

纳米酶标记免疫分析技术在食品安全检测应用中的研究进展

刘紫洋 胡高爽 郝建雄 王晨宇 史莹莹 俞清秀

(河北科技大学食品与生物学院, 河北 石家庄 050000)

摘要:食品安全问题现已成为全社会共同关注的热点话题,而高效、灵敏的检测技术是保障食品安全的重要工具。免疫分析法是生化靶点高灵敏度检测的金标准,为食品污染物的检测提供了良好的平台,近年来逐渐被应用于各类食品安全检测。纳米酶作为一种天然酶的模拟物,具有稳定性好、灵敏度高优势,符合日益降低的检测限形势下对快检方法的要求。文章综述了基于纳米酶标记的免疫分析技术的检测原理和优势所在,对该技术在不同食品安全检测领域包括农兽药残留、重金属残留、真菌毒素、食源性致病菌、其他有害物检测等的应用实例进行了阐述,同时对纳米酶未来的发展趋势进行了讨论。

关键词:纳米酶;免疫分析技术;食品安全;检测

Research progress on immunoassay technology based on nanoenzyme labeling in detection of food safety

LIU Ziyang HU Gaoshuang HAO Jianxiong WANG Chenyu SHI Yingying YU Qingxiu

(College of Food and Biology, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang, Hebei 050000, China)

Abstract: Food safety has become a hot topic of widespread concern across society, and efficient, sensitive detection technologies are essential tools for ensuring food safety. Immunoassay is the gold standard for high-sensitivity detection of biochemical targets, providing an excellent platform for the detection of food contaminants. In recent years, it has gradually been applied to various food safety detection methods. Nanoenzymes, as synthetic analogs of natural enzymes, offer advantages such as good stability and high sensitivity, meeting the demands of rapid detection methods under increasingly stringent detection limits. This article reviews the detection principles and advantages of immunoassay technology based on nanoenzyme labeling, discussing its applications in different areas of food safety detection, including agricultural and veterinary drug residues, heavy metal residues, mycotoxins, foodborne pathogenic bacteria, and other harmful substances. It also addresses the future development trends of nanoenzymes.

Keywords: nanoenzyme; immunoassay technology; food safety; detection

随着经济和经济的快速发展,生活与文化水平不断提高,食品安全问题日益成为人们关注的热点。受制于生产原料、前处理制备技术和环境等风险因素,农兽药残留、工业重金属、真菌毒素、食源性致病菌等污染物残留问题时有发生,这些污染物会经长期摄入的食品在人体内蓄积,成为人类健康的潜在威胁之一。传统的食品安全检测方法以仪器分析方法最为常见,包括光谱法^[1]、电

化学法^[2]、液相色谱法^[3]、液相色谱—串联质谱法^[4]、气相色谱—质谱法^[5]等,但液相色谱、气相色谱等仪器需要昂贵的检测仪器和专业人员指导,存在检测成本高、操作繁琐等不足之处,难以满足大批量样品快速检测的需求。

免疫分析技术是利用抗体与相应抗原的特异性结合作用,从而实现各类食品污染物的特异性快速检测分析手段,具有特异性强、灵敏度高、操作简单等优点^[6],对

基金项目:河北省教育厅科研项目(编号:BJK2024191);河北省现代农业产业技术体系建设专项基金(编号:HBCT2024270206)

通信作者:胡高爽(1989—),女,河北科技大学副教授,博士。E-mail: hugaoshuang1989@163.com

郝建雄(1979—),男,河北科技大学教授,博士。E-mail: cauhjx@163.com

收稿日期:2024-06-09 **改回日期:**2024-12-12

传统食品污染物检测技术的缺陷起到了有效的弥补作用,极适用于大批样品的现场快速检测。然而,传统的免疫分析技术以天然酶或胶体金等作为标记材料,极易受到外界条件的影响而导致结果不稳定,进而限制了灵敏度的进一步提高^[7-9]。

近年来,纳米材料作为一种新型标记材料备受关注。纳米酶就是其中一类具有生物催化功能的纳米材料,具有成本低、制备简单等优势^[10]。与天然酶相比,纳米酶作为新型标记物在免疫分析技术中展现出了独特的优势,其较大的比表面积和良好的生物相容性,可提高其与检测目标之间的作用效率,从而实现高灵敏度的检测。随着纳米材料的不断发展和成熟,纳米酶作为标记物的应用前景广阔,为免疫分析技术带来了新的突破和可能性。文章拟综述基于纳米酶标记的免疫分析技术的检测原理和优势所在,对该技术在不同食品安全检测领域包括农药残留、重金属残留、真菌毒素、食源性致病菌、其他有害物质检测等的应用实例进行阐述,同时对纳米酶未来的发展趋势进行讨论,以期对新型免疫分析技术检测食品安全方面提供理论支持。

1 纳米酶标记的免疫分析技术检测原理

在免疫分析技术中,抗体或抗原偶联标记物的结合程度与信号读出直接相关,因为它们发挥的作用是将抗体和抗原之间的结合情况转化为可测量的信号,从而得出检测物的残留浓度。基于纳米酶标记的免疫分析技术利用纳米酶的表面可修饰性,采用亲疏水作用、物理和化学吸附等^[11]方法优化反应路径,对抗原进行修饰得到酶标抗原,使得纳米酶与底物之间结构互补,从而增强酶标记物对抗原与抗体的亲和力与特异性^[12-13]。在反应池中,通过抗原或抗体与酶标记物进行竞争反应后,纳米酶发挥其催化特性对底物进行氧化作用,产生可观测的信号(比色信号),或进一步利用纳米酶对荧光物质的猝灭效应(荧光信号)实现信号放大,从而实现对食品污染物的灵敏检测^[14]。

