

# 基于丝网印刷电极和乙酰胆碱酯酶安培生物传感器的黄曲霉毒素检测方法

董燕婕<sup>1</sup>, 王怡然<sup>2</sup>, 赵善仓<sup>1</sup>, 梁京芸<sup>1</sup>, 苑学霞<sup>1</sup>, 范丽霞<sup>1</sup>, 王磊<sup>1</sup>

(1. 山东省食品质量与安全检测技术重点实验室, 山东省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 山东济南 250100) (2. 临沂大学化学化工学院, 山东临沂 276000)

**摘要:** 为实现黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的快速、实时检测, 利用制作成本低、响应速度快、重复性好、样品用量少的丝网印刷电极, 和对黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 具有抑制作用的乙酰胆碱酯酶, 构建检测黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的电化学传感器。利用石墨烯、普鲁士蓝、壳聚糖和纳米金作为丝网印刷电极的修饰材料, 采用循环伏安法, 优化传感器的反应条件, 分别选取反应 pH 7.5、负载酶量 0.25 U、抑制时间 14 min 作为该传感器测定黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的最优条件。以乙酰胆碱酯酶作为黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的抑制剂, 构建的电化学传感器对黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的线性检测范围为 1~64 μg/mL, 相关系数为 0.9948, 检出限 0.05 μg/mL。对花生样品中进行检测, 其加标回收率为 82.5%~114.1%, 具有良好的重现性和稳定性, 选择性好。该检出限低于我国花生中黄曲霉毒素的限量标准, 可用于花生中的黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的检测。

**关键词:** 丝网印刷电极; 乙酰胆碱酯酶; 黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>; 纳米金

文章编号: 1673-9078(2019)12-310-314

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.12.039

## Acetylcholinesterase Amperometric Biosensor Based on Screen-printed Carbon Electrodes for the Detection of Aflatoxin B<sub>1</sub>

DONG Yan-jie<sup>1</sup>, WANG Yi-ran<sup>2</sup>, ZHAO Shan-cang<sup>1</sup>, LIANG Jing-yun<sup>1</sup>, YUAN Xue-xia<sup>1</sup>, FAN Li-xia<sup>1</sup>, WANG Lei<sup>1</sup>

(1. Shandong Provincial Key Laboratory of Test Technology on Food Quality and Safety, Institute of Quality Standard & Testing Technology for Agro-Products, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China)

(2. School of Chemistry and Chemical Engineering, Linyi University, Linyi 276000, China)

**Abstract:** In order to realize rapid and real-time detection of aflatoxin B<sub>1</sub>, an electrochemical sensor for detecting aflatoxin B<sub>1</sub> was constructed using the screen-printed electrode (which is advantageous in low production cost, fast response, good repeatability and small sample amount), and acetylcholinesterase (which inhibits aflatoxin B<sub>1</sub>). Using graphene, Prussian blue, chitosan and gold nanoparticles as the modification materials for the screen-printed electrodes, the reaction conditions for the sensor were optimized by cyclic voltammetry. The optimal conditions for the detection of aflatoxin B<sub>1</sub> were: pH 7.5, enzyme loading 0.25 U, and inhibition time 14 min. Acetylcholinesterase was used as an inhibitor of the aflatoxin B<sub>1</sub>, and the obtained biosensor exhibited a linear detection range for aflatoxin B<sub>1</sub> from 1 to 64 μg/mL (with a correlation coefficient of 0.9948 and detection limit of 0.05 μg/mL). For the detection of peanut samples, the sensor had a spiked recovery rate in the range of 82.5%~114.1%, with good reproducibility, stability and selectivity. The detection limit was lower than that for the aflatoxins in the peanuts in China, and the developed sensor can be used for the detection of aflatoxin B<sub>1</sub> in peanuts.

