

动物源性食品中抗生素残留的快速检测方法

田红静^{1,2}, 刘通¹, 王秀娟¹, 王友法¹, 张峰^{1*}, 游松^{2*}

(1. 中国检验检疫科学研究院食品安全研究所, 北京 102600;

2. 沈阳药科大学生命科学与生物制药学院, 沈阳 110000)

摘要: 畜牧业养殖中抗生素的滥用, 导致动物源性食品抗生素残留超标, 影响人民身体健康, 因此开发动物源性食品中抗生素检测方法十分必要。然而, 常用的高效液相色谱-串联质谱检测方法, 前处理复杂, 耗时较长, 故开发动物源性食品中抗生素残留的快速检测方法, 保障食品质量安全十分必要。本文综述了近年来动物源性食品中抗生素的快速检测方法, 并介绍了各方法的原理及优缺点, 分析各检测方法的研究现状及发展前景, 以期对快速检测技术的研发提供参考。

关键词: 动物源性食品; 抗生素; 快速检测

Rapid methods for the detecting of antibiotic residues in animal-derived food

TIAN Hong-Jing^{1,2}, LIU Tong¹, WANG Xiu-Juan¹, WANG You-Fa¹, ZHANG Feng^{1*}, YOU Song^{2*}

(1. *Institute of Food Safety, Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 102600, China*; 2. *College of Life Science and Biopharmaceutical, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110000, China*)

ABSTRACT: The abuse of antibiotics in animal husbandry leads to excessive antibiotic residues in animal-derived foods and affects people's health. Therefore, it is necessary to develop detection methods for antibiotics in animal-derived foods. However, the commonly used high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry detection method is complicated in pretreatment and takes a long time. Therefore, it is necessary to develop a rapid detection method for antibiotic residues in animal-derived foods to ensure food quality and safety. This paper reviewed the rapid detection methods of antibiotics in animal-derived foods in recent years, introduced the principles, advantages and disadvantages of each method, and analyzed the research status and development prospect of each detection method, so as to provide reference for the research and development of rapid detection technology of antibiotics.

KEY WORDS: animal-derived food; antibiotics; rapid detection

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC1603600, 2017YFC1601600, 2019YFC1606500)、国家“万人计划”科技创新领军人才项目高层次人才特殊支持计划(张峰)

Fund: Supported by National Key Research and Development Program (2018YFC1603600, 2017YFC1601600, 2019YFC1606500), and National “Ten thousand Plan” Scientific and Technological Innovation Leading Talent Project (ZHANG Feng)

***通讯作者:** 张峰, 博士, 研究员, 主要研究方向为分析化学。E-mail: fengzhang@126.com

游松, 博士, 教授, 主要研究方向为生物催化与生物转化。E-mail: yousong206@aliyun.com

***Corresponding author:** ZHANG Feng, Ph.D, Professor, Institute of Food Safety, Chinese Academy of Inspection and Quarantine, No.11, Ronghua South Road, Daxing District, Beijing 102600, China. E-mail: fengzhang@126.com

YOU Song, Ph.D, Professor, College of Life Science and Biopharmaceutical, Shenyang Pharmaceutical University, No.103, Wenhua Road, Shenhe District, Shenyang 110000, China. E-mail: yousong206@163.com

1 引言

抗生素是指由细菌、真菌、放线菌属等微生物在其生长过程中所产生的具有抗病原体或其他活性的一类次级代谢产物^[1]。抗生素可助禽畜免受疾病影响,加速其成长,然而,畜牧业养殖中抗生素的不合理滥用,造成动物体内累积的抗生素含量超标。人类长期食用含有抗生素超标的动物源性食品,可能会造成体内菌群失衡,耐药菌株产生,甚至引发变态反应,严重时危及生命^[2,3]。综上所述,对动物源性食物中的抗生素残留检测十分必要。

目前检测动物源性食品中抗生素残留的方法中,应用较多的方法为高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)和高效液相色谱串联质谱法(high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS),然而,这些方法存在以下缺陷:一方面,需要对样品进行比较复杂的前处理,从而实现食品样品中目标物的分离、纯化和浓缩,另一方面检测时需经过色谱柱的分离,整个检测过程步骤繁琐,耗时较长。国标 GB/T 21314-2007^[4]中应用液相色谱-串联质谱检测动物源性食品中 14 种喹诺酮类抗生素,样品处理需经过均质、称量、液液萃取、超声、离心、固相萃取柱净化、氮吹、复溶等一系列前处理操作,整个检测过程耗时较长。综上,常规的 HPLC 或 HPLC-MS/MS 方法无法满足日常食品安全监管以及食品安全突发事件的应急检测的需要,不适用于现场、实时、快速检测。本文旨在综述动物源性食品中抗生素的快速检验检测方法,并阐述各方法的原理、优缺点、应用现状及发展前景,以期为抗生素快速检测技术的发展提供参考。

