

# 基于生物传感器的动物源性制品中抗生素残留检测技术新进展

马文娟, 姜金融\* (甘肃省商业科技研究所甘肃中商食品质量检验检测有限公司, 甘肃兰州 730010)

**摘要** 动物源性制品中抗生素残留给人类健康和环境带来巨大危害, 生物传感器具有检测快、灵敏度高、便携等优势, 在抗生素残留检测领域有很大的发展潜力。着重介绍了基于分子识别元件和转换元件的不同类型生物传感器以及其在动物源性制品中抗生素残留检测方面的应用, 纳米材料的掺入为新型生物传感器的开发提供了有效途径, 并展望了未来的发展方向。

**关键词** 生物传感器; 动物源性制品; 抗生素残留; 检测技术

**中图分类号** S851.34<sup>+</sup>7 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)18-0022-03

## Recent Advances of Antibiotic Residues Detection Technology in Animal-derived Food Based on Biosensor

MA Wen-juan, JIANG Jin-rong (Gansu Institute of Business and Technology Gansu Zhongshang Food Quality Test and Detection Co., Ltd., Lanzhou, Gansu 730010)

**Abstract** Antibiotic residues in animal-derived food cause great harm to human health and the environment. Biosensors have the advantages of rapid detection, high sensitivity and portability, and have great potential for development in the field of antibiotic residue detection. The different types of biosensors based on molecular recognition elements and conversion elements and their application in the detection of antibiotic residues in animal origin products had been emphatically introduced. The incorporation of nanomaterials provided an effective way for the development of new biosensors, and future development trends of biosensors were also discussed.

**Key words** Biosensors; Animal-derived food; Antibiotic residues; Detection technology

随着物质消费和生活水平的不断提高, 人们对动物源性制品的需求也日益增长, 特别是对动物源性制品的质量和安全性问题尤为关注。抗生素被广泛用于动物疾病的治疗和预防, 甚至被作为饲料添加剂来提高畜禽的产量, 这极大地增加了抗生素在动物源性制品中残留的风险。抗生素残留会对动物和人类健康产生严重威胁, 例如会造成人体超敏反应、产生耐药性等一系列问题<sup>[1]</sup>。基于这些不利因素, 许多国家专门立法来保护消费者免受动物源性制品中兽药和抗生素残留带来的危害, 并且规定了最高残留限量 (maximum residue limits, MRLs), 将残留检测列入国家监督管理计划。

许多学者致力于研究动物源性制品中抗生素残留检测技术, 目前主要常规方法包括微生物法、免疫学方法、仪器分析法等。微生物法是基于细菌对抗生素的敏感性<sup>[2-3]</sup>; 免疫学方法基于抗原-抗体间特异的识别<sup>[4-5]</sup>; 仪器分析是目前抗生素残留定量检测的主要手段, 包括液相色谱 (liquid chromatography, LC) 和气相色谱 (gas chromatography, GC) 技术, 以及将它们与质谱联用进行分析的技术<sup>[6-8]</sup>。这些常规的分析方法一般要涉及到样品的前处理等步骤, 操作费时、繁琐。随着新兴技术的不断发展, 生物传感器被应用于食品中抗生素残留的检测及其他领域具有非常广阔的应用前景。基于某种特异性反应的生物传感器主要由生物分子识别元件和转换元件组成, 可以识别目标分析物并转化为光电信号<sup>[9]</sup>。生物传感器用于动物源性制品中抗生素残留的检测, 在保持了特异性强、灵敏度高优势的同时, 简化了分析过程, 并且传感器体积小, 便于携带, 可满足实时检测的新要求。笔者着重介绍了基于分子识别元件和转换元件的不同类型生物传感器及其在动物源性制品中抗生素残留检测方面的应用。

