

CAAPP

中国畜产品加工研究会团体标准

T/CAAPP 001—2022

畜类屠宰企业实验室基本规范

Basic specification for laboratories of livestock slaughtering enterprises

2022 - xx -xx 发布

2022 - xx -xx 实施

中国畜产品加工研究会 发布

目 次

前 言.....2

1 范围.....1

2 规范性引用文件.....2

3 术语和定义.....2

4 基本要求.....2

5 检测能力要求.....2

6 样品及试剂要求.....3

7 人员要求.....3

8 仪器设备要求.....4

9 管理要求.....4

附录表 A.1（规范性） 鲜肉感官检测表.....3

附录表 A.2（规范性） 动物内脏感官检测表.....3

附录表 A.3（规范性） 水分限量表.....3

附录表 A.4（规范性） 挥发性盐基氮限量表.....3

附录表 A.5（规范性） 禁用药物检测表.....3

附录表 B.1（资料性） 食品动物禁用兽药目录.....3

附录表 B.2(资料性) 动物源性食品中克伦特罗、莱特多巴胺及沙丁胺醇的快速检测 胶体金免疫层析法 KJ 2017063

附录表 B.3(资料性)动物源性食品中喹诺酮类物质的快速检测 胶体金免疫层析法 KJ 201906.....3

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国畜产品加工研究会提出并归口。

本文件起草单位：浙江华才检测技术有限公司、中国计量大学、广东温氏佳润肉食品有限公司、广东温氏佳润食品有限公司、浙江农林大学。

本文件主要起草人：廖杰、赵丽燕、符小燕、杨慧娟、曹广添、邱咸、陈云、杨彩梅、李芳雯、黄光建、黄金晶、赵益丽、斯中发、孙能惠、罗肖、许珍铭、赵婷睿、曲育萍。

畜类屠宰企业实验室基本规范

1 范围

本文件规定了畜类屠宰企业实验室的基本要求、检测能力要求、样品及试剂要求、人员要求、仪器设备要求、管理要求。

本文件适用于畜类屠宰企业，适用于鲜肉（包括猪牛羊）和动物内脏检测的相关管理。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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。

GB 5009.228-2016 食品安全国家标准 食品中挥发性盐基氮的测定

GB/T 13868-2009 感官分析 建立感官分析实验室的一般导则

GB/T 4789.17-2003 食品卫生微生物学检验 肉与肉制品检验

GB/T 18648-2020 非洲猪瘟诊断技术

NY/T 3224-2018 畜禽屠宰术语

KJ 201706 动物源性食品中克伦特罗、莱克多巴胺及沙丁胺醇的快速检测 胶体金免疫层析法

KJ 201906 动物源性食品中喹诺酮类物质的快速检测 胶体金免疫层析法

3 术语和定义

NY/T 3224-2018界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

动物内脏 animal offal

畜类胸腔腔的器官，包括心、肝、肺、脾、胃、肠、肾等。

4 基本要求

4.1 基础设施

4.1.1 应具有固定的能满足实验室实际需求的实验台。

4.1.2 应有供安全存放待处理废弃物的场所。

4.1.3 应具备完善的用水、用电和供气设施。

4.2 实验室分区

4.2.1 应具有独立、固定的空间，不同的功能区齐全，或者具备有效的措施保证相互隔离、互补干扰。应具备安全开展检测工作所需的空间，包括仪器设备摆放、称量、样品处理等空间，保持适当

的温度和采光。

4.3 安全防护与应急制度

4.3.1 应制定实验室安全防护（防火、防盗、人员防护、生物安全防护、试剂、危险品等）相关制度，专人负责设备及人身的安全。

4.3.2 实验室应根据可能出现的事故，建立健全预警和应急机制，有效预防、及时控制和妥善处置实验室突发安全事件。

5 检测能力要求

实验室应当具备感官检验、理化检验、微生物、非洲猪瘟检测的能力；畜肉中克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇等 β -受体激动剂和喹诺酮类等国家明令禁用药物的检测能力。

5.1 感官检验

5.1.1 一般要求

应具备满足GB/T 13868-2009中一般要求的场所进行感官检验。

5.1.2 感官检验能力

5.1.2.1 鲜肉感官检验

取适量样品置于白色瓷盘上，用目视、鼻嗅、手触摸等方式进行感官评定，具体要求可参照附件A.1。

5.1.2.2 动物内脏感官检验

按鲜肉感官检验的方法进行检验，具体要求可参照附件A.2。

5.2 理化检验

5.2.1 水分检测

5.2.1.1 操作方法

取洁净铝制或玻璃制的扁形称量瓶，置于101~105℃干燥箱中，瓶盖斜支于瓶边，加热1.0h，取出盖好，置干燥器内冷却0.5h，称量，并重复干燥至前后两次质量差不超过2mg，即为恒重。将混合均匀的试样迅速磨细至颗粒小于2mm，不易研磨的样品应尽可能切碎，称取2~10g试样（精确至0.0001g），放入此称量瓶中，试样厚度不超过5mm，如为疏松试样，厚度不超过10mm，加盖，精密称量后，置101~105℃干燥箱中，瓶盖斜支于瓶边，干燥2~4h后，盖好取出，放入干燥器内冷却0.5h后称量。然后再放入101~105℃干燥箱中干燥1h左右，取出，放入干燥器内冷却0.5h后再称量。并重复以上操作至前后两次质量差不超过2mg，即为恒重。

