

喹诺酮类药物免疫检测方法研究进展

吴梦娇¹ 李 宁¹ 胡 梅¹ 徐 燕² 王 杰³ 向 锋³

(1. 河南农业大学食品科学技术学院, 河南 郑州 450002; 2. 信阳市生态环境局光山分局, 河南 信阳 465450;
3. 光山县先进制造业开发区管委会, 河南 信阳 465450)

摘要:喹诺酮类药物(QNs)因其广泛的抗菌作用而备受青睐。QNs在动物饲料中的过度使用可导致其残留物进入食物链中,从而对环境和人类健康造成潜在危害。文章对喹诺酮类药物残留的主要免疫检测技术进行了归纳总结,分析了其优势和应用前景,并对免疫检测技术面临的挑战和未来发展方向进行了探讨。

关键词:喹诺酮类药物;食品;药物残留;免疫检测方法;应用前景

Advances in immunoassay methods for quinolones

WU Mengjiao¹ LI Ning¹ HU Mei¹ XU Yan² WANG Jie³ XIANG Feng³

(1. College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan 450002, China;
2. Guangshan Branch of Xinyang Ecological Environment Bureau, Xinyang, Henan 465450, China; 3. Management
Committee of Guangshan County Advanced Manufacturing Development Zone, Xinyang, Henan 465450, China)

Abstract:Quinolones (QNs) are highly favored for their broad-spectrum antibacterial effects. However, the overuse of QNs in animal feed can lead to their residues entering the food chain, thus posing potential hazards to the environment and human health. This paper summarizes the main immunoassay techniques for quinolone residues, analyzes their advantages and application prospects, and discusses the challenges and future development directions of immunoassay techniques.

Keywords: quinolone; food; drug residue; immunoassay method; application prospect

喹诺酮类药物(QNs)主要包括达氟沙星、二氟沙星、恩诺沙星等,是一种广谱人工合成抗菌剂,对多种细菌感染均有较好的抑制能力,具有显著的组织穿透性,能渗透至组织和细胞内发挥抗菌作用。该类物质能够与细菌DNA或RNA上的酶(DNA酶或RNA酶)结合,抑制其活性,从而阻碍细菌基因组的复制和表达,导致细菌失去复制能力或死亡^[1]。此外,该类物质价格相对较低,易于生产和获取,且与其他抗菌药物没有交叉耐药性^[2]。

在畜禽养殖中,喹诺酮类药物被用以预防和治疗感染症,但其不当使用或滥用可能导致药物残留在动物组织中。这些残留物可能通过畜禽肉类、鱼类和乳制品等食品在人体内蓄积,对人类健康造成严重威胁^[3]。目前,

在全球范围内常见肉类(如鸡肉、牛肉、猪肉、水产海鲜等)中均存在较严重的抗生素残留现象^[4]。长期摄入含有喹诺酮类药物残留的食品会削弱抗生素的治疗效果,引发人体过敏反应或其他毒副作用,增加公共健康风险。此外,喹诺酮类药物在环境中的积累还会破坏微生物生态平衡,威胁生态健康。因此,检测食品中的喹诺酮类药物残留显得尤为重要。

目前,食品中喹诺酮类药物残留的检测方法主要为高效液相色谱法(HPLC)、高效液相色谱—串联质谱法(HPLC-MS)、毛细管电泳法和酶联免疫法等。HPLC和HPLC-MS具有高灵敏度和准确性,但样品前处理复杂、检测成本高、分析过程繁琐,不适用于现场快速检测^[5]。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:NNSFC-31201878);河南省重点研发与推广专项(科技攻关)(编号:242102320265, 242102310303)

通信作者:李宁(1981—),女,河南农业大学教授,博士。E-mail: lining8028@126.com

胡梅(1986—),女,河南农业大学讲师,博士。E-mail: humei@henau.edu.cn

收稿日期:2024-09-11 **改回日期:**2025-02-20

引用格式:吴梦娇,李宁,胡梅,等. 喹诺酮类药物免疫检测方法研究进展[J]. 食品与机械, 2025, 41(5): 216-224.

Citation:WU Mengjiao, LI Ning, HU Mei, et al. Advances in immunoassay methods for quinolones[J]. Food & Machinery, 2025, 41(5): 216-224.

相比之下,免疫学检测方法操作简单、成本较低,易于普及,所需时间短,有助于快速初步筛查^[6]。Cheng等^[7]设计了一系列便携式的检测设备可以通过智能手机与移动应用进行数据传输和分析,可在农田、养殖场等各个环节进行实时监测,及时发现和解决潜在的食品安全问题。

1 喹诺酮类药物在食品中的残留限量

为加强兽药残留监控工作,保证动物源性食品卫生安全,美国禁止将喹诺酮类药物作为非限制性药物使用^[8]。世界卫生组织规定食品中恩诺沙星含量不能超过40 $\mu\text{g/kg}$,而欧盟则规定动物组织中的恩诺沙星含量不能超过30 $\mu\text{g/kg}$ ^[9]。GB 31650—2019规定了食品中达氟沙星(DAF)、二氟沙星(DIF)、恩诺沙星(ENR)、沙拉沙星(SAR)、氟甲喹(FLU)、噁喹酸(OA)等喹诺酮类药物的最高残留限量。GB 31650.1—2022中新增了马波沙星(MBF)等喹诺酮类药物的最大残留限量(MRLs),进一步补充和完善了相关标准(表1),为兽药残留检测工作提供了更全面科学的判定依据,有利于更好地保障中国的食品安全^[10-11]。

2 喹诺酮类药物免疫检测方法

随着快速检测技术的不断进步,将免疫学检测方法与新型检测技术相结合,可显著提升检测的灵敏度,如侧向流免疫分析法、荧光偏振免疫分析法、化学发光免疫分析法等。这些方法的发展为食品安全领域带来了新的可能性,有效地将免疫检测和快速检测技术相结合。