2 免疫检测方法

免疫检测方法是随着抗体抗原的发现而发展起来的一门快速检测技术,其原理是利用抗原抗体之间的特异和可逆结合特性,检测样品的抗生素含量^[5]。免疫检测方法操作简单、检测快速、成本低、特异性强,但受抗体种类少的约束,并且在检测结构类似的化合物时存在交叉反应。

2.1 酶联免疫吸附测定法

酶联免疫法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)综合利用了抗原抗体结合的特异性和酶对底物的高效催化特性,使样品中的待测抗生素与固定和支持物表面的抗原或抗体结合,从而与游离的酶标记抗体或抗原结合,并随着底物的加入,通过酶的作用而显色,进而根据颜色深浅达到检测待测抗生素含量的目的^[6]。ELISA 主要包括直接法、竞争法、间接法、双抗夹心法等^[7],目前市售的 ELISA 试剂盒大多是利用酶联竞争法开发得到^[8],样品前处理简单,可在 2~3 h 内分析近 100 个样品^[9]。另外,

美国 SNAP 公司利用酶联免疫和激光探测技术研发的 SNAPSHOTTM 抗生素残留快速检测系统,可在 9 min 之内检测出牛奶中的 β -内酰胺类、四环素类、磺胺类、庆大霉素等药物残留量,已获得了食品及药物管理局(food and drug administration, FDA)及美国公职分析化学师协会(association of official analytical chemists, AOAC)等国际机构的认证,是目前国内外抗生素残留最普遍、最准确的快速检测方法^[10]。酶联免疫法检测方法具有较好的灵敏度和特异性,操作相对简单,无需大型昂贵仪器,检测通量较高,可同时处理几十批样品,适用于大量样品的快速检测,然而 ELISA 对操作细节和环境条件要求较高。

另外,近年来改进的 ELISA 技术也在不断发展,以核酸适配体或分子印迹聚合物(molecularly imprinted polymer, MIP)取代抗体。核酸适配体相比抗体具有合成简单快速、稳定、可测物质种类多,无免疫原性以及可进行多种修饰(包括生物素、巯基等标记分子)等优势^[11]。Wang 等^[12]建立了基于适配体的间接竞争 ELISA 方法特异性检测蜂蜜中的四环素含量,LOD 为 9.6×10^{-3} ng/mL,线性范围为 0.01~100.00 ng/mL。分子印迹聚合物是通过模板与功能单体在致孔剂、交联剂和引发剂的作用下,生成的一种高分子聚合物,能特异性的吸附待测物,具有化学稳定性好、制备简单快速、选择性强,成本低,易于保存等优点。Wang 等^[13]以分子印迹聚合物(molecularly imprinted polymer, MIPs)为仿生抗体,采用直接竞争仿生酶联免疫吸附法(bionic enzyme-linked immunosorbent assay, BELISA)检测牛肉和虾样品中的恩诺沙星(enrofloxacin, ENRO),检出限为 1.1 ng/mL。以适配体或分子印迹聚合物替代抗体,可以有效弥补抗体制备困难,种类少的缺陷,扩大 ELISA 的应用范围。

2.2 胶体金免疫层析技术

胶体金免疫层析技术(colloidal gold immunochromatography assay)结合了免疫分析技术、侧向层析技术和胶体金标记技术,具有方便快捷、灵敏度高、稳定性强的特点。目前,已开发出多种生素检测胶体金试纸条,其原理为待测物通过毛细作用流过层析膜上的检测线(T 线)与质控线(C 线)时,与上面标记的特异性抗原或抗体结合,通过观察质控线与检测线的颜色变化,实现样品的定性或半定量检测^[14]。赵福民等^[15]研究了能用于牛奶和奶粉中卡那霉素、红霉素、林可霉素 3 种抗生素同时检测的胶体金免疫层析试纸条,样品无需前处理,10 min 内即可得到检测结果,假阳性率和假阴性率均为 0。万宇平等^[16]制备的氟喹诺酮类胶体金免疫检测试纸条,可在 5 min 之内实现牛奶中 9 种抗生素的快速检测,检出限为 20~40 μ g/L。胶体金免疫层析技术操作简单,检测过程耗时短,几分钟即可观察到检测结果,在现场监控和大批量样品初

筛检测中具有广阔的应用前景。但是这种检测方法无法实现准确定量, 易出现假阳性, 检测得到的阳性样品需其他方法进行确证。

2.3 荧光免疫层析技术

近年来, 以量子点或荧光微球为标记物的荧光免疫层析技术, 受到研究者的广泛关注, 在快速检测抗生素研究方面具有很好的发展前景。量子点(quantum dots, QDs)是目前分析化学等领域的重要生物荧光探针, QDs 具有独特的光学稳定性、良好的生物相容性以及长荧光寿命等特点^[11]。Hu 等^[17]采用量子点作荧光供体, 胶体金作荧光猝灭剂, 建立了一种可以同时检测鸡肉中 8 种磺胺类和 11 种氟喹诺酮类抗生素的广谱免疫层析试纸条, 灵敏度较高, 10 min 内即可完成检测, 适用于抗生素的现场快速检测。Li 等^[10]采用多残留荧光微球免疫层析法同时检测生乳中的红霉素、螺旋霉素、替米考星和泰乐菌素, 检测限可达 0.13 ng/mL, 回收率高, 整个检测过程仅需 20 min。荧光免疫层析技术灵敏度高、线性范围宽、操作简便, 但所用扫描设备价格昂贵, 难以广泛普及应用。

