

免疫胶体金快速检测水产品中孔雀石绿残留的质量分析和评价

刘欢^{1*}, 郭萌萌², 李晋成¹, 吴立冬¹, 许玉艳¹, 李强¹, 马兵¹

(1. 中国水产科学研究院 质量与标准研究中心 北京 100141;

2. 黄海水产研究所 国家水产品质量监督检验中心 青岛 266071)

摘要: **目的** 为推动免疫胶体金类现场快速检测技术在水产品药物残留监管领域中的应用。**方法** 本研究采用一套“盲样式”免疫胶体金类快速检测产品质量评价方法,对10种市售的用于检测水产品中孔雀石绿残留的国产胶体金快速检测产品的假阳性率、假阴性率、检出率及稳定性等指标进行验证。**结果** 结果显示,有3种产品能100%准确检测出84个鱼糜样品中是否残留孔雀石绿,且2个不同批次产品的检测结果一致;另外7种产品检出假阳性或假阴性样品,且2个不同批次间产品的稳定性有差异。**结论** 将此类产品应用于水产品质量安全监管之前,有必要对其最低检出限、假阳性率、假阴性率、稳定性等参数进行验证,以确保检测结果的科学性和公正性。

关键词: 孔雀石绿;免疫胶体金类快速检测产品;分析评价;假阳性率;假阴性率

Evaluation of qualities of colloidal gold rapid detection kits for malachite green in seafood

LIU Huan^{1*}, GUO Meng-Meng², LI Jin-Cheng¹, WU Li-Dong¹, XU Yu-Yan¹, LI Qiang¹, MA Bing¹

(1. *Quality and Standards Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Beijing 100141, China*; 2. *National Aquatic Products Quality Supervision and Inspection Center, Qingdao 266071, China*)

ABSTRACT: Objective To promote the application of colloidal gold rapid detection kits in sea food residual regulation. **Methods** Ten kinds of rapid detection products which were used to detect the residue of malachite green were tested and evaluated by a kind of blind sample testing method, which included false positive rate (FPR), false negative rate (FNR), and the lowest detectable limit (LDL). **Results** The results showed that only 3 kinds of product could detect the malachite green residues in 84 fish samples exactly, and there was no difference between the 2 results using different batch of products. The other products detected the false positive/ negative samples, there were different stability in FPR/ FNR of these products when using 2 batches of products. **Conculusion** The results suggest that it is necessary to evaluate the LDL, FPR and FNR to ensure the impartiality of the test results before application.

KEY WORDS: malachite green; colloidal gold rapid detection products; evaluation; false positive rate; false

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20907051); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助项目(2013C006)。

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (20907051); the Special Scientific Research Funds for Central Non-Profit Institutes, Chinese Academy of Fishery Sciences (2013C006).

*通讯作者: 刘欢, 副研究员, 主要研究方向为水产品质量安全监管及检测技术研究。E-mail: liuh@cafs.ac.cn

*Corresponding author: LIU Huan, Associate Professor, Quality and Standards Research Center of Chinese Academy of Fishery Sciences, No.150, Yongding Road, Fengtai District, Beijing 100141, China. E-mail: liuh@cafs.ac.cn

