DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250912002
引用格式: 柯瑞卿, 贺晓云, 马丽艳, 等. 咖啡中赭曲霉毒素 A 的多维检测技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(1): 14–24.
KE RQ, HE XY, MA LY, *et al*. Research progress on multidimensional detection techniques of ochratoxin A in coffee [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(1): 14–24. (in Chinese with English abstract).

咖啡中赭曲霉毒素 A 的多维检测技术研究进展

柯瑞卿[1], 贺晓云[1], 马丽艳[1], 王宪文[2], 刘 超[2], 杨 艳[2], 张 磊[3*], 程 楠[1*]

[1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院食品质量与安全北京实验室, 北京 100083; 2. 保山市检验检测院, 国家市场监督管理总局重点实验室(咖啡品质与安全), 保山 678000; 3. 泰安市绿色食品发展中心, 泰安 271099]

摘 要: 赭曲霉毒素 A (ochratoxin A, OTA)是赭曲霉毒素中毒性最强、分布最广的毒素, 其能够污染谷物(小麦和玉米)、葡萄酒、咖啡等多种农产品。咖啡是人们日常饮食的重要组成部分, 很难避免误食 OTA 从而对人体产生进一步的毒性作用。故发展方便快捷、经济环保、高灵敏度的检测技术测定咖啡中的 OTA 具有重要意义。近年来, 色谱技术、生物传感器技术等技术已被广泛运用于咖啡中 OTA 的检测, 本文综述了咖啡中 OTA 的来源, 咖啡中检测的预处理方法以及各种 OTA 检测技术的原理、性能和应用, 并对面临的问题进行了总结和未来趋势进行了展望。

关键词: 赭曲霉毒素 A; 咖啡; 检测; 预处理

Research progress on multidimensional detection techniques of ochratoxin A in coffee

KE Rui-Qing[1], HE Xiao-Yun[1], MA Li-Yan[1], WANG Xian-Wen[2], LIU Chao[2], YANG Yan[2], ZHANG Lei[3*], CHENG Nan[1*]

[1. *Beijing Laboratory for Food Quality and Safety*, *College of Food Science and Nutritional Engineering*, *China Agricultural University*, *Beijing* 100083, *China*; 2. *Baoshan Inspection and Testing Institute* (*Key Laboratory of Coffee Quality and Safety*, *State Administration for Market Regulation*), *Baoshan* 678000, *China*; 3. *Tai'an Green Food Development Center*, *Tai'an* 271099, *China*]

ABSTRACT: Ochratoxin A (OTA) is the most toxic and widely distributed toxin among ochratoxins. It can contaminate various agricultural products such as grains (wheat and corn), wine and coffee. Coffee is an important part of people's daily diet, and it is difficult to avoid accidental consumption of OTA, which may cause further toxic effects on the human body. Therefore, the development of convenient, fast, economical, environmentally friendly and highly sensitive detection technologies for OTA in coffee is of great significance. In recent years, chromatographic techniques, biosensor technology and other technologies have been widely used in the detection of OTA in coffee. This article reviewed the sources of OTA in coffee, the pretreatment methods for detection in coffee, as well as the principles, performance and applications of various OTA detection technologies, and summarized the existing problems and prospects the future trends.

收稿日期: 2025-09-12
基金项目: 中国农业大学 2115 人才培育发展支持计划项目
第一作者: 柯瑞卿(2003—), 男, 主要研究方向为食品安全快速检测。E-mail: 2021306100317@cau.edu.cn
***通信作者:** 张磊(1967—), 男, 高级农艺师, 主要研究方向为农产品质量安全, 农业环境保护。E-mail: tanyhbz@163.com
程楠(1991—), 女, 博士, 教授, 主要研究方向为食品安全快速检测。E-mail: chengnanFSNE@cau.edu.cn

KEY WORDS: ochratoxin A; coffee; detection; pretreatment

0　引　言

咖啡为茜草科, 咖啡属植物, 原产于非洲中北部[1]。咖啡因是消费最广泛的精神活性剂, 咖啡由于含有大量的咖啡因与其具有的独特风味, 成为了世界上最受欢迎的饮料之一, 与可可和茶并成为世界 3 大饮料作物[2]。咖啡已有了数百年历史, 并且已经成为文化传统和社会生活的重要组成部分[3]。

作为一种多年生作物, 由于咖啡在田间的广泛存在, 它面临着更高的病原体、昆虫和其他害虫的风险[4]。农民经常使用杀虫剂、杀菌剂等农药[5], 同时咖啡在采摘后的加工、储存和运输过程中, 水分控制不当会导致霉菌发展和霉菌毒素的产生[6–7]。当人们食用受污染的咖啡时, 农药残留、真菌毒素等会危及人体健康[8]。其中, 赭曲霉毒素 A (ochratoxin A, OTA)被证明具有致癌性、免疫毒性、神经毒性、肝毒性、致畸性和遗传毒性[9], 对人体健康可造成巨大损害, 具有严重的食品安全风险。

OTA 是赭曲霉毒素中毒性最强、分布最广的毒素, 由于其分子结构所具备的高稳定性, 能够污染多种农产品, 包括谷物(小麦和玉米)、果汁、葡萄酒、茶、啤酒和咖啡[10–11]。而咖啡是人们日常饮食的重要组成部分, 所以很难避免误食 OTA 的风险, 从而对人体产生进一步的毒性作用。为了预防 OTA 对人体健康造成损害, 许多国家都对咖啡中 OTA 的限量进行了规定。欧盟规定在研磨咖啡(烘焙咖啡)中 OTA 最大允许值为 5 μg/kg, 在速溶咖啡中为 3 μg/kg[12]。我国 GB 2761—2017《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》规定研磨咖啡(烘焙咖啡)的最大允许值为 5 μg/kg, 速溶咖啡的最大允许值为 10 μg/kg[13]。

对于准确检测出咖啡中的 OTA 残留, 分为预处理与检测两部分, 如图 1 所示。预处理部分通常有 QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged, safe)、免疫亲和柱(immunoaffinity column, IAC)、固相萃取(solid phase extraction, SPE)和液-液萃取(liquid-liquid extraction, LLE)等技术, 检测部分依据 GB 5009.96—2016《食品安全国家标准 食品中赭曲霉毒素 A 的测定》中选用的免疫亲和层析净化液相色谱法、离子交换固相萃取柱净化高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)、免疫亲和层析净化液相色谱-串联质谱法、酶联免疫吸附测定法和薄层色谱测定法进行检测[14]。随着技术的发展, 关于检测咖啡中的 OTA 已有很多研究, 一些检测新技术的运用实现了快速、经济、灵敏的 OTA 检测。本文回顾了近几年来咖啡检测预处理技术和食品中 OTA 的检测新技术, 为未来咖啡食品中 OTA 检测的研究提供有价值的参考。

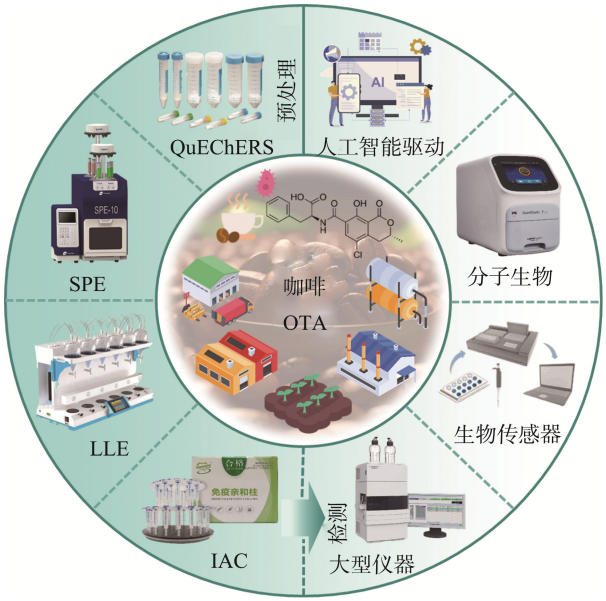

图 1　咖啡中 OTA 的检测
Fig.1　Detection of OTA in coffee

1　咖啡中 OTA 的产生

OTA 是 *L*-*β*-苯丙氨酸的 7-羧基上通过一个肽键连接一个氯化的二氢异香豆素衍生物形成的[15], 其分子式为 $C_{20}H_{18}ClNO_6$, 分子量为 403.8。OTA 在急性溶液中稳定, 易溶于水和碳酸氢钠溶液, 有较好的耐热性[16]。OTA 主要由曲霉属和青霉属中的部分菌株产生, 如图 2 所示, OTA 产生的 pH 为 4.0~6.0, 温度条件在 21 °C 和 32 °C 之间[17–18], 水分活性的最适范围为 0.95~0.99[19]。

