

基于纳米材料的光学生物传感器在中药真菌毒素检测中的应用

俞静^{1,2} 姚志豪² 何开雨² 邢丙聪¹ 王强²
程科军^{*1,3} 王柳^{*2,4} 徐霞红^{*2}

¹(浙江农林大学, 浙江省特色中药资源保护与创新利用重点实验室, 杭州 311300)

²(浙江省农业科学院农产品质量安全与营养研究所, 杭州 310021)

³(丽水市农林科学研究院, 丽水 323000)

⁴(农业农村部农业转基因生物溯源重点实验室, 杭州 310021)

摘 要 随着中医药事业的不断发展,药材质量安全日益受到关注。其中,真菌毒素污染不仅影响中药材质量,而且可能存在毒性,严重时对人体具有致癌、致畸、致突变等危害,已成为中药材安全性重点关注的问题之一。快速准确检测中药中真菌毒素对保障中药材质量安全意义重大。光学生物传感器具有操作简单、响应快速、灵敏度高和准确性好等优点,已被广泛用于真菌毒素的快速检测。纳米材料具有独特的物理化学性质,被广泛用于光学生物传感器中。本文综述了近年来基于纳米材料的光学生物传感器用于真菌毒素检测的研究进展,包括各种光学生物传感器的原理、应用特点及构建方法,并着重分析了中药材的主要基质成分对光学生物传感器的影响,讨论了光学生物传感器用于中药中真菌毒素检测所面临的挑战。

关键词 纳米材料; 中药; 真菌毒素; 光学生物传感器; 评述

中医药是我国大健康产业的瑰宝,凝聚了中华民族几千年来运用自然资源对抗疾病的经验与智慧,具有疗效独特、资源丰富和毒副作用低等特点^[1],在多种重大疾病防治中起到积极作用^[2-4],在世界范围内逐渐被广泛应用^[5]。随着中药需求量的增加,其质量和安全问题也日益暴露^[6]。中药材大多以植物为主,也包括一些动物^[7]以及矿物^[8]。其中,植物药和动物药基质成分复杂,在种植(养殖)、采收、加工、贮藏和运输等过程中容易受到产毒真菌和真菌毒素(Mycotoxin)污染。被污染的中药材,不仅会失去营养及药用价值,而且可能存在毒性,严重时还可能对人体产生致畸、致癌、致突变和肝肾毒性等危害。因此,加强中药的品质管理和安全检测对保障中药材疗效和人体健康具有重要的意义。

真菌毒素是真菌产生的次级代谢产物。中药中的主要污染真菌毒素种类包括黄曲霉毒素、赭曲霉毒素、T-2 毒素、呕吐毒素、玉米赤霉烯酮和展青霉素等^[9]。受中药成分复杂多样、产地环境各异等因素影响,不同种类的中药材以及药材的不同药用部位污染的真菌毒素的种类可能不同(见电子版文后支持信息表 S1)。其中,毒性最强、被国际癌症研究机构(IARC)划分为 1A 类致癌物质的黄曲霉毒素常见于粮谷类、种子类或油性成分多、富含多糖、脂肪、蛋白质的动物类及发酵类药材中^[10-13];而被划分为 2B 类致癌物的赭曲霉毒素常污染与粮谷类基质类似的药材^[14]。鉴于真菌毒素对人类和动物健康的严重危害,不同国家和组织制定了真菌毒素的限量标准及推荐检测方法(见电子版文后支持信息表 S2),为中药中真菌毒素的监测提供了参考。

目前,用于中药中真菌毒素的常用检测方法包括薄层色谱法(TLC)^[15]、气相色谱法(GC)^[16]、液相色谱法(LC)^[17]和液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)^[18]等。但是,TLC 法样品前处理过程复杂、操作费时;GC、LC 和 LC-MS/MS 方法虽然可以精确分析真菌毒素的含量,但是需要昂贵的大型仪器以及专业人员操作,耗时较长,不适合中药材的现场快速筛查。

生物传感器具有特异性强、灵敏度高和快速简便等优势,在真菌毒素检测领域发展迅速。其中,光学生物传感器利用生物识别元件将目标物的信号转换为光学信号输出,具有操作简单、响应快速等优

2022-10-13 收稿; 2023-02-07 接受

浙江省重点研发项目(No. 2021C02062)、国家自然科学基金项目(Nos. 32072303, 32172307)和浙江省教育厅科研项目(No. Y202044948)资助。

* E-mail: chengkejun2011@126.com; wangliually@126.com; xiahongxu126@126.com

势,受到研究人员和生产企业高度关注^[19-21]。随着材料化学和纳米技术的快速发展,具有特殊光学性质的纳米材料也促进了各种光学生物传感器的创新与应用^[22]。本文结合光学生物传感器的构建原理,着重介绍了基于纳米材料的新型光学生物传感器在中药中真菌毒素检测中的应用进展,分析了中药的主要基质成分对光学生物传感器性能的影响,探讨了基于纳米材料的光学生物传感器用于中药中真菌毒素检测面临的主要困难和挑战。

1 基于光学生物传感器的真菌毒素检测方法

利用光学探针特异识别目标分析物,继而将分析物信号转导为光信号,是光学生物传感器的主要检测原理。按照光学信号的输出原理,光学生物传感器可以分为荧光传感器、比色传感器、化学/电化学发光传感器、表面增强拉曼散射传感器和偏振光传感器等(图 1)。本节根据信号输出方式,分别介绍各种光学生物传感器的原理及其在真菌毒素检测中的最新应用进展。

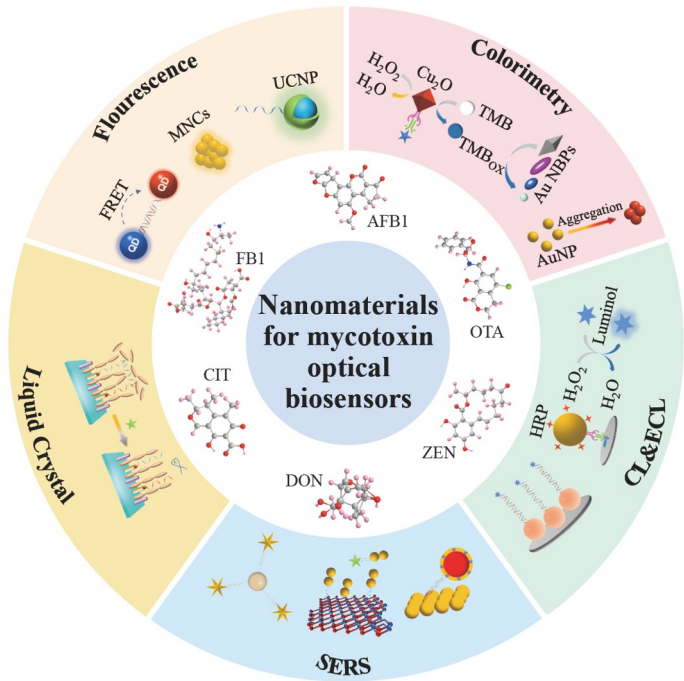


图1 用于真菌毒素检测的光学生物传感器

AFB1,黄曲霉毒素 B1; OTA,赭曲霉毒素 A; ZEN,玉米赤霉烯酮; DON,脱氧雪腐镰刀菌烯醇; CIT,桔青霉素; FB1,伏马毒素 B1; FRET,荧光共振能量转移; QDs,量子点; MNCs,金属纳米团簇; UCNPs,上转换纳米粒子; TMB, 3,3',5,5'-四甲基联苯胺; Au-NBPs,金纳米棒; AuNP,金纳米粒子; HRP,辣根过氧化物酶; CL,化学发光; ECL,电化学发光; SERS,表面增强拉曼光谱

Fig.1 Illustration of optical biosensors for mycotoxin detection

AFB1, aflatoxin B1; OTA, ochratoxin A; ZEN, zearalenone; DON, deoxynivalenol; CIT, citrinin; FB1, fumonin B1; FRET, fluorescence resonance energy transfer; QDs, quantum dots; MNCs, metal nanoclusters; UCNPs, upconversion nanoparticles; TMB, 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine; Au-NBPs, gold nanobipyramids; AuNP, gold nanoparticles; HRP, horseradish peroxidase; CL, chemiluminescence; ECL, electrochemiluminescence; SERS, surface enhanced Raman spectroscopy