negative rate

1 引言

孔雀石绿是一种合成的三芳基甲烷工业染料,因其具有较强的杀菌、杀虫作用,特别是对抑制真菌、霉菌效果好,1936年以来在水产养殖业中被用于消毒,主要用于杀灭霉菌和鱼体外的寄生虫等。孔雀石绿在生物体内被迅速转化成无色孔雀石绿,无色孔雀石绿与蛋白质紧密结合而具有较长的消除半衰期,且半衰期随生物种类和环境条件变化而不同^[1]。从20世纪90年代开始,国内外学者陆续发布的研究结果指出孔雀石绿在鱼体内和环境中的残留时间长,具有潜在的致癌、致畸和致突变等危险,因此,被许多国家和地区列为水产养殖禁用药物。如加拿大于1992年禁止将其作为渔场杀菌剂,规定在食用水产品中禁止检出;欧盟于2002年6月颁布法令禁止在渔场中使用孔雀石绿;我国农业部在2002年12月第235号公告《动物性食品中兽药最高残留限量》中规定孔雀石绿为禁用药物,在动物性食品中不得检出^[2-5]。2005年6月,英国超市从其出售的来自中国的养殖鳊鱼体内检出孔雀石绿,随后,日本、欧盟、中国香港等国家和地区也纷纷从我国出口的鳊鱼中检出孔雀石绿药物残留,导致我国的鳊鱼出口大幅度下降,水产品中的孔雀石绿残留问题对我国渔业产业的发展带来巨大的经济损失^[1]。近年来,水产品中孔雀石绿残留问题一直是我国水产品质量安全监管的重点,在农业部近年印发的农产品质量安全专项整治方案中均将水产品中孔雀石绿残留问题作为专项整治重点^[6,7]。然而,从国家相关部委近年公布的水产品质量安全监测结果中发现,在生产过程中仍存在违规添加孔雀石绿致使个别品种中检测出孔雀石绿^[8]。“小而散”是我国的水产养殖生产经营的主要特点,水产品质量安全监管部门要面对以家庭为单位的千家万户式监管对象,水产品加工业同样面对来自数以千计甚至万计的养殖户生产的水产品作为加工原料,因此,面对庞大的监管和质量控制对象,具有检测速度快、结果准且操作步骤简单等特点的现场快速检测产品将成为行业监管以及企业生产控制的有效工具^[9]。

基于胶体金免疫层析技术(gold immuno

chromatographic assay, GICA)开发出的商品化兽药残留快速诊断试纸条/卡(简称“胶体金试纸条/卡”)具有便于携带、可直接在生产或销售现场出具检测结果、且可肉眼判断等特点,较为满足行业主管部门以及大型企业开展兽药残留监控管理的工作需要^[10-19]。目前,国外已有相当成熟的商品化试纸条,如美国的Chram Science Inc.公司研发的一系列用于检测牛奶中各种抗生素的免疫纸层析胶体金试纸条 ROSA 系列^[20]。在国内商品化的免疫胶体金试纸条/卡的研发与生产发展迅猛,已有多家专注于研发和生产食品安全快速检测产品的企业,国产的部分商品化试纸条产品已广泛用于牛奶中三聚氰胺、畜牧产品中莱克多巴胺、蜂蜜产品中四环素、磺胺等药物残留的检测。在应用快速检测产品检测水产品中禁用药物残留方面,目前商品化的免疫胶体金试纸条/卡产品主要有用于检测水产品中氯霉素、硝基咪唑类代谢物和孔雀石绿残留,但此类快速检测产品在实际生产和监管中应用并不广泛,产品质量不稳定是限制其广泛应用的原因之一^[21,22]。本课题组曾建立了一套“盲样式”免疫胶体金类快速检测产品质量评价方法,并用此方法对水产品中氯霉素和硝基咪唑类代谢物的免疫胶体金类快速检测产品进行质量分析和评价,发现验证的快速检测产品存在技术成熟度不足、质量参差不齐问题^[9,23]。为进一步推动该类产品在水产品药物残留监管领域的应用,本研究继续对商品化程度较高的孔雀石绿快速检测产品的质量进行分析和评价,选取10种市售的可用于现场检测水产品中孔雀石绿残留的国产免疫胶体金快速检测产品(简称“孔雀石绿快检产品”),通过实验验证其假阳性率、假阴性率、实际样品检出率等技术指标,以期客观地分析和评价当前国内市场上此类产品的质量状况,为从事水产品中药物残留监管的工作人员、水产品养殖和加工企业或个人应用此类产品提供参考。

2 材料和方法

2.1 实验材料

实验用10种孔雀石绿快检产品分别从各自生产企业的库房中随机抽取,为避免影响公司的经营情况,本文将用1至10号产品分别表示10种孔雀石绿

快检产品。每种产品抽取 2 个不同批号的样品, 每个批号抽样数量为 45 个, 每种产品共抽样 90 个, 密封包装; 本次实验用的 10 种孔雀石绿快检产品检测的是水产品中孔雀石绿和隐性孔雀石绿总量。实验用阴性鲤鱼(青岛市平度尹府水库, 于 30 min 内用冰储运至实验室)。

2.2 试剂与设备

有色孔雀石绿、隐色孔雀石绿、有色结晶紫、隐色结晶紫及其同位素内标标准品(纯度 95%, Sigma); 乙腈、甲醇均为色谱纯(Thermo Fisher), 二氯甲烷、无水乙酸铵、冰乙酸等试剂均为分析纯(上海国药集团)。

