

食品流通与包装

银纳米簇用于食品包装污染物的检测及其抗菌性能的应用

银娜^{1,2}, 梁俊¹, 高志贤²

(1.天津科技大学 省部共建食品营养与安全国家重点实验室, 天津 300457;
2.天津市环境与食品安全风险监控技术重点实验室, 军事科学院军事医学研究院,
环境医学与作业医学研究所, 天津 300050)

摘要: **目的** 介绍荧光银纳米簇 (AgNCs) 的合成方法、荧光特性、抗菌活性, 及其在食品包装中的应用。**方法** 总结国内外 AgNCs 在食品包装检测领域的应用, 以及其作为新型抗菌材料体现出的强大抗菌效力, 提出 AgNCs 的不足之处和可能的解决方法。**结论** AgNCs 由于其光漂白性低、荧光量子产率高、经济效益好, 可作为荧光材料设计生物传感器用于检测食品包装内的污染物。此类生物传感器具有检测快速、灵敏与特异性识别的优点。同时 AgNCs 具有大的表面积与体积比, 高的局部表面 Ag 浓度、高迁移率及低毒性等特点, 使其抗菌性能优于传统的银纳米材料, 由此, 展望了新型抗菌检测双重功效 AgNCs 传感器的设计。

关键词: 银纳米簇; 食品包装安全危害因子; 传感器; 快速检测; 抗菌性

中图分类号: O657.3; TP212.3 文献标识码: A 文章编号: 1001-3563(2019)21-0044-07

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2019.21.007

Silver Nanoclusters for the Detection of Food Packaging Contaminants and Their Application in Antibacterial Properties

YIN Na^{1,2}, LIANG Jun¹, GAO Zhi-xian²

(1.State Key Laboratory of Food Nutrition and Safety, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China; 2.Tianjin Key Laboratory of Risk Assessment and Control Technology for Environment and Food Safety, Institute of Military Medical Science, Academy of Military Science, Institute of Environmental and Operational Medicine, Tianjin 300050, China)

ABSTRACT: The work aims to introduce the synthesis methods, fluorescence characteristics, antibacterial activity of fluorescent silver nanoclusters (AgNCs) and their applications in food packaging. The application of domestic and overseas AgNCs in the field of food packaging detection and the strong antibacterial efficacy of AgNCs as a new type of antibacterial material were summarized. The inadequacies and possible solutions of AgNCs were proposed. Due to its low photo bleaching, high fluorescence quantum yield and good economic efficiency, AgNCs can be used as a fluorescent material to design biosensors to detect contaminants in food packaging. These biosensors are featured by rapid detection, sensitive identification and specific recognition. At the same time, the advantages of large surface area to volume ratio of AgNCs, high local surface Ag concentration, high mobility and low toxicity make its antibacterial performance superior to traditional silver nanomaterials. Therefore, the design of a new dual-function AgNCs sensor for both anti-bacteria and detection is envisioned.

收稿日期: 2019-06-26

基金项目: 国家重点研究发展计划 (2017YFC1200903)

作者简介: 银娜 (1994—), 女, 天津科技大学硕士, 主攻食品检测、包装安全控制。

通信作者: 梁俊 (1978—), 男, 天津科技大学教授、博导, 主要研究方向为食品检测、包装安全控制。

KEY WORDS: silver nanoclusters; food packaging safety hazard factors; sensors; rapid detection; antibacterial property

近年来,我国食品包装污染物问题严重威胁到了人们的身体健康,因此,对食品包装安全检测方法与体系的研究有很大发展空间。已有的检测方法中大部分为一些传统的检测方法,如高效液相色谱法^[1]和气相色谱-质谱联用法^[2-4]。这些传统方法往往需要大型仪器、耗费较高,且检测速度慢,不适用于实际日常消费者的检测,因此传感器用于检测领域应运而生^[5]。利用银纳米簇(AgNCs)作为荧光团来设计传感器,对食品包装污染物进行检测的方法也逐渐发展起来,同时已有研究表明 AgNCs 的抗菌效力已经超过常用的银纳米颗粒(AgNPs)和银离子(Ag⁺)本身,这为抗菌包装提供了潜在价值。

基于上述原因,文中对于用荧光 AgNCs 检测食品包装污染物以及其抗菌性能的研究进行综述。介绍 AgNCs 的合成方法与其快速发展以来,用于食品包装污染物检测的传感方法,为有效准确预测包装内食品货架期提供技术支撑,在设计防霉防菌防毒以及指示包装方向具有可观的应用前景。

1 银纳米簇的合成方法

AgNCs 是一种由 2~100 个银原子组成的团簇,当粒径小于 2 nm 时,有明亮的荧光发射特性;当粒径大于 2 nm 或者只存在单个银原子时,无法观察到明显的荧光发射^[6-7]。通常,当 AgNCs 的大小接近电子的费米波长时,其能量结构会分解成与分子类似的离散水平^[8]。由于与有机染料相比,AgNCs 的荧光发射更强,耐光性更好;与量子点相比,其尺寸更小,毒性更弱^[9],因此,AgNCs 被认为是标准荧光团的理想材料。在结构方面,AgNCs 需要稳定的配体以保护其免于聚集和氧化^[10],因此,在制备 AgNCs 时,常采用各种配体,例如树枝状聚合物、蛋白质、硫醇化合物、谷胱甘肽和脱氧核糖核酸(DNA)等^[11-12]。

