# 基于金掺杂的锆基金属有机框架电化学适配体 传感器检测玉米中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>

李宗达<sup>1,2</sup>,陆 康<sup>1,2</sup>,裴 强<sup>3</sup>,李新博<sup>1,2</sup>,刘文平<sup>1,2</sup>,毛亚琪<sup>1,2</sup>,张民伟<sup>1,2\*</sup> [1. 新疆大学生命科学与技术学院,乌鲁木齐 830017;2. 新疆大学新疆生物资源与基因工程重点实验室, 乌鲁木齐 830017;3. 中粮油脂(广元)有限公司,广元 628000]

摘 要:目的 建立基于金掺杂的锆基金属有机框架(gold-doped zirconium-based metal-organic framework, Au@Zr-MOF)的电化学适配体传感器检测玉米中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> (aflatoxin B<sub>1</sub>, AFB<sub>1</sub>)的方法。**方法** 利用具有高比表面积、介孔结构的 Zr-MOF 作为骨架,通过原位还原生长的方法掺杂金纳米粒子,得到导电性良好、分散均匀的 Au@Zr-MOF。并基于 Au-S 键共价结合 AFB<sub>1</sub>适配体,构建电化学阻抗型适配体传感器,当 AFB<sub>1</sub>存在时,适配体对其进行识别结合,引起电极表面电化学传质电阻增加,随着 AFB<sub>1</sub>浓度的增大,阻抗值也随之增加,并根据阻抗值的变化实现对 AFB<sub>1</sub>的定量检测。**结果** 在最佳的实验条件下,该传感器对 AFB<sub>1</sub>检测的线性范围为 10<sup>-4</sup>~10<sup>1</sup> ng/mL,检出限为 0.19 pg/mL,对玉米样品的回收率为 96%~112%。**结论** 本研究建立的电化学适配体传感器可以实现对 AFB<sub>1</sub>的定量检测,且具有良好的特异性和重现性,为准确、快速检测食品中的 AFB<sub>1</sub>提供思路。

关键词: 黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>; 金掺杂的锆基金属有机框架; 适配体; 阻抗型传感器; 玉米

## Detection of aflatoxin B<sub>1</sub> in maize based on gold-doped zirconium-based metal-organic framework electrochemical aptamer sensor

LI Zong-Da<sup>1,2</sup>, LU Kang<sup>1,2</sup>, PEI Qiang<sup>3</sup>, LI Xin-Bo<sup>1,2</sup>, LIU Wen-Ping<sup>1,2</sup>, MAO Ya-Qi<sup>1,2</sup>, ZHANG Min-Wei<sup>1,2\*</sup>

[1. College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830017, China; 2. Xinjiang Key Laboratory of Biological Resources and Genetic Engineering, Xinjiang University, Urumqi 830017, China; 3. COFCO Oils & Fats (Guangyuan) Co., Ltd., Guangyuan 628000, China]

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for detecting aflatoxins  $B_1$  (AFB<sub>1</sub>) in maize by electrochemical aptamer sensor based on gold-doped zirconium-based metal-organic framework (Au@Zr-MOF). **Methods** Zr-MOF with high specific surface area and mesoporous structure was used as a backbone to obtain Au@Zr-MOF with good conductivity and uniform dispersion by in situ reductive growth method. An electrochemical impedance aptamer was

基金项目:自治区天山英才-青年科技拔尖人才项目(2022TSYCCX0064)、第73批中国博士后科学基金项目、自治区高校基本科研业务费 科研项目-培育类项目(XJEDU2023P016)、国家自然科学基金项目(31960496)、新疆维吾尔自治区重大科技专项项目(2022A02009-3)

**Fund:** Supported by the Tianshan Talents-Youth Science and Technology Top Talent Project (2022TSYCCX0064), the 73rd China Postdoctoral Science Foundation, the Basic Research Operating Expenses of Universities in the Autonomous Region for Scientific Research Projects-Cultivation Category (XJEDU2023P016), the National Natural Science Foundation of China (31960496), and the Major Science and Technology Projects of Xinjiang Uygur Autonomous Region (2022A02009–3)

<sup>\*</sup>通信作者:张民伟,博士,副教授,主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: zhang78089680@sina.com

<sup>\*</sup>Corresponding author: ZHANG Min-Wei, Ph.D, Associate Professor, College of Life Science and Technology, Xinjiang University, No.777, Huarui Street, Shuimogou District, Urumqi 830017, China. E-mail: zhang78089680@sina.com

constructed based on Au-S bond covalently binding AFB<sub>1</sub> aptamer. When AFB<sub>1</sub> was present, the aptamer recognized and bound to it, causing an increase in electrochemical mass transfer resistance on the electrode surface, and as the concentration of AFB<sub>1</sub> increases, the impedance value also increased, and the quantitative detection of AFB<sub>1</sub> was achieved according to the change of impedance value. **Results** Under the optimal experimental conditions, the linear range of AFB<sub>1</sub> detection was  $10^{-4}$ – $10^{1}$  ng/mL, the limit of detection was 0.19 pg/mL, and the recoveries of maize samples were 96%–112%. **Conclusion** The electrochemical aptamer sensor established in this study can realize the quantitative detection of AFB<sub>1</sub> with good specificity and reproducibility, which provides ideas for accurate and rapid detection of AFB<sub>1</sub> in food.

