

水产品中孔雀石绿和结晶紫残留的拉曼光谱法快速检测

李晨¹, 赵超敏¹, 古淑青¹, 邓晓军^{1*}, 赵志慧²

(1. 上海海关动植物与食品检验检疫技术中心, 上海 200135) (2. 上海如海光电科技有限公司, 上海 201209)

摘要: 为实现水产品中孔雀石绿以及结晶紫残留的快速检测, 建立了一种水产品中孔雀石绿以及结晶紫残留的表面增强拉曼光谱(SERS)快速检测方法。该方法通过乙腈提取、石油醚净化、硼氢化钾还原以及二氯二氧苯醌(DDQ)氧化等四步获取提取液, 并通过单因素实验, 确定了胶体金、提取液以及促凝剂的加入量。经研究, 孔雀石绿拉曼特征位移为 795、39、1215、1610 cm^{-1} , 结晶紫拉曼特征位移为 795、939、1610 cm^{-1} , 根据其拉曼光谱特征峰及其强度, 对孔雀石绿和结晶紫进行定性快速测定。结合检出概率模型(POD), 确定出孔雀石绿及结晶紫的虾、蟹类检出限为 1.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 鱼、贝类检出限为 0.50 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 灵敏性 $\geq 95\%$, 特异性 $\geq 95\%$, 假阴性 $\leq 5\%$, 假阳性 $\leq 5\%$ 符合了快速检测定性的要求。该方法操作简单、快速准确, 从样品前处理到结果显示仅需 40 min, 可用于水产品中的孔雀石绿和结晶紫的现场快速检测。

关键词: 孔雀石绿; 结晶紫; 表面增强拉曼光谱技术; 检出概率模型(POD); 现场快速检测

文章编号: 1673-9078(2022)03-286-292

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.3.0689

Rapid Determination of Malachite Green and Crystal Violet Residues in Aquatic Products by Raman Spectroscopy

LI Chen¹, ZHAO Chaomin¹, GU Shuqing¹, DENG Xiaojun^{1*}, ZHAO Zhihui²

(1. Technical Center for Animal Plant and Food Inspection and Quarantine, Shanghai Customs, Shanghai 200135, China)

(2. Shanghai Ruhai Photoelectric Technology Co. Ltd., Shanghai 201209, China)

Abstract: In order to realize the rapid detection of malachite green and crystal violet residues in aquatic products, a rapid surface enhanced Raman spectroscopy method (SERS) for malachite green and crystal violet residues in aquatic products was established. By means of acetonitrile extraction, petroleum ether purification, potassium borohydride reduction and DDQ oxidation, the amount of colloidal gold, extract and coagulant was determined. The Raman characteristic displacement of malachite green was 795, 939, 1215, 1610 cm^{-1} . The Raman displacement of crystal violet was 795, 939, 1610 cm^{-1} . According to its Raman spectrum characteristic peak and its intensity, the malachite green and crystal violet were determined qualitatively and rapidly. Combined with the detection probability model (POD), the detection limit of malachite green and crystal violet shrimp and crab was determined to be 1.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the detection limit of fish and shellfish is 0.50 $\mu\text{g}/\text{kg}$, sensitivity $\geq 95\%$, specific $\geq 95\%$, false negative $\leq 5\%$, false positive $\leq 5\%$, which meets the qualitative requirements of rapid testing. The method is simple, rapid and accurate. It only takes 40 minutes from sample pretreatment to result display. It can be used for the on-site rapid detection of malachite green and crystal violet in aquatic products.

引文格式:

李晨, 赵超敏, 古淑青, 等. 水产品中孔雀石绿和结晶紫残留的拉曼光谱法快速检测[J]. 现代食品科技, 2022, 38(3): 286-292, +298

LI Chen, ZHAO Chaomin, GU Shuqing, et al. Rapid determination of malachite green and crystal violet residues in aquatic products by Raman spectroscopy [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(3): 286-292, +298

收稿日期: 2021-07-05

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC1603503); 上海市科委科研计划项目(18DZ2201200); 长三角科技合作项目(19395810100); 上海市农业领域项目(19391901500); 上海市科委项目基金(20DZ2291900)

作者简介: 李晨(1989-), 女, 本科, 初级职称, 研究方向: 拉曼光谱快速检测, E-mail: 1223123001@qq.com

通讯作者: 邓晓军(1977-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 食品安全, E-mail: xjdeng@yeah.ent

Key words: malachite green; crystal violet; surface enhanced Raman scattering (SERS) technology; probability of detection (POD); field rapid detection

孔雀石绿和结晶紫均为人工合成的三苯甲烷类碱性染料,主要用于防治水霉病,自20世纪30年代起就被广泛用于渔业生产中^[1,2]。但研究发现,这两种人工合成染料,不论是对人还是对动物,都具有较高的致癌性^[3]。中国对水产养殖中添加该类药物是严格禁止的^[4],同时欧盟也规定禁止添加该类药物,并且评估了孔雀石绿及其主要代谢物隐色孔雀石绿在水产品中限量2 $\mu\text{g/L}$ 不存在健康问题^[5]。虽然国内外都明令禁止孔雀石绿和结晶紫在水产养殖中的应用,但因其抗菌效果良好,价格低廉,在水产养殖中仍有违规使用的情况^[6]。

