

生物传感器在食品微生物快速检测中的研究进展

孙冰心*, 路川, 桑鲁燕, 解卉

(菏泽海关, 菏泽 274000)

摘要: 随着全球食品安全问题日益突出, 食源性疾病引发的公共健康风险和经济损失不断增加, 快速准确检测食品中的致病微生物成为食品安全领域的重要课题。传统微生物检测方法已难以满足快速、灵敏、便携等需求。生物传感器凭借其特异性识别、实时监测和微型化等优势, 在食品微生物快速检测中展现出广阔的应用前景。本文综述了生物传感器在食品微生物快速检测领域的最新突破与进展, 分析了各类生物传感器的基本原理、技术特点, 重点阐述了电化学、光学、基于纳米材料的生物传感器以及集成微流控技术等方面的创新突破, 并探讨了当前面临的挑战与未来发展趋势。本研究旨在梳理生物传感器技术在食品微生物检测领域的发展脉络, 为促进生物传感器技术在食品安全领域的广泛应用提供理论参考和技术支持。

关键词: 生物传感器; 食品安全; 微生物检测; 快速检测

0 引言

食品安全属于全球公共健康议题, 食品中病原菌污染是食品安全性的主要风险点之一, 对于病原微生物快速准确检测对控制食源性疾病的暴发具有重要的意义^[1]。传统的食品微生物检测方法, 如平板培养计数、聚合酶链反应等方法准确可靠, 但存在试验耗时长、操作难度大、需要专业设备和操作人员等缺点^[2]。生物传感器是由生物识别元件和物理化学信号转换器组成的, 给微生物的快速检测提供了一条新途径^[3]。近年来, 随着微电子技术、纳米技术和生物技术的迅速发展, 生物传感器在食品微生物检测上取得了较大进展并完成从实验室到实际的应用与推广^[4-5]。本文探讨生物传感器在食品微生物快速检测中的应用进展, 为食品安全监测领域提供技术参考与支持。

1 生物传感器的主要分类

按不同的分类方法, 生物传感器可分为不同的类别, 如根据生物敏感元件分类, 可分为酶生物传感器(酶-底物特异性催化)、免疫传感器(抗原-抗体特异性结合)、DNA 传感器(核酸碱基互补配对)、细胞传感器(以活细胞为敏感元件)及微生物传感器(微生物代谢活动)等^[6-7]。按照转换方式分类, 可分为电化学传感器(电流、电位、电导等)、光学传感器(光吸收、荧光、化学发光等)、压电传感器(质量变化引起的频率变化)、热敏传感器(热量变化)及磁传感器(磁场的变化)等, 以及其他一些根据检测

方式(标记型与无标记型)、使用年限(一次性与可重复使用)或用途等方面的分类^[8]。

2 生物传感器在微生物检测中的优势

2.1 高特异性与灵敏度

生物传感器技术微生物检测的优点包括选择性(特异性)、高灵敏性和不需要活菌等, 借助生物识别元件(抗体、核酸探针、特异受体等)进行目标微生物的特异性检测, 可做到对同属不同菌种检测特异性, 不出现假阳性; 借助现代传感器信号放大方法(酶、纳米、量子点等)提高了传感器灵敏度, 达到 $10\sim 10^2$ CFU/mL 甚至单个细胞水平, 远远高于传统培养技术, 传感器还可检测到活细胞(或相应毒素除外的微生物)或某些代谢产物^[9]。传感器还可提供目标微生物所造成的总体微生物风险信息, 因此传感器技术可用于分析食物中微生物风险信息, 从而为评价食品安全性提供保障, 并预测是否可能爆发相关食源性疾病。

2.2 快速实时检测能力

平板培养这类常规的微生物检测方法, 检测时间普遍在 24~72 h, 生物传感器完成检测的时间大约为分钟或小时数量级。例如基于免疫原理的电化学传感器能在 15~30 min 内完成对一份样品的分析, 基于 ATP 荧光检测原理的生物发光技术能在几分钟内得出总活菌数的结果^[10]。另外, 某些传感器可以实现在线检测, 对微生物