1.1 DNA 为模板合成

DNA 由于自身结构的可调制性以及与其目标物的适配体可有效结合性^[13],在包装内食品检测领域的应用是未来的发展趋势。AgNCs 的已知发射波长范围可覆盖紫外到近红外区域^[14],其发射颜色与 DNA 模板的结构及序列长度有密切的关系^[15-16],因此,常常利用这一性质展开荧光传感器的设计以便更好地用于食品检测。

DNA-AgNCs 的制备方法主要有 2 种。

1) 传统的直接制备法。在磷酸盐或者乙酸盐缓冲液中进行制备^[17],其中 DNA、硝酸银(AgNO₃)和硼氢化钠(NaBH₄)的物质的量比为 1:6:6^[18]。

银纳米簇的合成过程示意图 1,首先,加入 AgNO₃ 溶液,由于 Ag⁺与碱基的亲合力很强,尤其是可与嘌呤的 N7 位点和嘧啶的 N3 位点亲密结合,使得 Ag⁺与碱基配位^[13]。一般来说,碱基的亲合力大小排序为:胞嘧啶(C)>鸟嘌呤(G)>腺嘌呤(A)>胸腺嘧啶(T)^[19-21],这也是大部分 DNA 模板为富含 C 碱基序列的原因^[22]。此外,DNA 与 Ag⁺的比例不应过低,因为 Ag⁺过多会聚集成多余的银纳米颗粒(AgNPs),进而影响荧光发射强度^[23]。最后,加入现配的 NaBH₄ 溶液作为强还原剂,Ag⁺被还原成银原子(Ag⁰),聚集形成 AgNCs,同时 Ag—Ag 键可协同保护 AgNCs 的稳定性。



图 1 银纳米簇合成过程示意

Fig.1 Schematic diagram of silver nanocluster synthesis process

2) 非传统方法,即簇梭方法。该方法主要是将银盐与 3-(2-氨基乙基氨基)丙基三甲氧基硅烷(APTMS)在甲醇中混合,然后与聚丙烯酸(PAA)混合^[13]。其原理是通过 PAA 稳定形成 PAA-AgNCs,随后加入 DNA,AgNCs 实现簇转移,形成 DNA-AgNCs^[24]。转移效率主要由 Ag⁺,PAA 与 APTMS 物质的量比控制^[25]。这种方法的缺点是合成的产物受 pH 的影响较大。这种方法可大批量生产,无需纯化,且在簇转移的过程中 PAA 聚合物能起到额外的保护作用^[13]。

1.2 其他物质为配体合成

近年来,研究人员发现一部分用其他大分子合成的 AgNCs 具有强大的抗菌性能,在抗菌包装的制备和开发上有巨大的潜力。例如,将 AgNO₃ 和聚甲基丙烯酸甲酯(PMAA)溶解在去离子水中,暴露于长波黑斑效应紫外线(UVA)下进行还原制备 AgNCs^[26];在室温下将均质的核糖蛋白溶液加入水溶液中,再将 AgNO₃ 溶液逐滴加入以合成核黄素@银纳米簇(RF@AgNCs)^[27];将杆菌肽(Bacitracin)引入 AgNO₃ 溶液中,并依次加入 NaOH 和 NaBH₄,再将混合物温育合成 AgNCs@Bacitracin^[28];将新鲜制备的 AgNO₃ 和谷胱甘肽(GSH)水溶液在超纯水中混合,逐滴添加 NaBH₄ 溶液,在室温下孵育约 4 h 合成 GSH-AgNCs;或将聚醚酰亚胺(PEI)和 AgNO₃ 溶于超纯水中并进行搅拌,将 pH 调节至 5 后,向溶液中加入丙烯酸(AA)合成 AgNCs。这表明 AgNCs 合成的灵活性以及应用的广泛性。

2 银纳米簇 (AgNCs) 在检测方面的应用

绿色食品包装虽已经成为当今食品包装行业发展的趋势,但食品包装中的污染物迁移仍然威胁着人们的健康。AgNCs 作为一种无毒荧光材料可用于生物传感器的信号输出,结合适配体与目标物的特异性识别,在食品包装污染物的检测方面应用前景广阔。该方法已经运用于产毒真菌及毒素、金属离子以及食源性致病菌的快速检测中。

2.1 真菌毒素的检测

由于高温高湿天气影响以及在储存、运输的过程中操作不当,食品包装内农产品极易受真菌的污染,这些产毒真菌产生的毒素往往已经被明确证明可致癌或者可能致癌,给人们的健康带来了极大危害。产毒真菌包括黄曲霉菌、赭曲霉菌、镰刀菌和青霉菌等,这些真菌能产生危害极大的毒素包括黄曲霉毒素 (AFT)、赭曲霉毒素 (OTA)、玉米赤霉烯酮 (ZEN) 和呕吐毒素 (DON) 等。

