



中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 4540.1—2016

商品化试剂盒检测方法 孔雀石绿 方法一

Commercial kit method—
Malachite green—Test method I

2016-06-28 发布

2017-02-01 实施

中 华 人 民 共 和 国 发 布
国家质量监督检验检疫总局

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
孔雀石绿 方法一
SN/T 4540.1—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 3 月第一版 2017 年 3 月第一次印刷
印数 1—1 100

*

书号: 155066 • 2-31181 定价 14.00 元

前 言

本部分为 SN/T 4540《商品化试剂盒检测方法 孔雀石绿》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。

本部分主要起草单位：中华人民共和国江苏出入境检验检疫局、深圳市易瑞生物技术有限公司、中国检验检疫科学技术研究院、深圳市检验检疫科学研究院、合肥工业大学。

本部分主要起草人：薛峰、封振、胡月珍、蒋原、蔡宝亮、付辉、陈伟、蒋鲁岩、余兵、薛强、易丙清。

商品化试剂盒检测方法

孔雀石绿 方法一

1 范围

SN/T 4540 的本部分规定了虾组织中孔雀石绿、隐性孔雀石绿、结晶紫和隐性结晶紫残留的胶体金免疫层析检测方法。

本部分适用于采用胶体金免疫层析试纸条对虾组织中孔雀石绿、隐性孔雀石绿、结晶紫和隐性结晶紫残留进行筛选检测。

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

应用胶体金竞争抑制免疫层析法的原理,样品中残留的孔雀石绿、隐性孔雀石绿、结晶紫和隐性结晶紫与检测线上的孔雀石绿抗原共同竞争胶体金标记的特异性抗体,通过检测线与控制线颜色深浅比较,对样品中孔雀石绿、隐性孔雀石绿、结晶紫和隐性结晶紫的含量定性判定。

4 试剂与材料

4.1 孔雀石绿检测试剂盒

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家委员会进行了评价,评价结果参见附录 A。

商品化试纸条、反应杯及反应试剂在 2℃~8℃、干燥、避光条件下保存,产品有效期不得少于12个月。试剂盒组成如下:

- a) 孔雀石绿检测试纸条;
- b) 白色微孔(主要成分为牛血清白蛋白);
- c) 红色微孔(主要成分为胶体金标记的孔雀石绿抗体);
- d) 试剂 A(主要成分为乙酸钠和对甲基苯磺酸);
- e) 试剂 B(主要成分为乙腈、二氯甲烷和冰乙酸);
- f) 试剂 C(主要成分为中性氧化铝);
- g) 试剂 D(主要成分为磷酸缓冲液);
- h) 氧化试剂(主要成分为 DDQ)。

4.2 试剂

- a) 孔雀石绿、隐性孔雀石绿、结晶紫和隐性结晶紫对照品。

SN/T 4540.1—2016

b) 正己烷。

5 仪器设备与耗材

- 5.1 移液器:200 μ L。
- 5.2 移液器:10 mL。
- 5.3 氮吹仪或空气吹干仪。
- 5.4 匀质器。
- 5.5 涡旋震荡仪。
- 5.6 离心机。
- 5.7 滴管:5 mL。
- 5.8 离心管:50 mL。
- 5.9 离心管:15 mL。

6 样品制备

- 6.1 将虾去皮取肉,用匀质器匀质样品至糊状。
- 6.2 称取 $5\text{ g}\pm 0.1\text{ g}$ 均质好的样品于干净的 50 mL 离心管中,依次加入 2 mL 提取试剂 A 和 10 mL 提取试剂 B,拧紧盖子充分震荡 2 min~4 min。
- 6.3 将试剂 C 中粉末全部倒入 6.2 中,拧紧盖子并上下充分摇晃 20 s~30 s,室温 4 000 r/min 离心 5 min;从中吸取 5 mL 上清于干净的 15 mL 离心管中,加入 50 μ L 氧化剂混匀,拧紧盖子上下颠倒混匀并室温放置 1 min~2min;
- 6.4 加入 5 mL 正己烷,拧紧盖子上下充分颠倒混匀 5 次~6 次,室温放置 3 min;采用 5 mL 滴管吸取 3.5 mL 下层于 5 mL 离心管中,65 $^{\circ}\text{C}$ 氮吹仪或空气吹干仪吹干。

