

适配体增强金纳米粒子类过氧化物酶活性快速检测鸡蛋中的恩诺沙星

冯月月, 张丹枫, 付廷锐, 周志娥, 耿响, 杜娟*

(江西农业大学食品科学与工程学院, 南昌 330045)

摘要: **目的** 利用核酸适配体增强金纳米粒子类过氧化物酶(peroxidase, POD)活性, 建立了一种快速检测鸡蛋中恩诺沙星的方法。**方法** 金纳米粒子具有类 POD 活性, 能催化 H_2O_2 氧化 3,3'-5,5' 四甲基联苯胺(3,3'-5,5'-tetramethylbenzidine, TMB)反应, 加入核酸适配体后, 适配体通过 Au-N 键吸附于金纳米粒子表面, 使催化活性增强; 进一步加入靶标物恩诺沙星后, 核酸适配体与靶标物特异性结合而脱离金纳米粒子表面, 使催化活性减弱。基于此建立了恩诺沙星比色检测方法, 优化了反应条件, 并将其用于鸡蛋样品检测中。**结果** 在核酸适配体浓度为 10 nmol/L, TMB 浓度为 0.3 mmol/L, 显色反应时间为 20 min 时, 反应体系的吸光度变化随恩诺沙星浓度在 5~150 $\mu\text{mol/L}$ 范围内具有良好的线性关系, 检出限为 1.98 $\mu\text{mol/L}$ 。该方法具有良好的选择性和抗干扰能力, 将此法用于鸡蛋中的恩诺沙星的检测, 加标回收率为 92.67%~109.04%。**结论** 该方法简便快速, 为鸡蛋中恩诺沙星检测提供了一种新的尝试方法。

关键词: 金纳米粒子; 类过氧化物酶; 核酸适配体; 恩诺沙星

Aptamer enhanced gold nanoparticle peroxidase activity for enrofloxacin rapid detection

FENG Yue-Yue, ZHANG Dan-Feng, FU Ting-Rui, ZHOU Zhi-E, GENG Xiang, DU Juan*

(College of Food Science and Engineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

ABSTRACT: Objective To establish a rapid method for the determination of enrofloxacin in egg by using aptamer to enhance the peroxidase (POD) activity of gold nanoparticles. **Methods** Gold nanoparticles had POD-like activity, which could catalyze the oxidation of 3,3'-5,5' tetramethylbenzidine (TMB) with H_2O_2 . After adding aptamer, the aptamer was adsorbed on the surface of gold nanoparticles by Au-N bond, which enhanced the catalytic activity. After further addition of the target enrofloxacin, the aptamer specifically binded to the target and leaves the surface of AuNPs, which weakened the catalytic activity. Based on this, the colorimetric detection method of enrofloxacin was established, the reaction conditions were optimized, and it was used in the detection of egg samples. **Results** When the concentration of aptamer was 10 nmol/L, the concentration of TMB was 0.3 mmol/L, and the color reaction time was 20 min, the absorbance change of the reaction system had a good linear relationship with the concentration of enrofloxacin in the range of 5~150 $\mu\text{mol/L}$, and the limit of detection was 1.98 $\mu\text{mol/L}$. This method showed good

基金项目: 国家自然科学基金项目(31901774)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (31901774)

*通信作者: 杜娟, 博士, 副教授, 主要研究方向为兽药残留快速检测。E-mail: dujuanjulia@163.com

*Corresponding author: DU Juan, Ph.D, Associate Professor, College of Food Science and Engineering, Jiangxi Agricultural University, No.1101, Qingshan Lake District, Nanchang 330045, China. E-mail: dujuanjulia@163.com

selectivity and anti-interference ability, and could be used in the detection of enrofloxacin in eggs, with the spiked recovery rate 92.67%–109.04%. **Conclusion** This method is simple and rapid, and provides a new attempt for the rapid detection of enrofloxacin in eggs.

KEY WORDS: gold nanoparticles; peroxidase; aptamer; enrofloxacin

0 引言

恩诺沙星(乙基环丙沙星/恩氟沙星, enrofloxacin, ENR), 是动物专用的第三代喹诺酮类抗菌药, 用于鸡伤寒、鸡支原体和鸡白痢等疾病治疗有较好的疗效^[1-3], 且具有价格低廉、广谱高效等优点, 因而被广泛应用于家禽养殖业。GB 31650—2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》规定, ENR(以 ENR 和环丙沙星之和计)在家禽的肌肉中最高残留限量为 100 mg/kg, 在产蛋鸡中禁用(鸡蛋中不得检出)。但近年来鸡蛋产品中检出 ENR 及其主要代谢物的案例时有发生。ENR 残留的检测方法主要有高效液相色谱法^[4]、高效液相色谱-串联质谱法^[5-6]、酶联免疫吸附法^[7]、荧光法^[8-9]等。现有方法普遍存在前处理过程烦琐且消耗大量的有机试剂、操作复杂、耗时长、成本高等缺点, 因此, 建立一种快速、高效的检测方法很有必要。

