

## 分析与测试

## 表面等离子共振传感器在食品真菌毒素检测中的应用

娄婷婷<sup>\*1</sup>, 王淞<sup>1</sup>, 闫枫蕾<sup>2</sup>, 温华蔚<sup>1</sup>, 章骅<sup>1</sup>, 张宏宇<sup>2</sup>, 马兴<sup>1</sup>

(1.天津海关动植物与食品检测中心, 天津 300461;

2.天津商业大学 生物技术与食品科学学院, 天津市食品生物技术重点实验室, 天津 300134)

**摘要:**作为天然污染物之一,真菌毒素是全球食品安全的重要威胁。但是,真菌在食品生产中的污染是不可避免的,真菌毒素含量的快速检测及其污染程度的确定可以为真菌毒素的风险防控提供有效的手段。作为一种快速、简单、低成本的分析方法,表面等离子共振(Surface Plasmon Resonance, SPR)传感器已广泛用于多种污染物的实时定性和定量检测,而基于不同分析方法的 SPR 传感器极大地扩大了其检测目标物的范围,提高了其灵敏度。综述了基于竞争性抑制免疫分析法、分子印迹法、核酸适配体法的 SPR 传感器在食品真菌毒素检测中的最新研究进展,并对其未来发展前景进行了展望,旨在为其进一步的开发和应用提供研究思路 and 理论参考。

**关键词:**真菌毒素;表面等离子共振;食品安全;检测技术;传感器

**中图分类号:**TS207.3 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2023)10-0124-08

**DOI:**10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0426

**Application of Surface Plasmon Resonance Sensor in the Detection of Mycotoxins in Food** LOU Ting-ting<sup>\*1</sup>, WANG Song<sup>1</sup>, YAN Feng-lei<sup>2</sup>, WEN Hua-wei<sup>1</sup>, ZHANG Hua<sup>1</sup>, ZHANG Hong-yu<sup>2</sup>, MA Xing<sup>1</sup> (1. Animal, Plant and Foodstuffs Inspection Center of Tianjin Customs, Tianjin 300461, China; 2. Tianjin Key Laboratory of Food Biotechnology, College of Biotechnology and Food Science, Tianjin University of Commerce, Tianjin 300134, China)

**Abstract:** As one of the natural pollutants, mycotoxins constitute an important threat to global food safety. However, the contamination of fungi in food production is inevitable. Hence, the rapid detection of mycotoxin content and the determination of the contamination degree can provide an effective means for the risk control of mycotoxins. As a fast, simple, and low-cost analytical method, surface plasmon resonance (SPR) sensors have been widely used for real-time qualitative and quantitative detection of a variety of pollutants. SPR sensors based on different analytical methods greatly expand the object detection range and improve its sensitivity. In this paper, the latest research progress of SPR sensors based on competitive immunosuppression assay, molecular imprinted method, and aptamer method for the detection of mycotoxins in food was reviewed, and their future developments were prospected. This study aimed to provide research ideas and theoretical references for their further development and application.

**Key words:** mycotoxin; surface plasmon resonance; food safety; detection technology; sensor

真菌毒素的毒性风险在世界范围内得到了广泛认可,目前发现的 400 多种真菌毒素中大部分被证实对人体健康有害,包括致畸、致突变、致癌和内分泌干扰等危害<sup>[1]</sup>。被真菌毒素污染的食物不仅营养品质下降,还可能因为毒素在食物链中的富集,危害人类的生命健康<sup>[2,3]</sup>。因此,建立有效的分析检测技术和制订科学的残留限量标准,对于保障人类生命健康具有重要意义。然而,对食品复杂基质中以微量形式存在的真菌毒素进行系统化和便捷的检测,仍是一个极具挑战性的问题。

目前,研究比较深入的真菌毒素主要包括黄曲霉毒素(Aflatoxin, AF)、赭曲霉毒素(Ochratoxin,

OT)、伏马菌素(Fumonisin)、单端孢霉烯族毒素(Trichothecenes)和玉米赤霉烯酮(Zearalenone, ZEN)等<sup>[4]</sup>。AF 是由真菌黄曲霉和寄生曲霉产生,广泛存在于花生、玉米、棉籽和牛奶等多种食

收稿日期:2023-06-25;网络首发日期:2023-07-26

基金项目:天津市科技支撑重点项目(20YFZCSN00630);国家重点研发计划课题项目(2022YFF1100801)

作者简介:娄婷婷(1985-),女,山东枣庄人,博士,高级工程师,主要研究方向为食品质量安全与检测, E-mail: louttinggucas@126.com。

引用本文:娄婷婷,王淞,闫枫蕾,等.表面等离子共振传感器在食品真菌毒素检测中的应用[J].化学试剂,2023,45(10):124-131。

品中<sup>[5]</sup>的一类剧毒物质。OT 是由曲霉属和青霉属真菌产生,包括赭曲霉毒素 A、B、C 和 D,咖啡豆和农作物等易受其污染<sup>[6]</sup>。伏马菌素主要由镰刀菌产生,包括伏马菌素 B1 (FB1) 和伏马菌素 B2 (FB2),是世界上常见的玉米污染物<sup>[7]</sup>。单端孢霉烯族毒素广泛存在于谷物、油籽、水果和蔬菜中<sup>[8]</sup>,其中影响最大的是 A 型的 T-2 毒素和 HT-2 毒素以及 B 型的脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (Deoxynivalenol, DON) 和雪腐镰刀菌烯醇 (Nivalenol, NIV)<sup>[9]</sup>。ZEN 也称 F-2 毒素,主要由禾谷镰刀菌和秆腐镰刀菌产生,常见于多种谷类作物,如水稻、小麦和高粱<sup>[10]</sup>。

