

胶体金免疫层析法快速检测烟草中吡虫啉残留

楼小华¹, 高川川¹, 朱文静¹, 巴金沙¹, 莫冬梅², 谢体波^{2*}, 李文馨², 罗维超²,
徐明慧², 贾玲玲²

(1. 贵州省烟草质量监督监测站, 贵阳 550025; 2. 贵州勤邦食品安全科学技术有限公司, 贵阳 550009)

摘要: **目的** 建立胶体金免疫层析法快速检测烟草中残留的吡虫啉。**方法** 用柠檬酸三钠还原法制备胶体金, 并用它标记吡虫啉单克隆抗体, 建立并优化胶体金免疫层析法。**结果** 本方法对烟草中吡虫啉的检测限为 5 µg/mL, 重复性较高, 有假阳性情况出现, 但假阳性率较低, 与烟草中其他常用药物没有交叉反应, 特异性良好, 且与气相色谱检测法所得的结果差异较小。**结论** 该方法快速、高效、可靠, 可满足现场快速检测烟草中吡虫啉残留的需要, 实现生物技术在烟草流通、消费领域的方便、快速检测。

关键词: 吡虫啉; 烟草; 胶体金免疫层析法; 快速检测

Rapid detection of imidacloprid residues in tobacco leaf by colloidal gold immunochromatographic assay

LOU Xiao-Hua¹, GAO Chuan-Chuan¹, ZHU Wen-Jing¹, BA Jin-Sha¹, MO Dong-Mei², XIE Ti-Bo^{2*},
LI Wen-Xin², LUO Wei-Chao², XU Ming-Hui², JIA Ling-Ling²

(1. Guizhou Province Tobacco Quality Supervision Stations, Guiyang 550025, China; 2. Guizhou Kwinbon Food Safety Science And Technology Co., Ltd., Guiyang 550009, China)

ABSTRACT: Objective To establish a rapid method for determination of imidacloprid residues in tobacco leaf by colloidal gold immunochromatographic assay. **Methods** Colloidal gold was prepared by sodium citrate reduction method, and it was marked imidacloprid monoclonal antibody. Then the method of colloidal gold immunochromatographic assay was built and optimized. **Results** The results showed that the visual detection limit of imidacloprid was 5 µg/mL, and the reproducibility was high. The false positive condition was found, but the false positive rate was low. There was hardly any cross reaction with other commonly used compounds in tobacco. The results of gold immunochromatographic assay were well consistent with those of gas chromatography method. **Conclusion** The established gold immunochromatographic assay is rapid, efficient and reliable, and can meet the need of on-site rapid detection of imidacloprid residues in tobacco. Therefore it achieves biotechnology convenient and rapid detection in tobacco circulation and consumption field.

KEY WORDS: imidacloprid; tobacco leaf; gold immunochromatography assay; rapid detection

基金项目: 中国烟草总公司贵州省公司科技计划项目(中黔烟科[2015]1号, 201518)、贵州省科技计划项目(黔科合 NY[2015]3016-1号)

Fund: Supported by China Tobacco Corporation of Science and Technology Scheme in Guizhou (Qian [2015] 1, 201518) and Guizhou Province Science and Technology Scheme (Qian NY [2015] 3016-1)

*通讯作者: 谢体波, 中级工程师, 主要从事食品安全快速检测技术的研究与开发。E-mail: 394736614@qq.com

*Corresponding author: XIE Ti-Bo, Intermediate Engineer, Guizhou Kwinbon Food Safety Science-Technology Co., Ltd., Guiyang 550009, China. E-mail: 394736614@qq.com