不同的免疫检测方法在灵敏度、特异性、成本和操作复杂度等方面各有优点和局限性。详细对比见表2。

2.1 酶联免疫吸附法

酶联免疫吸附法(ELISA)是最常用的免疫测定方法之一,可用于检测样品中的喹诺酮类药物残留。由于喹诺酮类药物为小分子,因此通常采用竞争型ELISA法进行检测,包括直接竞争ELISA(dc-ELISA)和间接竞争ELISA(ic-ELISA)。dc-ELISA是指分析物与酶标记的分析物之间对有限抗体的竞争。ic-ELISA是指样品中的分析物与包被抗原之间的竞争^[17]。在ELISA检测中通过合理设计和选择生物识别元件,可以实现对不同种类喹诺酮药物的高度特异性识别,这种精确的识别能力能够区分不同结构和成分的喹诺酮类药物,使得检测结果更可靠^[18]。Acaroz等^[19]基于一种通用且高度敏感的单克隆抗体(mAb),开发了一种直接竞争ELISA,可以同时检测8种喹诺酮类药物。该方法具有较高的灵敏度,其中诺氟沙星的检出限为0.02 ng/mL 。该研究侧重于多种喹诺酮类药物的广泛检测。此外,可以通过对单链抗体的定向优化显著提升对单一药物的灵敏检测。Wang等^[20]构建了小鼠噬菌体展示的单链抗体(scFv)库,并筛选出对环丙沙星具有亲和力的噬菌体颗粒,扩增后得到单克隆噬菌

体,进行定向突变后,提高了与环丙沙星结合的亲和力,并通过ic-ELISA法实现对环丙沙星高灵敏度和高特异性的检测,该方法的灵敏度比传统ELISA法的提高了16.6倍,该研究深入优化了抗体结构,使针对特定药物的高灵敏度检测成为可能。此外,也可以通过抗原的异质竞争提高ELISA的灵敏度,通过利用高效的生物识别元件,使喹诺酮免疫检测技术在检测灵敏度方面取得了显著的提升^[21]。Hu等^[22]报道了利用半抗原交叉反应性筛选异质竞争性抗原以提高ELISA灵敏度的方法,当使用具有亲和力的异质竞争性抗原和相应的半抗原(交叉反应率为0.77%~49.92%)时,ELISA的灵敏度得到提高,尤其是使用异质竞争性抗原MOX-BSA(莫西沙星偶联牛血清白蛋白)作为异源包被抗原时,ELISA的灵敏度相对于使用同质竞争性抗原NOR₀-BSA(诺氟沙星氨基衍生物偶联牛血清白蛋白)时提高了26倍(IC_{50} 从5.2 ng/mL 降至0.2 ng/mL)。该研究进一步证明,通过优化抗原的竞争机制,采用异质抗原策略,在现有ELISA体系的基础上可显著提高检测灵敏度。

2.2 侧流免疫层析法

侧流免疫分析(LFIA)具有廉价、快速、操作简便等优点,在喹诺酮检测中受到越来越多的关注。食品样品基质复杂,通常含有多种复杂成分,给目标待测物的定向检测带来干扰^[23]。在检测过程中引入纳米颗粒,通过选择性修饰纳米颗粒上的功能基团,可以精确地调控抗体的定向结合能力,增强其对喹诺酮的特异性识别^[24],从而提高LFIA的准确性和特异性。Xue等^[25]提出了一种基于金纳米颗粒(AuNPs)的多通道侧流免疫层析法,检测牛奶中的5种化学污染物如三聚氰胺、恩诺沙星、磺胺乙噻、四环素和黄曲霉毒素 M_1 。其试验原理如图1所示,在免疫层析试剂盒中,NC膜上印有5种不同的抗原以及山羊抗鼠IgG抗体,在存在目标物的情况下,探针复合物优先与牛奶中的目标物质结合,因此探针不会与T线上的相应抗原结合,T线无色。在没有目标物的情况下,探针分别与T线上的抗原结合,使T线显色。无论是否存在目标物,复合物都会继续向前迁移,并与C线上的山羊抗鼠IgG抗体结合,呈现红色。该方法能够在牛奶中同时检测三聚氰胺、恩诺沙星、磺胺乙噻、四环素和黄曲霉毒素 M_1 ,且其检测限和截止值均低于相关标准中设定的最大残留限量。

Liu等^[26]提出了一种基于竞争原理的磁性纳米颗粒多重侧流免疫分析法(MLFIA)快速检测牛奶中的氟喹诺酮类药物,成功用于实际样品的检测,并通过液相色谱—串联质谱法对检测结果进行验证。该研究拓展了纳米颗粒的应用,从AuNPs到磁性纳米颗粒,进一步提高了检测的准确性和多重检测能力。Bao等^[27]创新性地引入了酪胺诱导的AuNPs聚集,开发了一种基于酪胺诱导的金纳

表 1 GB 31650—2019 和 GB 31650.1—2022 规定的喹诺酮在食品中的最大残留限量

Table 1 Maximum residue limits for quinolones in food according to GB 31650—2019 and GB 31650.1—2022

药物名称	动物种类	靶组织	最大残留量/($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)
达氟沙星	牛、羊	肌肉、脂肪、肝、肾、奶	200,100,400,400,30
	家禽(产蛋期禁用)	肌肉、脂肪、肝、肾	200,100,400,400
	家禽	蛋	10
	猪	肌肉、脂肪、肝、肾	100,100,50,200
	鱼	皮+肉	100
二氟沙星	牛、羊(泌乳期禁用)	肌肉、脂肪、肝、肾	400,100,1 400,800
	猪	肌肉、脂肪、肝、肾	400,100,800,800
	家禽(产蛋期禁用)	肌肉、皮+脂、肝、肾	300,400,1 900,600
	家禽	蛋	10
	其他动物	肌肉、脂肪、肝、肾	300,100,800,600
	鱼	皮+肉	300
恩诺沙星	牛、羊	肌肉、脂肪、肝、肾、奶	100,100,300,200,100
	猪、兔	肌肉、脂肪、肝、肾	100,100,200,300
	家禽(产蛋期禁用)	肌肉、皮+脂、肝、肾	100,100,200,300
	家禽	蛋	10
	其他动物	肌肉、脂肪、肝、肾	100,100,200,200
	鱼	皮+肉	100
沙拉沙星	鸡/火鸡(产蛋期禁用)	肌肉、脂肪、肝、肾	10,20,80,80
	鸡/火鸡	蛋	5
	鱼	皮+肉	30
氟甲喹	牛、羊、猪	肌肉、脂肪、肝、肾	500,1 000,500,3 000
	牛、羊	奶	50
	鸡(产蛋期禁用)	肌肉、皮+脂、肝、肾	500,1 000,500,3 000
	鸡	蛋	10
	鱼	皮+肉	500
	牛、猪、鸡(产蛋期禁用)	肌肉、脂肪、肝、肾	100,50,150,150
噁喹酸	鸡	蛋	10
	鱼	皮+肉	100
	所有动物食品	肌肉、肝、肾、脂肪、奶、蛋	2
洛美沙星	鱼	皮+肉	2
	蜜蜂	蜂蜜	5
马坡沙星	牛	肌肉、脂肪、肝、肾、奶	150,50,150,150,75
	猪	肌肉、皮+脂、肝、肾	150,50,150,150
诺氟沙星	所有动物食品	肌肉、肝、肾、脂肪、奶、蛋	2
	鱼	皮+肉	2
	蜜蜂	蜂蜜	5
氧氟沙星	所有动物食品	肌肉、肝、肾、脂肪、奶、蛋	2
	鱼	皮+肉	2
	蜜蜂	蜂蜜	5
培氟沙星	所有动物食品	肌肉、肝、肾、脂肪、奶、蛋	2
	鱼	皮+肉	2
	蜜蜂	蜂蜜	5

