

动物源性食品中氟苯尼考残留检测技术研究进展

胡晓飞¹ 葛梦璠^{1,2} 王耀² 蔡文锦^{1,2} 邢广旭¹

(1. 河南省农业科学院动物疫病防控研究所, 河南 郑州 450002;

2. 河南科技大学食品与生物工程学院, 河南 洛阳 471000)

摘要: 氟苯尼考作为广谱抗生素类药物, 广泛应用于畜禽和水产养殖业, 然而养殖环节不规范使用会导致其在动物源性食品中大量残留。动物源性食品中残留的氟苯尼考会通过食物链进入人体, 引起胃肠道不适、中毒, 甚至诱发再生障碍性贫血等。为减少食品中氟苯尼考及其衍生物残留对人体的影响, 许多国家对食品中氟苯尼考最大残留限量设定了严格要求。文章综述了近年来建立的氟苯尼考的检测方法及其优缺点, 并对其发展趋势进行了展望。

关键词: 氟苯尼考; 残留; 危害; 兽药广谱抗生素

Research progress on detection technologies for florfenicol residues in animal-derived foods

HU Xiaofei¹ GE Mengjun^{1,2} WANG Yao² CAI Wenjin^{1,2} XING Guangxui¹

(1. Institute for Animal Health, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou, Henan 450002, China;

2. College of Food and Bioengineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471000, China)

Abstract: As a broad-spectrum antibiotic, florfenicol is widely used in livestock, poultry and aquaculture. Due to the unregulated use by some enterprises, a large amount of florfenicol residue exists in animal-derived foods. When florfenicol enters the human body through the food chain, it can cause gastrointestinal discomfort, intoxication, and even aplastic anemia. To minimize the effects of florfenicol residues and derivatives in food on human beings, many countries have set strict limits for maximum florfenicol residues in food. Therefore, this paper summarizes the detection methods for florfenicol established in recent years and gives an outlook on their development trends.

Keywords: florfenicol; residue; harm; broad-spectrum antibiotic for veterinary drugs

氟苯尼考(flорfenicol, FF)是一种兽用抗生素类药物, 主要用于治疗家禽类呼吸道感染细菌性感染^[1-2]。它属于第三代氯霉素(chloramphenicol, CAP)药物, 与前两代药物相比, CAP上的硝基被磺胺基替换, 使其毒性可逆, 甲砒霉素(thiamphenicol, TAP)C-3位上的羟基被氟原子替换, 抗菌能力增强^[3-4]。由于FF的抑菌能力比较强, 因此在养殖生产实践中被广泛使用。但是部分养殖企业长期不规范使用FF, 不仅对畜禽造成毒性作用, 增强其耐药性, 对畜禽养殖业的发展产生不良影响^[5-6], 还会导致其在动物源性食品中残留^[7]。FF的毒性源于其对线粒体蛋白合成的抑制, 并通过代谢产物放大危害。通过食物链进入

人体后, 可造成消费者胃肠道不适、中毒, 甚至引起再生障碍性贫血^[8-9]。FF在食品中残留不仅威胁消费者健康(尤其是敏感人群), 还加剧耐药性危机。

为了严格监管动物源性食品中的FF的残留情况, 世界上主要国家均对FF及其衍生物在动物组织中的最大残留限量(maximum residue limit, MRL)进行了规定, 具体见表1。其中GB 31650—2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》规定了FF作为兽用抗生素类药物在动物组织中的最大残留量。

为了能更好地对食品中FF残留的监控, 科研人员研究建立了各种FF的检测技术及方法, 包括色谱法、免疫学

基金项目: 河南省农业科学院自主创新项目(编号:2025ZC152, 2024ZC095); 河南省现代农业产业技术体系(编号:HARS-22-15-G2)

通信作者: 邢广旭(1979—), 男, 河南省农业科学院研究员, 博士。E-mail: xingguangxu@163.com

收稿日期: 2025-04-08 **改回日期:** 2025-11-05

引用格式: 胡晓飞, 葛梦璠, 王耀, 等. 动物源性食品中氟苯尼考残留检测技术研究进展[J]. 食品与机械, 2026, 42(3): 189-196.

Citation: HU Xiaofei, GE Mengjun, WANG Yao, et al. Research progress on detection technologies for florfenicol residues in animal-derived foods[J]. Food & Machinery, 2026, 42(3): 189-196.

表 1 FF 在动物组织中的最大残留量^[10-12]

Table 1 Maximum residue of FF in animal tissues		最大残留限量/($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)			其他规定
动物种类	动物组织	中国	欧盟	美国	
牛、羊	肝脏	3 000	3 000	3 700	泌乳期禁用
	肾脏	300	300	—	
	肌肉	200	200	300	
猪	皮+脂	500	500	—	—
	肝	2 000	2 000	2 500	
	肌肉	300	300	200	
家禽	肾	500	500	—	产蛋禁用
	肌肉	100	100	—	
	皮+脂	200	200	—	
鱼	肝	2 500	2 500	—	—
	肾	750	750	—	
	皮+肉	1 000	1 000	1 000	
其他动物	肌肉	100	100	—	—
	脂肪	200	200	—	
	肝	2 000	2 000	—	
	肾	300	300	—	