注:加入正己烷颠倒混匀后,液体一般情况下会分为上下两层。但是偶尔 6.3 中样品离心后放置过久后脂肪会漂浮于上层,此情况下取上清样品加入正己烷后可能会形成三层,会出现底部的脂肪层;此时滴管插入下层吸取溶液时请尽量不要吸取底部脂肪沉淀或脂肪层。

- 6.5 加入 200 μ L 样品复溶液,震荡 15 s~20 s 即为处理后的样品。
- 注:从试剂盒中取出白色微孔试剂,按照每孔加入 200 μ L 试剂 D,混匀即为样品复溶液。

7 分析步骤

- 7.1 吸取全部处理后的样品于微孔中,5 次~10 次抽吸,迅速混合均匀并置于室温温育 3 min。
- 7.2 温育结束后,将试纸条插入到微孔中室温温育 5 min。
- 7.3 温育结束,停止计时,从微孔中取出测试条,去掉测试条下端的吸水海绵并进行结果判定。
- 7.4 检验完毕,余下的测试条密封好放到试剂盒中,2 $^{\circ}\text{C}$ ~8 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

8 结果判定

通过对比控制带和检测带的颜色深浅来进行结果判定。由于长时间放置会引起检测带颜色的变化,需在 5 min 内进行结果判定。

目视结果判定依据(如图 1 所示):

- a) 无效:控制线(C 线)不显色。

- b) 阴性:检测线(T线)颜色比控制线(C线)深或者强或者检测线(T线)颜色与控制线(C线)颜色相当。
- c) 阳性:检测线(T线)不显色,或检测线(T线)颜色与控制线(C线)颜色浅或者弱。

