DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250916003
引用格式: 张可擎, 白静, 曾祥山, 等. 纳米金-适配体比色法快速测定蜂蜜中四环素含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(6): 295–302.
ZHANG KQ, BAI J, ZENG XS, *et al*. Rapid determination of tetracycline content in honey by nanogold-aptamer colorimetric method [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(6): 295–302. (in Chinese with English abstract).

纳米金-适配体比色法快速测定蜂蜜中四环素含量

张可擎[1*], 白　静[1], 曾祥山[2], 张莹莹[2]
(1. 河南应用技术职业学院化学工程学院, 郑州　450042; 2. 郑州轻工业大学化学工程学院, 郑州　450002)

摘　要: 目的　建立纳米金-适配体比色法快速测定蜂蜜中四环素的方法。**方法**　采用 Discovery Studio 2022 软件对适配体三级结构进行优化选择最优适配体, 在优化条件下探讨不同四环素浓度与特定波长下吸光度比值变化量之间的关系。**结果**　在纳米金:适配体:四环素:NaCl 比例为 5:1:1:1 (*V*:*V*:*V*:*V*)、NaCl 浓度为 0.4 mol/L、适配体浓度为 0.30 mol/L 的最佳条件下, 所建立的方法在四环素质量浓度为 1~200 ng/mL 范围内, 与吸光度比值变化量呈现良好的线性关系, 线性回归方程为 Y=0.007X+0.16, r^2=0.9906, 检出限为 0.838 ng/mL。特异性分析显示, 本方法对四环素有高的特异性, 与恩诺沙星、沙丁胺醇等无颜色反应, 对蜂蜜进行测定加标回收率为 95.30%~97.96%, 与 GB/T 21317—2007《动物源性食品中四环素类兽药残留量检测方法 液相色谱-质谱/质谱法与高效液相色谱法》检测结果对比, 具有良好的准确度。**结论**　该方法具备较强的特异性, 操作便捷, 能快速对样品中四环素残留进行定量检测。

关键词: 四环素; 核酸适配体; 纳米金; 快速检测

Rapid determination of tetracycline content in honey by nanogold-aptamer colorimetric method

ZHANG Ke-Qing[1*], BAI Jing[1], ZENG Xiang-Shan[2], ZHANG Ying-Ying[2]
(1. *School of Chemical Engineering*, *Henan Vocational University of Technology and Engineering*, *Zhengzhou* 450042, *China*; 2. *School of Chemical Engineering*, *Zhengzhou University of Light Industry*, *Zhengzhou* 450002, *China*)

ABSTRACT: Objective　To establish a rapid method for the determination of tetracycline in honey by nanogold-aptamer colorimetric method. **Methods**　Discovery Studio 2022 software was used to optimize the tertiary structure of aptamer and select the optimal adapter. The relationship between different tetracycline concentrations and changes in absorbance ratio at specific wavelengths was explored under optimized conditions. **Results**　Under the optimal conditions of AuNPs:aptamer:tetracycline:NaCl ratio of 5:1:1:1 (*V*:*V*:*V*:*V*), NaCl concentration of 0.4 mol/L, and adapter concentration of 0.30 mol/L, the established method showed a good linear relationship with the change in absorbance ratio within the range of tetracycline mass concentration of 1–200 ng/mL. The linear regression equation was Y=0.007X+0.16, r^2=0.9906, and the limit of detection was 0.838 ng/mL. Specific analysis showed that this

收稿日期: 2025-09-16
基金项目: 河南省科技攻关项目(252102410006)
第一作者/*通信作者: 张可擎(1986—), 女, 硕士, 讲师, 主要研究方向为分析检测。E-mail: 709003207@qq.com

method had high specificity for tetracycline and had no color reaction with enrofloxacin, salbutamol and other drugs. The recovery rates of honey determination with added standards were 95.30%–97.96%. Compared with the detection results of GB/T 21317—2007 *Method for detecting tetracycline residues in animal derived foods-Liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry and high performance liquid chromatography*, it had good accuracy. **Conclusion** This method has strong specificity, is easy to operate, and can quickly quantify tetracycline residues in samples.

KEY WORDS: tetracycline; nucleic acid aptamer; nanogold; rapid detection

0 引 言

四环素(tetracycline, TC)作为一种常见的广谱型抗生素, 因其具有抗菌高效、成本低廉等优点, 已广泛地应用于人和畜禽的抗感染治疗。蜜蜂在养殖过程中会使用大量的 TC 类抗生素防治败血病等细菌性疾病, 致使其很可能通过蜂蜜传递到人体中[1−2]。抗生素的残留不仅能引起细菌产生耐药性和效价降低, 而且会对人们的身体健康造成非常大的害处, 可能引起过敏、肝脏损害以及牙齿泛黄、胃肠功能紊乱等危害, 因此, 建立一个 TC 的快速定量测定方法意义重大[3]。

目前对于 TC 的测定方法有: 高效液相色谱法[4−7]、高效液相色谱-质谱法[8−12]、免疫分析法[13−15]、荧光光谱法[16−18]、适配体(aptamer, Apt)传感器方法[19−22]等。与高效液相色谱法相比, Apt 传感器法由于检测周期仅 35 min 且无需昂贵的大型仪器, 更适合于现场快速测定[23]。基于 Apt 的比色传感器已在微生物、毒素、重金属及农兽药残留检测等领域得到广泛应用[24−29]。然而, 将纳米金(nanogold, AuNPs)-Apt 比色法用于蜂蜜这类成分复杂的基质中检测 TC 时, 相关研究尚不充分, 尤其是在如何克服基质干扰、优化检测条件以实现稳定可靠的快速筛查方面, 仍面临显著挑战。

本研究选用核酸 Apt 用于特异性识别蜂蜜中 TC, 基于 AuNPs 的盐效应, 建立了一种比色传感器, 旨在开发一种专用于蜂蜜基质的 AuNPs-Apt 比色新方法, 重点解决高糖、高黏度及复杂成分带来的干扰问题, 以建立一种兼适用于现场快速检测的分析手段, 为蜂蜜中 TC 残留的有效监控提供实用技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