† “—”未规定。

检测方法及其他检测方法。

1 色谱法

1.1 高效液相色谱法及其衍生方法

Wang 等^[13-14]系统研究了禽蛋中及其衍生物(FFA)的检测方法。他们首先建立了超高效液相色谱—荧光检测(UPLC-FLD)方法,检出限为 1.8~4.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 4.3~11.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。随后,又采用超高效液相色谱—电喷雾电离串联三重四极杆质谱(UPLC-ESI-MS/MS)比较了液—液萃取法(LLE)和加速溶剂萃取法(ASE)的提取效果,发现 ASE 法具有更低的检出限(平均降低 35%)和更高的提取回收率(从 75%~85% 提升至 88%~95%)。这一系列研究不仅建立了可靠的检测方法,还证实了前处理方法对检测灵敏度的重要影响。然而,该研究仅针对禽蛋,其方法在其他食品中的适用性有待验证。最近,Hong 等^[15]采用类似的高效液相色谱—荧光检测技术,成功实现了禽肉中 FF、FFA 及 3 种氟喹诺酮类药物的同时测定,检出限达 0.03~1.50 $\mu\text{g}/\text{kg}$,进一步拓展了该方法的应用范围。

Xie 等^[16]进一步优化了检测方案,建立了鸡蛋中甲砒霉素(TAP)、FF 和 FFA 的反相高效液相色谱—荧光检测(RP-HPLC-FLD)方法。该方法同样采用 ASE 法,并通过优化提取溶剂比例($V_{\text{乙腈}}:V_{0.1\% \text{ 甲酸水}}=8:2$),得到了更低的检出限(TAP 和 FF 为 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$,FFA 为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$)和定量

限(TAP 和 FF 为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$,FFA 为 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$)。这一结果验证了 ASE 法的优势。

高效液相色谱法在检测食品中 FF 及其衍生物的残留时,样品基质的复杂性对检测结果具有重要影响。Li 等^[17]在鸡蛋中 FF 残留检测的研究中发现,鸡蛋基质中的高脂肪(约 10%)和高蛋白(约 12%)含量导致显著的基质效应,即使采用优化的 UPLC-MS/MS 方法和固相萃取净化,可提取残留的回收率仅为 72%~85%。Veach 等^[18]研究发现,由于蜂蜜基质富含糖类和蛋白质等干扰物质,即使采用 SPE 等前处理方法,仍需要优化色谱条件才能获得满意的回收率(82%~90%)。针对这一问题,许峰等^[19]将 FF 和 FFA 的提取液经 Discovery[®]DSC-18 填料净化后进行检测,加标回收率为 91.2%~101.0%,显著提高了蜂蜜中 FF 的提取效率。

Wu 等^[20]在同时测定动物源性食品中 FF 及其代谢物时发现,不同基质(如肌肉、肝脏、蛋类等)对检测结果的影响差异显著,其中蛋类基质由于富含脂质和蛋白质,回收率波动较大。这一发现与郑陆红等^[21]的研究结果一致。

研究表明,样品基质的性质与样品前处理的方式相比,样品基质的性质对检测结果的影响更大。对于一些简单的样品基质即使不做处理或使用简单的前处理方法如液—液萃取也可以得到较高的添加回收率;但是对于一些复杂的样品基质如鸡蛋、蜂蜜,即使是进行了复杂的前处理过程也不一定能得到比较准确的检测结果。

1.2 气相色谱法及其衍生方法

在兽药残留分析中,固相萃取(SPE)结合气相色谱(GC)技术因其高灵敏度和良好的分离能力,被广泛用于 FF 及其代谢物 FFA 的检测。不同研究团队针对不同基质优化了前处理方法和检测条件,但固相萃取柱的选择对回收率和检测限具有关键影响。杨秋红等^[22]建立了基于 MCX(混合型阳离子交换)固相萃取结合气相色谱的方法,可同时测定鱼肉中的 CAP、TAP、FF 和 FFA。该方法利用 MCX 柱的反相交换和阳离子交换双重作用,使 FFA(弱碱性)在酸性条件下呈离子态被保留,而 CAP、FF 和 TAP 则通过反相作用吸附,从而实现多残留分析。该方法检出限为 0.3~1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 1.0~3.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$,表现出良好的灵敏度。然而,该方法未进行其他样品的检测,可能影响实际样品的适用性。郑炜玲^[23]采用 GC 法测定草鱼中 CAP、TAP、FF 和 FFA 残留量时也发现,MCX 柱在低浓度提取时对 FFA 的回收率高于 TAP 的,这一结果进一步证实了 MCX 柱对 TAP 的保留能力相对较弱的特性。

胡红美等^[24]同样采用 MCX 固相萃取结合气相色谱—电子捕获检测器(GC-ECD)测定鲫鱼、青蟹、南美白对虾中的 CAP 和 FF,其线性范围分别为 1.5~100,6~400 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。

该研究进一步验证了MCX柱对CAP和FF的适用性,并强调其对弱极性和碱性化合物的高选择性。但该方法仅针对CAP和FF,未包括TAP和FFA,限制了其在多残留分析中的应用。相比之下,张丽萍等^[25]在检测鸡和猪组织中的TAP、FF和FFA时,发现MCX柱对TAP的回收率较低($<70\%$),因而改用PEP-2固相萃取柱结合GC-MS法。PEP-2柱对3种目标物的回收率均达90%左右,且检出限和定量限分别为5, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。该研究验证了不同固相萃取柱的选择对回收率的重要影响。综上,MCX固相萃取柱适用于水产品中CAP、FF和FFA的检测,但对TAP的回收率较低;而PEP-2柱在动物组织中对TAP、FF和FFA均表现出更好的回收率。杜春艳等^[26]研究发现,QuEChERS的回收率比MCX固相萃取柱的回收率更高。未来研究应进一步优化固相萃取策略,以提高不同基质中的适用性和方法稳定性,特别是针对TAP这类回收率易受影响的化合物。因此,未来研究应进一步优化固相萃取策略,以提高不同基质中的适用性和方法稳定性。

