

中华人民共和国国家标准

农业部 1077 号公告 — 7 — 2008

水产品中恩诺沙星、诺氟沙星和环丙沙星 残留的快速筛选测定 胶体金免疫渗滤法

Fast screening of enrofloxacin, norfloxacin and ciprofloxacin residues in fishery
products

Dot immunogold filtration assay

2008-08-11 发布

2008-08-11 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准附录 A 为规范性附录。

本标准由中华人民共和国农业部渔业局提出。

本标准由全国水产标准化技术委员会水产品加工分技术委员会归口。

本标准起草单位：中国海洋大学。

本标准主要起草人：林洪、曹立民、江洁、隋建新。

水产品中恩诺沙星、诺氟沙星和环丙沙星残留的 快速筛选测定 胶体金免疫渗滤法

1 范围

本标准规定了水产品中恩诺沙星、诺氟沙星和环丙沙星残留的胶体金免疫渗滤快速筛选检测方法。本标准适用于水产品中恩诺沙星、诺氟沙星和环丙沙星三种喹诺酮类残留的快速筛选检测。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

SC/T 3016 水产品取样方法

3 原理

以磷酸盐缓冲液(或者水)/甲醇混合溶液提取样品中的喹诺酮类残留,利用胶体金免疫渗滤试剂盒进行快速筛选检测。当待测物的浓度高于检测限时,试剂盒的反应板表面会显现红色斑点,由此定性检测样品中恩诺沙星等三种喹诺酮类残留。

4 试剂

所有试剂除另有规定外,均为分析纯。

4.1 水:符合 GB/T 6682 一级水要求。

4.2 甲醇:色谱纯。

4.3 盐酸:取 8.3 mL 浓盐酸,以水稀释至 1 000 mL。

4.4 磷酸盐缓冲液(0.01 mol/L, pH7.4):称取 NaCl 8.0 g, KCl 0.2 g, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 2.9 g, KH_2PO_4 2.0 g,加水溶解混匀,定容至 1 000 mL,用盐酸(4.3)调节 pH 至 7.4 ± 0.1 。

4.5 鱼类样品的提取溶剂:取 50 mL 磷酸盐缓冲液(4.4)与 50 mL 甲醇混匀,现用现配。

4.6 其他水产品样品的提取溶剂:取 50 mL 水与 50 mL 甲醇混匀,现用现配。

4.7 洗涤液:取 100 μL 吐温-20 与 100 mL 磷酸盐缓冲液(4.4)混匀。

4.8 胶体金免疫渗滤试剂盒:包含渗滤反应板、胶体金标记喹诺酮抗体等,见附录 A。

5 仪器

5.1 分析天平:感量 0.001 g。

5.2 旋涡混合器。

5.3 高速冷冻离心机:最大转速 12 000 r/min。

5.4 高速匀浆机。

5.5 均质器。

5.6 旋转蒸发器。

- 5.7 具塞离心管:50 mL。
- 5.8 鸡心瓶:50 mL。
- 5.9 容量瓶:5 mL,1 000 mL。
- 5.10 移液枪:10 μ L,50 μ L,5 000 μ L。

6 测定步骤

6.1 试样制备

按照 SC/T 3016 的规定执行。

6.2 提取

称取样品(5 ± 0.01 g)于 50 mL 具塞离心管中,加入 5 mL 样品提取溶剂,均质 2 min 后,2 000 r/min 4℃离心 10 min,上清液倒入另一 50 mL 具塞离心管中。残渣中加入 5 mL 样品提取液,按上述方法再提取一次,上清液合并于 50 mL 离心管中。盛装上清液的离心管 10 000 r/min 离心 10 min,将上清液转移至鸡心瓶,于 45℃水浴减压旋转蒸发至原体积的 1/3,剩余液转移至 5 mL 离心管中,2 000 r/min 4℃离心 5 min,上清液转移至 5 mL 容量瓶中,用磷酸盐缓冲液定容至 5 mL,用孔径为 0.22 μ m 的针头滤器过滤备用。

6.3 测定

- 6.3.1 取 5 μ L 试样提取液滴加到试剂盒小孔中央,室温下放置反应 15 min。
- 6.3.2 滴加 5 μ L 胶体金标记抗体,待其渗入后反应 5 min。
- 6.3.3 加入 30 μ L 洗涤液进行洗涤,共洗涤 3 次,然后在 10 min 内观察结果。
- 6.3.4 空白对照:以磷酸盐缓冲液代替试样提取液作为空白对照组,按照 6.3.1~6.3.3 进行同步测定,膜片表面应不呈现红色或者其他任何色泽,否则应更换试剂盒重新进行测定。

7 结果判断

肉眼观察样品检测结果,并与空白组的显色结果对比,当硝酸纤维素膜片表面出现红色斑点时,判定存在以下三种结果中的任何一种,或者其中两种以上结果同时存在:恩诺沙星残留量 $\geq 10 \mu\text{g/kg}$;环丙沙星残留量 $\geq 10 \mu\text{g/kg}$;诺氟沙星残留量 $\geq 20 \mu\text{g/kg}$ 。

8 本方法的灵敏度

本方法的最低检出限:恩诺沙星和环丙沙星均为 10 $\mu\text{g/kg}$,诺氟沙星为 20 $\mu\text{g/kg}$ 。

附 录 A
(规范性附录)

喹诺酮胶体金免疫渗滤试剂盒技术要求

喹诺酮胶体金免疫渗滤试剂盒,可用于水产品中恩诺沙星、环丙沙星和诺氟沙星三种喹诺酮类药物残留的快速筛选检测。试剂盒应该保存在 $2^{\circ}\text{C}\sim 8^{\circ}\text{C}$ 的干燥避光环境中,并在有效期内使用。使用前应将试剂盒及其试剂恢复至室温。每个试剂盒包括:

24×渗滤反应板:24 孔,包被有喹诺酮抗体。

1×胶体金标记喹诺酮抗体(1 mL)。

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
水产品中恩诺沙星、诺氟沙星和环丙沙星残留的
快速筛选测定 胶体金免疫渗滤法

农业部 1077 号公告—7—2008

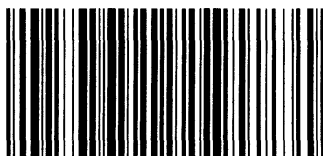
* * *

中 国 农 业 出 版 社 出 版
(北京市朝阳区麦子店街 18 号楼)
(邮政编码: 100125 网址: www.ccap.com.cn)

北京昌平环球印刷厂印刷
新华书店北京发行所发行 各地新华书店经销

* * *

开本 880mm×1230mm 1/16 印张 0.5 字数 5 千字
2008 年 8 月第 1 版 2008 年 8 月北京第 1 次印刷
书号: 16109·1802
定价: 12.00 元



农业部1077号公告—7—2008

版权专有 侵权必究
举报电话: (010) 65005894