

## 适配体传感法快速测定啤酒中赭曲霉毒素 A

易守军, 何盼, 欧宝立, 张敏, 夏晓东, 唐春然, 曾云龙\*

湖南科技大学材料科学与工程学院, 湖南科技大学化学化工学院,  
理论有机和功能分子教育部重点实验室, 湖南湘潭 411201

**摘要** 应用自组装方式, 构建了金纳米粒子/核酸适配体/氨基碳量子点荧光传感赭曲霉毒素 A 高灵敏检测方法。在 pH 3.0 酒石酸-HCl 缓冲溶液中, 巯基修饰的赭曲霉毒素 A 核酸适配体在金纳米粒子表面自组装, 形成金纳米粒子/核酸适配体复合物, 再在 pH 7.0 的磷酸盐缓冲溶液中, 氨基碳量子点在金纳米粒子/核酸适配体复合物上自组装, 形成金纳米粒子/核酸适配体/氨基碳量子点复合物荧光传感检测体系。金纳米粒子的摩尔吸光系数大、能带宽使其具有强烈的荧光猝灭功能, 氨基碳量子点形成金纳米粒子/核酸适配体/氨基碳量子点后发生荧光猝灭, 此时体系的荧光为背景荧光, 其强度记为  $F_0$ ; 由于金纳米粒子/核酸适配体/氨基碳量子点复合物荧光传感检测体系中核酸适配体对赭曲霉毒素 A 具有特异性识别与结合功能, 向金纳米粒子/核酸适配体/氨基碳量子点复合物荧光传感检测体系溶液中加入赭曲霉毒素 A 后, 赭曲霉毒素 A 则与复合物中核酸适配体立即发生特异性结合并释放出氨基碳量子点, 体系荧光恢复, 其荧光强度记为  $F$ 。依据体系荧光强度的变化( $F-F_0$ )与赭曲霉毒素 A 浓度之间的关系, 建立赭曲霉毒素 A 核酸适配体荧光传感检测方法。研究了金纳米粒子和核酸适配体摩尔比、孵化时间、pH 等因素对传感器性能的影响, 确定了最优条件为金纳米粒子:核酸适配体  $t$  为 1:190、孵化时间为 6 min、pH 7.0 时; 在最优条件下, 赭曲霉毒素 A 浓度在 0.005~1.00  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  范围与体系荧光强度变化呈良好线性关系, 线性回归方程为:  $F-F_0=6.499+211.6c$  ( $c$  为赭曲霉毒素 A 的浓度, 单位:  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), 相关系数  $r$  为 0.995 5, 按 3 倍标准差与工作曲线的斜率的比值 ( $3\sigma/k$ ) 计算, 得检测限为 3  $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。在实际样品中的回收率在 93.3%~108.9%, 相对标准偏差小于 5%, 能满足啤酒样品中赭曲霉毒素 A 快速检测要求。对 13 个市售啤酒样品进行检测, 其中 6 个样品检出赭曲霉毒素 A, 污染率为 46.15%。受污染样品的赭曲霉毒素 A 含量在 0.008~0.63  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  范围。该荧光传感法检测赭曲霉毒素 A 具有灵敏性好、特异性高、常见真菌毒素无干扰、方法简单、快速, 便于大众化推广应用的优点。

**关键词** 核酸适配体传感; 荧光探针; 啤酒; 赭曲霉毒素 A; 痕量检测

**中图分类号:** O611.4 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2019)07-2283-05

## 引言

量子点具有优异的荧光特性, 常见的如 CdTe 和 CdSe 等镉系量子点<sup>[1]</sup>。镉系量子点具有半峰宽窄、荧光量子效率高, 最大发射峰可调控等突出优点, 在环境科学、分析化学、化学生物传感、成像等诸多领域得到广泛应用<sup>[2]</sup>; 但该量子点制备成本高、前体原料来源有限、具有生物和环境毒性、应用时存在二次污染的风险<sup>[3]</sup>, 因此开发和应用新型量子点一直是研究的热点。碳量子点是近年来开发应用的新型

