贵的仪器、专业的操作、检测成本高	[21]
电感耦合等离子体/质谱法	Mn、Zn、Cu、Co、Sn、Sb、Ba、Cr、Ni、As、Pb、Hg、Cd: 0.002、0.075、0.164、0.003、0.103、0.043、5.120、0.035、0.035、0.040、0.010、0.036、0.047 μg/L	优点: 大部分元素灵敏度非常好、精密度高、结果稳定可靠 缺点: 检测成本高、需要专业操作	[22]

3 生物传感器检测方法

作为一种新型检测技术,生物传感器建立在生物元素(蛋白质、DNA、抗体等)的基础之上,通过物理吸附、静电吸引、生物识别、化学偶联等作用力,将待测物对力、热、电、光、磁等的敏感性直接或间接转换为可测信号进行检测。该传感技术是由固定化的生物敏感材料作识别元件、适当的理化换能器及信号放大装置构成的分析工具或系统(图 2)。生物传感器具有接受器与转换器的功能,常见的生物传感器构建模式有荧光生物传感器、比色传感器、SERS 传感、电化学传感器、FET 传感器、酶联免疫传感等。

生物传感器对待测物有灵活多变的特性,研究者可以根据待测物物质针对性地设计出最优检测方法,因此在分析科学领域备受研究者的青睐。在食品污染物的分析中,尤其是对重金属离子的分析,生物传感器具有响应速度快、设计灵活多变、灵敏度高等优点。

3.1 荧光生物传感器

荧光传感器是通过分析诱导的荧光基团理化性质的变化(荧光强度和寿命等)来检测目标物,这些变化与电荷转移或能量转移过程有关。当荧光基团在吸收外界的激发能量而进入激发态,再从激发态回到基态时,释放多余的能量而发出的光,称为荧光。通过重金属离子与荧光探针之间的联系,可以建立荧光信号与离子浓度的相关性,从而定量检测重金属离子浓度。

DING 等^[23]探索了一种硫醚的荧光共价有机框架结构(covalent organic frameworks, COFs),该 COFs 材料作为信号传感器,结构稳定可循环使用,均匀分布的硫醚基团作为 Hg(II)受体, Hg(II)与 COFs 材料的硫醚基团之间有强选择性相互作用,因此,可以同时检测和去除有毒的 Hg(II)。该方法荧光基团稳定性好,有较好的灵敏性和选择

性,可以同时有效地检测和去除有害金属离子,扩大了共价有机框架材料的应用,但是 COFs 材料易聚合、结晶,均一性有待提升,这也限制了该方法的稳定使用。NEUPANE 等^[24]合成了一种带有四苯基乙烯荧光团的肽基传感探针,识别 Hg²⁺后,探针的荧光信号在 470 nm 处显著增强。该传感器对于 Hg(II)具有高度灵敏的响应,对于 Hg²⁺的检出限为 1.06 μg/L。该荧光探针水溶性好,易于合成,具有较好的生物相容性、较高的选择性和灵敏性,但是该方法具有荧光不稳定,信号干扰大等缺点。HU 等^[25]构建了一种谷胱甘肽铜簇探针检测水中和食品中的 Hg²⁺,它的检出限为 0.66 μg/L,在 2.01 μg/L~2.01 mg/L 内具有较好的相关性。该探针具有蓝色的荧光,水分散性好,储存稳定,荧光稳定,对于 Hg²⁺具有较高的选择性和较宽的检测范围等优点,但是合成化学环境要求较高,制备过程较复杂。

此外,还有各种基于碳点的荧光探针用于重金属的检测。YARUR 等^[26]利用谷胱甘肽和甲酰胺在微波辅助下合成双发射碳点,基于蓝色和红色荧光信号加入金属离子后的比值响应用于检测纳米级范围内的 Co²⁺、Fe³⁺、Hg²⁺和 Pb²⁺,检出限分别为 5.70、3.45、7.92、7.69 μg/L。该荧光传感器具有消除背景干扰、对溶液中多种金属阳离子提供了较高的分辨率、响应速度快、灵敏度高、选择性好、检出限低等优点。WANG 等^[27]合成的氨基酸衍生碳点的荧光传感器可以检测 3 种混合重金属离子(Hg²⁺、Cu²⁺和 Fe³⁺),其检出限分别为 2.01、0.64、0.56 μg/L。该传感器无需进行信号标记,具有简单、成本低等优点。ZOU 等^[28]研制了一种比例荧光纳米探针,能够发射所需强度的荧光。探针将两个荧光纳米量子点和碳点耦合在一个纳米载体上,从而制备出用于细胞内成像的选择性比率荧光探针,对 Cu²⁺在 0~0.19 mg/L 浓度范围内有较好的相关性。该传感器弥补了量子点的荧光不稳定和发射光单一等缺点,具有较宽的检测范围。