为了使纳米酶成为天然酶的理想替代物,可以通过仿生设计、分子印迹、表面修饰等多种手段对其结构和功能进行灵活的人工改造,从而增强催化广谱性、提高催化效率和稳定性^[15-16]。然而材料种类和合成方法的不同,都会使纳米酶的催化活性出现差异。目前在免疫分析中使用及潜在的纳米酶类型与合成方法,主要包括金属、金属氧化物、复合纳米材料等纳米结构(见表1)。这些金属纳米酶不仅具有过氧化物酶(peroxidase, POD)、氧化酶(oxidase, OXD)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和过氧化氢酶(catalase, CAT)模拟活性,还具有硅酸盐、酯酶和转磷酸化酶样活性,为信号转换带来了新的前景^[24-26]。此外,金属纳米材料具有多功能的性质,它们可以利用氨基、羧基和巯基等化学基团进行表面修饰,并与许多生物分子如抗体、酶和寡核苷酸结合,从而得到功能多样的纳米酶^[27]。

除了合成方法和材料的不同,纳米酶合成的条件也会导致纳米酶的催化活性出现不同程度的升高或降低,如内部设计(大小、形状和结构)以及外部条件(pH和温度)等^[26]。不同形态的Pd纳米结构作为SOD和CAT模拟具有不同的表面反应性,有研究^[28-29]发现,随着合成过程中溶液pH的变化,Pt NPs可以表现出POD、SOD或CAT模拟酶活性,可以为设计具有所需催化和生物特性的Pt NPs提供有用的指导。同时,纳米酶具有可再生性,能实现多次使用以节约成本。随着材料科学和生物技术的发展,越来越多功能丰富、成本低廉的纳米酶被开发和应用用于各类食品污染物的检测。但目前纳米酶的基本合成机制研究较少,所得产品性质不够稳定,大小、形状和分布会受到各种因素的影响。因此,构建对免疫分析技术特定条件具有准确和可控响应的纳米酶,对于防止潜在的信号干扰具有重要作用。

2 纳米酶在食品安全检测中的应用

已报道的基于纳米酶的免疫分析方法在食品安全检测中的应用,如表2所示。

表1 不同种类纳米酶的制备方法

Table 1 Preparation methods of different kinds of nanoenzymes

纳米酶类型	举例	制备方法	参考文献
金属纳米酶	金纳米颗粒	柠檬酸三钠还原法	[17]
碳基纳米酶	氧化石墨烯纳米酶	Hummers法、超声剥离法	[18]
金属氧化物纳米酶	四氧化三铁纳米颗粒	共沉淀法	[19]
共价有机框架COFs	EB-COF-1	电子束辐照法	[20]
金属有机框架MOFs	Cu-MOF	水热法	[21]
	Fe-Ni-MOF	溶剂热法、模板刻蚀法	[22]
复合纳米材料	磁性g-C ₃ N ₄ -Fe ₃ O ₄ 复合纳米材料	原位沉淀法、钕铁硼磁铁外加磁场分离	[23]

表 2 基于纳米酶标记的免疫分析方法在食品安全检测中的应用

分析物	免疫分析方法类型	纳米酶类型	检出限	检测范围	样品基质	参考文献
阿特拉津	多重电化学免疫传感器	介孔核壳 Pd@Pt 纳米颗粒	0.24 μg/L	0.1~500.0 μg/L	天然水、井水	[30]
乙草胺	多重电化学免疫传感器	介孔核壳 Pd@Pt 纳米颗粒	3.2 μg/L	1~1 000 μg/L	天然水、井水	[30]
恩诺沙星	纳米花型电化学发光免疫传感器	Au@牛血清白蛋白(BSA)纳米颗粒	0.33 pg/mL	0.001~20.000 ng/mL	鸡肉、猪肉、鸭肉	[31]
Cr(VI)	荧光免疫分析法	铁氰酸酯插层 Ni/Al (Ni/Al) ₂ Fe(CN) ₆ 层状双氢氧化物纳米酶	0.039 μmol/L	0.067~10.000 μmol/L	自来水、河水、雨水	[32]
亚砷酸盐	比色免疫法	Au 纳米颗粒	8 μg/L	0.01~11.67 mg/L	自来水、湖水	[33] ⁴⁰⁻⁴⁴
赭曲霉毒素 A	比色免疫吸附法	Co(OH) ₂ 纳米笼	0.26 ng/L	0.5 ng/L~5.0 mg/L	自来水、湖水	[34]
黄曲霉毒素 B ₁	多壁碳纳米管@纳米氧化锡修饰的免疫传感器	多壁碳纳米管@纳米氧化锡-壳聚糖复合材料	0.03 ng/L	10 ⁻³ ~10 ³ ng/mL	花生油	[35] ¹⁷
金黄色葡萄球菌	侧流层析分析法	万古霉素修饰的 Fe ₃ O ₄ @MOF@PtPd 磁性纳米酶	2 CFU/mL	10~100 000 CFU/mL	牛奶	[36]
盐酸克伦特罗	比色法	核酸适配体-金纳米粒子	18.7 nmol/L	50~350 nmol/L	水	[37]
含硫化合物(Na ₂ S、Na ₂ SO ₃ 、Na ₂ S ₂ O ₃ 和 Na ₂ S ₂ O ₈)	三通道比色传感阵列	氮掺杂的单原子钴纳米酶	0.078~0.218 μmol/L	1.6~320.0 μmol/L	矿泉水、牛奶、红酒、蛋清	[38] ⁴⁴

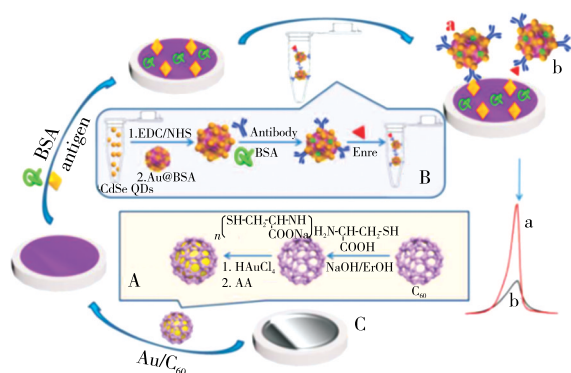
2.1 农兽药残留

农业和畜牧养殖行业的发展离不开农药和兽药,其在提高农产品产量与质量、避免病虫害、减少动物疾病等方面具有重要意义,因此农药和兽药被广泛使用。然而,一些农兽药难以降解,或因滥用而导致农、畜、水污染与食品污染等问题时有发生,且这些污染物能够通过食物链的富集作用进入人体,威胁人类健康^[39-40]。

