

基于 DNA 酶催化反应建立适配体比色法 检测鸡蛋中氯霉素

An aptamer colorimetric method was established to detect
chloramphenicol in eggs based on DNase-catalyzed reaction

程 慧¹ 刘 顺² 黎 波³ 黄玉兰¹ 周 涛¹

CHENG Hui¹ LIU Shun² LI Bo³ HUANG Yu-lan¹ ZHOU Tao¹

(1. 黄梅县公共检验检测中心, 湖北 黄冈 435501; 2. 荆州职业技术学院, 湖北 荆州 434000;

3. 石首市公共检验检测中心, 湖北 石首 434400)

(1. Huangmei County Public Inspection and Testing Center, Huanggang, Hubei 435501, China;

2. Jingzhou Institute of Technology, Jingzhou, Hubei 434000, China;

3. Shishou Public Inspection and Testing Center, Shishou, Hubei 434400, China)

摘要:目的:通过制备适配体—磁珠复合物,利用氯霉素的特异性结合可解离适配体与 DNA 酶的结合,并解除对该酶与血红素结合催化显色反应活性抑制的机理,建立用于快速检测鸡蛋中氯霉素的方法。方法:通过适配体与 DNA 酶碱基互补配对后,再将该结合体通过羧基和氨基的缩合反应,制备适配体—磁珠复合物。再通过加入不同浓度的氯霉素溶液以实现与其适配体的结合,使得 DNA 酶与氯霉素核酸适配体发生解离,被解离出的 DNA 酶与血红素结合催化显色反应。结果:该方法检测氯霉素的线性范围为 0.001~100.000 mg/kg,其吸光度值与氯霉素浓度呈线性相关,在 5,10,25 mg/kg 3 种添加水平下该比色法的回收率为 98.4%~101.1%,相对标准偏差均小于 10%。结论:该方法通过引入 DNA 酶和磁性纳米粒子有效克服了传统快速检测方法的非特异性吸附引起的假阳性结果,适用于快速检测鸡蛋中氯霉素的残留量。
关键词:DNA 酶;催化活性;适配体;磁珠;鸡蛋;氯霉素

Abstract: Objective: A new method for the rapid detection of chloramphenicol in eggs was established, by preparing the aptamer magnetic bead complex, based on the mechanism of inhibiting the catalytic color reaction between the DNase and heme. **Methods:** The aptamer and DNase was combined through complementary base pairing, and it was combined with aptamer com-

posite magnetic beads. Furthermore, by adding different concentrations of chloramphenicol solution, the DNase and chloramphenicol nucleic acid adaptation was disintegrated by dissociation of DNase catalytic chromogenic reaction combined with hemoglobin. **Results:** The linear range of chloramphenicol was 0.001~100.000 mg/kg, and the absorbance was linearly correlated with the concentration of chloramphenicol. The recoveries of the colorimetric method were 98.4%~101.1% at 5, 10, 25 mg/kg, and the relative standard deviations were all less than 10%. **Conclusion:** By introducing DNase and magnetic nanoparticles, this method can effectively overcome the false positive results caused by non-specific adsorption of traditional rapid detection methods, and is more suitable for rapid detection of chloramphenicol residues in eggs.

Keywords: DNase; catalytic activity; aptamer; magnetic bead; egg; chloramphenicol

氯霉素是一种高效的抑菌性广谱抗生素,在蛋鸡养殖过程中常作为治疗抗生素,其在蛋鸡体内的消除半衰期较快,但是鸡蛋中残留的氯霉素最快需要 12 d 才可以完全消除^[1-3]。因为氯霉素具有较强的毒性,若长期使用氯霉素残留的鸡蛋会引起机体因正常菌群失调而更易感染疾病。2019 年中国农业农村部第 250 号公告修订了食品动物中禁止使用的药品及化合物清单,氯霉素及其盐、酯类再次明文规定禁止使用,说明食品安全检测中氯霉素的残留问题进一步得到重视^[4-6]。为满足食品安全快速检测和重大活动保障的相关诉求,有必要开发出适合于鸡蛋中氯霉素的快速测定,进一步加强市场管理和

基金项目:湖北省市场监督管理局科技计划项目(编号:Hbse-jg-kj201914);国家自然科学基金面上项目(编号:22076043)

作者简介:程慧(1989—),女,黄梅县公共检验检测中心质量工程师,硕士。E-mail:937446916@qq.com

收稿日期:2021-05-10

监督^[7-9]。

鸡蛋中氯霉素的仪器检测法为气相色谱—质谱、液相色谱—质谱/质谱,此方法适合于监管部门对于样品的周期性检验检测,设备成本和维护成本都较高^[10-12]。而目前中国基层检验检测水平能够实现大型仪器检测兽药残留较少,即使购买了大型仪器也存在缺少专业技术人员等其他因素导致仪器不能投入使用,若在基层大力推进食品安全快速检测,可实现大量农副产品的有毒有害物质检测,将食品安全的风险降至可防可控水平,及时守卫餐桌安全。目前检测氯霉素的快速检测方法主要是胶体金免疫分析法,其原理是根据抗体可特异性识别目标分子实现检测,但鸡蛋中兽药残留多为小分子物质,由传统化学方法得到的目标半抗原后再进行动物试验,这对于及时应对突发食品安全事件不具有时效性^[13-15]。核酸适配体是可在体外进行筛选的一种比抗体更加稳定、高效的人工抗体,目标小分子通常结合于适配体的折叠区域,通过掌握核酸适配体的筛选技术可以快速应对突发事件,能大幅提升基层检测机构应对食品安全未知风险的能力^[16-18]。