* 通信作者: 孙冰心, 中级工程师, 研究方向为食品安全检测。E-mail: 752480031@qq.com

进行不间断的数据采集, 为食品生产企业过程微生物控制提供即时信息反馈, 有利于关键控制点系统的运作, 从而保障食品生产的微生物安全, 控制污染物范围和交叉污染程度。

2.3 微型化与便携性

生物传感器是利用微电子技术和微加工技术研制开发出来的微型、便携式替代传统大型设备的装置, 微型、轻便、结构紧凑, 可以携带, 包括样品的处理、检验、分析数据, 体积小、重量轻, 可以带在生产线或仓库里, 或到点直接进行检验分析而不必将样品送专业实验室进行检测; 微型、便携、手机等其他移动终端等的联系便携设备应用实现了生物传感器的“即时检验”, 操作和使用都很简单, 不需要固定的空间, 也不需要专业的技术人员和设备等, 降低成本, 能够降低使用一次生物传感器所需的材料(试剂), 有利于在绿色分析化学理念实践, 满足资源不足的地方或需要大面积的筛查, 给“从农田到餐桌”的食品安全提供更好的保障工具^[11]。

3 生物传感器在食品微生物快速检测中的突破进展

3.1 电化学生物传感器的创新应用

近些年, 基于电极材料的改进、信号放大的策略以及检测机理的创新是领域研究的主要突破点。多孔 Au、Cnaf 以及 Gns 改性电极有效增加了电极表面积和电子转移效率, 从而降低检测限, 三维石墨烯气凝胶电极, 具有 1200 m²/g 的比表面积, 有效将检测限降低了近 100 倍至大肠杆菌 O157: H7 的 8 CFU/mL 水平^[12]。基于 HRP 和 ALP 的二酶联放大的电流型免疫传感器对沙门氏菌实现了超灵敏度检测(检测限为 5 CFU/mL, 范围为 10~10⁶ CFU/mL), 分析时间只需 25 min。此外, 基于适配体修饰的金电极 EIS 传感器实现了 40 min 内在牛奶中的单核细胞增生李斯特菌的检测, 具有检测限 65 CFU/mL, 且不需要预富集样品。此类传感器已在肉类食品、奶制品、果菜中多种致病微生物的检测上得到了成功应用, 其从实验室科研走向实际应用的步伐不断加快。

3.2 光学生物传感器的突破性进展

光学生物传感器基于光学原理进行对生物识别事件进行检测, 在食品微生物检测方面也有了一系列报道。表面等离子体共振 (SPR) 技术无需标记, 是目前的研究重点。基于表面等离子体增强效应的纳米结构 SPR 芯片使检测灵敏度增加了 10~100 倍。基于表面等离子体共振的金纳米岛阵列表面, 配合单克隆抗体修饰, 能在 15 min 内检出果汁中 ≥ 50 CFU/mL 的沙门氏菌且不受果汁中色素

的影响^[13]。光纤 SPR 传感器使 SPR 传感器进一步微型化, 新一代光纤 SPR 系统体积只有 20 cm×15 cm×8 cm, 可在田间或加工场所用于现场检测。基于核-壳结构 Mn 掺杂 CdTe/ZnS 量子点开发的多重荧光检测系统, 实现了牛奶中大肠杆菌 O157: H7、单核细胞增生李斯特菌和金黄色葡萄球菌的同时快速检测, 灵敏度均为 10² CFU/mL, 且特异性均达到了 96%^[14]。

