综 述

动态光散射传感器在食品安全检测中的应用进展

冷远逵[1]， 范思雨[2]， 胡馨予[2]， 熊勇华[1,3]

（1. 南昌大学 食品学院，江西 南昌 330031；2. 南昌大学 前湖学院，江西 南昌 330031；3. 南昌大学 中德联合研究院，江西 南昌 330047）

摘要： 动态光散射（dynamic light scattering，DLS）是通过测量由颗粒布朗运动引起的散射光强度起伏变化规律以获得胶体溶液粒径分布的一项实验室常用技术。近年来，以光散射能力超强的金纳米颗粒（gold nanoparticles，AuNPs）为探针，构建的高灵敏 AuNP-DLS 传感器受到广泛关注。作者首先阐述了 AuNP-DLS 传感器的构建策略，分析了影响其检测性能的主要因素，然后详细介绍了其在食品安全检测方面的应用现状，最后探讨了该领域的发展趋势和面临的主要挑战。

关键词： 动态光散射；金纳米颗粒；传感器；食品安全

中图分类号：TS 201　**文章编号：**1673-1689（2023）07-0001-10　**DOI：**10.3969/j.issn. 1673-1689.2023.07.001

Recent Advances in Dynamic Light Scattering Sensing Technologies for Food Safety Detection

LENG Yuankui[1]， *FAN Siyu*[2]， *HU Xinyu*[2]， *XIONG Yonghua*[1,3]

（1.College of Food Science and Technology，Nanchang University，Nanchang 330031，China；2. School of Qianhu，Nanchang University，Nanchang 330031，China；3. Sino German Joint Research Institute，Nanchang University，Nanchang 330047，China）

Abstract： Dynamic light scattering (DLS) is a technique commonly used in laboratories to obtain the particle size distribution of colloidal solutions by measuring the fluctuations of the scattered light intensity caused by the Brownian motion of particles. In recent years, high-sensitivity DLS sensors constructed using colloidal gold nanoparticles (AuNPs) with super-strong light-scattering capabilities as probes have received widespread attention. This article first elucidates the construction strategy of the AuNP-DLS sensor and analyzes the main factors affecting its detection performance. Then a detailed introduction is given on its current application in food safety detection, and finally the development trend and major challenges faced in this field are discussed.

Keywords: dynamic light scattering, gold nanoparticles, sensor, food safety

收稿日期： 2021-07-03

基金项目： 国家自然科学基金项目（31901780）。

作者简介： 冷远逵（1988—），男，博士，副教授，硕士研究生导师，主要从事食品安全检测研究。E-mail：yuankuilengxq@163.com

动态光散射(dynamic light scattering,DLS)技术自1970年商业化以来，已成为粒度分析测量的常规实验室技术，用于测量溶液或悬浮液中纳米、微米级别颗粒的尺寸分布情况[1]。其基本原理是测量粒子散射光强度随时间的波动规律,分析得出粒子的布朗运动扩散速度，从而通过Stokes-Einstein方程得到粒子的流体力学直径(水化粒径)。因具有操作简单、成本低、响应速度快和重现性好等优点,Cohen等早在1975年就提出以特异性识别分子修饰的聚合物微球作为探针,通过DLS技术测量因目标物引起微球聚集而导致的粒径变化来定量分析目标物的方法[2]。然而由于聚合物微球光散射能力较弱,该方法在实际应用时易受到样品基质中生物分子、胶体颗粒等物质的散射信号干扰,导致灵敏度偏低、稳定性不足。因此,构建DLS传感器的关键在于选择具有较强光散射能力的信号探针。金纳米颗粒(gold nanoparticles,AuNPs)具有较强的光散射能力，比直径相近的聚合物微球强2~3个数量级,可有效屏蔽复杂样品基质引起的背景信号干扰,显著提高DLS传感器的检测灵敏度[3]。同时AuNPs具有易于制备、粒径可控、易于生物修饰等优点,且相比于同样具备强光散射能力的银纳米材料,其胶体稳定性和生物相容性更好。近年来,以AuNPs为信号探针构建AuNP-DLS传感器受到广泛关注,成功用于食品危害物[4-6]、环境污染物[1]、药物[7]、临床标志物[8-9]等的高灵敏检测。

作者从传感器构建策略、探针设计原则等方面阐述了近年来AuNP-DLS传感器的方法学研究进展,总结了其在真菌毒素[5]、有毒金属离子[6]、食源性致病菌[10]等食品危害因子检测中的应用情况,并探讨了该领域的发展趋势和面临的主要挑战。

1 DLS传感器方法学研究进展

1.1 DLS传感器构建策略

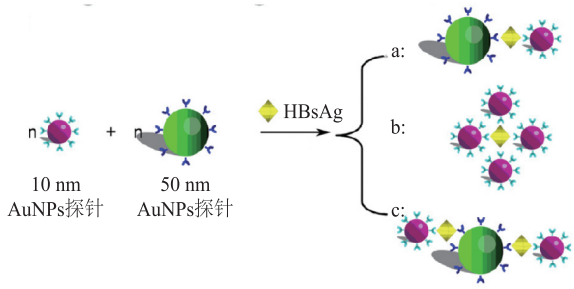
DLS传感器可测量两种信号:水化粒径和散射光强度。因此,AuNP-DLS传感器的核心在于目标物引起AuNPs粒径或散射光强度的变化。目前AuNP-DLS传感器主要通过以下3种方式来实现信号输出:1)基于目标物引起的AuNPs聚集;2)基于目标物引起的AuNPs有序组装或解组装;3)基于标记免疫分析技术建立目标物和AuNPs(与AuNPs磁珠或酶标板载体结合的部分或游离的部分)浓度之间的剂量关系。

1.1.1 基于AuNPs聚集的DLS传感器 这类传感器最常见的构建方法是基于目标物与AuNPs探针的特异性识别作用(免疫识别、核酸杂交、配位键等)直接介导探针聚集。以特异性识别分子修饰的AuNPs为探针构建的DLS传感器已被用于蛋白质[11]、核酸[12]、小分子[13]和离子[1]等物质的均相免洗高灵敏检测。Wang等以单抗和多抗分别修饰的50 nm和10 nm AuNPs作为探针，构建乙肝表面抗原的DLS均相免疫分析方法(见图1(a))[11]。以目标物引起探针聚集导致的粒径增大为定量信号,该方法检测乙肝表面抗原的灵敏度较常规酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay,ELISA)提高了80倍。Miao等以两种寡核苷酸修饰的AuNPs为探针检测双链DNA[14]。两种寡核苷酸链分别与目的DNA不同区域杂交形成三链体结构，引发AuNPs聚集，进而通过检测粒径变化实现对DNA的高灵敏分析,检测限(limit of detection,LOD)低至500 fmol/L。一般地,颗粒的散射光强度与粒径呈正相关关系,因此探针聚集同时也会导致散射光强度的增加。有研究者以对巯基苯胺修饰的AuNPs为DLS探针,利用三硝基甲苯(trinitrotoluene,TNT)与对巯基苯胺之间的π-π相互作用介导探针聚集的原理来检测TNT[13]。以散射光强度变化为定量信号,该方法检测TNT的LOD达100 pmol/L。

