

表面增强拉曼光谱技术在果蔬真菌毒素残留检测中的研究进展

胡泽轩, 马倩云, 苏心悦, 张 凡, 孙剑锋, 王文秀*

(河北农业大学食品科技学院, 保定 071000)

摘 要: 果蔬在采摘后的加工、贮藏、运输等环节中易受到环境中微生物的污染, 造成果蔬腐败变质, 其中部分产毒真菌在增殖过程中会产生大量真菌毒素, 给消费者身心健康造成了严重威胁, 因此建立快速、准确的真菌毒素检测方法对保证果蔬品质安全至关重要。近年来, 表面增强拉曼光谱技术(surface-enhancement Raman spectroscopy, SERS)因具有高灵敏性、快速性、无破坏性、不受水分干扰等优点备受关注。本文阐述了 SERS 概况和增强机制, 对 SERS 检测果蔬真菌毒素领域常用的金属溶胶基底和固体复合基底进行了简单介绍, 以检测方法、基底制备技术、检测结果和遗留问题为切入点强调了 SERS 对不同果蔬食品真菌毒素痕量检测的应用, 并介绍了 SERS 在真菌毒素检测领域的应用前景和局限性, 对现有问题提出了解决思路, 旨在为今后 SERS 应用于真菌毒素检测领域提供帮助。

关键词: 表面增强拉曼光谱技术; 真菌毒素; 果蔬; 快速检测

Research progress on mycotoxin residues in fruits and vegetables by surface-enhanced Raman spectroscopy

HU Ze-Xuan, MA Qian-Yun, SU Xin-Yue, ZHANG Fan, SUN Jian-Feng, WANG Wen-Xiu*

(College of Food Science and Technology, Hebei Agricultural University, Baoding 071000, China)

ABSTRACT: Fruits and vegetables are easy to be polluted by microorganisms in the environment during processing, storage, transportation and other links after picking, resulting in the deterioration of fruits and vegetables. Some of the toxin producing fungi will produce a lot of mycotoxins during the proliferation process, posing a serious threat to the physical and mental health of consumers. Therefore, it is crucial to establish a rapid and accurate mycotoxin detection method to ensure the quality and safety of fruits and vegetables. In recent years, surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) has attracted much attention due to its high sensitivity, rapidity, non destructiveness, and non water interference. This paper described the general situation and enhancement mechanism of SERS, briefly introduced the metal sol substrate and solid composite substrate commonly used in the field of SERS detection of fruit and vegetable mycotoxins, emphasized the application of SERS to trace detection of mycotoxins in different

基金项目: 河北省重点研发计划项目(20327111D)、研究生教育质量提升-在读研究生创新项目(2022/1009209)、河北农业大学引进人才科研专项(YJ201950)、国家自然科学基金项目(32001732)

Fund: Supported by the Hebei Province Key Research and Development Plan Project (20327111D), the Improvement of Postgraduate Education Quality-innovation Project for Undergraduate Postgraduates (2022/1009209), the Hebei Agricultural University Introduced Talent Research Project (YJ201950), and the National Natural Science Foundation of China (32001732)

***通信作者:** 王文秀, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品快速无损检测技术及装备研究。E-mail: godlovexiu@126.com

***Corresponding author:** WANG Wen-Xiu, Ph.D, Associate Professor, College of Food Science and Technology, Hebei Agricultural University, Baoding 071000, China. E-mail: godlovexiu@126.com

fruit and vegetable foods, and introduced the application prospects and limitations of SERS in the field of mycotoxins detection, starting with detection methods, substrate preparation technology, detection results and remaining problems. This paper proposed the solutions to the existing problems, aiming to provide help for the application of SERS in the field of mycotoxin detection in the future.

KEY WORDS: surface-enhancement Raman spectroscopy; mycotoxin; fruits and vegetables; rapid detection

0 引言

食品安全问题是重大的民生问题,与人类的身体健康与生命安全密切相关,在近些年报道的食品安全事件中,由真菌毒素污染造成的食品安全问题极为严重。真菌毒素由产毒真菌代谢产生,是一种次级代谢产物,广泛存在于水果、蔬菜和谷物及其加工制品中,会对人体造成各种损害^[1-2]。截至目前,已有超过 400 种真菌毒素被发现,其中黄曲霉毒素(aflatoxin, AF)、赭曲霉毒素 A (ochratoxin A, OTA)、棒曲霉毒素(patulin, PAT)、交链孢霉毒素(alternariol, AOH)、脱氧雪腐镰刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON)等毒性较强^[3-4]。消费者在误食被真菌毒素污染的食品后,会引起急性或慢性食物中毒,严重危害其身心健康。果蔬类食品含有较多的营养物质,同时因水分含量和含糖量高,在运输、加工、贮藏过程中极易受到病原菌污染,产生真菌毒素残留,其中以 PAT、AOH、OTA 等毒素残留最为常见。病原菌侵染果蔬并产生真菌毒素,导致果蔬腐败变质是一个由内向外的过程,因此在病原菌侵染果蔬初期,很难通过肉眼透过果蔬表面,将被污染果实与健康果实区分开。此外,利用现有的加工工艺很难去除果蔬中残留的真菌毒素,因此建立一种高效、灵敏、可满足现场快速检测要求的果蔬真菌毒素残留检测方法,对监测、预防和控制果蔬采后发生毒素污染、保障农产品安全、降低经济损失、推动果蔬加工产业发展有重大意义。

目前对果蔬中真菌毒素残留的检测技术主要有色谱-质谱法^[5]、紫外检测法、免疫学方法(酶联免疫吸附法、免疫胶体金技术)^[6-7]和生物传感器法^[8]等。然而,这些方法往往需要专业人员操作,且费时费力,结果易受干扰,无法满足现场快速检测的要求,不适用于大量样本的快速筛查,在实际应用中有一定的局限性。