液相色谱-串联质谱仪(美国 Thermo Finnigan TSQ Quantum Access)、AB265-S 型电子分析天平(瑞士 Mettler toledo 公司)、H-2050R 型离心机(湖南湘仪集团)、T-18 型均质机(德国 IKA)、N-EVAP 24 型氮吹仪(美国 Organomation 公司)。

2.3 试验方法

2.3.1 空白基质样品制备

鱼, 去鳞、去皮, 沿脊背取肌肉。样品均质混匀, -18℃ 以下冷冻保存备用。采用 GB/T 19857-2005《水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量的测定》方法测定^[24], 制备的鲤鱼基质中均不含孔雀石绿、隐性孔雀石绿、结晶紫及隐性结晶紫残留。称取空白基质样品 400 个, 编号后置于-18℃ 冰箱中保存。

2.3.2 加标样品制备

依照各产品说明书中标识的称样量, 准确称取空白鲤鱼基质 400 个, 并向其中添加隐色孔雀石绿标准品, 添加水平为各产品说明书中标识的检测限浓度, 不同添加水平的加标样品数量分别为: 0.5 μg/kg 的加标样品 80 个、1.5 μg/kg 的的加标样品 40 个、2.0 μg/kg 的加标样品 280 个。各产品标识的称样量及检测限详见表 1, 编号后置于-18℃ 冰箱中保存。

2.3.3 实际阳性样品制备

采用本实验室留存的鳊鱼阳性样品作为实际阳性样品, 采用 GB/T 19857-2005 方法测定^[24], 鳊鱼阳性样品隐色孔雀石绿含量约为 5.00 μg/kg。依照各产品说明书中标识的称样量, 准确称取鳊鱼阳性样品 50 个, 编号后置于-18℃ 冰箱中保存, 备用。

2.3.4 内标标准工作液的制备

准确称取适量孔雀石绿、隐色孔雀石绿、结晶紫、

表 1 10 种孔雀石绿快检产品标识检出限及称样量
Table 1 The lowest detection limit and sample weight of 10 kinds of rapid detection products

产品	检出限/μg/kg	称样量/g
1 号	2.0	1.0
2 号	0.5	5.0
3 号	2.0	5.0
4 号	2.0	3.0
5 号	2.0	5.0
6 号	0.5	5.0
7 号	2.0	3.0
8 号	2.0	3.0
9 号	2.0	5.0
10 号	1.5	5.0

隐色结晶紫、同位素内标氘代孔雀石绿、同位素内标氘代隐色孔雀石绿等标准品, 用乙腈分别配成 100 μg/mL 的标准储备液, -18℃ 避光保存。分别准确吸取孔雀石绿、隐色孔雀石绿、结晶紫、隐色结晶紫标准储备液至 100 mL 容量瓶中, 用乙腈稀释至刻度, 制备成 1.0 μg/mL 的标准使用液, 然后将标准使用液稀释配制相应浓度的标准工作溶液。用乙腈稀释同位素内标溶液, 将其配制为 1 μg/mL 的内标标准工作液。

2.3.5 孔雀石绿快检产品的评判

实验方法参照刘欢等^[9,23]并略作修改, 具体为: 检测人员使用 2 个批号的孔雀石绿快检产品现场检测 84 个鱼糜样品(每个批号产品检测 42 个样品, 包含 20 个空白、20 个加标阳性和 2 个实际阳性样品)中孔雀石绿的残留水平, 判读人员现场依据各孔雀石绿快检产品说明书中描述的“结果判读原则”, 肉眼判断检测结果, 并统计、计算该产品的假阳性率、假阴性率、检出率等指标。鱼糜样品由本实验室技术人员在现场验证实验前 24 h 进行制备和编号, 加标阳性样品中隐色孔雀石绿的添加水平均为各产品标识的最低检出限。参与鱼糜样品制备和编号的工作人员均不参与结果判读。