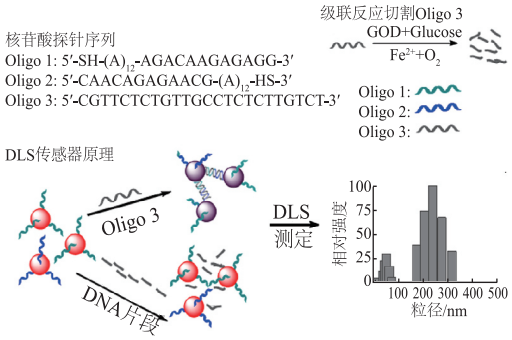
第二种常见方法是基于目标物间接调控AuNPs探针的交联反应。Miao等以两种寡核苷酸链修饰的AuNPs(Oligo1-AuNP、Oligo2-AuNP)为探针,以能同时与Oligo1、Oligo2进行杂交的寡核苷酸链Oligo3为交联探针构建葡萄糖传感器(见图1(b))[15]。葡萄糖在葡萄糖氧化酶(glucose oxidase,GOx)、Fe^{2+}级联催化下产生羟自由基(·OH),·OH可降解Oligo3,从而调控AuNPs探针的聚集反应。该方法通过粒径变化检测葡萄糖，线性范围为0.05~5.00 pmol/L,LOD为38 pmol/L。Lu等报道的检测植物微小RNA(microRNA)的无酶催化均相DLS传感器原理[16]见图1(c)。microRNA可与二苯基环辛炔(DBCO)修饰的寡核苷酸探针probe A和叠氮基(N3)修饰的寡核苷酸探针probe B杂交形成夹心结构，促使probe A与probe B发生点击化学反应并连接起来,所形成的probe A-probe B链同时与probe A'修饰的AuNPs和probe B'修饰的AuNPs杂交,导

致 AuNPs 发生聚集。由于目标microRNA 实现了循环利用,信号得到放大,该方法 LOD 达 78.6 fmol/L。

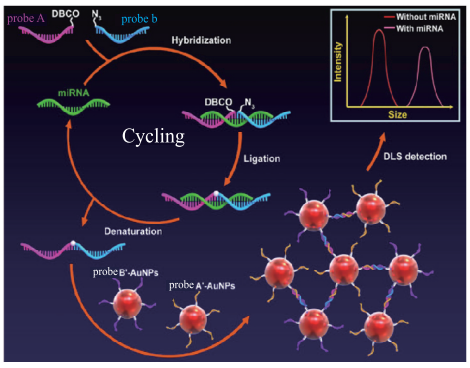
AuNPs 溶液胶体稳定性的基础是表面配体(如柠檬酸)提供的表面电荷和亲水性。因此,调控 AuNPs 的表面配体,可影响其胶体稳定性从而引发 AuNPs 聚集。寡核苷酸链修饰的 AuNPs 具有很好的胶体稳定性,但当寡核苷酸链脱落或者裂解后,AuNPs 胶体稳定性变差,从而在高盐离子浓度下发生团聚。基于此原理,Xiong 等以 5′-TTTCTTCTTC GTTGTTT-3′修饰的 AuNPs 为探针构建 Hg^{2+}传感器(见图 1(d))[6]。Hg^{2+}与寡核苷酸链结合形成 T-Hg^{2+}-T,寡核苷酸链形成双链结构而脱离 AuNPs 表面,加入高浓度 NaCl,AuNPs 发生聚集,粒径变大,该方法 LOD 达 0.43 nmol/L。



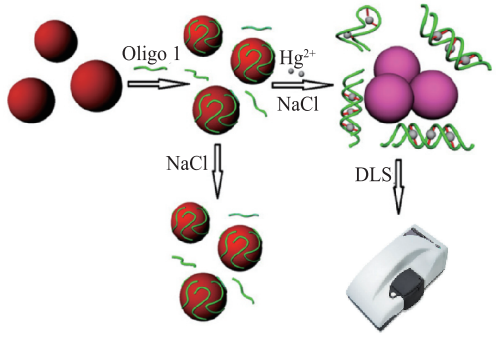
(a) 基于目标物引起AuNPs探针聚集原理检测HBsAg



(b) 基于目标物间接调控AuNPs探针聚集原理检测葡萄糖



(c) 基于目标物调控点击化学介导的AuNPs聚集原理检测microRNA



(d) 基于目标物调控AuNPs表面配体引发聚集的原理检测Hg^{2+}

图 1 基于 AuNPs 聚集的 DLS 传感器

Fig. 1 DLS sensors based on AuNPs aggregation

1.1.2 基于 AuNPs 组装结构的 DLS 传感器 由于聚集的无序性以及容易受到样本基质影响等缺陷,导致基于 AuNPs 聚集的 DLS 传感器信号稳定性不足。相比较而言,基于 AuNPs 有序自组装结构形成的信号或组装体解组装过程的信号更加可控和稳定。目前,基于 AuNPs 组装结构的 DLS 传感器中,AuNPs 组装体形成主要分为以下 4 种方式:1)基于与目标物特异性结合作用形成 AuNPs 低聚体;2)以 DNA 为框架进行自组装;3)在微生物模板表面自组装;4)在纳米颗粒模板表面自组装。

在基于特异性识别作用直接介导 AuNPs 聚集的体系中,当控制 AuNPs 颗粒表面特异性识别分子的数量时,可使 AuNPs 在目标物存在时组装成低聚体,甚至是二聚体结构[17-18]。如 Seow 等以寡核苷酸链修饰的 AuNPs 为探针构建针对 let7a(microRNA)的均相 DLS 传感器[17]。通过对比平均每个 AuNPs 上偶联的寡核苷酸分子数为 2、5、10 个时 AuNPs 的目标物介导组装行为,发现偶联寡核苷酸越多,AuNPs 粒径变化越明显。单个 AuNPs 表面平均有 10 个寡核苷酸分子时,其粒径变化最明显,但有趋近于无序聚集的趋势,信号的稳定性变差。而当平均有 5 个寡核苷酸分子时,AuNPs 在 let7a 存在时会稳定组装成低聚体,LOD 达 100 fmol/L。