目前,真菌毒素的检测方法主要包括色谱分析法<sup>[11-16]</sup>、免疫分析法<sup>[14]</sup>以及其它检测法等。典型的色谱分析技术主要包括超临界流体色谱、液相色谱、气相色谱以及质谱检测器相关联的 LC/MS 和 GC/MS 等<sup>[11-16]</sup>。但是,以上方法的实施都需要昂贵的仪器设备、复杂的操作程序和样品制备过程,以及专业技术人员;相较于仪器分析方法,免疫分析相关的检测技术具有特异性强、灵敏度高、易于操作等优点,受到了越来越多的关注与应用。但是,由于基于免疫分析法产业化的产品种类较少,且检测毒素单一,许多现有的方法在实时和现场应用方面具有一定的局限性。因此,为了建立可靠、快速、灵敏、选择性好、成本低廉的真菌毒素测量方法,基于新型生物传感器的方法构建和改进势在必行,高效、精确且可用于现场实时监测的食品毒素安全检测技术亟待开发<sup>[17]</sup>。

而传感器技术发展迅速,其中表面等离子共振 (Surface Plasmon Resonance, SPR) 传感器具有快速响应、精确检测等优点<sup>[18]</sup>,不仅能检测出被分析物的浓度、特异性以及动力学常数等信息,还能对被分析物进行现场监测<sup>[19]</sup>。1983 年,瑞典科学家 Liedberg 等<sup>[20]</sup>首次使用 SPR 传感器进行了 IgG 抗体与其抗原相互反应的检测,从上世纪 90 年代开始陆续出现了较为成熟的商业化产品<sup>[19]</sup>,由于 SPR 可实现高度复杂基质中目标分析物的快速检测,具有高灵敏度和特异性,可实现无损分析和最低样品制备要求,SPR 传感器的研究得到了广泛的关注和应用。

真菌毒素一般为小分子物质,直接结合在传感芯片表面时,SPR 传感器不能灵敏地检测到明显的信号变化。因此,利用 SPR 传感器对真菌毒素进行检测时一般采用竞争抑制法、分子印迹法

和核酸适配体等方法与 SPR 传感器联用<sup>[21,22]</sup>。本文综述了基于竞争抑制法、分子印迹法以及核酸适配体法的 SPR 传感器特异性识别目标待测物的基本原理,总结了基于不同分析方法的 SPR 传感器在不同类型的真菌毒素检测中的研究进展,综合分析了该领域目前所面临的挑战,并对未来的发展方向提出了思考和建议。

## 1 表面等离子共振传感器的基本原理

SPR 是一种灵敏的表面分析技术,一束 P 偏振光入射到棱镜端面会在棱镜与金属膜表面发生全反射,形成消逝波进入到光疏介质中,从而引发金属薄膜中的自由电子形成表面等离子体。表面等离子体集体振荡会产生一种沿着界面传播的横向电磁波,即表面等离子波。当两波波矢量相等时则会引起金属膜内自由电子产生共振,即发生表面等离子共振<sup>[21]</sup>。表面等离子共振会导致检测到的反射光强大幅度减弱,此时能量由光子转移到表面等离子,入射光的大部分能量被表面等离子波吸收,使反射光的能量急剧减少,反射光完全消失的角就是 SPR 角,SPR 角会随金属薄膜表面折射率的改变而改变,从而可检测出附着在金属薄膜表面物质的量以及构型的改变<sup>[22]</sup>,SPR 传感器的基本工作原理如图 1 所示。

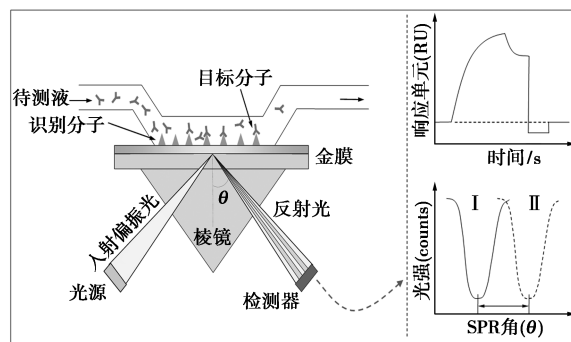


图 1 SPR 传感器的基本工作原理

Fig.1 Basic schematic diagram of SPR sensor

## 2 SPR 分析方法

SPR 传感器可直接检测分子量大于 10 kDa 的大分子,然而真菌毒素是一种较小的化合物,直接测量可能无法引起折射率变化<sup>[23]</sup>。因此,可以基于分析物的特性、分析样品以及 SPR 仪的灵敏度,采用基于竞争抑制法、分子印迹法和核酸适配体法的 SPR 来检测小分子毒素,并且可通过金纳米颗粒 (AuNPs) 辅助增强 SPR 信号。

基于竞争抑制法的 SPR 传感器是指利用真菌毒素抗原抗体特异性结合的特征,将小分子抗原通过共价偶联方式结合在传感芯片上,注入已知浓度的抗体与抗原发生特异性结合,通过 SPR 生物传感器检测抗原抗体结合情况。芯片再生后,再注入抗体与目标分析物的混合液,抗原与分析物竞争过量抗体,此时结合信号与分析物浓度成反比,进而计算二者差量可得分析物浓度,实现对小分子的定量检测<sup>[24]</sup>。真菌毒素与蛋白质(牛血清白蛋白、卵清蛋白或真菌毒素衍生物之间的偶联物)被预固定在 SPR 芯片表面,当样品和已知浓度的真菌毒素特异性抗体的混合物被注入传