近年来研究食品中氯霉素残留的适配体检测方法主要有比色检测法、荧光检测法、化学发光检测法和生物传感检测法等^[19-21],比色检测法较其他在可操作性及便捷性等方面更适用于现场快速检测^[22-24]。例如,Yan 等^[25]基于生物素—链霉亲和素信号放大测定氯霉素残留;Huang 等^[26]基于 DNA 酶功能化纳米探针催化显色用于快速检测氯霉素;高慧菊等^[27]基于氯化钡纳米颗粒标记聚合物螯合物的双重信号放大快速检测氯霉素;Mahbobeh 等^[28]利用金纳米粒子在不同状态下的显色反应间接检测氯霉素残留量。由此可见,以适配体特异性识别结合显色反应是目前现场快速检测的最佳方法,目前适配体比色法通常会利用生物酶、金属纳米粒子实现转导,在温育反应和分离洗涤等操作过程中比较繁琐,易出现假阳性结果,不利于现场快速检测的有效分析。研究拟将杂交互补链反应与显色反应同时应用于适配体传感器,建立一种快速检测氯霉素的新方法,通过引入 DNA 酶及磁性纳米微球实现简化操作及减少假阳性结果的产生。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

氯霉素、氟苯尼考、恩诺沙星、氧氟沙星、诺氟沙星、多西环素、甲砒霉素: USP 级,德国 Dr. Ehrenstorfer 公司;

氯化血红素(贮藏温度 2~8 °C,hemin):国药集团化学试剂有限公司;

羧基磁珠(1.0~2.0 μm,10 mg/mL):赛默飞世尔科

技公司;

DNA 酶(1)(5'-GGGTAGGGCGGGTTGGTGGGA-CAACTCACTGAAGGACATGTA-3)、适配体(2)(5'-NH₂-(CH₂)₆-ACTTCAGTGAGTTGTCCACGGTCG-GCGAGTCGGTGGTAG-3');上海生工生物工程股份有限公司;

紫外可见分光光度计:T6 型,北京普析通用仪器有限公司;

恒温混匀仪:YN-H02-024 型,杭州佑宁仪器有限公司;

16 位磁力架:DynaMag-2 型,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;

三重四级杆液相—质谱联用仪:CN18063026 型,沃特世科技(上海)有限公司。

1.2 磁珠—适配体的制备

将 5 μL 20 mg/mL 羧基化磁珠清洗 2~3 次,按照产品说明进行活化,以实现羧基化磁珠与氨基化适配体的偶联。向清洗后的磁珠中加入 EDC/NHS 活化剂(300 μL,2 mg/mL 溶于 50 mmol/L pH 6.0 MES 缓冲液),置于振荡器中室温反应 30 min 以上。活化反应后用缓冲溶液(50 mmol/L pH 7.5 Tris-HCl)清洗活化后的羧基磁珠,向清洗后的羧基化磁珠中加入氨基化氯霉素适配体(100 μL,3 μmol/L 溶于 50 mmol/L pH 7.5 Tris-HCl),将上述混合物置于已调至 37 °C 的恒温混匀仪中反应 50 min,重复磁珠的清洗操作,重新分散于 300 μL pH 7.5 的 Tris-HCl 缓冲溶液中,于 4 °C 保存。

1.3 检测条件优化

1.3.1 温育时间 在适配体浓度 3 μmol/L,DNA 酶浓度 5 μmol/L,氯霉素浓度 100 mg/kg,考察温育时间(30,40,50,60,70 min)对体系吸光度的影响。

1.3.2 反应时间 在适配体浓度 3 μmol/L,DNA 酶浓度 5 μmol/L,氯霉素浓度 100 mg/kg,考察温育时间(30,35,40,45,50,55 min)对体系吸光度的影响。

1.3.3 显色反应 在适配体浓度 3 μmol/L,DNA 酶浓度 5 μmol/L,氯霉素浓度 100 mg/kg,考察温育时间(5,10,15,20,25 min)对体系吸光度的影响。

1.4 均相反应

向离心管中加入 990 μL 10 mmol/L pH 为 7.5 的 Tris-HCl(含 1 mmol/L EDTA),进一步向其中加入 10 μL 5 μmol/L DNA 酶,在恒温混匀仪中 25 °C 震荡反应 45 min 后待用。取上述磁珠适配体溶液 300 μL 与 1 mL 0.02 μmol/L DNA 酶溶液混匀,37 °C 涡旋混匀反应 90 min,磁分离后采用洗涤液和 pH 7.0 Tris-HCl 溶液交替洗 3 次,将该磁珠复合物重新分散于 200 μL 的 pH 7.5 Tris-HCl 缓冲溶液中 4 °C 保存。

