doi:10.11751/ISSN.1002 - 1280.2024.03.08

## 纳米金 - 核酸适配体可视化检测蜂蜜中 恩诺沙星的方法研究

刘占通1,张崇威1\*,文英会2,张雨樵2

(1.河南省农畜水产品检验技术研究院,郑州 450008;2.河南牧业经济学院,郑州 450046)

[收稿日期] 2023 - 03 - 21 [文献标识码] A [文章编号] 1002 - 1280 (2024) 03 - 0054 - 10 [中图分类号] S859.79

[摘 要] 建立纳米金-核酸适配体可视化检测蜂蜜中恩诺沙星的方法。首先利用还原法合成纳 米金(gold nanoparticles, AuNPs)颗粒,利用紫外分光光度计对实验原理进行验证,优化了实验条件, 建立了恩诺沙星浓度和特定波长下吸光度值之间的关系式。同时也验证了该方法的特异性。所得 线性回归方程在低浓度时为 y = 0.6377x + 0.89495, R<sup>2</sup> = 0.99026,方法检出限为 0.018 µg/mL;所得 线性回归方程在高浓度时为 y = 0.04428x + 0.95578, R<sup>2</sup> = 0.99812,方法检出限为 0.265 µg/mL;所得 法具有一定的特异性。对恩诺沙星实际样品测定的回收率为 95.5% ~ 97.8%,相对标准偏差小于 10%。方法操作方便简便,成本低,检测时间短,可用于畜产品中恩诺沙星快速定量检测。 [关键词] 恩诺沙星;纳米金;核酸适配体;快速检测

### Determination of Visual Detection of Enrofloxacin in Honey by Nano Gold Nanoparticles Nucleic Acid Aptamer

LIU Zhan - tong<sup>1</sup>, ZHANG Chong - wei<sup>1\*</sup>, WEN YiNG - hui<sup>2</sup>, ZHANG Yu - qiao<sup>2</sup>

(1. Henan Institute of Agricultural, Animal and Aquatic Products Inspection Technology, Zhengzhou 450008, China;
 2. Henan University of Animal Husbandry and Economy, Zhengzhou 450046, China)

Corresponding author: ZHANG Chong - wei, E - mail: zhang. wei4@163. com

Abstract: To establish a method for the visual detection of enrofloxacin in honey by nano – gold – nucleic acid aptamer. First, the reduction method was used to synthesize gold nanoparticles (AuNPs), and the experimental principle was verified by an ultraviolet spectrophotometer, the experimental conditions were optimized, and the relationship between the concentration of enrofloxacin and the absorbance value at a specific wavelength was established. At the same time, the specificity of the method was verified. The linear regression equation obtained at low concentration was y = 0.6377x + 0.89495,  $R^2 = 0.99026$ , and the detection limit of the method is 0.018  $\mu$ g/mL; At high concentration, the linear regression equation obtained was y = 0.04288x + 0.95578,  $R^2 = 0.99026$ 

通讯作者:张崇威。E-mail: zhang. wei4@163. com

0. 99812, and the detection limit of the method is 0. 265  $\mu$ g/mL. In addition to detecting enrofloxacin, the method has certain specificity. The recovery of actual samples of enrofloxacin was 95. 5% – 97. 8%, and the relative standard deviation (*RSD*) was less than 10%. The method was convenient and simple to operate, low cost, short detection time, and can be used for rapid quantitative detection of enrofloxacin in honey. **Key words**: Enrofloxacin; gold nanoparticles; nucleic acid aptamer; rapid detection

恩诺沙星是第三代喹诺酮类的抗菌药物,因其 抗菌谱广、抗菌活性强、毒性弱,价格低廉等原因, 被广泛应用于治疗畜禽疾病<sup>[1]</sup>。然而,由于长期不 规范或滥用药物等原因,造成动物性食品中恩诺沙 星残留问题频繁出现,也会产生细菌耐药性问 题<sup>[2]</sup>。恩诺沙星和它的代谢产物环丙沙星(CIP) 的代谢是非常缓慢的<sup>[3]</sup>,其在畜产品中的残留通过 食物链对人类健康和生态环境造成一定的危害<sup>[4]</sup>。 由于恩诺沙星残留具有一定的潜在危害。为满足 市场监管需要,保障食品安全,保护人类身体健康, 开发研究一些快速、准确、便捷的检测畜产品中恩 诺沙星残留的新方法很有必要。

