

## 实验技术与方法

## 利用磁固相萃取和表面增强拉曼光谱定量检测鸡肉和猪肉中的恩诺沙星

王盼雪,王丽,李岑,李国梁

(陕西科技大学食品科学与工程学院,陕西 西安 710021)

**摘要:**目的 利用磁性固相萃取(MSPE)结合表面增强拉曼光谱(SERS)建立一种鸡肉和猪肉中恩诺沙星的快速定量检测方法。方法 合成 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ @共价有机骨架纳米复合材料,并将其作为吸附剂分离和富集恩诺沙星。以银纳米颗粒为增强基底,利用便携式拉曼光谱仪采集恩诺沙星的SERS光谱。利用恩诺沙星的特征SERS信号进行定量分析。结果 恩诺沙星位于 $745.77\text{ cm}^{-1}$ 拉曼位移处的SERS信号强度与其浓度的对数值在 $5.0\times 10^{-7}\sim 1.0\times 10^{-5}\text{ mol/L}$ 范围内呈现出良好的线性关系,决定系数 $R^2$ 为0.962。检出限和定量限分别为0.07和0.23  $\mu\text{g/g}$ 。该方法检测鸡肉和猪肉中恩诺沙星的回收率为80.97%~100.98%,相对标准偏差为1.6%~4.6%。结论 MSPE-SERS方法操作简便、用时短、灵敏度高、稳定性好,为恩诺沙星的快速检测和现场检测提供了一种新方法。

**关键词:**恩诺沙星;快速检测;磁固相萃取;表面增强拉曼光谱;抗生素;兽药残留

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2024)05-0541-09

DOI:10.13590/j.cjfh.2024.05.005

### Quantitative detection of enrofloxacin in chicken and pork by magnetic solid phase extraction and surface-enhanced Raman spectroscopy

WANG Panxue, WANG Li, LI Cen, LI Guoliang

(School of Food Science and Engineering, Shaanxi University of Science &amp; Technology, Shaanxi Xi'an 710021, China)

**Abstract: Objective** To develop a rapid and quantitative method for the detection of enrofloxacin in chicken and pork using magnetic solid phase extraction (MSPE) combined with surface enhanced Raman spectroscopy (SERS). **Methods** Magnetic  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ @ covalent organic framework (COF) nanocomposites were synthesized and applied as absorbent to separate and enrich enrofloxacin. The SERS spectra of enrofloxacin were collected by a portable Raman spectrometer with Ag nanoparticles as enhancing substrate. The characteristic SERS signals of enrofloxacin were used to realize its quantification. **Results** Intensities of SERS signals at  $745.77\text{ cm}^{-1}$  and the logarithmic values of the concentrations of enrofloxacin in the range of  $5.0\times 10^{-7}$  to  $1.0\times 10^{-5}\text{ mol/L}$  displayed a good linear relationship with a coefficient of determination of 0.962. The limit of detection and limit of quantitation were 0.07 and 0.23  $\mu\text{g/g}$  respectively. The recoveries of enrofloxacin in chicken and pork were 80.97%~100.98% with relative standard deviations of 1.6%~4.6%. **Conclusion** The developed method has the advantages of simple in operate, short in time, high in sensitivity and stability, which provides a new method for the rapid detection and on-site detection of enrofloxacin.

**Key words:** Enrofloxacin; rapid detection; magnetic solid phase extraction; surface enhanced Raman spectroscopy; antibiotic; residue of veterinary drug

恩诺沙星属于第三代氟喹诺酮类抗生素,主要用于畜禽养殖中呼吸道和肠道细菌感染的预防和

治疗。然而,恩诺沙星的不当使用时有发生,导致其在动物体内残留。人类摄入被恩诺沙星污染的食物,会影响身体健康。研究表明,恩诺沙星对人体有慢性或急性毒性,会引起过敏、胃肠道失衡、癌变、畸形等病症<sup>[1]</sup>。因此,检测动物源食品中的恩诺沙星对保障食品安全和公众健康至关重要。

目前,恩诺沙星的检测方法有高效液相色谱法、液相色谱-质谱联用、酶联免疫吸附法、微生物法等。这些方法灵敏度高、准确性好,但样品制备复

收稿日期:2023-05-05

基金项目:国家自然科学基金(32102063);陕西科技大学高水平博士人才科研启动项目(2017BJ-51)

作者简介:王盼雪 女 副教授 研究方向为食品质量与安全检测  
E-mail:wangpanxue@sust.edu.cn

通信作者:李国梁 男 教授 研究方向为食品质量安全相关基础和应用研究  
E-mail:61254368@163.com

杂、耗时长,无法满足快检的要求。近年来,人们开发了多种恩诺沙星的快速检测技术,如电化学传感器<sup>[2]</sup>和分子印迹技术<sup>[3]</sup>等。这些快检方法用时较短,然而存在样品前处理烦琐、易受基质干扰的不足,很难应用于复杂基质中抗生素残留的快速检测。因此,迫切需要建立一种快速、可靠的恩诺沙星检测方法。

表面增强拉曼光谱(Surface enhanced Raman spectroscopy, SERS)具有样品制备简单、响应速度快、灵敏度高、指纹识别等优势,在食品安全检测中受到广泛关注。目前,研究者开发了不同的增强基底来实现恩诺沙星检测。HONG等<sup>[4]</sup>制备了一种银纳米光栅 SERS 基底检测恩诺沙星。WANG等<sup>[5]</sup>制备的 Ag-TiO<sub>2</sub>基底实现了恩诺沙星的高灵敏度 SERS 检测,检出限低至  $3.94 \times 10^{-11}$  mol/L。TENG等<sup>[6]</sup>开发了一种界面诱导自组装单层银纳米颗粒膜,用于痕量恩诺沙星的 SERS 检测。以上基底在一定程度上提高了检测的灵敏度,然而无法解决复杂基质中抗生素检测易受干扰的难题。

样品前处理技术在痕量污染物检测中发挥着重要的作用。通过样品前处理不仅可以降低基质的干扰效应,而且可以分离富集待测物,提高检测的灵敏度和可靠性。磁性固相萃取(Magnetic solid phase extraction, MSPE)是在磁性吸附剂的基础上发展起来的一种固相萃取技术,具有吸附效率高、磁分离时间短、操作简便等优点。

本研究将 MSPE 和 SERS 相结合,开发了一种恩诺沙星的快速、灵敏检测方法。方法中,首先合成了一种 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@共价有机骨架(Coalent organic framework, COF)纳米复合材料作为磁性吸附剂,用于分离和富集恩诺沙星。随后,以 Ag NPs 作为增强基底,结合便携式拉曼光谱仪实现恩诺沙星的定量分析。最后,评价建立的 MSPE-SERS 方法对鲜肉样品中恩诺沙星的检测性能,以期恩诺沙星的快速检测提供一种新方法。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验样品

