

蜂蜜中抗生素残留的检测方法研究进展

马永强, 张丝瑶, 遇世友, 王鑫, 黎晨晨

Advances in the Detection Methods of Antibiotic Residues in Honey

MA Yongqiang, ZHANG Siyao, YU Shiyou, WANG Xin, and LI Chenchen

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021100020>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

强极性农药残留检测方法的研究进展

Advances in the Detection Methods of Strong Polar Pesticide Residues

食品工业科技. 2021, 42(11): 356-364

石墨烯HF-SPME-HPLC测定牛奶中氟喹诺酮类抗生素残留

Determination of Fluoroquinolone Antibiotic in Milk with Graphene HF-SPME-HPLC

食品工业科技. 2019, 40(18): 243-249

虎杖白藜芦醇、槲皮素异构体联用抗生素对耐药金黄色葡萄球菌的抑制作用

Inhibition of Drug-resistant *Staphylococcus aureus* by Antibiotics Combined with Resveratrol and Quercetin Isomers

食品工业科技. 2019, 40(16): 97-101

稳定同位素技术在蜂蜜真实性溯源中的研究进展

Research Progress of Stable Isotope Ratio Mass Spectrometry for Authenticity and Traceability in Honey

食品工业科技. 2018, 39(17): 300-304,308

基于表面增强拉曼光谱的养殖水中硝基呋喃类抗生素残留检测

Detection of Nitrofurantoin Antibiotics Residues in Fishery Water by Surface-enhanced Raman Spectroscopy

食品工业科技. 2019, 40(24): 225-230,236

食品中丙烯酰胺检测方法研究进展

Research Progress of Detection Methods of Acrylamide in Food Products

食品工业科技. 2020, 41(14): 329-336



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

马永强, 张丝瑶, 遇世友, 等. 蜂蜜中抗生素残留的检测方法研究进展 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(20): 454–463. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021100020

MA Yongqiang, ZHANG Siyao, YU Shiyou, et al. Advances in the Detection Methods of Antibiotic Residues in Honey[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(20): 454–463. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021100020

· 专题综述 ·

蜂蜜中抗生素残留的检测方法研究进展

马永强, 张丝瑶, 遇世友*, 王 鑫, 黎晨晨

(哈尔滨商业大学食品工程学院, 黑龙江哈尔滨 150028)

摘 要:蜂蜜中富含多种营养物质, 在食品加工业中, 蜂蜜不仅可以作为生产饮料、糖果等食品的甜味剂, 还可以用于腌制果品、蔬菜。但在养蜂过程中, 对于预防和治疗蜜蜂感染性疾病存在抗生素使用不当的问题。由于大多数抗生素难以被蜜蜂自身代谢, 导致抗生素残留于蜂蜜中。消费者长期食用含有抗生素的蜂蜜会危害健康, 因此检测蜂蜜中抗生素的残留有助于评估产品对人体健康的潜在风险。本文概述了蜂蜜中抗生素的残留现状, 总结了蜂蜜中抗生素残留的检测技术, 色谱法具有检测快速、灵敏等优点, 但存在设备昂贵、检测成本较高等问题, 传感器法和免疫分析法检测成本较低且操作简便, 其中电化学传感器检测响应快速、灵敏度较高, 具有良好的发展前景。最后对蜂蜜中抗生素残留检测技术的发展进行展望, 以期对蜂蜜中抗生素残留的检测方法研究及应用提供理论参考。

关键词:蜂蜜, 抗生素, 残留, 检测方法

中图分类号: S896.8

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)20-0454-10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021100020

本文网刊:



Advances in the Detection Methods of Antibiotic Residues in Honey

MA Yongqiang, ZHANG Siyao, YU Shiyou*, WANG Xin, LI Chenchen

(College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150028, China)

Abstract: Honey is rich in many nutrients. It is used in the food processing industry not only as a sweetener for the production of beverages, candies and other foods, but also for pickling fruits and vegetables. However, there is a problem of inappropriate use of antibiotics in the prevention and treatment of infectious diseases of bees during beekeeping process. Antibiotics remain in honey because most antibiotics are difficult to be metabolized by bees. If the honey containing antibiotics is eaten by consumers for a long time, consumers' health will be affected. Therefore, the detection of antibiotic residues in honey contributes to assess the potential health risks. The current status of antibiotic residues in honey is reviewed in the paper. And the detection methods of antibiotic residues in honey are summarized. Chromatography has the advantages of rapid and sensitive detection. But there are problems of expensive equipment and high detection costs. The sensor method and the immunoassay are cheap and easy to operate. The electrochemical sensor method has good prospects for development because of its rapid response and high sensitivity. Besides, the development of detection methods of antibiotic residues in honey is prospected. This paper is expected to provide theoretical reference for the research and application of detection methods of antibiotic residues in honey.

Key words: honey; antibiotics; residual; detection method

蜂蜜是蜜蜂从植物花蜜或蜜露中提取的一种可以应用于食品、药品或化妆品的天然产品^[1]。蜂蜜中除含有糖类物质外, 还富含多种营养成分, 如蛋白质、矿物质、生物活性酶、氨基酸、维生素等^[2]。其不仅能够起到调节机体生理机能、促进消化、润肠通便

等作用, 还具有抗氧化性、抗菌性等多种药理特性, 对人体健康有诸多益处^[3]。随着蜂产品逐渐受到人们的广泛关注, 其质量安全问题也得到了更多的重视。在养蜂过程中, 蜜蜂若患有腐臭病或败血病则会降低蜂蜜的产量和质量, 因此, 蜂农经常使用抗生素

收稿日期: 2021-10-11

基金项目: 黑龙江省普通本科高等学校青年创新人才培养计划 (UNPYSCT-2018136)。

作者简介: 马永强 (1963-), 男, 硕士, 教授, 研究方向: 食品化学, E-mail: qyma126@163.com。

* 通信作者: 遇世友 (1984-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 食品分析与检测, E-mail: davidyuhit@163.com。

来预防和治疗蜜蜂的疾病^[4]。

抗生素一般是指微生物或由高等动物、植物在生理代谢活动中产生的一种具有抗病原体等生物活性的次级代谢物^[5]。养蜂业中常用的抗生素包括四环素类、喹诺酮类、硝基咪唑类、磺胺类、氯霉素等^[6]。由于抗生素在蜜蜂内代谢不完全,使得在应用抗生素治疗蜜蜂疾病的同时,也会影响蜂蜜的食品安全质量,并且会对人体造成过敏性反应、细菌耐药性、菌群失调等危害^[7]。因此研究蜂蜜中抗生素残留的快速、高效、灵敏的检测方法具有重要的意义。

目前,色谱技术在检测蜂蜜抗生素残留方面应用较多,色谱法具有检测范围广、灵敏度高、检出率高等优点,但其仪器十分昂贵,检测成本较高。为了提高检测效率,降低检测成本,近年来,在蜂蜜抗生素的残留检测领域,更多研究者关注于对高效液相色谱法、液相色谱-串联质谱法的改进,以及新型检测方法的研发,例如传感器法、免疫分析法等。本文介绍了蜂蜜中抗生素的残留现状及检测方法,为蜂蜜中抗生素残留的后续检测研究提供理论参考。

1 蜂蜜中抗生素残留现状概述

1.1 四环素类

四环素类抗生素(Tetracyclines, TCs)是广谱抗生素中应用较多的一类,包含四环素、土霉素、金霉素等多个种类^[8]。它可以治疗因革兰氏阳性和阴性细菌、螺旋体、立克次体等引起的疾病^[9]。因其治疗效果强、吸收好、毒性低、价格低廉,在养蜂过程中,蜂农常用其治疗蜜蜂幼虫腐臭病。GB 31650-2019《食品安全国家标准食品中兽药最大残留限量》中规定了不同食品中土霉素、四环素、金霉素的最大残留限量,其中肉为 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$,奶为 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$,蛋为 400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[10],而未对蜂蜜中四环素类有限量要求。有研究对 2014~2020 年不同地区的近 4 万个蜂蜜样品进行抽检,检测结果表明蜂蜜中 TCs 检出率虽逐年下降,但仍存在 TCs 可检出的样品^[11]。TCs 经人体摄入后,残留的药物会沉积在骨骼及牙齿组织内导致牙齿变黄,另外,TCs 会富集在肝脏中对人体造成严重的危害^[12],摄入量过大甚至会对食用者的生命安全造成威胁。因此,不仅需要加大对于蜂蜜中 TCs 的检测力度,还需要注重其检测技术及检出含量。