目前孔雀石绿和结晶紫检测与水产相关的方法已非常成熟,常见方法有液相色谱法^[7]、液相色谱-串联质谱^[8],这类方法结果准确,有较高的灵敏度,但受制于仪器条件,有检测成本过高、检验周期较长的缺陷。为了满足养殖场以及现场监管的需求^[9],快检方法就是针对这些缺陷提出的新的解题思路。现在较为成熟的快检法是胶体金免疫盒试剂法^[10]。我国国家标准规定液相色谱法方法检出低限为0.50 $\mu\text{g/kg}$,胶体金免疫盒试剂法为2 $\mu\text{g/kg}$,现有的快速检测低限相对于实验室方法仍有提升的空间。

拉曼光谱法是近年来新兴流行的快速检测方法。拉曼检测是利用拉曼效应对样品进行无损检测的一种方法,它的优点在于快速高效,但其缺点是灵敏度较低。表面增强拉曼技术是对其这一缺点的有效弥补,在提高效率的同时增加了灵敏度^[11]。因为其操作步骤简单的特性,表面增强拉曼光谱技术方便设于口岸等现场监管机构,达到即到即测的目的,也可以用于对市场上的水产品进行现场监控,缩短检测时间以及减少采样量,让商家和消费者双方都能受益。经文献调研,目前拉曼快检方法对于孔雀石绿的检测对象仅针对水产品养殖水^[12],未发现有针对性对水产品基质的研究,也未发现有同时检测孔雀石绿和结晶紫的研究。

本文采取一种简便又高效的表面增强拉曼前处理方法,相较现有的快速检测方法而言,可同时检测孔雀石绿和结晶紫,且在鱼和贝类基质中均达到了常规国家标准方法的检出低限。同时它也拥有常规检测不具备的简单、高效、低损耗、成本低的特点。同时本方法采用了新型的检出概率模型(Probability of Detection, POD模型)来验证方法。POD模型既可以被用于对快速检测中定量数据的准确性的考察,也可被用作定性分析的验证。因为该实验方法只需要定性

实验结果,所以只研究了定性模型。POD通过浓度对检测方法的灵敏度、特异性、假阳性、假阴性以图形可视化分析,它是协调了定量和定性方法验证之间的统计概念和参数并提供相应曲线的图形表示工具^[13]。本方法通过检出概率模型,确定了虾、蟹1.00 $\mu\text{g/kg}$ 和鱼、贝0.50 $\mu\text{g/kg}$ 的检出限。该方法操作简单、快速准确,可同时实现水产品中的孔雀石绿和结晶紫的现场快速检测分析。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

SEED 3000 便携式拉曼光谱仪,上海如海光电科技有限公司;Eppendorf 5810R 离心机,德国Eppendorf公司;VORTEX-GENIE2 涡旋混合器,美国Scientific Industries公司;Elmasonic P 超声震荡器,德国Elma公司;JEM-1400 透射电子显微镜,日本电子株式会社;Uv-2600 紫外-可见分光光度计,日本岛津公司;金纳米粒子,上海如海光电科技有限公司;促凝剂(1 mol/L 碘化钾),上海安谱实验科技股份有限公司;孔雀石绿以及隐色孔雀石绿(工业品),上海安谱实验科技股份有限公司;结晶紫以及隐色结晶紫(工业品),上海安谱实验科技股份有限公司;乙酸乙酯(分析纯),上海安谱实验科技股份有限公司;二氯二氰苯醌DDQ(分析纯),上海安谱实验科技股份有限公司;硼氢化钾(分析纯),上海安谱实验科技股份有限公司;石油醚60 $^{\circ}\text{C}$ ~90 $^{\circ}\text{C}$ (分析纯),上海安谱实验科技股份有限公司;氯金酸(分析纯),上海国药集团化学试剂有限公司;柠檬酸三钠(分析纯),上海安谱实验科技股份有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 金纳米粒子的合成

金纳米离子参考Frens法^[14]合成。在100 mL圆底烧瓶中加入聚四氟乙烯磁力搅拌子和50 mL的0.01%氯金酸溶液,将圆底烧瓶中溶液加热至沸腾后迅速加入0.40 mL的1%柠檬酸三钠水溶液,保持沸腾状态,加热回流30 min即可制得金纳米粒子,反应结束后冰浴冷却,装入棕色试剂瓶中保存待用。粒子制备完成后用紫外-可见分光光度计测试粒子最大吸收波长,透射电子显微镜分析粒子形貌。

1.2.2 标准溶液制备

分别准确称取 0.01 g 的孔雀石绿和结晶紫, 溶解于约 3 mL 乙腈中。完全溶解后移至 10 mL 的容量瓶中, 加乙腈至刻度线, 摇匀, 配得 1000 mg/L 的孔雀石绿和结晶紫标准溶液。

