DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260203003
引用格式: 王渊, 张爱栎, 王蒙, 等. 分子印迹-表面增强拉曼光谱技术快速检测玉米中黄曲霉毒素 B_1 和玉米赤霉烯酮含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(13): 3–12.
Wang Yuan, Zhang Aili, Wang Meng, et al. Rapid detection of aflatoxin B_1 and zearalenone content in *Zea mays* L. by molecularly imprinted-surface-enhanced Raman spectroscopy technology [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(13): 3–12. (in Chinese with English abstract).

分子印迹-表面增强拉曼光谱技术快速检测玉米中黄曲霉毒素 B_1 和玉米赤霉烯酮含量

王 渊[1,2], 张爱栎[2], 王 蒙[2], 白凯旭[3], 王红军[3], 王 愈[1*], 翟文磊[2*]

(1. 山西农业大学食品科学与工程学院, 晋中 030801; 2. 北京市农林科学院质量标准与检测技术研究所, 北京 100097; 3. 中国储备粮管理集团有限公司山西分公司, 太原 030000)

摘 要: 目的 建立分子印迹-表面增强拉曼光谱(surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS)技术快速检测玉米中黄曲霉毒素 B_1 (aflatoxin B_1, AFB_1)和玉米赤霉烯酮毒素(zearalenone, ZEN)含量的方法。**方法** 制备双模板分子印迹材料进行玉米样品前处理净化, 以纳米银作为 SERS 活性基底, 建立基于 AFB_1 和 ZEN SERS 特征峰的非标记检测方法, 考察分子印迹聚合物的制备条件、SERS 检测体系(基底质量浓度、凝聚剂种类)对实验结果的影响。**结果** 在模板分子与功能单体摩尔比为 1:2、纳米银基底质量浓度为 0.56 mmol/L, 并分别以溴化钾和氯化镁作为凝聚剂的优化条件下, 采用双模板分子印迹前处理, AFB_1 与 ZEN 的检出限分别为 1.5 ng/mL 和 5.0 ng/mL, 线性范围为 10~1000 ng/mL, 决定系数分别为 0.9268 与 0.9611, 平均回收率为 93.29%~96.10%, 相对标准偏差均低于 5%。**结论** 本研究建立的方法操作简便、快速准确, 适用于玉米中 AFB_1 和 ZEN 的现场快速筛查。

关键词: 表面增强拉曼光谱技术; 分子印迹技术; 玉米; 黄曲霉毒素 B_1; 玉米赤霉烯酮毒素

中图分类号: TS207.3 **文献识别码:** A **文章编号:** 2095–0381(2026)13–0003–10

Rapid detection of aflatoxin B_1 and zearalenone content in *Zea mays* L. by molecularly imprinted-surface-enhanced Raman spectroscopy technology

WANG Yuan[1,2], ZHANG Ai-Li[2], WANG Meng[2], BAI Kai-Xu [3], WANG Hong-Jun[3], WANG Yu[1*], ZHAI Wen-Lei[2*]

(1. *School of Food Science and Engineering*, *Shanxi Agricultural University*, *Jinzhong* 030801, *China*; 2. *Institute of Quality Standard and Testing Technology*, *Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences*, *Beijing* 100097, *China*; 3. *China Grain Reserves Group Co*., *Ltd*., *Shanxi Branch*, *Taiyuan* 030000, *China*)

收稿日期: 2026-02-03
基金项目: 北京市农林科学院创新能力建设项目(KJCX20230217); 国家自然科学基金项目(32102056); 中储粮山西分公司科研项目(ZCLSXFGSKY-2024—03)
第一作者: 王渊(2000—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为食品污染物检测技术。E-mail: 20233695@stu.sxau.edu.cn
***通信作者:** 王愈(1968—), 男, 博士, 教授, 主要研究方向为农产品加工与贮藏。E-mail: wangyu@sxau.edu.cn
翟文磊(1987—), 男, 博士, 副研究员, 主要研究方向为农产品质量安全。E-mail: zhaiwl@iqstt.cn

ABSTRACT: Objective To establish a method for rapid determination of the aflatoxin B_1 (AFB_1) and zearalenone (ZEN) in *Zea mays* L. by molecularly imprinted-surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS). **Methods** Dual-template molecularly imprinted materials were prepared and used for the pretreatment and purification of *Zea mays* L.. Ag nanoparticles were employed as the SERS-active substrate, and a label-free detection method was developed based on the characteristic SERS peaks of AFB_1 and ZEN. The effects of molecularly imprinted materials preparation conditions and SERS detection parameters (including substrate concentration and type of aggregating agent) on the analytical performance were investigated. **Results** Under the optimized conditions, dual-template molecularly imprinted materials pretreatment (template-to-monomer molar ratio of 1:2), Ag nanoparticles concentration of 0.56 mmol/L, and potassium bromide and magnesium chloride as aggregating agents for AFB_1 and ZEN, respectively. The limits of detection were 1.5 ng/mL for AFB_1 and 5.0 ng/mL for ZEN. The linear ranges for both toxins were 10–1000 ng/mL, with determination coefficients of 0.9268 for AFB_1 and 0.9611 for ZEN. The average recoveries ranged from 93.29% to 96.10%, and the relative standard deviations were all below 5%. **Conclusion** The established method is simple, rapid, accurate, and suitable for on-site rapid screening of AFB_1 and ZEN in *Zea mays* L. powder.

KEY WORDS: surface-enhanced Raman spectroscopy technology; molecularly imprinted technology; *Zea mays* L.; aflatoxin B_1; zearalenone

0 引 言

真菌毒素主要由产毒真菌在侵染农作物的过程中产生, 广泛存在并严重污染粮食等作物, 直接危害人类健康[1]。其中, 黄曲霉毒素 B_1 (aflatoxin B_1, AFB_1)具有强烈的致癌、致突变能力[2], 已被国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)归类为 I 类致癌物[3–5]。玉米赤霉烯酮毒素(zearalenone, ZEN)可能对生殖系统、肝脏及肾脏等重要器官产生毒性作用[6–10]。研究表明 AFB_1 和 ZEN 在玉米中混合污染可能导致毒性协同增强[8–11]。因此, 对玉米中 AFB_1 和 ZEN 污染状况的监测尤为重要。目前, AFB_1 与 ZEN 的检测主要依赖高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)、液相色谱-质谱法(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)[9]。尽管这些方法灵敏度和可靠性较高, 但存在依赖大型仪器、成本高、费时费力、对操作技术人员要求高等不足, 难以满足现场快速检测需求。因此, 开发新技术实现对复杂基质中 AFB_1 与 ZEN 快速、精确的检测方法意义重大。