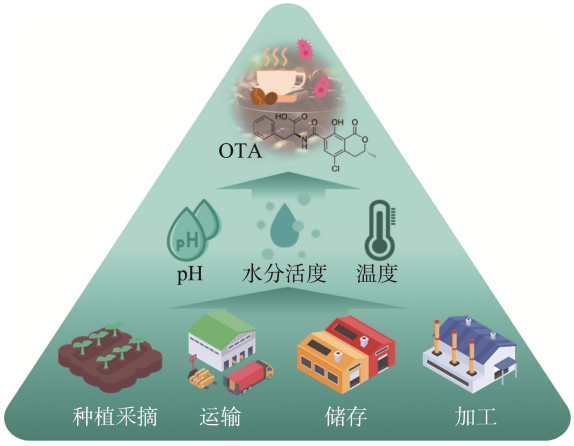

图 2　咖啡中 OTA 的产生
Fig.2　Formation of OTA in coffee

1.1 种植与采摘

咖啡种植于赤道沿线北纬 25°至南纬 30°间的 80 多个国家/地区，这些地区的高温高湿气候使咖啡很容易受到真菌污染，在生长过程中以及食物链中都会积累 OTA[20]。LIMA[21]评估了生咖啡豆中产生霉菌毒素的真菌的发生率，发现真菌广泛存在，以黑曲霉为主要物种，同时发现在去内果皮咖啡、生咖啡和烘焙咖啡中发现了黑曲霉、黄曲霉、米曲霉、塔马里曲霉、烟曲霉和柠檬青霉。HAGOS 等[22]从不同农业生态收集的咖啡豆中分离出黑曲霉和黄曲霉，并对采集的咖啡中的 OTA 进行检测，观察到其中含有 10.61 μg/kg 质量浓度的 OTA。

1.2 储存和运输

与其他易受真菌定植影响的商品一样，水分活度是保证食品安全需要考虑的关键参数[6]。由于收获的咖啡含有的水分可以支持霉菌的生长和 OTA 的产生，使用适当的干燥、分级、脱壳和分拣技术进行收获后处理，可有效降低 OTA 的产生[23]。PALACIOS-CABRERA 等[24]在将咖啡从巴西运输到意大利的过程中，监测了生咖啡豆的温度、相对湿度和水分含量的变化，发现 OTA 出现在位于甲板上容器顶部的咖啡(13.13 μg/kg)和货舱的湿袋中的咖啡(7.91 μg/kg)。干燥、储存和运输是防止真菌发展和霉菌毒素产生的关键步骤，未对温度和水分加以控制，便可能会造成咖啡的真菌毒素污染。

1.3 加 工

收获后，成熟的咖啡可以进行加工，分为两种形式：干法加工和湿法加工。对咖啡加工可以除去其中黑色、酸味、有虫害或未成熟的咖啡豆，有助于提高咖啡最终质量[25–26]。通常干燥方法的一种是让咖啡暴露在环境中干燥，这种方法可以生产出安全和优质的咖啡，但仅限于收获季节可靠干旱的地区。主要风险是天气条件不佳导致咖啡豆重新润湿、干燥速度不满意以及由前几批的碎屑或残留物引起的交叉污染[27]，进一步发展霉菌和产生霉菌毒素。热处理已被证明是减少不同咖啡中霉菌毒素的有效手段，实现减少 OTA 的百分比取决于热处理的持续时间、温度和批量的大小。但即使是热处理过后的烘焙咖啡，也同样面临着 OTA 污染的风险[28]。

2 咖啡中 OTA 检测预处理

在对咖啡中 OTA 检测的过程中，由于咖啡样品中毒素含量较低，以及其基质复杂，会干扰检测的过程，如图 3 所示，通常会对咖啡样品进行预处理确保准确检测出咖啡中的 OTA[29]。

2.1 传统检测预处理技术

传统检测为了能够保障准确检测出咖啡中的 OTA，对预处理的要求较高，通常会对咖啡样品进行富集、分离和净化的预处理[29]。目前国内外对预处理的净化技术主要有 QuEChERS、IAC、SPE 和 LLE 等技术。传统检测预处理方法简明对比如表 1 所示。

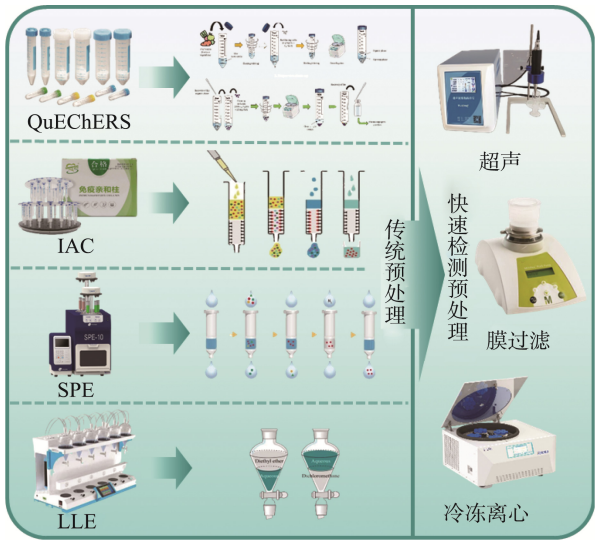

图 3 咖啡中 OTA 检测预处理方法原理图

Fig.3 Schematic diagram of the pre-treatment method for detecting OTA in coffee

2.1.1 QuEChERS 技术

2003 年，ANASTASSIADES 等[30]提出了一种快速、简单、便宜、有效、可靠、安全的提取方法，即 QuEChERS 技术。该技术是将均质后的样品经提取液提取，使用萃取盐盐析分层，根据基质分散萃取机制，通过净化材料与基质中绝大多数干扰物结合，再经离心分层，取上层液进行分析[31]。QuEChERS 技术主要包括乙腈提取、盐析分层、吸附除杂 3 个过程，如图 3 所示。OUAKHSSASE 等[32]使用改良的 QuEChERS 方法提取生咖啡豆中的 5 种霉菌毒素用于后续检测，OTA 回收率在 76%~89%。QuEChERS 结合高效液相色谱-串联质谱法分析生咖啡豆中的 OTA，其线性范围为 0.125~20 μg/kg，定量限(limit of quantitation, LOQ)范围为 0.45~1 μg/kg。REICHERT 等[33]优化了 QuEChERS 方法，通过使用乙腈与乙酸或甲酸酸化，加或不加缓冲液，以及加或不加纯化提取物进行性能测试，OTA 的回收率达到 90%~92%，结合液相色谱电离-串联质谱法测定 OTA 的 LOQ 为 5 μg/kg。QuEChERS 技术可针对不同基质中的多种靶标进行检测分析的预处理，具有良好的适用性和可靠性，为 OTA 的检测提供了有效的预处理技术手段。

2.1.2 IAC 技术

IAC 是使用固定化抗体或相关结合剂作为选择性固定相进行样品分离或分析。抗体的强结合力和高选择性使 IAC 成为纯化和分析许多化学品和生化试剂(包括蛋白质)