2 免疫学检测方法

免疫学检测方法是基于抗原抗体反应并与各种标记技术结合所建立起来的一种检测技术,抗原抗体的结合决定了此方法具有较强的特异性,而标记材料的应用又扩大了反应信号,增强了反应的灵敏性,因此免疫学检测方法具有灵敏度高、特异性强等优点^[27-28]。

2.1 酶联免疫法

在兽药残留检测中,抗体的亲和力和特异性直接影响分析方法的灵敏度和准确性。针对小分子化合物(如FF及其衍生物FFA),合理的半抗原设计是制备高质量抗体的关键。目前,多克隆抗体(pAb)和单克隆抗体(mAb)在免疫检测中各有优势,研究者们基于不同抗体类型建立了多种高灵敏度的酶联免疫分析(ELISA)方法。

多克隆抗体能够识别多个抗原表位,在广谱检测中具有一定优势。孙法良等^[29-30]通过优化FF半抗原设计,制备了高亲和力的多克隆抗体,并建立了间接竞争ELISA法。该方法检测范围宽(0.18~500 ng/mL),检出限低(0.18 ng/mL),且对结构类似物(如CAP和TAP)的交叉反应率极低($<0.1\%$),表明其具有优异的特异性。然而,多克隆抗体的批次间差异可能影响方法的稳定性,且其广谱识别特性可能导致某些复杂基质中的非特异性结合。杨典原^[31]进一步优化了FF的ELISA方法,其方法的 IC_{50} 为4.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$,检出限为0.53 ng/mL ,适用于动物源性食品的快速筛查。但该方法的灵敏度略低于孙法良等^[29-30]的研究,可能是受抗体亲和力或检测体系优化程度的影响。

相较于多克隆抗体,单克隆抗体仅识别单一抗原表

位,具有更高的特异性和稳定性。谢美婵等^[32]通过杂交瘤技术筛选出高特异性抗FF单克隆抗体,并建立间接竞争ELISA法,其 IC_{50} 为9.48 ng/mL ,线性范围为1.75~51.36 ng/mL ,检出限为0.64 ng/mL 。该方法与CAP等结构类似物无显著交叉反应,展现了单克隆抗体在精准检测中的优势。廖文彬^[33]进一步将该技术转化为实际应用,开发了FF残留检测试剂盒,其针对鸡肉样品的检出限和定量限分别为4.19, 11.19 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。该试剂盒除对TAP有轻微交叉反应外,对其他类似物的交叉反应率均 $<0.01\%$,适用于大规模样本的快速筛查。Wang等^[34]开发的ELISA方法可同时检测鸡蛋中的FF及其代谢物FFA, IC_{50} 分别为0.120, 0.118 $\mu\text{g}/\text{kg}$,且与CAP的交叉反应率 $<0.1\%$,与TAP的交叉反应率 $<1\%$ 。Ge等^[35]基于单克隆抗体的高灵敏度间接竞争ELISA检测鸡肉和鸡蛋中FF的检出限可低至0.011 $\mu\text{g}/\text{kg}$,且与多种结构类似物交叉反应率 $<0.1\%$,进一步验证了单克隆抗体在复杂食品基质检测中的可靠性。多克隆抗体多适用于初期方法的开发,而单克隆抗体更适合试剂盒开发、复杂基质检测,不同抗体的选择需结合检测目标(单一或广谱)、基质特性(简单或复杂)及方法应用场景(实验室研究或现场筛查)进行综合考量。

2.2 免疫层析法

近年来,免疫层析技术因其快速、简便和适用于现场检测等特点,在兽药残留分析领域得到了广泛应用。研究者们通过不同的信号标记策略和抗体工程技术,不断提高该技术的灵敏度和特异性,以满足不同食品基质中痕量兽药残留的检测需求。Guo等^[36]开发了基于单克隆抗体的多功能检测平台,该研究通过制备TAP、FF和CAP的特异性单克隆抗体,成功构建了可同时检测牛奶和蜂蜜中3种兽药残留的免疫层析试纸条(ICA)。该方法的检出限为1 ng/mL ,展现了良好的多残留检测能力。然而,该方法在复杂基质中的抗干扰能力仍有待验证,且3种药物的检测灵敏度未实现差异化调控。

在信号标记技术方面,Xin等^[37]采用ZnCdSe/ZnS量子点标记抗体,建立了量子点免疫层析方法用于动物源性食品中FF的定量检测。该方法检出限达到0.3 ng/mL ,较传统方法灵敏度显著提高,且量子点的稳定性使其在复杂基质中保持良好的检测性能。Zeng等^[38]开发了基于单克隆抗体的时间分辨荧光免疫层析试纸条,可灵敏检测牛奶和鸡蛋中的FF残留,检出限低至0.23 ng/mL 。为进一步提高检测灵敏度,Peng等^[39]创新性地采用羧基化荧光微球作为信号标记物,建立了FM-ICTS方法。该方法对FF的检出限达到0.030 ng/g ,灵敏度较传统胶体金法显著提高,且与HPLC-MS结果具有良好的一致性。该研究的突出优势在于荧光微球标记带来的信号稳定性,使

