

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240425002

基于适配体检测水果及其制品中棒曲霉毒素的研究进展

汪淑雪, 王艳玲*

(兰州理工大学生命科学与工程学院, 兰州 730050)

摘 要: 棒曲霉毒素是广泛分布于各种水果、谷物及农产品中的一种真菌毒素, 在较低浓度下产生持久性的毒性作用, 对人类和动物健康造成严重的危害。随着人们对食品安全关注度的增加, 棒曲霉毒素在水果及其制品中快速检测方法的研究引发广泛关注。适配体传感器因灵敏度高、耗时短、易操作及开发成本低等优点, 在毒素快速检测方面具有潜在的开发和应用优势。本综述从棒曲霉毒素适配体筛选入手, 着重介绍了基于电化学、光学和光电化学原理的适配体传感器在检测毒素中的原理、策略和应用, 并展开分析其当前的发展现状、局限性和未来发展前景, 旨在对水果及其制品中棒曲霉毒素有效检测和风险评估提供有益的见解, 为棒曲霉毒素快速检测方法的研究和发展提供一定参考。

关键词: 棒曲霉毒素; 核酸适配体; 适配体传感器; 毒素检测

Research progress on aptamer-based detection of patulin in fruits and their products

WANG Shu-Xue, WANG Yan-Ling*

(School of Life Science and Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China)

ABSTRACT: Patulin is a mycotoxin widely distributed in various fruits, grains and agricultural products, which produces persistent toxic effects at low concentrations and poses serious health hazards to humans and animals. With the increasing concern for food safety, the study of rapid detection methods for patulin in fruits and their products has attracted much attention. Aptamer sensors have potential advantages in the development and application of rapid toxin detection due to their high sensitivity, short time-consumption, ease of operation and low development cost. Starting from the screening of patulin aptamers, this review focused on the principles, strategies and applications of aptamer sensors based on electrochemical, optical and photoelectrochemical principles in the detection of toxins, and analyzed their current development status, limitations and future development prospects, aiming to provide useful insights for the effective detection and risk assessment of patulin in fruits and their products, and provide a reference for the research and development of rapid detection methods for patulin.

KEY WORDS: patulin; aptamers; aptamer sensors; toxin detection

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目(31760494)、兰州市青年科技人才创新项目(2023-QN-64)、甘肃省科技计划项目(21JR7RA219)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (31760494), the Lanzhou Youth Science and Technology Talent Innovation Project (2023-QN-64), and the Gansu Provincial Science and Technology Project (21JR7RA219)

*通信作者: 王艳玲, 博士, 副教授, 主要研究方向为真菌毒素防控和检测, 微生物代谢及调控。E-mail: wangyanling2003359@126.com

*Corresponding author: WANG Yan-Ling, Ph.D, Associate Professor, School of Life Science and Engineering, Lanzhou University of Technology, No.36, Pengjiaping Road, Qilihe District, Lanzhou 730050, China. E-mail: wangyanling2003359@126.com

0 引 言

棒曲霉素(patulin, PAT)主要是由青霉属(*Penicillium*)、曲霉属(*Aspergillus*)和丝衣霉属(*Eurotiales*)等丝状真菌代谢产生的一类真菌毒素,广泛存在于各种谷物、坚果和果蔬中,尤其是苹果及其制品中^[1]。它是一种杂环内酰胺化合物,属聚酮类物质,溶于乙醚、氯仿和醇,不溶于水,耐热且不易降解。PAT 属于中等毒性物质,经国际癌症研究中心归类为第 3 类未归类致癌物,可致畸、致癌、致突变且具有生理、遗传、免疫、神经及细胞等多种毒性作用,在各种动物中出现不同程度急性和慢性中毒现象,对人类健康造成严重危害^[2]。多个国家和地区对食品中 PAT 最高允许残留量(maximum residue limit, MRL)均做了限定,如:欧盟委员会(European Commission, EC)发布食品污染物限量的 No.1881/2006 法规规定果汁、固态苹果和婴幼儿食品中 PAT 限量分别为 50、25 和 10 $\mu\text{g/kg}$ ^[3-4];我国、美国 and 加拿大等国家也规定食品(以苹果为原料的食品)中 PAT 最高含量为 50 $\mu\text{g/kg}$ ^[4-5]。PAT 污染在各种果蔬、谷物及其制品和食品原料中均被发现,并伴随着食品加工链进入各个生产环节,对食品安全构成潜在风险。

适配体(aptamer)是一类短小的 RNA 分子/单链 DNA (ssDNA)寡核苷酸序列,可折叠成独特的三维构象通过范德华力、氢键和静电相互作用等方式与靶标特异性结合。它通过指数富集配基系统进化技术(systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX)从随机核酸文库中筛选所得,主要流程包括寡核苷酸随机文库制备、孵育、分离、扩增和测序 5 个步骤^[6-9]。适配体与靶标特异性地结合类似抗原抗体识别,被称为“化学抗体”。它不依赖动物实验可在体外合成,筛选周期短可重复利用,具有较高的稳定性、可逆变性、能够识别广谱表位和不受免疫原性限制等特点^[10-13];此外适配体的靶标极为广泛,包括金属离子、真菌毒素、小分子化合物和蛋白质等。因此,适配体作为一类极具潜力可替代抗体的物质引起研究者们广泛的关注。

目前检测 PAT 的方法主要有质谱法、薄层色谱法、高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)、紫外检测法、气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)和液相色谱-质谱法(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)等方法^[14-17]。这些方法虽灵敏度和专一性较高,但需专业人员操作且复杂耗时、检测设备昂贵并缺乏便携性和可视性等缺点;此外免疫检测法所用的抗体成本较高且稳定性差,储存条件要求严格而使其应用受到限制^[18-19]。随着适配体检测平台建立和各个领域广泛的应用^[20-22]因此开发快速有效检测 PAT 适配体传感器至关重要。

1 PAT 核酸适配体的筛选及优化

目前筛选用于检测各种真菌毒素适配体有:黄曲霉毒素 B₁(aflatoxin B₁, AFB₁)、黄曲霉毒素 M₁(aflatoxin M₁,

AFM₁)、赭曲霉毒素 A (ochratoxin A, OTA)、伏马毒素(fumonisin, Fs)和玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZEN)等^[23-24],但有关 PAT 适配体的报道极少,具体见表 1^[25-27]。WU 等^[25]和 MUKHERJEE 等^[26]分别基于氧化石墨烯(graphene oxide, GO) SELEX 和生物层干涉(biolayer interferometry, BLI) SELEX 筛选出 2 个亲和力较高的 PAT 核酸适配体;TOMITA 等^[27]构建了一个基于芯片微阵列的 DNA 模块平台并成功筛选出一种新型核酸 PAT 适配体。

表 1 PAT 核酸适配体
Table 1 Aptamers for PAT

目标名称	适配体核苷酸序列(5'-3')	参考文献
PAT	GGCCCGCCAACCCGCATCATCTAC ACTGATATTTTACCTT	[25]
	CGAAATCGCGTCCAGTGTGGGG CGTGCTTATCCTTACACGATTTAC CTGAAACGCACCGTACTGAACCTA CGGCGAGGTC	[26]
	GGGTAGGGCGGGTGGGAGCTAT TCCTGCGGGCGCTGTTCGCCTAGT CGGAAGGGATCCC	[27]

适配体自身存在较多优势,但在实际检测应用中仍存在诸多问题。比如:样品成分复杂、多种真菌毒素共存会影响适配体与靶标的结合效果和特性;适配体自身存在碱基会随着与靶标结合发生构象变化不利于形成稳定空间结构而降低适配体的稳定性和特异性^[28-31];经纳米材料修饰的适配体存在不均匀性,易受样品基质及检测系统中各种因素影响出现聚集和失活^[32]。因此探究适配体与靶标的结合机制,采用“正向”与“负向”SELEX 相结合等方法改进筛选过程和缩短筛选周期,借助分子对接和分子动力学等方法分析结合序列截断、多价结合、化学修饰和碱基突变等手段来改善适配体多种特性是很有必要和前瞻性^[26,33];此外开发引入具有高催化活性、强导电性、大比表面积和多化学基团的新型功能纳米材料也是极其必要的^[34]。随着适配体应用于 PAT 的在线检测和控制,筛选和优化高灵敏度和专一性强的 PAT 适配体是研究者们未来的一个研究重点(图 1)。

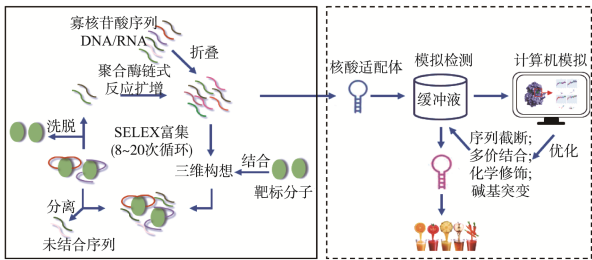


图1 SELEX 富集并筛选核酸适配体的流程图
Fig.1 Flow chart of SELEX enrichment and screening of aptamers

