

✓ EI	☑ 中国科技期刊卓越行动计划项目资助期刊
🗹 Scopus	☑ 北大核心期刊
🗹 DOAJ	☑ 中国精品科技期刊
⊠ EBSCO	☑ 中国科技核心期刊CSTPCD
⊠ CA	☑ 中国核心学术期刊RCCSE A ⁺
☑ FSTA	☑ 世界期刊影响力指数(WJCI)报告
🗹 JST	☑ 食品科学与工程领域高质量科技期刊分级目录第一方阵T1

表面增强拉曼光谱法灵敏检测鸡肉中拉沙洛西残留

王 耀,孙莹莹,景钰冰,杨喜燕,李燕飞,黄佳翔,陈秀金,李兆周,曹 力,康怀彬 Sensitive Detection of Lasalocid Residue in Chicken by Surface Enhanced Raman Spectroscopy WANG Yao, SUN Yingying, JING Yubing, YANG Xiyan, LI Yanfei, HUANG Jiaxiang, CHEN Xiujin, LI Zhaozhou, CAO Li, and KANG Huaibin

在线阅读 View online: https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2024030216

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

表面增强拉曼光谱技术在真菌毒素检测中的应用研究进展 Research Progress of Surface Enhanced Raman Spectroscopy in the Detection of Mycotoxins 食品工业科技. 2021, 42(5): 342-348,356 https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020050032 检测牛奶中杂质的表面增强拉曼光谱基底研究进展 Research Progress on Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Substrates for Detection of Impurities in Milk 食品工业科技. 2021, 42(19): 403-410 https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020080035 表面增强拉曼光谱法在动物源性食品安全检测中的应用 Application of Surface-enhanced Raman Spectroscopy in Animal Derived Foods Safety 食品工业科技. 2023, 44(16): 434-443 https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022090275 基于表面增强拉曼光谱的巴旦木氧化程度快速检测 Rapid Detection of the Oxidation of Almonds Based on Surface Enhanced Raman Spectroscopy 食品工业科技. 2023, 44(24): 286-293 https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023020173 表面增强拉曼光谱在乳和乳品有害物质检测中的研究进展 Application of Surface Enhanced Raman Spectroscopy in the Detection of Harmful Substances in Milk and Dairy Products

食品工业科技. 2021, 42(20): 415-423 https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020090087 基于适配体拉曼光谱技术快速检测肠炎沙门氏菌方法

Rapid Detection of Salmonella enteritidis Based on Aptamer Raman Spectroscopy 食品工业科技. 2020, 41(17): 225-230,285 https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.17.037



关注微信公众号,获得更多资讯信息

王耀,孙莹莹,景钰冰,等.表面增强拉曼光谱法灵敏检测鸡肉中拉沙洛西残留 [J]. 食品工业科技,2025,46(4):299-305. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024030216

WANG Yao, SUN Yingying, JING Yubing, et al. Sensitive Detection of Lasalocid Residue in Chicken by Surface Enhanced Raman Spectroscopy[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(4): 299–305. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024030216

・分析检测・

表面增强拉曼光谱法灵敏检测鸡肉中 拉沙洛西残留

王 耀*,孙莹莹,景钰冰,杨喜燕,李燕飞,黄佳翔,陈秀金,李兆周,曹 力,康怀彬*

(河南科技大学食品与生物工程学院/食品加工与安全国家级实验教学示范中心/河南省食品绿色加工 与质量安全控制国际联合实验室,河南洛阳 471000)

摘 要:为提高鸡肉中抗球虫类兽药拉沙洛西(LAS)残留的监控检测效率,本研究利用表面增强拉曼光谱 (SERS)技术建立了LAS残留的灵敏检测方法。本研究首先制备不同粒径的金纳米粒子(AuNPs),根据 SERS增强效果选择最优粒径AuNPs作为基底,并利用4-氨基苯硫酚(PATP)作为探针分子评估AuNPs基底重 现性;然后通过添加HNO3改变AuNPs聚集程度并增大LAS溶解度,进一步增强SERS信号;最后通过建立标准 曲线并进行鸡肉样品加标回收试验对方法进行评价。结果表明,粒径40nm的AuNPs增强效果较好,1118 cm⁻¹处 为LAS的SERS特征峰,基底具有良好的重现性,HNO3最优添加浓度为0.5 mol/L。本方法的线性范围为 0.55×10⁻⁶~0.55 mg/mL,检测限为0.23 ng/mL,鸡肉样品的加标回收率为91.9%~107.3%,相对标准偏差为 3.6%~5.7%,与国标法(GB31613.5-2022)的检测结果一致。本研究为LAS残留的灵敏检测提供了新方法,对于 其他兽药残留的SERS检测方法研究具有参考价值。