1.2 喹诺酮类

喹诺酮类抗生素(Quinolones, QNs)是一种被广泛使用的合成广谱抗生素^[13],包括诺氟沙星、氧氟沙星、恩诺沙星等。它通过破坏拓扑异构酶 IV 和 DNA 回旋酶来抑制细菌 DNA 复制,从而快速杀灭厌氧菌、分枝杆菌等细菌。QNs 因具有良好的吸收效果及广谱抗菌活性被应用于蜜蜂疾病的治疗。当残留在蜂蜜中的 QNs 被人体摄入后,对肠道、中枢神经系统、泌尿系统和肝肾等会产生危害及毒性^[14]。根据 NY/T 5030-2016《无公害农产品兽药使用准则》

规定,诺氟沙星、氧氟沙星为不得使用的药物^[15]。但蜂蜜中喹诺酮类抗生素残留检出及超标情况也时有发生,有研究对不同种类、不同品牌的 50 种蜂蜜进行检测,其中有 3 种蜂蜜检出诺氟沙星^[16]。2019 年广东省市场监督管理局对蜂蜜样品进行抽检,结果显示有 5 个批次的蜂蜜均检测出 QNs 残留^[17]。

1.3 硝基咪唑类

硝基咪唑类抗生素(Nitromidazoles, NMZs)是对分枝杆菌、厌氧菌等多种生物具备广谱抗菌活性的硝基杂环化合物^[18]。硝基咪唑类抗生素具有致畸、致癌、致突变作用,根据 GB 31650-2019《食品安全国家标准食品中兽药最大残留限量》^[10]以及 NY/T 5030-2016《无公害农产品兽药使用准则》可知,甲硝唑、地美硝唑允许做治疗用,但不得在动物性食品中检出^[14]。但仍有部分蜂农为了预防和治疗蜜蜂孢子虫病和阿米巴虫病违法使用甲硝唑、地美硝唑等硝基咪唑类物质^[19]。有研究分别对江苏省 162 份蜂蜜样品以及山东省 170 份蜂蜜样品中甲硝唑的残留情况进行液相色谱串联质谱法测定,结果表明,蜂蜜中仍然存在甲硝唑残留的情况,检出范围分别达到 1.15~18.80 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、N.D.~60.20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[20-21]。虽然 NMZs 在动物体内代谢迅速,但其代谢产物仍具有危害健康的潜能^[22]。若在食物中存在过多药物残留,不仅会造成食品安全隐患,还会危害人体自身健康^[23]。

1.4 磺胺类

磺胺类抗生素(sulfonamides, SAs)是相对稳定的一类人工合成的广谱抑菌剂,在蜜蜂养殖过程中可用于防治蜜蜂感染美国菌病、欧洲菌病等^[24]。例如磺胺嘧啶、磺胺甲恶唑、磺胺吡啶等物质具有较强的毒性,若食用含有过量磺胺类抗生素的蜂蜜,会造成人体免疫力降低、影响骨髓造血功能、损害泌尿系统、损坏肾脏等危害^[25]。根据 GB 31650-2019《食品安全国家标准食品中兽药最大残留限量》可知,磺胺类物质在蜂蜜中的最大残留限量为 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[10]。有研究对浙江省 125 批次的蜂蜜样品进行抽样检测,其中有 21 种蜂蜜样品检出磺胺类抗生素残留,检出率达 1.6%^[26]。还有研究者通过其建立的高效液相色谱法对 8 种蜂蜜样品进行检测,发现其中 1 份蜂蜜样品磺胺类抗生素残留量达到 1.03 mg/kg ^[27],说明目前存在 SAs 超标的问题。该类物质在人体内代谢进程缓慢,如在蜂蜜中残留过量,其带来的毒理风险对蜂产品消费者是一种潜在的危害。

1.5 氯霉素

氯霉素(Chloramphenicol, CAP)是一种具有优良抑菌性能的广谱抗生素,因其价格低廉且对治疗动物因革兰氏阳性和革兰氏阴性球菌而感染的疾病有良好的效果而被广泛应用^[28]。但由于 CAP 对人体健康存在一定危害,长期服用或者过量服用氯霉素会造成再生障碍性贫血、灰婴综合症、粒状白细胞缺乏等问题^[29]。2002 年欧盟在我国进口的蜂蜜中检出氯

霉素并且暂停了中国出产的蜂蜜进入到欧盟市场,虽然在 2004 年欧盟解除了对中国蜂蜜进口的禁令,但这一事件不仅对我国造成了一定的经济损失,还严重影响了我国蜂蜜行业的国际声誉^[30]。自此我国加大了对蜂蜜中氯霉素的检测和监察力度,2015~2018 年国家食品安全监督抽检了不同产地、不同生产企业的蜂蜜,在抽检的 2279 批次蜂蜜中,检出不合格样品为 41 批次,其中氯霉素抽检不合格达 27 批次,其检出范围为 0.20~2.08 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[31],根据 NY/T 5030-2016《无公害农产品兽药使用准则》可知,氯霉素为食品动物禁用及动物性食品中不得检出的兽药^[14],抽检结果说明蜂蜜中 CAP 超标的现象仍然存在,对于其检测监察还要引起高度重视。

2 蜂蜜中抗生素残留的检测方法

2.1 色谱法

目前,国标中对于蜂蜜残留的四环素类、喹诺酮类、硝基咪唑类等抗生素均有色谱检测方法,但每种国标方法只针对于一类抗生素进行检测,研究者通过在国标方法的基础上进行改进,从而达到同时检测蜂蜜中多种抗生素残留的目的。

2.1.1 高效液相色谱法 高效液相色谱法 (high performance liquid chromatography, HPLC) 利用高压输液系统,使有机溶剂等液体流动相通过装置泵进入带有固定相的色谱柱当中,待柱中的各成分分离出来,而后检测器对其进行检测分析。HPLC 检测范围较广,灵敏度、检出率均较高^[32]。

魏贞贞等^[33]通过在蜂蜜样品中加入酸与甲醇溶液配成的萃取液提取抗生素,经离心、过膜后再加入内标物,以甲醇和草酸为液体流动相,采用 C_{18} 色谱柱进行分离,通过带有紫外二级阵列检测器的高效液相色谱仪进行检测。结果表明四环素、土霉素、甲硝唑三种抗生素的检出限为 0.07~0.08 $\mu\text{g}/\text{g}$,以 10、20、50 $\mu\text{g}/\text{g}$ 3 个添加水平做加标回收试验,其样品回收率为 82.4%~93.7%, $\text{RSD}<3.5\%$ 。此方法对于三种抗生素的回收率及分离效果均较好,但抗生素萃取液的 pH 以及添加量都会对提取效果产生影响,并且该方法同时检测的抗生素种类也相对较少。卢坤等^[34]以乙腈和磷酸水溶液为流动相,通过 PCX 固相萃取小柱对蜂蜜中抗生素进行提取,通过 C_{18} 色谱柱及双波长紫外检测模式对蜂蜜中 15 种抗生素残留进行同时检测。研究结果显示在 0.2~20.0 mg/L 范围内被检测的 15 种抗生素线性关系良好,检出限为 9.70~12.54 $\mu\text{g}/\text{kg}$,分别添加 0.05、0.20、0.50 mg/kg 3 个水平进行加标回收试验,样品回收率可达 60%~105%, $\text{RSD}<7.0\%$ 。利用固相萃取小柱可以代替步骤繁杂的液液萃取方法,并且在去除干扰物质的同时对抗生素的提取效率也较高。该方法可以实现对多种抗生素进行同时测定且分离能力较好,可适用于残留抗生素种类繁多的样品检测中。

