

表面增强拉曼光谱在食源性致病微生物检测中的应用研究

王晓辉¹, 徐涛涛¹, 黄轶群², 赖克强^{1,3}, 樊玉霞^{1,3*}

1. 上海海洋大学食品科学学院, 上海 201306
2. 长沙理工大学化学与生物工程学院, 湖南 长沙 410076
3. 上海海洋大学食品热加工工程技术研究中心, 上海 201306

摘要 食源性致病微生物导致的食源性疾病已成为全球化的公共卫生问题。快速、有效地检测食源性致病微生物是实现食源性疾病预防与控制的关键环节,也是保障食品安全的技术关键。表面增强拉曼光谱(SERS)具有简单、快速、灵敏度高优点,在食品安全、生物医学、环境监控等领域展现出良好的应用前景。介绍了近年来 SERS 在食源性致病微生物检测中的应用研究进展。对 SERS 技术概况、SERS 增强理论及 SERS 增强基底进行了简要介绍,重点回顾了 SERS 在食源性致病微生物检测中的应用和发展现状。在食品安全分析方面,利用 SERS 与模式识别方法相结合对食品中常见食源性致病微生物能实现快速、有效鉴别,部分研究已应用于不同食品样品的分析,体现了 SERS 作为“指纹图谱”的分析优势;在医学诊断方面,SERS 可对病理样品(如血液、尿液等)中食源性致病微生物进行快速检测,缩短了样本分析时间,使食源性疾病的快速诊断成为可能;随着微流控技术的发展,微流控平台结合 SERS 技术被称为“芯片实验室”应用于食源性致病微生物的检测,可提高分析的可控性,稳定性,特异性和灵敏度。通过对比分析,发现不同研究可采用不同分离方法、不同基底、不同目标捕获方式等实现了食源性致病微生物的检测,展示了不同方法间的差异性。已有研究表明了 SERS 在食源性致病微生物检测中应用可克服传统方法耗时等缺点,实现灵敏快速分析,为食品安全实时监控,食源性疾病即时诊断提供了有效的分析工具。同时,指出了 SERS 技术应用于食源性致病微生物分析依然面临很大挑战,(1)大多数研究并没有聚焦于实际样品,而标准培养液和实际样品的 SERS 检测存在较大差异,实际样品组分会对 SERS 响应产生干扰;(2)不同方法结果有较大差异,主要是由于纳米增强基底差异,吸附方式原理的差异,稳定性的差异等,因此需要更多深入研究进一步优化条件;(3)期望建立标准化的 SERS 方法替代传统技术,充分展示 SERS 作为新兴分析工具快速、灵敏、简捷的优势应用于食品安全,医学诊断等领域。将来,随着研究的深入及相关学科的发展,SERS 作为极具潜力的快速分析工具,将在食品安全,生物医学等领域具有更广阔的应用前景。

关键词 表面增强拉曼光谱;致病微生物;食品安全;医学诊断;微流控

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** R **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2019)01-0123-07

引言

近年来,国内外威胁公共健康安全的食品安全事件层出不穷,从农药残留、抗生素、渔药残留超标,食品添加剂滥用等食品化学污染问题,到李斯特菌、弯曲杆菌、大肠杆菌等致病微生物引起的食源性疾病暴发,不仅对社会安定及市场秩序产生影响,也给公众带来了巨大恐慌。据 2015 年世界卫生组织“全球食源性的估算报告”结果,细菌、病毒、寄生

虫、毒素和化学品等 31 种致病因子导致食源性疾病产生,全球每年有多达 6 亿人或近十分之一的人因食用受到污染的食品而生病。其中造成 42 万人死亡,包括 12.5 万五岁以下儿童,在美国因食源性病毒每年有 4 800 万人生病,12.8 万人住院,3 000 人死亡^[1]。相对食品化学污染而言,食源性致病微生物污染对健康危害更为严重,致死率更高,食源性微生物污染引起的疾病已经成为一个全球化的公共卫生问题,不仅危害人类健康,而且带来严重的经济损失,受到世界各国的高度重视。

收稿日期: 2017-12-22, 修订日期: 2018-04-13

基金项目: 国家自然科学基金项目(31501558), 上海高校青年教师培养计划(A1-2061-17-000117)资助

作者简介: 王晓辉, 1976 年生, 上海海洋大学食品科学学院讲师 e-mail: xhwang@shou.edu.cn

* 通讯联系人 e-mail: yxfan@shou.edu.cn

食源性致病微生物以食物为媒介进入人体直接或间接对机体造成损伤,产生感染或中毒性质的疾病,也可能是水体,土壤等环境污染源。快速有效地检测食源性致病微生物是实现食源性疾病预防与控制的关键环节,也是保障食品安全的技术关键。目前对食源性致病微生物常规检测方法是细菌培养法,该方法经济、可实现微生物定性定量分析^[2-3],缺点是培养分析过程可能需要几天到一周的时间,无法满足对突发性事件快速响应的实际需求^[4-5],但其仍是其他方法的“金标准”^[6]。随着免疫学、代谢组学、核酸分析、分子生物学和生物传感器等技术发展,可用于食源性致病微生物快速检测^[7-10],相对传统培养法克服了耗时的缺点,但在灵敏度、选择性及准确性方面还需要进一步优化,也存在稳定性差、设备昂贵、对分析人员专业素质要求高的缺点^[5]。