5.2.1.2 结果计算

按照式（1）的计算方式进行计算。

$$X = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

式中：X——试样中水分的含量，单位为 g/100g；

m₁——称量瓶(或称量皿加海砂、玻棒)和试样的质量，单位 g；

m₂——称量瓶(或称量皿加海砂、玻棒)和试样干燥前的质量，单位为 g；

m₃——称量瓶(或称量皿加海砂、玻棒)和试样干燥后的质量，单位为 g。

5.2.1.3 结果表达

水分含量≥1g/100g 时，计算结果保留三位有效数字；水分含量<1g/100g 时，结果保留两位有效数字。要求精密度在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 5%。

具体限量要求可参照附件 A.3。

5.2.2 挥发性盐基氮检测

按 GB 5009.228-2016 规定的方法测定，可参照附件 A.4。

5.3 微生物检测

按 GB/T 4879.17-2003 规定的方法测定。

5.4 非洲猪瘟检测

按GB/T 18648-2020规定的方法测定。

5.5 禁用药物检测

应具备使用高效液相色谱-质谱/质谱仪和胶体金试纸对畜肉中克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇等β-受体激动剂和喹诺酮类等国家明令禁用药物进行常规检测和快速检测的能力。

5.5.1 常规检测

按GB/T 18648-2020规定的方法测定。

5.5.2 快速检测

β-受体激动剂（克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇）按KJ 201706规定的方法进行检测；喹诺酮类（洛美沙星、培氟沙星、氧氟沙星、诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星等）按KJ 201906规定的方法进行检测，可参照附件A.5。

6 样品及试剂要求

实验室所配置的样品、试剂应满足企业生产分析检验项目和工作量的需要。

6.1 样品

6.1.1 一般要求

6.1.1.1 样品应当设置完善的取样、流转、贮存、处置、识别流程。

6.1.1.2 实验室应当设置专门的管理人员对样品进行管理。

6.1.1.3 样品应当有区分标识，贴在样品外包装上，标识内容包括检验样品编号、分析项目、注明采样时间和日期。

6.1.1.4 样品应当遵循随机抽取原则，采用四分取样法进行取样，确保取样具有代表性。

6.2 试剂

应具备能够满足感官、水分以及畜肉中克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇等 β -受体激动剂和喹诺酮类等国家明令禁用药物的检测所用到的相关试剂。

6.2.1 水分检测试剂

应符合 GB 18394-2020 中，直接干燥法测定水分含量所需的试剂要求。

6.2.2 禁用药物检测试剂

应具备满足快速检测要求的胶体金试纸条。

7 人员要求

实验室应当具备与所开展检测项目相当的技术人员、检测人员和管理人员。

7.1 技术人员应当具备检验操作技能、标准操作技能、质量控制要求、实验室安全与防护知识，并经过肉类领域专业技术培训和考核

7.2 检测人员应当熟悉肉类检测的相关业务，具有食品、生物、化学等相关专业的中级及以上专业技术职称或者同等能力。

7.3 管理人员应具备专业的实验室管理知识，熟悉肉类领域的相关法律法规和标准。

8 仪器设备要求

8.1 检测设备要求

8.1.1 应具备保持温度的设备（如空调等）。

8.1.2 仪器设备摆放应合理有序，避免交叉干扰。

8.1.3 仪器设备

8.1.3.1 玻璃仪器：烧杯、容量瓶等。

8.1.3.2 分析仪器：高效液相色谱-质谱/质谱仪、减压旋转蒸发仪、电子天平、食品中心温度计、酸度计、离心机、均质粉碎机、涡旋振荡器、恒温干燥箱等。

8.1.3.3 其他器具：试纸、试管架、冰箱等。

8.2 仪器设备维护

仪器设备应授权给专人使用，并按照作业指导书进行操作，定期维护，填写并保存详细的使用、维护、维修记录。

9 管理要求

9.1 应当根据实验室每项管理工作的任务要求，指定专人负责管理。

9.2 对于培训操作、使用仪器、取用实验材料、保持环境卫生等制定标准和规范，进入实验室工作人员必须按照规定执行，以保证实验工作可安全、可靠和连续地进行。

9.3 实验记录应包括抽样记录、感官检测原始记录、检测原始记录、检验结果报告。

9.4 应确保检验检测工作的独立性、准确性，在规定期限内出具检测结果，保证检测结果真实可靠，各种原始记录和检测报告应信息完整、真实、清晰。

—
—
—
—

附录表 A. 1

鲜肉感官检测表

项目	要求	检验方法
色泽	具有产品应有的色泽	取适量试样置于洁净的白色盘（瓷盘或同类容器）中，在自然光下观察色泽和状态，闻其气味
气味	具有产品应有的气味，无异味	
状态	具有产品应有的状态，无正常视力可见外来异物	

附录表 A. 2

动物内脏感官检测表

品种	内脏	要求
猪	猪肾	呈淡褐色，具有光泽和弹性，组织结实，肾脏剖面略有尿臊味。
	猪肠	呈乳白色，质稍软，具有韧性，有黏液，不带粪便及污物。
	猪心	呈淡红色，脂肪乳白色或带微红色，组织结实，具有韧性和弹性，气味正常。
	猪肝	呈红褐色或棕红色，润滑而有光泽，组织致密结实，具有弹性，切面整齐，略有血腥气味。
	猪肚	呈乳白色或淡黄褐色，粘膜清晰，组织结实且具有较强的韧性，内外均无血块及污物。
	猪肺	呈粉红色，具有光泽和弹性，无寄生虫及异味。
	羊肾	呈红黑色，形状呈腰果形，两侧对称且颜色红润均匀，带有明显的膻味。
	羊肚	呈浅褐色或浅黄色，前胃呈深色，后胃颜色较浅；