米颗粒(AuNPs)聚集的信号增强型便携式侧流免疫层析检测方法,用于灵敏检测达氟沙星,引入酪胺诱导 AuNPs 聚集作为信号放大标签,得到的检测限为 0.032 ng/mL,线性范围为 0.25~5.00 ng/mL,在鸡肉和猪肉样品中回收率分别为 86.04%~105.14% 和 92.41%~110.19%,表明信号增强技术可以在复杂的食品基质中有效提高检测灵敏度。

表2 不同检测方法的优点和局限性

Table 2 Advantages and limitations of different detection methods

检测方法	优点	局限性	参考文献
酶联免疫吸附法(ELISA)	高灵敏度、高特异性和较低的检测成本	重现性差,易受复杂基质的影响	[11]
侧流免疫分析法(LFIA)	快速检测、操作简便、灵敏度高,尤其适用于现场检测	由于LFIA的抗体选择性,可能会发生交叉反应,导致误判或漏判的可能性;对于复杂样品的检测准确性可能较低	[12]
荧光偏振免疫分析法(FPIA)	高灵敏度、高特异性可以同时获得多个参数,增加了对样品的全面分析能力,适用于复杂样品矩阵	荧光偏振免疫分析法所需的仪器较为复杂,设备成本较高,需要专业技术人员进行维护和操作;样品的处理过程相对复杂;对于标记物的选择要求较高	[13]
表面增强拉曼光谱法(SERS)	高灵敏度、高特异性,同时提供了分子结构信息	SERS免疫层析法因需要SERS仪,大大提高了检测成本;用荧光素或荧光纳米材料标记抗体,会降低抗体活性;需要高度专业的技能,对样品制备要求较高	[14]
化学发光免疫分析法(CLIA)	高灵敏度、高特异性、自动化程度高、具有广泛的适用性	荧光发光仪等专业仪器的成本较高、对试验环境的要求较高、样品前处理过程较为复杂	[15]
电化学生物传感器分析法	快速响应、高灵敏度,适用于在线监测,结果可通过电化学信号实时获取	对样品矩阵可能较为敏感	[16]

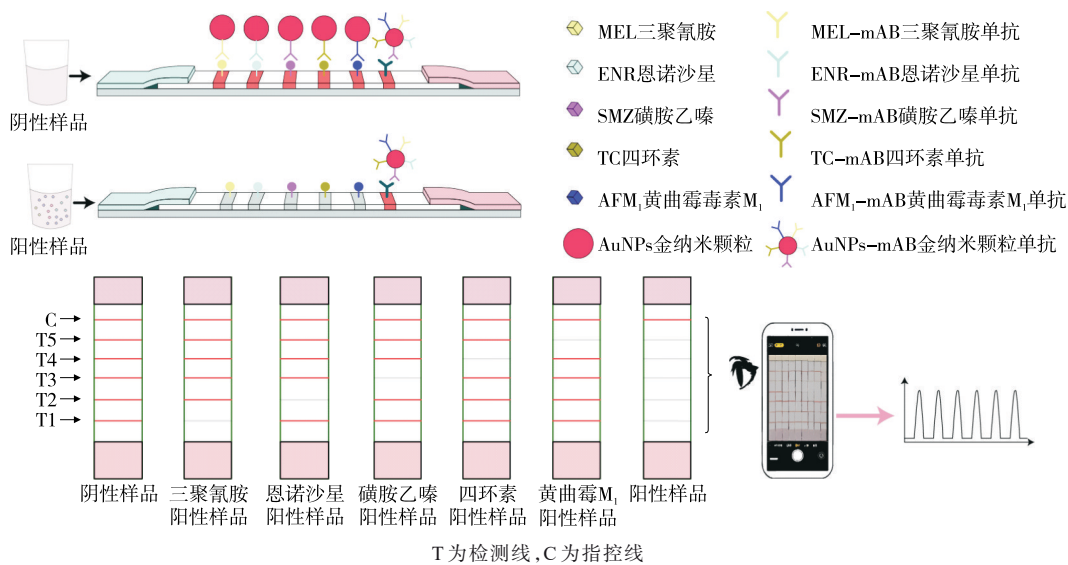


Figure 1 Principle of multi-lateral flow immunoassay method

Xiao等^[28]通过优化包被抗原和抗体的组合实现了对4种禁用喹诺酮的识别,包括培氟沙星、诺氟沙星洛氟沙星和奥氟沙星,线性范围为0~16 ng/mL。通过与液相色谱串联质谱法进行平行检测,表明该方法在水产品中检测喹诺酮类药物残留方面的可靠性。Hendrickson等^[29]研究了一种多组分免疫色谱测试系统用于同时检测乳制品中的喹诺酮和氨基青霉素类抗生素,可在15 min内完成检测,仪器检测限分别为20, 0.5 ng/mL,可视消线值均为0.5 ng/mL,其中乳制品中环丙沙星和氯霉素的回收率为83%~120%,此外,对19种氟喹诺酮抗生素的交叉反应试