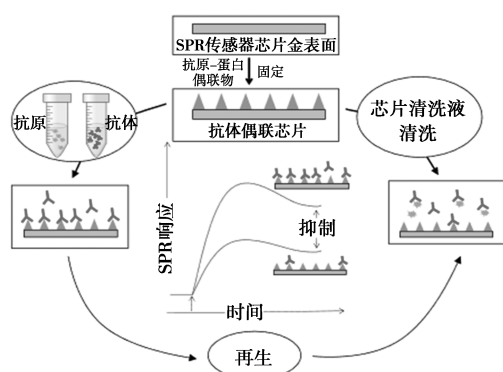


图 2 基于竞争抑制法的 SPR 传感器的基本原理

Fig.2 Basic principle of SPR sensor based on competitive inhibition method

感器芯片,预先固定化的真菌毒素和样品中的游离真菌毒素之间将发生对特异性抗体的竞争。如果样品中没有真菌毒素,抗体将与固定在传感器芯片上的真菌毒素结合,导致 SPR 响应单位数值增大。相反,样品中的真菌毒素与固定的真菌毒素之间的竞争反应将导致 SPR 响应单位数值降低。随着样品中真菌毒素浓度的增加,抑制的程度也会越高,导致响应单位数值下降越多。因此,芯片表面结合的抗体数量与样本中真菌毒素的浓度成反比(图 2)<sup>[25]</sup>。

基于分子印迹的 SPR 传感器是通过物理吸附、原位聚合、电聚合等方法在传感器芯片表面沉积或合成一层均匀、厚度较薄的分子印迹聚合膜,形成能与待测物质发生特异性识别的生物或化学敏感层,当通入溶液中存在与膜特异性结合的待测物时,便会引起 SPR 角度变化并被 SPR 检测器记录(图 3)。基于分子印迹法的 SPR 传感器结合了分子印迹高选择性识别和表面等离子共振传感器高灵敏性的优点,能够特异性检测多种食品中的小分子污染物,可实现高灵敏度、高特异性且快速的现场检测与筛查<sup>[26]</sup>。分子印迹技术修饰的 SPR 芯片经过特定方法洗涤可重复检测,从而可实现食品安全检测领域快速、准确、灵敏和低成本

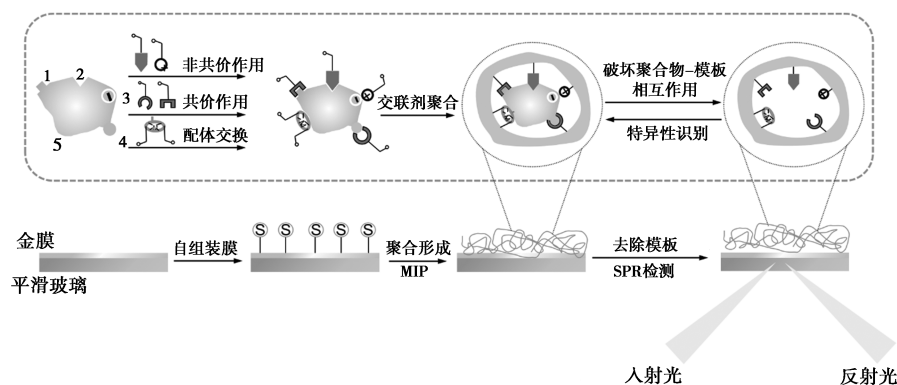


图 3 基于分子印迹法的 SPR 传感器的基本原理

Fig.3 Basic principle of SPR sensor based on molecular imprinted method

核酸适配体是一段能够特异性识别目标分子的 DNA 或者 RNA 片段,它可以通过指数富集 (SELEX) 从体外筛选得到,其制备时间较抗体短,有的仅需一两周的时间便可得到<sup>[27]</sup>。在适配体技术与 SPR 技术联用来检测食品中的霉菌毒素的过程中,常通过链霉亲和素-生物素亲和作用、金硫键自组装膜、化学键共价结合固定方法来修饰适配体末端以将其偶联在芯片表面

(图 4)<sup>[28]</sup>。链霉亲和素 (Streptavidin, SA) 能够高亲和力地和生物素结合,且 1 个 SA 能非共价地与 4 个生物素结合,因为适配体经过修饰后性质依然稳定,在适配体的末端修饰生物素就可利用生物素与 SA 的高亲和力将核酸适配体固定在已经修饰了 SA 的石英晶片或者传感芯片等上面。金硫键自组装是通过巯基能够与金在金硫键的作用下形成单层膜从而固定在传感芯片上。化学共

价结合是在适配体末端修饰上化学基团可与传感器上的化学集团发生共价结合,例如在适配体表面修饰上氨基,可与芯片表面的巯基结合。基于核酸适配体的表面等离子共振传感器结合核酸适配体高亲和力、易制备、易修饰、价格低廉等特点以及 SPR 的检测迅速、准确、方便的特点在生物化学、食品安全检测等领域已经取得很大的成绩,未来会有更广阔的应用前景。

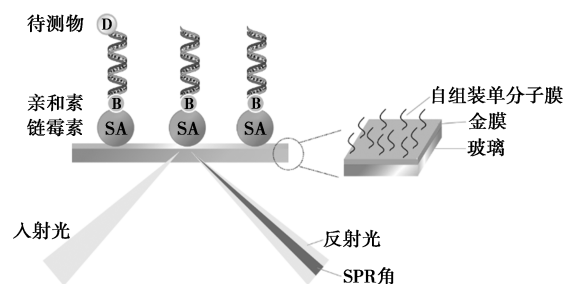


图 4 基于核酸适配体法的 SPR 传感器的基本原理

Fig.4 Basic principle of SPR sensor based on nucleic acid aptamer method

AuNPs 在提高 SPR 检测小分子的灵敏度方面也引起了广泛的关注,已经证明,电子耦合之间的局部表面等离子体和表面等离子体波相关的 SPR Au 薄膜可以显著增强 SPR 响应信号,增强的信号强度主要取决于粒子大小<sup>[29]</sup>。此外, AuNPs 存在可与多种生物分子结合、具有人体安全性、AuNPs 标记分子的生物功能几乎没有变化、AuNPs 用量少等优点。因此, AuNPs 已成功地作为一种应用于蛋白质、DNA 和药物分子的高灵敏度 SPR 检测的生物标记物。

