

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

徐婧^{#1} 郑红^{#1} 谢丽芳¹ 林伟琦³ 高静³ 谢泽中²
陈宏炬⁴ 曾勇明⁴ 刘国坤^{*1} 田中群²

¹(厦门大学环境与生态学院, 近海海洋环境科学国家重点实验室, 厦门 361102)

²(厦门大学化学化工学院, 固体表面物理化学国家重点实验室, 厦门 361005)

³(厦门市产品质量监督检验院, 厦门 361000) ⁴(厦门市普识纳米科技有限公司, 厦门 361000)

摘 要 随着人们对食品品质要求日益增高,食品中痕量违禁物质的快速定性和定量分析成为食品安全领域的热点。本研究基于表面增强拉曼光谱(Surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS)技术,结合自主研发的快速前处理试剂盒,建立了畜牧养殖等行业中广泛关注的 2 种喹诺酮类抗生素恩诺沙星和环丙沙星的现场快速检测方法。利用本方法检测了 5 种市售鸡肉(3 种乌鸡肉、2 种白条鸡肉)中的恩诺沙星和环丙沙星,结果表明,与标准方法高效液相色谱-串联质谱(High-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)相比,所建立的 SERS 方法定性准确(可有效鉴定 2 种结构相似的喹诺酮类抗生素)、定量可靠(误差在 8.2%~14.4%范围内)、灵敏度高(最低可检出浓度在 100 ng/L 水平),可满足食品质量控制要求。本研究建立的 SERS 检测方法实用性强、操作简便快速,可用于实际样品中喹诺酮类药物的快速筛查。

关键词 喹诺酮类抗生素; 鸡肉样品; 表面增强拉曼光谱; 检测方法

喹诺酮类抗生素(Quinolones, QNs)是一类合成抗生素药物,因其抗菌谱广^[1-3]、成本低、疗效好,被广泛应用于尿路感染、软组织感染和呼吸道感染等多种人类和动物传染性疾病的预防和治疗^[4-7]。然而, QNs 的滥用导致其在动物源食品中大量残留,并引发过敏反应、毒性效应和人体抗药性等不良后果^[8-10]。其中,恩诺沙星(Enrofloxacin, ENR)和环丙沙星(Ciprofloxacin, CIP)是 2 种常见的喹诺酮类抗生素,常残留于动物源性食品中。对此,许多国家和组织先后限制或禁止在畜禽饲养中使用 QNs 药物。例如,美国畜禽行业禁止使用 ENR,并规定其在可食用动物组织和奶制品中的最大残留量(Maximum residue limit, MRL)为 100 $\mu\text{g/kg}$ ^[11]; 欧盟限制动物源食品中 8 种喹诺酮类药物的 MRL 范围为 30~800 $\mu\text{g/kg}$ ^[12]; 我国国家食品安全标准 GB/T 31650-2019 中规定动物源性食品中喹诺酮类药物 ENR 和 CIP 之和的最大残留限量为 100 $\mu\text{g/kg}$ ^[13]。痕量喹诺酮类药物的定性和定量分析已成为保障公众健康和水生态系统安全的重要组成部分,也是分析检测领域研究的热点之一。

用于喹诺酮类药物的分析检测技术众多,涵盖了电化学分析、生物分析、色谱分析和光谱分析等诸多领域^[14-18]。气相色谱-质谱联用(Gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)、液相色谱-质谱联用(Liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)和高效液相色谱-串联质谱联用(High-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)等基于色谱的方法因其高灵敏度、高准确性和可靠性而得到广泛应用,其中, HPLC-MS/MS 方法因其低至 $\mu\text{g/kg}$ 水平的检出能力,被作为实验室标准定性和定量分析技术,并为国标 GB/T 21312-2007 所采用^[19-23]。然而,这些方法在实际样品检测中所需的前处理步骤繁杂,耗时长(可达数小时),难以满足突发公共应急卫生事件的高时效性检测要求。

表面增强拉曼光谱(Surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS)技术因其丰富的指纹图谱信息和可单分子水平的高灵敏度,已成为痕量物质定性和定量分析的重要工具^[24-30]。随着多样化 SERS 基底的发

2022-05-09 收稿; 2022-10-14 接受

国家自然科学基金项目(No. 41876099)、国家重点研发计划(No. 2018YFC1602600)和厦门市科技计划(No. 3502Z20183002)资助。

#: 共同第一作者

* E-mail: guokunliu@xmu.edu.cn

展,已有研究实现了对痕量抗生素的高灵敏、快速检测^[31-33]。然而,检测复杂食品基质中的 QNs 不仅需要长达数十分钟的样品前处理过程^[34],并且加标样品的检测灵敏度通常在 mg/kg 水平^[35],难以满足现场快检的要求。文献报道的测试样品仍局限于加标样品,尚无针对实际非法添加样品的现场快速检测案例^[36]。

本研究以食品中 2 种典型喹诺酮类抗生素 ENR 和 CIP 为目标分子,构建了一种基于 SERS 技术的快速检测方法。结合自主研发的 SERS-F0306 喹诺酮类抗生素样品前处理试剂盒,5 min 内即可完成市售鸡肉样品中 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 级水平的 2 种喹诺酮类抗生素的快速筛查。与已报道的 SERS 方法相比,本方法兼具高灵敏和快速准确的定性定量分析能力,可满足现场快筛快检的要求。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