(1) 现场检测人员和判读人员筛选和培训

现场检测人员由各产品生产企业选派的技术人员担任, 均十分熟悉各自产品的检测实验操作方法; 检测结果判读人员由 5 名从事水产品质量安全监管

或检测技术研究和开发的志愿者组成,对现场检测人员和判读人员的筛选和培训参照刘欢等^[23]方法。经培训后,他们在检测结果读取准确性检验中正确率均达到 100%。

(2) 结果判读、统计和计算

检测结果分阴性、阳性和无效 3 种,判读人员依照各孔雀石绿快检产品说明书中描述的“结果判读原则”观察检测结果,并进行结果读取和记录。每个样品的最终检测结果以 3/5 以上判读人员读取结果计,具体为:当 3 个以上判读人员对样品的判读结果为阴性,则该样品的最终检测结果为阴性;当 3 个以上判读人员对样品的判读结果为阳性,则该样品的最终检测结果为阳性;当 2 个判读人员对样品的判读结果为阳性、2 个判读人员对样品的判读结果为阴性、1 个判读人员对样品的判读结果为无效,则该样品的最终检测结果为无效。根据最终结果计算各孔雀石绿快检产品的假阳性率、假阴性率和检出率。

假阴性率=假阴性样品检出数量/样品数量 × 100%

假阳性率=假阳性样品检出数量/样品数量 × 100%

检出率=阳性样品检出数量/阳性样品数量 × 100%

3 结果与分析

3.1 假阳性率

2 个不同批号的 10 种孔雀石绿快检产品检测空白鱼糜样品的实验结果详见表 2。实验结果显示:2 个不同批号的 1、3、4、5、6 号产品假阳性率均为 0,说明该产品均能准确地检测孔雀石绿阴性样品,且产品稳定性较好、无批间差异;2 号产品 2 个批次的假阳性率均为 5%;7 号和 8 号产品至少有 1 个批次产品检测孔雀石绿残留量的假阳性率大于 10%,且 2 个批次的检测结果均有差异,说明上述产品检测孔雀石绿阴性样品仍存在批间差异;9 号和 10 号产品的假阳性率较高,尤其是 9 号产品,该产品批次 1 的假阳性率为 75%,批次 2 为 0,说明上述产品检测孔雀石绿阴性样品的准确性较差,且 2 个批次产品的检测结果稳定性较差。

3.2 假阴性率

2 个不同批号的 10 种孔雀石绿快检产品检测加标鱼糜样品的实验结果详见表 3,各产品加标浓度分别为该产品商标标识检出限。实验结果显示:2 个不同批号的 1、3 和 4 号产品检测孔雀石绿加标样品的

表 2 10 种孔雀石绿快检产品检测空白鱼糜样品实验结果

Table 2 The detecting result of blank sample by 10 kinds of malachite green rapid detection products

产品	批次 1		批次 2	
	样品数量/个	假阳性率/%	样品数量/个	假阳性率/%
1	20	0	20	0
2	20	5	20	5
3	20	0	20	0
4	20	0	20	0
5	20	0	20	0
6	20	0	20	0
7	20	15	20	10
8	20	15	20	0
9	20	75	20	0
10	20	40	20	10

表 3 10 种孔雀石绿快检产品检测孔雀石绿加标鱼糜样品实验结果

Table 3 The detecting result of spiked sample by 10 kinds of malachite green rapid detection products

产品	加标浓度/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	批次 1		批次 2	
		样品数量/个	假阴性率/%	样品数量/个	假阴性率/%
1	2	20	0	20	0
2	0.5	20	0	20	5
3	2	20	0	20	0
4	2	20	0	20	0
5	2	20	100	20	100
6	0.5	20	10	20	5
7	2	20	20	20	15
8	2	20	20	20	0
9	2	20	0	20	5
10	1.5	20	5	20	40

假阴性率均为 0,说明当孔雀石绿残留量高于或等于 3 种产品标识的检测限时,上述 3 种产品均能准确地检测出阳性样品,且批间稳定性较好。2 个不同批号的 5 号产品检测孔雀石绿加标样品的假阴性率均为 100%,说明该产品灵敏度根本达不到其自身标识的检出限,其最低检测浓度与商标标识不符。7 号、8

号以及 10 号产品均有 1 个批次的产品假阴性率大于 20%, 说明产品的灵敏度未达到产品标识的检出限浓度要求。

3.3 实际样品检出率

10 种孔雀石绿快检产品检测实际样品的实验结果详见表 4。使用液相色谱-串联质谱仪检测实际样品中孔雀石绿残留量约为 5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。使用快检产品的检测结果显示: 在孔雀石绿残留量为 5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 水平上, 有 8 种快检产品均能准确检出阳性样品, 检出率