传统酶底物可以对高浓度污染物产生响应,达到检测目的,但对于痕量目标物的高灵敏检测还有待提高。而纳米材料本身具有的催化性质和稳定性,使其成为替代传统酶的有力选择,进而改善检测灵敏度,用于低浓度污染物的高效检测。Ruan等^[30]利用介孔核壳 Pd@Pt 纳米颗粒标记抗体,通过 3D 打印构建免疫传感器,以纳米酶为信号标签,利用其过氧化物模拟酶活性催化乙酸硫堇与 H₂O₂ 的氧化还原反应,从而产生驱动信号达到检测除草剂残留情况。该研究实现了对阿特拉津和乙草胺的同时检测,两种除草剂的检出限分别达到了 0.24,3.20 μg/L。然而灵敏度提高的同时,快速和现场检测农产品中的药物残留仍然是一个挑战,这就对检测方法的快速、便捷性提出了要求。Li等^[41-42]利用纳米酶与目标物的反应特性,通过对纳米酶催化活性的特异性抑制作用进行检测,

得到了良好的结果。前者的检测方法对毒死蜱的检出限为 0.57 ng/mL,后者对草甘膦的检出限为 0.175 mg/kg,达到两种残留物的检测要求。值得注意的是,所建立的纳米酶片材具有明显的颜色强度变化,可以实现对草甘膦的视觉检测,达到快检的目的,同时为快速检测毒死蜱和草甘膦提供了新思路。

纳米酶对于目标物的应用具有广泛性,除农药残留物以外,也可以与兽药产生相互作用实现特异性识别检测^[43-45]。Chen等^[31]成功构建了基于富勒烯和金纳米粒子@牛血清白蛋白(bovine serum albumin,BSA)一半导体量子点(quantum dots,QDs)的纳米花型电化学发光免疫传感器(图 1),以 C₆₀ 作为底物,使用 L-半胱氨酸进行化学表面改性,以获得更好的水溶性和丰富的氨基和硫醇基团,进一步强化花状 Au@BSA 纳米颗粒对抗原的识别能力,从而用于鸡肉、猪肉和鸭肉中恩诺沙星含量的测定分析。结果显示该方法在诺氟沙星、沙拉沙星和氧氟沙星存在的条件下,对于恩诺沙星仍有较高的选择性,表明该方法的特异性良好,对恩诺沙星具有专一性识别能力。在恩诺沙星质量浓度 0.001~20.000 ng/mL 范围内线性关系良好,检测限低至 0.33 pg/mL,有望应用于实际样品中恩诺沙星的高灵敏测定。因此,纳米酶与新型免疫传感



A. Au/C₆₀的合成工艺; B. Au@BSA 标记抗体 ECL 探针的合成过程; C. 免疫传感器的制备及 ECL 反应机制

图1 基于金功能化 C₆₀ 和 Au@BSA 纳米花片的电化学发光免疫传感器对恩诺沙星的敏感性检测示意图^[31]

Figure 1 Schematic diagram of sensitive detection of enrofloxacin by an electrochemiluminescence immunosensor based on gold functionalized C₆₀ and Au@BSA nanoflowers

器的共同构建,可以作为兽药残留高灵敏检测的有力方法。

2.2 重金属残留

重金属离子如 Pb²⁺、Hg²⁺、Cu²⁺ 等容易在水中富集而污染环境。国外一些学者在 20 世纪 80 年代就开展了针对重金属离子的免疫学方法检测,国内也紧随其后开展了相关研究,目前汞、铜、锌等重金属离子已经被研制出特异性抗体和对应检测方法^[46-47]。

Xiang 等^[48]将铂纳米颗粒负载于 SiO₂ 纳米颗粒的表面用以合成基于 SiO₂ 的过氧化物模拟酶,能够特异性还原 Hg²⁺,降低 Hg²⁺ 抑制纳米酶的催化能力,可以在 20 min 内检测到 Hg²⁺,检测限低至 60 fmol/L,线性范围为 5 pmol/L~5 μmol/L。所提出的方法具有操作简单、成本低、响应快等优点,在复杂湖水中的回收率良好。然而,有些重金属离子抗体制备困难,有学者^[32,49-51]考虑从纳米酶的催化活性入手,通过特异地增强、激活或抑制纳米酶的催化活性进行检测。薛强胜^{[33]28-45}通过分析目标物诱导柠檬酸根稳定的金纳米颗粒(gold nanoparticles, AuNPs)聚集,增强其类过氧化物酶活性从而引发 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(3,3',5,5'-tetramethylbenzidine, TMB)显色反应,利用催化信号放大比色法实现了亚砷酸盐的高效测定,检测线性范围为 0.01~11.67 mg/L,所提出的检测方法表现出优异的选择性(图 2)。基于上述方法,纳米酶不仅可以高效催化显色底物的氧化,在痕量靶标下也能产生显色产物,因此它们被认为是污染物监测中很有前途的候选者,基于纳米酶建立的重金属免疫检测传感器具有选择性好、灵敏度高、准确快捷的优势。

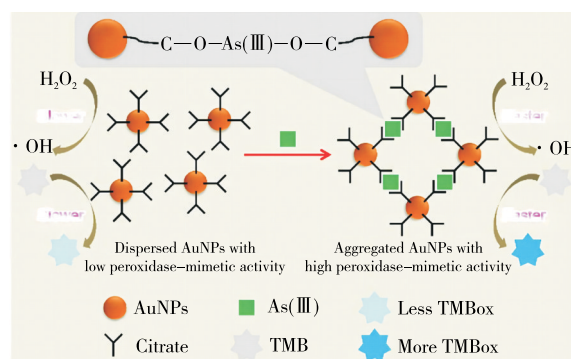


图2 基于目标物诱导柠檬酸钠稳定的金纳米粒子聚集并增强其类过氧化物酶催化活性的三价砷传感示意图^{[33]28-45}

Figure 2 Schematic illustration of the sensing of As(III) based on target-induced citrate-stabilized Au nanoparticle aggregation with accelerated peroxidase-like catalytic activity

