## 基于核酸适配体的光学纳米传感器在 食源性致病菌检测中的应用

钟毓红<sup>1\*</sup>,吴佳琪<sup>2</sup>,潘小艳<sup>1</sup>,刘 波<sup>1</sup>,王 琳<sup>1</sup>
(1. 浙江大学医学院附属第二医院临床检验中心,杭州 310009;
2. 杭州医学院检验医学院与生物工程学院,杭州 310059)

**摘 要:** 食源性疾病一直严重威胁着世界各国人民的健康,而病原菌是引起这类疾病的主要原因。快速、简 单、灵敏地筛选食源性致病菌对保证食品安全具有重要意义。纳米材料因其光学特性、独特的结构和催化性 能、良好的稳定性和优异的穿透性,已成为近年来光学传感研究的热门课题。作为传感器的信号转换装置和 生物识别分子的负载基质,纳米材料具有比表面积大、表面自由能高、生物相容性好、表面官能团丰富等特 点。适配体是通过体外筛选的短单链核酸,具有合成简单、稳定性好、亲和力高、选择性强、适用性广等优 点,是生物应用中理想的分子受体。利用基于适配体的光学纳米传感器检测食源性致病菌,克服了传统检测方 法的耗时费力、难以定量、不便现场检测等缺点,成为当前食源性致病菌快速检测的研究热点。因此,本文综 述了食源性疾病的流行现状,基于适配体的光学纳米传感器检测食源性致病菌的最新进展,重点介绍了细菌 捕获方法和传感技术,以及它们各自的优势和局限性,提出了该技术在实际应用中面临的挑战和前景,以便 促进该领域的进一步发展。

关键词: 纳米技术; 适配体; 光学传感器; 食源性致病菌

# Application on aptamer-based optical nanosensors for detection of foodborne pathogens

ZHONG Yu-Hong<sup>1\*</sup>, WU Jia-Qi<sup>2</sup>, PAN Xiao-Yan<sup>1</sup>, LIU Bo<sup>1</sup>, WANG Lin<sup>1</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310009, China; 2. School of Laboratory Medicine & Bioengineering, Hangzhou Medical College, Hangzhou 310059, China)

**ABSTRACT:** Foodborne diseases have been a serious threat to the people's health around the world, and pathogenic bacteria are the main causes of these diseases. Rapid, simple and sensitive screening of foodborne pathogens is of great significance to ensure food safety. Nanomaterials have become an extremely popular theme in optical sensing research in recent years because of their optical properties, unique structure and catalytic properties, good stability, and excellent penetration. As the signal conversion device for sensors and the loading matrix for biorecognition molecules, nanomaterials have the characteristics of large specific surface area, high surface free energy, good

基金项目:浙江省基础公益研究计划项目(LGC20C010001)、浙江省医药卫生科技计划项目(2019KY397)、浙江省教育厅科研项目(Y201838965) Fund: Supported by the Zhejiang Basic Public Welfare Research Program (LGC20C010001), the Zhejiang Medical and Health Science and Technology Plan Project (2019KY397), and the Zhejiang Provincial Education Department Fund (Y201838965)

<sup>\*</sup>通信作者:钟毓红,硕士,副主任技师,主要研究方向为纳米材料的制备以及食品安全检测。E-mail: zeyyzyh@zju.edu.cn

<sup>\*</sup>Corresponding author: ZHONG Yu-Hong, Master, Associate Chief Technician, the Second Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine, No.88, Jiefang Road, Shangcheng District, Hangzhou 310009, China. E-mail: zeyyzyh@zju.edu.cn

biocompatibility, and abundant surface functional groups. Aptamers are short single-stranded oligonucleotides screened *in vitro*, and they have many advantages, such as simple synthesis, good stability, high affinity, excellent selectivity and wide applicability, making them ideal molecular receptors for biological applications, the application of aptamer-based optical nanosensors to detect foodborne pathogens overcomes the disadvantages of traditional detection methods, such as time-consuming and laborious, difficult quantification, and inconvenient on-site detection, it has become a research hotspot in the field of rapid detection of foodborne pathogens. Therefore, this review summarized the current epidemic status of foodborne diseases and recent progess of aptamer-based optical nanosensors for the detection of foodborne pathogens, highlighted the bacterial capture methods and sensing technologies, as well as their respective advantages and limitations, and presented the challenges and prospects of this technology in practical application with a view to promoting further development in this field.

KEY WORDS: nanotechnology; aptamer; optical sensor; foodborne pathogens

## 0 引 言

食源性疾病是影响全球公共卫生和社会发展的健康 问题之一,科学技术的发展和经济进步一直无法有效控制 食源性疾病的传播,且呈上升趋势<sup>[1-2]</sup>。据 2022 年世界卫 生组织估计,全球每年有 6 亿人患食源性疾病,死亡人数 达 42 万,其中五岁以下儿童占 30%<sup>[3]</sup>。即使在发达国家, 每年也有三分之一的人口受到食源性疾病的影响,而在发 展中国家则是普遍存在,这可能与恶劣的环境卫生条件、 薄弱的食品安全监管意识有关<sup>[3]</sup>。大肠埃希菌 O157:H7、 肠道沙门菌、单核细胞增生李斯特菌、金黄色葡萄球菌和 霍乱弧菌被认为是最主要的食源性致病菌,它们均可通过 受污染的水或食物感染人类,症状包括呕吐、腹痛、腹泻 和发烧,严重者导致死亡<sup>[4-5]</sup>。未能及时检测出污染食品的 病原菌,不仅对人类健康造成深远影响,还会给食品工业 带来巨大的经济负担。因此,为了保证食品安全,迫切需 要探索简单、快速、灵敏的食源性致病菌检测技术。

传统的致病菌检测方法包括细菌培养、免疫学方法和 分子生物学方法。然而细菌培养耗时、费力,不能满足快 速报告的要求<sup>[6]</sup>;免疫技术中使用的抗体制备周期长,成 本高,酶促反应产生的单一颜色难以实现对多种病原体的 同时分析<sup>[7]</sup>;分子诊断技术需要精密而昂贵的仪器,专业 的操作,复杂的样品制备<sup>[8]</sup>。这些方法都难以实现对食源 性致病菌的现场、实时、快速和高频监测。因此,研究人 员一直在努力开发快速,灵敏的检测技术以及易携带的、 具有成本效益的自动化检测设备。

生物传感器结合了生物化学、生物学、物理学、电子 学和纳米技术,由于其独特的特性,如响应快速、灵敏度 和特异性高、易实用、可实时远程监测<sup>[9]</sup>,已被引入到食源 性致病菌的检测领域。近年来,随着纳米技术的迅速发展, 越来越多的纳米材料用来构建新型生物传感器,如磁性纳 米颗粒、碳纳米管、金属有机框架化合物和量子点等<sup>[10-11]</sup>。 纳米材料和薄膜技术的最新进展为开发具有更高灵敏度的 小型光学传感器提供了新的机会。例如,类沸石咪唑酯骨 架材料具有均匀的亚纳米级或纳米级孔隙,可以选择性地 吸附溶解在水中的分子或细胞,从而导致光学性质的变化, 非常适合于光学传感器的开发<sup>[12]</sup>。因此,纳米材料应用于 光学传感器是现代分析检测发展中最令人兴奋的领域之一, 它们不受电磁干扰,可以进行原位传感和实时测量,能在 单一设备内提供多路识别并且结果可视化<sup>[13]</sup>。

适配体(aptamer, Apt)是一种单链寡核苷酸, 在溶液中 折叠成三维结构, 能与目标分子特异性结合<sup>[14]</sup>。与抗体相 比, 适配体具有高稳定性、低免疫原性、优异的生物相容 性、方便合成以及易于化学修饰等特点<sup>[15]</sup>。自 20 世纪 90 年代初首次报道以来, 基于适配体的生物传感器引起了科 学界的广泛关注。相比于抗体或酶为识别元件的传感器其 具有更强的特异性、灵敏度和可重复性。

根据物质检测的光学原理,用于致病菌检测的光学 传感器可分为 5 类,分别是比色生物传感器、荧光生物传 感器、化学发光生物传感器、表面增强拉曼散射生物传感 器和表面等离子体共振生物传感器<sup>[16]</sup>。本文综述了近 10 年来基于适配体的光学纳米传感器在食源性致病菌检测中 的应用进展,对不同检测方法的优缺点进行了分析,指出 了现有方法策略中存在的问题,讨论了该领域未来面临的 挑战和机遇,以期为该领域的进一步发展提供参考。