B&W TeK 拉曼光谱仪(B&W TeK 光电科技(上海)有限公司); UV-1780 紫外分光光度计(日本 Shimadzu 公司); S-4800 扫描电子显微镜(日本 Hitachi 公司)。

ENR 和 CIP 标准品(纯度 $\geq 98.0\%$,上海麦克林生化科技有限公司); 浓 HCl、浓 HNO_3 、 AgNO_3 、NaI、NaBr、NaCl 和 NaF(纯度 $\geq 99.0\%$,国药集团化学试剂有限公司); 二水柠檬酸三钠(纯度 $\geq 99.0\%$,西陇化工股份有限公司); SERS-F0306 喹诺酮类抗生素样品前处理试剂盒(含提取剂 A、稀释剂 B、混合剂 C 和除杂试剂瓶,厦门普识纳米科技有限公司)。实验用水为超纯水(电阻率 $\geq 18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$),由 Direct-Q 3UV 超纯水系统(美国 Merck Millipore 公司)制备得到。

用 0.01 mol/L NaOH 溶液配制 1.00 g/L ENR 和 CIP 标准储备液,避光冷藏保存,每隔 3 个月重新配制。王水由浓 HCl-浓 HNO_3 (3:1, V/V)按比例混合配制。实验所用玻璃仪器均经王水浸泡 30 min 后,以超纯水清洗。

1.2 实验方法

1.2.1 银纳米粒子(AgNPs)的制备和表征

使用经典的柠檬酸钠还原法制备负电性的银纳米粒子(Silver nanoparticles, AgNPs)和金纳米粒子(Gold nanoparticles, AuNPs)^[37-38]。

使用扫描电子显微镜(Scanning electron microscope, SEM)对 AgNPs 和 AuNPs 进行表征,并统计其粒径分布情况。分别对 AgNPs 和 AuNPs 进行了 9 个平行批次的消光光谱、粒径分布情况和一年的存储稳定性测试(见电子版文后支持信息图 S1~S4)。

1.2.2 SERS检测

取 1.5 mL AgNPs 溶胶于离心管中,以 5000 r/min 离心 5 min ,移去上清液后,加入 $300 \mu\text{L}$ 超纯水。将该 AgNPs 溶胶与待测溶液和 1 mol/L 无机盐团聚剂按 $50 \mu\text{L}$ 、 $200 \mu\text{L}$ 和 $50 \mu\text{L}$ 的体积加入 96 孔板中充分混合,进行 SERS 检测。测试拉曼光谱的激发波长为 785 nm ,激光功率为 320 mW ,光斑直径约为 $100 \mu\text{m}$,积分时间为 2 s ,积分次数为 10 次。

1.2.3 鸡肉样品的处理和SERS检测

5 种市售鸡肉样品由厦门市产品质量监督检验院抽检自本地市场,鸡肉样品对照组经 HPLC-MS/MS 检验为无喹诺酮抗生素污染,鸡肌肉组织部分取样匀质后得到的样品均置于 $-8 \text{ }^\circ\text{C}$ 下冷冻保存。SERS 检测时,每种鸡肉样品进行 3 组平行实验。

SERS-F0306 喹诺酮类抗生素样品前处理试剂盒的操作步骤为:称取 1.00 g 鸡肉于冷存管中,加入 3.0 mL 提取剂 A,超声处理 2 min 以提取目标物,取 1.0 mL 上清液转移至除杂试剂瓶中,再加入 $200 \mu\text{L}$ 稀释剂 B,振荡 10 s 后静置分层。将 $200 \mu\text{L}$ 上清液转移至洁净的玻璃瓶中,再加入 1.0 mL 混合剂 C 后混合均匀。取 $200 \mu\text{L}$ 混合液作为 SERS 待测溶液。

1.2.4 ENR和CIP混合态占比分析

采用多元线性回归分析 ENR 和 CIP 混合态占比,分析过程如下:假定 ENR 分子在混合态中的含量为 X_1 ,占比为 A; CIP 分子在混合态中的含量为 X_2 ,占比为 B,总谱图含量为 $\bar{Y}$,若线性回归方程存在,可

假设形式为:

$$\hat{Y} = AX_1 + BX_2 + C \quad (1)$$

要使得 $\hat{Y}$ 估计值最接近于样本数据,即使得总谱图含量 $\hat{Y}$ 与样本 Y 的值最接近。设误差平方和为 Q ,即可将回归模型最有效问题转化为求 Q 的最小值问题。

$$Q = \sum_{i=1}^n (Y_i - \hat{Y})^2 \quad (2)$$

由此,使用最小二乘法进行求解。求得最小 Q 值后,代入预测值,可求解得到 A 和 B 的值,即可求出ENR和CIP在混合态中的占比。

2 结果与讨论

2.1 ENR与CIP的定性定量分析

2.1.1 定性分析

图1A为分别以1 $\mu\text{g/L}$ ENR和1 $\mu\text{g/L}$ CIP为目标分子,以1 mol/L NaI为团聚剂测得的SERS谱图。由于ENR和CIP分子的化学结构非常相似,主体结构均包含一个哌嗪环和一个喹啉羧酸环(图1A插图),故二者在拉曼峰位移与相对拉曼强度上极其相似(见电子版文后支持信息图S5)。最强的两个特征峰分别位于737和788 cm^{-1} (ENR)/781 cm^{-1} (CIP)(具体峰归属见电子版文后支持信息表S1),二者的差异仅在于哌嗪环上氮原子连接的乙基(ENR)取代了氢原子(CIP),因而使得2种分子的部分拉曼谱峰的相对拉曼强度发生了变化,如737与781 cm^{-1} (788 cm^{-1})处、1347与1398 cm^{-1} 处相对峰强的强弱变化。