1.1 基于荧光传感器检测真菌毒素

荧光传感器是利用目标物和识别元件之间相互作用引起荧光信号的变化而实现目标物分析的方法。荧光传感器具有灵敏度高优势,是目前最常用的光学检测方法^[23-24]。传统的荧光传感器是利用有机荧光染料(如花菁结构或黄嘌呤染料)作为探针标记物实现荧光信号输出,大多数有机染料的光稳定性差(如聚集诱导猝灭、pH 敏感和易光漂白等),制约了荧光生物传感器的灵敏度和稳定性^[25-26]。发光纳米材料(如半导体量子点、上转换纳米粒子、金属纳米团簇和金属有机骨架等)表现出更加优异的光学

性质,在荧光生物传感器中具有重要的地位。

量子点(Quantum dots, QDs)一般为球形或类球形,粒径在 2~20 nm 范围内。荧光共振能量转移(Fluorescence resonance energy transfer, FRET)是常用的荧光传感方式,但利用传统有机荧光染料进行 FRET 分析的主要挑战在于供体和受体的发射和吸收谱带之间的串扰^[27]。由于 QDs 具有激发谱带宽、发射谱带窄、斯托克斯位移大等特点,将其用作 FRET 传感供体具有明显优势^[28-29]。Wang 等^[30]将银纳米立方体作为能量受体修饰在适配体上, ZnS 量子点作为能量供体修饰在与适配体互补的 DNA 链上,利用 AFB1 与互补链竞争性结合适配体构建的 FRET 传感器具有较高的灵敏度(检出限为 2.67 pg/mL)(图 2A)。Tang 等^[31]利用纳米抗体连接两种尺寸不同、分别充当能量供体和受体的量子点,构建了 FRET 免疫传感器检测 OTA,单步测定可在 5 min 内完成,检出限为 5 pg/mL。由于供、受体之间的 FRET 效率与其空间距离密切相关,常规使用的单克隆抗体(150 kDa)体积大,用于连接供受体导致距离过大,限制了能量传递效率,而易于表达纯化且尺寸小的纳米抗体(~15 kDa)可以有效优化供受体距离,提高 FRET 效率。此外,纳米抗体的另一优势是可以将多种标签融合在其结构中,目前已成为生物传感器中有前途的单克隆抗体替代品^[32]。Su 等^[33]用 OTA 纳米抗体与超折叠绿色荧光蛋白偶联构建的双功能 OTA 识别探针作为 FRET 供体, QDs 为受体,发展了一种纳米免疫传感器,可灵敏检测低至 5 pg/mL 的 OTA。碳量子点(Carbon dots, CDs)是一种良好的电子供受体,其荧光可以被多种物质猝灭。Singh 等^[23]利用 AFB1 猝灭石墨烯 QDs 荧光的特性,发展了一种检测 AFB1 的方法,检出限可达到 0.158 ng/mL。但由于 CDs 的荧光容易受到多种物质猝灭,这种方法的选择性并不高。与之相比,适配体对目标物具有较高选择性,目前研究发现,很多纳米材料对 DNA 的吸附能力可以随环境改变而改变,利用这个特点, Qian 等^[34]利用适配体开发了双重真菌毒素检测方法,将 CDs 和 CdZnTe QDs 作为纳米供体分别标记在 AFB1 和 OTA 的适配体上,实现了 AFB1 和 OTA 的同时检测。该方法可能成为真菌毒素多重分析的通用策略。

上转换纳米粒子(Upconversion nanoparticles, UCNPs)是可将低能激发光子转为高能荧光发射的光学纳米材料,具有发射峰窄、可被近红外光激发、反斯托克斯位移大、光稳定性好、不易受环境影响、发射颜色可调和化学稳定性高等优点,广泛应用于生物荧光标记和成像^[35-36]。Zhao 等^[37]利用 UCNPs 优异的发光特性,将其修饰在适配体上作为信号识别的荧光探针,利用金属有机骨架(Metal-organic framework, MOF)对适配体良好的吸附能力和 UCNPs 的猝灭能力,结合 T-2 毒素存在时与适配体结合导致 UCNPs 荧光恢复,构建了用于 T-2 毒素检测的 FRET 适配体生物传感器,检出限可低至 0.087 ng/mL。Lin 等^[38]以 UCNPs 作为发光标签修饰在单链 DNA(ssDNA)信号探针上,利用 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ MXene 对 ssDNA 的吸附使 UCNPs 发射的光由于 FRET 被猝灭,通过 CRISPR/Cas12a 对适配体特异识别反式切割 UCNPs 上修饰的 ssDNA 探针使 UCNPs 游离从而荧光恢复; DON 存在时与适配体结合,从而影响了 CRISPR/Cas12a 活性。该方法针对 DON 的检出限为 0.64 ng/mL。CRISPR/Cas 具有直接识别核酸的能力,且具有高碱基分辨率及附属核酸切割活性,常用于各种分子诊断的生物传感器的研制,具有很强的通

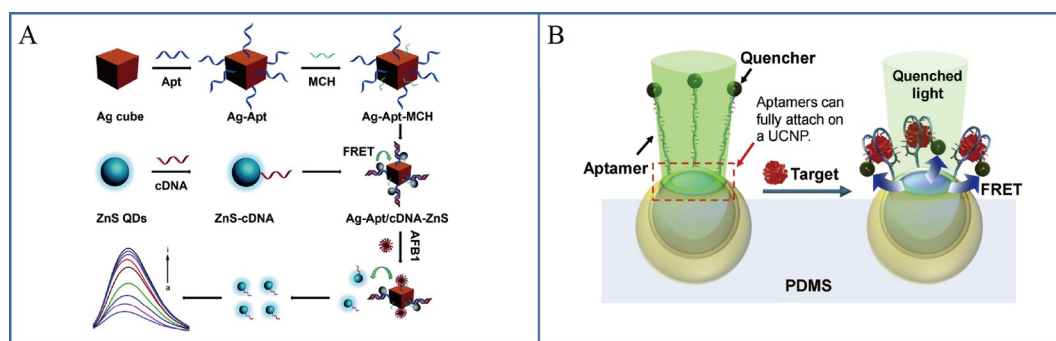


图2 基于纳米材料的荧光传感器在真菌毒素检测中应用: (A) 基于 ZnS QDs 检测 AFB1 的荧光传感器^[30]; (B) 用于 OTA 检测的“金纳米帽”支持的 UCNPs 固相荧光传感器^[41]

Fig.2 Application of fluorescent biosensor based on nanomaterials in mycotoxins detection: (A) Fluorescent biosensor for detection of AFB1 based on ZnS QDs^[30]; (B) UCNPs solid-phase fluorescent sensor supported by "Gold-nanocap" for OTA detection^[41]

用性^[39-40]。该方案将核酸适配体集成到 CRISPR/Cas12a 体系中,基于适配体的小分子靶标识别转换为 CRISPR/Cas12a 对报告探针的切割,同时具有催化放大信号功能,进一步拓展了 CRISPR/Cas 在真菌毒素检测领域中的应用。虽然纳米材料的使用使传感器的性能显著提升,但是溶液中纳米材料与生物受体偶联物会聚集且重复使用较为困难,影响传感器的稳定性。为解决该问题, Kim 等^[41]将含有金纳米帽(Gold-nanocap)的 UCNPs 部分固定在聚二甲基硅氧烷(PDMS)上,构建了基于 FRET 的固相传感器用于 OTA 检测:通过适配体连接 UCNPs 及猝灭剂,无 OTA 时,适配体呈直立状态,UCNPs 因远离猝灭剂,发射较强的光;OTA 存在时,适配体形成 G-四链体结构,猝灭剂靠近 UCNPs 使其猝灭。相比于液相生物传感器,该方法因避免了纳米粒子聚集而更加稳定(图 2B)。