2 基于不同信号传导原理的适配体传感器在 PAT 检测中的应用

适配体传感器以适配体作为识别元件与靶标特异性

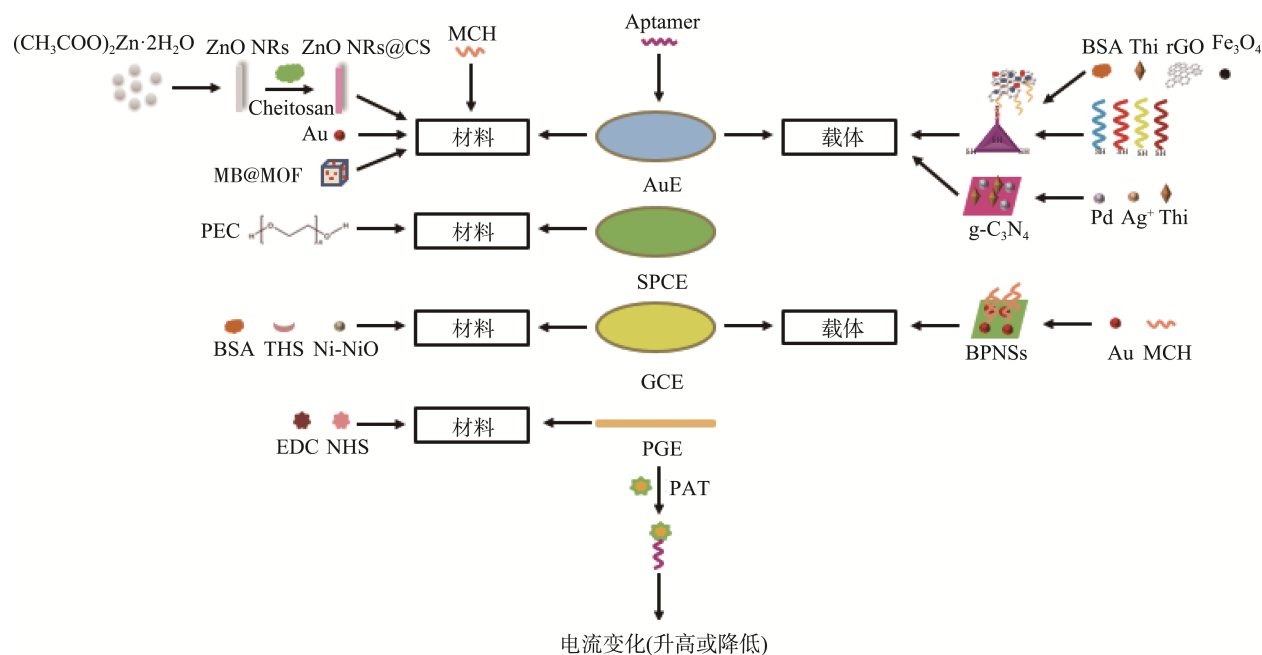


图3 电化学适配体传感器原理图

Fig.3 Schematic diagram of an electrochemical aptamer sensor

2.1.2 引入不同材料作为适配体的载体

XU 等^[47]将 AuNRs 和黑磷纳米片(black phosphorus nanoparticles, BPNSs)修饰到 GCE 上作为载体提高传感器性能,加入硫醇修饰的核酸适配体和 MCH 修饰载体,通过电极表面电子转移电阻的变化以达到检测目的。使其具有 $1.54 \times 10^2 \sim 1.54 \times 10^5$ pg/mL 的较宽线性范围和 46.2 pg/mL 的检出限。随后 HE 等^[48]引入四面体 DNA 纳米结构(tetrahedral DNA nanostructures, TDNs)对 AuNPs 改性,从 TDNs 中释放的适配体与 PAT 结合后,承载在电极表面的 TDNs 与 Thi-BSA 标记的 Fe_3O_4 纳米粒子(Fe_3O_4 NPs)/rGO 结合使电流强度增加以进行检测,该检测方法检测范围为 $5 \times 10^{-2} \sim 5 \times 10^5$ pg/mL,检出限达到 3.04×10^{-2} pg/mL。此方法形状由棒状调整为花状后具有更大的比表面积,可有效提高 ssDNA 与适配体的结合效率,提高检测的准确性和灵敏度,适用于不同浓度下的 PAT 检测,解决了在较高浓度下无法检测 PAT 的缺陷。石墨氮化碳(graphitic carbon nitride, $\text{g-C}_3\text{N}_4$)是典型的聚合物半导体,与传统的二氧化钛(TiO_2)光催化剂相比,能有效用于有机官能团的光催化转化和有机污染物的光催化降解。LU 等^[49]采用 $\text{g-C}_3\text{N}_4$ 作为 AuNPs 载体,在载体上修饰 Thi、钯(Pd)和银离子(Ag^+),以提供许多附着位点,加入 Ag^+ 使核酸适配体 C-Ag-C 形成发夹结构。PAT 存在下, Ag^+ 激活电极表面的 DNA 酶催化循环裂解底物 DNA,释放出的 DNA 序列作为介导二次循环反应的新触发器,多次循环放大信号,通过双靶点回收信号级联放大以实现 PAT 检测。实现不同浓度下对 PAT 的准确检测,检测范围在 $5 \times 10^{-3} \sim 5 \times 10^4$ pg/mL,检出限为 9.2×10^{-2} pg/mL。

综合来看,电化学适配体传感器具有高灵敏度、便于

使用和携带及成本低等优点,适用于各种水果及其制品中 PAT 的快速检测,但在实际检测过程中仍存在一些缺点和弊端:在加入不用新型材料和载体对电极进行改性时,样品在抛光和清洗等前处理时不可避免的各种生物污垢及复杂环境因素使检测平行性和精确度面临极大的挑战。未来可探索多功能新型纳米材料作为信号标签、催化剂和载体对电极表面进行改性,开发新功能核酸或基于酶的信号放大策略,以提高传感性能,进一步在实际应用场景中验证稳定性和可重复性。此外传统三电极系统的(工作电极、参比电极和辅助电极)笨重烦琐,难以实地检测;SPCE 具有较好的稳定性和可重复性,但昂贵的成本限制其商业化应用;PGE 与其他工作电极相比价格低廉,并且结构简单,无需任何沉积或浓缩步骤,可减小污染概率。目前防污策略在真菌毒素检测领域还处于空白阶段,但其优异的抗干扰性和生物相容性已在其他领域得到成功应用,所以有必要对核酸适配体进行自组装单分子层、防污聚合物、多孔涂层、原位电化学和光催化清洗等防污处理,可有效地减少不必要的结合,进一步提升检测信号以提高灵敏度。

2.2 光学适配体传感器检测 PAT

光学适配体传感器以适配体作为识别元件耦合各种光学分析工具作为信号转导去定量检测靶标物质,以灵敏度高和快捷简单等优点吸引研究人员的兴趣^[50]。它主要包括荧光、比色、电化学发光和表面增强拉曼光谱(surface-enhanced raman spectroscopy, SERS)等。近些年检测 PAT 的光学适配体传感器的开发和研究主要集中在荧光适配体传感器。

2.2.1 荧光适配体传感器

荧光适配体传感器基于荧光猝灭/增强并结合各种信号放大策略定量检测目标待测物,依据适配体是否被标记分为标记型和无标记型,原理如图 4。标记型传感器通常选用有机荧光团、碳基发光材料、上转换纳米材料、半导体量子点和新型材料等作为荧光材料去标记产生相应荧光信号变化去定量检测;无标记型是基于无标记适配体本身与目标分子结合或反应去实现检测^[51-53]。

