

基于纳米材料的生物传感器检测食物过敏原的研究新进展

于宁¹, 李洋^{1,2}, 张九凯¹, 康文瀚¹, 邓婷婷¹, 邢冉冉¹, 黄文胜¹, 陈颖^{1,*}
(1.中国检验检疫科学研究院, 北京 100176; 2.天津科技大学食品科学与工程学院, 天津 300457)

摘要: 食物过敏已成为食品安全和公共卫生领域的突出问题之一。食物过敏尚无有效的治疗方法, 依据标签信息避免接触和摄入食物过敏原依然是过敏患者的最佳选择。开发灵敏、精准、高效的过敏原检测技术对于保障消费者安全和权益至关重要。生物传感器作为一项多学科交融的检测技术, 具有特异性高、反应速度快、操作简便等优点。纳米材料的飞速发展推动生物传感器不断向高灵敏度、高通量、可视化检测方向提升。近年来, 基于纳米材料的生物传感器在食物过敏原检测领域得到一定应用。本文归纳了生物传感器检测食物过敏原的概况, 分析了各种生物识别元件和基于不同纳米材料的生物传感器在食品过敏原检测领域的研究新进展, 以为生物传感器检测食品过敏原的深入研究和应用提供更多参考。

关键词: 食物过敏原; 生物传感器; 生物识别元件; 纳米材料; 过敏原检测

Recent Progress on Biosensors Based on Nanomaterials for Detection of Food Allergens

YU Ning¹, LI Yang^{1,2}, ZHANG Jiukai¹, KANG Wenhan¹, DENG Tingting¹, XING Ranran¹, HUANG Wensheng¹, CHEN Ying^{1,*}
(1. Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100176, China;

2. College of Food Science and Engineering, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: Food allergy has become one of the prominent issues in the fields of food safety and public health. Since there is no effective treatment for food allergy, avoiding dietary exposure to (or intake of) food allergens based on label information should remain the best option for allergy sufferers. The development of sensitive, accurate and efficient allergen detection technologies is crucial for protecting consumers' safety and rights. As a multidisciplinary detection technology, biosensors have the advantages of high specificity, quick response and easy operation. The rapid development of nanomaterials has advanced the development of highly sensitive and high-throughput biosensors for the visual detection of food allergens. In order to provide more references for further research and application of biosensors in food allergen detection, this paper summarizes the general situation of food allergen detection by biosensors, and analyzes the latest development of various biological recognition elements and biosensors based on different nanomaterials in the field of food allergen detection.

Keywords: food allergens; biosensors; biological recognition elements; nanomaterials; allergen detection

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221110-113

中图分类号: TS201.6

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2023) 23-0314-08

引文格式:

于宁, 李洋, 张九凯, 等. 基于纳米材料的生物传感器检测食物过敏原的研究新进展[J]. 食品科学, 2023, 44(23): 314-321. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221110-113. <http://www.spkx.net.cn>

YU Ning, LI Yang, ZHANG Jiukai, et al. Recent progress on biosensors based on nanomaterials for detection of food allergens[J]. Food Science, 2023, 44(23): 314-321. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221110-113. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2022-11-10

基金项目: 中国检验检疫科学研究院基本科研业务费项目 (2022JK04)

第一作者简介: 于宁 (1988—) (ORCID: 0000-0001-6875-6996), 女, 副研究员, 博士, 研究方向为食物过敏原检测与致敏性消减调控。E-mail: yu962925@126.com

*通信作者简介: 陈颖 (1972—) (ORCID: 0000-0002-8433-3341), 女, 研究员, 博士, 研究方向为食品质量与安全。E-mail: chenyingcaiq@163.com

据报道,在全球范围内食物过敏患病率高达10%,且日益增加^[1]。严重的食物过敏反应会导致休克甚至死亡,但目前食物过敏尚无有效治疗方法,避免摄入或接触食物过敏原仍是过敏体质者的最佳选择^[2]。随着食品工业的快速发展,新原料、新工艺和新食品不断出现,饮食回避难度很大,极大增加了过敏人群的健康风险^[3-4]。食品过敏原检测与食品生产、标识和风险管理息息相关,是保证食品安全的关键。因此,开发高灵敏度、高特异性及标准化的检测方法具有重要实际意义^[5]。

新兴的生物传感技术分析时间短、成本低、操作简单,且同时具备检测精度高、灵敏度高、可商业化等优势,在食物过敏原检测应用方面拥有光明的发展前景。生物识别元件是生物传感器的重要组成部分,参与目标分子的特异性识别和捕获工作,可协助生物传感器实现对靶向目标物的分析和检测^[6]。纳米材料因其优良的电、光、机械和热性能,具有增强信号、易分离和良好的生物相容性等优点,赋予生物传感器设备微型化、高通量和低检测限(limit of detection, LOD)等优势,使其在食物过敏原的现场检测中具有巨大潜力,被认为是开发新一代生物传感器最有前景的材料之一^[7]。因此,本文旨在概述生物传感器中不同生物识别元件特异性识别食物过敏原的原理及应用,总结基于纳米材料的生物传感器在食物过敏原检测领域的研究进展,综合分析该领域目前所面临的挑战,为该领域未来的发展方向提出思考和建议。

1 生物传感器在食物过敏原检测中的应用

生物传感器被分为3个部分,包括生物识别元件、传感元件和信号读取装置。生物传感器将生物识别元件的高度特异性与传感元件的信号转换特性相结合,识别元件特异性识别和捕获目标分子产生信号,经传感元件接受后会转化为易被定量的光学信号、化学信号、电信号等,赋予了生物传感器高特异性、高灵敏度、高自动化、高标准化的性质(图1)。