试纸条在贮藏期间保持良好性能。但该方法仅针对单一药物(FF)的检测,未能实现多残留同时分析。

Zhang等^[40]则在信号放大策略上取得突破,他们设计的三抗体复合物HAFIA系统通过竞争性捕获机制,将FF和FFA的检测灵敏度分别提升至0.01,0.1 ng/mL。该方法的灵敏度较传统胶体金法提高50倍,特别适合禽蛋等复杂基质中痕量残留的检测。研究创造性地利用信号放大原理解决了传统免疫层析灵敏度不足的问题,但三抗体系统的制备工艺较为复杂,可能影响方法的推广适用性。综上,免疫层析技术的发展呈现出以下趋势:从单一指标检测向多残留分析发展;从传统胶体金标记向新型信号标记物发展(如量子点、磁性纳米颗粒、荧光标记物);通过创新检测原理实现信号放大。

2.3 化学发光免疫法

化学发光免疫分析法(CLIA)因其超高灵敏度在兽药残留检测领域展现出显著优势。近年来,研究者们通过优化抗体选择、信号放大系统和检测条件,不断提高CLIA在复杂食品基质中的检测性能。Tao等^[41-42]将CLIA应用于动物源性食品中CAP类药物的残留检测。该团队首先基于两种多克隆抗体和两种HRP标记的二抗,开发了可同时检测火腿肠中多种CAP类药物的CLIA方法,对FF的检测限达到2.8 μg/kg。随后,他们进一步优化检测体系,建立了针对动物肉制品中FF残留的CLIA方法,其IC₅₀值低至0.24 μg/kg,与传统ELISA和LC-MS/MS方法结果准确性高度一致。值得注意的是,优化后的CLIA方法对猪肉样品中FF的检测灵敏度显著提高,其IC₅₀值低至0.15 μg/kg。然而,这些方法基于多克隆抗体,可能存在批次间差异,且未充分考察不同动物组织基质对检测的影响。Ge等^[43]在灵敏度方面取得重要突破,他们建立的CLIA方法对鸡蛋和鸡肉中FF残留的检测限达到5.433 pg/mL,检测范围为5.433~193.577 pg/mL,IC₅₀为30.893 pg/mL,且变异系数在10%以内。将CLIA的检测灵敏度提升至传统的ELISA方法难以达到的水平。CLIA技术的主要优势体现在:① 超高灵敏度(可达“pg/mL”甚至“fg/mL”级),显著优于常规ELISA;② 抗基质干扰能力强,样本颜色或浊度不影响检测结果。然而,其技术局限性也不容忽视:① 依赖昂贵的化学发光仪,维护成本高;② 发光底物(如鲁米诺)稳定性差,需严格避光保存;③ 信号持续时间短,要求即时检测,不利于大批量样本分析。

3 其他检测方法

3.1 生物传感器

Sadeghi等^[44]筛选出针对FF的特异性单链DNA适配体,基于氧化石墨烯作为受体和荧光标记的FF特异性适配

体作为供体之间的能量转移,构建了荧光适配体传感器,实现了原奶中FF残留的检测,其检出限为2.06 ng/mL,线性范围为1.79~429.86 ng/mL。该方法展现了良好的选择性和灵敏度,但氧化石墨烯的制备工艺可能影响方法的重复性。Shi等^[45]在此基础上进行了重要改进,获得了能同时识别FF及其代谢物FFA的核酸适配体(Apt-14t)。通过纳米金比色法,将检测灵敏度提升至0.001 28 ng/mL,线性范围扩展至0.001 28~500 ng/mL。这一成果不仅提高了检测性能,还实现了对FF代谢物的同步检测,但比色法的定量准确性可能受环境光线影响。

在光学生物传感器研究方面,Thompson等^[46]开发了一种新型光学生物传感器检测方法,可特异性识别牛乳中包括FF在内的多种抗生素残留。该方法基于表面等离子体共振(SPR)原理,对FF的检出限达到0.5 μg/kg,且能有效区分FF与其他结构类似物(如CAP和TAP)。该技术的优势在于无需复杂样品前处理即可实现快速筛查,为乳制品中多种抗生素残留的同步检测提供了新思路。Li等^[47]的研究则向多残留检测迈出了重要一步。他们设计了一种集成荧光纳米生物传感器与自制分析仪的检测系统,通过抗原量子点(IQD)与抗体磁珠(IMB)的竞争结合机制,实现了鸡肉中恩诺沙星、替米考星和FF的同时检测,检出限分别为0.34,0.70,0.16 μg/kg。该系统的突出优势在于其多重检测能力,但不同抗生素之间的交叉反应需要进一步优化。

生物传感器技术具有以下优势:① 特异性强。核酸适配体可区分结构类似物。② 灵敏度高。可达“pg/mL”级检测限。③ 操作简便。适合现场快速检测。但也存在核酸适配体筛选成本高、周期长,生物识别元件(如适配体、抗体)稳定性较差,复杂食品基质可能干扰检测结果等问题。