的常用工具[34]。如图 3 所示 IAC 净化过程包括上样、淋洗与洗脱 3 个步骤, 因其在抗原和抗体之间的高度特异性相互作用, 使其具备高亲和力、高选择性等特点。HWANG 等[35]通过 IAC 对样品进行净化, 烘焙咖啡中的 OTA 经过净化后的回收率为 107.0%, 结合 HPLC 和荧光检测来测定咖啡中的 OTA, 检出限(limit of detection, LOD)和 LOQ 值确定为 0.5 μg/kg 和 1.6 μg/kg。PAKSHIR 等[36]通过 IAC 提纯了不同类型咖啡中的 OTA, 均有较好的回收率, 为 83.7%~99.6%, 并结合 HPLC 对其中的 OTA 进行检测, 呈现出较好的线性关系和优异的 LOD 和 LOQ, 分别为 0.47 μg/kg 和 1.23 μg/kg。目前越来越多的 IAC 通过改造, 具备了多目标同步捕获的能力, 同时因其的高选择性, 将其与检测技术结合形成分析体系的应用逐渐增多。

2.1.3　SPE 技术

SPE 技术是利用靶标在固-液体两相之间的分配差异, 通过吸附剂的选择性保留与梯度洗脱实现分离, 通常分为平衡、上样、淋洗、洗脱 4 个步骤。该技术具有不同极性和功能的吸附剂种类繁多、自动化潜力大、效率高、安全、易操作、低有机溶剂消耗量等特点被广泛开发应用[37]。NIELSEN 等[38]使用混合模式的 SPE 对烘焙咖啡、生咖啡和速溶咖啡中的 OTA 进行纯化, 烘焙咖啡的回收率为 76%~79%, 生咖啡和速溶咖啡的回收率均在 82%~93%, 结合超高液相色谱-串联质谱法对 OTA 进行检测, 烘焙咖啡、生咖啡和速溶咖啡的 LOQ 分别达到了 1.3、0.46 和 2.0 μg/kg。VENTURA 等[39]使用具有反相和阴离子交换功能的聚合物柱, 通过 SPE 实现对生咖啡和烘焙咖啡中 OTA 的净化, 经验证该方法的回收率为 82.5%, 结合液相色谱-荧光检测器-质谱法分析, 该方法对 OTA 的 LOD 为 0.1 μg/kg。SPE 因该技术高效、灵活的特点, 已成为现代分析化学中不可或缺的预处理工具, 尤其适用于痕量分析和复杂基质纯化, 未来 SPE 技术将向着智能化、绿色化、多功能化方向发展。同时, 降低成本、提升标准化程度及应对监管的挑战, 是 SPE 实现全面应用的关键突破点。

2.1.4　LLE 技术

LLE 技术是一种基于分配定律的经典分离技术, 如图 3 所示, 核心在于利用溶质在互不相溶溶剂中的分配差异实现分离, 合理选择萃取剂和优化操作条件后, 适用于化学、制药、环境等领域的分离与分析。PRAKASHAM 等[40]设计了一种新型的半自动注射器内凝血剂辅助液-液微萃取作为快速提取霉菌毒素的技术, 用于提取茶和咖啡中的 OTA, 具有出色的提取回收率(93%~111%), 并与超高效液相色谱-串联质谱法联用实现对 OTA 的高灵敏度检测, 在 0.003~50.0 μg/kg 间呈现出良好的线性关系, LOD 和 LOQ 分别为 0.001 μg/kg 和 0.003 μg/kg。TABATA 等[41]通过 LLE 技术同时分析谷物、水果、可可和咖啡中的 OTA 等霉菌毒素。OTA 的回收率为 87%~111%, 并通过液相色谱仪-串联质谱仪检测 OTA, LOQ 为 0.1 μg/kg 或更低。LLE 技术能够很好的实现混合物中组分的分离或富集, 作为一种常用的分离技术已在多个领域广泛运用。然而随着绿色化学的发展, 低毒溶剂和连续化技术正成为 LLE 技术的重要发展方向。

表 1　咖啡中传统 OTA 预处理技术比对
Table 1　Comparison of traditional OTA preprocessing techniques in coffee

技术名称	优点	缺点	回收率/%
QuEChERS	快速高效、成本低、环保、安全、适合批量处理	存在基质干扰、适用范围受限于油脂干扰	70~120
IAC	高选择性、净化效果好、回收率高、可重复使用	成本高、适用范围极窄、稳定性差、操作较复杂	80~110
SPE	应用广泛、灵活性强、净化效果较好、环保、易自动化	成本高、操作较复杂、重现性波动较大	75~105
LLE	成本低、操作简便、可处理大量样品、适用性广	污染严重、安全性低、基质干扰大、净化效果差	60~115

2.2　快速检测预处理技术

食品安全快速检测往往基于亲和识别、核酸扩增、功能核酸识别、化学催化反应、酶抑制反应等技术, 这些技术通常具有优异的选择性, 能够特异性识别出待测物, 故快速检测更关注快速、简便的预处理[42]。ZELING 等[43]使用超声加快萃取速度, 通过冷冻离心、过滤分离出咖啡样品中的 OTA, 结合酶联免疫法对 OTA 含量实现了快速检测, 该方法对 OTA 的回收率为 84.3%~113%, LOD 为 3.38 ng/mL。对 OTA 的食品安全快速检测的预处理技术回收率目前在 60%~120%范围内, 随着食品安全快速检测技术的发展, 未来咖啡中 OTA 的快速预处理向微型化、自动化、绿色化方向发展, 实现高效、低毒、高选择性的 OTA 提取与净化, 推动快速检测技术向超痕量、低成本、用户友好型突破。

3　咖啡中 OTA 的检测技术

3.1　大型仪器检测技术

传统检测方法往往利用色谱技术, 色谱法是一种分离和分析混合物的重要方法。其核心原理是利用混合物中各组分在固定相和流动相之间的分配系数(或吸附能力、亲和力、分子大小等性质)的差异, 使各组分在两相中反复多次分配, 从而实现分离。

3.1.1　液相色谱法

液相色谱法(liquid chromatography, LC)和 HPLC 是常用的检测 OTA 的色谱技术, 两者均基于混合物中各组分在

固定相和流动相之间的分配差异实现分离[44]。LC 以液体作为流动相，流动相携带混合物通过填充固定相的色谱柱，通过吸附作用、分配作用、离子交换作用和尺寸排阻作用达到分离效果。BENITES 等[45]使用了 HPLC-荧光检测法评估了多个国家的研磨烘焙咖啡中 OTA 的存在，并确定在葡萄牙商业化的烘焙咖啡中 OTA 污染的水平，从研磨烘焙咖啡加标样品中回收 OTA 的回收率为 95.5%~109.8%，LOD 和 LOQ 分别为 0.266 μg/kg 和 0.500 μg/kg。该方法准确、灵敏，适用于咖啡中 OTA 的定量分析。

3.1.2 高效液相色谱-质谱法

高效液相色谱-质谱法(high performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS)是将 HPLC 的分离能力与质谱的定性定量能力相结合的分析技术，通过 HPLC 分离复杂混合物中的各组分，再利用质谱对流出组分进行离子化和质量分析，实现对目标化合物的精准鉴定与定量[46–47]。OUAKHSSASE 等[32]开发并验证了运用 HPLC-MS 同时检测生咖啡中的 5 种霉菌毒素，实现 OTA 在 0.125~20 μg/kg 范围内呈线性关系，LOQ 范围为 0.45~1 μg/kg，实现了对 OTA 的适用好、简单、可靠、低成本和环境友好性的检测。

3.1.3 薄层色谱法

薄层色谱法(thin layer chromatography, TLC)是一种基于混合物中各组分在固定相和流动相之间的分配系数差异实现分离的色谱分析技术，TLC 利用不同物质在薄层板上的吸附和解吸附能力或分配行为差异，通过流动相的迁移作用，使各组分在固定相上达到分离、鉴别和定量的目的[48]。VENTURA 等[49]开发了一种低成本的 TLC，用于推定测量生咖啡豆中 5 μg/kg 的 OTA，将纯化过的咖啡样品通过正相二维薄层色谱分离 OTA，并在 365 nm 紫外灯下通过目测估计荧光强度进行检测。这种方法快速、简单，并且非常容易在咖啡生产国实施，应用在来自不同国家和不同制造商的不同类型的生咖啡豆样品，实现了 LOD 为 5 μg/kg 的 OTA 检测。