液相色谱的优势在于其高效的分离能力,但物

质的结构特征难以确定,在样品检测中可能出现假阳性现象。对于蜂蜜这种基质复杂的物质进行检测时,一般需要借助质谱技术对目标物进行定性,从而更加有效地分析抗生素残留情况。

2.1.2 高效液相色谱串联质谱法 高效液相色谱串联质谱法 (high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS) 是利用液相色谱对待测组分进行分离,再通过质谱进行检测,其结合了色谱的高分离性能及质谱的定性功能,将两者的优势形成互补,进而提高了检测结果的准确性。同时,液质联用法在很大程度上能够降低检测过程中的干扰因素,增强其分离能力,从而提高检测的灵敏度^[35]。

张中印等^[36]以甲酸铵、甲酸复合溶液和甲醇作为流动相,利用目前应用较多的 QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe) 前处理方法,选用 N-丙基乙二胺 (PSA)、十八烷基键合硅胶 (C_{18}) 作为吸附剂对蜂蜜进行处理,采用 C_{18} 色谱柱进行分离,通过 HPLC-MS/MS 对蜂蜜中 14 种喹诺酮类物质含量进行测定。实验结果显示,在动态多反应监测模式下,对于 14 种抗生素的检测均具有较高的选择性,不同蜂蜜样品中的抗生素平均基质效应在 -75.0%~29.2% 之间,且该方法不存在残留效应,其检测限为 0.45~2.58 ng/g ,定量限 (LOQ) 为 1.51~8.59 ng/g ,分别以 14 种抗生素的 LOQ、3 倍 LOQ 及 10 倍 LOQ 为 3 个水平添加量做加标回收实验,回收率可达 81.2%~108.3%。蜂蜜的样品前处理会影响检测中的基质效应,从而会对检测结果造成一定影响。QuEChERS 方法是近年来应用较多的一种前处理技术,它具有价格低廉、处理快速、简便等优点,其一般选择 PSA 及 C_{18} 等传统吸附剂对样品进行前处理,基于对 QuEChERS 方法的改进,Xu 等^[37]选择氧化锌 (ZnO) 作为蜂蜜样品前处理的吸附剂来降低基质带来的干扰,利用液质联用法检测蜂蜜样品中林可酰胺类和大环内酯类 15 种抗生素的残留。研究显示,ZnO 比传统吸附剂的吸附性能更好,检测限为 0.24~0.68 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 0.80~2.27 $\mu\text{g}/\text{kg}$,以 5.0、10.0、20.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 3 个水平做加标回收试验,其回收率为 81.3%~99.0%, $\text{RSD}<9.18\%$,并且将本实验的研究方法应用到实际蜂蜜检测中发现有林可霉素残留。该方法利用氧化锌这种新型吸附剂替代传统吸附剂对蜂蜜样品进行前处理,其对抗生素检测限及精密度方面表现出更加良好的性能。在液质联用方法的基础上,Baeza 等^[38]采用分子印迹聚合物 (MISPE) 与液质法相结合的方式来识别和定量蜂蜜中 6 种磺胺类抗生素,研究以磺胺喹恶啉为模板合成了磺胺类分子印迹聚合物,并将其装入固相萃取空柱中,制备出磺胺类分子印迹固相萃取柱,通过其对蜂蜜中的抗生素进行提取。以乙腈、甲酸水溶液为流动相,采用 HR-ODS 色谱柱进行分离,研究结果表明,在 1、10、

20 $\mu\text{g/kg}$ 3 个添加水平下其加标回收率在 84.3%~104.7% 之间,检测限可达 0.1~4.2 $\mu\text{g/kg}$,定量限为 0.2~4.4 $\mu\text{g/kg}$,RSD<11.6%。传统的固相萃取柱一般以硅胶等为填料,对目标抗生素无法进行特异性识别,而此方法的分子印迹聚合物能够有选择性的识别目标抗生素,其检测限较低,准确度及精密度较好。

蜂蜜中抗生素残留的浓度通常处于微量水平,其对于检测技术的要求也较高^[39]。目前,HPLC-MS/MS 大多采用多反应监测模式检测抗生素,因为其仅采集特定的子离子质谱信号,基质干扰被大幅度降低,在对蜂蜜中抗生素进行检测时,相比于高效液相色谱法,其检测的灵敏度、准确度也较高^[40],但质谱仪器价格昂贵,对于流动相要求严格,因此在广泛应用方面还存在一定阻碍。

2.2 传感器法

2.2.1 纳米材料电化学传感器 纳米材料因具备许多的物理化学特性且拥有巨大的发展潜力和经济影响,在工业、农业等各个领域受到了广泛的关注^[41]。金属基无机纳米材料包括纳米金属元素和纳米金属氧化物等^[42],由于其具有优良的电子传输能力,因此经常被用于食品检测、医药等许多领域中^[43-44]。碳基纳米材料由于其化学稳定性较好、机械强度高等特点也得到了广泛应用^[45-48]。

金属纳米粒子导电性强,但通常需要用特定的载体材料进行固定来提高自身的稳定性,而碳基纳米材料导电性能较弱但稳定性优异,是构建纳米复合材料的理想载体,目前,对于金属与碳基纳米材料进行复合应用的研究越来越多。Mani 等^[49]利用二硫化钼纳米片(MoS_2)及多壁碳纳米管(f-MWCNTs),通过水热合成法制备了 $\text{MoS}_2/\text{f-MWCNTs}$ 纳米复合材料,再将其滴涂在玻碳电极表面,利用构建的电化学传感器检测氯霉素。结果显示,纳米复合膜修饰电极在 0.08~1392 $\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内与氯霉素呈线性响应,检测限为 0.015 $\mu\text{mol/L}$ 。将其应用于蜂蜜中氯霉素的检测,将蜂蜜溶于磷酸缓冲液后分别加入适量 5 及 10 $\mu\text{mol/L}$ 的 CAP 标准样品,经旋涡、离心、过滤后进行检测,其回收率可达 96.2%~97.0%。该方法选用的 $\text{MoS}_2/\text{f-MWCNTs}$ 纳米复合材料具有良好的电化学性能,经过复合材料修饰后的电极对氯霉素能够起到优良的电催化效应,并且具备应用于蜂蜜中

抗生素检测的可行性。Yi 等^[50]将钯纳米颗粒(Pd NPs)与氧化石墨烯(RGO)进行复合(如图 1),利用 RGO/Pd NPs 纳米复合材料修饰玻碳电极(GCE)检测氯霉素并将其应用于蜂蜜样品的检测。研究结果表明其检测限为 0.05 $\mu\text{mol/L}$,检测灵敏度高。并且实验在同一电极连续测量 10 次 CAP 的过程中峰值电流变化较小,相对标准偏差较低,证明 RGO/Pd NPs/GCE 具有较好的重复性。在对蜂蜜样品的检测中,利用磷酸缓冲溶液适当稀释蜂蜜样品,再分别加入 0.2、0.5、0.8 $\mu\text{mol/L}$ 的 CAP 进行检测,其回收率为 87.0%~97.0%,RSD<4.1%。该研究的材料制备过程简单快速,构建的电化学传感器具有良好的准确性和精密度,金属材料与碳基纳米材料的结合使用提高了该传感器的导电性能及催化性能。

将金属与碳基纳米材料进行复合构建电化学传感器是一种改善电导率和电化学稳定性的高效途径^[51]。大多数蜂蜜中抗生素的残留量较小,对于传感器的检测限要求较高,通过制备不同类型的纳米复合材料,构建出操作简单、检测灵敏的电化学传感器应用于蜂蜜中抗生素的检测是未来的研究重点之一^[52],并且纳米材料之间会产生某种协同作用,对于其相互作用的过程目前并没有完全深入研究,因此在纳米材料电化学传感器方面的研究还需进一步加深。

2.2.2 分子印迹聚合物电化学传感器 分子印迹聚合物(MIPs)是一种仿生合成的材料,能够选择性地附着到目标分子上^[53-54],将 MIPs 组装到电极表面制备而得的传感器即为分子印迹聚合物电化学传感器。MIPs 不仅制备过程简单、价格相对较低,并且对于其目标分子具有高度选择性,在检测、定量等方面具有突出的特性^[55-58]。分子印迹聚合物电化学传感器响应速度快且检测灵敏度高,因此可以应用于蜂蜜中抗生素残留的检测。