关键词:表面增强拉曼光谱,拉沙洛西,金纳米粒子,鸡肉,检测 中图分类号:TS207.3 文献标识码:A 文章编号:1002-0306(2025)04-0299-07 DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024030216



Sensitive Detection of Lasalocid Residue in Chicken by Surface Enhanced Raman Spectroscopy

WANG Yao^{*}, SUN Yingying, JING Yubing, YANG Xiyan, LI Yanfei, HUANG Jiaxiang, CHEN Xiujin, LI Zhaozhou, CAO Li, KANG Huaibin^{*}

(College of Food and Bioengineering/National Demonstration Center for Experimental Food Processing and Safety Education/Henan International Joint Laboratory of Food Green Processing and Quality Safety Control, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471000, China)

Abstract: In order to improve the efficiency of monitoring and detecting the residues of the anticoccidial veterinary drug lasalocid (LAS) in chicken, a sensitive method for the determination of LAS residues was established by surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS). In this study, gold nanoparticles (AuNPs) with different particle sizes were first prepared, AuNPs with the optimal particle size were selected as the substrate according to SERS effect, and 4-aminophenthiophenol (PATP) was used as the probe molecule to evaluate the recurrence of AuNPs substrate. Then, by adding HNO₃, AuNPs aggregation degree was changed and LAS solubility was increased to further enhance SERS signal. Finally, the method was evaluated by establishing the standard curve and the recovery test of chicken sample. Results showed that AuNPs with a particle size of 40 nm had good enhancement effect, the SERS characteristic peak of LAS was at 1118 cm⁻¹, the AuNPs

收稿日期: 2024-03-15

基金项目: 国家自然科学基金项目(31702218);河南省科技攻关项目(232102320298,242102321131);河南省高校青年骨干教师培养计划(2023GGJS046); 河南省研究生教育改革与质量提升工程项目(HNYJS2020JD06);洛阳市公益性行业科研专项(2202021A)。

作者简介/通信作者*: 王耀(1986-),男,博士,副教授,研究方向:食品安全检测, E-mail: wangyao@haust.edu.cn。

^{*}通信作者:康怀彬(1963-),男,硕士,教授,研究方向:食品加工与安全,E-mail:khbin001@163.com。

substrate had good reproducibility, and the optimal addition concentration of HNO_3 was 0.5 mol/L. The linear range of this method was $0.55 \times 10^{-6} \sim 0.55$ mg/mL, the detection limit was 0.23 ng/mL, the recovery rate of chicken samples was 91.9%~107.3%, and the relative standard deviation was 3.6%~5.7%, which was consistent with the detection results of the national standard method (GB31613.5-2022). This study provides a new method for the sensitive detection of LAS residues, and has reference value for the study of SERS detection method of other veterinary drug residues.

Key words: surface enhanced Raman spectroscopy; lasalocid; gold nanoparticles; chicken; detection

球虫病是由艾美尔球虫属的传染性单细胞原虫 寄生于动物肠道上皮细胞所引起的一种寄生虫病,该 疾病可导致雏鸡致死率高达 80%[1]。拉沙洛西 (Lasalocid, LAS)是预防和治疗球虫病一种常用药 物,其由拉沙洛链霉菌产生,属于聚醚类离子载体型 抗球虫药,在家禽养殖中应用广泛[2]。除了抗球虫作 用外,LAS还能用作饲料添加剂,起到促进动物生长 的作用,提高饲料利用率,改善繁殖性能^[3-4]。我国 《食品安全国家标准食品中兽药最大残留限量》 (GB31650-2019)中明确规定了 LAS 在食品中的最 大残留限量,其中规定在鸡可食性组织中最大残留限 量为 1200 µg/kg, 但近年来过量使用或不规范使用 导致鸡肉中 LAS 残留超标的情况仍常有发生^[5]。长 期食用残留超标的鸡肉及其制品,会导致人体机体代 谢和功能的异常,甚至会引起组织器官病变从而威胁 生命安全[6]。因此,建立快速准确、简单高效的检测 方法监控鸡肉中 LAS 残留, 对维护消费者健康具有 重要意义。