验表明,该方法仅对环丙沙星具有较高的特异性。

以上研究均基于免疫层析和纳米材料的快速检测技术,以提高食品中化学污染物和药物残留的检测效率和灵敏度。通过不同的材料、检测机制和目标污染物的选择,展现了在食品安全检测中的广泛应用和相互联系。

2.3 荧光偏振免疫分析法

荧光偏振免疫分析法(FPIA)是一种基于荧光偏振现象的免疫分析技术。利用荧光素标记抗原与游离抗原竞争性地与抗体结合,引起两种免疫标记物旋转运动差异,从而造成荧光偏振度发生变化^[30]。通过荧光偏振度的变

化,可实现样品中目标分子(如兽药残留物)的定量检测。该技术结合了免疫学和荧光分析的原理,通过优化试剂反应条件、提高免疫反应速度等手段,相比于仪器的分析方法和传统的酶联免疫吸附法更节省时间^[31-32]。Jin 等^[33]建立了一种基于新的荧光极化检测方法,用于鸡蛋中喹诺酮类药物的检测,该方法的响应时间仅为 5 min,具有高通量、灵敏度、快速便捷、特异性强和可扩展性等优点,可用于鸡蛋中喹诺酮类药物残留的快速筛选和检测。El Kojok 等^[34]将该技术进一步应用于牛奶中环丙沙星的检测,通过合成特定的荧光喹诺酮一载体蛋白(GlnBP-CPFX-CF647),开发了一种竞争型荧光极化免疫测定方法。该方法具有较高的灵敏度(1.0 $\mu\text{g/L}$)。Shen 等^[35]研究了一种检测恩诺沙星的荧光偏振免疫分析法,通过将恩诺沙星与牛血清白蛋白共价偶联,生成特异性多克隆抗体,并对合成的 3 种不同的荧光素标记示踪剂进行比较,确定了灵敏度最高的示踪剂 C。该方法的检测范围为 4.30~107.46 ng/mL ,最低检出限为 1.68 ng/mL ,同时其交叉反应率 $<2\%$ 。

2.4 表面增强拉曼光谱法

表面增强拉曼光谱法(SERS)是一种针对喹诺酮类药物高灵敏度检测的先进技术。通过利用纳米结构表面的局部电磁场增强拉曼信号,利用分子振动信息实现对痕量喹诺酮的定性和定量分析^[36],具有极高的灵敏度和选择性,在食品安全快速检测领域具有巨大的应用潜力。

表面增强拉曼光谱法常与其他免疫检测方法联合使用以提高检测的灵敏性。Shi 等^[37]提出了一种基于表面增强拉曼散射(SERS)技术的多重免疫纳米探针,用于测定牛奶中新霉素(NEO)和诺氟沙星(NOR)抗生素的检测。如图 2 所示,使用两种单克隆抗体(NEO mAb 和 NOR mAb)合成了两种免疫纳米探针(NOR mAb-AuNPs-PATP 和 NEO mAb-AuNPs-PATP),制备了 SERS 免疫层析试纸条。通过 SERS 拉曼信号实现了对诺氟沙星和新霉素同时检测,测得诺氟沙星检测限为 0.55 pg/mL 。

Zhang 等^[38]通过开发 TiO_2/ZnO SERS 异质结基底提升了在复杂食品基质中多种抗生素残留检测的灵敏度和稳定性。该方法可以准确检测蛋类中的抗生素残留,如恩诺沙星、氯霉素、环丙沙星和埃诺沙星,检测限为 13.1 $\mu\text{g/kg}$,远低于 GB 31650—2019 规定的最大残留限量以及其他贵金属 SERS 方法。该方法为不同食品类型中药物残留的快速分析奠定了基础。然而,随着分析需求的增加,检测介质的多样化成为新的挑战。SERS 技术不仅需要固态食品中表现出色,还需适应液态基质如水样中的痕量污染物检测。因此,在应对复杂液态样品时,基于稳定液态平台的创新成为研究新方向。Liu 等^[39]建立了一种基于自立膜液态平台(FSM)的表面增强拉曼散射方法用于检测自来水中的诺氟沙星。该方法可以直接

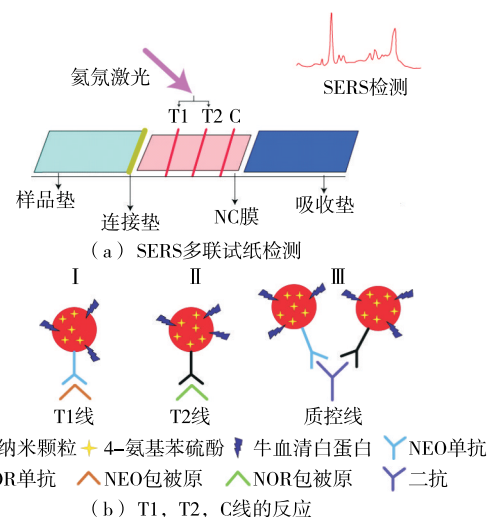


图 2 SERS 多联试纸检测及 T1、T2、C 线的反应示意图^[37]

Figure 2 SERS for simultaneous detection and T1 line, T2 line, and control line

将浓缩双金属纳米颗粒悬浮液置于疏水表面上,并利用特殊的金属膜孔板形成 FSM,产生高度增强的局部电磁场,促进拉曼信号的增强效果,该方法具有简单快速、高灵敏度和高重复性的优点,实现了对诺氟沙星的定量分析,检测限为 1.3 ng/mL ,回收率 $>95\%$,实现了液态样品中药物残留的高效检测。通过优化平台设计,成功弥补了传统 SERS 在液体基质中灵敏度和稳定性不足的问题。

