

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240322007

基于贵金属纳米酶的比色传感技术在食品安全检测中的应用

邵卓麒¹, 刘彦泓², 朱金艳³, 郑秋月¹, 张晓波^{1*}, 曹际娟^{1*}

- 大连民族大学生命科学学院, 生物技术与资源利用教育部重点实验室, 大连 116600;
- 大连市检验检测认证技术服务中心(国家市场监督管理总局技术创新中心), 大连 116021;
- 庄河市食品检验检测中心, 大连 116400)

摘要: 纳米酶是一类具有生物催化功能的纳米材料, 其中贵金属纳米酶具有独特高表面积、电子磁性和光学性质的优势, 还具有与蛋白质和寡核苷酸结合的能力, 广泛应用于食品安全检测; 比色传感技术具有简单、低成本和可视化等优势。基于贵金属纳米酶结合比色传感技术, 已经成为研究热点。本文综述了国内外基于贵金属纳米酶的比色传感技术在食品安全检测中的应用, 重点阐述了贵金属纳米粒子传感器、贵金属结合非贵金属粒子传感器、贵金属结合有机材料传感器以及特殊贵金属材料传感器的特点及应用, 并对未来发展前景提出展望和建议, 以期开发简单、高效、低成本食品安全比色传感快速检测方法提供参考。

关键词: 贵金属纳米酶; 食品危害因子; 比色传感技术

Application of colorimetric sensing technology based on precious metal nanoenzymes in food hazard factor detection

SHAO Zhuo-Qi¹, LIU Yan-Hong², ZHU Jin-Yan³, ZHENG Qiu-Yue¹,
ZHANG Xiao-Bo^{1*}, CAO Ji-Juan^{1*}

[1. Key Laboratory of Biotechnology and Bioresources Utilization of Ministry of Education, College of Life Science, Dalian Minzu University, Dalian 116600, China; 2. Technology Innovation Center of Food Safety Technique of Inspection for State Market Regulation (Rapid Screening and Traceability for Edible Agricultural Product Safety), Dalian 116021, China; 3. Zhuanghe Food Inspection and Monitoring Center, Dalian 116400, China]

ABSTRACT: Nanoenzymes are a type of nanomaterials with biocatalytic functions, among which precious metal nanoenzymes have unique advantages in high surface area, electronic magnetism, and optical properties, as well as the ability to bind with proteins and oligonucleotides, and are widely used in food safety detection; colorimetric sensing technology has advantages such as simplicity, low cost, and visualization. The combination of precious metal

基金项目: 大连市杰出青年科技项目(2023RJ003)

Fund: Supported by the Dalian Outstanding Youth Science and Technology Project (2023RJ003)

*通信作者: 张晓波, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: zhangxb0628@dlnu.edu.cn

曹际娟, 博士, 研究员, 主要研究方向为生物与食品安全。E-mail: caojijuan@dlnu.edu.cn

*Corresponding author: ZHANG Xiao-Bo, Ph.D, Associate Professor, Key Laboratory of Biotechnology and Bioresources Utilization of Ministry of Education, Dalian Minzu University, No.18, Liaohe West Road, Xinqu New District, Dalian 116600, China. E-mail: zhangxb0628@dlnu.edu.cn

CAO Ji-Juan, Ph.D, Professor, Key Laboratory of Biotechnology and Bioresources Utilization of Ministry of Education, Dalian Minzu University, No.18, Liaohe West Road, Xinqu New District, Dalian 116600, China. E-mail: caojijuan@dlnu.edu.cn

nanoenzymes and colorimetric sensing technology has become a research hotspot. This article reviewed the application of colorimetric sensing technology based on precious metal nanoenzymes in food safety detection both domestically and internationally. It focused on the characteristics and applications of precious metal nanoparticle sensors, precious metal bound non precious metal particle sensors, precious metal bound organic material sensors, and special precious metal material sensors. It also provides prospects and suggestions for future development, aiming to provide reference for the development of simple, efficient, and low-cost colorimetric sensing rapid detection methods for food safety.

KEY WORDS: precious metal nanoenzymes; food hazard factors; colorimetric sensing technology

0 引言

食品安全是全球性严重公共卫生问题,检测食品安全危害因子(food safety hazard factors, FSHFs)在保障食品安全中发挥着重要作用^[1]。食品危害因子可以分为物理危害、生物危害和化学危害^[2],其中生物危害包括食源性致病菌、生物毒素和寄生虫等,化学危害主要包括农兽药残留、重金属、非法化学添加剂等^[3]。

目前检测食品危害因子的传统方法主要包括色谱、光谱等理化技术和以分子生物学为代表的生物技术^[4],一些新型方法如纳米酶传感器、成簇的间隔短回文重复序列(clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR)及其相关蛋白(CRISPR-associated protein, Cas)组成的 CRISPR/Cas 系统、核磁共振及磁性共价有机骨架(magnetic covalent organic frameworks, MCOFs)材料等也初步应用于食品安全检测领域^[5]。与传统方法相比,新型检测方法具有更高效、准确、灵敏的特点。

伴随着纳米技术和材料科学的发展,出现了荧光、比色电化学等各种新型生物传感器^[6],不需要依赖昂贵的仪器设备及复杂的操作流程,就可以达到很高的检测效率,适用于食品安全现场快速检测^[7]。2007年 GAO 等^[8]首次发现 Fe_3O_4 纳米颗粒具有过氧化物酶活性,此后具有酶模拟特性的纳米材料成为研究热点。纳米材料的小粒径使其在电极上修饰后具有更大的比表面积和更多的反应位点,同时还具有加快电子转移速率、提高催化活性等优点。纳米材料结合比色生物传感器检测食品危害因子,具有反应速度快、使用简便、成本低、结果可肉眼直接读出等优点。

纳米材料主要分为贵金属、金属氧化物、碳基材料和一些特殊材料。其中贵金属纳米颗粒包括金纳米颗粒(gold nanoparticles, AuNPs)和银纳米颗粒(silver nanoparticles, AgNPs),具有很好的物理化学性质,可以用于构建比色传感器,实现高灵敏可视化识别检测^[9],在食品安全检测中具有很好的应用前景。本文对不同种类的贵金属纳米酶比色传感器的技术原理、优势和应用进行概述,并提出了未