### 3 表面等离子共振传感器在食品真菌毒素检测中的应用

#### 3.1 基于竞争抑制法的 SPR 传感器对真菌毒素的检测

##### 3.1.1 基于竞争抑制法的 SPR 传感器对 AF 的检测

1998 年, Mullett 等<sup>[30]</sup>首次开创性的采用基于竞争抑制法的 SPR 传感器实现了对 FB1 的检测,将抗 FB1 的多克隆抗体固定在耦合到棱镜上的薄金膜上,当将含有 FB1 的样品流过传感器芯片时反射光强度产生变化,从而实现了对 FB1 的精确检测,经优化的体系在 10 min 内测定的 LOD 低至 50 ng/mL。2000 年, Daly 等<sup>[31]</sup>构建了基于竞争抑制法的 SPR 传感器体系,使用 Biacore 1000 SPR 传感器实现了 AFB1 的检测,将 AFB1 偶联

到 BSA 上并使用化学方法固定在葡聚糖凝胶表面,最后将 AFB1 和 AFB1 多克隆抗体的混合物注射到 SPR 传感器中,该体系定量限为 3 ng/mL,线性范围为 3.0~98.0 ng/mL 且重现性良好。芯片表面的再生有利于样品的连续测定,可通过循环使用相同的传感器平台提高成本效益并减少耗时,该实验体系采用乙醇胺和乙腈组成的有机溶液(pH 12.0)作为洗脱液被证实对芯片的再生有效。

当抗体被直接或间接地固定在芯片表面时,偶联化学试剂会影响抗体的结合能力,当抗体通过蛋白 A 或特异性抗体间接固定在 SPR 芯片表面时,可能会导致捕获的抗体与蛋白质偶联物之间的结合不完全,针对以上问题,2007 年 Dunne 等<sup>[32]</sup>开发了用于检测 AFB1 的具有特定单链片段变量(scFv)的 SPR 体系,从预免疫的噬菌体库中分离出编码 AFB1-scFv 的基因,并在大肠杆菌中表达针对 AFB1 的单体和二聚体 scFv,使用 CM5 芯片固定 AFB1 衍生物用于检测 AFB1 的抑制试验,结合单体和二聚体 scFv 已被证明对 AFB1 具有高水平的交叉反应性和特异性,对单体 scFv 的 AFB1 检测范围为 390~12 000 pg/mL,对二聚体 scFv 的检测范围为 190~24 000 pg/mL。

2014 年, Park 等<sup>[33]</sup>开发了一种基于双功能蛋白交联剂的 SPR 生物传感器,抗体无需化学处理即可定向固定并实现 AFB1 的快速检测,在含 AFB1、ZEN 和 OTA 混合物中可对 AFB1 精确检测且 ZEN 和 OTA 对 SPR 信号无干扰证明了该体系选择性良好。2018 年, Moon 等<sup>[34]</sup>报道了一种 SPR 传感体系,在 Au 芯片表面偶联半胱氨酸蛋白 G、AFB1 抗体和牛血清白蛋白(BSA)可用于实现现场快速检测 AFB1,并用于检测水稻、花生和杏仁样品中的 AFB1。2020 年 Bhardwaj 等<sup>[35]</sup>通过制备自组装单分子层(SAM)和多功能 AuNPs 修饰的 Au 芯片,达到信号放大的目的并实现了 AFB1 的检测,其中对小麦样品检测的平均回收率超过 90%。

##### 3.1.2 基于竞争抑制法的 SPR 传感器对 OT 的检测

2007 年, Fu 等<sup>[36]</sup>报道了一种基于树突状表面的纳米金空心球的 SPR 免疫检测 OTA 的方法,首先在 SPR 芯片表面通过电聚合一层硫氨酸薄膜,然后通过偶联将抗 OTA 的单克隆抗体固定在 SPR 芯片表面,OTA 与 OTA 抗体的相互作用

使共振角增大,共振角的变化与 OTA 浓度成正比,该体系 OTA 的检出限为 0.01 ng/mL。2009 年,Yuan 等<sup>[37]</sup>报道了可检测谷物和饮料中 OTA 的方法,通过抗体对结合在 SPR 芯片表面的 OTA 的影响评估了 OTA-BSA 以及 OTA-OVA 的偶联物与聚乙二醇(PEG)连接两种不同的自组装单层芯片的竞争抑制效果,在 OTA-PEG-OVA 表面利用 40 nm 的金纳米颗粒增强信号,OTA 的 LOD 可低至 0.042 ng/mL,该芯片表面稳定性较高,可实现超过 600 次的再生循环。

2016 年,Joshi 等<sup>[38]</sup>直接将毒素共价固定在纳米结构的 iSPR 芯片上,构建了基于竞争抑制的 SPR 传感体系并对啤酒中富集的 OTA 进行检测。同年,Karczmarczyk 等<sup>[39]</sup>报道了用于检测红酒中 OTA 的生物传感器,该法通过间接竞争抑制免疫分析和偶联 AuNP 的二抗达到增强信号的目的,该体系采用聚乙烯吡咯烷酮(PVP)对葡萄酒样品进行预处理,以去除多酚对其表面亲和结合的干扰。2019 年,Rehmat 等<sup>[40]</sup>开发了一种基于交联壳聚糖和羧甲基壳聚糖纳米基质的紧凑型竞争抑制 SPR 免疫分析传感器,采用旋转涂层技术合成了镀金 SPR 芯片并用于咖啡中 OTA 的检测。