3.3 基于纳米材料的新型生物传感器

纳米材料具有不同于传统材料的特殊物理化学性能, 是生物传感器重大技术变革的基础。金纳米颗粒 (AuNPs) 具有生物相容性好、稳定性好、光学性能好等特点, 是生物传感器的优秀载体, Au@Pt 核壳结构纳米粒子由于可合成形状控的金纳米星、金纳米棒等异形金纳米粒子, 纳米粒子表面等离子体共振效应更强烈, 检测强度放大 3~5 倍。采用 Au@Pt 核壳纳米结构开发比色传感器, 在 20 min 内即可对肉制品沙门氏菌进行眼视目测检验, 检出限低至 75 CFU/g, 且 4 °C 保存期稳定达 8 周^[15]。碳基纳米材料包括石墨烯、碳纳米管、碳量子点等具有电学和光学的优异特性。例如氮掺杂的石墨烯场效应晶体管生物传感器, 通过表面修饰特异性抗体, 对牛奶中单核细胞增生李斯特菌进行超灵敏测定, 其检测限为 8 CFU/mL, 分析时间为 15 min。磁性纳米颗粒的使用可以解决复杂的食品基质样品的处理问题。例如最新开发的磁性纳米颗粒捕获的表面增强拉曼散射联用技术, 实现肉类汤中的 5 种常见食源性病原菌的检测, 检测下限 < 100 CFU/mL, 且特异性识别率 > 93%^[16]。以纳米材料为基础的新兴传感平台已经脱离于基础研究走向了实用领域。

3.4 微流控芯片技术与多功能集成系统

微流体芯片利用微尺度流体中的微通道网络控制和操纵微小液滴, 将样品处理、分离、富集、检测等结合在一个芯片上, 是生物传感器的发展方向之一。“样品进-结果出”全自动化的微流体芯片快速检测设备改善了食品微生物检测的效率和准确度。数字微流体通过数字微流控制精准控制皮升至纳升级的流体液滴, 在 35 min 内可完成样品前处理与检测过程, 对牛奶中大肠埃希菌 O157: H7 检测下限可达 12 CFU/mL, 样品数量仅为传统检测方法的 1/20。多重检测平台通过设计有芯片上的多通道或微阵列, 实现对多种微生物的同时检测。一种新型八通道微流控芯片上设计不同的识别元件, 可同时对 5 种常见的食源病原菌(大肠杆菌 O157: H7、沙门氏菌、单核细胞增生李斯特氏菌、金黄色葡萄球菌、空肠弯曲菌)及 3 种真菌毒素进行检测, 其检测限度分别为 25~80 CFU/mL、0.5~2 ng/mL, 交叉反应 < 5%, 并且分析时间仅用

45 min^[17]。此类“一检多出、多重结果”的策略提高了检测效率、降低了检测成本; 便携式集成设备将微流控芯片与微型仪器系统集成在一起, 实现现场的快速检测。

3.5 人工智能与生物传感器的结合

利用机器学习算法与生物传感器的整合在微生物检测领域实现人工智能化, 是人工智能与检测科学结合的应用创新方向之一, 已成为提高微生物检测准确性的新工具。有研究将深度卷积神经网络引入对电化学阻抗谱分析数据的学习中, 并构建模型, 识别 7 种常见致病微生物, 准确度达 97.8%, 检测准确度相较于常规电化学数据处理提高了 15%, 并且在实际的复杂食品中还可以实现有效的分类^[18-19]。在 50 家食品生产企业中的应用表明, 该系统错误率低于 3%。计算机视觉传感器技术与光学传感器技术相结合, 从而实现图像自动化分析。基于改进的 YOLOv5 的智能手机辅助比色检测平台, 能够通过智能识别侧向流动式试纸的实时图像定量分析, 提高了检测限约 40%, 可识别出中间灰阶区域且自动报警, 避免出现假阴性结果。机器智能驱动的多传感器信号融合分析技术能够对多种传感器输出的信号进行信息互补, 对微生物信息输出更为精准。三模态微生物检测技术(电化学-光学-质量)耦合深度学习算法能同步检测出微生物的存在、活性和毒素, 准确率超过 92.5%, 相较单一模态检测方法高 25% 左右^[20]。