酶是一种高效的生物催化剂, 是生物体内化学反应和各种生物过程顺利进行的关键。天然酶可以高效、具有选择性地催化和加速代谢过程中的化学反应^[10], 但其价格昂贵、稳定性差, 对储存条件要求高, 并且变性的风险大, 导致其在实际应用受到很大限制^[11-13]。纳米材料与天然酶在尺寸、形状以及表面电荷方面具有相似之处^[14], 故具有一定的酶活性, 且制备简单、稳定性好、可重复利用、成本低, 有很好的应用前景^[15-16]。近些年金纳米粒子(gold nanoparticles, AuNPs)的类过氧化物酶(peroxidase, POD)活性正得到广泛关注^[12,17-19], 对其进行表面修饰可改善其活性^[20], 其中利用核酸适配体增强活性的应用已有报道^[17,21-22]。

核酸适配体(aptamer, Apt)是一种能与靶标分子特异性结合的 DNA 或 RNA 片段, 具有较高的特异性和亲和力^[23], 且易于化学合成和修饰, 作为靶标识别元素其比抗体更有潜力^[24], 常被广泛应用于生物传感检测体系中^[17,21,25]。目前已有利用适配体增强纳米材料类 POD 活性的报道, 并已用于四环素及卡那霉素的检测中^[17,22]。研究表明, 核酸适配体可通过 N 元素与 Au 元素形成 Au-N 键吸附于金纳米粒子表面, 引起金纳米粒子类 POD 催化活性增强^[22,26]。

目前已有利用 ENR 核酸适配体检测 ENR 的报道^[27], 尚未见利用其增强金纳米粒子类 POD 活性以实现 ENR 检测的研究报道。本研究拟利用 ENR 核酸适配体增强金纳米粒子的类 POD 活性及核酸适配体的特异性结合能力, 对 ENR 残留量快速检测进行研究, 为鸡蛋中 ENR 快速检测应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

鸡蛋购买于当地超市。

ENR、氟苯尼考(flornfenicol, FFC)、培氟沙星(pefloxacin, PEF)、盐酸沙拉沙星(sarafloxacin hydrochloride, SAR)、氧氟沙星(ofloxacin, OFL)、氯霉素(chloramphenicol, CAP)[纯度 98%, 金克隆(北京)生物技术有限公司]; 洛美沙星(lomefloxacin, LOM, 纯度 97%)、3,3',5,5'-四甲基联苯胺(3,3'-5,5'-tetramethylbenzidine, TMB, 纯度 98%)(上海麦克林生化科技有限公司); 柠檬酸三钠(分析纯, 西陇科学股份有限公司); 30% H₂O₂、无水硫酸钠(分析纯, 天津市永大化学试剂开发中心); 乙酸乙酯、正己烷(分析纯, 天津市大茂化学试剂厂); 氨水(分析纯, 南昌鑫光精细化工厂); 氯金酸(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 硫酸(分析纯, 安徽金粤冠新材料科技有限公司)。

使用的 ENR 适配体购买于生工生物工程(上海)股份有限公司, 序列号为: 5'-CCCATCAGGGGGCTAGGCTAACACGGTTCGGCTCTCTGAGCCCGGGTTATTTCAGGGGA-3'^[27]。

SPECORD2W 紫外可见分光光度计(德国耶拿公司); HC-2518R 高速冷冻离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司); Multiskan FC 型酶标仪[赛默飞世尔(上海)仪器有限公司]; Nano ZS90 纳米粒度仪(英国 Malvern 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 金纳米粒子的合成

取用王水浸泡并冲洗干净、烘干后的小锥形瓶, 加入 20 mL 超纯水和 0.5 mL 1% HAuCl₄ 在磁力搅拌下加热至沸腾后迅速加入 2 mL 1% 柠檬酸钠, 反应 15 min。后继续在不加热条件下反应 30 min, 溶液由无色变成酒红色, 说明生成 AuNPs。超纯水定容至 25 mL 后 4℃保存备用^[28]。