**KEY WORDS:** aflatoxin B<sub>1</sub>; gold-doped zirconium-based metal-organic frameworks; aptamer; impedance type sensor; maize

## 0 引 言

真菌毒素是一种由真菌在作物生产、收获、运输和贮藏 过程中产生的有毒代谢物。其中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> (aflatoxin B<sub>1</sub>, AFB<sub>1</sub>)是分布最广、毒性最强、危害最大的真菌毒素,具有极 强的致癌、致突变和致畸性<sup>[1-4]</sup>。早在 20 世纪,国际癌症研 究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)就 将 AFB<sub>1</sub>列入I类致癌物。世界各国和组织也制定了相应的限 量标准,例如,联合国粮食及农业组织(Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO)规定食品中 AFB<sub>1</sub>的 最高允许含量为 15  $\mu$ g/kg, 欧盟规定食品中 AFB<sub>1</sub>限量标准为 2  $\mu$ g/kg,中国规定食用玉米及其制品中的 AFB<sub>1</sub>不能超过 20  $\mu$ g/kg,小麦等谷物内的 AFB<sub>1</sub>不可高于 5  $\mu$ g/kg<sup>[5-7]</sup>。

常见的 AFB<sub>1</sub> 检测方法有薄层分析法(thin layer chromatography, TLC)<sup>[8–9]</sup>、高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)<sup>[10–11]</sup>、酶联免疫吸附测定法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)<sup>[12–13]</sup>和荧光分 析法<sup>[14–15]</sup>等。近年来,电化学传感器凭借着操作简单、选 择性高、易于实现现场检测以及抗干扰能力强且所需的仪 器简单等优势,被广泛应用于各种生命物质和化学物质的 分析和检测<sup>[16–18]</sup>。其中,基于高特异性、亲和力以及较强 稳定性的适配体构建的电化学传感器得到了迅速的发展, 当适配体与 AFB<sub>1</sub> 特异性识别时, 就会引起传感平台上电 流、电势等信号变化,根据信号变化的强弱,对 AFB<sub>1</sub>进行 定性定量的分析<sup>[19–21]</sup>。

然而,目前电化学适配体传感器多采用碳基纳米材 料<sup>[22-23]</sup>、贵金属纳米材料<sup>[24-25]</sup>、金属氧化物<sup>[26-27]</sup>等纳米材 料构建。这些纳米材料与适配体通常以π-π相互作用、静 电吸附以及范德华力等非共价相互作用结合,然而这样结 合存在着不稳定、适配体易脱落等弊端<sup>[28-30]</sup>。锆基金属有 机框架(zirconium-based metal-organic framework, Zr-MOF) 具有较大的比表面积、较高的孔隙率以及较强的化学和热 稳定性,而且其制备条件温和、周期短、成本低、操作简 单,在电化学适配体传感器的构建中具有良好的应用前 景<sup>[31-33]</sup>。然而, Zr-MOF 本身的导电性较差, 不适合直接应 用于传感器的制备, 往往需要与其他纳米材料复合来提高 电子转移速率。金纳米粒子(gold nanoparticles, Au NPs)不仅 具有良好的导电性和稳定性, 而且其本身也可以作为靶点 与巯基修饰的适配体以 Au-S 键稳定结合<sup>[34]</sup>。基于此, 本研 究以 Zr-MOF 为骨架, 通过原位还原生长的方法在其孔道内 外掺杂 Au NPs, 得到导电性良好、分散均匀的 Au@Zr-MOF, 并基于 Au-S 键共价稳定结合 AFB<sub>1</sub> 适配体, 构建电化学阻 抗型适配体传感器, 应用于食品中 AFB<sub>1</sub> 的检测, 为纳米材 料应用于食品中真菌毒素的检测提供参考。

## 1 材料与方法

#### 1.1 材料与试剂

玉米购买于本地超市。

AFB1、AFB2、AFG1、桔霉素(citrinin, CIT)、AFG2(纯度 ≥98%)、三羟甲基氨基甲烷盐酸盐[Tris (hydroxymethyl) aminomethane hydrochloride, Tris-HCl]、三(2-甲酰乙 基) 膦盐酸盐[Tris(2-carboxyethyl) phosphine, TCEP]、萘酚(分 析纯)(上海源叶生物科技有限公司);氯化锆、2-氨基对苯二 甲酸(2-aminoterephthalic acid, NH2-BDC)、N,N-二甲基甲酰 胺(N,N-dimethylformamide, DMF)(分析纯, 上海麦克林生 化科技有限公司); 氯金酸(分析纯, 上海精细化工材料研 究所); 硼氢化钠(分析纯, 北京化工厂有限责任公司); 铁 氰化钾(分析纯, 天津风船化学试剂科技有限公司); 亚铁 氰化钾(分析纯,天津致远化学试剂有限公司);冰醋酸、 甲醇(优级纯,国药集团化学试剂有限公司);适配体由 上海生工生物科技有限公司合成并纯化,碱基序列为 5'-SH-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-GTT GGG CAC GTG TTG TCT CTC TGT GTC TCG TGC CCT TCG CTA GGC CCA CA-3'; 实验用 水均为超纯水, 电阻率为 18.2 MΩ·cm。

#### 1.2 仪器与设备

CHI 660C 电化学工作站(上海辰华仪器有限公司); JSM-7800F 扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)、JEM-2100F 透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)(日本电子株式会社); Allegra X-30R 离心机(贝克曼库尔特有限公司); KH-100 mL 水热反应釜(上海 昌意仪器设备有限公司); SB-5200DTD 超声波清洗机(宁波 新芝生物科技股份有限公司); 101 型电热鼓风干燥箱(永光 医疗仪器有限公司); DF-101S 型集热式恒温加热磁力搅拌器(上海兴创科学仪器设备有限公司); 0.45 µm 有机滤膜(广州硕谱生物科技有限公司)。