**Key words:** screen printing electrode; acetylcholinesterase; aflatoxin B<sub>1</sub>; Au nanoparticles

黄曲霉毒素 (Aflatoxins, AF) 是由黄曲霉

收稿日期: 2019-06-12

基金项目: 国家农产品质量安全风险评估项目 (GJFP2019003); 山东省食品质量与安全检测技术重点实验室开放课题 (2017SYSKAKT01)

作者简介: 董燕婕 (1987-), 女, 助理研究员, 博士研究生, 研究方向: 农产品质量安全检测与风险评估

通讯作者: 王磊 (1977-), 男, 副研究员, 研究方向: 农产品质量安全检测与风险评估

(*Aspergillus flavus*) 和寄生曲霉 (*Aspergillus parasiticus*) 等产生的毒性代谢物<sup>[1]</sup>, 其中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) 是农产品中最常见的污染物, 由于其毒性和致癌性, 国际癌症研究机构 (IARC) 已将 AFB<sub>1</sub> 等列为 I 类致癌物<sup>[2]</sup>。AF 在粮油作物产品中的超标现象, 严重威胁人类和动物健康以及造成巨大的经济贸易损失<sup>[3]</sup>。全球各个国家对 AF 制定了相应的限量标准, 我国规定花生及其制品和花生油中 AFB<sub>1</sub> ≤ 20

μg/kg。快速、精准的 AF 检测技术对保障农产品质量安全具有重要的意义。

目前针对 AF 的检测技术包括酶联免疫法 (Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)、气相色谱-质谱联用法 (Gas chromatography-mass spectrometry, GCMS)、液相色谱法 (Liquid chromatography, LC)、薄层色谱法 (Thin layer chromatography, TLC)、液相色谱-质谱联用法 (Liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS) 等<sup>[4-6]</sup>。其中酶联免疫法特异性好,但是需要制备特异性抗体,假阳性较高<sup>[7]</sup>;大型仪器法往往需要繁琐的前处理步骤和昂贵的仪器,不适用于田间的快速检测<sup>[6]</sup>;薄层色谱法的灵敏度和重复性较差,定量不准确<sup>[8]</sup>。

AF 可与乙酰胆碱酯酶(AChE)活性位点发生非共价键结合,从而抑制该酶的活性。基于该原理的酶传感器被广泛应用。Soldatkin等<sup>[9]</sup>开发了基于AChE的导电型生物传感器,用于AFB<sub>1</sub>的快速检测;袁蓓等<sup>[10]</sup>利用玻碳电极和AChE建立玉米及玉米油中的AFB<sub>1</sub>的电化学传感器,Puiu等<sup>[11]</sup>建立了基于AChE的等离子共振黄曲霉毒素生物传感器。但上述研究所使用的修饰电极为传统的玻碳电极、金电极、铂电极、热解石墨电极等,这些电极生产成本较高,前处理过程繁琐。丝网印刷电极是将丝网印刷技术与介体酶电极相结合制成的一次性酶电极<sup>[12]</sup>,具有制作成本低、响应速度快、重复性好、样品用量少以及制作自动化等优点,因此已成功商业化。因此,本研究基于乙酰胆碱酯酶的抑制作用和丝网印刷电极构建一种快速、便携的AFB<sub>1</sub>生物传感器。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>、A-5626-G 型氯化乙酰胆碱(ATCI)、C3389-500UN 乙酰胆碱酯酶(AChE)、壳聚糖、氯金酸购自美国 Sigma 公司;铁氰化钾、氯化钾、柠檬酸钠等化学试剂均为分析纯级;不同 pH 值的磷酸缓冲液 (PBS);所有的实验用水均为二次蒸馏水。

所有的电化学测定由 CHI 660D 电化学工作站完成。丝网印刷电极 (SPCE) TE100 (直径 3 mm) 购自禅谱科技股份有限公司 (台湾)。

### 1.2 修饰电极的制备

#### 1.2.1 普鲁士蓝-石墨烯复合物的制备

将 2 mL 石墨烯分散液在室温搅拌条件下加到 5 mL 的含 6 mg FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O、8 mg K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>、37 mg KCl

的水溶液中,用 HCl 调节其 pH 为 1.5。磁力搅拌 24 h。将混合液离心清洗几次后,40 °C 真空干燥 12 h,得到普鲁士蓝-石墨烯复合物。称取复合物 10 mg 溶于 0.5 mL 的蒸馏水中。普鲁士蓝-石墨烯复合物制备完成。

#### 1.2.2 纳米金-壳聚糖复合物的制备

首先,利用柠檬酸钠还原氯金酸合成纳米金粒子,合成方法如下:(1) 100 mL 二次蒸馏水与 1%氯金酸溶液混合煮沸;(2) 2.5 mL 1%柠檬酸钠快速加入回流的氯金酸溶液中,当零价纳米金粒子形成时,溶液的颜色由浅黄变为深红;(3) 溶液通过醋酸纤维素膜过滤,储藏在 4 °C 冰箱中备用。