2.3 真菌毒素检测

食品中的毒素污染是食品安全领域中的一个重要问题,在食品与农产品的生产和贮藏过程中,极易出现真菌毒素及其产毒菌的污染,不仅会导致粮食和经济损失,而且会严重威胁人类健康。以赭曲霉毒素(ochratoxin A, OTA)为例,赭曲霉毒素可诱导产生肝毒性、致畸性等危害,广泛存在于小麦、玉米、果汁等食物中。因此,Zhu 等^[34]开发了一种间接竞争酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA),用 Co(OH)₂ 纳米笼标记二抗,以纳米酶为信号标签,利用其类氧化酶活性,实现了对赭曲霉毒素的检测,在 0.5 ng/L~5.0 μg/L 范围内检测限低至 0.26 ng/L,对玉米样品的回收率为 99.6%~107.4%,可以用于实际样品的检测。然而,为扩大检测 OTA 的检测范围,Tian 等^[52]则开发了一种新型的比色适配体传感器。基于级联反应放大检测信号,利用二氧化锰纳米片层的类氧化酶活性,通过测量 TMB 的吸光度值实现对 OTA 的高灵敏检测,该方法线性范围为 1.25~250.00 nmol/L,检出限低至 0.069 nmol/L,达到了更低的检测限,为 OTA 的检测提出了新方向(图 3)。

此外,针对同样毒性强、传播范围广的黄曲霉毒素(aflatoxin, AF)^[53],刘增宁^{[35]10-19}则制备了一种基于多壁碳纳米管(MWCNTs)@纳米氧化锡铋(ATO)修饰的免疫传感器,以 K₃[Fe(CN)₆]/K₄[Fe(CN)₆] 和 0.1 mol/L KCl 进行 1:1 混合后作为氧化还原探针,通过免疫传感器在检测不同浓度的 AFB₁ 时不同的电流响应规律得到样品中 AFB₁ 的浓度。结果显示,在最佳条件下该方法线性范围为 10⁻³~10³ ng/L,对花生油样品的回收率为 95.15%~111.60%,相对标准偏差为 2.3%~5.3%,说明其有较好的检

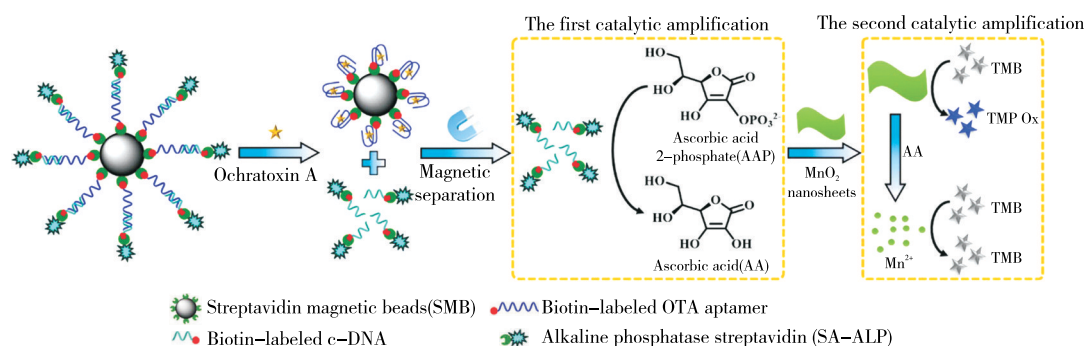


图3 基于纳米酶的级联比色适体感受器的OTA检测机理示意图^[52]

Figure 3 Schematic for the mechanism of the nanozyme-based cascade colorimetric aptasensor for OTA detection

测准确性和宽泛的检测范围,可以应用到实际样品AFB₁的检测中。

2.4 食源性致病菌检测

食源性致病菌种类繁多,往往具有致病性强、分布广泛、适应环境能力强等特点,能够直接或间接地污染食品及水源,从而引发食品安全问题。因此,许多国家都对食源性致病菌制定了相关食品法规与标准^[54-57]。然而中国对特异性、便捷性的致病菌检测技术需求仍有较大缺口^[58],因此开发一种能够实现对食源性致病菌的现场快检方法具有重要意义。

Zheng等^[59]研制了一种光学生物传感器,该传感器基于多孔gold@platinum纳米催化剂,结合了一种被动式三维微混合器用以快速检测鼠伤寒沙门氏菌。该方法使用免疫磁性纳米颗粒和被动式三维微混合器对致病菌进行快速的选择性分离,将纳米酶标记到靶细胞上作为信号输出对TMB与H₂O₂进行催化氧化,最后通过测量吸光度得到检测结果,检测限达17 CFU/mL。然而在食品安全检测中,污染物的种类复杂且多样,单一的残留物检测已经发展得相对成熟,多目标检测是未来的必然趋势。李秀萍等^[36]合成了一种万古霉素修饰的Fe₃O₄@MOF@PtPd磁性纳米酶,结合侧流层析分析(lateral flow assay, LFA)传感器,实现了对金黄色葡萄球菌的灵敏检测。该方法通过制备磁性纳米酶增强金黄色葡萄球菌适配体与病原菌的亲和力,以磁性纳米酶为信号探针,通过在试纸条上捕获探针后进一步催化显色,线性范围为10~100 000 CFU/mL,检测限达2 CFU/mL,该试纸条对牛奶中所添加金黄色葡萄球菌的回收率为96.9%~103.4%。该LFA传感器具有灵敏度高、操作简便的优点;同时,其具有通用性,仅通过更换适配体就能应用于其他革兰氏阳性菌的检测,符合日益增长的多种污染物检测的潜在特性。