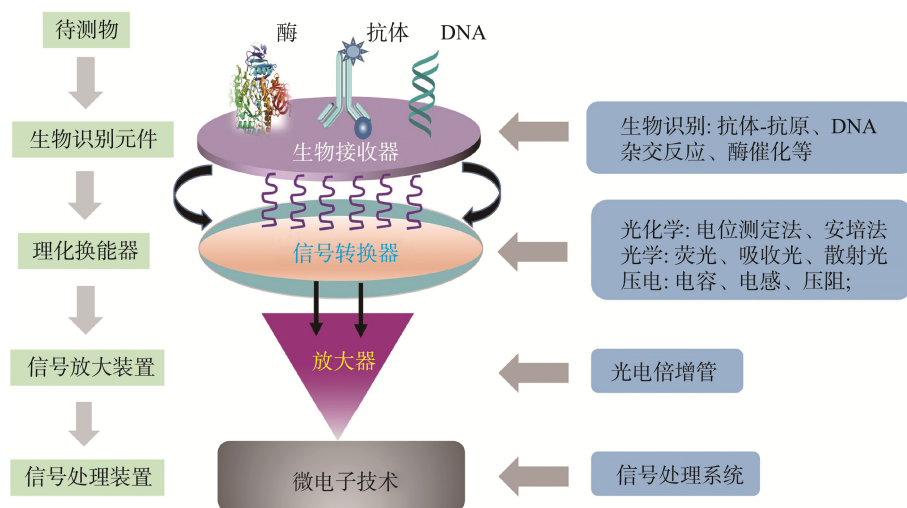


图 2 生物传感器的结构示意图

Fig.2 Schematic illustration of the structure of biosensor

荧光生物传感方法主要依靠生物分子修饰的荧光分子或荧光纳米材料作为探针用于检测。该方法具有很高的灵敏度, 但是样品基质对荧光影响很大, 并且荧光探针本身的稳定性不足也是该技术需要解决的主要问题。

3.2 SERS 生物传感器

SERS 作为一种分子振动光谱技术, 虽然能够提供被分析物的指纹光谱特征, 但由于重金属离子不是分子, 因此不能用 SERS 直接检测。为了解决这一问题, 可以将功能化的金属纳米粒子与有机配体结合, 通过有机配体与特定重金属离子络合, 产生聚集态的纳米粒子, 从而产生金属离子浓度依赖性的配体指纹强度变化。金属纳米粒子的聚集会导致相邻纳米粒子的等离子场耦合, 形成 SERS 增强的热点^[29]。

基于上述原理, XU 等^[30]制备了对巯基苯胺和 L-半胱氨酸功能化的银包金纳米颗粒用于检测 Pb^{2+} 。在 Pb^{2+} 存在的情况下, 它将通过 L-半胱氨酸基团表面的甘氨酸残基聚集形成络合物, 从而增强对巯基苯胺的 SERS 信号, 该方法对 Pb^{2+} 的检出限为 0.21 ng/L。此外, LI 等^[31]以卷心菜状金纳米颗粒作为 SERS 底物, 以双[4,4'-(二硫代苯基偶氮)-1,3-苯二胺]作为信号探针, 构建了一种检测 Cu^{2+} 的 SERS 传感器。由于 Cu^{2+} 可以催化苯并三唑基团的成环, 从而导致双[4,4'-(二硫代苯基偶氮)-1,3-苯二胺]的拉曼指纹图谱发生变化, 基于金纳米的增强作用, 可以对该特征指纹图谱进行定量分析。该方法对 Cu^{2+} 的检出限为 0.051 $\mu\text{g/L}$, 检测线性范围为 0.13~6.36 $\mu\text{g/L}$ 。该方法具有较高的灵敏度和良好的选择性, 但是信号稳定性和方法重现性有待进一步提高。

通过对 SERS 基底材料的表面基团改性, SERS 传感技术在重金属离子检测方向具有很大的优势, 通过化学络合或者探识别模式, 可以很好地设计 SERS 信号探针。同传统的检测方法相比, SERS 生物传感增加了检测的灵活度, 同时大大提高了检测灵敏度。