目前,用于 LAS 检测的方法主要依靠色谱技术 和免疫分析技术,包括高效液相色谱法(HPLC)^[7]、超 高效液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)^[8]、液相色 谱-荧光分析方法^[9]、酶联免疫分析法(ELISA)^[10]和 侧流免疫层析法(FLIA)^[11]等。色谱方法在药物检测 过程中具有较高的灵敏度和准确性,但样品前处理复 杂,仪器设备和运行成本相对较高,需要专业技术支 持;免疫分析方法特异性较强,但抗体制备过程较为 复杂,抗体制备过程复杂且周期长、生产程序复杂、 保存条件苛刻,检测结果容易出现假阳性。随着现代 分析技术的不断发展,表面增强拉曼光谱(Surfaceenhanced Raman spectroscopy, SERS)技术突破了原 有拉曼光谱检测的局限性,利用电磁场增强和化学增 强效应,有效提高了拉曼光谱强度,使检测结果达痕 量水平。因该技术灵敏度高且图谱信息丰富,现已成 为分子识别和鉴定的有力工具,在动物性食品兽药残 留高灵敏检测领域具有巨大的应用潜力[12]。

常用于构建 SERS 方法的增强基底包括金纳米 粒子(Gold nanoparticles, AuNPs)和银纳米粒子 (Silver nanoparticles, AgNPs), AuNPs 的化学性质更 稳定但 SERS 增强能力较弱。为改善溶胶型 SERS 基底检测性能,酸性条件下负电性 AuNPs 增强基底 表面的柠檬酸根能得到质子而脱离基底,目标分子获 得质子带正电,两者的共同作用有利于目标分子吸 附在 SERS 增强基底表面,有利于 SERS 信号的提 升^[13-14]。经酸调控后的 AuNPs 基底可以使纳米粒 子适当聚集提供大量热点,使更多的目标分子靠近 SERS 基底表面,有效增强了拉曼效应。因此,本研 究首先制备并选择最优粒径 AuNPs 作为基底,然后 通过添加 HNO₃ 提高 AuNPs 基底的 SERS 增强能 力,建立灵敏检测 LAS 残留的 SERS 方法(图 1)。 本研究可为动物性食品中 LAS 残留的高效监测提供 了有效检测手段,也可为其他兽药残留的 SERS 检测 方法研究提供参考,对于保障动物性食品安全安全具 有一定的实用价值。



图 1 基于 AuNPs 的 LAS SERS 检测方法示意图 Fig.1 Schematic diagram of LAS SERS detection method based on AuNPs

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

氯金酸、柠檬酸钠 分析纯,阿拉丁中国上海公司;LAS标准品 分析纯,上海腾准生物科技有限公司;抗坏血酸 分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司;无水硫酸钠 分析纯,天津市德恩化学试剂有限公司;硝酸 分析纯,洛阳昊华化学试剂有限公司; 甲醇、正己烷 色谱纯,天津市德恩化学试剂有限公司; 同;乙腈 色谱纯,永华化学科技(江苏)有限公司;实 验用玻璃器皿均用王水(V_{HCI}:V_{HNO3}=3:1)浸泡,并 用去离子水冲洗干净;实验所用鸡肉样品为当地超市 购买的新鲜鸡胸肉。

UV-2600 紫外可见分光光度计 日本岛津有限 公司;H1650R 台式高速冷冻离心机 湖南湘仪实验 室仪器开发有限公司;XploRA ONE 激光拉曼光谱 仪 法国 HORIBA 公司;H-ClassTQ-SMicro 超高效 液相色谱串联四级杆质谱联用仪 Waters 公司; BeNano 90 Zeta 纳米激光粒度仪 丹东百特仪器有 限公司;Vortex 1 涡旋混合机、C-MAG HS7 加热磁 力搅拌器 德国 IKA 公司;KQ3200DE 超声清洗仪

昆山市超声仪器有限公司; JJ224BF 型电子分析天

平 德国 Sartorius 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 SERS 基底的制备 参照 Frens 的方法^[15],利 用柠檬酸钠还原氯金酸制备 AuNPs。具体方法如 下:先将 1 mL 1% HAuCl₄ 溶液加入 79 mL 超纯水 中。然后,将 1% 柠檬酸钠溶液、0.1 mL 1% 单宁 酸、0.1 mL 25 mmol/L K₂CO₃ 溶液加入 15.8 mL 超 纯水中。上述两种制备的溶液分别加热 30 min 并在 高速搅拌下混合,溶液在 60 ℃ 下保温 30 min,直到 颜色变红且不发生变化,冷却到室温,溶液存放在 4 ℃ 保存备用。通过调整柠檬酸钠的添加量分别为 1.5、1、0.8 mL 制备出 20、40、60 nm 的 AuNPs。分 别利用纳米激光粒度仪和透射电镜(TEM)对 AuNPs 的粒径和均匀度进行表征。AuNPs 制备完成后经 10000 r/min 转速离心 5 min,通过重悬得到 SERS 基 底,将基底滴在洁净的硅片上,风干后用来进行表面 增强拉曼光谱检测。