2.5 其他有害物检测

采用纳米酶作为标记物进行免疫分析检测已越来越

广泛,上述农兽药残留、重金属残留、真菌毒素、食源性致病菌主要涵盖食品安全中的有害大分子领域,而其他有害物也是主要的食品污染残留物。例如较为常见的瘦肉精,如盐酸克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇等,均属于β-肾上腺素受体激动剂,因其能够提升脂肪分解代谢、加速蛋白质合成^[60]和提高瘦肉率^[61]而被广泛应用于畜牧业中。但部分瘦肉精残留会通过动物源性食品引发人畜的毒副作用,对人体伤害性极大。对此肖淑艳等^[37]选用金纳米粒子作为比色探针,以核酸适配体为识别原件,通过适配体与盐酸克伦特罗结合使氯化钠诱导金纳米粒子聚集,利用比色法对盐酸克伦特罗实现快速检测(图4),该方法线性范围为50~350 nmol/L,检出限为18.7 nmol/L,可以实现对盐酸克伦特罗的有效监测。为了进一步提高检测速率和时间,拓宽检测范围,刘思杰^[62]选用磁性普鲁士蓝纳米酶作为双功能信号标签,在水热法合成的Fe₃O₄磁性基底上以壳生长方式获得普鲁士蓝纳米颗粒,将纳米酶本身颜色产生的视觉比色信号与其模拟的过氧化物酶催化活性产生的催化信号相结合,利用酶催化信号放大效应,构建了基于并行检测线的免疫层析试纸条,实现了对莱克多巴胺和盐酸克伦特罗的双信号、宽范围检测,检测限分别为0.12, 0.20 ng/mL。该方法不仅可以满足同一目标物的不同检测限需求,而且对于食品生产流通等环节中危害因子的风险监管也具有重要的现实意义。由于食品中残存的污染物不仅仅限制于一种或一类,因此在追求快速、便捷的免疫分析检测技术的同时,也需要关注多种污染物的同时检测需求。

此外,纳米酶能够同时表现出多种类似天然酶的酶活性,其可调节的光学特性和整合不同元素的灵活性都为纳米酶的应用提供了优势^[63-64]。含硫化合物也是常见的食品安全风险因素,如过量食用硫化氢、亚硫酸钠等容易引发肝硬化、过敏反应等情况,严重时还可能致人死亡。武凤玲^[38]^[22-44]合成了一种氮掺杂单原子钴纳米酶,并基于此构建了三通道比色传感阵列,实现了对不同浓度

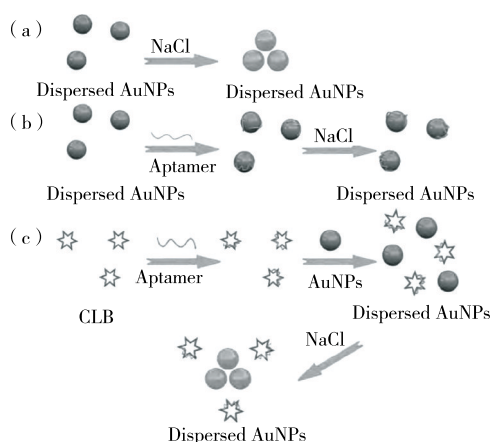


图4 基于适配体的金纳米粒子比色生物传感器用于快速检测盐酸克伦特罗示意图^[37]

Figure 4 Schematic diagram of aptamer-based gold nanoparticle colorimetric biosensor for rapid detection of clenbuterol hydrochloride

的含硫化合物以及多元含硫化合物的混合体系的区分检测。结果表明,在 pH 3.0 的 HAc-NaAc 缓冲液中,对 4 种含硫化合物的检测范围为 1.6~320.0 $\mu\text{mol/L}$,检测限为 0.077 8~0.218 0 $\mu\text{mol/L}$,能够准确识别矿泉水、红酒、牛奶以及蛋清中的含硫化合物。并基于智能手机实现了含硫化合物的可视化检测。现如今的免疫分析方法中,纳米酶类型与合成方法的不断创新,为污染物的检测带来了新的方向。然而,除了纳米酶的参与外,探索基于纳米酶与免疫分析方法的快速智能检测(手机联用)方案对未来免疫分析中污染物的检测具有重要意义。

3 结论与展望

纳米酶及其他纳米材料的快速发展,为免疫分析技术研究提供了新的方向。基于纳米酶标记的免疫分析检测技术在食品安全领域表现出了良好的检测性能,但食品中复杂多类的残留物质还需要更加灵敏、多样的检测方法以应对现场快速检测或多残留的检测问题。

(1) 纳米酶虽然种类繁多,但是有大部分催化机制尚不明确,且酶学催化反应性质较少,其结构微粒易团聚等特点也对实际应用造成了限制。除此之外,相比于天然酶的催化性质,纳米酶的催化机理还需要进一步探索,进而开发具有不同催化性质的纳米酶,从而扩大可检测目标物覆盖的范围,丰富信号输出模式。

(2) 目前,在食品安全领域,基于纳米酶的免疫测定方法,可用且稳定获得的商业方法仍然很少见,大部分的检测步骤相对复杂,对于现场快速检测存在缺陷,因此开发基于纳米酶的现场快速检测技术尤为重要,如:基于纳米酶构建免疫层析试纸条和检测柱等检测方法,可以有

效缩短检测时间,从而构建更加便携的可视化传感平台。

(3) 尽管纳米酶在食品安全检测领域的应用已经非常丰富,但只专注于纳米酶催化实现的比色信号还是会对检测的灵敏度有一定的限制。荧光纳米粒子,包括量子点、纳米簇等荧光材料已被用于免疫分析检测技术,通过结合纳米酶和荧光材料两者的优势,以荧光信号取代吸收信号,实现信号转化,从而提高方法的灵敏度,为基于纳米酶免疫分析技术在未来的应用提供新的机会。同时,液相色谱—质谱联用等成熟技术可以为所构建方法进行准确评估,对促进基于纳米酶的免疫测定的实际应用具有重要意义。