## 1 基于不同分子识别元件的生物传感器

生物受体是具有生物化学识别机制的有机分子物质 (如抗体、酶、蛋白质或核酸) 或生物体系 (如细胞、组织或整个生物体)<sup>[10]</sup>。生物传感器以这些受体作为分子识别元件, 与目标分析物特异性结合从而实现信号检测。根据生物传感器中分子识别元件的不同可分为酶传感器、免疫传感器、细胞传感器、分子印迹聚合物传感器和适体传感器 5 类。不同类型生物受体传感器的优缺点如表 1 所示。

**1.1 酶传感器** 在酶传感器中酶主要被作为功能性标记物, 其识别抗生素物质的原理主要基于 2 种检验机制, 第 1 种机制是对目标分析物的催化转化, 第 2 种机制是对可抑制酶活性的分析物进行检测。酶传感器利用特异性的酶来实现对分析物的捕获和催化, 然后用换能器进行直接测定。目前, 酶传感器在抗生素残留检测方面的应用较少。Kiran 等<sup>[11]</sup>将青霉素酶固定在 pH 电极上开发了一种用于青霉素检测的传感器, 该传感器浓度响应范围为  $10^{-10} \sim 10^{-4}$  mol/L, 初始响应时间为 20~30 s。

**1.2 免疫传感器** 免疫传感器是利用抗体与抗原间的特异性识别功能而研制的生物传感器, 抗体通常被固定于检测器表面, 抗体的类型可以是多克隆、单克隆或取决于它们的选择特性及合成方式。目前, 抗体作为生物传感器的主要受体已经在分析领域得到广泛应用, 特别是动物源性制品中抗生素残留检测。Tochi 等<sup>[12]</sup>利用碳二亚胺活性酯法合成恩氟沙星 (ENFX), 接种雄性小鼠产生 ENFX 单克隆抗体, 该抗体对 ENFX 具有高灵敏性和特异性, 最低检测量达 0.028 ng/mL。Pinacho 等<sup>[13]</sup>利用电磁免疫传感器检测牛奶中氟喹诺酮类抗生素, 将可识别氟喹诺酮类抗生素的半抗原酶与磁珠结合, 可直接对样品进行定量测定。酶联免疫吸附测定法 (ELISA) 通常侧重于检测单个分析物, Jiang 等<sup>[14]</sup>通过双比色酶联免疫吸附测定法同时对牛奶中 13 种氟喹诺酮类和 22 种磺酰胺类抗生素残留进行检测, 且检出限分别达 2.4 和

**基金项目** 甘肃省科技厅项目 (17ZD2WA003, 1309RTSA025, 1009FTGA018, 1505JTCA017)。

**作者简介** 马文娟 (1991—), 女, 甘肃兰州人, 助理工程师, 从事食品检测研究。\* 通讯作者, 工程师, 硕士, 从事食品检测研究。

**收稿日期** 2018-03-09

5.8 ng/mL,该方法为高通量检测多种抗生素提供了有效途径。

**1.3 细胞传感器** 细胞传感器以活细胞作为分子识别元件。一些含有由启动子诱导的报告基因的单细胞微生物被用于全细胞生物传感器的开发,在目标分析物存在的情况下,诱导基因被激活从而导致报道基因表达或抑制,这一过程可转化为光信号被测量,基于光学检测的微生物细胞传感器可同时多种分析物进行检测<sup>[15-16]</sup>,这也是一种利用 DNA 重组

技术构建的微生物细胞用于抗生素残留检测的新型传感器<sup>[17]</sup>,全细胞生物传感器可分为组成型和诱导型<sup>[18]</sup>。Cheng 等<sup>[19]</sup>构建了一个含有质粒 pRecAlux3 的转基因菌种 pK12,其响应目标分析物的机理是基于诱导存在于质粒 pRecAlux3 上的 recA 启动子融合的荧光素酶报告基因,该传感器可检测二氟沙星、恩氟沙星、环丙沙星等 11 种氟喹诺酮类抗生素,可应用于多种动物源性制品的检测。

表 1 不同类型生物受体传感器的优缺点

Table 1 Advantages and disadvantages of different types of biological receptor sensors