1.2.2 基底的选择及重现性 在不同粒径的 AuNPs 中滴加一定量的 LAS 标准品,滴加在硅片上风干后 用于 SERS 检测。对比 5 组平衡时间分别为 1、3、5、7、9 h 的 AuNPs 拉曼增强效果,选择增强效果最 优粒径的 AuNPs 作为 SERS 基底。

选择 10⁻⁶ mol/L PATP 作为探针分子来评估基 底重现性。在室温下,滴加 10⁻⁶ mol/L PATP 于基底 中,吸附平衡 10 min,在硅片上风干后用于 SERS 检 测。在不同时间批次的 10 组基底上随机选择 5 处, 共 50 个点对其进行拉曼光谱检测,10 组时间处理方 式为分别平衡 1~10 d。利用 Lab Spec 6 软件采集拉 曼光谱特征峰,利用 Origin 2022 对每个基底所选点 的拉曼光谱值进行取平均数处理,并绘制拉曼光谱 图。拉曼光谱仪参数:激发波长为 785 nm,激光功率 为 50%,积分时间为 10 s,积分次数为 2,扫描范围 为 0~2500 cm⁻¹。

1.2.3 HNO₃ 添加浓度的优化 首先在 200 μL 基底 中分别加入 11 组不同体积(1、5、10、15、20、40、 80、100、200、400、500 μL)的 0.1 mol/L HNO₃, 平 衡相同时间后通过紫外可见吸收光谱和视觉颜色变 化验证 AuNPs 基底经 HNO₃ 调控后的聚集现象。 然后分别配制 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、 0.8 mol/L 的 HNO₃ 溶液,将 AuNPs 基底与 500 μg/ mL LAS 以 1:1 体积混合, 室温下吸附平衡 10 min, 再加入基底体积 1/2 的 HNO₃ 溶液, 混合均匀后进行 SERS 检测, 根据特征峰信号强度选择最优 HNO₃ 添加浓度。

1.2.4 方法评价 配制不同浓度的 LAS 标准溶液, 将制备的 AuNPs 基底及不同浓度的 LAS 标准溶液 以 1:1 的体积比例混匀,室温下吸附平衡 10 min,得 到 20 μ L 混合溶液,再加入 5 μ L 的 0.5 mol/L HNO₃ 混合均匀后进行 SERS 检测。以 LAS 浓度为横坐 标,特征峰强度为纵坐标,绘制标准曲线,根据检测限 的计算公式 3S_a/b(S_a 为空白样本响应值标准偏差, b 为标准曲线的斜率)进行线性回归计算^[16]。

为评价 SERS 方法的准确性,将不同浓度的 LAS 标准溶液添加到鸡肉样品中,进行加标回收测 定。参照《食品安全国家标准鸡可食组织中抗球虫 药物残留量的测定》(GB31613.5-2022)前处理方法, 对鸡肉样品进行处理,具体步骤如下:称取鸡肉样品 5g(精确至 0.01g),加入 5g 无水硫酸钠,加 15 mL 乙腈,均质后低温超声提取 20 min,离心 5 min 取上 清液。残渣再加入 15 mL 乙腈,重复上述提取过程 一次,离心 5 min 后合并上清液,加入 10 mL 乙腈饱 和正己烷液萃取两次,弃去正己烷层,待用。LAS 标 准溶液添加浓度分别为 10、20 和 30 ng/mL。使用 本方法和国标法(液相色谱-质谱联用法)同时进行检 测,并将检测结果进行对比分析。

1.3 数据处理

在选择不同粒径 AuNPs 基底时拉曼光谱平行 测定 3 次, 在评价基底重现性时不同批次基底拉曼 光谱平行采集 5 次, HNO₃ 添加浓度优化及定量分析 过程中每个样品采集随机 10 条拉曼光谱, 数据结果 以平均值±标准差进行表示。本试验拉曼光谱特征 峰采集均利用 Lab Spec 6 软件, 数据处理及拟合绘 图软件为 Origin 2022。

2 结果与分析

2.1 AuNPs 的表征

AuNPs 的粒径分布结果如图 2a~图 2c 所示, 图 中 AuNPs 的均粒径大小分别约为 19、41 和 63 nm。 TEM 结果(图 2d~图 2f)显示该方法所合成的 AuNPs 粒径大小分布集中,表明颗粒较均匀且无明显团聚现 象,有利于形成局域等离子场热点。