为 100%, 且 2 个批号的产品检测结果相同; 然而, 1 个批次的 5 和 7 号产品检测实际样品时均出现假阴性结果, 此结果与表 3 中 2 种产品检测加标鱼糜样品假阴性率较高的结论基本一致, 说明该产品检测阳性样品时易检出假阴性结果。

3.4 检测用时及所需辅助仪器设备

本次验证的 10 种快检产品在检测水产品中孔雀石绿残留时所需的辅助仪器设备及检测用时如表 5 所示。从表 5 中可看出: 3 种快检产品检测 6 个样品

表 4 10 种孔雀石绿快检产品检测孔雀石绿阳性鱼糜样品实验结果

Table 4 The detecting result of positive sample by 10 kinds of malachite green rapid detection products

产品	目标物残留浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	批次 1		批次 2	
		样品数量/个	检出率/%	样品数量/个	检出率/%
1	5.0	2	100	2	100
2	5.0	2	100	2	100
3	5.0	2	100	2	100
4	5.0	2	100	2	100
5	5.0	2	0	2	100
6	5.0	2	100	2	100
7	5.0	2	50	2	100
8	5.0	2	100	2	100
9	5.0	2	100	2	100
10	5.0	2	100	2	100

表 5 10 种孔雀石绿快检产品现场检测所需辅助设备及用时

Table 5 The accessory equipment and consuming time by 10 kinds of malachite green rapid detection products

产品	辅助设备	检测用时/min	
		按 6 个样品计	按 84 个样品计
1	离心机、空气吹干仪	56	239
2	涡旋仪、离心机、氮吹仪	65	270
3	离心机、空气吹干仪	94	395
4	涡旋仪、离心机、空气吹干仪	90	318
5	离心机、空气吹干仪	93	369
6	涡旋仪、离心机、氮吹仪	55	233
7	离心机、空气吹干仪	70	383
8	离心机、空气吹干仪	94	290
9	涡旋仪、离心机	79	310
10	涡旋仪、离心机、氮吹仪	67	269

的用时均未超过 2 h, 检测 84 个样品的用时未超过 8 h, 而传统仪器法检测 6 个样品一般用时为 10 h 左右, 检测 84 个样品至少需 3 d, 可见使用快检产品的检测用时远低于传统仪器法。10 种产品现场检测时均使用了一定数量的简易辅助仪器设备, 说明本次验证的快检产品较适合在具有简单试验条件的场所使用, 但要实现在养殖池塘边开展现场快速检测工作仍需进一步开发操作简单、方便的前处理方法。

4 讨论

与传统仪器检测方法相比, 针对现场的快速检测方法可以在养殖生产或销售现场对样品进行检测, 可缩短检测时间、提高监管效率, 能够有效地防止问题产品流入消费市场, 是一种有效的监管手段, 因此, 将其应用到实际监管工作中, 快检产品的质量将直接影响监管的权威性和有效性^[25,26]。目前, 国内常用液相色谱法(GB/T 20361-2006)^[27]或液质法(GB/T 19857-2005)^[24]检测水产品中孔雀石绿残留量, 两种方法的最低检出限均为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。因此, 目前水产品质量安全监管工作中, 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 常作为水产品中孔雀石绿残留的监管值。本次验证的 10 种孔雀石绿快检产品中, 有 2 种产品商标标识的最低检出限为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (2 号和 6 号产品)、1 种产品商标标识的最低检出限为 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (10 号产品), 其余 7 种产品商标标识的最低检出限均为 2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 除 2 号和 6 号产品外, 其余产品的最低检出限均高于仪器法, 说明目前大部分基于免疫胶体金技术开发的孔雀石绿快检产品的灵敏度还不能达到传统仪器法水平。2 号和 6 号产品的最低检出限为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 与常用的仪器法最低检出限一致, 从产品标识的检出限来看, 产品 2 和 6 均满足质量监管需求。然而, 当鱼糜样品中孔雀石绿残留量为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 2 个不同批号的 2 号产品假阴性率分别为 0 和 5%, 2 个不同批号的 6 号产品假阴性率分别为 10%和 5%, 有假阴性样品检出, 说明上述 2 种产品的灵敏度未达到 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 要求, 产品的检出限与商标标识并不相符。

