

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2016.12.2016042502

江新泽, 常兴, 李原婷, 等. 传感器在抗生素检测中的研究进展[J]. 环境化学, 2016, 35(12): 2491-2500.

JIANG Xinze, CHANG Xing, LI Yuanting, et al. Research progress on sensors in detection of antibiotics[J]. Environmental Chemistry, 2016, 35(12): 2491-2500.

传感器在抗生素检测中的研究进展*

江新泽 常 兴 李原婷** 韩 生

(上海应用技术大学化学与环境工程学院, 上海, 201418)

摘 要 抗生素滥用所造成的环境污染及食品安全问题日益受到关注. 传感器具有灵敏度高、选择性好、易微型化和样品消耗少等优点, 已被广泛用于抗生素的分析检测. 本文介绍了抗生素的污染现状和主要检测方法, 着重阐述了电化学传感器、光学传感器在抗生素检测中的最新研究成果, 并对未来研究进行了展望.

关键词 抗生素, 传感器, 分析检测, 研究进展.

Research progress on sensors in detection of antibiotics

JIANG Xinze CHANG Xing LI Yuanting** HAN Sheng

(Shanghai Institute of Technology, Shanghai, 201418, China)

Abstract: Environmental pollution and food safety issues caused by the abuse of antibiotics have gained increasing attention. Sensors have been widely applied in analysis and detection of antibiotics due to their excellent sensitivity, high selectivity, easy miniaturization and low sample consumption. This paper summarizes the pollution situation and the main detection methods of antibiotics. The latest researches are highlighted on the electrochemical sensors and optical sensors in the detection of antibiotics. It is suggested that the development of new types of sensors needs to be further pursued for antibiotics detection in the future research.

Keywords: antibiotics, sensors, analysis and detection, research progress.

抗生素滥用已成为全球关注的问题. 由于其能导致细菌耐药性, 且在环境水体中难以被微生物降解, 严重威胁生态环境及人类健康^[1-3]. 近年来, 我国地表水、地下水甚至儿童尿液中抗生素药物不断被检出, 使得研究人员纷纷致力于环境中抗生素的检测及开发新的抗生素分析方法. 抗生素种类繁多, 在环境及食品中的残留量往往较低, 因此建立简单快速、灵敏度高、选择性好的检测方法十分必要^[4]. 传统的抗生素检测常用高效液相色谱法^[5]、气相色谱-质谱联用^[6]、液相色谱-质谱联用^[7]等方法. 这些检测方法虽然准确度高, 但是大多具有样品前处理繁琐、检测时间长、成本高、仪器价格昂贵、需要专业技术人员维护等缺点, 难以适应抗生素检测的发展需求. 而传感器检测方法因具有灵敏度高、响应快、选择性好、操作简便且成本低等优点而受到广泛关注^[8].

本文综述了传感器在抗生素分析检测中的最新研究成果及应用, 并对其未来研究与发展进行了展望, 进而为该类污染物的污染监测与控制提供依据.

2016 年 4 月 25 日收稿 (Received: April 25, 2016).

* 上海高校青年教师培养资助计划 (ZZyy15097) 和上海应用技术大学引进人才基金 (YJ2015-10) 资助.

Supported by Scientific Research Foundation of SMEC (ZZyy15097) and SIT (YJ2015-10).

** 通讯联系人, Tel: 021-60873241, E-mail: liyuanting@sit.edu.cn

Corresponding author, Tel: 021-60873241, E-mail: liyuanting@sit.edu.cn

1 电化学传感器 (Electrochemical sensors)

电化学传感器是一种以敏感材料作为识别元件,利用待测物质与识别元件结合后所产生的电化学特征信号进行分析检测的装置^[9].由于其灵敏度高、分析速度快、操作简便、易于集成和微型化、制作成本低廉等特点^[10],电化学传感器已经被广泛应用于抗生素的检测研究中.

1.1 纳米电化学传感器

电化学传感器的灵敏度、选择性等参数取决于识别元件的性能.纳米材料由于其特殊的物理化学特性,产生了许多不同于传统材料的优异性能,如催化活性高、比表面积大、吸附能力强等,因而在电化学传感界面构筑方面具有重要应用^[11].碳纳米材料、金属纳米颗粒和纳米金属氧化物等多种性能独特、导电性优异、信号放大能力强的纳米材料逐渐被引入电化学传感器中^[12].

1.1.1 碳纳米材料电化学传感器

由于碳纳米材料具有大比表面积、高导电率和良好的电催化性能,已被广泛用于电化学传感器的制备^[13].其中,碳纳米管和石墨烯更是研究的热点.

Moraes 等^[14]制备了一种基于垂直排列的单壁碳纳米管(SWCNTs)电化学传感器,并用于左氧氟沙星的检测.该传感器利用 π - π 堆积作用将单链DNA(ssDNA)与SWCNTs进行杂化后,自组装于金电极表面.该有序组装的表面对于左氧氟沙星的电氧化行为展现了良好的选择性和较高的电催化活性,检测限达到 $75.2 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$.该电化学传感器已被成功应用于尿液中左氧氟沙星的检测.

然而单一组分的碳纳米材料无法完全满足电化学检测的需求,并且常规方法制备的碳纳米材料往往存在一定缺陷,其在溶剂中的分散性也限制了其在电化学传感器制备中的应用.因此,通常需要对碳纳米材料进行改性和功能化,或者与其它功能性纳米材料复合,改善碳纳米材料的电化学性质,拓展其在电化学传感领域的应用^[15].

Borowiec 等^[16]合成了一种氮掺杂石墨烯修饰的纳米金复合材料(Au/N-G),滴涂于玻碳电极表面.氯霉素在该电化学传感器上的电化学行为表明Au/N-G具有良好的电子传递能力,有效提高了氯霉素检测的伏安响应,检测限为 $0.59 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$.该Au/N-G电极制备过程简单快速,且具有良好的重复性与稳定性.在实际样品的检测中,该传感器对氯霉素滴眼液中氯霉素含量的检测结果($2.05 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)与传统的HPLC法($2.07 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)一致.

1.1.2 金属纳米颗粒电化学传感器

金属纳米颗粒由于具有极佳的比表面积,导致活性催化位点数量增加,促进待测分子与电极之间的电子转移;同时,金属纳米颗粒能为生物活性分子提供适宜的微环境,从而有效放大电化学传感器的分析信号^[17].

