

基于链置换扩增技术检测黄曲霉毒素M1的动态光散射传感器研究

范涛¹, 崔昊¹, 夏涛¹, 武保珠¹, 李婷婷^{2*}

(1. 河南省自然资源监测和国土整治院, 河南 郑州 450016; 2. 长江水利委员会水文局长江中游水文水资源勘测局, 湖北 武汉 430010)

摘要: 该研究创新性地构建了一种简便、低成本、高灵敏度的动态光散射 (DLS) 传感体系, 结合基于切口酶的链置换扩增 (NESDA) 技术, 用于黄曲霉毒素 M1 (AFM1) 的检测。在 AFM1 存在时, 包含 AFM1 适配体的序列与引物 DNA 发生部分杂交, 触发 NESDA 反应并产生大量单链 DNA (ssDNA)。生成的单链 DNA 与金纳米颗粒-DNA 探针杂交, 导致金纳米颗粒发生聚集, 其平均流体力学直径随之增大, 这一变化可通过 DLS 进行检测并完成定量分析。为提升检测性能, 研究系统优化了核心实验条件, 考察了 NESDA 反应温度、孵育时长、模板 DNA 浓度、聚合酶和切口酶加入量等关键参数对检测信号的影响。实验结果表明, 在最优条件下, 金纳米颗粒的平均粒径与 AFM1 浓度在 8.3~1000 pmol/L 范围内呈良好线性关系, 检出限低至 1.3 pmol/L。方法已成功应用于市售牛奶样品中 AFM1 的检测, 加标回收率为 94.3%~107%, 证实其具备可靠的实际应用能力, 在未来食品安全评价中具有广阔的应用前景。

关键词: 黄曲霉毒素 M1; 链置换扩增技术; 动态光散射技术; 切口酶; 金纳米颗粒; 牛奶

中图分类号: O657.3; S582.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(XXXX)XX-0001-08

Dynamic Light Scattering Sensor For Aflatoxin M1 Using Strand Displacement Amplification

FAN Tao¹, CUI Hao¹, XIA Tao¹, WU Bao-zhu¹, LI Ting-ting^{2*}

(1. Henan Provincial Institute of Natural Resources Monitoring and Land Consolidation, Zhengzhou 450016, China; 2. Middle Changjiang River Bureau of Hydrology and Water Resources Survey, Bureau of Hydrology of Changjiang Water Resources Commission, Wuhan 430010, China)

Abstract: In this study, we developed a simple, low-cost, and sensitive dynamic light scattering (DLS) sensor coupled with nicking enzyme-based strand displacement amplification (NESDA) to detect AFM1. Initially, the sequence containing the AFM1 aptamer partly hybridized with the primer DNA, which triggered NESDA and yielded abundant single-stranded DNA (ssDNA) in the presence of AFM1. The resulting ssDNA hybridized with AuNPs-DNA probes and thus aggregated, thus causing an increase in the average hydrodynamic diameter, which can be quantitatively determined via DLS. To enhance detection performance, the core experimental conditions, i. e., the NESDA reaction temperature and time, concentration of template DNA, and dosage of polymerase and nicking enzymes, were systematically optimized. Under optimal conditions, the average diameter was proportional to the concentration of aflatoxin M1 within 8.3 - 1000.0 pmol/L and the detection limit reached 1.3 pmol/L, thus confirming the high sensitivity and feasibility of the proposed method. Furthermore, this method successfully detected aflatoxin M1 in commercial milk samples with spiked recoveries of 94.3% to 107%, thus confirming its reliability. The proposed strategy demonstrates significant potential for application in food-safety assessments.

Key words: aflatoxin M1; strand displacement amplification; dynamic light scattering; nicking enzyme; Au nanoparticles; milk

doi: 10.12452/j.fxcsxb.26042102

霉菌毒素是真菌产生的次级代谢产物^[1]。可污染多种食品及动物饲料, 因其自身具有毒性和致癌

性,会对人体健康构成严重危害^[2-3]。黄曲霉毒素是由黄曲霉(*Aspergillus flavus*)和寄生曲霉(*Aspergillus parasiticus*)产生的一类主要霉菌毒素^[4]。在黄曲霉毒素家族中,黄曲霉毒素B1(AFB1)是毒性最强且最主要的一种。动物摄入受污染饲料后,AFB1在其代谢过程中发生羟基化作用,转化为黄曲霉毒素M1(AFM1)^[5]。AFM1存在于动物的乳汁和血液中,且由于其在食品加工过程中具有高稳定性,因此可在多种乳制品中检出^[6-7]。尽管AFM1的毒性低于AFB1,但它仍具有肝毒性和致癌性,被国际癌症研究机构(IARC)列为1类人类致癌物^[8-9]。因此,科研人员建立了多种检测AFM1的方法,包括高效液相色谱法(HPLC)^[10]、薄层色谱法(TLC)^[11]、液相色谱-质谱联用技术(LC-MS)^[12]以及酶联免疫吸附测定法(ELISA)^[13]。作为传统的分析方法,色谱法具有灵敏度高、稳定性强等优点,但是仪器成本较高,样品前处理繁琐,且依赖专业技术人员。免疫化学检测则具有操作简便、成本相对较低等优势,但是其灵敏度有限,同时具有假阳性的风险。