目前开发检测 PAT 的荧光适配体传感器主要是标记型,例如: HU 等^[54]基于 FAM/TAMRA 比率荧光信号检测 PAT, FAM-cDNA1 非适配体序列连接在 PAT 适配体 DNA 序列 P1 上, TAMRA-cDNA2 与适配体序列 P1 杂交形成协同稳定的双链结构 P1-cDNAs。490 nm 激发下有机荧光团 FAM 和 TAMRA 发生荧光共振能量转移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)使 FAM/TAMRA 比率荧光信号增强; PAT 与适配体结合后使 P1-cDNAs 双链结构解体释放出 TAMRA-cDNA2 导致 FAM/TAMRA 比率荧光信号减弱,该方法的检测线性范围是 15~35 pg/mL,检出限为 6 pg/mL。该传感器背景信号干扰较少,可提高检测的准确性和稳定性。MA 等^[24]基于 rGO-Fe₃O₄ 纳米材料并结合 DNase I 信号放大策略开发的一种荧光法检测 PAT,未加入 PAT 时,标记核酸适配体的 FAM 与 rGO-Fe₃O₄ 发生 FRET 使荧光淬灭;加入的 PAT 与核酸适配体结合后, FAM 从 rGO-Fe₃O₄ 上脱离后荧光恢复;随后用 DNase I 水解释放出游离 FAM 核酸适配体而达到多次循环使荧光信号增强,该方法检出限低至 2.8×10^{-2} pg/mL。该传感器可通过多重信号放大机制提高检测的灵敏度和准确性,解决了先前研究单一检测模式的应用限制。LI 等^[55]基于氢氧化铬 Cr(OH)₃ 纳米粒子制备了检测 PAT 的荧光传感器, PAT 不存在时, Cr(OH)₃³⁻ 与 FAM 核酸适配体结合导致荧光团淬灭; PAT 加入后与核酸适配体结合使荧光恢复,该检测方法两个线性范围分别是 $10 \sim 10^4$ pg/mL 和 $10^3 \sim 2 \times 10^5$ pg/mL,检出限为 7.3 pg/mL,该传感器具备极高的灵敏度,能够对极微

量的目标物进行高度敏感的检测,同时覆盖两个较广的浓度范围,展现其结构优化的潜力,实现了荧光信号的控制和调控。KHAN 等^[56]基于 CA-MWCNTs 结合 CFL 适配体检测 PAT, CFL 核酸适配体与 CA-MWCNTs 表面电子富集发生 π - π 相互作用引发 FRET 使荧光淬灭; PAT 存在时, PAT 与核酸适配体的结合减弱核酸适配体与 CA-MWCNT 之间的 π - π 相互作用使荧光恢复。该检测方法检出限和定量限分别为 1.3×10^2 pg/mL 和 4.1×10^2 pg/mL。PANG 等^[57]研发新型纳米材料 FOQDs 的传感器,未加入 PAT 时, TAMRA 核酸适配体与 FOQDs 发生较强 π - π 相互作用缩短了它们之间距离从而使荧光淬灭; PAT 加入后,削弱适配体-FOQDs 之间的 π - π 作用导致 TAMRA 远离 FOQDs 从而使荧光恢复。该检测方法的线性范围为 $50 \sim 10^3$ pg/mL,检出限为 10 pg/mL。WU 等^[58]在上转化纳米颗粒(upconversionnanoparticles, UCNPs)上修饰生物素标记的适配体, PAT 未加入时, UCNPs(能量供体)和 AuNPs(能量受体)相互靠近,在 980 nm 下发生 FRET 使荧光淬灭; PAT 加入后与核酸适配体结合使供体和受体远离, UCNPs 释放导致荧光恢复(荧光恢复强度与 PAT 对数浓度成正比),随后通过 exonuclease I 多次循环放大信号,该检测方法的线性范围是 $10 \sim 10^5$ pg/mL,检出限为 3 pg/mL,采用新型纳米材料与酶循环放大机制进一步提高了检测范围。YAN 等^[59]开发了一种基于 H₂TCPP 修饰的八面体 UiO-66-NH₂@MOF 结合 FAM 适配体传感器, PAT 不在时, 2-氨基对苯二甲酸-H₂TCPP@MOF 通过 π - π 相互作用将 FAM 标记的核酸适配体荧光淬灭;当 PAT 与核酸适配体特异性结合时 FAM 荧光信号恢复,而 H₂TCPP 配体的荧光保持不变,该方法的检出限为 16.2 pg/mL,实现对 PAT 的高效及精准检测,能够对极低浓度的目标物进行敏感检测。

目前仅在 YAN 等^[60]基于由适配体形成的末端三股 DNA(ttsDNA)锚定于金属锆 Zr 有机框架(Zr@MOF)形成的刺激感应系统构建的一种无标记型荧光传感器,其工作原理如下: PAT 未加入时, ttsDNA 中单链核酸适配体区域让 Zr@MOF 孔隙处于开放状态从而使罗丹明(rhodamine, Rh)

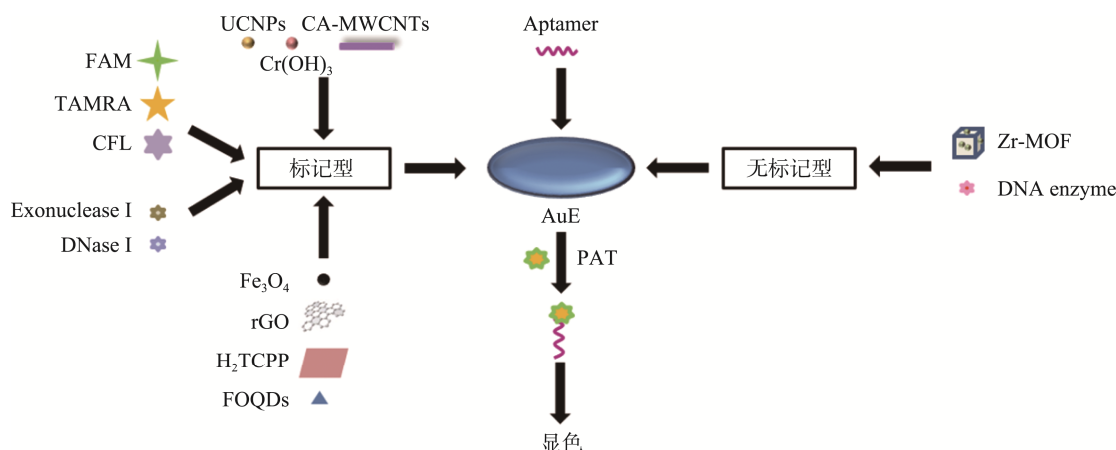


图4 荧光适配体传感器原理图

Fig.4 Schematic diagram of an optical aptamer sensor

6G 染料自然释放可检测到的荧光; PAT 加入时, 核酸适配体与 PAT 结合后构象发生变化, 形成一个稳定的大夹环结构从而阻碍 Rh 6G 染料 Zr@MOF 孔隙中释放导致荧光强度减弱, 该检测方法的检出限为 0.871 pg/mL, 低于荧光有标型传感器, 可对较低浓度 PAT 进行检测。相比之下, 无标荧光传感器没有荧光标记带来的干扰, 具有结构简单、成本低和响应时间短等可直接检测等较多优点, 但标记型荧光传感器仍存在部分荧光染料和猝灭剂的标记过程长而复杂、标记猝灭剂的部分新型材料成本高并且具有一定的生物毒性等问题, 因此, 未来可引入更多纳米技术和新型材料提升传感器的性能, 增强信号稳定性和检测灵敏度; 开发和建立无标记型荧光适配体传感器用于 PAT 及其他多种真菌毒素检测是未来探索的一个重要方面。

2.2.2 其他光学适配体传感器

比色适配体传感器主要基于化学显色变化来量化检测复杂基质中 PAT, 可引入 AuNPs 或 DNA 酶用于信号放大提高灵敏度^[61]。WU 等^[25]开发一种基于 AuNPs 结合酶-底物显色的比色适配体传感器, 该传感器具有较宽的线性范围和较高的灵敏度, 线性范围为 $50 \sim 2.5 \times 10^3$ pg/mL, 检出限为 48 pg/mL。LU 等^[62]基于杂交链反应(hybridized chain reaction, HCR)和氯化血红素 Hemin/G-四链 DNA 酶的比色适配体传感器, 检测探针由 PAT 核酸适配体序列和触发 HCR 的 DNA 序列组成。PAT 存在时, 触发发夹结构(H1、H2)和 HCR, 在 450 nm 处信号放大产生比色信号, 检测线性范围为 $10^2 \sim 2 \times 10^5$ pg/mL, 检出限为 60 pg/mL, 该方法提高检测灵敏度, 对 PAT 进行准确检测。以上两种传感器均通过酶-底物显色系统实现 PAT 快速检测的结果, 有助于高效分析样品, 作为单一检测模式具有局限性。

电化学发光适配体传感器是基于电极表面上的电压或电流作为激发源引发特定化学发光反应产生化学发光信号来定量检测目标分子, 集电化学和化学发光的灵敏度高、操作简单和易于自动化双重优点, 常用于真菌毒素检测^[63-65]。目前有关电化学发光适配体传感器检测 PAT 的研究极少, 仅在 LV 等^[66]首次开发出一种基于 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 双电位超灵敏电化学发光适配体传感器, 有 3 部分组成: 掺杂 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 的三金属(银 Ag、金 Au 和铂 Pt)纳米立方体($\text{Ru}@\text{Tri}$)组成发光体、阴极核心反应加速器和紫色马铃薯皮制备的 Anth-CQDs 作为绿色阳极核心反应剂(图 5)。在低浓度过硫酸钾($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$)存在的情况下产生强烈的阴极电化学发光; 经二氧化硅(SiO_2)包覆修饰的 Anth-CQDs 可增强 $\text{Ru}@\text{Tri}$ 的阳极电化学发光; PAT 存在时, 阳极与阴极的电化学发光强度比($I_{\text{ECL-A}}/I_{\text{ECL-C}}$)显著提高以达到检测目的,