3.2 生物传感器检测技术

生物传感器是一种结合生物学、化学、物理学等多学科技术的分析检测装置。如图 4 所示，利用生传感器实现咖啡中 OTA 的检测，其核心原理是利用生物分子(如酶、抗体、核酸等)与 OTA 之间的特异性识别和结合反应，将生物信号转化为可检测的电信号、光信号或其他物理化学信号，从而实现对咖啡中 OTA 的定性、定量分析[50]。

3.2.1 识别元件

生物传感器的识别元件是其最核心的部分，可以根据待测分析物的性质，高特异性地捕获或结合待测分析物，进而将其存在或浓度转化为可测量地信号，针对 OTA 的生物传感技术检测，通常使用抗体、核酸适配体和分子印迹聚合物(molecularly imprinted polymers, MIPs)作为识别元件[51]。

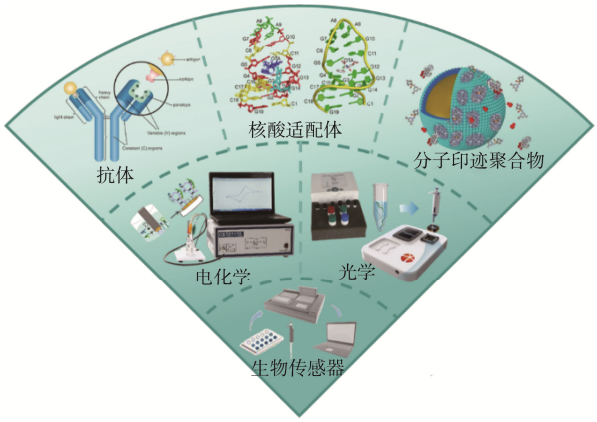

图 4 咖啡中 OTA 生物传感器检测分类图

Fig.4 Classification diagram of OTA biosensor detection in coffee

(1)抗体

抗体能够作为检测 OTA 的生物传感器识别元件，核心在于其通过抗原-抗体特异性结合实现对 OTA 的高灵敏度、高选择性捕获[52]，被誉为免疫分析工业的“芯片”[53]。酶联免疫吸附(enzyme-linked lmmunosorbent assay, ELISA)[54]、免疫层析(immunochromatographic assay, ICA)技术和测流免疫层析(lateral flow assay, LFA)[55]技术就是基于抗原-抗体特异性结合的高灵敏度检测技术，将抗原或抗体固定在固相载体的特定区域，通过酶、胶体金等标记物放大检测信号。OTA 本身能特异性结合抗体，OTA 的苯丙氨酸-异香豆素骨架结构与抗体的抗原结合位点形成精准的空间互补和分子间作用力[56]。SEVIM 等[57]使用竞争性 ELISA 分析了 41 种土耳其咖啡种 OTA 的活性，OTA 的检测范围为 2.5~40 μg/kg，对 OTA 的回收率为 85.4%~108.2%，通过检测分析发现其中 9 个样品的 OTA 浓度高于 LOD (>2.5 μg/kg)，3 个样品中的 OTA 浓度超过了土耳其立法规定的允许最大限值(5 μg/kg)，最高浓度达到了 14.33 μg/kg。BAO 等[58]构建了一种纳米荧光素酶-纳米抗体融合蛋白，利用其抗体识别能力和酶活性，对咖啡样品中 OTA 的一步生物发光免疫吸附测定，该方法在加标回收实验中表现出良好的重复性和准确性，回收率为 83.88%~120.23%，LOD 可以达到 3.7 ng/mL，表现出卓越的性能。抗体作为 OTA 生物传感器的识别元件，通过半抗原-载体蛋白免疫策略突破小分子限制，成为满足痕量、快速、精准检测需求的核心工具，其在标准化检测和便携设备中的不可替代性使其被广泛应用。

(2)核酸适配体

核酸适配体是单链寡核苷酸，通过指数富集配体系统进化(systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX)的过程被人工设计出来。适配体可以通过氢键作用、静电作用、碱基堆积作用、范德华力以及构象互补等方式，形成发夹、G 四链体、茎环等稳定的结构

与靶标分子特异性结合, 对靶标表现出高亲和力和选择性[59]。同时其具有高重现性、可用性、易于生产和高稳定性的特点[60], 这些显著的优势使适配体成为检测 OTA 生物传感器中的主流识别元件[61]。近年来对 OTA 适配体的筛选与应用越来越多[62–66], 如表 2 所示。2019 年 XU 等[62]探究了序列为“GGGGTGAAACGGGTCCCG”的 OTA 适配体, 该适配体展现出其中包含分子内三螺旋的发夹结构, 验证了 π-π 堆叠、OTA 与适配体之间的疏水作用、氢键和卤素键有助于对 OTA 的识别, 卤素键在区分 OTA 和 OTB 中起着重要作用。2022 年 XU 等[63]再次深入地了解了序列为“GATCGGGTGTGGGTGGCGTAAAGGGAGCATCGGACA”的OTA适配体的分子识别机制, 揭示适配体高亲和力结合的G四链体结构基础, 强调了OTA和适配体碱基之间的卤素键在靶标鉴别和强结合中起到了关键作用, 该适配体也成为了主流应用的 OTA 适配体。AMINI-NOGORANI 等[67]开发了一种用于测定 OTA 的电化学适配体传感器, 通过使用差分脉冲伏安法, 可以在 1.0×10^{-4}~200.0 ng/mL 的质量浓度范围内测量 OTA, LOD 为 2.1×10^{-5} ng/mL, 发现该适配体传感器在 OTA 测定方面表现出优异的选择性、可重复性、重现性和稳定性, 并验证了其可以有效测量咖啡粉样品中的 OTA。核酸适配体通过可编程三维结构实现对 OTA 的特异性捕获, 其耐极端环境、可逆结合、信号设计灵活的特性, 推动生物传感器向便携、低成本、超灵敏方向跨越。

(3)分子印迹聚合物

MIPs 作为检测 OTA 的生物传感器识别元件, 其核心在于模拟生物体内抗原-抗体的识别机制, 通过人工合成具有特异性结合空腔的聚合物材料实现对 OTA 的高选择性捕获[68]。制备分子印记聚合物材料一般包括预组装、聚合交联和模板洗脱 3 个阶段, 第一阶段 OTA(模板分子)与功能单体(如丙烯酸、吡咯)通过氢键/离子键/疏水作用预结合, 第二阶段在交联剂(如乙二醇二甲基丙烯酸酯)作用下形成刚性聚合物网络, 固定模板位置, 第三阶段用溶剂(如甲醇-乙酸)去除 OTA, 留下与 OTA 空间互补、官能团匹配的特异性空腔[69]。王思伟[70]通过微流控自组装平台, 采用直接填充法和自组装法制备了磁性反蛋白石光子晶体微球, 最终获得粒径均匀且具有三维有序大孔结构的反蛋白石光子晶体微球。使用该方法检测 OTA 的线性范围在 5~20 mg/mL 之间, LOD 为 0.68 ng/mL。并成功对玉米、大米、小麦样品中的 OTA 进行了检测。LEE 等[71]采用多孔膜保护微固相萃取负载 MIPs 来测定 OTA, 实现了咖啡、葡萄汁和尿液中 OTA 的定量检测, 咖啡样品中 OTA 的 LOD 为 0.06 ng/g。MIPs 通过精准空腔仿生识别突破生物分子稳定性局限, 凭借极端环境耐受性、超低成本和可工程化优势, 成为 OTA 检测中替代抗体的理想识别元件。尤其在高温加工食品在线监测和大规模筛查场景中不可替代, 未来与纳米技术以及 AI 的结合将推动其迈向单分子检测水平。

3.2.2　信号处理与输出系统

检测 OTA 的生物传感器中, 信号处理与输出系统负责将识别 OTA 产生的初级信号转换为用户可读的定量结果, 其性能直接决定检测的灵敏度、准确性与实用性。其将生物识别转化为物理或化学信号, 同时增强微弱信号以满足痕量检测需求, 生成出直观的结果。