近年来,光谱技术在食品安全检测领域发展迅速,其中表面增强拉曼光谱(surface-enhancement Raman spectroscopy, SERS)技术因其检测速度快、成本低廉的优势被广泛研究^[9]。与传统检测方法相比, SERS 具有灵敏度高、受水和荧光背景影响小、不需要对样品进行复杂的前处理、能够实现现场无损检测等优点^[10-12],在食品添加剂检测、农兽药残留检测、食品中病原菌检测等方面有了较为广泛的应用^[13-15]。目前已有多个国家和研究团队开展了利用 SERS 对果蔬中真菌毒素残留的研究,包括中国、印度、美国、俄罗斯等,

国内中国农业大学、江南大学、华南理工大学、浙江大学等单位开展了相关研究^[16-18],但尚缺乏系统性报道。因此本文对近几年来这一领域的发展进行综述,重点介绍 SERS 的增强机制、SERS 基底,综述了利用 SERS 检测果蔬中真菌毒素残留的研究进展,并提出了亟待解决的问题,旨在为今后 SERS 在真菌毒素检测领域的应用提供帮助。

1 表面增强拉曼光谱技术

1.1 表面增强拉曼光谱技术概述

当光子与分子发生弹性碰撞时,电子完全回到激发态前的状态 E_0 ,只改变方向,散射光频率等于入射光,这种现象称为瑞利散射;当光子与分子发生非弹性碰撞时,电子吸收能量,由虚态跃迁至激发态 $E_0+h\nu_m$,散射光频率小于入射光频率,称为斯托克斯散射;电子在激发态激发,跃迁至虚态的部分,称为反斯托克斯散射(图 1)。散射光与入射光频率的差值为拉曼位移,拉曼位移只与分子的振动方式有关,对于同种物质,它的拉曼位移是确定的,不会随着入射光频率的改变而改变^[19],因此,拉曼光谱具有识别物质结构和组成成分的指纹特性^[17],但在自然状态下,拉曼光谱的信号非常微弱,且容易受到样品中其他组分的影响,导致检测结果出现偏差,因此在实际应用中需要对拉曼光谱进行信号增强^[20]。

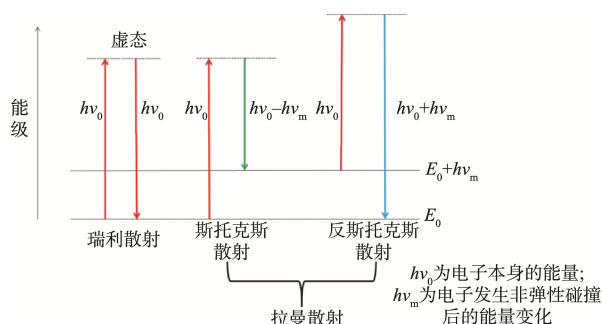


图 1 拉曼散射能级跃迁示意图

Fig.1 Schematic diagram of Raman scattering energy level transition

SERS 是一种通过贵金属纳米结构增强拉曼信号的振动光谱技术,最早发现于 20 世纪 70 年代,经过 40 多年的研究,目前普遍认为 SERS 信号的增强是由电磁增强效应和化学增强效应协同作用的结果,其中电磁效应占主导地

位。电磁增强主要通过局域表面等离子共振效应(localized surface plasmon resonance, LSPR)产生^[21-22]。在入射光的激发下, 贵金属表面周围的电子会产生相关振动, 导致金属表面电磁场增强(图 2)。由于 LSPR 效应是入射光照射到纳米金属表面, 导致照射区域电场增强产生, 因此金属纳米材料的几何结构、表面特性以及聚集程度会对 SERS 的电磁增强效应产生较大影响^[23-24]。化学增强主要来源于化学吸附作用、电子/空穴对和吸附分子之间的耦合效应以及电荷转移效应, 研究表明, 化学增强效果较差, 只有约 100 倍^[25-26]。此外还有研究表明减小待测分子与纳米结构表面的距离可以提高 SERS 的增强效果^[27]。

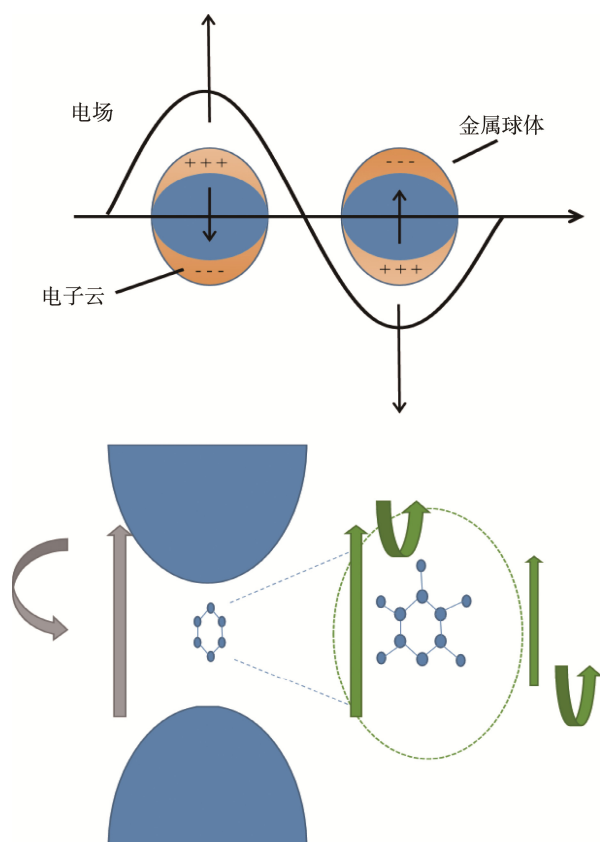


图 2 粗糙金属表面自由电子产生的 LSPR 效应

Fig.2 LSPR effect produced by free electrons on rough metal surface

1.2 SERS 基底制备

SERS 的核心是制备优良的增强基底, 性能优良的基底应具有较好的重复性、稳定性、荧光背景小、制备方法简单等优点^[28], 在利用 SERS 检测果蔬中真菌毒素残留的研究中, 胶体基底和固体基底应用较为广泛。

在不同贵金属制备的胶体基底中, 以金、银为原材料制备的金属纳米颗粒是最常用的 SERS 基底, 多采用氧化还原法、种子生长法、电化学沉积法等制备形状各异的纳米粒子, 如: 球形、棒状、核壳结构等^[29]。其中球状银纳米颗粒(silver nanoparticles, AgNPs)具有更高的 SERS 活性,