1.2.3 样品前处理

取 1 g 均质后样品于 5 mL 离心管中, 加 2 mL 乙腈和 1 mL 水, 摇匀震荡超声 3 min, 于 4000 r/min 离心 3 min。取全部上层清液于 5 mL 离心管, 加入 0.10 mol/L 的硼氢化钾 50 μ L, 此时有小气泡出现, 加 1 mL 的石油醚震荡两分钟, 静置后取全部上层清液约 1 mL 于 1.50 mL 离心管。加入 1% 二氯二氧基苯醌 (DDQ) 50 μ L 和 0.01 mol/L 盐酸 200 μ L, 震荡摇匀, 静置后取适量下层清液于玻璃衬管中待测。

阳性样品的制备, 即将标准品稀释成相应浓度, 加入待测样品, 制成相应阳性样品。

1.2.4 拉曼光谱分析

玻璃衬管瓶中加入 40 μ L 待测液、40 μ L 促凝剂、200 μ L 纳米金后, 将玻璃衬管瓶放入检测池中, 盖上池盖, 等待 5 min; 设置检测程序参数: 中心波长 785 nm, 激光功率 250 mV, 检测时长 1000 ms, 平均次数 2 次。运行分析获得待测样品谱图。

1.2.5 定性 POD 模型建立

检出概率 (POD) 被定义为“在给定的分析物水平或浓度下, 给定矩阵的定性方法的阳性结果 (P(x)) 的比例”^[15], POD 曲线以图形方式描述了阳性结果的概率与分析物浓度之间的关系^[16]。实验数据的 POD 模型随着浓度变化可使“灵敏度”、“特异性”、“假阳性”、“假阴性”等性能指标可视化^[15] (如图 1)。

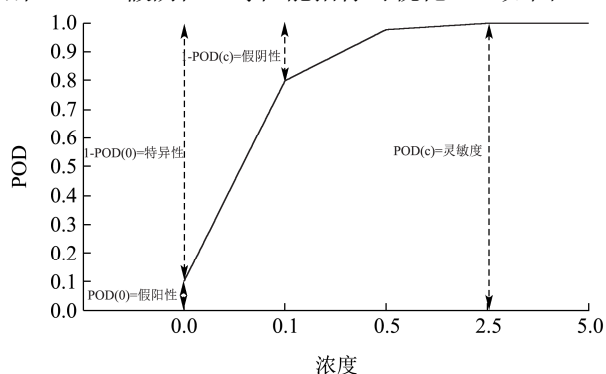


图 1 POD 模型含义

Fig.1 The meaning of POD model

确定一个 POD 模型, 首先要确定目标物在特定基质下的最低定性限 (LOD), 定性标准以仪器同时能检出一个或几个目标峰, 且当有两个以上的峰时必须都要有响应值为准。与该基质的空白曲线对比, 在低浓度范围各做 40 个重复性实验, 根据检出率确定 LOD 值。然后依据空白、1/2LOD、LOD、2LOD 四

个浓度基质样品各做的 40 个重复试验所确定的检出概率后制图, 便可得到可视化的“灵敏度”、“特异性”、“假阳性”、“假阴性”等性能指标图形。

1.2.6 数据处理

数据处理采用 Microsoft Excel 2010, 图表的绘制采用 Origin 9.0 软件。

2 结果与分析

2.1 纳米粒子表征

以金纳米粒子溶胶为 SERS 增强基底, 该溶胶外观呈现酒红色, 澄清透明。紫外-可见吸收光谱测试结果表明该金纳米粒子最大吸收峰为 538 nm 处, 如图 2a 所示。

图 2b 为金纳米增强粒子透射电镜测试结果, 图中显示该金纳米溶胶的粒径分布较为均匀, 无团聚现象, 粒子分散性较好。经统计分析, 该金纳米粒子中粒子尺寸分布在 55~60 nm 之间, 粒子为椭球状, 表面具有一定粗糙度, 具有较强 SPR 效应, 可以有效增强待测分子拉曼信号, 适合作为 SERS 基底。

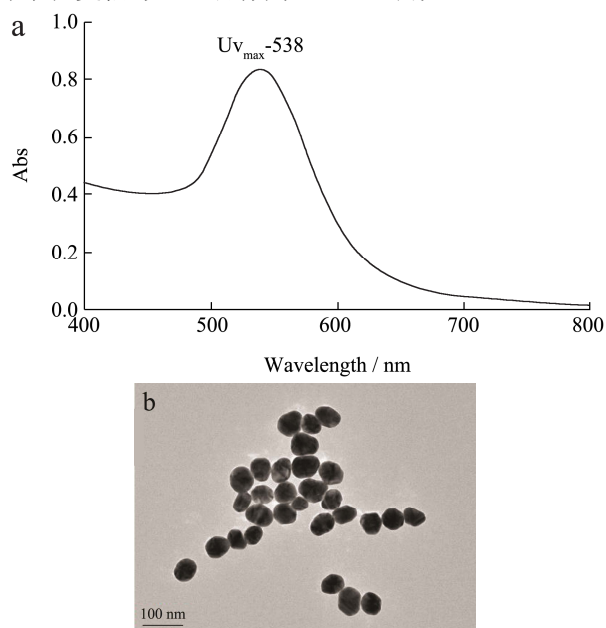


图 2 金纳米粒子基底照片

Fig.2 Photo of the base of the golden nanoparticles

注: (a) 金纳米粒子紫外-可见吸收光谱图; (b) 金纳米粒子透射电镜图。

2.2 测试条件优化

2.2.1 优化纳米金用量

为了获得孔雀石绿测试时的金纳米溶胶最佳用量, 本研究对样品测试时金纳米溶胶添加量进行了研究, 如图 3 所示。结果表明, 在 40 μ L 10 μ g/L 的孔雀