目前,Chen 等人运用 DNA-AgNCs 结合 OTA 的适配体以及磁珠的结构转换设计荧光传感器,并成功地应用于实际样品小麦中 OTA 的检测,检测限低至 2 pg/mL^[29]。对于 T-2 毒素的检测,已有很多结合荧光 AgNCs 的方法,包括用适配体与指数等温扩增反应结合,放大荧光信号检测 T-2 毒素^[30]。Khan 等人依赖新型荧光共振能量转移 (FRET) 设计适配体功能化 AgNCs 荧光传感器,用二硫化钼 (MoS₂) 淬灭荧光实现信号输出,动态定量检测范围达到 0.005~500 ng/mL,检测限低至 0.93 pg/mL^[31]。此外,能够实现高通量的快速检测是目前对食品检测领域的诉求,Zhang 等人已经用荧光适配体传感器结合 DNA-AgNCs 耦合 Zr(II) 实现同时检测 OTA 和 AFT,检测范围均为 0.001~0.05 ng/mL,检测限分别为 0.2 pg/mL 和 0.3 pg/mL^[32]。此方法为同时检测 2 种目标物提供了良好的典范。检测多种目标物是需要努力的方向,荧光 AgNCs 以其优异的特性可作为效果显著的荧光材料,并运用于食品包装安全评估的体系中。

2.2 金属离子的检测

在食品包装中,由于食品接触材料可能会存留金属离子,因此增加了金属离子迁移进入食品的风险^[33]。发生迁移后,通过食物链的放大作用富集,最终金属元素进入人体,逐渐积累,进而危害健康,甚至会引起中毒^[34],因此,食品中金属污染问题引起了世界各国及相关组织和团体的关注,我国也严格规定了食品中镉 (Cd)、铅 (Pb)、汞 (Hg)、砷 (As) 等相应的检测方法和限量标准。

目前已经有大量使用 AgNCs 作为荧光信号检测

Hg²⁺ 的传感方法,MacLean 等利用特殊 DNA-AgNCs 不能被 Hg²⁺ 淬灭的机制 (见图 2),设计了含有 2 个发射峰的 AgNCs 传感器。其中,红色发射的荧光可被 Hg²⁺ 强烈淬灭,伴随着绿色峰值逐渐增加,产生橙色至绿色的视觉荧光转化,实现了比率检测,检测限为 4 nmol/L^[35]。同时他们将该传感器进一步固定在水凝胶基质中,以视觉响应检测 Hg²⁺。此外,扩增方式也被运用于 Hg²⁺ 的检测,Xu 等将发夹 DNA-AgNCs 应用于核酸外切酶 III 辅助的靶标循环扩增反应中,通过引起探针 DNA 发夹到单链的构象变化,实现对 Hg²⁺ 的检测,动态检测范围为 0.1~10 nmol/L,检测限为 24 pmol/L^[36] (见图 4)。如图 3 所示,Yin 等在 2013 年提出了一种高效、无标记的 DNA 分子机器荧光 AgNCs 来检测液体中的 Hg²⁺,并获得 0.08 nmol/L 的检测限^[37]。

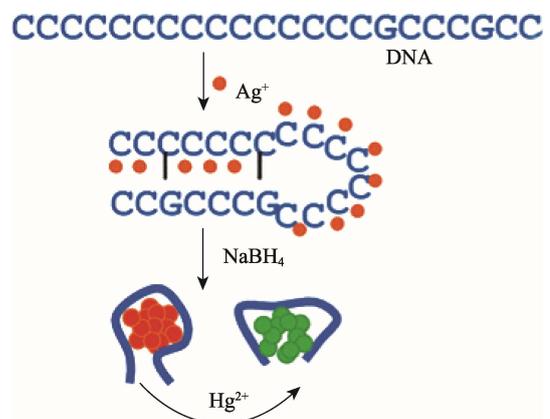


图 2 DNA-AgNCs 合成产生红色和绿色发光体
Fig.2 DNA-AgNC synthesis producing both red and green emitters

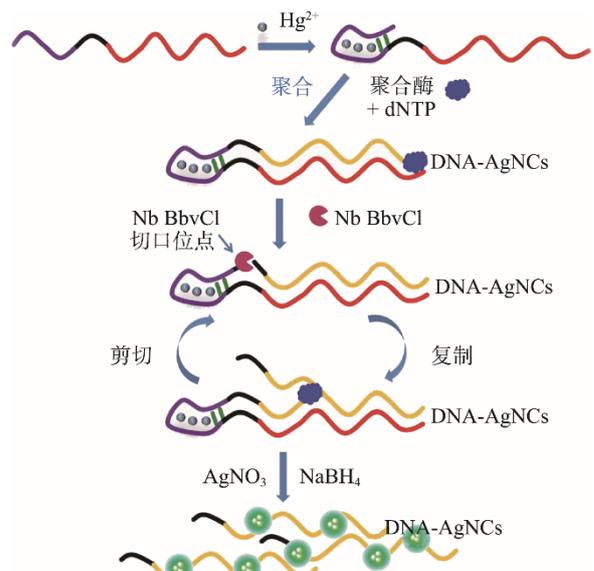
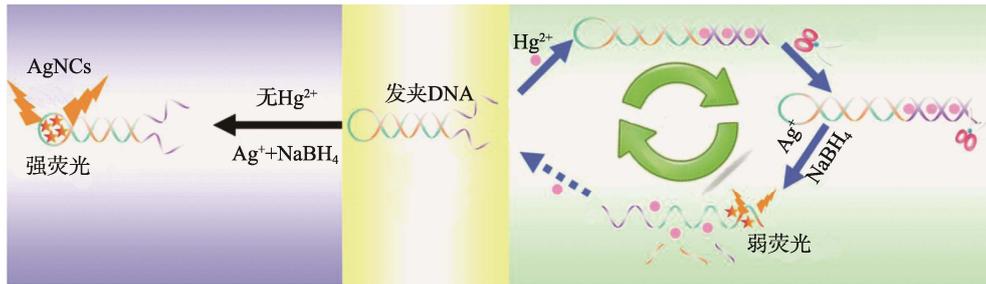