1.2.2 ENR 快速检测方法的建立

反应总体积为 2500 μL, 取 500 μL 金纳米粒子、500 μL 核酸适配体至 5 mL 离心管中孵育 30 min, 加入 200 μL 靶标物 ENR 孵育 5 min, 再加入 250 μL TMB 和 200 μL 30% H₂O₂ 反应 20 min, 加入适量水, 最后加入 200 μL 2 mol/L H₂SO₄ 终止液。在 400~800 nm 波长范围内扫描其紫外光谱, 记录其 450 nm 处的吸光值。分别对核酸适配体浓度(终浓度 1~25 nmol/L)、TMB 浓度(终浓度 0.1~1.0 mmol/L)以及反应时间(10~50 min)进行优化。

1.2.3 标准曲线的建立及特异性、抗干扰能力的测定

在最优检测条件下,向反应体系中加入不同浓度(5~150 $\mu\text{mol/L}$)的 ENR 溶液,记录不同浓度下 450 nm 处的吸光度值,Origin 作图得出标准曲线与曲线方程。通过计算得到检出限(limit of detection, LOD)和定量限(limit of quantitation, LOQ)。分别向体系中加入 FFC、PEF、SAR、OFL、CAP、LOM,在类似条件下进行反应,考察反应体系的特异性及抗干扰能力。

1.2.4 加标回收实验

鸡蛋去壳,均质后移取 5 mL 至 50 mL 离心管中,加入 5 mmol/L ENR 标准品(终浓度分别为 16.67、50.00、100.00 $\mu\text{mol/L}$),随后加入 15 mL 乙酸乙酯、0.45 mL 氨水以及 5 g 无水硫酸钠,涡旋 1 min,超声 15 min,以 4000 r/min 离心 5 min 后,将上清液转移至 50 mL 离心管中。在残渣中加入 10 mL 乙酸乙酯,0.45 mL 氨水,重复提取一次,离心后,将上清液合并至 50 mL 离心管中,用乙酸乙酯定容到 30 mL。摇匀后取 10 mL 于 25 mL 圆底烧瓶中,45 $^{\circ}\text{C}$ 旋转浓缩蒸干。后用超纯水超声溶解,加入 3 mL 正己烷,静置分层,弃掉上层的正己烷,重复操作一次,合并水相溶液,移取 1 mL 于 5 mL 离心管中,10000 r/min 离心 5 min,0.22 $\mu\text{mol/L}$ 的滤膜过滤。取 20 μL 样品溶液,参照 1.2.2 实验方法,测定其吸光度值,根据标准曲线求得 ENR 含量,并计算其回收率。

1.2.5 实际样品检测

参照 1.2.4 加标回收的样品处理方法对购买的鸡蛋样品进行处理。取 20 μL 样品溶液,参照 1.2.2 实验方法对样品中的 ENR 进行快速测定,记录 450 nm 处吸光度,根据标准曲线求得是否含有 ENR。

1.3 数据处理

通过 SPECORD2W 紫外可见分光光度计和 Multiskan FC 型酶标仪完成数据采集,使用 Microsoft Excel 2019 进行数据处理,结果用平均值 \pm 标准偏差表示,每项实验重复 3 次。

