

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240804001

适配体-纳米酶联用检测真菌毒素研究进展

朱效东¹, 谢新华^{1,2}, 贺阳春¹, 张欣豪¹, 王俊豪¹, 陈子悦¹, 张波波^{1,2}, 朱鸿帅^{1,2*}

(1. 河南农业大学食品科学技术学院, 郑州 450002; 2. 农业农村部大宗粮食加工重点实验室, 郑州 450002)

摘 要: 真菌毒素主要是由真菌产生的有毒次级代谢产物, 广泛存在于玉米、小麦、大豆等谷类作物中, 可通过食物链在动物或人体内不断蓄积, 且微量的真菌毒素即可对人体或动物的肝脏、肾脏等器官构成严重威胁。因此, 开发真菌毒素高效便捷的检测技术对食品安全防控具有重要意义。目前, 基于适配体特异性识别真菌毒素和仿生纳米酶的信号转换和放大特性, 所设计的适配体-纳米酶生物传感器在真菌毒素检测领域有着巨大的潜力。本文介绍了适配体的筛选过程, 总结了以适配体为识别元件, 纳米酶为转换器用于真菌毒素检测的不同传感策略, 以及适配体-纳米酶传感器在真菌毒素检测中的应用, 并对适配体-纳米酶生物传感器在真菌毒素检测领域的前景进行展望。旨在为适配体-纳米酶联用检测真菌毒素提供参考, 期望对真菌毒素的快速检测的相关研究起到一定的借鉴与启示。

关键词: 适配体; 纳米酶; 生物传感器; 真菌毒素; 快速检测

Research progress in the detection of mycotoxins by the marriage of aptamer-nanozyme

ZHU Xiao-Dong¹, XIE Xin-Hua^{1,2}, HE Yang-Chun¹, ZHANG Xin-Hao¹,
WANG Jun-Hao¹, CHEN Zi-Yue¹, ZHANG Bo-Bo^{1,2}, ZHU Hong-Shuai^{1,2*}

(1. College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;
2. Key Laboratory of Staple Grain Processing, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Zhengzhou 450002, China)

ABSTRACT: Mycotoxins are mainly toxic secondary metabolites produced by fungi and widely exist in cereal crops such as soybeans, corn and sorghum. They can accumulate continuously in animals or humans through the food chain, and trace amounts of mycotoxins can pose a serious threat to human or animal liver, kidney and other organs. Therefore, developing efficient and convenient detection technology for mycotoxins is of great significance for food safety prevention and control. Currently, based on the signal conversion and amplification characteristics of mycotoxins and biomimetic nanozyme specifically recognized by aptamers, the designed aptamer-nanozyme biosensors have great potential in the field of mycotoxin detection. The article introduced the screening process of aptamers, summarized different sensing strategies using aptamers as recognition elements and nanozyme as converters for mycotoxin detection, and the application of

基金项目: 河南省科技攻关项目(242102111044)、中国博士后基金项目(2022M711058)、河南省自然科学基金项目(232300420195)、河南农业大学高层次人才项目(30501354)

Fund: Supported by the Henan Province Science and Technology Research Project (242102111044), the China Postdoctoral Science Foundation (2022M711058), the Natural Science Foundation of Henan Province (232300420195), and the High-level Talent Program of Henan Agricultural University (30501354)

***通信作者:** 朱鸿帅, 博士, 副教授, 主要研究方向为仿生纳米酶开发及其在生物传感器构建和食品污染物检测中的应用。E-mail: zhuhongshuai2021@henau.edu.com

***Corresponding author:** ZHU Hong-Shuai, Ph.D, Associate Professor, College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China. E-mail: zhuhongshuai2021@henau.edu.com

aptamer-nanozyme sensors in mycotoxin detection, and prospected the prospects of aptamer-nanozyme biosensors in the field of mycotoxin detection. This aims to provide a reference for the combined use of aptamers and nanozymes in the rapid detection of mycotoxin, aspiring to serve as a guide and inspiration for related research in the field.

KEY WORDS: aptamer; nanozyme; biosensor; mycotoxin; rapid detection

0 引 言

真菌毒素是由丝状真菌产生的次级代谢产物，在玉米、小麦、大豆等作物及其加工产物中分布较为广泛，热稳定性强，并且一般的食品加工过程难以降低其含量^[1]。受到污染的食物原料会通过食物链进入动物或人体内，引起急性或慢性中毒导致身体机能下降，并对人体造成致畸、诱变和致癌等不可逆的健康损害^[2]。目前，已经确定了 300 多种真菌毒素，其中黄曲霉毒素(aflatoxin, AFT)、脱氧雪腐镰刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON)、玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZEN)、赭曲霉毒素 A(ochratoxin A, OTA)、展青霉素(patulin, PAT)毒素污染最为常见^[3-7]。美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)、世界卫生组织(World Health Organization, WHO)、联合国粮食及农业组织(Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO)、欧洲食品安全局(European Food Safety Agency, EFSA)等，将食品及产品中真菌毒素含量的监管置于重要地位，并对农产品中常见真菌毒素的含量制定限量标准^[8]。目前已有 100 多个国家对食品和饲料中的真菌毒素含量设定了限量标准，以加强对谷物及其产品中真菌毒素污染的控制。同时为有效预防农产品和食品中真菌毒素对人体的危害，各国和各个组织对食品中常见的几类真菌毒素的限量做了严格的规定，如表 1^[9-10]。

表 1 食品中常见真菌毒素限量标准(μg/kg) ^[9-10]					
Table 1 Limits of common mycotoxins in food (μg/kg) ^[9-10]					
真菌毒素	食品种类	中国	国际食品法典委员会	欧盟	美国
AFB ₁	玉米、花生及其制品	20.0	15	2	15
AFM ₁	乳及乳制品	0.5	0.5	0.05	0.5
DON	谷物及其制品	1000.0	1000	500	1000
OTA	谷物、豆类及其制品	5.0	5	3	—
ZEN	谷物及其制品	60.0	—	75	—
PAT	水果、饮料类、酒类	50.0	50	50	50

注：黄曲霉毒素 B₁ (aflatoxin B₁, AFB₁)，黄曲霉毒素 M₁ (aflatoxin M₁, AFM₁)。— 为未限定。

为减少真菌毒素对人体造成的危害，对真菌毒素进行实时监测显得尤为重要。到目前为止，针对食品和饲料中真菌毒素的检测，已经出现多种方法和组合技术，并在实践中得到广泛应用，如高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)、高效液相色谱-串联质谱法(high

performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)、表面增强拉曼光谱法(surface enhanced raman spectroscopy, SERS)、液相色谱-质谱法(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)等^[11-14]。然而，HPLC、HPLC-MS/MS、SERS 和 LC-MS 往往存在样品前处理较为烦琐、成本较高、仪器设备庞大且昂贵等固有局限性，并不适合作为常用快速检测。因此以快速定量分析食品中真菌毒素的残余量为目的，多种便捷高效的检测方案被开发并加以利用。如酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)、侧流免疫层析分析法(lateral flow immunochromatography assay, LFIA)、胶体金免疫层析法(colloidal gold immunochromatographic assay, GICA)等^[15-18]。但在实际样品的检测过程中，复杂的食品基质等问题对真菌毒素检测的灵敏以及准确性带来一定的困难。例如天然酶在实际应用中成本较高、不易于修饰、易受环境影响等缺陷，给检测带来难点，严重阻碍其在真菌毒素检测中的应用^[19]。为了解决上述问题，研究人员一直致力于探索天然酶的替代品。随着纳米与生物技术的进步，具有类酶催化活性的纳米材料引起了研究人员的关注，特别是在 2007 年首次发现四氧化三铁(Fe₃O₄)纳米颗粒具有过氧化物酶(peroxidase, POD)模拟活性^[20-21]。纳米酶在过去 10 年中得到广泛的研究，并在 2022 年被国际纯粹与应用化学联合会(International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC)评为 10 大新兴化学技术之一^[22]。纳米酶具有优异的生物相容性，同时还能实现信号的转换与放大，使其在生物传感器方面得到广泛应用^[23]。生物传感器法是指利用生物分子[DNA、抗体、酶、微生物、细胞、适配体(aptamer, Apt)等]作为敏感元件，分子识别靶标后发生反应，通过物理或化学换能器转换成光学、电化学、电磁和其他可定量处理的信号，并对输出的信号进行放大以达到对靶标定量检测的目的。纳米酶具有抗干扰强、易修饰等特点，能够有效提高生物传感器的灵敏以及准确性，为真菌毒素的快速检测提供新的方案与思路。生物传感器根据所选的识别分子不同可分为酶传感器、抗体传感器、适配体传感器、细胞传感器、细菌传感器等。其中，具有优异的识别与信号转换特性的 Apt-纳米酶生物传感器，在真菌毒素检测领域得到广泛应用^[24]。