传感器类型 Sensor type	优点 Advantage	缺点 Disadvantage
酶传感器 Enzyme sensor	结果准确,响应速度快	成本高于免疫传感器,易受 pH、温度等因素的影响
单克隆抗体传感器 Monoclonal antibody sensor	特异性和亲和性较高,重复性高	成本高,亲和性太强
多克隆抗体传感器 Polyclonal antibody sensor	成本低	特异性太高,重复性低
细胞传感器 Cell sensor	可同时检测多种目标分析物,检测限低,检测通量高,可遗传修饰	合成过程复杂,有时会出现非特异性细胞反应,特异性较低,响应速度慢
分子印迹聚合物传感器 Molecularly imprinted polymer sensor	高特异性和亲和性,高灵敏度,热稳定性好,响应速度快,成本低,重复性高	有模板分子释放的风险,不溶性,分子印迹匹配性低,未商业化
适体传感器 Aptamer sensor	亲和性较强,特异性和灵敏度高,成本低,重复性高	亲和性太强,几乎未商业化

**1.4 分子印迹聚合物传感器** 分子印迹聚合物传感器是一些天然化合物或合成化合物模拟的生物体系作为分子识别元件,分子印迹聚合物敏感材料与近年来研究较热的生物敏感材料相比,具有耐高温、高压、酸、碱和有机溶剂,不易被降解破坏,可重复使用,易于保存等优点<sup>[20]</sup>。Karaseva 等<sup>[21]</sup>以纳米颗粒分子印迹聚合物(NMIP)作为分子识别元件用于检测青霉素,通过沉淀聚合的方式获得 NMIP,并在压电传感器的表面形成受体层。Luo 等<sup>[22]</sup>则以纳米分子印迹聚合物(MIP)为分子识别元件开发了表面等离子体共振(SPR)传感器, MIP-SPR 传感器对环丙沙星具有高选择性、高灵敏度和良好的稳定性。

**1.5 适体传感器** 适体是经体外筛选技术筛选出的能特异性结合蛋白质或其他小分子物质的寡核苷酸片段(RNA 或单链 DNA),适体与分析物靶分子的结合方式与抗原-抗体作用机理相似,与免疫传感器相比,适体具有靶分子范围广、与配体作用亲和力高、特异性强、高度稳定性、制备方法简单等优势<sup>[23]</sup>。近年来,已经开发了多种类型的适体传感器对动物源性制品中的抗生素残留物进行检测,如氯霉素<sup>[24-25]</sup>、卡那霉素<sup>[26]</sup>、达氟沙星<sup>[27]</sup>等。仿生生物传感器与传统受体生物传感器相比具有体外制备的优点,分子印迹聚合物和适体传感器的商业化正处于起步阶段,未来有很好的应用前景。

## 2 基于不同转换元件的生物传感器

**2.1 电化学生物传感器** 对于电化学生物传感器的开发与应用研究已近 60 年,由于其应用范围广,易商业化,未来还有很大的发展潜力。电化学生物传感器的工作原理是固定化的生物分子与分析物发生化学反应产生或消耗电子,这种

化学反应信息可被电位计、电流计或阻抗传感器转换成可测量分析的电信号<sup>[28]</sup>。近年来,以适体为分子识别元件的电化学生物传感器在动物源性食品抗生素残留检测方面得到了广泛应用<sup>[29-30]</sup>。纳米材料的引入使得电化学生物传感器响应速度更快,灵敏度更高。Qin 等<sup>[31]</sup>以石墨烯和纳米合金为传感材料,制备了一种用于定量检测卡那霉素的超敏电化学适体传感器,在最优系统条件下具有广泛的线性范围( $5 \times 10^{-7} \sim 5 \times 10^{-2} \mu\text{g/mL}$ )、较低的检测限( $4.2 \times 10^{-7} \mu\text{g/mL}$ )。