## 1 比色适配体纳米传感器

比色传感技术是最基本、最方便的分析技术之一。这 项技术可以识别周围环境的变化,而不需要复杂的设备 和训练有素的操作人员。基于纳米材料的比色传感器由 于其简单性和可靠性而成为了潜在的低成本移动检测平 台<sup>[17]</sup>。与传统比色法相比,其不需要酶作为生物催化剂, 并且可以用肉眼识别颜色变化<sup>[18]</sup>。

纳米材料的显色机制主要分为两种:依赖纳米粒子 光学特性显色和利用纳米粒子催化底物显色<sup>[19]</sup>。比色适配 体纳米传感器是以核酸适配体作为识别元件,以纳米材料 作为比色探针,具有操作简单,检测成本低,特异性显著, 显色结果可视化等特点,在食源性致病菌筛检方面获得了 广泛关注。这里主要根据纳米材料的不同显色原理,分别 阐述它们的应用以及优缺点。

#### 1.1 基于纳米材料光学性能的比色适配体传感器

金、银等贵金属纳米颗粒因其优异的消光系数和独特的距离依赖光学特性而成为较好的比色指示剂<sup>[20]</sup>。金纳米颗粒(gold nanoparticle, AuNPs)的尺寸在 2~20 nm 范围内, 具有独特可调的光学性能,根据它们的体积、形状和聚集 状态显示不同的颜色<sup>[19]</sup>。作为一种指示物,AuNPs 通常用 寡核苷酸修饰,并通过适配体-目标物相互作用获得距离 依赖的颜色变化。

CHANG 等<sup>[21]</sup>报道了一种基于适配体-AuNPs 的金黄 色葡萄球菌鉴定方法(图 1), 金黄色葡萄球菌特异性适配体 吸附在未修饰的 AuNPs 表面, 保护 AuNPs 不受盐诱导的 聚集,此时溶液为红色。当靶菌存在情况下,由于适配体 与之结合、失去了对 AuNPs 的保护作用, 加入盐后, 静电 作用诱使 AuNPs 发生团聚, 其表面等离子吸收峰发生明显 地移动,此时溶液呈现蓝色。这种通过适配体对 AuNPs 的 "分散/聚集"状态进行调控,即可实现金黄色葡萄球菌的比 色检测。但由于该方法灵敏度太低,无法满足目前的高标 准检测要求,这几年,使用这种技术进行病原菌检测的报 道较少。为了提高检测灵敏度,有学者采用适配体修饰的 磁性纳米颗粒(magnetic nanoparticle, MNPs)对副溶血性弧 菌进行磁分离富集,适配体同时偶联在 MNPs 和 AuNPs 表 面,当加入靶菌时,形成的三明治结构(MNPs-Apt-靶菌 -Apt-AuNPs)经过特异性磁分离后,可以观察到视觉信 号。在最佳条件下,该法对副溶血性弧菌的检出限低至 2.4 CFU/mL, 并且成功应用于生虾食物中副溶血性弧菌的 检测<sup>[22]</sup>。利用适配体对细菌富集可大大提高检测灵敏度, 但同时也延长了检测时间。





除了贵金属纳米颗粒外,聚二乙炔(polydiacetylene, PDAs)纳米材料的显色特点也引起了研究者的兴趣。PDAs 是一类机械致变色聚合物,当受到外界刺激时,它们的颜 色会从蓝色变成红色,这种特点使它们成为生物传感领域 受欢迎的材料<sup>[23]</sup>。ZHOU等<sup>[24]</sup>报道了一种特异性识别苏云 金芽孢杆菌孢子的 PDAs 比色纸条传感器(图 2),将特异性 适配体固定于 PDAs 囊泡表面,通过简单的溶剂蒸发法将 适配体偶联的 PDAs 囊泡包覆在聚偏氟乙烯纸条上。通过 PDAs 独特的蓝到红的颜色转换,即可判断靶菌的存在, 还可通过分析 PDAs 的颜色强度,对靶菌进行定量研究。 此方法的检出限为 3×10<sup>7</sup> CFU/mL,检测时间为 4 h。该传 感平台的优点是易于制作,特异性强,高度便携,缺点是 检出限低,无法满足食源性致病菌的检测需求,另外食物 样品需要稀释,离心等前处理,操作比较烦琐,实用性有 待验证。



图 2 基于 PDA-aptamer 的致病菌比色检测策略<sup>[24]</sup> Fig.2 Colorimetric detection strategy of pathogens based on PDA-aptamer<sup>[24]</sup>

### 1.2 基于纳米材料催化性能的比色适配体传感器

多种纳米材料相继被报道具有类酶活性,如过氧化物酶、过氧化氢酶、氧化酶和超氧化物歧化酶等,其中主要包括贵金属纳米材料、金属氧化物纳米材料、碳基纳米材料以及复合纳米材料等<sup>[25]</sup>。

由于纳米酶和适配体的特殊性质,它们组成的生物 传感器在灵敏度、特异性、重复性和准确性等分析性能方 面具有相当大的优势。AuNPs 除了具有良好的光学性质, 还具有类似天然酶的活性。基于 AuNPs 过氧化物酶活性构 建的比色适配体传感器在食源性致病菌检测方面已有较多 报道<sup>[26-28]</sup>。检测原理基本类似,即适配体通过静电作用被 吸附到 AuNPs 的表面,从而屏蔽了 AuNPs 表面的活性位 点,使 AuNPs 酶活性被抑制。当靶菌加入体系后,适配体 从 AuNPs 表面解吸附并与靶菌相结合,导致 AuNPs 活性 位点重新暴露,从而恢复酶活性。因此,AuNPs 催化的显色 反应与靶菌浓度呈相关性。

金属有机框架化合物(metal-organic frameworks, MOFs) 是一种新型无机纳米材料,框架结构丰富,具有非常大的 比表面积<sup>[29]</sup>。双金属复合物因其优良的催化性能,在纳米 酶研究领域也发挥着重要作用。WANG等<sup>[30]</sup>合成了一种新 型非贵金属 Cu-MOFs 纳米酶,并将其催化显色反应与核 酸适配体识别和磁分离相结合,建立了一种简便、灵敏、 选择性的金黄色葡萄球菌比色检测方法(图 3)。由于两种 金属之间的协同作用,使得该纳米酶对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的亲和力大 大增强,检出限可达 20 CFU/mL,可与用高灵敏度荧光方 法获得的结果相媲美。





近年来,碳基纳米材料如氧化石墨烯(graphene oxide, GO)、碳纳米纤维(carbon nanofiber, CNFs)、碳点(carbon dots, CDs)等被证实具有酶样活性<sup>[31-32]</sup>。研究者们发现碳基 纳米酶与金属、金属氧化物、金属硫化物的协同作用可增 强其催化活性<sup>[25]</sup>。此类传感器一般无需样品预富集、分离 或洗涤步骤,即可在十几分钟内定量检测食品中的病原菌, 很有希望实现一步比色法进行病原菌的现场检测。

## 2 荧光适配体纳米传感器

新型荧光纳米材料由于其较高的荧光量子产率和优 异的光稳定性,逐渐取代了传统的发光材料。利用荧光纳 米材料进行细菌检测主要在于其体积小、吸附能力强、表 面反应活性高等优点。目标菌可以同时与多个纳米颗粒结 合,使其获得更高的荧光强度,并可以在几分钟到几小时 内实时跟踪。这里主要介绍几种用于细菌检测的荧光纳米 材料,包括半导体量子点(quantum dot, QDs)、碳点(carbon dots, CDs)、上转换纳米粒子(up-conversion nanoparticles, UCNPs)和 MOFs 以及荧光适配体传感器的应用现状。

## 2.1 基于 QDs 的荧光适配体纳米传感器

QDs是一类特殊的工程纳米材料,也被称为半导体纳 米晶体,尺寸在几纳米到十几纳米之间,具有荧光寿命 长、吸收光谱宽、发射光谱窄、摩尔消光系数大等优点,在 荧光分析中发展迅速<sup>[33]</sup>。目标物的加入会引发荧光偏振和 强度的变化,可以根据荧光信号的差异来定量检测目标。

使用 QDs 的一个关键技术是选择高效与合适的生物 分子使其表面功能化,以提高其在水溶液中的稳定性和选 择性<sup>[34-35]</sup>。REN 等<sup>[36]</sup>设计了一种 QDs 的荧光检测技术联 合磁分离系统实现了对鼠伤寒沙门菌的敏感识别(图 4)。首 先,适配体包被的 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 磁性颗粒(Apt-MNPs)和 ssDNA2(适配体的互补链)标记的碲化镉量子点(cadmium telluride quantum dot, CdTeQDs)相结合,形成适配体 -ssDNA2 双链。随着目标细菌的加入,靶标特异性地与适 配体结合,导致适配体-ssNDA2 双链断裂,同时释放 ssDNA2 标记的 CdTeQDs。因此,磁去除 Apt-MNPs 后, 荧光信号增加。CdTeQDs 的荧光强度在靶菌浓度为 10~10<sup>10</sup> CFU/mL 范围内呈线性增加,检出限为 1 CFU/mL, 检测过程在 2 h 内完成。