Li 等开发了一种基于 AuNPs 自组装的端粒酶传感器,通过对癌细胞或尿液中端粒酶的高灵敏检测可实现膀胱癌的诊断(见图 2(a))[19]。在端粒酶作用下,底物(telomerase substrate,TS)末端延伸 n 次重复序列(TTAGGG),该重复序列可以作为启动子,

触发两个发夹探针(H1 和 H2)之间的杂交链式反应(hybridization chain reaction,HCR)形成双链 DNA。该 HCR 产物 DNA 旁边带有大量寡核苷酸支链可与互补序列修饰的 AuNPs 探针杂交,因此 AuNPs 在 HCR 产物上形成有序组装体,导致水化粒径的急剧增大。该方法可检测仅从 4 个 MCF-7 细胞中提取的端粒酶含量。Zou 等报道了一种基于 AuNPs 探针在目标 DNA 的聚合酶链式反应(polymerase chain reaction,PCR)扩增产物核酸框架上自组装的 DLS 均相传感器,其检测艾滋病病毒(human immunodeficiency virus,HIV)DNA 的 LOD 达 1.8 amol/L[20]。近期该课题组通过引入核酸适配子,利用上述原理设计了可检测肿瘤标志物 CA-125 的 PCR-DLS 传感器,LOD 低至 1.1 fg/mL[21]。

对于病毒[22]、细菌[10]等微生物目标物,免疫 AuNPs 探针会以目标物为模板在其表面形成组装体,从而导致粒径增大。如 Driskell 等以抗体修饰的 AuNPs 为免疫探针来检测 PR8 型流感病毒[22]。在病毒颗粒浓度较低时,免疫 AuNPs 探针会在病毒颗粒表面自组装形成“核心-卫星”组装结构,从而导致粒径增大。该方法 LOD 小于 100 $TCID_{50}$/mL,灵敏度较商业诊断试剂盒提高 1~2 个数量级。

Wang 等开发了一种等离子体“核心-卫星”结构纳米组装探针用于 microRNA-21 的检测[23](见图 2(b))。其中,核心 AuNPs 和卫星 AuNPs 通过 DNA 链连接,目标物 microRNA-21 通过链置换反应可使卫星 AuNPs 脱落引发解组装。而燃料 DNA 链又通过链置换反应使 microRNA-21 重新解离出来实现循环利用,从而使信号得到放大。该方法对 microRNA-21 的定量检测范围为 5~150 pmol/L,LOD 为 0.24 pmol/L。

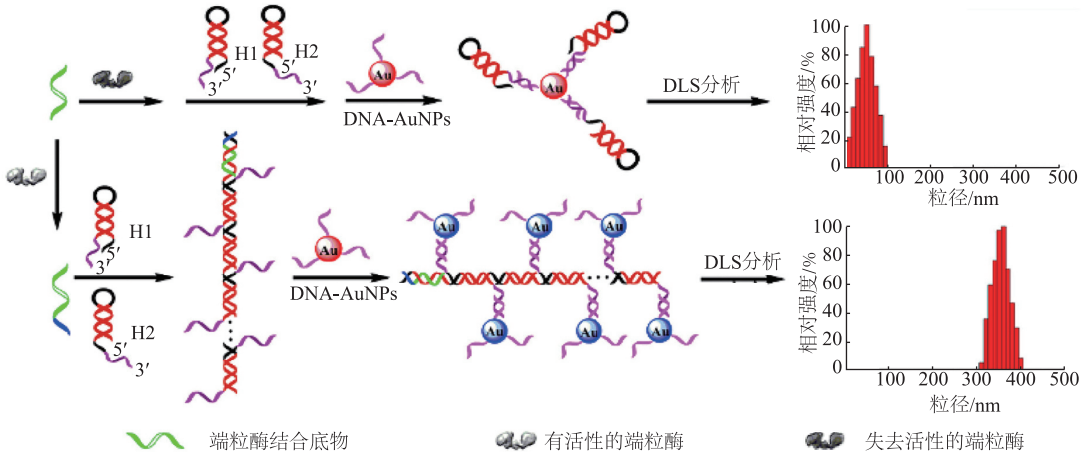
1.1.3 基于免疫标记技术的非均相 DLS 传感器

AuNPs 探针与目标物特异性结合后,无论是游离的还是结合的探针部分均会产生目标物引起的浓度差,从而表现出散射光强度的差异。Chao 等以片状二氧化锰修饰的 AuNPs(MnO_2-pAuNP)作为免疫标记材料构建了检测前列腺特异性抗原(prostate-specific antigen,PSA)的超灵敏 DLS 免疫分析方法(见图 3(a))[24]。样本中存在 PSA 时,酶标板上会捕获一定量的 MnO_2-pAuNP 免疫探针,通过谷胱甘肽(glutathione,GSH)消解 MnO_2 壳层可释放大量的 AuNPs 到溶液中,通过检测溶液中 AuNPs 引起的散射光强度,可以对 PSA 进行定量分析。由于 MnO_2-pAuNP 是载有多个 AuNPs 的组装体,且溶液中基本无背景干扰,因此该方法 LOD 低至 1 fmol/L。在此模式的基础上,Yu 等根据金属有机框架(metal-organic framework,MOF)大量装载和可控释放 AuNPs,以及 AuNPs 释放后可控生长的原理设计了检测甲胎蛋白(alpha-fetoprotein,AFP)的 DLS 免疫分析方法(见图 3(b))[25]。当存在 AFP 时,一定量的 MOF@AuNP 会结合在酶标板上,MOF 在碱性条件下消解释放出大量的小粒径 AuNPs(4 nm)到溶液中,然后加入生长液(盐酸羟胺和氯金酸)使 4 nm AuNPs 生长成大粒径 AuNPs,光散射能力得到放大。通过测定散射光强度对 AFP 定量分析,该方法 LOD 为 0.36 pg/mL。