来纳米酶技术将面临的挑战,以期纳米材料在食品安全检测中的应用提供更多理论依据。

1 纳米酶比色传感技术

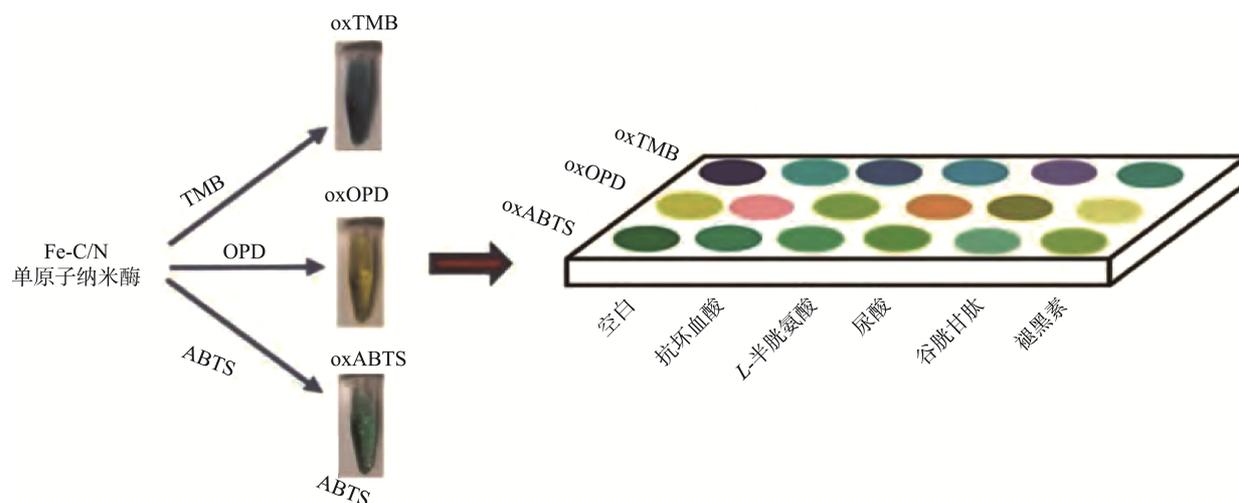
各种纳米材料包括碳、金属、金属氧化物和金属有机框架,已经被证明具有不同的酶促剂活性。纳米酶是由我国科学家首次提出的新概念,它是一类具有生物催化功能的纳米材料,能够基于特定的纳米结构催化天然酶的底物并成为天然酶的替代品。与传统人工模拟酶不同的是,纳米酶的催化基于特殊的纳米结构,因此其催化活性高并且可以调节。很多实验已经证明,通过改变其纳米结构如尺寸、形貌等因素能够明显提高其催化活性,同时附加其他材料如有机材料和非金属材料也可以显著改善纳米粒子的催化活性,不同纳米粒子传感器应用及灵敏度总结见表 1。此外,丰富的纳米结构使得有些纳米酶同时具有多种酶活性。纳米酶的最大特点是兼具催化活性和纳米材料独特的理化性质(如磁性、光热特性),使得纳米酶成为一种双功能或多功能材料。纳米酶除了具有经典蛋白基质酶的优点外,还具有成本低、稳定性好、催化活性可控、易于大规模制备等优点。这些独特的性质使得纳米酶在传感领域得到了广泛应用。根据催化类型,纳米酶可分为过氧化物酶模拟物、氧化酶模拟物、超氧化物歧化酶模拟物、过氧化氢酶模拟物和其他酶模拟物^[20]。

比色传感技术是以颜色变化为基础,通过传感体系的颜色变化来对目标物实现定性分析,也可以通过分光光度计的吸光度来对目标物进行定量分析。比色传感器广泛应用于小分子检测(葡萄糖等)、大分子检测(蛋白质、DNA、RNA 等)、金属离子检测、病原体检测和细胞检测。比色传感结合纳米酶技术,根据其检测原理大体上分为两类:一类是基于纳米酶催化化学底物而使检测体系显色,常见的化学底物为 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(3,3',5,5'-tetramethylbenzidine, TMB),具体催化底物变色过程见图 1;另一类是基于纳米材料表面粒子共振而使其吸收光谱导致溶液颜色变化^[22]。

表 1 各类型传感器应用及灵敏度总结
Table 1 Summary of advantages, disadvantages, and sensitivity of various types of sensors

传感器类型	纳米材料	检测样品	检测范围/($\mu\text{g/L}$)	检出限/($\mu\text{g/L}$)	回收率/%	参考文献
贵金属纳米酶 比色传感器	AuNZ-PAD	Hg^{2+}	$5 \times 10^{-2} \sim 5 \times 10^2$	1.2	84.4~112.9	[10]
	Au NPs	乐果农药	$10^1 \sim 4 \times 10^2$	4.7	89.4~95.8	[11]
	三维树状 Ag NPs	对氧磷	$9.91 \times 10^{-7} \sim 9.91 \times 10^{-2}$	9.91×10^{-7}	94.8~103.2	[12]
	PEI-Ag NCs	Cr^{6+}	$5.01 \times 10^{-1} \sim 1.53 \times 10^2$	1.1	96.7~108.9	[13]
	Au@Pt	沙门氏菌	$1 \times 10^2 \sim 5 \times 10^7$	5×10^1	-	[14]
贵金属粒子/非 贵金属纳米酶 传感器	Au@Pt	Pb^{2+}	$2 \times 10^1 \sim 8 \times 10^2$	3.0	96.8~105.2	[15]
	AuNPs@Hg	烟碱	$1.25 \sim 3.75 \times 10^2$	3.4×10^{-1}	96.1%~105.3	[16]
贵金属粒子/有 机材料纳米酶 传感器	PtZn@NC	Hg^{2+}	$1 \sim 2.5 \times 10^1$	6.9×10^{-1}	96~110	[17]
贵金属粒子/有 机材料纳米酶 传感器	Pd-DTT	As^{3+}	$3.3 \times 10^{-2} \sim 3.3 \times 10^2$	3.5×10^{-2}	97.6~108	[18]
	GO-PtNi	胆碱	$8 \times 10^{-2} \sim 1.5$	5	-	[19]

注: -表示文献中未提及。



注: oxTMB为氧化TMB;邻苯二胺(*o*-phenylenediamine, OPD); oxOPD为氧化OPD; 2,2'-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐 [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ammonium salt, ABTS]; oxABTS为氧化ABTS。

图1 纳米酶催化显色底物发生显色反应^[21]