Asadollahi-Baboli 和 Mani-Varnosfaderani^[18]设计了一种半胱氨酸自组装纳米金修饰的丝网印刷电化学传感器,可对四环素和头孢克肟进行快速同时测定.半胱氨酸在纳米金颗粒上稳定、有序、致密的组装提高了传感器的选择性和灵敏度,缩短了检测的响应时间.结合主成分和人工神经网络工具分析得出最佳条件,应用方波伏安法在此条件下分别实现了对尿样、血清以及牛奶中四环素和头孢克肟的快速同时检测.此外,丝网印刷电极(SPE)微型化、多功能性、成本低和可一次性使用等优点^[19],拓宽了该传感器在实际样品检测中的应用.

1.1.3 纳米金属氧化物电化学传感器

纳米金属氧化物通常具有化学惰性、热稳定性好、毒性低等优点,利用其大的比表面积与良好的生物相容性,可以作为优异的电极固定材料^[20].常见的金属氧化物纳米材料有 Fe_3O_4 、 ZnO 、 TiO_2 等.

Zhang 等^[21]构建了一种基于 Fe_3O_4 磁性纳米颗粒修饰的电化学传感器用于尼美舒利的检测.该传感器对尼美舒利的电化学还原展示出显著的电催化和信号增强效应,与裸电极相比,尼美舒利在该电化学传感器上的还原峰电位发生正移,峰电流增加3倍.方法的检测限为 $1.3 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,与紫外吸收光谱法检测结果一致.

1.2 电化学酶生物传感器

电化学酶生物传感器以酶作为识别元件,将底物与酶相互作用的高度特异性与电化学分析功能结合.按输出信号不同可将电化学酶生物传感器分为电位型和电流型两类.尽管酶与底物相互作用的特异

性高,但是酶容易受射线、高温、剧烈 pH 变化、表面活性剂、重金属盐等理化因素的影响,引起酶结构的改变,从而使其活性降低甚至失活.因而酶的固定化是电化学传感器制备的关键步骤,对保持酶在传感器表面的活性和稳定性具有重要的影响^[22].常用的酶固定方法有吸附法、交联法、自组装法和包埋法等^[23].

1.2.1 电位型酶生物传感器

Ismail 等^[24]将导电聚合物聚吡咯(PPy)作为青霉素酶的固定基底,利用包埋法分别制备了 PPy-青霉素酶单层膜和双层膜的电位型传感器用于青霉素的检测. PPy 低的氧化电位能加速酶的固定,有利于 PPy 膜的电聚合.相较于单层膜,双层膜传感器的构型有效提高了酶与电极之间的电子转移效率,因而极大提高了传感器的灵敏度.该双层膜传感器被应用于牛奶样品中青霉素残留的测定,结果表明样品中青霉素浓度低于 $5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时可以被传感器成功检测;当青霉素浓度高于 $5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,传感器的实验条件需要被进一步优化.为此,该课题组^[25]将青霉素酶与聚乙烯醇(PVA)以及牛血清白蛋白(BSA)进行交联.PVA 作为一种水溶性多羟基聚合物,具有良好的生物相容性和耐腐蚀性,因而能保持酶和蛋白的生物活性.制备得到的该青霉素酶实现了高浓度青霉素($10\text{--}20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的定量检测.

1.2.2 电流型酶生物传感器

Prado 等^[26]将 β -内酰胺酶改性的碳糊以及酞菁钴(CoPc)混合后修饰于电极表面,成功制备了一种“第二代”电化学酶传感器选择性检测青霉素 G.其中,CoPc 作为电子传递介质参与了青霉素 G 的还原反应. β -内酰胺酶的化学还原促进了青霉素 G 的氧化反应,并伴随 CoPc 的氧化而不改变酶的原始状态.利用差示脉冲伏安法(DPV)对不同浓度的青霉素 G 进行检测,所得电流响应与青霉素 G 浓度线性相关,检测限为 $79.0\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$.

为了进一步提高传感器对 β -内酰胺类抗生素的响应,Wu 等^[27]将苏木因、离子液体(ILs)以及青霉素酶预吸附在单层石墨烯(SGN)上,构成一种层层组装膜(LbL)的结构.在电极表面,青霉素酶催化青霉素水解为青霉噻唑酸,此过程中 H^+ 被释放导致 pH 的变化(图 1).苏木因则作为 pH 指示剂,通过监测其电流变化进行青霉素浓度的检测.结合了酶的高度特异性、石墨烯优异的导电性能以及 ILs 良好的生物相容性和膜稳定性,该酶传感器能实现 $10^{-13}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度青霉素的检测.

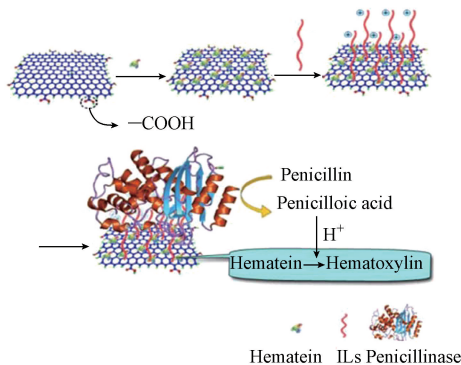


图 1 层层自组合法制备 SGN-苏木因/离子液体/青霉素酶生物传感器示意图及检测原理^[27]

Fig.1 The representation of the LbL setup for SGN-hematein/ILs/penicillinase biosensor and its operation principle^[27]

1.3 化学酶免疫传感器

免疫传感器是将免疫反应与传感技术相结合的一种新型生物传感器,利用免疫测定法的高亲和性和特异性将抗体(或抗原)固定于传感界面上,通过检测吸附发生时所产生的物理、化学、电学或光学变化达到对分析物的检测效果^[28].按工作原理可以分为安培型、阻抗型、电位型等几类.

安培型免疫传感器应用最为广泛.其工作原理是利用电活性物质在恒电位条件下发生电化学氧化或还原反应所产生的电流与电极表面待测物浓度的关系进行检测.Wei 等^[29]制备了一种基于石墨烯片(GS)-全氟磺酸(NF)/硫堇(TH)/铂(Pt)纳米颗粒修饰的玻碳电极(GCE),并通过静电吸附作用将卡那霉素的抗体固定到此 GS-NF/TH/Pt/GCE 上制成无标记的安培免疫传感器,用于卡那霉素的灵敏检测.复合材料优异的电子传递能力以及产生的协同效应极大提高了电子传递介质 TH 的电活性,因而该

传感器对卡那霉素的检测范围为 $0.01\text{--}12.0\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, 检测限可以达到 $5.74\text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 水平. 将其用于动物食品的检测中也表现出很高的选择性和稳定性.