从当地超市购买的新鲜鸡肉和猪肉。

### 1.2 主要仪器与试剂

BWS465-785 便携式拉曼光谱仪(美国 B&W Tek, Inc. 公司);LC-20AD 液相色谱仪(日本岛津公司);NEXUS-470 傅里叶红外光谱仪(上海赛默飞世尔科技有限公司)。

恩诺沙星、1,3,5-三醛基间苯三酚(Tp)(分析纯,阿拉丁生物科技有限公司);六水合三氯化铁

(FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O)、醋酸铵、氢氧化钠(NaOH)、盐酸(HCl)、联苯胺(Bd)、硝酸银(AgNO<sub>3</sub>)(分析纯,国药化学试剂有限公司);四氢呋喃(THF)、乙酸乙酯、乙腈(色谱纯,上海麦克林生化科技有限公司);甲醇、无水乙醇、乙二醇(色谱纯,上海天力化学试剂有限公司)。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 磁性 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米颗粒的制备

采用 LI 等<sup>[7]</sup>报道的方法制备磁性 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米颗粒(Nanoparticles, NPs)。首先,称取 1.35 g FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O、3.85 g 醋酸铵和 0.4 g 柠檬酸钠,加入 70 mL 乙二醇中,在室温下连续磁力搅拌 1 h。随后,将混合溶液转移到 100 mL 特氟龙高压反应釜中,200 °C 加热反应 16 h。反应结束后冷却至室温。最后,用外置磁铁收集合成的 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs,并用乙醇和水多次洗涤,直至上清液澄清。洗涤后的 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs 在 60 °C 烘箱中充分干燥,备用,可在室温条件下保存 15 d。

#### 1.3.2 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@COF 纳米复合材料的制备

首先,将 16 mg Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs 和 16 mg Bd 加入 11 mL THF 中,超声处理 30 min,机械搅拌 30 min。然后,在连续搅拌下,逐滴加入 4 mL 含 12 mg Tp 的 THF,300 rpm 搅拌 3 h,直至反应液的颜色由黑色变为深棕色。反应结束后,磁分离 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@COF 材料,用甲醇洗涤 4 次。最后,将材料置于 45 °C 干燥箱中干燥至恒重,备用,可在室温条件下保存 15 d。

#### 1.3.3 磁性固相萃取

鸡肉和猪肉样品的处理参考先前报道的方法,并稍作修改<sup>[8]</sup>。首先,称取 70.0 g 肉样加入绞肉机充分搅碎,其中鸡肉选取鸡胸肉,猪肉选取坐臀肉。然后,称取 5.0 g 搅碎的肉样加入 50 mL 离心管中,加入适量恩诺沙星储备液,制备恩诺沙星浓度分别为 0.072、0.288 和 0.576 μg/g 的肉样。随后,向离心管中加入 20 mL 酸化乙腈,涡旋 2 min,超声 30 min。最后,混合液经 3 000 r/min 离心 5 min,收集离心后的上清,备用。称取 20 mg Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@COF,加入 10 mL 样品中,涡旋 10 min。利用磁回收 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@COF。之后,加入 1 mL 0.03 mol/L NaOH,超声条件下洗脱 50 min。吸取洗脱液,用于后续分析。

#### 1.3.4 Ag NPs 的制备与表征

将 9 mg AgNO<sub>3</sub> 和 50 mL 去离子水加入 100 mL 干净的锥形烧瓶中。将溶液置于磁力搅拌器上,以 250 r/min 的速度搅拌,并迅速加热至沸腾。当溶液沸腾后,迅速加入 1 mL 柠檬酸钠溶液(1%, w/V),并继续搅拌 30 min,直至颜色变为灰绿色,立即停止加热和搅拌,自然冷却至室温,备用。合成的 Ag

NPs 在 4 °C 可以保存 15 d。合成的 Ag NPs 用 UV-Vis 吸收光谱和粒度分析仪进行表征。

### 1.3.5 SERS 检测

为消除洗脱液中 OH 对 SERS 检测的影响,需先加入适量 HCl 溶液,再加入 Ag NPs,充分混匀后,将混合液转至石英比色皿中,在激发光波长为 785 nm,积分时间为 4 s,积分次数 3 次,激光功率为 320 mW 条件下,采集 SERS 光谱。

## 2 结果与分析

### 2.1 MSPE-SERS 方法检测原理分析

MSPE-SERS 方法检测恩诺沙星的原理如图 1 所示。其中,Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@COF 材料具有多孔结构且比表面积大,可以为恩诺沙星提供大量的吸附位点。此

外,Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@COF 表面具有丰富的苯环和羟基,恩诺沙星是两性化合物,含有哌嗪基和羧基。Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@COF 表面的苯环和恩诺沙星分子中的芳香环和杂环可以形成  $\pi$ - $\pi$  叠加效应;恩诺沙星分子的羧基可以与暴露在 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@COF 表面的羟基形成氢键作用;恩诺沙星的亲水哌嗪环和疏水氟原子,与 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@COF 存在疏水相互作用<sup>[9-10]</sup>。因此,Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@COF 可以高效吸附恩诺沙星,实现其快速分离。SERS 光谱利用便携式拉曼光谱仪采集,该设备操作简便,分辨率高,响应速度快,可以应用于恩诺沙星的现场检测。从 SERS 光谱图中可以清晰地观察到恩诺沙星在 745.77 和 1 388.77 cm<sup>-1</sup> 处的特征信号。其中,745.77 cm<sup>-1</sup> 处的 SERS 信号主要来自亚甲基振动,1 388.77 cm<sup>-1</sup> 处的信号与 O-C-O 的拉伸振动有关<sup>[11]</sup>。