分子印迹技术(molecularly imprinting technique, MIT)是一种基于“锁钥”识别原理的仿生合成策略, 模板分子与功能单体之间形成复合物后加入交联剂聚合。共聚物完成后, 靶分子被洗脱留下三维腔体, 对靶分子进行特异性识别与富集[12–13]。该技术所制备的分子印迹聚合物(molecularly imprinted polymers, MIPs)兼具简便、成本较低、可重复使用等优势[14]。在复杂基质样品前处理中, MIPs 能够有效克服干扰物的影响, 显著提升目标物的纯化与富集效率, 已在真菌毒素领域展现出广泛应用前景[12]。此外, 当目标物毒性强、价格昂贵或难以获得时, 可采用虚拟模板分子印迹策略, 选用目标物的结构类似物作为模板制备 MIPs, 可以有效规避模板泄露对检测结果的干扰和产生的安全问题[15]。如 Palmieri 等[16]构建了适用于多种黄曲霉毒素的 MIPs, 用作固相萃取材料净化复杂食品样品; Fan 等[17]采用虚拟模板策略制备了 MIPs, 用于食品中 AFB_1 检测前处理。目前的 MIPs 主要是针对单一毒素开发的, 一种 MIPs 可以同时前处理两种或多种毒素的研究相对较少。

表面增强拉曼光谱(surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS)是一种高灵敏度的光谱分析技术[18–21], 可实现对痕量物质的快速、无损与高灵敏分析, 适用于多种小分子化合物的定性与定量检测[17,22]。当前 SERS 技术在真菌毒素检测领域应用广泛, 如 Guo 等[23]利用铝离子诱导碘修饰的银纳米颗粒聚集形成热点, 对花生和豆类样品中的 AFB_1 进行了无标记检测; Zhu 等[24]通过制备八面体形状的金纳米颗粒作为 SERS 基底, 并结合极限学习机算法模型, 无标记检测了玉米油中的 ZEN。然而, SERS 在实际样品检测过程中易受复杂基质的干扰, 存在定量分析准确性不足等问题[25]。将 MIT 作为前处理技术不仅可以提高 SERS 的选择性, 还可通过从复杂基质中富集目标分子来增强其灵敏度[14]。

目前已报道的基于 SERS 的真菌毒素检测方法, 多依赖于标记型生物识别元件(如适配体、抗体)或单一目标物的无标记检测, 对于玉米中 AFB_1 与 ZEN 这类混合污染毒素的高选择性、非标记快速分析, 仍面临显著挑战。为此, 本研究提出将双模板分子印迹前处理与非标记 SERS 检测相结合的分析策略, 旨在利用 MIPs 的特异性富集能力与 SERS 的灵敏识别, 消除基质干扰与特征峰重叠的影响, 为玉米中 AFB_1 与 ZEN 的快速检测提供一种高效、简便的新途径。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

玉米粉: 采购自北京多个零售市场, 共计 12 份。

AFB_1 标准品[纯度(99.4±0.6)%]、ZEN 标准品[纯度(99.4±0.6)%, ROMER 国际贸易(北京)有限公司]; 硝酸银(分析纯, 北京市通广精细化工公司); 柠檬酸钠 (纯度 99%, 北京伊诺科技有限公司); 氯化钠(NaCl)、氯化钾(KCl)、无水硫酸镁($MgSO_4$)、七水合硫酸锌($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$)、六水合氯化镁($MgCl_2 \cdot 6H_2O$)(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 溴化钾[分析纯, 西陇科学技术(汕头)有限公司]; 甲基丙烯酸(纯度 99.5%, methacrylic acid, MAA)、乙腈、甲醇(色谱纯)(美国赛默飞世尔科技公司); 华法林(纯度 95%, 德国韦塞尔 LGC 标准有限公司); 甲酸、5,7-二甲氧基香豆素(5,7-dimethoxycoumarin, 5,7-DMC)(纯度 97%, 中国上海泰坦化学有限公司); 二甲基乙二醇丙烯酸酯(纯度 98%, ethylene dimethacrylate, EGDMA)、偶氮二异丁腈[纯度 98%, 2,2'-azobis(2-methylpropionitrile), AIBN](上海麦克林生化科技有限公司); 罗丹明 6G (Rhodamine 6G, R6G)[纯度 95%, 萨恩化学技术(上海)有限公司]。

1.2　仪器与设备

ME203E/02 电子天平[精度 0.1 mg, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; MS-H280-Pro 磁力搅拌器[大龙兴创实验仪器(北京)股份公司]; ENVISION 多功能酶标仪[珀金埃尔默仪器(上海)有限公司]; 3-30K 台式冷冻离心机(德国 Sigma 离心机有限公司); ZWY-1102C 恒温培养振荡器(上海智城分析仪器制造有限公司); N-EVAP 氮吹仪(美国 Organomation 公司); DXR 激光共聚焦拉曼光谱仪[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]; ZNCL-TS 鼓风干燥箱(上海越众仪器设备有限公司); VORTEX-BE1 型涡旋混合器涡旋振荡器(海门市其林贝尔仪器制造有限公司); Xevo TQ-S 超高效液相色谱三重四极串联质谱联用仪、Acquity CORTECS UPLC C_{18} 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.6 μm)(美国 Waters 公司); Quanta 650FEG 热场发射扫描电子显微镜、Tecnai G2 F30 场发射透射电子显微镜(美国 FEI 公司); Spectrum 400 傅里叶变换红外光谱仪、EnVision 多功能酶标仪(美国 Perkin Elmer 公司)。

1.3　实验方法

1.3.1　双模板分子印迹聚合物的制备

为避免直接使用高毒性 AFB_1 和 ZEN 作为模板, 本研究选用其结构类似物 5,7-DMC 和华法林作为虚拟模板。其中, 5,7-DMC 的香豆素骨架可有效模拟 AFB_1 的分子构型, 而华法林因其内酯环与芳香环结构, 可作为 ZEN 的模拟类似物用于构建特异性识别位点[26–27]。最佳合成条件和步骤如下: 首先, 将模板分子 5,7-DMC (16.5 mg)和华法林(24.7 mg)共同溶解于 2 mL 乙腈中。缓慢加入功能单体 MAA (26 μL)后, 超声 5 min 至澄清后于室温下振荡 1 h, 使模板与单体充分通过分子间作用力结合, 完成预聚合。之后, 向该预聚合体系中加入 EGDMA 交联剂(362 μL)和 AIBN 引发剂 (4.1 mg), 超声 5 min 使其均匀混合。将混合物通入氮气 10 min 以驱除溶解氧, 随后转移至 60 ℃恒温环境中反应 24 h, 完成热引发聚合。聚合完成后, 采用索氏提取法, 以甲醇-乙酸(9:1, *V*:*V*)为洗脱溶剂, 对所得聚合物材料连续清洗 48 h, 彻底去除模板分子, 即获得双模板 MIPs。作为对照的非印迹聚合物(non-imprinted polymers, NIPs)除不加入任何模板分子外, 其余试剂、用量及合成步骤均与 MIPs 保持一致。

