

胶体金免疫检测水产品中孔雀石绿残留的前处理方法优化

王 铮, 曹立民, 隋建新*

(中国海洋大学食品科学与工程学院, 青岛 266000)

摘要: **目的** 优化胶体金免疫检测水产品中孔雀石绿残留的前处理方法。**方法** 采用超静音可调节式气泵代替氮吹仪或空气吹干仪, 对商品化孔雀石绿胶体金免疫层析试剂盒前处理方法中的样品用量、提取剂用量、吹干体积量及吹干温度等条件进行优化, 并将优化后的前处理方法在 10 种水产品中进行应用验证。**结果** 在保证原有试剂盒检出限 $2 \mu\text{g}/\text{kg}$ 的前提下, 减少样品用量和提取剂用量, 节约检测成本; 不需用大型仪器, 降低检测人员操作要求; 样品前处理步骤更加简便, 单个样品前处理和检测总时间少于 15 min; 在 10 种水产品中具有较好的实际适用性。**结论** 优化后的孔雀石绿免疫胶体金层析试剂盒前处理方法更加简便、快捷, 可实现水产品中孔雀石绿的基层现场快速检测。

关键词: 孔雀石绿; 胶体金免疫层析现场快速检测; 样品前处理

Optimization of pretreatment method for the determination of malachite green residue in aquatic products by colloidal gold immunoassay

WANG Zheng, CAO Li-Min, SUI Jian-Xin*

(College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266000, China)

ABSTRACT: Objective To optimize the pretreatment method for the determination of malachite green residue in aquatic products by colloidal gold immunoassay. **Methods** Ultra-quiet adjustable air pump was used to replace the nitrogen blowing instrument or air blowing-drying instrument, and the pretreatment conditions of commercial malachite green colloidal gold immunochromatography kit, such as sample dosage, extractant dosage, blowing-drying volume and blowing-drying temperature were optimized. And the optimized pretreatment method was applied to 10 kinds of aquatic products for verification. **Results** On the premise of ensuring the detection limit of the original kit to be $2 \mu\text{g}/\text{kg}$, the sample dosage and the extraction agent dosage were reduced, and the detection cost was saved. No large-scale instruments were needed to reduce the operation requirements of testing personnel. The sample pretreatment steps were simpler, and the total pretreatment and detection time of a single sample was less than 15 min. It had good practical applicability in 10 kinds of aquatic products. **Conclusion** The optimized pretreatment method of the malachite green colloidal gold immunochromatography kit is simpler and faster, which can be used for

基金项目: 国家海水鱼产业技术体系项目(CARS-47-G28)

Fund: Supported by National Marine Fish Industry Technology System Project (CARS-47-G28)

*通讯作者: 隋建新, 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要研究方向为利用抗体材料对水产品加工及贮藏过程中的典型危害因子进行检测与控制技术研究。E-mail: suijianxin@ouc.edu.cn

*Corresponding author: SUI Jian-Xin, Ph.D, Associate Professor, School of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China. E-mail: suijianxin@ouc.edu.cn

rapid detection of malachite green grassroots places in the aquatic products.

KEY WORDS: malachite green; colloidal gold immunochromatographic rapid detection; sample preparation

1 引言

孔雀石绿(malachite green, MG)是一种三苯甲烷类工业染料,被广泛用于预防和治疗各类水产动物的水霉病、鳃霉病和小瓜虫病等^[1]。但随着国内外学者的陆续研究发现,孔雀石绿的水生代谢物主要是隐色孔雀石绿(leucomalachite green, LMG),在动物体内残留时间可长达 100 d 以上,具有潜在的致癌、致畸和致突变等危险^[2],因此,我国农业部早在 2002 年 12 月颁布的《动物性食品中兽药最高残留限量》中明确规定孔雀石绿为禁用药物,在动物性食品中不得检出。目前,利用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)^[3,4]、液相色谱-质谱法(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)^[5,6]、酶联免疫检测(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)^[7,8]和胶体金免疫检测(immune colloidal gold technique, ICGT)^[9-11]等技术均可进行药残检测,其中胶体金免疫层析技术以更加简便、快速、结果肉眼可见等优点广泛用于水产品中孔雀石绿等禁用渔药的检测^[12-14]。2017 年 5 月,国家食药监局也发布了《水产品中孔雀石绿的快速检测胶体金免疫层析法》,确定胶体金免疫层析法检测水产品中孔雀石绿的检出限为 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[15]。