本文介绍了 Apt 的概念和筛选方法，并且将 Apt 与纳米酶联用对真菌毒素的不同识别策略进行论述，总结了 Apt-纳米酶在真菌毒素检测领域的多种传感分析方法，并对 Apt-纳米酶传感器在真菌毒素检测的应用前景进行展望，以期 Apt-纳米酶能够在真菌毒素检测领域中发挥更大的作用(图 1)。



图1 生物传感器的构建示意图

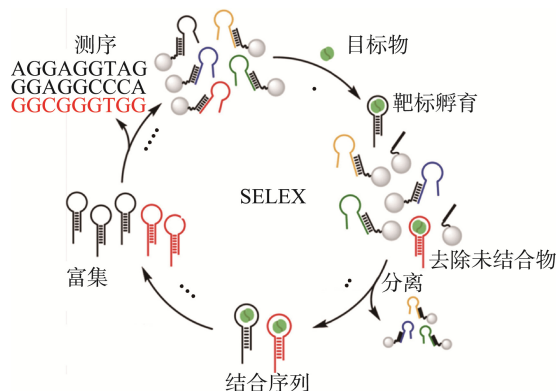
Fig.1 Schematic diagram of biosensor construction

1 基于 Apt 对真菌毒素的识别策略

1990 年, Apt 首次在体外指数富集的配体系统进化技术(systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX)的重复过程发现^[25]。Apt 又称人工抗体, 是一段具有特殊结构和序列的单链脱氧核糖核酸(single-stranded DNA, ssDNA)或 RNA 片段, 经过筛选后具有特异性识别能力的靶标分子, 筛选过程如图 2 所示。Apt 是核酸文库与靶标共同进行孵育, 经过分离、扩增、测序等过程筛选得到的与靶标具有高亲和力与特异性的序列片段。Apt-靶复合物的形成源于多种非共价相互作用和分子形状的互补^[26]。此外, 与其他特异性结合靶分子的识别元件(如抗体、酶等)相比, Apt 具有稳定性强、生产成本低、用途广泛、易于修饰和操作、免疫原性低等优点, 因此 Apt 的简单性和可编程性使其能够被设计成传感器和其他新兴设备^[27]。SELEX 技术的提高, 使配体筛选的高效与特异性得到大幅度提升, 并且在过去的 30 年发展中, Apt 逐渐被广泛接受, 并在一些领域用于抗体的补充使用, 在细胞、病毒、农药以及真菌毒素等检测领域得到广泛应用^[28-32]。

1.1 基于单 Apt 的真菌毒素识别策略

Apt 的应用范围广泛, 可用于检测蛋白质、细胞表面受体等多种生物分子, 在药物研发等领域发挥重要作用,

图2 Apt筛选过程^[24]Fig.2 Screening process of Apt^[24]

另外 Apt 具有单一的识别特性和良好的抗干扰能力, 可以作为抗体的替代物。纳米酶具有信号转换和放大的特性, 将 Apt-纳米酶联用, 构建不同识别策略, 实现真菌毒素的检测。如图 3A 所示, SANG 等^[33]将 OTA Apt 与互补 DNA (complementary DNA, cDNA)结合并引入二茂铁(Fc), Fc⁺能够有效猝灭联吡啶钌[MW(bpy)₃²⁺]。当 OTA 被 Apt 特异性识别, 释放 Fc 恢复电化学发光传感器(electrochemiluminescence, ECL)强度, 实现第二次“开关”状态。在 AFB₁、AFB₂、AFM₁、DON、T-2、ZEN 等干扰基质存在时, 只有 OTA 才能使 ECL 强度的明显恢复。Apt 具有识别 OTA 的特异性, Apt-纳米酶可以作为生物信号分子应用于真菌毒素检测领域。此外 Apt 还可以作为“信号开关”来实现真菌毒素的检测。如图 3B 所示, TIAN 等^[34]通过添加 Apt 和靶标可控地中断/恢复纳米氧化铈与石墨烯量子点(graphene quantum dots, GQDs)之间的荧光共振能量转移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)。基于此机制, 巧妙构建了检测 OTA 的灵敏比率 Apt-纳米酶传感器。氧化铈纳米材料与 GQD 之间的静电相互作用, 会产生 FRET, OTA Apt 会增大氧化铈与 GQD 之间的距离, 限制 FRET。引入目标 OTA 后, 由于 OTA 与 Apt 的之间的特异亲和力, 氧化铈纳米材料对 GQD 的 FRET 会再次恢复, 荧光强度会随着 OTA 的加入而增加。Apt 作为信号开关, 实现对 OTA 的检测。综上所述, 基于单个 Apt 与纳米酶联用对真菌毒素的识别策略具有独特的优势, 一方面 Apt 对真菌毒素的特异性识别, 能够有效防止其余毒素的干扰, 另一个方面纳米酶将识别的信号转换为可检测到的物理/化学信号, 进一步提高检测的准确性和可靠性。并且随着 SELEX 技术的提高, 真菌毒素 Apt 种类不断增加, 这将进一步提升 Apt 在真菌毒素检测领域中的应用。

1.2 基于多 Apt 的真菌毒素识别策略

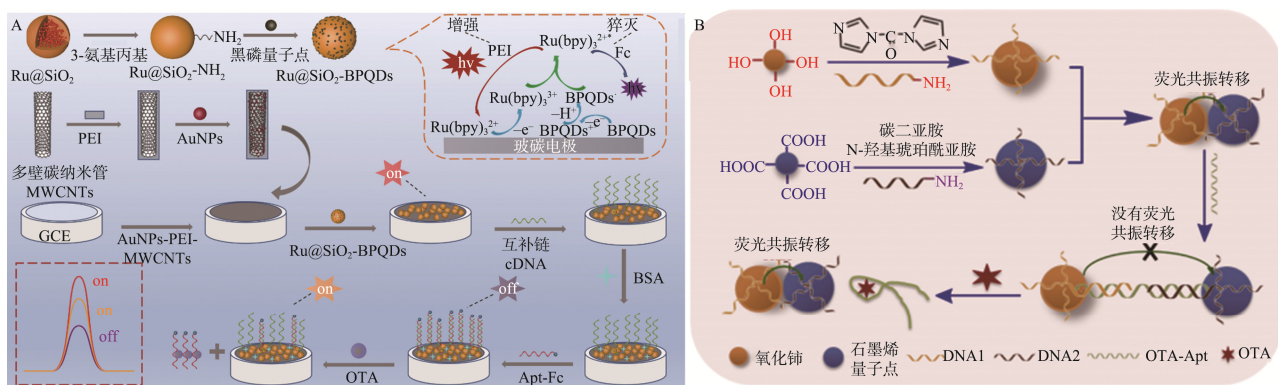
单个 Apt-纳米酶对真菌毒素的识别策略较为单一, 无法实现多目标物同时响应识别。复杂的食品基质中通常含有多种真菌毒素, 单 Apt 识别策略难以满足对多种真菌毒素的检测。将两个或多个 Apt 进行联用, 可以扩展靶标物质的识别范围, 实现多种真菌毒素的同时检测。如图 4A 所示, QIAO 等^[35]以花青素荧光染料 3 (cyanine 3, Cy3)标记的 AFB₁ Apt 和羧基荧光素(fluorescein, FAM)标记的 OTA Apt 作为两种荧光探针。采用一种互补链作为捕获探针(cDNA), 同时结合两种不同的靶标适配体链, 利用靶标与 Apt 的高亲和力, 当 AFB₁ 和 OTA 存在时, Apt 探针的结构发生变化并与传感器分离, 释放出荧光信号。该传感器巧妙的将两种不同的 Apt 联用, 实现对两种目标物质的同时检测。另外, 双 Apt 联用可提高灵敏准确性, 降低背景信号的影响。如图 4B 所示, SUO 等^[36]设计了一种双交叉 DNA 纳米结构的“信号接通”荧光体传感器检测系统。具有荧光特性的 Cy5 和 Cy3 分别标记在 AFB₁ 和 OTA 的 Apt 上, 并且与猝灭剂 BHQ2 琥珀酰亚胺酯(BHQ2 succinimide ester, BHQ2)修饰的 ssDNA 互补, 形成双交叉的 DNA 链, 使荧光效果降低。Apt 与靶标之间较高的亲和力, 引入靶标 AFB₁ 或 OTA 时, 促使