### 3.1.3 基于竞争抑制法的 SPR 传感器对 DON 以及 NIV 的检测

2003 年,Tüdös 等<sup>[41]</sup>提出了基于竞争抑制法的 SPR 传感器用于选择性和定量测定自然污染基质中的 DON,并比较了 3 种不同的单克隆小鼠抗 DON 抗体,该实验将 DON 和酪蛋白的偶联物固定在传感器芯片表面,然后将 DON 与 DON 抗体的混合物注入 SPR 传感器,该体系最佳工作浓度的范围为 2.5~30 ng/mL,使用氯化胍溶液进行再生,传感器表面可重复使用 500 次以上且无明显损失活性,且在选择性实验中未检测到 3 种抗体与 3-乙酰脱氧醇、15-乙酰脱氧醇、镰刀醇、HT2 毒素和 T2 毒素的交叉反应性,表明该体系选择性良好,利用该体系对受天然毒素污染的小麦样品进行检测,SPR 法与液相色谱/串联质谱法的检测结果一致。2010 年,Kadota 等<sup>[42]</sup>开发了一种基于竞争抑制法的 SPR 生物传感器来检测小麦中的 NIV 和 DON,将 DON-BSA 偶联物固定在 SPR CM5 芯片表面,并使用 1 mol/L 乙醇胺-HCl 溶液(pH 8.5)封闭芯片表面的冗余活性基团,采用 7 种真菌毒素 NIV、DON、DON-3-Glc、DOM-1、镰刀酮-X、3-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇和 15-乙酰脱

氧雪腐镰刀菌烯醇进行交叉反应发现该体系特异性较强,NIV 和 DON 的 IC<sub>50</sub> 值分别为 28.8 和 14.9 ng/mL,基于 SPR 的检测方法与 LC-MS/MS 法测得的 NIV 和 DON 共污染小麦的结果具有相关性。

### 3.1.4 基于竞争抑制法的 SPR 传感器对 T-2 和 HT-2 毒素的检测

2010 年,Meneely 等<sup>[43]</sup>报道了通过 HT-2 毒素衍生物和单克隆抗体的 SPR 传感器对 T-2 和 HT-2 毒素联合检测的方法,抗 HT-2 的抗体与 T-2 毒素体现出较高的交叉反应性,且与其他常见的单端孢霉毒素无交叉反应,通过对婴儿食品、早餐谷物和小麦样品使用 40% 甲醇提取,将校正剂/样品转移到微量滴定板样品孔,与抗体溶液混合后立即注入到传感器芯片表面,该体系 HT-2 毒素标准溶液系列稀释的校准曲线范围为 0~80 ng/mL,在婴儿食品、早餐谷物和小麦中各基质的 HT-2 毒素检出限分别为 25、25 和 26 μg/kg。

### 3.1.5 基于竞争抑制法的 SPR 传感器对多种真菌毒素的同时检测

2003 年, Van-Der-Gaag 等<sup>[44]</sup>实现了 AFB1、ZEN、DON 和 FB1 4 种真菌毒素在含有适当抗真菌毒素抗体样本中的同时测定,AFB1 的 LOD 为 0.2 ng/g,ZEN 的 LOD 为 0.01 ng/g,FB1 的 LOD 为 50 ng/g,DON 的 LOD 为 0.5 ng/g。

2011 年,Dorokhin 等<sup>[45]</sup>采用基于 iSPR 的多重微阵列免疫传感器对玉米和小麦提取物中的 ZEN 和 DON 进行了定性和定量的无标记检测,结果与 LC-MS/MS 数据一致,玉米和小麦样品提取物中 ZEN 的 LODs 分别为 16 和 10 ng/mL。2016 年,Joshi 等<sup>[46]</sup>采用单一纳米结构的 iSPR 芯片同时检测了 6 种真菌毒素 AFB1、OTA、ZEN、DON、FB1 和 T-2,可通过改变表面化学结构或使用更合适的抗体来提高检测灵敏度,该体系为大麦中真菌毒素的现场检测和筛选提供了可能。

2019 年,Wei 等<sup>[47]</sup>报道的 SPR 体系可同时检测小麦和玉米中 4 种真菌毒素 OTA、DON、AFB1 和 ZEN,LODs 范围为 0.59~3.26 ng/mL(RSDs<10%),所得的检测方法与 HPLC-MS/MS 法的计算结果一致,该方法不仅具有高灵敏度,而且为真菌毒素的高通量检测提供了可能。

### 3.2 基于分子印迹法的 SPR 传感器对真菌毒素的检测

2004 年,Yu 等<sup>[48]</sup>基于 SPR 传感器采用聚吡

咯(PPy)薄膜对 OTA 进行了检测,PPy 薄膜是一种相对容易制备且稳定的薄膜,可吸附不同的生物分子,该研究采用掺杂氯化物的 PPy 薄膜(PPy-Cl)在 SPR 芯片表面进行了电化学聚合,通过监测 SPR 角,每个 PPy-Cl 薄膜的厚度可以原位控制在 2~5 nm 之间,且在 10% 甲醇溶液中 PPy 薄膜与 OTA 具有良好的结合能力,在进行 OTA 检测时,随着 SPR 角度的增加,线性范围可扩大至 0.1~10 g/mL。