羊		黏液多，质地紧而厚实；肚肉有弹性。
	羊肠	呈乳白色，黏液多，不带粪便及污物，异味轻。
	羊心	呈红或淡红色，脂肪为乳白色，略带有红色，表面光滑，有外膜，心肌结实，富有弹性，没有异味。
	羊肝	呈棕红色，光泽均匀，组织紧密，富有弹性，表明干涩。
	羊肺	呈粉红色，表面光滑均匀，肉质有弹性。
牛	牛肾	呈浅红色，表面有一层薄膜，光泽柔润，有弹性，无异味。
	牛肚	瘤胃（牛草肚）内壁呈密密麻麻的小疙瘩状，并略微有些凸起，呈深棕色或浅黄色，散发出一股淡淡的腥气，具有极强的弹力，内部有着一种难以清除的黑色薄膜； 网胃（金钱肚）的表面有一圈圈的肚毛凸起，形成了多边形的蜂窝状，主要呈浅黄色； 瓣胃（毛肚、百叶）是草料所要经历的第三重“关卡”，看起来是一层层的黑褐色的薄瓣状，呈黄色或黑色； 皱胃（牛肚）表面布满褶皱，颜色较浅，带有一层粘膜物质。
	牛肝	呈褐色或紫色，有光泽，表面或切面不能有水泡，手摸有弹性。
	牛心	心肌为红或淡红色，脂肪为乳白色或微带红色，心肌结实而有弹性，无异味。
	牛肠	颜色略灰，黏液多，不带粪便及污物，异味轻。
	牛黄喉	呈淡黄色或白色，色泽新鲜，表面光滑有弹性，无异味。

附录表 A. 3

水分限量表

品种	水分限量/ (g/100g)
猪肉	≤76.0
牛肉	≤77.0
羊肉	≤78.0

附录表 A. 4

挥发性盐基氮限量表

测定方法	称样量	检出限量
第一法	20.0g	≤0.18mg/100g
	10.0g	≤0.35mg/100g
第二法	10.0g	≤0.04mg/100g
第三法	20.0g	≤1.75mg/100g
	10.0g	≤3.50mg/100g

附录表 A. 5

禁用药物检测表

项目	检测限/ (μg/kg)
β-受体激动剂(克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇)	0.5
喹诺酮类(洛美沙星、培氟沙星、氧氟沙星、诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星等)	3

附录表 B. 1

食品动物禁用兽药目录

中文名称	英文名称	CAS 号	结构式	分子量
兴奋剂类				
克伦特罗	Clenbuterol	37148-27-9	$C_{12}H_{18}Cl_2N_2O$	277. 19
沙丁胺醇	Ventolin	18559-94-9	$C_{13}H_{21}NO_3$	239. 31
西马特罗	Cimaterol	54239-37-1	$C_{12}H_{17}N_2O$	219. 28
性激素类				
己烯雌酚	Diethylstilbestrol	56-53-1	$C_{18}H_{20}O_2$	268. 35
甲睾酮	Methyltestosterone	58-18-4	$C_{20}H_{30}O_2$	302. 45
丙酸睾酮	Testosterone Propionate	57-85-2	$C_{22}H_{32}O_3$	344. 5
苯丙酸诺龙	Nandrolone phenylpropionate	62-90-8	$C_{27}H_{34}O_3$	62-90-8
苯甲酸雌二醇	Estradiol benzoate	50-50-0	$C_{25}H_{38}O_3$	376. 488
催眠、镇静类				
甲喹酮	Methaqualone	72-44-6	$C_{16}H_{14}N_2O$	250. 295
氯丙嗪	Chlorpromazine	50-53-3	$C_{17}H_{19}ClN_2S$	318. 86
地西洋（安定）	Diazepam	439-14-5	$C_{16}H_{13}ClN_2O$	284. 76
具有雌激素样作用的物质				
玉米赤霉醇	Zeranol	26538-44-3	$C_{18}H_{26}O_5$	322. 4
去甲雄三烯醇酮	Trenbolone acetate	10161-34-9	$C_{20}H_{24}O_3$	312. 40
醋酸甲羟孕酮	Medroxyprogesterone acetate	71-58-9	$C_{24}H_{34}O_4$	386. 524
硝基呋喃类				
呋喃西林	Nitrofur	59-87-0	$C_6H_6N_4O_4$	198. 136
呋喃妥因	Furantoin	67-20-9	$C_8H_6N_4O_5$	238. 16
呋喃唑酮	Furazolidone	67-45-8	$C_8H_7N_3O_5$	225. 158
呋喃它酮	Furaltadone	139-91-3	$C_{13}H_{16}N_4O_6$	324. 289
呋喃苯烯酸钠	Sodium nifurstylenate	54992-23-3	$C_{13}H_8NNaO_5$	281. 2
硝基化合物				
硝基酚钠	Sodium nitrophenolate	824-39-5	$C_6H_5NNaO_3$	163. 11