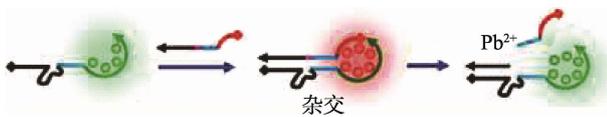
图 3 使用基于 DNA 分子机器的 AgNCs 无标记
荧光方法检测 Hg²⁺

Fig.3 Detection of Hg²⁺ ions by AgNCs label-free fluorescent methods based on DNA molecular machine

图 4 基于无标记发夹 DNA-AgNCs 的 Hg^{2+} 荧光传感策略的示意Fig.4 Schematic diagram of Hg^{2+} fluorescent sensing strategy based on label-free hairpin DNA-AgNCs

与 Hg^{2+} 的检测相比,其他种类的重金属离子用荧光 AgNCs 的检测还处于探索阶段。可以用目标物本身对 AgNCs 荧光淬灭的性质来进行检测,目前已经设计出用 Cu^{2+} 荧光淬灭机制对其自身进行检测,检测范围为 $0.01\sim 1.1\ \mu\text{mol/L}$,检测限为 $4\ \text{nmol/L}$ ^[38]。2016 年, Meng 课题组使用 PEI 保护的 AgNCs 在宽 pH 范围内灵敏检测出铬 (Cr), 获得较宽的检测范围, 为 $0.5\sim 25\ \mu\text{mol/L}$ ^[39]。此外, 用于检测毒素的比率式 AgNCs 探针依然适用于金属离子的检测, 这种传感方法利用不同发射波长强度的比率输出信号, 有效地抵消了荧光变化时产生的系统误差。2018 年 Wang 等成功用基于双发射 DNA-AgNCs 的荧光团比率纳米传感器, 实现了 Pb^{2+} 的超灵敏检测^[40] (见图 5), 主要利用单链 DNA-AgNCs 呈现绿色发射, 而与其互补的 DNA 形成双链体后可转化为红色发射的原理。

由于 DNA-AgNCs 的荧光发射颜色与 DNA 序列长度、结构有不可分割的关系, 因此利用不同发射颜色的特性设计比率探针成为一种前沿的检测方法。大部分真菌毒素与金属离子均为小分子, 因此与适配体传感器结合, 用等温扩增反应放大信号以及将 AgNCs 作为荧光团, 可为目标物的检测提供高度灵敏性和特异性, 检测时间常常只需几分钟或几个小时。

图 5 用于比率荧光检测 Pb^{2+} 的单荧光团 DNA-AgNCs 变色示意Fig.5 Schematic diagram of discoloration of the single fluorophore DNA-AgNCs for ratiometric fluorescence detection of Pb^{2+}

2.3 食源性致病菌的检测

食源性致病菌也是导致食品安全问题的重要来源, 常见食品致病菌主要有痢疾杆菌、致病性大肠杆菌、沙门氏菌、霍乱弧菌、炭疽杆菌、结核菌、布氏杆菌等。

在食源性致病菌的检测方面, AgNCs 的应用还比较欠缺, 这也侧面说明很多 AgNCs 的传感方法亟

需开发与运用。已有研究者将 AgNCs 和等温扩增方式结合设计了生物传感器来检测目标物。Wang 课题组开发出了级联三重触发序列-再生链置换扩增结合发夹 DNA-AgNCs 的无标记荧光传感方法, 可直接检测活鼠伤寒沙门氏菌^[41]。同时, 使用发夹探针、G-四链体脱氧核酶 (DNAzyme) 和 DNA-AgNCs 进行光诱导电子转移 (PET) 的循环指数扩增, 也成功检测出了鼠伤寒沙门氏菌, 检测限为 $8\ \text{CFU/mL}$ ^[42]。此外, Zheng 等提出了一种新型的由磁性纳米粒子-脱氧核酶-乙酰胆碱酯酶 (MNP-DNAzyme-AChE) 复合集成的 DNA-AgNCs 传感系统, 用于检测大肠杆菌, 获得超灵敏检测限^[43]。这些方法都可以被进一步开发成潜在的通用系统识别探针。

上文提到的检测方法大多使用适配体作为识别原件, 此外还可以在传统的方法上进一步创新设计出新方法, 比如使用荧光免疫分析法来进行检测。一种基于夹心复合状 DNA-AgNCs 荧光淬灭的新型 ELISA 已经开发用于检测大肠杆菌 O157:H7^[44], 这种新型的 ELISA 方法与传统 ELISA 相比, 灵敏度提高了 30 倍。