2.5 化学发光免疫分析法

化学发光免疫分析法(CLIA)是一种通过测定特定时刻的化学发光总量来确定目标化合物含量的分析方法。该方法结合了免疫学和化学发光技术,用于定量检测样品中待测目标物的含量^[40]。该方法基于特定抗体与目标喹诺酮结合形成的免疫复合物,在化学发光底物的催化作用下产生发光信号,通过发光信号的强度变化实现快速、准确的定量检测。CLIA 技术具有高灵敏度、高特异性、线性范围广和自动化程度高的优势,适用于不同样品矩阵中的喹诺酮残留检测,为食品安全监测等领域提供了一种可靠、高效的检测手段。

Pei 等^[41]研究了一种基于钴氢氧化物纳米片的流动注射化学发光免疫法,用于检测食物中的恩诺沙星,线性范围为 $1\sim1\times10^6$ pg/mL ,检测限为 0.041 pg/mL 。但仅依靠单一的检测目标可能无法满足食品安全的复杂需求,因此在检测多种抗生素残留方面的技术整合显得尤为重要。Han 等^[42]提出了一种基于新型 Nor-Biotin 双功能配体和 SA-ALP 技术的化学发光法,能够同时检测 4 种喹诺酮类抗生素如诺氟沙星、培氟沙星、环丙沙星和达氟沙星,其原理如图 3 所示,该方法对 4 种喹诺酮的检测限分别为 0.05, 0.11, 0.14, 0.16 ng/mL 。此外,该方法在实际样品(牛奶)中的回收率在 86.31%~112.11%。进一步表明了

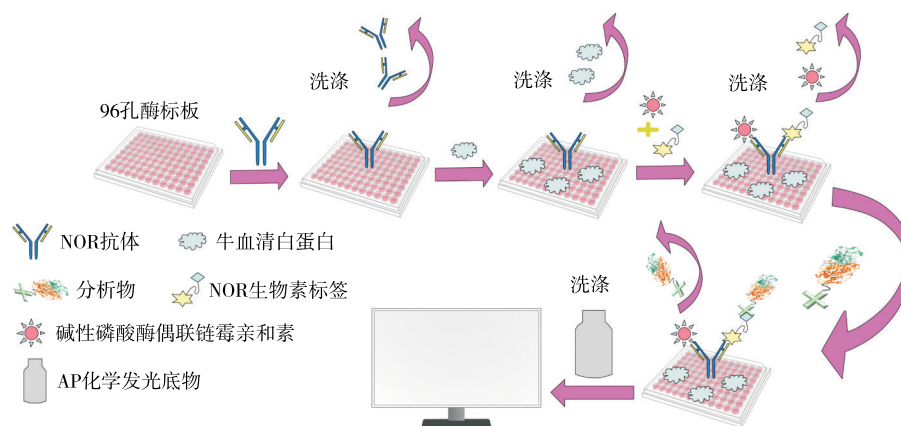
图3 化学发光法检测诺氟沙星原理图^[42]

Figure 3 Principle of norfloxacin detection by chemiluminescence

化学发光技术在复杂食品基质中多重检测能力的增强。综上,化学发光免疫法在食品中药物残留检测中的应用正在不断拓展,能够有效满足对多种药物的检测需求。

Vakh等^[43]提出了一种自动化微型化学发光方法,用于筛查牛奶样品中的氟喹诺酮类药物。该方法结合磁性分散微固相萃取和多泵流系统,使用Zr-Fe-C磁性纳米颗粒高效分离目标药物。在分析物存在时,化学发光强度显著增强,检测氟罗沙星的线性范围为 $5 \times 10^{-9} \sim 1 \times 10^{-6}$ mol/L,检测限为 2×10^{-9} mol/L。

2.6 电化学生物传感器

电化学生物传感器是一种将生物识别元件与电化学技术结合的传感器,可以将特异性生物识别元件与喹诺酮药物相结合,当目标物质与生物识别元件发生相互作用时,会导致电化学信号的变化^[44]。通过测量这些信号的变化,能够高度灵敏地检测喹诺酮类药物含量。根据识别元件的不同,可将电化学生物传感器分为电化学免

疫传感器和电化学适配体传感器。

2.6.1 电化学免疫传感器 电化学免疫传感器是利用特异性的免疫识别元件(即抗体)与目标抗生素进行特异性结合,导致电化学信号的变化,通过对电流、电压或电阻等信号进行测量,实现对抗生素的快速检测。电化学免疫传感器因其成本低、操作方便、便携和超灵敏度等优点,近年来得到了广泛的开发和应用。

由表3可知,电化学免疫传感器在检测食品中喹诺酮方面发挥着重要作用。通过将特异性抗体固定在电极表面,与目标喹诺酮发生免疫反应,产生电化学信号,从而实现对喹诺酮的定量检测。性能优异的纳米材料在电化学免疫检测中具有广泛应用,例如金纳米粒子具有优异的导电性和催化活性,能够作为电化学传感器的良好载体有效增强电化学信号,从而提高检测的灵敏度^[53]。电化学免疫传感器的优势包括高灵敏度、快速响应、低检测限和对复杂食品矩阵的适应性。然而,电化学免疫传感

表3 电化学免疫传感器在FQs残留检测中的应用[†]

Table 3 Application of electrochemical immunosensor for the detection of FQs residues

目标物	检测类型	电极修饰材料	样品基质	线性范围/ (ng·mL ⁻¹)	检测限/ (ng·mL ⁻¹)	参考文献
环丙沙星	阻抗型	SPCE	废水	0.01~1 000	2.5×10^{-3}	[45]
恩诺沙星	阻抗型	C60/L-cysteine/Au@BSA-QDs	鸡肉、猪肉、鸭肉	0.01~20	0.33×10^{-3}	[46]
诺氟沙星	电流型	PAMAM-Au/p-ABA	动物性食品	1~10 000	0.383 7	[47]
恩诺沙星	电流型	SPdSE	肉类	0.005~0.01	0.03	[48]
麻保沙星	电流型	rGO-CS	猪肉、牛奶	2~40	0.08	[49]
恩诺沙星	电流型	Co(OH) ₂ 二维纳米片和Ru@SiO ₂ -Au	肉类、水	0.0001~1 000	0.063×10^{-3}	[50]
环丙沙星	电流型	nLa ₂ O ₃ NPs	牛奶	0.001~1 000	0.001	[51]
环丙沙星	电阻型	MCNCs	肉类、牛奶	5~400	2	[52]