且制备方法简单, 但容易聚集和氧化; 金纳米球颗粒(gold nanoparticles, AuNPs)的生物兼容性和稳定性较好。具有核壳结构的纳米颗粒主要是利用 AuNPs 和 AgNPs 等单个纳米颗粒组合和利用聚乙烯吡咯烷酮(polyvinyl pyrrolidone, PVP)等试剂制备, 稳定性更强, 例如 HUSSAIN 等^[26]制备的 Au@AgNPs 基底, 同时具有稳定性强和对 SERS 信号增强效果好的优点, 将检出限(limit of detection, LOD)降低至皮克级别, 同时实验结果有较好的重复性。此外, 由于异形纳米颗粒边缘具有大量热点区域, 能够显著增强 SERS 信号, 因此在应用 SERS 检测真菌毒素领域也有一定的应用^[30-32]。与胶体基底相比, 固体基底具有良好的重复性和稳定性, 但制备难度较大。目前阳极氧化铝(anodized aluminum oxide, AAO)模板由于其具有接触面积大和成本低等优点, 应用较为广泛, 例如 LI 等^[33]利用被聚二甲基硅氧烷包覆的 AAO 为模板, 在其表面溅射 AuNPs 制备了一种 3D SERS 基底, 该基底在最佳条件下具有较高的增强因子 (2.2×10^6) 和优异的增强均匀性(相对标准偏差为 4.57%)。同时, 还有一些性能优良的固体基底如微阵列金基底、聚对苯二甲酸乙炔酯(polyvinyl terephthalate, Au/PET)纳米柱阵列等, 可以同时分析多个目标分子, 并适用于高通量 SERS 标记分析, 例如 LU 等^[34]报道了一种简单而有效的空气-水界面化学交联方法, 该方法可实现大规模的单分子层金纳米颗粒膜, 具有纳米间隙大小可智能调节、良好的独立式和易于转移的性能。固体 SERS 基底的出现缓解了传统溶胶基底易团聚、稳定性差、易受样品基质影响的问题, 为后续新型基底的开发提供了实验和理论依据。

2 SERS 在检测水果真菌毒素中的应用

长期以来, 水果采后的病害腐败是困扰果农以及食品企业的主要问题, 除了影响经济效益外, 水果被致病菌污染后还会造成真菌毒素残留的问题, 给农产品安全带来了问题, 严重阻碍了水果产业的发展^[35-36], 因此建立一种便捷、快速、准确的检测方法对促进果蔬产业发展具有十分重要的意义。导致水果真菌残留的致病菌主要包括青霉菌属(*Penicillium*)、曲霉属(*Aspergillus*)、链格孢属(*Alternaria*)、葡萄孢属(*Botrytis*)、镰刀菌属(*Fusarium*)等^[37-38]。目前已有学者开展了利用 SERS 检测水果中真菌毒素残留的研究, 如利用 SERS 指纹识别技术, 准确获得不同真菌毒素的拉曼光谱, 并通过对比特征峰条带分布, 判断水果中是否含有真菌毒素; 此外, 部分学者还通过制备 SERS 标签即基于抗体和适配体能够与靶分子进行特异性识别的特性, 实现了对真菌毒素的特异性识别^[39-40]。两种检测技术都有其优点与局限性(表 1), 在实际应用中应根据实际情况选择不同的检测技术。

表 1 SERS 指纹识别技术与 SERS 标记技术的优缺点比较

Table 1 Comparison of advantages and disadvantages of SERS fingerprint identification technology and SERS marking technology			
检测方法	特点	优点	局限性
SERS 指纹识别技术	基于活性 SERS 基底与目标分子紧密结合的原理, 以增强拉曼信号并获得独特光谱特性	对非极性基团敏感 (C=C、S-S、C-C 等)	拉曼信号较弱
		能够实现高通量检测	对 SERS 基底有高度依赖性
SERS 标记技术	检测机制分为竞争性和非竞争性, 竞争性检测适用于只有一个结合位点的目标分子检测, 非竞争性检测适用于分析两个或多个结合位点的大分子检测	检测程序简单	需要应用化学计量学方法对结果进行预测分析
		能够识别大多数真菌毒素	只有少数识别元件可用
		灵敏度高	检测成本较高
		产生的拉曼信号强且稳定, 具有良好的重复性	SERS 传感器需要进行复杂的准备工作

2.1 苹果及其制品

苹果中含有大量营养物质, 被誉为“水果之王”, 深受消费者喜爱, 然而在加工、贮藏、运输过程中, 苹果及其加工制品容易受到青霉属真菌和链格孢属真菌的侵染, 产生 PAT 和 AOH 等真菌毒素^[41]。此外, 在实际生产过程中, 会有部分不法商家将腐烂部分去除后加工成果汁、果酱等产品另行出售^[42], 其中含有残留的真菌毒素会严重危害消费者身心健康。因此, 开展对苹果及其制品中真菌毒素的快速无损检测研究十分重要。

目前基于 SERS 对苹果中 AOH 和 PAT 检测的研究主要集中在开发新的样品前处理技术以及制备新型增强基底两方面。GUO 等^[43]结合化学计量学和咖啡环效应开发了一种无标记的 SERS 方法, 对咖啡环的形状和富集效果进行了优化, 并通过比较咖啡环不同的液滴体积和干燥温度, 合成了增强效果好的金纳米棒(gold nanorods, AuNRs)底物(图 3), 最终实现了苹果及其制品中 PAT 和 AOH 的高通量检测, LOD 均为 1 μg/L。该方法样品处理简单, 能够满足现场快速检测的需要。同时在此研究中, 通过回收率实验验证了 SERS 方法定量检测的准确性和重复性。近年来在新型基底制备方面, 常常将分子印迹技术与 SERS 结合, ZHANG 等^[44]以锰掺杂的硫化锌量子点为载体, 利用分子印迹聚合物(molecular imprinting polymers, MIP)在其表面印记 PAT, 结合磷光技术实现了苹果汁中 PAT 的灵敏检测, LOD 为 0.32 μmol/L, 该方法为 SERS 检测复杂基质中的 PAT 提供了新策略。此外, KANG 等^[28]开发出了一种 SERS 探针, 利用 PAT 与 4-巯基苯甲酸(4-mercaptopbenzoic acid, 4-MBA)能够发生特异性化学反应形成新化合物的原理, 以金纳米双锥体为 SERS 基底, 实现了对苹果汁中 PAT 的间接定量分析, LOD 为 0.6×10⁻⁵ g/L。