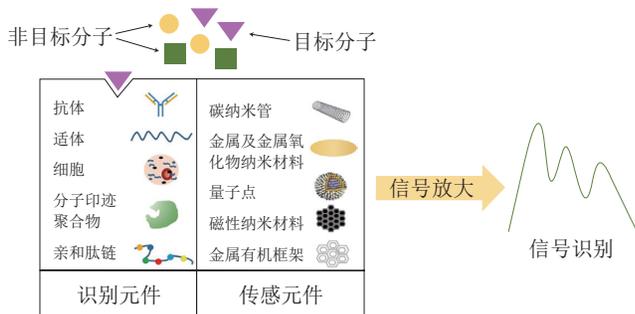


图1 生物传感器工作流程示意图
Fig.1 Biosensor workflow diagram

随着生物传感技术急速发展,各种微型化、高效化、智能化的生物传感器愈来愈多,在农药、兽药、生物毒素、金属离子等有害物质的检测中取得长足发展。近些年来,生物传感器在食物过敏原的检测方面也得到了一定的应用,通过在爱思唯尔(Elsevier)、美国化学学会(American Chemical Society Journals, ACS)、施普林格(SpringerLink)、Web of Science科学文献索引(science citation index, SCI)、Wiley Online Library等5个数据库中以“food allergen、biosensor、detection”为关键词对“生物传感器检测食物过敏原”期刊论文数据进行检索,整理了近5年的相关文献(图2)。总体来说,基于生物传感器检测食物过敏原的研究相对较少,但也发现近两年相关文献数量呈上升趋势,说明相关研究得到了越来越多的重视。

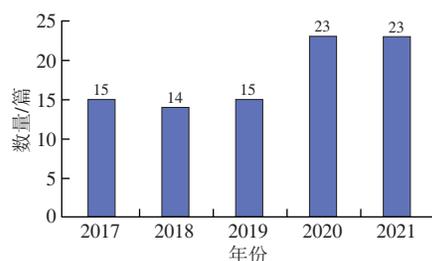


图2 近5年(2017—2021)基于生物传感器检测食物过敏原的研究性论文数量统计

Fig.2 Number of research papers on food allergen detection by biosensors published in the last five years (2017–2021)

2 生物识别元件在食物过敏原检测中的应用

生物传感器将生物识别元件和待测样品相互作用产生的生物信号转换为与目标分子浓度成比例地输出信号^[8]。正是由于识别元件与目标分子之间的特定反应,生物传感器才会具备高度的选择性和敏感性。其中,生物识别元件可以是抗体、适体、细胞、分子印迹聚合物(molecular imprinted polymer, MIP)和亲和肽,识别元件相关信息见表1。

表1 生物识别元件的特点及比较

Table 1 Advantages and disadvantages of biological recognition elements

识别元件	优点	缺点	参考文献
抗体	特异性强、操作简单	成本较高、种类有限、不易修饰	[9]
适体	热稳定、易被修饰、可大规模制备	易被降解、筛选方法效率低	[10]
细胞	成本低、使用期长	应用范围窄、技术性强	[11]
分子印迹聚合物	抗应能力强、成本低	合成时间长、制备复杂、缺乏输出信号	[11-12]
亲和肽	易被修饰、化学通用性强	易被水解	[11]

2.1 基于抗体的生物传感器

基于抗体的生物传感器综合了传感技术的高灵敏性和抗体的高选择性和特异性等多重优点,利用特异免

疫反应监测抗原-抗体特异识别,使得抗体在食物过敏原的生物传感检测中发挥着关键作用,尤其是单克隆抗体^[13-16]。现有的大多数生物传感器用抗体作识别元件,Alves等^[17]采用夹心免疫的原理,开发了一种检测花生过敏原Ara h 6的基于抗体的丝网印刷碳电极传感器。被碱性磷酸酶标记的抗体与抗原特异性识别后,酶催化银沉淀产生可测量的电化学信号,LOD为0.27 ng/mL,线性范围为1~100 ng/mL。在此基础上,Sobhan等^[18]研制了一种基于抗体的电化学生物传感器,用于检测花生中的Ara h 6,在Ara h 6的质量浓度为1~10⁷ pg/L时显示出高灵敏度,LOD为10 pg/L。然而,基于抗体的生物传感器存在以下几点不足,一是抗体交叉反应易出现假阳性;二是食品的某些加工过程可能会掩盖其部分抗原性,导致检测结果出现偏差;三是由于抗体分子质量大、稳定性差和成本高,其在生物检测领域的应用受到制约^[19]。目前,开发高特异性抗体、抗体的固定和抗体再生是其发展的关键。

2.2 基于适体的生物传感器

适体指通过指数富集的配体系统进化(systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX)技术从随机的DNA或RNA文库中筛选得到的一段寡核苷酸序列^[20]。相比抗体,适体可以通过化学方法任意合成,具有特异性强、热稳定和成本低等特点,适合低免疫原性抗原,在不改变稳定性和亲和力情况下适体更容易被纳米粒子或其他化学物质修饰和标记,将其代替抗体作为生物传感器中的识别元件已经成为新趋势^[21-22]。基于适体的生物传感器与纳米材料相结合,可实现对食物过敏原的高灵敏检测。有研究表明,通过6轮适体筛选过程可以获得具有高亲和力和特异性的原肌球蛋白(tropomyosin, TM)适体,将该适体与氧化石墨烯组合建立的生物传感器对TM具有良好的检测性能,LOD为4.2 nmol/L,检测范围为0.5~50.0 μg/mL^[23]。也有研究发现,将适体修饰的黑磷纳米片电沉积在纸基电极表面作为探针,以开发一种纸基微流控电化学适体传感器,可用于花生过敏原Ara h 1的快速检测,线性范围为50~1 000 ng/mL,LOD低至21.6 ng/mL^[24]。然而,受寡核苷酸文库、靶分子的结构与性质以及分离技术等因素限制,筛选出适体的种类较少,筛选过程的效率和所选适体的识别性能仍有待提高,建立高通量、集成化、自动化的适体传感器是今后的发展重点^[25]。

2.3 基于细胞的生物传感器

肥大细胞和嗜碱性粒细胞等与免疫系统有关的细胞常被用于生物传感器的组成,这类细胞具有一大特性,即它们在识别过敏原后会做出免疫应答反应^[26]。基于细胞的生物传感器通过监测细胞生理变化以检测食品中过敏原含量,具有极高的灵敏度和选择性,并使现场检测成为可能^[27]。Jiang Donglei等^[28]研发了一种一次性的肥大