蜂蜜购于郑州市中原路农贸市场。

氯金酸、柠檬酸钠(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); TC(分析纯, 济南亿森生物科技有限公司); 沙丁胺醇(分析纯, 北京萘析生化科技有限公司); 恩诺沙星(质量浓度 100 μg/mL, 中国兽医药品监察所); 氯化钠(NaCl)(分析纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 实验用水为二次蒸馏水。

1.2 仪器与设备

UV-1200 紫外-可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司); BE-9008 酶标板恒温振荡器(其林贝尔仪器有限公司); UP-J-10T 超纯水仪(四川优普超纯科技有限公司); AE224 电子分析天平(精度 0.1 mg, 上海舜宇恒平科学仪器有限公司); VORTEX-5 漩涡振荡器(江苏海门其林贝尔仪器有限公司); ZNCL-GS 集热式恒温加热磁力搅拌器(上海弘懿仪器设备有限公司); LX-165T2R 微量高速冷冻离心机(青岛海尔生物医疗股份有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 适配体序列

Apt 序列如下: [Apt1] 5'-CGTACGGAATTCGCTAGCCCCCCGGCAGGCCACGGCTTGGGTTGGTCCCACTGCGCGTGGATCCGAGCTCCACGTG-3'; [Apt2] 5'-CATCGTAAGGTCGCTCCCGAGGCCCCGGACGGCACGGTTCGGTTGACCCTCGCGTCAGGTGAGCCTCCTCGGTGCA-3'; [Apt3] 5'-GTTTGTGTATTACAGTTATGTTACCCTCATTTTTCTGAAC-3', 由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.3.2 纳米金制备

参照文献[30], 采用一步合成法, 以柠檬酸钠为还原剂, 氯金酸为原料制备 AuNPs。将 1 mL 10 g/L 氯金酸溶液与 98 mL 超纯水共沸加热后再一次性快速加入 1 mL 10 g/L 柠檬酸溶液, 保持全程沸腾 15 min 后, 停止加热, 待冷却至室温后, 转移至棕色试剂瓶, 于 4 ℃冰箱保存备用。

1.3.3 分子模拟方法

分别准备配体与受体结构以进行分子对接。首先, 使用 ChemDraw 22.0 绘制 TC 的二维化学结构, 并将其保存为分子文件, 随后导入 Schrödinger 2024-2 软件中进行结构优化, 作为对接的配体。同时, 将单链核酸 Apt 的序列导入分子模拟软件 Discovery Studio 2022 中进行 100 ns 的分子动力学优化, 以获得其稳定的三维构象; 基于最小自由能原则预测其结合位点, 并将优化后的结构保存为 PDB 文件, 作为对接的受体。最后, 将处理好的 Apt(受体)与 TC(配体)文件导入 Schrödinger 2024-2 软件, 在定义的结合口袋内执行分子对接。对接完成后, 通过分析对接构象的综合打分, 评估 Apt 与 TC 之间的相互作用。

1.3.4　四环素检测方法

向反应体系中先加入 500 μL AuNPs 溶液和 100 μL 0.3 μmol/L 的 Apt 溶液，混合均匀，并在室温下孵育 15 min，然后加入 100 μL 不同浓度的 TC 溶液，反应 10 min 后再加入 100 μL 0.4 mol/L 的 NaCl 溶液，混合均匀后，采用分光光度计分别测定溶液在波长为 520 nm 和 650 nm 处的吸光度值，分别记作 A_{520} 和 A_{650}，并计算两者比值 A_{650}/A_{520}，平行测定 3 次，同时以超纯水替代 TC 溶液，其余试剂用量相同做空白对照实验。

1.3.5　特异性实验

检测步骤同 1.3.4，只是将不同质量浓度的 TC 分别替换成沙丁胺醇、恩诺沙星进行特异性实验。

1.3.6　样品测定

称取 1 g 蜂蜜样品 3 份，然后分别加 0.5、1.0、2.0 μg 的 TC 稀释至 10 mL，则阳性制备样中 TC 质量浓度分别为 50、100、200 ng/mL，然后参照 1.3.3 方法进行测定，同时做空白对照实验。

1.4　数据处理

使用在分子模拟 Discovery Studio 2022 等软件对接并观察大分子 Apt 和小分子 TC 的 3D 图像。使用 Excel 2016 版对测定数据进行计算及统计，每份样品重复测定 3 次，计算加标回收率和相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)。

2　结果与分析

2.1　四环素测定原理

AuNPs-Apt 比色传感器用于 TC 快速测定的原理如图 1 所示。采用柠檬酸还原氯金酸所制备的 AuNPs 溶液，由于 AuNPs 颗粒表面带有负电荷，在粒子间的斥力作用下，AuNPs 颗粒均匀地分散在溶液中，颜色显示为酒红色。若测定体系处于高浓度盐环境时，AuNPs 颗粒表面所带的负电荷被盐中和而发生聚集现象，溶液呈现蓝紫色，这是由于 AuNPs 溶液的盐效应所引起的。当 AuNPs 与 Apt 相互作用后，再加入盐，则不再发生聚集现象，这是由于物理静电吸附致使 Apt 附着在 AuNPs 表面，起到了“保护”AuNPs 的目的。当测定体系中存在 TC 时，由于 Apt 与 TC 能够特异性结合，则从 AuNPs 表面脱落，而失去“保护”作用的 AuNPs 在高盐环境下，则发生聚集现象，待测体系中 TC 含量越高，聚集现象越明显。

2.2　适配体的筛选

Apt 的差异对 AuNPs 产生的保护也存在不同，首先将 Apt1、Apt2 和 Apt3 对 AuNPs 的保护作用进行筛选评估。如图 2 所示，A、B、C 3 条链均为分子模拟软件 Discovery Studio 2022 优化获得的 Apt 三级结构。观察发现，每条优化后的 Apt 均具有凹形结合口袋。同时参照 1.3.3 中所述的计算机分子对接流程，对 3 条 Apt 进行对接打分评估。结果显示，Apt (C)的对接打分最优。Apt 与 TC 分子对接的二维与三维结构如图 3 所示，可以看出，在最优 Apt3 的凹形区域与 TC 发生了特异性结合，表明其具备良好的识别能力。