近年来,基于适配体的生物传感器受到了广泛关注。因此,已有研究报道了用于检测AFM1及其他霉菌毒素的比色传感器^[14]、荧光传感器^[15]和电化学传感器^[16]。在适配体的辅助下,霉菌毒素的检测可被转化为DNA分析,通过与DNA扩增技术联用,检测灵敏度得到显著提升。截至目前,聚合酶链式反应(PCR)^[17]、杂交链式反应(HCR)^[18-19]和链置换扩增(SDA)^[20]已被应用于多种霉菌毒素的检测。在这些技术中,SDA是一种等温核酸扩增技术,可在聚合酶和内切酶的作用下实现短链寡核苷酸的指数级合成^[21]。由于操作简便且灵敏度高,SDA已被广泛应用于DNA^[22]、RNA^[23]、端粒酶活性^[24]及蛋白质^[25]等生物分子的检测。

动态光散射(DLS)是一种用于测量颗粒流体力学直径的光学技术^[26],已成为纳米技术研究中的重要工具^[27]。金纳米颗粒(AuNPs)因其较强的光散射特性,可作为DLS探针用于检测DNA^[28]、蛋白质^[29]、Pb²⁺^[30-31]、Hg²⁺^[32]及其他分子^[33]。近年来,连接酶链式反应(LCR)^[34]、PCR^[35-36]、SDA^[37]、滚环扩增(RCA)^[38]均与动态光散射技术相结合,显著提高了DLS传感器的灵敏度。

动态光散射技术与链置换扩增技术均具有较高的灵敏度,已被广泛应用于生物医药、环境监测及食品安全等领域。相较于传统方法,该方法具有成本低、操作简便等优点,然而目前将两种技术联用于AFM1检测的研究鲜有报道。目前有研究采用动态光散射技术或链置换扩增技术检测AFM1^[39-40],但仍存在需要多步处理以及灵敏度不足等问题。本研究旨在进一步提升检测灵敏度,构建一种耦合DLS与SDA的AFM1检测方法。基于此,开发了一种基于切口酶链置换扩增(NESDA)的动态光散射传感器,向其中加入AFM1后可触发链置换扩增反应,反应生成的寡核苷酸链可与DNA-金纳米颗粒探针杂交,诱导金纳米颗粒发生聚集,使其粒径相应增大,整个过程可通过动态光散射进行表征。

1 实验部分

1.1 材料

寡核苷酸序列、DNA聚合酶Klenow片段、脱氧核苷三磷酸混合物(dNTPs)均购于中国上海生工生物工程股份有限公司(Sangon Biotech Co., Ltd.);切口内切酶Nb.BbvCI购于美国新英格兰生物实验室;黄曲霉毒素M1(AFM1)标准品购于新加坡普瑞邦公司。

1.2 实验方法

AuNPs的透射电子显微镜(TEM)表征采用JEM-3010型透射电子显微镜。TEM样品制备:取一滴胶体金溶液滴在覆有碳膜的铜网上,室温晾干后进行观测。动态光散射(DLS)测试采用Elitesizer纳米颗粒/Zeta电位计(奥地利安东帕有限公司)于室温条件下完成。pH值采用PHS-3E型pH计进行测定。

1.3 序列设计

本研究所用寡核苷酸序列如下:a-DNA:5'-ACT GCT AGA GAT TTT CCA CAT-3',b-DNA:5'-AAA TTT ATC TCT AGC-3',t-DNA:5'-TTC TTT CTT TTT TCT CTT CCC CTC AGC TAG AGA TAA ATT T-3',AuNPs-DNA 1:5'-TTT CTC TTC CTT TTT-3',AuNPs-DNA 2:5'-TTC TTT CTT TTT TTT-3'。

1.4 DNA 功能化金纳米颗粒的制备

DNA-金纳米颗粒 (DNA-AuNPs) 探针参照文献方法制备^[41], 并通过离心纯化。首先, 通过 38.8 mmol/L 柠檬酸钠 (2.0 mL) 还原 1.0 mmol/L 氯金酸溶液 (20.0 mL) 制备得到金纳米颗粒。