细胞纸基传感器,当酪蛋白存在时,固定在纸基传感器中的大鼠嗜碱性细胞白血病细胞表现出不可逆的伏安反应,峰值电流与酪蛋白质量浓度呈正相关,线性范围为 $1 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-6}$ g/mL,LOD为 3.2×10^{-8} g/mL,具有良好的重现性和选择性。随后,其又开发了一种基于三维生物打印技术的仿生“肠道微绒毛”电化学细胞传感器,首先在丝网印刷电极上印刷簇状微绒毛结构,然后将大鼠嗜碱性白血病细胞固定在微绒毛骨架上,用于特异性检测小麦醇溶蛋白,LOD为0.036 ng/mL,线性范围为0.1~0.8 ng/mL^[29]。不可忽视的是,基于细胞的生物传感器的实际应用很大程度上受其稳定性差、种类少和无再生性的限制。使细胞保持状态稳定、开发新的固定技术和设计便携式设备是基于细胞的生物传感器的问题和挑战。

2.4 基于MIP的生物传感器

MIP是在模板分子存在的情况下,通过功能单体和交联剂共聚合成,在去除模板后,得到与模板分子互补的聚合物,该聚合物在大小、形状和基团方面与模板分子互补,可以用于识别蛋白质、病毒和微生物等物质^[30-31]。MIP具有耐极端环境、易合成、低成本等优点,但在分析检测过程中缺乏输出信号,因此,MIP往往与纳米材料等易产生信号的物质结合使用^[32]。Ashley等^[33]首次通过固相印迹法合成了对 α -酪蛋白具有高亲和力的MIP,并将其整合到表面等离子体共振传感上,LOD为(127.0±97.6) ng/mL。也有研究发现,利用纳米金修饰丝网印刷电极将目标蛋白接枝到导电聚吡咯受体膜上,开发一种MIP生物传感器,可以同时提供电化学和光学性能参数^[34]。将此传感器用于榛子过敏原的特异性检测,电化学和光学性能线性范围分别为100.0 fg/mL~1.0 mg/mL和100.0 fg/mL~0.1 mg/mL,LOD为24.5 fg/mL和18.1 fg/mL。基于MIP技术的生物传感器在食品过敏原检测中的应用仍处于早期阶段,食品加工和样品提取程序对蛋白质结构的影响、MIP的低选择性和大规模生产的困难极大地限制了它的商业化。

2.5 基于亲和肽的生物传感器

肽具有稳定的二级结构,对目标过敏原具有很强的亲和力和选择性,能够在空间上识别目标分子并与目标分子上的不同结合位点(例如N-末端、C-末端和半胱氨酸残基的巯基(-SH))相互作用^[35-36]。Phadke等^[37]开发了一种用于检测牛乳中 α _s-酪蛋白的亲和肽光学生物传感器,利用核糖体展示技术筛选出可特异性识别 α _s-酪蛋白的荧光肽Cas1,LOD约为0.04 μmol/L,与市售酪蛋白免疫层析试剂盒的LOD相当。随着肽设计、筛选、合成技术的成熟,基于亲和肽的生物传感器在食物过敏原检测领域中前景广阔。筛选具有高选择性的肽识别序列、开发功能化肽、提高多肽生物相容性均是未来亲和肽传感技术的重要发展方向。

3 纳米材料在生物传感器检测食物过敏原中的应用

基于纳米材料的生物传感器可以实现高灵敏检测食品基质中微量存在的食物过敏原。可通过纳米材料信号放大策略提升生物传感器的灵敏度(图3),主要表现在以下4个方面:一是纳米材料具有高比表面积和生物相容性,通过高负载信号标签或生物识别元件以放大信号;二是纳米材料表现出良好的催化特性,在催化活性中产生协同作用;三是纳米材料导电性能高,可改善电子传输速率;四是由于纳米材料的光学性质,其在光学传感器中可作为荧光团或荧光猝灭剂将荧光信号放大^[38-39]。纳米材料的发展极大地改善了生物传感器的灵敏性,因此,各种纳米材料作为传感元件被广泛应用于生物传感器的构建中,不同的纳米材料对于特定的食物过敏原表现出不同的潜力^[40-41]。目前,应用于生物传感器检测食物过敏原的纳米材料包括碳基纳米材料、金属纳米材料、金属氧化物纳米材料、量子点、磁性纳米材料(magnetic nanoparticles, MNPs)和金属-有机框架(metal organic framework, MOFs)等。各种纳米颗粒在检测食物过敏原系统中的应用如表2所示。

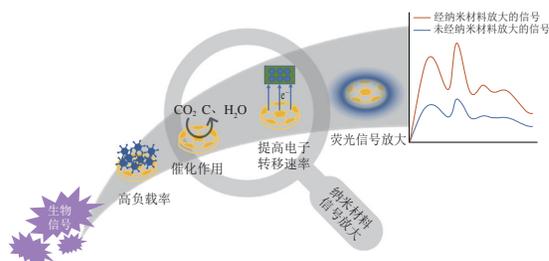


图3 纳米材料的信号放大策略原理图

Fig. 3 Schematic diagram of signal amplification strategy for nanomaterials

表2 纳米材料在检测食物过敏原系统中的应用

Table 2 Application of nanomaterials in food allergen detection systems

纳米材料	目标检测物	LOD	参考文献
碳基纳米材料	多壁碳纳米管 (multi-walled carbon nanotubes, MWCNT)	花生过敏原Ara h 1	0.013 fmol/L [42]
	单壁碳纳米管 (single-walled carbon nanotubes, SWCNT)	花生过敏原Ara h 1	— [43]
金属氧化物纳米材料	氧化石墨烯 (graphene oxide, GO)	贝类过敏原TM	4.2 nmol/L [23]
			2.5 nmol/L [44]
金属纳米材料	金纳米粒子 (Au nanoparticles, AuNPs)	原肌球蛋白	40 nmol/L [45]
	十面体银纳米粒子 (silver decahedral nanoparticles, Ag ₁₀ NPs)	乳铁蛋白	1.25 μmol/L [46]
量子点	二氧化钛 (TiO ₂)	β-乳球蛋白	0.88 pg/mL [47]
	氧化铜 (CuO)	小麦醇溶蛋白	0.036 ng/mL [29]
	碲化镉 (CdTe)	β-乳球蛋白	0.49 ng/mL [48]
MNPs	碳量子点 (carbon quantum dots, CQDs)	精氨酸激酶	0.14 ng/mL [49]
	硫化银 (Ag ₂ S)	β-乳球蛋白	3.7 pg/mL [50]
MOFs	四氧化三铁 (Fe ₃ O ₄)	原肌球蛋白	30.76 ng/mL [51]
	MNPs	原肌球蛋白	77 ng/mL [52]
	拉瓦锡材料研究所骨架 (materials of Institute Lavoisier, MILs)	β-乳球蛋白	0.043 mg/mL [53]