1.3.2　玉米粉样品前处理

本研究从市场采购了 12 份玉米粉样品, 准确称取 2 g 玉米粉样品于 50 mL 离心管中, 加入 20 mL 由乙腈(80%)和甲酸(0.1%)组成的提取溶剂体系, 置于恒温振荡器中, 以 2000 r/min 振荡提取 10 min, 使 AFB_1 和 ZEN 充分溶出。随后, 在 6000 r/min 转速下离心 10 min, 分离并收集上清液, 得到澄清的玉米粉基质提取液, 采用液相色谱-串联质谱法 (liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)测定其中 AFB_1 和 ZEN 的含量(LC-MS/MS 色谱与质谱条件分别如表 1 和表 2 所示), 并筛选出未检出上述 2 种毒素的样品作为空白基质, 用于后续加标回收实验。以空白基质提取液为溶剂基质, 通过逐级稀释方式, 分别配制得到 AFB_1 与 ZEN 双毒素质量浓度均为 10、100 及 1000 ng/mL 的系列混合加标溶液, 各 1 mL。将上述溶液在氮吹仪中于温和条件下吹干, 去除挥发性溶剂。最后, 采用 10%甲醇-水溶液 1 mL 对干燥残留物进行复溶, 并于涡旋振荡器上充分涡旋 2 min, 确保完全溶解并混合均匀, 所得溶液即为后续实验所用的待吸附液。

1.3.3　SERS 基底材料制备和检测方法建立

采用柠檬酸钠还原法制备纳米银溶胶 (Ag nanoparticles, AgNPs): 将 19 mg 硝酸银溶解于 100 mL 去离子水中, 磁力搅拌下加热至微沸。随后, 将 2 mL 1%柠檬酸钠溶液快速加入上述沸腾溶液中, 保持体系微沸并持续搅拌 30 min。反应结束后停止加热, 在持续搅拌下自然冷却至室温, 所得灰绿色溶胶即为 AgNPs SERS 基底, 于 4 ℃避光保存备用。检测时, 首先将制备的 AgNPs 溶胶用超纯水稀释一倍。随后, 在 200 μL 离心管中分别进行混合: 取 10 μL 稀释后的 AgNPs 溶胶, 与 10 μL 经溴化钾溶液(9:1, *V*:*V*)混合的 AFB_1 标准品溶液等体积混合; 另取 10 μL 同批次稀释后的 AgNPs, 与 10 μL 经氯化镁溶液(9:1, *V*:*V*)混合的 ZEN 标准品溶液等体积混合。将混合液分别滴加至铝箔片表面, 室温下自然干燥成膜。最后, 使用 DXR 激光显微拉曼光谱仪在 780 nm 激发波长、20 mW 激光功率下进行检测, 单个点光谱积分时间为 2 s, 每个点重复采集 3 次。

表 1 LC-MS/MS 色谱条件
Table 1 Chromatographic conditions of LC-MS/MS

参数	设定值
色谱柱	Waters Acquity CORTECS UPLC C_{18} (100 mm×2.1 mm, 1.6 μm)
色谱柱温度/℃	40
流动相 A	1 mmol/L 乙酸铵水溶液
流动相 B	甲醇
流速/(mL/min)	0.45
样品室温度/℃	10
进样体积/μL	5
梯度洗脱条件	0~6 min, 95%, A; 6~7.5 min, 95%~20% A; 7.5~7.6 min, 20%~10% A; 7.6~9 min, 95% A

表 2 LC-MS/MS 质谱条件
Table 2 Mass spectrometry conditions of LC-MS/MS

参数	设定值
离子源	电喷雾电离源(electrospray ionization, ESI)
扫描方式	正离子和负离子模式
监测模式	多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)
毛细管电压/kV	3.5(正离子模式); 3.0(负离子模式)
雾化气温度/℃	400
去溶剂气流量/(L/h)	700
离子源温度/℃	150

1.4 数据处理

使用 OMNIC for Dispersive Raman 软件进行 SERS 光谱数据采集；采用 Origin 2021 和 GraphPad Prism 10 进行数据统计分析与图表绘制。每个样品平行测定 3 次，结果以平均值表示。采用线性回归分析建立标准曲线，决定系数(r^2)用于评价线性相关性。加标回收率和相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)用于评价方法的准确度和精密度。

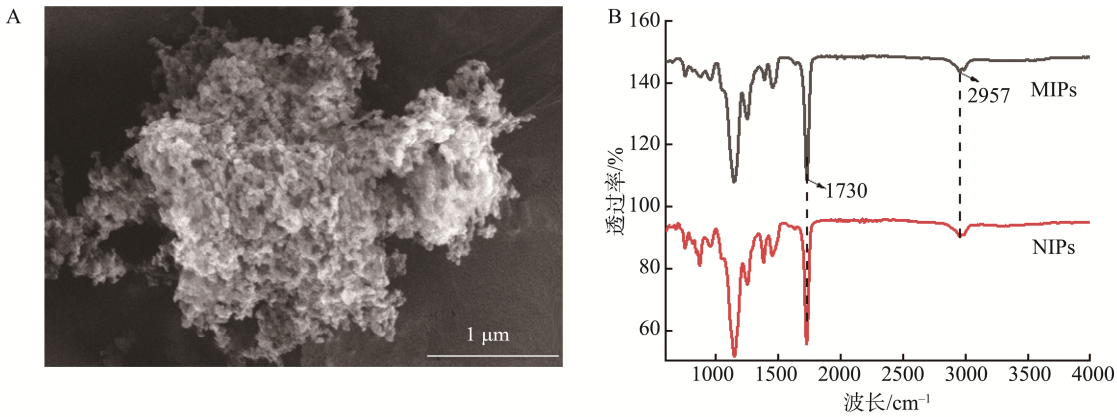
2 结果与分析

2.1 合成 MIPs 和 SERS 基底的表征

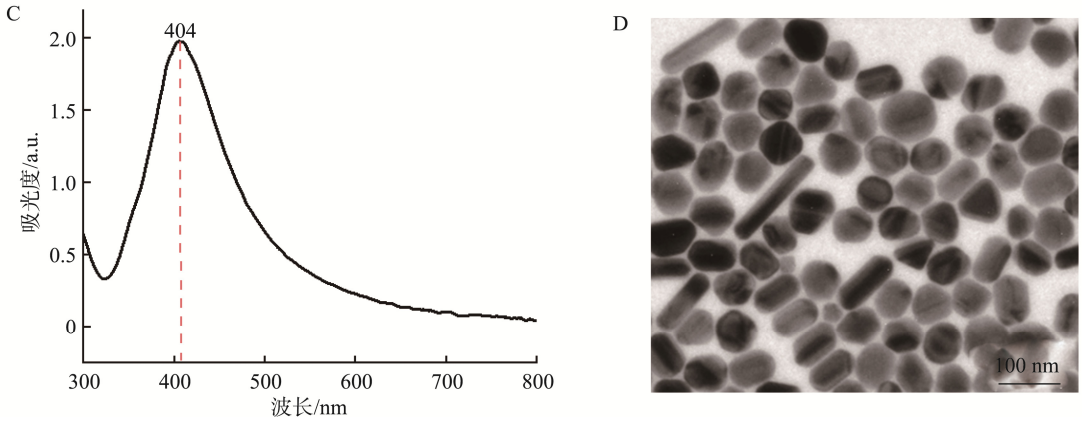
分别采用扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)、傅里叶变换红外光谱(fourier transform infrared spectrometer, FTIR)、紫外-可见吸收光谱(ultraviolet-visible spectrophotometer, UV-Vis)和透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)对合成的 MIPs 及 AgNPs 进行了表征，以观察 MIPs 的微观结构，并获取 AgNPs 的吸光度、粒径分布和颗粒形貌。MIPs 的 SEM 图像(图 1A)显示，双模板印迹使其表面呈现典型粗糙多孔形貌，孔径分布疏松，形成了丰富的特异性吸附位点[28]，为 AFB_1 和 ZEN 的高效富集提供了结构基础。FTIR 谱图(图 1B)进一步揭示了 MIPs 的合成情况，在 2957 cm^{-1} 处均出现 -CH_2-伸缩振动峰，源于功能单体 MAA 与交联剂 EGDMA 中亚甲基的叠加贡献[29]；而位于 1730 cm^{-1} 的强吸收峰则归属为羰基(C=O)伸缩振动，由 MAA 的羧基与 EGDMA 的酯基共同形成[29]。UV-Vis 谱(图 1C)中 AgNPs 于 404 nm 处的特征吸收峰证实了其成功合成[2]。TEM 表征(图 1D)进一步揭示，经过柠檬酸钠还原后的 AgNPs 呈球形，粒径均匀性良好，平均尺寸约为 60 nm，形貌规则、大小一致。该形貌有利于形成密集的 SERS“热点”，是理想的增强基底[30]。

