

# 基于同步荧光光谱的鸡肉中抗生素残留量快速检测

陈健<sup>1</sup> 刘木华<sup>1,2</sup> 袁海超<sup>1,2</sup> 黄双根<sup>1,2</sup> 赵进辉<sup>1,2</sup> 徐宁<sup>1</sup>

(1. 江西农业大学江西省现代农业装备重点实验室, 南昌 330045;

2. 江西农业大学江西省果蔬采后处理关键技术及质量安全协同创新中心, 南昌 330045)

**摘要:** 研究应用同步荧光技术对鸡肉中盐酸沙拉沙星(SARH)和盐酸强力霉素(DCH)残留快速检测的可行性。首先,分析了 SARH 标准溶液、DCH 标准溶液、空白鸡肉提取液和含 SARH 及 DCH 的鸡肉提取液的三维同步荧光光谱,确定了鸡肉中 SARH 和 DCH 残留检测的波长差  $\Delta\lambda$  都为 110 nm,荧光激发峰分别为 320 nm 和 381 nm。其次,采用单因素试验考察了硫酸镁溶液浓度和 SDS 溶液浓度及时间对荧光强度的影响,确定了鸡肉中 SARH 和 DCH 残留的最佳检测条件为:硫酸镁溶液浓度 0.375 mol/L,SDS 溶液浓度 0.300 mol/L 和采集时间 12 min。最后,利用多元线性回归(MLR)、偏最小二乘回归(PLSR)和支持向量回归(SVR)算法分别建立了鸡肉中 SARH 和 DCH 残留的预测模型。试验结果表明,与基于 MLR 和 SVR 的预测模型相比,基于 PLSR 的预测模型综合评价更好。基于 PLSR 的 SARH 残留预测模型的预测集决定系数  $R_p^2$  为 0.846 5,预测集均方根误差(RMSEP)为 0.344 1 mg/kg,相对预测误差(RPD)为 2.588 2。基于 PLSR 的 DCH 残留预测模型的  $R_p^2$  为 0.914 1, RMSEP 为 5.890 9 mg/kg, RPD 为 3.243 5。由此可见,应用同步荧光技术检测鸡肉中 SARH 和 DCH 残留是可行的,该方法简便、快速,为鸡肉中 SARH 和 DCH 残留的快速检测提供了参考。

**关键词:** 鸡肉; 盐酸沙拉沙星; 盐酸强力霉素; 同步荧光光谱法; 回归分析

中图分类号: O657.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2021)10-0394-08

OSID:



## Rapid Detecting of Antibiotics Residues in Chicken Based on Synchronous Fluorescence Spectrum

CHEN Jian<sup>1</sup> LIU Muhua<sup>1,2</sup> YUAN Haichao<sup>1,2</sup> HUANG Shuanggen<sup>1,2</sup> ZHAO Jinhui<sup>1,2</sup> XU Ning<sup>1</sup>

(1. Jiangxi Provincial Key Laboratory of Modern Agricultural Equipment, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China

2. Jiangxi Provincial Collaborative Innovation Center of Key Technologies and Quality and Safety in Post-harvest Processing of Fruits and Vegetables, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

**Abstract:** The feasibility of applying synchronous fluorescence technology was studied to quickly detect the residues of sarafloxacin hydrochloride (SARH) and doxycycline hydrochloride (DCH) in chicken. Firstly, the three-dimensional synchronous fluorescence spectra of SARH standard solution, DCH standard solution, chicken extract without antibiotics and chicken extract containing SARH and DCH were analyzed, and the wavelength difference  $\Delta\lambda$  of both SARH and DCH were determined as 110 nm, and the fluorescence excitation peaks of SARH and DCH were respectively determined as 320 nm and 381 nm for the detection of SARH and DCH residues in chicken. Secondly, the effects of the concentrations of magnesium sulfate solution and SDS solution, as well as time, on the fluorescence intensities through the single factor test were analyzed. The best detection conditions of SARH and DCH residues in chicken were as follows: the concentration of magnesium sulfate solution of 0.375 mol/L, the concentration of SDS solution of 0.300 mol/L and time of 12 min. Thirdly, the prediction models of SARH and DCH residues in chicken were established through the algorithms of multiple linear regression (MLR), partial least squares regression (PLSR), and support vector regression (SVR), respectively. The experimental results showed that the comprehensive evaluation of the prediction model based on the

收稿日期: 2020-11-19 修回日期: 2021-01-01

基金项目: 国家自然科学基金项目(31660485)和江西省教育厅科技计划项目(GJJ160350)

作者简介: 陈健(1996—),男,博士生,主要从事光谱分析及其检测装备研究, E-mail: chenjian1528@foxmail.com

通信作者: 赵进辉(1978—),男,教授,主要从事光谱分析及其检测装备研究, E-mail: 9115328@qq.com

PLSR algorithm was the best among these algorithms. For the prediction model of SARH residues based on the PLSR algorithm, the  $R_p^2$ , RMSEP, and RPD were 0.846 5, 0.344 1 mg/kg, and 2.588 2, respectively. For the prediction model of DCH prediction based on the PLSR algorithm, the  $R_p^2$ , RMSEP, and RPD were 0.914 1, 5.890 9 mg/kg, and 3.243 5, respectively. The results showed that the detection of SARH and DCH residues in chicken was feasible through synchronous fluorescence technique, the implemented method was straightforward and fast, and could provide a reference for the rapid detection of SARH and DCH residues in chicken.