图 4 基于 CdTeQDs 的致病菌荧光检测策略<sup>[36]</sup> Fig.4 Fluorescence detection strategy of pathogens based on CdTeQDs<sup>[36]</sup>

量子点荧光共振能量转移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)是一种非辐射形式的能量转移, 当 受体分子的发射光谱与供体分子的激发光谱重叠时,并且 受体与供体间的距离足够接近时, 激发的供体以共振的方 式将能量转移到受体<sup>[37]</sup>。WEN 等<sup>[38]</sup>报道了一种基于适配 体标记的硒化镉/硫化锌量子点和氧化石墨烯组成的绿色 荧光探针用于测定来自不同革兰阴性菌的脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS), 当体系中无靶物质存在时, 氧 化石墨烯使 ODs 荧光基团淬灭, 随着 LPS 加入, 适配体结 合 LPS 并释放氧化石墨烯,导致 QDs 荧光恢复,在发射波 长 543 nm 处测得的荧光强度与 LPS 含量呈正相关, 该法 检出限低至 8.7 ng/mL。同理, 西南大学的张亚青<sup>[39]</sup>基于适 配体和凝集素的双重识别, 以特异性 Apt-QDs 作为 FRET 能量供体,刀豆蛋白 A-AuNPs 作为能量受体。当有大肠埃 希菌存在时,刀豆蛋白A和适配体同时结合于靶菌表面,导 致供体 QDs 和受体 AuNPs 彼此接近, QDs 荧光淬灭。此 FRET 传感器在 0.5 h 内实现了对大肠埃希菌的定量检测。 其线性范围为 10<sup>2</sup>~2×10<sup>8</sup> CFU/mL, 检出限为 45 CFU/mL。 这些研究表明,基于量子点的荧光适配体传感器在细菌检 测方面显示出巨大的潜力。然而,由于 QDs 荧光稳定性还 不够好,限制了其商业化和大规模应用。如何将 QDs 荧光 适配体传感器实现产业化,仍是目前的研究重点<sup>[40]</sup>。

#### 2.2 基于 CDs 的荧光适配体纳米传感器

CDs 是一类具有显著荧光性能的零维碳纳米材料,它 由超细的、分散的、准球形的、尺寸低于 10 nm 的碳纳米 荧光粒子组成。由于 CDs 具有作为电子供体或受体的良好 性能,因此可以作为生物传感器的主要元素之一<sup>[41]</sup>。

近年来,研究发现 CDs 的优点包括独特的光学性质、高相容性、低细胞毒性和低成本,使其非常适合应用于传感检测领域<sup>[42]</sup>。GUO 等<sup>[43]</sup>开发了一种基于 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 磁性纳米

颗粒和适配体修饰 CDs 的荧光传感器,用于生菜中鼠伤寒 沙门菌的检测(图 5)。Apt-CDs 与 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@chitosan 表面共价 结合,形成磁性荧光复合纳米粒子(magnetic fluorescence composite nanoparticles, FMNCs),鼠伤寒沙门菌特异性适 配体与该复合纳米粒子共价连接(FMNCs-Apt),FMNCs-Apt 探针的荧光强度随着靶菌在其表面聚集而降低。在最佳 条件下,新切蔬菜洗液和生菜样品中的检出限分别为 100 CFU/mL 和 138 CFU/mL。虽然该方法快速、廉价,但 其灵敏度仍有待提高。YANG 等<sup>[44]</sup>制备了有机二氧化硅纳 米颗粒包裹的 CDs,形成核壳 CDs@BONs,并将其作为先 进的荧光标签,用于检测超低浓度的金黄色葡萄球菌。与 使用 CDs 直接作为荧光标签的分析方法相比,由于每个纳 米胶囊中包裹数百个 CDs,荧光信号被放大了 2 个数量级, 这对灵敏度的提高具有显著意义。



注: EDC/NHS 为 1-乙基-3-(3-二甲基氨丙基)-碳化二亚胺/N-羟基 琥珀酰亚胺[1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbonized diimide/N-hydroxysuccinimide]。 图 5 基于 FMNCs-Apt 的致病菌荧光检测策略<sup>[43]</sup> Fig.5 Fluorescence detection strategy of pathogens based on FMNCs-Apt<sup>[43]</sup>

有学者指出,两亲性 CDs 作为细菌细胞的有效荧光标 记物,可以检测不同种类的细菌<sup>[45]</sup>。但 CDs 表面不易改性, 影响了其进一步应用,使用 CDs 结合其他表面容易修饰的 纳米材料可避免这一缺点,进而发挥其更大的应用潜力。

#### 2.3 基于 UCNPs 的荧光适配体纳米传感器

上转换是指以吸收两个或多个低能量级光子为特征, 最终将低能光转化成高能光的非线性光学过程<sup>[46]</sup>。与常规 荧光探针相比, UCNPs 具有荧光寿命长、不易发生光漂 白、自发荧光低, 信噪比高、与激发光谱不易发生重叠等 优点。此外, 由于 UCNPs 的荧光强度与分析物浓度成正比 关系, 使用特定的仪器可以实现定量检测<sup>[47]</sup>。

有文献报道建立 UCNPs-cDNA-Apt-MNPs 偶联体系 检测蜡样芽孢杆菌<sup>[48]</sup>(图 6),其中 Apt-MNPs 作为捕获探针, UCNPs-cDNA 作为信号探针,当存在蜡样芽孢杆菌时,溶 液中游离 UCNPs-cDNA 的数量增加,此时系统被 980 nm 近红外光激发时,在 548 nm 处观察到复合物的荧光强度 下降,基于该原理,构建了分析物浓度与荧光强度之间的校 准曲线,实现了蜡样芽孢杆菌的定量检测,该方法具有较好 的重现性和稳定性。同样,重庆医科大学的姚远<sup>[49]</sup>研发了一 种由 UCNP-Apt 纳米探针和 GO@Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>构成的荧光传感器 检测大肠埃希菌。由于 GO@Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>纳米复合物具有大的比 表面积负载了大量纳米探针, UCNP 荧光被淬灭。当靶菌存 在时,适配体与靶菌结合,UCNPs 纳米探针远离 GO@Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>,荧光信号得到恢复,增强的荧光强度与大肠 埃希菌的浓度成正比。



图 6 基于 UCNPs-cDNA-Apt-MNPs 的致病菌荧光检测策略<sup>[48]</sup> Fig.6 Fluorescence detection strategy of pathogens based on UCNPs-cDNA-Apt-MNPs<sup>[48]</sup>

另外,为增加检测灵敏度,有研究采用杂交链式反应 (hybrid chain reaction, HCR)作为增敏剂,合成了一种新型 g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub> 纳米片辅助上转化的荧光适配体传感器用于金黄色 葡萄球菌检测。将该方法应用于实际食物样品,检出限低至 1 CFU/mL<sup>[50]</sup>。因此认为,UCNPs 克服了传统荧光标记材料的 灵敏度低、光稳定性差等缺点,基于 UCNPs 的荧光适配体传 感器在食源性致病菌的实时监测方面具有广阔的应用前景。

#### 2.4 基于 MOFs 的荧光适配体纳米传感器

如1.2 所述, MOFs 是一种由金属离子和有机配体自组 装形成的具有周期性网络结构的新型多孔晶体材料<sup>[51]</sup>。常 见 MOFs 的类型主要有网状金属有机骨架材料、类沸石 咪唑酯骨架材料、莱瓦希尔骨架材料和孔-通道式骨架材 料等<sup>[52]</sup>。基于其较快的响应速度、有效的荧光猝灭性能和 大的比表面积, MOFs 已广泛用于荧光生物传感器的构建。

目前, 适配体, 酶等生物分子已被整合到 MOFs 中, 进 一步提高了 MOFs 探针的可检测范围、选择性和灵敏度。但 基于 MOFs 的荧光适配体传感器检测细菌细胞的文献鲜有报 道。JIA 等<sup>[53]</sup>以金属有机框架 UiO-66-NH<sub>2</sub> 和四甲基罗丹明 (tetramethylrhodamine, TAMRA)标记的适配体(TAMRA-Apt) 为传感平台, 开发了一种检测黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> (aflatoxin B<sub>1</sub>, AFB<sub>1</sub>)的荧光适配体传感器。该研究中, TAMRA-Apt 以范德 华力吸附在 UiO-66-NH<sub>2</sub>表面, 此时荧光猝灭。将 AFB<sub>1</sub>引入 体系后, 适配体与 AFB<sub>1</sub>结合, 形成 TAMRA-Apt/AFB<sub>1</sub>复合体, TAMRA 构象发生变化, 荧光恢复。因此,可以根据荧光信号 的变化来分析 AFB<sub>1</sub> 的含量。该荧光适配体传感器对 AFB<sub>1</sub> 具有高度选择性, 不受其它毒素的干扰, 已成功用于玉米、大 米和牛奶等食品样品中 AFB<sub>1</sub>的测定。