1.5 氯霉素的检测

取 30 μL 上述磁珠复合物与 20 μL 按一定浓度梯度配制的氯霉素溶液充分混匀后,在恒温混匀仪中 37 $^{\circ}\text{C}$ 震荡反应 50 min,磁分离后取上清液加入 10 μL 1 $\mu\text{mol/L}$ hemin 充分混匀后进行显色反应。先向反应之后的溶液中加入 60 μL 含有 0.5 mmol/L TMB 与 0.5 mmol/L H_2O_2 的 25 mmol/L pH 5.0 柠檬酸盐缓冲溶液,室温反应 15 min,向反应体系中加入稀硫酸溶液 (30 μL , 2 mol/L) 以终止四甲基联苯的显色反应。将反应体系静置 10 min 后,测定吸光度,并建立吸光度值与氯霉素浓度之间的线性关系。

1.6 氯霉素检测的特异性

为了验证方法的特异性,将浓度为 100 mg/kg 的氯霉素、氟苯尼考、恩诺沙星、氧氟沙星、诺氟沙星、多西环素、甲磺霉素 7 种抗生素按照 1.4 的步骤加入到磁珠复合物中混匀,进行显色反应后使用分光光度计测量。

1.7 鸡蛋样品的准备

鸡蛋样品购于当地超市。称取 10 g 搅拌均匀的样品于 50 mL 具塞离心管中,加入 1.0 mL 10 ng/mL 间硝基氯霉素标准溶液和 30 mL 乙酸乙酯,振荡 30 min,4 000 r/min 离心 2 min 后取上清液转移至圆底烧瓶中,残渣用 30 mL 乙酸乙酯再提取一次,合并提取液,于 35 $^{\circ}\text{C}$ 旋转蒸发至 1~2 mL,加入 1 mL 甲醇溶解提取液,用 20 mL 4% 氯化钠溶液和 20 mL 正己烷液萃取,弃去正己烷层,水相用 40 mL 乙酸乙酯分两次萃取,合并乙酸乙酯相于心形瓶中 35 $^{\circ}\text{C}$ 旋转蒸发,用氮气缓慢吹干备用。

2 结果与分析

2.1 检测方法原理

试验拟将模拟过氧化物 DNA 酶引入鸡蛋中氯霉素的适配体传感器,当氯霉素适配体与磁珠组合体结合后,可与 DNA 酶发生杂交链互补反应,从而使催化活性呈失活状态。加入不同浓度氯霉素目标分子后,具有高催化活性的 DNA 酶得到释放,试验体系可催化四甲基联苯胺—双氧水显色实现对鸡蛋中氯霉素残留的快速检测,整个试验过程原理如图 1 所示。当溶液中存在氯霉素时,复合物体系优先与氯霉素结合,使模拟过氧化物 DNA 酶从复合物体系中解离出进入上清液中。根据加入氯霉素含量的多少确定颜色变化,据此实现鸡蛋中氯霉素的定量检测。

2.2 DNA 酶催化显色反应及磁珠适配体的建立

根据模拟过氧化物 DNA 酶的催化活性因与目标分子适配体杂交结合后得到抑制的磁珠结合体,可通过改变 DNA 酶的序列结构使催化活性的抑制效果提高。试验通过在 DNA 酶序列的 3' 末端增加一个 A-碱基与未修

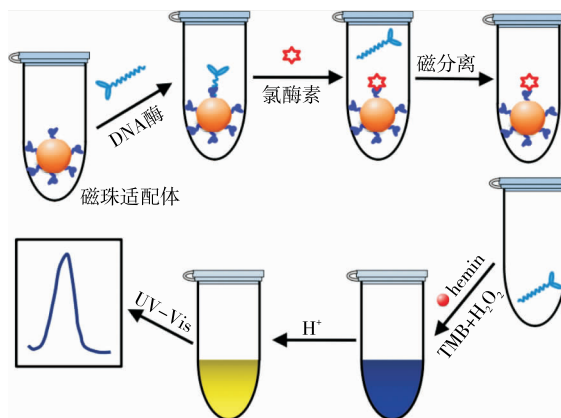
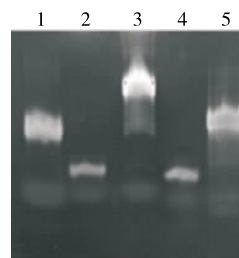


图 1 基于核酸适配体识别引起 DNA 酶释放比色分析原理示意图

Figure 1 A schematic diagram of the principle of colorimetric analysis of DNA enzyme release induced by aptamer recognition