目前利用 SERS 检测苹果及其制品中真菌毒素已取得良好进展, 但由于苹果中存在多种营养物质, 其官能团会对实验结果产生一定影响, 实验结果的可重复性及准确性将会降低, 后续学者可基于此, 研发新型固体基底, 以提高实验结果的准确性和重复性。

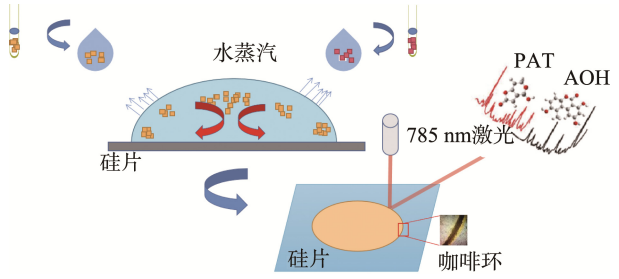


图 3 基于咖啡环效应的 SERS 对 PAT 和 AOH 进行高通量无标记检测示意图^[43]

Fig.3 Schematic diagram of high-throughput label free detection of PAT and AOH by SERS based on coffee ring effect^[43]

2.2 梨及其制品

梨由于其皮薄多汁, 营养物质含量丰富, 在储运及加工过程中, 很容易受到链格孢属真菌的侵染导致黑斑病^[45], 造成 AOH 残留, 给消费者身心健康造成较大危害, 因此开展对梨及其制品中真菌毒素残留检测的研究十分必要。目前检测梨及其制品中真菌毒素残留的方法主要是高效液相色谱法、质谱法、聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)以及一些免疫学方法等^[46], 但这些方法往往需要专业人员进行操作, 且会破坏样品, 无法满足实际生产中快速无损检测的需求。

目前已有学者利用 SERS 开展了对梨及其制品中 AOH 残留的检测, 研究重点主要是对 SERS 基底的修饰, 例如 PAN 等^[47]借助吡啶修饰 AgNPs 溶胶基底成功实现香梨果实中 AOH 的快速检测, 研究表明采用吡啶修饰 AgNPs 可以很好地解决 AOH 在 AgNPs 上吸附性差的问题, 经过吡啶修饰的 AgNPs 在检测梨中 AOH 时, LOD 可以达到 1.30 μg/L, 另外该研究使用 HPLC 验证了结果的准确性, 其结果与 SERS 分析得到的结果相一致, 因此 SERS 可成为梨果实和其他农产品中快速检测交链孢酚的新工具。

利用 SERS 检测梨及其制品中真菌毒素残留的研究较少, 后续学者可基于开发新型基底、选择合适样品预处理方法等角度, 对梨及其制品中 AOH 残留的检测进行深入

研究;此外 PAT 在梨及其制品中也较为常见,后续学者应开发出不同适用于检测梨及其制品中 PAT 残留的增强基底,以实现梨及其制品中真菌毒素残留的预防。

2.3 葡萄及其制品

由于葡萄中可溶性固形物含量高,果皮薄嫩,在采后的运输储藏过程中很容易被霉菌污染,常见的致病菌主要有赭曲霉属、青霉属、炭黑曲霉等^[48],产生的主要真菌毒素为赭曲霉毒素 A,会对人体肾、神经系统以及免疫系统造成损伤,随着国内外关于葡萄及其制品被曲霉毒素污染的报道逐渐增多,葡萄的真菌毒素污染问题也越来越被重视。

目前基于 SERS 检测葡萄及其制品中真菌毒素残留的研究主要集中在新型基底开发上,SONG 等^[49]设计了一种基于 SERS 的赭曲霉毒素 A 适体传感器,该研究利用了 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Au}$ 磁性纳米颗粒和 2-硝基苯甲酸合成了拉曼信号探针,在最佳条件下,基于 3σ 准则,OTA 的 LOD 为 0.48 pg/mL,通过评估葡萄酒和咖啡的加标样品,证实了该测定的良好回收率和准确性。ROSTAMI 等^[50]为了检测葡萄酒样品中的 OTA,开发了将 SERS 与高通量支撑液膜萃取法相结合的方法,LOD 为 115 $\mu\text{g/mL}$,该法具有成本较低、方便快捷、灵敏度高的优势,是实现 OTA 现场快速无标记检测的重要一步。此外 ROJAS 等^[51]基于液-液萃取的方法,通过酸化样品,添加氯仿作为分离溶剂提取葡萄酒中的 OTA,通过该方法提取到的 OTA 有着更均匀的纳米颗粒分布,更便于基底与 OTA 分子的结合,同时在利用 SERS 采集光谱时,基于咖啡环的富集效应,增加了待测物质的浓度,证明了基质对 SERS 分析的积极影响,同时该技术避免了复杂、烦琐的提取、净化程序,减少了时间和成本,是开发更快和成本效益高的现场霉菌毒素检测方法的重要突破。

目前学者们在利用 SERS 检测葡萄及其制品中真菌毒素残留领域,主要集中于对葡萄酒中 OTA 的检测,而缺少对葡萄果实及其他葡萄制品中真菌毒素残留的研究,此外葡萄酒作为一种复杂基质,含有的多种分子会对检测结果的准确性产生影响,如何减小或避免这些分子对实验结果造成的影响,将成为下一阶段学者需要解决的问题。

2.4 柑橘及其制品

柑橘果皮薄嫩多汁,在储运和加工过程中很容易受到机械损伤,导致柑橘容易被致病菌侵染。目前造成柑橘及其制品腐败变质的病原菌主要为青霉属和葡萄孢属真菌,这些致病菌会产生展青霉素(patulin, PAT)、葡双醛毒素(botrydial)和葡萄球菌肠毒素等,严重危害食用者的身体健康。