3 生物传感器技术

近年来, 传感器技术发展迅速, 与传统方法比较, 传感器检测无需样品前处理, 适用于样品快速检测。其原理是样品中的抗生素与其特异性生物识别元件(抗体、核酸适配体等)结合后, 识别元件的分子结构变化或生物活性改变, 这种改变的信号经过转换元件后转换成可以被检测器捕捉到的电信号或光信号, 再经放大和模数转换后, 变成我们可理解的信息^[18]。生物传感器技术检测动物源性食品中的抗生素残留灵敏度高、选择性好、样品消耗少, 微型化, 可实现现场连续快速检测^[19]。

3.1 以抗体为识别元件的生物传感器技术

以抗体为识别元件的生物传感器技术就是以抗原抗体特异性识别为基础, 抗体通常被固定于检测器表面, 抗体的类型可以是多克隆抗体也可以是单克隆抗体, 这取决于抗体与待测抗生素的选择特性及抗体的合成方式。抗体作为识别元件的生物传感器在动物源性食品中抗生素的分析检测领域得到广泛应用。Liu 等^[20]研究的 Ab-MNPs CS/gold 电化学阻抗免疫传感器, 可以快速检测牛奶中的四环素残留, 检出限达 0.0321 ng/mL。Hassani 等^[21]研究的磁性纳米颗粒(magnetic nanoparticle, MNPs)涂覆聚吡咯-钴吡咯-2-羧酸的电化学免疫传感器, 可以快速检测蜂蜜中的 3 种磺胺类抗生素残留, 检出限达 0.4 ng/L。

3.2 以分子印迹聚合物和核酸适配体为识别元件的新型生物传感器技术

分子印迹技术和核酸适配体技术的发展, 引导了生

物传感器新的发展方向, 分子印迹聚合物或核酸适配体作为敏感识别元件, 新型纳米材料或新型荧光探针作为报告信号, 2 者结合可制备成更高灵敏度的生物传感器, 为研制适用于现场快速简便检测抗生素的新型生物传感器提供了研究方向。Wu 等^[22]研制了一种基于适配体的新型荧光生物传感器, 利用核酸适配体偶联的磁性纳米颗粒(aptamer-MNPs)在未结合氯霉素(chloramphenicol, CAP)之前与上转换纳米颗粒标记的互补 DNA(upconversion nanoparticles-cDNA, UCNPs-cDNA)结合, 荧光信号最强, 当样品中有 CAP 时, aptamer-MNPs 释放 UCNPs-cDNA 与 CAP 结合, 荧光信号的减弱, 从而实现对样品中的氯霉素定量检测, 检测限为 0.01 ng/mL; Zhang 等^[23]制备了基于 AIE 探针和 GO 的无标签荧光适配体传感器可检测牛奶中的氯霉素, 检测限为 1.26 pg/mL; Torkashvanda 等^[24]制备了基于分子印迹聚合物在多壁碳纳米管表面固定化的电化学传感器, 用于头孢他啶的测定, 检测限达到 0.55 nmol/L。

然而, 分子印迹聚合物本身存在固有的模板泄露问题, 适配体传感器存在亲和度过高的问题, 使得以分子印迹聚合物和核酸适配体为识别元件的新型生物传感器技术目前还在实验室研究阶段, 尚未实现商品化^[25]。

4 光谱检测技术

4.1 表面增强拉曼光谱技术

拉曼光谱(Raman spectra)利用光被分子散射后产生的频率变化, 得到有关于分子振动及转动方面的信息, 进而得到分子定性与结构信息。但常规拉曼光谱由于散射的截面很小, 所以拉曼信号很弱, 检测灵敏度低。表面增强拉曼光谱(surface enhanced Raman spectroscopy, SERS)通过使用表面粗糙的纳米金属材料(包括金、银、铜等), 使吸附在这些材料表面的分子的拉曼信号得到增强, 在很大程度上弥补了常规拉曼散射的不足, 之后, SERS 开始得到众多领域的研究与开发, 同时也为动物源性食品中抗生素的快速检测提供了新的思路。

SERS 检测食品中抗生素残留不需要对样品前处理, 且免去样品制备过程, 减少误差, 测定时间短, 操作简便^[26]。He 等^[27]将 SERS 与树突状 AgNPs 联用, 检测恩诺沙星、环丙沙星和氯霉素 3 种抗生素, LOD 为 20 $\mu\text{g/mL}$ 。费定文^[28]以银包金纳米溶胶作为增强基底, 通过偶联氯霉素多残留抗体和 4-MBA 组装成拉曼标记免疫探针, 并在胶体金免疫层析试纸条的基础上, 组装拉曼标记免疫层析试纸条, 检测牛奶中的氯霉素、甲磺霉素、氟苯尼考, LOD 分别为 2.6、2.0、3.1 ng/mL, 回收率大于 90%, 表明该方法在动物源食品中抗生素残留检测方面具有极大的潜力。然而目前仅有少数金属(包括金、银、铜及碱金属等)显示出较强的 SERS 效应, 且实际研究中仍有许多复杂现象无