2009 年,Choi 等<sup>[49]</sup>报道了基于分子印迹聚合物技术的 SPR 检测 ZEN 的方法,在模板 ZEN 分子存在的情况下,将吡咯电聚合到裸露的金薄片上,制备了分子印迹聚吡咯(MIPPy)薄膜,由于 ZEN 与 MIPPy 薄膜的结合,SPR 传感器的共振角发生了变化,该体系在 0.3~3 000 ng/mL 范围内呈线性响应,添加 30 ng/g ZEN 后,空白玉米基质的 LOD 和平均回收率分别为 0.3 ng/g 和 89%。

2020 年,Akgönüllü 等<sup>[50]</sup>在 SPR Au 芯片表面制备了涂有金纳米颗粒的分子印迹聚合物,成功实现 AFB1 的实时定量检测,该体系可用于花生和玉米样品的检测,其线性范围为 0.000 1~10.0 ng/mL。2022 年,Akgonullu 等<sup>[51]</sup>设计了一种无标记的基于分子印迹的 SPR 传感器用于实时检测无花果中的 OTA,该体系线性范围 0.1~20 ng/mL,检测限低至 0.028 ng/mL,在 AFB1、AFB1 和桔霉素的检测中具有良好的选择性。同年,Cimen 等<sup>[52]</sup>采用两相微乳液聚合法制备了基于分子印迹法的 SPR 传感体系检测展青霉素,该体系线性范围为 0.5~750 nmol/L,检测限为 0.011 nmol/L,与 LC-MS 的检测准确性一致。

### 3.3 基于核酸适配体法的 SPR 传感器对真菌毒素的检测

2016 年,李冰洁<sup>[53]</sup>采用基于核酸适配体法的 SPR 传感器检测 AFB1,通过 SA 偶联 CM5 芯片捕获生物素修饰的 AFB1 核酸适配体从而实现目标物检测,成功应用于酱油和醋中 AFB1 的测定,检测限低至 0.19 ng/mL,平均回收率为 94%~125.9%,检测时间仅需 3 min,与传统的 LC-MS 以及 HPLC 等方法相比,该检测系统更灵敏和便捷。此外,2018 年 Wu 等<sup>[54]</sup>开发了一种可同时检测 AFB1 和 AFB2 的基于适配体的 SPR 生物传感器,该体系对两者均具有较高的特异性,且不受 OTA、OTB、ZEN 和 T-2 的影响,可用于农产品、醋等 AFB 残留物的检测。

2015 年,Zhu 等<sup>[55]</sup>通过生物素适配体固定 CM5 传感器芯片的直接结合实验在葡萄酒和花生油的两种食物复合基质中检测到了 OTA,该传感器系统洗涤约 5 min 后可再生。2017 年,Bianco 等<sup>[56]</sup>采用 ssDNA 适配体的特异性序列来检测 OTA,利用基于压电的生物传感器(QCM)实时监测 4 个 ssDNA 适配体与 OTA 之间的相互作用,在选择了最有效的适配体后,成功构建了基于正弦光栅的表面等离子共振传感平台。

## 4 总结与展望

由于食品中真菌毒素污染难以达到 100% 的控制和预防,因此,快速、灵敏、高效的分析和检测方法是必要的。与其他检测技术相比,SPR 传感器作为一种特异性强、灵敏度高、检测速度快且通用性强的检测手段,可以用于食品中真菌毒素的检测。本文介绍了 SPR 传感技术的基本原理,梳理了 SPR 传感技术与其他技术的联用及其在真菌毒素检测中的应用进展,为今后真菌毒素的检测和分析提供了参考和思路。虽然基于 SPR 的传感平台已成功地应用于部分实际食品样品中真菌毒素的检测和分析,但是,对于更广泛的应用,仍存在许多挑战,包括检测目标物容易受干扰、成本较高、分析物单一以及实验室研究和实际应用之间存在差距等问题。因此在今后的研究中,可重点开展以下几个方面的工作:(1)开发经济和小型化便携设备,用于从实验台到现场检测;(2)加强 SPR 传感器与其他传感器或分析方法的联合应用,增强其检测的精度和广度;(3)创新芯片材料,引入可重复使用的传感器芯片,以降低检测成本;(4)发展多通道方法,满足多种分析物同时检测的要求。相信随着纳米技术、膜技术、电化学技术和光纤技术等高新技术的集成与应用,必将进一步提高 SPR 传感器的分析效率和适用性,从而使 SPR 技术在食品真菌毒素的检测中发挥更大的作用。

## 参考文献:

- [1] VASSEGHIAN Y, MORADI M, DRAGOI E N, et al. A review on mycotoxins detection techniques in edible oils [J]. *Int. J. Anal. Chem.*, 2022, **102**(9): 2 125-2 139.
- [2] 黄晴雯. 真菌毒素的分析方法及风险评估研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2021.
- [3] CHAN J L, SARNA J R. Distinguishing tics secondary to