1 引言

吡虫啉(imidacloprid, IMI)是新型氯化烟碱类杀虫剂中的代表品种^[1-3]。它通过与昆虫的乙酰胆碱受体结合从而使昆虫神经麻痹后死亡^[4,5]。对烟草上的刺吸式口器害虫(如蚜虫、叶蝉、飞虱等)有较好的防治效果^[6,7]。但是有研究者指出,吡虫啉对人类具有遗传毒性,会造成人类基因突变、染色体畸变和DNA损伤^[8]。而且IMI还具有慢性毒理效应,长期食用含有IMI残留的食物,还会造成人体胃黏膜损伤^[9]。因此,建立一种能够简单、快速、有效测定该种农药的检测方法非常必要。

目前,吡虫啉的检测方法主要有高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)^[10,11]、超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)^[12]、凝胶净化-高效液相色谱法^[13]等。这些方法灵敏度高、特异性强、准确度高,但是样品前处理复杂,仪器设备昂贵,且需要专业人员操作,成本高,耗时长,无法现场操作,限制了其应用推广。

免疫层析技术是出现于20世纪80年代初期的一种独特的免疫分析方式,该方法的核心技术是以条状纤维层析材料为固相,通过毛细管作用使样品溶液在层析材料上泳动,并同时使样品中经标记物标记的待测物与包被在层析材料上针对待测物的受体(如抗原或抗体)发生高特异、高亲和性的免疫反应,富集在检测带上,通过酶反应或直接运用可目测的标记物(如胶体金、彩色乳胶等)得到直观的实验现象(如显色)^[14]。

胶体金免疫层析技术(gold immunochromatographic assay, GICA)是一项免疫标记技术,它以抗原抗体的特异性结合为基础、大孔径微孔滤膜为载体、胶体金为固相标记物来定性检测样本中的待测物质^[15]。该方法灵敏度高,检测速度快,操作简单,适合现场筛查,具有广阔的应用前景^[16]。目前,胶体金制备有许多种方法,其中最常用的是柠檬酸三钠法,其基本原理是向一定浓度的金溶液内加入一定量的柠檬酸三钠使金离子还原成金原子^[17]。胶体金

独特的理化特性及作为标记物的独特优点,使其在食品安全检测、生物医学诊断等各个领域得到了广泛地应用,如利用胶体金免疫层析法快速检测牛奶、奶粉、饲料中的三聚氰胺^[18],利用胶体金免疫层析方法检测牛奶中喹诺酮类和庆大霉素残留^[19],利用胶体金免疫层析法检测食品中天然存在的有害物质等^[20]。但国内还未见使用胶体金免疫层析法检测烟草中吡虫啉的报道。

本研究利用胶体金免疫层析法对烟草中的吡虫啉残留进行检测,为这类物质的残留监控提供依据,为保证我国烟草质量提供技术支持。

2 材料与方法

2.1 材料和仪器

吡虫啉标准品(北京标准物质研究中心);烟草(贵州省烟草质量监督检查站);牛血清蛋白(bovine serum albumin, BSA)、卵清蛋白(ovalbumin, OVA)、巯基丙酸、氯金酸($\text{HAuCl}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)(美国Sigma公司);二氯甲烷、氢氧化钾(KOH)、甲醇、氯化钠(NaCl)、柠檬酸三钠、碳酸钾(K_2CO_3)(分析纯,上海化学试剂研究所有限公司);玻璃纤维、硝酸纤维素膜(NC膜)、样品垫、PVC底板、吸水垫(上海金标生物科技有限公司)。

Trace DSQII型气质联用仪(美国Finnigan公司);MTN-2800D型氮吹浓缩装置(天津奥特赛恩斯仪器有限公司);CT 300数控切条机(上海金标生物科技有限公司);XYZ 3000点膜仪(美国Bio-Dot公司);TDL-40B低速大容量离心机、TGL-20b R高速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂);90-2磁力搅拌器(上海振荣科学仪器有限公司)。