石绿溶液里,一定范围内随着金纳米粒子用量的增加,孔雀石绿拉曼信号响应越强;但当金纳米溶胶添加量大于 400 μL 时,拉曼信号响应反而有所降低,这是由于金纳米溶胶添加量过多,待测样液被稀释,孔雀石绿拉曼信号响应随之下降;当金纳米溶胶添加量为 200~300 μL 之间时,拉曼信号响应差别不大,因此确定在 40 μL 10 $\mu\text{g/L}$ 的孔雀石绿溶液里,金纳米溶胶的添加量为 200 μL 。

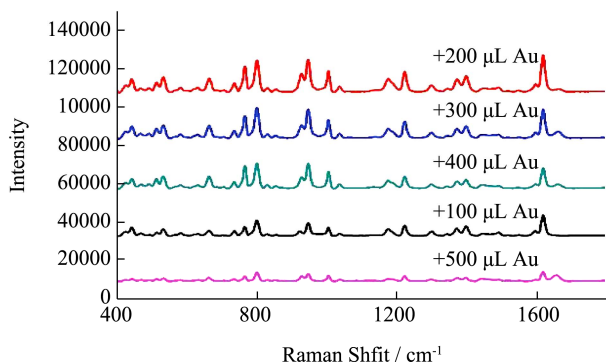


图3 不同金纳米粒子添加量对 10 $\mu\text{g/L}$ 孔雀石绿标液测试结果

Fig.3 Test results of 10 $\mu\text{g/L}$ malachite green with different gold nanoparticles

2.2.2 优化促凝剂种类

研究确定当金纳米溶胶添加量为 200~300 μL 之间时,拉曼信号响应差别不大。所以促凝剂的体积确定为 40 μL ,这样总的进样体积就不会超过 300 μL ,待测液的浓度就不会被稀释到响应值受影响的程度。但不同的无机盐作为促凝剂对具体样品的增强效果有所不同,这里主要研究了两种促凝剂种类,即 NaCl 和 KI (如图 4)。由图可见,促凝剂 KI 相较于 NaCl,在相同浓度的孔雀石绿溶液里,可以更有效的增加所有特征峰的峰强度。

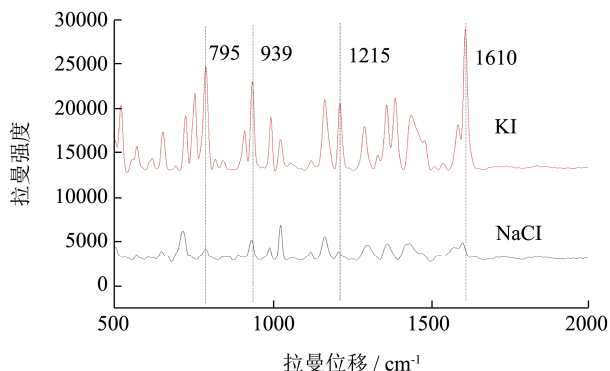


图4 两种促凝剂在 20 $\mu\text{g/L}$ 孔雀石绿标液测试结果

Fig.4 Test results of 20 $\mu\text{g/L}$ malachite green marker fluid

2.2.3 静置时间优化

在进样时发现,孔雀石绿在最开始的两次检测中“1610 cm^{-1} ”特征峰都未出现,需要一定时间,才会

显现。随着静置时间的延长其特征峰强度增强趋势如图 5 所示,经研究当样品与促凝剂结合,加入纳米金后,随时间增长,孔雀石绿的特征峰响应值会趋于增强,静置 5 min 以后,结果会趋于稳定。

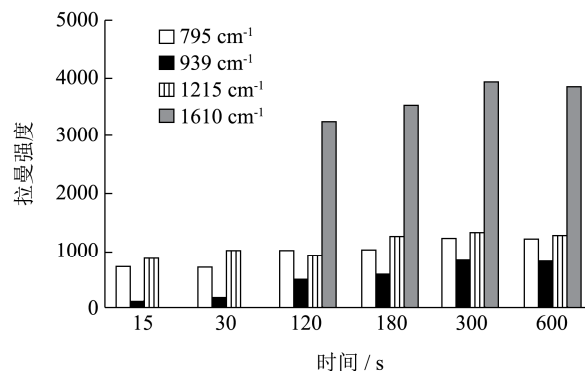


图5 2 $\mu\text{g/kg}$ 孔雀石绿在不同静置时间的拉曼强度

Fig.5 2 $\mu\text{g/kg}$ malachite green at different resting times

研究中加入适量的含氧离子促凝剂,可以打破溶胶体系的电离平衡,从而使溶胶颗粒凝聚,这与体系中的等离子共振条件有直接的关系,可以引起物理效果的增强^[17]。静置时间即为体系达到平衡的时间,也是使物理增强效果最佳时间。所以为了达到最好的检测结果,选择连续检测,直至特征峰趋稳后,确定最好的检测时间。因此,本方法最好的进样静置时间是 5 min。