随着激光技术、纳米技术及计算机技术的发展,表面增强拉曼光谱(surface enhanced Raman spectroscopy, SERS)作为一种快速、灵敏、无损的分析工具在化学、材料、环境、生命科学及医学诊断等领域的研究越来越多^[11-15],在食源性致病菌检测应用中能够实现无标记快速识别,克服了经典方法耗时的缺点,为食源性疾病即时诊断提供了新技术。本文简述了 SERS 基本概况,重点介绍了近年来 SERS 在食源性致病微生物检测中的研究进展,总结并展望了 SERS 技术所面临的挑战和其在食品安全等领域的应用前景。

1 表面增强拉曼光谱

1.1 表面增强拉曼光谱

1928年印度物理学家 Raman 发现了拉曼散射现象^[16-17],拉曼光谱作为一种分子光谱技术可快速获取目标分析物的“指纹图谱”^[18]。1974年 Fleischmann 等将吡啶吸附于粗糙银电极表面首次观测到拉曼增强信号^[19]。1977年 Van Duyne 研究组^[20]和 Creighton 研究组^[21]都经过系统的实验研究和理论计算,将这种与银、金、铜等粗糙表面相关的增强效应称为表面增强拉曼散射效应。当分子吸附于粗糙金属表面时,拉曼光谱信号能被放大 $10^8 \sim 10^{14}$ ^[22-23],这使 SERS 进行单分子检测成为可能^[24-25],而且 SERS 具有不受水分干扰的优势,因此可用于食源性微生物的检测分析^[26]。

1.2 拉曼增强理论

SERS 增强效应理论主要为电磁增强和化学增强^[27-28]。电磁增强由局部等离子共振所产生^[29-30],而化学增强由吸附分子与金属纳米材料接触产生电荷转移而造成^[31-32]。已有研究表明,电磁增强因子取决于等离子材料结构,理论计算增强因子可达 $10^{10} \sim 10^{11}$,化学增强因子达 10^3 ^[33],电磁增强为拉曼信号增强提供主要贡献,化学增强在特定情况下与电磁增强同时发生,使拉曼增强效应达到最大。目前电磁化学增强是较为公认的拉曼增强理论,在实际应用中的作用机制仍然需要开展深入的基础理论研究。

1.3 纳米基底

目标分子吸附于金属纳米活性基底表面,形成热点,因电磁及化学增强,获得 SERS 信号,因此纳米基底是拉曼增强的关键。针对不同分析物,制备不同材料,结构,形态的

纳米增强基底也成为国内外学者研究的热点之一。根据基底形态大致可分为三种:(1)纳米颗粒溶胶,常用的有金、银及核壳结构复合纳米粒子溶胶^[34-35],(2)金属纳米材料固定排列于固体底板,通常为金、银纳米颗粒或纳米棒等材料固定于玻璃片或硅片^[34, 36];(3)采用模板或刻蚀等方法制备形状大小可控的金属薄膜等纳米材料用于 SERS 分析^[37-38]。不同基底针对不同分析物展现了各自的优势,但也存在各自的缺点,如纳米溶胶基底容易制备获得,但其稳定性有待改进,固体基底的稳定性、一致性及可控性较高,但制备过程较为复杂,同样存在对目标分析物的选择性问题的,为适应不同分析需求,纳米基底多样性、特异性、灵敏性等也受到研究人员的重视和关注。

2 SERS 在食源性微生物检测中的应用

2.1 食品中食源性致病微生物 SERS 检测

SERS 在食品安全分析中,不仅可用于化学危害物的检测分析,在食源性微生物检测中也得到应用,相关报道不断增多^[39-40]。常见的食源性致病微生物有沙门氏菌、葡萄球菌、副溶血性弧菌、大肠杆菌、变形杆菌、李斯特菌等,国内外学者采用不同纳米基底对致病微生物进行了 SERS 检测研究。