饰的 DNA 酶在相同条件下分别与氯霉素磁珠适配体反应,在最优化反应条件下加入 100 mg/kg 氯霉素标准溶液反应后进行显色反应。如图 2 所示,因氯霉素与 DNA 酶竞争适配体,导致 DNA 酶与适配体解离。针对不同试验阶段的杂交反应分别进行验证分析,DNA 酶和适配体(泳道 3)与 DNA 酶(泳道 1)、适配体(泳道 2)相比电泳迁移速度较慢,证实 DNA 酶和适配体杂交成功,泳道 5 与泳道 1 的重合则充分说明氯霉素与适配体成功结合。从图 3 可以看出,未修饰 DNA 酶 a、修饰后的 DNA 酶 b 和氯霉素进行的显色反应相比较,发现以修饰后的 DNA 酶进行显色反应引起的吸光度响应效应强于未修饰的 DNA 酶。

为进一步证明氯霉素与适配体的结合,通过紫外—分光光度法验证适配体与目标物的结合。从图 4 可看出,空白的 TMB- H_2O_2 溶液无明显的紫外吸收峰(曲线 a),10 μL 5 $\mu\text{mol/L}$ DNA 酶、10 $\mu\text{mol/L}$ hemin、TMB- H_2O_2 溶液及终止液反应后在紫外图谱上出现了明显的吸收峰(曲线 c),磁珠适配体溶液 300 μL 与 1 mL DNA 酶溶液混匀反应后吸取上清液,加入显色剂后有较弱的紫外



1. DNA 酶 2. 适配体 3. DNA 酶和适配体 4. 适配体 5. 适配体和氯霉素

图 2 不同样品的凝胶电泳图

Figure 2 The PAGE images for different samples

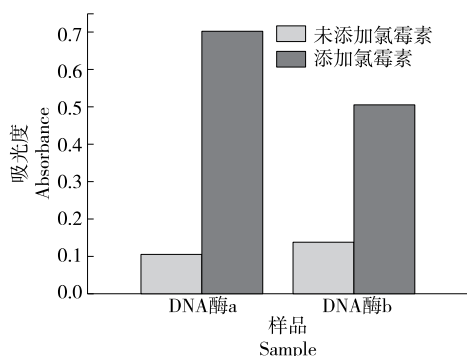


图3 不同物质反应前后吸光度的比较

Figure 3 Comparison of absorbance before and after reaction of different substances

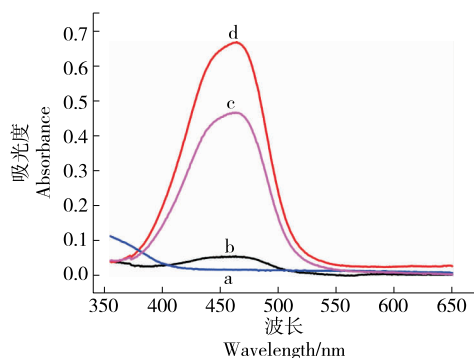
a. TMB-H₂O₂ b. 空白试剂 c. 100 mg/kg 氯霉素 d. DNA 酶

图4 催化显色反应所得的紫外—可见吸收光谱图

Figure 4 UV-Vis absorption spectra of catalytic chromogenic reactions

吸收峰(曲线b),当将100 mg/kg 氯霉素用于适配体反应后,所得溶液产物加入显色剂后也出现明显紫外吸收峰(曲线d)。这一现象证明了氯霉素加入体系反应之后与适配体结合释放DNA酶,从而使显色反应强度进一步提高。

2.3 检测条件优化

2.3.1 温育时间 由图5可知,随着第一次碱基互补配对对温育时间的增加,磁分离之后的溶液在显色反应之后吸光度响应值逐步降低,说明磁珠上连接的适配体与DNA酶结合后,导致溶液中DNA酶含量减少,显色反应溶液的吸光度值也随之趋于减小,当温育时间>50 min后得到的吸光度值趋于稳定。故以50 min作为最佳反应时间。

2.3.2 反应时间 由图6可知,将100 mg/kg的氯霉素用于添加DNA酶的磁珠适配体,其吸光度信号响应随反应时间的增加而增加,说明DNA酶从磁珠适配体上解离的量逐步增加。当氯霉素与反应体系的温育时间超过45 min时,反应体系的吸光度值趋于稳定。说明氯霉素与添加DNA酶的磁珠适配体反应时间达到45 min时可反应彻底。

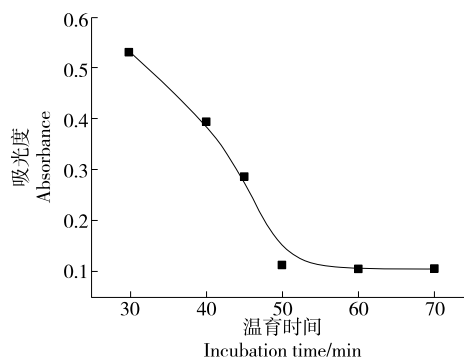


图5 温育时间对吸收光谱的影响

Figure 5 The effects of different incubation times on the absorption spectral responses obtained