2.3 前处理条件优化

2.3.1 提取试剂的选择

水产类制品基质复杂,提取试剂的选择是影响检测结果的重要因素。孔雀石绿和结晶紫是三苯甲烷类化合物,首先选择乙腈作为提取剂,它能有效的进入基体组织提取目标物^[18]。如图 6a 所示,研究发现对于不同种类水产基质,检测特征峰的响应值有所区别,虾类基质的检测结果差别很大。可能是虾肉基质的胶质原因在超声过程中无法完全分散在乙腈中,因此,提取过程尝试加水,结果显示,提取试剂为 50%乙腈水溶液时,三个特征峰的响应值有明显提高。

为了验证水促进虾基质在提取液中均匀分散作用,是特征峰响应值升高的原因,用鱼基质做了相同实验,同样发现三个特征峰拉曼强度提升超过 30%左右图 6b,说明水不仅起到了分散基质作用,还增强了基质中待测目标物在提取液中提取效果。

最后,以纯水、纯乙腈以及三种体积比的水/乙腈为提取液,如图 6c 可知,乙腈水的混合物做提取剂可以比单纯的乙腈或水的提取效率都高。当提取液为体积比为 1:1 的水/乙腈时,它的提取效率最高。但在实际操作时,体积比 1:1 的水/乙腈在与石油醚萃取的过程中,产生大量的泡沫,需静置分层并离心。体积比

为 1:2 的水/乙腈的提取液，静置即可快速分层。所以，本方法采用的是 1:2 的水/乙腈的提取液。

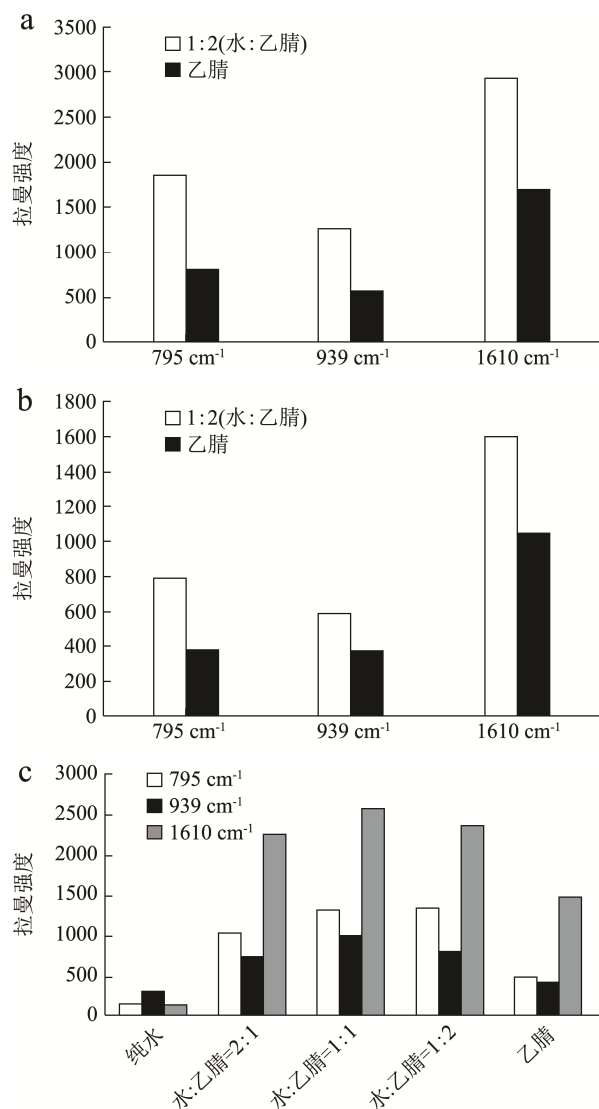


图 6 不同基质在不同提取剂中的特征峰强度

Fig.6 The characteristic peak intensities of different substrates in different extractors (2 $\mu\text{g}/\text{kg}$)

注: (a) 纯乙腈和 50%乙腈为提取剂时虾中结晶紫; (b) 纯乙腈和 50%乙腈为提取剂时鱼中结晶紫; (c) 不同提取剂时白米虾中结晶紫。

有研究表明，在盐溶液中，当乙腈与水体积比为 1:1 时，乙腈相与水相的相比较大^[19]，可以促使上相的有机相中的极性较大的化合物向下相的水相中转移，故而提高提取率。因本研究样品均为水产，所以提取液里含有基质所带的盐分，而孔雀石绿和结晶紫作为极性较大的化合物在此提取液中，也会向水相中转移，从而提高萃取率。