## 1.3 实验方法

1.3.1 材料的制备

(1) Zr-MOF 的制备

采用溶剂热法合成 Zr-MOF, 具体方法参照文献 [31,35]并稍作修改。称取 0.0769 g ZrCl₄ 和 0.0597 g NH<sub>2</sub>-BDC 溶于 35 mL DMF 中, 超声 10 min 以完全溶解。加 入 7.63 mL 冰醋酸,继续超声混匀,然后将其转移到 100 mL 反应釜中,在 120℃烘箱中反应 16 h。自然冷却到室温后, 离心,用 DMF 和乙醇交替洗 3 次,置于 60℃的干燥箱中过 夜,得到具有高比表面积和介孔结构的 Zr-MOF。

(2) Au@Zr-MOF 的合成

参照 WU 等<sup>[36]</sup>的方法,采用原位还原生长的方法合成 Au@Zr-MOF。称取 10 mg 合成的 Zr-MOF 粉末于 25 mL 烧杯中,加入2 mL 20 mmol/L 的水比甲醇(1:1, *V:V*)的 HAuCl<sub>4</sub> 溶液,超声至粉末完全溶解。将烧杯置于磁力搅拌器中 室温搅拌 4 h,4℃冰水浴中继续搅拌 1 h。然后逐滴滴加 0.5 mL 0.05 mol/L 的 NaBH<sub>4</sub>,继续在冰水浴中搅拌 0.5 h,反应液用超纯水洗 3 次,置于 60℃的干燥箱中过夜,得到导电性良好且分散均匀的 Au@Zr-MOF。

(3)适配体溶液的配制

将未开封的适配体先用离心机(8000 r/min, 1 min)将 存留在管壁上的粉末沉降至管底,以防止由于静电或气流 的冲击,导致微小的干粉开盖时损失。然后按照每 OD 加 人 10.75 µL 10 mmol/L Tris-HCl, 得到 100 µmol/L 的适配体 溶液。取 100 µL 50 µmol/L 的适配体溶液于 1.5 mL 离心管 中, 加入 1 µL 三(2-甲酰乙基)膦盐酸盐溶液还原适配体分 子中的二硫键, 以便适配体更好地结合 Au@Zr-MOF。充 分反应后加入 400 µL Tris-HCl 混匀得到 10 µmol/L 适配体 溶液, 放到–20℃冰箱中保存备用。

(4) AFB<sub>1</sub>标准液的制备

将 AFB<sub>1</sub>固体粉末用甲醇溶液溶解配制成高浓度的标 准液,然后放置-20℃储存,后续实验不同浓度的 AFB<sub>1</sub> 溶 液由该标准液稀释配制。

1.3.2 电化学适配体传感器的构建

选用玻碳电极(glassy carbon electrode, GCE, 直径3 mm) 作为工作电极,采用物理打磨和化学清洗的方式对电极表 面杂质进行去除。具体操作如下:采用氧化铝抛光膏按照 粒径从大到小(1.00、0.50 及 0.05 μm)的顺序对 GCE 表面进 行抛光处理,用超纯水冲洗电极表面,随后用乙醇和超纯 水交替超声3次、每次3min。清洗完成后,电极在氮气流 中吹干,并通过滴涂法将 Au@Zr-MOF 与萘酚(0.01%)的混 合液修饰在 GCE 表面。然后将巯基修饰的适配体(aptamer, Apt)和 6-巯基-1-己醇(6-mercapto-1-hexanol, MCH)依次滴 涂到电极表面。适配体通过 Au-S 键固定到材料表面, MCH 用于封闭多余的 Au NPs 位点。以 GCE/Au@Zr-MOF/ Apt/MCH 为工作电极, 饱和甘汞电极(saturated calomel electrode, SCE)为参比电极, Pt 电极为对电极, 0.1 mol/L KCl 和 5 mmol/L [Fe(CN)6]3-/[Fe(CN)6]4-混合溶液为电解液。通 过 CHI 660C 电化学工作站(上海辰华)进行循环伏安法 (cyclic voltammetry, CV)和电化学阻抗谱法(electrochemical impedance spectroscopy, EIS)测试。传感器的构建过程如图 1 所示。循环伏安法的工作条件是:扫描范围为-0.2~0.6 V,扫 描速率为 100 mV/s; 电化学阻抗谱法的工作条件是: 外加 电压 0.19 V, 振幅 5 mV, 电压频率范围 10<sup>-1</sup>~10<sup>5</sup> Hz。



Fig.1 Construction process of electrochemical aptamer sensor

#### 1.3.3 标准曲线的建立

将不同质量浓度(0.01、0.10、1.00 pg/mL、0.01、 0.10、1.00、10.00、20.00 ng/mL)的 AFB<sub>1</sub> 滴涂在制备好 的工作电极表面, 孵育 90 min 后用超纯水缓慢冲洗, 去 除未与适配体结合的 AFB<sub>1</sub>, 然后用 EIS 测量阻抗变化 值。根据测量结果, 建立阻抗变化值与 AFB<sub>1</sub> 浓度之间 的线性关系。