注: —, 暂无相关数据。

3.1 碳基纳米材料

碳基纳米材料具有非常高的稳定性和化学惰性(即使在腐蚀性环境中也不会溶解),成本低且电子传输性能好,被广泛地运用到电化学生物传感器中^[54]。并且,其出色的机械柔韧性使传感器可被制成穿戴式。经过CNTs和GO碳基纳米材料修饰的生物传感器在食物过敏原的检测中应用相对较多。

1991年, Iijima^[55]发现碳纳米管迎来纳米技术领域的新时代。无论是SWCNT还是MWCNT,均表现出独特的电学、热学和机械性能,具有超高的纵横比,可在传感器表面形成导电网络结构,常作为基底材料提升传感器的导电性,同时提供活性位点^[56]。但是,直接固定在电极表面的MWCNT缺乏稳定性和均匀性,需要与其他试剂组合使用。Sun Xiulan等^[42]在玻碳电极上涂覆壳聚糖-MWCNT纳米复合材料,然后通过电沉积添加海绵状金膜来增加有效面积,构建了一种用于检测花生过敏原Ara h 1的生物传感器,检测范围为 $3.91 \times 10^{-17} \sim 1.25 \times 10^{-15}$ mol/L, LOD为 1.3×10^{-17} mol/L。与MWCNT相比, SWCNT直径分布范围更窄,缺陷更少,均匀度更高。Sobhan等^[43]以1-苄丁酸琥珀酰亚胺酯为连接剂,用多克隆抗体固定SWCNT,开发了一种用于无标记、快速、灵敏地检测花生过敏原Ara h 1的SWCNT生物传感器,通过线性扫描伏安法计算电阻差,当Ara h 1质量浓度在 $1 \sim 10^5$ ng/L范围内增加时,电阻增加。然而CNTs本质上是疏水的,在水中缺乏溶解性,导致其应用受限^[57]。

GO是一种高效的能量受体,具有宽的吸收截面,通过荧光共振能量转移机制选择性猝灭分子的荧光,并产生易于观测的光学信号^[58]。与SWCNT相比, GO的成本更低,荧光猝灭效率更高,且具有良好的溶解性。近年来,以GO作为传感平台的生物传感器发展迅猛,被用于食物过敏原的检测。Zhang Youxiong等^[23]建立了一个检测TM的基于GO的无标记适体传感器,其LOD为4.2 nmol/L,线性范围为 $0.5 \sim 50.0$ μg/mL。与之相比, Chinnappan等^[44]设计了一种更灵敏的基于GO的生物传感器。GO作为传感平台,与荧光素标记的截短适体产生π-π堆积和疏水作用,完全猝灭截短适体的荧光。加入TM后,由于适体与GO的竞争结合,荧光得以恢复, LOD达到2.5 nmol/L。然而, GO的层数、尺寸、形态、官能团和厚度等性能会影响生物传感器的性能,因此, GO的制备方法需要进一步改进。

3.2 金属纳米材料

金属纳米材料是指形成纳米晶粒的金属与合金,因其独特的受尺寸形状影响的电子、光学和磁性性质而受到关注。其具有分析性能高、导电性好、可存在于溶液中、比表面积高、生物相容性好等特点,与多种生物亲和剂相比具有竞争力。

AuNPs是目前应用最广泛的金属纳米材料,制备过程简单,具有独特的光学性质,如表面等离子体共振、荧光共振能量转移和表面增强拉曼散射等,常被用来开发比色传感器。由于粒子间等离子体耦合和表面等离子体带移动的变化,AuNPs胶体溶液会在聚集期间从红色变为紫色/蓝色(或在分散期间从紫色/蓝色变为红色)。基于这一原理,研究人员开始使用AuNPs来开发比色传感平台^[59]。有研究表明,表面吸附有原肌球蛋白适体的AuNPs在离子盐存在下聚集,在TM存在下解离,呈现明显的颜色变化,于是Pavase等^[45]开发了一种基于金纳米颗粒的无标记比色传感器用于检测TM,线性范围为10~200 nmol/L,LOD为40 nmol/L,但AuNPs的不稳定性导致其在数月后失去聚集能力。尽管基于AuNPs的生物传感器已经取得了很大进展,但仍存在聚集体不稳定、低浓度下很难观察到AuNPs的颜色变化等局限性,需要不断改进。

银纳米粒子的尺寸、浓度会影响其表面吸附荧光素的荧光性能,它可以通过强局域场将能量传递给荧光素,使荧光增强^[60]。基于此原理,Chen Zhu等^[46]报道了一种基于银增强荧光偏振的适体传感器,用于检测奶粉中的乳铁蛋白。适体与乳铁蛋白结合,并组装成靶复合物,从而缩短了Ag₁₀NPs与异硫氰酸荧光素的距离,Ag₁₀NPs产生金属增强荧光效应,提供显著的荧光信号,LOD为1.25 μmol/L,高出传统基于适体的均相测定约3个数量级。尽管银纳米颗粒具有突出的光学优势,但在提高银纳米颗粒对电极表面的稳定性和灵敏度上仍有相当大的提升空间。同时,银纳米粒子在电极上的信号传递原理需要进一步研究。