(1)电化学

电化学生物传感器利用生物识别元件与靶标的特异性反应, 通过电化学换能器将生物化学反应产生的电信号(如电流、电压等)转换为可测量的物理量, 进而实现对目标物质的定性或定量分析[72–73]。OLIVEIRA 等[74]开发了一种无标记的障碍免疫传感器来检测 OTA, 该生物传感器建立在玻璃基底物上蒸发的薄膜金电极上, 用自组装的半胱胺单层和抗 OTA 抗体修饰。通过电化学阻抗谱评估生物传感器性能, 测量结果表明阻抗值的变化与 OTA 浓度之间存在线性关系, 范围为 0.5~100 μg/L, LOD 为 0.15 μg/L。该生物传感器具有高度选择性, 在咖啡样品中分析时不会受到基质干扰, 提供了一种很有前途的现场咖啡质量分析设备的参考。

表 2　OTA 适配体及其缓冲液

Table 2　OTA adapter and its buffer solution

OTA 适配体序列	缓冲液	参考文献
GGGGTGAAACGGGTCCCG	10 mmol/L $MgCl_2$, 10 mmol/L Na_2HPO_4/KH_2PO_4, pH 7.4	[62]
GATCGGGTGTGGGTGGCGTAAAGGGAGCATCGGACA	120 mmol/L NaCl, 5 mmol/L KCl, 和 10 mmol/L $MgCl_2$, 10 mmol/L Na_2HPO_4/NaH_2PO_4, pH 7.4	[63]
GGGTGTGGGCGTACCCAGCGCCAGTCGTCAGCGTACGATC	10 mmol/L Tris-HCl, 120 mmol/L NaCl, 5 mmol/L KCl, 1 mmol/L $MgCl_2$, 20 mmol/L $CaCl_2$, pH 7.4	[64]
AGCCTCGTCTGTTCTCCCGGCAGTGTGGGCGAATCTATGCGTACCGTTCGATATCGTGGGGAAGACAAGCAGACGT	10 mmol/L Na_2HPO_4, 2 mmol/L KH_2PO_4, 137 mmol/L NaCl, 2.7 mmol/L KCl, pH 7.4	[65]
GGCAGTGTGGGCGAATCTAT	10 mmol/L Na_2HPO_4, 2 mmol/L KH_2PO_4, 137 mmol/L NaCl, 2.7 mmol/L KCl, pH 7.4	[65]
GCGTACCGTTCGATATCGTG	10 mmol/L Na_2HPO_4, 2 mmol/L KH_2PO_4, 137 mmol/L NaCl, 2.7 mmol/L KCl, pH 7.4	[65]
GGGAGGACGAAGCGGAACTGGGTGTGGGGTGATCAAGGGAGTAGACTACAGAAGACACGCCCGACA	10 mmol/L Na_2HPO_4, 2 mmol/L KH_2PO_4, 137 mmol/L NaCl, 2.7 mmol/L KCl, 1 mmol/L $MgCl_2$, pH 7.4	[66]
GGGAGGACGAAGCGGAACCGGGTGTGGGTGCCTTGATCCAGGGAGTCTCAGAAGACACGCCCGACA	10 mmol/L Na_2HPO_4, 2 mmol/L KH_2PO_4, 137 mmol/L NaCl, 2.7 mmol/L KCl, 1 mmol/L $MgCl_2$, pH 7.4	[66]

(2)光学

光学生物传感器是利用生物分子与目标分析物之间的特异性相互作用，其将生物识别转化为可测量的光学信号(如光强、波长、相位、偏振态等)，通过光学信号的变化来实现定量或定性检测的分析[75]。KHOSHBIN 等[76]设计了一种新型适配体传感器，通过结合适配体的优越性和液晶的长距离取向顺序，对超低 OTA 水平进行无标记监测。适配体感应策略基于在靶标存在下玻璃基板上固定的 π 形 DNA 结构的构象转换。LC 的方向从随机状态转变为顺向状态，导致适配体平台的光学外观从亮到暗的明显变化。该光学生物传感器成功对葡萄汁、咖啡和人血清样品中的 OTA 检测，LOD 低至 0.63 amol/L。刘丽[77]构建了基于碳纳米粒子氧化物和标记型适配体、基于卟啉和量子点的非标记适配体和基于自组装卟啉和 ZnCdSe QD 的“Turn off-on”型的 3 种荧光生物传感器，其中第 3 种生物传感器实现了对牛奶和咖啡样品中的 OTA 检测，在 0.5~80 μg/L 的质量浓度范围具有良好线性关系，LOD 为 0.33 μg/L。光学生物传感器因具有高灵敏度、多样性、实时性等优势被广泛研究与应用，但在消除背景干扰、维持稳定性上还具有一定挑战。

3.3 分子生物检测技术

分子生物技术是基于分子生物学理论，通过对生物大分子(DNA、RNA、蛋白质等)进行操作和改造，实现对生物体遗传特性定向调控或生产目标产物的技术体系。其核心原理围绕生物大分子的可操作性和遗传信息的可改造性展开，通过人工干预实现自然界难以自发发生的遗传物质重组、表达或修饰[78]。POTIPUN 等[79]通过定量聚合酶链反应定量 11 个烘焙咖啡样品中的真菌 DNA 污染，提出一种快速、准确的检测和定量咖啡产品中产生 OTA 的真菌的方法，并开发了一种定量咖啡中真菌污染的系统。但是 OTA 本身是小分子毒素，无法直接通过聚合酶链式反应技术检测，需要结合免疫学方法或生物传感器技术间接检测 OTA。ZAHRAEE 等[80]设计了一种基于 CRISPR-Cas12a 的新型适配体传感器用于检测 OTA，可以将极小的分子变化转化为微观信号，成功应用于检测咖啡、血清和葡萄汁真实样品，LOD 为 1.47 pg/mL。分子生物技术与其他检测技术的简明对比如表 3 所示，虽然分子生物技术无法直接对 OTA 进行检测，但未来的发展将不再局限于单一技术的突破，而是多技术融合、智能化等的协同演进，为未来在咖啡中检测 OTA 的研究开辟了新道路。

3.4 人工智能驱动检测技术

人工智能和机器学习算法剖析大型复杂数据集，检测有意义的模式并做出预测的能力正在慢慢改变我们食品安全检测的方式[81]。与以前需要一组固定指令并且在理解复杂环境方面表现出有限能力的计算模型不同，机器学习系统解释数据集、识别模式并做出明智的判断，从许多数据集中不断学习，随着时间的推移加以预测[82]。机器学习算法可以使用光谱、化学和图像数据来检测 OTA，并以前所未有的精度对其进行量化。此外，人工智能方法可以根据先前的观察结果自动做出决策，从新数据中学习，并使用物联网提供实时监控[83]。AGGARWAL 等[84]使用简单的化学试剂和同步自动化对食源性污染物实现了化学检测策略与人工智能的集成。该研究将图片转化为像素用作图像分类模型的输入，利用了一种称为像素强度的技术将图像转换为数字表示，并创建了一个数值特征数据集，该数据集作为输入传递给所有模型进行人工智能机器训练。该方法的 LOD 和 LOQ 分别为 7.82 pmol 和 23.71 pmol，并实现了对小麦、牛奶、咖啡等实际样品中 OTA 的快速检测。人工智能的应用可能采取预测毒素浓度的回归模型、识别受污染样本与准确样本的分类算法以及分析受感染地区作物图像的深度学习模型的形式，如图 5 所示，人工智能驱动 OTA 检测的应用正处于快速发展中，并展现出了巨大潜力。

表 3 咖啡中 OTA 的常见检测技术比对

Table 3 Comparison of common detection techniques for OTA in coffee

技术名称	优点	缺点	LODs/(μg/kg)
色谱技术	分离能力强、灵敏度高、可联用、适用性广	设备昂贵、操作复杂、分析时间长、预处理要求高	0.005~5
生物传感器	响应速度快、实时监测、便携性强、低样本量	稳定性差、基质干扰大、假阳性/假阴性风险、难以同时检测多种靶标	0.1~5
分子生物技术	灵敏度高、特异性强、适合溯源分析	污染风险高、设备昂贵、操作复杂、无法检测非核酸靶标	0.001~2