3.2 分子印迹技术

Caro等^[48]用分子印迹聚合物纳米颗粒(nano-MIP)涂覆微孔板孔,开发了类似于ELISA的检测方法,以定量检测实际食品样品中的FF。FF的检测是在与FF-HRP偶联物的竞争性结合中实现的。该方法在缓冲液和实际样品(液态奶和鲑鱼肌肉)中的线性范围分别为0~2, 60~80 ng/mL。该研究的创新点在于将MIT与传统ELISA原理相结合,但样品前处理过程较为复杂,且在不同基质中的灵敏度差异较大。Yuan等^[49]通过氧化石墨烯(GO)、双官能单体和“点击化学”方法的协同作用促使分子印迹膜具有良好的表面亲水性、选择性和排除大分子的能力,制备了能同时识别TAP、FF和CAP的分子印迹膜(MIMs)。该方法利用分析物与单体间的氢键和范德华力作用,在猪肉和牛奶样品中的检测限为0.04~0.28 μg/kg。该研究的创新点在于:GO的引入提高了膜的表面亲水性;双官

能单体的使用增强了选择性;“点击化学”方法优化了印迹效率。然而,该方法的制备工艺较为复杂,可能影响其重现性。MIP技术在恶劣环境(如极端pH、温度和有机溶剂)下也具有很好的稳定性。然而,要实现该技术的广泛应用,仍需解决印迹效率、方法重现性等关键问题。

4 总结与展望

当前,氟苯尼考残留检测技术的研究主要聚焦于两大技术路线:基于理化分析原理的色谱技术和基于免疫学原理的快速检测方法。这两类方法各具特色,形成了优势互补的技术格局。色谱技术以高效液相色谱法为代表,凭借其卓越的灵敏度(回收率>90%)和定量准确性,已成为实验室标准检测方法;而免疫学检测方法(如酶联免疫分析方法、免疫层析试纸条等)则因其操作简便、检测快速和经济高效的特点,在基层大规模筛查中发挥着不可替代的作用。综述系统分析了现有氟苯尼考残留检测技术体系,发现各类方法在满足不同检测需求的同时,均存在相应的技术瓶颈。为深入理解各方法的适用性,现对其技术特性进行系统评述。

色谱分析技术方面,高效液相色谱法作为实验室检测的金标准,不仅具备多残留同步检测能力,还能提供可靠的定量结果,但其高昂的设备投入和繁琐的样品前处理流程限制了推广应用。与之相比,气相色谱法在挥发性氟苯尼考衍生物检测中展现出独特的分离效能,然而其应用范围受限于化合物的挥发性和热稳定性。

免疫检测技术谱系中,酶联免疫分析方法以其高通量特性成为大规模监测的首选方案,但基质干扰和抗体稳定性问题需要重点关注。免疫层析法将检测时效性提升至分钟级,极大满足了基层现场检测需求,但其在定量精确度方面存在明显短板。化学发光免疫法通过信号放大机制将检测灵敏度推向新高度,特别适用于痕量氟苯尼考残留分析,然而复杂的仪器配置制约了其普及应用。

新兴检测技术呈现出良好的发展前景。生物传感器技术实现了检测过程的实时化和自动化,但其核心元件的稳定性仍需提升。分子印迹技术为解决复杂基质干扰提供了新思路,但模板分子去除工艺有待优化。这些技术创新为氟苯尼考残留检测领域注入了新的活力。

免疫学方法(如酶联免疫分析方法、免疫层析法)在氟苯尼考及其衍生物的检测中具有显著优势,包括操作简便、检测速度快、成本低,适用于基层和大规模筛查。然而,该方法仍存在若干关键局限性,并需进一步优化以提高检测性能。主要优势:①高通量分析。免疫学方法(如酶联免疫分析方法)可同时处理大量样本,适用于食品安全的快速筛查。②低成本与便携性。免疫层析试纸

条无需复杂仪器,适合现场检测和资源有限地区。③特异性识别。基于抗体的检测体系可针对氟苯尼考及其代谢物进行选择识别,减少交叉反应。现存不足:①抗体制备难题。氟苯尼考是小分子半抗原,需与载体蛋白(如BSA)偶联以诱导免疫反应,但偶联位点可能掩盖关键抗原表位,导致抗体亲和力低、交叉反应率高。②基质干扰与假阳性。动物源性食品(如肝脏、蜂蜜)中的脂质、蛋白质易与非特异性抗体结合,导致假阳性结果。③灵敏度与定量能力不足。传统胶体金免疫层析法的检出限(1~10 ng/mL)难以满足超痕量检测需求。解决策略:①采用计算机模拟(如分子对接技术)优化偶联位点,确保氟苯尼考的特征结构(如磺胺基团)充分暴露,从而提高抗体特异性。例如,Zhang等^[50]通过优化偶联策略,将抗体亲和力提升3倍。②开发基于磁性纳米粒子的前处理方法,选择性富集目标物并去除基质干扰。Yang等^[51]利用磁性纳米材料显著提高了方法的抗干扰能力。③采用新型标记材料(如时间分辨荧光微球或量子点)替代胶体金,可将灵敏度提升至“pg/mL”级。例如,Chen等^[52]开发的量子点试纸条对氟苯尼考的检出限达0.02 ng/mL。未来研究方向:①多学科技术融合。结合纳米技术、微流控芯片等提升检测极限和自动化水平。②标准化与商业化。建立国际认可的检测标准(如AOAC认证),并推动高稳定性试剂的规模化生产。③多残留联检技术。开发可同时检测氟苯尼考及其代谢产物的高通量平台,以适应复杂基质分析需求。通过优化抗体性能、降低基质干扰并提高灵敏度,免疫学方法有望实现从“快速筛查”到“精准定量”的跨越,为食品安全监管提供更可靠的技术支持。