现有关于胶体金免疫层析法检测水产品中孔雀石绿的文献及市场上流通的商品化孔雀石绿试剂盒大多难以满足水产养殖现场的检测要求^[16,17]。首先,隐色孔雀石绿脂溶性的溶解性质决定了目前所有的孔雀石绿免疫胶体金试剂盒前处理方法均需要使用有机溶剂提取,样品用量较大造成有机溶剂使用量大及提取体系大,导致后续操作必须使用大型离心机;其次,过多的吹干体积量增加了吹干时间,进而导致前处理时间过长;另外,吹干步骤所用到的氮吹仪、空气吹干仪等复杂仪器需要专业人员的操作,检测成本高,这些问题严重限制了孔雀石绿胶体金免疫层析试剂盒在水产养殖基地等基层现场快速筛选、现场判定的应用。因此,本研究为满足商品化孔雀石绿免疫胶体金试剂盒在基层现场的实际适用性,结合快速检测的需要,使用水产养殖基地普遍配备的超静音可调节式气泵作为吹干设备,对商品化孔雀石绿胶体金免疫层析试剂盒前处理方法中的样品用量、提取剂用量、吹干体积量及吹干温度等条件进行了优化。以期在满足原有试剂盒检出限的前提下,以更加简便、快速为标准,实现水产品中孔雀石绿的基层现场检测,对水产品质量安全的监测工作产生重要影响。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

JA200 型精密电子天平(北京赛多利斯公司); Mini shaker 涡旋振荡器(广州仪科仪器公司); BCD-215KS 低温冰箱(青岛海尔公司); DS-1 型高速组织捣碎机(上海标本模型厂); TDL-5M 冷冻离心机(长沙湘仪仪器公司); MTN-2800D 氮吹仪(天津 Auto science 公司); Mini Dancer Plus 掌上离心机(上海生工生物公司); HH-1 恒温水浴锅(常州国华电器); ACO-9601 超静音可调节式气泵(广东省海利集团)。

孔雀石绿标准品:纯度 $\geq 99\%$,使用时取 10.0 mg 孔雀石绿标准品,溶于去离子水并定容至 100 mL,得到 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的孔雀石绿储备溶液,4 $^{\circ}\text{C}$ 保存;隐色孔雀石绿标准品:纯度 $\geq 99\%$,使用时取 10.0 mg 隐色孔雀石绿标准品,溶于乙腈并定容至 100 mL,得到 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的隐色孔雀石绿储备溶液,4 $^{\circ}\text{C}$ 保存;孔雀石绿胶体金免疫层析试剂盒(苏州快捷康生物技术有限公司, MG 检出限 $\leq 2 \mu\text{g}/\text{kg}$, 包含检测所用试剂提取剂 1、提取剂 2、氧化剂、MG 复溶液)。

2.2 材料

阴性鱼肉样品(大菱鲆、牙鲆、半滑舌鲷、大黄花、小黄花、鲳鱼、草鱼、黑鱼、南美白对虾),购于青岛市场,经黄海水产研究所检验为孔雀石绿和隐色孔雀石绿阴性样品。

鲈鱼阳性样品:购于青岛市场,经黄海水产研究检验为孔雀石绿和隐色孔雀石绿阳性样品,且孔雀石绿和隐色孔雀石绿检出量总和为 1.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

实验所用鱼肉样品均去鳞、皮、头、骨刺等,取肌肉,高速组织捣碎机充分均质,装入样品袋中,-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存,临用解冻。