在其他 8 种商标标识的最低检出限 $>0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 的快检产品中, 当鱼糜样品中孔雀石绿残留量为 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 有 1 个批号的 10 号产品假阴性率高达 40%, 且其检测空白样品的假阳性率达 40%, 说明该产品的灵敏度未达到 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 要求, 且不能有效地分辨

空白和阳性样品, 产品的检测能力与商标标识不相符; 当鱼糜样品中孔雀石绿残留量为 2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 2 个批号的 1、3 和 4 号产品均未检出假阴性样品, 同时也未检出假阳性产品, 说明上述 3 种产品的灵敏度与商品标识相符, 且批间稳定性好; 产品 5、7、8 和 9 均检出假阴性样品, 其中 9 号产品的假阴性率虽较低, 为 5%, 但其 1 个批次产品的假阳性率高达 75%, 说明该产品分辨空白和阳性样品的能力不足, 如在实际监管中应用该产品进行检测, 将可能检出大量的假阳性样品, 增加监管部门使用仪器验证检测结果的负担, 影响监管效率。

以上结果说明, 本次验证的 10 种孔雀石绿快检产品中, 有 7 种产品的检测性能与其自身商标标识不符, 产品不达标。钱蓓蕾等^[28]曾对 3 种孔雀石绿快速检测试剂盒进行比较研究, 结果显示有 2 种产品的检测限没有达到产品标识要求。卢明艳等^[29]对“瘦肉精”快速检测卡的质量实验验证结果显示, 用于检测盐酸克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇残留的试纸条产品质量参差不齐, 差别极大, 并提出应至少对产品的假阴性率和最低检出限进行验证。伏慧明等^[30]发现应用快速检测试剂盒类产品得出的检测结果往往与试剂盒所标示的各项技术指标相差甚远, 出现假阳性的几率很大, 严重影响检测方法的运用和结果的判定, 并提出在利用试剂盒进行药物残留检测前, 非常有必要对试剂盒所标示的各项技术指标进行逐一地验证, 从而对试剂盒做出评判。本研究结果同样说明, 在将免疫胶体金类快速检测产品应用于水产品中孔雀石绿残留检测的质量安全监管前, 有必要对产品的假阳性率、假阴性率、产品稳定性等指标参数进行筛选验证。

5 结论

本次验证的 10 种市售国产孔雀石绿免疫胶体金类快检产品中, 有 3 种产品能 100%准确检测出 84 个鱼糜样品中是否残留孔雀石绿, 且两个不同批次产品的检测结果一致, 稳定性较好; 另外 7 种产品均检出假阳性或假阴性样品, 且 2 个不同批号间产品的稳定性有差异, 因此, 在应用此类产品作为质量安全监管工具前, 有必要对其最低检出限、假阳性率、假阴性率、稳定性等参数进行验证。10 种快检产品检测水产品中孔雀石绿残留的用时均远低于传统仪器法