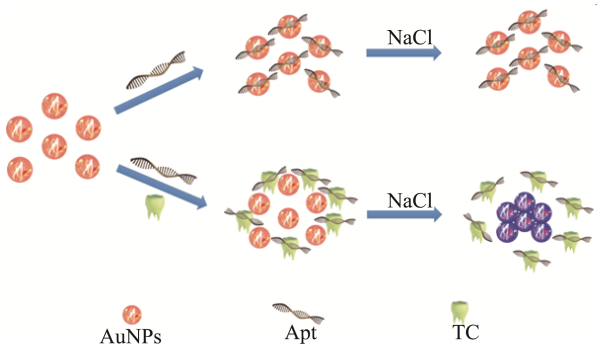
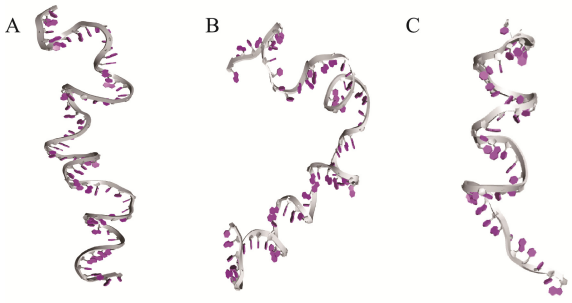


图 1　AuNPs-Apt 比色法快速测定 TC 的原理图

Fig.1　Schematic diagram of rapid determination of TC by AuNPs-Apt colorimetric method



注：A. Apt1；B. Apt2；C. Apt3。

图 2　Apt 的三级结构

Fig.2　Tertiary structure of Apt

A_{650}/A_{520} 的比值可反映 AuNPs 的团聚程度，该值越小，表明 AuNPs 团聚程度越低。在 Apt 保护的 AuNPs 体系中，AuNPs 在高盐(NaCl)环境下仍能保持分散，但当存在目标物时，目标物可优先与 Apt 结合，从而影响 AuNPs 的稳定性。如图 4 所示，不同 Apt 对 AuNPs 的保护能力存在差异，仅凭 A_{650}/A_{520} 的绝对值难以准确评估 Apt 与目标物之间的亲和性。为排除 Apt 自身保护能力差异带来的干扰，以不加目标物组作为空白对照，通过计算有目标物与无目标物条件下 A_{650}/A_{520} 的差值(即△ A_{650}/A_{520})，更准确地反映 Apt 与目标物的结合情况。△ A_{650}/A_{520} 的值越大，说明目标物与 Apt 结合后导致 AuNPs 稳定性变化越显著，即两者结合程度越高。结果显示，Apt3 所对应的△ A_{650}/A_{520} 相较于前两条 Apt 有明显增大，表明其与目标物的结合能力更强。因此，Apt3 被筛选为最优 Apt，该结论与计算机模拟对接打分结果一致，最终确定 Apt3 为本研究所需 Apt。

2.3　紫外可见吸收光谱表征

为验证实验原理的可行性，绘制了不同条件下 AuNPs 溶液的吸收光谱图，如图 5 所示。AuNPs 溶液在 520 nm 处存在特征吸收峰(曲线 a)，符合其正常分散状态。在 AuNPs

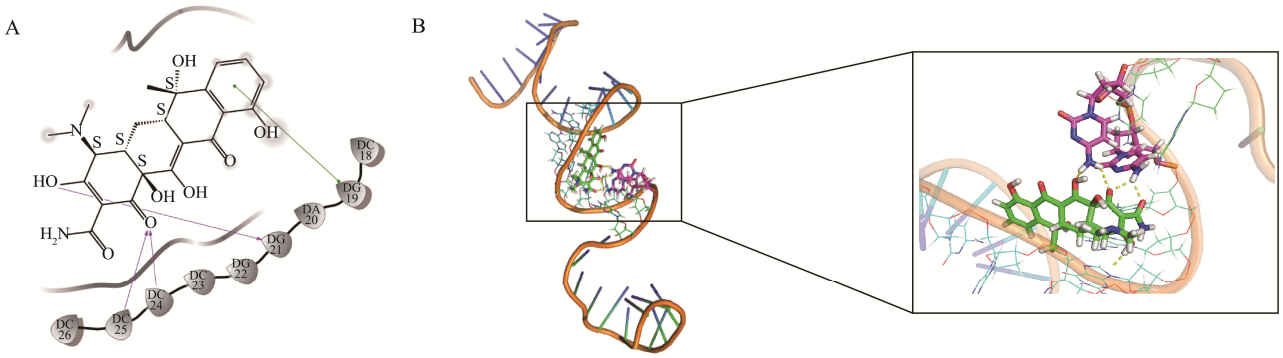


图 3 核酸 Apt 与 TC 的分子对接相互作用二维图(A)和三维图(B)

Fig.3 Two dimensional diagram (A) and three-dimensional diagram (B) of the molecular docking interaction between nucleic acid Apt and TC