硝呋烯腙	Nitrovin	804-36-4	C ₁₄ H ₁₂ N ₆ O ₆	360. 282
硝基咪唑类				
替硝唑	Tinidazole	19387-91-8	C ₈ H ₁₃ N ₃ O ₂ S	247. 27
甲硝唑	Metronidazole	443-48-1	C ₆ H ₉ N ₃ O ₃	171. 154
地美硝唑	Dimetridazole	551-92-8	C ₅ H ₇ N ₃ O ₂	141. 128
喹恶啉类				
卡巴氧	Carbadox	6804-07-5	C ₁₁ H ₁₀ N ₄ O ₄	262. 222
抗生素类				
氯霉素	Chloramphenicol	56-75-7	C ₁₁ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O ₅	323. 129
万古霉素	Vancomycin	1404-90-6	C ₆₆ H ₇₅ Cl ₂ N ₉ O ₂₄	1449. 25
类固醇激素类				
醋酸美仑孕酮	Melengestrol Acetate	2919-66-6	C ₂₈ H ₃₂ O ₄	396. 52
甲基睾丸酮	Methyltestosterone	58-18-4	C ₂₀ H ₂₈ O ₂	302. 46
其他类				
氨苯砒	Dapsone	80-08-0	C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₂ S	248. 301
林丹（丙体六六六）	Lindane	58-89-9	C ₆ H ₆ Cl ₆	290. 83
毒杀芬（氯化烯）	Toxaphene	8001-35-2	C ₁₀ H ₈ Cl ₈	411. 795
呋喃丹（克百威）	Carbofuran	1563-66-2	C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₃	221. 252
杀虫脒（克死螨）	Chlordimeform	6164-98-3	C ₁₀ H ₁₃ ClN ₂	196. 677
酒石酸锑钾	L-Antimony Potassium Tartrate	11071-15-1	C ₈ H ₄ K ₂ O ₁₂ Sb ₂	613. 827
锥虫胂胺	Tryparsamide	554-72-3	C ₈ H ₁₀ AsN ₂ NaO ₄	296. 087
孔雀石绿	Malachite Green	569-64-2	C ₂₃ H ₂₅ ClN ₂	364. 911
五氯酚酸钠	Sodium pentachlorophenoxide	131-52-2	C ₆ Cl ₅ NaO	288. 318
各种汞制剂				
氯化亚汞（甘汞）	Dimercury dichloride	10112-91-1	Hg ₂ Cl ₂	472. 086
硝酸亚汞	Mercury (I) nitrate	7782-86-7	Hg ₂ (NO ₃) ₂	281. 615
醋酸汞	Mercurous acetate	1600-27-7	(AcO) ₂ Hg	318. 69
吡啶基醋酸汞	Pyridyl mercurous acetate			

附录表 B. 2

动物源性食品中克伦特罗、莱克多巴胺及沙丁胺醇的快速检测 胶体金免疫层析法 KJ201706

动物源性食品中克伦特罗、莱克多巴胺及 沙丁胺醇的快速检测 胶体金免疫层析法 (KJ201706)

1 范围

本方法规定了动物肌肉组织中克伦特罗、莱克多巴胺及沙丁胺醇的胶体金免疫层析快速检测方法。本方法适用于猪肉、牛肉等动物肌肉组织中克伦特罗、莱克多巴胺及沙丁胺醇的快速测定。

2 原理

本方法采用竞争抑制免疫层析原理。样品中克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇与胶体金标记的特异性抗体结合，抑制抗体和检测卡中检测线（T 线）上抗原的结合，从而导致检测线颜色深浅的变化。通过检测线与控制线（C 线）颜色深浅比较，对样品中克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇进行定性判定。

3 试剂与材料

除另有规定外，本方法所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的二级水。

3.1 试剂

3.1.1 甲醇：色谱纯。

3.1.2 氢氧化钠。

3.1.3 磷酸二氢钾。

3.1.4 磷酸氢二钠。

3.1.5 盐酸。

3.1.6 氯化钠。

3.1.7 氯化钾。

3.1.8 三氯化钠。

3.1.9 乙二胺四乙酸二钠。

3.1.10 三羟甲基氨基甲烷，即 Tris。

3.1.11 乙酸乙酯。

3.1.12 磷酸二氢钠。

3.1.13 氢氧化钠溶液（1mol/L）：称取氢氧化钠（3.1.2）4g，用水溶解并稀释至 100mL。

3.1.14 缓冲液：准确称取磷酸二氢钾（3.1.3）0.3g，磷酸氢二钠（3.1.4）1.5g，溶于约 800mL 水中，充

分混匀后用盐酸（3.1.5）或氢氧化钠溶液（3.1.13）调节 pH 至 7.4，用水稀释至 1000mL，混匀。4℃保存，有效期三个月。

3.1.15 展开液：准确称取磷酸二氢钾（3.1.3）2g，磷酸氢二钠（3.1.4）1.44g，氯化钠（3.1.6）8g，氯化钾（3.1.7）0.2g，三氯化钠（3.1.8）0.5g，乙二胺四乙酸二钠（3.1.9）1.0g 溶于约 500mL 水中，充分混匀后用水稀释至 1000mL。

3.1.16 Tris 缓冲液（pH9.0，1mol/L）：称取 Tris（3.1.10）121.14g，溶于约 700mL 水中，充分混匀后加入盐酸（3.1.5）调试 pH 至 9.0 后用水定容至 1000mL。

3.1.17 Tris 缓冲液（pH9.0，10mmol/L）：精密量取 1mol/L Tris 缓冲液（3.1.16）1mL，用水稀释定容至 100mL。

3.1.18 磷酸二氢钠溶液（0.2mol/L）：称取磷酸二氢钠（3.1.12）24.0g，用水溶解并稀释至 1000mL。

3.1.19 磷酸氢二钠溶液（0.2mol/L）：称取磷酸氢二钠（3.1.4）28.4g，用水溶解并稀释至 1000mL。

3.1.20 磷酸盐缓冲液（pH7.4，0.2mol/L）：量取磷酸二氢钠溶液（3.1.18）19mL，加入 81mL 磷酸氢二钠溶液（3.1.19），混匀。

3.1.21 磷酸盐缓冲液（pH7.4，10mmol/L）：精密量取 0.2mol/L 磷酸盐缓冲液（3.1.20）50mL，用水稀释至 1000mL。

3.2 参考物质

克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇参考物质的中文名称、英文名称、CAS 登录号、分子式、相对分子量见表 1，纯度≥97%。