该方法的检出限为 0.05 pg/mL, 与 HPLC 一样应用, 可检测一系列水果产品中 PAT。然而电化学发光适配体传感器化学发光的光信号并不稳定, 因此开发该传感器过程中发光材料的选择极为重要。

GUO 等^[67]基于 SERS 检测 PAT, 以适配体互补链修饰的金银核壳结构(gold-silver core-shell structure, ADANRs)为信号探针, 以 NH_2 适配体修饰的 chitosan 修饰的磁性纳米颗粒 Fe_3O_4 为捕获探针。内金核和外银壳之间的粒子内等离体耦合提高信号分子的 SERS 活性, 可采集不同 PAT 含量的苹果实际样品的光谱。对实际样品中 PAT 的最低检出限为 38.4 pg/mL, 回收率为 96.3%~108%。XUE 等^[68]基于 Go-Au-cDNA 与 Au-AgNPs-MBA(4-巯基苯甲酸)-核酸适配体结合, 产生拉曼信号, 导致 PAT 水平与 SERS 强度成反比。线性范围为 $10^3 \sim 7 \times 10^4$ pg/mL, 检出限为 460 pg/mL。该方法在苹果样品中的回收率较高, 具有较高的灵敏度和特异性, 在 PAT 检测中具有很大的潜力。通过拉曼信号检测的生物传感器具有无需标记、对样品无损、批量化检测且灵敏度高、选择性好和操作方便快捷等优点^[67-68], 近年来引起研究者们关注。以上其他光学传感器均采用无标记模式检测 PAT, 操作相对简单, 可避免标记物带来的干扰和复杂性, 但目前仍然存在环境因素的影响, 需要进一步优化特异性和稳定性。

光学适配体传感器虽应用广泛, 但因其自身抗干扰能力弱和背景干扰大等缺点而受到巨大挑战。荧光传感器具备高灵敏度和特异性, 覆盖浓度范围较广, 实现对 PAT 的高效及精准检测, 但涉及多种复杂结构和 FRET 原理导致易受干扰、毒性大等缺点, 因此未来需开发简化操作流程的传感器以提高实用性; 开发新型材料以实现实时实地检测。比色传感器具有简单易操作、成本低廉、稳定性和适用范围广等优点, 但不如荧光传感器准确, 无法满足对低浓度 PAT 的高灵敏度检测需求; 通过 AuNPs 颜色变化表示信号输出, 反应时间较长, 易受到环境光线、杂质等因素的干扰, 影响检测结果的准确性和定量性, 实时监测存在一定困难, 因此应深入研究将贵金属纳米材料与其他纳米材料混合制成新型复合型纳米材料并结合功能核酸序列(各种酶模拟活性的新型纳米酶)实现多种信号放大策略以提高传感器的灵敏度。电化学发光传感器和 SERS 传感器具有高灵敏度、高选择性和实时检测等优点, 但原理和操作相对复杂, 需要专业知识和技能实验者操作; 设备成本比荧光传感器和比色传感器高, 限制其推广及应用; 样品处理较复杂, 稳定性较差, 易受环境因素影响信号传输。未来可通过使用低成本设备及试剂降低成本, 使用多功能化材料和智能化技术提高传感器的性能, 拓展应用领域。



图5 电化学发光适配体传感器原理图

Fig.5 Schematic diagram of an electrochemiluminescent aptamer sensor

2.3 光电化学适配体传感器检测 PAT

近年兼有电化学和光学特性的光电化学适配体传感器已被应用于真菌毒素的检测,其原理与电化学发光适配体传感器正好相反,激发光源产生光电流作为信号检测靶标物质,具有抗干扰、背景信号弱、灵敏度高、特异性强、成本低和操作简单等优点^[69-71]。LIU 等^[72]首次结合了电化学和光电化学法检测 PAT 的适配体传感器。工作原理如图 6 所示: CdTe QDs 修饰的 AuNRs 电极表面产生光电流信号 (I_{PEC}), 二茂铁(ferrocene, Fc)核酸适配体产生氧化还原电流 (I_{EC}), PAT 与核酸适配体结合引起构象变化, 增加立体阻碍和电子转移受阻从而降低 I_{EC} , 通过分析 I_{EC}/I_{PEC} 比率对 PAT 进行定量检测, 该传感器检测线性范围为 $0.05\sim5\times10^5$ pg/mL, 检出限为 0.03 pg/mL, 此方法具有非常高的灵敏度, 能够对极低浓度的 PAT 进行准确检测; 可减少外界干扰用于果汁和果泥等苹果产品中 PAT 的分析。尽管光电化学适配体传感器目前得到了快速的发展, 但在真菌毒素尤其是 PAT 检测中的研究和应用仍处于初始阶段, 未来还有很大的改进空间。

2.4 其他适配体传感器检测 PAT

近年来还出现一些基于适配体检测 PAT 的新型技术, 如试纸条法(lateral flow assay, LFA)和分子印迹技术等。TANG 等^[73]建立了一种基于单链 DNA 的生物素-链霉素和素体系的适配体 LFA 检测苹果汁中 PAT, 可在 15 min 内通过肉眼识别显色现象, 以确保果汁及其制品在收获、储存和加工食品时是否污染 PAT, 缓冲液中的检出限为 190 pg/mL, 真实样品的检出限为 360 pg/mL, 实际苹果汁样品的加标回收率为 83.3%~107.1%, 相对标准偏差为 6.5%~7.5%。该方法具有快速可见性、低成本、易实现性、高特异性的优点, 但不如其他检测方法灵敏。LENG 等^[74]以三溴合铅(II)酸铋量子点(CsPbBr₃ quantum dots, CsPbBr₃ QDs)为荧光源和聚酰亚胺材料 TpPa-2 为底物制备了一种新型分子印迹聚合物(molecular imprinted polymer, MIP)传感器用于检测苹果汁和苹果酱中的 PAT, 分子印迹技术可模拟核酸适配体与 PAT 间相互作用, 具有特异性识别能力, 与目标分子自组装形成的复合物, 实现对 PAT 的选择性识别和检测, 检测范围为 $2\times10^2\sim2\times10^4$ pg/mL, 检出限为 27 pg/mL。与 TANG 等^[73]研究相比具有更低的检出限和更宽的检测范围。新兴的检测方法利用新的识别元件与其他验证技术的结合改善

PAT 适配体理化性能和结构, 进一步优化和改善现有适配体的性能, 具有成本低、稳定性好和不受温度影响等优点, 其操作简便、快速响应和潜在的低成本而备受关注, 为 PAT 毒素的灵敏检测提供新的途径。

2.5 PAT 及其他真菌毒素多重检测的适配体传感器

目前食品领域污染检测方法面临重大挑战, 果汁及其制品中可能存在 PAT 及其他多种真菌毒素, 因此有必要开发和建立高灵敏度和高通量的多重检测适配体传感器。当前研究仅在电化学法和荧光法传感器中同时检测包含 PAT 的两种毒素。

2.5.1 电化学法

目前电化学双重检测方法与单一分析方法相比, 具有高效率、低成本和短分析程序等优点, 具有高灵敏度和高性价比^[75]。ZHAO 等^[76]在 GCE 电极表面修饰 AuNPs-BPNS, 同时引入 MB-PAT 核酸适配体和 Fc-OTA 核酸适配体, PAT 和 OTA 不存在时, 两种不同核酸适配体和分别与 cDNA 杂交形成双链 DNA(ds-DNA), 靠近电极表面的 Fc 信号较强, 而远离电极表面的 MB 分子信号较弱; 在 PAT 和 OTA 存在时, 两种核酸适配体分别识别 PAT 和 OTA, 使 ssDNA 释放, 导致 MB 信号增强和 Fc 信号减弱以达到双检测目的(图 7), 该传感器线性范围为 $10^{-3}\sim10^5$ pg/mL, 该方法具有极广的灵敏度。XU 等^[77]采用与 LU 等^[76]相同材料电极, 利用由 MB-核酸适配体和和二茂铁单羧酸(ferrocenemonocarboxylic acid, FMCA)-核酸适配体双信号策略检测 PAT 毒素, PAT 与核酸适配体识别后构象发生变化使 MB 标签靠近电极表面造成立体阻力增加, 阻碍 FMCA 的扩散, 由此产生“信号开”和“信号关”(图 7), 该传感器具有良好的分析性能, 检出限为 6.622 pg/mL。