2.3 实验方法

2.3.1 孔雀石绿胶体金免疫层析试剂盒的评价

称取(3 \pm 0.1) g 牙鲆、大菱鲆、半滑舌鲷 3 种确定为阴性的鱼肉样品于 50 mL 离心管中,均匀加入隐色孔雀石绿标准溶液使鱼肉加标浓度至 0、0.5、1、1.5、2 $\mu\text{g}/\text{kg}$,37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 4 h。

参照孔雀石绿胶体金快速检测试剂盒使用说明书,进行如下处理:向上述离心管中依次加入提取剂 1 溶液 4 mL,乙腈 4 mL,盖上盖子剧烈振荡 3 min,然后加入 1 瓶提取剂 2,盖上盖子剧烈并充分振荡 2 min 后,室温下 4000 r/min 离心 5 min;移取 1.2 mL 上清液于 5 mL 离心管

中, 加入 100 μL 氧化剂, 平行轻摇混匀 1 min, 65 $^{\circ}\text{C}$ 下, 利用氮吹仪吹干; 向吹干的离心管中加入 0.3 mL MG 复溶液, 复溶离心管底及内壁固体残留物, 静置 2 min。用配套滴管吸取 120 μL 复溶液于金标微孔中, 轻柔吹打 1 min, 完全溶解金标微孔底部红色物质, 水平静置反应 2 min, 吸取金标微孔内红色溶液, 轻柔吹打 30 s 后, 全部滴加到检测卡加样孔中, 5~8 min 内读取结果。平行测定 3 次, 统计样品检测结果。

2.3.2 样品前处理优化

参照试剂盒前处理方法, 对样品用量、提取剂用量、吹干体积量和吹干温度等条件进行优化, 以期符合现场快速检测的要求。

(1) 样品用量

称取 0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8 g 阴性鲳鱼肉样品于 5 mL 离心管中, 加标 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的 LMG, 以不添加 LMG 的样品作为对照, 平行测定 3 次。统计样品检测结果, 确定最佳样品用量。

(2) 提取剂用量

在确定样品用量后, 依次加入与样品量比例为 1:1、1:1.2、1:1.4 的提取剂 1 和与样品量比例为 1:1、1:1.2、1:1.4、1:1.6 的乙腈, 吸取最大量上清液吹干, 以不添加 LMG 的样品作为对照组, 平行测定 3 次。统计样品检测结果, 确定最佳提取剂 1 和乙腈用量。

(3) 吹干体积量

在确定样品用量和提取剂的条件, 分别移取 0.2、0.25、0.3、0.35、0.4 mL 上清液于 2 mL 离心管中, 以不添加 LMG 的样品作为对照组, 平行测定 3 次。统计样品检测结果, 确定最佳吹干体积。

(4) 吹干温度

在确定以上条件后, 利用超静音可调节式气泵在水浴温度分别为 45、55、65、75 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下吹干, 以不添加 LMG 的样品作为对照组, 平行测定 3 次。统计样品检测结果, 确定最佳吹干温度。

其余实验条件的确定: 提取剂 2 用量根据优化后样品用量相较于原样品用量的缩小倍数进行等比例调整; 氧化剂用量根据优化后样品用量的缩小倍数及吹干体积中含有的 LMG 理论总量(按 100% 提取) 进行调整; 吹干设备更换为便携式的超静音可调节式气泵。

2.3.3 优化后前处理方法在实际样品中的应用验证

(1) 阴性样品加标实验

准确称取最佳样品用量的阴性水产样品(大菱鲆、牙鲆、半滑舌鳎、大黄花、小黄花、鲳鱼、黑鱼、草鱼、南美白对虾样品), LMG 加标浓度依次为 0、0.5、1、1.5、2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。采用优化后的前处理方法检测, 每组样品平行测定 3 次。