Kim 等^[30] 设计了一种基于单链抗体 (scFv) 功能化的碳纳米管传感器用于选择性检测单一或某一类抗生素 (图 2). 该课题组通过噬菌体筛选出 A2 和 F9 两种单链抗体, 其中 A2 对恩诺沙星具有特异性响应, F9 则能特异性结合氟喹诺酮类抗生素. 这种家族选择性检测能力使得该传感器能够被广泛应用于药物、食品以及环境监测中. 但对于不同浓度的抗生素, 该传感器响应范围比较窄, 不利于定量检测, 更适合对抗生素进行“开关型” (on-off type) 的灵敏检测.

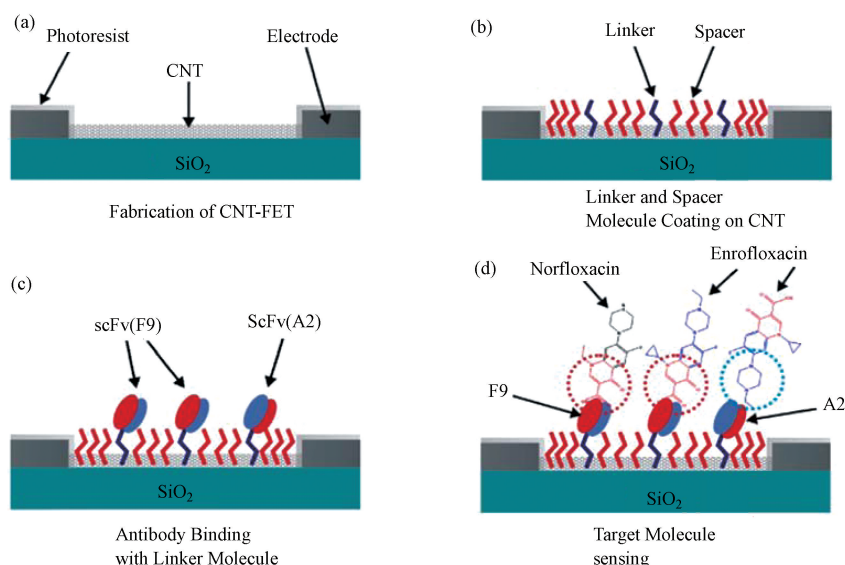


图 2 基于碳纳米管抗生素传感器的制备过程及传感机制示意图^[30]

(a) 碳纳米管传感器的制备, (b) 碳纳米管的表面修饰, (c) 将单链抗体固定在连接剂分子上, (d) 传感实验

Fig.2 Schematic diagram showing the fabrication and the sensing mechanism of antibiotics sensors based on CNTs^[30]

(a) Fabrication of a carbon nanotube-based sensor transducer, (b) The surface modification of CNTs,
(c) Immobilization of an antibody (scFv) on linker molecules, (d) Sensing experiments

Wu 等^[31] 制备了一种以滤纸为基底的电化学免疫传感器测定牛奶样品中的氨基糖苷类抗生素残留. 分散良好的单壁碳纳米管 (SWNTs) 与新霉素抗体混合后, 将滤纸浸渍在该复合涂层溶液中制得具有高导电性和特异性的传感器. 这种纸基底传感器制作成本低廉、制备过程简单, 且能够进行批量生产, 有望用于多种抗生素的同时检测.

1.4 电化学适体传感器

由于多数抗生素属于半抗原, 导致相应抗体的制备十分困难且昂贵, 限制了免疫分析在抗生素检测中的应用. 基于上述原因, 适体成为了抗体的优秀替代物. 相比于抗体, 适体多为单链 DNA 或 RNA, 具有更高的化学稳定性, 易于体外合成, 并在不影响与目标分子结合的基础上能够承受重要的构象改变^[32], 这为具有高灵敏度和选择性的新型抗生素传感器的设计提供了更广阔的发展空间.

Zhou 等^[33] 制备了一种简单的四环素电化学适体传感器. 多壁碳纳米管 (MWCNTs) 被滴加到玻碳电极上用于抗四环素适体的固定. 在最佳实验条件下得出对四环素的检测限为 $5.0\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 但检测时间需要 30 min . 为了进一步缩短检测时间, Chen 等^[34] 开发了一种无标记电化学适体传感器对四环素进行特异性检测. 其中生物识别元件四环素结合适体是通过等温滴定量热法 (ITC) 从带有 13 个碱基的单链 DNA 随机序列中筛选得到. 并通过电化学阻抗研究了四环素与适体间的相互作用. 该适体传感器能够对四环素进行灵敏检测, 检测限为 $1.0\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, 检测时间仅需要 15 min .

Yadav 等^[35] 设计了一种灵敏度高、选择性好的电化学生物传感器用于氯霉素 (CAP) 的检测, 并在体外模型和药物样品中探索氯霉素的直接电子转移过程. 该生物传感器将 CAP 与适体选择性结合, 固定于聚 (4-氨基-3-羟基萘磺酸) 改性的热解石墨电极表面. CAP 在此电极上展现了一个良好的还原峰, 检测的线性范围在 $0.1\text{--}2500\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间, 检测限可达 $0.02\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$. 该方法在其他常见抗生素和蛋

白质存在的实际样品中对 CAP 也可以获得良好的检测效果。

Schoukroun-Barnes 等^[36]设计了一种基于结构转换适体的高选择性、高特异性、高灵敏度的折叠型电化学传感器。传感器的选择性由与电极结合的 RNA 或 DNA 适体的生物识别元素决定。传感器的信号由目标物结合后适体的构象和柔韧性变化导致的电子转移效率决定(图 3)。基于此,研究者通过优化 RNA 适体序列和电化学信号,得到构象变化较大的组合,开发了包括妥布霉素在内的多种电化学传感器。