YAN 等^[78]基于 3 种分辨光阳极和共用阴极区的三通道光催化燃料电池(photocatalytic fuel cell, PFC)构成多路传感装置。采用可见光响应型(CdS-Bi₂S₃)纳米复合材料作为 3 个区域光阳极, 非贵金属 PB 薄膜作为阴极。OTA 和 PAT 核酸适配体分别与单个阳极区域特异性共价结合与控制光阳极区域产生不同信号比率以达到检测目的, 具有良好的灵敏度和准确度, OTA 和 PAT 的线性范围分别为 $3.08\times10^2\sim1.54\times10^5$ pg/mL 和 $7.7\times10^2\sim7.7\times10^4$ pg/mL。OTA 和 PAT 的检出限分别为 38.5 pg/mL 和 41.58 pg/mL。此多重检测方法具有良好的选择性和稳定性, 已成功地用于 OTA 和 PAT 实际样品的分析。为构建自供电传感平台提供新思路。

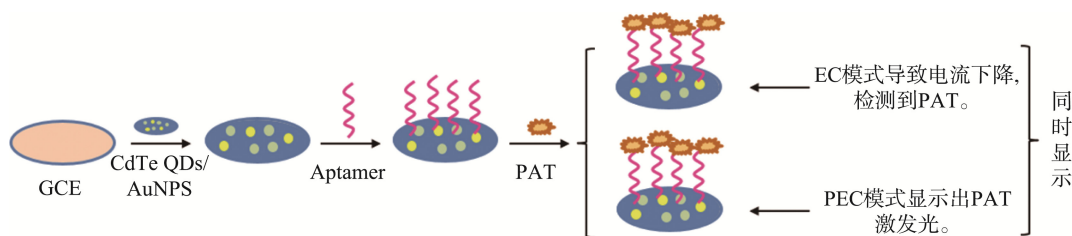


图6 光电化学适配体传感器原理图

Fig.6 Schematic diagram of a photoelectrochemical aptamer sensor

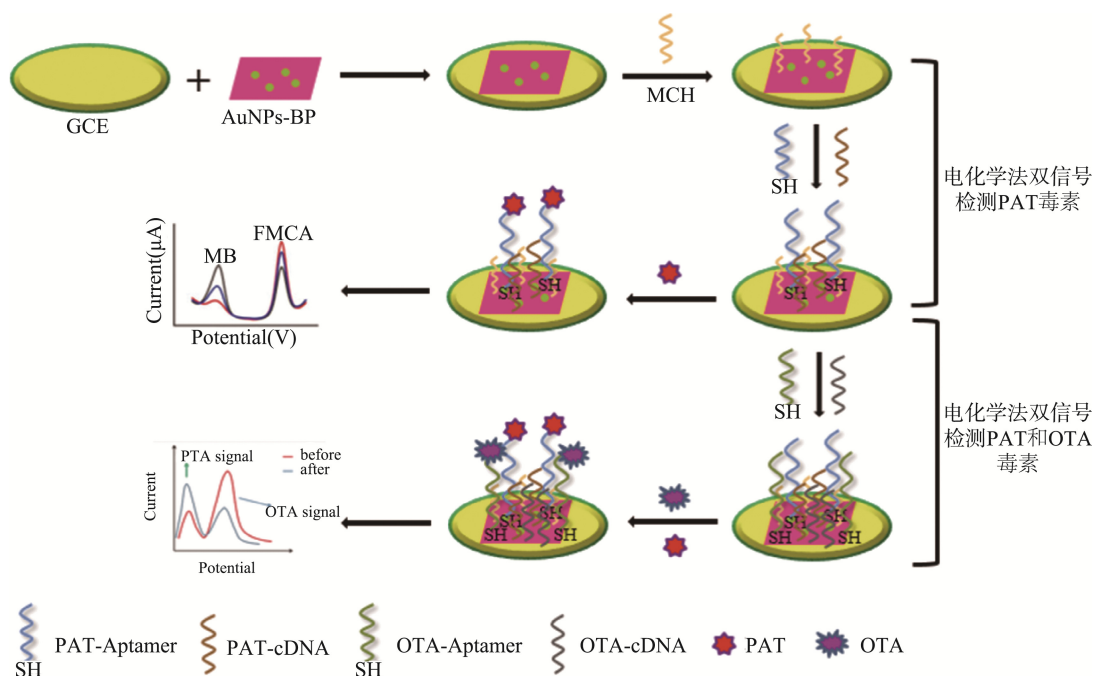


图7 电化学适配体传感器双信号检测原理图

Fig.7 Schematic diagram of dual-signal detection of an electrochemical aptamer sensor

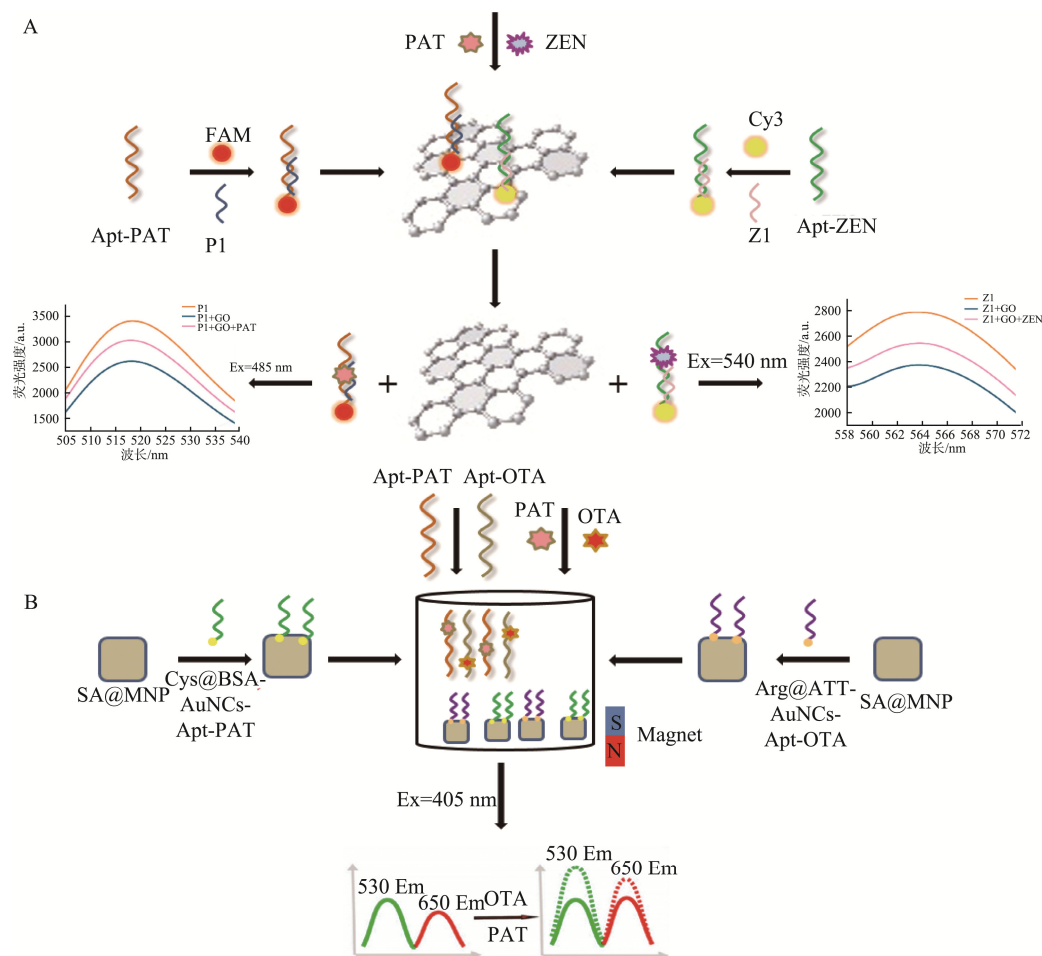


图8 荧光法适配体传感器双检测原理图

Fig.8 Schematic diagram of dual detection of a fluorescence aptamer sensor

2.5.2 荧光法

荧光法用于多重检测 PAT 等其他真菌毒素报道不多。ZHANG 等^[79]在 GO 表面修饰不同荧光素核酸适配体同时检测 PAT 和 ZEN, 在没有毒素存在时, FAM-PAT 和花青素荧光染料(cyanine 3, Cy3)-ZEN 两种核酸适配体均能通过 π - π 堆积吸附在 GO 表面从而导致荧光淬灭; 当有真菌毒素存在时, 核酸适配体与目标真菌毒素相互作用发生构象变化导致荧光增强(图 8A), 对 PAT 和 ZEN 的检出限分别为 352.66 pg/mL 和 5.698 pg/mL。MA 等^[80]开发了一种可同时检测 PAT 和 OTA 的荧光传感器, 在 PAT 和 OTA 共同存在时, 双色金纳米团簇(gold nanoclusters, AuNCs)分别与 Cy3-BSA-AuNCs-核酸适配体(PAT)和 Arg-ATT-AuNCs-核酸适配体(OTA)的荧光探针结合, 采用单激发(405 nm)同时监测 650 nm 和 530 nm 处的两个分离的荧光峰(图 8B), 该多重检测方法的线性检测范围为 $10^2 \sim 5 \times 10^4$ pg/mL, 检出限分别为 90 pg/mL 和 60 pg/mL, 具有比 ZHANG 等^[79]低的检出限。