MIPs 大多不具备导电性,将 MIPs 和量子点结合应用到传感器的制备可实现信号传递,提高传感器的检测灵敏度^[59]。Chullasat 等^[60]将分子印迹聚合物包覆在量子点(MIP-QDs)上,采用 MIP-QDs 作为探针测定阿莫西林的含量并应用于蜂蜜样品的测定。结果显示随着阿莫西林浓度的增加,其发光强度降低,其检测限和定量限分别为 0.14 和 0.46 $\mu\text{g/L}$ 。并且采用 MIP-QDs 和 HPLC 法对提取的样品溶液进

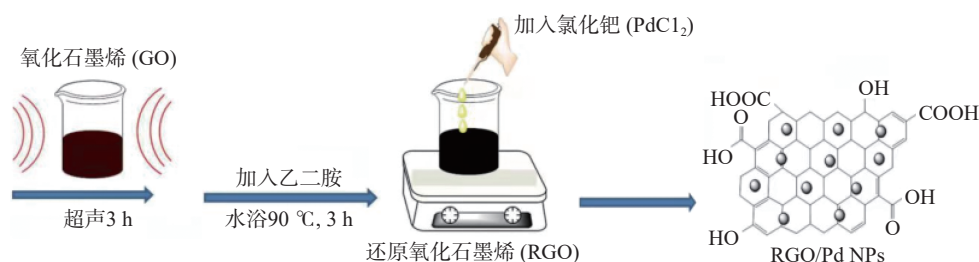


图 1 RGO/Pd NPs 纳米复合材料的合成过程示意图^[50]

Fig.1 Schematic diagram of synthetic procedures of RGO/PdNPs nanocomposite^[50]

行分析对比,实验表明其建立的方法与高效液相色谱法一致,可用于食品中微量阿莫西林的测定。将本研究建立的方法用于检测蜂蜜样品,在蜂蜜中添加 1.0、10、20、50 $\mu\text{g/L}$ 4 种不同浓度的阿莫西林,其回收率为 86%~98.5%, $\text{RSD}<4.8\%$ 。张慧洁等^[61]以 CAP 为模板分子,以沉淀法制备 CAP 分子印迹聚合物(CAP-MIPs),将掺杂氮硫的碳量子点与 MIPs 相结合,采用荧光分析法考察 0.001~60 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 CAP 对分子印迹聚合物的荧光猝灭作用,随着 CAP 浓度递增,其荧光强度逐渐降低,结果显示其方法检出限为 $6\times 10^{-4} \mu\text{mol/L}$ 。在对蜂蜜样品进行检测时,在蜂蜜中加入甲醇,经涡旋、超声、离心后取上清液加入磷酸缓冲溶液,分别加入 1.0、3.0、5.0 $\mu\text{g/g}$ 的 CAP 进行荧光光谱分析,结果表明其加标回收率为 90.0%~98.2%, $\text{RSD}<5.1\%$ 。二者的研究表明将 MIPs 与量子点相结合作为一种光致发光探针用于荧光光谱法分析,其操作简单、设备成本低,将其结合使用制备得到的传感器可用于选择性测定蜂蜜中的抗生素含量。Bougrini 等^[62]以四环素(TC)为模板分子,利用修饰 p-氨基巯基酚的金纳米颗粒作为载体,电聚合制备了一种用于检测蜂蜜中四环素的分子印迹传感器(如图 2)。实验以铁氰酸盐为氧化还原探针,用线性扫描伏安法对电化学传感器进行了表征,研究表明该传感器的线性范围为 $2.24\times 10^{-4}\sim 22.4 \text{ nmol/L}$,检出限为 $2.2\times 10^{-7} \text{ nmol/L}$ 。利用该方法测定蜂蜜样品中四环素的含量,分别添加 8.65、11.65 mol/L 的四环素标准品溶液,其加标回收率为 101.8%~106.0%, $\text{RSD}<8.3\%$ 。该研究将纳米颗粒与 MIPs 进行结合,通过改进 MIPs 的制备提高了传感器的导电性及催化活性,对蜂蜜样品中四环素进行测定时,其检测灵敏度也有所提高。

分子印迹聚合物因其高效、准确、能有效分离复杂样品组分和成本低的特点在食品检测分析领域不断扩展应用^[63]。未来还需不断改进制备 MIPs 的技术手段,完善 MIPs 的选择性识别理论体系,使其在蜂蜜中抗生素残留检测方面发挥重要作用^[64]。

2.2.3 核酸适配体传感器 核酸适配体(aptamer, Apt)是由单链 DNA、寡核苷酸 RNA 或短肽组成的配体,其稳定的三维结构能够特异性地识别靶标^[65],它们在附着方式上类似于不同类型的抗体^[66],核酸适

配体传感器是将二者的识别和结合作用转化为光学、电化学等检测信号,利用其可以直接识别和捕获目标^[67],从而建立灵敏、快捷的检测方法,适用于蜂蜜样品快速、小型的现场检测。

核酸适配体和纳米材料的复合应用因能放大响应信号、显著提高检测精准度而受到越来越多的关注。唐亚利^[68]通过构建出基于氧化石墨烯-核酸适配体传感器用于检测蜂蜜中四环素的残留。将一定量的核酸适配体溶液与氧化石墨烯混合,通过加入不同浓度的四环素进行孵育、离心,取上清液测定其吸光度值。结果显示,该传感器的四环素检测限为 $1.0\times 10^{-3} \text{ ng/mL}$,线性范围为 0.002~20 ng/mL 。在对蜂蜜样品进行检测时,在蜂蜜中分别加入 0.001、0.01、0.1 mg/kg 3 个水平的四环素标准品,再通过添加 McIlvaine 缓冲溶液、三氯乙酸去除样品中的金属离子,经涡旋、离心、稀释后测定其样品回收率达 82.5%~117%。Liu 等^[69]制备了基于石墨烯-三维结构纳米金复合材料(GR-3D Au)和核酸适配体-Au NPs-辣根过氧化物酶纳米探针构建了一种用于检测土霉素(OTC)的电化学核酸适配体传感器(如图 3),并利用该传感器对蜂蜜中的 OTC 进行检测,结果显示,该传感器的检测限可达 $4.98\times 10^{-10} \text{ g/L}$ 。二者的研究表明,在蜂蜜样品的检测中,所构建的核酸适配体传感器通过传递出可定量处理的光、电信号使其能够对蜂蜜中抗生素残留进行快速分析检测,并且检测的成本较低、灵敏度较高。

核酸适配体与抗体相比具有稳定性好、生物相容性好、易于合成、价格便宜且标记相对容易等优点^[70-71]。核酸适配体可以被应用于蜂蜜样品中抗生素的检测,但是核酸适配体传感器易受到蜂蜜中其他基质的干扰,对于如何避免物质所带来的干扰和保持传感器的稳定性、灵敏度等问题还需要进一步研究。

2.2.4 免疫传感器 免疫传感器是一种基于抗原分子识别的传感器。由于抗体和特定物质或相应抗原的特异性结合使免疫传感器具备了独特的选择性和较高的灵敏度^[72]。随着传感器技术的快速发展,为了改善免疫传感器的检测性能,提高其传感效率,有研究将纳米材料与免疫传感器相结合使用,使其在食品检测领域逐渐得到了更多研究者的认可^[73]。