某些金属纳米团簇(Metal nanoclusters, MNCs),如 AuNCs、AgNCs 和 PtNCs 等,因其特有的量子尺寸效应、荧光光谱可调、良好的水溶性、易与小生物分子结合以及合成方法简单等特点,被广泛应用于生物分子检测和细胞标记^[42-44]。聚多巴胺纳米球(Polydopamine nanospheres, PDANSs)能够吸附 ssDNA 及 NMM 等染料分子,并可猝灭铜纳米团簇(CuNCs)等纳米材料的荧光。利用该特征, Guo 等^[45]将 CuNCs 修饰在 OTA 适配体的互补链(CuNCs-cDNA)上。当不存在 OTA 时, CuNCs-cDNA 因与适配体杂交形成双链难以吸附在 PDANSs 上,发射出较强的荧光;加入 OTA 后, OTA 竞争结合适配体导致 CuNCs-cDNA 释放,被 PDANSs 吸附,使 CuNCs 荧光降低,并促使 NMM 从 PDANSs 上释放。与此同时, OTA 与适配体结合导致适配体构象变化,形成 G-四链体,可与 NMM 染料结合并实现强荧光发射。基于该原理的双荧光发射比率传感器的检出限低至 0.045 ng/mL。Wu 等^[46]借助 T7 核酸外切酶辅助的级联循环扩增,利用 3 个发夹型 DNA,在微量 AFB1 存在时即可触发级联靶标循环扩增得到大量 AgNCs 合成模板序列 TP,体系的荧光强度与 AFB1 浓度的对数呈线性相关,实现了 AFB1 的定量检测,线性范围为 1 pg/mL~100 ng/mL,检出限低至 0.89 pg/mL。

1.2 基于比色传感器检测真菌毒素

比色法主要是通过将靶标与识别元件的响应行为转换为颜色变化,并比较或测量有色溶液颜色深浅或色相变化来确定待测组分及其含量的方法。比色生物传感器具有简单、低成本和易操作等优点,在临床生化分析、食品安全和环境污染监控等领域发挥着重要作用^[47-49]。目前,用于构建比色传感器的纳米材料主要包括具有局域表面等离子体共振(Localized surface plasma resonance, LSPR)效应的贵金属纳米材料和具有类酶活性的纳米材料。

贵金属纳米粒子(如 AuNPs 和银纳米粒子(AgNPs))由于材料表面对光子能量产生很强的吸收作用而在光谱上表现出强的共振吸收峰(即 LSPR),显示出独特的颜色。贵金属纳米粒子的元素组成、大小、形状和聚集状态都会引起 LSPR 的显著变化,并产生肉眼可见的颜色变化^[50-51]。Zhu 等^[52]将 OTA 二抗标记在具有类过氧化物酶活性的 Cu₂O 八面体(Cu₂O@Ab₂)上,利用 Cu₂O 催化氧化 TMB 产生的 TMB²⁺蚀刻 Au-NBPs。OTA 的加入会导致固定化 Cu₂O@Ab₂ 的量减少,增强 Au-NBPs 的蚀刻,伴随 LSPR 峰明显蓝移。该传感器线性范围为 1 ng/L~5 μg/L,检出限为 0.47 ng/L(图 3A)。He 等^[53]利用修饰适配体的磁珠和修饰互补链的碱性磷酸酶(ALP)杂交形成 OTA 识别探针。OTA 存在时与适配体结合导致其与互补链解离,经磁分离后上清液中存在的 ALP 催化抗坏血酸 2-磷酸酯水解生成还原剂抗坏血酸,继而将 MnO₂ 纳米片还原成 Mn²⁺, Mn²⁺诱导 AuNPs 产生聚集,溶液由红变蓝,该方法检测 OTA 的检出限低至 5 nmol/L(图 3B)。由于 AgNPs 比 AuNPs 成本更低且具有更高的消光系数和对折射率变化更敏感, Lertsri 等^[54]设计了一种由带正电荷的花二亚胺(PCPD)诱导 AgNPs 聚集的适配体传感器,用于 AFB1 的可视化检测;无 AFB1 时,PCPD 与带负电的适配体结合;AFB1 存在时,由于 AFB1 与适配体具有高亲和性,使 PCPD 游离,并诱导 AgNPs 聚集,使其 LSPR 发生显著变化,该方法检出限低至 0.09 ng/mL。尽管贵金属纳米颗粒已广泛应用于比色传感器,但其稳定性、尺寸均一性和重复使用等方面在实际分析应用中仍存在问题,需通过化学偶联、静电作用和物理吸附等方法提高胶体稳定性。此外,还可以开发新型纳米材料来改善识别和转导的过程以提高传感器的灵敏度^[55]。

纳米酶是具有类酶活性并遵循酶动力学的纳米材料,可在比较宽泛的温度范围和严苛的条件下催化多种具有高底物特异性的生化反应^[56-57],越来越广泛地应用于生物传感器。目前,纳米酶主要有金属

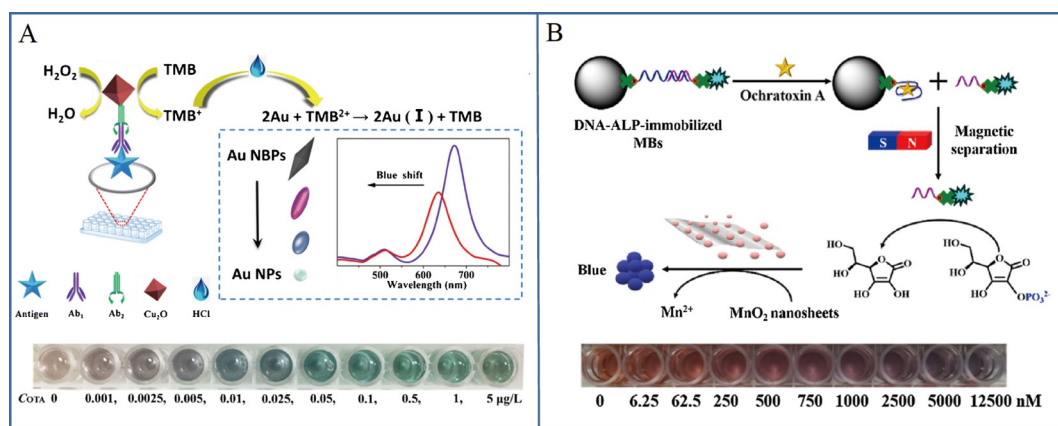


图3 (A)基于 Au-NBPs 检测 OTA 的多比色免疫传感器^[52]; (B)基于碱性磷酸酶(ALP)诱导的 AuNPs 聚集的比色适配体传感器^[53]

Fig.3 (A) Dimer-colored immune sensor based on Au-NBPs for detection of OTA^[52]; (B) Colorimetric aptasensor based on alkaline phosphatase (ALP) induced aggregation of AuNPs^[53]

纳米粒子^[58-59]、金属氧化物^[60-61]、金属硫化物^[47]、碳基纳米酶和金属有机骨架^[62]等类型。类过氧化物酶是最常见的一类纳米酶,通常以 H_2O_2 为电子受体催化底物氧化,并使显色底物氧化以产生可检测的信号^[63-64]。Qian 等^[59]利用 AuNPs 的类过氧化物酶活性,结合 TMB 作为显色底物,构建了检测 AFB1 的比色传感器,检出限低至 35 $\mu\text{g/mL}$ 。金属有机凝胶(Metal-organic gel, MOG)具有多孔网状结构,有丰富的催化活性位点。Li 等^[62]将 PtNPs 负载于金属有机凝胶(PtNPs/Fe-MOG)上,并修饰 FB1 适配体,将磁珠修饰在互补链上,构建了 FB1 适配体生物传感器。FB1 不存在时,适配体与互补链结合,使 PtNPs/Fe-MOG 协同催化 TMB 及 H_2O_2 显色反应; FB1 存在时,FB1 与适配体亲和力更高,因此与互补链竞争结合适配体,导致互补链与适配体解离,磁分离后,磁珠上没有结合 PtNPs/Fe-MOG,无法催化显色反应,该方法检出限可低至 2.7 $\mu\text{g/mL}$ 。此外,在纳米材料表面吸附 DNA 也可以提高纳米酶的催化活性。Lv 等^[65]发现,吸附 OTA 适配体的 MnO_2 纳米花催化底物 TMB 的显色反应的活性显著增强,对 OTA 的检出限低至 0.069 ng/mL 。