2.2 试验方法

2.2.1 吡虫啉-载体蛋白偶联物的制备

在25 mL三角瓶中加入0.10 g吡虫啉,加入适量二氯甲烷,使其完全溶解,在上述溶液中加入5 mL巯基丙酸,并加入1.0~2.0 g氢氧化钾作为催化剂,加热回流,提取纯化,干燥后所得淡黄色固体即为吡虫啉半抗原,合成路线如图1所示。然后分别将吡虫啉半抗原偶联到卵清蛋白和牛血清蛋白上,制备成包被原和免疫原。

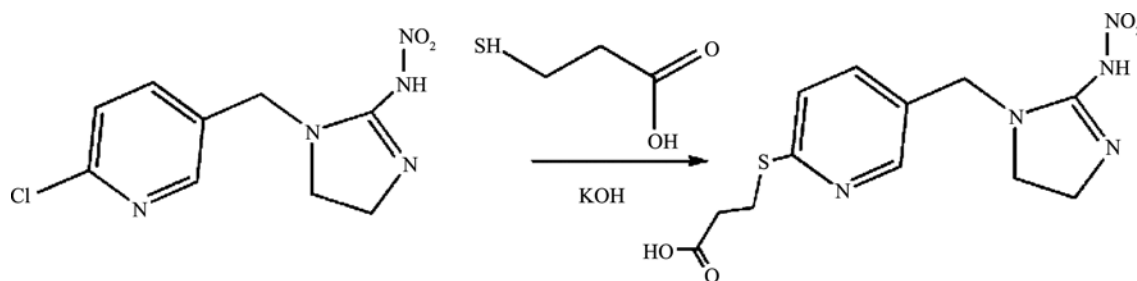


图1 吡虫啉半抗原合成路线

Fig. 1 Synthetic route of the IMI haptens

2.2.2 吡虫啉单克隆抗体的制备

用上述制备出的免疫原进行动物免疫, 获得稳定分泌抗吡虫啉单克隆杂交瘤细胞株。

2.2.3 胶体金的制备和质量分析

将质量分数为 1% 的氯金酸用双蒸去离子水稀释至质量分数为 0.01%, 于磁力加热搅拌器上搅拌煮沸, 向每 100 mL 质量分数为 0.01% 氯金酸中加入 2.5 mL 1% 的柠檬酸三钠, 继续搅拌加热至液体呈红色时停止, 冷却至室温后补足失水, 于 4 °C 保存备用。采用分光光度计对胶体金颗粒在可见光范围内(400~600 nm)进行扫描, 获得胶体金可见光吸收光谱, 测定最大吸收波长($\lambda_{\max}$), 并在透射电镜下观察胶体金颗粒的均一程度, 测量胶体金颗粒粒径^[21]。

2.2.4 单克隆抗体-胶体金标记物的制备

搅拌条件下用 0.2 mol/L K_2CO_3 调节胶体金溶液 pH 至 7.0, 将自制的吡虫啉单克隆抗体按质量浓度为 50~100 mg/L 的标准加入至胶体金溶液, 搅拌均匀后室温条件下静置 10 min; 加入质量分数为 10% 的 BSA 至最终质量分数为 1%, 静置 10 min。4 °C 条件下 12000 r/min 离心 40 min, 小心吸去上清液, 缓冲液重悬沉淀, 置于 4 °C 冰箱中备用。

2.2.5 烟叶样本前处理方法

检测前将样本剪碎成小于 1 cm 的碎片或用刀剁碎; 称取(1.0±0.05) g 剁碎的样本至 1 瓶样本提取液瓶中; 盖上盖子, 振荡 1 min; 静置后移取 0.1 mL 上清液加入到 1 管样本稀释液中混匀。

2.2.6 试纸条的制备与组装

将样品垫、胶体金结合垫、反应膜、吸水垫依次按顺序黏贴在底板上, 切割成 4 mm 宽的试纸条并装入塑料卡壳中, 制成检测卡。试纸条的结构见图 2。

2.2.7 试纸条检测实验

检测限实验: 取空白烟草样本, 在其中分别添加吡虫啉至终浓度为 1、3、5、7 $\mu\text{g/mL}$ 。用试纸条进行测试, 各做重复 3 次。

阴阳性率实验: 取已知吡虫啉含量大于检测限的阳性烟草样本 20 份和含量小于检测限的阴性烟草样本 20 份, 用吡虫啉快速检测试纸分别进行检测, 计算其假阳性率和假阴性率。

