



中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 4537.1—2016

商品化试剂盒检测方法 氯霉素 方法一

Commercial kit method—
Chloramphenicol—Test method I

2016-08-23 发布

2017-03-01 实施



中 华 人 民 共 和 国
国家质量监督检验检疫总局 发 布

中华人民共和国出入境检验检疫

行 业 标 准

商品化试剂盒检测方法

氯霉素 方法一

SN/T 4537.1—2016

*

中国标准出版社出版

北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)

北京市西城区三里河北街16号(100045)

总编室:(010)68533533

网址 www.spc.net.cn

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.5 字数 10 千字

2017年12月第一版 2017年12月第一次印刷

印数 1—500

*

书号: 155066 • 2-32436 定价 14.00 元

前 言

本部分是 SN/T 4537 系列标准的第 1 部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本部分由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本部分起草单位：中国检验检疫科学研究院、北京勤邦生物技术有限公司。

本部分主要起草人：邹明强、薛强、王燕飞、万宇平、罗晓琴。

商品化试剂盒检测方法

氯霉素 方法一

1 范围

SN/T 4537 的本部分规定了食品中氯霉素酶联免疫检测方法。

本部分适用于采用酶联免疫竞争法定性定量检测鸡肉与虾肉中的氯霉素。

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。

SN/T 2775 商品化食品检测试剂盒评价方法

3 原理

在酶标板微孔条上预包被偶联抗原,样品中残留的氯霉素和微孔条上预包被的偶联抗原竞争氯霉素酶结合物,用 TMB 底物显色,样本吸光值与其残留物氯霉素的含量成负相关,与标准曲线比较再乘以其对应的稀释倍数,即可得出样品中氯霉素的含量。

4 试剂与材料

4.1 氯霉素酶联免疫检测试剂盒

在 2℃~8℃ 条件下运输与保存,产品有效期 12 个月。

本试剂盒参考 SN/T 2775 由国家认监委商品化食品检测试剂盒评价专业委员会进行了评价,评价结果参见附录 A。试剂盒组成如下:

- a) 96 孔酶标板×1 块,包被有偶联抗原;
- b) 标准液×6 瓶,1 mL/瓶,浓度分别为 0×10^{-9} , 0.025×10^{-9} , 0.075×10^{-9} , 0.3×10^{-9} , 1.2×10^{-9} , 4.8×10^{-9} ;
- c) 高浓度标准品:1 mL/瓶,浓度为 100×10^{-9} ;
- d) 酶结合物工作液,7 mL;
- e) 底物液 A 液,7 mL;
- f) 底物液 B 液,7 mL;
- g) 终止液,7 mL;
- h) 20×浓缩洗涤液,40 mL;
- i) 2×浓缩复溶液,50 mL。

4.2 乙酸乙酯(分析纯)

4.3 正己烷(分析纯)

4.4 去离子水

SN/T 4537.1—2016

5 仪器与设备

- 5.1 微孔板酶标仪 450 nm/630 nm。
- 5.2 旋转蒸发仪/氮气吹干装置。
- 5.3 均质器。
- 5.4 振荡器。
- 5.5 涡旋仪。
- 5.6 离心机。
- 5.7 天平:感量 0.01 g。
- 5.8 刻度移液管:10 mL。
- 5.9 洗耳球。
- 5.10 玻璃试管:10 mL。
- 5.11 聚苯乙烯离心管:10 mL、15 mL、50 mL。
- 5.12 微量移液器:20 μ L~200 μ L、100 μ L~1 000 μ L。

6 样品制备

- 6.1 用均质器均质组织样本。
- 6.2 称取 3.0 ± 0.05 g 均质物至 50 mL 聚苯乙烯离心管中,加入 6 mL 乙酸乙酯,用振荡器振荡 5 min,3 000g 以上,室温(20 $^{\circ}$ C~25 $^{\circ}$ C)离心 5 min。
- 6.3 移取 4 mL 上层有机相(约相当于 2 g 的样本)至 10 mL 干净玻璃试管中,于 50 $^{\circ}$ C~60 $^{\circ}$ C 水浴氮气流下吹干。
- 6.4 加入 1 mL 正己烷,用涡旋仪涡动 1 min,再加 1 mL 复溶工作液(见配液 1),用涡旋仪涡动 15 s,3 000g 以上,室温(20 $^{\circ}$ C~25 $^{\circ}$ C)离心 5 min。
- 6.5 除去上层有机相,取下层 50 μ L 用于分析。