- juvenile Huntington's disease from a primary tic disorder [J]. *Can. J. Neurol. Sci.*, 2023, DOI: 10.1017/CJN.2023.69.
- [4] FURIAN A F, FIGHERA M R, ROYES L F F, et al. Recent advances in assessing the effects of mycotoxins using animal models [J]. *Curr. Opin. Food. Sci.*, 2022, **47**: 100-874.
- [5] ORTEGA-BELTRAN A, BANDYOPADHYAY R. Aflatoxin biocontrol in practice requires a multidisciplinary, long-term approach [J]. *Front. Sustainable. Food. Syst.*, 2023, **7**: 110-964.
- [6] GUO M, ZHANG J, LV J, et al. Development of broad-specific monoclonal antibody-based immunoassays for simultaneous ochratoxin screening in medicinal and edible herbs [J]. *Food Control*, 2023, **148**: 109-626.
- [7] YANG D, YE Y, SUN J, et al. Occurrence, transformation, and toxicity of fumonisins and their covert products during food processing [J]. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.*, 2022, **14**: 1-14.
- [8] MENEELY J P, RICCI F, EGMOND H V, et al. Current methods of analysis for the determination of trichothecene mycotoxins in food [J]. *Trac-trend. Anal. Chem.*, 2011, **30**(2): 192-203.
- [9] MAHATO D K, PANDHI S, KAMLE M, et al. Trichothecenes in food and feed: Occurrence, impact on human health and their detection and management strategies [J]. *Toxicon*, 2022, **208**: 62-77.
- [10] HAN X, HUANGFU B X, XU T X, et al. Research progress of safety of zearalenone: A review [J]. *Toxins (Basel)*, 2022, **14**(6): 386.
- [11] 刘瑜, 董宏竺, 金雁, 等. 超高效液相色谱-四极杆串联离子阱复合质谱法同时测定药食同源中药材中 6 种玉米赤霉醇类真菌毒素 [J]. 食品安全质量检测学报, 2021, **12**(23): 9 021-9 026.
- [12] 郑嘉, 王红旗, 刘继红, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测小麦中 19 种真菌毒素 [J]. 食品安全质量检测学报, 2022, **13**(16): 5 382-5 390.
- [13] 曾艳, 张矛, 陈亚, 等. 液相色谱-串联质谱法检测茶叶中真菌毒素的研究进展 [J]. 食品安全质量检测学报, 2022, **13**(12): 3 834-3 841.
- [14] 张烁, 周爽, 裴晓燕, 等. 免疫亲和柱结合超高效液相色谱-串联质谱法测定牛奶中的 16 种真菌毒素比较研究 [J]. 食品安全质量检测学报, 2023, **14**(3): 234-242.
- [15] 倪杨, 杨军军, 石磊, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定坚果中 20 种真菌毒素 [J]. 食品安全质量检测学报, 2022, **13**(13): 4 107-4 116.
- [16] 汪薇, 余婷婷, 张莉, 等. QuEChERS 联合 UPLC-Orbitrap/MS 同时测定检测坚果和干制水果中 60 种真菌毒素 [J]. 中国食品卫生杂志, 2022, **34**(4): 707-714.
- [17] 窦博鑫, 张云亮, 王艳, 等. 生物传感器在食品检测领域的应用研究进展 [J]. 食品安全质量检测学报, 2022, **13**(3): 845-851.
- [18] MAHMOUDPOUR M, TORBATI M, MOUSAVI M M, et al. Nanomaterial-based molecularly imprinted polymers for pesticides detection: Recent trends and future prospects [J]. *Trac-trend. Anal. Chem.*, 2020, **129**: 115-943.
- [19] 黄昭, 曹亚男, 李跑, 等. 表面等离子体共振传感器在食品安全检测中的应用 [J]. 食品科学, 2020, **41**(13): 276-282.
- [20] LIEBERG B, NYLANDER C, LUNSTRÖM I. Surface plasmon resonance for gas detection and biosensing [J]. *Sensor. Actuat.*, 1983, **4**: 299-304.
- [21] YESUDASU V, PRADHAN H S, PANDYA R J. Recent progress in surface plasmon resonance based sensors: A comprehensive review [J]. *Heliyon*, 2021, **7**(3): e06 321.
- [22] 黄昭. 磁分子印迹耦合 SPR 检测牛奶中诺氟沙星残留的研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2020.
- [23] 高志贤, 柳明. 基于表面等离子体共振传感技术检测小分子物质的研究进展 [J]. 国际生物医学工程杂志, 2010, **33**(1): 1-6.
- [24] PETZ M. Recent applications of surface plasmon resonance biosensors for analyzing residues and contaminants in food [J]. *Monatsh. Chem.*, 2009, **140**(8): 953-964.
- [25] LI Y, LIU X, LIN Z. Recent developments and applications of surface plasmon resonance biosensors for the detection of mycotoxins in foodstuffs [J]. *Food. Chem.*, 2012, **132**(3): 1 549-1 554.
- [26] BAKHSHPOUR M, DENIZLI A. Highly sensitive detection of Cd(II) ions using ion-imprinted surface plasmon resonance sensors [J]. *Microchem. J.*, 2020, **159**: 105-572.
- [27] 杨柳, 王乐乐, 陶晴, 等. 核酸适配体传感器在血小板衍生生长因子检测中应用进展 [J]. 化学试剂, 2023, **45**(5): 1-10.
- [28] CHANG C C. Recent advancements in aptamer-based surface plasmon resonance biosensing strategies [J]. *Bio-sensors-Basel*, 2021, **11**(7): 233.
- [29] LYON L A, PENA D J, NATAN M J. Surface plasmon resonance of Au colloid-modified Au films: Particle size dependence [J]. *J. Phys. Chem. B.*, 1999, **103**(28): 5 826-5 831.
- [30] MULLETT W, LAI E P C, YEUNG J M. Immunoassay of fumonisins by a surface plasmon resonance biosensor [J]. *Anal. Biochem.*, 1998, **258**(2): 161-167.
- [31] DALY S J, KEATING G J, DILLON P P, et al. Development of surface plasmon resonance-based immunoassay for aflatoxin B1 [J]. *J. Agr. Food Chem.*, 2000, **48**(11):