目前大多数研究并未对食品样品进行分析,对标准微生物的实验研究表明了 SERS 用于快速、灵敏检测食源性微生物的可行性。Lin 等^[41]通过银镜反应将银纳米粒子沉积于滤纸上作为 SERS 增强基底对沙门氏菌、不动杆菌和克雷伯氏杆菌进行了检测,对三种菌判别正确率为 100%。Fan 等^[42]采用一种硅晶片沉积金纳米粒子固体基底(Klarite™)对诺瓦克病毒等 7 种食源性或水源性病毒菌株进行了 SERS 检测鉴别,采用 SIMCA(soft independent modeling of class analogy)对包膜与未包膜病毒样品的识别率超过了 95%。Sundaram 等^[43]在聚乙烯醇微球表面沉积银层,银壳高聚物微球覆盖于云母板干燥后作为 SERS 基底,对从禽类和猪生理单元分离的鼠伤寒沙门氏菌、致病大肠杆菌、单增李斯特菌和金黄色葡萄球菌进行了分析,采用主成分分析(principal component analysis, PCA)建立了判别模型,判别正确率达到 99%,进一步采用 SIMCA 对未知样品进行验证,正确率为 97%。

研究人员通过对基底功能化处理,以期提高 SERS 分析的灵敏度。Sengupta 等^[44]采用肽功能化的金纳米粒子绑定单增李斯特菌和鼠伤寒沙门氏菌,进行了 SERS 检测,研究表明不同目标细菌需要不同生物标记肽进行功能化后与基底连接后检测。Wu 等^[45]采用斜角沉积技术在玻璃片上沉积银纳米棒经万古霉素功能化处理,对来源于 12 个种类的 27 种不同细菌进行了定性识别分析,基于细胞壁不同结构,SERS 光谱对革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌的正确识别率为 100%。基于功能化银纳米棒进一步对沙门氏菌、大肠杆菌 O157:H7 和表皮葡萄球菌进行了 SERS 检测,采用便携式或手持式拉曼系统对绿豆芽中食源性微生物的最低检出浓度为 $100 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ ^[46]。Chen 等^[47]同样采用斜角沉积技术

制备银纳米棒,采用 DNA 适配体修饰后绑定鼠伤寒沙门氏菌进行 SERS 检测,采用 PCA 可将鼠伤寒沙门氏菌从其他菌种有效区分,该方法的局限是检出限为 10^8 CFU · mL⁻¹,重复性也有待提升。Wang 等^[48]制备了一种三维可控等离子纳米盘可有效聚集细菌的超晶体基底,经万古霉素修饰后可固定目标细菌,可准确识别芬达饮料中大肠杆菌和木糖葡萄糖菌。已有实验表明功能化处理 SERS 基底不同方法存在较大差异,需要进一步优化以提高其实际应用潜力。

SERS 无标记识别因操作简单,可实现快速分析而受到关注。Xie 等^[49]采用金纳米溶胶基底结合 SERS 对肠杆菌科 7 种微生物进行了检测,不同微生物与纳米溶胶基底混合后实现了 SERS 无标记识别。而 Chen 等^[50]在细菌细胞培养液中合成了银纳米颗粒溶胶结合 SERS 成功无标记识别了大肠杆菌、绿脓杆菌、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌和李斯特菌,并进一步鉴别了两种不同的李斯特菌,以无害李斯特菌为样品代表,该方法的最低检测限为 10^3 CFU · mL⁻¹,分析时间在 5 min 之内。而采用抗体标记基底可实现准确捕获目标物,提高分析准确性。Li 等^[51]利用 SERS 对饮用水中的不动杆菌和大肠杆菌进行了检测,基于银包裹磁性纳米粒子(Ag@MNPs)作为基底,可实现致病菌有效捕获,在 15 min 内可对水样中的细菌实现高灵敏检测(10^5 CFU · mL⁻¹)。Najafi 等^[52]制备了 Fe₃O₄ 磁性粒子表面包裹金纳米粒子,形成核壳结构的免疫磁珠,通过抗体标记后用于大肠杆菌 O157:H7 的免疫分离 SERS 检测。以苹果汁作为食品模型,对目标微生物捕获效率约为 84%~95%,对苹果汁中大肠杆菌

O157:H7 的最低检出浓度为 10^2 CFU · mL⁻¹,分析时间不超过 1 h。副溶血性弧菌是常见的食物中毒病原菌之一,Yao 等^[53]研究人员开发了一种抗体-VP-适配体夹层结构经过 Au@Ag 纳米颗粒标记结合体外恒温核酸扩展实现 SERS 信号增强,对副溶血性弧菌最低检出限为 1 CFU · mL⁻¹。进一步对水样中添加不同浓度的副溶血性弧菌进行了检测,回收率为 95%~107%。研究结果表明该方法具有高特异性,稳定性和灵敏度。采用 DNA 序列扩增与 SERS 联用技术检测微生物是比较新的研究报道。Draz 等^[54]采用恒温扩增技术与 SERS 联用检测肠炎沙门氏菌。目标细菌 DNA 经恒温扩增后放大,被特殊 DNA 修饰的金纳米探针标记用于 SERS 检测。其结果展现出高特异性和高灵敏性(66 CFU · mL⁻¹)。采用该方法可获得牛奶中浓度为 6×10^3 CFU · mL⁻¹ 肠炎沙门氏菌的 SERS 信号。