近年来,食品中恩诺沙星检测方法主要有免疫 分析法<sup>[5]</sup>、微生物检测法<sup>[6,7]</sup>、大型仪器设备分析方 法等。免疫分析法、微生物检测法等方法存在周期 长、易受环境因素影响、易出现假阳性、标记修饰复 杂难以定向标记等不足。大型仪器分析法主要有 高效液相色谱法<sup>[8,9]</sup>、液相色谱 - 质谱联用法<sup>[10]</sup> 等,这些方法灵敏、准确,但有一定的局限性,如需 要昂贵的仪器设备,操作专业度高,前处理过程复 杂,耗时长,后期设备维修成本大等,在市场现场快 速检测、市场监管中难以广泛推广。

电化学生物传感器法<sup>[11,12]</sup>具有灵敏度高、检测 范围广、携带方便,不需要昂贵的仪器设备以及复 杂的前处理过程等特点广泛应用于畜产品兽药残 留检测。为提高传感器的灵敏度,常常在电极表面 负载一些二维纳米材料,如铂、金等纳米粒子,纳米 金粒子(AuNPs)具有独特的光学和化学性能,在催 化、传感、检测、生物标记等方面有广泛的应用。核 酸适配体(aptamer, Apt)是一种新型生物识别元 件,与靶标具有高亲和力及选择性结合,具有稳定 性好、合成简单、易修饰、受环境因素影响较小等优 势,在食品检测分析、药物检测等领域发展十分迅 速<sup>[13-15]</sup>。基于适配体纳米金比色传感器可通过肉 眼直接观察溶液体系颜色变化来进行目标物的含 量检测,紫外分光光度计和酶标仪的使用可提高方 法检测的灵敏度、准确度,可以开发成本低,耗时 短,灵敏度高、选择性强的畜产品中恩诺沙星检测 方法。

研究采用还原法制备纳米金(AuNPs)颗粒,利 用纳米金(AuNPs)催化 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>氧化四甲基联苯胺 (tetramethylbenzidine,TMB)显色,结合核酸适配体 特异性高,亲和力强的特点,优化影响实验的各项 因素,建立了恩诺沙星的可视化快速检测方法,并 将建立的方法体系应用于实际样品检测中,方法具 有显著的特异性。本研究旨在为恩诺沙星的快速 检测提供一种新的思路,同时为以后快速检测恩诺 沙星试剂盒的研发提供理论基础。

#### 1 材料与方法

1.1 试剂与材料 四氯金酸、柠檬酸钠、氯化钠 (均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司);恩诺 沙星、氧氟沙星、诺氟沙星、环丙沙星标准品(购自 中国兽医药品监察所);沙拉沙星(德国 Dr 公司); 盐酸恩诺沙星(购自广州佳途科技股份有限公司); 实验用水为二级蒸馏水。通过查阅文献,获得6条 能够特异性识别恩诺沙星的适配体,如表1所示。

1.2 主要仪器与设备 UV1800PC 紫外 - 可见分 光光度计(上海菁华科技仪器有限公司);HM -SY96S 酶标仪(山东恒美电子科技有限公司); WKB - 100 - 4 酶标板恒温振荡器(上海拓赫机电 科技有限公司);NB - 1 Pro 恒温加热磁力搅拌器 (上海仪昕科学仪器有限公司);UP PLUS - 100 超 纯水仪(上海邦亿精密量仪有限公司)。