需要指出的是,发光 MOFs 材料存在一些缺点,如水 稳定性差,容易在其节点或金属配体处水解<sup>[54]</sup>; MOFs 的 催化活性较低,容易受温度、pH影响<sup>[55]</sup>。因此,为了充分 发挥 MOFs 在食品检测中的优越性能,研究者提出可致力 于精准调控 MOFs 材料的孔径<sup>[56]</sup>;与其他材料(如金属纳 米颗粒、量子点、适配体等)结合制备成 MOFs 复合材料,从 而获得发光、磁性、催化等优异性能;将 MOFs 材料应用 于其他检测技术中以提高稳定性。

## 3 化学发光适配体纳米传感器

化学发光(chemiluminiscence, CL)是发光试剂在化学 反应过程中伴随能量产生的光辐射现象<sup>[57]</sup>。由于其光源稳 定、灵敏度高、光散射较弱、背景低,在食品安全监测中 有很好的应用前景。作为一种新型的识别组件,适配体修 饰的纳米材料催化 CL 为致病菌检测领域提供了一个新 型、高效、快速的纳米研究平台<sup>[58]</sup>。

在众多化学发光体系中,过氧化物酶催化 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,氧 化鲁米诺发光最为常见<sup>[59]</sup>。具备类过氧化物酶活性的 AuNPs 不仅可以作为 CL 试剂偶联的载体,还可以作为催 化剂增强 CL 强度<sup>[60]</sup>。因此,AuNPs 常被作为催化剂应用于 基于鲁米诺发光反应的检测体系中。陈威风等<sup>[61]</sup>将福氏志 贺菌特异适配体的互补序列修饰于鲁米诺功能化的花状纳 米金(flowerlike gold nanoparticles, AuNFs)表面作为信号探 针,福氏志贺菌适配体修饰氨基化磁性纳米 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>表面作为 捕获探针。目标物和信号探针竞争性结合捕获探针,加入的 靶菌浓度与释放的游离捕获探针成正比,因此靶菌浓度可 通过上清液中化学发光强度定量。该法检出限为 12 CFU/mL, 特异性良好。HAO 等<sup>[62]</sup>研制了一种基于滚环扩增(rolling circle amplification, RCA)的稳态化学发光适配体纳米传感 器,用于鼠伤寒沙门菌的检测(图 7)。该传感器采用适配体



图 7 基于 RCA 和 Co<sup>2+</sup>增强信号探针的致病菌化学发光检测策略<sup>[62]</sup> Fig.7 Chemiluminescence detection strategy of pathogens based on RCA and Co<sup>2+</sup> enhanced signal probes<sup>[62]</sup>

修饰的 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-MNPs 构建捕获探针,适配体作为识别分子, 异鲁米诺[(N-(aminobutyl)-N-(ethylisoluminol), ABEI)作为 CL 试剂。靶菌被适配体捕获后与 RCA 产物形成三明治复合 物,组装成 Co<sup>2+</sup>/ABEI-AuNFs-cDNA 信号探针,显著提高 CL 信号,该策略中,基于 ABEI-AuNFs-对碘苯酚(*p*-iodophenol, PIP)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的稳态化学发光体系的适配体识别模型可有效 延长化学发光时间,避免了检测随机误差。该方法对鼠伤 寒沙门菌的检出限为 10 CFU/mL。

此外,化学发光共振能量转移(chemiluminescent resonance energy transfer, CRET)也是一种很有前途的 CL 分析方法,它不需要激发光源就可以使发光底物发生氧 化。研究人员基于 RCA 和具有增强灵敏度的锥形光纤二 硫化钨(tungsten disulfide, WS<sub>2</sub>)纳米片开发了一种增强型 CRET 适配体分析方法,用于金黄色葡萄球菌的检测<sup>[63]</sup>。 该设计使用 Co<sup>2+</sup>增强的 ABEI 功能化 AuNFs 作为供体, WS<sub>2</sub> 纳米片作为受体。在金黄色葡萄球菌存在时,可启动 RCA。RCA 产物形成的配合物较少吸附在 WS<sub>2</sub>纳米片上, 减弱了 WS<sub>2</sub>纳米片对 ABEI-AuNFs 化学发光的猝灭。反之, 在没有靶菌的情况下, RCA 产物和复合物的缺失使得游离 的 cDNA-ABEI-AuNFs 完全吸附在 WS<sub>2</sub>纳米片上,系统发 生 CL 猝灭。

近年来,一种基于鸟嘌呤(G)和 3,4,5-三甲氧基苯乙二 醛(3,4,5-trimethoxy phenylglyoxal, TMPG)反应的新型 CL 试剂被用于开发化学发光适配体纳米分析平台。G 是 DNA 适配体的 4 种组分之一,它可以与 TMPG 反应生成一种能 够自发光的高能中间体,或根据 CRET 原理将能量转移到 偶联在 DNA 适配体上的荧光染料上。KHANG 等<sup>[64]</sup>利用适 配体、鸟嘌呤、GO/铁纳米复合材料检测样品中的大肠埃希 菌 O157:H7。该反应根据 GO/铁纳米复合材料与游离适配体 的 π-π 堆叠作用原理,用 GO/铁纳米复合材料去除未与目标 结合的游离适配体。在样品中加入鸟嘌呤化学发光试剂 TMPG,结合靶菌的 Apt/6-羧基荧光素发出强光,且光强度 随着靶菌浓度的增加而成比例地增强。该方法具有更高的选 择性、精密度和重现性,但检出限高达 4.5×10<sup>3</sup> CFU/mL。

虽然基于适配体的化学发光纳米传感器越来越受到 关注,但环境样品中某些分析物的浓度过低,无法进行准 确的检测。因此,未来的创新可能会集中在多重 CL 系统 的设计上,以提高检测灵敏度。

#### 4 表面增强拉曼散射适配体纳米传感器

表面增强拉曼散射(surface-enhanced Raman scattering, SERS)是一种分子光谱技术,具有纳米级粗糙表面的金属 结构(主要是金或银)与待测物分子结合时会发生表面等离 子共振相互作用,激光光子非弹性散射大大增强<sup>[65]</sup>。表面 增强拉曼光谱法具有特殊的指纹图谱、高灵敏度和重现性 以及抗光降解性和抗光漂白性等优点,在环境监测和食品 安全性检测得到了广泛应用<sup>[66]</sup>。作为一种新的光谱技术,

已有报道将适配体与 SERS 结合用于病原体检测。

纳米颗粒的形态决定了 SERS 的产生,采集信号的 "热点"决定了分析物整体信号的强度,因此控制基底材料 的尺寸、形状和组成等因素显得至关重要。银和金胶体作 为最常用的两种零维 SERS 纳米胶体, 优点是操作简便, 只需将制备好的贵金属纳米胶体与目标物混合即可产生拉 曼散射。JIN 等<sup>[67]</sup>利用双金属 Au@Ag 芯核复合纳米颗粒 构建 SERS 传感器,用于快速检测肠炎沙门菌(图 8)。该策 略中, Au@AgNPs 作为 SERS 的增强基底, 自组装在 Au@AgNPs 表面的 4-巯基苯甲酸(4-mercaptobenzoic acid, 4-MBA)可以产生强拉曼信号。加入的特异性适配体被吸附 到 Au@AgNPs 表面, 纳米粒子之间的距离会因为适配体 的负电荷静电斥力而增大,从而破坏 SERS"热点",降低 4-MBA 的拉曼强度。当加入靶菌后,即形成细菌-适配体复 合体,吸附在 Au@AgNPs-4-MBA 的适配体随着靶菌浓度 的增加而减少,这将恢复 Au@AgNPs 颗粒中 SERS"热点" 的形成,并相应地增加 4-MBA 的拉曼信号强度。增加的信 号强度可以反映出肠炎沙门菌的浓度, 该法具有良好的灵 敏度,准确性和重复性。



图 8 基于 Au@AgNPs-Apt 的致病菌 SERS 检测策略<sup>[67]</sup> Fig.8 SERS detection strategy of pathogens based on Au@AgNPs-Apt<sup>[67]</sup>