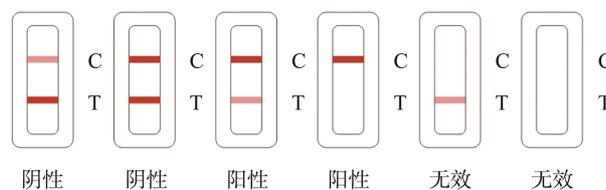
(2) 阳性样品验证实验

将确证阳性的鲳鱼样品采用上述前处理方法进行检

测, 以不添加鲳鱼样品作为对照组, 平行测定 3 次。

2.3.4 胶体金试纸卡判读方法

判读方法见图 1。



注: 阴性: T 线(检测线, 靠近加样孔一端)显色比 C 线(对照线)深或一样深。阳性: T 线显色比 C 线浅; T 线越浅, 表明样品中孔雀石绿残留浓度越高。无效: C 线不显色, 表明不正确的操作过程或检测卡已变质损坏。

图 1 胶体金试纸卡判读方法

Fig.1 Method of reading colloidal gold dipstick

3 结果与分析

3.1 孔雀石绿胶体金免疫层析试剂盒的评价

将大菱鲆、牙鲆、半滑舌鳎 3 种鱼肉加标样品经孔雀石绿胶体金免疫层析试剂盒检测, 结果如表 1 所示。大菱鲆和牙鲆鱼肉样品的检出限 $\leq 1 \mu\text{g}/\text{kg}$, 半滑舌鳎样品的检出限 $\leq 0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$, 满足检测水产品中孔雀石绿的灵敏度要求, 且具有较好的重复性和稳定性, 可开展后续前处理优化研究。

表 1 不同水产品的孔雀石绿胶体金免疫层析试剂盒检测结果
Table 1 Detection results of malachite green colloidal gold immunochromatography kits for different aquatic products

样品	不同加标浓度				
	0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$	1 $\mu\text{g}/\text{kg}$	1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$	2 $\mu\text{g}/\text{kg}$
大菱鲆	-	-	+	+	+
	-	-	+	+	+
	-	-	+	+	+
牙鲆	-	-	+	+	+
	-	-	+	+	+
	-	+	+	+	+
半滑舌鳎	-	+	+	+	+
	-	+	+	+	+
	-	+	+	+	+

注: “+”代表阳性, “-”代表阴性。

3.2 样品前处理方法的优化

3.2.1 样品用量的优化结果

样品的用量决定了提取体系的大小,为尽可能在不影响检出限的基础上缩小提取体系于 2 mL 或 5 mL 离心管中完成提取实验,避免大型离心机的使用。因此,减少原有试剂盒样品用量的 4~10 倍进行胶体金免疫检测,结果如表 2 所示。样品用量 ≤ 0.4 g 时胶体金免疫检测结果显示阴性;样品用量 ≥ 0.5 g 时胶体金免疫检测结果均呈现阳性。考虑到样品用量越大,提取剂用量越大,容易增加后续吹干浓缩的时间,所以选择样品量 0.5 g 为最佳样品用量。

表 2 不同样本用量的胶体金免疫检测结果

Table 2 Colloidal gold immunoassay results for different sample dosages

处理	样品用量					
	0.3 g	0.4 g	0.5 g	0.6 g	0.7 g	0.8 g
鲳鱼	-	-	-	-	-	-
对照组	-	-	-	-	-	-
鲳鱼	-	-	+	+	+	+
实验组	-	-	+	+	+	+
	-	-	+	+	+	+

注:“+”代表阳性,“-”代表阴性。

3.2.2 提取剂用量的优化结果

提取剂用量过少会造成待测物提取不充分,用量过

多不仅会增大提取体系,还会增加吹干体积量而增长吹干时间。因此,称取 0.5 g 阴性鲳鱼样本加标至 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$,加入提取剂 1 和乙腈后进行检测,结果如表 3 所示。加入不同量的提取剂 1 对结果影响不明显,而加入乙腈量 ≤ 0.6 mL 时,实验组均呈现阴性结果,加入乙腈量 ≥ 0.7 mL 时,结果为阳性,说明提取的效率跟乙腈的加入量有关。水产品的含水量较高,极性较强的乙腈作为提取剂能有效溶解目标物,且乙腈具有沉降蛋白质的作用,达到净化效果。为尽可能缩小提取体系及减少试剂浪费,确定最佳提取剂 1 用量为 0.5 mL,乙腈用量为 0.7 mL。