法用现有 SERS 理论解释清楚,都在一定程度上限制了 SERS 的广泛应用。

此外,在 SERS 检测技术研究中,决定分析物光谱增强特性的最主要因素是 SERS 活性基底的表面等离子体共振及其变化,SERS 基底不仅决定了 SERS 信号的强度,同时也决定了获得信号的稳定性和可重复性。所以研究开发更稳定,更灵敏的活性基底是未来 SERS 检测技术的发展方向。

4.2 近红外光谱技术

近红外光谱技术(near infrared spectroscopy, NIS)通过扫描样品的近红外光谱,可以得到样品中不同基团吸收波长和强度的信息,并通过与分析模型比较,得到化合物的结构信息。样品无需处理即可直接测量,且无需化学试剂,得到的近红外光谱是样品所有组分的近红外吸收总和,这就不可避免的会存在其他组分对待测组分的干扰。将 NIS 应用到动物源性食品中抗生素的测定,存在较强的背景干扰,难以有效分析,使得近红外光谱在动物源性食品中抗生素残留检测时受到限制。因此,NIS 需要与化学计量学方法联合,才能实现样品中待测物的定量定性分析。Lé 等^[29]采用 NIS 与化学计量学结合的方法,对青霉素、阿莫西林和克拉维酸 3 种抗生素鉴定分析,定量分析符合相对误差。赵武奇等^[30]利用近红外分析,采用正交试验建立牛奶中青霉素定标模型并进行模型适用性评价,结果表示模型验证决定系数为 0.975,相对标准差为 12.8%,相对分析误差为 6.1758。表明 NIS 定量分析牛奶中青霉素的含量是可行的,模型稳定性和预测能力较好。近红外光谱分析技术具有分析速度快、无需样品处理、可实现样品在线无损分析,无需化学试剂,绿色环保等特点。相信随着近红外技术的不断发展,灵敏度不断提高,NIS 在动物源性食品中抗生素的检测中具有较大应用潜力。

5 其他新型快速检测技术

5.1 生物芯片技术

生物芯片是通过微缩工艺,将具有分子间特异相互作用的生物信息分子(DNA、蛋白质、糖等)集成在硅芯片或玻璃芯片上的微型分析系统,操作简单,成本较低,可实现对目标分子的高通量快速连续检测,检测效率是常规微生物检测的成百上千倍。目前生物芯片技术已广泛应用于生命科学、医药卫生等领域^[31]。

Li 等^[32]开发了一种能检测各种抗生素的可视化生物薄片,对牛奶中的氯霉素进行检测,检出限可达 0.05 ng/mL,回收率为 80%~120%,适合对样品进行大规模现场初步筛选。Knecht 等^[33]利用硅烷化修饰的片基制备抗原点阵,可以实现牛奶样品中 10 种 β -内酰胺类、磺胺类和氨基糖苷类抗生素的自动化分析,单个组分分析耗时不

到 5 min,检测限在 0.12~32 $\mu\text{g/L}$ 之间。特异性生物芯片技术作为一种新型的动物源性抗生素快速检测技术,其发展潜力巨大。然而,目前生物芯片技术本身还存在一些技术难点未完全被攻克,如生物芯片阵列的密度不够高、样品标记困难等^[31]。

5.2 敞开式离子源质谱检测新技术

敞开式离子源质谱(ambient mass spectrometry, AMS)检测相比于常规液质检测方法,不需要经过色谱柱的分离,可以大大节省检测时间,检测一个样品往往仅需几十秒的时间^[34,35]。应用敞开式离子源质谱检测抗生素时,样品前处理较简单,有的甚至不需要进行样品前处理。且待测样品应用范围较广,包含较容易离子化的小分子和相对难离子化的大分子样品。敞开式离子源(ambient ionization)的开发大大促进了敞开式离子源质谱检测技术的发展,目前已有报道的敞开式离子源已有近 40 多种^[36],常见的有解吸电喷雾离子源^[37](desorption electrospray ionization, DESI)、实时直接分析离子源^[38](direct analysis in real time, DART)、纸喷雾(paper spray, PS)离子源^[39]等。

DESI 有效结合了电喷雾离子化和解吸离子化两种技术,原理是电喷雾离子化的带电液滴轰击样品表面,对样品萃取后形成二级微液滴,之后经过库伦爆炸,去溶剂后离子化进入质谱进行分析。DESI-MS 能够直接、快速的筛选样品并分析不同形式的样品(包括片剂、凝胶等),主要应用于药物质量控制和法医分析。相比其他的敞开式离子源质谱,由于缺乏样品前处理,食品这一复杂基质的存在使得 DESI-MS 在检测食品中抗生素应用方面容易出现假阳性和假阴性。Nielen 等^[40]基于免疫亲和 SPR 芯片应用 DESI-MS 技术,使用甲醇、水、甲酸(50:50:0.1, V:V:V)混合溶剂作解吸溶剂,可以实现食品中的恩诺沙星的检测。