为更清晰分析2种分子的SERS行为差异,图1B给出了1100~1300 cm^{-1} 区间内2种分子的SERS谱图,同时展示了二者等比例混合时的SERS谱图,1267 cm^{-1} 峰在1 $\mu\text{g/L}$ CIP的SERS谱图中以最强峰形式存在,而在1 $\mu\text{g/L}$ ENR的SERS谱图中却作为1253 cm^{-1} 的肩峰出现。在等比例混合的SERS谱图中,1124、1253、1267和1278 cm^{-1} 等SERS谱峰的相对拉曼强度介于ENR和CIP之间。通过多元线性回归分析可知,ENR和CIP分子在混合态中的占比分别约为65%和35%。已有研究表明,喹诺酮类分子通过哌嗪环末端 $\text{N}(\delta^+)$ 与吸附态 I^- 作用而共吸附于AgNPs表面^[39]。因此,ENR占比更高的原因可能是当哌嗪环上氮原子连接的乙基(ENR)取代氢原子(CIP)后,减小了分子吸附到AgNPs表面时的空间位阻,从而提高了ENR的相对表面覆盖度。

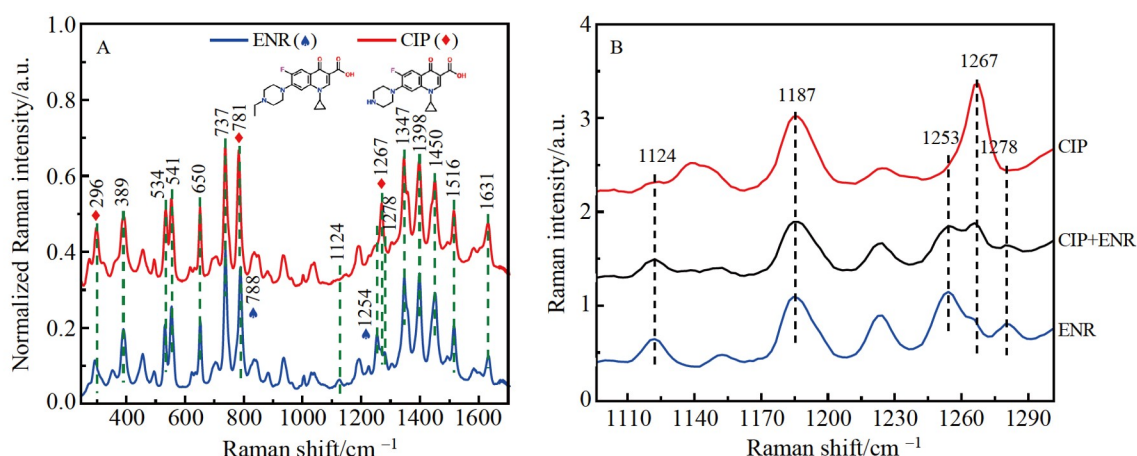


图1 (A)以AgNPs为表面增强拉曼光谱(SERS)基底,1 mol/L NaI为团聚剂的1 $\mu\text{g/L}$ 恩诺沙星(ENR)和环丙沙星(CIP)的SERS谱图和(B)ENR、CIP以及二者的1:1混合溶液在1100~1300 cm^{-1} 范围内的放大SERS谱图

Fig.1 (A) Surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) analysis of 1 $\mu\text{g/L}$ enrofloxacin (ENR) and ciprofloxacin (CIP) with 1 mol/L NaI as agglomerating agent and silver nanoparticles (AgNPs) as SERS substrate; (B) The enlarged part from 1100 cm^{-1} to 1300 cm^{-1} of Fig. (A), where the SERS spectra of ENR and CIP mixed solution is a reference

研究表明,溶胶态 SERS 基底的增强性能受溶液 pH 值^[40]、团聚剂种类(无机盐)、纳米溶胶与团聚剂的相对浓度比等因素影响显著^[41]。当目标分子的电子结构发生变化时,其在 SERS 基底表面的吸附构型和吸附量也会发生相应的显著变化^[42]。在碱性环境中,ENR 和 CIP 分子结构中的—COOH 基团解离变为—COO⁻。此时,中性分子将带负电荷,与负电性 Ag NPs 相互排斥,不利于分子在其表面上的吸附^[43],因此分子的 SERS 信号微弱。随着 pH 值降低至酸性,可以观察到分子 SERS 信号显著增强。同时,747 cm⁻¹ 处特征峰的相对拉曼强度不断减小,峰位蓝移至 737 cm⁻¹ 处;790 cm⁻¹ 峰则轻微蓝移至 788 cm⁻¹ 处(见电子版文后支持信息图 S6)。pH = 2.0 时,ENR 和 CIP 的 SERS 信号最强。