双交叉 DNA 纳米结构解离开来, 这种“信号开启”荧光感应传感器可以实现 OTA 和 AFB₁ 的同时检测, 有效避免背景信号干扰, 实现双目标的灵敏检测, 为多种目标物质的检测提供新思路。将多种 Apt 联用可以实现对多种真菌毒素的同时检测。如图 4C 所示, YAGN 等^[37]将 3 种毒素 ZEN、OTA、AFB₁ 的 Apt 一同与封装信号分子 4-硝基苯硫酚(4-nitrothiophenol, 4-NTP)、4-巯基苯硼酸(4-mercaptophenylboric acid, 4-MPA)和 4-巯基苯腈(4-mercaptophenylboronitrile, 4-MBN)的聚苯乙烯微球连接, 构建了 3 种真菌毒素的识别探针, 合成的磁性纳米材料(MNPs@SSB)可以区分靶结合的 Apt 与游离的 Apt, 实现 3 种真菌毒素的同时检测。在没有目标真菌毒素的情况下, MNPs@SSB 捕获 PS-Apt, 从而将整个 MNPs@SSB-PS-Apt 标签保留在孔中。当目标真菌毒素存在时, 真菌毒素主动占据 PS-Apt 的活性位点, 从而导

致 MNPs@SSB-PS-Apt 复合物的浓度降低。通过添加四氢呋喃(tetrahydrofuran, THF)获得 PS 中的大信号分子, 实现 3 种真菌毒素的同时检测。多个 Apt 联用可以扩展识别目标范围, 另外 Apt 之间可能存在协同效应, 相互作用可以提高整体亲和力与结合力, 还可以增强信号放大效应, 进行多重验证以提高结果的可靠性。联用时需要考虑 Apt 之间的相互作用, 进行筛选和优化, 确保 Apt 之间的相互作用。

1.3 基于 Apt 与其他组分联用的识别策略

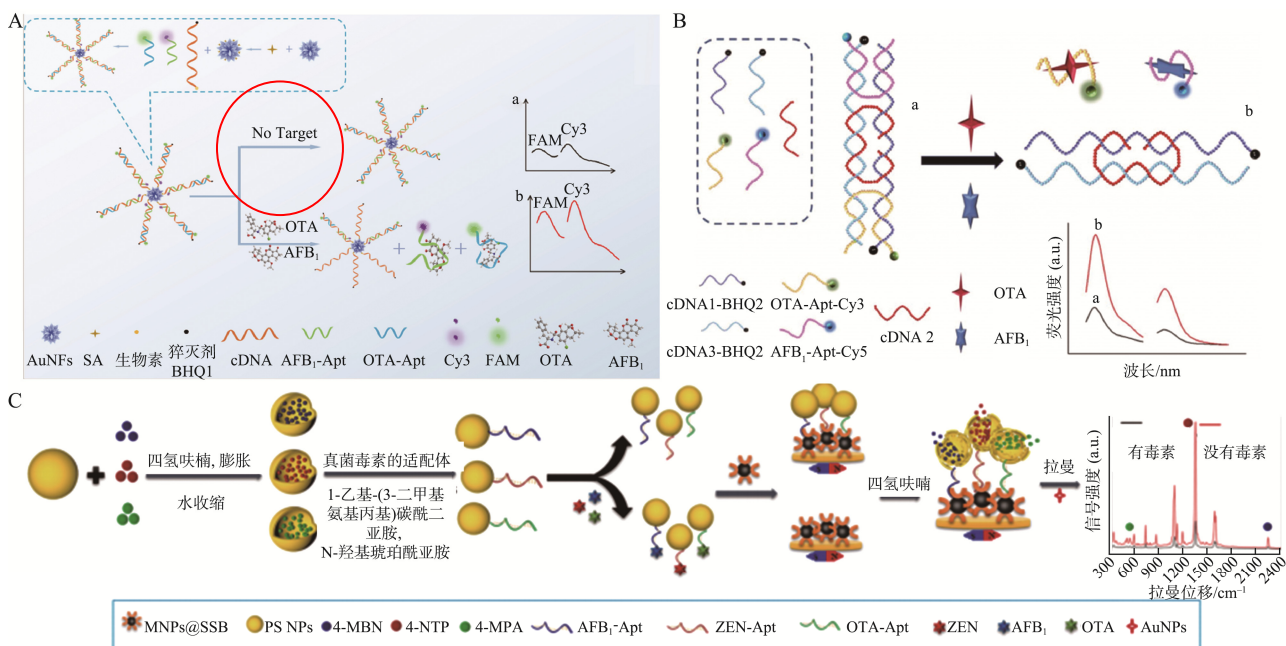
单个识别元素的应用在复杂的情况下会有一定的局限性, 除 Apt 之外, 抗体、分子印迹聚合物等识别分子在检测领域也发挥重要作用, 将 Apt 与其他识别分子组合联用能够一定程度提高检测的灵敏度、增加识别策略的灵活与多样, 为真菌毒素检测开拓新思路。



注: A和B: 基于单Apt识别OTA策略示意图^[33-34]。

图3 基于单Apt识别策略示意图

Fig.3 Schematic diagram of recognition strategy based on single Apt



注: A和B: 基于AFB₁与OTA Apt的识别策略示意图^[35-36]; C: 基于AFB₁、OTA与ZEN Apt的识别策略示意图^[37]。

图4 基于多Apt识别策略示意图

Fig.4 Schematic diagram of multi-Apt recognition strategy

1.3.1 抗 体

尽管近年来 Apt 等识别分子发展迅速, 但抗体仍然是检测应用领域中最为常用的识别分子, 将抗体与 Apt 联用, 能够更好的提高检测性能以及灵敏性。如图 5A 所示, GUO 等^[38]将抗体与 Apt 联合提出了一种用于 OTA 超灵敏检测的三明治型电化学生物传感器。银纳米粒子(AgNPs)通过 1-十六烷硫醇(hexadecanethiol, HDT)附着在电极上, 为 Apt 提供大量的附着位点, 然后通过对 Apt、靶标和抗体的特异性识别, 形成 Apt-抗体-聚醚酰亚胺(polyetherimide, PEI)的三明治结构。通过级联信号放大策略构建的传感器灵敏度可低至 fg/mL 级, 具有较好的特异性和灵敏性。在毒素检测过程中, 通常需要结合真菌毒素标准品进行定量, 这种做法会带来一定的潜在风险。如图 5B 所示, HOU 等^[39]筛选 OTA 纳米体特异性 Apt, 将其用于 OTA 的快速检测。在包含 36 个核苷酸随机区域的 DNA 文库选择了 OTA 纳米体特异性 Apt 作为 OTA 的替代品, 减少真菌毒素样品的使用, 进而设计了无毒直接竞争 ELISA 试验用于面粉中 OTA 含量的测定。Apt 的可修饰特性是抗体所不具备的, 将抗体与 Apt 联用并协调两者之间的关系, 能在一定程度上提高真菌毒素的检测效率。

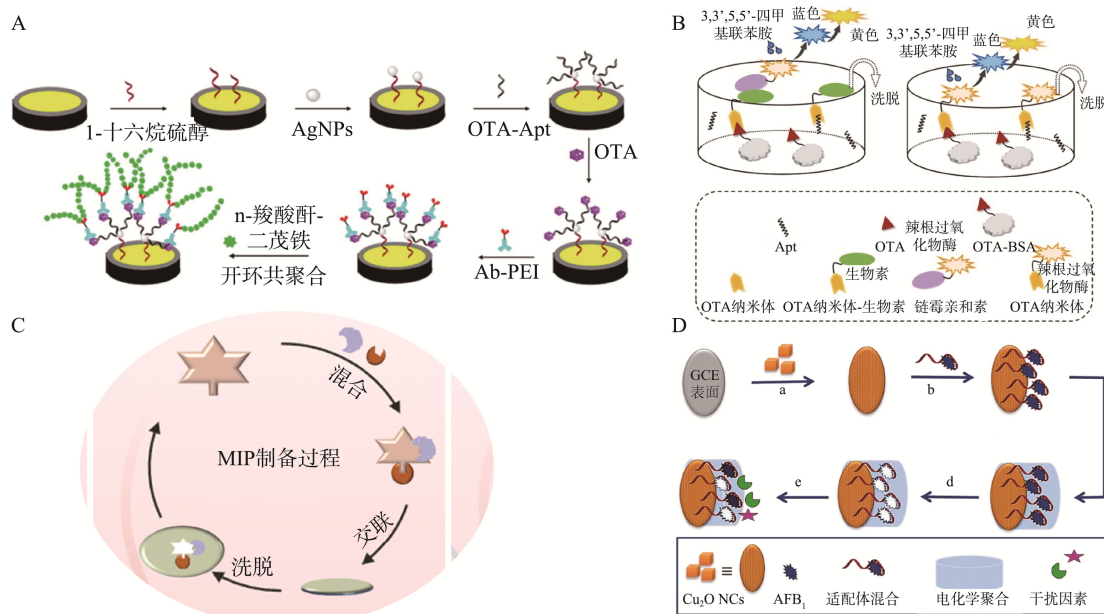
1.3.2 分子印迹聚合物

分子印迹聚合物(molecularly imprinted polymer, MIP)是一种模拟自然界中酶和底物以及抗原和抗体特异性结合的聚合物, MIP 的制备过程如图 5C 所示^[40]。MIP 具有制备成本低、适用性广、稳定性高等优点, 然而 MIP 的特异性识别能力相比 Apt 仍有所欠缺, 特别是干扰物在复杂底物中的