2.2 MIPs 用于前处理富集条件的优化

模板分子与功能单体的摩尔比对 MIPs 的结构形成至关重要[31]。本研究系统优化了模板分子华法林和 5,7-DMC 与功能单体 MAA 的摩尔比。结果如图 2 所示：当模板分子与 MAA 的摩尔比由 1:1 增至 1:2 时，两种毒素的吸附率同步攀升并在 1:2 处达到峰值；继续提高单体比例至 1:4 或 1:8，吸附率反而下降。推测可能是由于 1:2 比例下 MAA 足量，可为双模板提供充裕羧基位点，通过氢键和 π-π 作



注: A. MIPs 的 SEM 图; B. MIPs 的 FTIR 图; C. AgNPs 的紫外-可见吸收光谱; D. AgNPs 的 TEM 图。
图 1 合成的 MIPs 与 AgNPs 材料的形貌与结构表征
Fig 1 Morphological and structural characterization of the synthesized MIPs and AgNPs materials



注: A. MIPs 的 SEM 图; B. MIPs 的 FTIR 图; C. AgNPs 的 UV-Vis 图; D. AgNPs 的 TEM 图。

图 1(续)　合成的 MIPs 与 AgNPs 材料的形貌与结构表征

Fig. 1　Morphological and structural characterization of the synthesized MIPs and AgNPs materials

用形成印迹空穴[32]; 而过量单体(≥1:4)使聚合物网络过度交联, 孔道致密、模板洗脱困难且空间位阻增大, 导致再结合效率降低。基于实验结果, 1:2 被确定为后续合成 MIPs 模板分子与功能单体 MAA 的最佳摩尔比。

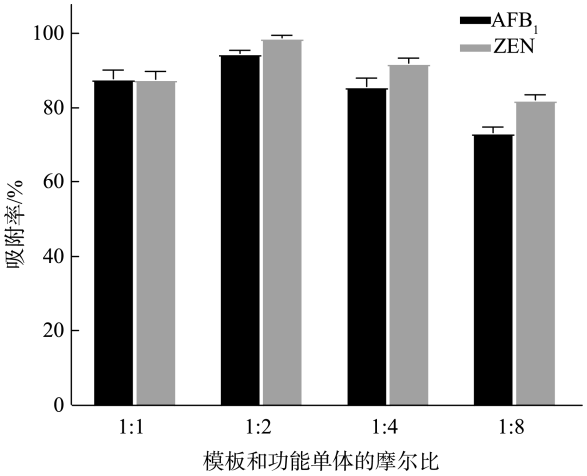


图 2　模板分子和功能单体的摩尔比对 MIPs 吸附率的影响(n=3)

Fig. 2　Effects of the molar ratio of template molecule to functional monomer on the adsorption rate of MIPs (n=3)

在对 MIPs 合成条件进行优化后, 为评估 MIPs 对于 AFB_1 和 ZEN 的选择性吸附能力, 将其应用于实际样品对其应用效能进行了评价。结果如表 3 所示, 在加标量为 10~1000 ng/mL 时, AFB_1 和 ZEN 的平均回收率为 98.07%~102.80%, RSDs 为 0.57%~3.23%。研究结果表明, 所制备的 MIPs 对于 AFB_1 和 ZEN 显示出优异的选择性富集能力, 为检测与分析玉米中的真菌毒素提供了一种便捷、高效的前处理方法。

2.3　AFB_1 和 ZEN 的 SERS 谱图分析

AFB_1 与 ZEN 的 SERS 特征峰及其振动归属如图 3A、3B 所示, 二者在选定检测条件下均呈现出多个明确的特征振动峰, 与已报道文献[17,33]相吻合。其中, AFB_1 的分子结构以香豆素母核与双呋喃环为特征, 其 SERS 光谱在 1266 cm^{-1} 处呈现显著特征峰, 该峰归属为 C-O-C 伸缩振动[2], 此振动模式在 AFB_1 结构中具有高度特异性, 且在所选检测体系下信号强、受基质干扰小; 而 ZEN 作为一种大环内酯类雌激素类似物, 其分子中的芳香环与内酯结构在 SERS 光谱中于 745 cm^{-1} 处表现出明显的特征响应, 该峰归属为芳香环上 C-H 面外弯曲振动[33], 该模式在 ZEN 结构中具有代表性, 且在 AFB_1 的 SERS 谱图中相应位置无重叠峰, 具备良好的特异性。因此, 选择 AFB_1 的 1266 cm^{-1} 峰与 ZEN 的 745 cm^{-1} 峰作为分析对象, 进行实验条件的优化。

表 3　MIPs 富集效率验证

Table 3　Verification of MIPs enrichment efficiency

加标质量浓度/(ng/mL)	AFB_1 平均回收率/%	AFB_1 RSDs/%	ZEN 平均回收率/%	ZEN RSDs/%
10	98.23	0.57	101.10	3.23
100	101.17	1.15	98.07	0.75
1000	102.80	1.52	99.00	1.43

2.4　SERS 检测条件的优化

2.4.1　SERS 基底活性的优化

为验证同一批次 AgNPs SERS 基底的空间均匀性, 本研究在该批次 AgNPs 胶体上随机对 10^{-6} mol/L R6G 扫描 20 张图谱, 光谱叠加图如图 4A 所示。在 500~2000 cm^{-1} 指纹区内, 20 条谱线高度重合, 无明显位移或分裂, 且 RSDs 为 4.28%。结果表明, 该批次柠檬酸钠还原法制备的 AgNPs 粒径分布窄、颗粒分散均匀, 基底表面热点密度一致, 为后续定量检测提供了可靠的重现性保障。