#### 1.3.4 样品的测定

玉米样品前处理过程如下<sup>[37]</sup>:称取 0.5 g 玉米样品 于 25 mL 烧杯中,加入 4.5 mL 水-甲醇(3:7, V:V),超声 30 min,将提取液离心(12000 r/min, 10 min)去除不溶性 固形物,通过 0.45 µm 有机滤膜过滤,直至滤液变清。为 了防止高溶度的甲醇对适配体的破坏,所以将滤液用 Tris-HCl缓冲液稀释,最后将 3 种不同质量浓度的 AFB<sub>1</sub> 标准液加入到提取液中获得待检测样品,置于 4℃冰箱 中保存备用。

## 1.4 电阻变化值计算

通过 EIS 测得的实验数据用如图 2 所示的等效电路进 行拟合,并以加入 AFB<sub>1</sub>前后阻抗变化值 Δ*R* 展开数据分析, Δ*R* 的计算公式如式(1):

$$\Delta R = R_2 - R_1$$
 (1)  
式中:  $R_1$ 为空白对照组测得的阻抗值/ohm;  $R_2$ 为 AFB<sub>1</sub> 孵育

## 后测得的阻抗值/ohm。

## 1.5 数据处理

等效电路拟合采用 Zview 软件进行,用 Origin 2021 和 Excel 2019 进行数据处理与作图分析。

#### 2 结果与分析

## 2.1 Zr-MOF 与 Au@Zr-MOF 的表征

利用扫描电子显微镜和透射电子显微镜对合成的 Zr-MOF 与 Au@Zr-MOF 进行表征,从图 3A~C 可以看出 Zr-MOF 呈现均匀的八面体形态,表面光滑,平均粒径约 为 578 nm。掺杂 Au NPs 后不会改变原来 Zr-MOF 的晶体 形态,且其均匀分布在 Zr-MOF 内外,平均粒径约为 600 nm(图 3D~F)。这种结构不仅可以提高 Au@Zr-MOF 的导 电性,而且也提供了丰富的适配体结合位点。



注: Re 为电解质电阻; CPE 为双电层电容; Zw 为 Warburg 阻抗; Rct 为电荷转移电阻。 图 2 等效电路图 Fig.2 Equivalent circuit diagram



注: A: Zr-MOF 的 TEM; B: Zr-MOF 的 SEM; C: Zr-MOF 的粒径分析; D: Au@Zr-MOF 的 TEM; E: Au@Zr-MOF 的 SEM; F: Au@Zr-MOF 的粒径分析。 图 3 Zr-MOF 与 Au@Zr-MOF 材料表征图 Fig.3 Characterization of Zr-MOF and Au@Zr-MOF materials

#### 2.2.1 复合材料的电化学表征

用EIS分别对裸GCE、Zr-MOF/GCE和Au@Zr-MOF/GCE 进行电化学表征,其结果用等效电路拟合后的 Nyquist 图 表示。如图 4A 所示,典型 Nyquist 图分为两部分:分别是 高频的半圆部分和低频的线性部分,其中高频的半圆部分 反映了电子转移速率或电子转移电阻,而低频的线性部 分与扩散控制的电化学行为有关,阻抗值可以通过计算 Nyquist 图的半圆直径来估算<sup>[38-39]</sup>。由图 4A 可知,裸 GCE 的阻抗为 127.4 ohm, Zr-MOF/GCE 的阻抗与裸 GCE 相比,增加 48.4 ohm,说明 Zr-MOF 的导电性较差。而 Au@Zr-MOF/GCE 的阻抗为 50.4 ohm,相对于裸 GCE 和 Zr-MOF/GCE,Au@Zr-MOF/GCE 的阻抗显著降低。说明掺 杂 Au NPs 的 Zr-MOF 可以有效提高电极表面的电子转移 能力,进而提高传感器的灵敏度。

#### 2.2.2 传感器构建过程的电化学表征

用 CV 和 EIS 对电化学传感器制备过程的每一步进行 表征(图 4B~D),由图 4B 可以看出,电极在 K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]/ K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]电解液中呈现出典型的氧化还原峰。对于裸 GCE 来说,氧化峰与还原峰之间的电位差( $\Delta E$ )为 0.166 V, 氧化峰的峰电流( $I_p$ )为 0.116  $\mu$ A。滴加 Au@Zr-MOF 后, GCE/Au@Zr-MOF 的 Δ*E* 降低为 0.119 V, 而  $I_p$ 略有增大 (0.117 μA), 说明 Au@Zr-MOF 材料中 Au NPs 的引入不仅 可以为适配体的固定提供大量的活性位点,而且还提高了 电化学传感器的电子转移能力。引入适配体之后, GCE/Au@Zr-MOF/Apt/MCH 具有较大的 Δ*E* (0.262 V)和较 小的  $I_p$  (0.058 μA), 是由于适配体侧链带负电荷的磷酸基 团与电解液中的探针[Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>4-/3-</sup>之间存在的静电排斥作 用从而阻碍了电子转移。当适配体与 AFB<sub>1</sub> 识别后, Δ*E* 增 大到 0.354 V,  $I_p$ 减小到 0.051 μA, 这是由于适配体与 AFB<sub>1</sub> 结合后在电极表面形成了更大的空间位阻。

由图 4C~D 可以看出,裸 GCE、GCE/Au@Zr-MOF、 GCE/Au@Zr-MOF/Apt/MCH和 GCE/Au@Zr-MOF/Apt/MCH/ AFB<sub>1</sub>的阻抗值分别为127.4、50.4、4050.3和5971.1 ohm,其 阻抗值的变化结果跟 CV 的结果一致。证实了电化学传感 器的成功制备及其对 AFB<sub>1</sub>的检测的可行性。