表 1 克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇参考物质的中文名称、英文名称、
CAS 登录号、分子式、相对分子质量

序号	中文名称	英文名称	CAS 登录号	分子式	相对分子质量
1	克伦特罗	Clenbuterol	37148-27-9	$C_{12}H_{18}Cl_2N_2O$	277.19
2	莱克多巴胺	Ractopamine	97825-25-7	$C_{18}H_{23}NO_3$	301.38
3	沙丁胺醇	Salbutamol	18559-94-9	$C_{13}H_{21}NO_3$	239.31

注：或等同可溯源物质。

3.3 标准溶液配制

3.3.1 标准储备液：精密称取适量克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇参考物质（3.2），分别置于 100mL 容量瓶中，用甲醇（3.1.1）溶解并稀释至刻度，摇匀，分别制成浓度为 100μg/mL 的克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇标准储备液。-18℃保存，有效期一年。

3.3.2 克伦特罗标准中间液（1μg/mL）：精密量取克伦特罗标准储备液（100μg/mL）（3.3.1）1mL 置于 100mL 容量瓶中，用甲醇（3.1.1）稀释至刻度，摇匀，制成浓度为 1μg/mL 的克伦特罗标准中间液。临用新制。

3.3.3 克伦特罗标准工作液（20ng/mL）：精密量取克伦特罗标准中间液（1μg/mL）（3.3.2）1mL，置于 50mL 容量瓶中，用甲醇（3.1.1）稀释至刻度，摇匀，制成浓度为 20ng/mL 的克伦特罗标准工作液。临用新制。

3.3.4 莱克多巴胺标准中间液（1μg/mL）：精密量取莱克多巴胺标准储备液（100μg/mL）（3.3.1）1mL 置于 100mL 容量瓶中，用甲醇（3.1.1）稀释至刻度，摇匀，制成浓度为 1μg/mL 的莱克多巴胺标准中间液。临用新制。

3.3.5 莱克多巴胺标准工作液 (20ng/mL): 精密量取莱克多巴胺标准中间液 (1 μ g/mL) (3.3.4) 1mL, 置于 50mL 容量瓶中, 用甲醇 (3.1.1) 稀释至刻度, 摇匀, 制成浓度为 20ng/mL 的莱克多巴胺标准工作液。临用新制。

3.3.6 沙丁胺醇标准中间液 (1 μ g/mL): 精密量取沙丁胺醇标准储备液 (100 μ g/mL) (3.3.1) 1mL 置于 100mL 容量瓶中, 用甲醇 (3.1.1) 稀释至刻度, 摇匀, 制成浓度为 1 μ g/mL 的沙丁胺醇标准中间液。临用新制。

3.3.7 沙丁胺醇标准工作液 (20ng/mL): 精密量取沙丁胺醇标准中间液 (1 μ g/mL) (3.3.6) 1mL, 置于 50mL 容量瓶中, 用甲醇 (3.1.1) 稀释至刻度, 摇匀, 制成浓度为 20ng/mL 的沙丁胺醇标准工作液。临用新制。

3.4 材料

3.4.1 克伦特罗试剂盒/检测卡 (条): 含胶体金试纸条及配套的试剂。

3.4.2 莱克多巴胺试剂盒/检测卡 (条): 含胶体金试纸条及配套的试剂。

3.4.3 沙丁胺醇试剂盒/检测卡 (条): 含胶体金试纸条及配套的试剂。

3.4.4 固相萃取柱: 丙烯酸系弱酸性阳离子交换柱。

4 仪器和设备

4.1 电子天平: 感量为 0.01g 和 0.0001g。

4.2 组织粉碎机。

4.3 水浴箱。

4.4 离心机: 转速 $\geq$ 4000r/min。

4.5 移液器: 10 μ L, 100 μ L, 1mL, 5mL。

4.6 读数仪: 产品配套可使用的检测仪器 (可选)。

4.7 固相萃取装置 (可选)。

4.8 其他产品说明书操作中需用的仪器。

4.9 环境条件: 温度 10—40 $^{\circ}$ C, 湿度 $\leq$ 80%。

5 分析步骤

5.1 试样制备

取适量具有代表性样品的可食部分, 充分粉碎混匀。

5.2 试样提取和净化

称取适量试样, 按照方法一 (5.2.1) 或方法二 (5.2.2) 提取步骤分别对空白试样、加标质控样品、待测样进行处理。

5.2.1 方法一 (隔水煮法)

称取粉碎混匀的样品 5g (精确至 0.01g) 于 50mL 离心管, 置 90 $^{\circ}$ C 水浴中加热 20min 至离心管中可清晰看见有组织液渗透, 4000r/min 离心 10min, 将上清液转至另一离心管, 重复离心操作一次。准确