特异性实验: 分别向空白烟草样本中添加其他药物(甲霜灵、三唑酮、多菌灵)至浓度为 0、5、10、20、50、

100 $\mu\text{g/mL}$ 。用试纸条进行检验, 不同药物每个浓度重复 3 次, 根据试验结果判定试纸条的特异性。

符合性实验: 取 50 份烟草盲样本, 分别用胶体金免疫层析法和气相色谱法测定其中吡虫啉残留量。当样品中吡虫啉含量低于胶体金试纸条检测限浓度, 判为阴性, 试纸条阴性结果用“-”表示, 气相色谱法(gas chromatography, GC)阴性结果用“-”表示; 当样品中吡虫啉含量高于胶体金试纸条检测限浓度, 判为阳性, 试纸条阳性结果用“+”表示, 气相色谱法阳性结果用实测值表示。

2.2.8 GC 条件

以中等极性的 SUB_{TM}-5 型柱(15 m × 0.25 mm、涂膜厚度 1 μm)为分析柱; 载气为高纯氮; 进样量 1 μL ; 载气流速 2 mL/min; 进样口温度 280 °C; 色谱柱初温 180 °C(保持 1 min), 以 30 °C/min 升温至 230 °C(保持 2 min), 以 25 °C/min 升温至 260 °C(保持 2 min), 以 15 °C/min 升温至 280 °C(保持 2 min), 可获得吡虫啉稳定的出峰效果。

3 结果与分析

3.1 胶体金质量分析

制备好的胶体金外观纯净、透亮、没有沉淀和漂浮物, 用紫外可见分光光度计在波长范围为 400~600 nm 进行扫描, 确定胶体金的最大吸收峰波长, 观察其峰宽与峰形。如图 3 所示, 制备所得胶体金在 523.0 nm 处有最大吸收峰, 经透射电镜观察(图 4), 胶体金颗粒分布比较均匀, 金颗粒的粒径为 20 nm 左右。

3.2 试纸条检测限

用试纸条检测吡虫啉浓度分别为 1、3、5、7 $\mu\text{g/mL}$ 的烟草样本(见表 1)。当测试吡虫啉浓度为 1 $\mu\text{g/mL}$ 和 3 $\mu\text{g/mL}$ 的烟草样本时, 试纸条检测结果呈阴性; 当测试吡虫啉浓度为 5 $\mu\text{g/mL}$ 和 7 $\mu\text{g/mL}$ 的烟草样本时, 试纸条检测结果呈阳性。

缩小吡虫啉的浓度变化范围, 在烟草样本中添加吡虫啉至终浓度为 3.0、3.5、4.0、4.5、5.0 $\mu\text{g/mL}$ (见表 2)。用试纸条进行测试, 当测试吡虫啉浓度为 3.0~4.5 $\mu\text{g/mL}$ 的烟草样本时, 试纸条检测结果呈阴性; 当测试吡虫啉浓度为 5 $\mu\text{g/mL}$ 的烟草样本时, 试纸条检测结果呈阳性。

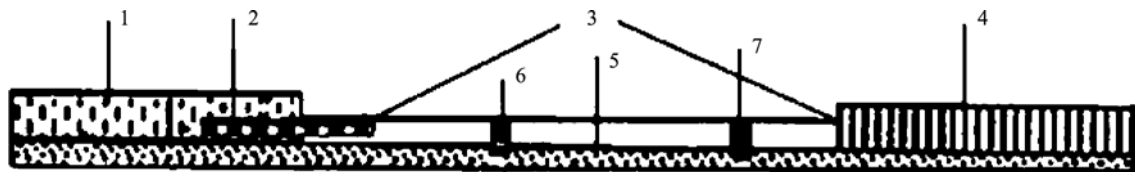


图 2 试纸条剖面结构图

Fig. 2 Profile of rapid detection strip

1 为样品吸收垫; 2 为结合物释放垫; 3 为反应膜; 4 为吸水垫; 5 为 PVC 底板; 6 为检测线(T 线); 7 为质控线(C 线)

