



中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 3503—2013

莱克多巴胺纳米磁快速检测方法 试纸法

Rapid screen of ractopamine residues with nano magnetic particles—
Immunechromatographic assay

2013-03-01 发布

2013-09-16 实施

中 华 人 民 共 和 国
国家质量监督检验检疫总局 发 布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容有可能涉及专利。本文件的发布机构不应承担识别这些专利的责任。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国深圳出入境检验检疫局、深圳市检验检疫科学研究院、清华大学深圳研究生院、深圳市外来有害生物检测技术研发重点实验室。

本标准主要起草人：卢体康、秦智锋、孙洁、马岚、林庆燕、吕建强、杨俊兴、袁航、刘建利、廖立珊、陈兵、张彩虹、陶虹、花群义、陈书琨、曾少灵、曹琛福、吴峰、阮周曦、宗卉。

莱克多巴胺纳米磁快速检测方法 试纸法

1 范围

本标准规定了采用纳米磁免疫层析法,对动物源性食品、饲料和尿液中的莱克多巴胺残留进行快速筛选检测。

本标准适用于动物源性食品、饲料和尿液等样品中莱克多巴胺残留快速筛选定性检测。

本标准检测下限为 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是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 18088 出入境动物检疫采样

SN/T 2123 出入境动物检疫实验样品采集、运输和保存规范

3 原理

本方法是免疫层析法中的竞争抑制法,其主要原理是:通过将牛血清白蛋白偶联莱克多巴胺抗原、抗鼠 IgG 抗体、纳米超顺磁标记的抗莱克多巴胺抗体和其他试剂固着在硝酸纤维素膜、玻璃纤维素膜等纸膜材上制成检测试纸,应用层析式竞争法原理检测样品中的莱克多巴胺残留。样品中的莱克多巴胺在流动的过程中与玻璃纤维素膜上纳米磁珠标记的特异性抗莱克多巴胺抗体结合,抑制了抗体和硝酸纤维素膜检测线上牛血清白蛋白-莱克多巴胺抗原偶联物的结合,使检测线上结合的纳米磁珠的量减少,使用超顺磁共振检测仪测定得到的磁共振信号强度与样品中的莱克多巴胺含量成反比。

4 试剂与仪器

4.1 试剂

4.1.1 试剂级别:除另有规定,本方法试验用水应符合 GB/T 6682 规定的二级水,所用化学试剂均为分析纯。

4.1.2 莱克多巴胺纳米磁免疫层析快速检测试纸。

4.1.3 冲洗液(配方见附录 A 的 A.1)。

4.1.4 甲醇。

4.1.5 乙酸乙酯。

4.1.6 氨水。

4.1.7 氨化甲醇溶液(配方见 A.2)。

4.1.8 pH7.4 0.02 mol/L PBS 溶液(配方见 A.3)。

4.1.9 0.5 $\mu\text{g/L}$ 莱克多巴胺阳性标准品溶液(配方见 A.4),置于 4 $^{\circ}\text{C}$,可保存 3 个月。

4.1.10 莱克多巴胺阴性对照:不含有莱克多巴胺残留且经气相-液相-液相(LC/MS/MS)仪器确证为阴性的尿液、肌肉、组织或血液样本。

4.1.11 空白对照:冲洗液。

4.2 仪器

4.2.1 超顺磁共振检测仪。

4.2.2 离心机。

4.2.3 涡旋式混合器。

4.2.4 匀浆器。

4.2.5 微量移液器:50 μL 、100 μL 和 1 000 μL 单通道移液器。

5 样品采集、运输与保存

5.1 样品的采集

样品的采集、保存及运输应符合 GB/T 14699.1、GB/T 18088 和 SN/T 2123 的相关采样要求。

5.2 样品的运输与保存

饲料样品可于常温运输,其余样品应置于低温、密封的容器内运输,2 $^{\circ}\text{C}$ ~8 $^{\circ}\text{C}$ 保存不应超过 24 h。

6 样品制备

6.1 肌肉、肝脏制样

称取肌肉或肝脏 2.0 g,于匀浆器中充分匀浆,加入 10 mL 甲醇,涡旋振荡 10 min,4 000 g 离心 10 min,取出上清液;沉淀中再加 10 mL 甲醇,涡旋振荡 5 min,4 000 g 离心 10 min,合并两次上清液,混匀,于 45 $^{\circ}\text{C}$ 下氮气吹干,用 1 mL pH7.4 0.02 mol/L PBS 稀释液充分溶解后待检。