1.3 基于化学发光/电化学发光传感器检测真菌毒素

化学发光(Chemiluminescence, CL)是体系中某种物质吸收化学反应释放的能量从基态跃迁至激发态,不稳定的激发态分子回到基态的过程中将能量以光的形式释放出来的现象。CL 无需外加激发光,可以避免光散射或自发荧光造成的背景干扰。鲁米诺是最常用的 CL 试剂,被 H_2O_2 氧化后发出蓝色的光(波长 425 nm),但其量子产率(QY)比较低(1%~5%之间)^[66-67]。引入金属离子、过氧化物酶及类过氧化物酶、纳米材料等可以加快鲁米诺化学发光反应速度,增强体系发光强度^[68-70]。Fan 等^[71]将 BSA 修饰的真菌毒素抗原修饰在 AgNPs 上,并将其固定在玻璃芯片上。利用 HRP 修饰的 IgG 对真菌毒素特异识别,可将 HRP 固定,进而催化 CL 底物发光;由于 AgNPs 表面等离子体共振(SPR)峰与 CL 底物发射峰重叠,并且二者的空间距离在 5~20 nm 之间,可通过 SPR 现象放大芯片上产生的 CL;靶标与 IgG 抗体特异结合会导致固定的 HRP 减少,游离的 HRP 在经洗涤后无法催化 CL 产生。将该方法用于红曲中 3 种真菌毒素(CIT、AFB1 和 OTA)的同时检测,检出限分别为 0.39、0.44 和 0.83 $\mu\text{g/mL}$ (图 4A)。

电化学发光(Electrochemiluminescence, ECL)是在电极上施加一定波形的电化学信号后,修饰在电极表面的发光体或者共反应试剂等发生多步反应最终生成激发态,再回到基态后产生的发光现象。ECL 发光材料按试剂不同,主要分为有机物(酰肼、多环芳烃)^[72]、无机物(Ru、Ir 配合物)^[73-75]、纳米材料(量子点、贵金属纳米簇)^[76-77]和镧系元素(Tb^{3+} 、 Eu^{3+})^[78-79]等。Li 等^[74]通过适配体及其互补链杂交来连接 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 和二茂铁(Fe),通过调整适配体和互补链的长度改变 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 和 Fe 的距离调控 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 的 ECL,利用氮掺杂石墨烯量子点与 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 之间的短电子转移距离和低能量损失,提高 ECL 效率,并将 AuNPs 组装在修饰的电极表面并固定互补链,Fc-Apt 与互补链杂交后固定在电极表面,

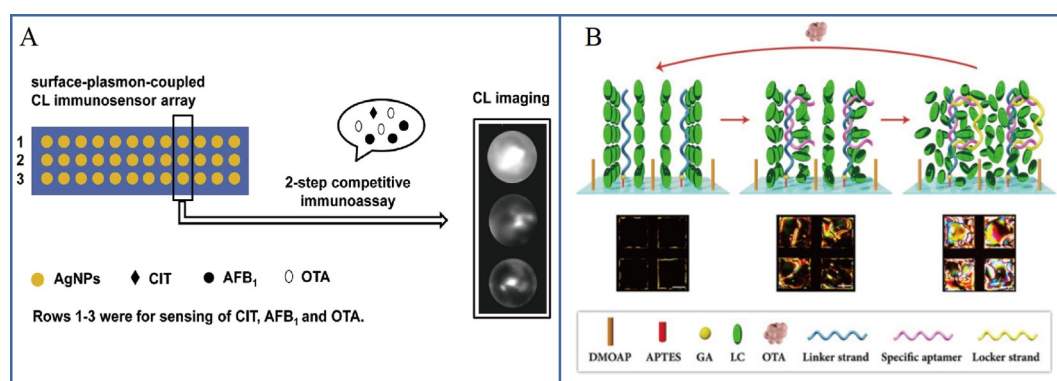


图4 (A)银纳米粒子(AgNPs)修饰的高通量免疫传感器同时检测多种真菌毒素^[71]; (B)基于p型分子开关的液晶适配体传感器检测OTA^[93]

Fig.4 (A) Silver nanoparticles (AgNPs)-modified high-throughput immunosensor for simultaneous detection of multiple mycotoxins^[71]; (B) Liquid crystal apta-sensing platform based on p-shape molecular switch for detection of OTA^[93]

产生电化学信号并增强电化学发光信号; AFB1存在时与Fc-Apt结合,使其脱离电极,导致电化学及ECL信号明显下降,该传感器检出限低至0.03 pg/mL。Wei等^[80]利用磁性UiO-66-NH₂和光纤介导的均相发光免疫传感器分别用于预富集和检测痕量OTA,并开发了便携式化学发光器件作为信号读出装置,30 min内即可完成OTA的现场检测,检出限为4.38 ng/mL。

1.4 基于表面增强拉曼散射生物传感器检测真菌毒素

表面增强拉曼光谱(Surface enhanced Raman spectroscopy, SERS)是基于待测分子接近、吸附到某些经特殊处理的金属纳米结构的粗糙表面(如AuNPs和AgNPs),拉曼散射得到增强的分子振动光谱技术^[81-82]。SERS技术具有单分子水平检测、采集速度快以及可无损分析等优点,且不受光漂白、光谱重叠的影响,在真菌毒素检测方面有很大潜力^[83-86]。拉曼增强基底的制备是SERS技术的核心,一般通过引入纳米级粗糙度的结构,产生大量“热点”,达到增强信号的效果。由于拉曼检测信号重复性和稳定性低,可以通过结合其它纳米材料提高检测性能。Li等^[87]用DNA纳米镊子动态控制两个AgNPs的距离,构建的AFB1适配体SERS传感器检出限低至5.07 pg/mL。Wu等^[88]利用Ti₃C₂T_x MXene吸附单链适配体修饰的AuNPs二聚体“热点”使SERS信号显著增强;而AFB1存在时,AFB1与适配体结合,导致“热点”从Ti₃C₂T_x MXene脱离,SERS信号降低。该适配体传感器检出限低至0.6 pg/mL,线性范围为0.001~100 ng/mL。MXenes二维纳米材料具有比表面积大、导电性强和亲水性好等优势,在SERS领域表现出巨大潜力。但其结构及产率容易受到许多因素影响,如蚀刻溶液、反应温度和MAX相粒度等,会影响SERS传感器的性能。因此需要更多的合成策略及表面修饰方法,以提高MXene在生物传感器中的实用性。Wang等^[89]利用OTA适配体修饰的金纳米星和Cy3修饰的互补DNA功能化AuNPs的杂交制备OTA荧光和表面增强拉曼散射(FL-SERS)双模生物传感器,与传统的单信号适配体传感器不同,这种新颖的双模式适配体传感器可靠性更高、检测灵活性更强且抗干扰能力更强。

1.5 基于液晶偏振光传感器检测真菌毒素

液晶(Liquid crystals, LCs)是一种精细的功能性软物质,具有光学各向异性、双折射和长程取向有序等独特的物理特性^[90]。基于液晶的传感平台可以在几秒钟内将物理化学和生物变化放大并转换为光信号,实现肉眼观察。Khoshbin课题组利用OTA适配体及其互补链构建了具有特殊形态的DNA结构以破坏液晶分子有序排列,产生偏振光,OTA存在与适配体结合破坏DNA结构,液晶分子规则排列,偏振光消失。由于不同DNA结构对液晶分子方向破坏效率不同,检出限随构建的DNA结构变化,先后比较了π型DNA结构^[91]、DNA双链^[92]和p型DNA结构^[93],其中p型DNA结构具有高破坏效果(图4B),检出限分别为0.63、0.047和0.0078 amol/L。

2 光学生物传感器在中药真菌毒素检测中的应用

中药的药效物质组成部分不仅具有极高的药用价值,其基质含有多种化学成分,如生物碱类、萜类和糖类、苷类、蛋白类、有机酸类和无机成分等,容易发生霉变;而且中药材品种繁多,所含化学成分差异大,容易污染的真菌毒素种类也不尽相同。因此,针对不同中药中的真菌毒素污染,适用的检测方法也不同。本节将从不同基质成分角度介绍相应中药种类、真菌毒素污染情况以及用于检测真菌毒素的新型光学生物传感器。