3.3 金属氧化物纳米材料

虽然碳基纳米材料和贵金属是最常用的材料,但金属氧化物纳米材料由于稳定性好、成本低并且可提高催化效率,最近已成为一个有潜力的传感平台^[61]。不同材料和结构的金属氧化物具有不同的性质,例如TiO₂是一种强大的光催化剂,CuO是一种重要的传导材料。尽管金属氧化物的大多数应用都集中在陶瓷、光学涂层和工业催化等传统材料科学上,但近些年来,也出现了将许多金属氧化物生物传感器用于检测食物过敏原的研究。有研究将TiO₂纳米粒子掺杂到钨酸镉(CdWO₄)晶体中,形成可以增加光电流强度的CdWO₄-TiO₂异质结,利用此方法设计了一种新型的用于检测β-乳球蛋白的光电化学传感器,在0.005~10.000 ng/mL范围内,LOD为0.88 pg/mL^[47]。CuO具有良好的抗菌性能和电催化性能,在传感器的制备中起着重要作用。Jiang Donglei等^[29]考虑到金和银的成本较高,选用价格低廉且易于合成的铜纳米材料代替,首次合成了自组装花状氧化铜纳米片和酰

肼功能化MWCNT,开发了一种基于三维生物打印技术的新型高导电性电化学肥大细胞传感器,能够特异、准确地检测小麦醇溶蛋白。目前,通过优化金属氧化物纳米材料的合成过程、改善形态结构、提高导电性能以增强材料的利用率十分必要。

3.4 量子点

量子点即半导体纳米粒子,由II-VI、III-V或IV-VI族元素组成,表现出明显的量子尺寸效应、光致发光的特性和高效的荧光信号,且生物毒性较低^[62]。CdTe量子点作为典型的II-VI族半导体纳米粒子,具有荧光强度高、稳定性好等优势,被广泛应用于荧光传感器以检测离子、小分子、蛋白质等物质^[63]。有研究发现,CdTe量子点对单克隆抗体mAb 1G9和过氧化氢敏感,硫醇化CdTe量子点的荧光可以被过氧化氢猝灭,基于此原理开发的荧光传感器可以对β-乳球蛋白进行灵敏和特异的检测,检测限为0.49 ng/mL,为开发用于食物过敏原检测的荧光生物传感器提供了一种有前景的方案^[48]。

此外,CQDs和Ag₂S等新型量子点在食物过敏原的传感检测中展露优势。碳量子点可以被羟基、羧基、羰基和环氧基等官能团修饰,具有良好的水溶性、稳定性,且造价低^[64]。Zhou Jinru等^[49]制备了羧基功能化碳量子点修饰的适体,并采用表面等离子体共振策略开发了一种“开-关-开”荧光适体传感器。此传感器可以高效准确地定量贝类的主要过敏原精氨酸激酶,线性范围是0.001~10.000 μg/mL,LOD为0.14 ng/mL。Ag₂S量子点是一种无毒半导体,激子玻尔半径为2.2 nm,具有吸收光谱宽、稳定性好、低毒、易合成等独特性能。Sun Xiaokai等^[50]采用原位生长方法将Ag₂S敏化的纺锤形BiVO₄/BiOBr异质结作为光活性基底固定在电极表面,制备了一种用于检测牛奶过敏原β-乳球蛋白的光电化学免疫传感器,其在10~100 ng/mL范围内LOD为3.7 pg/mL。量子点是构建生物传感器的诱人材料,能实现高效检测各种生物分子的目的,但其仍然存在一些挑战,如需要更简单、高效的量子点表面标记方法,通过包覆量子点提高稳定性,开发低毒甚至无毒的量子点。解决这些问题,开发具有荧光稳定性强、特异性强、成本低的各种基于量子点的生物传感器,将极大地促进食物过敏原检测方法的进步。

3.5 磁性纳米材料

磁性粒子具有磁特性,如磁电阻和巨磁电阻,可以作为指示分子的磁标记以丰富和放大指示信号,大大提高生物传感器检测效率^[65]。同时,MNPs生物相容性好、比表面积大、活性位点多,可通过氨基、烷基或甲氧基等官能团表面功能化以结合生物识别元件或实现对酶的固定化,有利于捕获目标物,显著提高生物传感器的

灵敏度^[66]。常见的MNP有Fe、Co、Ni金属及其合金、铁的氧化物(Fe₂O₃、Fe₃O₄)、铁磁体(MeO·Fe₂O₃ (Me=Mn、Mg、Zn、Co、Fe))等,其中Fe₃O₄被研究的最多。有研究在Fe₃O₄磁性颗粒上构建聚多巴胺分子印迹化合物,以获得可直接结合TM的识别探针,并将此探针用于TM的检测,LOD为30.76 ng/mL^[51]。也有研究以核酸荧光染料为信号探针,以氨基化的磁性纳米颗粒为分离载体,开发了一种无标签的适体传感器,为TM检测提供了一种简单且低成本的策略,在最佳条件下,线性范围为0.4~5.0 μg/mL,LOD为77 ng/mL^[52]。采用磁分离法减少了反应系统中的干扰,简化了检测过程。然而,如何使生物分子高效稳定地结合到磁性纳米粒子表面、维持修饰后MNP的磁响应强度,以及对磁性纳米复合材料的合成表征与检测原理的研究仍需进一步探索。

3.6 金属-有机框架

MOFs是有机配体和金属离子或团簇共价键合构建的结晶多孔材料,具有孔隙率高、结构可调和性能可修饰的特点,便于封装大量客体分子,与功能纳米材料复合可在催化、导电和位点结合等方面产生理想的协同效应^[67-68]。但由于其导电性差、修饰位点缺乏、稳定性和特异性较低,研究者常将功能材料集成到MOFs结构中,以设计具有多功能MOFs的生物传感器。在各种MOFs材料中,MILs具有比表面积大和孔径分布均匀的特点,已广泛应用于催化、分离和光电传感^[69-70]。Hong Liping等^[53]首次将MIL-100的高比表面积、上转换微粒的荧光特性和分子印迹技术的高选择性有效结合,制备了用于检测β-乳球蛋白过敏原的荧光传感器,LOD低至0.043 mg/mL。目前,MOFs复合材料的研究还处于起步阶段,提高分析性能使其具有更好的导电性和稳定性是MOFs复合材料研究的重点。