非特异性结合^[41]。MIP 和 Apt 具有各自明显的优势, 研究人员尝试将两种物质结合, 制备 MIP-Apt 双识别元件。如图 5D 所示, ROUSHANI 等^[42]将 MIP 和 Apt 联合, 用于 AFT 的检测。 Cu_2O 纳米酶负载大量 Apt, 基于 Apt 特异性结合特性和分子印迹聚合物的强稳定性, 构建杂化体系并设计了一种基于 Apt-MIP 纳米材料的 AFB_1 电化学传感器。MIP-Apt 双识别元件比单一识别元件提供了更特异的识别位点, 有效降低对复杂底物中干扰物质非特异识别的可能性。MIP 与 Apt 的成功联合使用为其他识别分子的联合利用提供了有价值的参考, 拓宽真菌毒素的识别策略。

2 基于 Apt-纳米酶生物传感器对真菌毒素的检测方案

Apt 作为一段寡核苷酸片段, 与靶标分子特异性结合过程, 并不会产生物理或化学信号。Apt 本身不具备信号转换功能这一难题阻碍了其在真菌毒素检测中的广泛应用。纳米酶作为一种新型材料, 具有信号转换以及放大等特性, 将 Apt 与纳米酶联用, 构成具有目标分子识别和信号转换与放大功能的传感器, 实现对真菌毒素的快速检测。Apt 可以通过氢键、静电吸附等作用与靶标特异性结合, 发生结构和空间构象变化, 具有优异稳定性的纳米材料能够将这一捕获信号转换为可测量的信号, 从而对待测物质进行定量分析。根据信号转换方式的不同, 可将 Apt 生物传感器分为比色 Apt 传感器、荧光 Apt 传感器、电化学 Apt 传感器和表面拉曼散射 Apt 传感器等。



注: A和B: Apt与抗体联用原理示意图^[38-39]; C: MIP制备过程; D: Apt与MIP联用检测 AFB_1 原理示意图^[42]。

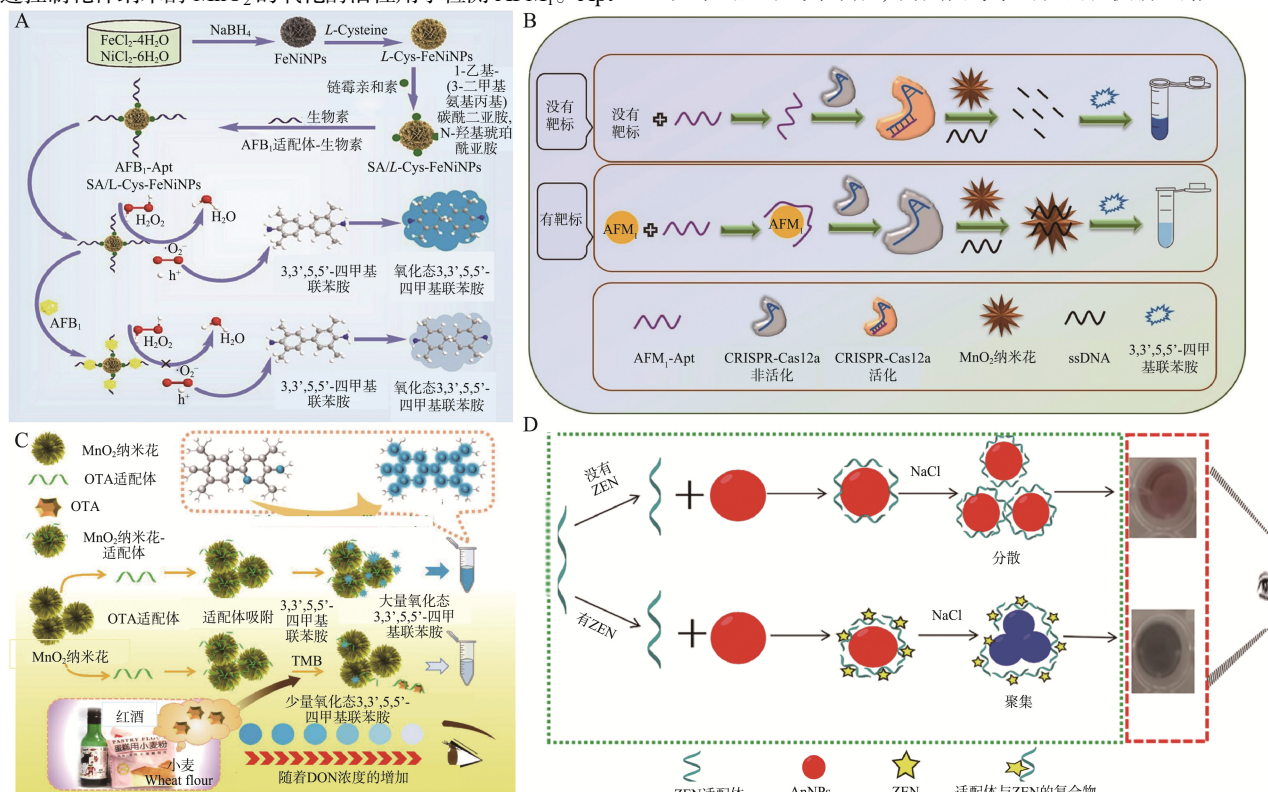
图5 基于适配体与其他组分联用识别策略示意图

Fig.5 Schematic diagram of recognition strategy based on the combination of adapter and other components

2.1 比色传感方案

比色法是一种基于目标靶物引起颜色变化的快速分析手段,可以通过肉眼直接观察并对检测结果进行分析。比色传感器具有较宽的波长范围,从紫外线到红外线都可以覆盖,这使得它适用于不同颜色和光学特性的样品分析,具有较大的灵活性和适用性。然而比色 Apt 传感器在实际应用中仍存在抗干扰能力弱、背景干扰等问题^[43]。因此,如何提高识别元件的灵敏度是比色传感器发展的关键,将纳米材料与 Apt 联用构建识别元件,提高特异性的同时还能保证识别元件的稳定性。如图 6A 所示,FAN 等^[44]建立了一种基于 Apt 修饰的花状铁镍双金属纳米颗粒(L-Cys-FeNiNPs),用于 AFB₁ 的检测。利用碳二亚胺/N-羟基琥珀酰亚胺(carbodiimide/N-hydroxysuccinimide, EDC/NHS)和链霉亲和素(streptavidin, SA)成功将 AFB₁ Apt-生物素标记在 L-Cys-FeNi NPs 上,在最佳条件下,该比色传感方案具有较宽的响应范围(0.12~2.00 μg/mL)和较低的检出限(36.57 ng/mL)。Apt 既能充当真菌毒素的生物受体,又可作为互补链部分的补充。如图 6B 所示,ESMAELPOURFARKHANI 等^[45]构建了基于规律间隔成簇短回文重复序列(clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR)的比色 Apt 传感器,该传感器通过控制花样纳米酶 MnO₂ 的氧化酶活性用于检测 AFM₁。Apt

一方面作为 AFM₁ 的生物受体,又作为 crRNA 部分的补充,控制 CRISPR-Cas12a 的激活,其中花样纳米酶的氧化酶样活性取决于 CRISPR-Cas12a 的激活和失活。所提出的比色 Apt 传感器具有较低的线性范围(6~160 ng/L),检出限为 2.1 ng/L。此外,Apt 与纳米酶联用在一定程度上具有协同作用。如图 6C 所示,LV 等^[46]用游离的 OTA 适配体吸附在 MnO₂ 纳米花表面,发现表面吸附的 Apt 增强了 MnO₂ 纳米花的氧化酶活性,检测小麦粉和红酒样品中的 OTA。OTA 检测的线性范围为 0.05~33.35 ng/mL,检出限为 0.069 ng/mL,具有良好的特异性和稳定性。Apt 除对纳米材料的活性有增强作用外,同时对纳米材料具有一定的保护作用。如图 6D 所示,Apt 在高盐条件下对 Au NPs 有一定的保护作用,ZHANG 等^[47]基于此原理构建了一个可视化,无标签,智能手机辅助的比色适配器传感器。该传感器采用 Apt 作为识别元件,AuNPs 作为指示器。在 ZEN 存在下,反应溶液由红色变为蓝色,通过颜色的变化灵敏检测 ZEN。ZEN 的检出限为 5 ng/mL,线性范围为 5~300 ng/mL,并且在玉米实际样品中对 ZEN 的检测表现优异。综上所述,Apt 一方面具有特异性识别能力,保证对靶标识别的准确性,另一方面 Apt 对纳米酶活性有一定的增强、保护等作用,增强纳米酶的信号放大特性。因此通过 Apt 的识别以及纳米酶的信号转化与放大,能够有效提高比色传感方案的灵敏与准确性,为真菌毒素的检测提供新思路。