DNA-AuNPs 探针的制备过程如下: 将巯基化 DNA 溶解于 10 mmol/L 醋酸缓冲液 (60.0 μ L, pH 5.0) 中, 加入 20.0 mmol/L 三 (2-羧乙基) 膦 (TCEP, 12.0 μ L), 室温孵育 1.5 h。随后加入 10.6 nmol/L 金纳米颗粒溶液 (10.0 mL), 于 25.0 $^{\circ}$ C 下放置 16 h。再逐步加入 NaCl 至其浓度为 0.1 mol/L, 并继续老化 44 h。接着, 将混合液以 13 800 r/min 离心 30 min, 重复 3 次, 除去多余试剂与未结合的 DNA。最后将含有 DNA-AuNPs 探针的红色油状沉淀用 10.0 mmol/L PBS 缓冲液 (pH 7.4, 含 0.1 mol/L NaCl) 洗涤, 并重溶于相同缓冲液中, 4 $^{\circ}$ C 保存备用。

1.5 样品制备

生鲜牛奶样品购自中国广州当地超市, 并通过预处理后用于分析。首先将牛奶样品于 4.0 $^{\circ}$ C、10 000 r/min 条件下离心 15 min, 小心去除上层脂肪层, 之后取中间澄清乳清备用。为模拟实际阳性样本, 向处理后的牛奶样品中添加不同浓度的 AFM1 标准品, 使 AFM1 的最终浓度在 0.05~0.7 nmol/L 范围内。

1.6 基于切口酶的链置换扩增反应

首先使用 1 $\times$ NEB 缓冲液配制浓度均为 1 μ mol/L 的 a-DNA 与 b-DNA, 然后将两者以体积比 1:1 的比例在室温下孵育 30 min, 随后加入不同浓度的真菌毒素。将上述溶液与 t-DNA (1 μ mol/L)、DNA 聚合酶 Klenow 片段、Nb. BbvCI 及 dNTPs 在 1 $\times$ NEB 缓冲液中混合均匀。将混合溶液置于 37.0 $^{\circ}$ C 孵育 3 h, 最后在 80 $^{\circ}$ C 下加热 20 min 终止反应。

1.7 动态光散射检测

取 5.0 μ L NESDA 扩增产物, 加入至 45.0 μ L 含 4.0 nmol/L DNA-AuNPs 探针的 PBS 缓冲液中, 于 37.0 $^{\circ}$ C 孵育 20 min。在 25.0 $^{\circ}$ C 条件下进行 DLS 检测, 平衡时间 10 s, 检测角度 90.0 $^{\circ}$ 。