#### 2.3 实验条件的优化

#### 2.3.1 适配体浓度的优化

依次制备适配体浓度为 4、6、8、10、12 μmol/L 的 工作电极,分别滴加 5 μL 0.1 ng/mL 的 AFB<sub>1</sub>, 孵育 90 min 后,以空白组作为对照,测量对应的 Δ*R*。从图 5A 可以直



注: A 为复合材料的 Nyquist 图; B、C 分别为传感器制备过程的 CV 和 EIS 表征; D 为 C 图的局部放大,其中图 B、C、D 中的 a、b、c、d 分别代表裸 GCE、GCE/Au@Zr-MOF、GCE/Au@Zr-MOF/Apt/MCH、GCE/Au@Zr-MOF/Apt/MCH/AFB<sub>1</sub>。 图 4 传感器构建过程的电化学表征 Fig.4 Electrochemical characterization of the sensor construction process

观看出,随着适配体浓度的增大, $\Delta R$ 呈先上升后稳定的趋势。适配体浓度从 4  $\mu$ mol/L 到 8  $\mu$ mol/L,  $\Delta R$ 增加了 758 ohm, 而适配体浓度从 8  $\mu$ mol/L 到 12  $\mu$ mol/L,  $\Delta R$  仅增加了 83 ohm。 其原因是随着适配体浓度的增加,固定在电极表面的适配 体随之增多,从而能够捕获更多的 AFB<sub>1</sub>,引起  $\Delta R$ 增加。 但随着适配体浓度的进一步增大, $\Delta R$ 变化不是很明显,说 明适配体与 Au@Zr-MOF 的结合逐渐达到饱和。因此,本 研究适配体的最佳浓度为 8  $\mu$ mol/L。

2.3.2 AFB1 孵育时间的优化

孵育时间是影响检测灵敏度和可靠性的关键因素之—[<sup>40]</sup>, 选取 0.1 ng/mL 的 AFB<sub>1</sub>滴涂到工作电极表面,分别孵育 30、 60、90、120、150 min,随后进行电化学测量。从图 5B 可以 看出随着孵育时间的延长  $\Delta R$  先增加后趋于稳定,这是因为适 配体与 AFB<sub>1</sub>的结合随着时间的增加逐渐达到饱和。孵育时间 从 30 min 到 90 min,  $\Delta R$  增加了 782 ohm,随着孵育时间的进一 步延长,  $\Delta R$  的变化趋于稳定,说明孵育 90 min 后,适配体与 AFB<sub>1</sub>几乎反应完全。所以 AFB<sub>1</sub>的最佳的孵育时间为 90 min。

## 2.4 AFB1的检测性能分析

在最佳的实验条件下,对电化学适配体传感器的分析性能 进行评估。如图 6 所示,当 AFB<sub>1</sub>的质量浓度在  $10^{4}$ ~ $10^{1}$  ng/mL 范围内时,阻抗差值( $\Delta R$ )与 AFB<sub>1</sub>质量浓度的对数值之间 有良好的线性关系,线性方程为  $\Delta R$ =216.63lg $C_{AFB_{1}}$ +2859.38 ( $R^{2}$ =0.998),检出限为 0.19 pg/mL (S/N=3)。本研究构建的电 化学适配体传感器检测 AFB<sub>1</sub> 与其他检测方法相比具有良 好的分析性能(表 1)。

#### 2.5 传感器的特异性和重现性

为了评估电化学适配体传感器的特异性,本研究用 AFB<sub>2</sub>、AFG<sub>1</sub>、AFG<sub>2</sub>和 CIT 进行干扰实验。其中干扰物的 质量浓度均为 10 ng/mL, AFB<sub>1</sub>的质量浓度为 0.1 ng/mL,将 干扰物样液及其与 AFB<sub>1</sub>的混合液分别滴涂到电极表面, 测得对应的  $\Delta R$ 。如图 7A 所示,测得干扰物的  $\Delta R$  均明显 小于对应与 AFB<sub>1</sub>混合样液的  $\Delta R$ ,表明所制备的适配体电 化学传感器对 AFB<sub>1</sub>有很好的选择性。



Table 1         Analysis performance comparison results between this study and the reported AFB1 detection methods							
检测物	检测方法	材料	线性范围	检测限	参考文献		
$AFB_1$	ELISA	—	0~2 ng/mL	0.0716 ng/mL	[8]		
$AFB_1$	HPLC	_	0.1~40 ng/mL	$0.02 \ \mu g/kg$	[10]		
$AFB_1$	荧光检测法	_	0.01~20 ng/mL	0.004 ng/mL	[41]		
$AFB_1$	荧光检测法	_	0.05~100 ng/mL	0.046 ng/mL	[42]		
$AFB_1$	比色检测法	AuNPs	1~6 ng/mL	0.36 ng/mL	[43]		
$AFB_1$	比色检测法	AgNPs	0.2~6.0 ng/mL	0.09 ng/mL	[44]		
$AFB_1$	电化学检测法	二茂铁(Fc)	0.1~100 ng/mL	38.8pg/mL	[45]		
$AFB_1$	电化学检测法	erGO/P5FIn/Au	0.01~100 ng/mL	0.002 ng/mL	[23]		
AFB <sub>1</sub>	电化学检测法	Au@Zr-MOF	$10^{-4} \sim 10^1 \text{ ng/mL}$	0.19 pg/mL	本研究		