3.3 电化学传感器

电化学传感器将生物或化学材料与电子检测技术相结合, 以电极作为转换元件和固定载体, 将生物敏感物质, 如抗原、抗体、酶、激素等, 或者生物本身作为敏感元件固定在电极上, 通过生物分子之间的特异性识别作用将目标分子或电活性分子与其反应信号转化成电信号, 如电容、电流、电位、电导率等, 从而实现对目标分析物的定性或定量检测^[32]。根据电极上修饰的物质不同, 电化学传感器可分为电化学酶传感器、电化学免疫传感器、电化学适配体传感器、电化学微生物传感器等。

QIN 等^[33]由小分子质子盐制备的氮掺杂介孔碳材料修饰电极用于检测 Cd^{2+} 和 Pb^{2+} 。该电极对 Cd^{2+} 和 Pb^{2+} 具有

较高的检测灵敏度。该方法 Cd^{2+} 和 Pb^{2+} 的检出限分别为 0.3 和 0.4 mg/L。该传感器具有较低的检出限, 抗干扰能力强、回收率高。LU 等^[34]制备了一种基于石墨烯气凝胶和金属有机框架复合的纳米材料用于电极的修饰, 用于同时检测水溶液中的 Hg^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Cu^{2+} , 其检出限分别是 0.40、0.31、2.25 和 0.44 $\mu\text{g/L}$ 。该方法具有高灵敏性和高选择性的优点, 但是该方法具有重复性相对不高的缺点。LEE 等^[35]应用原位镀铋结合氧化铁/石墨烯纳米复合电极, 用于 Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 的同时痕量检测, 其检出限分别为 0.11、0.08 和 0.07 $\mu\text{g/L}$ 。该传感器具有较高的选择性、灵敏性和重复性。

MIAO 等^[36]提出了一种基于 DNA 修饰的金复合 Fe_3O_4 磁性纳米颗粒的电化学传感器, 通过记录方波伏安信号同时检测红酒或者橙汁中 Ag^+ 和 Hg^{2+} 。其中 Ag^+ 检测范围为 1.08~16.19 $\mu\text{g/L}$, 检出限为 0.37 $\mu\text{g/L}$; Hg^{2+} 的检测范围为 2.01~20.06 $\mu\text{g/L}$, 检出限为 0.34 $\mu\text{g/L}$ 。该传感器具有较高的选择性和灵敏性, 且 Ag^+ 和 Hg^{2+} 信号互不干扰, 但是需要特定标记的 DNA 片段。LI 等^[37]构建了一种双功能脱氧核酶的比例电化学传感器用于 Hg^{2+} 的检测, 检测范围为 20.06 ng/L~40.12 $\mu\text{g/L}$, 检出限为 4.61 ng/L。该方法克服了传统单路径方法容易出现假阳性信号的缺点, 但是稳定性与重复性不高, 且不能同时检测多种重金属。VEERAKUMAR 等^[38]开发了一种基于多孔活性炭上负载钯纳米金属的电化学传感器, 可用于检测 Hg^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Cu^{2+} , 其检出限分别为 10.83、10.36、4.61 和 4.19 $\mu\text{g/L}$ 。该传感器具有较高的灵敏性、选择性, 可以同时或单独检测多种重金属。AVUTHU 等^[39]开发了基于丝网印刷的菲啉柔性电化学传感器, 用于检测 Hg^{2+} 和 Pb^{2+} 。该方法具有方便、选择性高和重复性好等优点, 同时也可克服玻碳电极和金电极等修饰电极重复性较差的问题。

电化学传感技术对重金属离子的灵敏度高、响应速度快, 也可实现样品中多种金属离子的同时检测。然而, 电极的结构限制了电化学传感技术在快速检测领域的进一步应用, 比如电极的钝化现象会影响电极的灵敏度, 电极的稳定性差会导致检测结果的准确度不够等。因此, 通过功能纳米材料改进电极性能或者发展新的电极形式是解决问题的新方向。

3.4 FET 传感器

FET 传感器即场效应晶体管传感器, 是利用分析物与半导体电阻之间的相互作用来检测重金属的, FET 传感器能够实时无标记检测重金属。一维和二维半导体纳米材料具有很高的比表面积和灵敏度, 在 FET 传感器中应用广泛。对于二维纳米材料 FET 传感器的研究基于热还原氧化石墨烯(rGO)和 MoS_2 的半导体, 这些传感器需要