参考文献

- [1] 龙伟,肖娜,袁丽娟,等.氟苯尼考在泰和乌鸡可食性组织中残留消除规律研究[J].中国家禽,2024,46(4):80-87.
LONG W, XIAO N, YUAN L J, et al. Residue depletion of florfenicol in various edible tissues of taihe black-bone silky fowl[J]. China Poultry, 2024, 46(4): 80-87.
- [2] 张钰.鸡蛋中氟苯尼考的代谢变化规律研究[D].烟台:烟台大学,2023:1.
ZHANG Y. Study on the metabolic changes of florfenicol in eggs[D]. Yantai: Yantai University, 2023: 1.
- [3] TRIF E, CERBU C, OLAH D, et al. Old antibiotics can learn new ways: a systematic review of florfenicol use in veterinary medicine and future perspectives using nanotechnology[J]. Animals: an Open Access Journal from MDPI, 2023, 13(10): 1695.
- [4] 管凡荀.鸡蛋、禽肉中氟苯尼考及其代谢物和三种氟喹诺酮类药物残留同时检测的HPLC-FLD方法研究[D].扬州:扬州

- 大学, 2023: 1.
- GUAN F X. Simultaneous determination of florfenicol, its metabolite and three fluoroquinolones residues in chicken eggs and poultry muscles by high performance liquid chromatography with fluorescence detection[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2023: 1.
- [5] HAN C, WEI Y Y, CUI Y Q, et al. Florfenicol induces oxidative stress and hepatocyte apoptosis in broilers *via* nrf2 pathway[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 191: 110239.
- [6] 卢春雨, 张璐, 刘维, 等. 氟苯尼考通过影响肉鸡药物代谢和介导炎症反应诱导肾损伤[J]. *中国兽医学报*, 2022, 42(10): 2 051-2 058.
- LU C Y, ZHANG L, LIU W, et al. Florfenicol induces renal injury by affecting drug metabolism and mediating inflammatory responses in broiler chickens[J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2022, 42(10): 2 051-2 058.
- [7] 边文文, 范芳芳, 魏宁果. 动物源性食品中氯霉素类药物残留量风险分析[J]. *农产品加工*, 2019(11): 59-61.
- BIAN W W, FAN F F, WEI N G. Risk analysis of chloramphenicol thiamphenicol and florfenicol residues in animal-origin food[J]. *Agricultural Products Processing*, 2019 (11): 59-61.
- [8] 王悦, 隋颖. 动物源性食品中兽药残留的危害及控制策略[J]. *食品界*, 2021(7): 112.
- WANG Y, SUI Y. Harm and control strategy of veterinary drug residues in animal-derived foods[J]. *Food Industry*, 2021 (7): 112.
- [9] 张彩云, 赵兴鑫, 东贤, 等. 浅谈兽药残留对人体的危害[J]. *今日畜牧兽医*, 2021, 37(11): 1, 9.
- ZHANG C Y, ZHAO X X, DONG X, et al. On the harm of veterinary drug residues to human body[J]. *Today's Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2021, 37(11): 1, 9.
- [10] EMA/MRL/822/02-FINAL January 2002[DB/OL]. [2024-10-11]. <https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/florfenicol-extension-all-food-producing-species-summary-report-6-committee-veterinary-medicinal-en.pdf>.
- [11] Code of Federal Regulations[DB/OL]. [2024-10-11]. <https://www.ecfr.gov/current/title-21/chapter-I/subchapter-E/part-556/subpart-B/section-556.283>.
- [12] 中华人民共和国农业农村部, 中华人民共和国国家健康委员会, 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量: GB 31650—2019[S]. 北京: 中国标准出版社, 2019.
- Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China, National Health Commission of the People's Republic of China, State Administration for Market Regulation. National food safety standard-Maximum residue limits for veterinary drugs in foods: GB 31650—2019[S]. Beijing: China Standards Press, 2019.
- [13] WANG B, XIE X, ZHAO X, et al. Development of an accelerated solvent extraction-ultra-performance liquid chromatography-fluorescence detection method for quantitative analysis of thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine in poultry eggs[J]. *Molecules* (Basel, Switzerland), 2019, 24(9): 1 830.
- [14] WANG B, PANG M D, ZHAO X, et al. Development and comparison of liquid-liquid extraction and accelerated solvent extraction methods for quantitative analysis of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol, and florfenicol amine in poultry eggs[J]. *Journal of Mass Spectrometry: JMS*, 2019, 54(6): 488-494.
- [15] HONG L, LIU Y, GUO Y W, et al. Simultaneous determination of florfenicol, its metabolite and three fluoroquinolone residues in poultry muscles *via* high-performance liquid chromatography with fluorescence detection[J]. *Microchemical Journal*, 2024, 207: 111754.
- [16] XIE K Z, JIA L F, YAO Y L, et al. Simultaneous determination of thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine in eggs by reversed-phase high-performance liquid chromatography with fluorescence detection[J]. *Journal of Chromatography B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 2011, 879(23): 2 351-2 354.
- [17] LI X, ZHANG Y, SUN Q F, et al. Determination of extractable and non-extractable florfenicol residues as florfenicol amine in eggs by UPLC-MS/MS[J]. *Food Additives & Contaminants Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, 2022, 39(9): 1 512-1 520.
- [18] VEACH B T, ANGLIN R, MUDALIGE T K, et al. Quantitation and confirmation of chloramphenicol, florfenicol, and nitrofurans metabolites in honey using LC-MS/MS[J]. *Journal of AOAC International*, 2018, 101(3): 897-904.
- [19] 许峰, 刘倩. Discovery®DSC-18 净化填料—超高效液相色谱串联质谱法测定蜂蜜中氟苯尼考和氟苯尼考胺[J]. *粮食与油脂*, 2021, 34(7): 157-159, 162.
- XU F, LIU Q. Determination of florfenicol and florfenicol amine in honey by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry with Discovery®DSC-18 purification packing[J]. *Cereals & Oils*, 2021, 34(7): 157-159, 162.
- [20] WU X Y, SHEN X X, CAO X Y, et al. Simultaneous determination of amphenicols and metabolites in animal-derived foods using ultrahigh-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2021, 2 021: 3613670.
- [21] 郑陆红, 张慧琼, 陈茹, 等. 超高效液相色谱—串联质谱法同时测定动物组织中氯霉素、甲砒霉素、氟苯尼考和其代谢产