7 分析步骤

- 7.1 将所需试剂从置于室温(20 $^{\circ}$ C~25 $^{\circ}$ C)平衡 30 min 以上,液体试剂使用前摇匀。
- 7.2 取出需要数量的微孔板,将不用的微孔板放入自封袋,保存于 2 $^{\circ}$ C~8 $^{\circ}$ C。
- 7.3 洗涤工作液在使用前也需回温。
- 7.4 编号:将样本和标准品对应微孔按序编号,每个样本和标准品做 2 孔平行,并记录标准孔和样本孔所在的位置。
- 7.5 加标准品/样本:加标准品/样本 50 μ L 到对应的微孔中。
- 7.6 加入酶结合物:加入酶结合物工作液 50 μ L/孔,轻轻振荡混匀,用盖板膜盖板后置 25 $^{\circ}$ C 避光环境中反应 30 min。
- 7.7 洗板:揭开盖板膜,将孔内液体甩干,用洗涤工作液 250 μ L/孔,充分洗涤 4 次~5 次,每次间隔 10 s,用吸水纸拍干,拍干后未被清除的气泡可用未使用过的枪头戳破。
- 7.8 显色:加入底物液 A 液 50 μ L/孔,再加底物液 B 液 50 μ L/孔,轻轻振荡混匀,用盖板膜盖板后置 25 $^{\circ}$ C 避光环境反应 20 min。
- 7.9 测定:加入终止液 50 μ L/孔,轻轻振荡混匀,设定酶标仪于 450 nm 处,最好用双波长 450/630 nm 检测,请在 5 min 内读完数据,测定每孔 OD 值。

8 结果判定

8.1 百分吸光率的计算,标准品或样本的百分吸光率等于标准品或样本的百分吸光度值的平均值(双孔)除以第一个标准(0 标准)的吸光度值,再乘以 100%,见式(1)

$$\text{百分吸光度值} = \frac{B}{B_0} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

B ——标准溶液或样本溶液的平均吸光度值;

B_0 ——0 ppb 标准溶液的平均吸光度值。

8.2 标准曲线的绘制与计算

以标准品百分吸光率为纵坐标,以氯霉素标准品浓度($\times 10^{-9}$)的对数为横坐标,绘制标准曲线图。将样本的百分吸光率代入标准曲线中,从标准曲线上读出样本所对应的浓度,乘以其对应的稀释倍数 0.5 即为样本中氯霉素实际残留量。

9 方法性能指标

9.1 检出限与定量限

鸡肉检出限为 0.07 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 0.21 $\mu\text{g}/\text{kg}$;虾肉检出限为 0.10 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限 0.30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

9.2 特异性

交叉反应率:1)氯霉素:100%;2)甲砒氯霉素: $<0.1\%$;3)氟甲砒霉素: $<2.83\%$;4)棕榈氯霉素: $<0.1\%$ 。

附 录 A
(资料性附录)

氯霉素酶联免疫检测试剂盒评价结果¹⁾

- A.1 线性:氯霉素的线性范围为 $0.025 \mu\text{g/L} \sim 4.8 \mu\text{g/L}$, 相关系数 $R \geq 0.99$ 。
- A.2 交叉反应率:氯霉素 100%; 甲砒氯霉素 $< 0.1\%$; 氟甲砒霉素 $< 2.83\%$; 棕榈氯霉素 $< 0.1\%$ 。
- A.3 检出限和定量限:鸡肉检出限为 $0.07 \mu\text{g/kg}$, 定量限为 $0.21 \mu\text{g/kg}$; 虾肉检出限为 $0.10 \mu\text{g/kg}$, 定量限 $0.30 \mu\text{g/kg}$ 。

1) 本评价结果仅适用于北京勤邦生物技术有限公司生产的氯霉素酶联免疫检测试剂盒。



SN/T 4537.1—2016

书号:155066 • 2-32436

定价: 14.00 元