表面包覆纳米颗粒,并配以特定的探针来增强金属离子的吸附和选择性。

TU 等^[40]制备了一种液体门控石墨烯场效应晶体管阵列生物传感器,并利用适配体对 Hg^{2+} 进行定量检测,检出限为 $8.02 \mu\text{g/L}$,检测范围为 $20.06 \text{ ng/L} \sim 20.06 \mu\text{g/L}$,检测时间在 25 s 以下。该传感器具有快速、方便、具有较高的检出限和较宽的检测范围等优点,但不能同时检测多种重金属污染。MAITY 等^[41]设计了一种利用自组装 rGO 单层沉积技术实现的新型超敏脉冲驱动电容式 Pb^{2+} 传感器。整体结构是由一个 rGO 通道和一层薄薄的氧化铝钝化层构成的顶栅,以及与谷胱甘肽相连的金纳米颗粒组成,后者在水中可特异性吸附 Pb^{2+} ,从而实现信号的快速响应(12 s),检出限达到 $1 \mu\text{g/L}$ 。该传感器具有对 Pb^{2+} 选择性好、快速和检出限低等优点。CHANG 等^[42]开发了一种半定量的方法来预测场效应晶体管传感性能,以黑磷纳米片作为基底材料,分别对 Hg^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 进行了测试,结果表明该传感对 Hg^{2+} 具有较高的灵敏度和选择性。该方法具有较好的选择性,能够半定量检测 Hg^{2+} ,但是该方法不能定量检测重金属,也无法实现多种金属的同时检测。

3.5 其他

除了以上常见的几种生物传感器外,检测食品中重金属的方法还有比色传感、微流控光学传感和酶联免疫传感等。例如,比色传感是基于不同种类纳米材料的等离子体共振作用,随着待测物浓度的变化,纳米材料的颜色随之改变,进而通过颜色变化对样品进行半定量分析的方法。由于纳米银或纳米金具有高密度的电子、较好的介电特性和催化活性,能够结合生物分子,在比色传感器中应用最为广泛。

LIU 等^[43]设计了一种金纳米颗粒比色法检测溶液中 Hg^{2+} ,用寡核苷酸修饰的金纳米粒子固定在载玻片上。在 Hg^{2+} 存在下,寡核苷酸会与之结合而引起金纳米粒子的聚集,这一过程在光学显微镜下会出现颜色由绿色到黄色的变化,由此可以判断 Hg^{2+} 的存在。该传感的检出限可达 0.28 ng/L ,方法简单、快速、方便,但需要借助显微镜准确定量。MOHAMMADNEIAD 等^[44]制备了罗丹明 B 酰肼和 2-氯喹啉-3-甲醛衍生物,并将其构建新型比色传感器用于高选择性检测 Cu^{2+} 。基于合成的罗丹明基配体与 Cu^{2+} 之间的相互作用,在 Cu^{2+} 存在下,配体发生从黄色到粉红色的颜色变化。该方法对 Cu^{2+} 具有很高的选择性,检测灵敏度可达 0.016 mg/L 。

将比色传感器与微流体相结合,可以表现出许多独特的特点。比如,光流器件能够在最小的样品体积内进行实时检测,并便于同时在单个芯片中对分析物进行多路检测。MOTALEBIZADEH 等^[45]制作了一种微流体试剂盒,该微流体试剂盒有两个分离的传感区域,用于定量测量纳米金颗粒从蓝色到灰色的颜色变化。在 As^{3+}

和 Hg^{2+} 存在下,金纳米粒子会发生团聚而产生比色信号。该装置具有结构简单、成本低、试剂用量少、检测方法简单等优点。

免疫传感器就是利用抗原(抗体)对抗体(抗原)的识别功能而建立的生物传感器,其中以酶联免疫吸附检测和侧流免疫层析检测在食品中应用最为广泛^[46]。例如,ZOU 等^[47]建立了一种间接竞争性酶联免疫吸附法测定自来水中的甲基汞。抗甲基汞单克隆抗体对汞具有特异性,不会与其他金属离子发生交叉反应,该方法的检出限可达 $2.03 \mu\text{g/L}$,间接竞争性酶联免疫吸附试验(indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay, IC-ELISA)和免疫层析条测定在自来水中的平均回收率分别为 98.13% 和 107.87% 。该方法对甲基汞有较高的选择性,且成本低、使用方便,缺点是容易出现假阳性。从结构上看,酶联免疫传感基于抗体-抗原模式识别目标物,然后通过偶联酶催化底物反应输出检测信号。该构建模式可以拓展到适配体识别、主客体识别和 DNA 互补配对,结合不同类型的信号(电、光、磁),可以发展电化学免疫传感^[48]、拉曼免疫传感^[49]、荧光免疫传感和磁弛豫免疫传感^[50]等不同的检测技术。