目前国内外关于利用 SERS 检测柑橘及其制品中真菌毒素残留的研究主要集中于利用纳米技术合成新型基底,例如 JIA 等^[52]开发了一种基于 SiO_2 的 SERS-LFIA 生物传感器并制备了一种 SiO_2/AuNP 的纳米标签,用于检测橘子汁中的葡萄球菌肠毒素,并提出了所述毒素特异性抗原

和抗体的优化方案,结果表明利用新型纳米材料检测橘汁的 LOD 为 0.05 ng/mL,特异性和重复性实验结果表明,该材料有良好的选择性和稳定性,且能够满足现场快速检测的需求;近年来在对增强基底的制备中,常常将分子印迹技术与 SERS 结合,WU 等^[53]基于 MIP 和 SERS,以 AuNPs 为底物,辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)为引发剂, PAT 为模板分子,4-乙烯基吡啶(4-vinylpyridine, 4-VP)为功能单体,1,4-二丙烯酰基哌嗪(1,4-diacryloylpiperazine, PDA)为交联剂制备了一种 MIP-ir-Au NP 传感器,在干扰物质的存在下能够保持较好的选择性,LOD 为 5.37×10^{-12} mol/L,此外,通过该方法制备的 MIPs-SERS 基底在实际果制品检测过程中也表现出了较高的准确度,在食品检测、环境监测等领域具有潜在的应用价值。利用 SERS 检测柑橘及其制品中真菌毒素残留的研究广度和深度仍然存在不足,利用 SERS 检测其他水果中真菌毒素残留研究中,有部分学者将 SERS 与传统仪器分析法结合后进行检测,后续学者可以此作为切入点进行深入研究。

3 SERS 在检测蔬菜毒素中的应用

随着人们生活水平的提高,消费观念逐渐从“吃得饱”向“吃得好”转变,人们对蔬菜的消费需求越来越高,在中国居民膳食平衡宝塔中,蔬菜位于第二层,人均日摄入量应该在 300~500 g。近年来由真菌感染导致的食品安全事件不断发生,人们对食品安全意识也迅速提高^[54]。新鲜蔬菜在切分后,大量水分和营养物质会外泄,导致致病微生物迅速繁殖,蔬菜中常见的致病微生物主要包括链格孢菌、青霉属和曲霉属中其他致病菌等^[55]。

截至目前,利用 SERS 检测蔬菜中真菌毒素残留的研究较少,主要集中在对新型基底的开发上,例如 YANG 等^[56]通过在聚甲基丙烯酸甲酯(polymethyl methacrylate, PMMA)模板上自组装均匀的 AuNRs 阵列层,制备了一种 AuNRs/PMMA 薄膜作为柔性 SERS 基底,这种基底能够包裹在非平面样品表面,突出其采集特性,实现了对黄瓜的实际检测。另外,由于蔬菜类食品中产毒真菌侵染层次较深,利用 SERS 无法采集到样品深层信息,导致无法有效判断样品是否被真菌毒素侵染。后续学者可基于增强拉曼信号的穿透性,开发性能更优良的基底,对光谱仪进行改善。

4 表面增强拉曼光谱技术检测果蔬真菌毒素领域局限性

SERS 对果蔬及其制品中真菌毒素的检测,首要的局限性便是样品中不同组分的影响问题,在一些复杂基质如苹果汁、葡萄酒中,存在一些杂质分子、离子会对 SERS 基底产生影响,此外在致病菌侵染果实的过程中,往往会产生多种毒素,不同毒素之间也会与基底结合,产生较强的

荧光背景, 导致待测物与基底的结合受到干扰, 这也是在实际应用中很难得到稳定的光谱预测模型的原因^[57], 其次由于拉曼光谱的信号较弱, 在利用拉曼光谱检测待测物时, 仪器的外部环境(如使用温度、噪音等)、仪器的暗电流、激发激光功率的稳定性等都会对检测结果造成不同程度的影响, 此外增强基底的物理性质不同, 制备方法不同, 对拉曼信号的增强程度也不相同, 这使得对同一样品的检测结果难以标准化; 同时, 现有的拉曼检测仪器大多十分笨重, 无法满足现场检测的需要, 而便携式拉曼检测仪器的技术还不是很成熟, 因此将拉曼检测仪器小型化、便携化也有较好的应用前景^[58]。

然而, 随着 SERS 的不断发展成熟, 样品纯化处理、新型复合基底的开发、特异性基底的出现, 一定程度上缓解了这些问题, 例如 LI 等^[59]开发了一种微阵列金属芯片, 能够同时检测黄曲霉毒素、赭曲霉毒素、玉米赤霉烯酮毒素。通过在 AuNPs 上修饰 5,5-二硫代双, 并与真菌毒素的抗体共价偶联作为 SERS 的拉曼探针, 而黄曲霉毒素、玉米赤霉烯酮、赭曲霉毒素的抗原偶联在微阵列金属芯片表面作为捕获探针, 通过该方法制备的基底实现了对 3 种不同毒素的同时检测, LOD 均达到了微克级别。

5 展 望

本文介绍了 SERS 的增强机制、基底制备、应用 SERS 检测不同果蔬中真菌毒素残留的研究现状, 结果表明 SERS 为真菌侵染早期对其进行识别提供了有效技术手段, 但研究广度和深度依然不够。目前已有研究将拉曼光谱技术与其他技术相结合实现了食品中真菌毒素的快速筛查、定性判别或高灵敏检测, 为食品企业在生产过程中的实时监控、应对突发食品安全事件提供了新途径。