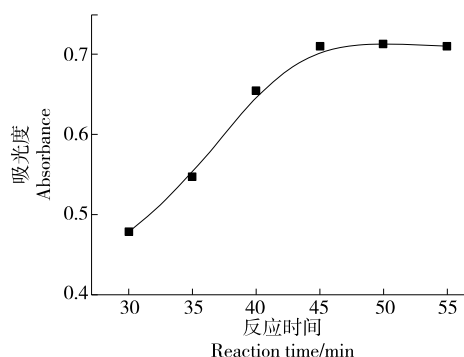


图6 反应时间对吸收光谱的影响

Figure 6 The effects of reaction times on the absorption spectral responses obtained

2.3.3 显色时间 由图7可知,当显色反应时间<15 min时,吸光度的响应值随时间的增加而增加,超过15 min后吸光度的响应值达到稳定。由此可见DNA酶与氯化血红素的充分反应时间为15 min,此时酶促反应也达到最大限度。因此,以15 min为显色反应最佳时间。

2.4 线性分析

在优化的条件(DNA酶与适配体的反应时间为50 min,氯霉素加入后的反应时间为45 min,显色时间为15 min)下,研究不同质量浓度氯霉素在试验设计方法下的吸光度。比色反应过程中,体系的吸光度值随氯霉素浓度的增加呈线性增加(见图8),线性回归方程为: $y = 0.1011 + 0.5495 \lg C$,相关系数为0.998。

2.5 特异性

分别考察了氯霉素、氟苯尼考、恩诺沙星、氧氟沙星、诺氟沙星、多西环素、甲磺霉素7种抗生素在该试验条件下吸光度的响应值。由图9可知,对目标分析物氯霉素的响应值较大,而在其他6种抗生素的很小。此结果证明该方法对氯霉素具有特异性,其他同系干扰物的交叉响应可忽略。

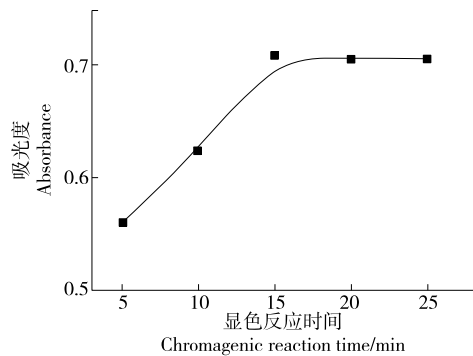


图 7 显色反应时间对吸收光谱的影响

Figure 7 The effects of chromogenic reaction time on the absorption spectral responses obtained

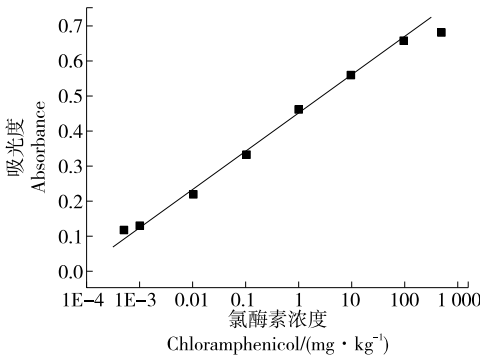


图 8 吸收光强度与氯霉素的线性关系

Figure 8 Linear relationship between absorption intensity and chloramphenicol

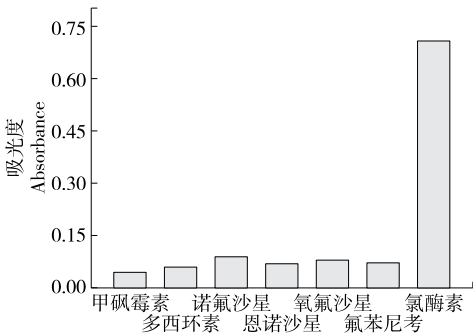


图 9 7 种抗生素用于试验设计的方法后产生的吸收强度响应

Figure 9 The absorption intensity response of seven antibiotics used in this method

2.6 准确性

按照 GB/T 22338—2008《动物源性食品中氯霉素类药物残留量测定》对鸡蛋样品进行适当前处理后,用液相色谱—质谱检测基底之后,在基底中分别加入质量浓度为 5, 10, 25 mg/kg 的氯霉素,得加标样品,分别用试验设计的方法、液相色谱—质谱和酶联免疫吸附试验(ELISA)法对加标样品进行检测,结果见表 1。由表 1 可知,3 种方法的 RSD 分别为 2.29%, 4.07%, 2.59%, 回收率为 98.4%~101.1%,通过计算 3 种方法分别所得结果的偏差后得出检测结果基本一致,将表中所得试验结果与加标量进行比较得出试验设计的方法的检测结果准确度较高。

表 1 与标准和常规方法的比较及准确性试验结果

Table 1 Comparison of the results obtained by using this method and the reference method (n=5)

加标量/ (mg · kg ⁻¹)	试验方法测量值/ (mg · kg ⁻¹)	液相色谱—质谱法 测量值/(mg · kg ⁻¹)	ELISA 法测量值/ (mg · kg ⁻¹)	试验方法 回收率/%	试验方法相对 标准偏差/%
0	0.18±0.04	0.09±0.05	0.21±0.09	/	3.18
5	4.92±0.06	4.98±0.13	5.09±0.10	98.4	2.29
10	10.11±0.23	10.24±0.28	10.53±0.17	101.1	4.07
25	24.89±0.39	24.86±0.45	25.13±0.23	99.6	2.59