3 银纳米簇 (AgNCs) 的抗菌性能

微生物污染会缩短食品的保质期, 增加食源性疾病的风险。消除食品供应中微生物污染的一种方法是开发抗菌食品包装系统和涂料, 其中加入抗菌剂, 可与包装中的食品或顶部空间相互作用, 延长食品的保质期, 提高食品安全性, 同时不影响食品质量^[45]。一些研究表明, AgNPs 的抗菌活性取决于其大小、形状、表面电荷和表面涂层, 不同尺寸的 AgNPs 表现出不同的抗菌性能^[46]。据报道 $2\sim 3\ \text{nm}$ 的 AgNCs 比 AgNPs 具有更高的抗菌活性。

2017 年, Mei 等首次将 AgNCs (直径约 $2\ \text{nm}$) 加入到广泛用作食品包装材料的玉米醇溶蛋白薄膜中, 开发出了一种新型涂层材料, 具有强大的抗菌活性, 对人体细胞毒性低, 且绿色环保^[26]。实验表明, AgNCs 对大肠杆菌 O157:H7 的半抑制浓度 (IC_{50}) 为 $34.68\ \mu\text{g/mL}$, 这远远大于 AgNPs 的 IC_{50} (图 6)。

Wu 课题组研究出一种超小型 RF@AgNCs, 可以有效地杀死或抑制革兰氏阳性金黄色葡萄球菌、革兰氏阴性大肠杆菌和真菌白色念珠菌的生长^[27] (见图 7)。还有研究发现, 与单独的 DNA-AgNCs 相比, 三聚氰胺 (Melamine) 改性过的 DNA-AgNCs 复合物 (Mel-DNA-AgNCs) 不仅提高了荧光效率和稳定性, 而且显示出了对抗革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌的活性^[47]。此外, 可以将杀菌剂整合到 AgNCs 中, 例如将达托霉素 (Daptomycin) 与 AgNCs 结合制备成有效的抗微生物杂交体 (D-AgNCs), 可以有效地破坏细菌膜; 此外, 局部 AgNCs 可产生活性氧 (ROS), 氧化细菌脂质双层, 进一步加剧细胞膜损伤, 实现对细菌的高杀伤作用^[48]。另一种杀菌剂杆菌肽 (Bacitracin) 也被应用于抗菌 AgNCs 的制备中, 这种 AgNCs@Bacitracin 同样对细菌膜造成了严重损害, 表现出强大的杀菌效率^[28]。已有研究表明模板 DNA 序列的改变会影响 AgNCs 的发射颜色, 因此将其用于传感器的设计中。Javani 等测试了 9 种具有不同序列和长度的 DNA 为模板合成的 AgNCs 后, 发现抗菌活性取决于所用 DNA 的序列, 其中蓝色发射体产生的抗菌活性较差, 而黄色和红色发射体则具有与 AgNO₃ 相似的活性^[49]。这一发现极大地拓宽了对 AgNCs 的认知与启发。设计不同的 DNA 序列可以开

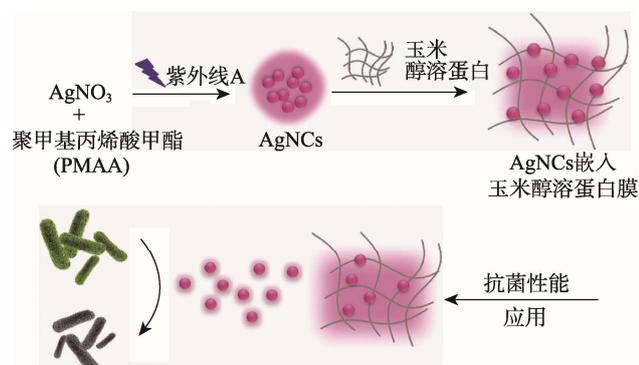


图 6 AgNCs 的抗菌活性示意

Fig.6 Schematic diagram of antibacterial activity of AgNCs

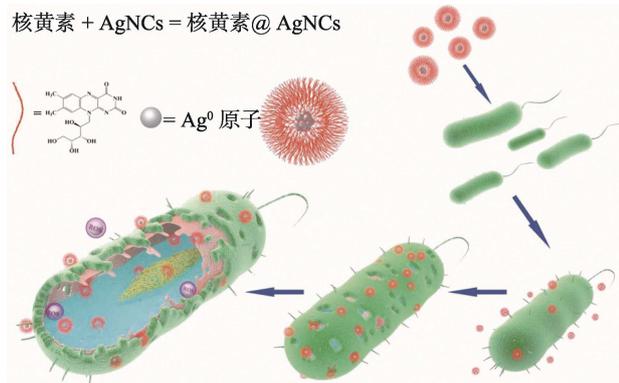


图 7 RF@AgNCs 的合成和抗菌活性示意

Fig.7 Schematic diagram of the synthesis and antibacterial activity of RF@AgNCs

发出具有更广阔抗菌性能的 AgNCs, 是未来的研究方向。

AgNCs 作为荧光材料虽已经被广泛应用, 但其强大的抗菌性能才刚被发现并研究, 不同 AgNCs 对不同菌株的抗菌机制存在差异。AgNCs 主要通过破坏外部细胞膜并渗透到细胞内释放 Ag⁺ 来抑制大肠杆菌 DH5 α 的生长, 然而, 对于大肠杆菌 DSM 4230, AgNCs 主要通过扩散到其细胞中, 抑制其呼吸链来抑制细胞的生长^[50]。这表明, 在未来的研究中应考虑不同的细菌菌株, 类似工作有助于进一步设计不同尺寸的新型抗菌银纳米材料。