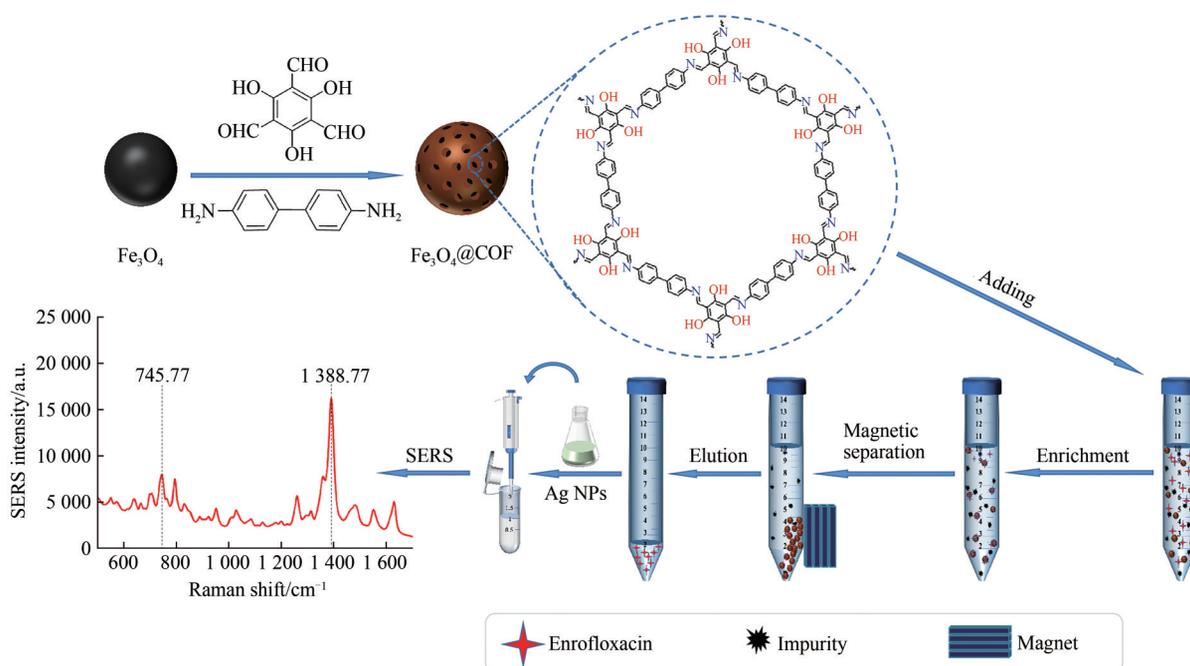


图 1 MSPE-SERS 方法检测恩诺沙星的原理示意图

Figure 1 Schematic diagram of detecting enrofloxacin by MSPE-SERS

### 2.2 材料表征

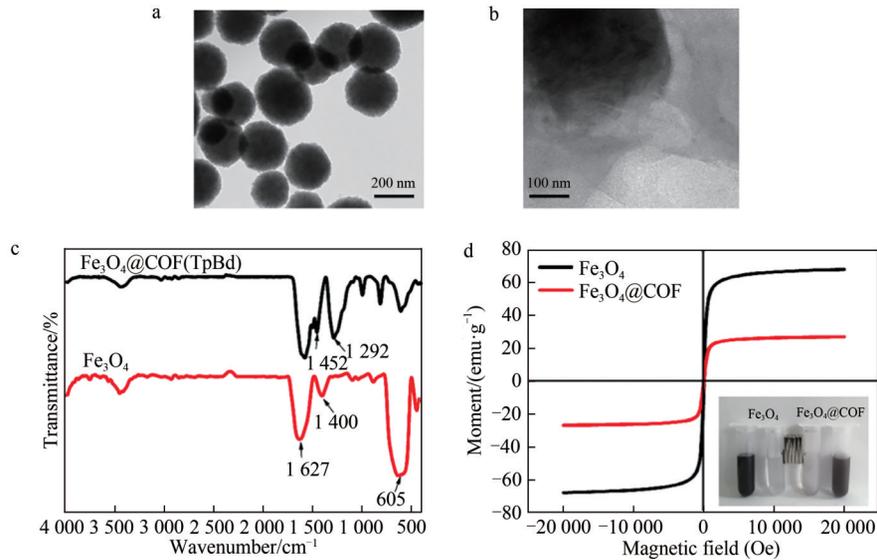
#### 2.2.1 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@COF 的表征

利用透射电镜(Transmission electron microscope, TEM)、FT-IR、VSM 表征了 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs 和 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@COF 的结构。由图 2a 可知,合成的 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs 呈球状,粒径在 200~300 nm。从图 2b 可以看出,Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs 周围有明显的灰色壳层,表明 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs 表面生成了 COF 材料。从图 2c 中可以看出,Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs 在 605、1 400、1 627 cm<sup>-1</sup> 处有明显的信号。这些信号分别来自于 Fe-O-Fe 振动、C=O 和 C-O 的伸缩振动峰。Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@COF 纳米材料的 FT-IR 光谱在 1 292 和 1 452 cm<sup>-1</sup> 处出现了不同于 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs 的信号,这些信号分别属于芳香 C=C 和 C-N 振动<sup>[12]</sup>。以上结果证

明了 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@COF 的成功制备。如图 2d 所示,Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs 的最大饱和磁强度为 68.0 emu/g,Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@COF 的最大饱和磁强度为 26.9 emu/g。虽然形成 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@COF 后,磁响应降低,但在外部磁铁的作用下,Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@COF 依然可以快速聚集在磁铁作用位置处。结果表明,制备的复合材料具有良好的顺磁性,能够满足磁性分离的要求。

#### 2.2.2 Ag NPs 的表征

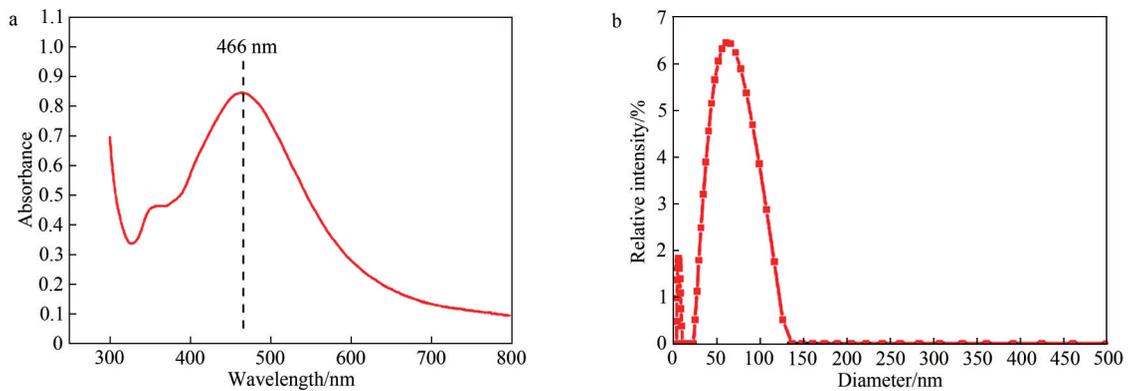
采用 UV-Vis 吸收光谱和粒度分析仪对合成的 Ag NPs 溶胶进行了表征(图 3)。如图 3a 所示,制备的溶胶在 466 nm 处有一个明显的紫外吸收峰,表明生成了 Ag NPs。从图 3b 中可以看出,合成的 Ag NPs 的粒径集中在 58 nm 左右。



注:a为 $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs的TEM图;b为 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ @COF的TEM图;c为FT-IR图;d为磁滞曲线

图2  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs和 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ @COF的表征结果

Figure 2 Characterization results of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs and  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ @COF