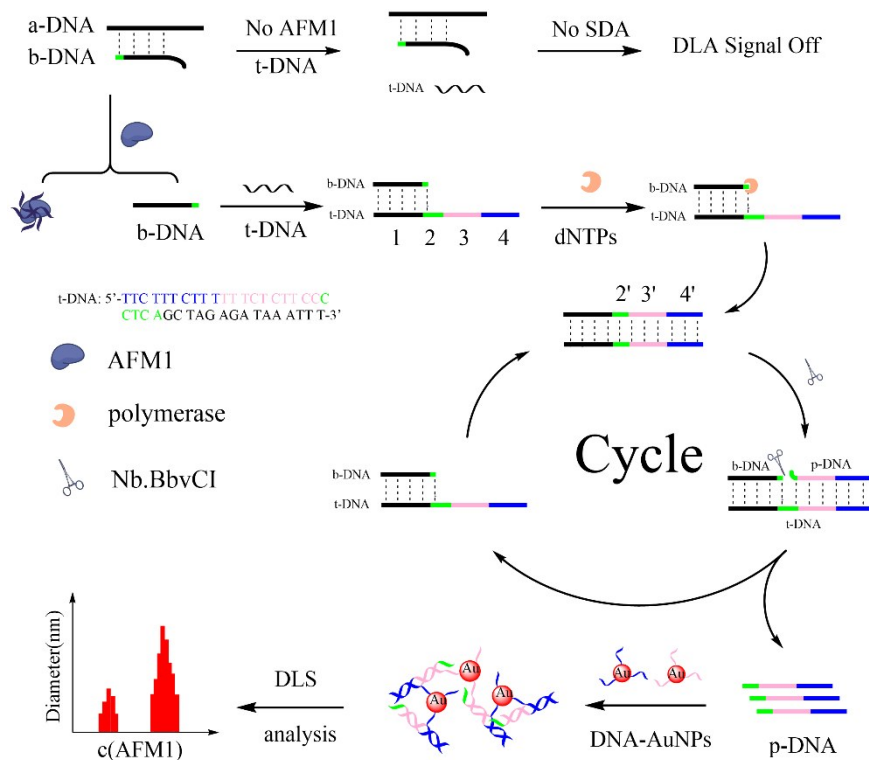
2 结果与讨论

2.1 AFM1 传感器检测原理

本研究构建的 AFM1 检测原理如图 1 所示。在不存在目标真菌毒素时, AFM1 适配体 (a-DNA) 与 b-DNA 发生部分杂交, 此时无法启动 NESDA 扩增反应。模板 DNA (t-DNA) 包含 4 个功能区域: 区域 1 设计为与 b-DNA 互补; 区域 2 的互补序列中含有切口内切酶 Nb. BbvCI 的识别位点。区域 3 和区域 4 分别与两种 DNA-AuNPs 探针互补。当反应体系中加入 AFM1 后, a-DNA 优先与 AFM1 结合, 使 b-DNA 被释放, 并与 t-DNA 发生杂交。在 dNTPs 和 DNA 聚合酶作用下, b-DNA 以 t-DNA 为模板进行延伸。形成的双链 DNA 在区域 2 被 Nb. BbvCI 切割, 释放出一条单链 DNA (p-DNA)。在 Nb. BbvCI 与聚合酶的共同作用下, NESDA 反应循环进行, 最终产生大量 p-DNA。p-DNA 可同时与两种 DNA-AuNPs 探针杂交, 诱导金纳米颗粒探针发生聚集, 使其流体力学直径显著增大。最后通过 DLS 技术检测粒径变化, 实现对 AFM1 的定量检测。

2.2 可行性验证

为验证本方法对 AFM1 检测的可行性, 采用 TEM 与 DLS 进行原理验证实验, 分别在无 AFM1 和有 AFM1 条件下开展反应进行对照。如图 2A、B 所示, 在不含 AFM1 时, TEM 图像中 AuNPs 分散良好, 说明 NESDA 扩增反应未被触发; 而加入 AFM1 后, 金纳米颗粒发生明显聚集。DLS 结果 (图 2C、D) 表明, 在不存在 AFM1 时, DNA-AuNPs 探针的流体力学粒径集中分布区间为 38.2~38.8 nm, 平均粒径为 38.5 nm, 与 TEM 下观察到的良好分散状态一致。而加入 AFM1 后, 体系中的金纳米颗粒发生大规模交联聚集, 粒径分布峰整体大幅右移, 平均粒径增大至 782 nm, 颗粒流体力学粒径分布区间为 700~874 nm, 同时也可发现其反应溶液颜色发生明显变化, 这一结果与 TEM 中观察到的聚集现象高度吻合。上述结果表明: 在 AFM1 存在条件下, DNA 聚合酶参与的 NESDA 扩增反应被有效触发, 产生大量 p-DNA, 进而诱导金纳米颗粒发生聚集。



2.3 检测条件的优化

为提高 AFM1 检测方法的灵敏度，对影响 NESDA 反应结果的关键因素进行了优化。以粒径变化量 ($\Delta D = D - D_0$ ，其中 D_0 表示不含 AFM1 时 DNA-AuNPs 探针的平均粒径， D 表示含有 AFM1 时 DNA-AuNPs 探针的平均粒径) 作为优化效果的评价指标。如图 3A 所示，在 20~40 °C 范围内考察了 SDA 反应温度的影响。 ΔD 值随温度升高而增大，在 37 °C 时达到最大值；随着 SDA 反应温度的进一步升高， ΔD 值逐渐下降。因此，选择 37 °C 作为 SDA 反应的孵育温度。采用相同方法，对 SDA 反应时间、聚合酶用量、切口酶用量对反应的影响进行了优化。最后对 t-DNA 的浓度进行了优化，随着 t-DNA 浓度的增加， ΔD 值逐渐增加，但当 t-DNA 浓度高于 1 $\mu\text{mol/L}$ 时，信号增长速率逐渐变缓，当 t-DNA 浓度提升至 2 $\mu\text{mol/L}$ 时，检测信号虽达到峰值，但相较于 1 $\mu\text{mol/L}$ 提升幅度较小，考虑到继续增大 t-DNA 浓度可能会影响酶催化效率以及带来非特异性杂交等影响，增加实验误差，因此本反应确定 t-DNA 浓度为 1 $\mu\text{mol/L}$ 。最终确定后续实验采用的最优条件为：SDA 反应时间 3 h、聚合酶用量 2.5 U、切口内切酶用量 3.0 U、t-DNA 浓度 1 $\mu\text{mol/L}$ 。