尽管 SERS 被发现至今已做了大量的基础研究工作, 但 SERS 在果蔬真菌毒素检测领域的研究仍需要进一步深入, 如何提高 SERS 的稳定性及实现在复杂环境中快速、精准的测定将作为未来研究的主要方向。目前已有学者开展了对新型异态纳米颗粒的研发, 旨在提高 SERS 的稳定性, 因此未来学者的研究应选择具有较高拉曼活性的异态纳米颗粒(如纳米棒、纳米星、纳米多面体等), 并将制作 SERS 基底的材料从贵金属扩展到半导体等, 同时还可以通过在纳米颗粒表面覆盖 SiO₂ 和 Fe₃O₄ 等外壳提高基底的稳定性^[60-61]; 此外, 现有研究大都是基于有限类型的真菌毒素开展的, 因此有必要设计新的底物, 建立一种多种真菌毒素同时检测的应用体系, 以拓宽 SERS 的应用范围; 最后, 未来可开发和改进一种便捷的精确检测设备, 以实现集快速检测、自动化光谱处理和统计分析算法于一体的 SERS 检测平台, 推动应用 SERS 在真菌毒素检测领域的发展^[62-63]。

总之, SERS 已在实际应用中展示出了其优越性, 随

着拉曼技术、纳米技术、材料学等学科的发展, SERS 在果蔬真菌毒素检测领域实现单一、多种待测物同时检测的准确、痕量、快速检测, 具有广泛的应用前景。

参考文献

- [1] BELQES AJ, SOFIA S, NOOF AQ, *et al.* Mycotoxin contamination of food and feed in the Gulf Cooperation Council countries and its detection [J]. *Toxicon*, 2019, 171: 43–50.
- [2] DONAT PV, MARIN S, SANCHIS V, *et al.* A review of the mycotoxin adsorbing agents, with an emphasis on their multi-binding capacity, for animal feed decontamination [J]. *Food Chem Toxicol*, 2018, 114: 246–259.
- [3] 朱雪蕊. 基于表面增强拉曼光谱光子晶体微球生物芯片真菌毒素多元检测[D]. 南京: 南京师范大学, 2019.
ZHU XR. Multivariate detection of mycotoxins on biochip based on photonic crystal microspheres with surface enhanced Raman spectroscopy [D]. Nanjing: Nanjing Normal University, 2019.
- [4] ROBERTA P, ALFONSO C, ARMANDO V, *et al.* Occurrence and co-occurrence of mycotoxins in cereal-based feed and food [J]. *Microorganisms*, 2020, 8(1): 74.
- [5] 巫婷玉, 周芳月, 马嫚. 真菌毒素与人类疾病[J]. *饮食科学*, 2018, (16): 155.
WU TY, ZHOU FY, MA M. Mycotoxins and human diseases [J]. *Diet Sci*, 2018, (16): 155.
- [6] PEREIRA VL, FERNANDES JO, CUNHA SC. Mycotoxins in cereals and related foodstuffs: A review on occurrence and recent methods of analysis [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2014, 36(2): 96–136.
- [7] BUENO D, ISTAMBOULIE G, MUOZ R, *et al.* Determination of mycotoxins in food: A review of bioanalytical to analytical methods [J]. *Appl Spectrosc Rev*, 2015, 50(9): 728–774.
- [8] ZHU CX, LIU D, LI YY, *et al.* Ratiometric electrochemical aptasensor for ultrasensitive detection of ochratoxin A based on a dual signal amplification strategy: Engineering the binding of methylene blue to DNA [J]. *Biosens Bioelectron*, 2020, 150: 11184.
- [9] 袁景, 郭小玉, 杨天溪, 等. 基于光谱技术的食品中常见真菌毒素的快速检测研究进展[J]. *上海师范大学学报(自然科学版)*, 2015, 44(5): 571–578.
YUAN J, GUO XY, YANG TX, *et al.* Research progress in rapid detection of common mycotoxins in food based on spectral technology [J]. *J Shanghai Norm Univ (Nat Sci Ed)*, 2015, 44(5): 571–578.
- [10] 马昕. 无损检测在食品品质检测中的运用[J]. *现代食品*, 2020, (14): 123–125.
MA X. Application of non-destructive testing in food quality testing [J]. *Mod Food*, 2020, (14): 123–125.
- [11] 黄旻捷, 刘文冰, 任桂友, 等. 拉曼光谱技术在食品质量安全检测中的应用[J]. *现代食品*, 2019, (15): 67–69.
HUANG WJ, LIU WB, REN GY, *et al.* Application of Raman spectroscopy in food quality and safety detection [J]. *Mod Food*, 2019, (15): 67–69.
- [12] LI YF, LIN ZZ, HONG CY, *et al.* Histamine detection in fish samples based on indirect competitive ELISA method using iron-cobalt co-doped carbon dots labeled histamine antibody [J]. *Food Chem*, 2020, 345(5): 123–125.