将 0.5% wt 的壳聚糖溶液与制成的纳米金溶液混合,搅拌 1 h,储藏在 4 °C 冰箱中备用。纳米金-壳聚糖复合物制备完成。

#### 1.2.3 电极预处理

将丝网印刷碳电极放入盛有 1 mmol NaOH 溶液的小烧杯中超声清洗 5 min,超纯水清洗,氮气吹干,然后将电极放入盛有 1 mmol HCl 溶液的小烧杯中超声清洗 5 min,超纯水清洗,氮气吹干之后,用无水乙醇清洗电极,氮气吹干,最后,在 pH=5 的磷酸盐缓冲液中进行电流-时间曲线扫描 300 s,之后,进行循环伏安曲线扫描,直至性能稳定。

#### 1.2.4 电极修饰

10 μL 普鲁士蓝-石墨烯复合物滴加到预处理的丝网印刷电极上,室温下晾干后,10 μL 纳米金/壳聚糖复合物滴加到普鲁士蓝/石墨烯/丝网印刷电极 (PB/GR/SPCE),室温下晾干,得到纳米金/壳聚糖/普鲁士蓝/石墨烯/丝网印刷电极 (AuNps/CS/PB/GR/SPCE)。

#### 1.2.5 滴加乙酰胆碱酯酶

将 5 μL 0.25 U/μL 的乙酰胆碱酯酶滴加到纳米金-壳聚糖-普鲁士蓝-石墨烯复合物修饰好的丝网印刷电极上,在 4 °C 条件下干燥,得到乙酰胆碱酯酶生物传感器 (AChE/AuNps/CS/PB/GR/SPCE)。

### 1.3 实际样品的预处理

称取 5 g 花生粉,加入不同浓度的 AFB<sub>1</sub>,于 5 mL 80%的甲醇溶液中振荡萃取 45 min,5000 r/min 离心 10 min,上清用 PBS 按 1:5(V/V)稀释,用传感器测定。

### 1.4 数据统计分析

数据采用 SPSS 21.0 软件(美国 SPSS 股份有限公司)进行统计学分析。ANOVA 进行方差分析,Duncan 对提取条件进行显著性分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 修饰材料的表征

用扫描电子显微镜(SEM)对 AuNps/CS/PB/GR/SPCE 复合材料的表面形貌进行了表征。图 1a 观察到在石墨烯表面沉积了大量的金纳米粒子,图 2a 显示的起皱片状结构涂层纳米复合材料是壳聚糖的典型图像,表明金纳米粒子和壳聚糖成功地组装到电极上。

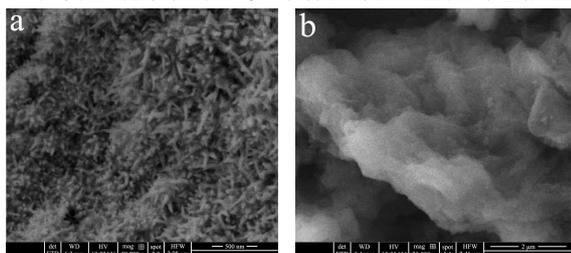


图 1 普鲁士蓝/石墨烯/纳米金/壳聚糖/普鲁士蓝/石墨烯复合物的 (a) 500 nm 和 2 μm 的 SEM 图片

Fig.1 SEM characterizations of AuNps/CS/PB/GR (a) scale bar; (b) scale bar 2 μm

### 2.2 修饰电极的电化学表征

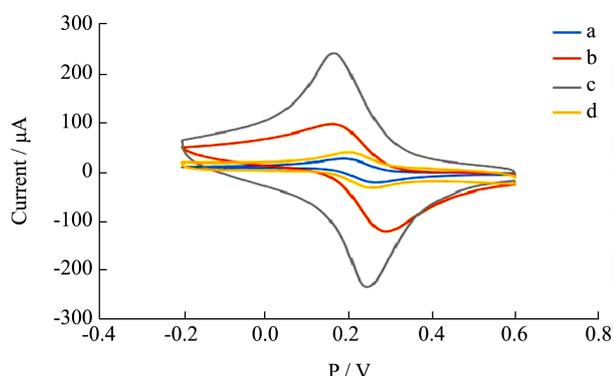


图 2 裸电极 (a); 普鲁士蓝/石墨烯复合物修饰电极 (b); 纳米金/壳聚糖/普鲁士蓝/石墨烯复合物修饰电极 (c); 乙酰胆碱酯酶/纳米金/壳聚糖/普鲁士蓝/石墨烯复合物修饰电极 (d) 的循环伏安特征曲线