Witkowska 等^[55]采用电化学方法将银纳米粒子沉积于 FTO 镀膜玻璃板作为 SERS 基底,SERS 结合 PCA 检测了 5 种不同食品基质(三文鱼、火腿、鸡蛋、婴幼儿配方奶粉和混合香料)中的沙门氏菌、单增李斯特菌和阪崎肠杆菌,以期 SERS 方法可作为传统方法的有效替代成为 ISO 分析标准。SERS 对 5 种食品样品中 3 种病原菌的正确判别率为 98%,分析时间由 6 天缩短为 2 天,SERS 可作为强有力的微生物分析工具用于食品工业中。该研究是极少数利用 SERS 对不同食源性病原菌在多种食品中进行检测的报道,说明了 SERS 技术用于食品中微生物检测的极大潜力和前景,表 1 为食品样品中食源性致病菌检测的相关研究。

表 1 SERS 在食品中食源性致病微生物检测中的应用

Table 1 Typical research about SERS used for detection of foodborne pathogens in food

样品	目标微生物	纳米基底	LOD/判别正确率	参考文献
绿豆芽	沙门氏菌 大肠杆菌 葡萄球菌	Ag NRs 功能化	10^2 CFU · mL ⁻¹	[46]
芬达汽水	大肠杆菌 木糖葡萄糖菌	Au@Ag vertical NRs	—	[48]
苹果汁	大肠杆菌	Fe ₃ O ₄ /Au NPs	10^2 CFU · mL ⁻¹	[52]
水样	副溶血性弧菌	Au@Ag NPs	10^3 CFU · mL ⁻¹	[53]
牛奶	沙门氏菌	Au NPs-DNA/cy5	66 CFU · mL ⁻¹	[54]
三文鱼 火腿 鸡蛋 混合香料 婴幼儿配方奶粉	沙门氏菌、 单增李斯特菌 阪崎肠杆菌	Ag NPs	98%	[55]
苹果汁 自来水	大肠杆菌	PLLA-Au	10^2 CFU · mL ⁻¹	[56]
鸡汤 污水 苹果汁	大肠杆菌	IO@Au NOVs	5×10^5 CFU · mL ⁻¹	[57]

关于食源性致病微生物 SERS 检测的研究主要聚焦于不同 SERS 基底,不同细菌捕获机制,不同细菌定性识别等方面。基底功能化、标记或无标记分析成为食源性致病 SERS 检测的主要趋势。因多种因素的差异导致不同研究灵敏度和

检测时间等存在差异,研究结果依然表明了 SERS 技术在食源性微生物检测方面的应用潜力。尽管大多数研究并没有对食品样品中食源性微生物进行了检测分析,需要在后续研究中进一步深入研究 SERS 快速检测实际食品样品中的食源性

微生物。

2.2 医学诊断中食源性微生物 SERS 检测

SERS 在生物医学方面充分展现了无损快速的优势^[58], 成为研究人员关注的热点之一。常规方法对食源性疾病病理样本, 比如血液、尿液等样品中致病微生物的分析耗时较长, 不能实现即时诊断, SERS 技术的应用可有效解决这一问题, 缩短诊断时间。

大肠杆菌、葡萄球菌、变形杆菌等可能导致尿路感染, 采用 SERS 检测患者尿液中的致病菌可实现病理诊断。Premasiri 等^[59]采用金纳米粒子沉积于硅片上作为增强基底, 手持式拉曼光谱仪对尿液中大肠杆菌、克雷伯杆菌和腐生葡萄球菌在 10^5 CFU · mL⁻¹ 水平进行诊断, 分析在 30 min 内完成。Mircescu 等^[60]将可能导致尿路感染的大肠杆菌和变形杆菌通过静电张力吸附于带正电荷的玻璃片上形成单细菌层, 分别采用原位制备银纳米粒子或滴加浓缩银纳米粒子用于细菌信号的增强, 可在 2 h 内对不同致病菌进行诊断。Avci 等^[61]采用银纳米溶胶基底检测了尿液中大肠杆菌、乳酸球菌、金黄色葡萄球菌、腐生葡萄球菌和肺炎克雷伯杆菌, 并对比分析 SERS 对细菌不同培养液, 不同培养时间信号响应的差异, 结果表明基于 SERS 技术经过 1 h 培养即可实现不同致病菌的诊断判别。Szymborski 等^[56]采用静电纺丝技术在 4 种不用聚合物纤维上覆盖金层作为 SERS 基底, 对比分析了不同聚合物覆盖不同厚度金层对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌增强效果, 进一步对苹果汁、自来水和尿液中浓度为 10^2 CFU · mL⁻¹ 的大肠杆菌进行了检测。