DART 离子化的原理是样品放置于离子源气体出口和质谱的采样锥口之间,氦气或氮气外接气体放电产生激发态的原子,经过加热以及电场加速作用,瞬间解吸并使样品表面的化合物分子离子化,进入质谱分析。样品的前处理步骤简单,且对样品的状态(气体、液体、固体)和形状没有要求。所以 DART-MS 可以用于分析食品样品,应用范围较广,涉及食品组成成分分析^[41,42],食品质量监控^[43,44],食品非法添加物^[45,46]以及有害物^[47,48]的检测及鉴定等。许森等^[49]研究了蜂蜜中氯霉素、磺胺嘧啶、磺胺吡啶、磺胺噻唑、磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺二甲氧嘧啶等 7 种抗生素的 DART-MS/MS 检测方法,检出限为 0.1~0.5 $\mu\text{g/kg}$ 。

PS-MS 由美国普渡大学的 R.Graham cooks 实验室开发,将分析物样本添加到纸面上,在高压电源与洗脱液的作用下,在纸片尖端产生喷雾,分析物进入质谱进行检测,能有效进行待测物的定性定量分析^[40]。该方法操作简单快

速高效, 可以对复杂基质的实际样本进行快速的分析检测。目前已有报道将纸喷雾质谱应用于食品中食品污染物的检测当中^[50,51], 此外, 一些新型喷雾质谱陆续被报道出来, 比如玻璃棒喷雾质谱^[52]、钨丝喷雾质谱^[53,54]、木尖喷雾质谱^[55]、刀片喷雾质谱^[56]、涂层探针质谱^[57]等。另外, 分子印迹技术与纸喷雾质谱^[58]及木尖喷雾质谱^[59]的结合, 既可以选择性的富集复杂食品基质中待测物, 提高检测灵敏度, 又能有效缩短检测时间, 为动物源性食品中的抗生素快速检测研究提出了新的研究方向。

5 总 结

综上, 针对动物源性食品中抗生素残留的快速检测方法种类很多, 优缺点各异, 常见免疫检测方法中, ELISA 检测灵敏度和特异性高, 检测通量较高, 但对操作细节和环境要求较高; 胶体金法操作简单、检测速度快, 但易出现假阳性, 需用其他方法确证。生物传感器技术应用广泛, 灵敏度高、选择性好、样品消耗少, 微型化, 可实现现场连续快速检测, 通过开发制备特异性识别不同抗生素的分子印迹聚合物和核酸适配体, 有效弥补抗体种类少的缺陷, 在动物源性食品中抗生素的快速检测领域具有很大发展潜力。SERS 检测无样品前处理但定量结果不好; 近红外光谱检测背景噪音较大, 较难有效分析, 但与化学计量学方法的联用, 可以实现有效的定量定性, 在抗生素的检测方面具有较大发展空间; 生物芯片技术在抗生素的检测方面应用较少, 自身存在局限性, 目前发展不成熟; 敞开式离子源质谱检测技术是近年来发展较快的一项快速分析技术, 在食品的抗生素快速检测方面有很大的应用潜力。因此, 在实际应用时, 需根据研究目的以及检测要求选择应用方法, 也可以多种方法互为佐证, 互相补充, 从而得到更为准确的检测结果。