不同于上面提到的单分子识别靶标, PANG 等<sup>[68]</sup>合成 了 Apt-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@Au 磁性纳米颗粒用于特定细菌的富集以及 作为 SERS 激活的底物,制备了万古霉素-SERS 标签 (Au@MBA)用于病原菌的敏感定量。由于适配体/万古霉素的 双识别性能,该检测系统在 50 min 内达到 3 cells/mL 的检出 限,在实际样品中,该方法的加样回收率为 95.0%~106.4%。

零维 SERS 纳米胶体虽然制备和使用简便,但与目标 物混合不均匀,两者结合率低会使 SERS 光谱重现性差。 为解决这一问题,研究人员将金属纳米粒子装载到线或棒 上合成一维 SERS 基底以增强局部电磁场。另外,金属纳 米粒子可有效修饰到平面支撑物上制备二维 SERS 基底以 增加比表面积<sup>[69]</sup>。DUAN 等<sup>[70]</sup>将 AuNPs 涂覆到改性的聚 二甲基硅氧烷(polydimethylsiloxane, PDMS)膜状载体上充 当活性底物,特异性适配体修饰于膜基底。同时制备了拉 曼报告因子(4-MBA/NBA)集成的功能化适配体作为特异 性 SERS 探针。在该方案中,靶菌首先被 Apt-Au-PDMS 膜 捕获,然后与 SERS 探针结合,形成三明治结构,实现了副 溶血性弧菌和鼠伤寒沙门菌的同时检测。该策略解决了胶体溶液的团簇使尺寸和形状不稳定,导致重现性差的问题。三维 SERS 基底可通过增加立体载体的有效体积,最大限度地生成和采集 SERS 信号创造出更强的 SERS 响应。一批创新的三维纳米材料,如石墨板,半导体能产生更大的比表面积,有利于形成高密度的"热点",为 SERS 在食源性致病菌的实际应用提供了新的可能性。

SERS 策略可通过不同的适配体对多种细菌进行检测, 且操作简单、定量准确,与普通的拉曼散射相比, SERS 可 以将检测能力提高 10<sup>10</sup>~10<sup>14</sup>倍,但高成本可能会限制其在 食品安全即时诊断方面的广泛应用。

## 5 表面等离子体共振适配体纳米传感器

表面等离子体共振(surface plasmon resonance, SPR) 现象是在全内反射条件下,偏振光照射到两种折射率不同 的介质(如高折射率的传感器表面和低折射率的缓冲层)之 间时发生的现象。当入射光以特定角度到达金属薄膜(金或 银)表面时,光子的能量被金属层的自由电子直接吸收,形 成消逝波进入到光疏介质中,并与金属膜中的等离子波发 生共振,这时可以被 SPR 探测器探测到<sup>[71]</sup>。SPR 是具有代 表性的光学技术之一,该技术无需标记样品,样品用量少, 可同时检测多个生物样品,灵敏度高,实时跟踪分子相互 作用,因此在环境保护、生物技术、食品安全和安保方面 具有广泛的应用<sup>[72]</sup>。

通常使用纳米材料和导电金属氧化物作为探针固定 基板,以提高 SPR 性能,金被选为 SPR 的最佳惰性金属薄 膜<sup>[73]</sup>,利用长链硫醇自组装层对金表面进行修饰,并在其 上进一步附着水凝胶(如羧化右旋糖酐),为生物分子的共 价固定提供了有效的底物,同时也为生物分子的相互作用 提供了合适的环境。

SPR 传感器中的分子识别元件是其重要组成部分, 它 决定了检测方法的特异性。传统的 SPR 传感器的生物识别 元件包括抗体、蛋白质和酶等,由于其成本高、纯化步骤烦 琐、需低温储存以及批次间变异等缺点抑制了它们作为生物 受体的应用<sup>[74]</sup>。基于适配体自身优点,适配体-SPR 纳米传 感器在病原体检测领域越来越受到关注。据文献报道<sup>[75]</sup>,适 配体偶联到 SPR 芯片常用的方法有金硫键自组装法、化学 键共价结合法、生物素/亲和素法、互补核苷酸链法等。ZHU 等<sup>[76]</sup>制备了带有葡聚糖矩阵的 SPR 传感器芯片定量检测赭 曲霉毒素 A (ochratoxin A, OTA), 该研究采用胺偶联法将链 霉亲和素蛋白作为交联剂固定在传感器芯片表面, 通过链 霉亲和素-生物素相互作用修饰生物素适配体。该传感器对 OTA 的检出限为 0.005 ng/mL, 远低于最大残留限, 重现性 和稳定性较好。HU 等<sup>[77]</sup>研究团队建立了基于 SPR 的全细 胞铜绿假单胞菌的检测平台,该策略采用纳米球光刻技术在 玻璃上制备金纳米三角形阵列,用生物素化聚乙二醇硫醇、 中性亲和素和生物素化适配体以三明治形式修饰传感器表 面。当环境中的靶菌被传感器表面固定化的适配体捕获,即 产生 SPR 信号, 检测时间为 70 min, 检出限达 10 CFU/mL。 另外, YOO 等<sup>[78]</sup>报道了一种多点金纳米颗粒阵列芯片, 这 种芯片是由二氧化硅纳米颗粒吸收玻璃载玻片上的薄金层 组成的介电层(图 9)。该研究团队开发了一种单一的 SPR 传 感器,用于识别 3 种不同的细菌物种,包括乳酸杆菌、铜绿 假单胞菌和鼠伤寒沙门菌。在单个芯片上固定多个细菌物种 特异性的适配体,无需对测试样品进行任何修饰或纯化, 即 可在一次检测中同时识别不同的细菌种类。

SPR 适配体纳米传感器虽然在食源性致病菌检测中 的应用报道较少,但鉴于其独特的动力学特性,简单的操 作步骤,稳定的检测系统以及可实现多通道快速检测,再 结合适配体独一无二的优点,相信 SPR 适配体纳米传感器 在检测病原菌方面会越来越受到青睐。

近年来,有大量关于新型光学纳米传感器用于食源

性致病菌检测的报道,表1对不同类型的核酸适配体光学 纳米传感器在病原菌检测中的应用进行了总结,简单、快 速、灵敏度高和选择性强是这种检测技术最大的优势。但 应对复杂食物基质的样品,还需要挖掘和探索更加多元化 的纳米材料,以制备响应度更强的信号传感装置,提高致 病菌的监测能力。



图 9 基于适配体功能化 SPR 的致病菌检测策略<sup>[78]</sup> Fig.9 Detection strategy of pathogens based on aptamerfunctionalized lsurface plasmon resonance sensor<sup>[78]</sup>

			•		8		
致病菌	传感器 类型	检测策略	检出限/ (CFU/mL)	线性范围/ (CFU/mL)	检测时间	实际样本	参考 文献
金黄色葡萄球菌	比色	适配体通过静电作用吸附在 AuNPs 上, 靶菌结合适配体使 AuNPs 聚集,体系 发生颜色变化	10 <sup>7</sup>	-	65 min	-	[21]
副溶血性弧菌	比色	MNPs-Apt 对靶菌进行磁富集,体系中 形成的 MNPs-Apt-靶菌-Apt-AuNPs 三 明治结构发生颜色变化	2.4	10~106	45 min	生虾	[22]
苏云金芽孢杆菌	比色	适配体偶联的 PDAs 囊泡包覆在聚偏氟 乙烯纸条上, 靶菌结合适配体使 PDAs 发生颜色变化	3×10 <sup>7</sup>	-	4 h	-	[24]
铜绿假单胞菌	比色	适配体吸附于 GNPs 表面, 靶菌结合适 配体使适配体离开 GNPs 表面, 恢复 GNPs 的过氧化物酶样活性, 导致 TMB 氧化	60	60~6.0×10 <sup>7</sup>	10 min	水	[26]
鼠伤寒沙门菌	比色	靶菌结合 aptamers@BSA-AuNCs 和 TMB, 促进两者接近, 增强金纳米颗粒 的过氧化物酶样活性, 催化底物显色	1	10~10 <sup>6</sup>	1 h	鸡蛋	[27]
单增李斯特菌	比色	适配体结合靶固和纳木金,纳木金模 拟酶在一定条件下催化 TMB 发生颜色 反应	5	$10^{1.5} \sim 10^{6.5}$	90 min	猪肉	[28]
金黄色葡萄球菌	比色	Cu-MOFs-Apt 结合靶菌,通过磁分离 从上清液中去除,残留 Cu-MOFs 催化 的显色反应与靶菌浓度成反比	20	50~10 <sup>4</sup>	70 min	牛奶	[30]
鼠伤寒沙门菌	荧光	适配体与靶菌结合,释放 ssDNA2 标记的 CdTe QDs,磁去除 Apt-MNPs 后,荧光信号增加	1	10~10 <sup>10</sup>	2 h	饮用水和 牛奶	[36]
大肠埃希菌	荧光	Apt-QDs 与 Con A-AuNPs 分别作为 FRET 能量供体和受体, Con A 和适配 体同时结合靶菌,导致供体 QDs 和受 体 AuNPs 彼此接近, QDs 荧光淬灭	45	10 <sup>2</sup> ~2×10 <sup>8</sup>	0.5 h	牛奶和果汁	[39]
鼠伤寒沙门菌	荧光	适配体与磁性荧光复合纳米粒子共价 连接(FMNCs-Apt),此探针的荧光强度 随着靶菌在其表面聚集而降低	138	10 <sup>3</sup> ~10 <sup>6</sup>	1 h	生菜	[43]