注: A: 基于 AFB₁ Apt 与 L-Cys-Fe NiNPs 的比色传感方案^[44]; B: 基于 CRISPR 与 AFM₁ Apt 的比色传感方案^[45]; C: 基于 OTA Apt 与 MnO₂ 的比色传感方案^[46]; D: 基于金纳米粒子(gold nanoparticles, AuNPs)的比色适配器传感方案^[47]。

图6 基于Apt-纳米酶的比色传感器检测真菌毒素原理示意图

Fig.6 Schematic diagram of mycotoxin detection based on Apt-nanozyme colorimetric sensor

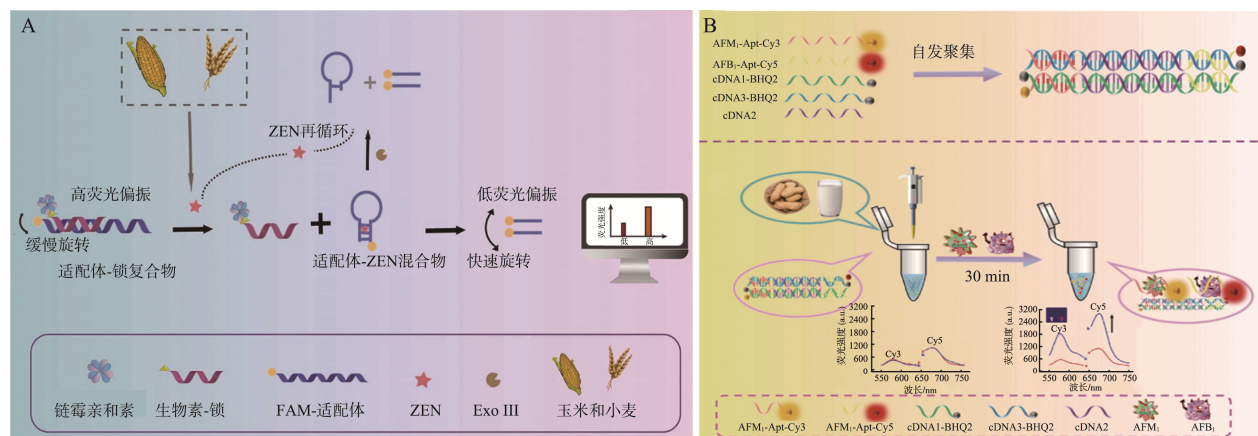
2.2 荧光传感方案

荧光传感方案是通过引入荧光物质产生荧光信号, 从而解决 Apt 在检测真菌毒素过程中信号转换的问题, 并且荧光物质并不会改变 Apt 原有的特性。荧光物质(如染料、荧光蛋白等)吸收足够能量, 电子发生跃迁, 能量发生转移或释放的过程会释放多余的能量, 并以光的形式发射, 进而形成荧光信号^[48]。基于纳米酶的荧光检测方法可以通过多种方式实现, 包括纳米酶直接催化荧光底物产生荧光信号, 以及纳米酶催化反应间增强或猝灭荧光信号。荧光传感器具有较高的多样性和灵活性, 可以根据不同的目标分子设计和构建不同的传感器。对 Apt 进行修饰, 可以实现对不同目标分子进行检测^[49]。Apt 荧光传感器可以通过将荧光染料直接标记到 Apt 上, 通常使用的是荧光素(fluorescein)^[50]、罗丹明(rhodamine)^[51]、Cyanine 染料(Cy3、Cy5、Cy7 等)^[52]、Alexa Fluor 染料(Alexa Fluor 488、Alexa Fluor 555、Alexa Fluor 647 等)^[53]、量子点(quantum dots, QDs)^[54]等。如图 7A 所示, MA 等^[55]利用等温滴定量热法(isothermal titration calorimetry, ITC)、圆二色性(circular dichroism, CD)和分子动力学(molecular dynamics, MD)研究了被截断为 19 个碱基的 ZEN Apt (Z19)与 ZEN 的热力学、结构和结合域信息, 构建了基于 Z19 和 Exo III 的荧光偏振适配体传感器。在检测过程中, ZEN 诱导适配体解离到溶液中, 被 Exo III 酶解。被标记的适配体具有特异性的同时还具备荧光特性, 能够实现实际样品中真菌毒素的检测。在最优条件下, 检测平台具有良好的分析性能, 线性范围为 0.01~100 ng/mL, 检出限低至 0.004 ng/mL。对荧光物质标记 Apt 而言, 可以同时标记多个 Apt 用于多种真菌毒素的检测。如图 7B 所示, GE 等^[56]基于自组装 DNA 双交叉的荧光 Apt 传感器, 利用 FRET 技术对 AFM₁ 和 B₁ 进行同时定量检测。该 Apt 的两端分别是 Cy3 修饰的 AFM₁ Apt 和 Cy5 修饰的 AFB₁ Apt, 并且双交叉分子末端被带有猝灭基团修

饰的互补链稳定交联锁定, 导致荧光信号消失。在 AFM₁ 和 AFB₁ 存在的情况下, Apt 与其靶标结合, 阻断 DNA 双交叉荧光猝灭效应, 恢复荧光信号。在最佳条件下, 构建的荧光 Apt 传感器的信号响应与 AFM₁ 和 AFB₁ 浓度的对数值呈现出良好的线性关系, 检出限分别为 6.24 pg/mL 和 9.00 pg/mL, 线性范围为 0.01~200.00 ng/mL 和 0.01~150.00 ng/mL。对实际样品进行分析, 能够有效排除干扰物质的影响, 证明该传感器具有良好的抗干扰能力。综上所述, 荧光标记的 Apt 并不会影响其原有特性, 不仅可以实现对单一毒素的双模检测, 提高检测的准确性的同时还能实现对多种真菌毒素的检测, 实现多目标检测。另外通过对 Apt 探针的改造和设计, Apt-纳米酶的传感策略也可用于其他分析物质的高通量同时筛选, 为荧光 Apt 传感器的开发提供了新的思路。

2.3 电化学传感方案

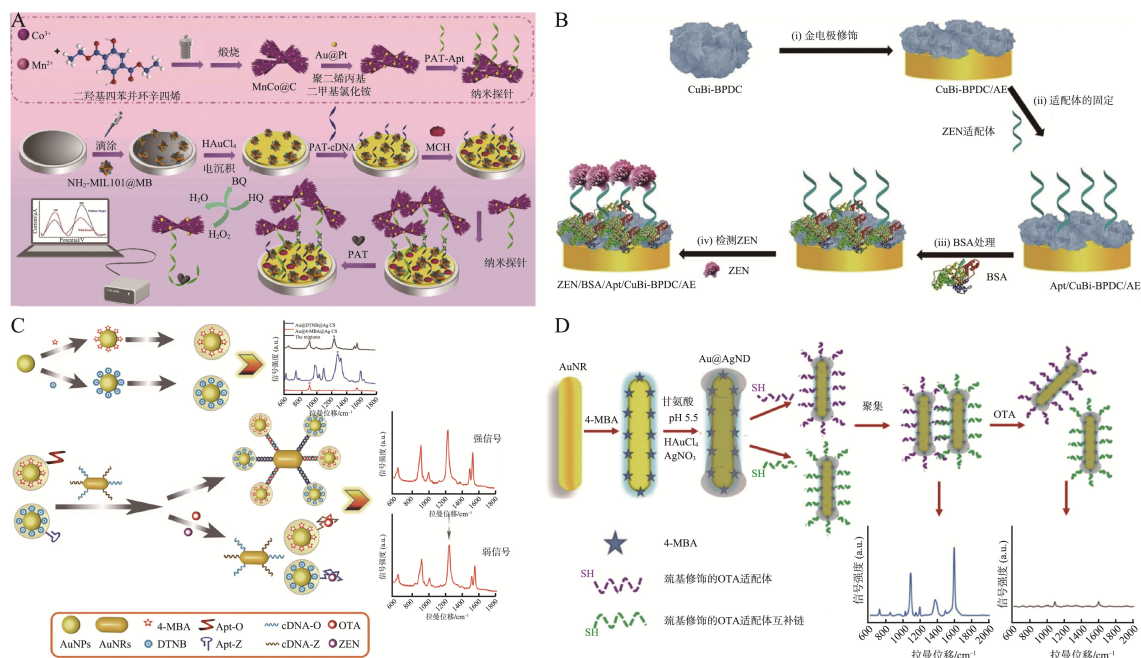
电化学 Apt 传感器检测原理是固定在电极上的 Apt 与目标物特异性结合, 产生或消耗离子或电子, 引起电极界面电化学信号的改变, 实现对目标物的灵敏检测。通过选用各种纳米材料, 如碳基纳米材料、金属有机框架(metal-organic framework, MOFs)、AuNPs 等, 对信号进行转换放大。如图 8A 所示, LIU 等^[57]提出了一种高效的多重放大策略, 利用 NH₂-MIL-101@MB 修饰电极, 从而开发出一种比率传感器。锰钴掺杂材料(MnCo@C)作为一种新型的双金属煅烧 MOF, 对 H₂O₂ 和 HQ 具有较强的催化能力。修饰 NH₂-MIL-101@MB 作为参考信号, MnCo@C 与金铂纳米粒子(Pt@Au)结合, 吸附展青霉素 Apt (PAT-Apt), 进一步放大信号, 形成无酶纳米探针(nanopro)。在 PAT 存在的情况下, Nanopro 捕获目标并从电极表面释放, 信号发生变化, 实现对 PAT 的检测。并且与同类型的单金属 MOF 相比, 作为类酶物质的 MnCo@C 表现出更强的催化活性。该组合策略中通过信号探头的多重放大策略实现对 PAT 的检测, 双参考信号也能有效提高其准确性, 该传感器对 PAT 的线性