4 结语

在世界范围内,食物过敏的患病率和严重程度显著上升。为了降低食物过敏的患病率,做好食物过敏原的标识及风险管理,需要开发更加灵敏、准确、高效和便携的检测方法。生物传感器作为一项新兴检测技术,具有快速、灵敏、微型化等优势。识别元件是生物传感器的重要组成部分,其对目标分子的识别能力影响生物传感器的选择性能,纳米材料的纵深发展给生物传感带来新的机遇及优势。未来生物传感在过敏原检测的研究应集中在以下几个方面:一、为了提高传感器的特异性,设计特异性抗体,高效筛选适配体和亲和肽段等生物识别元件以及设计稳定的固定方式非常关键;二、纳米材料在生物传感器中的应用提升了生物传感器的精确性、灵敏性,使食物过敏原的实时监测成为可能,与农药、毒素、有毒气体等靶目标相比,用于检测食物过敏原的

纳米生物传感器还相对较少,需要进一步探索;三、食物过敏原具有交叉反应性,在食品加工过程中易产生交叉污染,有必要开发高通量传感器监控整个生产过程;四、目前大多数传感器的开发停留在实验室阶段,能用于食品过敏原检测的商用生物传感器有限,缩短甚至消除实验室研究与商业之间的差距至关重要。因此,应将具有独特或新颖性能的新型纳米材料与新型选择性生物识别元件相结合,使灵敏、高通量、小型化、快速且具有成本效益的传感器成为可能。

参考文献:

- [1] LOPES J P, SICHERER S. Food allergy: epidemiology, pathogenesis, diagnosis, prevention, and treatment[J]. *Current Opinion in Immunology*, 2020, 66: 57-64. DOI:10.1016/j.coi.2020.03.014.
- [2] HOSU O, SELVOLINI G, MARRAZZA G. Recent advances of immunosensors for detecting food allergens[J]. *Current Opinion in Electrochemistry*, 2018, 10: 149-156. DOI:10.1016/j.coelec.2018.05.022.
- [3] XU J, YE Y, JI J, et al. Advances on the rapid and multiplex detection methods of food allergens[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2022, 62(25): 6887-6907. DOI:10.1080/10408398.2021.1907736.
- [4] HOSU O, SELVOLINI G, MARRAZZA G. Recent advances of immunosensors for detecting food allergens[J]. *Current Opinion in Electrochemistry*, 2018, 10: 149-156. DOI:10.1016/j.coelec.2018.05.022.
- [5] ROSS G, BREMER M G E G, NIELEN M W F. Consumer-friendly food allergen detection: moving towards smartphone-based immunoassays[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2018, 410(22): 5353-5371. DOI:10.1007/s00216-018-0989-7.
- [6] 沈骏,熊勇华,许恒毅,等.生物识别元件功能化微纳米磁性材料在真菌毒素检测中的应用[J].*食品科学*, 2015, 36(3): 228-233. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201503044.
- [7] LAN L, YAO Y, PING J, et al. Recent advances in nanomaterial-based biosensors for antibiotics detection[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2017, 91: 504-514. DOI:10.1016/j.bios.2017.01.007.
- [8] AQUINO A, CONTE-JUNIOR C A. A systematic review of food allergy: nanobiosensor and food allergen detection[J]. *Biosensors*, 2020, 10(12): 194. DOI:10.3390/bios10120194.
- [9] 隋佳辰,于寒松,代佳宇,等.生物传感器检测食品中重金属砷的研究进展[J].*食品科学*, 2016, 37(7): 233-238. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201607042.
- [10] 刘帅.基于纳米偶联体的适体传感器构建及性能研究[D].郑州:郑州轻工业学院,2018:1-6.
- [11] SHIN J H, REDDY Y V M, PARK T J, et al. Recent advances in analytical strategies and microsystems for food allergen detection[J]. *Food Chemistry*, 2022, 371: 131120. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.131120.
- [12] 冯颖,邵娟,李齐雪,等.壳聚糖及其衍生物去除金属离子的研究进展[J].*精细化工*, 2021, 38(10): 1971-1980. DOI:10.13550/j.jxhg.20210304.
- [13] 范瑾瑾.电化学免疫传感器测定Ag-Ab反应[J].*国外医学:临床生物化学与检验学分册*, 1995, 16(4): 159-160.
- [14] FARKA Z, JURIK T, KOVÁŘ D, et al. Nanoparticle-based immunochemical biosensors and assays: recent advances and challenges[J]. *Chemical Reviews*, 2017, 117(15): 9973-10042. DOI:10.1021/acs.chemrev.7b00037.