的用时, 且只需一定的简易辅助仪器设备, 适合在具有简单实验条件的场所中使用。

参考文献

- [1] 翟毓秀, 郭莹莹, 耿霞, 等. 孔雀石绿的代谢机理及生物毒性研究进展[J]. 中国海洋大学学报, 2007, 37(1): 27-32.
Zhai YX, Guo YY, Geng X, *et al.* Advances in studies on metabolic mechanism and bio-toxicity of malachite green [J]. Period Ocean Univ China, 2007, (37)1: 27-32.
- [2] Meyer FP, Jorgensen TA. Teratological and other effects of malachite green on the development of rainbow trout and rabbits [J]. Trans Am Fish Soc, 1983, 112(6): 818-824
- [3] Fernandes C, Lalitha VS, Rao VK. Enhancing effects of malachite green on development of hepatic preneoplastic lesions induced by N-nitrosodiethylamine in rats [J]. Carcinogenesis, 1991, 12: 839-845
- [4] Rao KVK. Inhibition of DNA synthesis in primary rat hepatocyte cultures by malachite green: a new liver tumor promoter [J]. Toxicol Lett, 1995, 81(2-3): 107-113
- [5] 马兵, 穆迎春, 宋悻, 等. 各国药物残留限量标准对比分析及对中国水产品出口贸易的影响[J]. 中国农学通报, 2010, 26(17): 398-402.
Ma B, Mu YC, Song Y, *et al.* Comparrative analysis of medicine maximum residue limit standard on its realation with aquatic products trade in china [J]. Chin Agric Sci Bull, 2010, 26(17): 398-402.
- [6] 中华人民共和国农业部. 农业部关于印发《2014 年农产品质量安全专项整治方案》的通知[EB/OL]. [2014-03-03]. http://www.moa.gov.cn/govpublic/ncpzlaq/201403/t20140311_3809812.htm
MOA. Issued by the ministry of agriculture on the quality and safety of agricultural products in 2014 rectification plan [EB/OL] [2014-03-03]. http://www.moa.gov.cn/govpublic/ncpzlaq/201403/t20140311_3809812.htm
- [7] 中华人民共和国农业部. 农业部关于印发《2013 年农产品质量安全专项整治方案》的通知[EB/OL]. [2013-03-25]. <http://finance.people.com.cn/n/2013/0325/c1004-20905956.htm>
MOA. Issued by the ministry of agriculture on the quality and safety of agricultural products in 2013 rectification plan [EB/OL]. [2013-03-25]. <http://finance.people.com.cn/n/2013/0325/c1004-20905956.htm>
- [8] 中华人民共和国农业部. 农业部公布 2012 第一次产地水产品质量安全监督检查结果[EB/OL]. [2012-11-09]. http://www.cnfm.gov.cn/yyyyyzj/201211/t20121109_3057027.htm
MOA. The department of agriculture announced 2012 origin aquatic products quality safety supervision and spot check result for the first time [EB/OL]. [2012-11-09]. http://www.cnfm.gov.cn/yyyyyzj/201211/t20121109_3057027.htm
- [9] 刘欢, 邢丽红, 宋悻, 等. 水产品中硝基呋喃类代谢物残留快速检测产品的质量分析和评价[J]. 中国渔业质量与标准, 2013, 3(2): 74-79.
Liu H, Xing LH, Song Y, *et al.* Evaluation of rapid detection products of nitrofurans metabolites residue in seafood [J]. Chin Fish Qual Stand, 2013, 3(2): 74-79.
- [10] Wang S, Zhang C, Zhang Y. Lateral flow colloidal gold-based immunoassay for pesticide [M]// Avraham R, Keith E H. Methods in Molecular Biology: Biosensors and Biodetection, 2009, 504: 237-252.
- [11] Paek SH, Lee SH, Cho JH, *et al.* Development of rapid one-step immune chromatographic assay [J]. Methods, 2000, 22(1): 53-60.
- [12] May K. Home tests to monitor fertility [J]. Am J Obstet Gynecol, 1991, 165(6): 2000-2002.
- [13] 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中的应用前景[J]. 渔业科学进展, 2010, 30(3): 113-118.
Wang WF, Li QM, Guo JQ, *et al.* Progress and prospect of colloidal gold-based immune chromatographic lateral flow assay and its application in aquaculture [J]. Prog Fish Sci, 2010, 30(3): 113-118
- [14] 祁光宇, 智晓莹, 任维维, 等. 胶体金免疫层析技术在动物源性食品中的应用[J]. 东北农业大学学报, 2010, 41(4): 156-160.
Qi GY, Zhi XY, Ren WW, *et al.* Application progress of colloidal gold immune chromatographic assay (GICA) in animal-derived food [J]. J Northeast Agric Univ, 2010, 41(4): 156-160.
- [15] 徐锐. 海产品中恩诺沙星残留的免疫胶体金层析现场快速检测技术[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
Xu R. Enrofloxacin residues in seafood immunogold chromatography-site rapid testing technology [D]. Qingdao: China Ocean University, 2013.
- [16] 张敏, 李翹, 盛慧萍. 磺胺类药物胶体金快速检测试剂条的研制及在水产品中的应用[J]. 中国农学通报, 2013, 29(8): 75-79.
Zhang M, Li Q, Sheng HP. Development and application of colloidal gold rapid test strip for sulfonamides in aquatic products [J]. Chin Agric Sci Bull, 2013, 29(8): 75-79.
- [17] 周思, 肖小华, 李攻科. 食品安全快速检测方法的研究进展[J]. 色谱, 2011, 29(7): 580-586 .
Zhou S, Xiao XH, Li GK. Development of rapid detection techniques for food safety [J]. Chin J Chromatogr, 2011, 29(7): 580-586.
- [18] Crooks Steven RH, McCarney B, Traynor IM. Detection of levamisole residues in bovine liver and milk by immunobiosensor [J]. Anal Chim Acta, 2003, 483: 181-186.