整体而言,构建不同的传感检测策略是当前研究的热点,同传统检测方法相比,生物传感检测具有选择性灵活、检测灵敏度高、信号响应速度快、检测线性范围宽等优点,但是检测准确性和稳定性有待提升。从现阶段而言,无论是哪种检测方法似乎都不能集所有优点于一身,因此,深入研究每种技术背后的原理,不断改进方法的缺陷是发展技术到实际应用的必经之路。表 3 对于快速检测方法的性能进行了简单的比较。由表 3 可以看出,每种检测方法都可以获得较好的检测灵敏度,但如何提升传感器的检测稳定性和准确性是研究的重要方向。

4 结束语

因其快速、灵敏和便于携带等系列优势,生物传感检测技术正在成为检测食品中重金属污染的重要方法,在食品安全的现场快速检测中发挥重要的作用。随着纳米材料越来越多的结合到生物传感器中,检测方法的各种性能(灵敏度、特异性、重现性)得到了很大提升,同时还可以灵活设计不同信号(光、电、磁)检测模式,连接信息技术和生物技术应用到临床诊断、食品分析、环境保护、生物芯片等领域,具有广阔的应用前景。

现阶段,生物传感检测技术的研究主要集中在实现更灵敏的策略设计上,如何利用好传感器本身的灵活性,开发稳定准确的检测方法在实际应用中至关重要。从未来发展来看,实现检测功能多样化、微型化、智能集成化是研究者不变的主题,然而,技术的变革和发展永远离不开材料的应用,因此,结合新型功能纳米材料发展实用的生物传感检测技术是未来研究的主旋律。

表 3 不同生物传感检测方法的性能比较
Table 3 Comparison of the performance among various biosensors

方法类型	灵敏度	检出限	优缺点	文献参考
荧光传感器	绝大部分元素灵敏度较高	Hg ²⁺ : 1.06 μg/L; Hg ²⁺ : 0.66 μg/L; Co ²⁺ 、Fe ³⁺ 、Hg ²⁺ 、Pb ²⁺ : 5.70、3.45、 7.92、7.69 μg/L; Hg ²⁺ 、Cu ²⁺ 、Fe ³⁺ : 2.01、0.64、0.56 μg/L	优点: 较高的选择性和较宽的检测范, 响应速度快、灵敏度高 缺点: 分子相互之间会有荧光猝灭会干扰金属离子的测定	[24–27]
SERS 传感器	绝大部分元素灵敏度较高	Pb ²⁺ : 0.21 ng/L; Cu ²⁺ : 0.051 μg/L	优点: 较高的灵敏度和良好的选择性 缺点: 很难控制纳米粒子的尺寸和稳定性	[30–31]
电化学传感器	绝大部分元素灵敏度较高	Cd ²⁺ 、Pb ²⁺ : 0.3、0.4 mg/L; Hg ²⁺ 、Pb ²⁺ 、Cd ²⁺ 、Cu ²⁺ : 0.40、0.31、 2.25、0.44 μg/L; Zn ²⁺ 、Cd ²⁺ 、Pb ²⁺ : 0.11、0.08、0.07 μg/L; Ag ⁺ 、Hg ²⁺ : 0.37、0.34 μg/L; Hg ²⁺ : 4.61 ng/L	优点: 灵敏度高, 具有较低的检出限, 抗干扰能力强和回收率高 缺点: 传感器再生困难、响应时间长	[33–37]
FET 传感器	对于特定元素灵敏度较高	Hg ²⁺ : 8.02 μg/L; Pb ²⁺ : 1 μg/L	优点: 灵敏、响应时间短, 选择性高 缺点: 价格高, 一般只做单个金属的检测	[40–41]
比色传感器	对于特定元素灵敏度较高	Hg ²⁺ : 0.28 ng/L; Cu ²⁺ : 0.016 mg/L	优点: 灵敏, 具有简便、省时的优点 缺点: 背景清洗不可控	[43–44]
微流控光学传感器	对于特定元素灵敏度较高	As ³⁺ 、Hg ²⁺ : 224、3.4 μg/L	优点: 结构简单、成本低、可移植性好、试剂用量少 缺点: 识别物质具有容易失活以及实验操作条件苛刻	[45]