**2.2 质量感应生物传感器** 质量感应生物传感器可以响应单位时间内通过的溶质质量,其质量敏感元件一般基于压电材料和表面声波技术。压电效应是某些压电材料(如晶体、陶瓷、高分子材料等)中的电荷对加载压力的响应,其中应用较多的是石英晶体微天平,一种可将不易测得的生化信号转化为频率信号的超敏质量传感器(ng 级)<sup>[32]</sup>。Ebarvia 等<sup>[33]</sup>开发了一种基于 MIP 生物识别的 QCM 生物传感器,该传感器可以在低于 MRPL 的浓度下检测猪肉、牛奶、蜂蜜和虾中的氯霉素。表面声波传感器根据不同的波型分类,主要包括瑞利波、乐甫波等<sup>[34]</sup>。Gruhl 等<sup>[35]</sup>首次将表面声波(SAW)生物传感器用于牛奶中青霉素 G 的快速无标记检测。

**2.3 光学生物传感器** 光学生物传感器以被测物质与生物受体发生反应所引发的光信号为检测基础,根据光学原理的不同可分为时间分辨荧光分析(TR-FIA)、表面等离子共振(SPR)、流式细胞免疫分析(FCIA)、化学发光免疫分析(CLIA)等。Zhou 等<sup>[36]</sup>采用时间分辨荧光分析技术检测蜂蜜、虾、鸡肉等食品中氯霉素的残留情况,检测范围为 0.008~100.000  $\mu\text{g/L}$ 。Pan 等<sup>[37]</sup>开发的 SPR 芯片可检测常见动物源性食品中 4 种磺胺类抗生素,具有较高的准确度和灵敏

度,每个检测周期可以在5 min内完成。Evidence investigator system是基于化学发光免疫分析开发的生物芯片,目前已商业化,可对肉制品中喹诺酮类、头孢唑啉、甲磺霉素、链霉素、泰乐菌素和四环素6类抗生素进行检测<sup>[38]</sup>。

### 3 基于纳米材料的生物传感器

纳米材料的掺入可以增加响应速度、选择性和灵敏度,许多纳米材料如金属纳米材料、二氧化硅纳米颗粒、碳纳米材料等已用于生物传感器的构建<sup>[39]</sup>。近年来,学者们基于纳米材料开发了荧光生物传感器、比色生物传感器、表面等离子体共振生物传感器等应用于动物源性食品中抗生素残留的检测,为生物传感器的小型化和抗生素残留检测的快速化提供了有效途径。Ramezani等<sup>[40]</sup>设计了纳米金颗粒(AuNPs)和FAM标记的荧光适体传感器,用于检测牛奶和血清中的氨基糖苷类抗生素,对卡那霉素和庆大霉素具有高选择性,其中对卡那霉素的检测限(LOD)低至 $3.21 \times 10^{-4} \mu\text{mol/L}$ 。Sari等<sup>[41]</sup>结合微乳液聚合、分子印迹和SPR技术开发了一种基于分子印迹纳米颗粒快速检测红霉素的SPR生物传感器,线性范围和检测限分别为0.99( $R^2$ )和0.29  $\mu\text{g/mL}$ 。然而,与其他传感器的应用相比,生物传感器在抗生素残留检测领域的应用还处于相对不成熟的阶段,许多技术障碍需要解决,包括纳米材料与生物识别分子的相容性、非均质纳米材料对传感器性能的影响,以及纳米分子、生物识别分子和抗生素分子间的交叉干扰等问题。

### 4 展望

与传统方法相比,生物传感器无需样品前处理,具有检测快、成本低、便携的优点,分子识别元件、转换元件、纳米技术依然是未来生物传感器发展的主要方向。动物源性制品中抗生素残留给人类健康和环境带来巨大威胁,实现抗生素残留高通量、实时快速检测是未来生物传感器发展的新要求。到目前为止,大多数新型传感器的应用仅限于实验室规模,因此,开发出能够实现快速生产高质量且成本相对较低的生物传感器技术是亟待解决的创新课题,这种技术是任何生物传感器成功商业化应用的先决条件。今后的工作重点应放在开发多功能纳米材料、强化纳米材料与分子识别元件及转换元件间的应用兼容性,使抗生素生物传感器更加完善,未来在抗生素残留检测方面发挥重要作用。