注:a为紫外-可见吸收光谱;b为粒径分布

图3 Ag NPs的表征结果

Figure 3 Characterization results of Ag NPs

## 2.3 参数优化

### 2.3.1 吸附剂量优化

为了分析吸附剂  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ @COF 用量对恩诺沙星分离效率的影响,向 10 mL  $1.0 \times 10^{-5}$  mol/L 浓度恩诺沙星溶液中分别加入 4~24 mg 吸附剂,吸附结束后,检测上清液中恩诺沙星的浓度,结果如图 4a 所示。由图 4a 可以看出,当吸附剂的用量在 4~12 mg 之间时,上清液中恩诺沙星的浓度随着吸附剂用量的增加而降低,吸附效率明显升高;当吸附剂用量超过 16 mg 时,上清液中恩诺沙星的浓度几乎不变,吸附效率变化不大;结果表明,使用 16 mg 吸附剂可以达到最好的吸附效果。因此,选择 16 mg 作为最佳吸附剂用量。

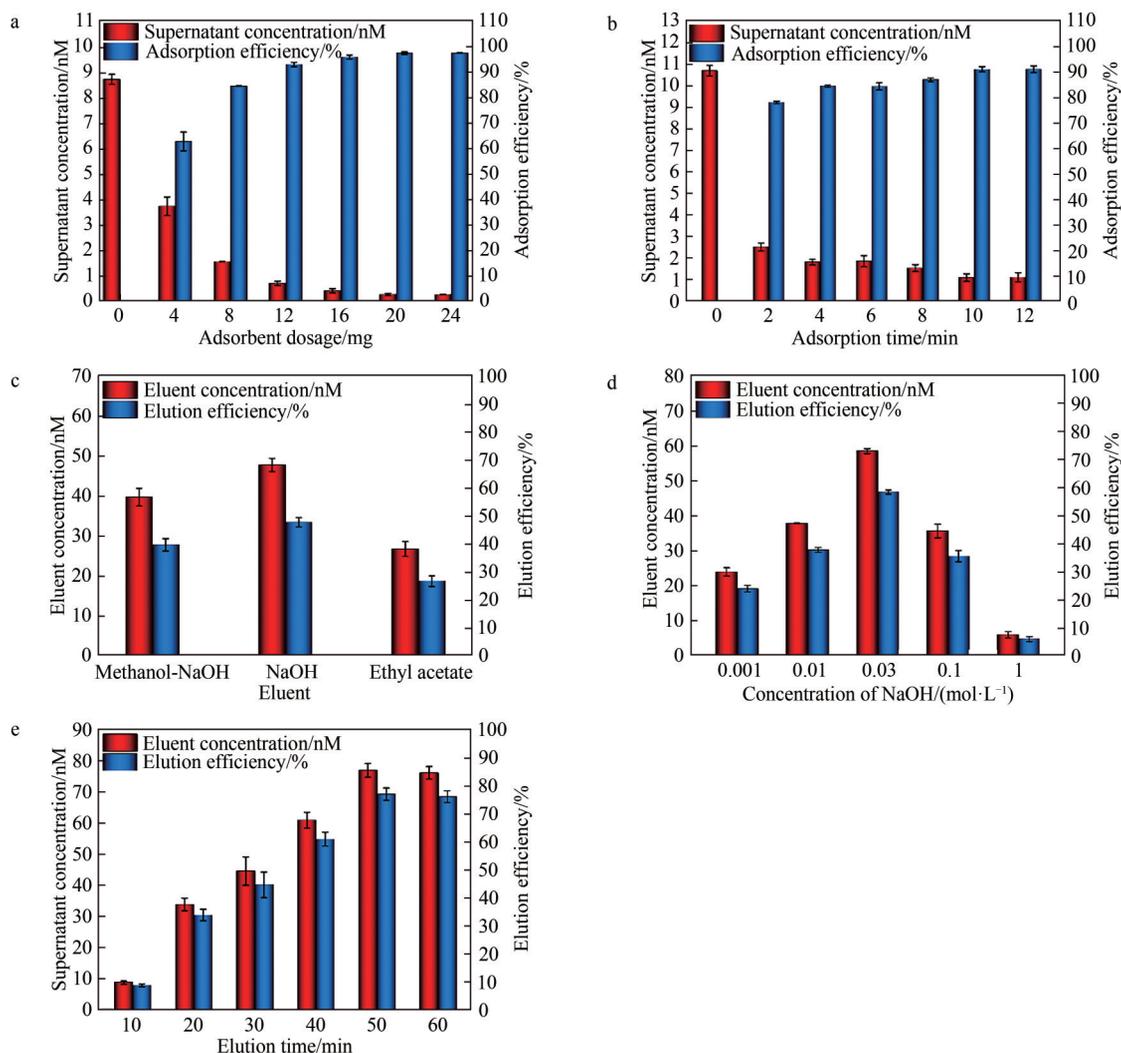
### 2.3.2 吸附时间优化

吸附剂和分析物接触足够的时间可以确保实现最优的富集性能。吸附时间对吸附效率的影响见图 4b。由图 4b 可知,吸附时间在 2~10 min 之

时,上清液中恩诺沙星的浓度随着涡旋时间的增加而明显降低,相应的吸附剂的吸附效率逐步提高。吸附时间超过 10 min 后,上清液中恩诺沙星的浓度基本保持不变,吸附效率也趋于稳定。结果表明,吸附反应在 10 min 左右达到平衡。因此,选 10 min 为最佳吸附时间。

### 2.3.3 洗脱剂种类优化

洗脱剂决定了目标分析物是否可以从磁性吸附剂中高效解吸。研究中比较了甲醇-NaOH、NaOH (0.03 mol/L) 和乙酸乙酯的洗脱效果(图 4c)。结果表明,三种洗脱液中 NaOH (0.03 mol/L) 对恩诺沙星的解析效果最佳。这可能是由于恩诺沙星分子含有羧基和哌嗪基团,NaOH 洗脱时,降低了其与吸附剂的亲和力,有利于洗脱<sup>[13]</sup>。另外,考察了 NaOH 浓度对洗脱效率的影响,结果发现,NaOH 浓度在 0.001~0.03 mol/L 时,洗脱效率随浓度升高而提高,当浓度在 0.03~1 mol/L 时,洗脱效率随浓度升



注:a为吸附剂量;b为吸附时间;c为洗脱液种类;d为洗脱液浓度;e为洗脱时间

图4 磁性固相萃取参数优化

Figure 4 Optimization of MSPE parameters

高而下降(图 4d)。因此,将 0.03 mol/L NaOH 作为洗脱溶剂。

#### 2.3.4 洗脱时间优化

洗脱时间对洗脱效率的影响见图 4e。当洗脱时间从 10 min 增加到 50 min 时,洗脱液中恩诺沙星的浓度和洗脱效率迅速提高,当洗脱时间超过 50 min 时,洗脱液浓度和洗脱效率保持平衡。因此,后续将选择 50 min 作为洗脱时间。