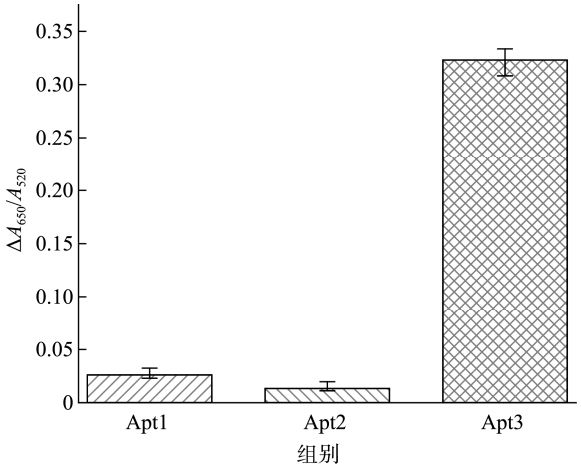


图 4 不同 Apt 对 AuNPs 的保护作用比较

Fig.4 Comparison of protective effects of different Apt on AuNPs

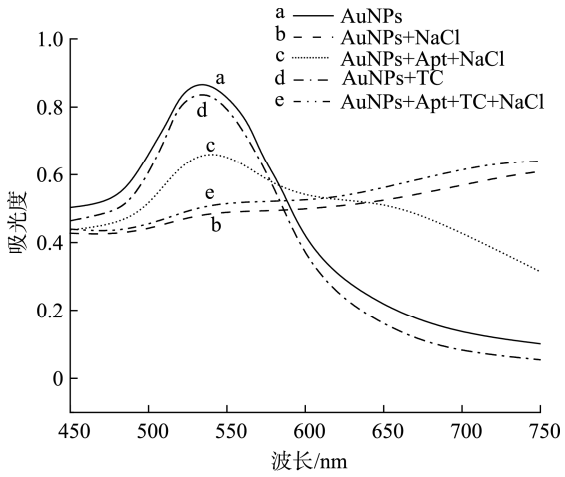


图 5 不同条件下反应溶液的吸收光图谱

Fig.5 Absorption spectra of reaction solutions under different conditions

溶液中加入 NaCl 后(曲线 b)，溶液 520 nm 处吸光度值降低，650 nm 处吸光度值升高，Na^+中和了 AuNPs 颗粒表面的负电荷，导致其发生团聚。曲线 c 与曲线 b 相比，A_{650}/A_{520} 变小，这是由于 Apt 可对 AuNPs 起到保护作用，因 Apt 用量有限，仅有部分 AuNPs 受到保护，其余仍发生团聚。对比曲线 a 和 d，发现两条曲线并无明显变化，这说明加入 TC 对 AuNPs 本身无明显影响。在 Apt 存在的基础上引入 TC(曲线 e)，Apt 与 TC 特异性结合，致使 AuNPs 发生盐效应，聚集程度加强，A_{650}/A_{520} 变大。经过对比分析，可得知 TC 的含量与 A_{650}/A_{520} 大小呈现正相关关系，与 2.1 所述原理一致。

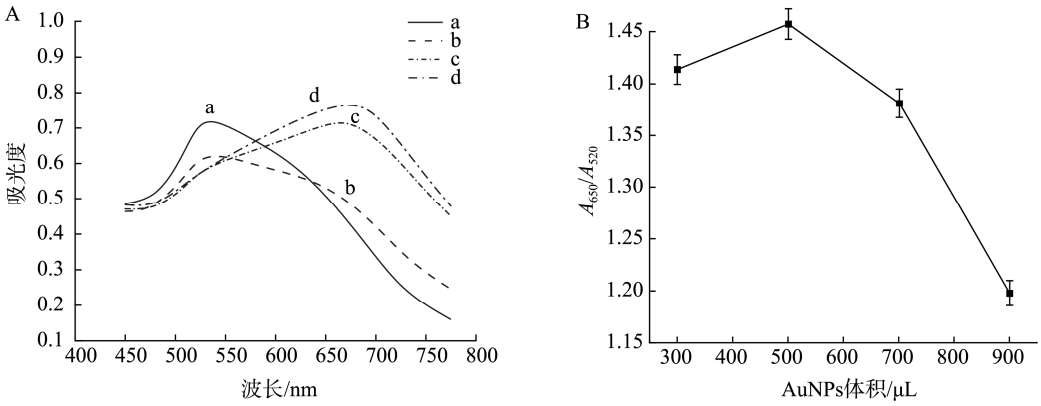
2.4 实验条件优化

为了提高测定灵敏度，在 TC 质量浓度为 10 μg/mL 时对实验条件进行优化，探讨不同条件下对吸光度比值变化的影响，以确定最佳实验条件。

2.4.1 反应体系纳米金体积比例

溶液体系颜色变化的程度直接决定着可视化辨别的容易程度，溶液颜色的变化与 AuNPs、Apt 和盐有关。把 AuNPs 颗粒的体积设置为 x μL，则 AuNPs:Apt:TC:NaCl=x:100:100:100 (V:V:V:V，下同)，将制作好的 AuNPs 按照体积 300、500、700、900 μL 分别加入到体系中，按照测定流程，以灭菌超纯水替换 Apt，把 Apt 的缓冲液用来替换 TC 对不同比例进行对比选择，找出最优 AuNPs 体积比例。当 AuNPs 体积为 500 μL 时，吸光度变化值最大，随后再增加体积，变化不明显。最终确定 AuNPs 体积为 500 μL。

如图 6 所示，AuNPs 的比值为 3:1:1:1 时体系接近无色；AuNPs 溶液比值为 5:1:1:1 时，如图 6A 中线条 b 所示，在 520 nm 处出现特征吸收峰，溶液显现由无色变蓝色的明显颜色变化；AuNPs 溶液比值为 7:1:1:1 或 9:1:1:1 时，加入 0.1 mol/L 的 NaCl 后颜色变化反而不显著，这主要是因为初始 AuNPs 浓度过高掩盖了聚集引起的色差。虽然提高 AuNPs 比例可增强溶液色深，但也会增加 Apt 的用量从而提升成本，同时过量 Apt 会要求更高浓度的 TC 才能引发明显的颜色响应，导致检测灵敏度下降。因此，综合考量颜色对比度、试剂成本及检测灵敏度，最终选择 5:1:1:1 作为优化体积比。



