SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 0673—2011
代替 SN/T 0673—1997

进出口肉及肉制品中盐霉素残留量检测方法　酶联免疫法

Determination of Salinomycin residues in meat and meat products for import and export—Enzyme linked immunosorbent assay

2011-02-25 发布　　2011-07-01 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。

本标准代替 SN/T 0673—1997《出口肉及肉制品中盐霉素残留量检验方法　滤纸片法》。

本标准与 SN/T 0673—1997 相比，主要技术变化如下：

——将原标准的检测方法　滤纸片法变更为酶联免疫法；

——将原标准中文名称《出口肉及肉制品中盐霉素残留量检验方法　滤纸片法》修订为《进出口肉及肉制品中盐霉素残留量检验方法　酶联免疫法》；

——修改了适用的范围；

——删除了原标准的抽样内容。

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：中华人民共和国天津出入境检验检疫局，中华人民共和国辽宁出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：赵良娟、贺艳、孙哲平、张宏伟、郑文杰、赵宏、高旗利、候丽萍、闫煜。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

——SN 0673—1997。

进出口肉及肉制品中盐霉素残留量检测方法　酶联免疫法

1　范围

本标准规定了进出口肉及肉制品中盐霉素残留量的酶联免疫测定方法。

本标准适用于进出口鸡肉中盐霉素残留量的检测，其他肉及肉制品可参照执行。

2　试剂和材料

除另有规定外，所用化学试剂均为分析纯，或为更高级别。水为去离子水。

2.1　盐霉素酶联免疫定量测定试剂盒[1)]（参见附录 A）。

2.2　甲醇。

2.3　氯化钠。

2.4　二氯甲烷。

2.5　氢氧化钠。

2.6　8%的氯化钠溶液：称取 8.0 g 氯化钠加去离子水溶解定容至 100 mL。

2.7　甲醇-8%氯化钠溶液：80 mL 甲醇加入到 20 mL 8%的氯化钠溶液中混匀。

2.8　0.5 mol/L 氢氧化钠-8%氯化钠溶液：称取 2.0 g 氢氧化钠加 8%氯化钠溶液溶解定容至 100 mL。

2.9　复溶工作液：用去离子水将 2×浓缩复溶液按 1∶1 体积比进行稀释。4 ℃环境可保存 1 个月。

2.10　洗涤工作液：用去离子水将 20×浓缩洗涤液按 1∶19 体积比进行稀释。4 ℃环境可保存 1 个月。

2.11　盐霉素标准品：标准品纯度≥98%。

2.12　盐霉素标准品溶液的配制：准确称取适量的盐霉素标准品，用复溶工作液配制成 1 mg/mL 标准贮备溶液，于 4 ℃～8 ℃条件下保存。

3　仪器和设备

3.1　酶标仪：波长 450 nm。

3.2　匀浆机。

3.3　振荡器。

3.4　天平：量程 2 kg，感量 0.1 g。

3.5　离心机：5 000g。

3.6　氮气吹干仪。

3.7　洗板机。

3.8　微量加样器：20 μL、50 μL、100 μL、200 μL。

3.9　微量多通道加样器：50 μL、100 μL。

1)　给出该信息是为了方便本标准的使用者，并不表示对某一产品操作步骤的认可。如果其他产品的操作步骤有不同，需经实验评估后采用。

4 试样的制备和保存

4.1 试样的制备

从所取全部样品中取出有代表性样品约 1 kg，充分搅碎，混匀，采用四分法，将样品分成两等份，装入洁净容器，加封并做标识。

4.2 试样的保存

试样放置－20 ℃～－18 ℃条件下保存。

5 测定方法

5.1 方法提要

本方法的测定基础是间接竞争性酶联免疫反应，样本中的盐霉素与微孔条上预包被的偶联抗原竞争抗盐霉素抗体，加入酶标二抗后，用 TMB 底物显色，样本吸光值与其所含盐霉素的含量成负相关，按绘制的校正曲线定量计算即可得出盐霉素的含量。

5.2 样品处理

称取 2.0 g 试样均质物至离心管中，加入 8 mL 甲醇-8%氯化钠溶液，剧烈振荡 5 min，4 500g 以上离心 10 min；移取 2 mL 上清液加入 4 mL 0.5 moL/L 氢氧化钠-8%氯化钠溶液，混合均匀，再加入 10 mL 二氯甲烷，振荡 5 min，4 500g 离心 10 min；除去上层，取下层 5 mL 至试管中，于 50 ℃～60 ℃水浴氮气吹干；