Cervera 等^[74]开发了一种基于高频石英晶体微

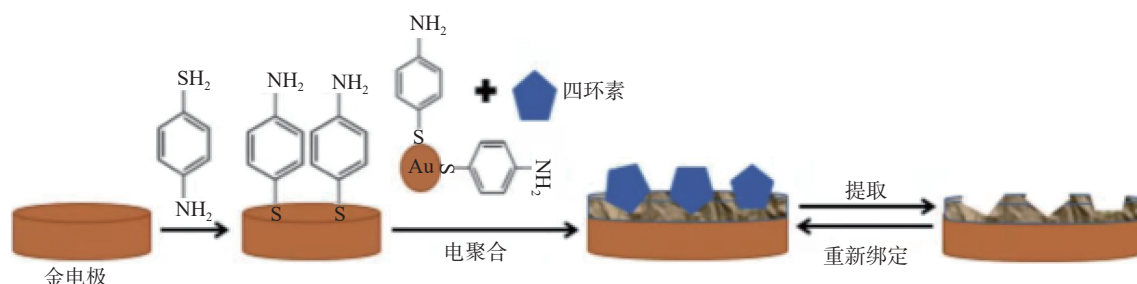
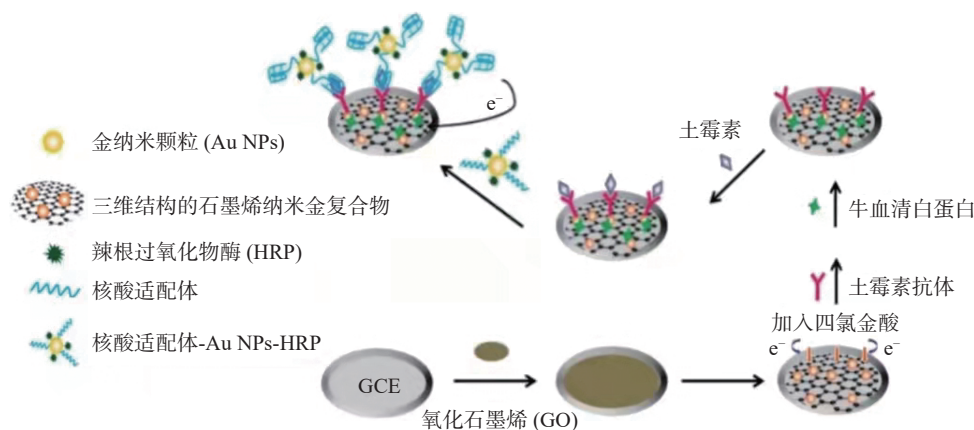


图 2 基于金纳米粒子的四环素分子印迹传感器示意图^[62]

Fig.2 Schematic diagram of tetracycline molecularly imprinted sensor based on AuNPs^[62]

图 3 用于土霉素检测的核酸适配体传感器示意图^[69]Fig.3 Schematic of the aptasensor for the detection of OTC^[69]

天平(HFF-QCMD)技术的压电免疫传感器,实验使用 100 MHz 石英作为传感器,利用特异性单克隆抗体作为生物识别元件检测蜂蜜中磺胺噻唑的残留。通过 Strata-X SPE 聚合物固相萃取柱对蜂蜜样品进行前处理,再利用构建的免疫传感器进行检测,研究结果显示,该传感器的检测限为 0.10 $\mu\text{g/kg}$,定量限为 2 $\mu\text{g/kg}$ 。在蜂蜜中加入 10、50、100 $\mu\text{g/kg}$ 3 个水平的磺胺噻唑样品做加标回收试验,其样品回收率可达 100%~113%,该方法的检测限比其他报道的蜂蜜磺胺噻唑检测方法低 40~50 倍,蜂蜜预处理高效、快速、简单。Nadia 等^[75]研发了一种基于金微电极修饰的生物微电子机械系统(Bio-MEMS)的免疫传感器检测蜂蜜中四环素,由于利用纳米粒子的表面修饰使其灵敏度得到了提高,且在样品预处理时不需要任何复杂的步骤。结果显示其检测限为 1.2 pg/mL 。根据以上研究表明,免疫传感器是一种新颖、小型化且成本较低的检测设备,其能够检测到蜂蜜中低水平的抗生素残留,并且对于蜂蜜样品的前处理没有过多复杂的要求,非常有利于大量蜂蜜样品的快速、便捷检测。

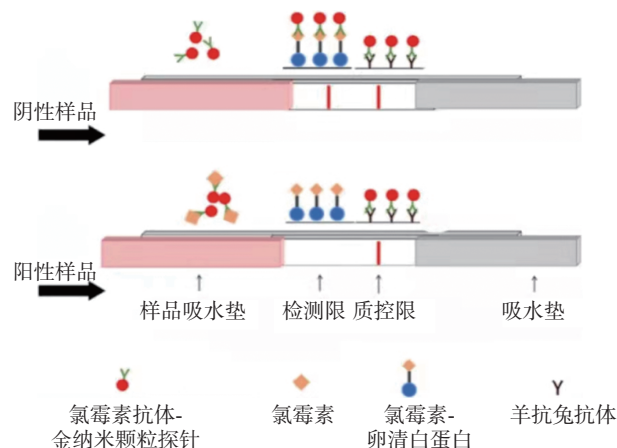
对比常规检测手段,免疫传感器具备简便、快速、高效、灵敏度高等优点^[76]。但目前免疫传感器还没有成为食品检测的主要应用技术,未来提高传感器的重现性和稳定性是一个重要的研究方向。

2.3 免疫分析法

免疫分析法是利用放射性同位素、酶、荧光或其它物质作为标记剂,基于特异性抗原与抗体相互作用催化底物发生显色反应的分析方法^[77]。常用于检测蜂蜜中抗生素残留的方法为酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)和侧流免疫层析法(lateral flow immunoassay, LFIA)。

ELISA 是选择用酶对抗体进行标记,根据显色程度来定量检测抗生素,其可在复杂的样品基质中选择性检测微量物质^[78]。Kumar 等^[79]采用竞争酶联免疫吸附法检测蜂蜜样品中的 CAP 残留,将蜂蜜样品溶于 $\text{Na}_2\text{EDTA-McIlvaine}$ 缓冲液,利用 HLB 固相

萃取小柱提取抗生素。使用微孔板分光光度计在 450 nm 波长测量其吸光度,结果显示该方法检测限为 0.05 ng/g ,分别添加 1、2、4 ng/g 3 个水平的 CAP 标准品,其加标回收率为 77.3%~83.1%, $\text{RSD}<1.3\%$ 。Wu 等^[80]通过制备 CAP 特异性抗体建立了灵敏的直接竞争酶联免疫吸附法(dcELISA)和金纳米颗粒免疫层析条(immunostrp)两种方法检测蜂蜜中的 CAP。将不同浓度的 CAP 溶液添加到蜂蜜样品中,加入磷酸缓冲溶液后离心、提取上清液,再用含有吐温-20 和牛血清白蛋白的磷酸缓冲液进行稀释,用于后续蜂蜜样品的检测。在 dcELISA 中,其对 CAP 的检出限为 0.15 ng/mL ,在蜂蜜样品中添加 0.25~100 ng/g 的 CAP 样品,其回收率为 71.9%~94.7%。免疫条检测 CAP 的机理如图 4 所示,将免疫条插入样品孔中,当 CAP 含量超过 0.5 ng/mL 时,免疫条上会消失一条红色检测线,即定义为免疫条的视觉检测限为 0.5 ng/mL 。研究结果表明,ELISA 法和免疫层析条检测方法均可以应用到蜂蜜中 CAP 的检测。但免疫层析条方法主要依靠于检测限的显色且采用人眼观察判定^[81],但人眼视觉判别具有一定的误差性,该方法更适用于蜂蜜的定性检测。ELISA 法较依赖于

图 4 用于氯霉素检测的免疫层析条示意图^[80]Fig.4 Schematic diagram of immunochromatographic strip for chloramphenicol detection^[80]

温度控制装置且只能提供定量检测,为了避免此种方法的使用弊端,有研究对 LFIA 进行了应用分析。LFIA 利用磁性纳米颗粒、发光纳米颗粒等标记抗原或抗体,根据检测限区域的信号颜色变化及信号强度查看检测结果^[82]。Li 等^[83]通过简单的样品制备策略、基于 LFIA 条带和手持传感器读取器建立了一种蜂蜜抗生素残留检测系统。利用与抗生素单克隆抗体偶联的量子点微球探针,LFIA 条带可同时检测磺胺类药物和四环素类药物,手持式传感器读取器可以自动进行图像记录、荧光信号提取和抗生素定量,该方法的检出限为 0.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$,其灵敏度高,且特异性较好。

免疫分析法具备检测成本低、效率高、灵敏度好且操作简便等优点。但由于其基于一类化合物的共同基团发生免疫反应的原理,使得此方法不能对每种化合物分别检测并定量,并且若蜂蜜中的抗生素没有相对应的抗原,则不能进行检测,其应用具有一定的局限性^[84]。