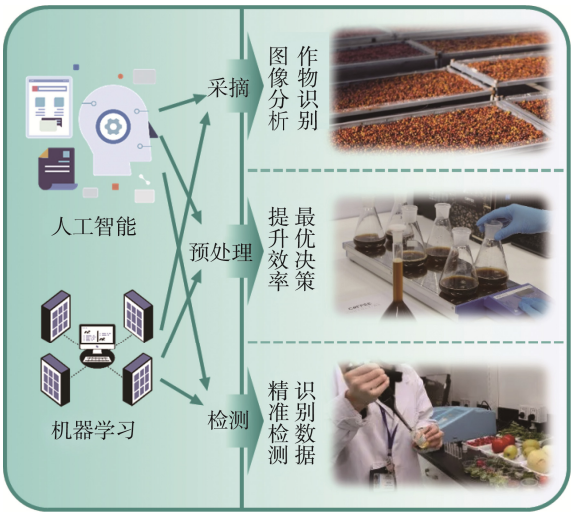

图 5 人工智能驱动咖啡中 OTA 的快速检测

Fig.5 Rapid detection of OTA in coffee driven by artificial intelligence

4　结束语

食品中真菌毒素污染作为全球食品安全治理的顽固性难题, 咖啡因为其独特的种植地区和加工过程, OTA 的污染是咖啡产业中一直的困扰。OTA 毒性大、隐蔽性强、理化性质稳定, 即使微量存在, 也会威胁人类健康。因此, 开发精准、快速、经济的检测技术意义重大。

近年来, 对咖啡中的 OTA 检测研究进步显著。对咖啡中 OTA 的提取与纯化技术逐渐成熟, 实现快速、经济、绿色的咖啡预处理步骤。传统检测技术如色谱法、免疫分析法通过不断优化步骤和升级仪器性能, 大程度提升了对咖啡中 OTA 检测的准确性。同时基于生物传感器、生物分子技术、纳米技术等新型检测方法发展迅速, 在现场初筛、快速检测领域展现出巨大优势。但目前在面对复杂基质干扰及痕量 OTA 检测时, 仍存在灵敏度与特异性的提升空间。在检测技术革新方面, 可以结合高速发展的人工智能, 多模态检测技术融合, 从不同维度获取 OTA 信息, 实现更精准的定性与定量。此外, 开发便捷、现场可操作的检测设备也将是重要方向, 以满足从源头咖啡豆到终端咖啡饮品全产业链的快速筛查需求, 进一步保障咖啡产品的安全性, 呈现出“高灵敏-多模态-智能化”的检测模式, 为咖啡产业的质量安全控制提供强有力的技术支撑。

参考文献

[1] 沈晓静, 字成庭, 辉绍良, 等. 咖啡化学成分及其生物活性研究进展[J]. 热带亚热带植物学报, 2021, 29(1): 112–122.
SHEN XJ, ZI CT, HUI SL, *et al*. Advances on chemical components and biological activities of coffee [J]. Journal of Tropical and Subtropical Botany, 2021, 29(1): 112–122.

[2] VAN DRM, HU FB, WILLETT WC. Coffee, caffeine and health [J]. New England Journal of Medicine, 2020, 383(4): 369–378.

[3] 周永秀, 卢开华, 刘秦明, 等. 咖啡风味成分研究进展[J]. 食品科学, 2025, 46(10): 387–396.
ZHOU YX, LU KH, LIU QM, *et al*. Research progress on coffee flavor components [J]. Food Science, 2025, 46(10): 387–396.

[4] GAMAL A, ABDEL-MEGEED M, MAHMOUD H, *et al*. Pesticide residues in green, roasted, and capsule coffee from the Egyptian market: Occurrence, processing effects, and health risk assessment [J]. Food Chemistry, 2025, 486: 144671.

[5] MERHI A, KORDAHI R, HASSAN HF. A review on the pesticides in coffee: Usage, health effects, detection, and mitigation [J]. Frontiers in Public Health, 2022, 10: 1004570.

[6] RUBIO-LOPEZ F, TANIWAKI M, MORRIS J, *et al*. Application of risk management metrics for ochratoxin-A control in the coffee chain [J]. Current Opinion in Food Science, 2023, 54: 101100.

[7] HEINTZ MM, DOEPKER CL, WIKOFF DS, *et al*. Assessing the food safety risk of ochratoxin A in coffee: A toxicology-based approach to food safety planning [J]. Journal of Food Science, 2021, 86(11): 4799–4810.

[8] FAKHRI Y, MAHDAVI V, RANAEI V, *et al*. Ochratoxin A in coffee and coffee-based products: a global systematic review, meta-analysis, and probabilistic risk assessment [J]. Reviews on Environmental Health, 2024, 39(2): 211–220.

[9] EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), SCHRENK D, BODIN L, *et al*. Risk assessment of ochratoxin A in food [J]. EFSA Journal, 2020, 18(5): e06113.

[10] HASSAN HF, TASHANI H, BALLOUK F, *et al*. Aflatoxins and ochratoxin A in tea sold in Lebanon: Effects of type, packaging, and origin [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2023, 20(16): 6556.

[11] ORTIZ-VILLEDA B, LOBOS O, AGUILAR-ZUNIGA K, *et al*. Ochratoxins in wines: A review of their occurrence in the last decade, toxicity, and exposure risk in humans [J]. Toxins, 2021, 13(7): 478.

[12] European Commission E. Commission Regulation (EU) 2023/915 of 25 April 2023 on maximum levels for certain contaminants in food and repealing Regulation (EC) No 1881/2006 [J]. Official Journal of the European Union 2023, 119: 103–157.

[13] 翟晨, 穆蕾, 杨悠悠. 中国及欧盟粮油食品真菌毒素限量及减控措施对比[J]. 现代食品科技, 2020, 36(3): 302–309.
ZHAI C, MU L, YANG YY. Comparison of mycotoxins limit standards and control measures of grain and oil foods between China and European Union: A review [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(3): 302–309.

[14] 侯晨, 王云政, 张驰, 等. 食品中赭曲霉毒素样品前处理及其检测方法研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(8): 163–170.
HOU C, WANG YZ, ZHANG C, *et al*. Advances in sample pretreatment and detection methods of ochratoxin in foods [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(8): 163–170.

[15] MAYURA K, PARKER R, BERNDT WO, *et al*. Ochratoxin A-induced teratogenesis in rats: Partial protection by phenylalanine [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1984, 48(6): 1186–1188.

[16] PUNTARIĆ D, BOŠNIR J, ŠMIT Z, *et al*. Ochratoxin A in corn and wheat: Geographical association with endemic nephropathy [J]. Croatian Medical Journal, 2001, 42: 175–180.

[17] OLIVEIRA G, EVANGELISTA SR, PASSAMANI FRF, *et al*. Influence of temperature and water activity on ochratoxin A production by *Aspergillus* strain in coffee south of Minas Gerais/Brazil [J]. LWT, 2019, 102: 1–7.

[18] RESTREPO SIC, PEÑUELA MGA. Influence of temperature, relative humidity, and storage time conditions on ochratoxin a production by *Aspergillus niger* fungi in dry parchment coffee [J]. Food Additives & Contaminants: Part A, 2025: 1–12. DOI: 10.1080/19440049.2025.2459211

[19] 高婧, 刘惠卿, 张真真, 等. 赭曲霉毒素 A 的产生、毒性机制与生物合成研究进展[J]. 微生物学通报, 2023, 50(3): 1265–1280.
GAO J, LIU HQ, ZHANG ZZ, *et al*. Production, toxicity and biosynthesis of ochratoxin A: A review [J]. Microbiology China, 2023, 50(3):

1265–1280.

[20] MAMAN M, SANGCHOTE S, PIASAI O, *et al*. Storage fungi and ochratoxin A associated with arabica coffee bean in postharvest processes in Northern Thailand [J]. Food Control, 2021, 130: 108351.

[21] LIMA JFR. Ocorrência de fungos produtores de micotoxinas em grãos de café comercializados em Goiás [Z]. Insitituto Federal de Educação, 2022.

[22] HAGOS L, GUTA M, BACHA K. Prevalence of mycotoxigenic fungi and ochratoxin A in coffee (*Coffea arabica* L.) [J]. Cogent Food & Agriculture, 2024, 10(1): 2407524.