相关研究结果表明,团聚剂的阴、阳离子与目标分子这三者在 SERS 基底表面的竞争共吸附行为的协同作用决定了目标分子的检出与否及其灵敏度^[39, 44-45]。具有中等吸附能力的阴离子可有效诱导目标分子在 SERS 基底表面直接吸附,从而实现高灵敏 SERS 检测^[46]。以 1 μg/L ENR 和 CIP 为研究对象,分别采用 NaI、NaBr、NaCl 和 NaF 这 4 种无机盐作为团聚剂,通过 788 cm⁻¹ 处特征峰(ENR)或 781 cm⁻¹ 处特征峰(CIP)的归一化峰强度评估卤素阴离子对 SERS 增强性能的作用(电子版文后支持信息图 S7)。

结果表明,对于低浓度(1 μg/L)(图 2)和高浓度(1 mg/L)(电子版文后支持信息图 S5)的 ENR 和 CIP, I⁻ 和 Br⁻ 均为 AgNPs 和 AuNPs 的最佳团聚剂,并且以 AgNPs 为基底时的目标分子 SERS 信号总体强于 AuNPs。对于 AgNPs,在 Br⁻ 或 Cl⁻ 作为团聚剂的条件下,ENR 的 SERS 信号强于 CIP。对于 AuNPs,在高浓度 ENR 或 CIP 条件下,以 F⁻ 或 I⁻ 为团聚剂时,可清晰观察到这两个分子的 SERS 信号。ENR 与 CIP 分子在 AuNPs 与 AgNPs 表面上的信号差异性可能是因为目标分子上氨基与 Au 间的结合亲和力明显强于 Ag。

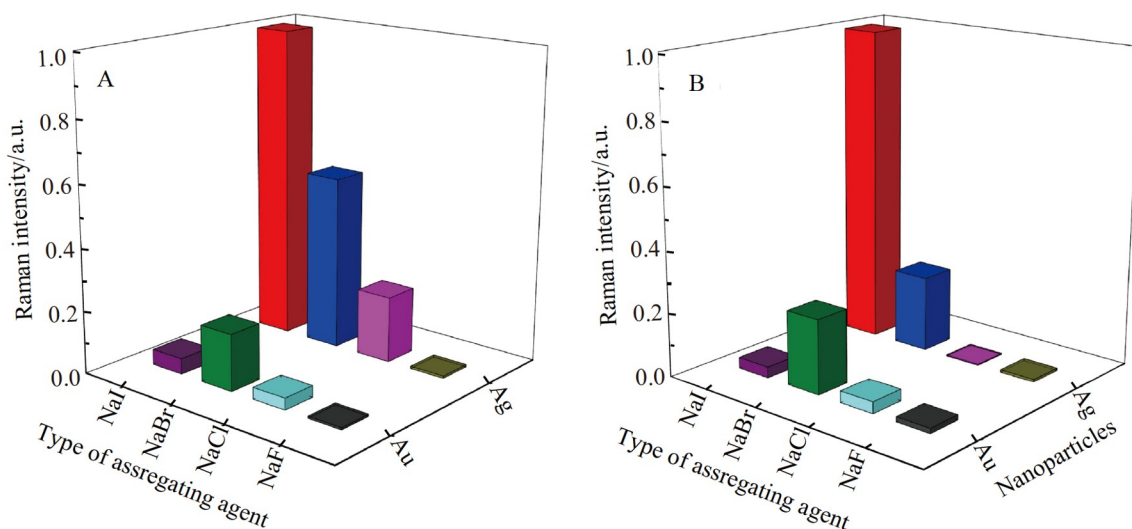


图2 1 mol/L 不同种类的团聚剂在 AuNPs 和 AgNPs 基底表面对(A)1 μg/L ENR(以 788 cm⁻¹ 处为归一化峰)和(B)1 μg/L CIP(以 781 cm⁻¹ 处为归一化峰)的 SERS 增强效果对比图

Fig.2 SERS intensity histograms of 1 μg/L (A) ENR (peak at 788 cm⁻¹) and (B) CIP (peak at 781 cm⁻¹) on gold nanoparticles (AuNPs) and AgNPs surfaces respectively, using different agglomerating agents at concentration of 1 mol/L

在溶胶态 SERS 检测中,作为 SERS 基底的 AgNPs 在无机盐团聚剂作用下形成大量 SERS 热点。当 AgNPs 浓度增大时,一方面,入射激光光斑内 SERS 热点的数量随之增加,对检测产生积极影响;另一方面,AgNPs 浓度过高,将降低目标分子在其表面的覆盖度,由于通常情况下分子在热点区域和非热点区域的吸附能力无显著差异,因而将降低分子进入热点的概率,对检测产生不利影响。在热点数量和覆盖度这 2 种因素共同作用下,存在一个最优 AgNPs 浓度^[39, 47]。因此,通过优化 AgNPs 和 I⁻ 浓度,获得了高灵敏定性检测 ENR 和 CIP 的最佳条件(见电子版文后支持信息图 S8 和图 S9)。