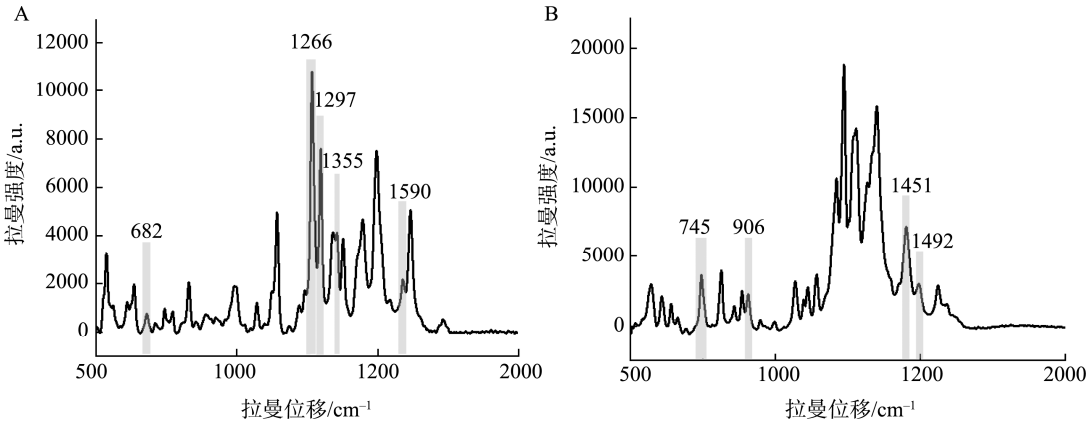


图 3 AgNPs 中 AFB_1 (A)和 ZEN (B)的 SERS 光谱(1000 ng/mL)

Fig. 3 SERS spectrogram of AFB_1 (A) and ZEN (B) on AgNPs (1000 ng/mL)

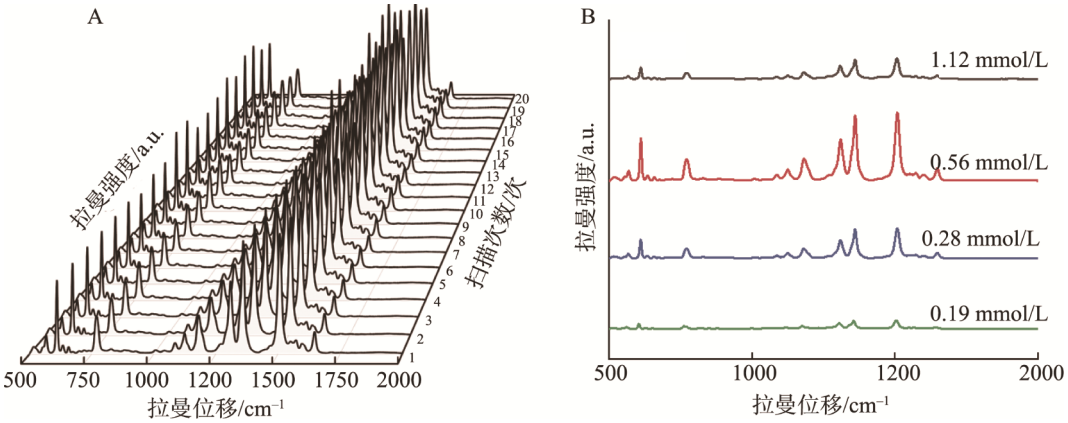
为系统考察基底 AgNPs 的 SERS 活性，以 10^{-6} mol/L R6G 的高信号强度和可识别光谱作为探针分子，系统考察了 AgNPs 基底浓度对 SERS 增强效率的影响。如图 4B 所示，当基底保持原浓度(1.12 mmol/L)时，R6G 拉曼特征峰(1309、1360、1507 cm^{-1} 等)呈现微弱信号，表明过高颗粒密度导致过度团聚，热点被掩埋而难以暴露。将基底浓度稀释为 0.56 mmol/L 时，R6G 所有特征峰强度显著增强，说明适度稀释使 AgNPs 分散性提高，形成更多均匀的纳米间隙，电磁热点密度最大化。继续稀释基底浓度至 0.28 mmol/L 或 0.19 mmol/L，峰强度呈阶梯式衰减，归因于有效纳米颗粒密度降低，SERS 响应降低。综合考虑灵敏度与重现性，选择基底浓度 0.56 mmol/L 作为后续实验条件，以确保对痕量目标物具备最佳 SERS 响应。

2.4.2 凝聚剂的选择

柠檬酸钠还原制得的 AgNPs 表面覆有柠檬酸根，对待测物的吸附产生阻碍，削弱了 SERS 活性；加入适量凝聚剂可中和表面电荷，促使颗粒可控聚集，拉近纳米间隙，激发更强局域表面等离子体共振，进而实现表面增强[34]。本研究系统比较了 $MgCl_2$、$MgSO_4$、KBr、NaCl、KCl、$ZnSO_4$ 6 种凝聚剂对 AgNPs 胶体 SERS 活性的影响，结果如图 5 所示。就 AFB_1 而言，KBr 的增强效果显著优于其余 5 种盐；而对于 ZEN，$MgCl_2$ 则表现出最佳聚集效应。推测其机制可能在于，卤族离子可通过特异性吸附调控纳米颗粒表面电荷，溴离子(Br^-)具有更强的银表面亲和力，能够吸附于 AgNPs 表面并诱导其适度聚集，从而形成更多 SERS“热点”，有效增强 AFB_1 的信号；而镁离子(Mg^{2+})与氯离子(Cl^-)在 ZEN 存在的体系中，可能通过特定的界面相互作用或形成聚集形态，且 Mg^{2+}还可能通过与 ZEN 分子中的氧原子发生配位桥联作用，更有利于该分子在 AgNPs 表面的富集与信号增强。最终选择 KBr 与 $MgCl_2$ 分别作为 AFB_1 和 ZEN 的凝聚剂，以满足灵敏度要求[35–37]。

2.5 基于 SERS 对 AFB_1 和 ZEN 的定量分析

为实现对 AFB_1 与 ZEN 的准确定量，本研究配制了 10~1000 ng/mL 系列标准溶液。图 6 显示，两种毒素在指纹区呈现清晰且互不干扰的特征峰，其中 AFB_1 选择 1266 cm^{-1} (为 C-O-C 拉伸振动)，ZEN 选择 745 cm^{-1}(为 C-H 面外弯曲振动)，峰强度随质量浓度的升高而递增。以峰强度对质量浓度



注：A. 10^{-6} mol/L R6G 的 20 组 SERS 光谱图；B. 不同基底浓度对应的 SERS 谱图。

图 4 AgNPs 基底稳定性的考察及其浓度对 SERS 活性的影响

Fig. 4 Investigation of the stability of the AgNPs substrate and the effect of its concentration on SERS activity