[23] TANIWAKI MH, PITT JI, COPETTI MV, *et al*. Understanding mycotoxin contamination across the food chain in Brazil: Challenges and opportunities [J]. Toxins, 2019, 11(7): 411.

[24] PALACIOS-CABRERA HA, MENEZES HC, IAMANAKA BT, *et al*. Effect of temperature and relative humidity during transportation on green coffee bean moisture content and ochratoxin A production [J]. Journal of Food Protection, 2007, 70(1): 164–171.

[25] DIAS EC, BORÉM FM, PEREIRA RGFA, *et al*. Amino acid profiles in unripe Arabica coffee fruits processed using wet and dry methods [J]. European Food Research and Technology, 2012, 234: 25–32.

[26] YANG J, ZHAO Z, HU Y, *et al*. Exploring the properties and potential uses of biocarbon from spent coffee grounds: A comparative look at dry and wet processing methods [J]. Processes, 2023, 11: 2099.

[27] JOËT T, LAFFARGUE A, DESCROIX F, *et al*. Influence of environmental factors, wet processing and their interactions on the biochemical composition of green Arabica coffee beans [J]. Food Chemistry, 2010, 118(3): 693–701.

[28] AGUILAR-ALVAEZ ME, SAUCEDO-CASTAÑEDA G, DURAND N, *et al*. The variety, roasting, processing, and type of cultivation determine the low OTA levels of commercialized coffee in Chiapas State, Mexico [J]. Food Control, 2021, 126: 108088.

[29] 郝伟, 杨利芳, 王亮, 等. 食品中常见真菌毒素检测技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(10): 165–172.
HAO W, YANG LF, WANG L, *et al*. Development of detecting method of mycotoxins in the food [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(10): 165–172.

[30] ANASTASSIADES M, LEHOTAY SJ, ŠTAJNBAHER D, *et al*. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce [J]. Journal of AOAC international, 2003, 86(2): 412–431.

[31] 陈玲, 刘霜霜, 王锡兰, 等. QuEChERS 技术净化材料在果蔬农药残留检测中的应用进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(3): 1–9.
CHEN L, LIU SS, WANG XL, *et al*. Application progress of QuEChERS technique purify agent in pesticide residue detection of fruit and vegetables [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(3): 1–9.

[32] OUAKHSSASE A, FATINI N, AIT AE. A facile extraction method followed by UPLC-MS/MS for the analysis of aflatoxins and ochratoxin A in raw coffee beans [J]. Food Additives & Contaminants: Part A, 2021, 38(9): 1551–1560.

[33] REICHERT B, DE KA, PIZZUTTI IR, *et al*. Simultaneous determination of 117 pesticides and 30 mycotoxins in raw coffee, without clean-up, by LC-ESI-MS/MS analysis [J]. Analytica Chimica Acta, 2018, 1004: 40–50.

[34] SHARMEEN S, SUH K, KYEI I, *et al*. Immunoaffinity chromatography for protein purification and analysis [J]. Current Protocols, 2023, 3(8): e867.

[35] HWANG IM, JEONG JY, PARK B, *et al*. Quantification and health risk assessment of ochratoxin A in dried fruit, spices, and coffee [J]. Food Additives & Contaminants: Part A, 2023, 40(9): 1275–1284.

[36] PAKSHIR K, DEHGHANI A, NOURAEI H, *et al*. Evaluation of fungal contamination and ochratoxin A detection in different types of coffee by HPLC-based method [J]. Journal of Clinical Laboratory Analysis, 2021, 35(11): e24001.

[37] ARABI M, OSTOVAN A, BAGHERI AR, *et al*. Strategies of molecular imprinting-based solid-phase extraction prior to chromatographic analysis [J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2020, 128: 115923.

[38] NIELSEN KF, NGEMELA AF, JENSEN LB, *et al*. UHPLC-MS/MS determination of ochratoxin A and fumonisins in coffee using QuEChERS extraction combined with mixed-mode SPE purification [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(3): 1029–1034.

[39] VENTURA M, VALLEJOS C, ANAYA IA, *et al*. Analysis of ochratoxin A in coffee by solid-phase cleanup and narrow-bore liquid chromatography−fluorescence detector−mass spectrometry [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(26): 7564–7567.

[40] PRAKASHAM K, GURRANI S, SHIEA J, *et al*. Ultra-sensitive determination of Ochratoxin A in coffee and tea samples using a novel semi-automated in-syringe based coagulant-assisted fast mycotoxin extraction (FaMEx) technique coupled with UHPLC-MS/MS [J]. Food Chemistry, 2023, 417: 135951.

[41] TABATA S, IIDA K, KIMURA K, *et al*. Simultaneous determination of ochratoxin A, B and citrinin in foods by HPLC-FL and LC/MS/MS [J]. Shokuhin Eiseigaku Zasshi. Journal of the Food Hygienic Society of Japan, 2008, 49(2): 100–105.

[42] 覃浩, 鲍蕾. 食品安全快速检测方法研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(24): 3–9.
QIN H, BAO L. Research progress on rapid detection methods for food safety [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(24): 3–9.

[43] ZELING Z, BENCHAO S, HUAN X, *et al*. Enzyme cascade-amplified immunoassay based on the nanobody-alkaline phosphatase fusion and MnO_2 nanosheets for the detection of ochratoxin A in coffee [J]. RSC Advances, 2021, 11(35): 21760–21766.

[44] 林楠, 周欣蕊, 王婷, 等. 高效液相色谱法在食品安全检测中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(6): 1431–1437.
LIN N, ZHOU XR, WANG T, *et al*. Application of high performance liquid chromatography in food safety detection [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019, 10(6): 1431–1437.

[45] BENITES AJ, FERNANDES M, BOLETO AR, *et al*. Occurrence of

ochratoxin A in roasted coffee samples commercialized in Portugal [J]. Food Control, 2017, 73: 1223–1228.

[46] 苏敏, 李红丽, 白亚敏, 等. 基于液相色谱-串联高分辨质谱技术的食品中污染物检测技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(4): 44–52.
SU M, LI HL, BAI YM, *et al*. Research progress on determination of pollutants in food by liquid chromatography-high resolution mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(4): 44–52.

[47] 翟洪稳, 马红玉, 曹梅荣, 等. 在线样品制备技术耦合液相色谱-质谱系统在食品危害物检测中的应用进展[J]. 色谱, 2023, 41(12): 1062–1072.
ZHAI HW, MA HY, CAO MR, *et al*. Application progress of on-line sample preparation techniquescoupled with liquid chromatography-mass spectrometrysystem in the detection of food hazards [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2023, 41(12): 1062–1072.

[48] 席兴军, 陈益胜, 郑丹, 等. 基于“高效薄层色谱法, ”的食品分析技术: 应用与展望[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(23): 8979–8984.
XI XJ, CHEN YS, ZHENG D, *et al*. Application and prospect of food analysis technology based on “high performance thin layer chromatography” [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(23): 8979–8984.

[49] VENTURA M, ANAYA I, BROTO-PUIG F, *et al*. Two-dimensional thin-layer chromatographic method for the analysis of ochratoxin A in green coffee [J]. Journal of Food Protection, 2005, 68(9): 1920–1922.

[50] 许艳丽, 孟慧琴, 王宗奇, 等. 生物传感器技术检测赭曲霉毒素 A[J]. 质量安全与检验检测, 2023, 33(1): 28–32.
XU YL, MENG HQ, WANG ZQ, *et al*. Determination of ochratoxin A by biosensors [J]. Quality Safety Inspection and Testing, 2023, 33(1): 28–32.

[51] 张悦. 赭曲霉毒素 A 适配体特异性研究及双靶标生物传感器构建[D]. 无锡: 江南大学, 2022.
ZHANG Y. Research on the specificity of ochratoxin Aaptamer and construction of double target biosensor [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2022.

[52] SELF CH, COOK DB. Advances in immunoassay technology [J]. Current Opinion in Biotechnology, 1996, 7(1): 60–65.

[53] 许卓斌, 王旻. 抗体与抗体药物的前世今生[J]. 自然杂志, 2016, 38(4): 271–277.
XU ZB, WANG M. Pastlife of antibody and antibody drug [J]. Chinese Journal of Nature, 2016, 38(4): 271–277.