2.1 含淀粉及多糖类药材

薏苡仁、莲子、麦芽、山药、黄芪和芡实等中药材中淀粉及多糖的含量较高,易受霉菌毒素污染,产生黄曲霉毒素^[94]。针对莲子中的 AFB₁ 检测, Sun 等^[95]引入具有高 ECL 性能及稳定物理化学性质的 ZnCdS@ZnS 量子点作为信号放大发光体,将其固定在金电极表面构建了无标记的 ECL 免疫传感器,其检出限可低至 0.01 ng/mL(图 5A)。Hu 等^[96]利用待测目标 AFB₁ 与固定在试纸条上的抗原竞争结合胶体金标记的抗体的原理构建了免疫层析试纸条,并将其用于检测天麻、茯苓、白芨和白芷 4 种富含淀粉及多糖的药材, 15 min 内即可用肉眼观察结果,检出限低至 0.1 ng/mL。此外,为了同时实现 AFB₁ 目视检测及定量检测, Jiang 等^[97]使用树枝状铂纳米颗粒(DPN)作为压力/比色双读出探针检测 AFB₁, DPN 在测试线上积累的黑线作为目视观察结果,同时 DPN 具有类过氧化物活性,剪下测试线后置于装有 H₂O₂ 小瓶中反应分解产生压力变化,并通过手持式压力计检测得到定量结果,检出限为 0.03 ng/mL(图 5B)。除 AFB₁ 外,莲子和薏苡仁也极易污染 ZEN。为了实现薏苡仁中 ZEN 的高通量检测, Liu 等^[98]构建了一种基于间接竞争原理的多通道磁珠微探针技术(MBPA),引入磁珠作为载体,特异性一抗作为靶标捕获探针,功能化羊抗鼠免疫球蛋白 G 标记异硫氰酸荧光素的二抗作为荧光信号探针,通过检测样品中 ZEN 与其抗体的竞争反应,结合快速磁分离和灵敏的荧光检测, 20 min 内实现了 36 个样品的同时分析,检出限低至 2.03 ng/mL。

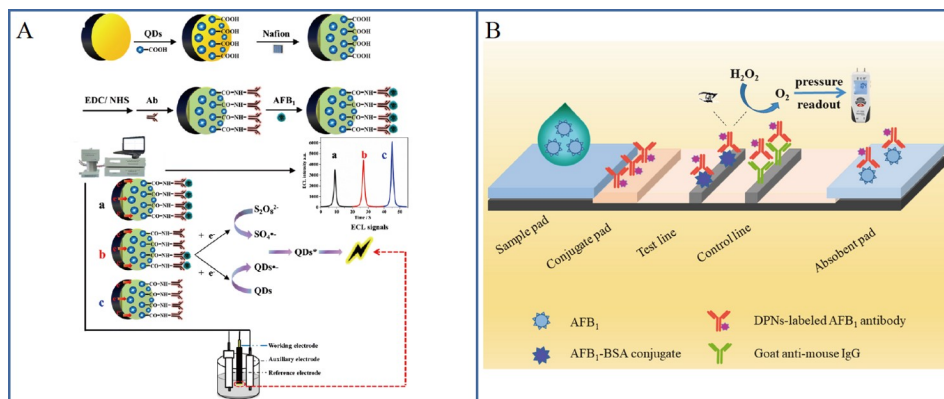


图5 (A)用于莲子中 AFB₁ 检测的 ZnCdS@ZnS 量子点电化学发光(ECL)免疫传感器^[95]; (B)用于薏苡仁和莲子中 AFB₁ 检测的压力/比色双读出免疫层析试纸条^[97]

Fig.5 (A) ZnCdS@ZnS QDs ECL immunosensor for detection of AFB₁ in nelumbinis semen^[95]; (B) Pressure/colorimetric dual-readout immunochromatographic test strip for detection of AFB₁ in coicis semen and nelumbinis semen^[97]

2.2 含挥发油和油脂类药材

肉豆蔻、陈皮、槟榔、柏子仁、桃仁、杏仁、使君子 and 酸枣仁等药材富含油脂,容易污染黄曲霉毒素。在近三年国家药品抽检中,槟榔、远志和柏子仁等黄曲霉毒素含量检出超标次数最多。酸枣仁富含油脂类化合物,产地调研发现,酸枣仁加工过程中鲜果浸泡、脱果肉、水洗和破壳等环节容易发生霉变。孙梅峰等^[99]测得 72 批酸枣仁样品中 AFB₁ 检出率为 44.4%,平均污染水平为 5.42 μg/kg,最高污染水平为 55.09 μg/kg。槟榔是一种药食兼用的食品,可以治食积满闷或痰涎呕吐,或脾胃两虚、食不消化等。然而,由于槟榔易受产毒霉菌污染,对其 AFB₁ 含量进行筛查及检测非常必要。Zhang 等^[100]利用

PicoGreen 染料与 ssDNA 结合可发射荧光以及 AFB1 与 PicoGreen 竞争结合适配体的特点,构建了无标记的荧光适配体传感器用于槟榔中痕量 AFB1 的检测,检出限低至 $0.1 \mu\text{g/L}$ 。杏仁同样富含油脂,容易污染黄曲霉毒素。Khansili 等^[61]用姜黄素(Cur)功能化的 TiO_2 NPs 负载在层状结构膨润土($\text{Ti}(\text{Cur})\text{O}_2\text{Bent}$)上,构建了用于杏仁及玉米中黄曲霉毒素(AFs)无标记检测的比色传感器, TiO_2 提高了 Cur 与 AFB1 的结合能力, $\text{Ti}(\text{Cur})\text{O}_2\text{Bent}$ 在碱性环境下与 AFB1 生成的酚类阴离子发生静电结合,同时吸收光谱发生蓝移,随 AFB1 浓度增加,溶液颜色由红变黄。该方法检出限低至 4.37 ng/mL 。

2.3 酸性果实类药材

酸性果实类药材主要有枸杞子、五味子、山楂和山茱萸等。这类药材容易受到黄曲霉毒素和展青霉素污染,采收之后随着加工过程的推进,真菌总数及黄曲霉毒素检出量依次增高^[101]。为了实现酸性果实中真菌毒素的检测, Wu^[102]等开发了 T7 核酸外切酶辅助三重链取代循环扩增的方法。含有 AFB1 的核酸适配体发夹探针在 AFB1 的存在下发夹打开并触发后续的链取代反应;在 T7 外切酶的辅助下,上述链取代反应的双链产物被消化并释放出单链 DNA;通过所释放的单链 DNA 依次触发后续的 T7 外切酶辅助的链取代反应,从而实现三重级联信号放大;同时,各循环反应生成的单链 DNA 可作为 AgNCs 生成的模板,在 NaBH_4 和 AgNO_3 存在下实现荧光信号原位生成。该方法的检出限可低至 0.19 pg/mL ,用于枸杞中 AFB1 检测的回收率为 $94.6\%\sim 104.7\%$ 。

2.4 发酵类药材

发酵类药材(如六神曲、淡豆豉和红曲等)主要由药材经曲霉和青霉的发酵作用制备得到。由于发酵过程中容易混入产毒真菌,引发多重真菌毒素污染。任凤兰等^[103]检测了不同批号的 25 批含豆豉和曲类的中药制剂中的 AFB1 含量,检测结果显示 96% 的样品都存在 AFB1 污染。为了实现多重真菌毒素的同时检测, Huang 等^[104]使用结合 FB1 和 DON 抗体的金纳米花制备了具有两条 T 线的免疫层析试纸条用于同时检测两种毒素,该试纸条的裸眼检出限为 5.0 ng/mL ,检测可在 5 min 内完成,用该试纸条检测 47 批六神曲,结果与 HPLC 具有一致性,适用于批量样品的现场检测。为了实现多重真菌毒素的高通量检测, Zong 等^[105]通过在 AuNPs 表面组装高比例 HRP 和 IgG 作为化学发光信号标签(HRP@AuNP-IgG),利用酪胺信号放大(TSA)的酶介导系统将更多的 HRP 沉积在 HRP@AuNP-IgG 周围,实现二级信号扩增,信号放大约 50~57 倍,结合多组分免疫传感器阵列,可用于 20 个红曲样品中痕量 CIT、AFB1 和 OTA 的同时检测,检出限分别为 0.06、0.08 和 0.08 pg/mL 。

2.5 动物类药材

动物类药材多含氨基酸、蛋白质和脂肪等成分。由于其富含丰富的营养,储存过程中容易发生霉变,导致真菌毒素污染。刘丽娜等^[106]采用免疫亲和净化 HPLC 柱后光化学衍生荧光检测法测定 16 种 64 批动物药,其中有 6 种 24 批动物药检出黄曲霉毒素,检出率为 37.5%,其中,僵蚕、土鳖虫、蜂房和九香虫中共有 13 批超过了《中国药典》限量标准。但是,目前针对动物药中黄曲霉毒素残留量的研究仍然较少,应针对易污染药材开展真菌毒素检测研究,并完善动物药的质量标准,保障药材的食用安全。