表 1 本研究与已报道的 AFB<sub>1</sub> 检测方法的分析性能对比结果

注: —表示未查到文献记载。



图 7 传感器的特异性和重现性分析 Fig.7 Sensor specificity and reproducibility analysis

对传感器的重现性进行探究,取质量浓度为 0.1 ng/mL 的 AFB<sub>1</sub>进行电化学测量。得到 5 次平行测量得到的  $\Delta R$ 值 的 相 对标 准 偏差 (relative standard deviation, RSD)为 1.9%(图 7B)。因此,可以得出该传感器对 AFB<sub>1</sub>的检测具 有良好的重现性。

## 2.6 实际样品检测

为了探究电化学适配体传感器的实用性,将其用于 玉米样品中 AFB<sub>1</sub>的检测。按照 1.3.4 的方法处理样品,并 在最佳实验条件下进行电化学检测。如表 2 所示,该传感

表 2 玉米样品中的 AFB<sub>1</sub>检测结果(*n*=3) Table 2 AFB<sub>1</sub> detection results in maize samples (*n*=3)

样品	添加量/(ng/mL)	检出量/(ng/mL)	RSD/%	回收率/%
玉米	0.01	0.0112	8.2	112
	0.10	0.106	4.9	106
	1.00	0.96	5.4	96

器对玉米样品中的 AFB<sub>1</sub> 的检测回收率为 96%~112%, RSDs 不超过 8.2%, 说明该传感器具有较高的实用性。

## 3 结 论

本研究基于具有良好导电性的 Au@Zr-MOF 构建出的 电化学适配体传感器成功用于玉米中的 AFB<sub>1</sub>的检测。在最 佳的实验条件下,该传感器对 AFB<sub>1</sub>的线性检测范围为 10<sup>-4</sup>~10<sup>1</sup> ng/mL,计算得出检出限为 0.19 pg/mL。通过对玉 米样品进行加标回收实验,得到其回收率为 96%~112%,相 对标准偏差为 5.4%~8.2%。该传感器不仅表现出高灵敏度以 及较低检出限优势,而且对 AFB<sub>1</sub>的检测具有良好的特异性 和重现性,可以为快速、灵敏以及准确检测食品中的 AFB<sub>1</sub> 提供参考。但是,本研究对该传感器实现快速现场检测的研 究不足,对其规模化应用欠缺讨论。为了构建适用于现场检 测的传感器,未来建议结合丝网印刷技术、3D 打印技术等, 构建微型化、便携式传感器,使其应用到更多的场景。

#### 参考文献

 朱彤. 基于功能纳米材料和多通道 DNAzyme 循环放大的 AFB<sub>1</sub> 适体传 感器研究[D]. 成都:成都医学院, 2022.
 ZHU T. Study on AFB<sub>1</sub> aptamer sensor based on functional nanomaterials

and multi-channel DNAzyme cycle amplification [D]. Chengdu: Chengdu Medical College, 2022.

- [2] TAO FF, YAO H, HRUSKA Z, et al. EXPRESS: Use of visiblenear-infrared (VIS-NIR) spectroscopy to detect aflatoxin B<sub>1</sub> on peanut kernels [J]. Appl Spectrosc, 2019, 73(4): 337–358.
- [3] WANG Q, ZHAO FY, YANG Q, et al. Graphene oxide quantum dots based nanotree illuminates AFB<sub>1</sub>: Dual signal amplified aptasensor detection AFB<sub>1</sub> [J]. Sens Actuators B Chem, 2021, 345: 130387.
- [4] 芦然,陈瑞鹏,任舒悦,等.基于表面增强拉曼光谱适配体传感器检测 植物蛋白肉中的黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>[J].食品安全质量检测学报,2023, 14(14):1–9.

LU R, CHEN RP, REN SY, *et al.* Detection of aflatoxin B<sub>1</sub> in vegetable protein meat based on surface enhanced Raman spectral aptamer sensor [J]. J Food Saf Qual, 2023, 14(14): 1–9.

- [5] ZHANG YF, LIN TT, SHEN Y, et al. A high-performance self-supporting electrochemical biosensor to detect aflatoxin B<sub>1</sub> [J]. Biosensors, 2022, 12(10): 897.
- [6] 赵耀帅.用于谷物中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 检测的电化学传感器研究[D]. 天
   津:天津科技大学, 2019.

ZHAO YS. Research on electrochemical sensor for detection of aflatoxin B<sub>1</sub> in grain [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2019.

[7] 林婷婷. 基于电化学生物传感器的黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的快速检测[D]. 广州: 华南理工大学, 2021.

LIN TT. Rapid detection of aflatoxin  $B_1$  based on electrochemical biosensor [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2021.