**Key words:** chicken; sarafloxacin hydrochloride; doxycycline hydrochloride; synchronous fluorescence spectrometry method; regression analysis

## 0 引言

盐酸沙拉沙星 (Sarafloxacin hydrochloride, SARH) 属于喹诺酮类抗生素<sup>[1]</sup>, 盐酸强力霉素 (Doxycycline hydrochloride, DCH) 又名盐酸多西环素, 属于四环素类抗生素<sup>[2]</sup>, 二者均是广谱抗生素, 被广泛用于鸡养殖中<sup>[3]</sup>。在实际使用中如果不规范使用抗生素可能会导致鸡肉中 SARH 和 DCH 残留超标。残留的抗生素经过食物链进入人体, 会诱发致病菌产生耐药性, 甚至有致癌的风险<sup>[4]</sup>。为了保障消费者的食品安全, 农业农村部制定了食品中兽药最大残留限量<sup>[5]</sup>, 其中鸡肉中 SARH 的最大残留限量为 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , DCH 最大残留限量为 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。因此, 研究鸡肉中 SARH 和 DCH 残留快速检测技术是一项非常有意义的工作。

目前, 液相色谱法<sup>[6-7]</sup>、液相色谱和质谱联用法<sup>[8-9]</sup>等可用于鸡肉中喹诺酮类和四环素类抗生素残留的分析。这些方法的灵敏度高、抗干扰能力强, 但设备的成本高且使用人员需要较高的技能水平。近年来, 光谱技术被广泛应用于快速检测领域, 包括鸡肉抗生素残留的检测<sup>[10-12]</sup>。同步荧光光谱与常规荧光光谱相比, 具有谱图简化、选择性提高、光散射干扰减少等特点<sup>[13]</sup>, 更适合鸡肉中抗生素残留快速检测分析。文献[14-15]应用同步荧光技术检测了猪肉中头孢菌素类抗生素的残留, 表明同步荧光技术能有效获取肉中抗生素残留的信息。在以上研究中, 同步荧光光谱技术主要针对肉中单种抗生素残留量进行检测研究。目前, 尚无关于应用同步荧光技术同时检测鸡肉中 SARH 和 DCH 残留的研究报道。鸡肉成分复杂, 含有蛋白质、脂肪等物质, 这些物质对 SARH 和 DCH 的荧光检测存在一定程度的影响。因此, 本文采用快速溶剂萃取法来提取鸡肉中 SARH 和 DCH 的残留, 利用  $\text{Mg}^{2+}$  与 SARH 和 DCH 生成荧光增强的络合物, 以采集 SARH 和 DCH 的同步荧光信号。以鸡肉为载体, SARH 和 DCH 抗生素为研究对象, 建立一种鸡肉中 SARH 和 DCH 残留的同步荧光光谱快速检测方法。

## 1 试验

### 1.1 仪器与试剂

Cary eclipse 型荧光分光光度计, 美国瓦里安公司; FA1004B 型电子天平, 上海上平仪器有限公司; 全自动 RO 型纯水机, 湖南科尔顿水务有限公司; JK-50B 型超声波清洗器, 合肥金尼克机械有限公司; Vortex-5 型漩涡混合器, 海门市其林贝尔仪器有限公司; KJ-201BS 型振荡器, 江苏康健医疗用品有限公司; JW-1024 型低速离心机, 安徽嘉文仪器装备有限公司; JJ-2B 型组织捣碎匀浆机, 江苏省金南仪器厂; 石英比色皿, 1 cm 光程, 宜兴市晨伟玻璃仪器厂。

鸡胸肉(三黄鸡), 购于南昌市华润万家超市; SARH, 纯度 98% 以上, 上海源叶生物科技有限公司; DCH, 分析标准品, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 硫酸镁, 乙二胺四乙酸二钠 ( $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ), 乙腈, 分析纯, 西陇科学股份有限公司; 十二烷基硫酸钠 (SDS), 分析纯, 金克隆北京生物技术有限公司; 有机相针式滤器, 滤膜孔径 0.45  $\mu\text{m}$ , 上海安谱实验科技股份有限公司。

### 1.2 样品制备

(1) 抗生素储备液配制: 取 5.0 mg 的 SARH (或 DCH) 标准品溶于 50 mL 超纯水, 可得到 100 mg/L SARH (或 DCH) 储备液, 于 4 $^{\circ}\text{C}$  下储存。

(2) SARH 工作液配制: 取 0.045 mL 的 SARH 储备液, 用 15 mL 超纯水稀释, 得到 0.3 mg/L SARH 工作液, 于 4 $^{\circ}\text{C}$  下储存。

(3) DCH 工作液配制: 取 0.75 mL 的 DCH 储备液, 用 15 mL 超纯水稀释, 得到 5.0 mg/L DCH 工作液, 于 4 $^{\circ}\text{C}$  下储存。

(4) 根据文献[16]中的快速溶剂萃取法提取空白鸡肉, 略作修改, 具体如下: 称取 2.0 g 均质的鸡胸肉放置于 50 mL 离心管中, 加入 10 mL 提取液 (乙腈与水体积比 8:2), 加入 200  $\mu\text{L}$  0.1 mol/L  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  溶液, 涡旋 1 min, 在振荡器上振荡 15 min, 于离心机 4 500 r/min 离心 15 min, 取上清液过

0.45  $\mu\text{m}$  滤膜,用提取液定容至 11 mL,得到空白鸡肉提取液。

(5)根据文献[16]中的快速溶剂萃取法提取鸡肉中残留的 SARH 和 DCH,略作修改,具体如下:

①加标鸡肉的制备:在 50 mL 离心管中分别加入 2.2、5.5、11.0、16.5、22.0、27.5、33.0、38.5、44.0、49.5、55.0、60.5、66.0  $\mu\text{L}$  的 SARH 储备液和 5.5、27.5、55.0、110.0、165.0、220.0、275.0、330.0、385.0、440.0、495.0、550.0、605.0  $\mu\text{L}$  的 DCH 储备液,两者浓度随机组合,用超纯水定容至 2 mL,加入 2.0 g 均质的鸡胸肉放置于 50 mL 离心管中,混合均匀。②鸡肉中抗生素的提取:向加标鸡肉中加入 8 mL 乙腈,以及 200  $\mu\text{L}$  0.1 mol/L  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  溶液,涡旋 1 min,在振荡器上振荡 15 min,于离心机 4 500 r/min 离心 15 min,取上清液过 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜,用提取液定容至 11 mL。得到含 SARH 和 DCH 的鸡肉提取液:SARH 质量浓度为 0.02、0.05、0.10、0.15、0.20、0.25、0.30、0.35、0.40、0.45、0.50、0.55、0.60 mg/L(分别对应于鸡肉中含有 0.110、0.275、0.550、0.825、1.100、1.375、1.650、1.925、2.200、2.475、2.750、3.025、3.300 mg/kg SARH),DCH 质量浓度为 0.10、0.50、1.00、2.00、3.00、4.00、5.00、6.00、7.00、8.00、9.00、10.00、11.00 mg/L(分别对应于鸡肉中含有 0.55、2.75、5.50、11.00、16.50、22.00、27.50、33.00、38.50、44.00、49.50、55.00、60.50 mg/kg DCH)。

### 1.3 三维同步荧光光谱的采集

为了采集标准溶液以及鸡肉提取液的三维同步荧光光谱,分别取 400  $\mu\text{L}$  的 SARH 标准溶液(0.3 mg/L)、DCH 标准溶液(5.0 mg/L)、空白鸡肉提取液以及含 SARH 和 DCH 的鸡肉提取液(0.3 mg/L SARH, 5.0 mg/L DCH)于不同的石英比色皿中,再先后加入 400  $\mu\text{L}$  SDS 溶液(0.1 mol/L)和 400  $\mu\text{L}$  硫酸镁溶液(0.1 mol/L),采集波长差  $\Delta\lambda$  为 30 ~ 260 nm(间隔 10 nm)的三维同步荧光光谱。

### 1.4 定性试验设计方案

(1)为了探究硫酸镁溶液浓度对同步荧光强度的影响,向石英比色皿中依次加入 400  $\mu\text{L}$  含 SARH 和 DCH 的鸡肉提取液(0.3 mg/L SARH, 5.0 mg/L DCH)、400  $\mu\text{L}$  SDS 溶液(0.1 mol/L)和 400  $\mu\text{L}$  硫酸镁溶液(0.015、0.030、0.060、0.125、0.250、0.375、0.500 mol/L),设置 5 个平行组,采集波长差  $\Delta\lambda = 110$  nm、12 min 处的同步荧光光谱。

(2)为了探究 SDS 溶液浓度对同步荧光强度的影响,向石英比色皿中依次加入 400  $\mu\text{L}$  含 SARH 和 DCH 的鸡肉提取液(0.3 mg/L SARH, 5.0 mg/L

DCH)、400  $\mu\text{L}$  SDS 溶液(0.025、0.050、0.100、0.200、0.300、0.400 mol/L)和 400  $\mu\text{L}$  硫酸镁溶液(0.375 mol/L),设置 5 个平行组,采集波长差  $\Delta\lambda = 110$  nm、12 min 处的同步荧光光谱。

(3)为了探究时间对同步荧光强度的影响,向石英比色皿中依次加入 400  $\mu\text{L}$  含 SARH 和 DCH 的鸡肉提取液(0.3 mg/L SARH, 5.0 mg/L DCH)、400  $\mu\text{L}$  SDS 溶液(0.300 mol/L)和 400  $\mu\text{L}$  硫酸镁溶液(0.375 mol/L),设置 5 个平行组,采集 0 ~ 60 min、波长差  $\Delta\lambda = 110$  nm 处的同步荧光光谱。

### 1.5 定量试验设计方案

向石英比色皿中依次分别加入 400  $\mu\text{L}$  含不同浓度 SARH 和 DCH 的鸡肉提取液,400  $\mu\text{L}$  SDS 溶液(0.300 mol/L),400  $\mu\text{L}$  硫酸镁溶液(0.375 mol/L),设置 5 个平行组,采集波长差  $\Delta\lambda = 110$  nm、12 min 处的同步荧光光谱。

### 1.6 荧光光谱仪参数设置

荧光光谱仪参数设置如下:激发波长扫描范围为 240 ~ 450 nm,激发、发射狭缝宽度均为 10 nm, PMT(光电倍增管)电压为 700 V。

### 1.7 数据处理与统计分析

在建立预测模型之前,使用 The Unscrambler X 10.4 软件(挪威 CAMO 公司)对原始光谱进行基线偏移,以消除原始光谱的基线漂移。其次,使用 The Unscrambler X 10.4 软件对基线偏移后的光谱进行主成分分析(Principal component analysis, PCA),以减少数据量。

使用 The Unscrambler X 10.4 软件,以前 4 个主成分得分为输入(前 4 个主成分累计方差贡献率为 96.97%),分别建立基于多元线性回归(Multiple linear regression, MLR)、偏最小二乘回归(Partial least squares regression, PLSR)和支持向量回归(Support vector regression, SVR)算法的鸡肉中 SARH 残留预测模型;以前 4 个主成分得分为输入,分别建立基于 MLR、PLSR 和 SVR 算法的鸡肉中 DCH 残留预测模型。其中,MLR 是一种经典的多元校正方法,需要自变量和因变量之间有良好的相关性,可以使用多个自变量组合来预测因变量<sup>[17]</sup>,本研究采用基于杠杆率校正(Leverage correction)的 MLR 算法;PLSR 是一种应用广泛的多元校正方法,本研究 PLSR 采用交叉验证(Cross validation)结合 Kernel PLS 算法;SVR 是将变量选择与回归模型建立相结合,来得到最佳分析效果的算法<sup>[18]</sup>,本研究的 SVR 类型为 epsilon SVR,核函数为线性核,惩罚因子  $C$  为 0.01,不敏感损失函数 epsilon 值为 0.1。计算预测集决定系数  $R_p^2$ 、预测集均方根误差(Root

mean square error for the prediction set, RMSEP) 和相对预测误差 (Ratio of prediction to deviation, RPD) 以评估预测模型性能, 即:  $R_p^2$  越大, RMSEP 越小, RPD 越大, 认为预测效果越好。