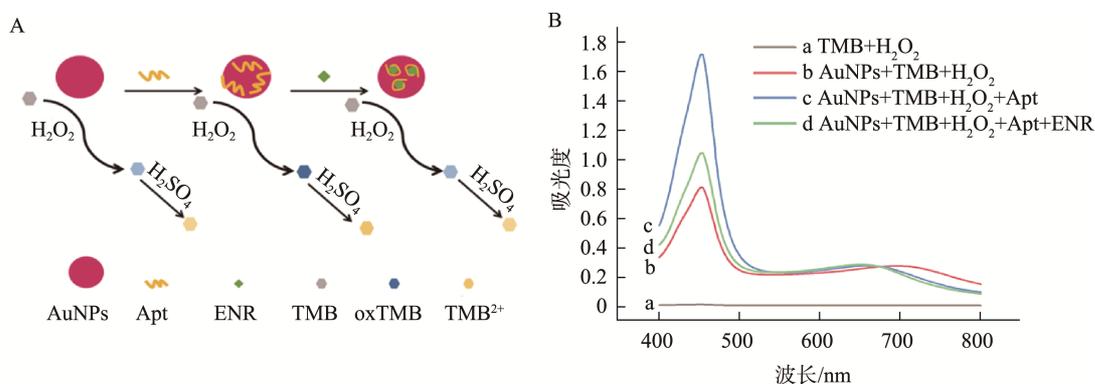
2 结果与分析

2.1 ENR 快速检测方法的建立

金纳米粒子具有类 POD 活性,能够催化 H_2O_2 分解产生羟基自由基($\cdot\text{OH}$),羟基自由基进一步氧化 TMB 反应,生成蓝色的 oxTMB,加入终止液硫酸后,生成黄色的 TMB^{2+} ,氧化反应停止,最大吸收峰位于 450 nm 处。核酸适配体通过 N 元素与 Au 元素形成 Au-N 键吸附于金纳米粒子表面,经核酸适配体修饰后,金纳米粒子由于静电排斥而变得更加分散,造成更多活性位点暴露,增强催化活性,引起吸光度升高^[22]。加入靶标物 ENR 后,适配体优先和靶标发生特异性结合,从金纳米粒子表面脱落,反应体系吸光度下降,由此建立方便、快速、灵敏、可视化的 ENR 比色检测方法,如图 1A 所示。图 1B 是不同反应条件下 H_2O_2 氧化 TMB 的紫外光谱图。由图 1B 所示:在未加入金纳米粒子时, H_2O_2 和 TMB 几乎不反应,曲线无明显吸收峰;加入金纳米粒子后,金纳米粒子催化 H_2O_2 氧化 TMB,在 450 nm 处出现最大吸收峰;加入核酸适配体后,450 nm 处吸收峰强度增大,说明核酸适配体增强了金纳米粒子的催化活性;加入靶标物 ENR 后,核酸适配体与靶标特异性结合,从金纳米粒子表面脱离,降低了金纳米粒子的催化活性,450 nm 处的吸光度值降低。分别测量了核酸适配体结合前后金纳米材料的水合粒径和 Zeta 电位,结果如图 2 所示。金纳米粒子与核酸适配体结合后,金纳米材料的水合粒径由 37.96 nm 增大至 38.57 nm; Zeta 电位显示金纳米粒子和核酸适配体都带负电,二者结合后电位由 -27.93 mV 变为 -29.47 mV,说明带负电的核酸适配体已成功结合于金纳米粒子的表面。

2.2 反应条件的优化

分别对反应体系的核酸适配体浓度、TMB 浓度、反应时间进行了优化,结果如图 3 所示。不同核酸适配体浓度对金纳米粒子的类 POD 活性的增强作用不同,如图 3A



注: A 为 ENR 检测原理图; B 为不同反应条件下 H_2O_2 氧化 TMB 的紫外光谱图。

图 1 反应发生图

Fig.1 Occurrence graph of reaction

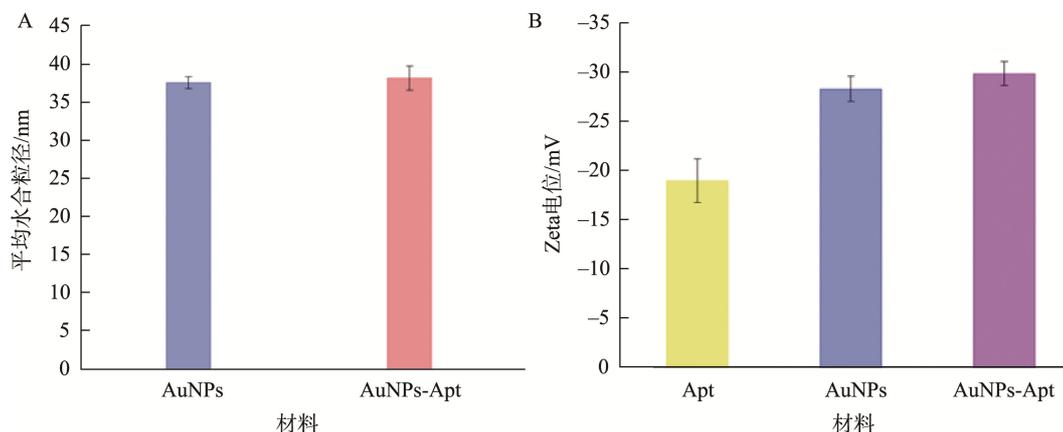


图2 金纳米粒子、金纳米粒子-适配体的平均水合粒径图和金纳米粒子、适配体、金纳米粒子-适配体的 Zeta 电位图
Fig.2 Average hydration particle size diagram of gold nanoparticles, gold nanoparticles-aptamers and Zeta potential diagram of gold nanoparticles, aptamers, gold nanoparticles-aptamers