量子点之一。碳量子点具有制备方法简单、成本低廉、环境友好、生物兼容性好、碳源丰富等的优点, 其应用研究引起人们的广泛关注<sup>[4]</sup>。由于碳量子点的表面电荷改变或发生能量转移等可引起其荧光强度变化; 碳量子点的这一特性, 已被成功地应用于构建荧光传感器<sup>[5-7]</sup>, 其优良性能在环境毒害物质检测、食品药品安全监测等领域具有应用潜力。

核酸适配体具有高特异性。与酶、抗原/抗体相比, 核酸适配体具有稳定性好、制备简单、成本低廉等特点, 广泛应用于环境监测、疾病诊断和食品药品安全监测<sup>[8]</sup>。核酸适配体本身光电信号弱, 在实际应用中, 需要通过适当方法进行信号放

收稿日期: 2018-05-08, 修订日期: 2018-10-10

基金项目: 国家自然科学基金项目(21475040), 湖南省教育厅资助项目(11C0528)资助

作者简介: 易守军, 1973 年生, 湖南科技大学材料科学与工程学院讲师 e-mail: tyishj@163.com

\* 通讯联系人 e-mail: yunlongzeng1955@126.com

大。目前主要有聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 扩增法、荧光材料标记法等<sup>[9]</sup>建立的荧光传感等检测方法。PCR 扩增法通常嵌入荧光染料或探针实现信号放大, 荧光染料嵌入法伴随非特异性嵌入, 影响方法的正确性, 而探针法价格昂贵。荧光材料标记法通常采用荧光素或发光纳米粒子对核酸适体进行标记, 而对其互补链修饰猝灭物质 (如金纳米粒子等), 两者结合形成发夹型, 发光荧光物质与荧光猝灭物质靠近, 荧光猝灭, 当待分析组分存在时, 待分析组分选择性地与核酸适体作用, 发夹打开而恢复荧光。该法存在核酸适体修饰价格高昂、分析程序较为复杂、技术要求高、检测成本高等不足, 不易大众化推广应用。

啤酒通常用麦芽等发酵制备。生产麦芽的原料大麦等通常易受赭曲霉、纯绿青霉等真菌污染, 它们的代谢产物赭曲霉毒素 A (OTA) 具有致癌致畸和强的肝肾毒性; 这些真菌毒素在麦芽生产、发酵过程中还可继续生长造成进一步污染。啤酒中广泛存在 OTA 污染问题, 李楠等<sup>[10]</sup>调查了国产 11 个品牌 79 个啤酒样品, 其中 38 个啤酒样品受到 OTA 污染, 污染率为 48.1%。OTA 很稳定, 在人体中半衰期为 35.5 d。人们通过饮用啤酒, 使 OTA 进入人体, 并产生累积效应, 对人体造成持续毒害作用。啤酒是一种大众喜爱饮料。尤其在夏天, 一些人每天要喝数升啤酒, OTA 对人体产生的影响不可忽视。然而, 我国有关啤酒中 OTA 检测的文献很少。目前食品药品中痕量 OTA 检测方法主要有色谱法和酶联免疫法<sup>[11-12]</sup>等。酶联免疫法价格高; 色-质联用仪器设备昂贵、技术要求高、需专门技术人员才能胜任。因此, 建立简单、快速、灵敏的啤酒中 OTA 测定方法对食品安全和保障人们身体健康具有重要意义。本工作拟结合核酸适体的高特异性和碳量子点的优异荧光特性, 在金纳米粒子表面进行自组装, 建立简单、快速、灵敏度高的啤酒中 OTA 传感检测新方法。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器和试剂

巯基-OTA 核酸适体 (Apt) 序列<sup>[8]</sup>: HS-AAAAAA-GATCGGGTGTGGGTGG CGTAAAGGGAGCATCGGACA (生工生物工程 (上海) 股份有限公司); 赭曲霉毒素 A (OTA)、赭曲霉毒素 B (OTB)、黄曲霉毒素 B1 (AFB1)、脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (DON)、玉米赤霉烯酮 (ZEN) (北京华安麦科生物技术有限公司); 葡萄糖、乙二醇、磷酸二氢钠、磷酸氢二钾、三(2-羧基乙基)膦酸盐 (TCEP) (上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 其他试剂均为分析纯。实验用水为二次蒸馏水。