## 2 结果与分析

### 2.1 三维同步荧光光谱

图1给出了 SARH 和 DCH 标准溶液的三维同步荧光等高线图。从图1可以看出, SARH 络合物有2个强的荧光激发峰, 位于波长差/激发波长 110 nm/320 nm 和 150 nm/275 nm 处附近。另一方面, DCH 络合物有一个较强的荧光激发峰, 位于波长差/激发波长 150 nm/368 nm 处。Mg<sup>2+</sup> 和喹诺酮类抗生素会形成络合物, 这类络合物的形成可能是由于 Mg<sup>2+</sup> 与喹诺酮类抗生素结构中的4位羰基氧和相邻的羧基上的氧原子相互作用<sup>[19-20]</sup>。此外, Mg<sup>2+</sup> 也能与 DCH 结构中 Cl<sup>-</sup> 烯醇基形成络合物, 使荧光特性较弱的 DCH 产生强的荧光<sup>[21]</sup>。在适当 SDS 存在的条件下, 荧光分子之间的碰撞猝灭会减少<sup>[22-23]</sup>。故本试验在 Mg<sup>2+</sup>、SDS 存在条件下, 进行光谱采集。

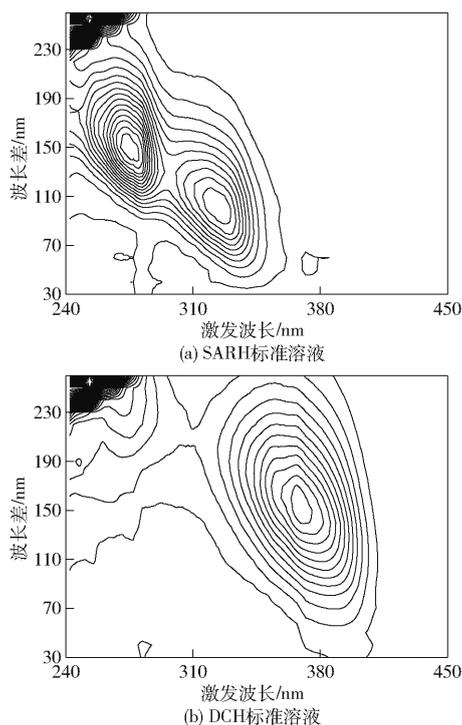


图1 SARH 和 DCH 标准溶液的三维同步荧光等高线图

Fig. 1 Contour spectra of three-dimensional synchronous fluorescence of SARH and DCH standard solutions

向均质的鸡胸肉中添加这两种抗生素或不添加, 通过快速溶剂萃取法得到含 SARH 和 DCH 的鸡肉提取液和空白鸡肉提取液, 图2给出了鸡肉提取液的三维同步荧光等高线图。从图中可以看

出, 含 SARH 和 DCH 的鸡肉提取液图谱中出现了这两种抗生素的荧光激发峰, 但 SARH 络合物在 150 nm/275 nm 处的荧光激发峰与鸡肉提取液的荧光激发峰有较多重叠, 因此本次试验选用波长差  $\Delta\lambda = 110$  nm, 此时 DCH 络合物的荧光激发峰为 381 nm。

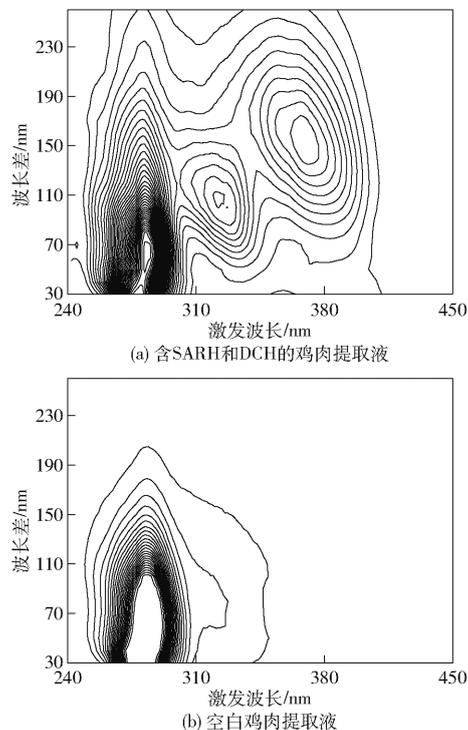


图2 鸡肉提取液的三维同步荧光等高线图

Fig. 2 Contour spectra of three-dimensional synchronous fluorescence of chicken extract

综上所述, 在鸡肉提取液中 SARH 和 DCH 均可以显现荧光激发峰, 这说明同步荧光光谱有同时检测鸡肉中 SARH 和 DCH 残留的潜力。

### 2.2 同步荧光光谱检测条件优化

Mg<sup>2+</sup> 浓度对 SARH 和 DCH 形成络合物有影响。由图3a可知, 硫酸镁溶液浓度在 0.015 ~ 0.375 mol/L 时, 随着硫酸镁溶液浓度的增加, SARH 络合物生成量增多, SARH 络合物的荧光强度增强。硫酸镁溶液浓度在 0.375 ~ 0.500 mol/L 时, 随着硫酸镁溶液浓度的增加, SARH 络合物的荧光强度不变, 可能是 SARH 和 Mg<sup>2+</sup> 充分络合反应, SARH 络合物不再生成。另一方面, 硫酸镁溶液浓度在 0.015 ~ 0.060 mol/L 时, 随着硫酸镁溶液浓度的增加, DCH 络合物生成量增多, DCH 络合物的荧光强度增强。硫酸镁溶液浓度在 0.060 ~ 0.500 mol/L 时, 随着硫酸镁溶液浓度的增加, DCH 络合物的荧光强度略有减弱, 可能是 DCH 络合物生成了沉淀<sup>[24]</sup>。综合考虑, 硫酸镁溶液浓度在 0.060 ~ 0.375 mol/L 时, 随着硫酸镁溶液