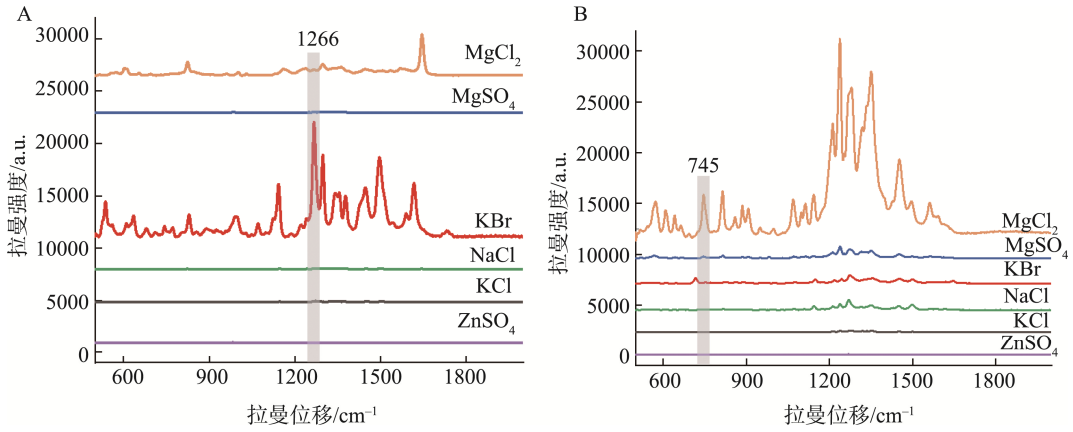
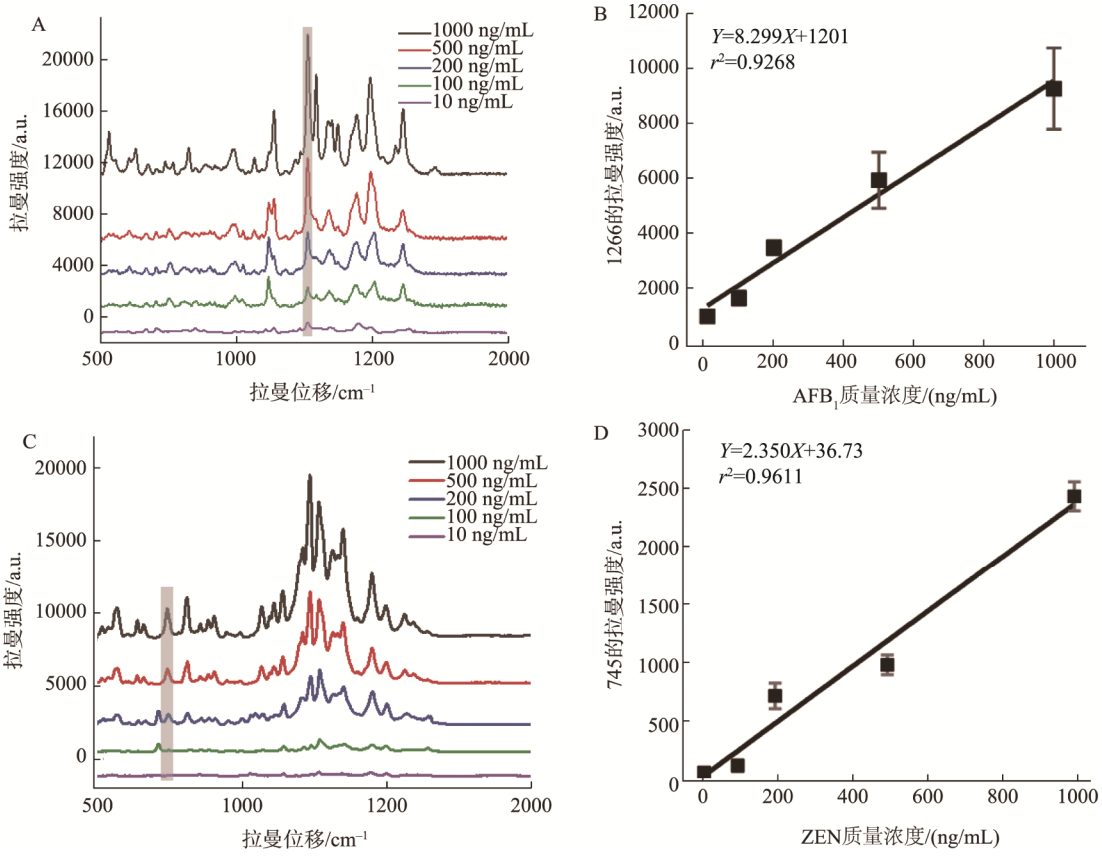


图 5　不同凝聚剂对 AFB_1 (A)和 ZEN (B) SERS 信号的影响

Fig. 5　Effects of different aggregating agents on the SERS signals of AFB_1 (A) and ZEN (B)



注: A. 不同质量浓度 AFB_1 的 SERS 谱图; B. AFB_1 质量浓度与信号强度的线性关系图; C. 不同质量浓度 ZEN 的 SERS 谱图; D. ZEN 质量浓度与信号强度的线性关系图。

图 6　AFB_1 与 ZEN 的 SERS 光谱及定量分析标准曲线

Fig 6　SERS spectra and calibration curves for quantitative analysis of AFB_1 and ZEN

作图, 在 10~1000 ng/mL 范围内均获得良好线性, AFB_1 与 ZEN 的决定系数(r^2)分别为 0.9268 和 0.9611, 该线性区间覆盖 GB 2761—2017《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》对玉米中 AFB_1 (20 μg/kg)和 ZEN (60 μg/kg)的限量水平, 表明方法在实际检测中具备充分的定量能力。以线性范围最低点作为定量限(limit of quantitation, LOQ), AFB_1 与 ZEN 的 LOQ 均为 10 ng/mL。此外, 本研究测得的检出限(limit of detection, LOD)分别为: AFB_1 1.5 ng/mL,

ZEN 5.0 ng/mL, 体现出方法对痕量目标物的灵敏检测性能, 证实方法可直接用于玉米粉实际样品中双毒素的快速定量筛查。

2.6 实际样品加标检测

为验证所建方法在实际样品中的准确度与适用性, 配制了质量浓度低、中、高 3 个水平(10、100 和 1000 ng/mL) AFB_1、ZEN 的玉米粉加标样本进行回收率实验。结果如表 4 所示, 对于玉米中的 AFB_1, 平均回收率为 95.53%~96.10%, RSDs 为 1.64%~2.06%; 检测 ZEN 的平均回收率为 93.29%~96.10%, RSDs 为 0.65%~1.75%。实验结果表明, 利用本研究开发的 MIT 检测玉米中的 AFB_1 和 ZEN 含量具有较高的准确性, 证实了该方法可为玉米中的真菌毒素检测提供一种快速、便捷、准确的检测手段。

2.7 与其他 AFB_1 或 ZEN 快检方法的比较

本研究建立的双模板分子印迹前处理与非标记 SERS 的快速检测方法与现有 AFB_1 和 ZEN 检测技术(包括荧光、电化学、免疫层析法)相比, 展现出良好的综合性能与应用潜力(表 5)。在检测灵敏度方面, 本方法线性范围相比较宽(10~1000 ng/mL), 可完全覆盖 GB 2761—2017 对玉米中 AFB_1 (20 μg/kg)和 ZEN (60 μg/kg)的限量要求。在检测速度上, 本方法全过程约 15 min, 与多数快速方法相当, 远优于传统色谱技术, 能满足现场快速筛查的需求。突出优势主要体现在两方面: (1)能够实现 AFB_1 和 ZEN 的检测, 而现有文献报道大多仅针对单一毒素, 这更符合实际样品中多种真菌毒素共存的情况, 显著提高了检测效率; (2)本方法采用双模板 MIPs 进行前处理, 避免使用昂贵且不易保存的生物识别元件(如适配体、抗体), 大幅降低了前处理成本。