### 参考文献

- [1] PLETINCKX L J, VERHEGHE M, CROMBÉ F, et al. Evidence of possible methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 spread between pigs and other animals and people residing on the same farm[J]. Preventive veterinary medicine, 2013, 109(3/4): 293–303.
- [2] BOGAERTS R, DEGROODT J M, DE VOS D. The microbiological assay of chloramphenicol hemisuccinate and application of the method with pyrrolidinemethyltetracycline (rolitetracycline) (author's transl) [J]. Annales pharmaceutiques francaises, 1982, 40(1): 37–41.
- [3] TUMINI M, NAGEL O, MOLINA M P, et al. Microbiological assay with *Bacillus licheniformis* for the easy detection of quinolones in milk[J]. International dairy journal, 2017, 64: 9–13.
- [4] JESTER E L E, ABRAHAM A, WANG Y S, et al. Performance evaluation of commercial ELISA kits for screening of furazolidone and furaltadone residues in fish[J]. Food chemistry, 2013, 145: 593–598.
- [5] MI T J, WANG Z H, EREMIN S A, et al. Simultaneous determination of multiple (fluoro) quinolone antibiotics in food samples by a one-step fluo-

- rescence polarization immunoassay [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2013, 61(39): 9347–9355.
- [6] SAJID M, NA N, SAFDAR M, et al. Rapid trace level determination of sulfonamide residues in honey with online extraction using short C-18 column by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection [J]. Journal of chromatography A, 2013, 1314: 173–179.
- [7] TAO Y F, ZHU F W, CHEN D M, et al. Evaluation of matrix solid-phase dispersion (MSPD) extraction for multi-phenolics determination in shrimp and fish by liquid chromatography-electrospray ionisation tandem mass spectrometry [J]. Food chemistry, 2014, 150: 500–506.
- [8] CHUGHTAI M I, MAQBOOL U, IQBAL M, et al. Development of in-house ELISA for detection of chloramphenicol in bovine milk with subsequent confirmatory analysis by LC-MS/MS [J]. Journal of environmental science and health: Part B, 2017, 52(12): 871–879.
- [9] VELUSAMY V, ARSHAK K, KOROSTYNSKA O, et al. An overview of foodborne pathogen detection; In the perspective of biosensors [J]. Biotechnology advances, 2010, 28(2): 232–254.
- [10] SUN K, CHANG Y, ZHOU B B, et al. Gold nanoparticles-based electrochemical method for the detection of protein kinase with a peptide-like inhibitor as the bioreceptor [J]. International journal of nanomedicine, 2017, 12: 1905–1915.
- [11] KIRAN B R, KALE K U. Transformed *E. coli* JM109 as a biosensor for penicillin [J]. Indian journal of pharmaceutical sciences, 2002, 64(3): 205.