Fig.1 Nanoenzyme catalyzed color reaction of substrates^[21]

2 贵金属纳米粒子传感器的应用

在纳米材料中,金属(Pd、Pt、Fe、Au、Ir等)纳米粒子是一种直径在1~100 nm的颗粒,在众多纳米粒子中,贵金属(Au、Ag、Pt、Pd等)以及它们的复合物具有独特的高表面积、电子磁性和光学性质,还具有与蛋白质和寡核苷酸结合的能力,同时贵金属纳米粒子具有良好的局域表面等离子体共振效应(localized surface plasmon resonance, LSPR)^[23]。贵金属表面的等离子体表现为表面等离子激元(surface plasmon polaritons, SPP)的形式,光照可以激发表面等离子激元,与表面等离子模式耦合。对于贵金属纳米颗粒,当入射光频率和自由电子振荡频率一样时,纳米颗粒表面的自由电子就会参与共振,这种效应就被称

为LSPR。通过检测纳米颗粒的紫外-可见吸收光谱,可得到吸收峰,不同贵金属纳米颗粒对光的吸收峰不同,宏观上表现为颜色的不同^[24]。当靶向分子和贵金属纳米材料反应时,会改变贵金属纳米材料的大小、形状等性质,从而改变其吸收光谱,宏观上表现为颜色的变化,实现检测的可视化。此外,使用贵金属纳米探针比色法无需进行目标基因组的DNA扩增,即可实现对目标DNA的检测。这类比色法可以在缺乏实验室设施的条件下作为分子技术良好的代替方法,该方法正在被尝试作为现场快速诊断试剂盒使用^[25]。

贵金属纳米酶传感器可分为单一贵金属纳米酶传感器、以及贵金属材料与其他材料复合的传感器,前者主要以金纳米粒子传感器和银纳米传感器为主,同时还包括双贵金属纳米传感器;后者包括与非贵金属、非贵金属氧化

物复合的传感器及与有机材料复合传感器^[23]。

2.1 金纳米粒子传感器

在众多贵金属纳米颗粒中,金纳米粒子及其复合材料是应用最广泛的纳米材料之一,AuNPs 具有光学性质可微调、稳定性好、可循环利用等优点,是许多电化学反应的有效电催化剂。在光照射下,自由电子在纳米颗粒表面振荡,使金属纳米颗粒呈现相应的颜色,不同的颜色变化取决于不同的纳米粒子聚集程度^[26]。BALA 等^[27]首次报道了一种典型的带正电的水溶性聚电解质聚二烯基二甲基氯化铵(poly dimethyl diallyl ammonium, PDDA),其在不添加盐的情况下可以诱导 AuNPs 聚集。在没有靶目标的情况下,带负电荷的适体与带正电荷的电解质结合,保护 AuNPs 不聚集。当添加目标样品时,PDDA 与适体之间的静电相互作用被破坏,游离的 PDDA 引发 AuNPs 的聚集,这就实现了金纳米颗粒的调节。可能一些小分子可以直接吸附在金纳米颗粒表面并诱导聚集,产生假阳性比色信号,这个缺点可以通过表面改性来抑制非特异性来解决。目前,金纳米粒子仍然是食品安全检测中最受欢迎的等离子体纳米粒子。

金纳米粒子的表面等离子体共振主要取决于分支的数目长度及“核”的大小,适当的修饰可以增强其导电性能和催化活性,利用微波消解对待测样品进行前处理,结合钴离子引发的类芬顿反应、以及刻蚀金纳米星粒子导致粒子样貌及溶液发生改变的原理,可以实现 Co(II)的可视化比色检测。通过除 Co(II)以外的 9 种重金属离子[Cr(III)、Zn(II)、Cd(II)、Pb(II)、Hg(II)、Ba(II)、Ni(II)、Cu(II)、Fe(III)]来测试方法的特异性和灵敏度,结果表明,Co(II)的浓度在 100 pmol/L~20 μmol/L 范围内具有良好的线性关系($r^2=0.995$),Co(II)的定量检测具有良好的重现性和准确性[相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)<5%]^[28]。级联催化反应是一种需要至少两步连续酶引导的自发反应,由于具有显著的信号放大功能,广泛应用于各种生物传感器,实现致病菌的靶向高灵敏检测。将金纳米棒(AuNPs)作为显色底物,结合物种特异性酶-信号响应酶的双酶信号放大策略,建立大肠杆菌和金黄色葡萄球菌基于级联催化信号放大策略的多色比色法,目视法观察溶液出现彩虹样颜色变化;对大肠杆菌的检出限低至 22 CFU/mL,金黄色葡萄球菌的肉眼可识别最低检出限为 25 CFU/mL^[29]。一些碳基材料具有高颜色对比度,在比色传感器中作为显色材料具有天然优势,结合金纳米酶的高过氧化物酶活性,既节约检测成本,又能更快识别结果,是现场快速检验(point-of-care testing, POCT)的理想选择。将金纳米酶与纸片芯片传感器结合(AuNZ-PAD)检测自来水和蒸馏水中的 Hg²⁺,不用依赖对昂贵分析设备,单滴样品检出限为 1.2 μg/L,平均回收率均在 84.4%~112.9%^[10]。金纳米粒子的过氧化物酶活性受纳米粒子集聚状态影响,通过控制 AuNPs 聚集