2.2 SERS 基底的选择

AuNPs 的粒径大小对拉曼信号强度和 SERS 基





图 2 不同粒径 AuNPs 的粒径分布图及 TEM 图

Fig.2 Particle size distribution and TEM of AuNPs with different particle sizes

注: a 为 20 nm AuNPs 的粒径分布图; b 为 40 nm AuNPs 的粒径分布图; c 为 60 nm AuNPs 的粒径分布图; d 为 20 nm AuNPs TEM 图; e 为 40 nm AuNPs TEM 图; f 为 60 nm AuNPs TEM 图。

底的稳定性有着重要的影响,采用激光拉曼光谱仪对 其进行表征。如图 3 所示,相对于单纯的 AuNPs 基 底,AuNPs-LAS 的拉曼光谱在 1118 cm⁻¹ 处显示出 明显的谱峰,此峰值主要由于 LAS 分子中 C=C 键的 伸缩振动引起的^[17]。当不添加 LAS 时 AuNPs 仍有 部分拉曼信号,这是由于溶剂在硅片上检测,但硅片 的拉曼出峰位置与 LAS 的特征峰位置不相同,可以 忽略。因此,可以通过比较 1118 cm⁻¹ 处峰值强度来 进行 AuNPs 基底粒径大小的选择。





图 4a~图 4c 分别是 20、40 和 60 nm AuNPs 对 LAS 的拉曼光谱检测结果,采集 5 组不同时间批次 基底上共 15 个点的拉曼信号,计算 1118 cm⁻¹ 处峰 值强度相对标准偏差(Relative standard deviation, RSD),可知 40 nm 左右 AuNPs 对 LAS 的 SERS 峰 值较高增强效果更好,RSD 为 8.9%,这可能是因为 40 nm 左右 AuNPs 更有利于提高增强 SERS 所需的 有效导电率和光散射率,更有利于基底热点的形 成^[18-19],所以选择 40 nm AuNPs 作为 SERS 基底进 行后续的检测。

2.3 SERS 基底的重现性

基底的重现性是保证 SERS 基底信号稳定的关键因素之—^[20]。由于 PATP 分子具有双官能团利于 形成夹心结构,并且因其结构的特性具备较大的散射 截面,所以信号稳定,而且拉曼活性较高,在可见区域 有明显的电子吸收光谱,能够稳定吸附在基底表面, 因此将 PATP 作为探针分子可有效评估 SERS 基底 增强效果及稳定性^[21-22]。PATP 在 1000~1600 cm⁻¹ 范围内分子信息比较丰富,1004 cm⁻¹ 归属于 C=C 变 形振动模式;1076 cm⁻¹ 归属于 C-S 伸缩振动模式; 1137 cm⁻¹ 归属于 C-H 变形振动模式;1387 cm⁻¹ 归 属于 C-H 伸缩振动和 C-H 弯曲振动模式;1431 cm⁻¹







归属于 C-C 伸缩振动和 C-H 变形振动模式; 1575 cm⁻¹ 归属于 C=C 伸缩振动模式^[23-24]。不同批 次基底的拉曼特征峰图谱经软件处理后得到 10 条 拉曼光谱(图 5a),1076、1137、1387、1431、1575 cm⁻¹ 五处特征峰强度值变化结果相似。以 PATP 在 1076 cm⁻¹ 处的峰值为例进行定量分析,统计测试点 的峰值强度,结果所得 PATP 特征峰强度相同差异 较小(图 5b),RSD 为 9.69%,不同批次基底检测结果 特征峰变化较小,表明该基底重现性较好。



Fig.5 Substrate reproducibility results of AuNPs 注: a 为 10 个不同批次 AuNPs 基底 SERS 图; b 为 1076 cm⁻¹ 处特征峰强度图。

2.4 HNO, 添加浓度优化

柠檬酸钠还原氯金酸时表面的柠檬酸盐及其降 解产物带负电荷,合成的 AuNPs 在没有其他物质影 响的情况下是比较稳定的。由于电荷吸引相互作用, HNO₃ 可以诱导 AuNPs 产生聚集,影响胶体的稳定 性。HNO₃ 添加量从 1 μL 到 100 μL 时 AuNPs 所呈 现的颜色由红色逐渐转变为蓝色,表明 AuNPs 聚集 程度逐渐增高,如图 6 所示,随着 HNO₃ 添加量的增 加,AuNPs 在 540 nm 左右的紫外吸收峰值强度逐渐 降低,由于多个等离子体共振模式引起吸收峰变宽且 出现新的肩峰^[25-26],表明 HNO₃ 的加入可以改变基 底聚集程度,从而影响 SERS"热点"形成。