Fig.2 Cvs of the electrodes at different stages, (a) Bare SPCE, (b) PB/GR/SPCE; (c) AuNps/CS/PB/GR/SPCE, (c) AChE/AuNps/CS-PB-GR/SPCE

利用循环伏安法,研究裸 SPCE 电极、PB/GR/SPCE 电极、AuNps/CS/PB/GR/SPCE 电极、AChE/AuNps/CS-PB-GR/SPCE 电极在扫速 50 mV/s 时,对 2.0 mmol/L  $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ (1:1)混合溶液的电化学响应,研究电极表面行为的变化。如图 2 所示,纳米金、石墨烯、普鲁士蓝和壳聚糖好的导电性,使得 AuNps/CS/PB/GR/SPCE 比裸 SPCE 电极的电流响应要好。当 AChE 固定到电极表面之后,由

于其不导电性阻碍了电子在电极的传递,峰电流均有所下降。上述结果进一步说明 AChE 已经成功的固定到了电极表面。

### 2.3 电极对 AFB<sub>1</sub> 的抑制表征

利用循环伏安法,研究裸 SPCE 电极、AuNps/CS/PB/GR/SPCE 电极、AChE/AuNps/CS-PB-GR/SPCE 电极及其在 1 μg/L AFB<sub>1</sub> 反应 15 min 后,在扫速 50 mV/s 时,对含 1.5 mmol/L ATCl 的 PBS 缓冲液 (pH 7.5) 的电化学响应,研究电极表面行为的变化 (图 3)。纳米金、石墨烯、普鲁士蓝和壳聚糖好的导电性,使得 AuNps/CS/PB/GR/SPCE 电极显著提高了 SPCE 电极的电流响应,与图 2 结果相同。当 AChE 固定到电极表面之后,在 1.5 mmol/L ATCl 溶液中,电流较未固定酶的电极增加,与图 2 不同。这是由于 ATCl 在 AChE 的催化下水解生成还原型胆碱,进而氧化生成氧化型胆碱二聚体,致电流强度增大。在 AFB<sub>1</sub> 溶液中反应 14 min 的 AChE/AuNps/CS-PB-GR/SPCE 电极的电流强度明显降低,这是由于 AFB<sub>1</sub> 抑制了 AChE 的活性。

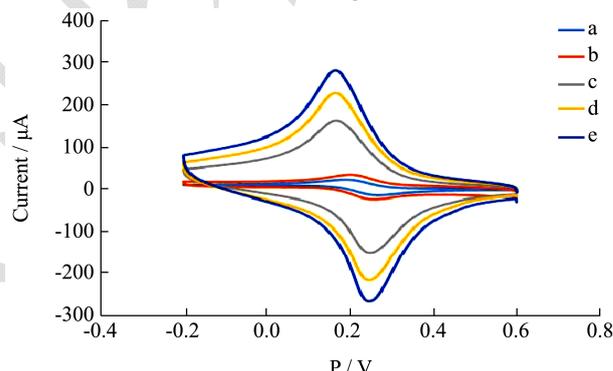


图 3 裸电极 (a); 普鲁士蓝/石墨烯复合物修饰电极 (b); 纳米金/壳聚糖/普鲁士蓝/石墨烯复合物修饰电极 (c); 乙酰胆碱酯酶/纳米金/壳聚糖/普鲁士蓝/石墨烯复合物修饰电极 (d) 的循环伏安特征曲线; 乙酰胆碱酯酶/纳米金/壳聚糖/普鲁士蓝/石墨烯复合物修饰电极在 1 μg/L AFB<sub>1</sub> 15min (e) 的循环伏安特征曲线