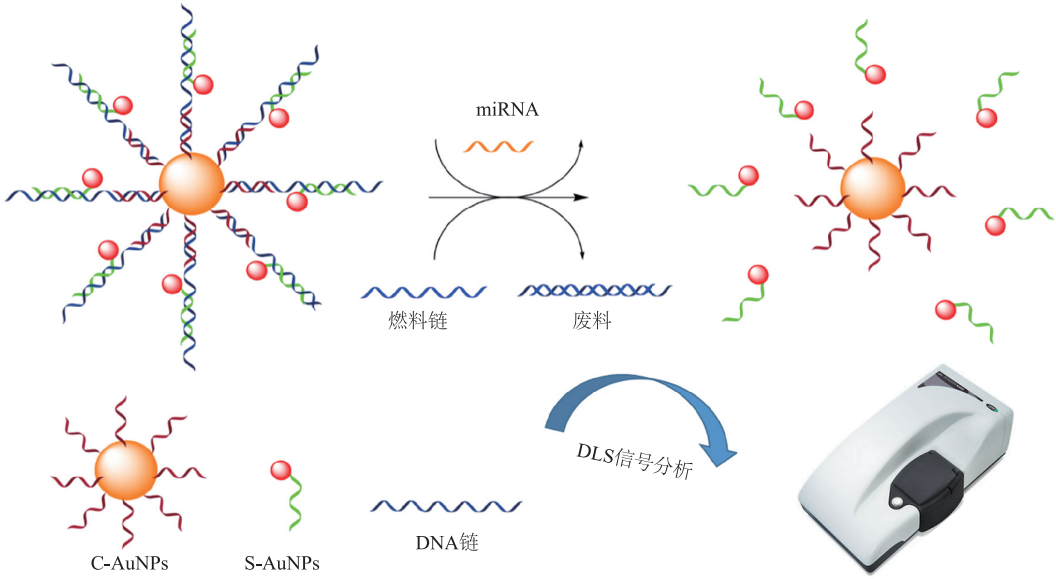
1.2 AuNPs 探针对传感器灵敏度的影响

构建 AuNP-DLS 传感器的核心在于设计合适的 AuNPs 探针,其对检测灵敏度的影响至关重要。而 AuNPs 的形貌、粒径是影响其光散射能力的关键,AuNPs 探针的浓度是影响其对外界刺激敏感性的关键,因此探针的形貌、粒径及使用浓度对 AuNP-DLS 传感器的检测性能影响很大。

理论上,AuNPs 探针粒径越大,其光散射能力越强,检测灵敏度越高。但是粒径过大的 AuNPs 胶体稳定性不足,信号稳定性变差,同时大颗粒与目标物结合时可能会存在位阻效应反而降低其结合率[22]。Kalluri 等构建了基于 AuNPs 聚集的 As^{3+}传感器,探究了 AuNPs 的粒径对检测灵敏度的影响。结果表明,LOD 随着 AuNPs 粒径的增大而逐渐降低,当粒径为 110 nm 时,LOD 低至 3 pg/mL[26]。Huang 等报道了基于 AuNPs 免疫探针检测单增李斯特菌的均相免洗免疫分析技术[4]。单增李斯特菌表面存在多个抗原表位,可结合多个 AuNPs 探针形成组装结构,使纳米尺寸的 AuNPs 探针表观水化粒径达到微米级别,从而使隐身的细菌“显形”。他们探究了探针粒径对灵敏度的影响。结果表明,30、70、100 nm 的 AuNPs 探针对应的最佳工作浓度分别为 2.640、0.044、0.022 pmol/L。大粒径探针光散射能力更强、所需工作浓度更低、检测灵敏度更高。基于 100 nm AuNPs 探针的 DLS 传感器 LOD 最低,达 0.35 CFU/mL,结合免疫磁分析方法,生菜样品中 LOD 为 0.22 CFU/g。多枝状金纳米花(gold nanoflowers,AuNFs)因有更大的比表面积,而具有更强的光散射