2.1.2 定量分析

由图 3 可知,随着浓度升高,ENR 和 CIP 的 SERS 谱图特征峰变化趋势基本保持一致,体现为拉曼

信号强度的正向依赖性。二者的最低检出浓度均为 $0.1 \mu\text{g/L}$ (最低检出浓度下的局部放大谱图见电子版文后支持信息图 S10), 在 $0.1 \sim 1000 \mu\text{g/L}$ 范围内, 目标分子特征峰的信号强度随浓度升高而呈现出先迅速增加后趋于平缓的趋势。以 788 cm^{-1} 处特征峰(ENR)和 781 cm^{-1} 处特征峰(CIP)的峰强度为例, 两个目标分子的浓度依赖的 SERS 行为基本符合 Langmuir 吸附等温曲线。根据目标分子定量峰强度与浓度对数的关系图, 可实现这两个分子在 ng/L 数量级水平的可靠定量分析(见电子版文后支持信息图 S11 和表 S2)。

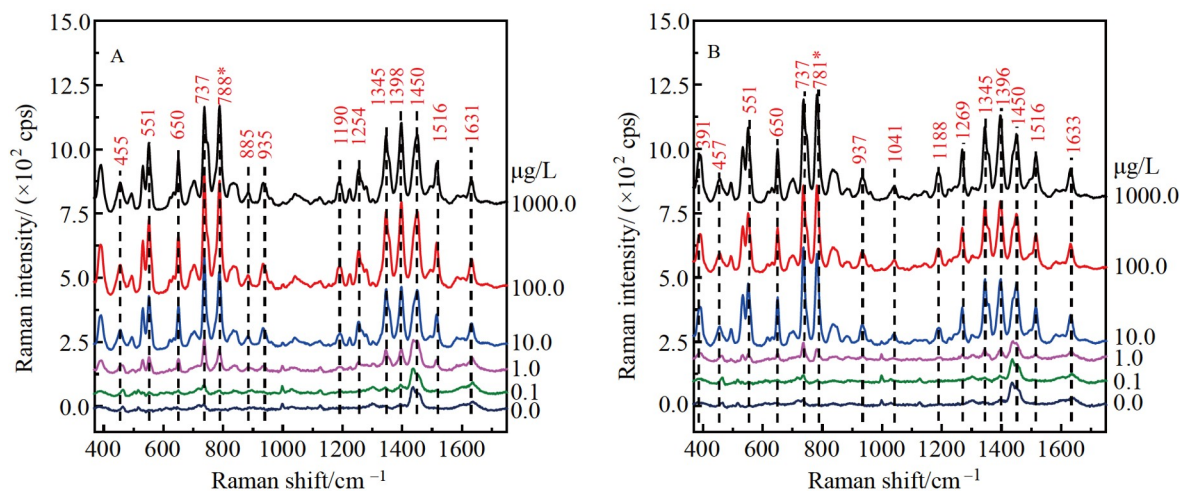


图3 (A) ENR 和(B) CIP 分子的浓度依赖性 SERS 谱图

Fig. 3 Concentration dependent SERS spectra of (A) ENR and (B) CIP

2.2 鸡肉样品检测

通常, ENR 和 CIP 混合物(记为 ERCP)的总量作为兽药残留标志物被用于评价食品中这两类喹诺酮类药物的风险暴露水平。基于上述建立的检测方法, 结合 SERS-F0306 喹诺酮类抗生素样品前处理试剂盒, 对 5 种鸡肉样品(3 种乌鸡肉样品 a1、a2、a3 和 2 种白条鸡肉样品 b1、b2)中的 ERCP 含量进行了快速检测。

对无 ERCP 污染的鸡肉样品进行 ERCP 加标回收实验。图 4A 为前处理后 ERCP(ENR:CIP = 1:1)加标鸡肉样品的浓度依赖性 SERS 谱图, 采用 ENR 和 CIP 共有的特征峰 737 cm^{-1} 作为定量峰, 得到了线性范围为 $0.01 \sim 1.00 \text{ mg/kg}$ 的定量标准工作曲线(见电子版文后支持信息图 S12)。预测试时发现市售鸡肉样品存在高浓度非法添加情况, 于是将待检样品经试剂盒前处理, 稀释 20 倍后进行 SERS 测试, 使其非法添加浓度位于标准工作曲线范围内以便于进行定量分析。如图 4B 所示, 在样品 a1 和 a3 的 SERS 谱图中可明显观察到 737 cm^{-1} 处的 ERCP 特征峰, 说明这 2 个样品可能在饲养过程中非法添加了这 2 种抗生素。根据图 4A 的工作曲线可以估算得到, a1 和 a3 中 ERCP 浓度分别为 $(1.45 \pm 0.14) \text{ mg/kg}$ 和 $(4.99 \pm 0.37) \text{ mg/kg}$, 而在其余 3 个样品 a2、b1 和 b2 中均未检出 ERCP(表 1)。为验证方法的可靠性, 对这 5 份样品采用 HPLC-MS/MS 方法进行测试^[23], 如表 1 所示, 测得 a1 和 a3 为阳性, 其余 3 份为阴性。结果表明, 这 2 种方法具备高度一致的定性分析能力, SERS 方检测结果与 HPLC-MS/MS 方法高度一致, 定量偏差 $< 15\%$, 表明基于 SERS 技术的快检方法灵敏高、定性分析准确、定量分析可靠。