注: A. a~d 为 AuNPs 体积依次为 300、500、700、900 μL 的光谱图; B. AuNPs 纳米金体积与吸光度比值折线图。

图 6　不同 AuNPs 体积对吸光度的影响

Fig.6　Effects of different AuNPs volumes on absorbance

2.4.2　氯化钠浓度

固定其他实验条件不变, 本研究考察了 NaCl 溶液浓度分别为 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 和 0.6 mol/L 时, 对溶液 A_{650}/A_{520} 变化率大小的影响。如图 7A 所示, 随着 NaCl 浓度增加, AuNPs 溶液的颜色变化愈发明显。当 NaCl 浓度从 0 mo/L 提高至 0.4 mo/L 时, 溶液发生显著的颜色转变, 其吸光度在 520 nm 处降低, 同时在 650 nm 处显著上升; 当浓度进一步增加到 0.5 mo/L 或更高时, AuNPs 聚集过程加快, 溶液迅速完全变色。

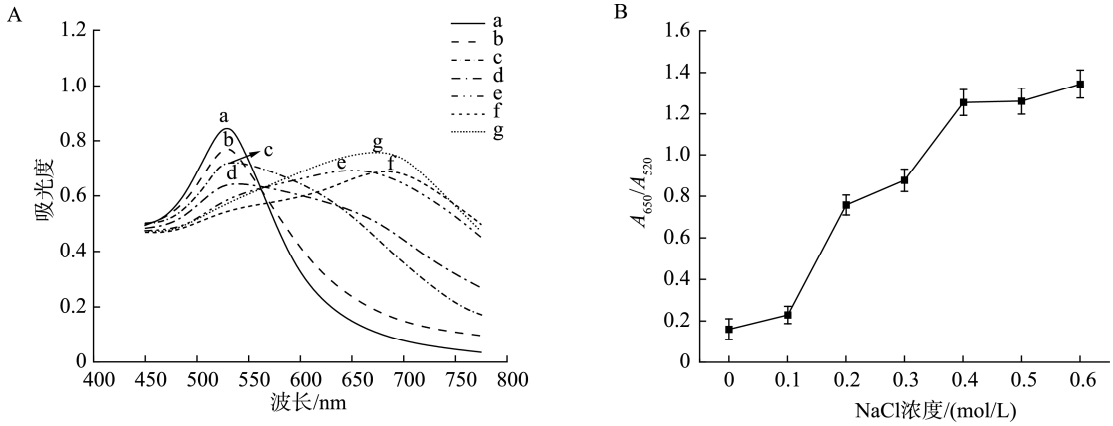
实验结果表明(图 7B), 随着 NaCl 溶液浓度的不断增大, 吸光度变化呈现先增高后稳定的趋势, 这是由于 AuNPs 的盐效应引起的, 盐浓度过小时, 不足以引起 AuNPs 的团聚, 而浓度为 0.4 mol/L 时, 可以明显地观察到团聚现象的发生, 再增加盐浓度, 变化不明显, 故本研究选用 0.4 mol/L 为最佳 NaCl 浓度。

2.4.3　适配体与纳米金相互作用时间

为了保证加入的 Apt 与 AuNPs 相互作用完全, 考察了不同作用时间对吸光度比值变化的影响。固定其他条件不变, 依次改变 Apt 与 AuNPs 作用时间分别为 5、10、15、20 和 25 min, 结果表明, 吸光度比值变化呈现先增大后趋于稳定的状态。15 min 后, 吸光度变化不明显(图 8), 故本研究选择 15 min 为最佳 Apt 与 AuNPs 相互作用时间。

2.4.4　核酸适配体浓度

本研究考查了核酸 Apt 浓度分别为 0.05、0.10、0.30、0.50、0.70、1.00 和 3.00 μmol/L 对吸光度比值变化的影响(图 9)。结果表明, 随着 Apt 浓度的增加, 在固定 0.4 mol/L NaCl 条件下, AuNPs 抵抗盐诱导聚集的能力逐渐增强。当 Apt 浓度较低时, 溶液即呈现典型的分散态酒红色, 在 520 nm 处吸光度最高, 在 650 nm 处吸光度最低。当 Apt 浓度增至 0.30 μmol/L 时, 体系在 NaCl 存在下仍能保持稳定的酒红色, 且 650 nm 处的吸光度趋近于零, 表明该浓度下的 Apt 已能完全保护 AuNPs 免于聚集。进一步稳定性观察显示, 该混合物在 0.2 mol/L NaCl 中保持酒红色达 30 min 以上, 520 nm 与 650 nm 处的吸光度值保持稳定且不同浓度间差异微小, 说明 Apt 对 AuNPs 的保护作用具有良好稳定性, 这为后续检测 TC 提供了必要基础。因此, 本研究确定 0.30 μmol/L 为最佳 Apt 浓度。



注: A. a~g 为 NaCl 浓度依次为 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 mo/L 的光谱图; B. NaCl 浓度与吸光度比值折线图。