3.2.3 吹干体积量的优化结果

移取不同上清液体积后进行氧化、吹干、复溶等操作得到待测液,胶体金试纸卡检测结果如表 4 所示,吹干体积 ≤ 0.35 mL 时,呈现阴性;吹干体积达到 0.4 mL 时,呈现阳性。考虑到提取过程的乙腈损耗,最终移取上清液的体积总是小于乙腈的添加量,且鱼肉样品量越多,乙腈的损耗量越多;同时吹干体积不宜过大,以免增加后续吹干的时间,所以确实 0.4 mL 为最佳吹干体积。

3.2.4 吹干温度的优化结果

加入一定量氧化剂于乙腈提取液中,在不同温度下使用超静音可调节式气泵对样品进行吹干,检测结果如表 5 所示。当水浴温度 < 55 $^{\circ}\text{C}$ 时,实验组呈现阴性结果,当水浴温度达到 55 $^{\circ}\text{C}$ 时,实验组存在假阴性,可能由于在水浴温度较低的情况下氧化剂不能完全将隐色孔雀石绿氧化为孔雀石绿。而当水浴温度 ≥ 65 $^{\circ}\text{C}$ 时,结果均为阳性,考虑到吹干时间差距不大,故选择 65 $^{\circ}\text{C}$ 为最佳吹干温度。

表 3 不同提取剂用量的胶体金免疫检测结果

Table 3 Colloidal gold immunoassay results for different amounts of extractant

乙腈用量	提取剂 1 用量																
	对照组						实验组										
	0.5 mL	0.6 mL	0.7 mL	0.5 mL	0.6 mL	0.7 mL	0.5 mL	0.6 mL	0.7 mL	0.8 mL	0.5 mL	0.6 mL	0.7 mL				
0.5 mL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.6 mL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.7 mL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
0.8 mL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+

注:“+”代表阳性,“-”代表阴性

表 4 不同吹干体积的胶体金免疫检测结果

Table 4 Colloidal gold immunoassay results for different blow-drying supernatant volumes

样品	吹干体积				
	0.2 mL	0.25 mL	0.3 mL	0.35 mL	0.4 mL
鲳鱼	-	-	-	-	-
对照组	-	-	-	-	-
鲳鱼	-	-	-	-	+
实验组	-	-	-	-	+
	-	-	-	-	+

注:“+”代表阳性,“-”代表阴性。

表 5 不同吹干温度的胶体金免疫检测结果
Table 5 Colloidal gold immunoassay results at different drying temperatures

处理	不同吹干温度											
	45 °C			55 °C			65 °C			75 °C		
对照组	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
实验组	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+

注: “+”代表阳性,“-”代表阴性。

最终确定孔雀石绿胶体金免疫检测的前处理方法如下: 称取 0.5 g 鱼肉样品至 2 mL 离心管中; 加入提取剂 1 溶液 0.5 mL, 乙腈 0.7 mL, 盖上盖子剧烈振荡 30 s, 再加入 0.5 g 提取剂 2, 剧烈并充分振荡 30 s, 室温下 6000 r/min 离心 30 s; 移取 0.4 mL 上清液于 2 mL 离心管中, 加入 35 μL 氧化剂, 平行轻摇混匀 30 s; 65 °C 水浴, 利用超静音可调节式气泵吹干, 约 4~5 min; 向吹干的离心管中加入 100 μL MG 复溶液, 复溶离心管底及内壁固体残留物, 静置 1 min, 待检。

3.3 实际样品中的应用验证

3.3.1 阴性样品加标

将 9 种水产品共 135 份阴性样品加标制成阳性样品, 利用优化后前处理方法平行检测 3 次, 由结果(表 6)可以看出, 半滑舌鳎及南美白对虾样品的检出限 ≤ 0.5 μg/kg, 草鱼和黑鱼样品的检出限 ≤ 1 μg/kg, 大菱鲆、牙鲆、鲷鱼、大黄花和小黄花等样品的检出限 ≤ 1.5 μg/kg, 表明优化后的前处理方法对 9 种市售水产品中孔雀石绿检测的灵敏度均满足该试剂盒原有检出限 2 μg/kg 的要求, 且具有较好的重复性和稳定性。