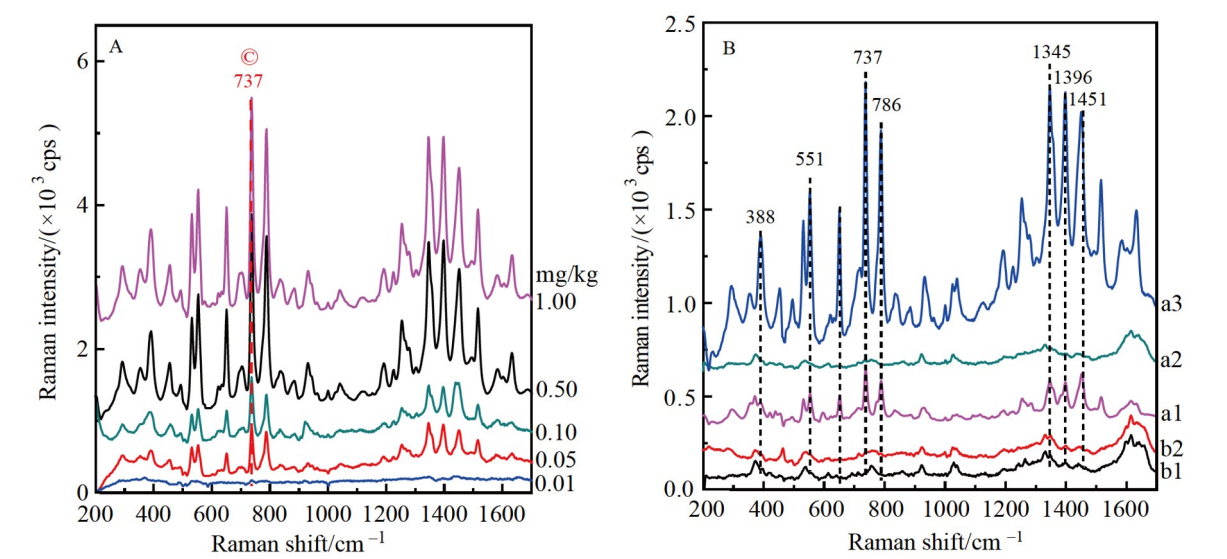


图4 (A)加标 ENR 和 CIP(ERCP)的鸡肉对照样品和(B)市售抽检鸡肉样品的 SERS 谱图
Fig.4 SERS spectra of (A) chicken samples spiked with ENR and CIP (ERCP) ($n=3$) and (B) commercial chicken samples

表1 市售鸡肉样品中ERCP含量检测结果
Table 1 Detection result of ERCP in commercial chicken samples

样品 Samples	检测结果 Detection result/(mg/kg)		定量偏差 Quantitative error/ %	回收率 Recovery/ %
	表面增强拉曼光谱 SERS ($n=3$)	液相色谱-质谱/质谱 HPLC-MS/MS		
乌鸡肉 a1 Silky chicken meat a1	1.45 ± 0.14	1.34	8.2	90.7
乌鸡肉 a2 Silky chicken meat a2	ND	ND	—	—
乌鸡肉 a3 Silky chicken meat a3	4.99 ± 0.37	5.83	14.4	92.8
白条鸡肉 b1 Plain chicken meat b1	ND	ND	—	—
白条鸡肉 b2 Plain chicken meat b2	ND	ND	—	—

注：“ND”表示未检出，定量误差为本方法与HPLC-MS/MS标准方法测定值之差的绝对值除以标准方法的测定值。
Note: “ND” means not detected. The quantitative error is the absolute value of the difference between measured value of this method and that of high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) standard method divided by that of the standard method.

3 结论

建立了一种基于 AgNPs 的喹诺酮类抗生素(ENR 和 CIP)现场快速 SERS 检测方法,二者标准品的最低检出浓度均为 0.1 $\mu\text{g/L}$ 。结合自主研发的快速前处理试剂盒,实现了鸡肉样品中非法饲育药物 ENR 和 CIP 的快速高灵敏准确定性和可靠定量分析,检测的线性范围为 0.01~1.00 mg/kg。与实验室使用的 HPLC-MS/MS 标准方法相比,所得定性结果高度一致,定量检测偏差<15%。本方法为复杂基质食品中痕量非法添加喹诺酮类药物的快速检测提供了一种新方法,可作为一种快筛技术与实验室标准检测方法互补,从而有效提升相关职能部门的应急食品安全检测技术水平和现场执法能力。