参考文献

- [1] 朱正威, 张北, 史保贵, 等. 抗生素检测技术研究进展[J]. 辽宁化工, 2018, 47(9): 973-974, 977.
Zhu ZW, Zhang B, Shi BG, *et al.* Advances in antibiotic detection technology [J]. Liaoning Chem Ind, 2018, 47(9): 973-974, 977.
- [2] Gorla N, Garripa OH, Larripa I. Chromosomal aberrations in human lymphocytes exposed *in vitro* to enrofloxacin and ciprofloxacin [J]. Toxicol Letters. 1999, 104(1-2): 43-48.
- [3] Lebel M. Ciprofloxacin: Chemistry, mechanism of action, resistance, antimicrobial spectrum, pharmacokinetics, clinical trials, and adverse reactions [J]. Pharmacotherapy, 1988, 8(1): 3-33.
- [4] GB/T 21312-2007 食品安全国家标准 动物源性食品中 14 种喹诺酮类药物残留检测方法液相色谱-质谱/质谱法: 食品中农药最大残留限量[S]. GB/T 2763-2007 National food safety standard-Determination of 14 quinolone drug residues in food of animal origin - liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry: Maximum pesticide residue limits in food [S].
- [5] Zhang YL, Lu SX, Zhao CB, *et al.* Preparation of anti-tetracycline antibodies and development of an indirect heterologous competitive enzyme-linked immunosorbent assay to detect residues of tetracycline in milk [J]. J Agric Food Chem, 2007, 55(2): 211-218.
- [6] 邢玮玮. 酶联免疫吸附法在食品安全检测中的应用综述[J]. 柳州职业技术学院学报, 2018, 18(1): 121-125.
Xing WW. Review on the application of enzyme-linked immunosorbent in food safety detection [J]. J Liuzhou Voca Technol Coll, 2018, 18(1): 121-125.
- [7] 肖韡, 买娜, 王旭峰, 等. 酶联免疫吸附法在植物性食品安全检测中的应用[J]. 食品科学, 2006, (12): 920-923.
Xiao W, Mai N, Wang XF, *et al.* The application of enzyme-linked immunosorbent method in the detection of plant food safety [J]. Food Sci, 2006, (12): 920-923.
- [8] 郭军, 张和平. 乳及乳制品中抗生素类兽药残留快速检测技术[J]. 中国乳品工业, 2004, 32(12): 30-35.
Guo J, Zhang HP. Rapid detection technology for antibiotic and veterinary drug residues in milk and dairy products [J]. Chin Dairy Ind, 2004, 32(12): 30-35.
- [9] 李小会, 李海星, 段亚军. 免疫分析技术在乳及乳制品抗生素类兽药残留检测中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(4): 776-780.
Li XH, Li HX, Duan YJ. Application of immunoassay in the detection of antibiotic and veterinary drug residues in milk and dairy products [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(4): 776-780.
- [10] Li XM, Shen JZ, Wang Q, *et al.* Multi-residue fluorescent microspheres immunochromatographic assay for simultaneous determination of macrolides in raw milk [J]. Anal Bioanal Chem, 2015, 407(30): 9125-9133.
- [11] 江羚, 曾昆, 邵杰, 等. 四环素类抗生素快速分析方法研究进展[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(8): 15-21.
Jiang L, Zeng K, Shao J, *et al.* Advances in the rapid analysis of tetracycline antibiotics [J]. Jiangsu Agric Sci, 2018, 46(8): 15-21.
- [12] Wang S, Yong W, Liu JH, *et al.* Development of an indirect competitive assay-based aptasensor for highly sensitive detection of tetracycline residue in honey [J]. Biosens Bioelectron, 2014, 57(21): 192-198.
- [13] Wang J, Sang YX, Liu WH, *et al.* The development of a biomimetic enzyme-linked immunosorbent assay based on the molecular imprinting technique for the detection of enrofloxacin in animal-based food [J]. Anal Methods, 2017, 9: 6682-6688.
- [14] 邓家璐, 陆利霞, 熊晓辉, 等. 兽药残留快速检测方法比较分析[J]. 生物加工过程, 2018, 2(6): 42-48.
Deng JL, Lu LX, Xiong XH, *et al.* Comparative analysis of rapid detection methods for veterinary drug residues [J]. Chin J Biopro Eng, 2018, 2(6): 42-48.
- [15] 赵福民, 熊雅婷, 钱博, 等. 乳品中多种抗生素残留胶体金检测方法研究[J]. 食品工业, 2018, 39(9): 135-139.
Zhao FM, Xiong YT, Qian B, *et al.* Study on detection methods of colloidal gold of multiple antibiotic residues in dairy products [J]. Food Ind, 2018, 39(9): 135-139.
- [16] 万宇平, 赵正苗, 汪善良, 等. 胶体金免疫层析法快速检测牛奶中氟喹诺酮类药物残留[J]. 中国奶牛, 2013, (11): 45-49.
Wang YP, Zhao ZM, Wang SL, *et al.* Colloidal gold immunochromatography was used to rapidly detect fluoroquinolones in