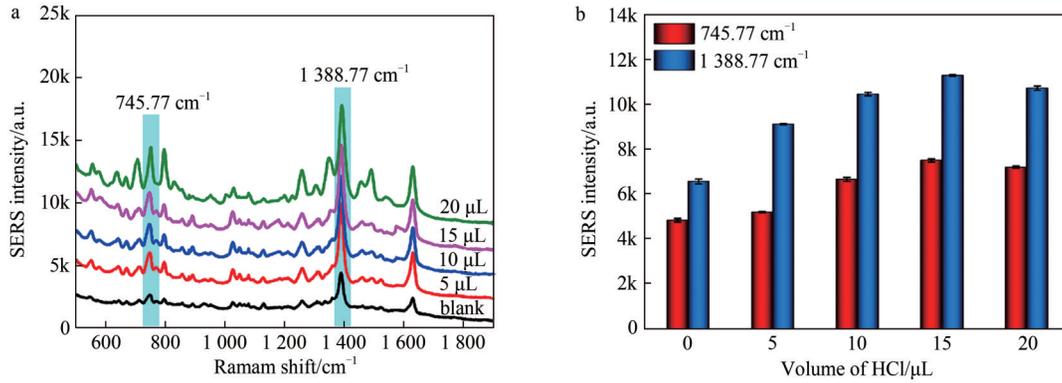
#### 2.3.5 HCl 用量优化

在 1 mL 恩诺沙星洗脱液中加入 0~20  $\mu\text{L}$  1 mol/L HCl,考察 HCl 体积对 SERS 信号强度的影响。图 5a 给出了添加不同体积 HCl 溶液的恩诺沙星的 SERS 光谱。加入 15  $\mu\text{L}$  1 mol/L HCl 时,SERS 信号强度达到最大值,而当 HCl 加入量超过 15  $\mu\text{L}$  时,SERS 信号强度下降(图 5b)。这可能是由于恩诺沙星的 SERS 信号是由质子化恩诺沙星与 Ag NPs 之间的 Ag-N 共价键产生的。因此,在少量 HCl 存在时,恩诺沙星发生去质子化带负电荷,不利于与 Ag NPs

结合。随着 HCl 体积的增加,恩诺沙星被质子化,促进 Ag-N 共价键的形成,SERS 信号显著增强。然而,当 HCl 体积大于 15  $\mu\text{L}$  时,游离的 H<sup>+</sup>和质子化的恩诺沙星共同竞争 Ag NPs 的结合位点,导致 SERS 信号强度下降。因此,HCl(1 mol/L)的最佳添加量为 15  $\mu\text{L}$ <sup>[14]</sup>。

#### 2.3.6 Ag NPs 用量优化

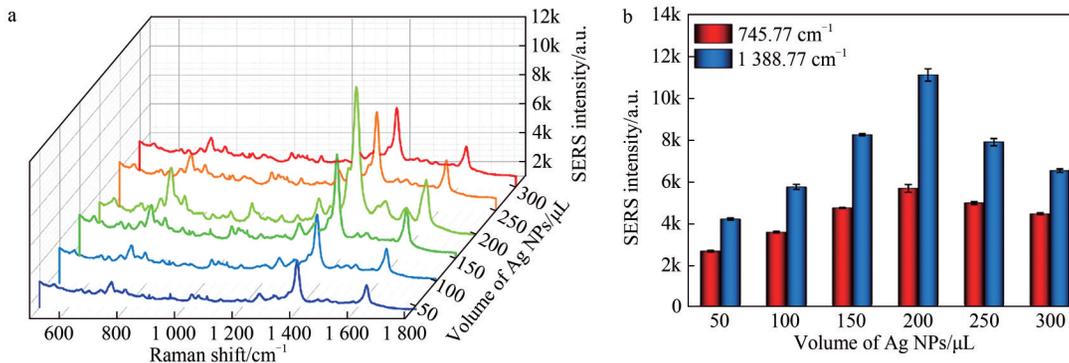
图 6 给出了 Ag NPs 用量对恩诺沙星 SERS 光谱的影响,Ag NPs 用量为 50~200  $\mu\text{L}$  时,恩诺沙星特征 SERS 信号的强度随用量的增加而升高,在 200~300  $\mu\text{L}$  范围内随着用量的增加而降低。结果表明,当 Ag NPs 的添加量为 200  $\mu\text{L}$  时,恩诺沙星的 SERS 信号强度最高。这可能是由于适量的 Ag NPs 不仅可以快速聚集形成热点,而且对样品的稀释效应弱,可以较好地增强目标分析物的 SERS 信号。然而,过量的 Ag NPs 相互堆积,不仅会妨碍 Ag NPs 与恩诺沙星之间形成共价键,而且稀释待测物,导致其 SERS 信号强度降低<sup>[15-16]</sup>。因此,后续试验将



注:a为添加不同体积HCl的恩诺沙星洗脱液的SERS光谱;b为相应恩诺沙星特征SERS信号强度的比较

图5 HCl用量优化

Figure 5 Optimization of HCl volume



注:a为添加不同体积的Ag NPs时恩诺沙星的SERS光谱;b为相应恩诺沙星特征峰SERS信号强度的比较

图6 Ag NPs用量优化

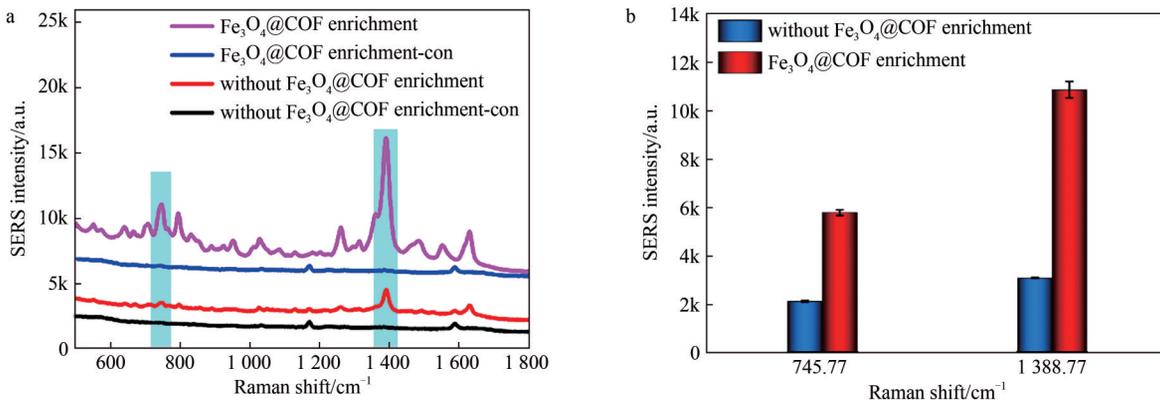
Figure 6 Optimization of Ag NPs volume

用 200 μL Ag NPs 进行 SERS 检测。

### 2.4 吸附剂 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@COF 的分离富集性能

为了验证 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@COF 的富集性能,比较了经过 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@COF 富集和未经过 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@COF 富集的恩诺沙星标准溶液的 SERS 光谱,结果如图 7 所示。经