3 结论

基于适配体—磁珠复合体与氯霉素的竞争反应,以达到解离适配体与 DNA 酶的杂交结合,成功实现 DNA 酶与血红素的催化显色反应,可用于鸡蛋中氯霉素残留量的快速检测。结果显示,该方法对氯霉素的检测具有检出限低、选择性强、反应时间短等优势,因该方法未涉及较贵重的仪器而且操作简单易行,较适合基层检测机构用于现场快速检测,便于及时筛查出氯霉素残留超标的样品。

参考文献

[1] 任帅, 丁桥棋, 李丽, 等. 新型氯霉素化学发光芯片免疫检测方

法的建立及应用[J]. 分析化学, 2018, 46(10): 1 581-1 587.
REN Shuai, DING Qiao-qi, LI Li, et al. Development and application of a novel chemiluminescence chip immunoassay for detection of chloramphenicol [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2018, 46(10): 1 581-1 587.
[2] 许小炫, 苏晓娜, 谭庶, 等. 间接竞争化学发光酶联免疫分析方法检测禽肉中金刚烷胺和氯霉素残留[J]. 食品科学, 2021, 42 (4): 305-312.
XU Xiao-xuan, SU Xiao-na, TAN Shu, et al. Determination of amantadine and chloramphenicol residues in poultry meat by indirect competitive chemiluminescence enzyme-linked immunosorbent assay[J]. Food Science, 2021, 42(4): 305-312.
[3] LEI M, WU Y Q, XU N, et al. Gold nanoclusters fluorescence probe for monitoring chloramphenicol and study of two-dimensional cor-

- relation fluorescence spectroscopy [J]. Journal of Molecular Structure, 2021, 1 223(5): 875-881.
- [4] MANJULA N, CHEN S M. Synthesis of highly electroactive nano-flowers likemanganesetin oxide and electroanalytical application for chloramphenicol determination in milk and honey samples [J]. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2021, 880(1): 914-922.
- [5] 吴珊珊, 孙治安, 田央, 等. 氯霉素单分散限进分子印迹聚合物的制备及其识别特性研究[J]. 分析化学, 2019, 47(3): 471-478. WU Shan-shan, SUN Zhi-an, TIAN Yang, et al. Preparation and recognition characters of chloramphenicol monodispersed restricted access media molecularly imprinted polymers[J]. Analytical Chemistry, 2019, 47(3): 471-478.
- [6] LI Y B, WANG L, ZHAO L T, et al. An fluorescence resonance energy transfer sensing platform based on signal amplification strategy of hybridization chain reaction and triplex DNA for the detection of Chloramphenicol in milk[J]. Food Chemistry, 2021, 357(30): 769-775.
- [7] FATEMEH A, SHAHRAM G, SEYED N A, et al. Design of turn-on luminescent sensor based on nanostructured molecularly imprinted polymer-coated zirconium metal-organic framework for selective detection of chloramphenicol residues in milk and honey[J]. Food Chemistry, 2021, 347(15): 34-44.
- [8] WU S W, KO J L, LIU B H, et al. A sensitive two-analyte immunochromatographic strip for simultaneously detecting aflatoxin M₁ and chloramphenicol in milk[J]. Toxins, 2020, 12(10): 637-694.
- [9] YAN X L, JI Y L, XUE X X, et al. One-pot label-free dual-aptasensor as a chemiluminescent tool kit simultaneously detect adenosine triphosphate and chloramphenicol in foods[J]. Talanta, 2021, 229(1): 226-233.
- [10] 金晓峰, 焦仁刚, 赵贵, 等. 通过式固相萃取/超高效液相色谱—串联质谱法快速测定鸡蛋中的 8 种兽药残留[J]. 分析科学学报, 2020, 36(6): 906-911. JIN Xiao-feng, JIAO Reng-gang, ZHAO Gui, et al. Determination of eight veterinary drugs in eggs by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with a through-type solid-phase extraction[J]. Journal of Analytical Science, 2020, 36(6): 906-911.
- [11] 杨黎, 刘星, 廖夏云, 等. 高效液相色谱—串联质谱法同时测定蜂胶、蜂胶原料保健食品中的氯霉素、甲磺霉素与氟甲磺霉素[J]. 分析测试学报, 2020, 39(7): 887-893. YANG Li, LIU Xing, LIAO Xia-yun, et al. Determination of chloramphenicol, thiamphenicol and florfenicol residues in propolis and propolis-derived dietary supplements by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2020, 36(7): 887-893.
- [12] 栗有志, 李艳美, 周均, 等. 分散微固相萃取—高效液相色谱—串联质谱法测定水样中 3 种氯霉素类和 11 种激素类药物残留[J]. 分析科学学报, 2020, 36(1): 69-74. SU You-zhi, LI Yan-mei, ZHOU Jun, et al. Dispersive micro-solid phase extraction combined with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for determination of 3 chloramphenicols and 11 hormones residue in water samples[J]. Journal of Analytical Science, 2020, 36(1): 69-74.
- [13] 卢静荷, 谭淑珍, 朱雨清, 等. 荧光核酸适配体功能化氧化石墨烯生物传感器用于快速检测氯霉素[J]. 化学学报, 2019, 77(3): 253-256. LU Jing-he, TAN Shu-zhen, ZHU Yu-qing, et al. Fluorescent aptamer-functionalized graphene oxide biosensor for rapid detection of chloramphenicol[J]. Acta Chimica Sinica, 2019, 77(3): 253-256.
- [14] 赵晗, 于丽佳, 吴志生, 等. 基于核酸适配体调控噻菁染料聚集体构建铅离子检测方法[J]. 食品与机械, 2021, 37(1): 73-78. ZHAO Han, YU Li-jia, WU Zhi-sheng, et al. Construction of lead (II) ion detection method based on regulation of thiacyanine self-assembly by nucleic acid aptamer[J]. Food & Machinery, 2021, 37(1): 73-78.
- [15] 王玲, 管笛, 周欣, 等. 磁性化学发光酶免疫法检测猪肉中的氯霉素[J]. 食品科学, 2017, 38(10): 305-309. WANG Ling, GUAN Di, ZHOU Xin, et al. Development of magnetic bead-based chemiluminescent enzyme immunoassay for chloramphenicol detection in swine muscle[J]. Food Science, 2017, 38(10): 305-309.
- [16] 范维, 高晓月, 李贺楠, 等. 高通量抗生素残留初筛试剂盒的研制及应用[J]. 食品科学, 2019, 40(14): 333-338. FAN Wei, GAO Xiao-yue, LI He-nan, et al. Development and application of kit for high-throughput detection of antibiotic residues[J]. Food Science, 2019, 40(14): 333-338.
- [17] XU L, HE X Y, DONG J T, et al. A photoelectrochemical aptasensor for sensitively monitoring chloramphenicol using plasmon-driven Ag-NP/BiOCl₂ composites[J]. Analyst, 2021, 145(23): 7 695-7 700.
- [18] TAO X Q, HE F, LIU X X, et al. Detection of chloramphenicol with an aptamer-based colorimetric assay: Critical evaluation of specific and unspecific binding of analyte molecules [J]. Microchimica Acta, 2020, 187(12): 44-60.
- [19] CHEN Y, YAN P P, LU G F, et al. A highly selective photoelectrochemical chloramphenicol aptasensor based on AgBr/BiOBr heterojunction[J]. Inorganic Chemistry Communications, 2020, 123(1): 333-340.
- [20] 王鑫, 刘河冰, 陶晓奇, 等. 基于核酸适配体检测动物性食品中氯霉素残留的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(18): 254-262. WANG Xin, LIU He-bing, TAO Xiao-qi, et al. Advances in detection of chloramphenicol residues with aptamers in animal-derived foods[J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(18): 254-262.
- [21] 张娜, 韦丽婷, 李向丽, 等. 核酸适配体-纳米金可视化检测盐酸克伦特罗[J]. 现代食品科技, 2019, 35(7): 301-307. ZHANG Na, WEI Li-ting, LI Xiang-li, et al. A New method for the determination of clenbuterol based on aptamer and gold nanoparticles [J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(7): 301-307.