参考文献

- [1] 王智斌, 魏万鸿. 食品中重金属污染危害分析与其检测方法研讨[J]. 现代食品, 2020, (24): 219–221.
WANG ZB, WEI WH. Hazard analysis of heavy metal pollution in food and discussion on its detection method [J]. Mod Food, 2020, (24): 219–221.
- [2] 杨红本, 杨凡, 胡赠彬, 等. 食品中无机元素分析方法研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(10): 243–251.
YANF HB, YANG F, HU ZB, *et al.* Advances in methods for the analysis of inorganic elements in food [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(10): 243–251.
- [3] WU L, ZHU L, MA J, *et al.* DNA enzyme mediated ratiometric fluorescence assay for Pb(II) ion using magnetic nanosphere-loaded gold nanoparticles and CdSe/ZnS quantum dots [J]. Microchim Acta, 2020, 187(5): 1–9.
- [4] 刘晔. 食品中重金属污染危害及其检测方法[J]. 云南化工, 2020, 47(2): 64–65.
LIU Y. Study on the harm of heavy metal pollution in food and its detection method [J]. Yunnan Chem Technol, 2020, 47(2): 64–65.
- [5] WU L, WANG Y, ZHOU S, *et al.* Enzyme-induced Cu²⁺/Cu⁺ conversion as the electrochemical signal for sensitive detection of ethyl carbamate [J]. Anal Chim Acta, 2021, 1151: 338256–338261.
- [6] WU L, ZHOU M, LIU C, *et al.* Double-enzymes-mediated Fe²⁺/Fe³⁺ conversion as magnetic relaxation switch for pesticide residues sensing [J]. J Hazard Mater, 2021, 403: 123619–123626.
- [7] SIVAKUMAR R, LEE NY. Recent progress in smartphone-based techniques for food safety and the detection of heavy metal ions in environmental water [J]. Chemosphere, 2021, 275: 130096–130111.
- [8] 陈杰祺, 潘凯波, 吕晓丹, 等. 碳点对重金属离子检测的研究进展[J]. 分子科学学报, 2021, 37(6): 471–482.
CHEN JQ, PAN KB, LV XD, *et al.* Research progress on the detection of heavy metal ions by carbon dots [J]. J Mol Sci, 2021, 37(6): 471–482.
- [9] 赵意娜, 孙飞燕. 食品中重金属元素检测方法研究进展[J]. 现代农业科技, 2018, (1): 239–240.
ZHAO YN, SUN FY. Research progress in the detection methods of heavy metal elements in food [J]. Mod Agric Sci Technol, 2018, (1): 239–240.
- [10] 刘歌, 王全红, 毕振冬. 食品中重金属检测技术研究[J]. 食品界, 2017, (9): 75.
LIU G, WANG QH, BI ZD. Research on heavy metal detection technology in food [J]. Food Ind, 2017, (9): 75.
- [11] 高兆建, 王先凤, 尚业成, 等. 绿色木霉耐高温葡萄糖氧化酶的特性分析[J]. 食品科学, 2019, 40(14): 153–159.
GAO ZJ, WANG XF, SHANG YC, *et al.* Characterization of high-temperature resistant glucose oxidase from green wood moulds [J]. Food Sci, 2019, 40(14): 153–159.
- [12] MITRA S, CHAKRABORTY AJ, TAREQ AM, *et al.* Impact of heavy