4 结语

AgNCs 作为一种新型的荧光纳米材料虽具有显著的优点, 但也有需要克服的缺点, 其稳定性是目前该研究领域亟待解决的问题。虽然, 已经用单链 DNA 合成出较稳定的 AgNCs, 将保质期延长到 1 年^[51], 但仍然不具有普遍性, 因此, 延长 AgNCs 保质期是未来研究的重点也是难点。可尝试通过添加光稳定剂或氧清除剂类似物以增强 DNA-AgNCs 的保质期。此外, 可以开发对光漂白更稳定的 DNA 模板化金属类似物, 例如金纳米簇、金/银复合纳米簇或者铜/银复合纳米团簇, 以此进一步扩展纳米团簇的荧光团库。

此外, 目前运用于检测领域的 AgNCs 荧光团主要是利用其单一发射颜色, 通过荧光发射强弱来进行信号输出, 这样的方法虽有很多优点, 但其不稳定性产生的系统误差也影响检测的灵敏性。AgNCs 的发射波长由于 DNA 序列与结构以及反应环境的影响而发生变化, 因而产生不同的荧光颜色, 利用这一点可以设计不同颜色的荧光比率探针进行检测, 极大地增加其灵敏性, 降低检测限, 扩大检测范围。此外, 这种不同颜色的荧光合成使得荧光编码以及多通量检测成为可能。

AgNCs 的抗菌性能正在被开发应用, 目前还处于初级阶段, 很多潜在的价值还有待开发。如提出了将 AgNCs 荧光生物传感器与具有抗菌性的 AgNCs 结合, 设计成兼具检测与抗菌性能的涂层, 为新型食品包装的设计以及食品包装安全评估奠定了扎实的技术基础。

参考文献:

- [1] IVANOVA A S, MERKULEVA A D, ANDREEV S V, et al. Method for Determination of Hydrogen Peroxide in Adulterated Milk Using High Performance Liquid Chromatography[J]. Food Chemistry, 2019, 283: 431—436.
- [2] 刘彬, 刘云虎. 食品塑料包装中 18 种多环芳烃的气相色谱-质谱联用检测方法研究[J]. 食品科技, 2018,