1.3 纳米金的合成 实验采用还原法:柠檬酸钠

还原四氯金酸来进行合成 AuNPs<sup>[16]</sup>。如图1 所示, 按照文献方法来进行合成<sup>[17]</sup>。

表1 实验所用适配体序列

Tab 1         Aptamer sequence used in the experiment								
名称	序列							
Apt1	5' – GAAACGAGGTGCTTGACGGTACGATGTTATACCGGGTTAC – 3'							
Apt2	5' – CCCATCAGGGGGGCTAGGCTAACACGGTTCGGC – 3'							
Apt3	5' – TCTCTGAGCCCGGGTTATTTCAGGGGGGA – 3'							
Apt4	$5^{\prime}-\text{CCCATCAGGGGGGCTAGGCTAACACGGTTCGGCTCTCTGAGCCCGGGTTATTTCAGGGGGGA-3^{\prime}$							
Apt5	$5^{\prime}-GCTGTGTGACTCCTGCAAGTCCGACATACCTTAGTGCCCTGATATAATGTAACACTATTGAGCAGCTGTATCTTGTCTCC-3^{\prime}$							
Apt6	5' – GCTGTGTGACTCCTGCAATTGAATTGGTCTAGCAAACGAGACTCAGGCTAGGATAGGTCGGCAGCTGTATCTTGTCTCC – 3'							



图1 纳米金合成图

Fig 1 Nano gold composite map

1.4 恩诺沙星的检测流程 按照所构建体系,准 备酶标板,每个酶标板中加入 AuNPs 溶液 50 μL 和 0.8 μmol/L 的适配体 20 μL,在酶标板恒温振荡器 中混合振荡 10 min 后,加入 10 μg/mL 的恩诺沙星 溶液 30 μL,混合振荡 10 min 后加入 0.3 mol/L 的 NaCl 溶液 10 μL 继续振荡 10 min。分别加入具有 还原性的 TMB50 μL 和 30% 的  $H_2O_2$ 溶液 20 μL,在 振荡器中振荡反应显色 15 min 后测定溶液在 650 nm 处的吸光度值。再计算不同恩诺沙星浓度下的 吸光度值差 $\Delta$ A650( $\Delta$ A650 =  $A_0 - A_{B_{ # i > 2}}$ , $A_{B_{ # i > 2}}$ 为溶液中添加恩诺沙星目标物时的吸光度值, $A_0$ 为 不添加目标物时的吸光度值)。 特异性实验 按操作步骤 1.4 分别对盐酸恩
 诺沙星、沙拉沙星、氧氟沙星、诺氟沙星、环丙沙星
 进行检测。

1.6 实际样品的测定 为了验证所构建检测方法 在实际畜产品检测应用中的可行性,以蜂蜜为实际 样品,分别称取3份,每份1g,制成含恩诺沙星分 别为5 μg/mL、8 μg/mL、10 μg/mL 的样品,根据所 构建的检测方法进行检测。随后测定蜂蜜实际样 品检测中的回收率。

#### 2 结果与分析

2.1 可视化检测恩诺沙星的实验原理 如图2所示,AuNPs颗粒在溶液中呈分散状态,溶液颜色为

酒红色, 而加入 TMB 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>以后显色为深蓝色。 在带正电的 NaCl 的影响下, 带负电的 AuNPs 会由 于静电作用被诱导聚集, 此时加入 TMB 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>以 后, 因 AuNPs 发生聚集导致催化底物能力减弱, 此 时溶液显色为浅蓝色。适配体与 AuNPs 混合后吸 附在纳米金颗粒表面,起到保护 AuNPs 的作用,使 其在加入 NaCl 后不聚集,再加入 TMB 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>后溶 液仍显色为深蓝色。