- [8] 赵磊, 吴明宸, 于亚楠, 等. 酶联免疫和薄层层析法检测茶叶中黄曲霉 毒素 B<sub>1</sub>的评价[J]. 黑龙江医药, 2018, 31(6): 1190–1194. ZHAO L, WU MC, YU YN, *et al.* Evaluation of aflatoxin B<sub>1</sub> in tea by enzyme-linked immunoassay and thin layer chromatography [J]. Heilongjiang Med, 2018, 31(6): 1190–1194.
- [9] QIN L, LI D, ZHAO JR, et al. The membrane mucin Msb2 regulates aflatoxin biosynthesis and pathogenicity in fungus Aspergillus flavus [J]. Microb Biotechnol, 2020, 14(2): 628–642.
- [10] 石格鑫. 高效液相色谱法测定小麦中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>含量[J]. 现代食品,
   2020, 10: 204–206.
   SHI GX. Determination of aflatoxin B<sub>1</sub> in wheat by high performance liquid chromatography [J]. Mod Food, 2020, 10: 204–206.
- [11] RODRIGUEZ-CARRASCO Y, IZZO L, GASPARI A, et al. Simultaneous determination of AFB<sub>1</sub> and AFM<sub>1</sub> in milk samples by ultra high performance liquid chromatography coupled to quadrupole orbitrap mass spectrometry [J]. Beverages, 2018, 4(2): 43.
- [12] 黄钟标,郑思珩,吴思敏,等. 酶联免疫法检测花生样本中的黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>[J]. 广州化工, 2019, 47(9): 124–125.
  HUANG ZB, ZHENG SH, WU SM, *et al.* Determination of aflatoxin B<sub>1</sub> in peanut samples by ELISA [J]. Guangzhou Chem Ind, 2019, 47(9): 124–125.
- [13] 李江, 綦艳, 佘之蕴, 等. 酶联免疫法对食用油中黄曲霉毒素 B1 的检

测[J]. 广东化工, 2017, 44(11): 73-74.

LI J, QI Y, SHE ZY. Detection of aflatoxin  $B_1$  in edible oil by enzyme-linked immunoassay [J]. Guangdong Chem Ind, 2017, 44(11): 73–74.

[14] 贾素莉. 基于 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@MoS<sub>2</sub> 纳米复合材料构建磁控适配体传感器及对 霉菌毒素检测研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2022.

JIA SL. Construction of magnetic aptamer sensor based on  $Fe_3O_4@MOS_2$ nanocomposite material and detection of mycotoxin [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2022.

- [15] LI WJ, PEI Y, WANG J. Development and analysis of a novel AF11-2 aptamer capable of enhancing the fluorescence of aflatoxin B<sub>1</sub> [J]. Chin Chem Lett, 2022, 33(18): 4096–4100.
- [16] 赵颖,刘洪美,卢静华,等.基于适配体生物传感器检测黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报,2018,9(22):5806-5815.
   ZHAO Y, LIU HM, LU JH, *et al.* Research progress of aflatoxin B<sub>1</sub> detection based on aptamer biosensor [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(22): 5806-5815.
- [17] 梁秀俊,冯硕,卫敏,等.基于石墨烯和金纳米棒的电化学核酸适配体 传感器同时检测赭曲霉毒素 A 和伏马菌素 B<sub>1</sub>[J]. 生物加工过程, 2020, 18(4): 440–445.

LIANG XJ, FENG S, WEI M, *et al.* Simultaneous detection of ochratoxin A and fumonisin B<sub>1</sub> by electrochemical aptamer sensor based on graphene and gold nanorods [J]. Bioprocessing, 2020, 18(4): 440–445.

- [18] ZHOU SJ, GUO L, SHI XH, et al. In situ synthesized eRAFT polymers for highly sensitive electrochemical determination of AFB<sub>1</sub> in foods and herbs [J]. Food Chem, 2023, 421(30): 136176.
- [19] 韩冰, 贾永梅, 李志果, 等. 核酸适配体传感器在黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 检测 中应用研究进展[J]. 分析科学学报, 2022, 38(3): 371–376.
  HAN B, JIA YM, LI ZG, *et al.* Research progress of aptasensors in detecting aflatoxin B<sub>1</sub> [J]. J Anal Sci, 2022, 38(3): 371–376.
- [20] VILLALONGA A, PEREZ-CALABUIG AM, VILLALONGA R, et al. Electrochemical biosensors based on nucleic acid aptamers [J]. Anal Bioanal Chem, 2020, 412: 55–72.
- [21] FERAPONTOVA EE. DNA electrochemistry and electrochemical sensors for nucleic acids [J]. Annu Rev Anal Chem, 2018, 11: 197–218.
- [22] WANG PF, LUO B, LIU K, et al. A novel COOH-GO-COOH-MWNT/pDA/AuNPs based electrochemical aptasensor for detection of AFB<sub>1</sub> [J]. RSC Adv, 2022, 12: 27940.
- [23] ZHANG B, LU Y, YANG CN, et al. Simple "signal-on" photoelectrochemical aptasensor for ultrasensitive detecting AFB<sub>1</sub> based on electrochemically reduced graphene oxide/poly(5-formylindole)/Au nanocomposites [J]. Biosens Bioelectron, 2019, 134: 42–28.
- [24] JIANG J, WU HY, SU Y, et al. Electrochemical cloth-based DNA sensors (ECDSs): A new class of electrochemical gene sensors [J]. Anal Chem, 2020, 92(11): 7708–7716.
- [25] ZHONG TT, LI SS, LI X, et al. A label-free electrochemical aptasensor based on Au NPs-loaded zeolitic imidazolate framework-8 for sensitive determination of aflatoxin B<sub>1</sub> [J]. Food Chem, 2022, 384: 132495.
- [26] DENG KQ, LIU XY, LI CX, et al. A comparative study of different Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-functionalized carbon-based nanomaterials for the development of electrochemical sensors for bisphenol A [J]. Anal Method, 2017, 9: 5509–5517.
- [27] ROUSHANI M, FAROKHI S, RAHMATI Z. Development of a

dual-recognition strategy for the aflatoxin B<sub>1</sub> detection based on a hybrid of aptamer-MIP using a Cu<sub>2</sub>O NCs/GCE [J]. Microchem J, 2022, 178: 107328.