状态,提高检测体系灵敏度,利用柠檬酸盐诱导 AuNPs 聚集状态的比色传感器检测食品中亚砷酸盐,线性范围 0.01~11.67 mg/L^[30]。

基于金纳米粒子具有独特的光学性质,通过合理的配体设计,可实现金纳米酶结构和性能的微调。与抗体相比,适体(单链 DNA 和 RNA 寡核苷酸)具有更高的稳定性,其合成不具有免疫原性,而且具有修饰能力,作为特异性生物识别分子用于致病菌和农药残留检测。通过四环素类抗生素(tetracyclines, TCs)的特异性适配体结合 AuNPs 比色传感器特异性检测 TCs,最终检出限低至 46 nmol/L,肉眼目视检出限可达到 0.5 μmol/L^[31];将铜绿假单胞菌适配体(F23)与金纳米颗粒(GNS)结合,适体存在时抑制 GNS 的催化活性,当同源靶标存在时适体离开 GNS 表面,使 TMB 被氧化产生可视化比色信号,将检测时间成功缩短到 10 min,检测水中铜绿假单胞菌的最低检出限为 60 CFU/mL^[32];将核酸适配体与金纳米酶结合,构建单增李斯特菌的比色检测传感器,经优化检测条件,检出限可达到 5 CFU/mL,实际样品测定的回收率为 93.5%~105.4%,相对标准偏差小于 10%^[33];以自主设计的多肽为适配体模板,制备了具有荧光-酶学双重性质的金纳米酶,并基于一线胆碱酯酶/胆碱氧化酶的级联反应,调节该纳米粒子催化 TMB 显色判断结果,对毒死蜱、乐果、甲基对氧磷的检出限分别为 0.5、0.3 和 0.2 ng/mL,线性范围分别为 0~4000、0~2500 和 0~2000 ng/mL^[34];通过适配体可以抑制金纳米颗粒表面离子的跃迁,构建出检测乐果农药的高灵敏比色传感器,当存在阳性样品时溶液由淡黄色变为无色,该化学传感器可在 10~400 μg/L 的线性范围内检测,检出限低至 4.7 μg/L^[11];采用核酸适配体作为靶特异性识别分子,提高整个检测体系的特异性,再通过金纳米粒子具有的高灵敏度的特点,构建出信号增强的 AuNPs 纳米酶传感器用于比色检测吡虫啉农药,检出限低至 1.02 μg/L^[35]。

2.2 银纳米粒子传感器

银纳米粒子^[36]是一种导电性好、生物相容性好、扩增能力强的纳米材料,且银的价格远低于黄金,储量更丰富,具有很大的工业化潜力。目前,提高 Ag 的催化活性、降低反应过电位、增加电流密度是研究的重点。

银纳米粒子具备独特物理性能,可以通过对电极修饰材料的形貌调控,合成具有优异导电性和较大活性面积的纳米材料,为酶的负载提供适宜的微观环境。在一维纳米结构的优势上,构建了一维结构组装的三维树状 Ag 纳米结构,检测食品中农药残留,在最佳条件下,对氧化乐果和对氧磷的线性检测范围分别为 $2.13 \times 10^{-11} \sim 2.13 \times 10^{-5}$ g/L 和 $9.91 \times 10^{-10} \sim 9.91 \times 10^{-5}$ g/L,检出限为 2.13×10^{-11} g/L 和 9.91×10^{-10} g/L^[12];相比于量子点和有机染料来说,光致发光的银纳米团簇具有优异的光稳定性和独特的光学特性,

但具有相对较小的斯托克斯位移, 这就导致其自发荧光干扰、对样品的高光损伤以及渗透性差, 将 1,3-苯二硫醇和三苯基膦作为保护剂, 合成疏水性红色磷光银纳米团簇胶束, 构建用于检测 Ag^+ 的传感器, 通过磷光探针有效改善灵敏度和抗干扰性, 最终对 Ag^+ 检测的线性范围为 1~100 nmol/L, 检出限为 0.8 nmol/L ($S/N=3$)^[37]; 相较于聚乙二醇, 银纳米粒子在与聚乙烯结合时表现的更加稳定, 这恰恰会避免二次污染, 并且实际操作下的灵敏度和特异性并没有受到很大影响。将聚乙烯亚胺银纳米团簇(PEI-AgNCs)作为氧化还原酶模拟物同样用于 Cr^{6+} 毒性化合物的快速检测, 检出限低至 1.1 $\mu\text{mol/L}$ ^[13]。

2.3 双贵金属纳米粒子传感器

双贵金属纳米材料是用一种贵金属来对另一种贵金属进行表面修饰而形成的复合材料, 因其具有优秀的光电催化性能和独特的协同作用而赋予整个纳米材料更多优异的性能, 被广泛应用于光学、电子学、生物医学、传感器等领域。

双贵金属纳米材料具有独特的协同作用, 可以增加传感器的检测灵敏度, 结合灵敏度较低的传感器, 可以提高灵敏度。将稳定性高、催化性能强的铂壳金核纳米酶(Au@Pt), 结合免疫传感器, 对鸡蛋中沙门氏菌的检出限达到 50 CFU/mL, 线性范围为 $1 \times 10^2 \sim 5 \times 10^7$ CFU/mL^[14]; 结合灵敏度较低的试纸条, 检测食品中残留的过氧化氢, 该试纸可以在 3 min 内完成过氧化氢残留量的快速检测, 检出限为 0.34 mg/kg^[38]; 双金属纳米酶在与金属有机框架(metal organic framework, MOF)材料结合时也有着很好的效果, 将 MOF (ZIF-67)材料和 Au@Pt 组装制备成检测过氧化氢的纳米酶传感器, MOF 材料的多孔性和较大的比表面积可以附着更多的纳米颗粒来发挥催化作用, 在双金属催化剂表面, Au 颗粒带正电, 外加带负电的第二活性金属(Pt)会增大整个催化剂表面的负电面积, 有利于 H_2O_2 催化反应。在 H_2O_2 浓度为 0.8 $\mu\text{mol/L}$ ~3 nmol/L 范围内, 相关系数为 0.9936, 检出限为 86 nmol/L^[39]。

双贵金属纳米酶用作纳米材料时, 可以基于协同作用提高灵敏度, 也可以利用贵金属间的相互作用完成检测, 发现铂在 AuNPs 上会发生沉积, 导致催化活性降低, 利用这个原理来测定 Pb^{2+} , 在 20~800 nmol/L 范围内呈线性关系, Pb^{2+} 的检出限为 3.0 nmol/L, 回收率为 96.8%~105.2%^[15]; 双贵金属粒子还具有对其他材料进行修饰的功能, 双贵金属纳米粒子被有机材料修饰后, 降低成本, 金纳米银花(Ag@AuNPs)与 MWCNTse 氧化石墨烯杂化材料结合, 实现前甲炔的检测, 检测范围为 0.16~500 ng/mL, 检出限为 60 pg/mL^[40]。

3 贵金属材料及其他材料传感器特点及应用

食品基质复杂是影响食品安全检测的一个重要因素。

比色生物传感器也容易受到样品基质的影响, 复杂的食品基质容易影响功能化贵金属纳米粒子的聚集状态。虽然基于酶催化底物产生颜色变化, 贵金属纳米团簇已经被证实可以当做催化基团来实现传感器检测, 但食品中基质十分复杂, 会导致纳米酶的活性受到影响^[36]。探究贵金属纳米粒子与其他材料复合构建复合型传感器, 有望解决复杂食品基质的干扰问题。但也存在一定问题需要解决, 因为越小的金属纳米颗粒具有较高的比表面积和较多的表面原子, 从而拥有较高的催化活性, 盲目引入其他材料会降低整个检测体系的效率。另外, 不同纳米颗粒的形状结构也会对电子结构和晶面暴露情况产生较高的影响, 从而影响其催化活性^[23]。