3 结论与展望

本文对蜂蜜中抗生素的残留现状及检测方法进行了综述,就检测方法而言,色谱法目前应用较为广泛,并且有许多研究者通过对液质联用技术的检测条件进行改善,使其可以实现对蜂蜜中多种类抗生素的同时检测,但该方法设备昂贵,目前无法实现对蜂蜜检测的普遍应用。免疫分析法成本较低且操作简便,但该方法依赖于特定的抗原,若没有对应抗原则无法进行检测,因此在一定程度上限制了其使用。传感器法检测的灵敏度高、检测成本较低,并且其设备型号小,增加了使用的便携性,可用于实现蜂蜜的现场快速检测。传感器法是目前检测和定量蜂蜜中抗生素残留的有前途的方法之一,其中电化学传感器可以达到快速响应和高灵敏度的检测效果,具有良好的发展前景。因此,在保持其检测灵敏度和准确度的基础上,开发电导率和催化活性更好的电极材料、优化样品的前处理方法、提高检测效率是今后的研究重点之一。未来还要通过不断改进检测技术、开发新型检测方法来提高蜂蜜中抗生素残留的定性定量分析水平,建立更加完善、简单、灵敏的检测方法。

参考文献

[1] TAERI J, EUNBEE J, GAEUN Y, et al. The monoclonal antibody for discrimination of natural honey against artificial honey[J]. *Food Science & Nutrition*, 2018, 6(8): 2350–2354.

[2] 田洪芸,王冠群,任雪梅.我国蜂蜜产品及其品质检测指标[J]. *中国蜂业*, 2020, 71(10): 47–49. [TIAN H Y, WANG G Q, REN X M. China's honey products and their quality testing indicators[J]. *Apiculture of China*, 2020, 71(10): 47–49.]

[3] RAFIEH F, JINAP S, ALFI K, et al. The toxic impact of honey adulteration: A review[J]. *Foods (Basel, Switzerland)*, 2020, 9(11): 1538–1559.

[4] ELISABETTA B, SARA P, FRANCESCO A, et al. Determination of antibiotic residues in honey in relation to different poten-

tial sources and relevance for food inspection[J]. *Food Chemistry*, 2020, 334(20): 127575.

[5] RIZZETTI T M, DESOUZA M P, PRESTES O D, et al. Optimization of sample preparation by central composite design for multi-class determination of veterinary drugs in bovine muscle, kidney and liver by ultra-high-performance liquid chromatographic-tandem mass spectrometry[J]. *Food Chemistry*, 2018, 246(25): 404–413.

[6] CHIESA, PANSERI, NOBILE, et al. Distribution of POPs, pesticides and antibiotic residues in organic honeys from different production areas[J]. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 2018, 35(7): 1340–1355.

[7] 林春瑶,刘功良,白卫东,等.蜂产品抗生素残留检测的研究进展[J]. *农产品加工*, 2019, 17(10): 78–81. [LIN C Y, LIU G L, BAI W D, et al. Advances in the detection of antibiotic residues in bee products[J]. *Farm Products Processing*, 2019, 17(10): 78–81.]

[8] 栗慧,李佳仪,彭伟.四环素类抗生素检测方法研究进展[J]. *河北北方学院学报(自然科学版)*, 2018, 34(2): 41–45, 48. [LI H, LI J Y, PENG W. Advances in detection methods of tetracycline antibiotics[J]. *Journal of Hebei North University(Natural Science Edition)*, 2018, 34(2): 41–45, 48.]

[9] GUO F, ZHU Z H, ZHENG Z Q, et al. Facile synthesis of highly efficient fluorescent carbon dots for tetracycline detection[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, 27(4): 4520–4527.

[10] 国家市场监督管理总局,国家卫生健康委员会,农业农村部. GB 31650-2019 食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2019. [State Administration for Market Regulation, National Health Commission, Ministry of Agriculture and Rural Affairs Announcement. GB 31650-2019 National food safety standard. Maximum residue limits for veterinary drugs in foods[S]. Beijing: National Standards Press, 2019.]

[11] 刘新迎,李灏,王士强,等.山东省蜂蜜原料质量安全情况调查[J]. *中国蜂业*, 2021, 72(4): 40–41. [LIU Y X, LI H, WANG S Q, et al. Investigation on the quality and safety of raw honey in Shandong Province[J]. *Apiculture of China*, 2021, 72(4): 40–41.]

[12] HUANG Y F, YAN X C, ZHAO L H, et al. An aptamer cocktail-based electrochemical aptasensor for direct capture and rapid detection of tetracycline in honey[J]. *Microchemical Journal*, 2019, 150: 104179.

[13] 李嘉慧,刘凤银,王宇,等.食品中喹诺酮类抗生素多残留同时检测研究[J]. *生物化工*, 2019, 5(4): 149–151. [LI J H, LIU F Y, WANG Y, et al. Progress in simultaneous detection of quinolone antibiotic residues in food[J]. *Biological Chemical Engineering*, 2019, 5(4): 149–151.]

[14] PHAM T D M, ZIORA Z M, BLASKOVICH M A T. Quinolone antibiotics[J]. *Med Chem Comm*, 2019, 10(10): 1719–1739.

[15] 农业部. NY/T 5030-2016 无公害农产品兽药使用准则[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016. [Ministry of Agriculture and Rural Affairs Announcement. NY/T 5030-2016 Guidelines for the use of veterinary drugs in pollution-free agricultural products[S]. Beijing: National Standards Press, 2016.]