金纳米粒子按文献<sup>[8]</sup>制备, 其浓度按文献<sup>[13]</sup>方法测定为  $2.7 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

RF-5301PC 荧光分光光度计 (日本岛津公司)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 N-CQDs 制备

氨基碳量子点按文献<sup>[6]</sup>方法并略做适当修改合成, 即取  $0.25 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  柠檬酸 25 mL 置于水热反应釜中, 在 200

℃ 下反应 5 h, 离心、取离心液 15 mL 置于 50 mL 圆底烧瓶中, 再加入 1.2 mL 乙二醇, 超声 5 min, 然后在 200 ℃ 下恒温反应 5 h, 冷却至室温, 过滤, 即得到氨基修饰的碳量子点 (N-CQDs), 按柠檬酸 (碳源) 计, 浓度为  $18 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

#### 1.2.2 核酸适体传感体系构建

巯基修饰的核酸适体在金纳米粒子进行表面自组装按文献<sup>[14]</sup>方法进行。取  $0.52 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  巯基修饰的 Apt 与  $2.60 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  TCEP 混合均匀, 反应 1 h 后, 加入  $2.6 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  AuNPs, 混匀, 再加入 pH 5.0 的  $500 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  酒石酸-HCl 缓冲溶液, 孵化 30 min, 转至  $12\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 20 min, 弃去离心液, 再用 pH 7.5 的  $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  PBS 溶液冲洗, 离心并弃去离心液, 如此三次, 制得 AuNPs/Apt, 将其分散于水中, 4 ℃ 下储存备用。

将 AuNPs/Apt 与一定比例 N-CQDs 在磷酸缓冲溶液 (phosphate buffer solution, PBS) (pH 7.5,  $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 溶液中混匀, N-CQDs 在 AuNPs/Apt 表面组装, 即得核酸适体传感敏感体系。

#### 1.2.3 OTA 分析程序

取核酸适体传感体系溶液 200  $\mu\text{L}$ , 加入不同浓度的 OTA ( $0 \sim 2.0 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 标准溶液 10  $\mu\text{L}$ , 加入 PBS 溶液 290  $\mu\text{L}$  调节至孵化 6 min, 测其溶液的荧光强度, 记为  $F$ 。以  $F - F_0$  对 OTA 浓度作图, 得到  $F - F_0$  与 OTA 浓度的关系, 进而进行 OTA 测定。取传感体系溶液, 分别依次真菌毒素 (OTA, AFB1, DON, OTB 和 ZEN), 用 PBS 溶液稀释, 孵化, 进行特异性试验。光谱测定均在室温下 pH 7.5 PBS 溶液中进行。

#### 1.2.4 啤酒中 OTA 分析

取啤酒样品 50 mL, 超声 10 min 去除气泡, 准确量取 2.0 mL 啤酒置于 5.0 mL 容量瓶中, 用 PBS 溶液 (pH 7.5) 稀释至刻度, 摇匀, 即得啤酒试样溶液备用。

取啤酒试样溶液 10  $\mu\text{L}$ , 核酸适体传感体系溶液 200  $\mu\text{L}$ , PBS 溶液 290  $\mu\text{L}$  摇匀, 孵化 6 min 后, 测定其荧光强度, 确定啤酒中 OTA 含量。

## 2 结果与讨论

### 2.1 方法原理

AuNPs 具有强烈的荧光猝灭功能<sup>[15]</sup>。在传感体系中, AuNPs/Apt/N-CQDs 荧光猝灭; 向传感体系溶液中加入 OTA 时, 复合物中 Apt 与 OTA 反应特异性生成 Apt-OTA 复合物并释放出 N-CQDs, 体系荧光恢复。根据 OTA 的浓度与体系的荧光恢复程度之间的关系, 测定啤酒中 OTA 残留量, 其原理如图 1 所示。

### 2.2 核酸适体用量的影响

研究了 Apt 与 AuNPs 的摩尔比对 N-CQDs 荧光猝灭的影响, 结果见图 2。Apt 为 AuNPs 的 100~220 倍时, 荧光猝灭随 Apt 的增大而增强, 200 倍时荧光最强, 然后随 Apt 用量增大而减弱。向荧光猝灭了的体系中加入 OTA, 体系荧光恢复变化情况与猝灭情况类似, 100~200 倍范围, 随 Apt 的增大, 荧光恢复程度增强, 200 倍时达到最大值, 随后又降