- metals on the environment and human health: Novel therapeutic insights to counter the toxicity [J]. *J King Saud Univ Sci*, 2022, 3(34): 101865–101885.
- [13] WANG L, PENG X, FU H, *et al.* Recent advances in the development of electrochemical aptasensors for detection of heavy metals in food [J]. *Biosens Bioelectron*, 2020, 147: 111777–111786.
- [14] GONG Z, CHAN HT, CHEN Q, *et al.* Application of nanotechnology in analysis and removal of heavy metals in food and water resources [J]. *Nanomaterials*, 2021, 11(7): 1792–1801.
- [15] 徐鲁翔. 食品重金属元素检测中不同仪器的应用研究[J]. *现代食品*, 2022, 28(7): 103–105.
XU LX. Study on the application of different instruments in the detection of heavy metal elements in food [J]. *Mod Food*, 2022, 28(7): 103–105.
- [16] 刘腾飞, 董明辉, 杨代凤, 等. 茶叶质量安全主要化学影响因素分析方法研究进展[J]. *食品科学*, 2018, (9): 310–325.
LIU TF, DONG MH, YANG DF, *et al.* Research progress on the analysis methods of the main chemical influencing factors of tea quality and safety [J]. *Food Sci*, 2018, (9): 310–325.
- [17] GUO Y, ZHAO H, HAN Y, *et al.* Simultaneous spectrophotometric determination of trace copper, nickel, and cobalt ions in water samples using solid phase extraction coupled with partial least squares approaches [J]. *Spectrochim Acta A*, 2016, 173: 532–536.
- [18] PRKIĆ A, JURIĆ A, GILJANOVIĆ J, *et al.* Monitoring content of cadmium, calcium, copper, iron, lead, magnesium and manganese in tea leaves by electrothermal and flame atomizer atomic absorption spectrometry [J]. *Chemistryopen*, 2017, 15(1): 200–207.
- [19] ZHONG WS, REN T, ZHAO LJ. Determination of Pb (lead), Cd (cadmium), Cr (chromium), Cu (copper), and Ni (nickel) in Chinese tea with high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry [J]. *J Food Drug Anal*, 2016, 24(1): 46–55.
- [20] DENG X, LI R, DENG S. Determination of the total content of arsenic, antimony, selenium and mercury in Chinese herbal food by chemical vapor generation-four-channel non-dispersive atomic fluorescence spectrometry [J]. *J Fluoresc*, 2020, 30(4): 949–954.
- [21] MANOUSI N, ZACHARIADIS GA. Development and validation of an ICP-AES method for the determination of toxic and nutrient metals in candies: Application for the analysis of different samples from the Greek market [J]. *Appl Sci*, 2021, 11(22): 10599–10608.
- [22] 李雅萌, 王亚茹, 杨娜, 等. ICP-MS测定鱼腥草中14种重金属元素[J]. *特产研究*, 2018, 40(1): 32–35.
LI YM, WANG YR, YANG N, *et al.* Determination of 14 heavy metal elements in *Cichlidium perfringens* by ICP-MS [J]. *Spec Res*, 2018, 40(1): 32–35.
- [23] DING SY, DONG M, WANG YW, *et al.* Thioether-based fluorescent covalent organic framework for selective detection and facile removal of mercury (II) [J]. *J Am Chem Soc*, 2016, 138(9): 3031–3037.
- [24] NEUPANE LN, OH ET, PARK HJ, *et al.* Selective and sensitive detection of heavy metal ions in 100% aqueous solution and cells with a fluorescence chemosensor based on peptide using aggregation-induced emission [J]. *Anal Chem*, 2016, 88(6): 3333–3340.
- [25] HU X, WANG W, HUANG Y. Copper nanocluster-based fluorescent probe for sensitive and selective detection of Hg²⁺ in water and food stuff [J]. *Talanta*, 2016, 154: 409–415.
- [26] YARUR F, MACAIRAN JR, NACCACHE R. Ratiometric detection of heavy metal ions using fluorescent carbon dots [J]. *Environ Sci Nano*, 2019, 6: 1121–1130.
- [27] WANG Z, XU C, LU Y, *et al.* Fluorescence sensor array based on amino acid derived carbon dots for pattern-based detection of toxic metal ions [J]. *Sens Actuators B-Chem*, 2017, 241: 1324–1330.
- [28] ZOU C, FODA MF, TAN X, *et al.* Carbon-dot and quantum-dot-coated dual-emission core-satellite silica nanoparticles for ratiometric intracellular Cu²⁺ imaging [J]. *Anal Chem*, 2016, 88(14): 7395–7403.
- [29] TAN L, CHEN Z, ZHAO Y, *et al.* Dual channel sensor for detection and discrimination of heavy metal ions based on colorimetric and fluorescence response of the AuNPs-DNA conjugates [J]. *Biosens Bioelectron*, 2016, 85: 414–421.
- [30] XU Z, ZHANG L, MEI B, *et al.* A rapid surface-enhanced Raman scattering (SERS) method for Pb²⁺ detection using L-cysteine-modified Ag-coated Au nanoparticles with core-shell nanostructure [J]. *Coatings*, 2018, 8(11): 394.
- [31] LI N, YE J, MA Y. Stimuli-responsive SERS nanoprobe for multiplexing detection [J]. *Sens Actuators B-Chem*, 2019, 281: 977–982.
- [32] 饶钧玥, 吴任之, 曹芸榕, 等. 基于酶的电化学生物传感器在食品检测中应用的研究进展[J/OL]. *食品与发酵工业*: 1-10. [2022-09-09]. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.030074
RAO JY, WU RZ, CAO YR, *et al.* Research progress on the application of enzyme-based electrochemical biosensors in food detection [J]. *Food Ferment Ind*: 1-10. [2022-09-09]. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.030074
- [33] QIN D, XU R, SHEN H, *et al.* Protic salt-based nitrogen-doped mesoporous carbon for simultaneous electrochemical detection of Cd (II) and Pb (II) [J]. *RSC Adv*, 2017, 7(59): 36929–36934.
- [34] LU M, DENG Y, LUO Y, *et al.* Graphene aerogel-metal-organic framework-based electrochemical method for simultaneous detection of multiple heavy-metal ions [J]. *Anal Chem*, 2018, 91(1): 888–895.
- [35] LEE S, OH J, KIM D, *et al.* A sensitive electrochemical sensor using an iron oxide/graphene composite for the simultaneous detection of heavy metal ions [J]. *Talanta*, 2016, 160: 528–536.
- [36] MIAO P, TANG Y, WANG L. DNA modified Fe₃O₄@Au magnetic nanoparticles as selective probes for simultaneous detection of heavy metal ions [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9(4): 3940–3947.
- [37] LI Y, CHANG Y, MA J, *et al.* Programming target-initiated bifunctional DNzyme nanodevice for sensitive ratiometric electrochemical biosensing [J]. *Anal Chem*, 2019, 91: 6127–6133.
- [38] VEERAKUMAR P, VEERAMANI V, CHEN SM, *et al.* Palladium