- 物氟苯尼考胺残留量[J]. 现代食品, 2022, 28(20): 198-203.
- ZHENG L H, ZHANG H Q, CHEN R, et al. Determination of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol and its metabolite florfenicol amine residues in animal tissues by UHPLC-MS/MS[J]. *Modern Food*, 2022, 28(20): 198-203.
- [22] 杨秋红, 艾晓辉, 李荣, 等. 固相萃取—气相色谱法同时检测水产品中的氯霉素、甲砒霉素、氟苯尼考和氟苯尼考胺[J]. *分析试验室*, 2015, 34(5): 533-537.
- YANG Q H, AI X H, LI R, et al. Simultaneous determination of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol and florfenicol-amine in aquatic products by Gas chromatographic method with solid phase extraction[J]. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 2015, 34(5): 533-537.
- [23] 郑炜玲. 气相色谱法测定草鱼中氯霉素、甲砒霉素、氟苯尼考与氟苯尼考胺残留量[J]. *食品安全导刊*, 2024(36): 28-30.
- ZHENG W L. Determination of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol, and florfenicol amine residues in grass carps by gas chromatography[J]. *China Food Safety Magazine*, 2024(36): 28-30.
- [24] 胡红美, 郭远明, 雷科, 等. 分散固相萃取净化—气相色谱法测定水产品中氯霉素和氟苯尼考[J]. *食品科学*, 2014, 35(8): 231-235.
- HU H M, GUO Y M, LEI K, et al. Determination of chloramphenicol and florfenicol in fishery products by using dispersive solid phase extraction and gas chromatography[J]. *Food Science*, 2014, 35(8): 231-235.
- [25] 张丽萍, 孟蕾, 张盼盼, 等. 鸡、猪组织中甲砒霉素、氟苯尼考、氟苯尼考胺残留量测定的 GC-MS 法建立[J]. *中国兽药杂志*, 2020, 54(9): 33-40.
- ZHANG L P, MENG L, ZHANG P P, et al. Determination of thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine residues in chicken and swine tissues by gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Veterinary Drug*, 2020, 54(9): 33-40.
- [26] 杜春艳, 吴发旺, 赖森菊, 等. QuEChERS-超高效液相色谱—串联三重四极杆质谱联用法快速测定羊肉中氯霉素、甲砒霉素、氟苯尼考的残留量[J]. *食品与药品*, 2024, 26(3): 199-205.
- DU C Y, WU F W, LAI M J, et al. Rapid determination of chloramphenicol, thiamphenicol and florfenicol residues in mutton by QuEChERS-UPLC-MS/MS[J]. *Food and Drug*, 2024, 26(3): 199-205.
- [27] 胡晓飞, 邢云端, 孙亚宁, 等. 腐霉利人工抗原制备研究[J]. *中国农学通报*, 2021, 37(33): 142-147.
- HU X F, XING Y R, SUN Y N, et al. Research on preparation of artificial antigen of procymidone[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2021, 37(33): 142-147.
- [28] 曹金博, 王耀, 胡晓飞, 等. 免疫分析技术在四环素类抗生素残留检测中的应用[J]. *饲料工业*, 2019, 40(12): 53-59.
- CAO J B, WANG Y, HU X F, et al. The application of immunoassay technique in the detection of tetracycline antibiotics residue[J]. *Feed Industry*, 2019, 40(12): 53-59.
- [29] 孙法良, 刁有祥, 孙宁, 等. 鸡肉中氟苯尼考 ELISA 检测方法的建立及应用[J]. *中国农业科学*, 2009, 42(5): 1 813-1 819.
- SUN F L, DIAO Y X, SUN N, et al. Establishment and application of detecting the residues of florfenicol in chicken muscle by indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, 42(5): 1 813-1 819.
- [30] 孙法良. 氟苯尼考、安普霉素药物残留的 ELISA 检测方法研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2010: 44-59.
- SUN F L. The study on the establishment of ci-ELISA for the detection of florfenicol and apramycin residue[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2009: 44-59.
- [31] 杨典原. 氟苯尼考残留酶免疫法的研究[D]. 太原: 山西大学, 2017: 23-34.
- YANG D Y. Study of enzyme immunoassay for florfenicol residues[D]. Taiyuan: Shanxi University, 2017: 23-34.
- [32] 谢美婵, 杨金易, 李然, 等. 畜禽肉及饲料中氟苯尼考残留免疫分析方法研究[J]. *分析测试学报*, 2021, 40(9): 1 380-1 385.
- XIE M C, YANG J Y, LI R, et al. Study on a monoclonal antibody-based immunoassay method for florfenicol in animal meat and feed[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2021, 40(9): 1 380-1 385.
- [33] 廖文彬. 鸡肉中氟苯尼考残留的 ELISA 检测方法研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2020: 18-38.
- LIAO W B. The study on the establishment of ELISA for the detection of florfenicol residue in chicken[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2020: 18-38.
- [34] WANG Z F, LUO J Q, ZHAO Y F, et al. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of florfenicol and florfenicol amine in eggs[J]. *Food and Agricultural Immunology*, 2020, 31(1): 864-875.
- [35] GE M, XING Y, SUN Y, et al. Establishment of a high-sensitivity indirect competitive ELISA for florfenicol in chicken meat and egg[J]. *Acta Alimentaria*, 2025, 54(2): 205-215.
- [36] GUO L L, SONG S S, LIU L Q, et al. Comparison of an immunochromatographic strip with elisa for simultaneous detection of thiamphenicol, florfenicol and chloramphenicol in food samples[J]. *Biomedical Chromatography: BMC*, 2015, 29(9): 1 432-1 439.
- [37] XIN C, ZHOU J M, CHEN Y M, et al. A novel fluorescence immunoassay for the quantitative detection of florfenicol in animal-derived foods based on ZnCdSe/ZnS quantum dot labelled antibody[J]. *Food Chemistry*, 2024, 457: 139648.
- [38] ZENG D P, ZHANG Y Y, YANG J Y, et al. Development of a monoclonal antibody-based time-resolved fluorescence