多重检测传感器通过特异性识别能够精准区分不同真菌毒素的检测, 均具有高灵敏度、高特异性、简便高效、节约成本等优点, 提高检测的准确性和可靠性, 有助于及

时发现水果及果汁中的微量毒素。但传感器的制备和操作涉及多种复杂材料修饰和反应机制, 需要专业知识和经验及严格控制实验条件。目前研究只涉及到检测两种毒素的方法, 并未见同时检测两种以上毒素的传感器, 未来可构建多通道检测器应用于多种真菌毒素及其代谢物的检测; 探索新型材料以减少复杂步骤同时提高灵敏度。

3 结束语

PAT 广泛存在于各种谷物、果蔬及其食品原料(包括婴幼儿食品)中, 还在加工过程因耐热不易分解进入多样化的食物链而引发永久性的健康问题, 但人们对其危害并不了解, 即使在低于 PAT 最高允许残留量情况下, 对于长期低水平暴露也可能造成潜在的健康风险。因此 PAT 检测和筛查在食品领域方面显得非常重要。本文探讨了当前 PAT 核酸适配体筛选及 PAT 适配体传感器的最新研究进展, 基于不同识别元件和检测原理的适配体传感器表现其各自的性能(表 2)。为食品中 PAT 检测和防治提供可靠的理论参考和解决方案。

表 2 适配体传感器检测 PAT 检测方法、分析性能、信号增强或分析物捕获方法
Table 2 PAT detection methods, analytical performances, signal enhancement or analyte capturing methods

方法	样品	线性范围/(pg/mL)	检出限/(pg/mL)	材料	参考文献
电化学	苹果汁, 苹果泥	$0.05 \sim 5 \times 10^5$	0.03	Fe_3O_4 , rGO	[72]
电化学	果汁	$0.5 \sim 5 \times 10^4$	0.27	Aptasensor, Au electrode, ZnO nanorods and chitosan, EIS and DPV	[42]
电化学	缓冲液	$5 \times 10^{-2} \sim 5 \times 10^5$	3.04×10^{-2}	TDNs, Thi, $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NPs/rGO}$,	[48]
电化学	缓冲液	$1.54 \times 10^2 \sim 1.54 \times 10^5$	46.2	BPNSs-GCE	[47]
电化学	苹果汁	$10^{-3} \sim 10^3$	1.65×10^{-3}	Ni-NiO	[45]
电化学	苹果汁		0.150	AuNPs, MB@MOF	[43]
电化学	苹果汁	1~25	2.8	SPCE, PEG	[44]
电化学	苹果汁	$5 \times 10^{-3} \sim 5 \times 10^4$	9.2×10^{-2}	AgPdNPs, AuNFs/g- C_3N_4 , Ag-DNA znzyme	[49]
电化学	苹果汁	$10^{-3} \sim 10^5$		GCE-AuNPs-BPNS, MB, Fc	[76]
电化学	苹果, 梨, 番茄		6.622	GCE-AuNPs-BPNS, MB, FMCA	[77]
电化学	水果产品		0.05	the dual potential electrochemiluminescence of $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$	[66]
电化学	苹果汁		0.47	EDC, NHS, PGE	[46]
电化学	真实样品	$7.7 \times 10^2 \sim 7.7 \times 10^4$	41.58	$\text{CdS-Bi}_2\text{S}_3$, PFC	[78]
荧光	缓冲液	2.8×10^{-2}		rGO- Fe_3O_4 , DNase I, FAM	[24]
荧光	缓冲液	15~35	6	FAM, TAMRA	[54]
荧光	缓冲液	$10 \sim 10^5$	3	UCNPs, AuNPs, Exonuclease I	[58]
荧光	苹果汁		1.3×10^2	CFL, CA-MWCNTs	[56]
荧光	苹果汁	$50 \sim 10^3$	10	FOQDs, TAMRA	[57]
荧光	苹果汁	$10 \sim 10^4$, $10^3 \sim 2 \times 10^5$	7.3	$\text{Cr}(\text{OH})_3$ nanoparticle, FAM-Aptamer,	[55]
荧光	苹果汁		16.2	$\text{H}_2\text{TCPP@MOF}$, FAM	[59]
荧光	中药		352.66	GO, FRET, Cy3, FAM	[79]
荧光	苹果汁	$10^2 \sim 5 \times 10^4$	90	AuNCs, Cy3, BSA, Arg, ATT	[80]
荧光	苹果汁		0.871	Aptasensor, target-induced DNA gates and mixed ligands functionalized Zr-MOF systems	[60]
比色	缓冲液	$50 \sim 2.5 \times 10^3$	48	Aptasensor, enzyme chromogenic colorimetric Assay	[25]
比色	水果及制品, 干果	$10^2 \sim 2 \times 10^5$	60	HCR, hairpin structures (H1 and H2), hemin/G-quadruplex DNAzyme-signal	[62]
试纸条法	苹果汁		360, 190		[73]
分子印迹技术	苹果汁, 苹果酱	$2 \times 10^2 \sim 2 \times 10^4$	27	CsPbBr_3 , TpPa-2	[74]
SERS	苹果样品		38.4		[67]
SERS	苹果样品	$10^3 \sim 7 \times 10^4$	460	Go, Au, AgNPs, MBA	[68]

目前报道的 PAT 核酸适配体在实际样品检测中存在诸多问题,如样品成分复杂、多种真菌毒素共存等因素会影响核酸适配体的性能,开发核酸适配体和靶标的固定化的策略以提高传感器的稳定性。因此,改进适配体筛选过程、优化筛选周期以及探究适配体与靶标的结合机制都是必要的。在适配体传感器检测过程中,纳米材料修饰的核酸适配体存在自身不均匀性和失活问题,因此需要引入具有高催化活性、强导电性的新型纳米材料,开发多种新型材料和酶结合多重信号放大策略以提高适配体传感器的性能和灵敏度。最近有关于采用智能手机联用的方法实时检测 PAT 的应用,因此未来可采用阵列、微流控、芯片以及手持仪器(如笔记本电脑)集成,构建便携式分析平台,用于实现高通量和自动化的验证性检测(proof of concept, POC);各种智能化真菌毒素快速检测设备的开发,如 DNA 构象变化诱导的“门效应”、灵敏、特异、快速、便携、高通量 5SOS 在线智能检测、数智云-快速便携智能化检测等都将实现智能检测与管控,用于快速、超灵敏新型适配体传感器检测果汁及其制品中的 PAT 毒素及其他真菌毒素,让具备多功能、可靠和经济的检测能力的 PAT 适配体传感器能够进入实际应用和商业市场中。