[16] 杜洪森.蜂蜜中喹诺酮类、四环素类、氯霉素类抗生素的液

- 相色谱-串联质谱测定法[J]. *广东化工*, 2020, 47(11): 202-205. [DU H M. Simultaneous determination of quinolones tetracyclines and chloramphenicol in honey by UPLC-MS/MS[J]. *Guangdong Chemical Industry*, 2020, 47(11): 202-205.]
- [17] 车先阁. 喹诺酮类抗生素残留的三维荧光光谱检测技术研究[D]. 秦皇岛: 燕山大学, 2020. [CHE X G. Research on determination technology of ouinolones residues by three-dimensional fluoescence spectroscopy[D]. Qinhuangdao: Yanshan University, 2020.]
- [18] GUO X C, XIA Z Y, WANG H H, et al. Molecularly imprinted solid phase extraction method for simultaneous determination of seven nitroimidazoles from honey by HPLC-MS/MS[J]. *Talanta*, 2017, 166(1): 101-108.
- [19] LEI H Y, GUO J B, LV Z, et al. Simultaneous determination of nitroimidazoles and quinolones in honey by modified QuEChERS and LC-MS/MS analysis[J]. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2018, 2018(1): 1-12.
- [20] 杭莉, 杨华梅, 陈霞. 2016-2018 年江苏省五城市 4 种食品中甲硝唑残留量[J]. *卫生研究*, 2019, 48(2): 320-322. [HANG L, YANG H M, CHEN X. Metronidazole residues in four kinds of food in five cities of Jiangsu Province from 2016 to 2018[J]. *Journal of Hygiene Research*, 2019, 48(2): 320-322.]
- [21] 邢燕, 王敏, 高慧, 等. 山东省市售蜂蜜中氯霉素和甲硝唑监测及风险评估分析[J]. *现代预防医学*, 2021, 48(1): 174-177. [XING Y, WANG M, GAO H, et al. Monitoring and risk assessment analysis of chloramphenicol and metronidazole in honey, Shandong Province[J]. *Modern Preventive Medicine*, 2021, 48(1): 174-177.]
- [22] KAMILA M, MAJA A. Transfer of nitroimidazoles from contaminated beeswax to honey[J]. *Food Additives & Contaminants*, 2017, 34(4): 573-581.
- [23] 吴明, 徐飞. 液相色谱串联质谱法测定蜂蜜中咪唑类抗生素[J]. *食品工业*, 2021, 42(3): 318-322. [WU M, XU F. Rapid determination of nitroimidazoles and benzimidazoles in honey using MFC-LC-MS/MS[J]. *The Food Industry*, 2021, 42(3): 318-322.]
- [24] DLUHOSOVA S, BORKOVCOVA I, KANIOVA L, et al. Sulfonamide residues: Honey quality in the czech market[J]. *Journal of Food Quality*, 2018.
- [25] 杨杰程, 刘丁溪, 郭抗抗, 等. 动物性食品中磺胺类药物残留检测方法研究进展[J]. *畜牧与兽医*, 2019, 51(6): 134-139. [YANG J C, LIU D X, GUO K K, et al. Progress in research on detection of sulfonamide residues in animal derived foods[J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2019, 51(6): 134-139.]
- [26] 李锐, 袁玉伟, 钱鸣蓉, 等. 浙江省蜂蜜质量安全状况分析[J]. *浙江农业科学*, 2018, 59(9): 1700-1702. [LI R, YUAN Y W, QIAN M R, et al. Analysis of honey quality and safety in Zhejiang Province[J]. *Journal of Zhejiang Agricultural Sciences*, 2018, 59(9): 1700-1702.]
- [27] 余辉菊, 杨晓松, 杨胜利. 基质固相分散-高效液相色谱法测定蜂蜜中 10 种磺胺类药物[J]. *中国食品卫生杂志*, 2011, 23(2): 147-150. [YU H J, YANG X S, YANG S L. Determination of ten sulfonamide residues in honey with matrix solid phase dispersion-high performance liquid chromatography[J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2011, 23(2): 147-150.]
- [28] CAMPONE L, CELANO R, PICCINELLI A L, et al. Ultra-sound assisted dispersive liquid-liquid microextraction for fast and accurate analysis of chloramphenicol in honey[J]. *Food Research International*, 2019, 115: 572-579.
- [29] RIMKUS G G, HUTH T, HARMS D. Screening of stereoisomeric chloramphenicol residues in honey by ELISA and CHARM® II test-the potential risk of systematically false-compliant (false negative) results[J]. *Food Additives & Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, 2020, 37(1): 94-103.
- [30] 张璐, 孔祥虹, 何强, 等. 蜂蜜中兽药残留检测方法的研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2015, 6(11): 4368-4372. [ZHANG L, KONG X H, HE Q, et al. Research advances on the detection method of veterinary drug residues in honey[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2015, 6(11): 4368-4372.]
- [31] 吕冰峰, 刘敏, 裴新荣. 2015-2018 年蜂蜜国家食品安全监督抽检结果分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(23): 8164-8170. [LÜ B F, LIU M, PEI X R. Results analysis of the national food safety supervision and sampling inspection of honey from 2015 to 2018[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2019, 10(23): 8164-8170.]
- [32] 郑景娇. 食品中抗生素残留常用检测技术应用浅析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(21): 7884-7889. [ZHENG J J. Analysis on the application of common detection techniques for antibiotic residues in food[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2020, 11(21): 7884-7889.]
- [33] 魏贞贞, 沈倩, 俞湘湘, 等. HPLC 内标法测定蜂蜜中抗生素的研究[J]. *广东化工*, 2014, 41(6): 173-174, 179. [WEI Z Z, SHEN Q, YU X X, et al. Study on antibiotics in honey by HPLC internal standard method[J]. *Guangdong Chemical Industry*, 2014, 41(6): 173-174, 179.]
- [34] 卢坤, 童群义. 高效液相色谱法同时检测蜂蜜中的 5 类抗生素残留[J]. *分析测试学报*, 2011, 30(11): 1320-1323, 1328. [LU K, TONG Q Y. Simultaneous determination of 5 classes of antibiotics residues in honey using high performance liquid chromatography[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2011, 30(11): 1320-1323, 1328.]
- [35] 梁艳冰. 浅谈食品中抗生素残留的常用检测技术[J]. *中国食品工业*, 2021(1): 60-61. [LIANG Y B. Discussion on the common detection technology of antibiotic residues in food[J]. *China Food Industry*, 2021(1): 60-61.]
- [36] 张中印, 赵柳微, 曹葳蕤, 等. QuEChERS 前处理方法结合高效液相色谱-串联质谱测定蜂蜜和蜂王浆中 14 种喹诺酮类药物残留[J]. *食品科学*, 2016, 37(16): 242-248. [ZHANG Z Y, ZHAO L W, CAO W R, et al. Simultaneous determination of fluoroquinolone residues in honey and royal jelly by QuEChERS and high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Food Science*, 2016, 37(16): 242-248.]
- [37] XU J, YANG M, WANG Y H, et al. Multiresidue analysis of 15 antibiotics in honey using modified QuEChERS and high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2021, 103: 104-120.
- [38] BAEZA F A N, RODRIGUEZ C G, LIVA-GARRIDO M.

- Multi-residue analysis of sulfonamide antibiotics in honey samples by on-line solid phase extraction using molecularly imprinted polymers coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2018, 41(15-16): 881-891.
- [39] ZHANG Y, LI X Q, LI H M, et al. Antibiotic residues in honey: A review on analytical methods by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Trends in Analytical Chemistry*, 2018, 110(18): 15-55.
- [40] 林嫚婷, 苏亚霞, 胡汉昆. 食品中抗生素残留的预处理及检测方法研究进展 [J]. *食品与药品*, 2020, 22(4): 304-309. [LIN M T, SU Y X, HU H K. Advances in pretreatment and detection of antibiotic residues in foods [J]. *Food and Drug*, 2020, 22(4): 304-309.]
- [41] CHEN Y, FAN Z X, ZHANG Z C, et al. Two-dimensional metal nanomaterials: Synthesis, properties, and applications [J]. *Chemical Reviews*, 2018, 118(13): 6409-6455.
- [42] LIU L, KONG L. Research progress on the carcinogenicity of metal nanomaterials [J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2021, 41(9): 1334-1344.
- [43] WANG H N, LI Z Y, LU S T, et al. Nano micelles of cellulose-graft-poly (l-lactic acid) anchored with epithelial cell adhesion antibody for enhanced drug loading and anti-tumor effect [J]. *Materials Today Communications*, 2020, 22: 100764.
- [44] SEN T, POLSHETTIWAR V, MAHMOUDI M. Editorial preface: A special issue on themes (i) Nano-energy/environmental for a better society and (iii) nano-catalysis for green technology [J]. *Materials Today: Proceedings*, 2017, 4(1): 1-8.
- [45] VENKATESAN S, ARUNKUMAR K, MURUGAVEL K, et al. Facile synthesis of carbon nanocubes and its applications for sensing antibiotics [J]. *Journal of Photochemistry & Photobiology, A: Chemistry*, 2020, 403: 112855.
- [46] PIASKOWSKI K, ZARZYCKI P K. Carbon-based nanomaterials as promising material for wastewater treatment processes [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2020, 17(16): 5862-5876.
- [47] MAITI D, TONG X M, MOU X Z, et al. Carbon-based nanomaterials for biomedical applications: A recent study [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2019(9): 1401.
- [48] KUAMR G T, RAMAIAH B P, REDDY C S, et al. Advances in carbon based nanomaterials for bio-medical applications [J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2019, 26(38): 6851-6877.
- [49] MAIN G, CHEN S M, MANI V, et al. Molybdenum disulfide nanosheets coated multiwalled carbon nanotubes composite for highly sensitive determination of chloramphenicol in food samples milk, honey and powdered milk [J]. *Academic Press*, 2017, 485: 129-136.
- [50] YI W W, LI Z P, DONG C, et al. Electrochemical detection of chloramphenicol using palladium nanoparticles decorated reduced graphene oxide [J]. *Microchemical Journal*, 2019, 148: 774-783.
- [51] THANGAVELU K, CHEN S M. Design and construction of gadolinium oxide nanorods embedded graphene aerogel: A potential application for electrochemical detection of postharvest fungicide [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2020, 12(14): 16216-16226.
- [52] EMAM H E, MIKHAIL M M, ELSHERBINY S, et al. Metal-dependent nano-catalysis in reduction of aromatic pollutants [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, 27(6): 6459-6475.
- [53] VILLA C C, SANCHEZ L T, VALENCIA G A, et al. Molecularly imprinted polymers for food applications: A review [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 111: 642-669.
- [54] TARANNUM N, HENDRICKSON O D, KHATOON S, et al. Dzantiev. Molecularly imprinted polymers as receptors for assays of antibiotics [J]. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 2020, 50(4): 291-310.
- [55] INGRID B, ALNILAN L, MOREIRA G L. Employing molecularly imprinted polymers in the development of electroanalytical methodologies for antibiotic determination [J]. *Journal of Molecular Recognition*, 2020, 34(3): 2878-2891.
- [56] CAO X L, ZHANG Z, LIU G Y, et al. Preparation of magnetic dummy template molecularly imprinted polymers for the determination of aminoglycosides antibiotics in milk [J]. *Food Analytical Methods*, 2021 (prepublish): 1-10.
- [57] HU L Q, ZHOU T T, FENG J W, et al. A rapid and sensitive molecularly imprinted electrochemiluminescence sensor for azithromycin determination in biological samples [J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2018, 813: 1-8.
- [58] BAEZA F A N, GARCES L I, LUACES A M D, et al. Determination of cephalosporins by UHPLC-DAD using molecularly imprinted polymers [J]. *Journal of Chromatographic Science*, 2018, 56(2): 187-193.
- [59] 吴佳雯, 谢周鉴, 谭学才, 等. 石墨烯修饰的三唑磷分子印迹电化学传感器的制备 [J]. *化学研究与应用*, 2021, 33(10): 1889-1895. [WU J W, XIE Z J, TAN X C, et al. Electrochemical sensor for the determination of triazophos based on graphene modified electrode and molecularly imprinted polymer [J]. *Chemical Research and Application*, 2021, 33(10): 1889-1895.]
- [60] CHULLASAT K, NURERK P, KANATHARANA P, et al. A facile optosensing protocol based on molecularly imprinted polymer coated on CdTe quantum dots for highly sensitive and selective amoxicillin detection [J]. *Sensors & Actuators B Chemical*, 2018, 254: 255-263.
- [61] 张慧洁, 苏立强, 李国武, 等. 分子印迹碳量子点荧光探针的合成及其在氯霉素检测中的应用研究 [J]. *分析实验室*, 2019, 38(5): 596-600. [ZHANG H J, SU L Q, LI G W, et al. Synthesis of molecularly imprinted carbon quantum dots fluorescent probe and its application in the detection of chloramphenicol [J]. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 2019, 38(5): 596-600.]
- [62] BOUGRINI M, FLOREA A, CRISTEA C, et al. Development of a novel sensitive molecularly imprinted polymer sensor based on electropolymerization of a microporous-metal-organic framework for tetracycline detection in honey [J]. *Food Control*, 2016, 59: 424-429.
- [63] 张磊, 邓健康, 张富源. 仿生识别传感器的制备及其在抗生素检测中的应用 [J]. *食品研究与开发*, 2021, 42(7): 183-188, 219.