4 结束语

电化学、光学和纳米材料为基础的多功能集成传感器使生物传感器可用于对食品中各种微生物的快速检测, 采用微流控技术和人工智能分析大大降低了检测技术的复杂性。本文综述了生物传感器在食品微生物快速检测领域的研究进展。研究表明, 生物传感器具有高特异性、快速检测和便携性等优势, 有效解决了传统检测方法的局限性。本文分析了电化学、光学、纳米材料生物传感器以及微流控集成系统等技术的创新突破, 研究成果显示这些技术已成功应用于食品微生物检测, 检测限最低可达几个 CFU/mL, 检测时间缩短至分钟或小时级别。未来研究应着重提高稳定性和特异性, 降低成本, 加强跨学科合作与标准化工作。同时, 促进科研、生产、推广协作, 推动技术向实用检测仪器转化, 扩大生物传感器在食品安全领域的应用。

参考文献

[1] 覃浩, 鲍蕾. 食品安全快速检测方法研究进展[J]. 食品安

全质量检测学报, 2024, 15(24): 3-9.

- [2] 甘美玲. 食品安全中微生物计量的检测方法研究[J]. 食品安全导刊, 2024, (33): 138-140.
- [3] 洪霞, 田开仁, 乔建军, 等. 基因编码型生物传感器在微生物细胞工厂中的应用进展[J]. 中国生物工程杂志, 2023, 43(9): 62-76.
- [4] 颜玉婷, 王乾, 周芳芳, 等. 核酸探针在抗生素残留生物传感检测中的应用[J]. 精细化工, 2023, 40(4): 783-790.
- [5] 吴丹, 张婧, 付莎莉, 等. 沙门氏菌快速鉴定方法与溯源检测方法的对比[J]. 黑龙江粮食, 2023, (9): 41-43.
- [6] 韩金龙, 闵武琼, 叶富饶, 等. 微生物快速检测技术研究进展[J]. 现代食品, 2022, 28, (8): 105-107.
- [7] 万峰, 吴雅静. 应用生物传感器检测食品中食源性致病菌的研究进展[J]. 食品工业科技, 2021, 42(8): 346-353.
- [8] 马小勇, 余丽萍, 姜颖, 等. 功能化 M13 噬菌体在食品安全检测中的应用研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(19): 165-172.
- [9] 周子莹, 宋晓东, 刘洋儿, 等. 变构转录因子生物传感器构建策略及在食品安全中的应用进展[J]. 生物技术通报, 2024, 40(12): 20-33.
- [10] 魏川川. 分子生物学技术在病原微生物检验中的研究进展[J]. 中文科技期刊数据库(引文版)医药卫生, 2022, (3): 259-261.
- [11] 张洁, 蔡明月. 生物传感器技术在食品安全检测中的应用研究[J]. 食品安全导刊, 2024, (20): 157-159.
- [12] 王旭. 食品微生物快速检测技术的现状分析及应用[J]. 食品工程, 2023, (3): 4-6.
- [13] 李羽. 生物传感器在食品安全检测中的应用和发展[J]. 现代食品, 2019, (6): 26-28.
- [14] 段培宇, 陈寒玉, 张宝忠, 等. 动物源性食品中抗生素类污染物生物检测技术研究进展[J]. 环境化学, 2022, (2): 41-41.
- [15] 陆金虎, 管玉雯, 李晓静, 等. 食品微生物快速检测技术的现状及应用[J]. 中国食品工业, 2024, (19): 79-81.
- [16] 徐红斌, 叶青. 生物传感器研究进展及其在食品检测中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(17): 4587-4594.
- [17] 董大鹏, 金政, 赵凯. 碳纳米管在生物检测技术中的应用进展[J]. 生物技术, 2022, 32(6): 787-795+730.
- [18] 彭艳, 叶泰, 曹慧, 等. 适配体传感器检测抗生素的研究进展[J]. 工业微生物, 2019, 49(1): 55-60.
- [19] 赵浩. 生物检测技术在食品检验中的应用分析[J]. 食品安全导刊, 2024, 19(19): 165-167+171.
- [20] 王婷婷. 生物传感器在食品安全检测中的应用[J]. 农业科技与装备, 2022, (4): 46-47, 51.