总体而言,我国中药中真菌毒素检测的相关研究还不充分,开展中药材及其深加工产品中真菌毒素污染检测方法的研究非常重要和必要。随着对中药材质量安全的关注增加以及纳米技术的发展,基于纳米材料的光学生物传感器用于中药中真菌毒素检测的相关研究逐渐增加。不同基质成分易污染真菌毒素存在差异,同时同一植物不同药用部位易污染真菌毒素也存在差异。鉴于中药材中易污染真菌毒素具有多种类且痕量的特点,亟需开发中药材中多种真菌毒素的快速检测方法。光学生物传感器易于观察、操作方便,适用于中药材中真菌毒素的检测。

3 结论与展望

光学生物传感器具有响应快速和操作简单的优势,已被视为检测中药材中的真菌毒素的有力工具。将纳米材料与信号扩增策略结合使用,有利于提高灵敏度和特异性。尽管基于纳米材料的光学生物传感器近年来已取得了长足的发展,但是将其用于中药中真菌毒素的检测仍面临诸多挑战。(1)纳米材料的形状、尺寸和均匀性会影响检测信号的重复性,纳米材料的空间位阻和表面电荷会影响识别元件对

目标毒素的识别与结合,纳米材料的物化稳定性很容易受到环境条件的影响。需开发催化活性高、物理化学性质稳定、化学基团丰富、分散性好和生物安全性高的新型纳米材料。(2)由于中药复杂的基质成分,目前仍没有适用于各种药材中真菌毒素检测的通用光学生物传感器。例如,中药材中含有香豆素及会产生荧光的生物碱和萜类化合物,对荧光生物传感器会产生干扰;含有色素的中药对比色生物传感器也存在干扰。因此,需要根据中药成分的不同选择合适的提取方法,并通过纯化富集减小基质对传感器性能的影响,从而获得更高的选择性和灵敏度。(3)目前用于真菌毒素检测的常规识别元件的使用仍受到诸多限制,如抗体生产周期长和成本高,而适配体与靶标亲和性受反应体系条件影响大。需进一步挖掘新型识别元件(如纳米抗体、重组抗体或仿生抗体等)在光学生物传感器中的应用价值,以克服传统识别元件的限制,构建选择性更好、灵敏度更高和通用性更强的分析方法。(4)样品中多种真菌毒素共存对传感器的检测性能提出了更高要求,可以结合微流控技术,提升传感器的多目标分析性能。此外,随着智能手机、3D 打印技术和计算机技术逐渐升级,将这些新设备和技术结合使用有助于更加便携、低成本、易操作及适用于真菌毒素现场快速检测的光学生物传感器的研制。

随着新型生物识别元件和纳米材料的发展,样品前处理和智能手机信号读取等技术的进步,光学生物传感器对中药中真菌毒素的检测性能会不断提升,中药中真菌毒素检测技术将更加快速化、通用化、便捷化、智能化和数字化。

References

- [1] LIU Zhi-Hua, SUN Xiao-Bo. *Acta Pharm. Sin.*, 2012, 47(6): 696-703.
刘志华, 孙晓波. *药学学报*, 2012, 47(6): 696-703.
- [2] LYU M, FAN G, XIAO G, WANG T, XU D, GAO J, GE S, LI Q, MA Y, ZHANG H, WANG J, CUI Y, ZHANG J, ZHU Y, ZHANG B. *Acta Pharm. Sin. B*, 2021, 11(11): 3337-3363.
- [3] JIA Q, WANG L, ZHANG X, DING Y, LI H, YANG Y, ZHANG A, LI Y, LV S, ZHANG J. *Pharmacol. Res.*, 2020, 151: 104552.
- [4] JIANG H, TU H, JIN Y, WU X, LUO Z, CHEN Y, ZHANG D, WU B, WEI Y, YANG Y, ZHOU F. *Blood*, 2020, 136(Supplement 1): 31-32.
- [5] YOU L, LIANG K, AN R, WANG X. *Pharmacol. Res.*, 2022, 182: 106314.
- [6] LI Hai-Qiong. *Clin. J. Chin. Med.* 2018, 10(33): 120-121.
李海琼. *中医临床研究*, 2018, 10(33): 120-121.
- [7] LI Xi-Lin, ZHANG Tong. *J. Trad. Chin. Med. Manag.*, 2022, 30(8): 5-7.
李西林, 张彤. *中医药管理杂志*, 2022, 30(8): 5-7.
- [8] YUAN Shi-Jun, MA Qing, CHEN Ke-Li, LIU Yi-Mei, LI He-Yu, LI Juan. *Chin. Tradit. Herb. Drugs*, 2021, 52(5): 1454-1461.
袁仕君, 马青, 陈科力, 刘义梅, 李赫宇, 李娟. *中草药*, 2021, 52(5): 1454-1461.
- [9] ZHAO Xiang-Sheng, YING Guang-Yao, WEI Jian-He, SUN Hua, YANG Mei-Hua. *Chin. J. Pharmacov.*, 2018, 15(10): 608-616, 622.
赵祥升, 应光耀, 魏建和, 孙华, 杨美华. *中国药物警戒*, 2018, 15(10): 608-616, 622.
- [10] CAI Fei, GAO Wei-Wei, LI Hong-Ling, CHEN Juan, LI Zhi-Zhong. *China J. Chin. Mater. Med.*, 2010, 35(19): 2503-2507.
蔡飞, 高微微, 李红玲, 陈娟, 李志忠. *中国中药杂志*, 2010, 35(19): 2503-2507.
- [11] LIU Zhen-Ying, WANG Hao-Nan, ZHANG Zhao-Yu, XUAN Jing, LI Min, LI Zhe, ZHANG Yong-Qing. *China J. Chin. Mater. Med.*, 2022, 47(2): 385-391.
刘震营, 王浩南, 张照宇, 玄静, 李敏, 李哲, 张永清. *中国中药杂志*, 2022, 47(2): 385-391.
- [12] LI Chun-Ling, HE Jing, WANG Li-Yuan, LI Cui-Ying, LONG Kai, WENG Mei-Zhi, FENG Chi, XIE Xiao-Mei. *Chin. Tradit. Herb. Drugs*, 2022, 53(5): 1411-1417.
李春玲, 贺婧, 王立元, 李翠英, 龙凯, 翁美芝, 冯驰, 谢小梅. *中草药*, 2022, 53(5): 1411-1417.
- [13] QIN Xiao-Mao, GUO Shun-Xing. *China J. Chin. Mater. Med.*, 2011, 36(24): 3397-3401.
秦筱茂, 郭顺星. *中国中药杂志*, 2011, 36(24): 3397-3401.
- [14] ZHANG Xin, WANG Fu, CHEN Hong-Ping, LIU You-Ping. *Modern. Tradit. Chin. Med. Mater. Med. World. Sci. Tech.*, 2015, 17(11): 2381-2388.
张鑫, 王福, 陈鸿平, 刘友平. *世界科学技术-中医药现代化*, 2015, 17(11): 2381-2388.