表 1 不同类型的核酸适配体光学纳米传感器在致病菌检测中的比较 Table 1 Comparison of different types of aptamer-based optical nanosensors for pathogen detection

							表 1(续)
致病菌	传感器 类型	检测策略	检出限/ (CFU/mL)	线性范围/ (CFU/mL)	检测时间	实际样本	参考 文献
金黄色葡萄球菌	荧光	有机二氧化硅纳米颗粒包裹的 CDs, 形成核壳 CDs@BONs,荧光信号被放 大 2 个数量级	30	10 <sup>2</sup> ~10 <sup>4</sup>	30 min	牛奶和果汁	[44]
蜡样芽孢杆菌	荧光	制备 UCNPs-cDNA-Apt-MNPs 偶联体 系, 靶菌被 Apt-MNPs 捕获, UCNPs-cDNA 释放, 荧光强度下降	22	49~49×10 <sup>6</sup>	2 h	牛奶	[48]
大肠埃希菌	荧光	GO@Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> 负载大量 UCNP-Apt 纳米探 针,荧光被淬灭,靶菌与适配体结合, UCNPs 纳米探针的荧光信号恢复	467	10 <sup>3</sup> ~10 <sup>7</sup>	30 min	-	[49]
金黄色葡萄球菌	荧光	米用杂交链式反应作为增敏剂,合成 一种新型 g-C <sub>3</sub> N <sub>4</sub> 纳米片辅助上转化的 荧光适配体传感器	1	10~10 <sup>6</sup>	30 min	饮用水和 牛奶	[50]
福氏志贺菌	化学发光	晋米诺-AuNFs-Apt 作为信号採针, Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -Apt 作为捕获探针, 靶菌和信号 探针竞争性结合捕获探针	12	26~2.6×10 <sup>5</sup>	1 h	牛奶和猪肉	[61]
鼠伤寒沙门菌	化学发光	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -MNPs-Apt 构建捕获採针, Co <sup>2+</sup> /ABEI-AuNFs-cDNA 构建信号探 针,异鲁米诺作为发光试剂	10	32~3.2×10 <sup>6</sup>	3 h	猪肉	[62]
金黄色葡萄球菌	化学发光	基于 RCA 和具有增强灵敏度的锥形光 纤二硫化钨纳米片构建一种增强型 CRET 适配体分析方法	15	50~1.5×10 <sup>5</sup>	2 h	猪肉	[63]
大肠埃希菌 O157:H7	化学发光	GO/铁纲米复合物去除木与靶困结合 的游离适配体,化学发光试剂 TMPG 使结合靶菌的 Apt/6-羧基荧光素发出 强光	4.5×10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup> ~10 <sup>7</sup>	1 h	牛奶	[64]
肠炎沙门菌	表面增强 拉曼散射	靶菌与Au@AgNPs表面的适配体结合, 增加了组装在Au@AgNPs表面的 4-MBA的拉曼信号强度	52	4.17×10 <sup>2</sup> ~1.39×10 <sup>7</sup>	3 h	稳心颗粒 (药物)	[67]
金黄色葡萄球菌	表面增强 拉曼散射	Apt-Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @Au纳米颗粒富集靶菌并作为 SERS 激活的底物,万古霉素-SERS 标签 (Au@MBA)用于致病菌的敏感定量	3	10~10 <sup>7</sup>	50 min	牛奶和果汁	[68]
副溶血性弧菌	表面增强 拉曼散射	AuNPs-PDMS 充当活性底物, 靶菌被 Apt-Au-PDMS 膜捕获, 再与 SERS 探针 结合, SERS 信号强度与菌浓度成正比	18	18~1.8×10 <sup>5</sup>	2 h	虾等海产品	[70]
鼠伤寒沙门菌	表面增强 拉曼散射	AuNPs-PDMS 充当活性底物, 靶菌被 Apt-Au-PDMS 膜捕获, 再与 SERS 探针 结合, SERS 信号强度与菌浓度成正比	27	27~2.7×10 <sup>5</sup>	2 h	虾等海产品	[70]
铜绿假单胞菌	表面等离 子体共振	在玻璃上制备金纳米三角形阵列作为 SPR 传感器基底, 靶菌被传感器表面 的适配体捕获, 即产生 SPR 信号	10	10~10 <sup>3</sup>	70 min	-	[77]
乳酸杆菌、铜绿 假单胞菌和鼠伤 寒沙门菌	表面等离 子体共振	二氧化硅纳米颗粒吸收玻璃载玻片上 的薄金层组成介电层,在单个芯片上 固定多个细菌物种特异性的适配体	30	10 <sup>4</sup> ~10 <sup>9</sup>	1 h	-	[78]

注:-表示无此项。

## 6 结束语

与抗体或传统检测方法相比,适配体可以与各种纳 米技术相结合,具有更广泛的应用范围。基于适配体的光 学纳米传感器都有自己独特的优势,如比色适配体传感器, 可以根据吸光度的变化,通过肉眼快速判断阳性结果;荧光适配体传感器具有低背景干扰、高信号强度的特点;化 学发光适配体传感器具有令人满意的精密度和重现性; SERS 适配体传感器的检出限很低,灵敏度很高; SPR 适配 体传感器可实现多通道检测且样品无需标记。 然而,适配体纳米技术仍然存在不足,在传感器制备 过程中,由于温度、离子强度或 pH 等实验因素可能会改变 适配体的三维结构和性质,影响检测的特异性。因此,获 得高性能适配体,并将其集成到多种纳米传感器中是推进 其进一步应用的关键。另外,一些适配体在实验时对纯菌 有很好的捕获效果,但实际样品成分复杂,检测结果往往 不如实验结果。如何将实验方法更好地应用于实践,是研 究人员今后需要解决的问题。

#### 参考文献

- MENGISTU DA, TOLERA ST. Prevalence of microorganisms of public health significance in ready-to-eat foods sold in developing countries: Systematic review and meta-analysis [J]. Int J Food Sci, 2020, 2020: 8867250.
- [2] GIZAW Z. Public health risks related to food safety issues in the food market: A systematic literature review [J]. Environ Health Prev Med, 2019; 24(1): 68–88.
- [3] World Health Organization (WHO) Food Safety [Z]. 2022.
- [4] YENI F, YAVAŞ S, ALPAS H, et al. Most common foodborne pathogens and mycotoxins on fresh produce: A review of recent outbreaks [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2016, 56(9): 1532–1544.
- [5] SHEN Y, NIE JY, KUANG LX, et al. DNA sequencing, genomes and genetic markers of microbes on fruits and vegetables [J]. Microb Biotechnol, 2021, 14(2): 323–362.
- [6] FOURNIER PE, DRANCOURT M, COLSON P, et al. Modern clinical microbiology: New challenges and solutions [J]. Nat Rev Microbiol, 2013, 11(8): 574–585.
- [7] RAJAPAKSHA P, ELBOURNE S, GANGADOO S, et al. A review of methods for the detection of pathogenic microorganisms [J]. Analyst, 2019, 144(2): 396–411.
- [8] TRAN DH, TRAN HT, PHAM TNM, et al. Direct multiplex recombinase polymerase amplification for rapid detection of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* in food [J]. Mol Biol Res Commun, 2022, 11(1): 1–10.
- [9] 贺越, 王辉, 陈睿鹏, 等. 光学和电化学生物传感器对奶牛重要疾病诊断的研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2023, 50(2): 827–837.
  HE Y, WANG H, CHEN RP, *et al.* Research progress on optical and electrochemical biosensors for the diagnosis of important diseases in dairy cows [J]. Chin J Anim Husband Vet Med, 2023, 50(2): 827–837.
- [10] SALEK MAGHSOUDI A, HASSANI S, MIRNIA K, et al. Recent advances in nanotechnology-based biosensors development for detection of arsenic, lead, mercury, and cadmium [J]. Int J Nanomed, 2021, 16: 803–832.
- [11] 陈达,刘美含,张伟,等. 具有类过氧化物酶活性的纳米材料在比色分析中的研究进展[J]. 材料导报, 2022, 36(13): 36–49.
  CHEN D, LIU MH, ZHANG W, *et al.* Progress in colorimetric analysis of nanomaterials with peroxidase-like activity [J]. Mater Rep, 2022, 36(13): 36–49.
- [12] BERENS S, HILLMAN F, JEONG HK, et al. Self-diffusion of pure and mixed gases in mixed-linker zeolitic imidazolate framework-7-8 by high field diffusion NMR [J]. Microporous Mesoporous Mater, 2019, 288: 109603.
- [13] POSPÍŠILOVÁ M, KUNCOVÁ G, TRÖGL J, et al. Fiber-optic chemical

sensors and fiber-optic bio-sensors [J]. Sensors (Basel), 2015, 15(10): 25208-25259.