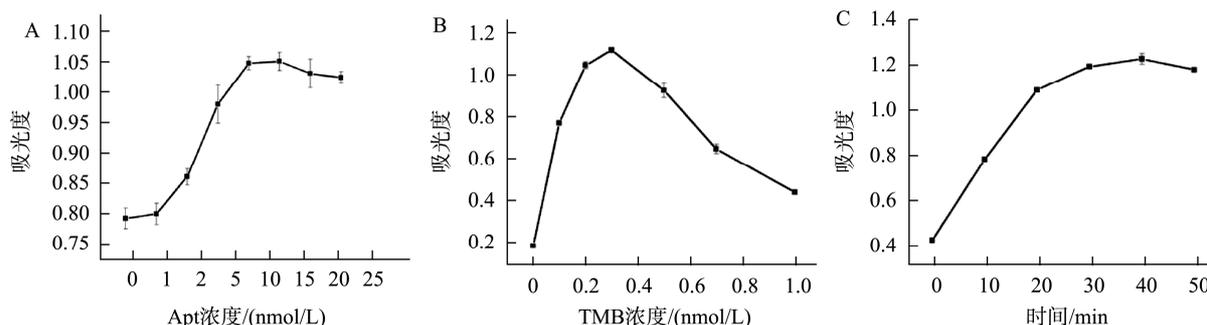


图3 反应条件优化
Fig.3 Optimization of reaction conditions

随着核酸适配体浓度的增加,吸光度逐渐上升;当核酸适配体浓度达到 10 nmol/L 以上,曲线趋于平缓略有下降的趋势。10 nmol/L 和 15 nmol/L 处的吸光度值相差不大,考虑到节约成本,故选择 10 nmol/L 作为反应最佳核酸适配体浓度。反应的催化程度与底物浓度有关,故需要对底物浓度进行优化。本研究用到的 H_2O_2 量视为不变,只需要研究 TMB 的浓度对反应的影响即可。如图 3B 是不同 TMB 浓度下反应体系的吸光度情况,过高或过低的 TMB 浓度都会导致吸光度减弱,当 TMB 浓度达到 0.3 mmol/L 时,反应吸光度值最大。故选择 0.3 mmol/L 作为反应最佳 TMB 浓度。酶促反应需要一定的时间,故需要对反应时间进行优化。如图 3C 是不同反应体系吸光度随时间变化情况,随着时间的增加,反应体系吸光度快速上升,催化活性快速增强,当反应时间达到 20 min 以上,增长幅度趋缓。考虑到快速检测需要,在不影响反应的情况下选择 20 min 作为最佳反应时间。

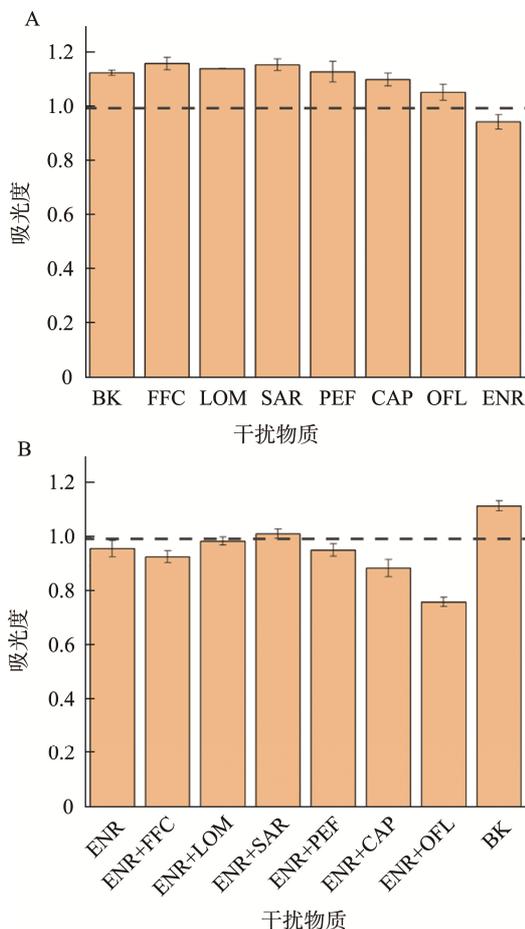
2.3 标准曲线的建立及特异性、抗干扰能力的测定

在最优检测条件下,将不同浓度(5~150 $\mu\text{mol/L}$)的 ENR 加入反应体系中,记录不同浓度下 450 nm 处的吸光度值,得到反应体系吸光度随 ENR 浓度变化关系。在 5~150 $\mu\text{mol/L}$

范围内,反应体系的吸光度随 ENR 浓度的增大而逐渐降低,线性方程为 $Y=-0.00218X+1.10827$ ($r^2=0.9996$), $\text{LOD}=1.98 \mu\text{mol/L}$ ($3\text{sd}/k$)。选取鸡蛋中潜在的干扰物质 FFC、PEF、SAR、OFL、CAP、LOM,在反应体系中加入或不加入靶标物 ENR,再分别将干扰物质添加到反应溶液中,在类似条件下进行反应,考察反应体系的特异性及抗干扰能力,结果如图 4。如图 4A 所示,干扰物质所在体系吸光度均高于 ENR 体系,表明核酸适配体只与靶标物 ENR 特异性结合而从纳米金表面脱落,导致反应催化活性减弱。如图 4B 所示,反应体系中只加 ENR 测得吸光值与 ENR 加干扰物质测得吸光值相差不大,说明反应体系未受到其他兽药的干扰,反应出该检测方法具有较好的抗干扰能力。