2.3.2 氧化剂和还原剂的选择

前处理过程包括待测物提取，净化以及浓缩。在净化过程中，发现石油醚能有效提取乙腈提取液中的

隐色孔雀石绿，显色孔雀石绿并不能有效的被提取。所以需要先将乙腈提取液中的孔雀石绿全部还原成隐色孔雀石绿。而在拉曼检测时，显色孔雀石绿可以显示更好的拉曼特征峰型，所以检测时再将隐色孔雀石绿氧化成显色孔雀石绿进行检测。

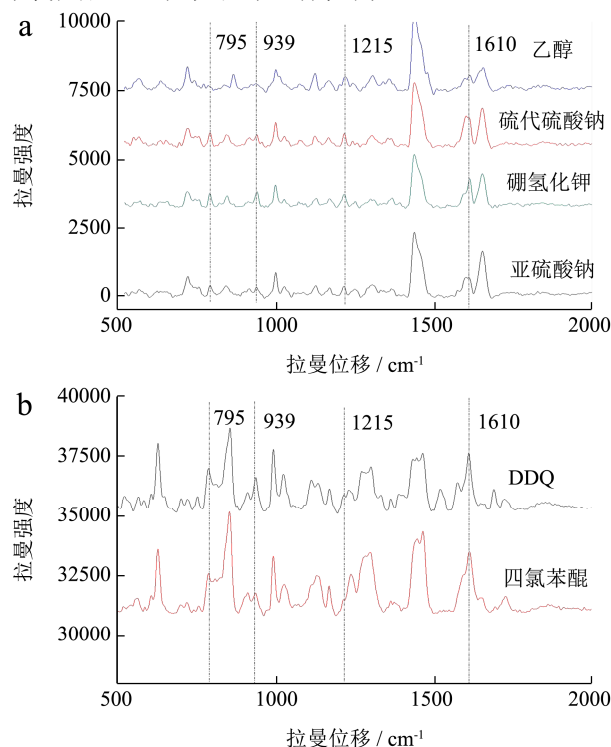


图 7 孔雀石绿使用不同氧化剂和还原剂的比较

Fig.7 Comparison of different oxidants and reductants for malachite

注: (a) 四种还原剂的峰型; (b) 两种氧化剂的峰型。

在还原剂的选择中，考查了乙醇、硫代硫酸钠、硼氢化钾以及亚硫酸钠四种常用的还原剂。保持其它实验参数不变，如图 7a，根据峰型和响应值来看，乙醇和亚硫酸钠在“1610 cm^{-1} ”的响应值不强首先排除。比较硫代硫酸钠和硼氢化钾在“939 cm^{-1} ”，硼氢化钾的响应值是最好的，而且硫代硫酸钠的还原性较弱，使峰型没有较好的分开，在“1610 cm^{-1} ”的峰型较宽，所以相较其他三个还原剂，硼氢化钾的效果是最好的。因为硼氢化钾的稳定性较差，将其配在 1 g/L 的 KOH 里，可以延长使用时间，在一周内保持稳定^[20]。因此选择硼氢化钾作为还原剂。

在氧化剂的选择中，考查了四氯苯醌和二氯二氧基苯醌 (DDQ)。因为 DDQ 是一种主要用于芳香化合物脱氢成双键的氧化剂^[21]，孔雀石绿以及结晶紫都是含有苯环的芳香类化合物可被氧化。四氯苯醌与 DDQ 同为醌类氧化剂，有着相似的氧化机理，同样也可以被用于孔雀石绿和结晶紫的氧化^[22]。为了验证氧化剂的氧化效果，在控制其他实验参数的前提下，进

行了比较。如图 7b 所示,在低浓度的孔雀石绿中,DDQ 做为氧化剂可以获得更加清晰的峰型,相较于四氯苯醌的试验结果,939 cm⁻¹、795 cm⁻¹这两个特征峰更加明显。因此,选择 DDQ 做为氧化剂。