参考文献

- [1] 胡晓蓉. 光谱技术在食品安全检测中的应用研究进展[J]. 食品安全导刊, 2024(17): 158-160.
- [2] HU X R. Research progress on the application of spectral technology in food safety detection[J]. China Food Safety Magazine, 2024(17): 158-160.
- [3] 李方东, 张瑞婷, 程赞, 等. 基于精准识别的农兽药残留快速检测技术研究进展[J/OL]. 食品科学. (2024-12-10) [2024-12-11]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20241210.1410.043.html>.
- [4] LI F S, ZHANG R T, CHENG Z, et al. Recent advances in precise recognition and rapid detection technology for pesticide and veterinary drug residues[J/OL]. Food Science. (2024-12-10) [2024-12-11]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20241210.1410.043.html>.
- [5] ZAYED S, BELAL F, BARGHASH S, et al. Simultaneous determination of selected ionophoric coccidiostats and amino acids in feed premixes using high-performance liquid chromatography-ultraviolet detection method[J]. Journal of Separation Science, 2024, 47(4): 2300761.
- [6] MELEKHIN A O, TOLMACHEVA V V, GONCHAROV N O, et al. Multi-class, multi-residue determination of 132 veterinary drugs in milk by magnetic solid-phase extraction based on magnetic hypercrosslinked polystyrene prior to their determination by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2022, 387: 132866.
- [7] BODUR S E, BODUR S, AYYILDIZ M F, et al. Determination of capsaicin at trace levels in different food, biological and environmental samples by quadruple isotope dilution-gas chromatography mass spectrometry after its preconcentration[J]. Journal of Chromatography A, 2024, 1731: 465147.
- [8] ZHOU X H, ZHENG B. Surface modification for improving immunoassay sensitivity[J]. Lab on a Chip, 2023, 23(5): 1151-1168.

- [7] ZHAO L J, LI S M, HUA M Z, et al. Development of a species-specific PCR coupled with lateral flow immunoassay for the identification of goose ingredient in foods[J]. Food Control, 2020, 114: 107240.
- [8] ZHAO L J, HU Y X, LIU W, et al. Identification of camel species in food products by a polymerase chain reaction-lateral flow immunoassay[J]. Food Chemistry, 2020, 319: 126538.
- [9] LI J L, MA B, FANG J H, et al. Recombinase polymerase amplification (RPA) combined with lateral flow immunoassay for rapid detection of *Salmonella* in food[J]. Foods, 2019, 9 (1): 27.
- [10] WANG K D, MENG X Q, YAN X Y, et al. Nanozyme-based point-of-care testing: revolutionizing environmental pollutant detection with high efficiency and low cost[J]. Nano Today, 2024, 54: 102145.
- [11] 范克龙, 高利增, 魏辉, 等. 纳米酶[J]. 化学进展, 2023, 35(1): 1-87.
- FAN K L, GAO L Z, WEI H, et al. Nanozymes[J]. Progress in Chemistry, 2023, 35(1): 1-87.
- [12] LIANG M M, YAN X Y. Nanozymes: from new concepts, mechanisms, and standards to applications[J]. Accounts of Chemical Research, 2019, 52(8): 2 190-2 200.
- [13] GAO L Z, GAO X F, YAN X Y. Nanozymology: connecting biology and nanotechnology: kinetics and mechanisms for nanozymes[M]. Berlin: Springer Singapore, 2020: 17-39.
- [14] 闫珍仪, 纪宇展, 于若朴, 等. 木质素碳纳米酶的制备及用于检测人尿液中多巴胺[J]. 分析试验室, 2024, 43(2): 288-293.
- YAN Z Y, JI Y Z, YU R P, et al. Preparation of lignin carbon nanoenzyme and its detection for dopamine in human urine[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2024, 43(2): 288-293.
- [15] 高利增, 魏辉, 曲晓刚. 纳米生物催化的研究现状和发展态势[J]. 中国科学: 生命科学, 2020, 50(7): 682-697.
- GAO L Z, WEI H, QU X G. Current developments and trends in nanobiocatalysis[J]. Scientia Sinica (Vitae), 2020, 50(7): 682-697.
- [16] 吴坤. 纳米酶的研究及应用进展[J]. 工业微生物, 2023, 53 (6): 84-87.
- WU K. Research and application progress of nanoenzyme technology[J]. Industrial Microbiology, 2023, 53(6): 84-87.
- [17] 孙燕燕, 赵亚茹, 李昕, 等. 基于金纳米颗粒标记非洲猪瘟病毒 p30 蛋白免疫层析检测方法的建立[J]. 中国兽医学, 2020, 50(8): 939-945.
- SUN Y Y, ZHAO Y R, LI X, et al. Development of a gold nanoparticle labeled immunochromatographic test strip for the detection of African swine fever virus antibodies[J]. Chinese Veterinary Science, 2020, 50(8): 939-945.
- [18] NGHIA N N, HU Y B T, LEE Y I. Colorimetric detection of chromium (VI) using graphene oxide nanoparticles acting as a peroxidase mimetic catalyst and 8-hydroxyquinoline as an inhibitor[J]. Microchimica Acta, 2018, 186(1): 36.
- [19] PEREIRA C, COSTA R S, LOPES L, et al. Multifunctional mixed valence N-doped CNT@MFe₂O₄ hybrid nanomaterials: from engineered one-pot coprecipitation to application in energy storage paper supercapacitors[J]. Nanoscale, 2018, 10 (26): 12 820-12 840.
- [20] 张明星, 陈俊畅, 张仕通, 等. 室温下电子束辐照快速合成共价有机框架[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2020, 38(5): 77-82.
- ZHANG M X, CHEN J C, ZHANG S T, et al. Rapid synthesis of covalent organic frameworks at room temperature through electron beam irradiation[J]. Journal of Radiation Research and Radiation Processing, 2020, 38(5): 77-82.
- [21] HU Y, YUE C C, WANG J, et al. Fe-Ni metal-organic frameworks with prominent peroxidase-like activity for the colorimetric detection of Sn²⁺ ions[J]. The Analyst, 2020, 145 (19): 6 349-6 356.
- [22] DUAN N, YANG W, WU S J, et al. A visual and sensitive detection of escherichia coli based on aptamer and peroxidase-like mimics of copper-metal organic framework nanoparticles [J]. Food Analytical Methods, 2020, 13(7): 1-9.
- [23] 陶虎春, 梁红飞, 张丽娟, 等. 磁性 g-C₃N₄-Fe₃O₄ 复合纳米材料的制备及其光催化降解水中 3 种喹诺酮类抗生素的研究 [J]. 北京大学学报(自然科学版), 2020, 56(3): 546-552.
- TAO H C, LIANG H F, ZHANG L J, et al. Preparation of magnetic g-C₃N₄-Fe₃O₄ nanocomposites and the photocatalytic degradation of three quinolones in aqueous solution[J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Pekinensis, 2020, 56(3): 546-552.
- [24] GOROBETS M G, BYCHKOVA A V, ABDULLINA M I, et al. Peroxidase-like activity of magnetic nanoparticles in the presence of blood proteins[J]. Doklady Biochemistry and Biophysics, 2023, 512(1): 270-273.
- [25] KHMARA I, ANTAL I, JURIKOVA A, et al. Influence of coating on peroxidase-like activity of magnetic nanoparticles [J]. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2024, 591: 171748.
- [26] ZHAO C, SHI G M, SHI F N, et al. The synthesis and excellent peroxidase-like activity for the colorimetric detection of H₂O₂ of core-shell Fe/FeS₂@C nanoparticles[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2022, 642: 128612.
- [27] DING S D, HU Z, LIU Y L, et al. Enhanced cadmium absorption and tolerance of rice epiphytic microbes by iron oxide nanoparticles[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2024, 190: 105770.
- [28] GE C C, FANG G, SHEN X M, et al. Facet energy versus