量取上清液 900 μ L，加入缓冲液（3.1.14）100 μ L 混匀，即得待测液。本方法推荐水浴加热，也可按照试剂盒说明书进行操作。

5.2.2 方法二（固相萃取法）

称取粉碎混匀的样品 5g（精确至 0.01g）于 50mL 离心管，加入 10mmol/L Tris 缓冲液（3.1.17）5mL，剧烈振摇 5min，放置 20min，加入乙酸乙酯（3.1.11）10mL，剧烈振摇 1min。以 4000r/min 离心 2min，上清液待净化。连接好固相萃取装置（4.7），并在固相萃取柱（3.4.4）上方连接 30mL 注射器针筒，将上述上清液全部倒入 30mL 针筒中，用手缓慢推压注射器活塞，控制液体流速约 1 滴/秒，使注射器中液体全部流过固相萃取柱，尽可能将固相萃取柱中溶液去除干净。将固相萃取柱下方的接液管更换为洁净的离心管，向固相萃取柱中加入 0.5mL 10mmol/L 磷酸盐缓冲液（3.1.21）。用手缓慢推压注射器活塞，控制液体流速约 1 滴/秒，使固相萃取柱中的液体全部流至离心管中，即得待测液。

注：试样制备过程可按照试剂盒说明书进行操作，不做限定。

5.3 测定步骤

5.3.1 检测卡与金标微孔测定步骤

测试前，将未开封的检测卡恢复至室温。吸取 100 μ L 上述待测液于金标微孔中，上下抽吸 5—10 次直至微孔试剂混合均匀。室温温育 5min，将反应液全部加入到检测卡的加样孔中，1min 后加入 1 滴展开液（3.1.15）。检测卡加入样本后 10min 进行结果判定。

5.3.2 无金标微孔时，检测卡测定步骤

测试前，将未开封的检测卡恢复至室温。吸取 100 μ L 上述待测液直接加入到检测卡加样孔中，1min 后加入 1 滴展开液（3.1.15）。检测卡加入样本后 10min 后进行结果判定。

5.3.3 试纸条与金标微孔测定步骤

测试前，将未开封的试纸条恢复至室温。吸取 100 μ L 上述待测液于金标微孔中，上下抽吸 5—10 次直至微孔试剂混合均匀。室温温育 1min，将试纸条样品垫插入到金标微孔中。室温温育 4min，从微孔中取出试纸条，去掉试纸条下端样品垫，进行结果判定。

注：1.测定步骤建议按照试剂盒说明书进行操作。

2.结果判定建议使用读数仪，读数仪的具体使用参照仪器使用说明书。

5.4 质控试验

每批样品应同时进行空白试验和加标质控试验。

5.4.1 空白试验

称取空白试样，按照 5.2 和 5.3 步骤与样品同法操作。

5.4.2 加标质控试验

称取空白试样 5g（精确至 0.01g）置于 50mL 离心管中，加入适量克伦特罗标准工作液（20ng/ml）（3.3.3），使克伦特罗浓度为 0.5 μ g/kg，按照 5.2 和 5.3 步骤与样品同法操作。

称取空白试样 5g（精确至 0.01g）置于 50mL 离心管中，加入适量莱克多巴胺标准工作液（20ng/ml）（3.3.3），使莱克多巴胺浓度为 0.5 μ g/kg，按照 5.2 和 5.3 步骤与样品同法操作。

准确称取空白试样 5g（精确至 0.01g）置于 50mL 离心管中，加入适量沙丁胺醇标准工作液（20ng/ml）（3.3.3），使沙丁胺醇浓度为 0.5 μ g/kg，按照 5.2 和 5.3 步骤与样品同法操作。