浓度的增加,DCH 络合物的荧光强度小幅度减弱,而 SARH 络合物的荧光强度大幅度增加。因此,本次试验硫酸镁浓度选定为 0.375 mol/L。

由图 3b 可知,SDS 溶液浓度在 0.025 ~ 0.100 mol/L 时,随着 SDS 溶液浓度的增加,SARH 络合物荧光强度呈增强趋势;当 SDS 溶液浓度大于 0.100 mol/L 时,SARH 络合物荧光强度趋于稳定。此外,SDS 溶液浓度在 0.025 ~ 0.300 mol/L 时,随着 SDS 溶液浓度的增加,DCH 络合物的荧光强度逐渐增强;SDS 溶液浓度大于 0.300 mol/L 时,DCH 络合物的荧光强度趋于稳定。SARH 和 DCH 络合物的荧光光谱增强,这是由于 SDS 达到临界胶束浓度 ( $8.0 \times 10^{-3}$  mol/L<sup>[25]</sup>) 时能形成胶束,使 SARH 和 DCH 络合物处于有序的微环境,减小分子间的碰撞概率。换言之,SDS 胶束对 SARH 和 DCH 络合物有保护作用,能提高它们的荧光量子产率<sup>[26]</sup>。随着

SDS 溶液浓度的增加,胶束体系趋于稳定,从而 SARH 和 DCH 络合物的荧光强度会维持在一定的强度范围内。综合考虑,SDS 溶液浓度在 0.30 mol/L 时,SARH 络合物和 DCH 络合物的荧光强度最大。因此,本次试验 SDS 溶液浓度选定为 0.30 mol/L。

时间对 SARH 络合物和 DCH 络合物的荧光强度有影响。由图 3c 可见,在 0 ~ 60 min 内,SARH 络合物的荧光强度随时间增加而减弱。另一方面,在 0 ~ 60 min 内,DCH 络合物的荧光强度呈先增强后减弱的趋势。在 0 ~ 12 min 内,DCH 络合物的荧光强度增强,12 min 之后,其荧光强度减弱。综合考虑,在 12 min 时,随着时间增加,DCH 络合物的荧光强度达到最大,而 SARH 络合物的荧光强度有所减弱,但其荧光强度仍远大于 DCH 络合物,故选择在 12 min 时进行测定。

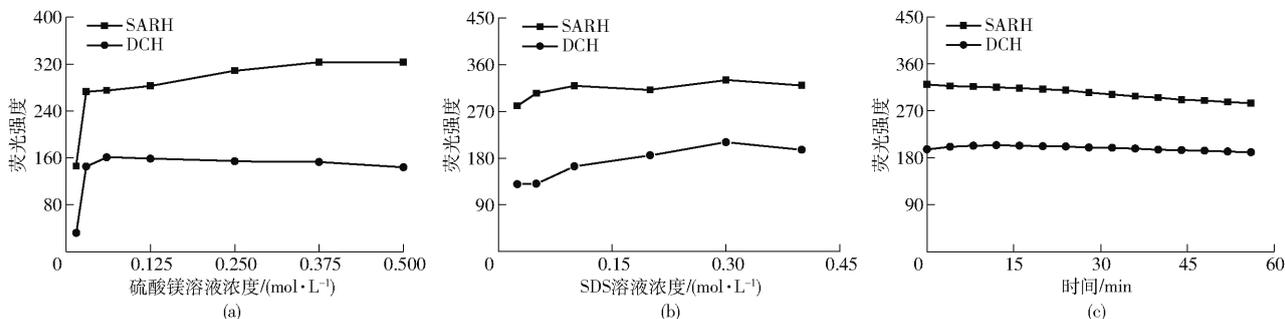


图3 不同条件对荧光强度的影响

Fig.3 Effects of different conditions on fluorescence intensities

### 2.3 主成分分析

PCA 的主要目的是数据降维,将原始变量进行转换,用尽可能少的新变量来表达原始变量的数据特征<sup>[27]</sup>,消除数据冗余和噪声。第 1 主成分方差贡献率为 57.67%,是含 SARH 和 DCH 的鸡肉提取液同步荧光光谱的最重要信息,第 2、3、4 主成分方差贡献率分别为 19.68%、13.58% 和 6.04%,前 4 个

主成分累计方差贡献率为 96.97%,仅 3.03% 信息丢失,能够反映同步荧光光谱主要信息。

### 2.4 预测模型建立和预测结果分析

含 SARH 和 DCH 的鸡肉提取液样本共 13 个,选取 7 个样本作为训练集,以建立预测模型,剩余 6 个作为预测集,以分析模型预测结果,预测集的数据都落在训练集的范围之内(表 1)。

表 1 鸡肉中 SARH 和 DCH 残留的样本统计结果(质量比)

样本集	SARH	DCH	mg/kg			
			平均值		标准差	
			SARH	DCH	SARH	DCH
训练集	0.110 ~ 3.300	0.550 ~ 60.500	1.469	28.757	1.174	21.873
预测集	0.550 ~ 3.025	5.500 ~ 55.000	1.879	27.500	0.959	20.579

分别应用 MLR、PLSR 和 SVR 算法建立鸡肉中 SARH 和 DCH 残留的预测模型,并进行验证,模型预测统计结果如表 2 所示。由表 2 可见,基于 PLSR 的 SARH 残留预测模型的  $R_p^2$  (0.846 5) 和 RPD (2.588 2) 最大, RMSEP (0.344 1 mg/kg) 最小。此外,基于 PLSR 的 DCH 残留预测模型的  $R_p^2$  (0.914 1) 和 RPD

(3.243 5) 最大, RMSEP (5.890 9 mg/kg) 最小。结果表明,采用 PLSR 算法建立 SARH 和 DCH 残留预测模型,可以有效加强预测集的真实值和预测值之间的线性关系,并提高预测模型的预测能力和准确度。