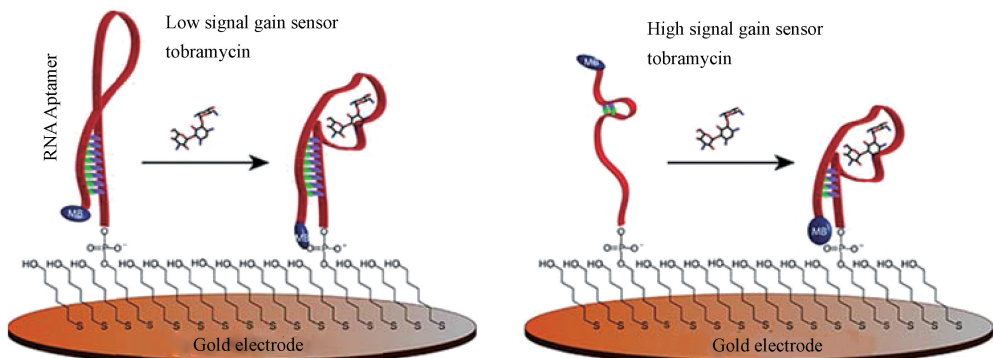


图 3 基于结构转换适体的电化学传感器工作原理^[36]

Fig.3 The working principle of structure-switching aptamers-based electrochemical sensors^[36]

2 光学传感器(Optical sensors)

光学传感器是以光信号为检测对象的一类传感器,其换能器多是利用分光、荧光、反射、折射等光化学性质,其中利用光吸收以及荧光现象的传感器较为常见。最近,有研究者将传感器与拉曼散射以及等离子体共振散射技术结合进行抗生素检测的研究,成果显著。

2.1 表面等离子体共振(SPR)传感器

SPR 传感器是利用生物分子间的结合引起传感器表面质量的增加,导致光折射率的变化,从而检测生物分子间的相互作用,具有无损伤、无须标记、免分离、可实时监测、可重复性使用等优点^[37]。针对牛奶中的抗生素痕量检测,刘瑾等^[38]引入了可与抗体发生特异性作用的二次抗体来提高 SPR 传感器的响应信号。利用此方法对卡那霉素、链霉素的水溶液进行了放大检测,获得了比竞争法更小的检测限(LOD)值,两种残留物的 LOD 值分别为 $12 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $24 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$,大幅提高了牛奶中抗生素检测的灵敏度。

Fernandez 等^[39]设计了一种无标记便携式多通道 SPR 免疫传感器(图 4),用于牛奶样品中抗生素残留的在线检测。该传感器是由用氟喹酮类抗生素半抗原蛋白功能化的金芯片、用于记录识别和校准信息的储存芯片、综合检测系统、聚丙烯制成的具有 6 个独立通道的流动池以及用于固定流动池的流块组件和电控箱组成,可对 3 类不同的抗生素样品进行同时分析检测。

2.2 荧光适体传感器

荧光适体传感器主要利用荧光基团对适体进行标记,通过目标分子和适体结合后产生的荧光偏振或荧光强度的改变达到检测目标分子的目的。基于此,Wu 等^[40]利用与适体结合的磁性纳米粒子作为识别元件,将适体磁性纳米粒子与变频纳米粒子修饰的互补 DNA 杂交形成双链结构,作为高灵敏的信标分子。当待测物 CAP 加入后,CAP 优先与适体结合,之后分离出互补 DNA,从而降低了磁性纳米粒子表面的荧光信号。该方法的检测灵敏度可以达到 $0.01 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$,有效提高了 CAP 检测的灵敏度。此传感器可成功用于牛奶样品中 CAP 的检测,与市售酶联免疫测定方法(ELISA)结果基本一致。

2.3 光电适体传感器

光电适体传感器结合了光学方法与电化学传感器的优点,主要利用光响应材料与适体捕捉目标分子后光电流信号的增强进行分析。Li 等^[41]设计了首个高灵敏、高选择性检测卡那霉素的光电适体传感器(PEC)。该传感器将石墨烯与水分散类石墨氮化碳掺杂(GO/w-g-C₃N₄)作为光活性材料,适体作为生

物识别元件.一方面,w-g-C3N4 在可见光照射下具有很高的光催化活性,而 GO 的掺杂增强了光响应效果;另一方面,GO/w-g-C3N4 巨大的比表面积和 π 共轭结构可通过 π - π 堆积作用将卡那霉素-DNA 适体固定在传感器表面.优化条件下,传感器对卡那霉素的检测展现了良好的选择性、重现性和稳定性,检测限为 $0.2\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$.

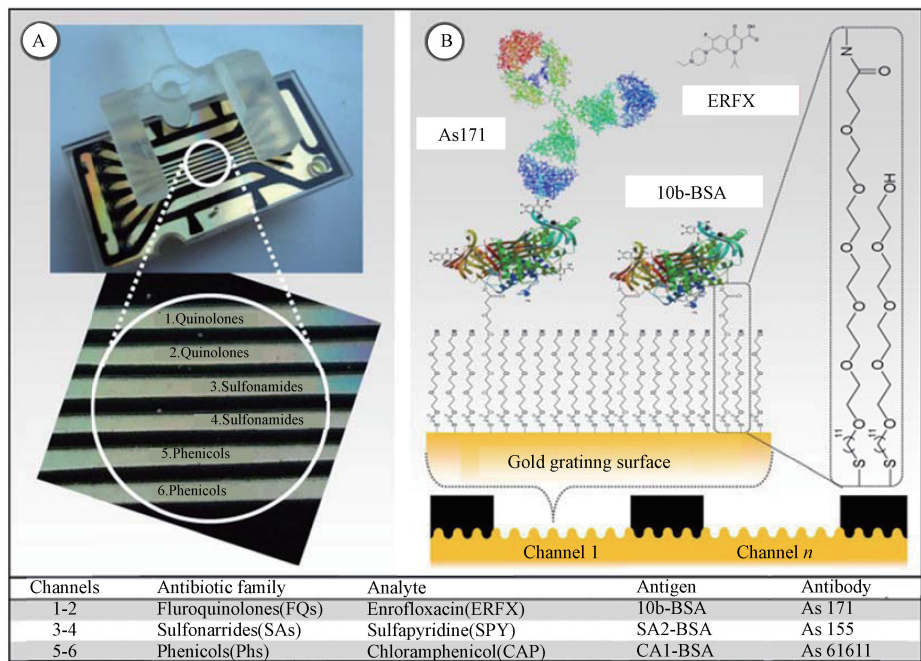


图 4 无标记便携式多通道 SPR 免疫传感器装置示意图及检测原理^[39]

Fig.4 The working principle of a label-free portable multichannel surface plasmon resonance immunosensor^[39]

2.4 比色型适体传感器

比色型传感器主要以紫外可见光为输出信号,也可不借助任何仪器通过肉眼直接识别.Chen 等^[42]利用 DNA 适体和未经改性的金纳米粒子,制备了一种通过肉眼可直接观察并可通过紫外可见分光光度计检测金纳米粒子(AuNPs)颜色变化的适体传感器,进行无标记磺胺地索辛(SDM)的检测.其作用原理是将 DNA 适体通过静电作用吸附到 AuNPs 表面,当加入 SDM 时,适体与其结合产生结构变化导致适体与 AuNPs 分离,诱发 AuNPs 的聚合,从而使 AuNPs 从红色变为蓝紫色,可进行肉眼直接观察.该工作首次研究了 AuNPs 的 pH 值对基于 DNA 适体-AuNPs 无标记检测 SDM 灵敏度的影响,得到最佳条件为 pH=8.0、适体和 NaCl 的浓度分别为 $2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$.方法对 SDM 的检测限为 $50\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$,此结果远低于中国和欧盟对动物组织中 SDM 最大残留量($100\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)的要求.