- 5 097-5 104.
- [32] DUNNE L, DALY S, BAXTER A, et al. Surface plasmon resonance-based immunoassay for the detection of aflatoxin B1 using single-chain antibody fragments[J]. *Spectrosc. Lett.*, 2007, **38**(3): 229-245.
- [33] PARK J H, KIM Y P, KIM I H, et al. Rapid detection of aflatoxin B1 by a bifunctional protein crosslinker-based surface plasmon resonance biosensor[J]. *Food Control*, 2014, **36**(1): 183-190.
- [34] MOON J, BYUN J, KIM H, et al. On-site detection of aflatoxin B1 in grains by a palm-sized surface plasmon resonance sensor[J]. *Sensors (Basel)*, 2018, **18**(2): 598.
- [35] BHARDWAJ H, SUMANA G, MARQUETTE C A. A label-free ultrasensitive microfluidic surface plasmon resonance biosensor for aflatoxin B1 detection using nanoparticles integrated gold chip[J]. *Food Chem.*, 2020, **307**: 125 530.
- [36] FU X H. Surface plasmon resonance immunoassay for ochratoxin A based on nanogold hollow balls with dendritic surface[J]. *Anal. Lett.*, 2007, **40**(14): 2 641-2 652.
- [37] YUAN J, DENG D, LAUREN D R, et al. Surface plasmon resonance biosensor for the detection of ochratoxin A in cereals and beverages[J]. *Anal. Chim. Acta*, 2009, **656**(1): 63-71.
- [38] JOSHI S, ANNIDA R M, ZUILHOF H, et al. Analysis of mycotoxins in beer using a portable nanostructured imaging surface plasmon resonance biosensor[J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2016, **64**(43): 8 263-8 271.
- [39] KARCZMARCZYK A, REINER-ROZMAN C, HAGENEDER S, et al. Fast and sensitive detection of ochratoxin A in red wine by nanoparticle-enhanced SPR[J]. *Anal. Chim. Acta*, 2016, **937**: 143-150.
- [40] REHMAT Z, MOHAMMED W S, SADIQ M B, et al. Ochratoxin A detection in coffee by competitive inhibition assay using chitosan-based surface plasmon resonance compact system[J]. *Colloids Surf. B*, 2019, **174**: 569-574.
- [41] TÜDÖS A J, LUCAS-VAN D B, ELLY R, et al. Rapid surface plasmon resonance based inhibition assay of deoxynivalenol[J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, **51**(20): 5 843-5 848.
- [42] KADOTA T, TAKEZAWA Y, HIRANO S, et al. Rapid detection of nivalenol and deoxynivalenol in wheat using surface plasmon resonance immunoassay[J]. *Anal. Chim. Acta*, 2010, **673**(2): 173-178.
- [43] MENEELY J P, SULYOK M, BAUMGARTNER S, et al. A rapid optical immunoassay for the screening of T-2 and HT-2 toxin in cereals and maize-based baby food[J]. *Talanta*, 2010, **81**(1/2): 630-636.
- [44] VAN-DER-GAAG B, SPATH S, DIETRICH H, et al. Biosensors and multiple mycotoxin analysis[J]. *Food Control*, 2003, **14**(4): 251-254.
- [45] DOROKHIN D, HAASNOOT W, FRANSSEN M C R, et al. Imaging surface plasmon resonance for multiplex microassay sensing of mycotoxins[J]. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2011, **400**(9): 3 005-3 011.
- [46] JOSHI S, SEGARRA-FAS A, PETERS J, et al. Multiplex surface plasmon resonance biosensing and its transferability towards imaging nanoplasmonics for detection of mycotoxins in barley[J]. *Analyst*, 2016, **141**(4): 1 307-1 318.
- [47] WEI T, REN P P, HUANG L L, et al. Simultaneous detection of aflatoxin B1, ochratoxin A, zearalenone and deoxynivalenol in corn and wheat using surface plasmon resonance[J]. *Food Chem.*, 2019, **300**: 125 176.
- [48] YU J C C, LAI E P C. Polypyrrole film on miniaturized surface plasmon resonance sensor for ochratoxin A detection[J]. *Synth. Met.*, 2004, **143**(3): 253-258.
- [49] CHOI S W, CHANG H J, LEE N, et al. Detection of mycoestrogen zearalenone by a molecularly imprinted polypyrrole-based surface plasmon resonance (SPR) sensor[J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2009, **57**(4): 1 113-1 118.
- [50] AKGÖNÜLLÜ S, YAVUZ H, DENIZLI A. SPR nanosensor based on molecularly imprinted polymer film with gold nanoparticles for sensitive detection of aflatoxin B1[J]. *Talanta*, 2020, **219**: 121 219.
- [51] AKGONULLU S, ARMUTCU C, DENIZLI A. Molecularly imprinted polymer film based plasmonic sensors for detection of ochratoxin A in dried fig[J]. *Polym. Bull.*, 2022, **79**(6): 4 049-4 067.
- [52] CIMEN D, BERELI N, DENIZLI A. Patulin imprinted nanoparticles decorated surface plasmon resonance chips for patulin detection[J]. *Photonic. Sens.*, 2022, **12**(2): 117-129.
- [53] 李冰洁. 基于表面等离子体共振技术检测食品中的黄曲霉毒素 B1[D]. 北京: 北京化工大学, 2016.
- [54] WU W, ZHU Z, LI B, et al. A direct determination of AFBs in vinegar by aptamer-based surface plasmon resonance biosensor[J]. *Toxicon*, 2018, **146**: 24-30.
- [55] ZHU Z, FENG M, ZUO L, et al. An aptamer based surface plasmon resonance biosensor for the detection of ochratoxin A in wine and peanut oil[J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2015, **65**: 320-326.
- [56] BIANCO M, SONATO A, DE G A, et al. An aptamer-based SPR-polarization platform for high sensitive OTA detection[J]. *Sens. Actuat. B Chem.*, 2017, **241**: 314-320.