- milk [J]. *China Dairy Cattle*, 2013, (11): 45–49.
- [17] Hu GS, Sheng W, Li SJ, *et al.* Quantum dot based multiplex fluorescence quenching immune chromatographic strips for the simultaneous determination of sulfonamide and fluoroquinolone residues in chicken samples [J]. *RSC Adv*, 2017, 7(49): 31123–31128.
- [18] 蒋雪松, 许林云, 卢利群, 等. 生物传感器在食品污染物检测中的应用研究进展[J]. *食品科学*, 2013, 34(23): 357–362.
Jiang XS, Xu LY, Lu LQ, *et al.* Advances in the application of biosensors in the detection of food contaminants [J]. *Food Sci*, 2013, 34(23): 357–362.
- [19] 陈强, 邴乃慈, 谢洪勇, 等. 不同环境介质中抗生素的污染现状及其检测方法研究进展[J]. *环境监控与预警*, 2017, 9(5): 24–31.
Chen Q, Bing NC, Xie HY, *et al.* Research progress of antibiotic pollution in different environmental media and its detection methods [J]. *Environ Monitor Forewarn*, 2017, 9(5): 24–31.
- [20] Liu X, Zheng S, Hu YX, *et al.* Electrochemical immunosensor based on the chitosan–magnetic nanoparticles for detection of tetracycline [J]. *Food Anal Method*, 2016, 10(9): 2972–2978.
- [21] Hassani NEAE, Baraket A, Neto ETT, *et al.* Novel strategy for sulfapyridine detection using a fully integrated electrochemical Bio–MEMS: Application to honey analysis [J]. *Biosens Bioelectron*, 2017, 93: 282–288.
- [22] Wu SJ, Zhang H, Shi Z, *et al.* Aptamer–based fluorescence biosensor for chloramphenicol determination using up–conversion nanoparticles [J]. *Food Control*, 2015, 50: 597–604.
- [23] Zhang S, Ma L, Ma K, *et al.* Label–free aptamer–based biosensor for specific detection of chloramphenicol using aie probe and graphene oxide [J]. *ACS Omega*, 2018, 3(10): 12886–12892.
- [24] Torkashvanda M, Gholivanda MB, Malekzadehba GH. Construction of a new electrochemical sensor based on molecular imprinting recognition sites on multiwall carbon nanotube surface for analysis of ceftazidime in real samples [J]. *Sensor Actuat B–Chem*, 2016, 231: 759–767.
- [25] 马文娟, 姜金融. 基于生物传感器的动物源性制品中抗生素残留检测技术新进展[J]. *安徽农业科学*, 2018, 46(18): 22–24, 28.
Ma WJ, Jiang JR. Advances in the detection of antibiotic residues in animal–derived products based on biosensors [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2018, 46(18): 22–24, 28.
- [26] Craig AP, Franca AS, Irudayaraj J. Surface–enhanced raman spectroscopy applied to food safety [J]. *Annu Rev Food Sci Technol*, 2013, 4(1): 369–380.
- [27] He LL, Lin MS, Li H, *et al.* Surface–enhanced Raman spectroscopy coupled with dendritic silver nanosubstrate for detection of restricted antibiotics [J]. *J Raman Spectrosc*, 2009, 41: 739–44.
- [28] 费定文. 基于表面增强拉曼散射的氯霉素类抗生素快速检测方法的研究[D]. 上海: 上海师范大学, 2018.
Fei DW. Rapid detection of chloramphenicol antibiotics based on surface enhanced Raman scattering [D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2018.
- [29] Lê LMM, Eveleigh L, Hasnaoui IE, *et al.* Rapid discrimination and determination of antibiotics drugs in plastic syringes using near infrared spectroscopy with chemometric analysis: Application to amoxicillin and penicillin [J]. *J Pharm Biomed*, 2017, 138: 249–255.
- [30] 赵武奇, 谷月, 李晓丹, 等. 牛奶中青霉素近红外光谱定量分析[J]. *中国酿造*, 2012, 12: 124–127.
Zhao WQ, Gu Y, Li XD, *et al.* Quantitative analysis of penicillin in milk by near infrared spectroscopy [J]. *China Brewing*, 2012, 12: 124–127.
- [31] 穆小婷, 董文宾, 王玲玲, 等. 特异性生物芯片在乳品检测中的应用[J]. *中国乳品工业*, 2014, 42(2): 38–40, 43.
Mu XT, Dong WB, Wang LL, *et al.* Application of specific biochip in dairy products testing [J]. *China Dairy Ind*, 2014, 42(2): 38–40, 43.
- [32] Li Z, Li Z, Sun S. Visualized biochip and method for simultaneously detecting a variety of antibiotics, illegal additives and biotoxins, America, 14/893, 756 [P]. 2016.
- [33] Knecht BG, Strasser A, Dietrich R, *et al.* Automated microarray system for the simultaneous detection of antibiotics in milk [J]. *Anal Chem*, 2004, 76(3): 646–654.
- [34] Espy RD, Teunissen SF, Manicke NE, *et al.* Paper spray and extraction spray mass spectrometry for the direct and simultaneous quantification of eight drugs of abuse in whole blood [J]. *Anal Chem*, 2014, 86(15): 7712–7718.
- [35] Shi RZ, Gierari ETME, Manicke NE, *et al.* Rapid measurement of tacrolimus in whole blood by paper spray–tandem mass spectrometry (PS–MS/MS) [J]. *Clin Chim Acta*, 2015, 441: 99–104.
- [36] Lu HY, Zhang H, Chingin K, *et al.* Ambient mass spectrometry for food science and industry [J]. *Trac–Trend Anal Chem*, 2018, 107: 99–115.
- [37] Takats Z, Wiseman JM, Gologan B, *et al.* Mass spectrometry sampling under ambient conditions with desorption electrospray ionization [J]. *Science*, 2004, 306(5693): 471–473.
- [38] Zeng SS, Wang L, Chen T, *et al.* Direct analysis in real time mass spectrometry and multivariate data analysis: a novel approach to rapid identification of analytical markers for quality control of traditional Chinese medicine preparation [J]. *Anal Chim Acta*, 2012, 733: 38–47.
- [39] Wang H, Liu JJ, Cooks RG, *et al.* Paper spray for direct analysis of complex mixtures using mass spectrometry [J]. *Angew Chem Int Edit*, 2010, 49(5): 877–880.
- [40] Nielen MWF, Hooijerink H, Marchesini GR, *et al.* DESI mass spectrometry on a surface plasmon resonance bioaffinity chip [C]. Poster, 18th Int. Mass Spectrom. Conf, Bremen, Germany, 2009.
- [41] BaiY, Zhang JL, Liu HW. Direct analysis in real time mass spectrometry combined with single–drop liquid–liquid–liquid microextraction for the rapid analysis of multiple phytohormones in fruit juice [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2012, 403(8): 2307–2314.
- [42] Morlock GE, Ristivojevic P, Chernetsova ES. Combined multivariate data analysis of high performance thin layer chromatography fingerprints and direct analysis in real time mass spectra for profiling of natural products like propolis [J]. *J Chromatogr A*, 2014, 1328: 104–112.
- [43] Avula B, Smillie TJ, Wang YH, *et al.* Authentication of true cinnamon (*Cinnamon verum*) utilising direct analysis in real time (DART)–QToF–MS [J]. *Food Addit Contam A*, 2015, 32(1): 1–8.
- [44] Hrbek V, Vaclavik L, Elich O, *et al.* Authentication of milk and milk–based foods by direct analysis in real time ionization–high resolution mass spectrometry (DART–HRMS) technique: A critical assessment [J]. *Food Control*, 2014, 36(1): 138–145.
- [45] Vaclavik L, Rosmus J, Popping B, *et al.* Rapid determination of melamine and cyanuric acid in milk powder using direct analysis in real time–time–of–flight mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2010,