- 128812.
- [13] HE JY, PU HB, SUN DW. Recent development in rapid detection techniques for microorganism activities in food matrices using bio-recognition: A review [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2020, 95: 233–246.
- [14] HU BX, SUN DW, PU HB, *et al.* A dynamically optical and highly stable PNIPAM@AuNRs nanohybrid substrate for sensitive SERS detection of malachite green in fish fillet [J]. *Talanta*, 2020, 218: 121188.
- [15] HUSSIAN A, SUN DW, PU HB, *et al.* SERS detection of urea and ammonium sulfate adulterants in milk with coffee ring effect [J]. *Food Addit Contam A*, 2019, 36(6): 851–862.
- [16] WU ZH, PU HB, SUN DW, *et al.* Fingerprinting and tagging detection of mycotoxins in agri-food products by surface-enhanced Raman spectroscopy: Principles and recent applications [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2021, 110: 393–404.
- [17] SRIDHAR K, INBARAJ BS, CHEN BH, *et al.* An improved surface enhanced Raman spectroscopic method using a paper-based grape skin-gold nanoparticles/graphene oxide substrate for detection of rhodamine 6G in water and food [J]. *Chemosphere*, 2022, 301: 134702.
- [18] MOZHAEVA V, UTKIN Y, GUDKOV S, *et al.* Toxins' classification through Raman spectroscopy with principal component analysis [J]. *Spectrochim Acta A*, 2022, 278: 121276.
- [19] 赵航. 固态 SERS 基底的制备及其检测水果表面农药残留的研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2019.
- ZHAO H. Preparation of solid SERS substrate and its detection of pesticide residues on fruit surface [D]. Harbin: Harbin University of Technology, 2019.
- [20] 史如意. 基于等离子体光催化反应的亚硝酸盐表面增强拉曼光谱快速检测[D]. 浙江: 浙江大学, 2018.
- SHI RY. Rapid detection of nitrite by surface enhanced Raman spectroscopy based on plasma photocatalytic reaction [D]. Zhejiang: Zhejiang University, 2018.
- [21] IOAN N. Raman spectroscopy cell-based biosensors [J]. *Sensors-Basel*, 2007, 7(8): 1343–1358.
- [22] RU LE, ETCHEGION PG. Sub-wavelength localization of hot-spots in SERS [J]. *Chem Phys Lett*, 2004, 396(4-6): 393–397.
- [23] ANDERSON DJ, MOSKOVITS M. A SERS-active system based on silver nanoparticles tethered to a deposited dilver film [J]. *J Phys Chem B*, 2006, 110(28): 13722–13727.
- [24] 杨志林. 金属纳米粒子的光学性质及过渡金属表面增强拉曼散射的电场机理研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2006.
- YANG ZL. Optical properties of metal nanoparticles and electromagnetic field mechanism of transition metal surface enhanced Raman scattering [D]. Xiamen: Xiamen University, 2006.
- [25] 张鑫. 金属亚波长结构阵列电磁场增强及光学异常透射的机理研究[D]. 天津: 南开大学, 2014.
- ZHANG X. Study on mechanism of electromagnetic field enhancement and optical anomaly transmission of metal subwavelength structure array [D]. Tianjin: Nankai University, 2014.
- [26] HUSSAIN A, SUN DW, PU HB. Bimetallic core shelled nanoparticles (Au@AgNPs) for rapid detection of thiram and dicyandiamide contaminants in liquid milk using SERS [J]. *Food Chem*, 2020, 317: 126429.
- [27] HERNANDEZ Y, LAGOS LK, GALARRETA BC. Development of a label-free-SERS gold nanoaptasensor for the accessible determination of ochratoxin A [J]. *Sens Bio-Sens Res*, 2020, 28: 100331.
- [28] KANG Y, GU HX, ZHANG X. A self-referenced method for determination of patulin by surface-enhanced Raman scattering using gold nanobipyramids as the substrate [J]. *Anal Method*, 2019, 11(40): 5142–5149.
- [29] WANG K, SUN DW, PU HB, *et al.* A rapid dual-channel readout approach for sensing carbendazim with 4-aminobenzenethiol functionalized core-shell Au@Ag nanoparticles [J]. *Analyst*, 2020, 145(5): 667–674.
- [30] TEGEGNE WA, MEKONNEN ML, BEYENEAB, *et al.* Sensitive and reliable detection of deoxynivalenol mycotoxin in pig feed by surface enhanced Raman spectroscopy on silver nanocubes@polydopamine substrate [J]. *Spectrochim Acta A*, 2019, 229: 117940.
- [31] PORTER MD, GRANGER JH. Surface-enhanced Raman scattering II: Concluding remarks [J]. *Faraday Discuss*, 2017, 205: 601–613.
- [32] SONG D, YANG R, FANG S, *et al.* SERS based aptasensor for ochratoxin A by combining Fe₃O₄@Au magnetic nanoparticles and Au-DTNB@Ag nanopores with multiple signal enhancement [J]. *Microchim Acta*, 2018, 185: 491.
- [33] LI J, YAN H, TAN X, *et al.* Cauliflower-inspired 3D SERS substrate for multiple mycotoxins detection [J]. *Anal Chem*, 2019, 91(6): 3885–3892.
- [34] LU XF, HUANG YG, ZHANG BQ, *et al.* Light-controlled shrinkage of large-area gold nanoparticle monolayer film for tunable SERS activity [J]. *Chem Mater*, 2018, 30(6): 1989–1997.
- [35] CANAMARES MV, GARCIA JV, DOMINGO G, *et al.* Comparative study of the morphology, aggregation, adherence to glass, and surface-enhanced Raman scattering activity of silver nanoparticles prepared by chemical reduction of Ag⁺ using citrate and hydroxylamine [J]. *Langmuir*, 2005, 21(18): 8546–8553.
- [36] LIN X, LINS, LIU Y, *et al.* Facile synthesis of monodisperse silver nanospheres in aqueous solution via seed-mediated growth coupled with oxidative etching [J]. *Langmuir*, 2018, 34(21): 6077–6084.
- [37] UKUKU DO, GEVEKE DJ, CHAU L, *et al.* Microbial safety and overall quality of cantaloupe fresh-cut pieces prepared from whole fruit after wet steam treatment [J]. *Int J Food Microbiol*, 2016, 231: 86–92.
- [38] ROSA M, JONATHAN MM, ROBERT SF, *et al.* Control of pathogenic and spoilage microorganisms in fresh-cut fruits and fruit juices by traditional and alternative natural antimicrobials [J]. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 2009, 8(3): 157–180.
- [39] PARAFATI L, VITALE A, RESTUCCIA C, *et al.* Biocontrol ability and action mechanism of food-isolated yeast strains against *Botrytis cinerea* causing post-harvest bunch rot of table grape [J]. *Food Microbiol*, 2015, 47: 85–92.
- [40] NASU H, HATAMOTO M. Control of fruit mold of peach [J]. *Annal Phytopathol Soc Japan*, 1995, 61(25): 6069–6076.
- [41] AHMAD W, WANG J, LI H, *et al.* Trends in the bacterial recognition patterns used in surface enhanced Raman spectroscopy [J]. *TrAC-Trend Anal Chem*, 2021, 142: 116310.
- [42] VIDAL A, OUHIBI S, GHALI R, *et al.* The mycotoxin patulin: An updated short review on occurrence, toxicity and analytical challenges [J]. *Food Chem Toxicol*, 2019, 129: 249–256.
- [43] GUO ZM, CHEN P, WANG MM, *et al.* Rapid enrichment detection of patulin and alternariol in apple using surface enhanced Raman spectroscopy with coffee-ring effect [J]. *LWT*, 2021, 152: 112333.
- [44] ZHANG W, HAN Y, CHEN X, *et al.* Surface molecularly imprinted