- 43(6): 317—321.
- LIU Bin, LIU Yun-hu. Determination of 18 Kinds of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food Plastic Packaging[J]. *Food Science and Technology*, 2018, 43(6): 317—321.
- [3] BIEDERMANN M, GROB K. Advantages of Comprehensive Two-dimensional Gas Chromatography for Comprehensive Analysis of Potential Migrants from Food Contact Materials[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2019, 1057: 11—17.
- [4] 南洋, 杜悦, 李长兴. 气相色谱-质谱法测定食品包装材料中的 VOCs[J]. *包装工程*, 2018, 39(1): 58—63.
- NAN Yang, DU Yue, LI Chang-xing. Determination of VOCs in Food Packaging Materials by GC-MS[J]. *Packaging Engineering*, 2018, 39(1): 58—63.
- [5] ZIYAINA M, RASCO B, COFFEY T, et al. Colorimetric Detection of Volatile Organic Compounds for Shelf-life Monitoring of Milk[J]. *Food Control*, 2019, 100: 220—226.
- [6] ZHANG X, QIAN Y, MA X, et al. Thiolated DNA-templated Silver Nanoclusters with Strong Fluorescence Emission and a Long Shelf-life[J]. *Nanoscale*, 2017, 10(1): 1—3.
- [7] XU J, WEI C. The Aptamer DNA-templated Fluorescence Silver Nanoclusters: ATP Detection and Preliminary Mechanism Investigation[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2017, 87: 422—427.
- [8] DAY H A, HUGUIN C, WALLER Z A E. Silver Cations Fold I-motif at Neutral pH[J]. *Chemical Communications*, 2013, 49(70): 7696—7698.
- [9] CAO Y, DAI Y H, CHEN H, et al. Integration of Fluorescence Imaging and Electrochemical Biosensing for Both Qualitative Location and Quantitative Detection of Cancer Cells[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2019, 130: 132—138.
- [10] CHEN T T, CHEN Q Y, LIU M Y. GAG-containing Nucleotides as Mediators of DNA-silver Clusters and Iron-DNA Interplay[J]. *Chinese Chemical Letters*, 2016, 27(3): 395—398.
- [11] ZHANG J, LIU Y, ZHI X, et al. DNA-templated Silver Nanoclusters Locate MicroRNAs in the Nuclei of Gastric Cancer Cells[J]. *Nanoscale*, 2018, 10(23): 11079—11090.
- [12] COPP S M, SCHULTZ D, SWASEY S, et al. Magic Numbers in DNA-stabilized Fluorescent Silver Clusters Lead to Magic Colors[J]. *Journal of Physical Chemistry Letters*, 2014, 5(6): 959—963.
- [13] NEW S Y, LEE S T, SU X D. DNA-templated Silver Nanoclusters: Structural Correlation and Fluorescence Modulation[J]. *Nanoscale*, 2016, 8(41): 17729—17746.
- [14] HSU H C, HO M C, WANG K H, et al. DNA Stabilized Silver Nanoclusters as the Fluorescent Probe for Studying the Structural Fluctuations and the Solvation Dynamics of Human Telomeric DNA[J]. *New Journal of Chemistry*, 2015, 39(3): 2140—2145.
- [15] SHAH P, CHOI S W, NAGDA R, et al. The Structural Shift of a DNA Template Between a Hairpin and a Dimer Tunes the Emission Color of DNA-templated AgNCs[J]. *Nanoscale*, 2018, 10(44): 20717—20722.
- [16] ZHOU W J, ZHU J B, FAN D Q, et al. A Multicolor Chameleon DNA-templated Silver Nanocluster and Its Application for Ratiometric Fluorescence Target Detection with Exponential Signal Response[J]. *Advanced Functional Materials*, 2017, 27(46): 1704092.
- [17] LATORRE A, SOMOZA A. DNA-mediated Silver Nanoclusters: Synthesis, Properties and Applications[J]. *ChemBiochem*, 2012, 13(7): 951—958.
- [18] LI J J, YOU J, ZHUANG Y P, et al. A "Light-up" and "Spectrum-Shift" Response of Aptamer-functionalized Silver Nanoclusters for Intracellular mRNA Imaging[J]. *Chemical Communications*, 2014, 50(54): 7107—7110.
- [19] MORISHITA K, MACLEAN J L, LIU B, et al. Correlation of Photobleaching, Oxidation and Metal Induced Fluorescence Quenching of DNA-templated Silver Nanoclusters[J]. *Nanoscale*, 2013, 5(7): 2840—2849.
- [20] MARKESEVIC N, OEMRAWSINGH S S R, SCHULTZ D, et al. Polarization Resolved Measurements of Individual DNA-stabilized Silver Clusters[J]. *Advanced Optical Materials*, 2014, 2(8): 765—770.
- [21] NEIDIG M L, SHARMA J, YEH H C, et al. Ag K-edge EXAFS Analysis of DNA-templated Fluorescent Silver Nanoclusters: Insight into the Structural Origins of Emission Tuning by DNA Sequence Variations[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2011, 133(31): 11837—11839.
- [22] GUO Y, SHEN F, CHENG Y, et al. Light up the Fluorescence of AgNCs in a "DNA Bulb"[J]. *Nanoscale*, 2018, 10(24): 1—3.
- [23] LI J, JIA X, LI D, et al. Stem-directed Growth of Highly Fluorescent Silver Nanoclusters for Versatile Logic Devices[J]. *Nanoscale*, 2013, 5(13): 6131—6138.
- [24] MA K, SHAO Y, CUI Q H, et al. Base-stacking-determined Fluorescence Emission of DNA Abasic Site-templated Silver Nanoclusters[J]. *Langmuir*, 2012, 28(43): 15313—15322.
- [25] LIU J W. DNA-stabilized, Fluorescent, Metal Nanoclusters for Biosensor Development[J]. *Trends in Analytical Chemistry*, 2014, 58: 99—111.
- [26] MEI L, TENG Z, ZHU G, et al. Silver Nanocluster-embedded Zein Films as Antimicrobial Coating Materials for Food Packaging[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2017, 9(40): 35297—35304.
- [27] LI X Z, FU T, LI B Y, et al. Riboflavin-protected Ultrasmall Silver Nanoclusters with Enhanced Antibacterial Activity and the Mechanisms[J]. *Rsc Advances*, 2019, 9(23): 13275—13282.
- [28] WANG S S, WANG Y Y, PENG Y, et al. Exploring the Antibacteria Performance of Multicolor Ag, Au and Cu