图 2 纳米金 – 核酸适配体可视化检测恩诺沙星的原理图

#### Fig 2 Schematic diagram of the visual detection of enrofloxacin by nano – gold – nucleic acid aptamer

由于适配体与 AuNPs 颗粒混合后,二者产生 吸附作用相结合,适配体对于 AuNPs 有保护作 用。此时加入目标物,若目标物中含有恩诺沙星, 那么目标物中的恩诺沙星会和适配体产生特异性 结合,使适配体与 AuNPs 颗粒表面解离吸附,此 时 AuNPs 失去适配体的保护作用,在 NaCl 的条件 下会发生聚集,若样品中含有的恩诺沙星量少,那 么适配体与 AuNPs 颗粒表面解除吸附的就少,加 入 NaCl 的条件下 AuNPs 发生的聚集就少,此时加 入 TMB 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>显色。恩诺沙星的存在多少将会 导致溶液颜色变化的程度不同,溶液颜色将会随 目标物中恩诺沙星含量的增加而由深蓝变为浅 蓝。随后进行测定溶液在 650 nm 处的的吸光度, 建立两者相关的线性关系,实现对恩诺沙星的快 速检测。

2.2 适配体的选择 对六条适配体 Apt1 – Apt6 分别用无菌水稀释至 0.8 μmol/L,各取 20 μL 加入 到含有 50 μL 纳米金溶液的微孔板中,同时做一组

对应的空白。在酶标板恒温振荡器中振荡反应 10 min,然后每孔分别加入 10 µg/mL 的恩诺沙星溶 液 30 µL,37 ℃振荡孵育 10 min 后加入0.3 mol/L 的 NaCl 溶液 10 µL 反应 5 min。空白将目标物替换为 同体积超纯水。再用酶标仪分别测量溶液在 520 nm和 650 nm 处的吸光度值。AuNPs 在溶液中 正常显色为酒红色,当 AuNPs 团聚时颜色就由酒红 色转变为蓝色,吸收峰发生偏移,由520 nm 处至 650 nm 处:由于静电吸附作用,适配体在加入后会 吸附在 AuNPs 表面对其起到保护,此时加入 NaCl 也不会使纳米金发生团聚。而当先于 NaCl 加入目 标物恩诺沙星后,恩诺沙星会先与适配体发生特异 性结合,AuNPs 失去适配体在其表面的保护,适配 体脱落导致 AuNPs 在加入 NaCl 后会发生团聚。结 果如图3所示,取其比值变量的差值为纵坐标建立 柱状图。可知 Apt3 在 AuNPs 的显色过程中更为明 显,Apt3 与恩诺沙星的结合能力更强。故选择 Apt3 为实验所用最优适配体。



图 3 不同适配体对吸光度值得影响,插图为对应颜色变化图

Fig 3 Different aptamers affect the absorbance value, the illustration shows the corresponding color change graph

2.3 紫外吸收光谱表征 利用分光光度计对所构建 的方法来进行可视化检测恩诺沙星的可行性进行进 一步检验。由图4中曲线 a 和曲线 c 可知,当溶液中 没有 NaCl 时,AuNPs 颗粒在溶液中呈现为分散状态, 溶液为红色,吸收峰在 520 nm 处,说明恩诺沙星的存 在并不影响溶液状态的变化。从曲线 b 可知当加入 NaCl 于溶液中后,溶液的颜色呈现为浅蓝色,并且吸 收峰发生了改变,峰值由从 520 nm 移至 700 nm 处,可 以说明此时 AuNPs 颗粒由于静电吸附作用发生团聚。 从曲线 d 可知,溶液在加入适配体后呈现颜色为红色, 吸收峰在 520 nm 处,可以说明此时 AuNPs 颗粒在溶 液中为分散状态。由曲线 e 可知,溶液中加入恩诺沙 星后,溶液颜色为浅蓝色,吸收峰又出现在了 700 nm 处,说明此时 AuNPs 颗粒发生了聚集。



图 4 反应体系中不添加 TMB 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>时,不同的条件下反应溶液得吸收光谱图,插图为对应颜色变化图 Fig 4 When TMB and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> are not added to the reaction system, the absorption spectrum of the reaction solution will be obtained under different conditions, the illustration shows the corresponding color change graph