- [12] TOCHI B N, KHAEMBA G, ISANGA J, et al. Monoclonal antibody for the development of specific immunoassays to detect Enrofloxacin in foods of animal origin [J]. Food and agricultural immunology, 2016, 27(4): 435–448.
- [13] PINACHO D G, SÁNCHEZ-BAEZA F, PIVIDORI M I, et al. Electrochemical detection of fluoroquinolone antibiotics in milk using a magneto immunosensor [J]. Sensors, 2014, 14(9): 15965–15980.
- [14] JIANG W X, WANG Z H, BEIER R C, et al. Simultaneous determination of 13 fluoroquinolone and 22 sulfonamide residues in milk by a dual-colorimetric enzyme-linked immunosorbent assay [J]. Analytical chemistry, 2013, 85(4): 1995–1999.
- [15] BIANCO S, PITELLI R A, BIANCO M S. Estimativa da área foliar de *Brachiaria plantaginea* usando dimensões lineares do limbo foliar [J]. Planta daninha, 2005, 23(4): 597–601.
- [16] HANSEN L H, SØRENSEN S J. The use of whole-cell biosensors to detect and quantify compounds or conditions affecting biological systems [J]. Microbial ecology, 2001, 42(4): 483–494.
- [17] MICHELINI E, CEVENINI L, CALABRETTA M M, et al. Field-deployable whole-cell bioluminescent biosensors: So near and yet so far [J]. Analytical and bioanalytical chemistry, 2013, 405(19): 6155–6163.
- [18] TING C, CHENG G Y, AHMED S, et al. New methodologies in screening of antibiotic residues in animal-derived foods: Biosensors [J]. Talanta, 2017, 175: 435–442.
- [19] CHENG G Y, DONG X B, WANG Y L, et al. Development of a novel genetically modified bioluminescent-bacteria-based assay for detection of fluoroquinolones in animal-derived foods [J]. Analytical and bioanalytical chemistry, 2014, 406(30): 7899–7910.
- [20] BRÜGGEMANN O, HAUPT K, YE L, et al. New configurations and applications of molecularly imprinted polymers [J]. Journal of chromatography A, 2000, 889(1/2): 15–24.
- [21] KARASEVA N, ERMOLAEVA T, MIZAIKOFF B. Piezoelectric sensors using molecularly imprinted nanospheres for the detection of antibiotics [J]. Sensors and actuators B: Chemical, 2016, 225: 199–208.
- [22] LUO Q H, YU N, SHI C F, et al. Surface plasmon resonance sensor for antibiotics detection based on photo-initiated polymerization molecularly imprinted array [J]. Talanta, 2016, 161: 797–803.
- [23] 徐敦明, 吴敏, 邹远, 等. 核酸适体技术在食品安全分析中的应用 [J]. 分析化学, 2011, 39(6): 925–933.
- [24] MEHTA J, VAN DORST B, ROUAH-MARTIN E, et al. *In vitro* selection and characterization of DNA aptamers recognizing chloramphenicol [J]. Journal of biotechnology, 2011, 155(4): 361–369.
- [25] DUAN Y, WANG L H, GAO Z Q, et al. An aptamer-based effective method for highly sensitive detection of chloramphenicol residues in animal-sourced food using real-time fluorescent quantitative PCR [J]. Talanta, 2017, 165: 671–676.