Wang 等^[43]制备了一种基于间接酶联适体检测方法的比色适体传感器.通过指数富集的配基系统进化技术(SELEX)筛选出 76 链节的单链 DNA 适体并用生物素对其改性.该传感器灵敏度高,不需要复杂的样品提取步骤,将其应用于检测蜂蜜中的四环素残留,检测限为 $9.6\times 10^{-3}\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$.Kim 等^[44]通过 SELEX 法选择出 5 种适体作为土霉素识别元件,其中,OTC3 与其他结构相比对土霉素表现出更强的亲和力,因此特异性更强.该方法对土霉素的检测限为 $12.3\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

2.5 表面增强拉曼光谱(SERS)传感器

SERS 是一种表征吸附于粗糙贵金属表面分子拉曼信号的高灵敏度分析方法.这种表面增强效应可以使得拉曼信号增强最高达 15 个数量级.SERS 方法应用于抗生素残留检测具有信息含量丰富、灵敏度高、无需样品预处理、原位实时、操作简单、无污染等优点^[45].

Lee 等^[46]制备了双锥形石墨烯-纳米金 SERS 基底用于牛奶样品中四环素残留的测定.该基底利用激光诱导冲击压力将石墨烯原子层光机械夹压在双锥形纳米金中,长度约为 $95\pm 3\text{ nm}$,最尖端处小于 10 nm .此特殊结构导致 SERS 检测灵敏度高,对四环素的检测可达 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 级别.

Chen 等^[47]制备了一种纳米银涂覆的多孔阳极氧化铝 SERS 基底检测痕量的氯胺苯醇.在多孔阳极

氧化铝(AAO)合成过程中产生的有序铝模板作为纳米银膜涂覆基底,形成二维有序 SERS 纳米结构.制备的 SERS 基底增强因子约为 2×10^4 ,对氯胺苯醇的检测限为 $7.5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$.

Li 等^[48]制备了可抛型纳米银-石墨烯 SERS 基底,利用静电富集技术可选择性分离不同极性的物质,而 SERS 技术可获得目标分子的“指纹”信息,将静电富集与 SERS 技术联用进行水中极性抗生素分子的分离检测(图 5),可达到原位在线分离富集检测的效果.

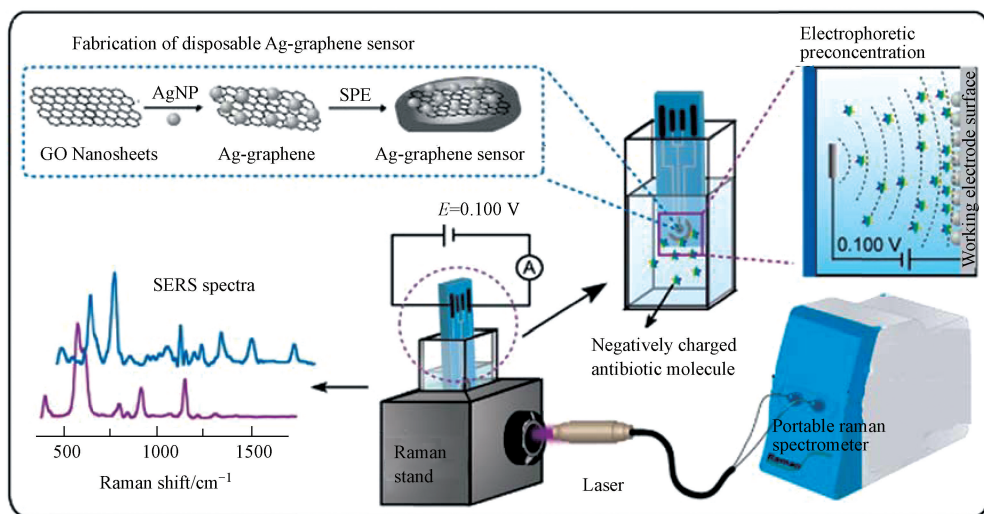


图 5 一次性纳米银-石墨烯 SERS 传感器检测水中极性抗生素分子示意图^[48]

Fig.5 Schematic representation of the disposable Ag-graphene sensor used for the detection of polar antibiotics in water^[48]

3 其他类型传感器 (Other sensor types)

3.1 微重量免疫传感器

微重量免疫传感器结合了压电响应的高灵敏度和免疫反应的高特异性.其检测原理是目标物在识别区发生选择性结合时会引起传感器表面质量和界面特性的改变,这些改变通过振荡频率的位移来识别并得出检测结果.

Sun 等^[49]开发了一种三维传感膜功能化的石英晶体微天平 (QCM) 生物传感器用于检测氯霉素.该传感器先将聚苯乙烯纤维静电沉积于电极表面产生微米级的超细纤维膜,并通过 3-巯基丙酸将抗体自组装到聚苯乙烯纤维膜上,这样不但增加了电极的比表面积,而且还增加了传感器的灵敏度,对氯霉素的检测线性范围为 $5\text{—}100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,检测限为 $5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$.

3.2 悬臂阵列型传感器

悬臂式传感器是由多个传感电极排列组成的悬臂阵列,其中悬臂阵列是由传感悬臂和参考悬臂组成的.这样的结构可以直接检测单个悬臂的偏转,随后通过测定传感/参考悬臂对的偏转差异从而得出检测结果.

Hou 等^[50]提出了基于微加工悬臂阵列适体传感器用于特异性检测 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 级的土霉素 (OTC),其阵列中的感应悬臂是由 OTC 的特异性适体自组装膜作为识别分子,参考悬臂由 6-巯基-1-己醇自组装膜功能化用于消除环境的影响.该传感器对土霉素的线性检测范围在 $1.0\text{—}100 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 间,检测限为 $0.2 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$.