图 7　不同 NaCl 浓度对吸光度的影响

Fig.7　Effects of different NaCl concentrations on absorbance

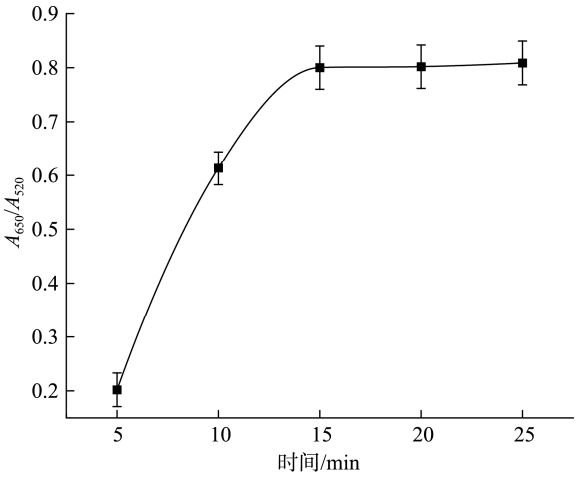
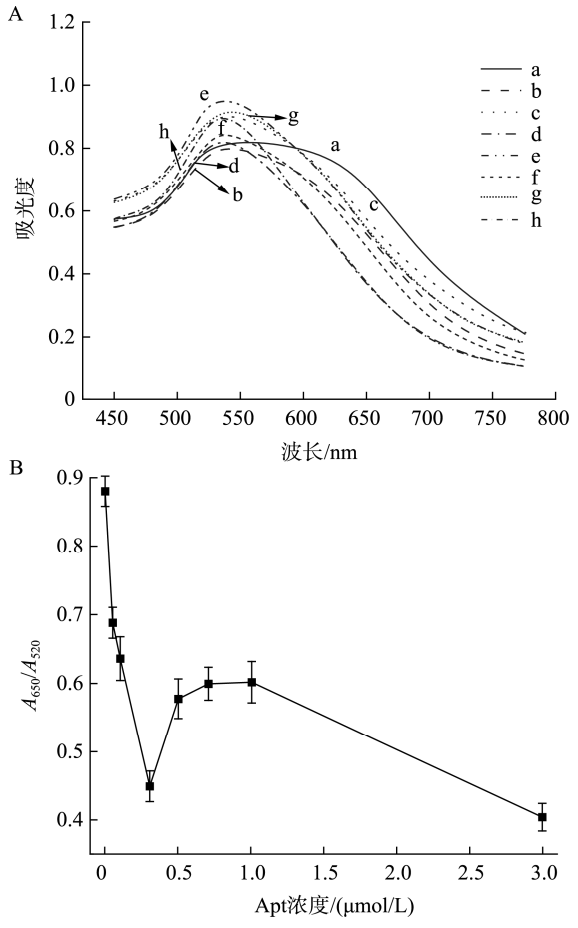


图 8 不同作用时间与吸光度比值变化量的关系曲线

Fig.8 Relationship curve between different action times and the variation amount of absorbance ratio



注: A. a~h 为 Apt 浓度依次为 0、0.05、0.10、0.30、0.50、0.70、1.00、3.00 μmol/L 的光谱图; B. 折线图。

图 9 不同核酸 Apt 浓度对吸光度的影响

Fig.9 Effects of different nucleic acid Apt concentrations on absorbance

2.5 四环素标准曲线的建立

在优化实验条件下, 探讨了 TC 浓度与吸光度比值变化量的关系。由于测定体系中 TC 含量不同, 致使 AuNPs 溶液颜色呈现规律性变化, 由红色逐渐变蓝色, 肉眼即可观察到明显变化。当 TC 质量浓度在 1~200 ng/mL 范围时, 随着浓度的增大, 吸光度比值变化量也不断增大, 呈现良好的线性关系, 线性方程为 Y=0.007X+0.16, 相关系数为 0.9906。所建方法的检出限较低, 为 0.838 ng/mL。与文献报道的方法相比(表 1), 本研究方法具有检测速度快、检测成本低、可视化等特点, 适合现场快速检测。

表 1 文献报道方法与本研究方法的比较

Table 1 Comparison between literature reporting method and this research method

检测方法	检测范围	检出限	检测样品	回收率/%	文献
高效液相-质谱法	5.0~100.0 μg/mL	5.0 μg/mL	猪肉、鸡肉、鸭肉	82.8~169.8	[7]
免疫分析法	10.0~80.0 μg/kg	10.0 μg/kg	青海牦牛肉	80.0~120.0	[12]
比率荧光分析法	10.0~100.0 μmol/L	5.09 μmol/L	猪肉	102.0~110.0	[13]
分子印迹荧光法	0.01~30 μmol/L	0.29 μmol/L	自来水、河水、牛奶	95.9~105.2	[14]
本方法	1~200 ng/mL	0.838 ng/mL	蜂蜜	95.30~97.96	本方法

2.6 特异性实验结果

为了考察方法的特异性, 参照方法 1.3.2, 将不同浓度的 TC 换做同一浓度的 TC、恩诺沙星和沙丁胺醇标准溶液, 分别加入测定体系中, 依次测定吸光度比值, 并同时做空白实验, 记录吸光度比值变化量, 平行测定 3 次。结果如图 10 所示, 加入 TC 肉眼可见溶液颜色发生明显变化, 而

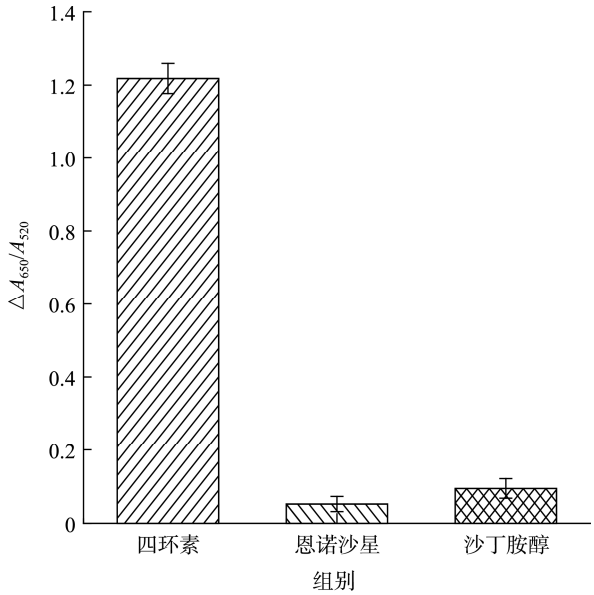


图 10 可视化检测 TC 的特异性分析

Fig.10 Specific analysis of visual detection of TC

恩诺沙星和沙丁胺醇的加入, 对溶液颜色变化影响较小, 即 TC 所引起的吸光度比值变化更大, 这是由于 Apt 与 TC 特异性结合所引起的, 由此说明该方法特异性较高。

2.7　实际样品测定结果分析

为了考察所建方法的准确度和在实际样品中的适用性, 采用加标回收的方法, 对蜂蜜样品进行测定, 重复测定 3 次, 结果如表 2 所示, 样品加标回收率为 95.30%~97.96%, RSDs 在 0.49%~2.24%之间。与国家标准法相比, 两种方法无显著统计学差异(P>0.05), 符合测定要求。