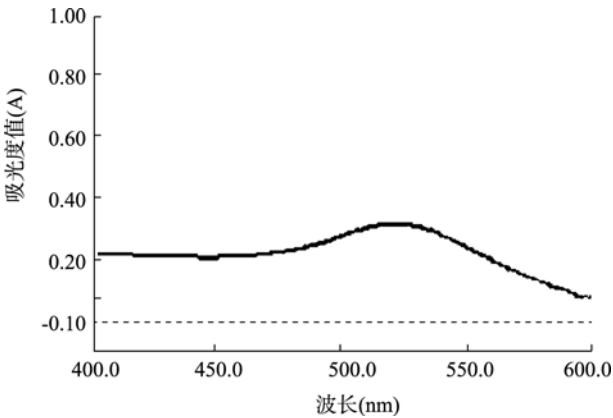


图 3 胶体金紫外可见分光光度计扫描图

Fig. 3 Scanning chart of colloidal gold by spectrophotometry

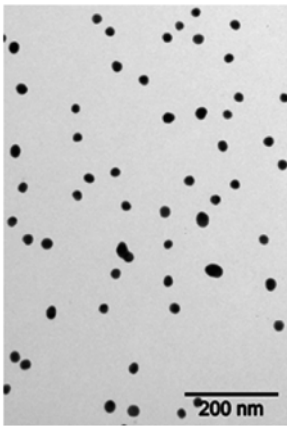


图 4 胶体金电镜图

Fig. 4 Electron microscopy of colloidal gold particle

继续缩小吡虫啉的浓度变化范围, 取空白烟草样本, 在其中添加吡虫啉至终浓度为 4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5.0 $\mu\text{g/mL}$ (见表 3)。用试纸条进行测试, 当测试吡虫啉浓度为 4.5~4.9 $\mu\text{g/mL}$ 的烟草样本时, 试纸条检测结果呈阴性; 当测试吡虫啉浓度为 5.0 $\mu\text{g/mL}$ 的烟草样本时, 试纸条检测结果呈阳性。

由此得出, 该试纸条对吡虫啉检测限为 5 $\mu\text{g/mL}$ 。

表 1 吡虫啉快速检测试纸条检测限测试结果($n=3$)

Table 1 Result of detection limit of IMI rapid test strip ($n=3$)

吡虫啉浓度($\mu\text{g/mL}$)	1	3	5	7
检测结果	-	-	+	+

注: “-”表示阴性, “+”表示阳性。

表 2 吡虫啉快速检测试纸条检测限测试结果($n=3$)

Table 2 Result of detection limit of IMI rapid test strip ($n=3$)

吡虫啉浓度($\mu\text{g/mL}$)	3.5	4.0	4.5	5.0
检测结果	-	-	-	+

注: “-”表示阴性, “+”表示阳性。

表 3 吡虫啉快速检测试纸条检测限测试结果($n=3$)

Table 3 Result of detection limit of IMI rapid test strip ($n=3$)

吡虫啉浓度($\mu\text{g/mL}$)	4.5	4.6	4.7	4.8	4.9	5.0
检测结果	-	-	-	-	-	+

注: “-”表示阴性, “+”表示阳性。

3.3 试纸条重复性

取不同批次的 3 批试纸分别检测阴性烟草样本和吡虫啉浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 的阳性烟草样本各 20 份, 每个样品重复测定 5 次, 观察检测结果, 计算试纸条假阴性率和假阳性率。试纸条测试结果显示, 对含有 10 $\mu\text{g/mL}$ 吡虫啉的阳性烟草样本检测结果均为阳性, 可知, 试纸条具有较好的重复性。对阴性烟草样本的检测结果显示出现了一个阳性结果, 假阳性率为 0.3%。经分析可知, 由于胶体金免疫层析法通过判断颜色变化来确定样本阴阳性, 在烟草中吡虫啉浓度较低时, 该方法比较主观, 可能会出现假阳性的问题。