2.4 加标回收实验

选取鸡蛋样品进行加标回收实验,加入 3 种不同浓度的 ENR 标准品,计算样品回收率。同时,对空白样品进行 ENR 的检测。由表 1 可知,空白样品中未检出 ENR,不同加标量样品的回收率在 92.67%~109.04% 范围内,相对标准偏差小于等于 3.77%,说明本方法准确度高、精密度好,在 ENR 测定实际应用中具有良好的应用前景。



注: A 为 ENR 检测的特异性; B 为 ENR 检测的抗干扰能力。

图 4 ENR 检测的特异性和抗干扰能力

Fig.4 Specificity and anti-interference ability of ENR detection

2.5 实际样品检测

对购买的鸡蛋样品进行 ENR 的检测, 均未检出 ENR, 说明其含量低于 LOD。

2.6 不同检测方法比较

表 2 是该方法与其他检测方法进行比较的情况, 现有对 ENR 进行检测的方法有很多种, 如高效液相色谱法、高效液相色谱-串联质谱法、荧光法等, 但其普遍具有前处理过程烦琐、操作复杂、仪器贵重、检测时间长等缺点, 相比较得, 该方法不需要使用大型仪器、且操作简便快速, 在 1 h 内就可以完成检测, 在实际应用中具有一定的优势。

表 1 实际样品中 ENR 的测定
Table 1 Determination of ENR in real samples

样品	加入量 /($\mu\text{mol/L}$)	检出值 /($\mu\text{mol/L}$)	回收率 /%	相对标准偏差 ($n=4$, %)
	16.67	15.45	92.67	3.39
鸡蛋	50.00	52.00	105.00	0.90
	100.00	109.04	109.04	3.77

表 2 与其他方法的比较

Table 2 Comparison with other methods

检测方法	线性范围	LODs	检测时间	参考文献
高效液相色谱法	2.5~250 $\mu\text{g/L}$	2.5 $\mu\text{g/L}$	1.5 h	[29]
酶联免疫吸附法	5~64 ng/mL	0.7 ng/mL	过夜培养	[7]
高效液相色谱-串联质谱法	0.2~160 $\mu\text{g/kg}$	1 $\mu\text{g/kg}$	2 h	[30]
荧光法	20~1000 $\mu\text{g/L}$	9.96 $\mu\text{g/L}$	1.5 h	[8]
比色法	5~150 $\mu\text{mol/L}$	1.98 $\mu\text{mol/L}$	1 h	本研究

3 结论

本研究根据核酸适配体增强金纳米粒子的类 POD 活性及核酸适配体的特异性结合能力, 建立了鸡蛋中 ENR 比色快速检测方法。带负电的核酸适配体能通过 Au-N 键吸附于金纳米粒子表面, 使金纳米粒子由于静电斥力更加分散, 导致更多的活性位点暴露, 故催化活性增强。通过优化得到最佳反应条件为: 核酸适配体浓度 10 nmol/L, TMB 浓度 0.3 mmol/L, 反应时间 20 min。在最佳反应条件下, 反应体系吸光度值下降程度随靶标物 ENR 浓度呈现较好的线性关系, LOD 值为 1.98 $\mu\text{mol/L}$ 。通过加入鸡蛋中潜在的干扰物质 FFC、PEF、SAR、OFL、CAP、LOM 评估了 ENR 检测的特异性和抗干扰能力, 结果表明反应体系具有较好的特异性和抗干扰能力。本方法操作简便, 可以快速、高效的进行 ENR 残留量的检测, 为鸡蛋中 ENR 的快速检测提供了一种新的尝试方法。