表 2　TC 的加标回收实验
Table 2　Spiked recovery experiment of TC

实际样品	加标质量浓度/(ng/mL)	本方法			国家标准法		
		实测质量浓度/(ng/mL)	回收率/%	RSDs/%	实测质量浓度/(ng/mL)	回收率/%	RSDs/%
样 1	50	48.98	97.96	0.49	50.20	100.40	0.38
样 2	100	95.37	95.37	1.94	101.80	101.80	0.68
样 3	200	190.60	95.30	2.24	198.50	99.25	1.56

3　结　论

本研究采用特异性较高的核酸 Apt 作为 TC 的识别元件, 并依据其对 AuNPs 的“保护”作用, 结合 AuNPs 的盐效应, 构建了一种灵敏度高、特异性强、操作简便、快速的可视化定量测定 TC 的方法。在最佳实验条件下, 所建方法在 TC 质量浓度为 1~200 ng/mL 范围内, 与吸光度比值变化量具有良好的线性关系, 肉眼即可观察到明显变化。将所建方法应用于定量测定复杂的蜂蜜样品中 TC 含量, 加标回收率在 95.30%~97.96%, 同时特异性实验结果表明, 该方法受其他兽药影响较小, 具有较强的抗干扰能力, 可用于实际样品中 TC 残留的特异性可视化快速筛查。

参考文献

[1] 商健, 苏新科, 乔帅, 等. 分子印迹技术在牛奶中四环素类残留检测中的应用研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(4): 215–223.
SHANG J, SU XK, QIAO S, *et al*. Research progress on the application of molecularly imprinted technology in the detection of tetracycline residues in milk [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(4): 215–223.

[2] YAN P, JIANG D, TIAN Y, *et al*. A sensitive signal-on photoelectrochemical sensor for tetracycline determination using visible-light-driven flower-like CN/BiOBr composites [J]. Biosensors & Bioelectronics, 2018, 111: 74–81.

[3] 于晓雯, 索全义. 畜禽粪便中四环素类抗生素的残留及危害[J]. 北方农业学报, 2018, 46(3): 83–88.
YU XW, SUO QY. Residues and hazards of tetracycline antibiotics in livestock and poultry manure [J]. Journal of Northern Agriculture, 2018, 46(3): 83–88.

[4] 王怡梅, 江维, 李漂洋, 等. 聚噻吩萃取光度法和高效液相色谱法测定水体中四环素类的含量[J]. 中国测试, 2020, 46(8): 63–69.
WANG YM, JIANG W, LI PY, *et al*. Determination of tetracyclines in water by polythiophene extraction spectrophotometry and high performance liquid chromatography [J]. China Measurement & Test, 2020, 46(8): 63–69.

[5] 王志昱, 张桂芳, 张晓瑜, 等. QuEChERS-高效液相色谱-质谱联用法同时检测鸡胗和鸡肝中 15 种喹诺酮类和四环素类抗生素[J]. 肉类研究, 2020, 34(3): 51–57.
WANG ZY, ZHANG GF, ZHANG XY, *et al*. Simultaneous determination of 15 quinolones and tetracyclines in chicken gizzards and livers by QuEChERS-HPLC-MS/MS [J]. Meat Research, 2020, 34(3): 51–57.

[6] NOUR A, HASSAN S, AKRAM H, *et al*. Determination of three tetracyclines in bovine milk using magnetic solid phase extraction in tandem with dispersive liquid-liquid microextraction coupled with HPLC [J]. Journal of Chromatography B, 2018, 1092: 480–488.

[7] 罗维巍, 孙丽阳, 徐丽丽, 等. 固相萃取-高效液相色谱法测定羊奶中四环素和土霉素的残留量[J]. 鞍山师范学院学报, 2024, 26(6): 49–52.
LUO WW, SUN LY, XU LL, *et al*. Determination of tetracycline and oxytetracycline residues in goat milk by solid-phase extraction-high-performance liquid chromatography [J]. Journal of Anshan Normal University, 2024, 26(6): 49–52.

[8] 张永芳, 李晓. LC-MS 法对畜禽肉中四环素类药物含量的测定与分析[J]. 食品工业, 2023, 44(12): 313–318.
ZHANG YF, LI X. Determination and analysis of tetracycline drugs in livestock and poultry meat by LC-MS [J]. The Food Industry, 2023, 44(12): 313–318.

[9] 刘善菁, 陆桂萍, 刘雨昕, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定猪肝中 4 种四环素类药物残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(11): 4379–4387.
LIU SJ, LU GP, LIU YX, *et al*. Determination of 4 tetracycline residues in pork liver by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(11): 4379–4387.

[10] 梁思慧, 戴海蓉, 张铧尹, 等. 聚多巴胺纳米纤维膜固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱检测淡水鱼中四环素类和氟喹诺酮类药物残留[J]. 色谱, 2021, 39(6): 624–632.
LIANG SH, DAI HR, ZHANG HY, *et al*. Determination of tetracyclines and fluoroquinolones residues in freshwater fish by polydopamine nanofiber membrane solid-phase extraction combined with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2021, 39(6): 624–632.

[11] LIU F, ZHANG X, LI Y, *et al*. Simultaneous screening and determination of eight tetracycline antibiotics illegally adulterated in herbal preparations

using HPLC-DAD combined with LC-MS-MS [J]. Chromatographia, 2018, 81(2): 303–314.

[12] 赵琪. 高效液相色谱质谱联用法在食品中四环素类药物残留检测中的应用[J]. 食品安全导刊, 2022(20): 82–84, 88.
ZHAO Q. Application of High-performance liquid chromatography-mass spectrometry in the detection of tetracycline residues in food [J]. China Food Safety Magazine, 2022(20): 82–84, 88.

[13] 曹金博, 王耀, 胡骁飞, 等. 免疫分析技术在四环素类抗生素残留检测中的应用[J]. 饲料工业, 2019, 40(12): 53–59.
CAO JB, WANG Y, HU XF, *et al*. Application of immunoassay technology in the detection of tetracycline antibiotic residues [J]. Feed Industry, 2019, 40(12): 53–59.