(a) 基于AuNPs探针在HCR产物核酸框架上自组装的端粒酶DLS传感器



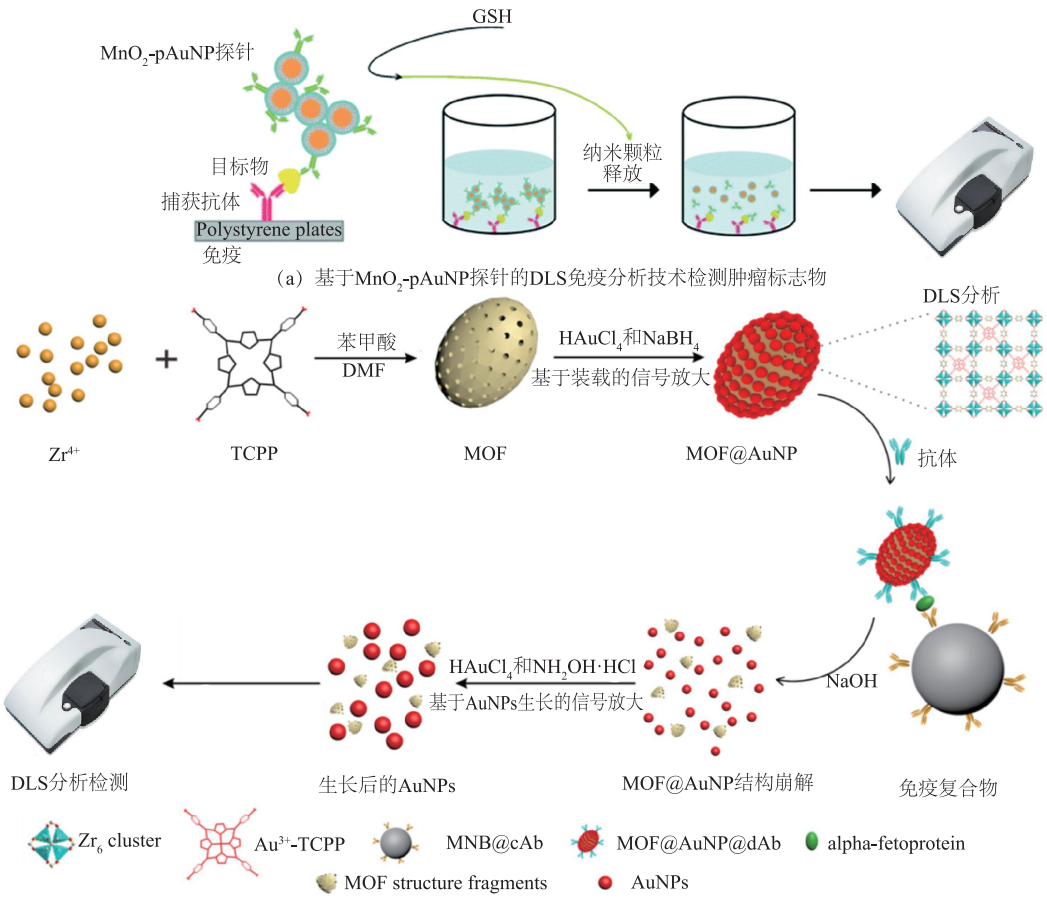
(b) 基于"核心-卫星"结构AuNPs探针解组装原理检测microRNA

图 2 基于 AuNPs 组装体结构的 DLS 传感器

Fig. 2 DLS sensors based on AuNPs assemblies

能力,且能修饰更多的识别分子从而获得高亲和力的探针,另外其胶体稳定性也更高,所以理论上是更理想的 DLS 传感器探针。Zhan 等以 AuNFs 为探针构建了相似的 DLS 均相免洗免疫传感器,实现对大肠杆菌 O157:H7 的高灵敏检测[10]。同时也探讨了 AuNFs 粒径对检测灵敏度的影响。结果显示,基于 120 nm AuNFs 的 DLS 传感器灵敏度最高,其线性范围为 6~60 000 CFU/mL,LOD 为 2.7 CFU/mL,实现单菌水平检测。金纳米棒 (gold nanorods, AuNRs)是应用最广的异形 AuNPs,通过对其"顶端"或"长边"进行定点修饰,可实现"头对头"或"肩并肩" 的定向自组装。Wang 等将抗体、微囊藻毒素 LR-卵清蛋白(MC-LR-OVA)修饰的 AuNRs 作为自组装探针, 构建了针对微囊藻毒素 LR(microcystin LR,MC-LR)的竞争免疫 DLS 传感器。通过将抗体、MC-LR-OVA 定点修饰在 AuNRs 的"顶端"或"长边",分别实现了 AuNRs 探针的"头对头"或"肩并肩" 的定向自组装。目标物 MC-LR 的存在会破坏 AuNRs 探针的自组装, 从而使 AuNRs 组装体的尺寸发生变化。通过分析组装体尺寸检测目标物,"头对头"或"肩并肩"组装模式的 DLS 传感器 LOD 分别为 5.00、0.45 ng/mL[27]。

理论上,当探针浓度越低时,其对外界刺激(包括目标物)越敏感(受目标物影响而发生聚集等现



（a）基于MnO_2-pAuNP探针的DLS免疫分析技术检测肿瘤标志物

（b）基于金属有机框架装载释放AuNPs及AuNPs可控生长原理构建的DLS免疫分析法检测甲胎蛋白

图 3　基于免疫标记技术的 DLS 传感器

Fig. 3　DLS sensors based on immunolabelled technology

象的探针占比更高）。然而，当探针浓度过低时，基质内生物分子的散射信号会成为不可忽视的背景信号，信噪比反而下降。Driskell 等在 PR8 型流感病毒 A 的 AuNP–DLS 免疫分析方法中，探讨了 AuNPs 浓度对检测灵敏度的影响。结果表明，在能充分抑制背景信号的基础上，探针浓度越低，检测灵敏度越高[22]。

2 DLS 传感器的食品安全检测应用现状

近年来，农兽药残留、重金属污染、致病微生物污染、超剂量或超范围使用添加剂等食品安全问题严重威胁国人饮食安全和生命健康。如何高效、便捷地对食品链中有毒有害物质进行检测是保障人民“舌尖上的安全”的关键。AuNP–DLS 传感器因其简单、快速、成本低廉、高灵敏度、可实现均相免洗检测等优点，成为优良的食品危害物检测技术平台。DLS 传感器用于食品安全检测的研究见表 1。

2.1　检测重金属

重金属污染在我国食品安全问题上占据相当大的比重，其蓄积性、慢性毒性等特点导致其对人体健康影响巨大。AuNP–DLS 传感器已应用于汞[6]、铜[28]、铅[29]、砷[26]等多种重金属的高灵敏检测。

Miao 等基于 Cu^{2+}依赖型 DNA 酶和柠檬酸修饰的 AuNPs 构建了均相 Cu^{2+}传感器[28]。DNA 酶与底物结合成双链结构，无法吸附在 AuNPs 表面，加入 NaCl 后 AuNPs 会发生聚集；而加入 Cu^{2+}后，活化的 DNA 酶切割底物 DNA，释放出一段单链 DNA 并吸附在 AuNPs 表面，可阻止 AuNPs 聚集。根据水化粒径变化值可估算 Cu^{2+}浓度，定量检测范围为 0.1~20.0 nmol/L，LOD 为 60 pmol/L。此外，他们利用 Pb^{2+}依赖型 DNA 酶和寡核苷酸修饰的 AuNPs 构建了均相 Pb^{2+}传感器[29]。AuNPs 探针可通过与底物 DNA 互补杂交而发生聚集，然而 Pb^{2+}存在时，活化的酶催化切断底物 DNA，从而阻止 AuNPs 聚集。最低可检测

35 pmol/L 的 Pb^{2+}。Kalluri 等以 GSH、二硫苏糖醇和半胱氨酸共修饰的 AuNPs 为探针构建了读取比色信号和 DLS 信号的均相 As^{3+}传感器。As^{3+}与 3 种配体均可通过配位作用结合引起AuNPs 聚集，从而导致等离子共振峰（比色信号）和粒径的急剧变化。结果显示，DLS 检测 As^{3+}的灵敏度（3 pg/mL）远高于比色信号灵敏度（1 ng/mL）[26]。

2.2 检测生物毒素

生物毒素是广泛存在的食品污染物，尤其以真菌毒素对粮油及其制品的污染问题最受关注[38]。以抗体为识别分子、以 AuNPs 为信号输出探针的 DLS 免疫学分析方法可检测 0.1~100.0 pg/mL 的毒素，灵

表 1 AuNP–DLS 传感器在食品安全检测中的应用研究现状

Table 1 Research status of the application of AuNP–DLS sensors for food contamination detection