Bai 等^[51]设计了基于适体的悬臂阵列传感器进行卡那霉素的无标记检测.该传感器的传感悬臂是用功能化的卡那霉素适体作为识别分子,参考悬臂用 6-巯基-1-己醇修饰用于消除环境对悬臂的干扰.卡那霉素与适体结合时会引起传感器表面应力的变化,从而进行检测.该传感器还表现出对其他抗生素如新霉素、核糖霉素和氯霉素良好的选择性.

3.3 分子印迹传感器

分子印迹技术 (MIT),即获得尺寸大小、空间结构、结合位点与印迹分子完全匹配的高分子聚合物制备技术.除去印迹分子后,便在聚合物中留下了与印迹分子在尺寸大小、空间结构和结合位点互补的

立体孔穴,从而使合成的聚合物对印迹分子表现出高度的特异性和选择性识别能力,同时 MIT 技术还具有耐高温高压和酸碱以及易于保存等优点^[52]。

Zdunek 等^[53]制备了一种基于表面印迹纳米丝的光学传感器.该传感器用多孔氧化铝纳米丝为功能单体,以恩诺沙星为印迹分子,将纳米丝与目标分子加入到缓冲溶液中后再加入 Eu^{3+} 溶液形成 Eu^{3+} -恩诺沙星复合物,基于稀土离子的发光特性对抗生素进行检测,检测限可达 $0.58 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$.该传感器结合了纳米印迹聚合物和稀土离子的发光性质,提高了检测的选择性,克服了直接光学检测的局限性。

Kara 等^[54]设计了一种分子印迹技术和 SPR 结合的纳米传感器用于实时监测氯霉素(CAP).该传感器通过细乳液聚合法制备平均粒径约为 52 nm 的 CAP 印迹纳米粒子,并将纳米粒子通过温控蒸发法附着在传感器表面上,得出其对氯霉素的检测限为 $40 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1}$.研究者还用与 CAP 具有相似化学结构的氟苯尼考和甲砒氯霉素对传感器的选择性进行了考察,结果显示传感器对 CAP 具有良好的选择性。

Gao 等^[55]利用 SERS 技术快速、灵敏、非破坏性的优点,将分子印迹与 SERS 技术结合,制备了一种氯霉素分子印迹 SERS 传感器.该研究工作以丙烯酰胺为功能单体,氯霉素为模板分子,通过“拟”沉淀聚合形成印迹聚合物,所形成的聚合物呈均匀的细粉末状,这样不但节省了大量的研磨时间,还可能避免特异性位点的损失.之后将洗脱氯霉素后的溶液直接沉积在表面经过处理形成银枝状晶体的加拿大一分便士上,吹干后备用.由于该传感器基底为一分便士,成本低廉,样品前处理过程简单,对氯霉素有良好的检测效果。

4 结论与展望(Conclusions and prospects)

针对目前的研究现状,在实际的抗生素检测应用中,还有诸多问题需要探索和改进。

(1)灵敏度和稳定性:抗生素在样品中的残留量低对传感器的检测灵敏度提出了很高的要求.并且,由于生物分子的引入,其固有的结构易变性也导致传感器的稳定性变差.而传感器检测的灵敏度和稳定性受到固定方法和固定材料的限制,因此探索新型的固定材料和固定方法仍旧是传感器制备的研究热点。

(2)选择性:抗生素检测中样品的复杂性和多样性是限制传感器在实际检测应用中的主要因素.要解决这一问题除了依靠对传感元件的选择和改进,还可通过建立一套优化系统,如流动注射法,来得到高选择性的检测结果。

(3)操作及成本简化:目前的传感器大多数只能检测一种特定的抗生素,可以通过多种检测方法联用以达到同时检测多种抗生素的目的,提高检测效率;同时,简化样品的前处理步骤,发展新型的电极介质,如丝网印刷电极,达到简化操作步骤,降低检测成本的目的。

(4)微型化和智能化:微电子技术和计算机技术的飞速发展传感器的微型化、智能化提供了广阔的空间.发展便携式、能适应现场快速检测要求的传感器器件,利用互联网实现数据的实时传输,可以为抗生素类污染物的实时在线监测与控制提供依据。

抗生素滥用导致的抗生素残留问题与环境保护、食品安全、农业生产密切相关,未来传感器在抗生素检测中的应用趋势是达到原位在线、高灵敏、高特异性实时检测实际样品中的抗生素残留.因此,开发新一代成本低、选择性好、灵敏度和稳定性高的传感器制备和检测方法依旧是今后研究的重点。

参考文献(References)

- [1] 高立红,史亚利,厉文辉,等. 抗生素环境行为及其环境效应研究进展[J].环境化学, 2013, 32(9): 1619-1633.
GAO L H, SHI Y L, LI W H, et al. Environmental behavior and impacts of antibiotics[J]. Environmental Chemistry, 2013, 34(3): 1619-1633(in Chinese).
- [2] 黄宏,李圆杏,杨红伟. 水环境中抗生素的光降解研究进展[J]. 环境化学, 2013, 32(7): 1335-1341.
HUANG H, LI Y X, YANG H W. Research progress on photodegradation of antibiotics in aqueous solution[J]. Environmental Chemistry, 2013, 32(7): 1335-1341(in Chinese).
- [3] 章强,辛琦,朱静敏. 中国主要水域抗生素污染现状及其生态环境效应研究进展[J]. 环境化学, 2014, 33(7): 1075-1083.
ZHANG Q, XIN Q, ZHU J M. The antibiotic contaminations in the main water bodies in China and the associated environmental and human health impacts[J]. Environmental Chemistry, 2014, 33(7): 1075-1083(in Chinese).
- [4] TAGHDISI S M, DANESH N M, NAMEGHI M A, et al. A label-free fluorescent aptasensor for selective and sensitive detection of streptomycin in milk and blood serum[J]. Food Chemistry, 2016, 203:145-149.