(下转第 104 页)

系统检测结果显示,不合格爆珠的误检率均控制在 3% 以内,效果良好。爆珠的质量检测十分关键,文中提出的基于机器视觉的香烟爆珠特征识别方法更准确以及更高效地完成了对香烟爆珠的特征识别检测,通过对不合格品的剔除,能保证爆珠的质量以及消费者的最佳体验感。

5 结语

针对机械式卷烟爆珠检测的诸多问题,提出了一种基于机器视觉的卷烟爆珠在线检测系统。设计精准的缺陷检测算法,同时完成对爆珠形状、尺寸以及是否破损的检测。设计硬件系统实现了爆珠上料及剔除的一体化,并通过试验验证了系统检测的可行性。该系统解决了现有对爆珠机械筛选的效率低下问题,在保证检测精度的同时提高速度,具有良好的企业应用价值。但该系统对传动机构要求较高,而实际生产中加工条件各不相同,若爆珠发生粘黏,在图像处理阶段可考虑新的边缘提取方式,如贝叶斯边缘拟合,同时增加不同种类爆珠模拟训练样本,以进一步提高检测精度。

参考文献

- [1] 彭黔荣. 卷烟的爆珠[J]. 中国烟草学报, 2020, 26(2): 113.
PENG Qian-rong. The capsules of cigarette[J]. Acta Nicotianae Sinica, 2020, 26(2): 113.
- [2] 顾健龙, 孟红明, 蔡洁云, 等. 卷烟爆珠质量检测研究进展[J]. 云南化工, 2020, 47(2): 1-4.
GU Jian-long, MENG Hong-ming, CAI Jie-yun, et al. Research progress on quality detection of cigarette capsules[J]. Yunnan Chemical Industry, 2020, 47(2): 1-4.
- [3] 郭静, 罗华, 张涛. 机器视觉与应用[J]. 电子科技, 2014, 27(7): 185-188.
GUO Jing, LUO Hua, ZHANG Tao. Machine vision and application[J]. Electronic Science and Technology, 2014, 27(7): 185-188.