6 结果判定要求

6.1 读数仪测定结果

通过仪器对结果进行判读。

6.1.1 无效

当质控线（C 线）不显色时，无论检测线（T 线）是否显色，均表示实验结果无效。

6.1.2 阳性结果

若检测结果显示“+”（阳性），表示试样中含有待测组分且其含量大于等于方法检测限。

6.1.3 阴性结果

若检测结果显示“-”（阴性），表示试样中不含待测组分或其含量低于方法检测限。

6.2 目视判定

通过对比质控线（C 线）和检测线（T 线）的颜色深浅进行结果判定。

6.2.1 无效

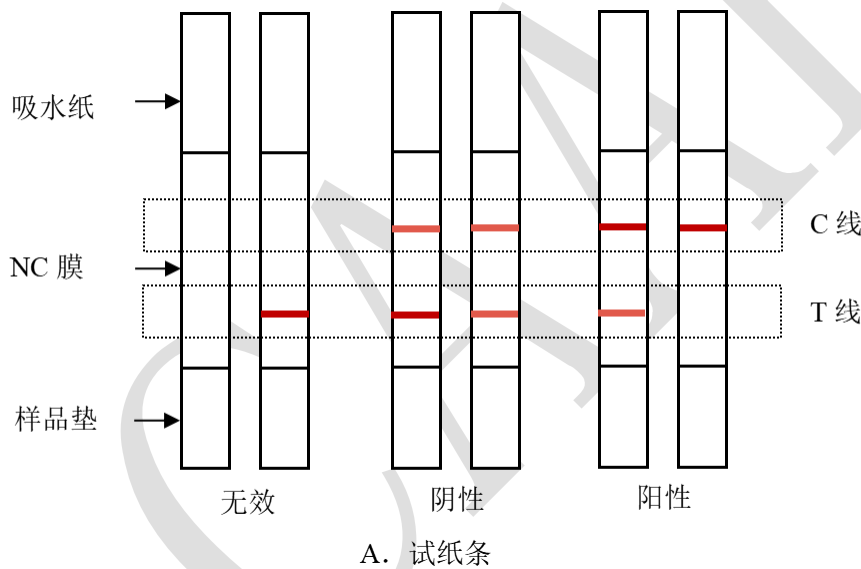
当质控线（C 线）不显色时，无论检测线（T 线）是否显色，均表示实验结果无效。

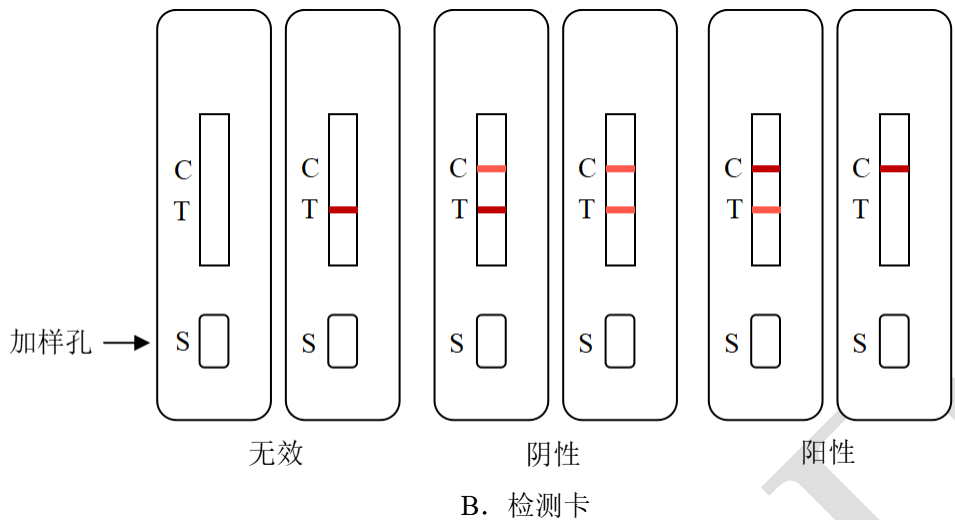
6.2.2 阳性结果

质控线（C 线）显色，若检测线（T 线）不出现或出现但颜色浅于质控线（C 线），表示试样中含有待测组分且其含量高于方法检测限，判为阳性。

6.2.3 阴性结果

质控线（C 线）显色，若检测线（T 线）颜色深于或等于质控线（C 线），表示试样中不含待测组分或其含量低于方法检测限，判为阴性。





6.3 质控试验要求

空白试样测定结果应为阴性，加标质控样品测定结果应为阳性。

7 结论

当检测结果为阳性时，应对结果进行确证。

8 性能指标

8.1 检测限：克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇检出限均为 0.5 μ g/kg。

8.2 灵敏度： $\geq 95\%$

8.3 特异性： $\geq 85\%$

8.4 假阴性率： $\leq 5\%$

8.5 假阳性率： $\leq 15\%$

1.1 注：性能指标计算方法见附录 A。

9 其他

本方法所述试剂、试剂盒信息、操作步骤及结果判定要求是为给方法使用者提供方便，在使用本方法时不做限定。方法使用者在使用替代试剂、试剂盒或操作步骤前，须对其进行考察，应满足本方法规定的各项性能指标。

本方法参比方法为 GB/T 22286-2008《动物源性食品中多种 β -受体激动剂残留量的测定 液相色谱串联质谱法》（包括所有的修改单）。

本方法使用克伦特罗试剂盒可能与沙丁胺醇、特布他林、西马特罗等有交叉反应，当结果判定为阳性时，应对结果进行确证。

本方法使用沙丁胺醇试剂盒可能与克伦特罗、特布他林、西马特罗等有交叉反应，当结果判定为阳性时，应对结果进行确证。

附录 A

快速检测方法性能指标计算表

表 A.1 性能指标计算方法

样品情况 ^a	检测结果 ^b		总数
	阳性	阴性	
阳性	N11	N12	N1.=N11+N12
阴性	N21	N22	N2.=N21+N22
总数	N.1=N11+N12	N.2=N21+N22	N=N1.+N2.或 N.1+N.2
显著性差异 (χ^2)	$\chi^2= (N12-N21 -1)^2/(N12+N21),$ 自由度 (df) =1		
灵敏度 (p+, %)	p+=N11/N1.		
特异性 (p-, %)	p-=N22/N2.		
假阴性率 (pf-, %)	pf-=N12/N1.=100-灵敏度		
假阳性率 (pf+, %)	pf+=N21/N2.=100-特异性		
相对准确度, % ^c	(N11+N22)/(N1.+N2.)		
注: ^a 由参比方法检验得到的结果或者样品中实际的公议值结果; ^b 由待确认方法检验得到的结果。灵敏度的计算使用确认后的结果。 N: 任何特定单元的结果数, 第一个下标指行, 第二个下标指列。例如: N11 表示第一行, 第一列, N1.表示所有的第一行, N.2 表示所有的第二列; N12 表示第一行, 第二列。 ^c 为方法的检测结果相对准确性的结果, 与一致性分析和浓度检测趋势情况综合评价。			

本方法负责起草单位: 四川省食品药品检验检测院。

验证单位: 陕西省食品药品监督检验研究院、山西省食品药品检验所。

主要起草人: 余晓琴, 黄璐瑶, 黄瑛, 张媛媛, 王颖。

附录表 B.3

动物源性食品中喹诺酮类物质的快速检测 胶体金免疫层析法 KJ201906

动物源性食品中喹诺酮类物质的快速检测 胶体金免疫层析法 (KJ201906)

1 范围

本方法规定了动物源性食品中喹诺酮类物质的胶体金免疫层析快速检测方法。

本方法适用于生乳、巴氏杀菌乳、灭菌乳、猪肉、猪肝、猪肾中洛美沙星、培氟沙星、氧氟沙星、诺氟沙星、达氟沙星、二氟沙星、恩诺沙星、环丙沙星、氟甲喹、噁喹酸残留的快速测定。