为了进一步验证所建检测方法的准确性和可 行性,在反应体系中加入 TMB 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>可以 氧化 TMB, AuNPs 催化 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>氧化 TMB, TMB 变为 氧化态为蓝色,通过溶液发生的颜色变化以及所测 定的吸光度值进行可视化快速检测恩诺沙星,实验 结果如图 5 所示,由曲线 a 可知, AuNPs 催化 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 氧化 TMB,溶液颜色为蓝色,吸收峰出现在 650 nm 处。对比曲线 a 和曲线 b,说明核酸适配体加入后 会吸附在 AuNPs 颗粒表面,起到保护作用使其减少 聚合作用力,颜色显色为深蓝色。对比曲线 a 和曲 线 c 可以发现, 当溶液中存在 NaCl 时, 溶液颜色呈 现浅蓝色, 吸光度值也要低于曲线 a, 这是因为 NaCl 的存在使 AuNPs 颗粒发生了聚集。对比曲线 d 和曲线 e, 当溶液中存在恩诺沙星时, 溶液颜色变 浅, 吸光度值下降, 这是因为恩诺沙星与适配体发 生特异性结合, 导致 NaCl 使 AuNPs 颗粒发生聚集。 此外, 由曲线 f 和曲线 g 可知在仅有 AuNPs 和  $H_2O_2$ 和仅有 TMB 和  $H_2O_2$ 的情况时, 溶液颜色为无色, 这是因为并未发生催化反应。实验测量结果与上 述结论相同。





2.4 实验条件优化 为了提高实验检测的准确度 和灵敏度。在恩诺沙星浓度为10 μg/mL,对适配 体浓度,NaCl浓度以及TMB体积进行优化,讨论在 不同条件下所测吸光度值的变化,并通过吸光度值 变化来进行分析,寻求最佳的实验条件。

2.4.1 适配体浓度的优化 首先优化适配体的浓度,用超纯水取代目标物,实验中AuNPs的固定用量为50 μL,随后加入20 μL不同浓度的适配体,酶标板恒温振荡器反应10 min 后加入30 μL的超纯水,振荡反应10 min 后添加10 μL的0.3 mol/L的NaCl,5 min 后加入60 μL的TMB 与20 μL的H,O,,待TMB 显色

15 min 后测定适配体在 0.5、0.6、0.7、0.8、0.9 μmol/L 不同浓度时对溶液在 650 nm 处的吸光度的影响。结 果表明:当适配体的浓度为 0.8 μmol/L 时, △A650 nm 处的值最小,这是因为如果适配体浓度过低,适配体不 会完全阻断 NaCl 对于纳米金的团聚作用。当适配体 浓度较大时,除去吸附在 AuNPs 表面的适配体,会有 多余的适配体以游离态分散于溶液中,当加入恩诺沙 星后会优先与溶液中游离状态下的适配体发生特异性 结合,导致 NaCl 对于 AuNPs 的团聚作用减小。故适 配体的最佳浓度为 0.8 μmol/L。

2.4.2 NaCl 浓度的优化 按照纳米金 – 核酸适配

体可视化检测的操作流程,固定 AuNPs 用量为 50  $\mu$ L,使用超纯水代替适配体与目标物,加入代替 适配体的超纯水 20  $\mu$ L,振荡反应 10 min 后再加入 30  $\mu$ L 的超纯水代替恩诺沙星,反应 10 min 后加入 10  $\mu$ L 的 Nacl, 5 min 后加入 60  $\mu$ L 的 TMB 与 20  $\mu$ L 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,待 TMB 显色 15 min 后测定 NaCl 浓度分 别为 0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 mol/L 时溶 液在 650 nm 处吸光度值的变化。结果显示:当 NaCl 的浓度为 0.3 mol/L 时,  $\Delta$ A650 nm 最小。这 是因为低浓度的 NaCl 对于 AuNPs 团聚的作用力较 小,而当 NaCl 的浓度更高时,对 $\Delta$ A650 nm 影响不 大,故 NaCl 最佳浓度为 0.3 mol/L。