- [14] ELLINGTON AD, SZOSTAK JW. In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands [J]. Nature, 1990, 346(6287): 818–822.
- [15] CITARTAN M, GOPINATH SC, TOMINAGA J, et al. Assays for aptamer-based platforms [J]. Biosens Bioelectron, 2012, 34(1): 1–11.
- [16] RUBAB M, SHAHBAZ HM, OLAIMAT AN, et al. Biosensors for rapid and sensitive detection of *Staphylococcus aureus* in food [J]. Biosens Bioelectron, 2018, 105: 49–57.
- [17] ZHANG ZY, WANG H, CHEN ZP, et al. Plasmonic colorimetric sensors based on etching and growth of noble metal nanoparticles: Strategies and applications [J]. Biosens Bioelectron, 2018, 114: 52–65.
- [18] LIU GY, LU M, HUANG XD, et al. Application of gold-nanoparticle colorimetric sensing to rapid food safety screening [J]. Sensors (Basel), 2018, 18(12): 4166.
- [19] LIU L, HAO YQ, DENG D, et al. Nanomaterials-based colorimetric immunoassays [J]. Nanomaterials (Basel), 2019, 9(3): 316.
- [20] ZHENG XT, TAN YN. Recent development of nucleic acid nanosensors to detect sequence-specific binding interactions: From metal ions, small molecules to proteins and pathogens [J]. Sens Int, 2020, 1: 100034.
- [21] CHANG TJ, WANG LB, ZHAO K, et al. Duplex identification of Staphylococcus aureus by aptamer and gold nanoparticles [J]. J Nanosci Nanotechnol, 2016, 16(6): 5513–5519.
- [22] SADSRI V, TRAKULSUJARITCHOK T, TANGWATTANACHULEEPORN M, et al. Simple colorimetric assay for *Vibrio parahaemolyticus* detection using aptamer-functionalized nanoparticles [J]. ACS Omega, 2020, 5(34): 21437–21442.
- [23] DAS B, JO S, ZHENG JL, et al. Recent progress in polydiacetylene mechanochromism [J]. Nanoscale, 2022, 14(5): 1670–1678.
- [24] ZHOU C, YOU TY, JANG HS, et al. Aptamer-conjugated polydiacetylene colorimetric paper chip for the detection of *Bacillus thuringiensis* spores [J]. Sensors (Basel), 2020, 20(11): 3124.
- [25] 郭莉莉.基于双金属纳米酶的比色传感器的构建及应用[D].郑州:郑州大学, 2020.

GOU LL. Construction and application of colorimetric sensor based on bimetallic nanoenzyme [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2020.

- [26] DAS R, DHIMAN A, KAPIL A, et al. Aptamer-mediated colorimetric and electrochemical detection of *Pseudomonas aeruginosa* utilizing peroxidase-mimic activity of gold NanoZyme [J]. Anal Bioanal Chem, 2019, 411(6): 1229–1238.
- [27] CHEN QM, GAO R, JIA L. Enhancement of the peroxidase-like activity of aptamers modified gold nanoclusters by bacteria for colorimetric detection of *Salmonella typhimurium* [J]. Talanta, 2021, 221: 121476.
- [28] 陈威风,陈薇,蔡颖,等. 基于核酸适配体结合纳米金模拟酶用于单增 李斯特菌的快速检测[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(3): 176–180.
   CHEN WF, CHEN W, CAI Y, et al. Rapid detection of Listeria monocytogenes by nucleic acid aptamer combined with nano-enzyme [J].
   Food Ferment Ind, 2021, 47(3): 176–180.
- [29] LEE J, FARHA OK, ROBERTS J, et al. Metal-organic framework materials as catalysts [J]. Chem Soc Rev, 2009, 38(5): 1450–1459.
- [30] WANG SQ, DENG WF, YANG L, et al. Copper-based metal-organic framework nanoparticles with peroxidase-like activity for sensitive colorimetric detection of *Staphylococcus aureus* [J]. Appl Mater Interf,

第 15 期

2017, 9(29): 24440-24445.

- [31] SUN HJ, ZHOU Y, REN JS, et al. Carbon nanozymes: enzymatic properties, catalytic mechanism, and applications [J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2018, 57(30): 9224–9237.
- [32] SHI J, YIN TX, SHEN WG. Effect of surface modification on the peroxidase-like behaviors of carbon dots [J]. Colloids Surf B Biointerf, 2019, 178: 163–169.
- [33] XU L, CALLAWAY ZT, WANG R, et al. A fluorescent aptasensor coupled with nanobeads based immunomagnetic separator for simultaneous detection of four foodborne pathogenic bacteria [J]. Trans ASABE, 2015, 58(3): 891–906.
- [34] DIAZ GM, DELA-ESCOSURA MA, FERNANDEZ AMT, et al. Quantum dot bioconjugates for diagnostic applications [J]. Top Curr Chem (Cham), 2020, 378(2): 35.
- [35] DAS HT, BARAI P, DUTTA S, et al. Polymer composites with quantum dots as potential electrode materials for supercapacitors application: A review [J]. Polymers (Basel), 2022, 14(5): 1053.
- [36] REN JN, LIANG G, MAN Y, et al. Aptamer-based fluorometric determination of Salmonella Typhimurium using Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic separation and CdTe quantum dots [J]. PLoS One, 2019, 14(6): e0218325.
- [37] 栗博. 基于量子点—分子体系的荧光共振能量转移过程的超快动力学研究[D]. 吉林: 吉林大学, 2022.
  LI B. Ultrafast kinetics study of fluorescence resonance energy transfer process based on quantum dots-molecules system [D]. Jilin: Jilin University, 2022.
- [38] WEN LX, LV JJ, CHEN L, et al. A fluorescent probe composed of quantum dot labeled aptamer and graphene oxide for the determination of the lipopolysaccharide endotoxin [J]. Mikrochim Acta, 2019, 186(2): 122.
- [39] 张亚青. 基于荧光共振能量转移的食源性致病菌检测方法研究[D]. 重 庆:西南大学, 2020.
   ZHANG YQ. Detection of foodborne pathogenic bacteria based on fluorescence resonance energy transfer [D]. Chongqing: Southwest University. 2020.
- [40] 姜欣, 叶满萍, 邓敏, 等. 量子点核酸适配体传感器在食品安全检测中的应用 [J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(11): 190–196.
  JIANG X, YE MP, DENG M, *et al.* Application of quantum dot nucleic acid aptamer sensor in food safety detection [J]. J Food Saf Qual, 2023, 14(11): 190–196.
- [41] HAN A, HAO S, YANG YY, et al. Perspective on recent developments of nanomaterial based fluorescent sensors: Applications in safety and quality control of food and beverages [J]. J Food Drug Anal, 2020, 28(4): 486–507.
- [42] QU JH, WEI Q, SUN DW. Carbon dots: Principles and their applications in food quality and safety detection [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2018, 58(14): 2466–2475.
- [43] GUO Z, HUANG XW, LI ZH, et al. Rapid and highly sensitive detection of Salmonella typhimurium in lettuce by using magnetic fluorescent nanoparticles [J]. Anal Method, 2020, 12(48): 5861–5868.
- [44] YANG L, DENG WF, CHENG C, et al. Fluorescent immunoassay for the detection of pathogenic bacteria at the single-cell level using carbon dots-encapsulated breakable organosilica nanocapsule as labels [J]. ACS Appl Mater Interf, 2018, 10(4): 3441–3448.
- [45] NANDI S, RITENBERG M, JELINEK R. Bacterial detection with

amphiphilic carbon dots [J]. Analyst, 2015, 140(12): 4232-4237.