参考文献

- [1] 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中残留消除规律研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(19): 7851-7856.
ZHANG HJ, ZHOU ZJ, HOU X, *et al.* Study on the regularity of residue elimination of enrofloxacin, florfenicol and tyvalactin in eggs [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(19): 7851-7856.
- [2] 赵哲, 张佳玉, 于振东, 等. 羟基有机网络材料用于牛奶中氟喹诺酮类抗生素的检测[J]. 中国科学: 化学, 2021, 51(9): 1293-1302.
ZHAO Z, ZHANG JY, YU ZD, *et al.* Hydroxyl organic network materials are used for the detection of fluoroquinolone antibiotics in milk [J]. Sci Sin (Chim), 2021, 51(9): 1293-1302.
- [3] 赵军杰, 陈可心, 栾业辉, 等. 恩诺沙星与磺胺二甲嘧啶联合毒性探究[J]. 中国畜牧兽医, 2021, 48(10): 3872-3879.
ZHAO JJ, CHEN KX, LUAN YH, *et al.* Toxicity of enrofloxacin combined with sulfadoxazine [J]. China Anim Husb Vet Med, 2021, 48(10): 3872-3879.
- [4] AMIN AS, DESSOUKI HA, AGWA IA. Ion-pairing and reversed phase liquid chromatography for the determination of three different quinolones: Enrofloxacin, lomefloxacin and ofloxacin [J]. Arabian J Chem, 2011, 4(3): 249-257.
- [5] GBYLIK-SIKORSKA M, LEBKOWSKA-WIERUSZEWSKA B, GAJDA A, *et al.* Transfer of enrofloxacin, ciprofloxacin, and lincomycin into eggshells and residue depletion in egg components after multiple oral