[14] 张正英, 崔乃元, 王云平, 等. 青海牦牛肉中四环素药物残留时间分辨荧光免疫层析测定方法的研究[J]. 兽医导刊, 2021(15): 135–136.
ZHANG ZY, CUI NY, WANG YP, *et al*. Study on time-resolved fluorescence immunochromatography for determination of tetracycline residues in Qinghai yak meat [J]. Veterinary Orientation, 2021(15): 135–136.

[15] 李依孜, 韩宣怡. 免疫分析法测定食品中四环素类药物残留[J]. 食品安全导刊, 2021(22): 68, 70.
LI ZY, HAN XY. Determination of tetracycline residues in food by immunoassay [J]. China Food Safety Magazine, 2021(22): 68, 70.

[16] 李春雨, 赵卓君, 白万乔, 等. 基于 Eu^{3+}-生物质碳量子点探针的比率型荧光传感体系检测盐酸四环素[J]. 分析测试学报, 2024, 43(4): 600–606.
LI CY, ZHAO ZJ, BAI WQ, *et al*. Ratiometric fluorescence sensing system based on Eu^{3+}-biomass carbon quantum dot probe for detection of tetracycline hydrochloride [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2024, 43(4): 600–606.

[17] 武利, 李青, 连嘉欣, 等. 新型松果壳碳量子点的合成及其用于四环素的快速检测[J]. 沈阳药科大学学报, 2025, 42(7): 623–629.
WU L, LI Q, LIAN JX, *et al*. Synthesis of novel pine cone shell carbon quantum dots and their rapid detection for tetracycline [J]. Journal of Shenyang Pharmaceutical University, 2025, 42(7): 623–629.

[18] 武琪, 张童, 李军德, 等. 纤维素酶和四环素类抗生素药物作用的光谱研究[J/OL]. 饲料工业, 1–11. [2026-01-06]. https://link.cnki.net/urlid/21.1169.S.20250901.0955.002
WU Q, ZHANG T, LI JD, *et al*. Spectroscopic study on the interaction between cellulase and tetracycline antibiotics [J/OL]. Feed Industry, 1–11. [2026-01-06]. https://link.cnki.cnki.net/urlid/21.1169.S.20250901.0955.002

[19] 汪石, 朱雨清, 卢静荷, 等. 基于核酸外切酶III辅助信号放大的荧光法检测四环素[J]. 分析试验室, 2020, 39(7): 777–780.
WANG S, ZHU YQ, LU JH, *et al*. Fluorescence detection of tetracycline based on exonuclease III-assisted signal amplification [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2020, 39(7): 777–780.

[20] 杜彩溢, 杨川宇, 刘文慧, 等. 核酸适配体传感器在四环素类抗生素检测中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(2): 439–446.
DU CY, YANG CY, LIU WH, *et al*. Application of aptamer sensors in the detection of tetracycline antibiotics [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(2): 439–446.

[21] 邢怡晨, 陈晓晓, 陈飘飘, 等. 基于硫化镉量子点-二氧化钛纳米颗粒的四环素光电化学适体传感器[J]. 浙江师范大学学报(自然科学版), 2021, 44(4): 412–419.
XING YC, CHEN XX, CHEN PP, *et al*. Tetracycline photoelectrochemical aptasensor based on cadmium sulfide quantum dots-titanium dioxide nanoparticles [J]. Journal of Zhejiang Normal University (Natural Sciences), 2021, 44(4): 412–419.

[22] 赵亚男. 基于 MOFs 电(催化)活性的四环素核酸适配体传感器构建[D]. 漳州: 闽南师范大学, 2023.
ZHAO YN. Construction of tetracycline nucleic acid aptamer sensor based on MOFs electrocatalytic activity [D]. Zhangzhou: Minnan Normal University, 2023.

[23] 李文清, 刘慧敏, 张国只, 等. 核酸适配体传感器应用于牛乳检测的研究进展[J]. 食品科学, 2017, 38(7): 272–277.
LI WQ, LIU HM, ZHANG GZ, *et al*. Research progress of aptasensors in milk detection [J]. Food Science, 2017, 38(7): 272–277.

[24] YI J, XIAO W, LI G, *et al*. The research of aptamer biosensor technologies for detection of microorganism [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020, 104(23): 1–14.

[25] BAYRA C, EYIDOGAN F, OKTEM H. DNA aptamer-based colorimetric detection platform for *Salmonella enteritidis* [J]. Biosensors & Bioelectronics, 2017, 98: 22–28.

[26] BHAIRAB M, SHYLAJA R, LAVU P, *et al*. Highly sensitive colorimetric biosensor for staphylococcal enterotoxin B by a label-free aptamer and gold nanoparticles [J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 179.

[27] XU L, LIANG J, WANG Y, *et al*. Highly selective, aptamer-based, ultrasensitive nanogold colorimetric smartphone readout for detection of Cd(II) [J]. Molecules, 2019, 24(15): 2745.

[28] QI Y, CHEN Y, XIU F, *et al*. An aptamer-based colorimetric sensing of acetamiprid in environmental samples: Convenience, sensitivity and practicability [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2020, 304: 127359.

[29] 王燕, 周化岚, 施沁怡, 等. 基于金纳米粒子光学性质的比色传感器及其在食品安全检测中的应用[J]. 理化检验(化学分册), 2019, 55(12): 1476–1482.
WANG Y, ZHOU HL, SHI QY, *et al*. Colorimetric sensor based on optical properties of gold nanoparticles and its application in food safety detection [J]. Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis), 2019, 55(12): 1476–1482.

[30] 陈威风, 陈薇, 蔡颖, 等. 基于核酸适配体结合纳米金模拟酶用于单增李斯特菌的快速检测[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(3): 176–180.
CHEN WF, CHEN W, CAI Y, *et al*. Rapid detection of *Listeria monocytogenes* based on aptamer combined with gold nanoparticle mimic enzyme [J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(3): 176–180.

(责任编辑: 安香玉 冯东慧)