过磁性富集后,恩诺沙星在 745.77 和 1388.77 cm<sup>-1</sup> 处的 SERS 信号强度明显升高(图 7a)。与未经过 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@COF 纳米复合材料富集的样品的 SERS 信号强度相比,恩诺沙星在 745.77 和 1388.77 cm<sup>-1</sup> 拉曼位移处的 SERS 信号强度均提高了 3 倍以上(图 7b)。



注:a为恩诺沙星经过/未经过Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@COF富集的SERS光谱;b为745.77和1388.77 cm<sup>-1</sup>处SERS信号的强度

图7 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@COF对恩诺沙星的分离富集性能

Figure 7 Separation and enrichment properties of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@COF

### 2.5 稳定性和重现性分析

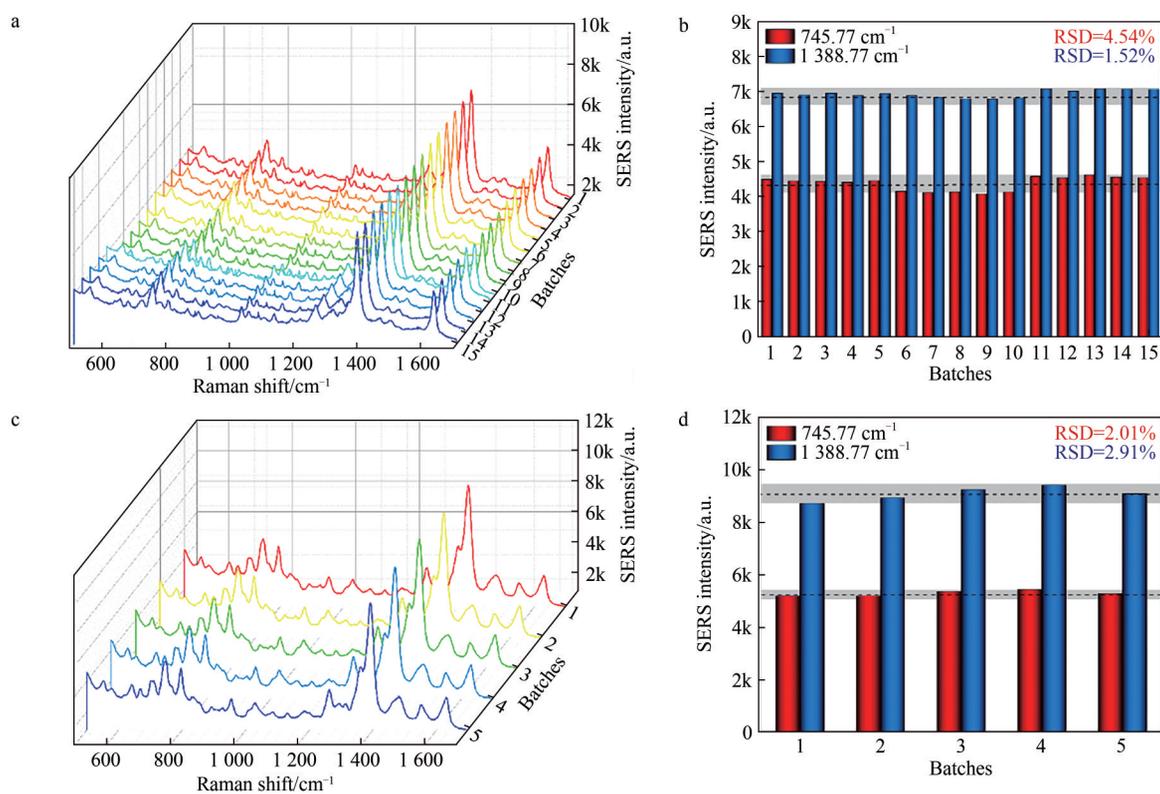
图 8a 为 15 天内利用同一批材料采集的恩诺沙星的 SERS 光谱,不同时间采集的 SERS 光谱的信号强度没有明显差异。图 8b 为恩诺沙星在 745.77

和 1388.77 cm<sup>-1</sup> 处的特征 SERS 信号强度的比较,其 RSD 分别为 4.5% 和 1.5%。结果表明,建立的 MSPE-SERS 方法具有良好的稳定性。

通过比较随机 5 批恩诺沙星的 SERS 光谱,考察

了 MSPE-SERS 方法的重现性,结果见图 8c。不同恩诺沙星 SERS 光谱的形状和强度没有明显差异。不同批次恩诺沙星在 745.77 和 1 388.77  $\text{cm}^{-1}$

处 SERS 信号强度的 RSD 分别为 2.0% 和 2.9% (图 8d),表明所建立的 MSPE-SERS 方法具有良好的重现性。



注:a为15天内采集的恩诺沙星的SERS光谱;b为15天内采集的恩诺沙星在745.77和1388.77  $\text{cm}^{-1}$ 处的SERS信号强度;c为5批随机恩诺沙星的SERS光谱;d为不同批次恩诺沙星745.77和1388.77  $\text{cm}^{-1}$ 处的SERS信号强度