- enzyme-like activities: the unexpected protection of palladium nanocrystals against oxidative damage[J]. *ACS Nano*, 2016, 10(11): 10 436-10 445.
- [29] LIU Y, WU H H, LI M, et al. pH dependent catalytic activities of platinum nanoparticles with respect to the decomposition of hydrogen peroxide and scavenging of superoxide and singlet oxygen[J]. *Nanoscale*, 2014, 6(20): 11 904-11 910.
- [30] RUAN X F, WANG Y J, KWON E Y, et al. Nanomaterial-enhanced 3D-printed sensor platform for simultaneous detection of atrazine and acetochlor[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2021, 184: 113238.
- [31] CHEN W L, ZHOU R, YAO X, et al. Sensitive detection of enrofloxacin using an electrochemiluminescence immunosensor based on gold-functionalized C₆₀ and Au@BSA nanoflowers[J]. *New Journal of Chemistry*, 2018, 42(17): 14 142-14 148.
- [32] PU C Y, WANG Y, LI Y L, et al. Nano-enzyme functionalized hydrogels promote diabetic wound healing through immune microenvironment modulation[J]. *Biomaterials Science*, 2024, 12(15): 3 851-3 865.
- [33] 薛强胜. 基于贵金属纳米酶催化的冶金废水中金属离子比色检测方法研究[D]. 镇江: 江苏科技大学, 2022.
- XUE Q S. Study on colorimetric detection method of metal ions in metallurgical wastewater based on nobel metal nanozyme catalysis[D]. Zhenjiang: Jiangsu University of Science and Technology, 2022.
- [34] ZHU H S, QUAN Z, HOU H Y, et al. A colorimetric immunoassay based on cobalt hydroxide nanocages as oxidase mimics for detection of ochratoxin A[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2020, 1132: 101-109.
- [35] 刘增宁. 基于免疫传感器的黄曲霉毒素 B₁ 快速检测仪的研制[D]. 淄博: 山东理工大学, 2019.
- LIU Z N. Development of rapid detection instrument for aflatoxin B₁ based on immunosensor[D]. Zibo: Shandong University of Technology, 2019.
- [36] 李秀萍, 孙成栋, 王晓琼, 等. 基于多功能纳米酶的高灵敏金黄色葡萄球菌 Apt-LFA 检测方法[J]. *陕西师范大学学报(自然科学版)*, 2024, 52(1): 53-61.
- LI X P, SUN C D, WANG X Q, et al. Highly sensitive Apt-LFA detection for *Staphylococcus aureus* based on multifunctional nanoenzyme[J]. *Journal of Shaanxi Normal University (Natural Science Edition)*, 2024, 52(1): 53-61.
- [37] 肖淑艳, 孙良, 卢继平, 等. 核酸适配体金纳米粒子比色法快速检测盐酸克伦特罗[J]. *内蒙古科技大学学报*, 2021, 40(4): 320-325.
- XIAO S Y, SUN L, LU J P, et al. Aptamer-based Au NPs colorimetric biosensor for rapid detection of clenbuterol hydrochloride[J]. *Journal of Inner Mongolia University of Science and Technology*, 2021, 40(4): 320-325.
- [38] 武凤玲. 基于金属纳米酶比色传感阵列检测食品含硫化物和抗氧化剂的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2023.
- WU F L. Colorimetric sensor array based on metal nanozymes for the detection of sulfur-containing compounds and antioxidants in foods[D]. Changchun: Jilin University, 2023.
- [39] 张馨懿, 张孝渊, 孙淑媛, 等. 基于金属有机框架材料的农产品中农兽药残留快速检测与去除研究进展[J]. *食品工业科技*, 2024, 45(16): 404-417.
- ZHANG X Y, ZHANG X Y, SUN S Y, et al. Research progress on rapid detection and removal of pesticide and veterinary drug residues in agricultural products based on metal-organic frameworks[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2024, 45(16): 404-417.
- [40] 林海依. 食品中农兽药残留检测技术研究[J]. *食品安全导刊*, 2023(3): 148-150.
- LIN H Y. Study on detection technology of agricultural and veterinary drug residues in food[J]. *China Food Safety Magazine*, 2023(3): 148-150.
- [41] LI N N, LI R Y, WANG Q S, et al. Colorimetric detection of chlorpyrifos in peach based on cobalt-graphene nanohybrid with excellent oxidase-like activity and reusability[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 415: 125752.
- [42] LUO D Q, HUANG X H, LIU B Y, et al. Facile colorimetric nanozyme sheet for the rapid detection of glyphosate in agricultural products based on inhibiting peroxidase-like catalytic activity of porous Co₃O₄ nanoplates[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(11): 3 537-3 547.
- [43] CHEN D Y, LI Y Z, XU S F, et al. An *in situ* one-step route for the synthesis of Fe₃O₄@ZIF-8 core-shells with a high-peroxidase-like performance for the colorimetric detection of methyl parathion[J]. *Microchemical Journal*, 2024, 200: 110449.
- [44] QIN Z Y, ZHANG Y J, WEN G Q, et al. A new PdMOF-loaded molecularly imprinted polyaniline nanocatalytic probe for ultratrace oxytetracycline with SERS technique[J]. *Food Chemistry*, 2024, 447: 139041.
- [45] HU G S, LIU Z Y, ZHANG Y Q, et al. Fluorescence quenching biomimetic ELISA based on quantum dots for enrofloxacin detection in animal-derived foods[J]. *Microchemical Journal*, 2024, 201: 110589.
- [46] DARWISH I A, WANG Z Z, DARLING R J, et al. Development of two highly sensitive and selective sensor-assisted fluorescence immunoassays for trace determination of copper residues in food samples[J]. *RSC Advances*, 2023, 13(42): 29 195-29 205.
- [47] TIAN W, WANG S X, LI X M, et al. An automatic and smart platform for rapid detection of cadmium and lead