综合上述信息得到基于 PLSR 的预测模型综合

表 2 鸡肉中 SARH 和 DCH 残留的模型预测统计结果

Tab. 2 Statistical results of prediction model of SARH and DCH residues in chicken

评价指标	SARH 建模算法			DCH 建模算法		
	MLR	PLSR	SVR	MLR	PLSR	SVR
$R_p^2$	0.824 9	0.846 5	0.798 9	0.884 0	0.914 1	0.858 3
RMSEP/( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	0.373 2	0.344 1	0.767 5	7.027 6	5.890 9	14.394 0
RPD	2.386 4	2.588 2	1.160 4	2.718 9	3.243 5	1.327 4

评价最好,本试验优选 PLSR 算法建立鸡肉中 SARH 和 DCH 残留的预测模型,检测鸡肉中 SARH 和 DCH 残留的检出限分别可达  $0.11 \text{ mg/kg}$  和  $0.55 \text{ mg/kg}$ ,并绘制了基于 PLSR 算法的鸡肉中 SARH 和 DCH 残留的样本关系图(图 4)。本方法能够满足鸡肉中 SARH 和 DCH 残留快速同时检测要求,对后续研究具有一定的参考价值。

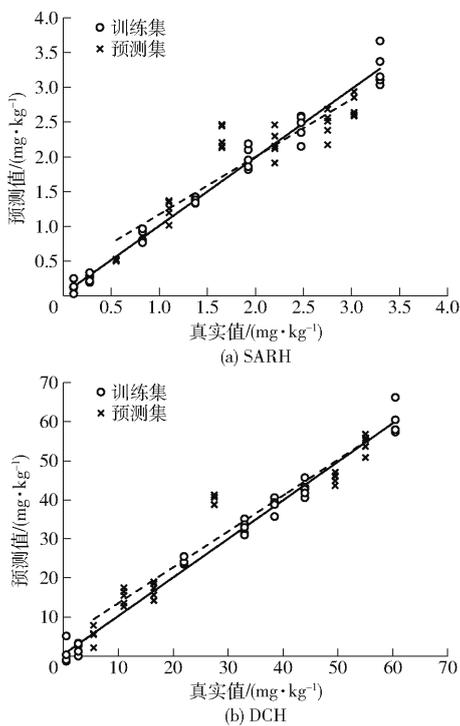


图 4 基于 PLSR 算法的鸡肉中 SARH 和 DCH 残留的样本关系曲线

Fig. 4 Plots of relationship between actual and predicted values of SARH and DCH residues in chicken for training and prediction samples based on PLSR algorithm

### 3 讨论

目前,动物源性食品中喹诺酮类和四环素类抗生素残留检测主要采用液相色谱法。如文献[28-29]分别检测了鸡肉中 SARH 和 DCH 的残留量,定量限分别为  $5.0 \mu\text{g/kg}$  和  $10.0 \mu\text{g/kg}$ 。液相色谱法具有良好的检测精度和选择性,但是所需的设备昂贵且体积较大,不利于鸡肉中抗生素残留快速、大批

量、现场检测要求。

荧光技术具有快速、大批量和可现场检测等优点,在动物源性食品抗生素残留检测中得到了越来越多的应用。如文献[30]建立了鱼肉组织中恩诺沙星残留的检测方法,在  $0.10$ 、 $0.50$ 、 $1.00 \text{ mg/kg}$  添加水平内,回收率在  $79.0\% \sim 94.5\%$  之间。文献[31]建立了牛奶中盐酸四环素残留的检测方法,在  $2.0 \times 10^{-6}$ 、 $4.0 \times 10^{-6}$ 、 $6.0 \times 10^{-6}$ 、 $8.0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$  添加水平内,回收率在  $99.5\% \sim 108.0\%$  之间。文献[32]建立了牛奶中四环素残留的检测方法,在  $1.0$ 、 $4.0$ 、 $7.0 \mu\text{mol/L}$  添加水平内,回收率在  $94.75\% \sim 119.00\%$  之间。常规荧光光谱虽然具有许多优点,但在检测鸡肉中抗生素残留量时,因其谱带较宽,各组分的荧光光谱常发生较大范围的重叠,造成定量分析的困难。同步荧光光谱通过同时扫描激发波长和发射波长获得,其与常规荧光光谱相比具有窄化谱带和减少光谱重叠的优势。因此,同步荧光光谱更适合用于快速检测鸡肉中抗生素残留。

### 4 结论

(1)分析了标准溶液以及鸡肉提取液的三维同步荧光光谱,优选出了检测的最佳波长差  $\Delta\lambda$  为  $110 \text{ nm}$ 。

(2)应用单因素试验分析了硫酸镁溶液浓度、SDS 溶液浓度和时间对荧光强度的影响,获得了最佳检测条件:硫酸镁溶液浓度  $0.375 \text{ mol/L}$ 、SDS 溶液浓度  $0.300 \text{ mol/L}$  和采集时间  $12 \text{ min}$ 。

(3)分别建立并比较了基于 MLR、PLSR 和 SVR 算法的鸡肉中 SARH 和 DCH 残留预测模型,优选基于 PLSR 的预测模型作为分析模型。基于 PLSR 的 SARH 和 DCH 残留预测模型的  $R_p^2$  分别为  $0.846 5$  和  $0.914 1$ , RMSEP 分别为  $0.344 1 \text{ mg/kg}$  和  $5.890 9 \text{ mg/kg}$ , RPD 分别为  $2.588 2$  和  $3.243 5$ 。结果表明同步荧光技术结合基于 PLSR 算法的预测模型检测鸡肉中 SARH 和 DCH 残留量的方法是可行的。