2.4.3 TMB 用量的优化 实验固定 AuNPs 的用 量为 50 μL,适配体用量为 20 μL,混合振荡反应 10 min 后用超纯水代替目标物加入 30 μL,振荡混匀 反应 10 min 后加入 10 μL 的 0.3 mol/L 的 NaCl,随 后加入 TMB 和 20 μL 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,考察 TMB 的用量分 别为 30、40、50、60、70、80 μL 时, 对溶液在 650 nm 处吸光度值变化的影响。结果表明:当加入的 TMB 体积为 50 μL 时, △A650 nm 值较小。原因是 TMB 的加入量过多时, TMB 氧化会不完全, 导致吸光度 值减小, 从而导致吸光度的差值较大。而当加入量 TMB 体积较少时, 溶液中添加或者不添加恩诺沙星 时显色均比较明显, 从而导致 △A650 nm 值小, 故 选择 TMB 体积为 50 μL 为实验所用量。

2.5 恩诺沙星标准曲线的建立 参照方法 1.4,绘 制不同浓度的恩诺沙星紫外光谱图,结果如图 6 所 示,由于恩诺沙星浓度的不断升高,所对应的吸光 度值在不断降低,溶液的颜色也在不断变浅;设最 大吸光度值为纵坐标,恩诺沙星的浓度为横坐标, 平行测定 3 次来绘制相关性曲线。结果如图 7 所 示,在恩诺沙星低浓度时所得线性方程为 y =0.6377x + 0.89495,  $R^2 = 0.99026$ ,在高浓度时所得 线性方程为 y = 0.04288x + 0.95578,  $R^2 = 0.99812$ 。







# Fig 6 Absorption spectra of different concentrations of enrofloxacin, the inset is the corresponding color change diagram (The concentrations of $a \rightarrow k$ are 0.01,0.02,0.05,0.08,0.1,0.5,1.5,3,5,7,10 µg/mL)

2.6 特异性实验 根据 1.5 的特异性实验,进行 三次平行测定,所得结果如图 8 所示,当蜂蜜样品 中存在恩诺沙星时,适配体会和目标物发生特异性 结合,而盐酸恩诺沙星由于是其盐酸盐,故结果相 似,响应值类似,所测得的溶液吸光度值高于沙拉

沙星、氧氟沙星、诺氟沙星、环丙沙星在反应体系溶 液中的吸光度值,说明所构建的检测方法特异性 好,可用于恩诺沙星的检测。

2.7 添加回收率实验 根据1.6 实际样品的测定 所述,讨论在实际样品检测中的可靠性和准确性,





Fig 7 Linear relationship between different enrofloxacin concentration and absorbance difference

进行三次平行测定,所得结果如表 2 所示,实测样 品的加标回收率在 95.5% ~97.8% 之间,相对标准 偏差范围在1.47% ~4.71% 之间。结果表明,构建

的方法体系具有稳定性和准确性,可以实现对恩诺 沙星进行快速准确的测定。



图 8 可视化检测恩诺沙星的特异性分析

Fig 8 Specific analysis of visual detection of enrofloxacin

表2 蜂蜜样品中恩诺沙星的检测

Tab 2 Detection of Enrofloxacin in Honey Samples

			• •		
样品	加标浓度	测定浓度	加标回收率	相对标准偏差	
样品1	5 μg/mL	4.8330 μg/mL	96.7%	1.47%	
样品2	8 µg∕mL	7.642 μg/mL	95.5%	2.24%	
样品 3	10 μg/mL	9.785 μg/mL	97.8%	4.71%	

#### 3 结 论

本研究以纳米金作为信号传导元件,在溶液中 AuNPs 颗粒在 TMB 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 存在下显示深蓝色,在 NaCl 的作用下发生团聚溶液颜色变浅,核酸适配 体可以吸附在 AuNPs 表面对其起到一个保护作用 使其不发生团聚,而目标物恩诺沙星可以和适配体 产生特异性结合,使 AuNPs 失去适配体的保护作用,恩诺沙星含量越高,溶液颜色变得越浅,基于这样的原理建立了一种灵敏度高,特异性强的可视化检测恩诺沙星的方法。试验检测的最佳优化条件如表3 所示。