图8 稳定性和重现性分析

Figure 8 Stability and reproducibility analysis

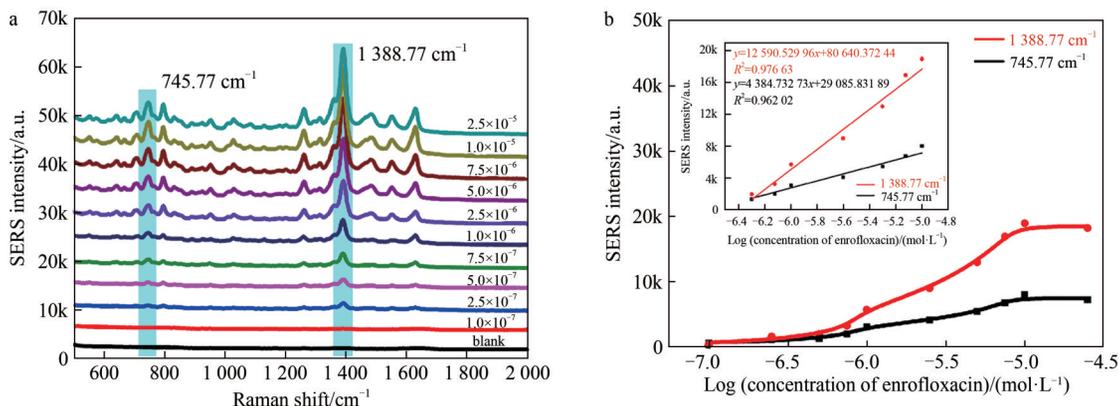
## 2.6 利用建立的 MSPE-SERS 方法检测恩诺沙星

不同浓度恩诺沙星标准溶液的 SERS 光谱如图 9a 所示。根据 745.77 和 1 388.77  $\text{cm}^{-1}$  处恩诺沙星特征 SERS 信号的强度,绘制了恩诺沙星浓度的对数值和对应的 SERS 信号强度的校准曲线(图 9b)。随着恩诺沙星浓度的增加,恩诺沙星在拉曼位移 745.77 和 1 388.77  $\text{cm}^{-1}$  处的 SERS 信号强度随之增加。而当恩诺沙星浓度高于  $1.0 \times 10^{-5}$  mol/L 时,特征峰强度不再发生明显变化。在  $5.0 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-5}$  mol/L 范围内,745.77 和 1 388.77  $\text{cm}^{-1}$  处的 SERS 信号强度与恩诺沙星浓度的对数值呈现出良好的线性关系, $R^2$  分别为 0.962 和 0.976。检出限(Limit of detection, LOD)和定量限(Limit of quantitation, LOQ)分别为  $\text{LOD}=3\text{SD}/k$ ,  $\text{LOQ}=10\text{SD}/k$ ,SD 为空白样品 SERS 信号强度的标准差,k 为校准曲线的斜率。利用 745.77  $\text{cm}^{-1}$  处信号强度计算的 LOD 和 LOQ 分别为  $4.87 \times 10^{-8}$  和  $1.62 \times 10^{-7}$  mol/L,利用 1 388.77  $\text{cm}^{-1}$  处信号强度计算的 LOD 和 LOQ 分别为  $5.38 \times 10^{-8}$  和  $1.79 \times 10^{-7}$  mol/L。

## 2.7 加标回收试验结果

采用加标回收试验,检测了鸡肉和猪肉中的恩诺沙星,结果如图 10 所示,未加标的肉样品中没有检测到恩诺沙星,加标样品中检测到了恩诺沙星的 SERS 信号。SERS 数据分析结果见表 1,利用 745.77  $\text{cm}^{-1}$  处的 SERS 信号强度计算的鸡肉和猪肉样品中恩诺沙星的加标回收率为 80.97%~100.98%,RSD 为 1.6%~4.6%,利用 1 388.77  $\text{cm}^{-1}$  SERS 信号强度计算的鸡肉和猪肉样品中恩诺沙星的加标回收率为 60.26%~86.27%,RSD 为 1.5%~4.8%。这可能是因为 1 388  $\text{cm}^{-1}$  处的 SERS 峰主要与恩诺沙星分子中的羧基有关,该基团在复杂基质中不稳定,导致检测的回收率较低。因此,在肉样中的恩诺沙星回收率计算建议参考拉曼位移 745.77  $\text{cm}^{-1}$  处的 SERS 信号。

对比 MSPE-SERS 方法与其他恩诺沙星检测方法发现,MSPE-SERS 方法操作简便、线性范围较宽、定量限较低、用时较短(表 2)。该方法与本课题组之前建立的一种恩诺沙星 SERS 检测方法<sup>[17]</sup>相比,虽然检测的灵敏度偏高,但是操作简便,检测时间短、成本低,且不需要合成寡核苷酸链和制备 SERS



注:a为不同浓度恩诺沙星的SERS光谱;b为恩诺沙星浓度的对数值与特征峰SERS信号强度的关系曲线(插图为校准曲线)

图9 MSPE-SERS方法检测不同浓度恩诺沙星的SERS光谱和工作曲线

Figure 9 SERS spectra and working curve of detecting enrofloxacin at different concentrations by MSPE-SERS method

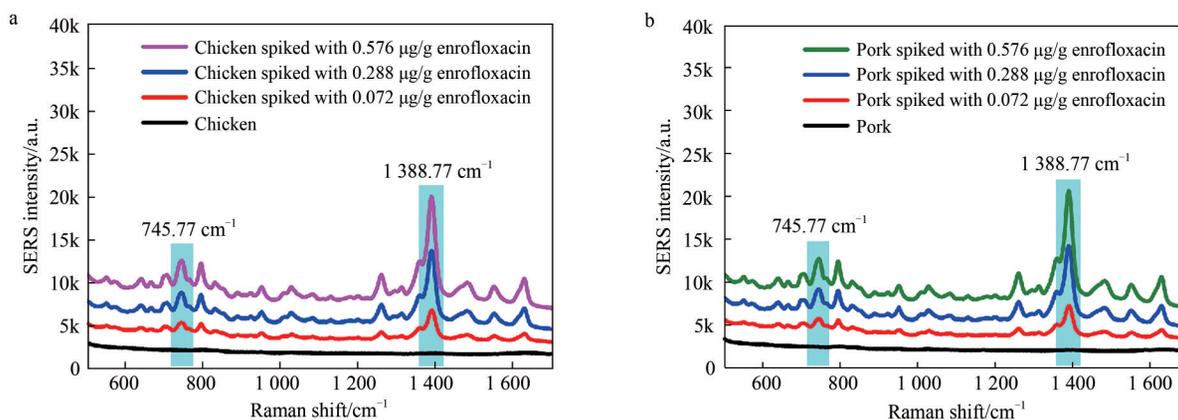


图10 添加0、0.072、0.288、0.576 µg/g恩诺沙星的鸡肉和猪肉样品的SERS光谱

Figure 10 SERS spectra of chicken and pork samples spiked with 0, 0.072, 0.288, 0.576 µg/g enrofloxacin

表1 鸡肉和猪肉中恩诺沙星的检测结果

Table 1 Determination of enrofloxacin in chicken and pork

样品	加标浓度/(µg/g)	检测浓度/(µg/g)		回收率/%		RSD/(n=3)	
		745.77 cm <sup>-1</sup>	1388.77 cm <sup>-1</sup>	745.77 cm <sup>-1</sup>	1388.77 cm <sup>-1</sup>	745.77 cm <sup>-1</sup>	1388.77 cm <sup>-1</sup>
	0	—	—				
鸡肉	0.072	0.069	0.060	96.36	83.33	3.8	4.8
	0.288	0.233	0.173	80.97	60.26	2.4	2.8
	0.576	0.513	0.369	88.62	63.63	4.6	1.5
	0	—	—				
猪肉	0.072	0.072	0.062	100.98	86.27	2.8	3.5
	0.288	0.242	0.181	83.73	63.10	1.6	1.5
	0.576	0.530	0.409	92.37	70.62	2.2	2.1