分析物	探针	信号输出机制	检测限	样本	文献
Hg^{2+}	寡核苷酸修饰的 AuNPs	寡核苷酸基于 T–Hg^{2+}–T 结合形成双链，脱离 AuNPs 表面，使 AuNPs 聚集	0.43 nmol/L	水	[6]
Cu^{2+}	柠檬酸修饰的 AuNPs	Cu^{2+}激活 DNA 酶，剪切底物 DNA，释放单链 DNA 作为表面配体阻止 AuNPs 在高盐环境下聚集	60 pmol/L	水	[28]
Pb^{2+}	寡核苷酸修饰的 AuNPs	Pb^{2+}激活 DNA 酶，剪切底物 DNA，阻止 AuNPs 探针通过与底物 DNA 链杂交发生聚集	35 pmol/L	水	[39]
As^{3+}	GSH、DTT 和 Cys 共修饰的 AuNPs	As^{3+}通过与配体分子的配位作用，使 AuNPs 探针发生聚集，引起等离子共振峰红移，粒径增大	3 pg/mL	水	[26]
黄曲霉毒素 B_1	柠檬酸修饰的 AuNPs	标记酶 GOx 与溶液中 HRP 级联催化葡萄糖产羟自由基，引发溶液中酪胺聚集，酪胺通过静电作用使溶液中 AuNPs 聚集	0.12 pg/mL	玉米	[5]
黄曲霉毒素 M	BSA–AFM 修饰的 AuNPs	目标物 AFM 竞争抑制探针在免疫磁珠表面的结合，从而调控聚集体粒径变化	27.5 pg/mL	牛奶	[30]
微囊藻毒素 LR	MC–LR–OVA 修饰的 AuNRs、抗体修饰的 AuNRs	目标物 MC–LR 的存在会破坏 AuNRs 探针“肩并肩”或“头对头”的定向自组装，从而使 AuNRs 组装体的尺寸发生变化	分别为 0.45 ng/mL、5 pg/mL	水	[27]
对氧磷（农药）	柠檬酸修饰的 AuNPs	带正电的胆碱诱使 AuNPs 聚集，农药抑制胆碱酯酶活性，降低胆碱的生成，使聚集程度降低	75.5 pmol/L	水	[31]
氯霉素（抗生素）	氯霉素修饰的 AuNPs	氯霉素的存在抑制探针在免疫磁珠表面聚集，从而使聚集体尺寸减小	2.4 ng/mL	牛奶	[32]
三聚氰胺	柠檬酸修饰的 AuNPs	三聚氰胺通过静电相互作用与带负电的探针结合引起 AuNPs 聚集，粒径增大	50 ng/mL	牛奶	[33]
沙门氏菌	寡核苷酸修饰的 AuNPs	目标菌 DNA 经不对称 PCR 扩增出单链 DNA，单链 DNA 通过互补配对杂交引起 AuNPs 聚集	26 CFU/mL	牛奶	[34]
大肠杆菌 O157:H7	寡核苷酸修饰的 AuNPs	经 PCR 扩增后的目标菌 DNA 通过互补杂交与探针寡核苷酸链形成三链体结构，引起 AuNPs 聚集	10 CFU/mL	牛奶	[34]
空肠弯曲杆菌 DNA	RNA 修饰的 AuNPs	目标 DNA 与 RNA 配体杂交引发核酸内切酶切割 RNA 链，使探针表面配体减少，稳定性降低，进而发生聚集，粒径增大，而切割后释放的目标 DNA 则被循环利用起到信号放大作用	18.0 fmol/L	鸡肉	[35]
单增李斯特菌 DNA	寡核苷酸修饰的 AuNPs	AuNPs–DNA 作为可识别模板 DNA 的类 TaqMan 探针，在 PCR 扩增过程中，表面寡核苷酸配体被 Taq 酶切割，释放的裸露 AuNPs 在 Mg^{2+}作用下发生聚集，粒径增大	1.2 pg/mL	—	[36]
大肠杆菌 O157:H7	抗体修饰的多枝状 AuNPs	免疫探针吸附在细菌表面，使探针表观水化粒径从纳米级增大到微米级	2.7 CFU/mL	牛奶	[10]
单增李斯特菌	抗体修饰的 AuNPs	免疫探针吸附在细菌表面，使探针表观水化粒径从纳米级增大到微米级	22 CFU/g	生菜	[4]
转基因 DNA 序列	寡核苷酸修饰的 AuNPs	目的 DNA 与寡核苷酸探针杂交，使其无法吸附在 AuNPs 表面，导致 AuNPs 在高盐环境下聚集	30 fmol/L	缓冲液	[37]

注：AuNPs 未经特别说明均指球形金纳米颗粒。

敏度较常规 ELISA 方法高约 2 个数量级[5,27,30]。如 Zhang 等以免疫磁珠为载体,以抗原-牛血清白蛋白(bovine serum albumin,BSA)复合物修饰的 30 nm AuNPs 为信号输出探针,构建竞争 DLS 免疫分析方法检测牛奶中的黄曲霉毒素 M(aflatoxin M,AFM)。在形成免疫复合物后进行磁分离,通过检测溶液的散射光强度实现对 AFM 的快速定量分析,LOD 达 27.5 pg/mL[30]。基于 AuNPs 的等离子共振吸收为输出信号的等离子共振 ELISA(plasmonic ELISA,pELISA)是近年来比较受欢迎的高灵敏比色分析技术。Zhan 等以 GOx 为酶标记物,构建针对黄曲霉毒素 B_1(aflatoxin B_1,AFB_1)的竞争免疫分析方法[5]。GOx 可与体系中的辣根过氧化物酶(HRP)级联催化葡萄糖产生·OH,引发静电吸附在 AuNPs 探针表面的酪胺发生交联反应,进而导致 AuNPs 聚集,通过 DLS 分析粒径变化可检测低至 0.12 pg/mL 的 AFB_1。该方法比竞争 pELISA 和常规 ELISA 方法的灵敏度分别提高了 153 倍和 385 倍。

2.3 检测农兽药残留和非法添加物

近年来,我国农兽药残留和非法添加物引起的食品安全事件频发,社会影响极其恶劣[39]。乙酰胆碱酯酶催化乙酰胆碱水解可产生带正电的胆碱,其可使带负电的柠檬酸修饰的 AuNPs 发生聚集。Alami 等基于这一原理设计了针对农药对氧磷的 DLS 传感器。对氧磷会抑制体系中乙酰胆碱酯酶活性,阻止乙酰胆碱水解生成胆碱,从而导致 AuNPs 聚集程度下降。该方法的 LOD 为 75.5 pmol/L,由于灵敏度极高,在检测实际样品时可进行大比例稀释,从而可降低农药残留中基质效应的影响,提高检测准确性[31]。Levin 等利用小分子目标物的竞争反应可抑制纳米颗粒(分别修饰抗体、BSA-抗原复合物)之间的聚集,构建了 DLS 快速均相免疫分析方法来检测氯霉素。并对比了 AuNPs、磁珠、聚合物微球等探针的检测性能,发现 AuNPs 体系的检测灵敏度最高,LOD 达 2.4 ng/mL,定量检测范围为 5~10 000 ng/mL[32]。Ma 等基于静电作用可诱导柠檬酸修饰的 AuNPs 探针聚集,实现牛奶中三聚氰胺的特异性快速检测,LOD 为 50 ng/mL[33]。

2.4 检测致病菌

微生物污染是目前我国乃至全球面临的首要食品安全问题,其中以食源性致病菌最为常见[40]。目前平板培养法是检测食源性致病菌的金标准方法,但其存在耗时长(通常需要 24~48 h)、操作烦琐等缺陷,无法实现对致病菌的高效监测。据研究报道,AuNP-DLS 分析方法能实现致病菌或其 DNA 的快速(2~4 h)、高灵敏检测,是潜在的优良筛查技术。