溶胶型 SERS 基底在不同酸性环境下的拉曼光 谱,包括拉曼特征峰频率和强度会发生较大改变,这 与物质溶解度或吸附方式的改变密切相关^[27-28]。因 此,通过调整 AuNPs 基底的酸度来考察 LAS 在不 同体系中的 SERS 效应。LAS 在酸性条件下导致 的 SERS 信号增强是因为 LAS 阴离子具有更高的



Fig.6 UV-vis spectra of AuNPs with different HNO₃ addition amount

化学亲和力,并且在酸性环境下缺乏与硝酸根离子的 竞争,在质子化 LAS 分子中,由于 C-C-O 拉伸振动 而产生的拉曼波段具有更高的强度^[29-30]。如图 7 所 示,结果发现 LAS 的 SERS 特征峰强度首先随 HNO₃浓度从 0.1 到 0.5 mol/L 增大而增大;当 HNO₃浓度高于 0.5 mol/L 时, LAS 的特征峰强度又 逐渐减小。这可能是由于 AuNPs 基底酸性较弱时, LAS 在其中的溶解性也较差,电子跃迁概率较低,对 应的 SERS 效应较弱;而在后期,当 HNO₃浓度较大 时,使 AuNPs 完全团聚,导致 SERS 效应反而降 低。因此,将 0.5 mol/L HNO₃ 作为调控 AuNPs 聚集 度的最佳浓度。



注: a 为 LAS 在不同 HNO₃ 添加浓度下的 SERS 图; b 为 1118 cm⁻¹ 处特征峰强度图。

2.5 标准曲线建立

为评估经 HNO₃ 调控的 SERS 基底的灵敏度, 将不同浓度 LAS 标准溶液滴加在 SERS 基底表面, 待风干后进行 SERS 检测。由不同浓度 LAS 的 SERS 响应光谱(图 8a)可见,1118 cm⁻¹ 处特征峰强 度与 LAS 浓度成线性关系。从图 8a 可以看到,随 着 LAS 浓度成 0.55 mg/mL 降低到 0.55×10⁻⁸ mg/ mL 时,1118 cm⁻¹ 处特征峰强度逐渐减弱。如图 8b 所示,LAS 在 1118 cm⁻¹ 处的峰值强度与其浓度 对数间的线性关系,线性范围为 0.55×10⁻⁶~0.55 mg/mL,线性方程为 y=7196.79+1070.12x(*R*²=0.99), 根据公式计算得检测限为 0.23 ng/mL。将本方法与 其他已建立的 LAS 残留检测方法进行对比(表 1), 本研究所建立的 SERS 方法在线性范围和检测限方 面具有一定优势,可实现 LAS 残留的灵敏检测。





表1	不同 LAS 残留检测方法对比
Table 1	Comparison of different LAS residue

detection methods

检测方法	线性范围	检测限	参考文献
HPLC	/	0.168 mg/kg	[7]
HPLC-MS/MS	0.97~100.00 µg/kg	0.29 µg/kg	[8]
UPLC-MS/MS	0.81~100.00 µg/kg	0.28 µg/kg	[8]
LC-MS/MS	/	0.1 µg/kg	[31]
ELISA	0.1~50 ng/mL	10 ng/g	[11]
ELISA	5~1000 ng/mL	6.04 ng/mL	[10]
SERS	$0.55 \times 10^{-6} \sim 0.55 \text{ mg/mL}$	0.23 ng/mL	本方法

2.6 实际样品检测

为评价方法的准确性,选用鸡肉作为实际样品,

加入不同浓度的 LAS 标准品,每个样品重复测定三次,进行 SERS 分析并计算回收率。由表 2 可知, LAS 的加标回收率范围为 91.9%~107.3%, RSD 在 3.6%~5.7% 之间,结果表明该方法可用于鸡肉中 LAS 的定量检测。

表 2 鸡肉中 LAS 加标回收试验结果 Table 2 Results of LAS recovery test in chicken

方法	添加值 (ng/mL)	检测值 (ng/mL)	加标回收率 (%)	相对标准偏差 (RSD,%,n=3)
SERS法	10	10.73±0.58	107.3	5.7
	20	19.72±0.72	98.6	3.6
	30	27.57±1.15	91.9	3.9
国标法	10	10.19±0.61	101.9	5.6
	20	20.11±0.63	100.6	3.1
	30	29.63±0.75	98.9	2.5

利用国标液相色谱-质谱联用法对加标样品进行 检测,条件如下:色谱柱为 $C_{18}(50 \text{ mm} \times 2.1 \text{ mm},$ 1.7 μ m),柱温 30 °C,进样量为 10 μ L,扫描方式为正 离子扫描。加标回收试验结果如表 2 所示,结果显 示两种方法的准确度基本一致,证实了本方法的可靠 性,且本方法相较于国标法所耗检测时间更短。