2.4 定性方法及检出限

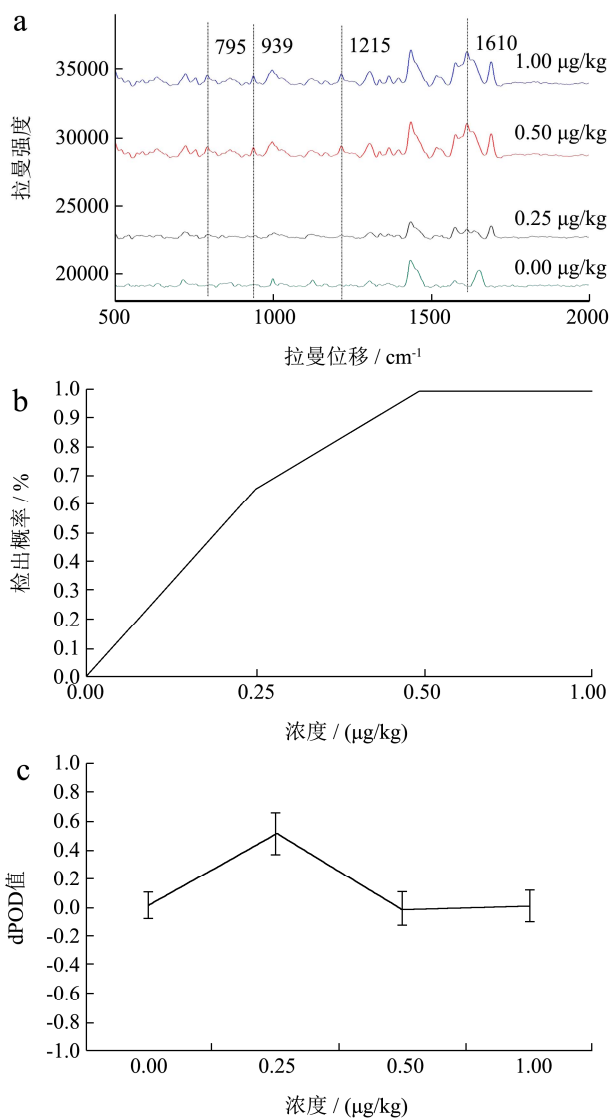


图 8 孔雀石绿在三文鱼中的定性图谱

Fig.8 Qualitative chromatogram of malachite green in salmon

注: (a) 不同浓度的峰型图; (b) POD 模型; (c) dPOD 模型。

按 2.2 步骤测定,由分析人员分别对虾、鱼、蟹、贝四类样品进行最低添加量的检测,与空白样品的峰型进行对照,各做 40 个重复实验,根据检出概率得出 LOD。然后依据空白、1/2LOD、LOD、2LOD 四个浓度基质样品各做的 40 个重复试验所确定的检出概率制图,继而获得“灵敏度”、“特异性”、“假阳性”、“假阴性”等性能指标可视化图。以三文鱼中的孔雀石绿为例,在孔雀石绿为 0.50 μg/kg 时,仍可明显看见可见

峰,且检出概率>95%,浓度为 0.25 μg/kg 时峰型衰弱,939 cm⁻¹ 趋近于无,如图 8a,且检出概率仅为 65%,可初步判定 LOD 为 0.50 μg/kg。由获得的 POD 图 8b 也可得出,当孔雀石绿浓度大于 0.50 μg/kg 时,灵敏度>95%,特异性>95%,假阴性≤5%,假阳性≤5%符合了快速检测定性的要求。最后,根据 dPOD 参数评价定性方法与标准方法 GB/T 20361-2006 的一致性^[23],确定检出限。当 dPOD 的置信区间(LCL, UCL)覆盖 0 时,则认为该定性方法与标准方法无差异。本例中,根据 dPOD 的置信区间可知,如图 8c,该定性方法对空白样品的检测特异性与标准方法一致,当浓度≥0.5 μg/kg 时,该定性方法的检测灵敏度与标准方法一致,因此该定性方法的检出限定为 0.5 μg/kg。

dPOD 置信区间的计算如下:

$$x=0 \text{ 时, } POD=0, LCL=0, UCL=3.8415/(N+3.8415);$$

$$x=N \text{ 时, } POD=1, LCL=N/(N+3.8415), UCL=1;$$

$$0 < x < N \text{ 时, } POD=x/N,$$

$$LCL = \frac{x + 1.9207 - 1.9600 \sqrt{x - \frac{x^2}{N} + 0.9604}}{N + 3.8415},$$

$$UCL = \frac{x + 1.9207 + 1.9600 \sqrt{x - \frac{x^2}{N} + 0.9604}}{N + 3.8415}。$$

在实际检测应用过程中,使用该方法对五批次水产鱼制品进行了检测。检测出其中一批次的鲫鱼样品呈阳性(如图 9)。经国标方法 GB/T 20361-2006 检测,结果为 0.8 μg/kg,快检方法与国标结果比对无差异性。

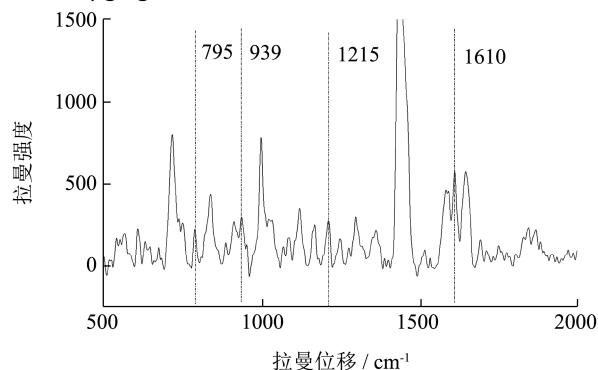


图 9 鲫鱼孔雀石绿阳性样品的拉曼图谱

Fig.9 Raman map of malachite green positive samples of crucian carp

3 结论

本方法建立的测定水产中的孔雀石绿和结晶紫表面增强拉曼光谱快速检测方法,确定出孔雀石绿及结晶紫的虾、蟹类检出限为 1.00 μg/kg,鱼、贝类检出限为 0.50 μg/kg,灵敏度>95%,特异性>95%,假阴性