- [5] CAMARA M, GALLEG0-PICO A, GARCINUNO R M, et al. An HPLC-DAD method for the simultaneous determination of nine β -lactam antibiotics in ewe milk[J]. Food Chemistry, 2013, 141(2): 829-834.
- [6] 李鹏, 邱月明, 蔡慧霞, 等. 气相色谱-质谱联用法测定动物组织中氯霉素、氟甲砜霉素和甲砜霉素的残留量[J]. 色谱, 2006, 24(1): 14-18.
- LI P, QIU Y M, CAI H X, et al. Simultaneous determination of chloramphenicol, thiamphenicol, and florfenicol residues in animal tissues by gas chromatography/mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2006, 24(1): 14-18(in Chinese).
- [7] ROBERT C, GILLARD N, BRASSEUR P, et al. Rapid multiresidue and multi-class screening for antibiotics and benzimidazoles in feed by ultra high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry[J]. Food Control, 2015, 50: 509-515.
- [8] 顿文涛, 李勉, 毕庆生, 等. 用于抗生素检测的生物传感器研究进展[J]. 生物技术通报, 2013, 6: 70-74.
- DUN W T, LI M, BI Q S, et al. Research progress on biosensors for antibiotic detection[J]. Biotechnology Bulletin, 2013, 6: 70-74(in Chinese).
- [9] 刘晓琴, 唐洁. 基于纳米界面电化学传感器的构建及其应用研究[J]. 应用化工, 2013, 42(4): 731-733.
- LIU X Q, TANG J. Research on electrochemical sensors based on nano-interface and its application[J]. Applied Chemical Industry, 2013, 42(4): 731-733(in Chinese).
- [10] Bakker E. Electrochemical sensors[J]. Analytical Chemistry, 2004, 76(12): 3285-3298.
- [11] 陈桂芳, 梁志强, 李根喜. 纳米材料用于构建新型电化学生物传感器的研究进展[J]. 生物物理学报, 2010, 26(8): 711-725.
- CHEN G F, LIANG Z Q, LI G X. Progress of electrochemical biosensors fabricated with nanomaterials[J]. Acta Biophysica Sinica, 2010, 26(8): 711-725(in Chinese).
- [12] 张喜梅, 陈玲, 李琳, 等. 纳米材料制备研究现状及其发展方向[J]. 现代化工, 2000, 20(7): 13-16.
- ZHANG X M, CHEN L, LI L, et al. Current research situation of nanomaterial preparation and its developing trend[J]. Modern Chemical Industry, 2000, 20(7): 13-16(in Chinese).
- [13] WANG Z, YU J, GUI R, et al. Carbon nanomaterials-based electrochemical aptasensors[J]. Biosensors & Bioelectronics, 2015, 79: 136-149.
- [14] MORAES F C, SILVA T A, CESARINO I, et al. Antibiotic detection in urine using electrochemical sensors based on vertically aligned carbon nanotubes[J]. Electroanalysis, 2013, 25(9): 2092-2099.
- [15] 刘皓楠, 刘艳. 碳纳米复合材料在电化学生物传感器中的研究进展[J]. 化学传感器, 2014, 34(3): 22-31.
- LIU H N, LIU Y. Applications of carbon nanocomposites in electrochemical biosensors[J]. Chemical Sensors, 2014, 34(3): 22-31(in Chinese).
- [16] BOROWIEC J, WANG R, ZHU L, et al. Synthesis of nitrogen-doped grapheme nanosheets decorated with gold nanoparticles as an improved sensor for electrochemical determination of chloramphenicol[J]. Electrochimica Acta, 2013, 99: 138-144.
- [17] SAHA K, AGASTI S S, KIM C, et al. Gold nanoparticles in chemical and biological sensing[J]. Chemical Reviews, 2012, 112(5): 2739-2779.
- [18] ASADOLLAHI-BABOLI M, MANI-VARNOSFADERANI A. Rapid and simultaneous determination of tetracycline and cefixime antibiotics by mean of gold nanoparticles-screen printed gold electrode and chemometrics tools[J]. Measurement, 2014, 47(1): 145-149.
- [19] 李原婷, 李大伟, 宋伟, 等. 多壁碳纳米管修饰丝网印刷电极同时检测水中苯二酚异构体的研究[J]. 环境科学, 2011, 32(2): 488-493.
- LI Y T, LI D W, SONG W, et al. Investigation on simultaneous determination of dihydroxybenzene isomers in water samples using multi-walled carbon nanotube modified screen-printed electrode[J]. Chinese Journal of Environmental Science, 2011, 32(2): 488-493(in Chinese).
- [20] WANG J. Nanoparticle-based electrochemical bioassays of proteins[J]. Electroanalysis, 2007, 19(19): 769-776.
- [21] ZHANG, J L, TAN X C, ZHAO D D, et al. Fe_3O_4 magnetic nanoparticles modified electrode as a sensor for determination of nimesulide[J]. Chemical Research in Chinese Universities, 2011, 27(4): 566-569.
- [22] LI Y, ZHANG L, LI M, et al. A disposable biosensor based on immobilization of laccase with silica spheres on the MWCNTs-doped screen-printed electrode[J]. Chemistry Central Journal, 2012, 6(1): 103.
- [23] 刘佳, 殷立峰, 代云容, 等. 电化学酶传感器在环境污染监测中的应用[J]. 化学进展, 2012, 24(1): 131-143.
- LIU J, YIN L F, DAI Y R, et al. Application of electrochemical enzyme biosensor in environmental pollution monitoring[J]. Progress in Chemistry, 2012, 24(1): 131-143(in Chinese).
- [24] ISMAIL F, ADELOJU S B, MOLINE A N. Fabrication of a single layer and bilayer potentiometric biosensors for penicillin by galvanostatic entrapment of penicillinase into polypyrrole films[J]. Electroanalysis, 2014, 26(12): 2607-2618.
- [25] ISMAIL F, ADELOJU S B. The use of poly(vinyl alcohol) to cross-link penicillinase for the fabrication of a penicillin potentiometric biosensor[J]. Electroanalysis, 2014, 26(12): 2701-2709.
- [26] PRADO T M D, FOGUEL M V, GONCALVES L M, et al. β -Lactamase-based biosensor for the electrochemical determination of benzylpenicillin in milk[J]. Sensors & Actuators B Chemical, 2015, 210(254): 254-258.
- [27] WU Y, TANG L, HUANG L, et al. A low detection limit penicillin biosensor based on single grapheme nanosheets preadsorbed with hematein/ionic liquids/penicillinase[J]. Materials Science & Engineering C, 2014, 39: 92-99.
- [28] 汤琳, 曾光明, 黄国和, 等. 免疫传感器用于环境中痕量有害物质检测的研究进展[J]. 环境科学, 2004, 25(4): 170-176.
- TANG L, ZENG G M, HUANG G H, et al. Study progress on determination of environmental trace toxicants by immunosensor[J]. Chinese Journal of Environmental Science, 2004, 25(4): 170-176(in Chinese).
- [29] WEI Q, ZHAO Y, DU B, et al. Ultrasensitive detection of kanamycin in animal derived foods by label-free electrochemical immunosensor[J]. Food Chemistry, 2012, 134(3): 1601-1606.