表 4 实际样品加标检测中 AFB_1 和 ZEN 的回收率(n=3)

Table 4 Recoveries of AFB_1 and ZEN in the spiked detection of real samples (n=3)

加标质量浓度/(ng/mL)	AFB_1 测定质量浓度/(ng/mL)	AFB_1 平均回收率/%	AFB_1 RSDs/%	ZEN 测定质量浓度/(ng/mL)	ZEN 平均回收率/%	ZEN RSDs/%
10	9.61	96.10	1.94	9.41	94.06	1.75
100	95.53	95.53	1.64	93.29	93.29	1.29
1000	960.50	96.05	2.06	961.00	96.10	0.65

表 5 MIP-SERS 方法与其他方法在 AFB_1 和 ZEN 检测方面的比较

Table 5 Comparison of the MIP-SERS method with other methods for the detection of AFB_1 and ZEN

检测方法	检测对象	LODs	线性范围	检测时间/min	识别元件	实际样品	参考文献
荧光传感器	AFB_1	0.47 ng/mL	1~25 ng/mL	40	适配体	莲子	[38]
SERS	AFB_1	1.00 ng/mL	1~200 ng/mL	-	-	花生	[2]
电化学传感器	ZEN	0.01 μg/mL	0.04~0.5 μg/mL	-	β-环糊精	小麦和燕麦	[39]
免疫层析试纸条	ZEN	10.00 ng/mL	10~100 ng/mL	10	ZEN 免疫球蛋白 G (重组全长抗体)	玉米和稻米	[40]
MIPs-SERS	AFB_1、ZEN	1.50 ng/mL (AFB_1)、5.00 ng/mL (ZEN)	10~1000 ng/mL	15	双模板分子印迹聚合物	玉米	本研究

注: -为无数据。

3 结 论

本研究通过利用双模板 MIPs 吸附淋洗, 以去除玉米中脂质、蛋白质、纤维素等基质的干扰。通过洗脱, 实现靶标的富集, 并采用 AgNPs 作为拉曼增强基底, 借助 KBr/$MgCl_2$ 诱导的 AgNPs 可控聚集, 在无抗体、无标记条件下放大 AFB_1 与 ZEN 的拉曼信号。通过优化 MIPs 的合成条件(确定模板分子与功能单体的最佳摩尔比为 1:2)和 SERS 检测体系(选择质量浓度为 0.56 mmol/L 的 AgNPs 基底, 并使用 KBr 和 $MgCl_2$ 分别作为 AFB_1 和 ZEN 的凝聚剂), 实现了对目标毒素的高选择性富集与高灵敏度检测。在 10~1000 ng/mL 质量浓度范围内, 对玉米粉实际样品中 AFB_1 的检出限为 1.5 ng/mL, 对 ZEN 的检出限为 5.0 ng/mL。该技术通过结合 MIPs 的高选择性与 SERS 的快速灵敏优势, 为玉米中真菌毒素的分析检测提供了可靠方案。与现有检测技术相比, 能够实现 AFB_1 和 ZEN 两种毒素的检测, 符合实际样品中多种真菌毒素共存的污染现状, 提高了检测效率; 采用双模板 MIPs 进行前处理, 降低了前处理成本。未来可拓展至其他农产品中 AFB_1 与 ZEN 的检测, 为食品质量安全监控体系提供新的技术支撑。

参考文献

[1] Zhang Tong, Shi Jing, He Chunyan, et al. Tb-TBAPy MOFs and Au@Pd nanospheres-based electrochemical immunoassay for aflatoxin B_1

detection [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2025, 148(P3): 108449.

[2] 王宇龙, 翟文磊, 韩晨瑞, 等. QuEChERS-表面增强拉曼光谱法测定花生中黄曲霉毒素 B_1[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(5): 1502–1508.
Wang Yulong, Zhai Wenlei, Han Chenrui, et al. Determination of aflatoxin B_1 in peanuts by QuEChERS-surface-enhanced Raman spectroscopy [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2022, 13(5): 1502–1508.

[3] Li Jianmei, Zhou Yuting, Li Zhijuan, *et al.* A novel fluorescent sensing platform based on nitrogen-doped carbon quantum dots for rapid and sensitive detection of aflatoxin B_1 in corn flour [J]. LWT-Food Science and Technology, 2023, 185: 115130.

[4] Castro I J L, Siva S, Bodkhe G A, et al. Molecularly imprinted polymer-based field-effect transistor for real-time, highly selective, and sensitive aflatoxin B_1 monitoring in food [J]. Food Chemistry, 2026, 504: 147853.

[5] Feng Ruiqing, Fang Jinglong, Xu Jingyu, et al. Self-amplifying bimetallic conductive metal-organic framework for sensitive label-free electrochemiluminescence detection of aflatoxin B_1 [J]. Microchemical Journal, 2025, 218: 115749–115749.

[6] Chen Xiaoguang, Wei Wenjuan, Xu Wenjing, et al. Reproductive toxicity and action mechanism of the estrogen zearalenone: A review [J]. Chemico-Biological Interactions, 2025, 420: 111701.

[7] Yang Guihe, Fang Qionglian, Wang Liping, et al. Biological detoxification and application of emerging control strategies of zearalenone in food [J]. Food Chemistry, 2025, 494: 146170.

[8] Ma R, Mwabulili F, Peng W, et al. Dual substrate catalytic detoxification of aflatoxin B_1 and zearalenone by a novel enzyme PsCopA from *Pseudomonas* for food and feed safety [J]. Toxicon, 2025, 268: 108629.

[9] Zhang Yi, Chen Guoxin, Chen Xia, et al. Aggregation-induced emission nanoparticles facilitating multicolor lateral flow immunoassay for rapid and simultaneous detection of aflatoxin B_1 and zearalenone [J]. Food Chemistry, 2024, 447: 138997.

[10] Chen Yiyi, Shen Yanghong, Wang Haifeng, et al. A novel dual-channel immunochromatographic strip using up-conversion nanoparticles for simultaneous detection of AFB_1 and ZEN in maize [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2023, 415(20): 4935–4947.

[11] Liu Meng, Xia Zhiyuan, Zhang Yu, et al. Contamination of aflatoxin B_1, deoxynivalenol and zearalenone in feeds in China from 2021 to 2024 [J]. Journal of Animal Science and Biotechnology, 2025, 16(1): 66.

[12] Hu Gaoshuang, Zhao Mingwen, Zhuang Yuan, et al. Research on the application of molecular imprinting technology in the detection of mycotoxins and aquatic biotoxins [J]. Microchemical Journal, 2025, 219: 115871.

[13] Tian Dayong, Zhao Menglei, Li Angzhan, et al. Molecular imprinting technology in detection and adsorption of environmental pollutants: synthesis, mechanisms and applications [J]. Microchemical Journal, 2026, 220: 116747–116747.