- 1217(25): 4204–4211.
- [46] Li Z, Zhang YW, Zhang YD, *et al.* Rapid analysis of four Sudan dyes using direct analysis in real time–mass spectrometry [J]. *Anal Methods*, 2015, 7(1): 86–90.
- [47] Self RL, Wu WH. Rapid qualitative analysis of phthalates added to food and nutraceutical products by direct analysis in real time/orbitrap mass spectrometry [J]. *Food Control*, 2012, 25(1): 13–16.
- [48] Self RL. Direct analysis in real time–mass spectrometry (DART–MS) for rapid qualitative screening of toxic glycols in glycerin–containing products [J]. *J Pharmaceut Biomed*, 2013, 80: 155–158.
- [49] 许森. 复杂基质样品中抗生素的实时直接分析质谱筛查技术研究[D]. 北京: 中国地质大学, 2015.
- Xu S. Real–time direct analysis of antibiotics in complex matrix samples by mass spectrometry screening technique [D]. Beijing: China University of Geosciences, 2015.
- [50] Zhang Z, Cooks RG, Ouyang Z. Paper spray: A simple and efficient means of analysis of different contaminants in foodstuffs [J]. *Analyst*, 2012, 137: 2556–2558.
- [51] Su Y, Ma XX, Ouyang Z. Rapid screening of multi–class antimicrobial residues in food of animal origin by paper spray mass spectrometry [J]. *Int J Mass Spec*, 2018, 434: 233–239.
- [52] Jeng J, Shiea J. Electrospray ionization from a droplet deposited on a surfacemodified glass rod [J]. *Rapid Commun Mass SP*, 2003, 17(15): 1709–1713.
- [53] Gong XY, Zhao YY, Cai SQ, *et al.* Single cell analysis with probe ESI–mass spectrometry: Detection of metabolites at cellular and subcellular levels [J]. *Anal Chem*, 2014, 86(8): 3809–3816.
- [54] Deng JW, Yang YY, Xu MZ, *et al.* Surface–coated probe nanoelectrospray ionization mass spectrometry for analysis of target compounds in individual small organisms [J]. *Anal Chem*, 2015, 87(19): 9923–9930.
- [55] Deng JW, Yu TT, Yao Y, *et al.* Surface–coated wooden–tip electrospray ionization mass spectrometry for determination of trace fluoroquinolone and macrolide antibiotics in water [J]. *Anal Chim Acta*, 2016, 954: 52–59.
- [56] Gómez–Ríos G, Tascon M, Pawliszyn, J. Coated blade spray: Shifting the paradigm of direct sample introduction to MS [J]. *Bioanalysis*, 2018, 10(4): 257–271.
- [57] Da SLC, De CaTC, Pereira I, *et al.* Molecularly imprinted polymer–coated probe electrospray ionization mass spectrometry determines phorbol esters and deoxyphorbol metabolites in jatropha curcas leaves [J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2019, 30(10): 2051–2059.
- [58] Li TY, Fan LS, Wang YF, *et al.* Molecularly imprinted membrane electrospray ionization for direct sample analyses [J]. *Anal Chem*, 2017, 89: 1453–1458.
- [59] Liu YH, Yang QX, Chen XT, *et al.* Sensitive analysis of trace macrolide antibiotics in complex food samples by ambient mass spectrometry with molecularly imprinted polymer–coated wooden tips [J]. *Talanta*, 2019, 204: 238–247.

(责任编辑: 王 欣)

作者简介



田红静, 硕士研究生, 主要研究方向为药物分析与食品分析。

E-mail: TianHJTX@163.com



张 峰, 博士, 研究员, 主要研究方向为分析化学。

E-mail: fengzhang@126.com