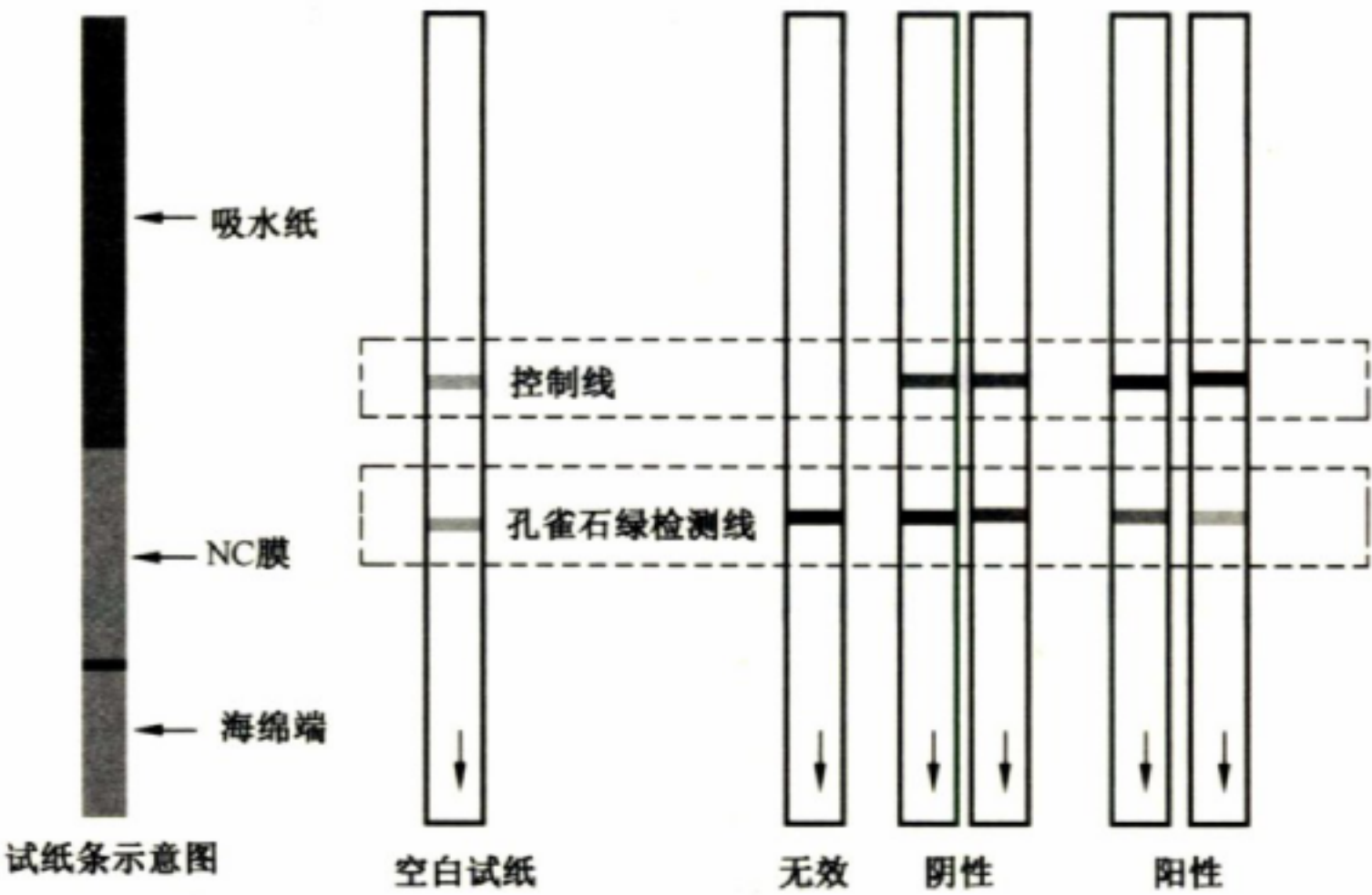


图 1 目视判定示意图

9 方法性能指标

9.1 检出限

孔雀石绿:2 μg/kg;隐性孔雀石绿:2 μg/kg;结晶紫:2 μg/kg;隐性结晶紫:2 μg/kg。

9.2 特异性

当浓度≤100 mg/kg 时,磺胺类、硝基呋喃类、β-内酰胺类、四环素类、氯霉素和硝基呋喃类均无交叉反应。

附录 A
(资料性附录)

孔雀石绿快速检测试纸条评价结果¹⁾

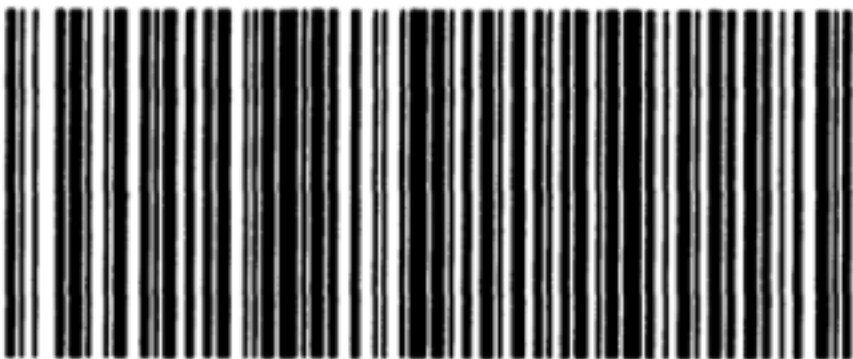
A.1 检出限

孔雀石绿:2 μg/kg;隐性孔雀石绿:2 μg/kg;结晶紫:2 μg/kg;隐性结晶紫:2 μg/kg。

A.2 特异性

当浓度≤100 mg/kg 时,磺胺类、硝基呋喃类、β-内酰胺类、四环素类、氯霉素和硝基呋喃类均无交叉反应。

1) 本试剂盒评价结果仅适用于深圳市易瑞生物技术有限公司生产的孔雀石绿快速检测试纸条。



SN/T 4540.1-2016

书号:155066 • 2-31181

定价: 14.00 元