Huang 和 Zhan 等分别以抗体修饰的球状 AuNPs 和多枝状 AuNFs 为免疫探针检测生菜中单增李斯特菌和牛奶中的大肠杆菌 O157:H7,分别达到 LOD 为 10 CFU/g 和单菌检测水平[4,10]。周宝青将 PCR 扩增技术与以扩增 DNA 为目标的 AuNP-DLS 技术结合,检测牛奶中沙门氏菌和大肠杆菌 O157:H7,LOD 达 10 CFU/mL[34]。Mcvey 等以 RNA 修饰的 AuNPs 为探针,开发一种利用核酸内切酶控制 AuNPs 聚集的方法检测致病菌 DNA[35]。AuNPs 表面的 RNA 可与目标 DNA 特异性杂交形成 DNA-RNA 异源双链结构,该结构很容易被 RNAse H 酶切,从而释放目标 DNA 与另一个 RNA 探针杂交,直至所有的 RNA 探针被切割,使暴露在高电解质中的 AuNPs 聚集并产生粒径信号变化。该传感器检测鸡肉中空肠弯曲菌 DNA 的 LOD 为 18 fmol/L,总分析时间不到 3 h。

3 展 望

由于 AuNPs 易制备和便于修饰的特点,AuNP-DLS 传感器构建过程非常简单,可实现均相分析,也可与多种技术如 ELISA[5]和核酸扩增[19-20]结合。同时,由于 DLS 仪器的高灵敏性和 AuNPs 超强的光散射能力,AuNP-DLS 传感器具备简单、快速和灵敏性高等优点,在食品安全、临床诊断和环境监测等生化分析领域具有很好的应用前景。然而,这项技术在走向实际应用之前还有一些瓶颈问题有待突破。

第一,目前 DLS 传感器在食品安全检测中的应用研究仍比较有限,缺乏系统性研究,且目前多是用于水、牛奶等少数几种食品样品基质中的危害物分析,该类技术抗复杂食品基质干扰的能力需得到更多实证。AuNP-DLS 方法的高灵敏性利于通过样本稀释的方法来降低基质效应对探针的干扰,同时也可以通过结合免疫磁分离等技术减少基质干扰。另外,通过改善 AuNPs 表面修饰技术,制备鲁棒性更好的探针至关重要。

第二,现有检测灵敏度仍无法满足一些极端痕量物质的检测需求,因此检测灵敏度需进一步提

高。目前,DLS 传感器几乎都是以 AuNPs (包括球形、多枝状和棒状 AuNPs)为信号输出探针。后续可探究采用光散射能力更强的探针(如银纳米颗粒或包覆银壳层的纳米材料)[41]来提高灵敏度。同时,多功能探针,如金磁纳米粒子[42]可同时实现信号输出和磁富集功能,从而构建抗基质干扰能力更强、灵敏度更高的 DLS 传感器。

第三,DLS 分析技术目前仅限于实验室使用,无法满足一些现场检测或资源匮乏地区的需求。因此,开发小型化、便携式 DLS 设备非常关键。

参考文献:

[1] BEQA L,SINGH A K,KHAN S A,et al. Gold nanoparticle-based simple colorimetric and ultrasensitive dynamic light scattering assay for the selective detection of Pb(II) from paints,plastics,and water samples[J]. **ACS Applied Materials and Interfaces**,2011,3(3):668-673.

[2] COHEN R J,BENEDEK G B. Immunoassay by light scattering spectroscopy[J]. **Immunochemistry**,1975,12(4):349-351.

[3] JANS H,HUO Q. Gold nanoparticle-enabled biological and chemical detection and analysis[J]. **Chemical Society Reviews**,2012,41(7):2849-2866.

[4] HUANG X L,XU Z D,MAO Y,et al. Gold nanoparticle-based dynamic light scattering immunoassay for ultrasensitive detection of *Listeria monocytogenes* in lettuces[J]. **Biosensors and Bioelectronics**,2015,66:184-190.

[5] ZHAN S N,HU J Q,LI Y,et al. Direct competitive ELISA enhanced by dynamic light scattering for the ultrasensitive detection of aflatoxin B_1 in corn samples[J]. **Food Chemistry**,2020,342(39):1-8.

[6] XIONG C,LING L S. Label-free,sensitive detection of Hg(II) with gold nanoparticles by using dynamic light scattering technique[J]. **Talanta**,2012,89:317-321.

[7] ZHENG X T,GOH W L,YEOW P,et al. Ultrasensitive dynamic light scattering based nanobiosensor for rapid anticancer drug screening[J]. **Sensors and Actuators B:Chemical**,2019,279:79-86.

[8] LIU X,DAI Q,AUSTIN L,et al. A one-step homogeneous immunoassay for cancer biomarker detection using gold nanoparticle probes coupled with dynamic light scattering[J]. **Journal of the American Chemical Society**,2008,130(9):2780-2782.

[9] GAO Y,XU S,HE T,et al. Ultrasensitive and specific microRNA detection via dynamic light scattering of DNA network based on rolling circle amplification[J]. **Sensors and Actuators B: Chemical**,2020,324:1-9.

[10] ZHAN S N,FANG H,FU J M,et al. Gold nanoflower-enhanced dynamic light scattering immunosensor for the ultrasensitive no-wash detection of *Escherichia coli* O157:H7 in milk[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,2019,67(32):9104-9111.

[11] WANG X,LI Y,QUAN D,et al. Detection of hepatitis B surface antigen by target-induced aggregation monitored by dynamic light scattering[J]. **Analytical Biochemistry**,2012,428(2):119-125.

[12] DAI Q,XIONG L,COUTTS J,et al. A one-step highly sensitive method for DNA detection using dynamic light scattering[J]. **Journal of the American Chemical Society**,2008,130(26):8138-8139.

[13] DASARY S,SENAPATI D,SINGH A K,et al. Highly sensitive and selective dynamic light-scattering assay for TNT detection using p-ATP attached gold nanoparticle[J]. **ACS Applied Materials and Interfaces**,2010,2(12):3455-3460.

[14] MIAO X M,CEN X,WANG W W,et al. Dynamic-light-scattering-based sequence-specific recognition of double-stranded DNA with oligonucleotide-functionalized gold nanoparticles[J]. **Chemistry–A European Journal**,2011,17(40):11230-11236.