用 1 mL 复溶工作液溶解干燥的残留物；取 50 μL 用于分析。

5.3 酶联免疫法测定

5.3.1 操作条件

所有操作应在室温下(20 ℃～25 ℃)进行，盐霉素试剂盒中所有试剂的温度均应回升至室温(20 ℃～25 ℃)后方可使用。

5.3.2 测定步骤

测定中吸取不同的试剂和样品溶液时应更换吸头。

在酶标板中分别加入 50 μL 不同浓度的盐霉素标准溶液和样品待测液；每个标准溶液和样品待测液均做 2 孔平行。再在每个孔中加入 50 μL 的抗体工作液；轻轻振荡混匀，用盖板膜盖板后，室温避光反应 30 min。弃掉酶标板中的液体，用洗涤工作液 250 μL/孔充分洗板 4 次～5 次。每孔再加入 100 μL 酶标二抗，轻轻振荡混匀，用盖板膜盖板后，室温避光反应 30 min。弃掉酶标板中的液体，用洗涤工作液重复洗板 4 次～5 次。每孔加入底物液 A 液 50 μL，再加底物液 B 液 50 μL，轻轻振荡混匀，室温避光反应 15 min 后，每孔加入终止液 50 μL，轻轻振荡混匀，5 min 内在酶标仪上读出每孔 450 nm 吸光值。

5.3.3 空白试验

除不称取试样外，均按上述步骤进行。

5.4 结果表述

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

$$吸光度值 = B/B_0 \times 100\% \quad \cdots\cdots(1)$$

式中：

B ——标准溶液或样本溶液的平均吸光度值；

B_0 ——0 μg/kg 标准溶液的平均吸光度值。

以标准品吸光率为纵坐标，以盐霉素标准品浓度（μg/kg）的半对数为横坐标，绘制标准曲线图。将样本的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即为样本中盐霉素实际残留量。

也可以用各种酶标仪的数据处理软件进行计算，所得结果表示至一位小数。

5.5 检测限、回收率

5.5.1 检测限

本方法的检测限为 20 μg/kg。

5.5.2 回收率

本方法中盐霉素添加浓度及回收率的试验数据：

——添加浓度为 10 μg/kg 时，平均回收率为 76%；

——添加浓度为 20 μg/kg 时，平均回收率为 85.5%；

——添加浓度为 50 μg/kg 时，平均回收率为 83%；

——添加浓度为 100 μg/kg 时，平均回收率为 85.2%。

5.6 确证试验

如被测样品中盐霉素残留量的值大于检测限时，应用其他方法进行确证。

SN/T 0673—2011

附 录 A
（资料性附录）
盐霉素酶联免疫定量测定试剂盒

A.1 盐霉素酶联免疫定量测定试剂盒

本标准酶联免疫测定步骤中使用的试剂盒包括：

——96 孔酶标板×1 块(包被有偶联抗原)；

——标准液：0 μg/kg，1 μg/kg，3 μg/kg，9 μg/kg，27 μg/kg，81 μg/kg；

——高浓度盐霉素标准品：1 mg/kg；

——酶标二抗；

——抗体工作液；

——底物液 A 液；

——底物液 B 液；

——终止液；

——20×浓缩洗涤液；

——2×浓缩复溶液。

A.2 盐霉素标准曲线

盐霉素标准曲线见图 A.1。

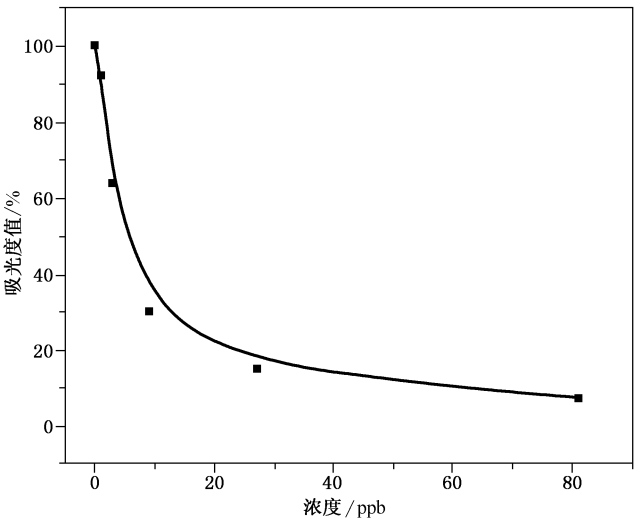


图 A.1 盐霉素标准曲线