低。基于 Apt 用量是 AuNPs 200 倍时,体系的荧光猝灭和恢复都达到最大,故在后续试验中,控制 Apt 的用量为 AuNPs 200 倍。

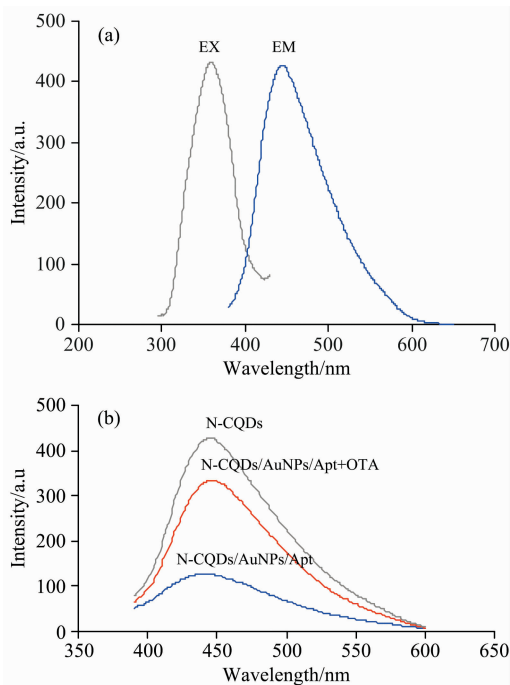


图 1 (a) N-碳量子点的荧光激发和发射光谱和 (b)核酸适体荧光传感原理

Fig. 1 (a) Exiting and emission fluorescence spectra of N-Carbon quantum dots and (b) the mechanical of fluorescence quenched and recovered of the aptasensors

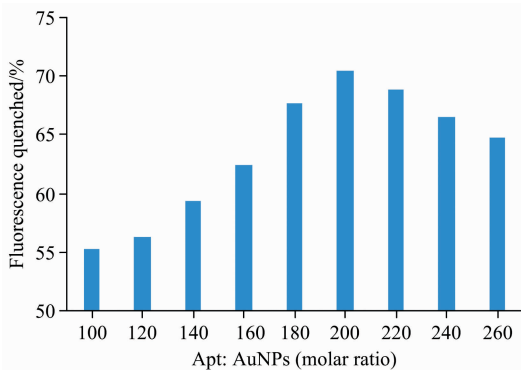


图 2 核酸适体与金纳米粒子摩尔用量比对体系荧光猝灭的影响

Fig. 2 Influence of the molar ratio between aptamer and Au nanoparticles on fluorescence quenched of the system

### 2.3 pH 的影响

图 3 是体系荧光强度随 pH 影响曲线。pH 5.0~7.0 时,荧光强度随 pH 升高而显著增强,到 pH 7.5 时达到最大值,之后随 pH 的增大而逐渐降低,当大于 pH 9.0 时显著下降。这主要是 N-CQDs 对  $H^+$  离子敏感。在酸性条件下,量子点表面氨基接受质子,引起荧光猝灭;碱性条件下,量子点表