3.3.2 阳性样品验证

采用上述前处理方法对阳性鲈鱼样品进行检测。免疫胶体金检测结果(表 7)显示阳性, 且 3 次平行测定结果一致, 说明优化后检测方法可适应于实际水产样品中孔雀石绿及其代谢物隐色孔雀石绿的提取, 满足基层现场快速筛选孔雀石绿的检出限 2 μg/kg 的要求, 具有较高的实用性。

表 6 优化后对多种阴性加标样品的检出限确定
Table 6 Determination of detection limits for multiple negative spiked samples after optimization

样品	不同加标浓度				
	0 μg/kg	0.5 μg/kg	1 μg/kg	1.5 μg/kg	2 μg/kg
大菱鲆	-	-	-	+	+
牙鲆	-	-	-	+	+
鲷鱼	-	-	-	+	+
黑鱼	-	-	-	+	+
草鱼	-	-	-	+	+

续表 6

样品	不同加标浓度				
	0 μg/kg	0.5 μg/kg	1 μg/kg	1.5 μg/kg	2 μg/kg
半滑舌鳎	-	+	+	+	+
大黄花	-	+	+	+	+
小黄花	-	-	-	+	+
鲷鱼	-	-	-	+	+
黑鱼	-	-	+	+	+
草鱼	-	-	+	+	+
南美白对虾	-	+	+	+	+

注: “+”代表阳性,“-”代表阴性。

表 7 阳性鲈鱼样品的免疫胶体金检测结果
Table 7 Results of colloidal gold immunochromatographic detection of positive sea bass samples

样品	对照组	实验组
鲈鱼(阳性)	-	+
	-	+
	-	+

注: “+”代表阳性,“-”代表阴性。

3.4 优化后前处理方法的性能比较

本研究优化的样品前处理方法在灵敏度上满足检测孔雀石绿的基本要求,更为重要的是,样品前处理步骤更加简单,不需要使用大型仪器,极大地降低了检测成本和

对检测人员操作技能的要求;而且整个检测用时仅需 15 min,与试剂盒原有方法和相关文献方法相比,在现场操作性方面具有显著优势(表 8),尤其适用于养殖场等基层现场针对孔雀石绿的快速检测。

表 8 优化后检测方法 with 试剂盒及文献方法的参数对比
Table 8 Parameter comparison of optimized detection methods, kits and literature methods

来源	适用样本	操作	灵敏度	检测时间	使用仪器
基于胶体金免疫层析法快速筛查水产品中的药物残留 ^[18]	水产品	样品和提取剂用量大,吹干时间长,需要净化步骤	1.0 µg/kg	>40 min	大型离心机 空气吹干仪
胶体金免疫层析法检测水产品中孔雀石绿前处理方法的优化 ^[16]	带鱼、金鲳鱼、多宝鱼、草鱼、罗非鱼、南美白对虾、鲫鱼、鲈鱼、鲤鱼、鳊鱼	样品和提取剂用量大,吹干时间长	2.0 µg/kg	30 min	大型离心机 空气吹干仪
水产品中孔雀石绿残留免疫胶体金快速检测试剂盒的优化 ^[17]	草鱼、鲫、鳊、鳅、鲢、黄鳝、甲鱼、螃蟹、南美白对虾	提取剂用量大,吹干时间长	2.0 µg/kg	20 min	大型离心机 空气吹干仪
原试剂盒	水产品	样品和提取剂用量大,吹干时间长	2.0 µg/kg	>30 min	大型离心机 氮吹仪
本研究	大菱鲆、牙鲆、半滑舌鳎、大黄花、小黄花、鲳鱼、黑鱼、草鱼、南美白对虾、鲈鱼	样品和提取剂用量小,吹干时间短	2.0 µg/kg	< 15 min	掌上离心机 超静音可调节式气泵