3.4 试纸条特异性

用该试纸条检测浓度为分别为 0、5、10、20、50、100 $\mu\text{g/mL}$ 的烟草中其他常用药物(三唑酮、甲霜灵、多菌灵等), 检测结果显示(见表 4), 快速检测试纸条对烟草中其他药物检测均为阴性, 即与其他药物均无交叉反应, 具有较强的特异性。

表 4 吡虫啉快速检测试纸条特异性检测结果

Table 4 Results of specificity of IMI rapid test strip

药物	浓度($\mu\text{g/mL}$)					
	0	5	10	20	50	100
吡虫啉	-	+	+	+	+	+
甲霜灵	-	-	-	-	-	-
三唑酮	-	-	-	-	-	-
多菌灵	-	-	-	-	-	-

注: “-”表示阴性, “+”表示阳性。

3.5 GICA 结果验证

以胶体金试纸条的检测限(5 $\mu\text{g/mL}$)为阳性判定线, 低于检测限的以“-”表示, 高于或者等于检测限的以“+”表示, GC 法低于检测限的以“-”表示, 高于检测限的以实测值表示。检测结果如表 5 所示, 50 份烟草盲样经快速检测试纸条检测后, 检测出 22 份阳性样本, 其他样本检测结果均为阴性。用 GC 法检测上述 50 份烟草盲样, 检测出 20 份阳性样本, 且编号与快速检测试纸条标号一致。可知, 快速检测试纸条的检出符合率高达 96%。进一步说明了胶体金免疫层析法可对烟草中吡虫啉定性检测, 但不排除可能会出现

假阳性的问题, 因此对于检测中出现的阳性样本, 还需要用气相色谱等仪器方法进行确证。

表 5 胶体金免疫层析法与气相色谱法检测结果对比(μg/mL)
Table 5 Comparison of detecting results between GICA and GC(μg/mL)

样品号	检测方法		样品号	检测方法	
	胶体金免 疫层析法	气相色谱 法(μg/mL)		胶体金免 疫层析法	气相色谱 法(μg/mL)
1	-	-	26	-	-
2	-	-	27	-	-
3	+	6.11	28	-	-
4	+	5.13	29	+	11.20
5	+	6.49	30	-	-
6	-	-	31	+	5.32
7	+	5.09	32	-	-
8	+	5.24	33	-	-
9	+	8.11	34	+	5.74
10	-	-	35	+	9.17
11	-	-	36	+	8.22
12	-	-	37	-	-
13	+	-	38	-	-
14	+	-	39	-	-
15	-	-	40	+	5.06
16	-	-	41	-	-
17	-	-	42	+	6.64
18	+	6.22	43	-	-
19	+	6.3	44	-	-
20	-	-	45	-	-
21	-	-	46	-	-
22	+	6.21	47	-	-
23	+	5.19	48	-	-
24	+	7.07	49	-	-
25	+	7.90	50	+	6.13

注: “-”表示阴性, “+”表示阳性。

4 结 论

本文采用柠檬酸三钠还原法制备胶体金, 并用它标记吡虫啉单克隆抗体, 建立并优化了胶体金免疫层析法。本方法对烟草中吡虫啉的检测限为 5 μg/mL, 通过取不同批次的试纸分别检测阴性烟草样本和含有吡虫啉的烟草样