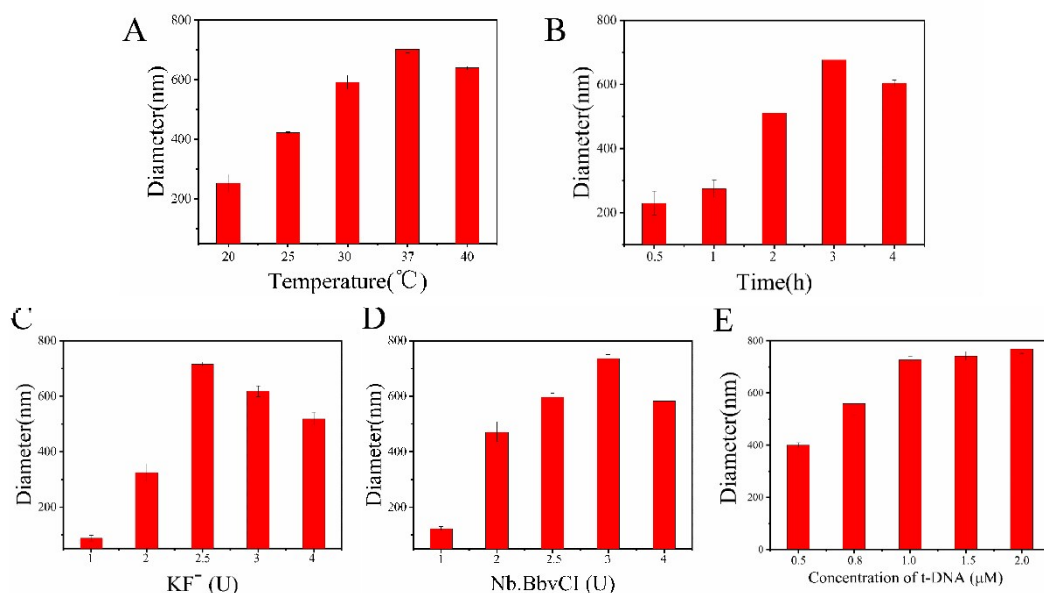


图3 SDA 反应温度 (A) 及反应时间 (B)，聚合酶 (C) 及切口内切酶 Nb. BbvCI (D) 用量，t-DNA 浓度 (E) 的优化
Fig. 3 Optimization of reaction temperature (A), reaction time (B) of SDA, polymerase (C), Nb. BbvCI (D), and t-DNA concentration (E)

error bars show the standard deviations of the experiments (误差线表示实验的标准偏差)

2.4 方法的检测性能

为评价本检测方法的灵敏度，在以下最优实验条件下，考察不同浓度 AFM1 对 AuNPs 平均粒径的影响。如图 4A 所示，在 8.3~1 000 pmol/L 的 AFM1 浓度范围内，AuNPs 的平均流体力学直径随 AFM1 浓度的升高呈线性增长。线性回归方程为 $D = 75.0 + 450.0c$ ($r^2 = 0.9932$ ，其中 c 为 AFM1 浓度，nmol/L)。检出限 (LOD) 通过公式 $DL = 3\delta/\text{斜率}$ 计算得出 (δ 为 20 个空白样品响应值的标准偏差，斜率为标准曲线的斜率)，得到 LOD 达 1.3 pmol/L。

2.5 方法特异性考察

为考察本方法的特异性，采用相同浓度的其他真菌毒素替代 AFM1 进行实验，结果如图 4B 所示。当 AFM1 浓度为 0.5 nmol/L 时，AuNPs 的平均粒径约为 300 nm；而当 AFB1、黄曲霉毒素 B2 (AFB2)、呕吐毒素 (DON)、伏马毒素 B1 (FB1)、赭曲霉毒素 A (OTA)、T2 毒素及玉米赤霉烯酮 (ZEN) 的浓度均为 0.5 nmol/L 时，AuNPs 的平均粒径均在 50 nm 左右波动，与空白组数据接近，说明非 AFM1 毒素无法引发 NESDA 反应。上述结果表明，本检测方法对 AFM1 具有较高的特异性。

2.6 牛奶样品中 AFM1 的检测

AFM1 是牛奶及其他乳制品中的常见污染物。为验证本研究提出的检测方法的实用性，对牛奶样

品进行加标回收实验。如表 1 所示, 向牛奶样品中添加 0.05~0.7 nmol/L 的 AFM1, 回收率为 94.3%~107%, 相对标准偏差 (RSD, $n=3$) 为 1.7%~4.1%。上述结果表明, 该方法可用于牛奶样品中 AFM1 的检测。同时, 将本方法与已有方法进行比较, 如表 2 所示。本方法线性范围宽, 其高灵敏度可归结为 SDA 反应的扩增效应与高灵敏度 DLS 技术的协同作用。本方法的灵敏度和加标回收率均可满足实际检测要求, 且部分指标优于现有方法, 充分证明了本方法的可靠性和与实际应用价值。