- [15] SEO H B, GU M B. Aptamer-based sandwich-type biosensors[J]. Journal of Biological Engineering, 2017, 11(1): 1-7. DOI:10.1186/s13036-017-0054-7.
- [16] XU W, WANG D, LI D, et al. Recent developments of electrochemical and optical biosensors for antibody detection[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 21(1): 134. DOI:10.3390/ijms21010134.
- [17] ALVES R C, PIMENTEL F B, NOUWS H, et al. Detection of the peanut allergen Ara h 6 in foodstuffs using a voltammetric biosensing approach[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2015, 407(23): 7157-7163. DOI:10.1007/s00216-015-8879-8.
- [18] SOBHAN A, OH J H, PARK M K, et al. Detection of peanut allergen Ara h 6 in commercially processed foods using a single-walled carbon nanotube-based biosensor[J]. Journal of AOAC International, 2018, 101(5): 1558-1565. DOI:10.5740/jaoacint.18-0041.
- [19] 傅玲琳, 王彦波. 食物过敏: 从致敏机理到控制策略[J]. 食品科学, 2021, 42(19): 1-19. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20210726-302.
- [20] UGO P, MORETTO L M. Electrochemical immunosensors and aptasensors[J]. Chemosensors, 2017, 5(2): 13. DOI:10.3390/chemosensors5020013.
- [21] SAMPSON T. Aptamers and SELEX: the technology[J]. World Patent Information, 2003, 25(2): 123-129. DOI:10.1016/S0172-2190(03)00035-8.
- [22] HASSANI S, AKMAL M R, SALEK-MAGHSOUDI A, et al. Novel label-free electrochemical aptasensor for determination of Diazinon using gold nanoparticles-modified screen-printed gold electrode[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2018, 120: 122-128. DOI:10.1016/j.bios.2018.08.041.
- [23] ZHANG Youxiong, WU Qingping, WEI Xianhu, et al. DNA aptamer for use in a fluorescent assay for the shrimp allergen tropomyosin[J]. Microchimica Acta, 2017, 184(2): 633-639. DOI:10.1007/s00604-016-2042-x.
- [24] JIANG H, GUO Q, ZHANG C, et al. Microfluidic origami nano-aptasensor for peanut allergen Ara h 1 detection[J]. Food Chemistry, 2021, 365: 130511. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.130511.
- [25] 冯苏敏, 孙淑敏, 谢岩黎. 核酸适配体技术在食品危害因子检测中的应用进展[J]. 食品科技, 2017, 42(5): 296-300. DOI:10.13684/j.cnki.spkj.2017.05.057.
- [26] YE Y, GUO H, SUN X. Recent progress on cell-based biosensors for analysis of food safety and quality control[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2019, 126: 389-404. DOI:10.1016/j.bios.2018.10.039.
- [27] RALLABHANDI P, CHO C Y, MACMAHON S, et al. Development of an *in vitro* bio-assay using human intestinal and immune cell-lines to measure the immuno-pathogenicity of food allergens[J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2019, 143(2): AB426. DOI:10.1016/j.jaci.2018.12.961.
- [28] JIANG Donglei, GE Panwei, WANG Lifeng, et al. A novel electrochemical mast cell-based paper biosensor for the rapid detection of milk allergen casein[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2019, 130: 299-306. DOI:10.1016/j.bios.2019.01.050.
- [29] JIANG Donglei, SHENG Kaikai, JIANG Hui, et al. A biomimetic "intestinal microvillus" cell sensor based on 3D bioprinting for the detection of wheat allergen gliadin[J]. Bioelectrochemistry, 2021, 142: 107919. DOI:10.1016/j.bioelectchem.2021.107919.
- [30] WULFF G, SARHAN A, ZABROCKI K. Enzyme-analogue built polymers and their use for the resolution of racemates[J]. Tetrahedron Letters, 1973, 14(44): 4329-4332.
- [31] AZIZI A, BOTTARO C S. A critical review of molecularly imprinted polymers for the analysis of organic pollutants in environmental water samples[J]. Journal of Chromatography A, 2020, 1614: 460603. DOI:10.1016/j.chroma.2019.460603.
- [32] LIU G, HUANG X, LI L, et al. Recent advances and perspectives of molecularly imprinted polymer-based fluorescent sensors in food and environment analysis[J]. Nanomaterials, 2019, 9(7): 1030. DOI:10.3390/nano9071030.
- [33] ASHLEY J, SHUKOR Y, D'AURELIO R, et al. Synthesis of MIP nanoparticles for α -casein detection using SPR as a milk allergen sensor[J]. ACS Sensors, 2018, 3(2): 418-424. DOI:10.1021/acssensors.7b00850.
- [34] COSTA R, COSTA J, MOREIRA P, et al. Molecularly imprinted polymer as a synthetic antibody for the biorecognition of hazelnut Cor a 14-allergen[J]. Analytica Chimica Acta, 2022, 1191: 339310. DOI:10.1016/j.aca.2021.339310.
- [35] FABRIZIO A, GRISAFI A, MEYER B, et al. Electron density learning of non-covalent systems[J]. Chemical Science, 2019, 10(41): 9424-9432. DOI:10.1039/C9SC02696G.
- [36] CHOU S, WANG J, SHANG L, et al. Short, symmetric-helical peptides have narrow-spectrum activity with low resistance potential and high selectivity[J]. Biomaterials Science, 2019, 7(6): 2394-2409. DOI:10.1039/C9BM00044E.
- [37] PHADKE C, TADA S, KONO I, et al. Instantaneous detection of α -casein in cow's milk using fluorogenic peptide aptamers[J]. Analytical Methods, 2020, 12(10): 1368-1373. DOI:10.1039/C9AY02542A.
- [38] 申文君. 纳米材料的无酶催化放大策略在电化学生物传感器中的应用研究[D]. 重庆: 西南大学, 2016: 1-7.
- [39] 吴昊, 孙旭飞, 张蕴哲, 等. 基于荧光传感器检测食品中赭曲霉毒素A的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(1): 1-9. DOI:10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.2022.01.005.
- [40] 乔秀娟. 基于八种功能纳米材料的高性能电化学传感研究[D]. 西安: 西北大学, 2021: 1-10.
- [41] ALVES R C, BARROSO M F, GONZÁLEZ-GARCÍA M B, et al. New trends in food allergens detection: toward biosensing strategies[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2016, 56(14): 2304-2319. DOI:10.1080/10408398.2013.831026.
- [42] SUN Xiulan, JIA Min, JI Jian, et al. Enzymatic amplification detection of peanut allergen Ara h1 using a stem-loop DNA biosensor modified with a chitosan-mutiwalled carbon nanotube nanocomposite and spongy gold film[J]. Talanta, 2015, 131: 521-527. DOI:10.1016/j.talanta.2014.07.078.
- [43] SOBHAN A, OH J H, PARK M K, et al. Assessment of peanut allergen Ara h1 in processed foods using a SWCNTs-based nanobiosensor[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2018, 82(7): 1134-1142. DOI:10.1080/09168451.2018.1453295.
- [44] CHINNAPPAN R, RAHAMN A A, ALZABN R, et al. Aptameric biosensor for the sensitive detection of major shrimp allergen, tropomyosin[J]. Food Chemistry, 2020, 314: 126133. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.126133.
- [45] PAVASE T R, LIN H, SOOMRO M A, et al. Visual detection of tropomyosin, a major shrimp allergenic protein using gold nanoparticles (AuNPs)-assisted colorimetric aptasensor[J]. Marine Life Science & Technology, 2021, 3(3): 382-394. DOI:10.1007/s42995-020-00085-5.
- [46] CHEN Zhu, LI Hui, JIA Wencho, et al. Bivalent aptasensor based on silver-enhanced fluorescence polarization for rapid detection of lactoferrin in milk[J]. Analytical Chemistry, 2017, 89(11): 5900-5908. DOI:10.1021/acs.analchem.7b00261.
- [47] LI C, ZHU Q, CHANG H, et al. A sensitive biosensor of CdS QDs sensitized CdWO₄-TiO₂ composite for the photoelectrochemical