品, 得出试纸的重复性较高, 存在一定的假阳性情况, 但假阳性率较低, 与烟草中常用其他药物(三唑酮、甲霜灵、多菌灵等)之间没有交叉反应, 特异性强, 其检测结果与气相色谱法检测结果高度吻合。而且使用胶体金免疫层析法从样品前处理到检测, 整个分析过程耗时不足 20 min。与其他方法相比较, 本法具有快速、简便、灵敏度高、经济适用等特点, 十分适用于我国基层检测实验室、烟草部门的市场监管检测、临时抽检、排查工作, 能够实现生物技术

技术在烟草流通、消费领域的方便、快速检测。

参考文献

[1] 谢心宏. 新型杀虫剂吡虫啉[J]. 农药, 1998, 37(6): 40-42.
Xie XH. The new type of pesticide imidacloprid [J]. Agrochemicals, 1998, 37(6): 40-42.

[2] 刘漪, 石德清. 吡虫啉的研究与进展[J]. 高等函授学报(自然科学版), 2004, 17(1): 6-9.
Liu Y, Shi DQ. The research and progress of imidacloprid [J]. J Higher Correspond Edu (Nat Sci), 2004, 17(1): 6-9.

[3] 石得中. 中国农药大辞典[M]. 北京: 化学工业出版社 2008.
Shi DZ. Chinese Pesticide Dictionary [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2008.

[4] Bai D, Lummis SCR, Leicht W, *et al.* Actions of imidacloprid and a related nitromethylene on cholinergic receptors of an identified insect motor neurone [J]. Pest Manage Sci, 1991, 33(2): 197-204.

[5] 吴刚, 吴云华, 鲍晓霞, 等. 高效液相色谱法分析茶叶中吡虫啉残留量[J]. 理化检验: 化学分册, 2005, 41(10): 768-769.
Wu G, Wu YH, Bao XX, *et al.* High-performance liquid chromatography (HPLC) analysis of imidacloprid residues in tea [J]. Phys Test Chem Anal Part B: Chem Anal, 2005, 41(10): 768-769.

[6] 王刚, 王凤龙. 烟草农药合理使用技术指南[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2004.
Wang G, Wang FL. Tobacco pesticide guide the rational use of technology [M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2004.

[7] 苏德成. 烟草栽培技术[M]. 北京: 科学普及出版社, 1999.
Su DC. Tobacco cultivation techniques [M]. Beijing: Popular Science Press, 1999.

[8] Bolognesi C, Morasso G. Genotoxicity of pesticides: potential risk for consumers [J]. Trends Food Sci Technol, 2000, 11(5): 182-187.

[9] 谷勋刚, 刘晓松. 液相色谱法分析烟草中吡虫啉[J]. 安徽农业科学, 2006, 34 (4): 713-714.
Gu XG, Liu XS. Analysis of imidacloprid in tobacco with high performance liquid chromatography [J]. J. Anhui Agri. Sci, 2006, 34 (4): 713-714.

[10] 曹爱华, 李义强, 徐光军, 等. 高效液相色谱同时测定烟草中吡虫啉、多菌灵、甲基硫菌灵的残留量[J]. 中国烟草科学, 2009, 30(1): 31-34.
Cao AH, Li YQ, Xu GJ, *et al.* Determination of imidacloprid, carbendazim and thiophanate-methyl in tobacco by high performance liquid chromatography [J]. Chin Tobacco Sci, 2009, 30(1): 31-34.

[11] 万积成, 林源, 王金花, 等. 液相色谱-串联质谱与胶体金法检测蔬菜中吡虫啉残留比较[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(10): 2258-2301.
Wan JC, Lin Y, Wang JH, *et al.* Comparison of liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry with colloidal gold