[†] SPCE为印刷碳电极;L-cysteine为L-半胱氨酸;PAMAM-Au为聚(酰胺)树状分子包裹金纳米颗粒;p-ABA为对氨基苯甲酸;SP-dSE为屏印双碳电极;rGO-CS为还原氧化石墨烯-壳聚糖;Ru@SiO₂-Au为金属钌(Ru)包裹在二氧化硅(SiO₂)和金(Au)纳米颗粒;nLa₂O₃ NPs为氧化镧纳米颗粒;MCNCs为磁性碳纳米复合材料。

器也面临一些挑战,如在实际食品样品中的复杂干扰物质、稳定性和重现性的问题。未来,该技术有望通过进一步优化传感器设计、提高抗体的特异性和稳定性,以及结合纳米技术等创新手段来解决这些问题。电化学免疫传感器在喹诺酮检测领域的发展前景广阔,将为食品安全监测提供更加可靠、快速的分析手段。

2.6.2 适配体传感器 适配体为短的单链寡核苷酸,具有高亲和力 and 特异性^[54],与目标分析物的特异性结合特性使其被称为“化学抗体”。适配体的合成过程被称为“配体指数富集系统进化(SELEX)”^[54-55]。

与传统抗体相比,适配体不仅与靶向物质之间具有高亲和力,且成本低、性能稳定、易于修饰,因此常被用作生物传感器中的生物识别元件。Taghdisi等^[56]开发了一种基于电化学转导的新方法,可以超灵敏地检测环丙沙星,检测限为 33.14 pg/mL,线性检测范围为 0.099~149.106 ng/mL,成功用于人血清、水和牛奶样品中环丙沙星的检测。Wang等^[57]通过亚胺键缩合 1,3,6,8-四基(4-甲酰基苯基)苊和三聚氰胺合成了新型共价有机骨架(Py-M-COF),构建了基于 Py-M-COF 的电化学适配体传感器,对恩诺沙星表现出超高灵敏度,检测限低至 6.07 fg/mL。Bao等^[58]建立了一种基于 DNA 适配体传感器的快速检测水产品中恩诺沙星的方法,筛选出 6 条高富集率的适配体序列,并进行了同源性分析和二级结构预测。ENR-apt 6 因其二级结构特点、高亲和力和对恩诺沙星的高特异性,用于合成适配体荧光探针,成功用于水产品中恩诺沙星残留的高灵敏检测,线性范围为 1~400 nmol/L ($R^2=0.991$),最低检出限为 14.72 nmol/L。

3 结论

喹诺酮免疫检测技术因其高度灵敏特性能够快速、精准地检测食品中微量残留,并在生产链各环节实现实时监测,提供及时的质量控制,在食品安全领域展现出广阔的应用前景。该技术已得到多个国际组织和标准化机构的认可。然而,由于喹诺酮类药物结构相似,当前方法可能存在交叉反应问题,影响检测精确度,且复杂样品中的干扰物可能导致假阳性或假阴性结果。因此,在未来的研究中开发高特异性抗体尤为重要。通过基因工程和蛋白质工程技术开发高特异性抗体,有望减少交叉反应,提高检测准确性。同时,通过将新型检测技术与其他高灵敏度的检测方法(如色谱或质谱技术)相结合,开发可以同时检测多种喹诺酮类药物的多重免疫检测方法,有助于提高检测效率并降低成本。随着技术进步,免疫检测技术可进一步发展便携式、现场快速检测工具,利用先进的数据分析技术和人工智能算法,优化检测数据处理,可以进一步提升检测结果的准确性和可靠性。相信通过新技术的引入和优化,喹诺酮类药物免疫检测技术未来发展前景广阔,将为食品安全监管提供更强有力的支持。

参考文献

- [1] 曹刚. 喹诺酮类抗菌药物杀菌的两条不同途径及其作用机制研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2019.
CAO G. Two pathways and mechanisms underlying bactericidal action of quinolone antimicrobials[D]. Xiamen: Xiamen University, 2019.
- [2] 包懿, 刘斌, 刘洋, 等. 食品中喹诺酮类药物残留检测方法的研究进展[J]. 分析化学, 2022, 50(10): 1 444-1 455.
BAO Y, LIU B, LIU Y, et al. Research advances of detection methods for quinolones residues in foods[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2022, 50(10): 1 444-1 455.
- [3] 唐艳红, 罗双群, 杨梦冉, 等. 动物源性食品中抗生素残留、耐药细菌的分布及耐药基因的水平传播[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(20): 227-235.
TANG Y H, LUO S Q, YANG M R, et al. Antibiotic residue, distribution of antibiotic resistant isolates and horizontal transfer of resistance genes in foods of animal origin[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(20): 227-235.
- [4] 付海燕, 卢欢欢, 龙婉君, 等. 动物源食品中抗生素残留检测方法与研究进展[J]. 轻工学报, 2023, 38(6): 37-45.
FU H Y, LU H H, LONG W J, et al. Progress in the detection methods of antibiotic residues in animal derived food and research[J]. Journal of Light Industry, 2023, 38(6): 37-45.
- [5] 王翠月, 陈大伟, 马丽娜, 等. 动物源性食品中氟喹诺酮类药物残留现状和检测方法研究进展[J]. 中国家禽, 2022, 44(12): 92-97.
WANG C Y, CHEN D W, MA L N, et al. Research progress of current status and detection methods of fluoroquinolones in animal derived food[J]. China Poultry, 2022, 44(12): 92-97.
- [6] QI J, FAN X X, DENG D M, et al. Progress in rapid detection techniques using paper-based platforms for food safety[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2020, 48(12): 1 616-1 624.
- [7] CHENG Y, WANG H L, ZHUO Y X, et al. Reusable smartphone-facilitated mobile fluorescence biosensor for rapid and sensitive on-site quantitative detection of trace pollutants[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2022, 199: 113863.
- [8] 李倩, 王甲, 张玉洁, 等. 动物性食品中喹诺酮类药物残留检测方法研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(8): 3 016-3 022.
LI Q, WANG J, ZHANG Y J, et al. Research progress on determination methods of quinolone residues in animal food[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(8): 3 016-3 022.
- [9] 刘志会, 陈文静. 食品中喹诺酮类药物残留检测方法的研究进展[J]. 现代食品, 2023, 29(8): 160-162.
LIU Z H, CHEN W J. Research progress on detection methods for quinolone residues in food[J]. Modern Food, 2023, 29(8): 160-162.
- [10] 王宇宸. 畜禽肉中氟喹诺酮残留免疫层析快速检测方法的建立及应用[D]. 南昌: 南昌大学, 2023.
WANG Y C. Establishment and application of rapid immunochromatographic methods for the detection of