- Nanoclusters[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2019, 11(8): 8461—8469.
- [29] CHEN J H, ZHANG X, CAI S X, et al. A Fluorescent Aptasensor Based on DNA-scaffolded Silver-nanocluster for Ochratoxin a Detection[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2014, 57: 226—231.
- [30] ZHANG M, WANG Y, YUAN S, et al. Competitive Fluorometric Assay for the Food Toxin T-2 by Using DNA-modified Silver Nanoclusters, Aptamer-modified Magnetic Beads, and Exponential Isothermal Amplification[J]. *Microchimica Acta*, 2019, 186(4): 186—219.
- [31] KHAN I M, ZHAO S, NIAZI S, et al. Silver Nanoclusters Based FRET Aptasensor for Sensitive and Selective Fluorescent Detection of T-2 Toxin[J]. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 2018, 277: 328—335.
- [32] ZHANG J, XIA Y K, CHEN M, et al. A Fluorescent Aptasensor Based on DNA-scaffolded Silver Nanoclusters Coupling with Zn(II)-Ion Signal-enhancement for Simultaneous Detection of OTA and AFB(1)[J]. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 2016, 235: 79—85.
- [33] 黄崇杏, 王志伟, 王双飞. 纸质食品包装材料中的残留污染物[J]. *包装工程*, 2007, 28(7): 12—15.
HUANG Chong-xing, WANG Zhi-wei, WANG Shuang-fei. Residual Contaminants in Paper Food Packaging Materials[J]. *Packaging Engineering*, 2007, 28(7): 12—15
- [34] 杨艳红, 姜兆兴, 赵敏. 浊点萃取技术-原子光谱法在食品中金属元素检测中的应用[J]. *食品安全质量检测学报*, 2014, 5(5): 1331—1339.
YANG Yan-hong, JIANG Zhao-xing, ZHAO Min. Application of Cloud Point Extraction-flame Atomic Absorption Spectroscopy on Determination of Metal Elements in Food[J]. 2014, 5(5): 1331—1339.
- [35] MACLEAN J L, MORISHITA K, LIU J W. DNA Stabilized Silver Nanoclusters for Ratiometric and Visual Detection of Hg²⁺ and Its Immobilization in Hydrogels[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2013, 48(31): 82—86.
- [36] XU M D, GAO Z Q, WEI Q H, et al. Label-free Hairpin DNA-scaffolded Silver Nanoclusters for Fluorescent Detection of Hg²⁺ Using Exonuclease III-assisted Target Recycling Amplification[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2016, 79: 411—415.
- [37] YIN J J, HE X X, JIA X K, et al. Highly Sensitive Label-free Fluorescent Detection of Hg²⁺ Ions by DNA Molecular Machine-based Ag Nanoclusters[J]. *Analyst*, 2013, 138(8): 2350—2356.
- [38] MA F F, LIANG S, PENG Y, et al. Copper Ion Detection Using Novel Silver Nanoclusters Stabilized with Amido Black 10B[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2016, 408(12): 3239—3246.
- [39] XU N, ZHU Q, KONG X Y, et al. A Sensitive Detection of Cr(VI) in Wide pH Range Using Polyethyleneimine Protected Silver Nanoclusters[J]. *Analytical Methods*, 2016, 8(28): 5684—5689.
- [40] WANG J, ZHANG Z Y, GAO X, et al. A Single Fluorophore Ratiometric Nanosensor Based on Dual-emission DNA-templated Silver Nanoclusters for Ultrasensitive and Selective Pb²⁺ Detection[J]. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 2019, 282: 712—718.
- [41] ZHANG P, LIU H, LI X, et al. A Label-free Fluorescent Direct Detection of Live Salmonella Typhimurium Using Cascade Triple Trigger Sequences-regenerated Strand Displacement Amplification and Hairpin Template-generated-scaffolded Silver Nanoclusters[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2017, 87: 1044—1049.
- [42] LENG X Q, WANG Y, LI R G, et al. Circular Exponential Amplification of Photoinduced Electron Transfer Using Hairpin Probes, G-quadruplex DNAzyme and Silver Nanocluster-labeled DNA for Ultrasensitive Fluorometric Determination of Pathogenic Bacteria[J]. *Microchimica Acta*, 2018, 185(3): 168—176.
- [43] ZHENG L B, QI P, ZHANG D. DNA-templated Fluorescent Silver Nanoclusters for Sensitive Detection of Pathogenic Bacteria Based on MNP-DNAzyme-AChE Complex[J]. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 2018, 276: 42—47.
- [44] WANG C, XING K, ZHANG G G, et al. Novel ELISA Based on Fluorescent Quenching of DNA-stabilized Silver Nanoclusters for Detecting E. coli O157: H7[J]. *Food Chemistry*, 2019, 281: 91—96.
- [45] KIM Y T, KIM K, HAN J H, et al. Smart Packaging Technologies for Fast Moving Consumer Goods[J]. *Innovations in Food Packaging*, 2008, 6: 325—340.
- [46] LONG Y M, HU L G, YAN X T, et al. Surface Ligand Controls Silver Ion Release of Nanosilver and Its Antibacterial Activity Against Escherichia Coli[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2017, 12: 3193—3206.
- [47] EUN H, KWON W Y, KALIMUTHU K, et al. Melamine-promoted Formation of Bright and Stable DNA-silver[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2019, 7(15): 2512—2517.
- [48] ZHENG K Y, SETYAWATI M I, LIM T P, et al. Antimicrobial Cluster Bombs: Silver Nanoclusters Packed with Daptomycin[J]. *ACS Nano*, 2016, 10(8): 7934—7942.
- [49] JAVANI S, LORCA R, LATORRE A, et al. Antibacterial Activity of DNA-stabilized Silver Nanoclusters Tuned by Oligonucleotide Sequence[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2016, 8(16): 10147—10154.
- [50] JIN J C, WU X J, XU J, et al. Ultrasmall Silver Nanoclusters: Highly Efficient Antibacterial Activity and Their Mechanisms[J]. *Biomaterials Science*, 2017, 5(2): 247—257.
- [51] HUANG Z Z, REN J S, YANG W S, et al. Molecular Crowding-facilitated Synthesis of DNA-templated Ag Nanoclusters with Enhanced Fluorescence Emission and Quantum Yield[J]. *Chemical Communications*, 2013, 49(92): 10856—10858.