血液分析在医学诊断中非常普遍, SERS 用于血液中致病微生物检测报道中, Sivanesan 等^[62]制备了金银双金属增强基底, 对比了万古霉素和头孢他啶修饰基底对大肠杆菌、肠道沙门氏菌、表皮葡萄球菌和巨大芽孢杆菌的 SERS 分析的影响, 并对血液样品中大肠杆菌和表皮葡萄球菌进行分析。Boardman 等^[63]学者为降低血液中血红蛋白等主要组分对 SERS 分析的影响, 采用微生物浓缩装置将 10 mL 血样浓缩为 200 μ L, 经过短时间培养后吸附于凹形 SERS 芯片用于检测, 对 17 个临床血样中浓度范围为 $10-10^4$ CFU · mL⁻¹ 的大肠杆菌和金黄色葡萄球菌 SERS 判别正确率为 97%, 特异性为 97%, 敏感度为 88%, 样品前处理方法快速、简单, 样品量少, 能实现微生物的快速诊断。

生物医学诊断中除了食源性微生物的诊断, 其他致病微生物的诊断也有相关报道^[64], 对不同生物样品, 不同微生物, 制备不同纳米增强基底, 结合免疫技术、生物传感等手段, 通过 SERS 实现了快速诊断, 说明了 SERS 技术在该领域的巨大应用潜力。

2.3 微流控技术结合 SERS 检测食源性微生物

随着微流控技术的发展, 微流控平台结合 SERS 技术被称为“芯片实验室”应用于环境和食品监控、药物、生物分子、细胞、细菌检测等领域, 已成为近年来研究热点之一^[65]。在食源性致病微生物检测中, Walter 等^[66]基于玻璃微流控芯片结合 SERS 获得了 9 种不同菌株大肠杆菌的谱图, 对不同菌株的判别正确率为 92.6%。Mungroo 等^[67]设计了 2 入口和 1 个出口的微流控芯片结合 SERS 鉴别了大肠

杆菌、鼠伤寒沙门氏菌、肠炎沙门氏菌、绿脓杆菌、单增李斯特菌、无害李斯特菌、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 35 和 86。为了接近实际检测需要, 对多种微生物检测进行了研究, 但对不同细菌间的判别正确率为 64.5%, 对革兰氏阳性菌和阴性菌的判别正确率为 72.6%。Wang 等^[68]通过纳米介电泳(nano-dielectrophoretic, Nano-DEP)微流控装置的分离浓缩, SERS 可在单分子水平检测大肠杆菌, 对两种不同菌株大肠杆菌的判别正确率高于 95%。采用类似的 DEP 微流控芯片, Cheng 等^[69-70]对血液中金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌进行了鉴别, 可在 3 min 识别浓度为 10^6 CFU · mL⁻¹ 的不同细菌。Madiyar 等^[57]对大肠杆菌的最低检测浓度为 210 CFU · mL⁻¹, DEP 经修饰后可在 50 s 内捕获目标分析物, 并进一步对鸡汤、污水及苹果汁中大肠杆菌进行了测定, 验证了方法的可行性。Lin 等^[71]对沙门氏菌和乳糖奈瑟球菌进行了检测, 相比 ELLSA 方法, 检测灵敏度显著提高, 最低检出浓度为 70 CFU · mL⁻¹ (ELLSA: 2×10^7 CFU · mL⁻¹), 抗体用量减少了 100 倍, 诊断时间不超过 2 h。Catalan 等^[72]设计了单通道 PDMS 微流控光学装置, 用于体液中金黄色葡萄球菌的检测, 并对比了抗体和适配体修饰银纳米粒子作为 SERS 增强基底捕获细菌的差异, 基于该检测方法可对尿液、血液、胸膜积液及腹水中浓度低于 15 CFU · mL⁻¹ 的金黄色葡萄球菌实现大通量监控。Lu 等^[73]也报道了采用 PDMS 搭建光流控平台结合 SERS 对两种不同的金黄色葡萄球菌进行了鉴别, 对来自临床分离的 58 个样品正确判别率超过了 95%, 可快速、高选择性、高灵敏检测细菌。不同材料、结构和作用原理的微流控系统与 SERS 结合用于食源性微生物检测, 减少了样品用量, 提高了分析的可控性, 稳定性, 特异性和灵敏度, 在微生物分析方面具有极大应用潜力^[74-75]。