面氨基形成氢键团聚,也引起荧光猝灭。pH 7.0 时有最大荧光恢复,故后续试验在 pH 7.5 缓冲溶液中进行。

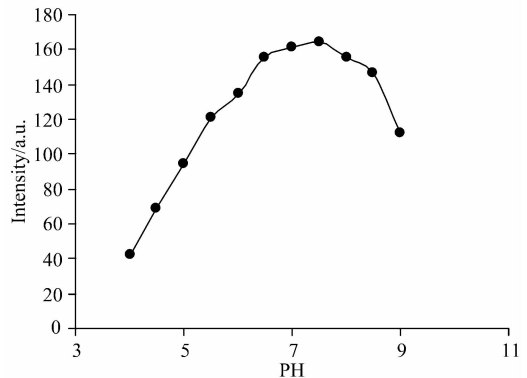


图 3 pH 对体系荧光强度的影响

Fig. 3 Influence of pH on fluorescence intensity of the system

### 2.4 孵化时间的影响

在室温下,考察了孵化时间对荧光恢复的影响。结果如图 4 所示。

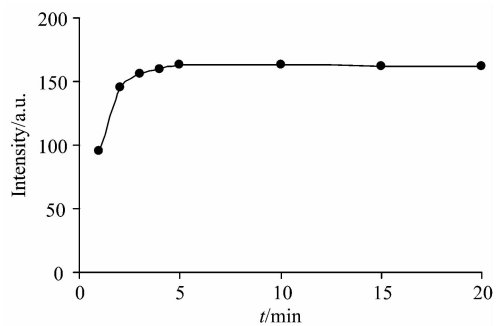


图 4 孵化时间对体系荧光的影响

Fig. 4 Influence of incubation time on fluorescence intensity of the system

从图 4 可见,孵化时间 5 min,体系荧光迅速恢复;继续延迟孵化时间,体系荧光强度不再变化,且稳定 1 h,故选择孵化时间为 6 min。说明 OTA 迅速与复合物中 Apt 结合并释放出 N-CQDs。因此,可以实现样品中 OTA 的快速测定。

NaCl 用量试验表明,其浓度小于  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,对体系荧光强度变化无明显影响。

### 2.5 传感方法的特异性

图 5 是传感体系特异性试验结果。该核酸适体传感对 OTA 呈现高特异性,其他真菌毒素对 OTA 测定无明显干扰。

### 2.6 工作曲线

取 AuNPs/Apt/N-CQDs 分散液适量,用 PBS 溶液稀释至 2 mL,测定体系的荧光强度,记为  $F_0$ ;再加入不同浓度的 OTA 标准溶液,孵化 6 min,测定其荧光,记为  $F$ ;体系荧光恢复程度为  $F-F_0$ 。试验结果如图 6 所示,体系的荧光强度随着 OTA 的浓度增大而增强;体系的荧光恢复程度  $F-F_0$  与 OTA 浓度在  $0.003 \sim 0.80 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  范围内呈现出良好的线性关系,其线性回归方程为  $F-F_0 = 6.499 + 211.6 c$  ( $c$  为

OTA 的浓度, 单位:  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), 相关系数  $r$  为 0.995 5, 方法检出限 ( $3\sigma/k$ ) 为  $3 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

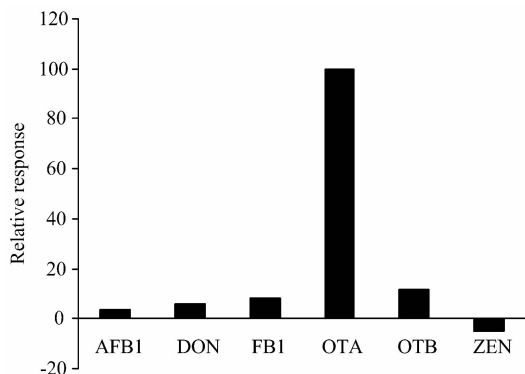


图 5 核酸适体传感分析的选择性, OTA 为  $1.0 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 其余真菌毒素浓度为  $10 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$

Fig. 5 Selectivity of the aptasensor assay, concentration of OTA:  $1.0 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ , others:  $10.0 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$

## 2.7 啤酒中 OTA 测定

用所建立的核酸适体传感方法, 对市售啤酒中的 OTA 检测, 结果如表 1 所示。

在所测 13 个啤酒样品中, 有 6 个检测到 OTA。受到 OTA 污染的啤酒样品 OTA 浓度范围为  $0.008 \sim 0.63 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 检测结果见表 1。在啤酒样品中的回收率在  $93.3\% \sim 108.9\%$ , 标准偏差小于 5.0, 表明该传感体系能适用于啤酒中残留 OTA 检测。

表 1 啤酒样品中 OTA 的检测结果

Table 1 Detection of OTA in Beers samples ( $n=3$ )

Beer samples No.	funded $/(\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1})$	Added $/(\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1})$	Detection $/(\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1})$	Recovery $/\%$	Relative standard deviations $/\%$
1	0.000	0.045	0.049	108.9	3.5
2	0.470	0.450	0.900	95.6	2.8
3	0.055	0.150	0.157	103.3	2.6
4	0.086	0.150	0.240	102.6	3.4
5	0.008	0.015	0.024	106.7	3.1
6	0.630	0.450	1.050	93.3	4.9
7	0.150	0.150	0.295	96.7	3.5