(上接第 66 页)

- [22] 涂东堃, 鲁悦, 郑晓亮, 等. 基于荧光分子开关和核酸适配体的镉离子快速检测方法[J]. 食品与机械, 2020, 36(3): 63-68.
TU Dong-jing, Lu Yue, ZHENG Xiao-liang, et al. Rapid detection of cadmium based on fluorescence molecular switch and aptamer[J]. Food & Machinery, 2020, 36(3): 63-68.
- [23] 陈佳琦, 吴海燕, 张旭志, 等. 一种高灵敏检测贝类中大田软海绵酸的可抛式核酸适配体传感器[J]. 分析化学, 2019, 47(6): 869-875.
CHEN Jia-qi, WU Hai-yan, ZHANG Xu-zhi, et al. A disposable aptasensor for sensitive detection of okadaic acid in shellfish[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2019, 47(6): 869-875.
- [24] LI W, LI Y, LIU Z L, et al. Insight into G-quadruplex-hemin DNAzyme/RNAzyme: adjacent adenine as the intramolecular species for remarkable enhancement of enzymatic activity[J]. Nucleic Acids Research, 2016, 44(15): 7 373-7 384.
- [25] YAN C, ZHANG J, YAO L, et al. Aptamer-mediated colorimetric

- [4] 陈英. 机器视觉检测技术在工业检测中的应用[J]. 电子测试, 2015(18): 79-80.
CHEN Ying. Application of machine vision inspection technology in industrial inspection[J]. Electronic Test, 2015(18): 79-80.
- [5] 徐龙泉, 王澍, 董浩, 等. 面向卷烟爆珠放行检验的气泡缺陷检测方法[J]. 烟草科技, 2020, 53(10): 96-102.
XU Long-quan, WANG Shu, DONG Hao, et al. Bubble defect detection method for cigarette bead burst release inspection [J]. Tobacco Science and Technology, 2020, 53(10): 96-102.
- [6] 吴成刚, 杨尘, 谢崇泉, 等. 基于机器视觉的卷接机接装纸图像检测系统[J]. 食品与机械, 2020, 36(1): 150-156.
WU Cheng-gang, YANG Dui, XIE Chong-quan, et al. Machine vision based image pickup system for lap winding machine[J]. Food & Machinery, 2020, 36(1): 150-156.
- [7] CHANDAB Bhabatosh. Morphological algorithms for image processing[J]. IETE Technical Review, 2008, 25(1): 9-18.
- [8] 谢一首, 李庆, 郑力新, 等. 基于机器视觉的胶囊缺陷检测系统设计[J]. 微型机与应用, 2016, 35(7): 69-72.
XIE Yi-shou, LI Qing, ZHENG Li-xin, et al. Design of capsule defect detection system based on machine vision[J]. Microcomputer and Application, 2016, 35(7): 69-72.
- [9] OSTU Nobuyuki. A threshold selection method from gray-level histogram[J]. IEEE Trans, 1979, 9(1): 62-66.
- [10] 张堃, 王震, 张培建, 等. 面向高速视觉检测的精确抓拍安全策略研究[J]. 仪器仪表学报, 2018, 39(2): 232-240.
ZHANG Kun, WANG Zhen, ZHANG Pei-jian, et al. Research on security strategy of accurate capture for high speed visual inspection[J]. Journal of Instrumentation, 2018, 39(2): 232-240.
- [11] 杜云, 郑羽纶, 张效玮. 基于图像处理的苹果大小分级研究[J]. 河北工业科技, 2019, 36(6): 410-414.
DU Yun, ZHENG Yu-lun, ZHANG Xiao-wei. Apple size classification based on image processing[J]. Hebei Industrial Science and Technology, 2019, 36(6): 410-414.

method for rapid and sensitive detection of chloramphenicol in food[J]. Food Chemistry, 2018, 260(15): 208-212.

- [26] HUANG W, ZHANG H, LAI G, et al. Sensitive and rapid apta-sensing of chloramphenicol by colorimetric signal transduction with a DNAzyme-functionalized gold nanoprobe[J]. Food Chemistry, 2019, 270(1): 287-292.
- [27] 高慧菊, 潘道东, 孙杨赢, 等. 鱼肉和鹅肉中氯霉素的比色适配体传感快速检测[J]. 现代食品科技, 2016, 32(5): 315-321.
GAO Hui-ju, PAN Dao-dong, SUN Yang-ying, et al. Colorimetric aptasensor for the determination of chloramphenicol in fish and goose meat[J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 32(5): 315-321.
- [28] MAHBOBEH J, MOHAMMAD R H, ASMA V, et al. Detection of chloramphenicol using a novel apta-sensing platform based on aptamer terminal-lock in milk samples[J]. Analytical Chimica Acta, 2018, 1 039(18): 116-123.