[54] 冯敏, 李亚楠, 高丽霞, 等. 酶联免疫吸附法在食品安全性指标检测中的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(10): 3973–3979.
FENG M, LI YN, GAO LX, *et al*. Research progress of enzyme-linked immunosorbent assay in food safetyindices detection [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2016, 7(10): 3973–3979.

[55] CONTRERAS ALA, LAZO JMD, CAMPOS FV, *et al*. Barcode-style lateral flow immunochromatographic strip for the semi-quantitative detection of ochratoxin A in coffee samples [J]. Food Additives & Contaminants: Part A, 2024, 41(4): 424–437.

[56] 李蓉芳, 吴箫, 王何瑶, 等 .赭曲霉毒素A单克隆抗体的体外制备及其重组抗体的构建研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(6): 118–126.
LI RF, WU X, WANG HY, *et al*. Preparation of ochratoxin A monoclonal antibody *in vitro* and construction of recombinant antibody [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(6): 118–126.

[57] SEVIM S, MACIT A, KIZIL M. Ochratoxin a levels in Turkish coffee: A probabilistic health risk assessment via Monte Carlo simulation [J]. Mycotoxin Research, 2024, 40(4): 651–658.

[58] BAO K, LIU X, LIAO Y, *et al*. Nanobody-nanoluciferase fusion protein-enabled immunoassay for ochratoxin A in coffee with enhanced specificity and sensitivity [J]. Toxins, 2022, 14(10): 713.

[59] 张辉, 叶华, 吴世嘉. 核酸适配体及其在食品安全领域中的应用研究进展[J]. 食品与机械, 2016, 32(10): 194–199.
ZHANG H, YE H, WU SJ. Progress on application of aptamers on food safety detection [J]. Food & Machinery, 2016, 32(10): 194–199.

[60] HAN B, FANG C, SHA L, *et al*. Cascade strand displacement reaction-assisted aptamer-based highly sensitive dection of ochratoxin A [J]. Food Chemistry, 2021, 338: 127827.

[61] CIRIACO F, DE LV, CATUCCI L, *et al*. An in-silico pipeline for rapid screening of DNA aptamers against mycotoxins: The case-study of fumonisin B_1, aflatoxin B_1 and ochratoxin A [J]. Polymers, 2020, 12(12): 2983.

[62] XU G, ZHAO J, LIU N, *et al*. Structure-guided post-SELEX optimization of an ochratoxin A aptamer [J]. Nucleic Acids Research, 2019, 47(11): 5963–5972.

[63] XU G, ZHAO J, YU H, *et al*. Structural insights into the mechanism of high-affinity binding of ochratoxin A by a DNA aptamer [J]. Journal of the American Chemical Society, 2022, 144(17): 7731–7740.

[64] 李敏. 赭曲霉毒素 A 核酸适配体的筛选、鉴定及应用[D]. 天津: 天津科技大学, 2018.
LI M. Selection, identification and application of a DNA aptamer targeted to ochratoxin A [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2018.

[65] MCKEAGUE M, VELU R, HILL K, *et al*. Selection and characterization of a novel DNA aptamer for label-free fluorescence biosensing of ochratoxin A [J]. Toxins, 2014, 6(8): 2435–2452.

[66] BARTHELMEBS L, JONCA J, HAYAT A, *et al*. Enzyme-linked aptamer assays (ELAAs), based on a competition format for a rapid and sensitive detection of ochratoxin A in wine [J]. Food Control, 2011, 22(5): 737–743.

[67] AMINI-NOGORANI E, ZARE HR, JAHANGIRI–DEHAGHANI F, *et al*. Quantification of ochratoxin A in a coffee sample utilizing an electrochemical aptasensor fabricated through encapsulation of toluidine blue within a Zn-based metal–organic framework [J]. Microchimica Acta, 2025, 192(1): 27.

[68] ZHANG N, ZHANG N, XU Y, *et al*. Molecularly imprinted materials for selective biological recognition [J]. Macromolecular Rapid Communications,

2019, 40(17): 1900096.

[69] LISICHKIN GV, KRUTYAKOV YA. Molecularly imprinted materials: synthesis, properties, applications [J]. Russian Chemical Reviews, 2006, 75(10): 901.

[70] 王思伟. 设计合成赭曲霉毒素 A 分子印迹光子晶体微球及其应用[D]. 南京: 南京师范大学, 2022.
WANG SW. Design and synthesis of ochratoxin A molecularly imprinted photonic crystal microspheres and their applications [D]. Nanjing: Nanjing Normal University, 2022.

[71] LEE TP, SAAD B, KHAYOON WS, *et al*. Molecularly imprinted polymer as sorbent in micro-solid phase extraction of ochratoxin A in coffee, grape juice and urine [J]. Talanta, 2012, 88: 129–135.

[72] ENSAFI AA. An introduction to sensors and biosensors [Z]. Electrochemical Biosensors, 2019: 1–10.

[73] 刘晓然, 张蕴哲, 徐慧, 等. 纳米材料电化学生物传感器检测食品中赭曲霉毒素 A 的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2024, 45(14): 172–178.
LIU XR, ZHANG YZ, XU H, *et al*. Detection of ochratoxin A in food by nanostructured electrochemical biosensors: A review [J]. Food Research and Development, 2024, 45(14): 172–178.

[74] OLIVEIRA JP, BURGOS-FLÓREZ F, SAMPAIO I, *et al*. Label-free electrochemical immunosensor for ochratoxin A detection in coffee samples [J]. Talanta, 2023, 260: 124586.

[75] 胡奕津, 范申, 黄丽珊, 等. 光学适配体传感器检测赭曲霉毒素 A 的研究进展[J]. 化学通报, 2022, 85(10): 1177–1185.
HU YJ, FAN S, HUANG LS, *et al*. Research progress in optical aptamer sensors for the detection of ochratoxin A [J]. Chemistry, 2022, 85(10): 1177–1185.

[76] KHOSHBIN Z, ABNOUS K, TAGHDISI SM, *et al*. A novel liquid crystal-based aptasensor for ultra-low detection of ochratoxin a using a π-shaped DNA structure: Promising for future on-site detection test strips [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2021, 191: 113457.

[77] 刘丽. 基于纳米材料荧光传感器检测赭曲霉毒素 A 的方法研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2020.
LIU L. Study on analytical methods of ochratoxin A based on nanomaterial enabled fluorescent sensors [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2020.

[78] 刘爽, 师晶晶. 分子生物技术在食品检测中的应用[J]. 现代食品, 2018(8): 112–113.
LIU S, SHI JJ. The application of molecular biotechnology in food testing [J]. Modem Food, 2018(8): 112–113.

[79] POTIPUN J, RUAYLARB W, NILTHONG R, *et al*. Quantification of ochratoxin A–producing fungi in coffee products using quantitative PCR [J]. Chiang Mai Journal of Science, 2018, 17: 39–46.

[80] ZAHRAEE H, KHOSHBIN Z, MASHREGHI M, *et al*. Development of an ultrasensitive CRISPR-Cas12a-mediated aptasensor using liquid crystal and three-way DNA junction nanoskeleton for the detection of ochratoxin A [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2025, 444(2): 138463.

[81] LIU Z, WANG S, ZHANG Y, *et al*. Artificial intelligence in food safety: A decade review and bibliometric analysis [J]. Foods, 2023, 12(6): 1242.

[82] WANG X, BOUZEMBRAK Y, LANSINK AO, *et al*. Application of machine learning to the monitoring and prediction of food safety: A review [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2022, 21(1): 416–434.

[83] DESHMUKH MT, WANKHEDE PR, CHAKOLE N, *et al*. Towards intelligent food safety: Machine learning approaches for aflatoxin detection and risk prediction [J]. Trends in Food Science & Technology, 2025, 161: 105055.

[84] AGGARWAL M, SAHOOP P, SAHA S, *et al*. Machine learning-mediated ultrasensitive detection of citrinin and associated mycotoxins in real food samples discerned from a photoluminescent carbon dot barcode array [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(34): 12849–12858.

(责任编辑: 蔡世佳 安香玉)