- fluoroquinolone residues in livestock and poultry meat [D]. Nanchang: Nanchang University, 2023.
- [11] 桑晓霞, 马江媛, 黄登宇. 赭曲霉毒素 A 检测方法的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(21): 7 271-7 277.
- SANG X X, MA J Y, HUANG D Y. Research progress on detection methods of ochratoxin A[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019, 10(21): 7 271-7 277.
- [12] XING K Y, SHAN S, LIU D F, et al. Recent advances of lateral flow immunoassay for mycotoxins detection[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2020, 133: 116087.
- [13] MUKHAMEDOVA L I, EREMIN S A. Fluorescence polarization assays for organic compounds in food safety[J]. Frontiers in Bioscience, 2024, 16(1): 4.
- [14] ZHOU H L, LI X D, WANG L H, et al. Application of SERS quantitative analysis method in food safety detection[J]. Reviews in Analytical Chemistry, 2021, 40(1): 173-186.
- [15] XIAO Q, XU C X. Research progress on chemiluminescence immunoassay combined with novel technologies[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2020, 124: 115780.
- [16] WANG K, LIN X G, ZHANG M X, et al. Review of electrochemical biosensors for food safety detection[J]. Biosensors, 2022, 12(11): 959.
- [17] PAN Y T, YANG H J, WEN K, et al. Current advances in immunoassays for quinolones in food and environmental samples[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2022, 157: 116726.
- [18] THURNER F, ALATRAKTCHI F A. Recent trends in biosensors for quinolone detection: a comprehensive review[J]. Chemosensors, 2023, 11(9): 493.
- [19] ACAROUZ U, DIETRICH R, KNAUER M, et al. Development of a generic enzyme-immunoassay for the detection of fluoro (quinolone)-residues in foodstuffs based on a highly sensitive monoclonal antibody[J]. Food Analytical Methods, 2020, 13 (3): 780-792.
- [20] WANG F Y, LI N, ZHANG Y S, et al. Preparation and directed evolution of anti-ciprofloxacin ScFv for immunoassay in animal-derived food[J]. Foods, 2021, 10(8): 1 933.
- [21] 罗梅霞. 基于免疫层析法快速检测肉类中氟喹诺酮的研究 [D]. 南昌: 南昌大学, 2022.
- LUO M X. Research on rapid detection of fluoroquinolones in meat based on immunochromatographic assay[D]. Nanchang: Nanchang University, 2022.
- [22] HU S, HUANG Z, WANG C, et al. Using hapten cross-reactivity to screen heterologous competitive antigens for improving the sensitivity of ELISA[J]. Food Chemistry, 2020, 303: 125379.
- [23] MAHMOUDI T, DE LA GUARDIA M, SHIRDEL B, et al. Recent advancements in structural improvements of lateral flow assays towards point-of-care testing[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2019, 116: 13-30.
- [24] 杨娅林, 陆彦蓉, 殷晓阳, 等. 基于纳米材料的免疫层析试纸在兽药残留检测中的应用[J]. 中国兽药杂志, 2022, 56(10): 60-68.
- YANG Y L, LU Y R, YIN X Y, et al. Application of immunochromatographic assay strip based on nanomaterials in veterinary drug residues detection[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2022, 56(10): 60-68.
- [25] XUE G J, WU M Y, LIU T T, et al. A multiple lateral flow immunoassay based on AuNP for the detection of 5 chemical contaminants in milk[J]. Journal of Dairy Science, 2023, 106 (6): 3 856-3 867.
- [26] LIU C, YANG L Y, ZHANG W, et al. A magnetic nanoparticle-based lateral flow immunochromatography assay for the rapid detection of fluoroquinolones in milk[J]. European Food Research and Technology, 2021, 247(10): 2 645-2 656.
- [27] BAO H H, YUAN M F, XIAO C G, et al. Development of a signal-enhanced LFIA based on tyramine-induced AuNPs aggregation for sensitive detection of danofloxacin[J]. Food Chemistry, 2022, 375: 131875.
- [28] XIAO J X, YANG H F, QIN L N, et al. Rapid detection of fluoroquinolone residues in aquatic products based on a gold-labeled microwell immunochromatographic assay[J]. Food Quality and Safety, 2022, 610: 1 093.
- [29] HENDRICKSON O D, ZVEREVA E A, SHANIN I A, et al. Development of a multicomponent immunochromatographic test system for the detection of fluoroquinolone and amphenicol antibiotics in dairy products[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2019, 99(8): 3 834-3 842.
- [30] 王雪晴, 陈秀金, 李兆周, 等. 氟喹诺酮类药物免疫分析方法的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(7): 374-382.
- WANG X Q, CHEN X J, LI Z Z, et al. Research progress on immunoassays for determination of fluoroquinolone residue[J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(7): 374-382.
- [31] GUO L C, LIU M X, LI Q, et al. Synthesis and characterization of tracers and development of a fluorescence polarization immunoassay for amantadine with high sensitivity in chicken[J]. Journal of Food Science, 2021, 86(10): 4 754-4 767.
- [32] LIU Y W, LUO Y B, LI W X, et al. Current analytical strategies for the determination of quinolone residues in milk [J]. Food Chemistry, 2024, 430: 137072.
- [33] JIN Q S, FAN Y H, HE T, et al. Fluorescence polarization assay based on a new recognition motif QepA for the one-step detection of fluoroquinolones in eggs[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(49): 19 749-19 759.
- [34] EL KOJOK H, EL DARRA N, KHALIL M, et al. Fluorescence polarization assay to detect the presence of traces of ciprofloxacin[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 4 550.
- [35] SHEN X, CHEN J H, LV S W, et al. Fluorescence polarization immunoassay for determination of enrofloxacin in pork liver and chicken[J]. Molecules, 2019, 24(24): 4 462.
- [36] 徐婧, 郑红, 谢丽芳, 等. 鸡肉样品中痕量喹诺酮类抗生素的表面增强拉曼光谱检测研究[J]. 分析化学, 2023, 51(3): 397-418.