表 3 实验优化条件

Tab 3         Experimental optimization conditions								
体系中各成分	AuNPs	适配体	NaCl	TMB	$H_2O_2$			
浓度	١	$0.8 \ \mu mol/L$	0.3 mol/L	10 μg/mL	30%			
加入量	50 µL	20 µL	10 µL	50 µL	20 µL			

在最优条件下建立了恩诺沙星的快速定量曲线, 在低浓度时所测得线性回归方程是 y = 0.6377x + 0.89495, R<sup>2</sup> = 0.99026,检出限是 0.018 μg/mL;所 得线性方程在高浓度时为 y = 0.04288x + 0.95578, R<sup>2</sup> = 0.99812,检出限是 0.265 μg/mL,同时也验证 了该方法的特异性。对实际样品蜂蜜样品中恩诺 沙星检测具有可行性,实际测定的回收率是 95.5% ~97.8%,相对标准偏差在 1.47% ~4.71%之间。 本研究实际测定的样品数量较少,还需继续对收集 到的蜂蜜样品进行测定,进一步验证方法的可行 性,并逐步开展猪肉、鸡肉、鸡蛋等畜产品中恩诺沙 星的测定。该方法操作简单,具有较高的灵敏性和 特异性,耗时短,可用于畜产品中恩诺沙星快速定 量检测,具有较好的应用价值,可为今后研发快速

#### 参考文献:

[1] 张 婷,李茂勇,范红照. 恩诺沙星在水产动物体内药物代谢动力学研究进展[J]. 科技风,2017(14):230-231.

Zhang T, Li M Y, Fan H Z. Research progress of pharmacokinetics

of enrofloxacin in aquatic livestocks [J]. Technology Wind, 2017 (14):230-231.

[2] 陈 蔷,达列亚·阿合买提,张崇威,等. 高效液相色谱法测定 鸡蛋中氟喹诺酮类药物残留量前处理方法的优化[J].中国 兽药杂志, 2021,55(11): 22-28.

Chen Q, Da Lie – ya A, Zhang C W, *et al.* Optimization of the Pretreatment Method for the Determination of Fluoroquinolones Residues in Eggs by High Performance Liquid Chromatography [J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2021,55(11): 22 – 28.

[3] 张航俊,周芷锦,侯轩,等.恩诺沙星、氟苯尼考和泰万菌素在鸡蛋总残留消除规律研究[J].食品安全质量检测学报,2021,12(19):7851-7856.

Zhang H J, Zhou Z J, Hou X, *et al.* Study on the elimination regularity of enrofloxacin, florfenicol and acetylisovaleryl tylosin residues in eggs[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2021, 12(19): 7851 – 7856.

[4] 宋亚宁,胡超琼,王冲,等.核酸适配体生物传感器在食品中 氟喹诺酮类兽药残留检测中的应用[J].中国食品学报, 2021,21(08):409-419.

Song Y N, Hu C Q, Wang C, et al. Application of Aptamer Biosensor in the Determination of Fluoroquinolones Residues in Food [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2021,21(08): 409 - 419.

[5] 李树莹,唐云飞,盛建武,等. 恩诺沙星完全抗原的合成及间接竞争 ELISA 方法的建立[J]. 环境科学学报,2017,37(08):
 2904-2910.

Li S Y, Tang Y F, Sheng J W, *et al.* Preparation of complete antigen and development of an indirect competitive ELISA for the detection of enrofloxacin in water samples [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2017, 37(08):2904 – 2910.

- [6] 高静静,王一村,李 娜,等. 快速检测乳及乳制品中多种抗生素残留的微生物抑制法[J]. 现代食品,2020(21):158-160.
  Gao J J, Wang Y C, Li N, *et al.* Rapid detection of multiple antibiotic residues in milk and dairy products by microbial inhibition method [J]. Modern Food,2020(21): 158-160.
- [7] Lee H, Lee S, Kwon D, et al. Microbial respiration based detection of enrofloxacin in milk using capillary tube indicators
   [J]. Sens Actuators B:Chem, 2017, 244(06): 559 564.
- [8] 谭丹丹. 高效液相色谱法在食品分析中的应用研究[J]. 现代 食品,2021(02):149-151.