- [15] DENG Zhe, JING Wen-Guang, LIU An. *Chin. J. Exp. Tradit. Med. Form.*, 2019, 25(7): 201-206.
邓哲, 荆文光, 刘安. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(7): 201-206.
- [16] YUE Y T, ZHANG X F, OUYANG Z, GAO W W, WU J, YANG M H. *Chromatographia*, 2009, 70(9-10): 1495-1499.
- [17] LIU Q, XIAO C, LIU H, HU Y, GUO W, KONG W. *Ind. Crops Prod.*, 2019, 127: 1-10.
- [18] CHO H D, SUH J H, FENG S, EOM T, KIM J, HYUN S M, KIM J, WANG Y, HAN S B. *Food Control*, 2019, 96: 517-526.
- [19] YU Y, LI G. *J. Hazard. Mater.*, 2022, 422: 126927.
- [20] HU X, ZHANG P, WANG D, JIANG J, CHEN X, LIU Y, ZHANG Z, TANG B Z, LI P. *Biosens. Bioelectron.*, 2021, 182: 113188.
- [21] HE K, SUN L, WANG L, LI W, HU G, JI X, ZHANG Y, XU X. *J. Hazard. Mater.*, 2022, 423: 126962.
- [22] CHEN Y, LAI Z, ZHANG X, FAN Z, HE Q, TAN C, ZHANG H. *Nat. Rev. Chem.*, 2020, 4(5): 243-256.
- [23] SINGH A K, SRI S, GARIMELLA L B V S, DHIMAN T K, SEN S, SOLANKI P R. *ACS Appl. Bio Mater.*, 2022, 5(3): 1179-1186.
- [24] SONG X, DING Q, PU Y, ZHANG J, SUN R, YIN L, WEI W, LIU S. *Biosens. Bioelectron.*, 2021, 192: 113537.
- [25] RESCH-GENDER U, GRABOLLE M, CAVALIERE-JARICOT S, NITSCHKE R, NANN T. *Nat. Methods*, 2008, 5(9): 763-775.
- [26] TINNEFELD P, CORDES T. *Nat. Methods*, 2012, 9(5): 426-427.
- [27] ZHANG X, HU Y, YANG X, TANG Y, HAN S, KANG A, DENG H, CHI Y, ZHU D, LU Y. *Biosens. Bioelectron.*, 2019, 138: 111314.
- [28] ZHANG X L, WEI C B, LI Y, YU D S. *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 2019, 116: 109-121.
- [29] WANG R, LU K Q, TANG Z R, XU Y J. *J. Mater. Chem. A*, 2017, 5(8): 3717-3734.
- [30] WANG C, ZHANG W, QIAN J, WANG L, REN Y, WANG Y, XU M, HUANG X. *Anal. Methods*, 2021, 13(4): 462-468.
- [31] TANG Z, LIU X, SU B, CHEN Q, CAO H, YUN Y, XU Y, HAMMOCK B D. *J. Hazard. Mater.*, 2020, 387: 121678.
- [32] BRUCE V J, MCNAUGHTON B R. *Anal. Chem.*, 2017, 89(7): 3819-3823.
- [33] SU B, ZHANG Z, SUN Z, TANG Z, XIE X, CHEN Q, CAO H, YU X, XU Y, LIU X, HAMMOCK B D. *J. Hazard. Mater.*, 2022, 422: 126838.
- [34] QIAN J, CUI H, LU X, WANG C, AN K, HAO N, WANG K. *Chem. Eng. J.*, 2020, 401: 126017.
- [35] LI Y, JIA D, REN W, SHI F, LIU C. *Adv. Funct. Mater.*, 2019, 29(32): 1903191.
- [36] XU Z, LI Q X, ZHANG L W, CHEN M L, TU J, CHEN W, ZHU Y Y, CHENG Y H. *Sens. Actuators, B*, 2022, 352: 131050.
- [37] ZHAO X, WANG Y, LI J, HUO B, HUANG H, BAI J, PENG Y, LI S, HAN D, REN S, WANG J, GAO Z. *Anal. Chim. Acta*, 2021, 1160: 338450.
- [38] LIN X, LI C, MENG X, YU W, DUAN N, WANG Z, WU S. *J. Hazard. Mater.*, 2022, 433: 128750.
- [39] TIAN T, QIU Z, JIANG Y, ZHU D, ZHOU X. *Biosens. Bioelectron.*, 2022, 196: 113701.
- [40] FU X, SUN J, YE Y, ZHANG Y, SUN X. *Biosens. Bioelectron.*, 2022, 195: 113682.
- [41] KIM K, JO E J, LEE K, PARK J, JUNG G Y, SHIN Y B, LEE L P, KIM M G. *Biosens. Bioelectron.*, 2020, 150: 111885.
- [42] NEW S Y, LEE S T, SU X D. *Nanoscale*, 2016, 8(41): 17729-17746.
- [43] MA L, WANG J, LI Y, LIAO D, ZHANG W, HAN X, MAN S. *J. Hazard. Mater.*, 2023, 443: 130234.
- [44] LI D, CHEN Z, MEI X. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 2017, 250: 25-39.
- [45] GUO H L, MA P F, LI K, ZHANG S X, ZHANG Y, GUO H Q, WANG Z P. *Sens. Actuators, B*, 2022, 358: 131484.
- [46] WU H, WU J, LIU Y L, WANG H Y, ZOU P. *Sens. Actuators, B*, 2020, 321: 128599.
- [47] ZHANG X, ZHI H, WANG F, ZHU M, MENG H, WAN P, FENG L. *Anal. Chem.*, 2022, 94(5): 2569-2577.
- [48] ZHU H, CAI Y, QILENG A, QUAN Z, ZENG W, HE K, LIU Y. *J. Hazard. Mater.*, 2021, 411: 125090.
- [49] KUMAR M, SINGH G, KAUR N, SINGH N. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2022, 14(1): 910-919.
- [50] SUN Y F, LI S, CHEN R P, WU P, LIANG J. *Sens. Actuators, B*, 2020, 311: 127912.
- [51] TIAN F, ZHOU J, FU R, CUI Y, ZHAO Q, JIAO B, HE Y. *Food Chem.*, 2020, 320: 126607.
- [52] ZHU H, LIU C, LIU X, QUAN Z, LIU W, LIU Y. *Microchim. Acta*, 2021, 188(3): 62.
- [53] HE Y, TIAN F, ZHOU J, ZHAO Q, FU R, JIAO B. *J. Hazard. Mater.*, 2020, 388: 121758.
- [54] LERDSRI J, THUNKHAMRAK C, JAKMUNEE J. *Food Control*, 2021, 130: 108323.
- [55] ALDEWACHI H, CHALATI T, WOODROOFE M N, BRICKLEBANK N, SHARRACK B, GARDINER P. *Nanoscale*, 2018, 10(1): 18-33.
- [56] WEI H, GAO L, FAN K, LIU J, HE J, QU X, DONG S, WANG E, YAN X. *Nano Today*, 2021, 40: 101269.
- [57] WEI H, WANG E. *Chem. Soc. Rev.*, 2013, 42(14): 6060-6093.
- [58] YANG Y, YIN Y G, LI X L, WANG S, DONG Y Y. *Sens. Actuators, B*, 2020, 319: 128250.
- [59] QIAN J, REN C, WANG C, AN K, CUI H, HAO N, WANG K. *Biosens. Bioelectron.*, 2020, 166: 112443.
- [60] ZHANG X, ZHI H, ZHU M, WANG F, MENG H, FENG L. *Biosens. Bioelectron.*, 2021, 180: 113146.