- administration to laying hens [J]. *Poult sci*, 2021, 100(9): 101341.
- [6] PAN SD, XU QH, GUO YB, *et al.* Simultaneous determination of 11 quinolone residues in freshwater fish samples by magnetic solid-extraction coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2021, 44(21): 4017-4024.
- [7] KIM N, KIM M, PARK Y, *et al.* Magnetic nanoparticle based purification and enzyme-linked immunosorbent assay using monoclonal antibody against enrofloxacin [J]. *J Vet Sci*, 2015, 16(4): 431.
- [8] 刘若冰, 郝怡环, 杨茜, 等. 基于核酸适配体的 AccuBlue 荧光法检测动物食品中的恩诺沙星[J]. *食品科学*, 2020, 41(24): 310-315.
- LIU RB, HAO YH, YANG Q, *et al.* AccuBlue fluorescence based on aptamers for the detection of enrofloxacin in animal food [J]. *Food Sci*, 2020, 41(24): 310-315.
- [9] TEGLIA CM, GUINEZ M, CULZONI MJ, *et al.* Determination of residual enrofloxacin in eggs due to long term administration to laying hens. Analysis of the consumer exposure assessment to egg derivatives [J]. *Food Chem*, 2021, 351: 129279.
- [10] 石睿, 覃秀, 袁春玲, 等. 基于二硫化钼纳米片类过氧化物酶活性比色法测定尿酸[J]. *分析化学*, 2021, 49(3): 397-406.
- SHI R, TAN X, YUAN CL, *et al.* Determination of uric acid based on molybdenum disulfide nanosheet peroxidase activity colorimetry [J]. *Chin J Anal Chem*, 2021, 49(3): 397-406.
- [11] NATH I, CHAKRABORTY J, VERPOORT F. Metal organic frameworks mimicking natural enzymes: A structural and functional analogy [J]. *Chem Soc Rev*, 2016, 45: 4127-4170.
- [12] FENG JY, HUANG PC, SHI SZ, *et al.* Colorimetric detection of glutathione in cells based on peroxidase-like activity of gold nanoclusters: A promising powerful tool for identifying cancer cells [J]. *Anal Chim Acta*, 2017, 17: 30242.
- [13] WANKHADE SK, SINGH RP, DAS RS, *et al.* CoSe₂ nanoflakes: An artificial nanoenzyme with excellent peroxidase like activity [J]. *Inorg Chem Commun*, 2021, 126: 108461.
- [14] 王文俊, 吴燕虹, 林秀玲, 等. Au纳米簇-WS₂纳米片复合材料的合成及类过氧化物酶活性研究[J]. *分析化学*, 2018, 46(10): 1545-1551.
- WANG WJ, WU YH, LIN XL, *et al.* Synthesis of Au nanocluster-WS₂ nanosheet composites and peroxidase-like activity [J]. *Chin J Anal Chem*, 2018, 46(10): 1545-1551.
- [15] 王瑞雪, 尹冬梅, 宋永新, 等. CuS/Ag₂S 纳米复合物的制备及类过氧化物酶性质[J]. *高等学校化学学报*, 2020, 41(6): 1218-1223.
- WANG RX, YIN DM, SONG YX, *et al.* Preparation of CuS/Ag₂S nanocomposites and peroxidase-like properties [J]. *Chem J Chin Univ*, 2020, 41(6): 1218-1223.
- [16] DESHMUKH AR, ALOUI H, KIM BS. Novel biogenic gold nanoparticles catalyzing multienzyme cascade reaction: Glucose oxidase and peroxidase mimicking activity [J]. *Chem Eng J*, 2020, 421: 127859.
- [17] ZHANG ZP, TIAN Y, HUANG PC, *et al.* Using target-specific aptamers to enhance the peroxidase-like activity of gold nanoclusters for colorimetric detection of tetracycline antibiotics [J]. *Talanta*, 2020, 208: 120342.
- [18] SONG YY, QIAO J, LIU W, *et al.* Enhancement of gold nanoclusters-based peroxidase nanozymes for detection of tetracycline [J]. *Microchem J*, 2020, 157: 104871.
- [19] XUE QS, NIU XH, LIU P, *et al.* Analyte-triggered citrate-stabilized Au nanoparticle aggregation with accelerated peroxidase-mimicking activity for catalysis-based colorimetric sensing of arsenite [J]. *Sens Actuators B*, 2021, 334: 129650.
- [20] CHEN YP, XIANYU YL, JIANG XY. Surface modification of gold nanoparticles with small molecules for biochemical analysis [J]. *Acc Chem Res*, 2017, 50(2): 310-319.
- [21] WANG J, ZHAO C, HONG CY, *et al.* Rapid detection of malachite green in fish and water based on the peroxidase-like activity of Fe₃O₄NPs enhanced with aptamer [J]. *J Food Compos Anal*, 2021, 104: 104162.
- [22] ZHU X, TANG L, WANG JJ, *et al.* Enhanced peroxidase-like activity of boron nitride quantum dots anchored porous CeO₂ nanorods by aptamer for highly sensitive colorimetric detection of kanamycin [J]. *Sens Actuators B*, 2021, 20: 129318.
- [23] 陈威风, 陈薇, 蔡颖, 等. 基于核酸适配体结合纳米金模拟酶用于单增李斯特菌的快速检测[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(3): 176-180.
- CHEN WF, CHEN W, CAI Y, *et al.* Based on aptamer binding nanogold mimicae for the rapid detection of *Listeria monocytogenes* [J]. *Food Ferment Ind*, 2021, 47(3): 176-180.
- [24] TUERK C, GOLD L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase [J]. *Sci (Am Assoc Adv Sci)*, 1990, 249(4968): 505-510.
- [25] 赵晨, 洪诚毅, 林郑忠, 等. 基于核酸适配体及胶体金可视化检测水中孔雀石绿[J]. *光谱学与光谱分析*, 2020, 40(3): 831-836.
- ZHAO C, HONG CY, LIN ZZ, *et al.* Malachite green in water was detected based on aptamer and colloidal gold visualization [J]. *Spectrosc Spectral Anal*, 2020, 40(3): 831-836.
- [26] 许高鼎, 张丹枫, 熊建华, 等. 核酸适配体结合胶体金比色法检测氧氟沙星[J]. *江西农业大学学报*, 2022, 44(6): 1538-1546.
- XU GD, ZHANG DF, XIONG JH, *et al.* Nucleic acid aptamers combined with colloidal gold colorimetric detection of ofloxacin [J]. *Acta Agric Univ Jiangxiensis*, 2022, 44(6): 1538-1546.
- [27] LIU XY, REN J, SU LH, *et al.* Novel hybrid probe based on double recognition of aptamer-molecularly imprinted polymer grafted on upconversion nanoparticles for enrofloxacin sensing [J]. *Biosens Bioelectron*, 2017, 87: 203-208.
- [28] SONG LL, MAO K, ZHOU XD, *et al.* A novel biosensor based on Au@Ag core-shell nanoparticles for SERS detection of arsenic (III) [J]. *Talanta*, 2016, 146: 285-290.
- [29] 孟丽华, 史艳伟, 时彦民, 等. 高效液相色谱法测定淡水渔业用水中诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星残留[J]. *水产养殖*, 2019, 40(1): 5-9.
- MENG LH, SHI YW, SHI YM, *et al.* Determination of norfloxacin, ciprofloxacin and enrofloxacin residues in freshwater fishery water by high performance liquid chromatography [J]. *J Aquacult*, 2019, 40(1): 5-9.
- [30] 孙红洋, 白玉惠, 尹晖, 等. 高效液相色谱-串联质谱法检测鸡蛋和鸡组织中恩诺沙星、环丙沙星残留的研究[J]. *中国家禽*, 2020, 42(7): 54-58.
- SUN HY, BAI YH, YIN H, *et al.* High performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the detection of enrofloxacin and ciprofloxacin residues in egg and chicken tissues [J]. *China Poult*, 2020, 42(7): 54-58.

(责任编辑: 韩晓红 于梦娇)

作者简介



冯月月, 硕士研究生, 主要研究方向为农兽药检测。

E-mail: 1154500754@qq.com



杜娟, 博士, 副教授, 主要研究方向为兽药残留快速检测。

E-mail: dujuanjulia@163.com