

饲料中氯霉素的快速检测 胶体金免疫层析法

Rapid detection of chloramphenicol residues in feeds — Colloidal gold immunochromatographic method

2024 - 08 - 16 发布

2024 - 09 - 16 实施

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由浙江省农产品质量安全学会提出并归口。

本文件起草单位：绿城农科检测技术有限公司、杭州谱育科技发展有限公司、杭州市临平区农业技术推广中心、浙江方圆检测集团股份有限公司。

本文件主要起草人：徐冰洁、王馨瑜、曾雪梅、郑剑峰、胡陵、倪娟桢、王忠、王伟、桑力青、杨晨璐、沈雄雅、俞璐萍、刘静、陶杨匀、赵月钧、王天琦。

饲料中氯霉素的快速检测 胶体金免疫层析法

1 范围

本文件规定了饲料中氯霉素胶体金免疫层析快速检测方法。

本文件适用于配合饲料、浓缩饲料及添加剂预混合饲料中氯霉素的快速筛查检测。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 14699.1 饲料 采样

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

农业部2483号公告-8-2016 《饲料中氯霉素、甲砒霉素和氟苯尼考的测定 液相色谱-串联质谱法》

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

本法采用竞争抑制免疫层析法，饲料中的氯霉素经乙酸乙酯提取，甲醇水净化后与胶体金标记的特异性抗体结合，抑制抗体与试纸条检测线（T 线）上人工抗原的结合，从而使控制线（C 线）和检测线（T 线）颜色深浅发生变化。通过控制线（C 线）和检测线（T 线）颜色深浅比较，对样品进行定性判定。

5 试剂和材料

除特殊注明外，本法所用试剂均为分析纯，水为符合 GB/T 6682 规定的二级水。

5.1 乙酸乙酯（ $C_4H_8O_2$ ）。

5.2 氯霉素标准物质（ $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ ）：CAS 号 56-75-7，分子量为 323.129，纯度大于 98%。

5.3 氯霉素标准储备溶液：精确称取 10 mg 氯霉素标准物质，用甲醇溶解，定容到 100 mL，配成 100 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备溶液，于 -20°C 保存，有效期 6 个月。

5.4 氯霉素标准工作溶液：移取适量标准储备溶液，用甲醇稀释成 10 ng/mL ，于 -20°C 保存，有效期 6 个月。

5.5 氯霉素免疫胶体金快速检测试剂卡：密封包装，干燥阴凉处保存，使用前恢复至室温，即开即用。

6 仪器和设备

- 6.1 电子天平：感量 0.01 g 和 0.1 mg。
- 6.2 涡旋混匀仪：转速 ≥ 2500 r/min。
- 6.3 离心机：转速 ≥ 8000 r/min。
- 6.4 氮气或空气吹干仪。
- 6.5 微量移液器：100-1000 μL ，0.5-10 mL。

7 测定步骤

7.1 试样制备

按GB/T 14699.1的规定抽取具有代表性的样品，用四分法缩减取样，按照GB/T 20195的规定制备样品，粉碎过0.45 mm孔径筛，混合均匀，装入磨口瓶中备用。

7.2 提取

称取试样8.00 g(± 0.10 g)于50 mL离心管中，加入16 mL乙酸乙酯，剧烈振荡1 min，8000 r/min离心3 min，吸取8 mL上清液于10 mL刻度管中，40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴氮吹至近干，加入200 μL 甲醇：水（1:4）复溶，待测。

7.3 测定

取出氯霉素免疫胶体金快速检测试剂卡，恢复至室温，置于水平台面上。吸取7.2中待测液的下层溶液 120 μL （8-10滴），加至氯霉素免疫胶体金快速检测试剂板的加样孔中，在8~40 min内读取检测结果。

7.4 质控试验

- 7.4.1 空白对照：每批样品需做一空白对照，按7.2、7.3进行。
- 7.4.2 阴性对照：称取空白样品，按7.2、7.3进行。
- 7.4.3 阳性对照：在空白样品加入一定量氯霉素标准溶液（其氯霉素含量 \geq 检测下限），按7.2、7.3进行。

8 结果判断及表述

8.1 试剂板有效性判定

- 8.1.1 有效检测试剂板：空白对照控制线（C 线）出现红色条带（如图1、图2），则检测试剂板有效，可进行检测。
- 8.1.2 失效检测试剂板：空白对照控制线（C 线）不出现红色条带（如图3），则检测试剂板失效，不能进行检测。
- 8.1.3

8.2 目视结果

通过对比控制线（C 线）和检测线（T 线）的颜色深浅进行结果表示，目视结果示意图见图1、图2、图3，结果有以下几种。

8.2.1 无效结果：控制线（C 线）不显色，无论检测线（T 线）是否显色，均表示实验结果无效（如图 3）。

8.2.2 阴性结果：控制线（C 线）显色，若检测线（T 线）颜色深于控制线（C 线），表示试样中不含待测组分或其含量低于方法检出限，视为阴性（如图 1）。

8.2.3 阳性结果：控制线（C 线）显色，若检测线（T 线）不显色或颜色浅于控制线（C 线），表示试样中含有待测组分且其含量高于方法检出限，视为阳性（如图 2）。

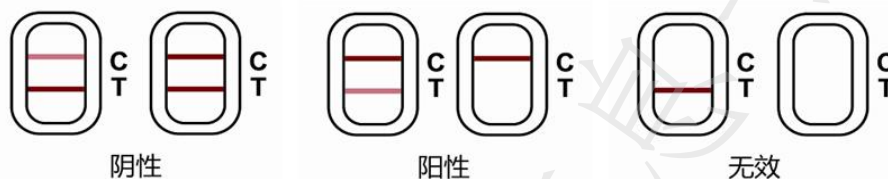


图 1

图 2

图 3

8.3 质控要求

当平行样的检测结果完全一致，且阴性控制样品和阳性质控样的结果准确时，判定该批检测数据有效。

9 性能指标

检测限 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

10 结果确证

本方法检测结果为阳性的样品，需要重新检测；若重新检测结果仍为阳性，需要采用现行有效的参比方法（LC-MS/MS方法或GC-MS/MS方法或其他现行有效的标准）进行确证。若有必要时，阴性结果样品也可采用LC-MS/MS方法或GC-MS/MS方法确认。

11 其他

复测参比方法可参考农业部 2483 号公告-8-2016 《饲料中氯霉素、甲砒霉素和氟苯尼考的测定 液相色谱-串联质谱法》。