3.1 贵金属粒子/非贵金属粒子

贵金属作为重要的催化材料, 因为其高成本而导致应用受到限制, 为了提高贵金属材料的利用率, 降低成本, 可以用贵金属与非贵金属结合得到双金属纳米粒子, 即合金纳米颗粒。这种合金纳米颗粒可以通过协同效应和电子转移效应来影响反应体系的催化活性和催化选择性, 同时表面修饰可以影响反应体系的亲疏水性、电子荷密度和生物识别能力, 提高其催化稳定性和特异性, 整个检测体系可以拥有高于单独贵金属纳米粒子的检测效率^[5]。近年来利用贵金属和非贵金属合成的合金纳米粒子进行食品危害因子检测的研究已成为热点。

经过实践已经证明贵金属与非贵金属粒子结合后, 具有竞争性反应, 可以提高整个检测体系的效率^[41]。由于贵金属独特的电子转移效应, 可以结合种类更多的纳米粒子, 纳米粒子结合金属氧化物后, 可以降低检测成本, 提高检测效率。将氧化铜和金纳米粒子(CuO@Au NPs)做为标记物, 检测组胺和色胺, 优化条件下, 组胺的检出限为 0.04 mg/L, 色胺的检出限为 0.14 mg/L^[42]; 在与非贵金属结合时整个传感器也表现出色, 将 Hg^{2+} 与金纳米材料制成 Hg/Au 基纳米酶(AuNPs@Hg), 用于检测烟碱, 该纳米酶既可以催化 TMB 完成显色工作, 也可以当做 SERS 底物, 而烟碱又可以显著增加该纳米酶的过氧化物酶活性, 在最佳条件下, 该方法检出限为 0.34 $\mu\text{g/mL}$, 实际样品中烟碱回收率在 96.1%~105.3%范围内^[16]; 金属 MOF 的结构可调性和易于功能化等优点也使其非常适合与贵金属粒子结合, 以 Ag 纳米颗粒/片状 ZnMOF 为纳米复合材料(AgNPs@ZnMOF)的传感器, 用来检测棒曲霉素, 通过表面修饰、元素掺杂等操作, 铂纳米酶可以充分暴露其活性位点, 展现出很高的类过氧化物酶活性^[43]; 不同非贵金属元素的掺杂对贵金属纳米酶的外貌会产生影响, 通过不断筛选可以探究出最合适的元素, 例如分别将 Te、Ni 和 Ru 对 Pt 纳米粒子进行表面修饰, 分别构建了 PtTeNi-TMB- H_2O_2 比色传感器和 PtRuTe-TMB- H_2O_2 比色传感器,

进行了抗坏血酸(ascorbic acid, AA)和谷胱甘肽(glutathione, GSH)的检测,最终测得最优条件下 PtTeNi-TMB-H₂O₂ 比色传感器对 AA 的检出限为 2.94 μmol/L, PtRuTe-TMB-H₂O₂ 比色传感器对 GSH 的检出限为 5.52 μmol/L^[44]。

合金纳米颗粒由于独特的协同效应和电子转移效应,可以很好地应用于致病菌和重金属粒子的检测,与通过表面修饰来结合不同,合金材料可以充分使协同效应发挥到最大化,将氧化金和氧化铁的纳米缀合物作为催化材料,再进一步通过免疫磁分离和蚀刻 AuNPs 将过氧化物酶催化活性的信号放大,最终 65 min 内完成金黄色葡萄球菌检测,检出限为 10 CFU/mL,加标回收率为 88.2%~119.8%^[45];在测流免疫层析法中,将这种合金材料作为金属探针,可以很好地代替传统的信号转能器,使结果更清晰的读出。氧化铈修饰的金纳米棒(AuNR@CeO₂)构建纳米酶侧流免疫层析法,用于检测食品中的肠炎沙门氏菌,人工污染奶粉样品中的沙门氏菌检出限可达到 10³ CFU/mL^[46];传统检测重金属离子一般通过裂解 DNAzyme 来实现,但是在高选择性下没有办法保证灵敏度达到标准,通过非贵金属 MOF 和贵金属纳米粒子结合,可以提高检测灵敏度。利用金纳米粒子修饰二硫化钼纳米复合材料,建立比色检测食品中重金属离子镉的方法, Cd²⁺ 适配体的互补链连接到 Au-MoS₂ 纳米复合材料上,具有增强过氧化物酶样活性的功能,最终线性范围为 1~500 ng/mL,检出限为 0.7 ng/mL^[47];与 Zn 结合的纳米材料 PtZn@NC,用于 Hg²⁺ 的检测,检出限为 0~69 μmol/L,线性关系 $r^2=0.99$,此外通过加标回收法检测实际样品中的重金属 Hg²⁺,回收率在 96%~110%之间,整个检测体系还可以与智能手机结合完成食品中农药西维因检测,检出限为 2.2 ng/mL^[17]。

3.2 贵金属粒子/有机材料

非金属材料很难参与催化过程,有机材料具有独特的电子结构,通过对有机材料的表面改性,可以极大提高其催化活性,并实现与贵金属纳米粒子的结合,提高整个体系的检测效率。比如纸作为碳物质可以通过焚烧处理,很好地避免了环保问题,通过表面改性,纸可以改造成功能性纸与贵金属纳米材料结合并广泛构建于生物传感器中,目前这样的复合纳米材料已经被应用于重金属离子和一些常见致病菌的检测。

利用有机材料和目标样品结合时的特殊效果,再加上贵金属纳米材料的高催化活性,实现对目标样品的超灵敏检测,利用二硫苏糖醇包覆 Pd 纳米颗粒(Pd-DL-dithiothreitol, Pd-DTT),研制检测亚砷酸盐(As³⁺)的比色传感器,当 As³⁺ 存在时,它可以更强地螯合 DTT 中的巯基,导致 Pd-DTT 的重组,同时也可以避免在测量过程中 As³⁺ 被氧化为 As⁵⁺,传感器可以检测从 33 ng/L 到 333.3 μg/L 较宽的线性范围,35 ng/L 的超低检出限^[18];还原氧化石墨烯