- [28] MAHMOUDPOUR M, KARIMZADEH Z, EBRAHIMI G, et al. Synergizing functional nanomaterials with aptamers based on electrochemical strategies for pesticide detection: Current status and perspectives [J]. Crit Rev Anal Chem, 2021, 52(8): 1818–1845.
- [29] EVTUGYN G, PORFIREVA A, SHAMAGSUMOVA R, et al. Advances in electrochemical aptasensors based on carbon nanomaterials [J]. Chemosensors, 2020, 8(4): 96.
- [30] LV MZ, ZHOU W, TAVAKOLI H, et al. Aptamer-functionalized metal-organic frameworks (MOFs) for biosensing [J]. Biosens Bioelectron, 2020, 176: 112947.
- [31] 姚惠文, 王馨悦, 雷欣莹. 基于金属有机框架的荧光适配体传感器检测红酒中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>[J]. 现代食品科技, 2023, 39(6): 1–7.
  YAO HW, WANG XY, LEI XY. Detection of aflatoxin B<sub>1</sub> in red wine by fluorescent aptamer sensor based on organometallic framework [J]. Mod Food Sci Technol, 2023, 39(6): 1–7.
- [32] LI Y, HU MY, HUANG XY, et al. Multicomponent zirconium-based metal-organic frameworks for impedimetric aptasensing of living cancer cells [J]. Sens Actuators B Chem, 2019, 306: 127608.
- [33] XUE WW, WANG YH, GUO L, et al. Zr-MOF functionalized nanochannels: Application to regenerative and sensitive electrochemical aptasensing platform [J]. Sens Actuators B Chem, 2023, 381: 133455.
- [34] BAJPAI VK, HALODORAI Y, KHAN I, et al. Au@Zr based metal-organic framework composite as an immunosensing platform for determination of hepatitis B virus surface antigen [J]. Microchim Acta, 2021, 188: 365.
- [35] ZHAO YF, WANG DF, WEI W, et al. Effective adsorption of mercury by Zr(IV)-based metal-organic frameworks of UiO-66-NH<sub>2</sub> from aqueous solution [J]. Environ Sci Pollut Res, 2021, 28(6): 7068–7075.
- [36] WU LL, PU HB, HUANG LJ, et al. Plasmonic nanoparticles on metal-organic framework: A versatile SERS platform for adsorptive detection of new coccine and orange II dyes in food [J]. Food Chem, 2020, 328: 127105.
- [37] SHIM WB, KIM MJ, MUN H, et al. An aptamer-based dipstick assay for the rapidand simple detection of aflatoxin B<sub>1</sub> [J]. Biosens Bioelectron, 2014, 62: 288–294.
- [38] RANDVIIR EP, BANKS CE. A review of electrochemical impedance spectroscopy for bioanalytical sensors [J]. Anal Method, 2022, 14: 4602–4624.
- [39] BRETT CMA. Electrochemical impedance spectroscopy in the characterisation and application of modified electrodes for electrochemical sensors and

biosensors [J]. Molecules, 2022, 27(5): 1497.

[40] 贾飞,闫文杰,李兴民,等.基于还原氧化石墨烯/碳纳米管-纳米金复合纳米材料的阻抗型电化学适配体传感器检测铜绿假单胞菌[J]. 食品科学, 2021, 42(18): 284–291.
 JIA F, YAN WJ, LI XM, *et al.* Detection of *Pseudomonas aeruginosa* by

impedance electrochemical aptamer sensor based on reduced GO/carbon nanotube-gold composite nanomaterials [J]. Food Sci, 2021, 42(18): 284–291.

- [41] MA PF, GUO HL, YE H, et al. Structural insights into the AFB<sub>1</sub> aptamer coupled with rationally designed CRISPR/Cas12a-Exo III aptasensor for AFB<sub>1</sub> detection [J]. Int J Biol Macromol, 2022, 225: 1164–1171.
- [42] SUO ZG, LIANG XJ, JIN HL, et al. A signal-enhancement fluorescent aptasensor based on the stable dual cross DNA nanostructure for simultaneous detection of OTA and AFB<sub>1</sub> [J]. Anal Bioanal Chem, 2021, 413: 7587–7595.
- [43] LERDSRI J, CHANANCHANA W, UPAN J, et al. Label-free colorimetric aptasensor for rapid detection of aflatoxin B<sub>1</sub> by utilizing cationic perylene probe and localized surface plasmon resonance of gold nanoparticles [J]. Sens Actuators B Chem, 2020, 320: 128356.
- [44] LERDSRI J, THUNKHAMRAK C, JAKMUNEE J. Development of a colorimetric aptasensor for aflatoxin B<sub>1</sub> detection based on silver nanoparticle aggregation induced by positively charged perylene diimide [J]. Food Control, 2021, 130: 108323.
- [45] ZHU CX, LIU D, LI YY, et al. Label-free ratiometric homogeneous electrochemical aptasensor based on hybridization chain reaction for facile and rapid detection of aflatoxin B<sub>1</sub> in cereal crops [J]. Food Chem, 2021, 373: 131443.

(责任编辑:张晓寒 于梦娇)

## 作者简介



李宗达,博士研究生,主要研究方向 为食品安全检测。 E-mail: lizongda@stu.xju.edu.cn

张民伟,博士,副教授,主要研究方向 为食品质量与安全。 E-mail: zhang78089680@sina.com