3 结论与展望

围绕食源性致病微生物的快速检测, 主要介绍了 SERS 技术在食源性致病微生物检测中的研究进展。SERS 技术的应用克服了传统方法耗时的技术障碍, 使快速检测成为可能, 特别是与纳米材料, 免疫分离、传感器、微流控等新技术的结合, 极大地提高了 SERS 技术对食品、生物样品中食源性致病微生物快速鉴别的能力。为食品工业过程监控, 即时诊断及应对突发事件提供了新的途径, 具有重要的应用价值。

目前 SERS 作为一种快速分析工具用于食源性致病微生物的检测在国外食品安全, 生物医学等多个领域的应用已处于发展阶段, 而在我国研究和应用均相对较少。已有研究均已表明 SERS 在食源性致病菌快速鉴别方面具有广阔的应用潜力和前景。尽管如此, SERS 技术在致病微生物分析中的应用依然面临很大挑战, (1)大多数研究并没有聚焦于实际样品, 而标准培养液和实际样品的 SERS 检测存在较大差异, 实际样品组分会对 SERS 响应产生干扰, 为实际应用带来一定困难; (2)不同方法结果有较大差异, 主要是由于纳米增强基底差异, 吸附方式原理的差异, 稳定性的差异等, 因此需要更多深入研究进一步优化条件, 提高其实际应用能

力; (3) 期望建立标准化的 SERS 方法替代传统技术, 充分展示 SERS 作为新兴分析工具快速、灵敏、简单的优势应用于食品安全, 医学诊断等领域。随着研究的深入及相关技术的

发展, 逐渐解决或完善目前所面临的技术问题, SERS 作为快速、有效的分析方法将应用于食品工业及生物医学等领域, 并推动相关学科快速发展。

References

- [1] Scallan E, Hoekstra R M, Angulo F J, et al. *Emerging Infectious Diseases*, 2011, 17(1): 7.
- [2] Feng P. *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*, Doyle, MP, Beuchat, LR and Montville, TJ, Eds, ASM Press, Washington, DC. 2001.
- [3] Doyle M P, Buchanan R L. *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. American Society for Microbiology Press, 2012.
- [4] FENG Li, HUANG Ji-chao, LIU Xin, et al(封莉, 黄继超, 刘欣, 等). *Food Science(食品科学)*, 2012, 33(21): 332.
- [5] Zhao X, Lin CW, Wang J, et al. *Journal Microbiol Biotechnol*, 2014, 24(3): 297.
- [6] Valderrama W B, Dudley E G, Doores S, et al. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2016, 56(9): 1519.
- [7] Gracias K S, McKillip J L. *Canadian Journal of Microbiology*, 2004, 50(11): 883.
- [8] Law J W F, Ab Mutalib N S, Chan K G, et al. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 5: 770.
- [9] Mandal P, Biswas A, Choi K, et al. *American Journal of Food Technology*, 2011, 6(2): 87.
- [10] Pinu F R. *Trends in Food Science & Technology*, 2016, 54: 213.
- [11] Craig A P, Franca A S, Irudayaraj J. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2013, 4: 369.
- [12] Shao F, Chen K, Luo Z H, et al. *Progress in Chemistry*, 2012, 24(12): 2391.
- [13] Sharma B, Frontiera R R, Henry A I, et al. *Materials Today*, 2012, 15(1): 16.
- [14] FAN Yu-xia, LAI Ke-qiang, HUANG Yi-qun(樊玉霞, 赖克强, 黄轶群). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2014, 34(7): 1859.
- [15] FU Cui-cui, LIANG Li-jia, QI Guo-hua, et al(付翠翠, 梁丽佳, 齐国华, 等). *Chemical Journal of Chinese Universities(高等学校化学学报)*, 2015, 11: 2134.
- [16] Raman C V. *Indian Journal of Physics*, 1928, 2: 387.
- [17] Raman C V, Krishnan K S. *Proceedings of the Royal Society of London Series A, Containing Papers of a Mathematical and Physical Character*, 1929, 122(789): 23.
- [18] Kneipp K, Kneipp H, Itzkan I, et al. *Chemical Reviews*, 1999, 99(10): 2957.
- [19] Fleischmann M, Hendra P J, McQuillan A J. *Chemical Physics Letters*, 1974, 26(2): 163.
- [20] Jeanmaire D L, Van Duyne R P. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 1977, 84(1): 1.
- [21] Albrecht M G, Creighton J A. *Journal of the American Chemical Society*, 1977, 99(15): 5215.
- [22] Le Ru E, Blackie E, Meyer M, et al. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2007, 111(37): 13794.
- [23] Yang D, Ying Y. *Applied Spectroscopy Reviews*, 2011, 46(7): 539.
- [24] Nie S, Emory SR. *Science*, 1997, 275(5303): 1102.
- [25] Le Ru E, Meyer M, Etchegoin P G. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2006, 110(4): 1944.
- [26] Sengupta A, Mujacic M, Davis E J. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2006, 386(5): 1379.
- [27] Moskovits M. *Reviews of Modern Physics*, 1985, 57(3): 783.
- [28] Otto A. *Topics in Applied Physics*, 1984, 54: 289.
- [29] Ding S Y, You E M, Tian Z Q, et al. *Chemical Society Reviews*, 2017, 46(13): 4042.
- [30] Gersten J, Nitzan A. *The Journal of Chemical Physics*, 1980, 73(7): 3023.
- [31] Otto A, Mrozek I, Grubhorn H, et al. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 1992, 4(5): 1143.
- [32] García-Vidal F J, Pendry J B. *Physical Review Letters*, 1996, 77(6): 1163.
- [33] Camden J P, Dieringer J A, Wang Y, et al. *Journal of the American Chemical Society*, 2008, 130(38): 12616.
- [34] Fan Y, Lai K, Rasco B A, et al. *Food Control*, 2014, 37: 153.
- [35] Luo H, Huang Y, Lai K, et al. *Food Control*, 2016, 68: 229.
- [36] Alsammarraie F K, Lin M S. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(3): 666.
- [37] Brolo A G, Arctander E, Gordon R, et al. *Nano Letters*, 2004, 4(10): 2015.
- [38] Fan M, Andrade G F, Brolo A G. *Analytica Chimica Acta*, 2011, 693(1): 7.
- [39] Wu X M, Chen J, Park B, et al. *Advances in Applied Nanotechnology for Agriculture*, In: Park B, Appell M(eds), American Chemical Society, 2013, 1143: 85.
- [40] Liu Y, Zhou H B, Hu Z W, et al. *Biosensors & Bioelectronics*, 2017, 94: 131.
- [41] Lin C C, Lin C Y, Kao C J, et al. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 2017, 241: 513.
- [42] Fan C, Hu Z, Riley L K, et al. *Journal of Food Science*, 2010, 75(5): M302.
- [43] Sundaram J, Park B, Kwon Y, et al. *International Journal of Food Microbiology*, 2013, 167(1): 67.