(reduced graphene oxide, RGO)和 AuNPs 进行 Pb²⁺ 的检测,巯基修饰的 DNAzyme 对 Pb²⁺ 在 RGO-AuNPs 修饰的电极表面的自组装具有特异性, Pb²⁺ 出现后,电信号发生变化, RGO 和 AuNPs 的高比表面积和高电导率可以使 Pb²⁺ 的化学效应大大增强,其检测范围为 0.05~4×10⁶ nmol/L,最小检出限为 0.015 nmol/L^[48];柠檬酸盐包被在 3 种不同的贵金属纳米粒子上(Os、Pt、Au)用于比色检测重金属粒子,不仅证明了纳米酶传感器具有阵列分化的能力,同时还为纳米酶传感器阵列的进一步应用提供依据^[49];氧化石墨烯与 PtNi 纳米的复合材料(GO-PtNi),来检测过氧化氢,优化得到了传感器的最佳反应温度、pH、酶和底物浓度,测得该传感器线性范围为 0.08~1.5 nmol/L,检出限为 5 nmol/L^[19]。

在致病菌检测方面,富含环氧的氧化石墨烯(erGO)和铂(Pt)-镍(Ni)纳米颗粒组成新的纳米粒子(PtNi@erGO),建立了检测大肠杆菌的比色传感检测体系,石墨烯具有较大的比表面积和锋利的边缘,这有利于负载高密度的 Pt-Ni 纳米粒子并保持其催化活性,并插入/切割细胞膜,这使得 Pt-Ni@erGO 具有较高的类抗体活性和增强的催化活性;该传感器灵敏度为 38 CFU/mL,线性范围为 1.5×10²~1.5×10⁷ CFU/mL,对尿液样品中大肠杆菌的检出回收率为 96.73%~98.85%^[50]。

4 结束语

本文综述了不同类型的贵金属纳米酶比色传感器及其在食品安全检测中的研究进展及应用,以期获得价格更低、生物相容性更高、适用性更广的纳米材料。未来贵金属纳米酶的发展趋向于更低成本、满足可再生、可回收等环保要求,同时研发出更多协同效应和功能,满足日益复杂的食品安全检测需要。

尽管各种贵金属纳米材料及其复合材料传感器的出现可以满足食品安全快速准确灵敏的检测需要,但是纳米酶本身及其实际应用方面仍然面临着各种挑战。比如生物酶的多样性不够,目前只有氧化还原酶开发较多,一些新型纳米酶如转移酶、合成酶、异构酶等仍在开发初期^[51]。同时绝大部分的纳米酶无法保证具有天然酶对底物的绝对专一性,如何提高纳米酶的专一性是纳米传感技术发展需要解决的问题。而且正常生物体内的催化方式大多为多个生物酶作为酶簇协同合作,如何实现纳米酶模仿复杂的生物酶进行协同合作也是要解决的问题^[52]。目前为止,研究人员只发现了纳米颗粒可以模拟天然酶的催化活性进行底物催化,但催化机制和原则需要进行更广泛深入的研究。进一步探讨将纳米材料学与其他功能性材料学的可能结合方式,例如综合光学、力学、电学等共同在传感器中发挥作用,也是传感技术发展的重要趋势^[53]。