- [61] KHANSILI N, MURALI KRISHNA P. *ACS Omega*, 2021, 6(23): 14911-14925.
- [62] LI M, LI D Y, LI Z Y, HU R, YANG Y H, YANG T. *Biosens. Bioelectron.*, 2022, 209: 114241.
- [63] SUN Y, LV Y, QI S, ZHANG Y, WANG Z. *Food Chem.*, 2022, 371: 131145.
- [64] GONÇALVES I, NUNES C, MENDES S, MARTINS L O, FERREIRA P, COIMBRA M A. *Carbohydrate Polym.*, 2017, 175: 628-635.
- [65] LV X, FRAHAT FODA M, HE J, ZHOU J, CAI J. *Food Chem.*, 2023, 401: 134144.
- [66] CHANDROSS E A. *Tetrahedron Lett.*, 1963, 4(12): 761-765.
- [67] LIU X X, YANG F, LI D X, YUAN R, XIANG Y. *Sens. Actuators, B*, 2020, 305: 127405.
- [68] LU Y, WEI M, WANG C, WEI W, LIU Y. *Nanoscale*, 2020, 12(8): 4959-4967.
- [69] SUN X, LEI J, JIN Y, LI B. *Anal. Chem.*, 2020, 92(17): 11860-11868.
- [70] LI Z, WANG L, YUAN Z, LU C. *Chem. Commun.*, 2019, 55(5): 679-682.
- [71] JIANG F, LI P, ZONG C, YANG H. *Anal. Chim. Acta*, 2020, 1114: 58-65.
- [72] LV X Y, XU X Y, MIAO T, ZANG X F, GENG C, LI Y P, CUI B, FANG Y S. *Sens. Actuators, B*, 2022, 352: 131026.
- [73] LU L, YUAN W, XIONG Q, WANG M, LIU Y, CAO M, XIONG X. *Anal. Chim. Acta*, 2021, 1141: 83-90.
- [74] LI Y, LIU D, MENG S, ZHANG J, LI L, YOU T. *Anal. Chem.*, 2022, 94(2): 1294-1301.
- [75] LI L, LIU X, HE S, CAO H, SU B, HUANG T, CHEN Q, LIU M, YANG D P. *ACS Omega*, 2021, 6(44): 30148-30156.
- [76] SUN M F, LIU J L, CHAI Y Q, ZHANG J, TANG Y, YUAN R. *Anal. Chem.*, 2019, 91(12): 7765-7773.
- [77] ZHOU Y, WANG H, ZHUO Y, CHAI Y, YUAN R. *Anal. Chem.*, 2017, 89(6): 3732-3738.
- [78] ZHAO L, SONG X, LI Y, JIA H, ZHANG N, WEI Q, WU D, JU H. *Biosens. Bioelectron.*, 2023, 221: 114925.
- [79] WANG Y, ZHAO G, CHI H, YANG S, NIU Q, WU D, CAO W, LI T, MA H, WEI Q. *J. Am. Chem. Soc.*, 2021, 143(1): 504-512.
- [80] WEI Q, HUANG C, LU P, ZHANG X, CHEN Y. *J. Hazard. Mater.*, 2023, 441: 129960.
- [81] SONG L C, LI J L, LI H, CHANG Y, DAI S J, XU R M, DOU M H, LI Q J, LV G P, ZHENG T S. *Sens. Actuators, B*, 2022, 364: 131778.
- [82] JING X, CHANG L, SHI L, LIU X, ZHAO Y, ZHANG W. *ACS Appl. Bio Mater.*, 2020, 3(4): 2385-2391.
- [83] XU K, ZHOU R, TAKEI K, HONG M. *Adv. Sci.*, 2019, 6(16): 1900925.
- [84] ZHAO X, WEN J, ZHANG M, WANG D, WANG Y, CHEN L, ZHANG Y, YANG J, DU Y. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2017, 9(8): 7710-7716.
- [85] XIONG J, DONG C, ZHANG J, FANG X, NI J, GAN H, LI J, SONG C. *Biosens. Bioelectron.*, 2022, 213: 114442.
- [86] ZHANG J, SONG C, ZHU Y, GAN H, FANG X, PENG Q, XIONG J, DONG C, HAN C, WANG L. *Biosens. Bioelectron.*, 2023, 219: 114836.
- [87] LI J, WANG W, ZHANG H, LU Z, WU W, SHU M, HAN H. *Anal. Chem.*, 2020, 92(7): 4900-4907.
- [88] WU Z, SUN D W, PU H, WEI Q, LIN X. *Food Chem.*, 2022, 372: 131293.
- [89] WANG H, ZHAO B, YE Y, QI X, ZHANG Y, XIA X, WANG X, ZHOU N. *Biosens. Bioelectron.*, 2022, 207: 114164.
- [90] ROUHBAKHSH Z N, HUANG J W, HO T Y, CHEN C H. *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 2022, 157: 116820.
- [91] KHOSHBIN Z, ABNOUS K, TAGHDISI S M, VERDIAN A. *Biosens. Bioelectron.*, 2021, 191: 113457.
- [92] KHOSHBIN Z, ABNOUS K, TAGHDISI S M, VERDIAN A, SAMEIYAN E, RAMEZANI M, ALIBOLANDI M. *Food Chem.*, 2022, 381: 132265.
- [93] VERDIAN A, KHOSHBIN Z, CHEN C H. *Biosens. Bioelectron.*, 2022, 199: 113882.
- [94] ZHANG Cheng, DOU Xiao-Wen, ZHANG Lei, KONG Wei-Jun, ZHAO Ming, OUYANG Zhen, YANG Mei-Hua. *China J. Chin. Mater. Med.*, 2018, 43(4): 665-671.
张成, 豆小文, 张磊, 孔维军, 赵明, 欧阳臻, 杨美华. *中国中药杂志*, 2018, 43(4): 665-671.
- [95] SUN C, LIAO X, JIA B, SHI L, ZHANG D, WANG R, ZHOU L, KONG W. *Microchim. Acta*, 2020, 187(4): 236.
- [96] HU S, DOU X, ZHANG L, XIE Y, YANG S, YANG M. *Toxicon*, 2018, 150: 144-150.
- [97] JIANG S, ZHANG L, LI J, OUYANG H, FU Z. *Talanta*, 2021, 227: 122203.
- [98] LIU X, LIAO X, JIA B, SUN C, ZHOU L, KONG W. *Food Chem.*, 2021, 347: 128977.
- [99] SUN Mei-Feng, DOU Xiao-Wen, ZHANG Lei, WANG Jian-Hua, ZHAO Ming, OUYANG Zhen, YANG Mei-Hua. *China J. Chin. Mater. Med.*, 2019, 44(23): 5078-5082.
孙梅峰, 豆小文, 张磊, 王建华, 赵明, 欧阳臻, 杨美华. *中国中药杂志*, 2019, 44(23): 5078-5082.
- [100] ZHANG C, DOU X, ZHANG L, SUN M, ZHAO M, OUYANG Z, KONG D, ANTONIO F, YANG M. *Toxins*, 2018, 10(3): 101.
- [101] ZHANG Xi-Mei, GAO Wei-Wei, HAO Yan-Hong, JIAO Xiao-Lin, GUO Bao-Lin, XUE Ya-Lin, BAI Jian-Ting, LEI Zhen-Hong. *China J. Chin. Mater. Med.*, 2019, 44(10): 2009-2014.
张西梅, 高微微, 郝燕红, 焦晓林, 郭宝林, 薛亚林, 白建廷, 雷振宏. *中国中药杂志*, 2019, 44(10): 2009-2014.
- [102] WU H, WANG H, WU J, HAN G, LIU Y, ZOU P. *J. Hazard. Mater.*, 2021, 415: 125584.

- [103] REN Feng-Lan, MA Hong-Wei. *Chin. J. Pharm. Anal.*, 1997, 4: 65-66.
任凤兰, 马宏伟. *药物分析杂志*, 1997, 4: 65-66.
- [104] HUANG X, HUANG T, LI X, HUANG Z. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2020, 177: 112895.
- [105] ZONG C, JIANG F, WANG X, LI P, XU L, YANG H. *Biosens. Bioelectron.*, 2021, 177: 112998.
- [106] LIU Li-Na, LI Yao-Lei, JIN Hong-Yu, MA Shuang-Cheng. *Chin. Tradit. Herb. Drugs*, 2017, 48(6): 1220-1224.
刘丽娜, 李耀磊, 金红宇, 马双成. *中草药*, 2017, 48(6): 1220-1224.

Nanomaterials-based Optical Biosensors for Detection of Mycotoxins in Traditional Chinese Medicine

YU Jing^{1,2}, YAO Zhi-Hao², HE Kai-Yu², XING Bing-Cong¹, WANG Qiang², CHENG Ke-Jun^{*1,3},
WANG Liu^{*2,4}, XU Xia-Hong^{*2}

¹(Zhejiang Provincial Key Laboratory of Resources Protection and Innovation of Traditional Chinese Medicine, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, China)

²(Institute of Agro-product Safety and Nutrition, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China)

³(Lishui Institute of Agriculture and Forestry Sciences, Lishui 323000, China)

⁴(Key Laboratory of Traceability for Agricultural Genetically Modified Organisms, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Hangzhou 310021, China)

Abstract With the rapid development of traditional Chinese medicine (TCM) industry, the demand of TCM is increasing. The quality and safety of TCM are attracting more and more attention. Mycotoxin pollution, which not only affects the quality, and in serious cases, also may cause carcinogenic, teratogenic and mutagenic effects on human body, has become one of the key safety issues of TCM. Rapid and accurate detection of mycotoxins in TCM is essential to ensure the quality and safety. Optical biosensors have been widely applied to rapid detection of mycotoxins due to their advantages such as simplicity to operate, fast response, high sensitivity, and good accuracy. Notably, nanomaterials are extensively used in optical biosensors owing to their unique physicochemical and catalytic properties. This review summarized the optical biosensors for mycotoxins in recent years. The principles, application characteristics and construction methods progress of optical biosensors were emphasized. The optical biosensors were classified into fluorescence, colorimetry, chemiluminescence, surface enhanced Raman scattering and polarized light for detailed discussion. The effects of the main matrix components of TCM on optical biosensors were comprehensively discussed. The challenges and perspectives of optical biosensors for detection of mycotoxins in TCM were highlighted. It was aimed to provide guidance for sensitive, accurate and convenient supervision of the quality of Chinese medicinal materials.

Keywords Nanomaterials; Traditional Chinese medicine; Mycotoxin; Optical biosensors; Review

(Received 2022-10-13; accepted 2023-02-07)

Supported by the Key Research and Development Program of Zhejiang Province, China (No. 2021C02062), the National Natural Science Foundation of China (Nos. 32172307, 32072303) and the Scientific Research Project of Department of Education of Zhejiang Province, China (No. Y202044948).