注: A: 基于ZEN Apt的荧光传感方案^[55]; B: 基于AFM₁和AFB₁ Apt的荧光传感方案^[56]。

图7 基于Apt的荧光传感器检测真菌毒素原理示意图

Fig.7 Schematic diagram of fungal toxin detection by fluorescent Apt sensor based on aptamer



注: A: 基于PAT Apt的电化学传感方案^[57]; B: 基于ZEN Apt的荧光传感方案^[58]; C: 基于OTA和ZEN Apt的拉曼传感方案^[61]; D: 基于OTA Apt的拉曼传感方案^[63]。

图8 基于Apt-纳米酶的传感器检测真菌毒素原理示意图

Fig.8 Schematic diagram of mycotoxin detection based on Apt-nanozyme sensor

范围为 $1.00 \times 10^{-4} \sim 10 \text{ pg/mL}$, 检出限低至 0.040 fg/mL ($S/N=3$)。并且成功地将该传感器应用于山楂和小鼠尾草中 PAT 的检测, 表现出优异的检测效果。Apt 与具有独特的框架结构的 MOFs 联用能够在电化学检测领域得到广泛应用。如图 8B 所示, KANG 等^[58]合成了一种双金属有机框架 (bimetallic organic frame, CuBi-BPDC), 并利用它来开发一种新型 ZEN 检测生物传感平台。合成的 CuBi-BPDC 具有显著的电化学活性和与寡核苷酸链的强结合能力, 将制备好的 CuBi-BPDC 包覆在金电极表面, 通过牛血清白蛋白吸附与阻断将 ZEN Apt 链固定在 CuBi-BPDC 上, 构建了电化学 Apt 传感器。Apt 传感器识别 ZEN 分子引起电化学信号变化, 实现 ZEN 的定量检测, 检出限低至 0.73 fg/mL , 检出范围为 $0 \sim 1 \times 10^7 \text{ fg/mL}$ 。采用双金属 MOF 结合来提高材料的电化学性质, 提高其传感性能, 扩大 MOF 衍生纳米材料在真菌毒素检测中的应用, 该策略为超灵敏 ZEN 检测提供一个有前景的平台。电化学传感方案依赖于电极材料的设计, 单一识别特性的 Apt 并不能达到电极材料设计的预期效果, 但形貌、尺寸与结构可控特性纳米酶的引进为多种新型电极材料的设计提供可能, 有效提高电化学传感器的性能, 实现更精准的电化学应用。同时将 Apt 与纳米酶联用进一步拓展了电极材料的种类, 提高构建电化学传感方案的多样性, 提升电化学传感方案在真菌毒素检测领域中的应用性能。

2.4 拉曼传感方案

拉曼光谱作为一种高灵敏的分析手段, 具有窄光谱带

宽、高特异性和高灵敏度等特点, 是分析化学中最强大的光谱技术之一, 已应用于多种微量物质的快速检测^[59]。已有研究证实了金属纳米颗粒具有强大的辐射散射效应和易于调制的光学特性, 其中金和银其独特的物理化学性质被认定为潜在的有效 SERS 衬底^[60]。将 Apt 与具有拉曼特性的纳米材料结合, 利用 Apt 的特异性与纳米材料的信号转换能力, 构建拉曼传感方案, 进而实现对真菌毒素的检测。如图 8C 所示, CHEN 等^[61]以 Au@Ag 核壳纳米粒子 (Au@Ag CS) 为 SERS 底物, 开发了一种同时检测 OTA 和 ZEN 的 SERS Apt 传感器。在 $0.01 \sim 100 \text{ ng/mL}$ 的浓度范围内对 OTA 的检测保持良好的线性关系, 检出限为 0.018 ng/mL 。对于 ZEN 的检测, 在 $0.05 \sim 500 \text{ ng/mL}$ 的较宽浓度范围内均保持良好的线性关系, 检出限为 0.054 ng/mL 。纳米粒子可以通过通过激发表面等离子共振进而提高拉曼信号^[62]。如图 8D 所示, MA 等^[63]利用等离子体纳米间隙结构的 SERS 效应, 构建了一种灵敏检测 OTA 的 Apt 传感器。在最佳条件下, OTA 浓度与 SERS 信号成反比。线性范围为 $0.01 \sim 50.00 \text{ ng/mL}$, 检出限为 0.007 ng/mL 。此外可以利用 Apt 与互补链的互补配对实现对多个纳米酶进行连接, 实现检测。GUO 等^[64]利用 Apt 与 cDNA 的互补配对, 将含有信号分子的金银核壳结构 (Au@4-MBA@Ag, ADANRs) 和壳聚糖 (Chitosan) 修饰的磁性纳米粒子 (CS- Fe_3O_4) 结合, 经磁分离后产生信号探针的拉曼信号, 制备 SERS Apt 传感器。在 PAT 存在的情况下, 拉曼强度与 PAT 浓度呈负相关。在 $0 \sim 70 \text{ ng/mL}$ 的线性范围内, PAT 的检

出限为 0.0384 ng/mL。纳米材料是一种很好的拉曼基底材料, 同时 Apt 之间的亲和力以及 Apt 与靶标之间的识别特异性会影响纳米粒子之间的距离, 这种空间效应可以引起拉曼信号强度的显著变化, 提高检测灵敏度。Apt-纳米酶的联用更有利于对多种 SERS 传感方案的开发, 为霉菌毒素的检测提供新思路。

2.5 其他传感方案

在真菌毒素的检测方面, 除比色、电化学、荧光以及拉曼 Apt 传感方案之外, 研究人员致力于开发新型检测传感方案, 拓展检测领域的边界。LEI 等^[65]开发了一种基于局域表面等离子体共振(localized surface plasmon resonance, LSPR)的光纤尖端生物 Apt 传感器。AuNPs 和 Apt 组装了光纤端面, 用于检测伏马毒素 B₁。结果表明, 光纤 LSPR 生物传感器在浓度为 0.8~200.0 ng/mL 的线性范围内有很好的线性关系, 其检出限为 0.17 ng/mL, 选择性、回收率为 96.08%~112.23%, 重复性相对标准偏差为 3.37%, 证实了利用尖端面光纤 LSPR 生物传感器检测伏马毒素 B₁是可行的。Apt-纳米酶的联用将真菌毒素的检测领域带进了一个新的高度, 为研究和开发新的传感方案和检测策略提供新思路。

3 结束语

综上所述, 为提高真菌毒素检测的灵敏度, 同时降低成本, 并简化操作复杂性, 不同识别分子与纳米酶联用在真菌毒素快速检测领域逐步取得一些进展。Apt 作为一种新型识别分子, 因其制备成本低、修饰简单、特异性高等特点, 成为检测领域的研究热点。本文总结了 Apt-纳米酶联用在真菌毒素检测领域的不同策略, 单个 Apt 的特异性以及多个 Apt 联用在检测方面具有一定的优势。同时抗体和 MIP 是具有广泛研究历史的识别分子, 将 Apt 与其他识别分子进行联用, 能一定程度上发挥各自独有的优势。并对 Apt-纳米酶在真菌毒素的不同检测方案进行了汇总, 分析了不同检测方案的优缺点。但由于 Apt 种类有限且利用较为单一等问题, 使得 Apt-纳米酶生物传感器在真菌毒素检测领域难以得到广泛应用。基于 Apt-纳米酶构建 Apt 生物传感器的发展仍需要克服很多困难, 针对其研究前景可以关注以下几个方面: (1) 拓宽 Apt 的种类并提高 Apt 的灵敏与准确性, 真菌毒素的种类繁多, 但相对应的 Apt 种类较少, 拓宽 Apt 种类的同时还需进一步提升 Apt 的灵敏和准确性; (2) 扩展识别策略种类, 单个 Apt 识别较为单一, 对于多个目标靶物的识别仍有所欠缺, 将更多的识别分子(雌激素受体、噬菌体等)加入到 Apt 识别策略当中, 开发多种真菌毒素的检测平台; (3) 探究 Apt-纳米酶联用原理, 明确 Apt-纳米酶之间的相互构效关系; (4) 拓宽 Apt-纳米酶种类, 将更多的纳米材料与 Apt 结合, 拓宽真菌毒素检测传感方案种类。