- 影响[J].农业环境科学学报,2012,31(3):548-554.
- [25] 刘怀阿,吴洪生,李季,等.拮抗菌与有机肥配合防治大豆疫霉病害研究[J].扬州大学学报(农业与生命科学版),2014,35(1):90-94.
- [26] 塔莉.牛粪有机肥对重茬大豆生育性及土壤性质影响研究[D].长春:吉林农业大学,2012.
- [27] BHATTACHARYYA R, CHANDRA S, SINGH R D, et al. Long-term farmyard manure application effects on properties of a silty clay loam soil under irrigated wheat-soybean rotation[J]. Soil & tillage research, 2007, 94(2):386-396.
- [28] HATI K M, MANDAL K G, MISRA A K, et al. Effect of inorganic fertilizer and farmyard manure on soil physical properties, root distribution, and water-use efficiency of soybean in Vertisols of central India[J]. Bioresource technology, 2006, 97(16):2182-2188.
- [29] 王家军,刘杰,张瑞萍,等.沼渣与化肥配施对大豆土壤理化性质和土壤微生物的影响[J].安徽农业科学,2012,40(13):7763-7765.
- [30] 刘杰,王大蔚,裴占江,等.有机无机复混肥对大豆根际环境的影响[J].大豆科学,2010,29(4):730-732.
- [31] 郭颖,赵牧秋,吴蕊,等.有机肥对设施菜地土壤-植物系统硝酸盐迁移累积的影响[J].农业环境科学学报,2008,27(5):1831-1835.
- [32] 孙倩倩,王正银,赵欢,等.定位施肥对紫色菜园土壤磷素状况的影响[J].生态学报,2012,32(8):2539-2549.
- [33] BHATTACHARYYA R, KUNDU S, PRAKASH V, et al. Sustainability under combined application of mineral and organic fertilizers in a rainfed soybean-wheat system of the Indian Himalayas[J]. European journal of agronomy, 2008, 28(1):33-46.
- [34] GARCÍA-GIL J C, PLAZA C, SOLER-ROVIRA P, et al. Long-term effects of municipal solid waste compost application on soil enzyme activities and microbial biomass[J]. Soil biology & biochemistry, 2000, 32(13):1907-1913.
- [35] BURGER M, JACKSON L E. Microbial immobilization of ammonium and nitrate in relation to ammonification and nitrification rates in organic and conventional cropping systems[J]. Soil biology & biochemistry, 2003, 35(1):29-36.
- [36] 马星竹,周宝库,郝小雨.长期不同施肥条件下大豆田黑土酶活性研究[J].大豆科学,2016,35(1):96-99.
- [37] DE LA PAZ JIMENEZ M, DE LA HORRA A, PRUZZO L, et al. Soil quality: A new index based on microbiological and biochemical parameters[J]. Biology & fertility of soils, 2002, 35(4):302-306.
- [38] SAHA S, PRAKASH V, KUNDU S, et al. Soil enzymatic activity as affected by long term application of farm yard manure and mineral fertilizer under a rainfed soybean-wheat system in N-W Himalaya[J]. European journal of soil biology, 2008, 44(3):309-315.
- [39] 刘杰,王大蔚,孙彬,等.有机无机复混肥对大豆根际酶活性的影响[J].大豆科学,2010,29(3):546-548.
- [40] 谷岩,邱强,王振民,等.连作大豆根际微生物群落结构及土壤酶活性[J].中国农业科学,2012,45(19):3955-3964.
- [41] 谷岩,吴春胜,王振民,等.不同施肥处理对大豆根际土壤微生物和酶活性的影响[J].大豆科学,2010,29(6):1008-1011.
- [42] 蒋跃利,赵彤,闫浩,等.黄土丘陵区不同土地利用方式对土壤微生物量碳氮磷的影响[J].水土保持通报,2013,33(6):62-68.
- [43] MOSCATELLI M C, LAGOMARSINO A, MARINARI S, et al. Soil microbial indices as bioindicators of environmental changes in a poplar plantation[J]. Ecological indicators, 2005, 5(3):171-179.
- [44] JOERGENSEN R G, EMMERLING C. Methods for evaluating human impact on soil microorganisms based on their activity, biomass, and diversity in agricultural soils[J]. Journal of plant nutrition & soil science, 2006, 169(3):295-309.
- [45] 柴晓芳,郑伟,刘金和.施用不同有机肥对大豆根际土壤微生物数量的影响[J].磷肥与复肥,2009,24(1):86.
- [46] 马坤明,施春亮,史俊琴.不同有机肥对大豆根际土壤微生物数量的影响[J].现代化农业,2005(8):19.
- [47] 孟庆英,于忠和,贾绘彬,等.不同施肥处理对大豆根际土壤微生物及土壤肥力影响[J].大豆科学,2011,30(3):471-474.
- [48] PAN F J, MCLAUGHLIN N B, YU Q, et al. Responses of soil nematode community structure to different long-term fertilizer strategies in the soybean phase of a soybean-wheat-corn rotation[J]. European journal of soil biology, 2010, 46(2):105-111.
- [49] 李伟群,王爽,王英,等.不同施肥处理对大豆生育期内土壤微生物的影响[J].大豆科学,2007,26(6):922-925.
- [50] 关大伟,李力,姜昕,等.长期施肥对黑土大豆根瘤菌群体结构和多样性的影响[J].生物多样性,2015,23(1):68-78.
- [51] BAILEY V L, SMITH J L, BOLTON H JR. Fungal-to-bacterial ratios in soils investigated for enhanced C sequestration[J]. Soil biology and biochemistry, 2002, 34:997-1007.
- [52] 隋跃宇,焦晓光,张兴义,等.不同施肥制度对大豆生育期土壤微生物量的影响[J].土壤通报,2006,37(5):894-896.
- [53] 芦思佳,韩晓增,张迪,等.长期施肥对大豆根际微生物量碳、氮的影响[J].大豆科学,2009,28(3):495-498.