6.2 尿液制样

澄清的尿液可直接用于检测;若尿液混浊,需要 4 000 g 离心 5 min 后待检。

6.3 血液制样

血清或血浆 4 000 g 离心 5 min,取上清液用 pH7.4 0.02 mol/L PBS 进行 1:5 稀释后待检。

6.4 饲料制样

用匀浆器将饲料充分粉碎,称取 2.0 g,加 12 mL 氨化甲醇溶液,充分混匀,振荡 1 min~2 min,加 9 mL 乙酸乙酯,振荡 20 min。以 4 000 g 离心 10 min,取上层有机相 500 μL 至另一试管中,45 $^{\circ}\text{C}$ 氮气吹干,用 1 mL pH7.4 0.02 mol/L PBS 稀释液充分溶解后待检。

7 样品中莱克多巴胺快速筛选检测

7.1 上样前的准备与检查

7.1.1 先将待检测样品和冲洗液恢复至室温(22 $^{\circ}\text{C}$ ~25 $^{\circ}\text{C}$)。

- 7.1.2 检查铝箔袋包装是否完好,若有破损或漏气不得使用。
- 7.1.3 打开铝箔袋,将试纸条取出,检查纸条是否完好,若有破损或弯曲不得使用。
- 7.1.4 将试纸条加样孔朝外平放在实验台面上。

7.2 设立对照

在样品处理过程中必须设立阳性对照、阴性对照和空白对照,并与待检样品一起检测。

7.3 样品检测

- 7.3.1 使用微量移液器取待检测样品 100 μL ,垂直缓慢滴入莱克多巴胺纳米磁免疫层析快速检测试纸条的前端加样孔,随即在试纸条的后端加样孔中垂直缓慢滴入 50 μL 冲洗液。
- 7.3.2 在室温孵育 15 min 后,将试纸放入超顺磁共振检测仪中,判读结果。15 min~20 min 内测试结果有效。超过 20 min 判读结果无效。仪器使用后至少间隔 1 min 后,才可以检测下一个样品。

8 结果判定

8.1 阈值设定和试验成立判定

设定磁共振信号强度 350 为阈值。

阴性对照和空白对照经超顺磁共振检测仪检测信号强度 >350 ,阳性对照经超顺磁共振检测仪检测信号强度 ≤ 240 。两者均成立才可判定试验成立,否则试验无效。

8.2 阳性判定

在试验成立的条件下,超顺磁共振检测仪检测信号强度 ≤ 350 ,判定为样品中莱克多巴胺残留初筛阳性。表明样品中莱克多巴胺残留 $\geq 0.1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

8.3 阴性判定

在试验成立的条件下,超顺磁共振检测仪检测信号强度 >350 ,判定为样品中莱克多巴胺残留初筛阴性。表明样品中莱克多巴胺残留低于 $0.1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

8.4 仪器确证

初筛阳性的样品应用仪器确证的方法(HPLC 或 LC/MS/MS)加以复核确证。

SN/T 3503—2013

附 录 A
(规范性附录)
主要检测试剂的配制

A.1 冲洗液

吐温-20(Tween 20)	2 mL
0.02 mol/L PBS(pH7.4)	998 mL

A.2 氨化甲醇溶液

pH9~10 的氨水溶液	10 mL
甲醇	90 mL
充分混匀。	

A.3 pH7.4 0.02 mol/L PBS 溶液

磷酸氢二钠(Na_2HPO_4)	2.30 g
一水合磷酸二氢钠($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	0.52 g
氯化钠(NaCl)	8.77 g
加去离子水至	950 mL
调节 pH 值至	7.4
加去离子水定容至	1.00 L

A.4 0.5 μg/L 莱克多巴胺阳性标准品溶液

莱克多巴胺标准品	0.1 g
0.01 mol/L 盐酸	1.0 L
配制成标准储备液	100 μg/mL
100 μg/mL 标准储备液	1 份
pH7.4 0.02 mol/L PBS 溶液	199 份