[14] Wang Yuan, Wei Dizhe, Wang Yu, et al. Recent progress of molecularly imprinted technique for the detection of mycotoxins in food [J]. Foods, 2024, 13(24): 4125.

[15] Sun Qi, Chen Xiang, Lei Xianlu, et al. Molecularly imprinted polymers for mycotoxin biosensing: rational design, advanced applications, and future horizons [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2026, 292: 118111.

[16] Palmieri S, Elfadil D, Fanti F, et al. Study on molecularly imprinted polymers obtained sonochemically for the determination of aflatoxins in food [J]. Molecules, 2023, 28(2): 703.

[17] Fan Li, Zhang Qiong, Wang Feng, et al. Dummy molecularly imprinted solid-phase extraction-SERS determination of AFB_1 in peanut [J]. Spectrochimica Acta Part A-molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2023, 288: 122130.

[18] Chen Ruipeng, Li Shuang, Ren Shuyue, et al. Micro−/nanostructures for surface-enhanced Raman spectroscopy: recent advances and perspectives [J]. Advances in Colloid and Interface Science, 2024, 331: 103235.

[19] 陈韶云, 张行颖, 刘奔, 等. 表面增强拉曼光谱基底的种类及其应用进展[J]. 分析化学, 2024, 52(7): 910–924.
Chen Shaoyun, Zhang Xingying, Liu Ben, et al. The types of substrates for surface-enhanced Raman spectroscopy and the progress of their applications [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2024, 52(7): 910–924.

[20] Wu Long, Tang Xuemei, Wu Ting, et al. A review on current progress of Raman-based techniques in food safety: from normal Raman spectroscopy to SESORS [J]. Food Research International, 2023, 169: 112944.

[21] Tang Xuemei, Jiang Huan, Wen Ruiming, et al. Advancements and challenges on SERS-based multimodal biosensors for biotoxin detection [J]. Trends in Food Science & Technology, 2024, 152: 104672.

[22] Jiao Sujia, Wu Long, Jiang Huan, et al. A review on SERS-based techniques for mycotoxin detection: from construction to application [J]. Trends in Analytical Chemistry, 2025, 184: 118120.

[23] Guo Liming, Zhang Jie, Bao Ying, et al. Label-free and highly sensitive detection of aflatoxin B_1 by Ag IANPs via surface-enhanced Raman spectroscopy [J]. Food Chemistry, 2024, 458: 140231.

[24] Zhu Jiaji, Qian Hao, Zhu Afang, et al. Au octahedrons monolayer film SERS substrate coupled with a hybrid metaheuristic algorithm-optimized ELM model: an analytical strategy for rapid and label-free detection of zearalenone in corn oil [J]. Food Chemistry, 2025, 476: 143516.

[25] 韦全掌. 基于表面增强拉曼光谱的食品非法添加物检测研究[J]. 食品安全导刊, 2025, 19(33): 171–173.
Wei Quanzhang. Research on the detection of illegal additives in food based on surface-enhanced Raman spectroscopy [J]. Journal of Food Safety Guide, 2025, 19(33): 171–173.

[26] Wang Siwei, Shao Rui, Li Weiwei, et al. Three-dimensional ordered

macroporous magnetic inverse photonic crystal microsphere-based molecularly imprinted polymer for selective capture of aflatoxin B(1) [J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2022, 14(16): 18845–18853.

[27] Song Lixin, Zhang Jian, Wang Mingyu, et al. Simultaneously selective separation of zearalenone and four aflatoxins from rice samples using Co-pseudo-template imprinted polymers with MIL-101(Cr)-NH_2 as core [J]. Journal of Chromatographic Science, 2024, 62(9): 892–903.

[28] Zhai Wenlei, Cao Mingshuo, Wei Dizhe, et al. Development of dual-dummy template molecularly imprinted polymer embedded with Ag nanoparticles for sensitive and selective detection of fumonisin B_1 using surface-enhanced Raman spectroscopy [J]. Food Chemistry, 2025, 495(pt 3): 146561.

[29] Moradi F L S, Kazemipour M, Eslaminejad T, et al. Molecular imprinted polymer with dorzolamide for contact lens applications assisted by computational and experimental design [J]. Reactive and Functional Polymers, 2022, 178: 105355.

[30] Kahraman M, Mullen E R, Korkmaz A, et al. Fundamentals and applications of SERS-based bioanalytical sensing [J]. Nanophotonics, 2017, 6(5): 831–852.

[31] Niu Jiaqi, Du Min, Wu Wanqing, et al. Advances in the selection of functional monomers for molecularly imprinted polymers: a review [J]. Journal of Separation Science, 2024, 47(16): e2400353.

[32] Xu Xing, Duhoranimana E, Zhang Xiaoming. Selective extraction of methenamine from chicken eggs using molecularly imprinted polymers and LC-MS/MS confirmation [J]. Food Control, 2017, 73: 265–272.

[33] Li Jinjie, Yan Heng, Tan Xuecai, et al. Cauliflower-inspired 3D SERS substrate for multiple mycotoxins detection [J]. Analytical Chemistry, 2019, 91(6): 3885–3892.

[34] Dong Xiao, Gu Huaimin, Kang Jian, et al. Comparative study of surface-enhanced Raman scattering activities of three kinds of silver colloids when adding anions as aggregating agents [J]. Colloids and Surfaces A, 2010, 368(1): 142–147.

[35] Khurshchev A Y, Akmayev E R, Gulyayeva A Y, et al. Ion-induced agglomeration of AgNPs for quantitative determination of trace malachite green in natural water by SERS [J]. Vibrational Spectroscopy, 2022, 120: 103360.

[36] Xie Lifang, Lu Jianglong, Liu Tao, et al. Key role of direct adsorption on SERS sensitivity: synergistic effect among target, aggregating agent, and surface with Au or Ag colloid as surface-enhanced Raman spectroscopy substrate [J]. The Journal of Physical Chemistry Letters, 2020, 11(3): 1022–1029.

[37] Bjoek A, Dalhus B, Mantzilas D, et al. Large improvement in the thermal stability of a tetrameric malate dehydrogenase by single point mutations at the dimer-dimer interface [J]. Journal of Molecular Biology, 2004, 341(5): 1215–1226.

[38] Bai Ziwei, Tian Xiaojin, Chen Xiaoxu, et al. Devisable construction of magnetic graphene oxide and carbon dots-based fluorescent aptamer sensor for highly sensitive and specific detection of aflatoxin B_1 (AFB_1) in lotus seeds [J]. Microchemical Journal, 2025, 219: 115939.

[39] Fei Qianqian, Huang Qingwen, Nie Dongxia, et al. A host–guest recognition electrochemical sensor based on MXene/COF heterocomposite bound to β-cyclodextrin for the direct detection of zearalenone in cereals [J]. Microchemical Journal, 2025, 213: 113887.

[40] Sun Jiadi, Wang Yunyun, Zhang Ting, et al. Development of recombinant antibody and application of colloidal gold immunochromatography assay for rapid detection of zearalenone [J]. Food Bioscience, 2025, 63: 105714.

(责任编辑：韩晓红 蔡世佳)