3 结论

本研究制备了不同粒径的 AuNPs, 通过对比 AuNPs 基底的拉曼光谱强度, 选择 40 nm 左右 AuNPs 作为 SERS 基底,并通过 PATP 作为探针分 子验证基底具有良好的重现性。在此基础上,利用 HNO,改善AuNPs 基底的拉曼信号增强效果,优化 得到调控 AuNPs聚集度的 HNO,最佳浓度为 0.5 mol/L。配制不同浓度 LAS 标准溶液, 经 SERS 方法检测,线性范围为 0.55×10⁻⁶~0.55 mg/mL,检测 限为 0.23 ng/mL, 远低于国家标准限量, 满足检测需 求。通过鸡肉样品加标回收试验,并与国标法检测结 果对比,验证了方法具有准确性和可靠性,表明所建 立的 LAS 残留 SERS 检测方法实现了鸡肉样品的 灵敏检测。本研究能够为抗球虫类兽药残留的高灵 敏检测提供方法支撑,但仍需在实际应用中拓展样品 检测种类,探索该方法在同类兽药检测中的适用性, 并利用便携式拉曼光谱检测装置实现快速检测,进 一步提高动物性食品中抗球虫类兽药残留的监控 效率。

© The Author(s) 2025. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] MO J H, XIANG J, LI J, et al. Natural Magnolol ameliorates coccidiosis infected with *Eimeria tenella* by affecting antioxidant, anti-inflammatory, and gut microbiota of chicks[J]. Poultry Science, 2023, 102(11): 102975–102975.

[2] HUET A C, BIENENMANN-PLOUM M, VINCENT U, et al. Screening methods and recent developments in the detection of anticoccidials[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2013, 405 (24): 7733-7751.

[3] ZHANG D H, LU H, WANG E, et al. Toxic myopathy following monensin exposure: A case report with 12 year follow-up[J]. Int J Clin Exp Med, 2018, 11(5): 5390–5393.

[4] ROILA R, BRANCIARI R, PECORELLI I, et al. Occurrence and residue concentration of coccidiostats in feed and food of animal origin; human exposure assessment[J]. Foods, 2019, 8(10): 477.
[5] 王伟,李晓芹, 胡文涛,等. 动物源性食品中兽药残留检测技术研究进展[J]. 食品工业, 2023, 44(12): 229–236. [WANG W, LI X Q, HU W T et al. Research progress on detection technology of veterinary drug residues in animal derived food[J]. Food Industry, 2023, 44(12): 229–236.]

[6] 胡京枝,尚兵,刘进玺,等. 抗球虫药检测技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报,2022,13(9):2825-2833. [HU J Z, SHANG B, LIU J X, et al. Research progress on detection technology of anticoccidial drugs[J]. Journal of Food Safety and Quality Inspection, 2022, 13(9): 2825-2833.]

[7] 韩鸿飞,程林丽,黄家模,等.4种饲料及1种饲料添加剂中 拉沙洛西钠的高效液相色谱检测方法优化[J].饲料工业,2021, 42(22):60-64. [HAN HF, CHENG L L, HUANG J M, et al. Optimization of high performance liquid chromatography detection method for lasalocid sodium in 4 feeds and 1 feed additive[J]. Feed Industry, 2021, 42(22): 60-64.]

[8] ZHAO X, WANG B, XIE K Z, et al. Development and comparison of HPLC-MS/MS and UPLC-MS/MS methods for determining eight coccidiostats in beef[J]. J Chromatogr B, 2018, 1087– 1088: 98–107.

[9] OLEJNIK M, JEDZINIAK P, SZPRENGIER J T. The determination of six ionophore coccidiostats in feed by liquid chromatography with post column derivatization and spec-trigonometric/fluorescence detection[J]. Thescientific World Journal, 2013, 2013: 763402.

[10] 杨小康, 张绘艳, 顾建红, 等. 拉沙里菌素单克隆抗体的研制 及间接竞争 ELISA 检测方法的建立[J]. 中国畜牧兽医, 2017, 44 (10): 3049-3056. [YANG X K, ZHANG H Y, GU J H, et al. Development of monoclonal antibodies against lasalocid and establishment of indirect competitive ELISA detection method[J]. China Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2017, 44(10): 3049-3056.]

[11] WATANABE H, SATAKE A, KIDO Y, et al. Development of monoclonal-based enzyme-linked immunosorbent assay and immunochromatographic assay for lasalocid and semduramicin[J]. Food Hygiene and Safety Science, 2004, 45(3): 107–112.