参考文献

- [1] 贾月梅, 巴都马拉. 快速检测技术在食品安全监管中的应用实践[J]. 现代食品, 2022, 28(2): 48–50.
JIA YM, BA DML. Application practice of rapid detection technology in food safety supervision [J]. Mod Food, 2022, 28(2): 48–50.
- [2] 王赤敏, 井燕平, 张国强. 快速检测技术在食品安全监管中的应用分析[J]. 食品安全导刊, 2023, 11(24): 28–34.
WANG CM, JING YP, ZHANG GQ. Application analysis of rapid detection technology in food safety supervision [J]. Chin Food Saf Magaz, 2023, 11(24): 28–34.
- [3] CAO Y, FENG T, XU J, *et al.* Recent advances of molecularly imprinted polymer-based sensors in the detection of food safety hazard factors [J]. Biosens Bioelectron, 2019, 11(4): 141–147.
- [4] 周游, 王周平. 食品危害物及其检测方法研究进展[J]. 生物加工过程, 2018, 16(2): 24–30.
ZHOU Y, WANG ZP. Research progress on food hazards and their detection methods [J] Bioprocessing, 2018, 16(2): 24–30.
- [5] 蒋华伟, 蒋谨优, 张书龙, 等. 食品危害因子检测与安全风险预测研究进展[J]. 食品科学, 2024, 19(11): 1–20.
JIANG HW, JIANG JY, ZHANG SL *et al.* Research progress on food hazard factor detection and safety risk prediction [J]. Food Sci, 2024, 19(11): 1–20.
- [6] LI Y, LIANG G, ZHANG L, *et al.* Development and application of a comparative risk assessment method for ranking chemical hazards in food [J]. Food Addit Contam, 2021, 38(1): 1–14.
- [7] MENG HM, LIU H, KUAI H, *et al.* Aptamer-integrated DNA nanostructures for biosensing, bioimaging and cancer therapy [J]. Chem Soc Rev, 2016, 45(9): 2583–2602.
- [8] GAO L, ZHUANG J, NIE L, *et al.* Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles [J]. Nat Nanotechnol, 2007, 2(9): 577–583.
- [9] PUNDIR M, LOBANOVA L, PAPAGERAKIS S, *et al.* Colorimetric sensing assay based on aptamer-gold nanoparticles for rapid detection of salivary melatonin to monitor circadian rhythm sleep disorders [J]. Anal Chim Acta, 2023, 12(79): 341–360.
- [10] HAN KN, CHOI JS, KWON J, *et al.* Gold nanozyme-based paper chip for colorimetric detection of mercury ions [J]. Sci Rep 2007, (1): 1–7.
- [11] HU Y, WANG J, WU Y. A simple and rapid chemosensor for colorimetric detection of dimethoate pesticide based on the peroxidase-mimicking catalytic activity of gold nanoparticles [J]. Anal Methods-UK, 2019, 11(41): 5337–5347.
- [12] 杨云霞. 贵金属纳米材料电化学传感器在有机磷农药检测中的应用[D]. 秦皇岛: 燕山大学, 2023.
YANG YX. The application of precious metal nanomaterial electrochemical biosensors in the detection of organic phosphorus pesticide residues [D] Qinhuangdao: Yanshan University, 2023.
- [13] XUE Q, LI X, PENG Y, *et al.* Polyethylenimine-stabilized silver nanoclusters act as an oxidoreductase mimic for colorimetric determination of chromium (VI) [J]. Microchim Acta, 2020, 187(3): 1–8.
- [14] 董永贞, 陈瑞, 吴紫荆, 等. 铂壳金核纳米酶介导的磁微粒免疫传感器快速检测食源性沙门氏菌[J]. 食品科学, 2023, 44(4): 337–343.
DONG YZ, CHEN R, WU ZJ, *et al.* Rapid detection of foodborne *Salmonella* using a platinum shell gold core nanoenzyme mediated magnetic relaxation immunosensor [J]. Food Sci, 2023, 44(4): 337–343.
- [15] XIE ZJ, SHI MR, WANG LY, *et al.* Colorimetric determination of Pb²⁺ ions based on surface leaching of Au@Pt nanoparticles as peroxidase mimic [J]. Microchim Acta, 2020, 18(10): 187–195.
- [16] 张海, 何彬, 高宪辉, 等. 基于 Hg/Au 基纳米酶过氧化物酶活性比色/SERS 双模式检测烟碱[J]. 分析实验室, 2024, 20(10): 1–15.
ZHANG H, HE B, GAO XH, *et al.* Based on Hg/Au based nanoenzyme peroxidase activity colorimetric/SERS dual-mode detection of nicotine [J]. Anal Lab, 2024, 20(10): 1–15.
- [17] 冯婷婷. 功能化铂纳米材料用于化学危害物快速检测研究[D]. 赣州: 赣南师范大学, 2023.
FENG TT Functional platinum nanomaterials for rapid detection of chemical hazards [D]. Ganzhou: Gannan Normal University, 2023.
- [18] XU X, WANG L, ZOU X, *et al.* Highly sensitive colorimetric detection of arsenite based on reassembly-induced oxidase-mimicking activity inhibition of dithiothreitol-capped Pd nanozyme [J]. Sens Actuators B Chem, 2019, 298(3): 126–138.
- [19] NIU T, DENG X, WANG R, *et al.* GO-PtNi hybrid nanoenzyme mimics for the colorimetric detection of hydrogen peroxide [J]. Mater Today Chem, 2018, 7(11): 35–39.
- [20] KE LF, LI ZG, W HY, BING J, WANG DJ, ZHANG RF, HE JY, MENG XQ, WANG ZR, FAN HZ, WEN T, DUAN DM, CHEN L, JIANG W, LU Y [J]. Prog Chem, 2023, 35(1): 1–87.
- [21] JING W, CUI X, KONG F, *et al.* Fe–N/C single-atom nanozyme-based colorimetric sensor array for discriminating multiple biological antioxidants [J]. Analyst, 2021, 146(1): 207–212.
- [22] 史悦, 陈艳霞, 钟兴平, 等. 可视化传感系统设计及其在比色分析中的应用[J]. 传感器世界, 2023, 29(4): 17–22.
SHI Y, CHEN YX, ZHONG XP, *et al.* Visual sensing system design and its application in colorimetric analysis [J]. Sensor World, 2023, 29(4): 17–22.
- [23] 尹兴雨. 贵金属纳米材料传感阵列用于细菌识别研究[D]. 西安: 西安石油大学, 2023.
YIN XY. Precious metal nanomaterial sensing array for bacterial identification research [D]. Xi'an: Xi'an University of Petroleum, 2023.
- [24] 粟诗璇. 比色生物传感器的构建及其可视化检测应用研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2022.
SU SX. Construction of colorimetric biosensors and research on their visual detection applications [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2022.
- [25] 吕育雄. 基于 G-四链体 DNA 酶的比色传感技术在食品安全的检测研究[D]. 湘潭: 湘潭大学, 2021.
LV YX. Research on colorimetric sensing technology based on G-quadruplex DNA enzyme for food safety detection [D] Xiangtan: Xiangtan University, 2021.
- [26] 张彩艳, 冯荣荣, 李晓霞. 金纳米粒子比色法检测卡那霉素的研究[J]. 分析科学学报, 2018, 34(3): 372–376.
ZHANG CY, FENG RR, LI XX. Study on the colorimetric detection of kanamycin using gold nanoparticles [J]. J Anal Sci, 2018, 34(3): 372–376.
- [27] BALA I, HARIHARAN S, KUMAR MNVR, *et al.* Nanoparticles in drug delivery: The state of the art [J]. Crit Rev Ther Drug, 2004, 21(5): 101–118.
- [28] 王永存, 王素燕. 微波消解-金纳米星比色法快速检测婴幼儿食品中的 Co(II)[J]. 中国乳品工业, 2023, 51(10): 60–64.
WANG YC, WANG SY. Rapid detection of Co(II) in infant and toddler food using microwave digestion gold nanostar colorimetric method [J]. China Dairy Ind, 2023, 51(10): 60–64.
- [29] 周静. 基于金纳米棒的高分辨多色比色法对食源性致病菌的可视化检测研究[D]. 重庆: 西南大学, 2021.
ZHOU J. Visual detection of foodborne pathogens using high-resolution multi-color colorimetric method based on gold nanorods [D]. Chongqing: Southwest University, 2021.
- [30] XUE Q, NIU X, LIU P, *et al.* Analyte-triggered citrate-stabilized Au nanoparticle aggregation with accelerated peroxidase-mimicking activity for catalysis-based colorimetric sensing of arsenite [J]. Sens Actuators B, 2021, (22): 334–650.
- [31] ZHANG Z, TIAN Y, HUANG P, *et al.* Using target-specific aptamers to enhance the peroxidase-like activity of gold nanoclusters for colorimetric detection of tetracycline antibiotics [J]. Talanta, 2020, (17): 208–342.