- XU J, ZHENG H, XIE L F, et al. Fast detection of trace enrofloxacin and ciprofloxacin in chicken meat by surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2023, 51(3): 397-418.
- [37] SHI Q Q, HUANG J, SUN Y N, et al. A SERS-based multiple immuno-nanoprobe for ultrasensitive detection of neomycin and quinolone antibiotics *via* a lateral flow assay[J]. Mikrochimica Acta, 2018, 185(2): 84.
- [38] ZHANG H Z, TANG Y M, WANG W E, et al. A new semiconductor heterojunction SERS substrate for ultra-sensitive detection of antibiotic residues in egg[J]. Food Chemistry, 2024, 431: 137163.
- [39] LIU J, LIU W, ZHOU S N, et al. Free-standing membrane liquid-state platform for SERS-based determination of norfloxacin in environmental samples[J]. Journal of Analysis and Testing, 2021, 5(3): 217-224.
- [40] 向国庆, 连聪, 孙栋, 等. 化学发光免疫分析法及在动物生产领域检测中的应用进展[J]. 中国兽医学, 2023, 53(10): 1 320-1 325.
- XIANG G Q, LIAN C, SUN D, et al. Progress of chemiluminescence immunoassay and its application in the detection of animal production[J]. Chinese Veterinary Science, 2023, 53(10): 1 320-1 325.
- [41] PEI Y Q, ZENG L J, WEN C F, et al. Detection of enrofloxacin by flow injection chemiluminescence immunoassay based on cobalt hydroxide nanozyme[J]. Mikrochimica Acta, 2021, 188(6): 194.
- [42] HAN Z Y, SUN T Q, XU Z H, et al. Detection of 4 quinolone antibiotics by chemiluminescence based on a novel Nor-Biotin bifunctional ligand and SA-ALP technology[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2021, 85(7): 1 720-1 728.
- [43] VAKH C, POCHIVALOV A, KORONKIEWICZ S, et al. A chemiluminescence method for screening of fluoroquinolones in milk samples based on a multi-pumping flow system[J]. Food Chemistry, 2019, 270: 10-16.
- [44] KAYA H O, CETIN A E, AZIMZADEH M, et al. Pathogen detection with electrochemical biosensors: advantages, challenges and future perspectives[J]. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2021, 882: 114989.
- [45] LAMARCA R S, DE FARIA R A D, ZANONI M V B, et al. Simple, fast and environmentally friendly method to determine ciprofloxacin in wastewater samples based on an impedimetric immunosensor[J]. RSC Advances, 2020, 10(4): 1 838-1 847.
- [46] CHEN W L, ZHOU R, YAO X, et al. Sensitive detection of enrofloxacin using an electrochemiluminescence immunosensor based on gold-functionalized C₆₀ and Au@BSA nanoflowers[J]. New Journal of Chemistry, 2018, 42(17): 14 142-14 148.
- [47] LIU B, LI M, ZHAO Y S, et al. A sensitive electrochemical immunosensor based on PAMAM dendrimer-encapsulated Au for detection of norfloxacin in animal-derived foods[J]. Sensors, 2018, 18(6): 1 946.
- [48] AYMARD C, KANSO H, SERRANO M J, et al. Development of a new dual electrochemical immunosensor for a rapid and sensitive detection of enrofloxacin in meat samples[J]. Food Chemistry, 2022, 370: 131016.
- [49] 仇彩霞, 陈秀金, 付祖耀, 等. 基于石墨烯—壳聚糖复合膜修饰电极的麻保沙星电化学免疫传感器的构建[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(16): 50-55.
- QIU C X, CHEN X J, FU Z Y, et al. Establishment of an electrochemical immunosensor for marbofloxacin analysis based on graphene oxide-chitosan nanocomposite film modified glass carbon electrode[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(16): 50-55.
- [50] JIAO M Q, ZHANG J X, WU K, et al. A novel electrochemiluminescence immunosensing strategy fabricated by Co(OH)₂ two-dimensional nanosheets and Ru@SiO₂-Au NPs for the highly sensitive detection of enrofloxacin[J]. The Analyst, 2021, 146(17): 5 429-5 436.
- [51] CHAUDHARY N, YADAV A K, SHARMA J G, et al. Designing and characterization of a highly sensitive and selective biosensing platform for ciprofloxacin detection utilizing lanthanum oxide nanoparticles[J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2021, 9(6): 106771.
- [52] BIZINA E V, FARAFONOVA O V, ZOLOTAREVA N I, et al. A piezoelectric immunosensor based on magnetic carbon nanocomposites for the determination of ciprofloxacin[J]. Journal of Analytical Chemistry, 2022, 77(4): 458-465.
- [53] HAMMAMI I, ALABDALLAH N M, AL JOMAA A, et al. Gold nanoparticles: synthesis properties and applications[J]. Journal of King Saud University-Science, 2021, 33(7): 101560.
- [54] ARSHAVSKY-GRAHAM S, HEUER C, JIANG X, et al. Aptasensors versus immunosensors: which will prevail? [J]. Engineering in Life Sciences, 2022, 22(3/4): 319-333.
- [55] TUEK C, GOLD L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase[J]. Science, 1990, 249(4 968): 505-510.
- [56] TAGHDISI HEIDARIAN S M, TAVANAEE SANI A, DANESH N M, et al. A novel electrochemical approach for the ultrasensitive detection of fluoroquinolones based on a double-labelled aptamer to surpass complementary strands of aptamer lying flat[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2021, 334: 129632.
- [57] WANG M H, HU M Y, LIU J M, et al. Covalent organic framework-based electrochemical aptasensors for the ultrasensitive detection of antibiotics[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2019, 132: 8-16.
- [58] BAO X L, WANG S Y, HAO Q F, et al. Enrofloxacin rapid detection in aquatic foods: based on DNA aptamer sensor[J]. Foods, 2024, 13(6): 941.