[12] 李春颖, 王红义, 陈高乐, 等. 表面增强拉曼光谱法在动物源 性食品安全检测中的应用[J]. 食品工业科技, 2023, 44(16): 434-443. [LICY, WANGHY, CHENGL, et al. Application of surface-enhanced Raman spectroscopy in the detection of animal-derived food safety[J]. Food Industry Science and Technology, 2023, 44(16): 434-443.]

[13] MANEESH K G, SEHOON C, SRIKANTH S, et al. pH-triggered SERS via modulated plasmonic coupling in individual bimetallic nanocobs[J]. Small, 2011, 7(9): 1192–1198.

[14] ANGELA C, DAISY M, FRANCESCO B, et al. Exploring the potentiality of a SERS-active pH nano-biosensor[J]. Frontiers in Chemistry, 2019, 7: 413.

[15] FRENS G. Controlled nucleation for regulation of particlesize in monodisperse gold suspensions [J]. Nature, 1972, 241(105): 20–22. [16] SHRIVASTAVA A, GUPTA B V. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods [J]. Chronicles of Young Scientists, 2011, 2(1): 21–25.

[17] 金梦铭, 程林丽, 陈可心, 等. 鸡饲料中拉沙洛西钠的测定 [J]. 饲料工业, 2019, 40(10): 57-59. [JIN M M, CHENG L L, CHEN K X, et al. Determination of Lasalocid sodium in chicken feed[J]. Feed Industry, 2019, 40(10): 57-59.]

[18] LI H, WANG X C, WEI S N, et al. Applications of hybridization chain reaction optical detection incorporating nanomaterials: A review[J]. Analytica Chimica Acta, 2022, 1190: 338930.

[19] HOU M J, HUANG Y, MA L W, et al. Compositional analysis of ternary and binary chemical mixtures by surface-enhanced Raman scattering at trace levels[J]. Nanoscale Research Letters, 2015, 10(1): 437.

[20] JIANG L, HASSAN M, ALI S, et al. Evolving trends in sersbased techniques for food quality and safety: A review[J]. Trends in Food Science and Technology, 2021, 112: 225–240.

[21] WANG Y Q, YAN B, CHEN L X. SERS tags: novel optical nanoprobes for bioanalysis[J]. Chemical Reviews, 2013, 113(3): 1391–1428.

[22] LI Z Y, YUAN J, CHEN Y, et al. Direct imaging of coreshell structure in silver-gold bimetallic nanoparticles[J]. Applied Physics Letters, 2005, 87(24): 19208–19212.

[23] LEE K M, YARBROUGH D, KOZMAN M M, et al. A rapid and convenient screening method for detection of restricted monensin, decoquinate, and lasalocid in animal feed by applying SERS and chemometrics[J]. Food and Chemical Toxicology, 2020, 144: 111633.

[24] ALI W H, DHEYAB A B, ALWAN M A, et al. Study the role of mud-like psi morphologies on the performance of aunps sers sensor for efficient detection of amoxicillin[J]. 8TH International Conference on Applied Science and Technology, 2020, 2290: 050061.

[25] MALYSHEV D, OBERG R, LANDSTROM L, et al. pH-induced changes in Raman, UV-vis absorbance, and fluorescence spectra of dipicolinic acid (DPA)[J]. Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2022, 271: 120869.

[26] AZIZI B S. Investigation of metallic silver nanoparticles through UV-vis and optical micrograph techniques [J]. International Journal of Electrochemical Science, 2017, 12(1): 363–373.

[27] CHAKRABORTI S, BASU R N, PANDA S K. Vertically aligned silicon nanowire array decorated by Ag or Au nanoparticles as SERS substrate for bio-molecular detection [J]. Plasmonics, 2018, 13: 1057–1080.

[28] HIDI I J, HEIDLER J, WEBER K, et al. Ciprofloxacin: pHdependent SERS signal and its detection in spiked river water using LoC-SERS[J]. Anal Bioanal Chem, 2016, 408; 8393–8401.

[29] ZHANG L, ZHAO Q Q, JIANG Z T, et al. Recent progress of Sers nanoprobe for pH detecting and its application in biological imaging[J]. Biosensors, 2021, 11(8): 3–5.

[30] GUHLKE M, HEINER Z, KNEIPP J. Combined near-infrared excited sehrs and Sers spectra of pH sensors using silver nanostructures[J]. Physical Chemistry Chemical Physics, 2015, 17 (39): 26093–26100.

[31] DUBOIS M, PIERRET G, DELAHAUT P. Efficient and sensitive detection of residues of nine coccidiostats in egg and muscle by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography B, 2004, 813(1): 181–189.