

ICS

备案号:

DB34

安徽省地方标准

DB 34/T 818-2020

饲料中盐酸克伦特罗的测定 —胶体金免疫层析法

Determination of clenbuterol in feeds

Colloidal gold immunochromatographic method

(征求意见稿)

2020-XX-01 发布

2020-XX-01 实施

安徽省市场监督管理局 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DB/T 818-2008《饲料中盐酸克伦特罗的测定—胶体金免疫层析法》，除编辑性修改外主要技术变化如下：

- 修改了范围（见1）；
- 修改了规范性引用文件（见2）；
- 修改了检测步骤（见5）；
- 修改了结果判断（见6）；
- 修改了结果确认（见7）。

本标准由安徽省兽药饲料监察所提出。

本标准由安徽省农业标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：安徽省兽药饲料监察所。

本标准起草人：许世富、。

本标准2008年8月发布，本次为第一次修订。

饲料中盐酸克伦特罗的测定—胶体金免疫层析法

1 范围

本标准规定了饲料中盐酸克伦特罗快速检测的胶体金免疫层析法。

本标准适用于配合饲料、浓缩饲料和预混合饲料中盐酸克伦特罗的快速检测。

本标准检测限为10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

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 20195 动物饲料试样的制备

3 原理

本试验采用胶体金竞争抑制法。将氯金酸用枸橼酸钠还原法制成一定直径的金溶胶颗粒，标记抗体。硝酸纤维素膜为载体，利用了微孔膜的毛细管作用，将样本滴加在胶体金检测条样品垫一端，使液体慢慢向吸水纸另一端渗移。在样本移动的过程中，会发生相应的抗原抗体反应，并通过免疫金的颜色而显示出来。样本中的盐酸克伦特罗在流动的过程中与胶体金标记的特异性抗体结合，抑制了抗体和硝酸纤维素（NC）膜检测线上的盐酸克伦特罗人工抗原的结合，使检测线不显颜色，结果为阳性；反之，检测线显紫红色，结果为阴性。

4 试剂和材料

4.1 除非另有说明，本法所用试剂均为分析纯，水为符合 GB/T 6682 规定的二级水。

注：不同检测卡制造商间的产品组成和操作会有细微的差别，应严格按说明书要求规范操作。

4.2 胶体金免疫层析快速检测卡组成

4.2.1 盐酸克伦特罗抗体单克隆抗体。

4.2.2 胶体金。胶体金溶液采用氯金酸还原法制备，应为带负电的紫红色疏水胶体金溶液，金颗粒大小应在 30 nm~60 nm 之间。

4.2.3 硝酸纤维素膜。硝酸纤维素膜表面应平整、光滑、白净，没有划痕、凹印、小孔、水迹、橘皮状或其他肉眼能见的瑕疵，无灰尘、油渍或其他杂物。硝酸纤维素膜宽度为（25.4 \pm 0.5）mm，长度在（100 \pm 2）mm，厚度在（185 \pm 19） μm ，毛细流速度为（180 \pm 45）s/40 mm。

4.2.4 聚酯纤维膜。聚酯纤维膜表面形状应为基本均匀的矩形，无明显歪斜现象。色泽好，白色，表面洁净，均匀度好，无破损，无起皱，无污点，无色斑，无霉点，无异味，无杂质及灰尘。聚酯纤维膜重量在（98.3 \pm 10.0）g/m²，厚度在（0.42 \pm 0.07）mm，长度为（305.0 \pm 2.5）mm，宽度为（254.0 \pm 2.5）mm。

4.2.5 吸水纸。

4.2.6 底板。

4.2.7 塑料盒。

4.2.8 塑料吸管。

- 4.2.9 提取液。
- 4.3 电子天平：感量分别为 0.01mg 和 1mg。
- 4.4 离心机： $\geq 3\ 000$ rpm。
- 4.5 酸度计。
- 4.6 离心管：10mL。
- 4.7 阴性对照：取不含盐酸克伦特罗的空白样品依法制备。
- 4.8 阳性对照：取盐酸克伦特罗标准工作液用水稀释为 10 μ g/L。

5 检测步骤

5.1 样品制备

取饲料约 0.5g，装入 10mL 离心管，加提取液 1.5mL，浸泡 5 min~10min，期间振荡 2~3 次；静置 30min 或者 3000 转离心 5~10min；若样品不为中性，则用 0.1M HCl 或者 0.1M NaOH 调节 pH 至 7.0 ± 0.1 ；取上清液备用。

5.2 溶液制备

5.2.1 盐酸克伦特罗储备液

准确称取盐酸克伦特罗对照品适量，用甲醇溶解后稀释成 1mg/mL 的储备液，-18 $^{\circ}$ C 冰箱中贮存备用，有效期 3 个月。

5.2.2 盐酸克伦特罗标准工作液

取盐酸克伦特罗储备液，用水稀释至 100 μ g/L，4 $^{\circ}$ C 中贮存备用，有效期 1 个月。

5.3 样品检测

5.3.1 从包装袋中取出盐酸克伦特罗胶体金免疫层析快速检测卡，置于平整的台面上，检测卡应即开即用。

5.3.2 用塑料吸管（4.2.8）垂直滴加 2 滴（约 60 μ L~80 μ L）无气泡上清液（5.1）于加样孔（S）内，每批需做阴性对照和阳性对照各一个，加样方法同待测样品。

5.3.3 加样后 5min 时观察结果。

6 结果判断

6.1 方法确认

6.1.1 阴性对照在检测区（T）出现紫红色条带，所有阳性对照在检测区（T）均不出现紫红色条带，且质控区（C）出现一条紫红色条带，说明检测卡有效，可进行检测。

6.1.2 如阴性对照检测区（T）不出现红色条带，或阳性对照检测区（T）出现红色条带，或质控区（C）不出现一条紫红色条带，说明检测卡无效，不能进行检测。

6.2 测定结果

6.2.1 阳性（+）：仅质控区（C）出现一条紫红色条带，在检测区（T）内无紫红色条带出现。阳性结果表明：样本中含有盐酸克伦特罗且含量在检测限以上。

6.2.2 阴性（-）：两条紫红色条带出现。一条位于检测区（T）内，另一条位于质控区（C）内。阴性结果表明：样本中不含盐酸克伦特罗或其含量在检测限以下。

6.2.3 无效：质控区（C）未出现紫红色条带，表明本次检测无效（失效原因包括操作过程不当或检测卡已过有效期等）。在此情况下，应再次仔细阅读说明书，更换检测卡重新检测。

7 结果确认

阳性样品应使用气相色谱串联质谱法（GC-MS）或液相色谱串联质谱法（LC-MS/MS）进行确认。

附录 A
(资料性附录)
检测结果判断示意图