## 3 结 论

应用 N-CQDs 在 AuNPs/Apt/N-CQDs 复合物中荧光猝灭, OTA 与 AuNPs/Apt/N-CQDs 复合物中 Apt 结合释放出 N-CQDs 而荧光恢复的特性, 建立了核酸适体荧光传感快速

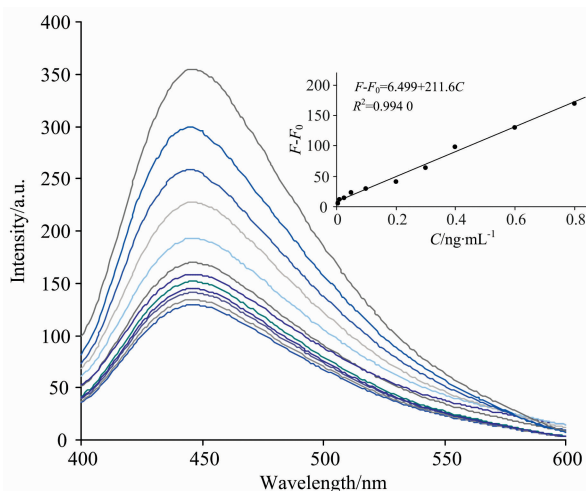


图 6 体系的荧光强度随 OTA 浓度 ( $0, 0.005, 0.010, 0.025, 0.050, 0.10, 0.20, 0.30, 0.40, 0.60, 0.80$  和  $1.0 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 的变化情况; 插图:  $F-F_0$  与 OTA 的浓度在  $0.005 \sim 1.0 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  范围内呈良好的线性关系

Fig. 6 The dependence of FL intensity on the concentration of OTA ( $0, 0.005, 0.010, 0.025, 0.050, 0.10, 0.20, 0.30, 0.40, 0.60, 0.80$  and  $1.0 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ); Inset shows the linear relationship between the  $F-F_0$  and OTA concentration within the range of  $0.005 \sim 1.0 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$

检测啤酒中赭曲霉毒素 A 的新方法。与传统方法比较, 该法具有选择性高、方法简单、灵敏、快速、无需样品处理等优点。在 13 个市售啤酒样品中, 6 个啤酒样品中存在不同程度的 OTA 污染, 其中, OTA 残留量最高的为  $0.63 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 未超过国家标准允许范围。方法回收率为  $93.3\% \sim 108.9\%$ 。标准偏差小于 5.0, 适合于啤酒样品中 OTA 分析。

## References

- [1] Foubert A, Beloglazova N V, Rajkovic A, et al. Tr. Anal. Chem., 2016, 83: 31.
- [2] Zhang N, Zhang L, Ruan Y F, et al. Biosens. Bioelectr., 2017, 94: 207.
- [3] Sharma V K, McDonald T J, Sohn M, et al. Chemosphere., 2017, 188: 403.
- [4] Das R, Bandyopadhyay R, Pramanik P. Mater Tod Chem., 2018, 8: 96.

- [ 5 ] Sun X C, Lei Y. Tr. Anal. Chem., 2017, 89: 163.
- [ 6 ] TIAN Rui-xue, WU Ling-ling, ZHAO Qing, et al(田瑞雪, 武玲玲, 赵清, 等). New Chemical Materials(化工新型材料), 2014, 42(1): 90.
- [ 7 ] LI Ling-ling, NI Gang, WANG Jia-nan, et al(李玲玲, 倪刚, 王嘉楠, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2016, 36(9): 2864.
- [ 8 ] Wang B, Zhu Q K, Liao D L, et al. J. Mater. Chem., 2011, 21: 4821.
- [ 9 ] Babu D, Muriana P M. Toxins, 2014, 16(12): 3223.
- [10] LI Nan, JIANG Tao, ZHANG Hong-yuan, et al(李楠, 江涛, 张宏元, 等). Chinese Journal of Food Hygiene(中国食品卫生杂志), 2010, 22(3): 272.
- [11] Mary T, Carol W, Carolyn O, et al. Journal of Aoac International, 2006, 89(3): 624.
- [12] Han Z, Zheng Y, Luan L, et al. J. Chromatography A, 2010, 1217(26): 4365.
- [13] Jin R C, Wu G S, Li Z, et al. J. Am. Chem. Soc., 2003, 125: 1643.
- [14] Zhang X, Servos M R, Liu J W. J. Am. Chem. Soc., 2012, 134: 7266.
- [15] Saha K, Agasti S S, Kim C Y, et al. Chem. Rev., 2012, 112: 2739.