注:—为未检出

表2 不同恩诺沙星检测方法的比较

Table 2 Comparison of different enrofloxacin detection methods

分析方法	线性范围/(mol/L)	R <sup>2</sup>	LOD/(mol/L)	LOQ/(mol/L)	回收率/%	样品	用时/min	参考
电化学法	1.39×10 <sup>-8</sup> ~2.78×10 <sup>-8</sup>	0.975	8.35×10 <sup>-9</sup>	—	—	肉	60	[18]
免疫法	3.85×10 <sup>-6</sup> ~3.85×10 <sup>-3</sup>	0.943	1.93×10 <sup>-5</sup>	7.7×10 <sup>-5</sup>	43.4~62.3	肉	150	[19]
SERS	5.00×10 <sup>-9</sup> ~1.00×10 <sup>-6</sup>	0.980	1.20×10 <sup>-10</sup>	—	93.60~112.00	鸡肉、猪肉	90	[17]
SERS	2.78×10 <sup>-5</sup> ~1.39×10 <sup>-3</sup>	0.998	1.98×10 <sup>-6</sup>	—	83.10~117.20	鸡肉	60	[6]
SERS	5.0×10 <sup>-7</sup> ~1.0×10 <sup>-5</sup>	0.977	4.87×10 <sup>-8</sup>	1.62×10 <sup>-7</sup>	80.97~100.98	鸡肉、猪肉	75	本实验

探针。与 TENG 等<sup>[6]</sup>报道的基于水/油界面上自组装的单层 Ag NPs 基底的鸡肉中的恩诺沙星的 SERS 检测方法相比,本研究开发的 SERS 方法的操作简

便、灵敏度高、检测时间短。此外,该方法可以应用于现场检测。因此,本研究为恩诺沙星的快速检测提供了一种新方法。

### 3 结论

本研究利用 MSPE 结合 SERS 开发了一种恩诺沙星的定量检测方法。在最优实验条件下,恩诺沙星位于  $745.77\text{ cm}^{-1}$  处的 SERS 信号强度与其浓度的对数值在  $5\times 10^{-7}\sim 1\times 10^{-5}\text{ mol/L}$  范围内呈良好的线性关系,  $R^2$  为 0.962。LOD 和 LOQ 分别为  $4.87\times 10^{-8}\text{ mol/L}$ ( $0.07\text{ }\mu\text{g/g}$ )和  $1.62\times 10^{-7}\text{ mol/L}$ ( $0.23\text{ }\mu\text{g/g}$ )。利用该方法检测鸡肉和猪肉中恩诺沙星的回收率为  $80.97\%\sim 100.98\%$ , RSD 为  $1.6\%\sim 4.6\%$ 。此外,该方法操作简便、用时短、稳定性好,为恩诺沙星的快速检测和现场检测提供了一种新方法。

### 参考文献

- [1] 李妍, 闫蕊, 王孝研, 等. 动物源性食品中氟喹诺酮类抗生素残留检测方法的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(10): 2918-2928.
- LI Y, YAN R, WANG X, et al. Research advances on detection of fluoroquinolones residues in animal-derived products [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2019, 10(10): 2918-2928.
- [2] ZHANG X, LI G, WU D, et al. Recent advances in the construction of functionalized covalent organic frameworks and their applications to sensing[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2019, 145: 111699.
- [3] LIU X, REN J, SU L, et al. Novel hybrid probe based on double recognition of aptamer-molecularly imprinted polymer grafted on upconversion nanoparticles for enrofloxacin sensing[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2017, 87: 203-208.
- [4] HONG K Y, DIEGO LIMA DE ALBUQUERQUE C, POPPI R J, et al. Determination of aqueous antibiotic solutions using SERS nanogratings[J]. Analytica Chimica Acta, 2017, 982: 148-155.
- [5] WANG W E, SANG Q, YANG M, et al. Detection of several quinolone antibiotic residues in water based on Ag-TiO<sub>2</sub> SERS strategy [J]. Science of the Total Environment, 2020, 702: 134956.
- [6] TENG Y J, WANG Z N, REN Z Y, et al. Interface-induced Ag monolayer film for surface-enhanced Raman scattering detection of water-insoluble enrofloxacin[J]. Plasmonics, 2021, 16(2): 349-358.
- [7] LI N, WU D, LI X T, et al. Effective enrichment and detection of plant growth regulators in fruits and vegetables using a novel magnetic covalent organic framework material as the adsorbents [J]. Food Chemistry, 2020, 306: 125455.
- [8] LIU J C, LI G L, WU D, et al. Fabrication of a functionalized magnetic covalent organic framework composite as an efficient adsorbent for sulfonamide extraction from food samples[J]. New Journal of Chemistry, 2020, 44(36): 15549-15558.
- [9] LI N, WU D, LIU J, et al. Magnetic covalent organic frameworks based on magnetic solid phase extraction for determination of six steroidal and phenolic endocrine disrupting chemicals in food samples[J]. Microchemical Journal, 2018, 143: 350-358.
- [10] YU H, JIA Y Q, WU R, et al. Determination of fluoroquinolones in food samples by magnetic solid-phase extraction based on a magnetic molecular sieve nanocomposite prior to high-performance liquid chromatography and tandem mass spectrometry [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2019, 411(13): 2817-2826.
- [11] 班晶晶, 刘贵珊, 何建国, 等. 基于表面增强拉曼光谱与二维相关光谱法检测鸡肉中恩诺沙星残留[J]. 食品与机械, 2020, 36(7): 55-58.
- BAN J J, LIU G S, HE J G, et al. Detection of Enrofloxacin residues in chicken based on surface enhanced Raman spectroscopy and two-dimensional correlation spectroscopy [J]. Food & Machinery, 2020, 36(7): 55-58.
- [12] LI S, MA J, WU G, et al. Magnetic covalent-organic frameworks for the simultaneous extraction of eleven emerging aromatic disinfection byproducts in water samples coupled with UHPLC-MS/MS determination[J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, 424: 127687.
- [13] LIAN L, ZHANG X, HAO J, et al. Magnetic solid-phase extraction of fluoroquinolones from water samples using titanium-based metal-organic framework functionalized magnetic microspheres [J]. Journal of Chromatography A, 2018, 1579: 1-8.
- [14] ZHAO R, BI S Y, SHAO D, et al. Rapid determination of marbofloxacin by surface-enhanced Raman spectroscopy of silver nanoparticles modified by  $\beta$ -cyclodextrin[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2020, 229: 118009.
- [15] LI H J, WANG M C, SHEN X X, et al. Rapid and sensitive detection of enrofloxacin hydrochloride based on surface enhanced Raman scattering-active flexible membrane assemblies of Ag nanoparticles[J]. Journal of Environmental Management, 2019, 249: 109387.
- [16] YUAN Y, ZHANG F M, WANG Y T, et al. Determination of spectinomycin by SERS based on BSA-protected AgNPs decorated with  $\alpha$ -CD[J]. Microchemical Journal, 2022, 172: 106938.
- [17] WANG P X, WANG L, LI C, et al. Reliable and rapid detection and quantification of enrofloxacin using a ratiometric SERS aptasensor[J]. Molecules, 2022, 27(24): 8764.
- [18] CHLOÉ A, HUSSEIN K, MARÍA J S, 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.
- [19] HA M S, CHUNG M S, BAE D H. Simple detection of residual enrofloxacin in meat products using microparticles and biochips [J]. Food Additives & Contaminants: Part A, 2016, 33(5): 817-823.