Tan D D. Study on the Application of High Performance Liquid Chromatography in Food Analysis [J]. Food Science and Technology,2021(02):149-151.

[9] 章雪明,方强,苑华宁,等.免疫亲和层析结合高效液相色谱 法检测氟喹诺酮类药物[J].食品安全质量检测学报,2017,8 (09):3627-3632.

Zhang X M, Fang Q, Yuan H N, *et al.* Determination of fluoroquinolones by immunoaffinity chromatography with high performance liquid chromatography [J]. Journal of Food Safety and Quality,2017,8(09);3627 – 3632.

 [10] 蒋定之,辛丽娜,谭喜梅,等. PRiME HLB 固相萃取 - 高效液 相色谱 - 串联质谱法同时快速测定鸡蛋中 48 种兽药残留
 [J].食品工业科技,2019,40(22):259-266.

Jiang D Z, Xin L N, Tan X M, et al. PRiME HLB Solid – phase Extraction Procedure Combined with High Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry for Multi – residue Determination of 48 Veterinary Drugs in Eggs [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(22):259 – 266.

[11] 李 坚,张富源,刘敏轩,等. 基于金纳米颗粒信号放大 ELISA 检测食品中恩诺沙星[J].食品科学,2021,42(24):311-317.

Li J, Zhang F Y, Liu M X, *et al.* Development and Application of a Gold Nanoparticle – Based Signal Amplification Enzyme Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Enrofloxacin in Food Samples [J]. Food Science, 2021,42(24):311-317.

- [12] 杜玉梅,周洋洋,卞晓军,等. 基于末端脱氧核糖核酸转移酶的纳米界面上 DNA 的生长策略及用于恩诺沙星的适配体传感器构建研究[J].分析测试学报,2019,38(07):784-791.
  Du Y M,Zhou Y Y,Bian X J,et al. Construction of an Aptasensor Based on DNA Growth at Nano interface of Terminal Deoxynucleotidyl Transferase and Its Application in Enrofloxacin Detection [J]. Journal of Instrumental Analysis,2019,38(07): 784-791.
- [13] 王佳齐,吴倩倩,郑晓雪等. 核酸适配体在病原微生物检测中的应用研究进展[J]. 山东医药,2021,61(09):106-109.
  Wang J Q, Wu Q Q, Zheng X X, *et al.* Research Progress on the Application of Nucleic Acid Aptamers in the Detection of Pathogenic Microorganisms [J]. Shandong Medical Journal, 2021,61(09):106-109.
- [14] 贾向阳,尤慧艳,付秀丽.鱼精蛋白-核酸适配体-金纳米技术快速检测牛奶中的卡那霉素[J].色谱,2017,35(03):
   269-273.

Jia X Y, You H Y, Fu X L. Fast detection of kanamycin in milk by protamine – aptamer – gold nanotechnology [J]. Chinese Journal of Chromatography,2017,35(03):269 – 273.

- [15] 毛伟伟,魏小红,尤金坤,等.用于赭曲霉毒素A检测的电化学适配体生物传感器的研究进展[J].化学通报,2020,12(83):1081-1087.
  Mao W W, Wei X H, You J K, *et al.* Progress in Electrochemical Aptamer Biosensors for the Detection of Ochratoxin A [J]. Chemistry, 2020, 12(83):1081-1087.
- [16] 陈镇,纳米金比色传感器检测重金属离子研究[D].重庆医科大学硕士学位论文,2016:16-35.
  Chen Z. Study on Functionalized Gold Nanoparticles for Detection of Heavy Metal Ions (Cr3 + and Cd2 + ) in Aqueous Solutions [D]. ChongQing Medical University,2016:16-35.
- [17] 舒江南.新型纳米发光体的化学发光与电化学发光及其在生物分析中的应用[D].中国科学技术大学博士学位论文, 2018:49-56.

Shu J N. (Electro)Chemiluminescence of Novel Nanoluminophores and their Applications in Bioassays [D]. University of Science and Technology of China, 2018;49 – 56.

(编辑:陈希)