4 结 论

本研究在商品化孔雀石绿胶体金免疫层析试剂盒前处理的基础上,对样品用量、提取剂用量、吹干体积及吹干温度等条件进行了优化,同时改用超静音可调节式气泵代替氮吹,实现水产品中孔雀石绿等脂溶性待测物在基层现场的快速检测。在保证试剂盒原有检出限 2 µg/kg 的情况下,减少样本用量至 0.5 g,一方面节省提取剂等有机溶剂的消耗,另一方面,缩小样品前处理体系至 2 mL 离心管,不需要大型离心机等仪器;改用简易的超静音可调节式气泵作为吹干设备,不需要氮吹仪等复杂仪器,对检测人员操作水平要求低,且超静音可调节式气泵作为便携式仪器,可与其他检测设备如掌上离心机等集成快速检测箱,用于基层现场的 MG 检测;进一步缩短了样品前处理的时间,处理操作简单、检测速度快,单个样品检测总时长从原来的 30 min 缩短至 15 min。此外,该方法在 10 种水产品中进行实际应用验证,具有较好的重复性和稳定性,且灵敏度均满足目前基层现场大量快速筛选孔雀石绿的一般要求,在现场监控和基层检测中具有广阔的应用前景。

参考文献

- [1] Bergwerff AA, Kuiper RV, Scherpenisse P. Persistence of residues of malachite green in juvenile eels (*Anguilla anguilla*) [J]. *Aquaculture*, 2004, 233(1/4): 55–63.
- [2] 孙满义, 杨贤庆, 岑剑伟, 等. 水产品中孔雀石绿的研究进展[J]. *食品*

工业科技, 2009, (2): 312–315.

Sun MY, Yang XQ, Cen JW, *et al.* Research progress of malachite green in aquatic products [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2009, (2): 312–315.

- [3] GB/T 19857–2005 食品安全国家标准 水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量的测定 高效液相色谱法[S].
GB/T 19857–2005 National food safety standard-Determination of malachite green and crystal violet residues in aquatic products by high performance liquid chromatography [S].
- [4] GB/T 19857–2006 食品安全国家标准 水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量的测定 高效液相色谱荧光检测法[S].
GB/T 19857–2006 National food safety standard-Determination of malachite green and crystal violet residues in aquatic products by HPLC fluorescence method [S].
- [5] SN/T 1768–2006 商检行业标准 水产品中孔雀石绿和结晶紫及其代谢产物的快速测定方法 液相色谱-串联质谱法[S].
SN/T 1768–2006 Inspection industry standards-Rapid determination of malachite green and crystal violet and their metabolites in aquatic products-Liquid chromatography-tandem mass spectrometry [S].
- [6] 张艺蓓, 岳田利, 乔海鸥, 等. 高效液相色谱-串联质谱法检测鱼中孔雀石绿、结晶紫及其代谢物[J]. *食品科学*, 2014, 35(10): 179–184.
Zhang YB, Yue TL, Qiao HO, *et al.* Detection of malachite green, crystal violet and its metabolites in fish by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Sci*, 2014, 35(10): 179–184.
- [7] Zhang Y, Yang JY, Lei HT, *et al.* Development of chemiluminescent enzyme immunoassay for the determination of malachite green in seafood [J]. *Food Agric Immunol*, 2015, 26(2): 204–217.
- [8] 王宇, 杨金易, 徐振林, 等. 孔雀石绿单克隆抗体制备和酶联免疫检测方法的建立[J]. *分析化学*, 2016, 44(9): 1385–1393.