- nanoparticle incorporated porous activated carbon: Electrochemical detection of toxic metal ions [J]. *ACS Appl Mater Interf*, 2016, 8(2): 1319–1326.
- [39] AVUTHU SGR, WABEKE JT, NARAKATHU BB, *et al.* A screen printed phenanthroline-based flexible electrochemical sensor for selective detection of toxic heavy metal ions [J]. *IEEE Sens J*, 2016, 16(24): 8678–8684.
- [40] TU J, GAN Y, LIANG T, *et al.* Graphene FET array biosensor based on ssDNA aptamer for ultrasensitive Hg^{2+} detection in environmental pollutants [J]. *Front Chem*, 2018, 6: 333.
- [41] MAITY A, SUI X, TARMAN CR, *et al.* Pulse-driven capacitive lead ion detection with reduced graphene oxide field-effect transistor integrated with an analyzing device for rapid water quality monitoring [J]. *ACS Sens*, 2017, 2(11): 1653–1661.
- [42] CHANG J, PU H, WELLS SA, *et al.* Semi-quantitative design of black phosphorous field-effect transistor sensors for heavy metal ion detection in aqueous media [J]. *Mol Syst Des Eng*, 2019, 4: 491–502.
- [43] LIU X, WU Z, ZHANG Q, *et al.* Single gold nanoparticle-based colorimetric detection of picomolar mercury ion with dark-field microscopy [J]. *Anal Chem*, 2016, 88(4): 2119–2124.
- [44] MOHAMMADNEIAD M, SHIRI M, HEYDARI M, *et al.* A novel high selective colorimetric chemosensor for determination of copper in food samples: Visual detection [J]. *Chem Select*, 2020, 5(43): 13690–13693.
- [45] MOTALEBIZADEH A, BAGHERI H, ASIAEI S, *et al.* New portable smartphone-based PDMS microfluidic kit for the simultaneous colorimetric detection of arsenic and mercury [J]. *RSC Adv*, 2018, 8(48): 27091–27100.
- [46] WU L, LI G, XU X, *et al.* Application of nano-ELISA in food analysis: Recent advances and challenges [J]. *TrAC-Trend Anal Chem*, 2019, 113: 140–156.
- [47] ZOU S, CUI G, LIU L, *et al.* Development of IC-ELISA and an immunochromatographic strip assay for the detection of methylmercury [J]. *Food Agric Immunol*, 2017, 28(4): 699–710.
- [48] WU L, WANG Y, ZHOU S, *et al.* Enzyme-induced Cu^{2+}/Cu^{+} conversion as the electrochemical signal for sensitive detection of ethyl carbamate [J]. *Anal Chim Acta*, 2021, 1151: 338256.
- [49] WU L, ZHANG C, LONG Y, *et al.* Food additives: From functions to analytical methods [J]. *Crit Rev Food Sci*, 2021, 61: 1–21.
- [50] WU L, XIANYU Y, WANG Z, *et al.* Amplified magnetic resonance sensing via enzyme-mediated click chemistry and magnetic separation [J]. *Anal Chem*, 2019, 91(24): 15555–15562.

(责任编辑: 张晓寒 郑 丽)

作者简介



魏 静, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品检验与研究。
E-mail: weijing0128@126.com



吴 龙, 博士, 副教授, 主要研究方向为热带农产品质量与安全检测和快速检测方法和原理的研究。
E-mail: longquan.good@163.com