参考文献

- [1] EL-SAYED RA, JEBUR AB, KANG WY, *et al.* An overview on the major mycotoxins in food products: Characteristics, toxicity, and analysis [J]. *J Future Foods*, 2022, 2(2): 91–102.
- [2] MCMILLAN A, RENAUD JB, BURGESS KMN, *et al.* Aflatoxin exposure in nigerian children with severe acute malnutrition [J]. *Food Chem Toxicol*, 2018, 111: 356–362.
- [3] 张牧臣, 郑楠, 王加启. 食品中黄曲霉毒素 B₁ 污染研究进展[J]. *食品科学*, 2018, 39(7): 312–320.
ZHANG MC, ZHENG N, WANG JQ. Aflatoxin B₁ contamination in foods: A review [J]. *Food Sci*, 2018, 39(7): 312–320.
- [4] 蔡硕, 王周利, 岳田利, 等. 谷物及其制品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇控制的研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(4): 1267–1275.
CAI S, WANG ZL, YUE TL, *et al.* Research progress of deoxynivalenol control in cereals and their products [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(4): 1267–1275.
- [5] 何雨翔, 李萌萌, 刘远晓, 等. 玉米赤霉烯酮及其衍生物的毒性和转化研究进展[J]. *食品科学*, 2023, 44(15): 289–297.
HE YS, LI MM, LIU YX, *et al.* Advances in studies on toxicity and transformation of zearalenone and its derivatives [J]. *Food Sci*, 2023, 44(15): 289–297.
- [6] 南米娜, 辛雪燕, 薛华丽, 等. 葡萄及其制品中赭曲霉毒素 A 的污染现状及检测技术研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14(3): 122–130.
NAN MN, XIN XY, XUE HL, *et al.* Research advance on the contamination status and detection of ochratoxin A in *Vitis vinifera* L. and its products [J]. *J Food Saf Qual*, 2023, 14(3): 122–130.
- [7] 李勇, 单硕, 吴丹舟, 等. 棒曲霉素的毒性及其机制研究进展[J]. *食品科学*, 2023, 44(11): 309–316.
LI Y, SHAN S, WU DZ, *et al.* Research progress on the toxicity and mechanism of action of patulin [J]. *Food Sci*, 2023, 44(11): 309–316.
- [8] ESKOLA M, ALTIERI A, GALOBBART J. Overview of the activities of the European food safety authority on mycotoxins in food and feed [J]. *World Mycotoxin J*, 2018, 11(2): 277–289.
- [9] 尚艳娥, 杨卫民. CAC、欧盟、美国与中国粮食中真菌毒素限量标准的差异分析[J]. *食品科学技术学报*, 2019, 37(1): 10–15.
SHANG YE, YANG WM. Variation analysis of cereals mycotoxin limit standards of CAC, EU, USA, and China [J]. *J Food Sci Technol*, 2019, 37(1): 10–15.
- [10] 吴限鑫, 林秋君, 郭春景, 等. 国内外主要粮油产品中真菌毒素限量、检测标准及风险评估现状分析[J]. *中国粮油学报*, 2019, 34(9): 130–138.
WU XX, LIN QJ, GUO CJ, *et al.* Analysis of limits, testing standards and risk assessment of mycotoxins in major grain and oil products at home and abroad [J]. *J Chin Cere Oils Ass*, 2019, 34(9): 130–138.
- [11] HIDALGO-RUIZ JL, ROMERO-GONZÁLEZ R, MARTÍNEZ-VIDAL JL, *et al.* A rapid method for the determination of mycotoxins in edible vegetable oils by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2019, 288: 22–28.
- [12] MAO JF, ZHENG N, WEN F, *et al.* Multi-mycotoxins analysis in raw milk by ultra performance liquid chromatography coupled to quadrupole orbitrap mass spectrometry [J]. *Food Control*, 2018, 84: 305–311.

- [13] ZHAI WL, YOU TY, OUYANG XH, *et al.* Recent progress in mycotoxins detection based on surface-enhanced Raman spectroscopy [J]. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 2021, 20(2): 1887–1909.
- [14] LEITE M, FREITAS A, SILVA AS, *et al.* Maize (*Zea mays* L.) and mycotoxins: A review on optimization and validation of analytical methods by liquid chromatography coupled to mass spectrometry [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2020, 99: 542–565.
- [15] XING KY, PENG J, SHAN S, *et al.* Green enzyme-linked immunosorbent assay based on the single-stranded binding protein-assisted aptamer for the detection of mycotoxin [J]. *Anal Chem*, 2020, 92(12): 8422–8426.
- [16] KUZDRALIŃSKI A, SOLARSKA E, MUSZYŃSKA M. Deoxynivalenol and zearalenone occurrence in beers analysed by an enzyme-linked immunosorbent assay method [J]. *Food Control*, 2013, 29(1): 22–24.
- [17] LIU ZW, HUA QC, WANG J, *et al.* A smartphone-based dual detection mode device integrated with two lateral flow immunoassays for multiplex mycotoxins in cereals [J]. *Biosens Bioelectron*, 2020, 158: 112178.
- [18] YAN TT, ZHANG ZW, ZHANG Q, *et al.* Simultaneous determination for A. flavus-metabolizing mycotoxins by time-resolved fluorescent microbead or gold-enabling test strip in agricultural products based on monoclonal antibodies [J]. *Microchim Acta*, 2020, 187(12): 653.
- [19] ZHANG RF, YAN XY, FAN KL. Nanozymes inspired by natural enzymes [J]. *Acc Mater Res*, 2021, 2(7): 534–547.
- [20] GAO LZ, ZHUANG J, NIE L, *et al.* Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles [J]. *Nat Nanotechnol*, 2007, 2(9): 577–583.
- [21] MANEA F, HOUILLON FB, PASQUATO L, *et al.* Nanozymes: Gold-nanoparticle-based transphosphorylation catalysts [J]. *Angew Chem, Int Ed*, 2004, 43(45): 6165–6169.
- [22] GOMOLLÓN-BEL F. IUPAC top ten emerging technologies in chemistry 2022 [J]. *Chem Int*, 2022, 44(4): 4–13.
- [23] 李芙蓉, 向发椿, 曹丽萍, 等. 纳米酶在食品检测中的应用研究进展[J]. *食品科学*, 2022, 43(1): 285–297.
- LI FR, XIANG FC, CAO LP, *et al.* Recent advances in applications of nanozymes in food detection [J]. *Food Sci*, 2022, 43(1): 285–297.
- [24] 王俊豪, 朱效东, 王玉坤, 等. 基于纳米材料的适配体生物传感器检测真菌毒素研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14(23): 59–69.
- WANG JH, ZHU XD, WANG YK, *et al.* Advances in nanomaterial-based aptasensors for the detection of mycotoxins [J]. *J Food Saf Qual*, 2023, 14(23): 59–69.
- [25] ELLINGTON AD, SZOSTAK JW. *In vitro* selection of RNA molecules that bind specific ligands [J]. *Nature*, 1990, 346(6287): 818–822.
- [26] HERMANN T, PATEL DJ. Adaptive recognition by nucleic acid aptamers [J]. *Science*, 2000, 287(5454): 820–825.
- [27] DUNN MR, JIMENEZ RM, CHAPUT JC. Analysis of aptamer discovery and technology [J]. *Nat Rev Chem*, 2017, 1(10): 76.
- [28] SUN DP, LU J, ZHANG LY, *et al.* Aptamer-based electrochemical cytosensors for tumor cell detection in cancer diagnosis: A review [J]. *Anal Chim Acta*, 2019, 1082: 1–17.
- [29] TANG ZW, PAREKH P, TURNER P, *et al.* Generating aptamers for recognition of virus-infected cells [J]. *Clin Chem*, 2009, 55(4): 813–822.
- [30] WANG Y, LIU XL, WU LJ, *et al.* Construction and bioapplications of aptamer-based dual recognition strategy [J]. *Biosens Bioelectron*, 2022, 195: 113661.
- [31] HUANG PJ, LIU JW. Simultaneous detection of L-lactate and D-glucose using DNA aptamers in human blood serum [J]. *Angew Chem Int Edit*, 2023, 62(12): e202212879.
- [32] ZHANG YF, YANG LX, SUN C, *et al.* Aptamer-based sensor for specific recognition of malathion in fruits and vegetables by surface-enhanced Raman spectroscopy and electrochemistry combination [J]. *Anal Chim Acta*, 2022, 1221: 340148.
- [33] SANG MS, MENG XY, ZHANG YH, *et al.* An “on-off-on” electrochemiluminescence aptasensor based on a self-enhanced luminophore for ochratoxin A detection [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2023, 415(23): 5833–5844.
- [34] TIAN JY, WEI WQ, WANG JW, *et al.* Fluorescence resonance energy transfer aptasensor between nanoceria and graphene quantum dots for the determination of ochratoxin A [J]. *Anal Chim Acta*, 2018, 1000: 265–272.
- [35] QIAO MX, LIU Y, WEI M. Dual-signal output fluorescent aptasensor based on DNA programmability and gold nanoflowers for multiple mycotoxins detection [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2023, 415(2): 277–288.
- [36] 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 AFB₁ [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2021, 413(30): 7587–7595.
- [37] YANG Y, SU ZQ, WU D, *et al.* Low background interference SERS aptasensor for highly sensitive multiplex mycotoxin detection based on polystyrene microspheres-mediated controlled release of Raman reporters [J]. *Anal Chim Acta*, 2022, 1218: 340000.
- [38] GUO L, CUI ZZ, XUE JY, *et al.* Cascade signal amplification electrochemical biosensor based on AgNPs and ring opening polymerization for determination of ochratoxin A [J]. *Microchim Acta*, 2023, 190(11): 432.
- [39] HOU YY, LIU XX, LI YS, *et al.* Aptamers for nanobodies: A nontoxic alternative to toxic ochratoxin A in immunoassays [J]. *Biosens Bioelectron*, 2023, 1: 115995.
- [40] GENG LJ, WANG HF, LIU MY, *et al.* Research progress on preparation methods and sensing applications of molecularly imprinted polymer-aptamer dual recognition elements [J]. *Sci Total Environ*, 2024, 912: 168832.
- [41] PIRZADA M, SEHIT E, ALTINTAS Z. Cancer biomarker detection in human serum samples using nanoparticle decorated epitope-mediated hybrid MIP [J]. *Biosens Bioelectron*, 2020, 166: 112464.
- [42] ROUSHANI M, FAROKHI S, RAHMATI Z. Development of a dual-recognition strategy for the aflatoxin B₁ detection based on a hybrid of aptamer-MIP using a Cu₂O NCs/GCE [J]. *Microchem J*, 2022, 178: 107328.
- [43] HUANG XW, ZOU XB, SHI JY, *et al.* Colorimetric sensor arrays based on chemo-responsive dyes for food odor visualization [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2018, 81: 90–107.
- [44] FAN YX, LI D, XIE XY, *et al.* Flower-like L-Cys-FeNiNPs nanozyme aptasensor for sensitive colorimetric detection of aflatoxin B₁ [J]. *Microchem J*, 2024, 197: 109842.
- [45] ESMAELPOURFARKHANI M, RAMEZANI M, ALIBOLANDI M, *et al.* CRISPR-Cas12a-based colorimetric aptasensor for aflatoxin M₁ detection based on oxidase-mimicking activity of flower-like MnO₂ nanozymes [J]. *Talanta*, 2024, 271: 125729.
- [46] LV XQ, FRAHAT-FODA M, HE JL, *et al.* Robust and facile label-free