- polymer capped Mn-doped ZnS quantum dots as a phosphorescent nanosensor for detecting patulin in apple juice [J]. Food Chem, 2017, 232: 145–154.
- [45] 王春霞. 基于表面增强拉曼光谱的香梨病原菌检测方法的研究[D]. 新疆: 塔里木大学, 2019.
- WANG CX. Study on the detection method of pathogenic bacteria in fragrant pear based on surface enhanced Raman spectroscopy [D]. Xinjiang: Tarim University, 2019.
- [46] 张嘉坤, 张少军, 钱训, 等. 梨果实及其制品中真菌毒素的污染、检测及控制方法研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(22): 5816–5822.
- ZHANG JK, ZHANG SJ, QIAN X, *et al.* Research progress on contamination, detection and control methods of mycotoxins in pear fruit and its products [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(22): 5816–5822.
- [47] PAN TT, SUN DW, PU HB, *et al.* Simple approach for the rapid detection of alternariol in pear fruit by surface-enhanced Raman scattering with pyridine-modified silver nanoparticles [J]. J Agric Food Chem, 2018, 66(9): 2180–2187.
- [48] VALERO A, MARIN S, RAMOS AJ, *et al.* Ochratoxin A-producing species in grapes and sun-dried grapes and their relation to ecophysiological factors [J]. Lett Appl Microbiol, 2010, 41(2): 196–201.
- [49] SONG D, YANG R, FANG SY, *et al.* SERS based aptasensor for ochratoxin A by combining $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Au}$ magnetic nanoparticles and $\text{Au-DTNB}/\text{Ag}$ nanoprobe with multiple signal enhancement [J]. Microchim Acta, 2018, 185: 491.
- [50] ROSTAMI S, ZOR K, ZHAI DS, *et al.* High-throughput label-free detection of ochratoxin A in wine using supported liquid membrane extraction and Ag-capped silicon nanopillar SERS substrates [J]. Food Control, 2020, 113(3): 107183.
- [51] ROJAS LM, QU Y, HE L, *et al.* A facile solvent extraction method facilitating surface-enhanced Raman spectroscopic detection of ochratoxin A in wine and wheat [J]. Talanta, 2020, 224: 121792.
- [52] JIA X, WANG K, LI X, *et al.* Highly sensitive detection of three protein toxins via SERS-lateral flow immunoassay based on SiO_2/Au nanoparticles [J]. Nanomed-Nanotechnol, 2022, 41: 102522.
- [53] WU L, YAN H, LI G, *et al.* Surface-imprinted gold nanoparticle-based surface-enhanced Raman scattering for sensitive and specific detection of patulin in food sample [J]. Food Anal Method, 2019, 12(7): 1648–1657.
- [54] 史晓亚, 高丽霞, 黄登宇. 快速检测技术在果蔬安全控制中的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(3): 882–889.
- SHI XY, GAO LX, HUANG DY. Research progress of rapid detection technology in safety control of fruits and vegetables [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(3): 882–889.
- [55] HAHM E, KIM YH, PHAM XH, *et al.* Highly reproducible surface-enhanced Raman scattering detection of alternariol using silver-embedded silica nanoparticles [J]. Sensors-Basel, 2020, 20(12): 3523.
- [56] YANG N, YOU TT, GAO YK, *et al.* Rapid fabrication of flexible and transparent gold nanorods/poly (methyl methacrylate) membrane substrate for SERS nanosensor application [J]. Spectrochim Acta A, 2018, 202: 376–381.
- [57] 伍琳琳, 蒋萍萍, 杨洋, 等. 光谱技术检测乳制品品质的研究进展[J]. 中国乳品工业, 2020, 48(7): 37–41.
- WU LL, JIANG PP, YANG Y, *et al.* Research progress in the detection of dairy product quality by spectroscopic technology [J]. Chin Dairy Ind, 2020, 48(7): 37–41.
- [58] 董前民, 杨艳敏, 梁培, 等. 表面增强拉曼散射(SERS)衬底的研究及应用[J]. 光谱学与光谱分析, 2013, 33(6): 1547–1552.
- DONG QM, YANG YM, LIANG P, *et al.* Study and application of surface enhanced Raman scattering (SERS) substrates [J]. Spectrosc Spect Anal, 2013, 33(6): 1547–1552.
- [59] LI Y, CHEN Q, XU XF, *et al.* Microarray surface enhanced Raman scattering based immunosensor for multiplexing detection of mycotoxin in foodstuff [J]. Sensor Actuat B-Chem, 2018, 266: 115–123.
- [60] YANG M, CHEN Q, MEHEDI MH. A universal SERS aptasensor based on DTNB labeled GNTs/Ag core-shell nanotriangle and $\text{CS-Fe}_3\text{O}_4$ magnetic-bead trace detection of aflatoxin B₁ [J]. Anal Chim Acta, 2017, 986: 122.
- [61] 廖红梅, 凌经昌, 甘国栋, 等. 国内外脱水蔬菜、冻干果蔬概述及风险评估分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(9): 3470–3476.
- LIAO HM, LING JC, GAN GD, *et al.* Overview and risk assessment analysis of dehydrated vegetables and freeze-dried fruits and vegetables at home and abroad [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(9): 3470–3476.
- [62] WANG KQ, SUN DW, PU HB, *et al.* A stable, flexible and high-performance SERS chip enabled by ternary films-packaged plasmonic nanoparticles array [J]. ACS Appl Mater Inter, 2019, 11(32): 29177–29186.
- [63] ZHENG FJ, SHI KW, LIU LX, *et al.* Plasmonic Au-Ag janus nanoparticle engineered ratiometric surface-enhanced Raman scattering aptasensor for ochratoxin A detection [J]. Anal Chem, 2019, 91(18): 11812–11820.

(责任编辑: 张晓寒 郑 丽)

作者简介



胡泽轩, 硕士研究生, 主要研究方向为食品品质分析与检测。
E-mail: 152961246@qq.com



王文秀, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品快速无损检测技术及装备研究。
E-mail: godlovexiu@126.com