## 参 考 文 献

- [1] 宗乾坤,徐丽娟,吕利群.嗜水气单胞菌性鲫败血症的盐酸沙拉沙星用药方案研究[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2016,44(6):46-52.  
ZONG Qiankun, XU Lijuan, LÜ Liqun. Medication regimen of sarafloxacin against *Aeromonas hydrophila* infection in crucian carp (*Carassius auratus*) [J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2016, 44(6): 46-52. (in Chinese)
- [2] 姜相宇,付华,张敏,等.二硫化钼量子点荧光传感器检测盐酸多西环素的研究[J].分析化学,2018,46(7):1077-1083.  
JIANG Xiangyu, FU Hua, ZHANG Min, et al. Molybdenum disulfide quantum dots-based fluorescence sensor for detection of doxycycline hyclate [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2018, 46(7): 1077-1083. (in Chinese)
- [3] 董峰光,王朝霞,宫春波,等.烟台市806份动物源性食品中违禁药物及兽药残留检测[J].现代预防医学,2018,45(17):3118-3121.  
DONG Fengguang, WANG Chaoxia, GONG Chunbo, et al. Detection of forbidden drug and veterinary drug residue in 806 copies animal derived food, Yantai [J]. Modern Preventive Medicine, 2018, 45(17): 3118-3121. (in Chinese)
- [4] 梁素丹,陈剑刚,张艳.全自动固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定动物肌肉中喹诺酮类和四环素类兽药残留[J].中国食品卫生杂志,2018,30(2):151-157.  
LIANG Sudan, CHEN Jian'gang, ZHANG Yan. Simultaneous determination of veterinary drug residues of quinolones and tetracyclines in animal tissue by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with automatic solid phase extraction [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2018, 30(2): 151-157. (in Chinese)
- [5] 中华人民共和国农业农村部. GB 31650—2019 食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量[S].北京:中国农业出版社,2019.
- [6] SCHNEIDER M J, BRADEN S E, REYES-HERRERA I, et al. Simultaneous determination of fluoroquinolones and tetracyclines in chicken muscle using HPLC with fluorescence detection [J]. Journal of Chromatography B, 2007, 846(1): 8-13.
- [7] 郭黎明,朱奎,丁双阳,等.鸡肌肉组织中四环素类和氟喹诺酮类药物多残留检测[J].中国农业大学学报,2009,14(5):98-102.  
GUO Liming, ZHU Kui, DING Shuangyang, et al. Determination of tetracyclines and fluoroquinolones multiresidue in chicken muscle by high liquid chromatography [J]. Journal of China Agricultural University, 2009, 14(5): 98-102. (in Chinese)
- [8] JAMMOUL A, DARRA N E. Evaluation of antibiotics residues in chicken meat samples in Lebanon [J]. Antibiotics, 2019, 8(2): 69-80.
- [9] 张昆仑,陈晓明,张晓光,等.超高效液相色谱-串联质谱法同时测定鸡肉中四环素类和喹诺酮类抗生素含量[J].食品安全质量检测学报,2019,10(22):7724-7731.  
ZHANG Kunlun, CHEN Xiaoming, ZHANG Xiaoguang, et al. Simultaneous determination of tetracyclines and quinolones antibiotics in chicken by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019, 10(22): 7724-7731. (in Chinese)
- [10] CHEN X F, LIU M H, YUAN H C, et al. Analysis of diethylstilbestrol residues in chicken using surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) coupled with multivariate analysis [J]. Applied Spectroscopy, 2018, 72(12): 1798-1806.
- [11] 郭培源,赵俊华,刘硕,等.鸡肉中四环素残留量检测及健康风险评估[J].食品安全质量检测学报,2015,6(9):3614-3620.  
GUO Peiyuan, ZHAO Junhua, LIU Shuo, et al. Detection of tetracycline residues in chicken and its health risk assessment [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2015, 6(9): 3614-3620. (in Chinese)
- [12] 毛永强,李娜,毛晶.荧光猝灭法快速检测金霉素的研究[J].现代化工,2015,35(7):167-170.  
MAO Yongqiang, LI Na, MAO Jing. Quick determination of chlortetracycline by fluorescence quenching method [J]. Modern Chemical Industry, 2015, 35(7): 167-170. (in Chinese)
- [13] 庄宇,马超群,王小晗,等.同步荧光结合神经网络同时测定3种抗生素[J].激光技术,2017,41(4):489-493.  
ZHUANG Yu, MA Chaoqun, WANG Xiaohan. Simultaneous determination of three antibiotics based on synchronous fluorescence combined with neural network [J]. Laser Technology, 2017, 41(4): 489-493. (in Chinese)
- [14] 李月秋,徐璐璐,吴锦涛,等.酸解增敏同步荧光测动物食品中头孢拉定残留[J].食品研究与开发,2016,37(13):119-123.  
LI Yueqiu, XU Lulu, WU Jintao, et al. Synchronous fluorimetric determination of residue cephadrine by acidly degraded and sensitized in animal food [J]. Food Research and Development, 2016, 37(13): 119-123. (in Chinese)
- [15] 李月秋,窦海洋,吴锦涛,等.碱解增敏同步荧光测猪肌肉及肾中头孢噻唑残留[J].食品研究与开发,2017,38(10):113-117.  
LI Yueqiu, DOU Haiyang, WU Jintao, et al. Synchronous fluorimetric determination of residue ceftiofur in pig muscle and kidney by alkaline degradation and sensibilization [J]. Food Research and Development, 2017, 38(10): 113-117. (in Chinese)
- [16] YIN Z Q, CHAI T T, MU P Q, et al. Multi-residue determination of 210 drugs in pork by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2016, 1463: 49-59.
- [17] 陶惠林,冯海宽,杨贵军,等.基于无人机成像高光谱影像的冬小麦 LAI 估测[J/OL].农业机械学报,2020,51(1):176-187.  
TAO Huilin, FENG Haikuan, YANG Guijun, et al. Leaf area index estimation of winter wheat based on UAV imaging