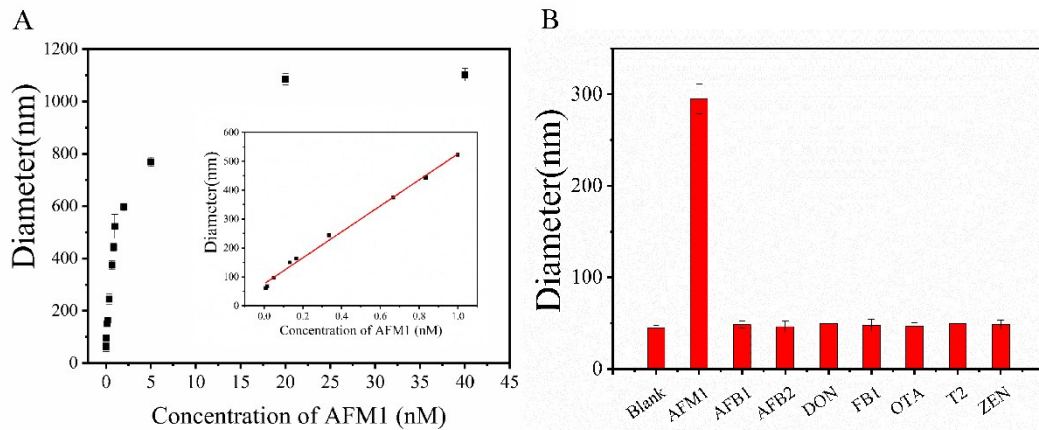


图 4 AuNPs 平均粒径与 AFM1 浓度的关系 (A) (插图: AFM1 的标准曲线); AFM1 检测方法的特异性 (B) (每种真菌毒素的浓度均为 0.5 nmol/L, 误差线表示 3 次实验的标准偏差)

Fig. 4 Relationship between average AuNP diameter and AFM1 concentration (A) (insert: standard curve for AFM1); selectivity of assay for AFM1 (B) (concentration of each mycotoxin is 0.5 nmol/L, error bars show standard deviations of three experiments)

表 1 牛奶样品中 AFM1 的加标回收率

Table 1 Spiked recoveries of AFM1 in milk samples

Milk sample	Addition of AFM1 (nmol·L ⁻¹)	Recovery/%	RSD/%
1	0.05	99.1	3.4
2	0.1	96.2	4.1
3	0.2	94.3	3.6
4	0.3	107	2.3
5	0.7	101	1.7

表 2 基于实际样品的检测方法对比分析

Table 2 Comparative analysis of methods based on actual samples

Analytical method	Sample type	Linear range	LOD	Recovery/%	Reference
动态光散射传感器	牛奶	8.3~1000 pmol/L	1.3 pmol/L (0.43 pg/mL)	94.3~107	本方法
侧向流免疫层析法	牛奶	0~500 ng/mL	0.21 ng/mL	92~104.35	[42]
荧光猝灭法	牛奶	1~100 ng/mL	0.5 ng/mL	93.4~101.3	[43]
比率型电化学适配体传感器	牛奶	0.03 μg/L~2.00 μg/mL	0.015 μg/L	94.4~97.2	[44]
电化学适配体传感器	牛奶	1~100 pg/mL	0.6 pg/mL	106~109	[45]
比色适配体传感器	牛奶	0.005~0.100 ng/mL	0.002 ng/mL	80.5~89.7	[46]
比色适配体传感器	牛奶	0.2~300 ng/L	0.05 ng/L	95~108.23	[47]
酶联免疫法	牛奶	10~2000 pg/mL	5.0 pg/mL	87.5~108	[48]
液相色谱-串联质谱法/高效液相色谱法	液态乳、酸奶		0.005 μg/kg		
	乳粉、特殊膳食食品、奶油和奶酪	0.05~5 ng/mL	0.02 μg/kg	-	
	液态乳		0.01 μg/kg		[49]
酶联免疫吸附筛查法	乳粉和含乳特殊膳食食品	0.1~0.5 μg/kg	0.1 μg/kg	50~120	
	奶酪		0.02 μg/kg		
电化学	牛乳	0.076~11.08 ng/mL	0.008 ng/mL	88.3~93.0	[50]
荧光适配体传感器	牛奶	1~100 ng/mL	0.20 ng/mL	99~101	[51]
超高效液相色谱-串联质谱	牛奶	0.05~5.0 ng/mL	0.05 ng/mL	95.6~98.4	[52]

3 结 论

本研究开发了一种结合 SDA 和 DLS 技术检测牛奶样品中 AFM1 的高灵敏度方法。得益于 SDA 反应的扩增效应及 DLS 技术的高灵敏度, 该检测方法的检出限低至 1.3 pmol/L, 远低于欧盟委员会规定的

AFM1 最大允许浓度: $0.05 \mu\text{g/kg}$ ^[53]。此外, 特异性实验表明, 该策略对 AFM1 具有优异的响应性, 在加标样品中表现良好, 验证了其在实际样品中的应用潜力。同时, 该检测策略具有通用性, 仅需更换相应的适配体, 即可实现对其他真菌毒素的通用检测, 在食品安全评估及食品安全监测等领域中具有很好的潜在应用价值。

参考文献:

- [1] Richard J L. *Int. J. Food Microbiol.*, **2007**, 119 (1): 3–10.
- [2] Wang R Y, Liu J, Zhou J, Li T, Wang X, Ji W H. *J. Instrum. Anal.* (王荣雨, 刘杰, 周静, 李涛, 王晓, 纪文华. 分析测试学报), **2025**, 44 (1): 163–171.
- [3] Shi Y K, Lang H Y, Ni B X, Xuan Z H, Liu H M, Ye J, Wang S X, Xie Y L. *J. Instrum. Anal.* 石亚坤, 郎慧媛, 倪保霞, 轩志宏, 刘洪美, 叶金, 王松雪, 谢岩黎. 分析测试学报), **2025**, 44 (4): 740–748.
- [4] Han Y Z, Zheng S Z, Luo S L, Guo Q, Zhao D, Gong Q Q, Wang X, Chen Y Q, Sheng W L. *J. Instrum.* (韩伟陟, 郑书展, 罗荪琳, 果旗, 赵丹, 弓全全, 王雄, 陈义强, 盛万里. 分析测试学报), **2024**, 43 (6): 921–927.
- [5] Paniel N, Radoi A, Marty J L. *Sensors*, **2010**, 10 (10): 9439–9448.
- [6] Chen Y L, Hu H Z, Xiao X H, Li G K. *J. Instrum. Anal.* (陈雅莉, 扈洪志, 肖小华, 李攻科. 分析测试学报), **2021**, 40 (7): 1098–1108.
- [7] Kanungo L, Bacher G, Bhand S. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **2014**, 174 (3): 1157–1165.
- [8] Zhang Z Z H, Li M, Guan H N. *J. Instrum. Anal.* (张朱泽惠, 李明, 关桦楠. 分析测试学报), **2024**, 43 (6): 945–954.
- [9] Ostry V, Malir F, Toman J. *Mycotoxin Res.*, **2017**, 33 (1): 65–73.
- [10] Du X W, Schrunck D E, Imerman P M, Tahara J, Tkachenko A, Guag J, Reimschuessel R, Rumbelha W K. *J. AOAC Int.*, **2023**, 106 (3): 645–651.
- [11] Nazir A, Kalim I, Imran M, Bilal M A, Zahra N, Ahmad A, Iqbal M, Fazal U, Ehtisham-Ul-Haque S. *Pol. J. Environ. Stud.*, **2021**, 30 (2): 1949–1954.
- [12] Cossu M, Sanna A, Mangano G, Ledda G, Chessa G, Gallo P, Vella A, Pecorelli I, Sdogati S, Gili M, Boselli C. *Molecules*, **2025**, 30 (8): 1774.
- [13] Kourti D, Angelopoulou M, Petrou P, Kakabakos S. *Toxins*, **2024**, 16 (12): 515.
- [14] Zhang J P, Fan Z L, Song Y Z, Zhang J Y, Han Q Q. *Microchim. Acta*, **2026**, 193: 29.
- [15] Lan Y F, Ma Y Q, Xu Y W, Zhang Y, Deng R J, Liu L L, Hou B Y, Cui H Y, Yun K M, Wei Z W, Wei Y L. *Sens. Actuators B*, **2025**, 434: 137591.
- [16] Huma Z, Nazli Z, Gokce G, Ali M, Jubeen F, Hayat A. *Mater. Chem. Phys.*, **2025**, 341: 130887.
- [17] Al-Zaban M I, Alrokban A H, Mahmoud M A. *Mycology*, **2023**, 14 (3): 227–238.
- [18] Wang C K, Dong X Y, Liu Q, Wang K. *Anal. Chim. Acta*, **2015**, 860: 83–88.
- [19] Sun Q, Tian F, Qi C Y, Zhang Y Z, Lu X, Sheng Q H, Wang M, Ma X Y, Zhang W. *Talanta*, **2026**, 299: 129114.
- [20] Zhu X, Yang C P, Quan W Q, Yang G D, Guo L H, Xu H F. *Anal. Methods*, **2023**, 15 (7): 987–992.
- [21] Walker G T, Little M C, Shank N D. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1992**, 89 (1): 392–396.
- [22] Fu Q T, Yang X, Wang Y N, Lei Y Y, Tang Y, Li N B, Luo H Q. *Sens. Actuators B*, **2025**, 443: 138247.
- [23] Wu D, Liu X, Tang L J, Li B Y, Zhao R, Feng T, Xiao X Y, Xie G M, Feng W L. *Chem. Eng. J.*, **2024**, 497: 154542.
- [24] Wang J, Zhang J, Li T T, Shen R D, Li G K, Ling L S. *Biosens. Bioelectron.*, **2019**, 131: 143–148.
- [25] Liao L, Li Z X, Liu Z H, Qiu B, Guo W Y. *Front. Chem.*, **2025**, 13: 1647535.
- [26] Kalluri J R, Arnesht T, Khan S A, Neely A, Candice P, Varisli B M, Washington M S, Robinson B, Banerjee S, Singh A K, Senapati D, Ray P C. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2009**, 48 (51): 9668–9671.
- [27] Zheng T Y, Bott S, Huo Q. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2016**, 8 (33): 21585–21594.
- [28] Dai Q, Liu X, Coutts J, Austin L, Huo Q. *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, 130 (26): 8138–8139.
- [29] Li C, Ma J H, Fan Q X, Tao Y Q, Li G X. *Chem. Commun.*, **2016**, 52 (50): 7850–7853.
- [30] Miao X M, Ling L S, Shuai X T. *Chem. Commun.*, **2011**, 47 (14): 4192–4194.
- [31] Zhang L, Yao Y, Shan J, Li H B. *Nanotechnology*, **2011**, 22 (27): 275504.
- [32] Xiong C, Ling L S. *Talanta*, **2012**, 89: 317–321.
- [33] Abhinav S, Suraj N M, Nehal S, Sivakumar A, Rhuta D, Nikil S, Tanvi N R, Amit P P. *ACS Omega*, **2025**, 10 (39): 33999–34087.
- [34] Yin H H, Huang X, Ma W, Xu L G, Zhu S F, Kuang H, Xu C L. *Biosens. Bioelectron.*, **2014**, 52: 8–12.
- [35] Wang J, Li T T, Shen R D, Li G K, Ling L S. *Anal. Chem.*, **2019**, 91 (5): 3429–3435.
- [36] Zou L, Ling L S. *Anal. Chem.*, **2018**, 90 (22): 13373–13377.
- [37] Wang G L, Yu M X, Wang G P. *Biosens. Bioelectron.*, **2019**, 138: 111319.