References

- [1] BETITRA Y, TERESA V, MIGUEL V, ABDELAZIZ T. *Asian Pac. J. Tropical Med.*, 2014, 7(6): 462-467.
- [2] ZHANG L, ADDLA D, PONMANI J, WANG A, XIE D, WANG Y N, ZHANG S L, GENG R X, CAI G X, LI S, ZHOU C H. *Eur. J. Med. Chem.*, 2016, 111: 160-182.
- [3] WIMALASENA S H M P, SHIN G W, HOSSAIN S, HEO G J. *J. Vet. Med. Sci.*, 2017, 79(5): 921-926.
- [4] RAJALAKSHMI K, GUNASEKARAN S, KUMARESAN S. *Indian J. Phys.*, 2014, 88(7): 733-744.
- [5] WALSH C. *Antibiotics: Actions, Origins, Resistance*. Washington, D. C, ASM Press, 2003.
- [6] SEO K W, LEE Y J. *Poult. Sci.*, 2019, 98(6): 2700-2701.
- [7] CAMPOLIRICHARDS D M, MONK J P, PRICE A, BENFIELD P, TODD P A, WARD A. *Drugs*, 1988, 35(4): 373-447.
- [8] MATHEW A G, CISELL R, LIAMTHONG S. *Foodborne Pathog. Dis.*, 2007, 4(2): 115-133.
- [9] KOVALAKOVA P, CIZMAS L, MCDONALD T J, MARSALEK B, FENG M, SHARMA V K. *Chemosphere*, 2020, 251: 126351.
- [10] SMITH K E, BESSER J M, HEDBERG C W, LEANO F T, BENDER J B, WICKLUND J H, JOHNSON B P, MOORE K A, OSTERHOLM M T. *N. Engl. J. Med.*, 1999, 340(20): 1525-1532.
- [11] Ellenbergs. Food and Drug Administration (FDA). *Encyclopedia of Biostatistics*, 2005.
- [12] European Commission. Regulation (EC) No 810/2009 of the European Parliament and of the Council. 2009: 810.
- [13] GB/T 31650-2019. National Food Safety Standard-Maximum Residue Limits for Veterinary Drugs in Foods. National Standards of the People's Republic of China.
食品安全国家标准-食品中兽药最大残留限量. 中华人民共和国国家标准. GB/T 31650-2019.
- [14] PEIXOTO P S, TÓTH I V, SEGUNDO M A, LIMA J L F C. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 2016, 96(2): 185-202.
- [15] PÉREZ-FERNÁNDEZ V, DOMÍNGUEZ-VEGA E, CREGO A L, GARCÍA M Á, MARINA M L. *Electrophoresis*, 2012, 33(1): 127-146.
- [16] BEIER R C, STANKER L H. *Anal. Chim. Acta*, 2001, 444(1): 61-67.
- [17] LAN L, YAO Y, PING J, YING Y. *Biosens. Bioelectron.*, 2017, 91: 504-514.
- [18] LIU G, ZHENG H, LU J. *Trends Environ. Anal. Chem.*, 2017, 16: 16-23.
- [19] MENG L, ZHANG W, MENG P, ZHU B, ZHENG K. *J. Chromatogr. B*, 2015, 989: 46-53.
- [20] GUIDI L R, SANTOS F A, RIBEIRO A C S R, FERNANDES C, SILVA L H M, GLORIA M B A. *Food Chem.*, 2018, 245: 1232-1238.
- [21] MARTINS M T, BARRETO F, HOFF R B, JANK L, ARSAND J B, FEIJO T C, SCHERMAN S E E. *Food Addit. Contam., Part A*, 2015, 32(3): 333-341.
- [22] AMELIN V G, VOLKOVA N M, TIMOFEEV A A, TRET'YAKOV A V. *J. Anal. Chem.*, 2015, 70(9): 1076-1084.
- [23] GB/T 21312-2007. Analysis of Fourteen Quinolones in Food of Animal Origin by High Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. National Standards of the People's Republic of China.
动物源性食品中14种喹诺酮药物残留检测方法 液相色谱-质谱/质谱法. 中华人民共和国国家标准. GB/T 21312-2007.
- [24] XIE W, SCHLÜCKER S. *Rep. Prog. Phys.*, 2014, 77(11): 116502.
- [25] CHOI I J. *Nanoscience*, 2016, 16(5): 4274-4283.
- [26] WEI H, HOSSEIN ABTAHI S M, VIKESLAND P J. *Environ. Sci.: Nano*, 2015, 2(2): 120-135.
- [27] GRAHAM D, MOSKOVITS M, TIAN Z Q. *Chem. Soc. Rev.*, 2017, 46(13): 3864-3865.
- [28] BARANSKA M. *Optical Spectroscopy and Computational Methods in Biology and Medicine*. Springer Netherlands, 2014.
- [29] SCHLUECKER S. *Cheminform*, 2014, 45(28): 4756-4795.
- [30] LANGER J, JIMENEZ DE ABERASTURI D, AIZPURUA J, ALVAREZ-PUEBLA R A, AUGUIÉ B, BAUMBERG J J, BAZAN G C, BELL S E J, BOISEN A, BROLO A G, CHOO J, CIALLA-MAY D, DECKERT V, FABRIS L, FAULDS K, GARCÍA DE ABAJO F J, GOODACRE R, GRAHAM D, HAES A J, HAYNES C L, HUCK C, ITOH T, KÄLL M, KNEIPP J, KOTOV N A, KUANG H, LE RU E C, LEE H K, LI J F, LING X Y, MAIER S A, MAYERHÖFER T, MOSKOVITS M, MURAKOSHI K, NAM J M, NIE S, OZAKI Y, PASTORIZA-SANTOS I, PEREZ-JUSTE J, POPP J, PUCCI A, REICH S, REN B, SCHATZ G C, SHEGAI T, SCHLÜCKER S, TAY L L, THOMAS K G, TIAN Z Q, VAN DUYN R P, VO-DINH T, WANG Y, WILLETS K A, XU C, XU H, XU Y, YAMAMOTO Y S, ZHAO B, LIZ-MARZÁN L M. *ACS Nano*, 2020, 14(1): 28-117.
- [31] SHI Q, HUANG J, SUN Y, YIN M, HU M, HU X, ZHANG Z, ZHANG G. *Spectrochim. Acta, Part A*, 2018, 197: 107-113.
- [32] TENG P, GAO D, YANG X, LUO M, KONG D, GAO S, LIU Z, LI Z, WEN X, YUAN L, LI K, BOWKETT M, COPNER N. *Appl. Opt.*, 2021, 60(22): 6659-6664.
- [33] ANDREOU C, MIRSAFAVI R, MOSKOVITS M, MEINHART C D. *Analyst*, 2015, 140(15): 5003-5005.
- [34] XU Y, DU Y, LI Q, WANG X, PAN Y, ZHANG H, WU T, HU H. *Food Anal. Methods*, 2014, 7(6): 1219-1228.