- hyperspectral imagery[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2020, 51(1): 176–187. [http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view\\_abstract.aspx?flag=1&file\\_no=20200119&journal\\_id=jcsam](http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?flag=1&file_no=20200119&journal_id=jcsam). DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2020.01.019. (in Chinese)
- [18] 朱玲,唐杰,许嘉东,等. 烟用爆珠内液质量稳定性检测——基于紫外光谱技术结合 SVR 算法[J]. 中国烟草学报,2019,25(3):29–36.  
ZHU Ling, TANG Jie, XU Jiadong, et al. Quality stability inspection of liquid contained in flavored capsules for cigarettes based on ultraviolet spectroscopy and SVR algorithm[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2019, 25(3): 29–36. (in Chinese)
- [19] 徐岩,沈含熙,黄汉国. 铝、镁、锌-氟哌酸配合物的荧光特性及其脂溶性研究[J]. 分析科学学报,1997,13(4):271–275.  
XU Yan, SHEN Hanxi, HUANG Hanguo. Studies on the fluorescence characteristics and liposolubilities of complexes of norfloxacin with  $Al^{3+}$ ,  $Zn^{2+}$  and  $Mg^{2+}$  [J]. Journal of Analytical Science, 1997, 13(4): 271–275. (in Chinese)
- [20] 康新平,安哲. 喹诺酮类药物金属配合物的研究进展[J]. 西北药学杂志,2012,27(5):499–502.  
KANG Xinping, AN Zhe. Research progress on the metal complexes of quinolone drug ligands[J]. Northwest Pharmaceutical Journal, 2012, 27(5): 499–502. (in Chinese)
- [21] 陈志敏,陈冠华,郝庆红,等. 导数同步荧光法测定猪肉中强力霉素残留[J]. 河北大学学报(自然科学版),2011,31(1):57–62.  
CHEN Zhimin, CHEN Guanhua, HAO Qinghong, et al. Determination of doxycycline residue in pork by derivative synchronous fluorimetry[J]. Journal of Hebei University (Natural Science Edition), 2011, 31(1): 57–62. (in Chinese)
- [22] 张莹,敖登高娃.  $Zn^{2+}$ -多西环素体系荧光特性研究及多西环素的测定[J]. 药物分析杂志,2006,26(1):89–91.  
ZHANG Ying, AODENG Gaowa. Study on fluorescent characteristics of  $Zn^{2+}$ -doxycycline system and determination of doxycycline[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2006, 26(1): 89–91. (in Chinese)
- [23] 于永丽,张敏,张永芳,等. 十二烷基硫酸钠和硼酸协同增敏铽荧光探针及其测定沙拉沙星[J]. 分析化学,2013,41(12):1951–1952.  
YU Yongli, ZHANG Min, ZHANG Yongfang, et al. Synergistic fluorescence enhancement of terbium probe with sodium dodecyl sulfate and boric acid and its determination of sarafloxacin[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2013, 41(12): 1951–1952. (in Chinese)
- [24] 赵一兵,潘洁,郭祥群,等. 同步荧光法同时测定四环素和脱水四环素[J]. 分析化学,1993,21(12):1439–1441.  
ZHAO Yibing, PAN Jie, GUO Xiangqun, et al. Simultaneous determination of tetracycline and anhydrotetracycline by synchronous fluorimetry[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 1993, 21(12): 1439–1441. (in Chinese)
- [25] 刘天晴,郭荣,沈明,等. SDS 和 CTAB 水溶液中胶束扩散系数及第一、第二 CMC 测定[J]. 物理化学学报,1996,12(4):337–340.  
LIU Tianqing, GUO Rong, SHEN Ming, et al. Determination of the diffusion coefficients of micelle and the first CMC and second CMC in SDS and CTAB solution[J]. Acta Physico-Chimica Sinica, 1996, 12(4): 337–340. (in Chinese)
- [26] 许金钩,王尊本. 荧光分析法[M]. 北京:科学出版社,2006.
- [27] 杨天伟,张霖,李涛,等. 基于主成分分析和聚类分析的不同产地绒牦牛肝菌红外光谱鉴别研究[J]. 光谱学与光谱分析,2016,36(6):1726–1730.  
YANG Tianwei, ZHANG Ji, LI Tao, et al. Discrimination of *Boletus tomentipes* from different regions based on infrared spectrum combined with principal component analysis and cluster analysis[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2016, 36(6): 1726–1730. (in Chinese)
- [28] 李娜,张玉婷,刘磊,等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定动物源食品中 4 类 29 种禁用兽药残留[J]. 色谱,2014,32(12):1313–1319.  
LI Na, ZHANG Yuting, LIU Lei, et al. Simultaneous determination of 4 kinds of 29 banned and restricted veterinary drugs in animal-derived foods by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and modified QuEChERS for sample preparation[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2014, 32(12): 1313–1319. (in Chinese)
- [29] KHALED A, GIONFRIDDO E, ACQUARO V, et al. Development and validation of a fully automated solid phase microextraction high throughput method for quantitative analysis of multiresidue veterinary drugs in chicken tissue[J]. Analytica Chimica Acta, 2019, 1056: 34–46.
- [30] 任乃林,李红. 铽离子增敏荧光光度法测定鱼肉组织中的恩诺沙星残留[J]. 江苏农业科学,2016,44(3):294–296.  
REN Nailin, LI Hong. Determination of residual enrofloxacin in fish tissues by terbium ion-sensitized fluorophotometry[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2016, 44(3): 294–296. (in Chinese)
- [31] 高文慧,王兆群,张勇,等.  $Eu^{3+}$  荧光探针构建及对牛奶中盐酸四环素残留的测定[J]. 分析科学学报,2017,33(6):822–826.  
GAO Wenhui, WANG Zhaoqun, ZHANG Yong, et al. Determination of tetracycline in milk based on  $Eu^{3+}$  fluorescent probe [J]. Journal of Analytical Science, 2017, 33(6): 822–826. (in Chinese)
- [32] TAN H L, CHEN Y. Silver nanoparticle enhanced fluorescence of europium (III) for detection of tetracycline in milk[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2012, 173: 262–267.