- colorimetric aptasensor for ochratoxin A detection using aptamer-enhanced oxidase-like activity of MnO_2 nanoflowers [J]. Food Chem, 2023, 401: 134144.
- [47] ZHANG LY, CHEN JY, LU LF, *et al.* A smartphone-assisted colorimetric aptasensor based on aptamer and gold nanoparticles for visual, fast and sensitive detection of ZEN in maize [J]. Food Chem X, 2023, 19: 100792.
- [48] NOOMNARM U, CLEGG RM. Fluorescence lifetimes: Fundamentals and interpretations [J]. Photosynth Res, 2009, 101(2-3): 181-194.
- [49] WANG Q, ZHAO FY, YANG QL, *et al.* Graphene oxide quantum dots based nanotree illuminates AFB₁: Dual signal amplified aptasensor detection AFB₁ [J]. Sens Actuators B Chem, 2021, 345: 130387.
- [50] LIU YF, YAN HJ, SHANGGUAN JF, *et al.* A fluorometric aptamer-based assay for ochratoxin A using magnetic separation and a cationic conjugated fluorescent polymer [J]. Microchim Acta, 2018, 185(9): 427.
- [51] WU JH, ZHAO JM, LIU MZ, *et al.* Detection of ochratoxin A by fluorescence sensing based on mesoporous materials [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2022, 86(9): 1192-1199.
- [52] LIU S, HUO YP, DENG SM, *et al.* A facile dual-mode aptasensor based on AuNPs@MIL-101 nanohybrids for ultrasensitive fluorescence and surface-enhanced Raman spectroscopy detection of tetrodotoxin [J]. Biosens Bioelectron, 2022, 201: 113891.
- [53] SETLEM SK, MONDAL B, RAMLAL S. A fluorescent aptasensor for the detection of aflatoxin B₁ by graphene oxide mediated quenching and release of fluorescence [J]. J Microbiol Meth, 2022, 193: 106414.
- [54] ZHOU JJ, LV XQ, GUI Y, *et al.* Passion fruit-inspired dendritic mesoporous silica nanospheres-enriched quantum dots coupled with magnetism-controllable aptasensor enable sensitive detection of ochratoxin A in food products [J]. Food Chem, 2023, 425: 136445.
- [55] MA PF, GUO HL, YE H, *et al.* Aptamer-locker probe coupling with truncated aptamer for high-efficiency fluorescence polarization detection of zearalenone [J]. Sens Actuators B Chem, 2023, 380: 133356.
- [56] GE G, WANG TL, LIU ZH, *et al.* A self-assembled DNA double-crossover-based fluorescent aptasensor for highly sensitivity and selectivity in the simultaneous detection of aflatoxin M₁ and aflatoxin B₁ [J]. Talanta, 2023, 265: 124908.
- [57] LIU YX, LAI HH, MING PT, *et al.* Ultrasensitive ratiometric electrochemical aptasensor based on novel MnCo@C as nonenzyme catalysis for the detection of patulin [J]. Sens Actuators B Chem, 2024, 401: 135077.
- [58] KANG MM, YAO Y, YUAN BB, *et al.* A sensitive bimetallic copper/bismuth metal-organic frameworks-based aptasensors for zearalenone detection in foodstuffs [J]. Food Chem, 2024, 437: 137827.
- [59] 朱家骥, 荣雅文, 焦天慧, 等. 食品中常见真菌毒素的表面增强拉曼光谱检测研究进展[J]. 食品科学, 2023, 44(17): 235-247.
- ZHU JJ, RONG YW, JIAO TH, *et al.* Advances in the detection of common mycotoxins in foods by surface-enhanced Raman spectroscopy [J]. Food Sci, 2023, 44(17): 235-247.
- [60] SANZ-ORTIZ MN, SENTOSUN K, BALS S, *et al.* Templated growth of surface enhanced Raman scattering-active branched gold nanoparticles within radial mesoporous silica shells [J]. ACS Nano, 2015, 9(10): 10489-10497.
- [61] CHEN RP, LI S, SUN YF, *et al.* Surface-enhanced Raman spectroscopy aptasensor for simultaneous determination of ochratoxin A and zearalenone using Au@Ag core-shell nanoparticles and gold nanorods [J]. Microchim Acta, 2021, 188(8): 281.
- [62] JIN S, ZHANG DX, YANG B, *et al.* Noble metal-free SERS: Mechanisms and applications [J]. Analyst, 2024, 149(1): 11-28.
- [63] MA XY, SHAO BY, WANG ZP. Gold@silver nanodumbbell based inter-nanogap aptasensor for the surface enhanced Raman spectroscopy determination of ochratoxin A [J]. Anal Chim Acta, 2021, 1188: 339189.
- [64] 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.
- [65] LEI H, CHEN C, YAN H. A portable optical fiber tip facet LSPR aptasensor for detection of fumonisin B₁ [J]. IEEE Sens J, 2022, 22: 17838-17844.

(责任编辑: 蔡世佳 韩晓红)

作者简介



朱效东, 硕士研究生, 主要研究方向为仿生纳米酶开发及其在生物传感器构建和食品污染物检测中的应用。

E-mail: zxd17760255691@163.com



朱鸿帅, 博士, 副教授, 主要研究方向为仿生纳米酶开发及其在生物传感器构建和食品污染物检测中的应用。

E-mail: zhuhongshuai2021@henau.edu.cn