- [35] ZHANG Y, TENG Y, QIN Y, REN Z, WANG Z. *Anal. Lett.*, 2020, 53(4): 660-670.
- [36] ZHANG Y, HUANG Y, ZHAI F, DU R, LIU Y, LAI K. *Food Chem.*, 2012, 135(2): 845-850.
- [37] LEE P C, MEISEL D. *J. Phys. Chem.*, 1982, 86(17): 3391-3395.
- [38] FRENS G. *Nat. Phys.*, 1973, 241(105): 20-22.
- [39] ZHOU Z, ZHENG H, LIU T, XIE Z, LUO S, CHEN G, TIAN Z, LIU G. *Anal. Chem.*, 2021, 93(24): 8603-8612.
- [40] GARRIDO C, AGUAYO T, CLAVIJO E, GÓMEZ-JERIA J S, CAMPOS-VALLETTE M M. *J. Raman Spectrosc.*, 2013, 44(8): 1105-1110.
- [41] HAN S, HONG S, LI X. *J. Colloid Interface Sci.*, 2013, 410: 74-80.
- [42] ELIASSON C, LORÉN A, ENGELBREKTSSON J, JOSEFSON M, ABRAHAMSSON J, JOHANSSON M, ABRAHAMSSON K. *Anal. Chem.*, 2004, 61(4): 755-760.
- [43] HIDI I J, HEIDLER J, WEBER K, CIALLA-MAY D, POPP J. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2016, 408(29): 8393-8401.
- [44] LU J, CAI Z, ZOU Y, WU D, WANG A, CHANG J, WANG F, TIAN Z, LIU G. *ACS Appl. Nano Mater.*, 2019, 2(10): 6592-6601.
- [45] XIE L, LU J, LIU T, CHEN G, LIU G, REN B, TIAN Z. *J. Phys. Chem. Lett.*, 2020, 11(3): 1022-1029.
- [46] MARSICH L, BONIFACIO A, MANDAL S, KROL S, BELEITES C, SERGO V. *Langmuir*, 2012, 28(37): 13166-13171.
- [47] ZHANG M, ZHOU Z, XU J, WANG W, PU S, HU W, LUO P, TIAN Z, GONG Z, LIU G. *Spectrochim. Acta, Part A*, 2022, 278: 121365.

Fast Detection of Trace Enrofloxacin and Ciprofloxacin in Chicken Meat by Surface-enhanced Raman Spectroscopy

XU Jing^{#1}, ZHENG Hong^{#1}, XIE Li-Fang¹, LIN Wei-Qi³, GAO Jing³, XIE Ze-Zhong²,
CHEN Hong-Ju⁴, ZENG Yong-Ming⁴, LIU Guo-Kun^{*1}, TIAN Zhong-Qun²

¹(State Key Laboratory of Marine Environmental Science, College of the Environment and Ecology,
Xiamen University, Xiamen 361102, China)

²(State Key Laboratory of Physical Chemistry of Solid Surface, College of Chemistry and Chemical Engineering,
Xiamen University, Xiamen 361005, China)

³(Market and Quality Supervision Commission of Xiamen Municipality, Xiamen 361000, China)

⁴(Xiamen Perser Nano Technology Co. Ltd., Xiamen 361000, China)

Abstract With the increasing public concern on food quality, especially the zero-tolerance of illegal additives, the rapid qualitative and quantitative analysis of trace banned substances in food is in a prosperity stage in the field of food safety. Here, by combining with a self-developed rapid pretreatment kit, an on-site, rapid and sensitive detection strategy for trace antibiotics such as enrofloxacin and ciprofloxacin, two typical abused antibiotics in livestock and other industries, by surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) technique was developed. The abused quinolones residues in chicken meat (3 kinds of silky chicken meat and 2 kinds of plain chicken meat) were successfully screened by the developed SERS method, which showed an accurate qualification and a reliable quantitation in comparison with that by standard high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) technique. The proposed SERS-based strategy may provide a practical and simple method for rapid detection of other quinolones in real samples.

Keywords Quinolone antibiotics; Chicken sample; Surface-enhanced Raman spectroscopy; Detection method

(Received 2022-05-09; accepted 2022-10-14)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 41876099), the National Key Research & Development Program of China (No. 2018YFC1602600) and the Xiamen Science and Technology Project (No. 3502ZZ20183002).