- [19] Girotti S, Bolelli L, Roda A, *et al.* Improved detection of toxic chemicals using bioluminescent bacteria [J]. *Anal Chim Acta*, 2002, 471(1): 113.
- [20] 周焕英, 高志贤, 孙思明, 等. 食品安全现场快速检测技术研究进展及应用[J]. *分析测试学报*, 2008, 27(4): 788–794.
Zhou HY, Gao ZX, Sun SM, *et al.* Development and application of on-site fast detection techniques for food safety [J]. *J Instrum Anal*, 2008, 27(4): 788–794.
- [21] 张晓辉, 李余动, 孔蕾, 等. ELISA 和 GICA 快速检测水产品中氯霉素残留的比较[J]. *浙江农业学报*, 2005, 17(4): 216–218.
Zhang XH, Li YD, Kong L, *et al.* Comparison of rapid detection of chloramphenicol residues in aquatic products on by ELSIA and GICA [J]. *Acta Agric Zhejiang*, 2005, 17(4): 216–218.
- [22] 蔡姗姗. 商品化食品安全检测试剂盒评价制度研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2013.
Cai SS. Studies on evaluation system of commercial food safety testing kit [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2013.
- [23] 刘欢, 孙伟红, 马兵, 等. 水产品中氯霉素残留快速检测产品的质量分析和评价[J]. *中国渔业质量与标准*, 2012, 2(3): 55–61.
Liu H, Sun WH, Ma B, *et al.* Evaluation of rapid detection products of chloramphenicol residue in seafood [J]. *Chin Fish Qual Stand*, 2012, 2(3): 55–61.
- [24] GB/T 19857-2005 水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量的测定[S].
GB/T 19857-2005 The determination of malachite green and crystal violet residues in aquatic products [S].
- [25] 朱小红. 现场快速检测在食品监督中的应用及展望[J]. *食品工业科技*, 2010, 31(8): 303–307.
Zhu XH. Application of on-site fast detection for food safety [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2008, 27(4): 788–794.
- [26] 刘欢, 李晋成, 吴立冬, 等. 现场快速检测在水产品药物残留监管中的应用及发展建议[J]. *食品安全质量检测学报*, 2014, 5(8): 2302–2307.
Liu H, Li JC, Wu LD, *et al.* Application and development proposals of on-site fast detection for supervision drug residues in aquatic products [J]. *J Food Saf Qual*, 2014, 5(8): 2302–2307.
- [27] GB/T 20361-2006 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 20361-2006 The determination of malachite green and crystal violet residues in aquatic products HPLC fluorescence assay [S].
- [28] 钱蓓蕾, 王媛, 蔡友琼. 孔雀石绿快速检测试剂盒的比较研究以及在水产品监控中的应用[J]. *现代渔业信息*, 2011, 26(10): 19–21.
Qian BL, Wang Y, Cai YQ. Comparative study on three quick testing boxes for malachite green and its application on monitoring aquatic products [J]. *Mod Fish Inform*, 2011, 26(10): 19–21.
- [29] 卢明艳, 何雷堂, 马瑞林, 等. “瘦肉精”检测卡(试纸条)质量验证试验[J]. *饲料工业*, 2011, 32(21): 46–48.
Lu MY, He LT, Ma RL, *et al.* "Clenbuterol" test card (strip) quality validation test [J]. *Feed Indust*, 2011, 32(21): 46–48.
- [30] 伏慧明, 郭展旗, 王翠英, 等. 兽药残留检测中试剂盒的验证评判方法研究[J]. *中国农业科技导报*, 2008, 10(S2): 109–111.
Fu HM, Guo ZQ, Wang CY, *et al.* Evaluation of Kit Detecting Veterinary Drug Residues [J]. *J Agric Sci Tech* 2008, 10(S2): 109–111.

(责任编辑: 李振飞)

作者简介



刘欢, 副研究员, 主要从事水产品质量安全监管及检测技术研究。
E-mail: liuh@cafs.ac.cn