- [38] Xie G Y, Zhan Z X, Ye Y, Zhou B Q, Tong P, Aguilar Z P, Xu H Y. *Anal. Biochem.*, **2022**, 646: 114647.
- [39] Yin J J, Liu Y Q, Wang S, Deng J K, Lin X D, Gao J T. *Sens. Actuators B*, **2018**, 256: 573–579.
- [40] Zhang Z, Lin M S, Zhang S, Vardhanabhuti B. *J. Agric. Food Chem.*, **2013**, 61 (19): 4520–4525.
- [41] Zou L, Li X H, Li T T, Ling L S. *Sens. Actuators B*, **2018**, 267: 272–278.
- [42] Wu Y, Qin M, Chen P, Li Y, Lu X, Sun A, Wang Z, Yang J. *Food Biosci.*, **2025**, 66: 106175.
- [43] Qiao Q, Guo X, Wen F, Chen L, Xu Q, Zheng N, Cheng J, Xue X, Wang J. *Front. Chem.*, **2021**, 9: 653869.
- [44] Li H L, Du C C, Guo T, Zhou H Y, Zhou Y, Huang X R, Zhang Y H, Wang S, Liu X, Ma L. *J. Dairy Sci.*, **2024**, 107: 2748–2759.
- [45] Rahmani H R, Adabi M, Bagheri K P, Karim G. *J. Food Meas. Charact.*, **2021**, 15 (2): 1826–1833.
- [46] Lerd Sri J, Soongsong J, Laolue P, Jakmunee J. *J. Food Compos. Anal.*, **2021**, 102: 103992.
- [47] Abnous K, Danesh N M, Ramezani M, Alibolandi M, Nameghi M A, Zavvar T S, Taghdisi S M. *Anal. Chim. Acta*, **2021**, 1165: 338549.
- [48] Kourti D, Angelopoulou M, Petrou P, Kakabakos S. *Toxins*, **2024**, 16 (12): 515.
- [49] GB 5009.24–2016. National Food Safety Standard–Determination of Aflatoxin M Groups in Foods. National Standards of the People's Republic of China (食品安全国家标准–食品中黄曲霉毒素M族的测定. 中华人民共和国国家标准).
- [50] Inner Mongolia Agricultural University. China Patent (内蒙古农业大学. 中国专利), CN202411057927.9. [2024–11–01].
- [51] Inner Mongolia University. China Patent (内蒙古大学. 中国专利), CN202311346339.2. [2023–10–18].
- [52] Henan Dairy Cow Production Performance Testing Center. China Patent (河南省奶牛生产性能测定中心. 中国专利), CN 202210893848.6. [2022–11–11].
- [53] Commission Regulation (EU) 2023/915. *On Maximum Levels for Certain Contaminants in Food and Repealing Regulation (EC) No 1881/2006*
欧盟委员会条例. 关于食品中某些污染物最高限量, 并废除法规 (EC) No 1881/2006.

(责任编辑: 盛文彦)