- simultaneously in rice using triple-amplified chemiluminescence immunoassay[J]. *Food Chemistry*, 2024, 437: 137900.
- [48] XIANG K K, CHEN G, NIE A X, et al. Silica-based nanoenzymes for rapid and ultrasensitive detection of mercury ions[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2021, 330: 129304.
- [49] DENG W, ZHOU Y, WAN Q L, et al. Nano-enzyme hydrogels for cartilage repair effectiveness based on ternary strategy therapy[J/OL]. *Journal of Materials Chemistry B*. (2024-06-06) [2024-12-11]. <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2024/tb/d4tb00307a/unauth>.
- [50] PREYENGA R. Enzyme-like activity of nanozymes, the enzyme mimics[M]// *Nano-Enzyme Incorporated Particles*. New York: Academic Press, 2024: 87-112.
- [51] LAKSHMI P K, GAYATHRI S S, KANNAN K. Various activities on the enhancement of nanobiocatalysts[M]// *Nano-Enzyme Incorporated Particles*. New York: Academic Press, 2024: 113-140.
- [52] TIAN F Y, ZHOU J, JIAO B N, et al. A nanozyme-based cascade colorimetric aptasensor for amplified detection of ochratoxin A[J]. *Nanoscale*, 2019, 11(19): 9 547-9 555.
- [53] ALAMERI M M, KONG A S, ALJAAFARI M N, et al. Aflatoxin contamination: an overview on health issues, detection and management strategies[J]. *Toxins*, 2023, 15 (4): 246.
- [54] YOUNES N, YASSINE H M, KOURENTZI K, et al. A review of rapid food safety testing: using lateral flow assay platform to detect foodborne pathogens[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2024, 64(27): 9 910-9 932.
- [55] CASAUX M L, NETO W S, SCHILD C O, et al. Epidemiological and clinicopathological findings in 15 fatal outbreaks of salmonellosis in dairy calves and virulence genes in the causative *Salmonella enterica* Typhimurium and Dublin strains[J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2023, 54(1): 475-490.
- [56] DEGHANI Z, NGUYEN T, GOLABI M, et al. Magnetic beads modified with Pt/Pd nanoparticle and aptamer as a catalytic nano-bioprobe in combination with loop mediated isothermal amplification for the on-site detection of *Salmonella* Typhimurium in food and fecal samples[J]. *Food Control*, 2021, 121: 107664.
- [57] ALADHADI M. A review of modern methods for the detection of foodborne pathogens[J]. *Microorganisms*, 2023, 11 (5): 1 111.
- [58] ZHU A F, ALI S, JIAO T H, et al. Advances in surface-enhanced Raman spectroscopy technology for detection of foodborne pathogens[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2023, 22(3): 1 466-1 494.
- [59] ZHENG L Y, CAI G Z, QI W Z, et al. Optical biosensor for rapid detection of *Salmonella typhimurium* based on porous Gold@Platinum nanocatalysts and a 3D fluidic chip[J]. *ACS Sensors*, 2020, 5(1): 65-72.
- [60] XUE L, JIN N N, GUO R Y, et al. Microfluidic colorimetric biosensors based on MnO₂ nanozymes and convergence-divergence spiral micromixers for rapid and sensitive detection of *Salmonella*[J]. *ACS Sensors*, 2021, 6(8): 2 883-2 892.
- [61] WANG L L, ZHANG H, SU L H, et al. Mild resorcinol formaldehyde resin polymer based immunochromatography assay for high-sensitive detection of clenbuterol[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2021, 331: 129443.
- [62] 刘思杰. 磁性普鲁士蓝催化信号放大介导的盐酸克伦特罗和莱克多巴胺双读数免疫层析检测方法研究[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2021: 23-40.
- LIU S J. Study on magnetic prussian blue catalyzed signal amplification mediated dual-readout immunochromatography for clenbuterol hydrochloride and ractopamine detection[D]. Xianyang: Northwest A & F University, 2021: 23-40.
- [63] 张依琳, 吴晓莉, 申世刚, 等. 金属纳米酶在疾病诊断中的应用研究进展[J/OL]. *分析试验室*. (2024-08-29) [2024-12-11]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2017.TF.20240828.1629.016.html>.
- ZHANG Y L, WU X L, SHEN S G, et al. Research progress on the application of metal nanoenzymes on diagnosis of diseases[J/OL]. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*. (2024-08-29) [2024-12-11]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2017.TF.20240828.1629.016.html>.
- [64] 张洁, 李楠, 赵娜. 聚集诱导发光分子纳米酶复合材料的研
究进展[J]. *有机化学*, 2024, 44(8): 2 469-2 478.
- ZHANG J, LI N, ZHAO N. Recent progress of aggregation-induced emission molecule nanozyme composites[J]. *Chinese Journal of Organic Chemistry*, 2024, 44(8): 2 469-2 478.