[15] MIAO X,LING L,SHUAI X. Sensitive detection of glucose in human serum with oligonucleotide modified gold nanoparticles by using dynamic light scattering technique[J]. **Biosensors and Bioelectronics**,2013,41:880-883.

[16] LU X H,FAN W J,FENG Q Y,et al. A versatile dynamic light scattering strategy for the sensitive detection of plant microRNAs based-on click chemistry-amplified aggregation of gold nanoparticles[J]. **Chemistry–A European Journal**,2019,25,1701-1705.

[17] SEOW N,TAN Y N,YUNG L L Y. Gold nanoparticle-dynamic light scattering tandem for the rapid and quantitative detection of the let7 microRNA family[J]. **Particle and Particle Systems Characterization**,2015,31(12):1260-1268.

[18] SEOW N,TAN Y N,YUNG L L Y,et al. DNA-directed assembly of nanogold dimers:a unique dynamic light scattering sensing probe for transcription factor detection[J]. **Scientific Reports**,2015,5(1):1-8.

[19] LI T T,ZOU L,ZHANG J,et al. Non-invasive diagnosis of bladder cancer by detecting telomerase activity in human urine using

hybridization chain reaction and dynamic light scattering[J]. **Analytica Chimica Acta**,2019,1065:90-97.
[20] ZOU L,LING L. Ultrasensitive detection of HIV DNA with polymerase chain reaction-dynamic light scattering (PCR-DLS)[J]. **Analytical Chemistry**,2018,90(22):13373-13377.
[21] SHEN R,ZHANG J,HUANG W,et al. Dynamic light scattering and fluorescence dual-signal sensing of cancer antigen-125 via recognition of the polymerase chain reaction product with gold nanoparticle probe[J]. **Analytica Chimica Acta**,2021,1145:87-94.
[22] DRISKELL J D,JONES C A,TOMPKINS S M,et al. One-step assay for detecting influenza virus using dynamic light scattering and gold nanoparticles[J]. **Analyst**,2011,136(15):3083-3090.
[23] WANG G L,YU M X,WANG G P. A versatile dynamic light scattering strategy for the sensitive detection of microRNAs based on plasmonic core-satellites nanoassembly coupled with strand displacement reaction[J]. **Biosensors and Bioelectronics**,2019,138:1-5.
[24] CHAO L,MA J,FAN Q,et al. Dynamic light scattering (DLS)-based immunoassay for ultra-sensitive detection of tumor marker protein[J]. **Chemical Communications**,2016,52(50):7850-7853.
[25] YU L,JING Y,SZA B,et al. Dynamic light scattering immunosensor based on metal-organic framework mediated gold growth strategy for the ultra-sensitive detection of alpha-fetoprotein[J]. **Sensors and Actuators B:Chemical**,2021,341:1-9.
[26] KALLURI J R,ARBNESHI T,KHAN S A,et al. Use of gold nanoparticles in a simple colorimetric and ultrasensitive dynamic light scattering assay:selective detection of arsenic in groundwater[J]. **Angewandte Chemie International Edition**,2009, 48(51):9668-9671.
[27] WANG L,ZHU Y,XU L,et al. Side-by-side and end-to-end gold nanorod assemblies for environmental toxin sensing[J]. **Angewandte Chemie International Edition**,2010,49(32):5472-5475.
[28] MIAO X,LING L,CHENG D,et al. A highly sensitive sensor for Cu^{2+} with unmodified gold nanoparticles and DNAzyme by using the dynamic light scattering technique[J]. **Analyst**,2012,137(13):3064-3069.
[29] MIAO X,LING L,SHUAI X. Ultrasensitive detection of lead (II) with DNAzyme and gold nanoparticles probes by using a dynamic light scattering technique[J]. **Chemical Coummunications**,2011,47(14):4192-4194.
[30] ZHANG Z,LIN M,ZHANG S,et al. Detection of aflatoxin M_1 in milk by dynamic light scattering coupled with superparamagnetic beads and gold nanoprobes[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,2013,61(19):4520-4525.
[31] ALAMI A E,LAGARDE E,HUO Q,et al. Acetylcholine and acetylcholinesterase inhibitors detection using gold nanoparticles coupled with dynamic light scattering[J]. **Sensors International**,2020,1:1-7.
[32] LEVIN A D,ALENICHEV M K,DROZHZHENNIKOVA E B,et al. Dynamic light scattering biosensing based on analyte-induced inhibition of nanoparticle aggregation[J]. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**,2020,412(14):3423-3431.
[33] MA H X,WU B,HUANG C,et al. One-step highly sensitive detection of melamine using gold nanoparticle-based dynamic light scattering[J]. **Analytical Methods**,2013,6(1):67-72.
[34] 周宝青. 基于金纳米粒子动态光散射技术快速检测沙门菌和大肠杆菌 O157:H7 的研究及食品安全检测车设计[D]. 南昌:南昌大学,2018.
[35] MCVEY C,HUANG F,ELLIOTT C,et al. Endonuclease controlled aggregation of gold nanoparticles for the ultrasensitive detection of pathogenic bacterial DNA[J]. **Biosensors and Bioelectronics**,2016,92:502-508.
[36] WANG J,LI T,SHEN R,et al. Polymerase chain reaction-dynamic light scattering sensor for DNA and protein by using both replication and cleavage properties of Taq polymerase[J]. **Analytical Chemistry**,2019,91:3429-3435.
[37] GAO D,SHENG Z,HAN H. An ultrasensitive method for the detection of gene fragment from transgenics using label-free gold nanoparticle probe and dynamic light scattering[J]. **Analytica Chimica Acta**,2011,696(1):1-5.
[38] 徐炜,张玉磊,施妍,等. 真菌毒素降解酶及其在饲料与食品行业中的研究现状[J]. 食品与生物技术学报,2023,42(1):1-17.
[39] 王超众,刘信奎,张连成,等. 动物源性食品中 65 种兽药残留的快速检测方法[J]. 食品与生物技术学报,2020,39(4):102-111.
[40] 李云霞,马生龙,聂莹莹,等. 食源性致病菌的核酸可视微阵列检测技术[J]. 食品与生物技术学报,2020,39(9):105-111.
[41] MIAO X M,ZOU S Y,ZHANG H,et al. Highly sensitive carcinoembryonic antigen detection using Ag@Au core-shell nanoparticles and dynamic light scattering[J]. **Sensors and Actuators B:Chemical**,2014,191:396-400.
[42] CHUN C H,JOO J Y,KWON D H,et al. A facile and sensitive immunoassay for the detection of alpha-fetoprotein using gold-coated magnetic nanoparticle clusters and dynamic light scattering[J]. **Chemical Communications**,2011,47(39):11047-11049.