- Wang Y, Yang JY, Xu ZL, *et al.* Preparation of malachite green monoclonal antibody and establishment of ELISA method [J]. *J Anal Chem*, 2016, 44(9): 1385–1393.
- [9] 王蔚芳, 李青梅, 郭军庆, 等. 胶体金免疫层析快速检测技术及其在水产养殖业中的应用前景[J]. *渔业科学进展*, 2010, 31(3): 113–118.
- Wang WF, Li QM, Guo JQ, *et al.* Colloidal gold immunochromatographic rapid detection technology and its application prospects in aquaculture [J]. *Adv Fish Sci*, 2010, 31(3): 113–118.
- [10] 周丽岩, 吕宝新, 任勃儒, 等. 胶体金免疫层析技术在食品安全检测中的应用研究[J]. *中国调味品*, 2015, 40(2): 128–131.
- Zhou LY, Lv BX, Ren BR, *et al.* Research on application of colloidal gold immunochromatography in food safety detection [J]. *China Cond*, 2015, 40(2): 128–131.
- [11] 龚频, 王思远, 陈雪峰, 等. 胶体金免疫层析试纸条技术及其在食品安全检测中的应用研究进展[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(13): 358–364.
- Gong P, Wang SY, Chen XF, *et al.* Colloidal gold immunochromatographic test strip technology and its application in food safety testing [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2019, 40(13): 358–364.
- [12] 张素青, 李青春, 陈永平, 等. 胶体金免疫层析技术在水产品药物残留检测中的应用[J]. *科学养鱼*, 2011, (11): 44–46.
- Zhang SQ, Li QC, Chen YP, *et al.* Application of colloidal gold immunochromatography in detection of aquatic product drug residues [J]. *Sci Fish Farm*, 2011, (11): 44–46.
- [13] 山珊, 彭涛, 杨万春, 等. 胶体金免疫层析法定量检测孔雀石绿[J]. *食品科学*, 2013, 34(16): 160–163.
- Shan S, Peng T, Yang WC, *et al.* Quantitative detection of malachite green by colloidal gold immunochromatography [J]. *Food Sci*, 2013, 34(16): 160–163.
- [14] 谢世红, 欧阳敏, 花麒, 等. 应用胶体金免疫层析法快速检测水产品中孔雀石绿的残留[J]. *江西水产科技*, 2013, (3): 9–13.
- Xie SH, Ou YM, Hua Q, *et al.* Rapid detection of malachite green residues in aquatic products using colloidal gold immunochromatography [J]. *Jiangxi Fish Sci Technol*, 2013, (3): 9–13.
- [15] KJ 201701 水产品中孔雀石绿的快速检测 胶体金免疫层析法[S].
- KJ 201701 Colloidal gold immunochromatography for rapid detection of malachite green in aquatic products [S].
- [16] 黄向荣, 钟松清, 刘志培, 等. 胶体金免疫层析法检测水产品中孔雀石绿前处理方法的优化[J]. *北京农学院学报*, 2015, 30(2): 53–58.
- Huang XR, Zhong SQ, Liu ZP, *et al.* Optimization of pretreatment method for detection of malachite green in aquatic products by colloidal gold immunochromatography [J]. *J Beijing Agric Coll*, 2015, 30(2): 53–58.
- [17] 孟霞, 谢世红, 银旭红, 等. 水产品中孔雀石绿残留免疫胶体金快速检测试剂盒的优化[J]. *试验总结*, 2017, (1): 31–35.
- Meng X, Xie SH, Yin XH, *et al.* Optimization of rapid detection kit for malachite green residual immunocolloidal gold in aquatic products [J]. *Test Summary*, 2017, (1): 31–35.
- [18] 赖年悦, 钱继银, 方凯, 等. 基于胶体金免疫层析法快速筛查水产品中的药物残留[J]. *安徽农业科学*, 2013, 41(26): 10817–10831.
- Lai NY, Qian JY, Fang K, *et al.* Rapid screening of drug residues in aquatic products based on colloidal gold immunochromatography [J]. *Anhui Agric Sci*, 2013, 41(26): 10817–10831.

(责任编辑: 王 欣)

作者简介



王 铮, 硕士, 主要研究方向为水产品中渔药残留的快速检测技术研究。
E-mail: 1264395551@qq.com



隋建新, 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要研究方向为利用抗体材料, 对水产品加工及贮藏过程中的典型危害因子进行检测与控制技术研究。
E-mail: suijianxin@ouc.edu.cn