- [46] LI XM, ZHANG F, ZHAO DY. Lab on upconversion nanoparticles: Optical properties and applications engineering via designed nanostructure [J]. Chem Soc Rev, 2015, 44(6): 1346–1378.
- [47] LU XY, CHEN Y, ZOU RB, et al. Novel immunochromatographic strip assay based on up-conversion nanoparticles for sensitive detection of imidacloprid in agricultural and environmental samples [J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2021, 28(35): 49268–49277.
- [48] ZHENG HY, SHENG R, LI HH, et al. Rapid and selective detection of Bacillus cereus in food using cDNA-based up-conversion fluorescence spectrum copy and aptamer modified magnetic separation [J]. Spectrochim Acta A, 2022, 267(2): 120618.
- [49] 姚远. 基于 UCNPs和GO@Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>构建新型荧光传感器快速检测尿液大 肠埃希菌[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2021.
   YAO Y. Fast detection of *E. coli* by a novel fluorescent sensor based on a FRET system between UCNPs和GO@Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> and in urine specimens [D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2021.
- [50] XU Y, AHMAD W, HASSAN MM, et al. Ultrasensitive hairpin mediated upconversion fluorescence biosensor for *Staphylococcus aureus* detection in foods and waters exploiting g-CN-assisted catalysis [J]. Anal Chim Acta, 2023, 1239: 340738.
- [51] CUI YJ, LI B, HE HJ, *et al.* Metal-organic frameworks as platforms for functional materials [J]. Acc Chem Res, 2016, 49(3): 483–493.
- [52] 徐群娜, 仇瑞杰, 马建中. 聚合物基 MOFs 复合材料的制备及应用[J].
   材料导报, 2020, 34(8): 15151–15160.
   XU QN, QIU RJ, MA JZ. Preparation and application of polymer-based MOFs composites [J]. Mater Rep, 2020, 34(8): 15151–15160.
- [53] JIA YM, ZHOU GH, WANG XD, et al. A metal-organic framework/aptamer system as a fluorescent biosensor for determination of aflatoxin B<sub>1</sub> in food samples [J]. Talanta, 2020, 219: 121342.
- [54] HE KY, LI ZS, WANG L, et al. A water-stable luminescent metal-organic framework for rapid and visible sensing of organophosphorus pesticides [J]. ACS Appl Mater Interf, 2019, 11(29): 26250–26260.
- [55] LUO LP, HUANG LJ, LIU XN, et al. Mixed-valence Ce-BPyDC metal-organic framework with dual enzyme-like activities for colorimetric biosensing [J]. Inorg Chem, 2019, 58(17): 11382–11388.
- [56] 李光华, 刘厦, 康凯, 等. 金属有机框架材料在食品检测中应用的研究 进展[J]. 食品科学, 2021, 42(21): 223–234.
  LI GH, LIU S, KANG K, *et al.* Advances in the application of metal-organic frameworks for food detection [J]. Food Sci, 2021, 42(21): 223–234.
- [57] OUYANG SY, YU ST, LE YY. Current advances in immunoassays for the detection of β<sub>2</sub> agonists [J]. Foods, 2022, 11(6): 803.
- [58] LIU MY, YUE FL, KONG QQ, et al. Aptamers against pathogenic bacteria: selection strategies and apta-assay/aptasensor application for food safety [J]. J Agric Food Chem, 2022, 70(18): 5477–5498.
- [59] JONES A, DHANAPALA L, KANKANAMAGE RNT, et al. Multiplexed immunosensors and immunoarrays [J]. Anal Chem, 2020, 92(1): 345–362.
- [60] SAFAVI A, ABSALAN G, BAMDAD F. Effect of gold nanoparticle as a novel nanocatalyst on luminol-hydrazine chemiluminescence system and its analytical application [J]. Anal Chim Acta, 2008, 610(2): 243–248.
- [61] 陈威风,李晓雪,裴兰梅,等.适配体识别-化学发光技术检测福氏志 贺菌[J].食品与发酵工业,2023,49(1):267-272,278.

CHEN WF, LI XX, PEI LM, *el al.* Detection of *Shigella frigneri* based on aptamer recognition and chemiluminescence technique [J]. Food Ferment Ind, 2023, 49(1): 267–272, 278.

- [62] HAO L, GU H, DUAN N, et al. A chemiluminescent aptasensor based on rolling circle amplification and Co<sub>2</sub><sup>+</sup>/N-(aminobutyl)-N-(ethylisoluminol) functional flowerlike gold nanoparticles for Salmonella typhimurium detection [J]. Talanta, 2017, 164: 275–282.
- [63] HAO L, GU H, DUAN N, et al. An enhanced chemiluminescence resonance energy transfer aptasensor based on rolling circle amplification and WS<sub>2</sub> nanosheet for *Staphylococcus aureus* detection [J]. Anal Chim Acta, 2017, 959: 83–90.
- [64] KHANG J, KIM D, CHUNG KW, et al. Chemiluminescent aptasensor capable of rapidly quantifying *Escherichia coli* O157:H7 [J]. Talanta, 2016, 147: 177–183.
- [65] 何欣,蒋彩云,丁涛,等. 有序表面增强拉曼散射基底制备的研究发展[J]. 应用化学,2022,39(8):1167–1176.
  HE X, JIANG CY, DING T, *et al.* Reserch progress of preparation of ordered surface enhanced raman scattering substrate [J]. Appl Chem, 2022, 39(8): 1167–1176.
- [66] CRAIG AP, FRANCA AS, IRUDAYARAJ J. Surface-enhanced raman spectroscopy applied to food safety [J]. Annu Rev Food Sci T, 2013, 4: 369–380.
- [67] JIN L, WANG SF, SHAO Q, et al. A rapid and facile analytical approach to detecting Salmonella Enteritidis with aptamer-based surface-enhanced Raman spectroscopy [J]. Spectrochim Acta A, 2022, 267(2): 120625.
- [68] PANG YF, WAN N, SHI LL, et al. Dual-recognition surface-enhanced Raman scattering (SERS) biosensor for pathogenic bacteria detection by using vancomycin-SERS tags and aptamer-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@Au [J]. Anal Chim Acta, 2019, 1077: 288–296.
- [69] HU Z, LIU ZB, TIAN JG. Stacking of exfoliated two-dimensional materials: A review [J]. Chin J Chem, 2020, 38: 15.
- [70] DUAN N, SHEN M, QI S, et al. A SERS aptasensor for simultaneous multiple pathogens detection using gold decorated PDMS substrate [J]. Spectrochim Acta A, 2020, 230: 118103.
- [71] RAMDZAN NSM, FEN YW, ANAS NAA, et al. Development of biopolymer and conducting polymer-based optical sensors for heavy metal

ion detection [J]. Molecules, 2020, 25: (11): 2548.

- [72] 朱洪吉, 孟闯, 潘志明, 等. 基于表面等离子体共振技术检测病原细菌的研究进展[J]. 中国兽医科学, 2022, 52(7): 901–907.
  ZHU HJ, MENG CH, PAN ZM, *et al.* Progress in the detection of pathogenic bacteria based on surface plasmon resonance technique [J]. Chin Vet Sci, 2022, 52(7): 901–907.
- [73] NGUYEN HH, PARK J, KANG S, et al. Surface plasmon resonance: A versatile technique for biosensor applications [J]. Sensors (Basel), 2015, 15(5): 10481–10510.
- [74] CRIVIANU-GAITA V, THOMPSON M. Aptamers, antibody scFv, and antibody Fab' fragments: An overview and comparison of three of the most versatile biosensor biorecognition elements [J]. Biosens Bioelectron, 2016, 85: 32–45.
- [75] 汪海波,杨泽,莫秋华. 基于表面等离子共振的适配体传感器应用研究进展[J]. 生物技术通, 2015, 1(33): 149–153.
  WANG HB, YANG Z, MO QH. Progress on the application of surface plasmon resonance based aptamer biosensor [J]. Lett Biotechnol, 2015, 1(33): 149–153
- [76] ZHU ZL, FENG MX, ZUO LM, et al. An aptamer based surface plasmon resonance biosensor for the detection of ochratoxin A in wine and peanut oil [J]. Biosens Bioelectron, 2015, 65: 320–6.
- [77] HU J, FU K, BOHN PW. Whole-cell *Pseudomonas aeruginosa* localized surface plasmon resonance aptasensor [J]. Anal Chem, 2018, 90(3): 2326–2332.
- [78] YOO SM, KIM DK, LEE SY. Aptamer-functionalized localized surface plasmon resonance sensor for the multiplexed detection of different bacterial species [J]. Talanta, 2015, 132: 112–117.

(责任编辑: 韩晓红 郑 丽)

#### 作者简介



钟毓红,硕士,副主任技师,主要研究方 向为纳米材料的制备以及食品安全检测。 E-mail: zeyyzyh@zju.edu.cn