- [32] 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, 41(4): 1229–1238.
- [33] 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* using nucleic acid aptamer combined with nano gold mimetic enzyme [J]. *Food Ferment Ind*, 2021, 47(3): 176–180.
- [34] 陈瑾. 多肽-金纳米酶的构建及其在有害残留物双信号快检中的应用[D]. 长春: 吉林大学, 2023.
CHEN J. Construction of peptide gold nanoenzyme and its application in double signal rapid detection of harmful residues [D]. Changchun: Jilin University, 2023.
- [35] YANG W, WU Y, TAO H, *et al.* Ultrasensitive and selective colorimetric detection of acetamidipid pesticide based on the enhanced peroxidase-like activity of gold nanoparticles [J]. *Anal Methods-UK*, 2017, 9(37): 5484–5493.
- [36] 高昌帅, 李敬, 汪尔康, 等. 贵金属基纳米酶及生物检测应用研究进展[J]. *分析化学*, 2023, 51(5): 652–665.
SHANG CS, LI J, WANG ERK, *et al.* Research progress on precious metal based nanoenzymes and their applications in biological detection [J]. *Anal Chem*, 2023, 51(5): 652–665.
- [37] 陶子文. 基于银/铜纳米材料的荧光/比色传感器构建及其在环境检测中的应用[D]. 南昌: 南昌大学, 2023.
TAO ZW. Construction of fluorescence/colorimetric sensors based on silver/copper nanomaterials and their application in environmental detection [D]. Nanchang: Nanchang University, 2023.
- [38] 李姐. 基于金、铂纳米棒试纸条传感器的构建及其在病毒基因检测中的应用[D]. 武汉: 湖北大学, 2022.
LI N. Construction of gold and platinum nanorod strip sensors and their application in virus gene detection [D]. Wuhan: Hubei University, 2022.
- [39] WANG H, CHEN W, CHEN Q, *et al.* Metal-organic framework (MOF)-Au@Pt nanoflowers composite material for electrochemical sensing of H₂O₂ in living cells [J]. *J Electroanal Chem*, 2021, 897(12): 115–123.
- [40] ZHANG Z, LUAN Y, RU S, *et al.* Selection of highly specific aptamer and its application in fabrication of Ag@Au nanoflowers based signal-enhanced electrochemical aptasensor for ultrasensitive detection prometryn [Z]. 2022.
- [41] VERMA A, GUPTA RK, SHUKLA M, *et al.* Ag-Cu bimetallic nanoparticles as efficient oxygen reduction reaction electrocatalysts in alkaline media [J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2020, 20: 1765–1772.
- [42] PENG X, CHEN Y, GAO C, *et al.* Development of an immunoassay method for the sensitive detection of histamine and tryptamine in foods based on a CuO@Au nanoenzyme label and molecularly imprinted biomimetic antibody [J]. *Polymers*, 2022, 15(1): 21.
- [43] BAGHERI N, KHATAEE A, HABIBI B, *et al.* Mimetic Ag nanoparticle/Zn-based MOF nanocomposite (AgNPs@ZnMOF) capped with molecularly imprinted polymer for the selective detection of patulin [J]. *Talanta*, 2018, 179(3): 710–718.
- [44] 刘志帆. 铂基类过氧化物纳米酶对生物抗氧化剂的快速比色传感检测[D]. 武汉: 江汉大学, 2023.
LIU ZF. Rapid colorimetric sensing detection of biological antioxidants by platinum based peroxidase nanoenzymes [D]. Wuhan: Jiangnan University, 2023.
- [45] YAO S, LI J, PANG B, *et al.* Colorimetric immunoassay for rapid detection of *Staphylococcus aureus* based on etching-enhanced peroxidase-like catalytic activity of gold nanoparticles [J]. *Microchim Acta*, 2020, 187(13): 1–8.
- [46] 刘晓静, 周璟, 崔艳, 等. 纳米酶侧流免疫层析法快速检测食品中肠炎沙门氏菌[J]. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14(17): 54–61.
LIU XJ, ZHOU J, CUI Y, *et al.* Rapid detection of *Salmonella enteritidis* in food using nanoenzyme side flow immunochromatography [J] *J Food Saf Qual*, 2023, 14(17): 54–61.
- [47] TAO Z, WEI L, WU S, *et al.* A colorimetric aptamer-based method for detection of cadmium using the enhanced peroxidase-like activity of Au–MoS₂ nanocomposites [J]. *Anal Biochem*, 2020, 608(16): 113–124.
- [48] LAI C, ZHANG Y, LIU X, *et al.* Electrochemical biosensor for amplified detection of Pb²⁺ based on perfect match of reduced graphene oxide-gold nanoparticles and single-stranded DNAzyme [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2019, 411(8): 7499–7509.
- [49] NORELDEEN HAA, YANG L, GUO XY, *et al.* A peroxidase-like activity-based colorimetric sensor array of noble metal nanozymes to discriminate heavy metal ions [J]. *Analyst*, 2022, 147(1): 101–108.
- [50] ZHENG Y, QIU X, HAN D, *et al.* Bifunctional nanomaterial with antibody-like and electrocatalytic activity to facilitate electrochemical biosensor of *Escherichia coli* [J]. *J Electroanal Chem*, 2023, 935(11): 117–122.
- [51] 王莹莹, 王会鑫, 王耀光, 等. 贵金属纳米酶在重金属离子检测中的应用研究进展[J]. *化学传感器*, 2021, 41(4): 12–22.
WANG YY, WANG HX, WANG YG, *et al.* Research progress on the application of precious metal nanoenzymes in heavy metal ion detection [J]. *Chem Sensor*, 2021, 41(4): 12–22.
- [52] 黄丽珊, 胡奕津, 范申, 等. 基于核酸适配体的比色生物传感器研究进展[J]. *分析试验室*, 2024, 19(3): 1–16
HUANG LS, HU YJ, FAN S, *et al.* Research progress on colorimetric biosensors based on nucleic acid aptamers [J] *Anal Lab*, 2024, 19(3): 1–16.
- [53] 黄宇琪, 付亚娜, 郭歌, 等. 纳米酶在食品安全快速检测中的应用及展望[J]. *食品安全导刊*, 2022, (11): 175–177.
HUANG YQ, FU YN, GUO G, *et al.* The application and prospects of nanoenzymes in rapid food safety detection [J] *Chin Food Saf Magaz*, 2022, 117(11): 175–177.

(责任编辑: 于梦娇 韩晓红)

作者简介



邵卓麒, 硕士研究生, 主要研究方向为食品质量与安全检测。
E-mail: 838591748@qq.com



张晓波, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品安全检测。
E-mail: zhangxb0628@dlnu.edu.cn



曹际娟, 博士, 研究员, 主要研究方向为生物与食品安全。
E-mail: caojijuan@dlnu.edu.cn