- [44] Sengupta A, Shende C, Huang H, et al. *Proceedings of SPIE*, 2012, 8369: 1.
- [45] Wu X M, Huang Y W, Park B, et al. *Talanta*, 2015, 139: 96.
- [46] Wu X M, Xu C, Tripp R A, et al. *Analyst*, 2013, 138(10): 3005.
- [47] Chen J, Park B, Huang Y W, et al. *Journal of Food Measurement and Characterization* 2017, 11(4): 1773.
- [48] Wang W Q, Hynninen V, Qiu L, et al. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 2017, 239: 515.
- [49] Xie Y F, Xu L, Wang Y Q, et al. *Analytical Methods*, 2013, 5(4): 946.
- [50] Chen L Y, Mungroo N, Daikuara L, et al. *Journal of Nanobiotechnology*, 2015, 13: 45.
- [51] Li H B, Li C, Martin F L, et al. *Materials Today-Proceedings*, 2017, 4(1): 25.
- [52] Najafi R, Mukherjee S, Hudson J, et al. *International Journal of Food Microbiology*, 2014, 189: 89.
- [53] Yao L, Ye Y W, Teng J, et al. *Analytical Chemistry*, 2017, 89(18): 9775.
- [54] Draz M S, Lu X N. *Theranostics*, 2016, 6(4): 522.
- [55] Witkowska E, Korsak D, Kowalska A, et al. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2017, 409(6): 1555.
- [56] Szymborski T, Witkowska E, Adamkiewicz W, et al. *Analyst*, 2014, 139(20): 5061.
- [57] Madiyar F R, Bhana S, Swisher L Z, et al. *Nanoscale*, 2015, 7(8): 3726.
- [58] Samanta A, Jana S, Das R K, et al. *Nanomedicine*, 2014, 9(3): 523.
- [59] Premasiri W R, Sauer-Budge A F, Lee J C, et al. *Spectroscopy*, 2013, 28(5): 52.
- [60] Mircescu N E, Zhou H B, Leopold N, et al. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2014, 406(13): 3051.
- [61] Avci E, Kaya N S, Ucanus G, et al. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2015, 407(27): 8233.
- [62] Sivanesan A, Witkowska E, Adamkiewicz W, et al. *Analyst*, 2014, 139(5): 1037.
- [63] Boardman A K, Wong W S, Premasiri W R, et al. *Analytical Chemistry*, 2016, 88(16): 8026.
- [64] Kaminska A, Witkowska E, Kowalska A, et al. *Analytical Methods*, 2016, 8(22): 4521.
- [65] Jahn I J, Zukovskaja O, Zheng X S, et al. *Analyst*, 2017, 142(7): 1022.
- [66] Walter A, Marz A, Schumacher W, et al. *Lab on a Chip*, 2011, 11(6): 1013.
- [67] Mungroo N A, Oliveira G, Neethirajan S. *Microchimica Acta*, 2016, 183(2): 697.
- [68] Wang C, Madiyar F, Yu C X, et al. *Journal of Biological Engineering*, 2017, 11(9): 1.
- [69] Cheng I F, Lin C C, Lin D Y, et al. *Biomicrofluidics*, 2010, 4(3): 1.
- [70] Cheng I F, Chen T Y, Lu R J, et al. *Nanoscale Research Letters*, 2014, 9(1): 324.
- [71] Lin H Y, Huang C H, Hsieh W H, et al. *Small*, 2014, 10(22): 4700.
- [72] Catala C, Mir-Simon B, Feng X T, et al. *Advanced Materials Technologies*, 2016, 1(8): 1600163.
- [73] Lu X, Samuelson D R, Xu Y, et al. *Analytical Chemistry*, 2013, 85(4): 2320.
- [74] Tycova A, Prikryl J, Foret F. *Electrophoresis*, 2017, 38(16): 1977.
- [75] Li Q L, Li B W, Wang Y Q. *Rsc Advances*, 2013, 3(32): 13015.