- [30] KIM B, LIM D, JIN H J, et al. Family-selective detection of antibiotics using antibody-functionalized carbon nanotube sensors[J]. *Sensors & Actuators B Chemical*, 2012, 166(10):193-199.
- [31] WU X, KUANG H, HAO C, et al. Paper supported immunosensor for detection of antibiotics[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2012, 33(1):309-312.
- [32] KIM Y J, KIM Y S, NIAZI J H, et al. Electrochemical aptasensor for tetracycline detection[J]. *Bioprocess & Biosystems Engineering*, 2010, 33(1):31-37.
- [33] ZHOU L, LI D, GAI L, et al. Electrochemical aptasensor for the detection of tetracycline with multi-walled carbon nanotubes amplification[J]. *Sensors & Actuators B Chemical*, 2012, 162(1):201-208.
- [34] CHEN D, YAO D, XIE C, et al. Development of an aptasensor for electrochemical detection of tetracycline[J]. *Food Control*, 2014, 42(3):109-115.
- [35] YADAV S K, AGRAWAL B, CHANDRA P, et al. *In vitro* chloramphenicol detection in a *Haemophilus influenza* model using an aptamer-polymer based electrochemical biosensor[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2014, 55(4):337-342.
- [36] SCHOUKROUN-BARNES L R, WAGAN S, WHITE R J, et al. Enhancing the analytical performance of electrochemical RNA aptamer-based sensors for sensitive detection of aminoglycoside antibiotics[J]. *Analytical Chemistry*, 2014, 86(2):1131-1137.
- [37] KAZUYPSHI K, KOJI S. Theoretical understanding of an absorption-based surface plasmon resonance sensor based on Kretschmann's theory[J]. *Analytical Chemistry*, 2002, 74(3):696-701.
- [38] 刘瑾, 王文, 张婉洁, 等. 基于表面等离子体共振传感器信号放大的抗生素残留检测[J]. *分析实验室*, 2012, 31(11):5-9.
- LIU J, WANG W, ZHANG W J, et al. Detection of antibiotic residues using signal amplification assay based on SPR sensors[J]. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 2012, 31(11):5-9(in Chinese).
- [39] FERNANDEZ F, HEGNEROVA K, PILIARIK M, et al. A label-free and portable multichannel surface plasmon resonance immunesensor for on site analysis of antibiotics in milk samples[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2010, 26(4):1231-1238.
- [40] WU S, ZHANG H, SHI Z, et al. Aptamer-based fluorescence biosensor for chloramphenicol determination using upconversion nanoparticles[J]. *Food Control*, 2015, 50(4):597-604.
- [41] LI R Z, LIU Y, CHENG L, et al. Photoelectrochemical aptasensing of kanamycin using visible light-activated carbon nitride and grapheneoxide nanocomposites[J]. *Analytical Chemistry*, 2014, 86(19):9372-9375.
- [42] CHEN A, JIANG X, ZHANG W, et al. High sensitive rapid visual detection of sulfadimethoxine by label-free aptasensor[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2013, 42(1):419-425.
- [43] WANG S, YONG W, LIU J, et al. Development of an indirect competitive assay-based aptasensor for highly sensitive detection of tetracycline residue in honey[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2014, 57(21):192-198.
- [44] KIM C H, LEE L P, MIN J R, et al. An indirect competitive assay-based aptasensor for detection of oxytetracycline in milk[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2014, 51(1):426-430.
- [45] 马君, 孔德地, 韩晓红, 等. 应用银溶胶膜探测水中抗生素的表面增强拉曼光谱研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2013, 33(10):2688-2693.
- MA J, KONG D D, HAN X H, et al. Detection of antibiotics in water using silver colloid films as substrate of surface-enhanced Raman scattering[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2013, 33(10):2688-2693(in Chinese).
- [46] LEE S, KUMAR P, HU Y, et al. Graphene laminated gold bipyramids as sensitivedetection platforms for antibiotic molecules[J]. *Chemical Communications*, 2015, 51(85):15494-15497.
- [47] CHEN J, FENG S L, GAO F, et al. Fabrication of SERS-active substrates using silvernanofilm-coated porous anodic aluminum oxidefor detection of antibiotics[J]. *Journal of Food Science*, 2015, 82(1):162.
- [48] LI Y T, QU L L, LI D W, et al. Rapid and sensitive *in-situ* detection of polar antibiotics in water using a disposable Ag-graphene sensor based on electrostatic preconcentration and surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2013, 43:94-100.
- [49] SUN M, DING B, LIN J, et al. Three-dimensional sensing membrane functionalized quartz crystal microbalance biosensor for chloramphenicol detection in real time[J]. *Sensors & Actuators B Chemical*, 2011, 160(1):428-434.
- [50] HOU H, BAI X, XING C, et al. Aptamer-based cantilever array sensors for oxytetracycline detection[J]. *Analytical Chemistry*, 2013, 85(4):2010-2014.
- [51] BAI X, HOU H, ZHANG B, et al. Label-free detection of kanamycin using aptamer-based cantilever array sensor[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2014, 56c(18):112-116.
- [52] MA X H, LI J P, WANG C, et al. A review on bio-macromolecular imprinted sensors and their applications[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2016, 44(1):152-159.
- [53] ZDUNEK J, BENITO-PENA E, LINARES A, et al. Surface-imprinted nanofilaments for europium-amplified luminescent detection of fluoroquinoloneantibiotics[J]. *Chemistry-A European Journal*, 2013, 19(31):10209-10216.
- [54] KARA M, UZUN L, KOLAYLI S, et al. Combining molecular imprinted nanoparticles with surface plasmonresonance nanosensor for chloramphenicol detection in honey[J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2013, 129(4):2273-2279.
- [55] GAO F, FENG S, CHEN Z, et al. Detection and quantification of chloramphenicol in milk and honey using molecularly imprinted polymers: Canadian penny-based SERS nano-biosensor[J]. *Journal of Food Science*, 2014, 79(12):N2542-N2549.