Fig.3 Cvs of the electrodes at different stages, (a) Bare SPCE, (b)PB/GR/SPCE; (c) AuNps/CS/PB/GR/SPCE, (d) AChE/AuNps/CS-PB-GR/SPCE;(e) AChE/AuNps/CS-PB-GR/SPCE afterinhibition with 1μg/L AFB1 for 14 min

### 2.4 反应条件的优化

#### 2.4.1 缓冲液 pH 的优化

PBS 缓冲液的 pH 值影响电极的信号强弱。采用 pH 值为 6~9 的 PBS 缓冲液中检测电极的信号强度,结果如图 4 所示。随着 PBS 缓冲液的 pH 值的不断增大,电流值先增大后减小,当 pH 为 7.5 时,峰电流值

最大, 为 21.35  $\mu\text{A}$ 。因此, 在最优 pH 值为 7.5 时, AChE 能够迅速催化底物产生电活性物质。过酸或过碱都会使 AChE 的催化活性降低。

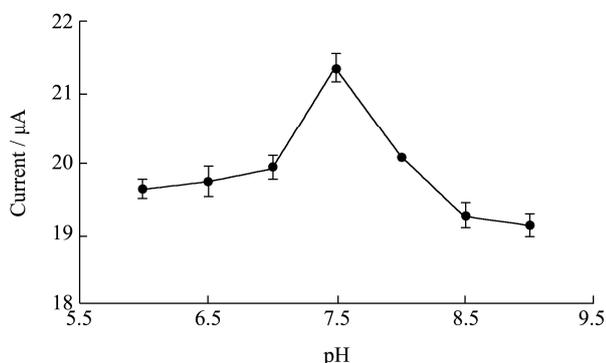


图 4 不同 pH 的 PBS 缓冲液对传感器的电流响应图

Fig.4 The influence of pH on the response of biosensor

### 2.4.2 负载酶量的优化

采用 0.1~0.4 U 的 AChE 酶量研究其对传感器电流相应信号的影响 (图 5)。随着酶量的增加, 传感器的电流响应值逐渐增加, 直到 0.25 U 时达到最高值, 然后随着酶量的增加, 电流响应值逐渐下降。因此, 选择 0.25 U 作为负载的酶量。

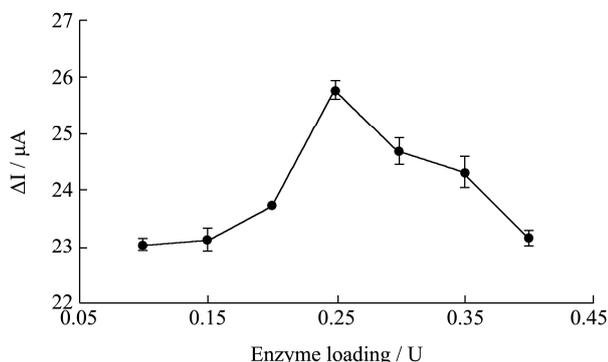


图 5 不同酶量对传感器的电流响应图

Fig.5 The influence of enzyme amount on the response of biosensor

### 2.4.3 反应时间的优化

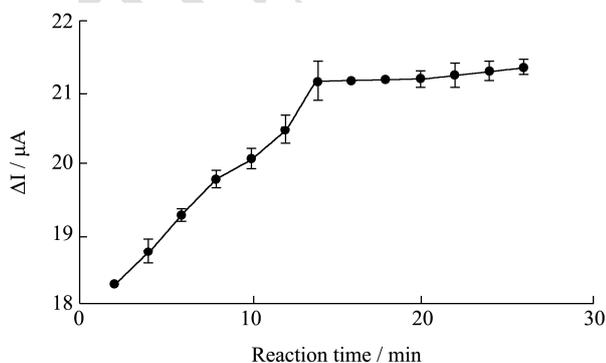


图 6 反应时间对传感器的电流响应图

Fig.6 The influence of incubation time on the response of biosensor

抑制时间从 1 min 到 14 min 时, 随着 AFB<sub>1</sub> 对 AChE 酶抑制时间的延长, AFB<sub>1</sub> 会抑制酶活性, 电极识别的物质随之减少, 抑制率增加。当 AFB<sub>1</sub> 抑制时间达到 14 min 时, 抑制率达到稳定状态, 不再随时间的延长而增加。所以该传感器选择 14 min 作为 AFB<sub>1</sub> 对 AChE 酶的反应时间。