(上接第24页)

- [26] SHARMA A, ISTAMBOULIE G, HAYAT A, et al. Disposable and portable aptamer functionalized impedimetric sensor for detection of kanamycin residue in milk sample[J]. Sensors and actuators B: Chemical, 2017, 245:507-515.
- [27] HAN S R, YU J, LEE S W. *In vitro* selection of RNA aptamers that selectively bind danofloxacin[J]. Biochemical and biophysical research communications, 2014, 448(4):397-402.
- [28] POHANKA M, SKLÁDAL P. Electrochemical biosensors-principles and applications[J]. Journal of applied biomedicine, 2008, 6(2):57-64.
- [29] WANG X Z, DONG S S, GAI P P, et al. Highly sensitive homogeneous electrochemical aptasensor for antibiotic residues detection based on dual recycling amplification strategy[J]. Biosensors and bioelectronics, 2016, 82:49-54.
- [30] DANESH N M, RAMEZANI M, EMRANI A S, et al. A novel electrochemical aptasensor based on arch-shape structure of aptamer-complementary strand conjugate and exonuclease I for sensitive detection of streptomycin[J]. Biosensors and bioelectronics, 2016, 75:123-128.
- [31] QIN X L, YIN Y, YU H J, et al. A novel signal amplification strategy of an electrochemical aptasensor for kanamycin, based on thionine functionalized graphene and hierarchical nanoporous PtCu[J]. Biosensors and bioelectronics, 2016, 77:752-758.
- [32] FERREIRA G N M, DA-SILVA A C, TOMÉ B. Acoustic wave biosensors: Physical models and biological applications of quartz crystal microbalance [J]. Trends in biotechnology, 2009, 27(12):689-697.
- [33] EBARVIA B S, UBANDO I E, SEVILLA F B III. Biomimetic piezoelectric quartz crystal sensor with chloramphenicol-imprinted polymer sensing layer[J]. Talanta, 2015, 144:1260-1265.
- [34] DURMUŞ N G, LIN R L, KOZBERG M, et al. Acoustic-based biosensors [M]// Encyclopedia of microfluidics and nanofluidics. New York: Springer, 2015:28-40.
- [35] GRUHL F J, LÄNGE K. Surface acoustic wave (SAW) biosensor for rapid and label-free detection of penicillin G in milk[J]. Food analytical methods, 2014, 7(2):430-437.
- [36] ZHOU B, ZHANG J, FAN J, et al. A new sensitive method for the detection of chloramphenicol in food using time-resolved fluoroimmunoassay [J]. European food research and technology, 2015, 240(3):619-625.
- [37] PAN M F, WANG X J, WANG J P, et al. Stable and sensitive detection of sulfonamide residues in animal-derived foods using a reproducible surface plasmon resonance immunosensor[J]. Food analytical methods, 2017, 10(6):2027-2035.
- [38] GAUDIN V, HEDOU C, SOUMET C, et al. Evaluation and validation of a multi-residue method based on biochip technology for the simultaneous screening of six families of antibiotics in muscle and aquaculture products [J]. Food additives & contaminants: Part A, 2016, 33(3):403-419.
- [39] LAN L Y, YAO Y, PING J F, et al. Recent advances in nanomaterial-based biosensors for antibiotics detection [J]. Biosensors and bioelectronics, 2017, 91:504-514.
- [40] RAMEZANI M, DANESH N M, LAVAE P, et al. A selective and sensitive fluorescent aptasensor for detection of kanamycin based on catalytic recycling activity of exonuclease III and gold nanoparticles [J]. Sensors and actuators B: Chemical, 2016, 222(1):1-7.
- [41] SARI E, ÜZEK R, DUMAN M, et al. Fabrication of surface plasmon resonance nanosensor for the selective determination of erythromycin via molecular imprinted nanoparticles[J]. Talanta, 2016, 150(9):607-614.