## A Novel Aptasensors Assay for Fast Detection of Ochratoxin A in Beer

YI Shou-jun, HE Pan, OU Bao-li, ZHANG Min, XIA Xiao-dong, TANG Chun-ran, ZENG Yun-long\*

School of Materials Science and Engineering of Hunan University of Science and Technology, School of Chemistry and Chemical Engineering of Hunan University of Science and Technology, Key Laboratory of Theoretical Organic Chemistry and Functional Molecule, Ministry of Education, Xiangtan 411201, China

**Abstract** In this paper, a novel highly sensitive fluorescent aptasensor was constructed and used to detect ochratoxin A based on gold nanoparticles/aptamer/amino-functionalized carbon quantum dots by using self-assembly. Gold nanoparticles/aptamer/amino-functionalized carbon quantum dots were prepared as following. First, thiol-modified aptamer was attached to the surface of the gold nanoparticles in pH 3.0 tartaric acid-HCl buffer to form gold nanoparticles/aptamer by assembling. Second, amino-functionalized carbon quantum dots were added to the gold nanoparticles/aptamer dispersion to form gold nanoparticles/aptamer/amino-functionalized carbon quantum dots under electrostatic interactions in phosphate buffer solution (pH 7.0), by removing the excessive amino-functionalized carbon quantum dots with centrifugation. The fluorescence of the amino-functionalized carbon quantum dots was efficiently quenched by the gold nanoparticles, which are excellent quencher for fluorescence sensing as they have very high molar extinction coefficients and broad energy bandwidth. The fluorescent intensity of the quenched system was background fluorescence ( $F_0$ ). When ochratoxin A was addition to the fluorescence quenched system, the specific reaction between aptamer in the nanocomposites and ochratoxin A took place, simultaneously, amino-functionalized carbon quantum dots were released, and a turn on amino-functionalized carbon quantum dots fluorescence signal ( $F$ ) was detected. The emission intensity increase ( $F - F_0$ ) could be used for the quantification of the amount of ochratoxin A in samples. The influence facts on the sensor performance were investigated including the molar ratio of gold nanoparticles and Apt, pH and incubation time. The optimum conditions were gold nanoparticles : aptamer = 1 : 190 in molar ratio, pH 7.0 and incubation time was 6 minutes. Under the optimum conditions, a linear fluorescence signal response to ochratoxin A concentration was over a wide ochratoxin A concentration range of 0.005 ~ 1.00 ng · mL<sup>-1</sup>. The linear regression equation is:  $F - F_0 = 6.499 + 211.6 c$  (ng · mL<sup>-1</sup>), linear correlation coefficient is:  $r = 0.9955$  with a detection limit of 3 pg · mL<sup>-1</sup> according  $3\sigma/k$  ( $\sigma$ : relative standard deviations,  $k$ : slope of the working curve). The recovery was between 93.3% ~ 108.9% in real samples, and the relative standard deviation was less than 5%. The proposed method was employed to detect ochratoxin A in beer samples, the results showed that ochratoxin A was found in 6 of 13 beer samples, with a positive rate of 46.15%. The concentration of ochratoxin A was in the range of 0.008 ~ 0.63 ng · mL<sup>-1</sup>. The fluorescent aptasensor method used to detect ochratoxin A has the advantages of highly sensitive, highly specific, without interference of common mycotoxins, simple, very fast, convenient for popularization and application.

**Keywords** Aptasensors; Fluorescence probes; Beer; Ochratoxin A; Trace detection

\* Corresponding author

(Received May 8, 2018; accepted Oct. 10, 2018)