### 2.5 AFB<sub>1</sub> 测定标准曲线

在优化条件下, 采用 0、0.5、1、2、4、8、16、32、64  $\mu\text{g/mL}$  的 AFB<sub>1</sub> 绘制抑制率与浓度的标准曲线 (图 6a、6b)。在 1~64  $\mu\text{g/mL}$  成线性关系, 抑制率与 AFB<sub>1</sub> 浓度呈线性关系, 线性方程为  $y=28.707x+27.814$ ,  $R^2=0.9948$ , 检出限为 0.5  $\mu\text{g/mL}$ 。曲线的峰电流值随着 AFB<sub>1</sub> 浓度的增加而减小。这是由于 AFB<sub>1</sub> 降低了 AChE 催化底物的能力, 并且这种抑制作用是不可逆的。曲线中峰电流的前后变化, 能够反映 AChE 酶的活力变化, 间接判断 AFB<sub>1</sub> 对酶的抑制作用, 并最终计算出 AFB<sub>1</sub> 浓度。

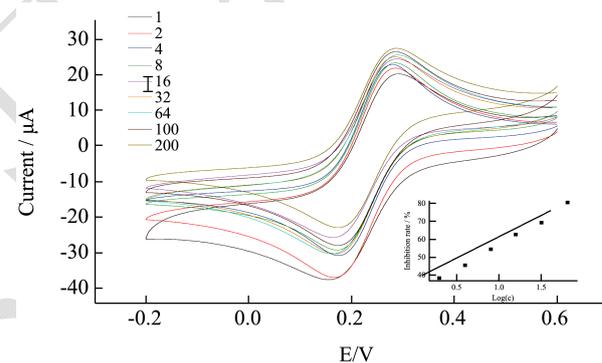


图 7 利用传感器检测 AFB<sub>1</sub> 标准溶液 (1、2、4、8、16、32、64、100、200  $\mu\text{g/mL}$ ) 循环伏安图; (b) AFB<sub>1</sub> 的标准曲线

Fig.7 (a) Cvs of the immunosensor for the detection of AFB<sub>1</sub> standard solution (1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 100, 200  $\mu\text{g/mL}$ ); (b) the calibration curve of AFB<sub>1</sub> standard solution.

### 2.6 传感器的选择性、重复性和稳定性

选择了伏马毒素 B<sub>1</sub> 作为干扰物研究其对传感器的影响。添加 16  $\mu\text{g/mL}$  的伏马毒素 B<sub>1</sub> 溶液于抗体培养液中, 峰电流响应值没有显著的差异。这说明本传感器在检测 AFB<sub>1</sub> 时, 具有很好的选择性。

利用 5 只电极, 在相同的条件下, 研究了传感器的重现性和重复性。在 16  $\mu\text{g/mL}$  的 AFB<sub>1</sub> 溶液中测定的相对标准偏差范围为 3.80%~5.10%。单支电极连续 5 次在 16  $\mu\text{g/mL}$  的 AFB<sub>1</sub> 溶液中测定的标准偏差为 4.60%。

将乙酰胆碱酯酶/纳米金/壳聚糖/普鲁士蓝/石墨烯/丝网印刷电极在冰箱 (4  $^{\circ}\text{C}$ ) 中储存一周, 在同一

浓度的 AFB<sub>1</sub> 溶液中检测传感电极的稳定性。得到的峰电流值没有显著地变化, 得到的相对偏差值为 4.50%, 这说明乙酰胆碱酯酶/纳米金/壳聚糖/普鲁士蓝/石墨烯/丝网印刷电极构建的电化学传感器具有较好的稳定性。

## 2.7 实际样品的检测

为研究该电化学传感器的可行性, 将此传感器用于检测花生中 AFB<sub>1</sub> 的含量。通过将预处理的花生样品加入不同浓度的 AFB<sub>1</sub> 溶液中, 进行检测。加标样品的回收率范围在 82.5%~114.1%之间(表 1), 这说明构建的电化学传感器具有很高的准确度, 可以用于实际样品的检测。