- immunochromatographic assay strip for sensitively detecting florfenicol residues in milk and eggs: theoretical chemical insights into unexpected high specificity[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 270: 132381.
- [39] PENG C, LIANG J F, JIANG L F, et al. Carboxylated fluorescent microsphere based immunochromatographic test strip enabled sensitive and quantitative on-site detection for florfenicol in eggs[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2022, 219: 114946.
- [40] ZHANG E H, LIU B C, LU J H, et al. A helper antibody-based competitive fluorescence immunochromatographic assay for quantitative detection of florfenicol in poultry eggs[J]. *Journal of AOAC International*, 2023, 106(4): 837-845.
- [41] TAO X Q, JIANG H Y, YU X Z, et al. Simultaneous determination of chloramphenicol, florfenicol and florfenicol amine in ham sausage with a hybrid chemiluminescent immunoassay[J]. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 2013, 30(5): 804-812.
- [42] TAO X Q, YU X Z, ZHANG D D, et al. Development of a rapid chemiluminescent ciELISA for simultaneous determination of florfenicol and its metabolite florfenicol amine in animal meat products[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2014, 94(2): 301-307.
- [43] GE M J, XING Y R, SUN Y N, et al. Establishment of a chemiluminescent elisa method for florfenicol in eggs and chicken meat[J]. *Food Analytical Methods*, 2024, 18: 48-56.
- [44] SADEGHI A S, MOHSENZADEH M, ABNOUS K, et al. Development and characterization of DNA aptamers against florfenicol: fabrication of a sensitive fluorescent aptasensor for specific detection of florfenicol in milk[J]. *Talanta*, 2018, 182: 193-201.
- [45] SHI M H, LIU R B, ZHANG F Y, et al. Screening of single-stranded dna aptamer specific for florfenicol and application in detection of food safety[J]. *Biosensors*, 2022, 12(9): 701.
- [46] THOMPSON C S, TRAYNOR I M, FODEY T L, et al. Screening method for the detection of residues of amphenicol antibiotics in bovine milk by optical biosensor[J]. *Food Additives & Contaminants Part A, Chemistry, Analysis, Control Exposure & Risk Assessment*, 2020, 37(11): 1 854-1 864.
- [47] LI Y, ZHOU Y N, PENG Y P, et al. Rapid detection of multiple antibiotics in chicken samples via a fluorescence nanobiosensor coupled with a homemade fluorescence analyzer [J]. *Analytical Methods: Advancing Methods and Applications*, 2023, 15(27): 3 362-3 372.
- [48] CARO N, BRUNA T, GUERREIRO A, et al. Florfenicol binding to molecularly imprinted polymer nanoparticles in model and real samples[J]. *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*, 2020, 10(2): 306.
- [49] YUAN Y, ZHU C Z, HANG Q, et al. Hydrophilic molecularly imprinted membranes based on go-loading for simultaneously selective recognition and detection of three amphenicols drugs in pork and milk[J]. *Food Chemistry*, 2022, 384: 132542.
- [50] ZHANG X Y, BAI Y C, TANG Q Q, et al. Development of epitopephore-based rational hapten design strategy: a combination of theoretical evidence and experimental validation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023, 445: 130615.
- [51] YANG Z W, ZHU A F, ALI S, et al. Quantitative detection of chloramphenicol residue in fish based on SERS aptasensor coupled with magnetic separation[J]. *Microchemical Journal*, 2024, 197: 109840.
- [52] CHEN H J, CHENG Y J, LIANG Y F, et al. Monoclonal antibody production and quantum dots lateral flow immunoassay for florfenicol detection[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2024, 128: 106059.