参考文献

- [1] ZHONGLI, CARER J, LU Z, *et al.* Patulin in apples and apple-based food products: The burdens and the mitigation strategies [J]. *Toxins (Basel)*, 2018, 10(11): 475–505.
- [2] WANG YL, GUO XJ, ZHANG WW, *et al.* Recent advances in patulin biosynthesis and its molecular regulation [J]. *Food Sci*, 2020, 41(17): 267–274.
- [3] TANGNIE K, MASQUELIER J, VAN HE. Analysis of patulin in apple products marketed in Belgium: Intra-laboratory validation study and occurrence [J]. *Toxins (Basel)*, 2023, 15(6): 368.
- [4] MENNIT AM, NERI F, GREGORI R, *et al.* Some factors influencing patulin production by *Penicillium expansum* in pome fruits [J]. *Sci Food Agric*, 2010, 90(13): 2183–2187.
- [5] MAHUNU GK, ZHANG H, YANG Q, *et al.* Biological control of patulin by *Antagonistic yeast*: Acase study and possible model [J]. *Crit Rev Microbiol*, 2016, 42(4): 643–655.
- [6] KINGHORN AB, FRASER LA, LANG S, *et al.* Aptamer bioinformatics [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(12): 2516.
- [7] SUNH, ZU Y. A highlight of recent advances in aptamer technology and its application [J]. *Molecules*, 2015, 20(7): 11959–11980.
- [8] TUERK C, GOLD L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T₄ DNA polymerase [J]. *Science*, 1990, 249(4968): 505–510.
- [9] ELLINGTON AD, SZOSTAK JW. *In vitro* selection of RNA molecules that bind specific ligands [J]. *Nature*, 1990, 346(6287): 818–822.
- [10] TANG L, HUANG Y, LIN C, *et al.* Highly sensitive and selective aflatoxin B₁ biosensor based on exonuclease I-catalyzed target recycling amplification and targeted response aptamer-crosslinked hydrogel using electronic balances as a readout [J]. *Talanta*, 2020, 214: 120862.
- [11] XIE YC, ERIKSSON LA, ZHANG RB. Molecular dynamics study of the recognition of ATP by nucleic acid aptamers [J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(12): 6471–6480.
- [12] WANGX, HAO Z, OLSEN TR, *et al.* Measurements of aptamer-protein binding kinetics using graphene field-effect transistors [J]. *Nanoscale*, 2019, 11(26): 12573–12581.
- [13] GUO X, WEN F, ZHENG N, *et al.* Aptamer-based biosensor for detection of mycotoxins [J]. *Front Chem*, 2020, 8: 195.
- [14] LI X, MA W, ZHANG Q, *et al.* Determination of patulin in apple juice by amine-functionalized solid-phase extraction coupled with isotope dilution liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Sci Food Agric*, 2021, 101(5): 1767–1771.
- [15] SADO K, ILONA S, ANNA S, *et al.* Developments in the monitoring of patulin in fruits using liquid chromatography: An overview [J]. *Food Anal Methods*, 2019, 12(1): 76–93.
- [16] MARSOL-VALL A, BALCELLS M, ERAS J, *et al.* A rapid gas chromatographic injection-port derivatization method for the tandem mass spectrometric determination of patulin and 5-hydroxymethylfurfural in fruit juices [J]. *J Chromatogr A*, 2016, 1453: 99–104.
- [17] SADOK I, SZMAGARA A, STANISZEWSKA MM. The validated and sensitive HPLC-DAD method for determination of patulin in strawberries [J]. *Food Chem*, 2018, 245: 364–370.
- [18] SONG X, WANG D, KIM M. Immunoliposome-based fluorometric patulin assay by using immunomagnetic nanoparticles [J]. *Microchim Acta*, 2019, 186(12): 834.
- [19] ZHOU J, LIU Z, YANG Q, *et al.* Multiple fluorescence immunoassay for the simultaneous detection of zearalenone and ochratoxin A [J]. *Anal Biochem*, 2021, 628: 114288.
- [20] KOHLBERGER M, GADERMAIER G. SELEX: Critical factors and optimization strategies for successful aptamer selection [J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 2022, 69(5): 1771–1792.
- [21] WU L, WANG Y, XU X, *et al.* Aptamer-based detection of circulating targets for precision medicine [J]. *Chem Rev*, 2021, 121(19): 12035–12105.
- [22] WOLDEKIDAN HB, WOLDESEMYAT AA, ADAM G, *et al.* Aptamer-based tumor-targeted diagnosis and drug delivery [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2023, 1409: 173–192.
- [23] LAN L, YAO Y, PING J, *et al.* Recent progress in nanomaterial-based optical aptamer assay for the detection of food chemical contaminants [J]. *ACS Appl Mater Int*, 2017, 9(28): 23287–23301.
- [24] MA L, GUO T, PAN S, *et al.* A fluorometric aptasensor for patulin based on the use of magnetized graphene oxide and DNase I-assisted target recycling amplification [J]. *Mikrochim Acta*, 2018, 185(10): 487.
- [25] WU S, DUAN N, ZHANG W, *et al.* Screening and development of DNA aptamers as capture probes for colorimetric detection of patulin [J]. *Anal Biochem*, 2016, 508: 58–64.
- [26] MUKHERJEE M, APPAIAH P, SISTLA S, *et al.* Bio-layer interferometry-based SELEX and label-free detection of patulin using generated aptamer [J]. *J Agric Food Chem*, 2022, 70(20): 6239–6246.
- [27] TOMITA Y, MORITA Y, SUGA H, *et al.* DNA module platform for developing colorimetric aptamer sensors [J]. *Biotechniques*, 2016, 60(6): 285–292.
- [28] MOHAMAD N, AZIZAN NI, MOKHTAR NFK, *et al.* Future perspectives on aptamer for application in food authentication [J]. *Anal Biochem*, 2022, 656: 114861.
- [29] SHABAN SM, KIM DH. Recent advances in aptamer sensors [J]. *Sensors (Basel)*, 2021, 21(3): 979.
- [30] WANG J, CUI X, LIANG L, *et al.* Advances in DNA-based electrochemical biosensors for the detection of foodborne pathogenic bacteria [J]. *Talanta*, 2024, 275: 126072.
- [31] SHARIFIS, VAHED SZ, AHMADIAN E, *et al.* Detection of pathogenic bacteria via nanomaterials-modified aptasensors [J]. *Biosens Bioelectron*, 2020, 150: 111933.
- [32] KÜÇÜK N, ŞAHİN S, ÇAĞLAYAN MO. An overview of biosensors for the detection of patulin focusing on aptamer-based strategies [J]. *Crit Rev Anal Chem*, 2023: 1–13.
- [33] SHKENBI X, SVOBODOVA M, SKOURIDOU V, *et al.* Aptasensors for mycotoxin detection: A review [J]. *Anal Biochem*, 2022, 644: 114156.
- [34] NGOLONG NGEA GL, YANG Q, CASTORIA R, *et al.* Recent trends in detecting, controlling, and detoxifying of patulin mycotoxin using biotechnology methods [J]. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 2020, 19(5): 2447–2472.
- [35] HOSSEINZADEH L, MAZLOUM-ARDAKANI M. Advances in aptasensor technology [J]. *Adv Clin Chem*, 2020, 99: 237–279.
- [36] GUO X, WANG M. Recent progress in optical and electrochemical aptasensor technologies for detection of aflatoxin B₁ [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2023: 1–19.
- [37] PARIHAR A, CHOUDHARY NK, SHARAM P, *et al.* MXene-based aptasensor for the detection of aflatoxin in food and agricultural products [J]. *Environ Pollut*, 2023, 316(Pt 1): 120695.
- [38] CHEN W, ZHANG Y, LAI Q, *et al.* Multiple amplification-based fluorometric aptasensor for highly sensitive detection of *Staphylococcus aureus* [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2022, 106(19–20): 6733–6743.
- [39] XIA X, LI M, WANG M, *et al.* Development of ochratoxin aptasensor based on Au nanoparticles@g-C₃N₄ [J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2020, 16(8): 1296–1303.
- [40] BUDIARTO BR, MUSTOPA AZ, NINGRUM RA, *et al.* Gold nanoparticles (AuNP)-based aptasensor for enteropathogenic *Escherichia coli* detection [J]. *Mol Biol Rep*, 2022, 49(10): 9355–9363.
- [41] YAO Y, WANG H, WANG X, *et al.* Development of a chemiluminescent aptasensor for ultrasensitive and selective detection of aflatoxin B₁ in peanut and milk [J]. *Talanta*, 2019, 201: 52–57.
- [42] HEB, DONG X. Aptamer based voltametric patulin assay based on the use