表 1 电化学传感器检测花生中 AFB<sub>1</sub> 的回收率

Table 1 Recoveries of AFB<sub>1</sub> from peanut samples determined by electrochemical immunosensor

样品	添加量 (ng/mL)	测定量 (ng/mL)	RSD/% (n=5)	回收率/%
1	2	1.65	4.50	82.50
2	4	4.13	3.70	103.30
3	8	9.13	5.10	114.10
4	16	17.20	3.80	107.50

## 3 结论

本文结合纳米材料, 构建了检测 AFB<sub>1</sub> 的纳米金和壳聚糖/普鲁士蓝/石墨烯电化学传感器。在优化条件下, 1~64 μg/mL 的范围内, AFB<sub>1</sub> 浓度的对数值与响应电流成线性比例关系, 检测限为 0.05 μg/mL。构建的传感器采用纳米金、石墨烯及其复合物增强了电化学免疫传感器的电流响应, 壳聚糖提高了该电化学传感器的稳定性, 使其具有高灵敏性、稳定性、选择性、重现性和准确性, 适用于花生中 AFB<sub>1</sub> 残留的检测。

## 参考文献

[1] Zhang DH, Li PW, Zhang Q, et al. Ultrasensitive enanogold probe-based immunochromatographic assay for simultaneous detection of total aflatoxins in peanuts [J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2011, 26(6): 2877-2882

[2] IARC. Aflatoxins (group 1). In *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans* [M]. Lyon, France, 2002

[3] 刘立芳. 黄曲霉毒素的检测及其降解方法进展[J]. *中国酿造*,

2014,33(1):23-26

LIU Li-fang. Progress on detection and degradation method of aflatoxin [J]. *China Brewing*, 2014, 33(1): 23-26

- [4] Kim D H, Hong S Y, Kang J W, et al. Simultaneous determination of multi-mycotoxins in cereal grains collected from South Korea by LC/MS/MS [J]. *Toxins*, 2017, 9(3): 106
- [5] Matabaro E, Ishimwe N, Uwimbabazi E, et al. Current immunoassay methods for the rapid detection of aflatoxin in milk and dairy products [J]. *Comprehensive Reviews in Food Science & Food Safety*, 2017, 16: 808-820
- [6] Lazuardi M, Bambang H. High-performance liquid chromatography ultraviolet-photodiode array detection method for aflatoxin B<sub>1</sub> in cattle feed supplements [J]. *Veterinary World*, 2017, 10(8): 932-938
- [7] 宋卫得, 苏征, 惠希东, 等. 液质联用技术在食品真菌毒素检测中的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2016, 37(17): 395-399
- SONG Wei-dei, SU Zheng, HUI Xi-dong, et al. Progress in determination of mycotoxins in food by liquid chromatography tandem mass spectrometry technologies [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2016, 37(17): 395-399
- [8] 王晓, 王秀斌, 李培武, 等. 农产品中真菌毒素样品前处理和检测方法研究进展[J]. *化学试剂*, 2019, 41(4): 325-332
- WANG Xiao, WANG Xiu-pin, LI Pei-wu, et al. Progress on sample preparation and detection of mycotoxin in agricultural products [J]. *Chemical Reagents*, 2019, 41(4): 325-332
- [9] O O Soldatkin, O S Burdak, T A Sergeeva, et al. Acetylcholinesterase-based conductometric biosensor for determination of aflatoxin B<sub>1</sub> [J]. *Sensors and Actuators B*, 2013, 11(188): 999-1003
- [10] 袁蓓, 赵凤娟, 卫敏. 基于乙酰胆碱酯酶传感器的黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 检测方法研究[J]. *食品科技*, 2016, 41(2): 322-326
- YUAN Bei, ZHAO Feng-juan, WEI Min. Amperometric biosensor based on acetylcholinesterase for the detection of aflatoxin B<sub>1</sub> [J]. *Food Science and Technology*, 2016, 41(2): 322-326
- [11] Puiu M, Istrate O, Rotariu L, et al. Kinetic Approach of aflatoxin B<sub>1</sub>-acetylcholinesterase interaction: A tool for developing surface plasmon resonance biosensors [J]. *Analytical Biochemistry*, 2011, 421(2): 587-594
- [12] 张先恩. 生物传感器[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005, 236
- ZHANG Xian-en. *Biosensor* [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005, 236