- strip for detection of imidacloprid residue in vegetables [J]. Chin J Health Lab Tech, 2009, 19(10): 2258–2301.
- [12] 王骏, 钟青, 郭忠成, 等. 烟草中啉虫脒、吡虫啉残留量的UPLC-MS/MS测定[J]. 烟草科技, 2010, 10: 41–43.
- Wang J, Zhong Q, Guo ZC, *et al.* Determination of acetamiprid and imidacloprid residues in tobacco by UPLC-MS/MS [J]. Tobacco Sci Technol, 2010, 10: 41–43.
- [13] 和顺琴, 陈章玉, 崔柱文, 等. 凝胶净化-高效液相色谱法测定烟草中的吡虫啉[J]. 云南大学学报(自然科学版), 2010, 32, (S1): 124–126.
- He SQ, Chen ZY, Cui ZW, *et al.* Study on the determination in tobacco by HPLC and sample preparation with gel permeation purification [J]. J Yunnan Univ (Nat Sci), 2010, 32(S1): 124–126.
- [14] 任娟. 胶体金免疫层析技术研究现状及进展[J]. 新疆畜牧业, 2011, (21): 22–24.
- Ren J, Research status and development of colloidal gold immunochromatographic assay [J]. Xinjiang Anim husbandry, 2011, (21): 22–24.
- [15] 徐欢. 胶体金免疫层析方法快速检测食品中氯霉素的残留研究[D]. 广州: 广东药学院, 2010.
- Xu H. Study on colloidal gold immunochromatography technique for rapid detection of chloramphenicol residues in food [D]. Guangdong: Guangdong Pharmaceutical University, 2010.
- [16] 杜红梅. 胶体金免疫层析技术在水产品快速检测中的应用[J]. 湖南农业科学, 2011, (24): 28–32.
- Du HM. Colloidal gold immune chromatography technology application in rapid detection of aquatic products [J]. Hunan Agric Sci, 2011, (24): 28–32.
- [17] 李卫玲, 叶阳, 周有祥, 等. 柠檬酸钠法制备胶体金的工艺条件优化[J]. 湖北农业科学, 2010, (30): 2529–2532.
- Li WL, Ye Y, Zhou YX, *et al.* Optimization of preparation technique of colloidal gold by sodium citrate method [J]. Hubei Agric Sci, 2011, (24): 2529–2532.
- [18] 李淑群, 曹碧云, 常化仿, 等. 胶体金免疫层析法快速检测牛奶、奶粉、饲料中的三聚氰胺[J]. 分析化学, 2013, (7): 1025–1030.
- Li SQ, Cao BY, Chang HF, *et al.* A colloidal gold immunochromatographic assay for rapid detection of melamine in milk, milk powder and animal feeds. [J]. Anal Chem, 2013, (7): 1025–1030.
- [19] 李向梅, 王战辉, 肖希龙, 等. 同时检测牛奶中喹诺酮类和庆大霉素残留的胶体金免疫层析方法研究[J]. 中国农业科学, 2014, 47(19): 3883–3889.
- Li XM, Wang ZH, Xiao XL, *et al.* Development of a colloidal gold immunochromatographic technique for simultaneous detection of quinolones and gentamicin in milk [J]. Sci Agric Sin, 2014, 47(19): 3883–3889.
- [20] 徐超莲, 赖卫华, 刘道峰. 胶体金免疫层析法检测食品中天然存在的危害物质的研究进展[J]. 食品科学, 2014, 35(05): 257–262.
- Xu CL, Lai WH, Liu DF. Progress in the detection of naturally occurring hazardous substances in foods by colloidal gold immunochromatography assa [J]. Food Sci, 2014, 35(05): 257–262.
- [21] GB/T 20769-2006 水果和蔬菜中 405 种农药及相关化学品残留量的测定 [S].
- GB/T 20769-2006 Determination of 405 kinds of residual pesticides and related chemicals in fruits and vegetables [S].

(责任编辑: 姜珊)

作者简介



楼小华, 高级工程师, 主要从事烟草质量安全风险评估。
E-mail: louxh6311@sina.com



谢体波, 中级工程师, 主要从事食品安全快速检测技术的研究与开发。
E-mail: 394736614@qq.com