Application of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy for Foodborne Pathogens Detection

WANG Xiao-hui¹, XU Tao-tao¹, HUANG Yi-qun², LAI Ke-qiang^{1,3}, FAN Yu-xia^{1,3*}

1. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

2. School of Chemistry & Biological Engineering, Changsha University of Science & Technology, Changsha 410076, China

3. Engineering Research Center of Food Thermal Processing Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract Foodborne diseases caused by food-borne pathogen have become a global public health problem. Rapid and accurate detection of food-borne pathogenic microorganisms has become a key to the prevention and control of food-borne diseases and is also the key technology to ensuring food safety. Surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS), as a powerful and attractive analytical tool, has the advantages of simplicity, rapidness and high sensitivity. This review summarizes the recent trends and developments of SERS in the detection of food-borne pathogenic microorganisms. A brief tutorial on SERS, the SERS enhancement theory and SERS enhancement substrate are given first of all. Then we summarize the recent trends and developments of SERS applied to the detection of foodborne pathogen in food and medical diagnosis. In addition, microfluidic SERS platforms for food-borne pathogen are discussed as well. In the field of food safety analysis, SERS combined with pattern recognition methods can rapidly and effectively identify common food-borne pathogenic microorganisms. Some studies have reported to apply SERS to detect food-borne pathogenic microorganisms in different food samples, which demonstrates the advantage of SERS as “finger-

print". In medical diagnosis, SERS can rapidly detect food-borne pathogenic microorganisms in pathological samples (such as blood and urine). The application of SERS makes the rapid diagnosis of food-borne diseases possible due to the shortening of the sample analysis time. With the development of microfluidic technology, microfluidic platform combined with SERS technology is called "chip lab", which can improve the controllability, stability, specificity and sensitivity for detection of food-borne pathogenic microorganisms. The review summarized and compared these different studies of SERS methods, which could be used to detect food-borne pathogenic microorganisms based on different isolation methods, different substrates or different target capture methods. These researches have demonstrated that the application of SERS in foodborne pathogenic microorganisms could overcome the shortcomings of traditional methods, and provide an effective, rapid and sensitive analytical tool for real-time monitoring of food safety and diagnosis of foodborne diseases. At the same time, there are still great challenges for the application of SERS technology in foodborne pathogenic microorganism analysis. (1) Most researches do not focus on the actual samples. However, there is really difference between the standard culture medium and the actual samples for SERS analysis. (2) There are differences between the results of different methods, mainly due to the difference of SERS substrate, the difference of the target adsorption modes, the difference of stability and so on. So further studies are needed for optimization conditions. (3) It is expected to establish standardized SERS methods to replace the traditional techniques, which could fully show the advantages of SERS including rapidness, sensitivity and simplicity. An outlook of the work done and a perspective on the future directions of SERS as a reliable and rapid analytical tool are given for a broader application prospect in food safety, biomedicine and other fields in the future.

Keywords Surface-enhanced Raman spectroscopy; Food-borne pathogen; Food safety; Medical diagnosis; Microfluidics

(Received Dec. 22, 2017; accepted Apr. 13, 2018)

* Corresponding author