- immunoassay of β -lactoglobulin in the milk[J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2022, 905: 115964. DOI:10.1016/j.jelechem.2021.115964.
- [48] HE S, LI X, GAO J, et al. Development of a H_2O_2 -sensitive quantum dots-based fluorescent sandwich ELISA for sensitive detection of bovine β -lactoglobulin by monoclonal antibody[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2018, 98(2): 519-526. DOI:10.1002/jsfa.8489.
- [49] ZHOU Jinru, AI Rong, WENG Junjie, et al. A "on-off-on" fluorescence aptasensor using carbon quantum dots and graphene oxide for ultrasensitive detection of the major shellfish allergen Arginine kinase[J]. *Microchemical Journal*, 2020, 158: 105171. DOI:10.1016/j.microc.2020.105171.
- [50] SUN Xiaokai, LI Canguo, ZHU Qiying, et al. A label-free photoelectrochemical immunosensor for detection of the milk allergen β -lactoglobulin based on Ag_2S -sensitized spindle-shaped $BiVO_4/BiOBr$ heterojunction by an in situ growth method[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2020, 1140: 122-131. DOI:10.1016/j.aca.2020.10.021.
- [51] WANG Y, LI L, LI H, et al. A fluorometric sandwich biosensor based on rationally imprinted magnetic particles and aptamer modified carbon dots for the detection of tropomyosin in seafood products[J]. *Food Control*, 2022, 132: 108552. DOI:10.1016/j.foodcont.2021.108552.
- [52] ZHANG Y, WU Q, SUN M, et al. Magnetic-assisted aptamer-based fluorescent assay for allergen detection in food matrix[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 263: 43-49. DOI:10.1016/j.snb.2018.02.098.
- [53] HONG Liping, PAN Mingfei, YANG Xiao, et al. A UCMPs@MIL-100 based thermo-sensitive molecularly imprinted fluorescence sensor for effective detection of β -lactoglobulin allergen in milk products[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2022, 20(1): 1-12. DOI:10.1186/s12951-022-01258-3.
- [54] SIMON J, FLAHAUT E, GOLZIO M. Overview of carbon nanotubes for biomedical applications[J]. *Materials*, 2019, 12(4): 624. DOI:10.3390/ma12040624.
- [55] IIJIMA S. Helical microtubules of graphitic carbon[J]. *Nature*, 1991, 354: 56-58. DOI:10.1038/354056a0.
- [56] KHISHIGJARGAL G. 基于双功能化碳纳米管的电化学免疫传感及其在肿瘤标志物检测中的应用研究[D]. 南京: 东南大学, 2020: 4-9. DOI:10.27014/d.cnki.gdnau.2020.002198.
- [57] GUPTA N, GUPTA S M, SHARMA S K. Carbon nanotubes: synthesis, properties and engineering applications[J]. *Carbon Letters*, 2019, 29(5): 419-447. DOI:10.1007/s42823-019-00068-2.
- [58] GAO L, LIAN C, ZHOU Y, et al. Graphene oxide-DNA based sensors[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2014, 60: 22-29. DOI:10.1016/j.bios.2014.03.039.
- [59] CHANG C C, CHEN C P, WU T H, et al. Gold nanoparticle-based colorimetric strategies for chemical and biological sensing applications[J]. *Nanomaterials*, 2019, 9(6): 861. DOI:10.3390/nano9060861.
- [60] 王悦辉, 周济, 石士考. 纳米银对表面吸附荧光素的荧光增强和荧光猝灭效应及KCl的荧光猝灭释放效应[J]. *无机化学学报*, 2006, 22(9): 1579-1584.
- [61] LIU B, LIU J. Sensors and biosensors based on metal oxide nanomaterials[J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2019, 121: 115690. DOI:10.1016/j.trac.2019.115690.
- [62] WENG X, NEETHIRAJAN S. A microfluidic biosensor using graphene oxide and aptamer-functionalized quantum dots for peanut allergen detection[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2016, 85: 649-656. DOI:10.1016/j.bios.2016.05.072.
- [63] RODRIGUES S S M, RIBEIRO D S M, SOARES J X, et al. Application of nanocrystalline CdTe quantum dots in chemical analysis: implementation of chemo-sensing schemes based on analyte-triggered photoluminescence modulation[J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2017, 330: 127-143. DOI:10.1016/j.ccr.2016.10.001.
- [64] YUAN F, LI S, FAN Z, et al. Shining carbon dots: synthesis and biomedical and optoelectronic applications[J]. *Nano Today*, 2016, 11(5): 565-586. DOI:10.1016/j.nantod.2016.08.006.
- [65] SHIN J H, REDDY Y V M, PARK T J, et al. Recent advances in analytical strategies and microsystems for food allergen detection[J]. *Food Chemistry*, 2022, 371: 131120. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.131120.
- [66] 肖雨诗, 曹强, 孟庆一, 等. 磁性纳米材料制备及其在传感器检测领域的应用[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(20): 6893-6901. DOI:10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.2019.20.030.
- [67] YAN J, YU Y, XIAO J, et al. Improved ethanol adsorption capacity and coefficient of performance for adsorption chillers of Cu-BTC@GO composite prepared by rapid room temperature synthesis[J]. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2016, 55(45): 11767-11774. DOI:10.1021/acs.iecr.6b03139.
- [68] SULE R, MISHRA A K. MOFs-carbon hybrid nanocomposites in environmental protection applications[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, 27(14): 16004-16018. DOI:10.1007/s11356-020-08299-x.
- [69] LIU M, MOU J, XU X, et al. High-efficiency artificial enzyme cascade bio-platform based on MOF-derived bimetal nanocomposite for biosensing[J]. *Talanta*, 2020, 220: 121374. DOI:10.1016/j.talanta.2020.121374.
- [70] GONG Q, LIU Y, DANG Z. Core-shell structured $Fe_3O_4@GO@MIL-100(Fe)$ magnetic nanoparticles as heterogeneous photo-Fenton catalyst for 2,4-dichlorophenol degradation under visible light[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 371: 677-686. DOI:10.1016/j.jhazmat.2019.03.019.