- of ZnO nanorods [J]. *Mikrochim Acta*, 2018, 185(10): 462.
- [43] HE B, DONG X. Hierarchically porous Zr-MOFs labelled methylene blue as signal tags for electrochemical patulin aptasensor based on ZnO nano flower [J]. *Sens Actuators B Chem*, 2019, 294: 192–198.
- [44] KHAN R, BEN AS, SHERAZI TA, *et al.* Development of an impedimetric aptasensor for label free detection of patulin in apple juice [J]. *Molecules*, 2019, 24(6): 1017.
- [45] DATTA B, BHATT P, DUTTA G. A Redox Mediator-Free highly selective and sensitive electrochemical aptasensor for patulin mycotoxin detection in apple juice using Ni-NiO pseudocapacitive nanomaterials [J]. *J Agric Food Chem*, 2024, 72(11): 5993–6005.
- [46] ERDEM A, SENTURK H. Smartphone-controlled aptasensor for voltammetric detection of patulin in apple juice [J]. *Sensors (Basel)*, 2024, 24(3): 754.
- [47] XU J, QIAO X, WANG Y, *et al.* Electrostatic assembly of gold nanoparticles on black phosphorus nanosheets for electrochemical aptasensing of patulin [J]. *Mikrochim Acta*, 2019, 186(4): 238.
- [48] HE B, LU X. An electrochemical aptasensor based on tetrahedral DNA nanostructures as a signal probe carrier platform for sensitive detection of patulin [J]. *Anal Chim Acta*, 2020, 1138: 123–131.
- [49] LU X, HE B, LIANG Y, *et al.* Ultrasensitive detection of patulin based on a Ag⁺-driven one-step dual signal amplification [J]. *J Hazard Mater*, 2022, 438: 129530.
- [50] GOUD KY, REDDY KK, SATYANARAYANA M, *et al.* A review on recent developments in optical and electrochemical aptamer-based assays for mycotoxins using advanced nanomaterials [J]. *Mikrochim Acta*, 2019, 187(1): 29.
- [51] CHEN X, FENG Y, CHEN H, *et al.* Fluorescent aptasensor for highly specific detection of ATP using a newly screened aptamer [J]. *Sensors (Basel)*, 2022, 22(7): 2425.
- [52] ZHAO L, SUO Z, HE B, *et al.* A fluorescent aptasensor based on nitrogen-doped carbon supported palladium and exonuclease III-assisted signal amplification for sensitive detection of AFB₁ [J]. *Anal Chim Acta*, 2022, 1226: 340272.
- [53] WANG Y, YAN X, KOU Q, *et al.* An ultrasensitive label-free fluorescent aptasensor platform for detection of sulfamethazine [J]. *Int J Nanomedicine*, 2021, 16: 2751–2759.
- [54] HU R, LIU T, ZHANG XB, *et al.* Multicolor fluorescent biosensor for multiplexed detection of DNA [J]. *Anal Chem*, 2014, 86(10): 5009–16.
- [55] LI J, LI S, LI Z, *et al.* Chromium hydroxide nanoparticles-based fluorescent aptameric sensing for sensitive patulin detection: The significance of nanocrystal and morphology modulation [J]. *Talanta*, 2023, 257: 124296.
- [56] KHAN R, SHERAZI TA, CATANANTE G, *et al.* Switchable fluorescence sensor toward PAT via CA-MWCNTs quenched aptamer-tagged carboxyfluorescein [J]. *Food Chem*, 2020, 312: 126048.
- [57] PANG H, LI H, ZHANG W, *et al.* Fullerene quantum dots-based highly sensitive fluorescence aptasensor for patulin in apple juice [J]. *Toxins (Basel)*, 2022, 14(4): 272.
- [58] WU Z, XU E, JIN Z, *et al.* An ultrasensitive aptasensor based on fluorescent resonant energy transfer and exonuclease-assisted target recycling for patulin detection [J]. *Food Chem*, 2018, 249: 136–142.
- [59] YAN X, YUAN Y, YUE T. Ratiometric fluorescence aptasensor for the detection of patulin in apple juice based on the octahedral UiO-66-TCPP metal-organic framework and aptamer systems [J]. *Food Chem*, 2024, 432: 137211.
- [60] YAN X, DU G, CHEN H, *et al.* Label-free fluorescence aptasensor for the detection of patulin using target-induced DNA gates and TCPP/BDC-NH₂ mixed ligands functionalized Zr-MOF systems [J]. *Biosens Bioelectron*, 2022, 217: 114723.
- [61] GELETA GS. A colorimetric aptasensor based on gold nanoparticles for detection of microbial toxins: An alternative approach to conventional methods [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2022, 414(24): 7103–7122.
- [62] LU C, CHEN X, JI Y, *et al.* Development and validation of a label-free colorimetric aptasensor based on the HCR and hemin/G-quadruplex DNAzyme for the determination of patulin in fruits and fruit-based products from Xinjiang (China) [J]. *Anal Methods*, 2022, 14(35): 3375–3381.
- [63] DUAN X, ZHANG N, LI Z, *et al.* Ultrasensitive electrochemiluminescent aptasensor for trace detection of kanamycin based on novel semi-sandwich gadolinium phthalocyanine complex and dysprosium metal-organic framework [J]. *J Colloid Interface Sci*, 2023, 632(Pt A): 171–178.
- [64] YUAN R, LIU Q, HONG H, *et al.* Enhanced cathodic electrochemiluminescent microcystin-LR aptasensor based on surface plasmon resonance of Binanoparticles [J]. *J Hazard Mater*, 2022, 434: 128877.
- [65] QIAO B, GUO Q, JIANG J, *et al.* An electrochemiluminescent aptasensor for amplified detection of exosomes from breast tumor cells (MCF-7 cells) based on G-quadruplex/hemin DNAs [J]. *Analyst*, 2019, 144(11): 3668–3675.
- [66] LV L, CHEN Q, JING C, *et al.* An ultrasensitive ratiometric aptasensor based on the dual-potential electrochemiluminescence of Ru(bpy)₃²⁺ in a novel ternary system for detection of patulin in fruit products [J]. *Food Chem*, 2023, 415: 135780.
- [67] GUO ZM, GAO LB, JIANG SQ, *et al.* Sensitive determination of patulin by aptamer functionalized magnetic surface enhanced Raman spectroscopy (SERS) sensor [J]. *J Food Compos Anal*, 2023, 115: 104985.
- [68] XUE S, YIN L, GAO S, *et al.* A film-like SERS aptasensor for sensitive detection of patulin based on GO@Au nanosheets [J]. *Food Chem*, 2024, 441: 138364.
- [69] ZHANG Y, ZHU Y, ZENG T, *et al.* Self-powered photoelectrochemical aptasensor based on hollow tubular g-C₃N₄/Bi/BiVO₄ for tobramycin detection [J]. *Anal Chim Acta*, 2023, 1250: 340951.
- [70] QIAO L, ZHU Y, ZENG T, *et al.* “Turn-off” photoelectrochemical aptasensor based on g-C₃N₄/WC/WO₃ composites for tobramycin detection [J]. *Food Chem*, 2023, 403: 134287.
- [71] YUAN R, ZHANG X, XUE X, *et al.* Self-powered photoelectrochemical aptasensor based on AgInS₂@Co/Ni-UiO-66@CDs photoelectrode for estradiol detection [J]. *Mikrochim Acta*, 2022, 189(8): 303.
- [72] LIU S, MENG S, WANG M, *et al.* In-depth interpretation of aptamer-based sensing on electrode: Dual-mode electrochemical-photoelectrochemical sensor for the ratiometric detection of patulin [J]. *Food Chem*, 2023, 410: 135450.
- [73] TANG X, ZHANG Q, ISABEL PIVIDORI M, *et al.* A sensitive aptasensor using biotin-streptavidin system for patulin detection in apple juice [J]. *Biosensors (Basel)*, 2022, 12(2): 59.
- [74] LENG Q, HAN S, ZHAI M, *et al.* A molecularly imprinted photopolymer based on mesh TpPa-2 embedded with perovskite CsPbBr₃ quantum dots for the sensitive solid fluorescence sensing of patulin in apple products [J]. *Food Chem*, 2023, 416: 135–855.
- [75] 王龙, 葛武鹏, 张艳, 等. 电化学适配体传感器传感策略在食品检测领域的研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14(17): 196–206.
- WANG L, GE WP, ZHANG Y, *et al.* Research progress of electrochemical aptamer sensor sensing strategy in food detection field [J]. *J Food Saf Qual*, 2023, 14(17): 196–206.
- [76] ZHAOH, QIAO X, ZHANG X, *et al.* Simultaneous electrochemical aptasensing of patulin and ochratoxin A in apple juice based on gold nanoparticles decorated black phosphorus nanomaterial [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2021, 413(11): 3131–3140.
- [77] XU J, LIU J, LI W, *et al.* A dual-signaling electrochemical aptasensor based on an in-plane gold nanoparticles-black phosphorus heterostructure for the sensitive detection of patulin [J]. *Foods*, 2023, 12(4): 846.
- [78] YAN K, DING Y, LIU X, *et al.* Portable self-powered electrochemical aptasensing platform for ratiometric detection of mycotoxins based on multichannel photofuel cell [J]. *Anal Chim Acta*, 2024, 1299: 342442.
- [79] ZHANG N, LI J, LIU B, *et al.* A facile “turn-on” fluorescent aptasensor for simultaneous detection of dual mycotoxins in traditional Chinese medicine based on graphene oxide and FRET [J]. *Toxicon*, 2022, 206: 42–50.
- [80] MA P, GUO H, LI K, *et al.* Simultaneous detection of patulin and ochratoxin A based on enhanced dual-color AuNCs modified aptamers in apple juice [J]. *Talanta*, 2023, 266(Part 1): 124949.

(责任编辑: 蔡世佳 于梦娇)

作者简介



汪淑雪, 硕士研究生, 主要研究方向为真菌毒素防控和检测, 微生物代谢及调控。
E-mail: 1304811039@qq.com



王艳玲, 博士, 副教授, 主要研究方向为真菌毒素防控和检测, 微生物代谢及调控。
E-mail: wangyanling2003359@126.com