≤5%，假阳性≤5%符合了快速检测定性的要求，操作简单、快速有效，易于推广。从样品的制备，到前处理再到仪器分析，只需 40 min，且有较低的检出限，可以符合日常对于该物质的检测要求。同时 POD 定性模型的使用，精准有效的验证了该方法的适用性，促进现场快速检测方法在食品安全监管中的使用。

参考文献

- [1] Culp S J, Beland F A. Malachite green: a toxicological review [D]. American College of Toxicology, 1996, 15(3): 219-238
- [2] Alderman D J. Malachite green: review [J]. J Fish Dis, 1985, 8: 289-298
- [3] Srivastava S, Sinha R, Roy D: Toxicological effects of malachite green [J]. Aquat Toxicol, 2004, 66: 319-329
- [4] 中华人民共和国农业部公告第 193 号[OL].(2002.4.09) [2002.4.09]. http://www.moa.gov.cn/govpublic/SYJ/201006/t20100606_15352626.htm
Ministry of Agriculture of the Chinese People's Republic of China No. 193 [OL]. (9 Apr 2002) [2002 Apr 09]. http://www.moa.gov.cn/govpublic/SYJ/201006/t20100606_15352626.htm
- [5] European Food Safety Authority. Malachite green in food [OL]. (27 July 2016) [24 June 2016]. <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4530>
- [6] 廖海金.水产品:“禁药”何难禁[N].中国质量报,20170306(第 003 版)
LIAO Haijin. Aquatic Products: Why "drug prohibition" is so hard [N]. China Quality Daily, 2017.03.06 (3rd Edition)
- [7] GB/T 20361-2006.水产品中孔雀石绿和结晶紫残留的测定高效液相色谱荧光检测法[S]
GB/T 20361-2006. The Detection of High-efficiency Liquid Chromatography Fluorescence Detection of Malachite Green and Crystal Violet Residues in Aquatic Products [S]
- [8] SN/T 5116-2019.进出口食用动物、饲料孔雀石绿、结晶紫测定液相色谱-质谱/质谱法[S]
SN/T 5116-2019. Import and Export of Edible Animals and Fodder Malachite Green, Crystal Violet Determination: Liquid Chromatography-Mass Spectrometry / Mass Spectrometry [S]
- [9] 张大鹏,洪洋口海鲜第一时间摆上餐桌[N].中国国门时报,2019.05.27(第三版)
ZHANG Dapeng. Hongyangkou seafood first set on table [N]. China Inspection and Quarantine Times, 2019.05.27 (3rd Edition)
- [10] SN/T 4540.1-2016.商品化试剂盒检测方法孔雀石绿方法[S]
SN/T 4540.1-2016. Commercial Kit Detection Method, Malachite Green the First Method [S]
- [11] 刘顺彭.浅析拉曼光谱的原理及其应用[J].科学家,2017,5(7):7-8
LIU Shunpeng. Analysis of the principle and application of Raman spectra [J]. Scientist, 2017, 5(7): 7-8
- [12] DB13/T 1780-2011.养殖用水中孔雀石绿快速测定方法激光拉曼光谱法[S]
DB13/T 1780-2011. Rapid Determination Method of Malachite Green for Aquaculture Wastewater - Laser Raman Spectroscopy [S]
- [13] Paul Wehling, Robert A LaBudde, Brunelle S L, et al. Probability of detection (POD) as a statistical model for the validation [J]. Journal of AOAC International, 2011, 94(1): 335-347
- [14] Livingston J D, Carpay F M A. Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions [J]. Nature Physical Science, 1973, 241(105): 20-22
- [15] B Pöpping, Boison J, Coates S, et al. AOAC international, guidelines for validation of qualitative binary chemistry methods [J]. J Aoac Int, 2014, 97(5): 1492-1495
- [16] Carina de Souza Gondim, Roberto Goncalves Junqueira, Souza S, et al. Determining performance parameters in qualitative multivariate method using probability of detection (POD) curves [J]. Talanta, 2017, 168: 23-30
- [17] 张美玲.应用表面拉曼光谱技术检测三种特殊药品的研究[D].哈尔滨:哈尔滨工业大学,2016
ZHANG Meiling. The study of three special drugs was tested by surface Raman spectroscopy technology [D]. Harbin: Harbin University of Technology, 2016
- [18] 刘伶俐,徐飞良,黄向荣,等.不同提取净化对水产品四种酰胺类农药残留的分离影响[J].当代水产,2020,45(3):74-75
LIU Lingli, XU Feiliang, HUANG Xiangrong, et al. The separation effect of different extraction purification on the residue of four types of acrylamide pesticides in aquatic products [J]. Current Fisheries, 2020, 45(3): 74-75
- [19] 盛碧,陈智,李红舟,等.栀子苷在乙腈水体系中诱导向分离分配行为[J].应用化学,2014,31(2):231-236
SHENG Bi, CHEN Zhi, LI Hongzhou, et al. Partition characteristics of geniposide in inducing phase separation of acetonitrile aqueous solution system [J]. Chinese Journal of Applied Chemistry, 2014, 31(2): 231-236

(下转第 298 页)