- [ZHANG L, DENG J K, ZHANG F Y. Preparation of biomimetic recognition sensor and its application in antibiotic detection[J]. Food Research and Development, 2021, 42(7): 183–188, 219.]
- [64] 陈长宝, 刘新迎, 汪建民, 等. 分子印迹聚合物在蜂蜜中抗生素分析的进展[J]. 广州化工, 2017, 45(10): 3–6, 11. [CHEN C B, LIU X Y, WANG J M, et al. Research progress on molecularly imprinted polymers in antibiotics analysis of honey[J]. Guangzhou Chemical Industry, 2017, 45(10): 3–6, 11.]
- [65] YUE F L, LI F L, KONG Q Q, et al. Recent advances in aptamer-based sensors for aminoglycoside antibiotics detection and their applications[J]. Science of the Total Environment, 2021, 762: 143129.
- [66] FOOLADI A A I, CH M H, AMIN M, et al. Applications and modifications of aptamers: Potential tool for medical microbiology[J]. Reviews in Medical Microbiology, 2016, 27(3): 107–120.
- [67] ZENG R J, SU L S, LUO Z B, et al. Ultrasensitive and label-free electrochemical aptasensor of kanamycin coupling with hybridization chain reaction and strand-displacement amplification[J]. Analytica Chimica Acta, 2018, 1038: 21–28.
- [68] 唐亚利. 基于氧化石墨烯—适配体传感检测食品中四环素残留的研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2017. [TANG Y L. The research of a graphene oxide-based aptasensor used for the detection of tetracycline residue in food[D]. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2017.]
- [69] LIU S, WANG Y, XU W, et al. A novel sandwich-type electrochemical aptasensor based on GR-3D Au and aptamer-AuNPs-HRP for sensitive detection of oxytetracycline[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2017, 88: 181–187.
- [70] ZHOU Z Z, LIU M Y, JIANG J H. The potential of aptamers for cancer research[J]. Analytical Biochemistry, 2018, 549: 91–95.
- [71] KHOSHBIN Z, HOUSAINDOKHT M R, VERDIAN A, et al. Simultaneous detection and determination of mercury (II) and lead (II) ions through the achievement of novel functional nucleic acid-based biosensors[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2018, 116: 130–147.
- [72] ALEKSANDRA P, JOLANTA K. Electrochemical immunosensors for antibiotic detection[J]. Biosensors, 2019, 9(2): 61–88.
- [73] LIU X, ZHENG S, HU Y X, et al. Electrochemical immunosensor based on the chitosan-magnetic nanoparticles for detection of tetracycline[J]. Food Analytical Methods, 2016, 9(10): 2972–2978.
- [74] CERVERA C L, JIMENEZ Y, MONTOYA A, et al. High fundamental frequency quartz crystal microbalance (HFF-QCMD) immunosensor for detection of sulfathiazole in honey[J]. Food Control, 2020, 115: 107296.
- [75] NADIA E, ABDOULLATIF B, SELIM B, et al. Development and application of a novel electrochemical immunosensor for tetracycline screening in honey using a fully integrated electrochemical Bio-MEMS[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2018, 130: 330–337.
- [76] ZHANG Z G, CONG Y L, HUANG Y C, et al. Nanomaterials-based electrochemical immunosensors[J]. Micromachines, 2019, 10(6): 397.
- [77] AHMED S, NING J N, PENG D P, et al. Current advances in immunoassays for the detection of antibiotics residues: A review[J]. Food and Agricultural Immunology, 2020, 31(1): 268–290.
- [78] JAKSIC S M, RATAJAC R D, PRICA N B, et al. Methods of determination of antibiotic residues in honey[J]. Journal of Analytical Chemistry, 2018, 73(4): 317–324.
- [79] KUMAR A, GILL J P S, BEDI J S, et al. Determination of antibiotic residues in Indian honeys and assessment of potential risks to consumers[J]. Journal of Apicultural Research, 2020, 59(1): 25–34.
- [80] WU S W, WANG M Y, LIU B H, et al. Sensitive enzyme-linked immunosorbent assay and gold nanoparticle immunochromatographic strip for rapid detecting chloramphenicol in food[J]. Journal of Food Safety, 2020, 40(2): 1–10.
- [81] 曾念寅, 李玉榕, 杜民. 纳米金免疫层析试纸条定量检测的研究[J]. 生物医学工程研究, 2015, 34(4): 259–264. [ZENG N Y, LI Y R, DU M. The quantitative determination of gold immunochromatographic strip[J]. Journal of Biomedical Engineering Research, 2015, 34(4): 259–264.]
- [82] 闫灵芝. 侧流免疫层析技术在食品安全检测中的研究进展[J]. 食品工业科技, 2022, 43(4): 1–15. [YAN L Z. Research progress of lateral flow immunoassay in food safety[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(4): 1–15.]
- [83] LI Y, LI J H, HUANG H C, et al. Rapid quantitative detection for multiple antibiotics in honey using a quantum dot microsphere immunochromatographic strip[J]. Food Control, 2021, 130: 108256.
- [84] 王承平, 林毅侃, 雷涛, 等. 畜禽肉中抗生素残留检测技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(17): 5582–5589. [WANG C P, LIN Y K, LEI T, et al. Progress of the detection technology of antibiotic residues in livestock and poultry meat[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019, 10(17): 5582–5589.]