2 原理

本方法采用竞争抑制免疫层析原理。样品中的喹诺酮类物质与胶体金标记的特异性抗体结合，抑制了抗体和检测线（T 线）上抗原的结合，从而导致检测线颜色深浅的变化，通过检测线与控制线（C 线）颜色深浅比较，对样品中喹诺酮类物质进行定性判定。

3 试剂和材料

除另有规定外，本方法所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的二级水。

3.1 试剂

3.1.1 乙腈。

3.1.2 甲酸。

3.1.3 分散固相萃取剂 I：分别称取硫酸镁 18 g、醋酸钠 4.5 g 放于研钵中研碎。

3.1.4 分散固相萃取剂 II：分别称取硫酸镁 27 g、N-丙基乙二胺（PSA）4.5 g 放于研钵中研碎。

3.1.5 甲酸-乙腈溶液：98 mL 乙腈中加入 2 mL 甲酸，混匀。

3.1.6 甲醇。

3.1.7 稀释液：脱脂奶粉：水（1：10）。

3.2 参考物质

喹诺酮类参考物质的中文名称、英文名称、CAS 登录号、分子式、相对分子量见表 1，纯度≥99%。

表 1 喹诺酮类参考物质的中文名称、英文名称、CAS 登录号、分子式、相对分子量

序号	中文名称	英文名称	CAS 登录号	分子式	相对分子量
1	洛美沙星	Lomefloxacin	98079-51-7	$C_{17}H_{19}F_2N_3O_3$	351.35
2	培氟沙星	Pefloxacin	70458-92-3	$C_{17}H_{20}FN_3O_3$	333.36
3	氧氟沙星	Ofloxacin	82419-36-1	$C_{18}H_{20}FN_3O_4$	361.37
4	诺氟沙星	Norfloxacin	70458-96-7	$C_{16}H_{18}FN_3O_3$	319.33
5	达氟沙星	Danofloxacin	112398-08-0	$C_{19}H_{20}FN_3O_3$	357.38
6	二氟沙星	Difloxacin	5522-39-4	$C_{28}H_{33}N_3F_2$	449.58
7	恩诺沙星	Enrofloxacin	93106-60-6	$C_{19}H_{22}FN_3O_3$	359.16
8	环丙沙星	Ciprofloxacin	85721-33-1	$C_{17}H_{18}FN_3O_3$	331.13
9	氟甲喹	Flumequine	42835-25-6	$C_{14}H_{12}FNO_3$	261.25
10	噁啉酸	Oxolinic Acid	14698-29-4	$C_{13}H_{11}NO_5$	261.23

注：或等同可溯源物质。

3.3 标准溶液的配制

1.2 3.3.1 喹诺酮类物质标准储备液（1 mg/mL）：分别精密称取喹诺酮类参考物质（3.2）适量，置于 50 mL 烧杯中，加入适量甲醇（3.1.6）超声溶解后，用甲醇转入 10 mL 容量瓶中，定容至刻度，摇匀，配制成浓度为 1 mg/mL 的喹诺酮标准储备液。-20℃避光保存，有效期 6 个月。

1.3 3.3.2 喹诺酮类物质标准中间液（1 μg/mL）：分别吸取喹诺酮类标准储备液（1 mg/mL）（3.3.1）100 μL 于 100 mL 容量瓶中，用甲醇（3.1.6）稀释至刻度，摇匀，配制成浓度为 1 μg/mL 的喹诺酮类标准中间液。

3.4 材料

3.4.1 金标微孔（含胶体金标记的特异性抗体）。

3.4.2 试剂条或检测卡。

4 仪器和设备

4.1 移液器：100 μL、200 μL 和 1 mL。

4.2 涡旋混合器。

4.3 离心机：转速≥4000 r/min。

4.4 电子天平：感量为 0.01 g。

4.5 孵育器：可调节时间、温度，控温精度±1℃。

4.6 读数仪。

4.7 氮吹仪。

4.8 环境条件：温度 15℃～35℃，湿度≤80%（采用孵育器与读数仪时可不要求环境温度）。

5 分析步骤

5.1 试样制备

液体乳直接用于测定，猪肉、猪肝、猪肾用组织捣碎机等搅碎后备用。

5.2 试样的提取

1.4 5.2.1 生乳、巴氏杀菌乳、灭菌乳

1.5 分别吸取同等体积的液体乳样品与稀释液混合后为待测液。

1.6 5.2.2 猪肉、猪肝、猪肾

1.7 准确称取 2.5 ± 0.01 g 均质后的组织样品于 15 mL 离心管中，加入 5 mL 甲酸-乙腈溶液(3.1.5)，涡旋混合 1 min，振荡 5 min，4000 r/min 离心 5 min。将上清液 2 mL 转入 10 mL 离心管中，分别加入 0.6 g 分散固相萃取剂 I(3.1.3)涡旋混合 1 min、再加入 0.6 g 分散固相萃取剂 II(3.1.4)后涡旋混合 1 min，静置分层后取 1 mL 于 10 mL 离心管中，于氮吹仪 60℃吹干后用 1 mL 样品稀释液溶解作为待测液。

5.3 测定步骤

1.8 5.3.1 检测卡测定步骤

1.9 5.3.1.1 将检测卡平放入孵育器中。小心撕开检测卡的薄膜至指示线处，避免提起检测卡和海绵。

1.10 5.3.1.2 用移液器取待测液（5.2）300 μL，避免产生泡沫和气泡。竖直缓慢的滴加至检测卡两侧任意一侧的凹槽中，将粘箔重新粘好。

1.11 5.3.1.3 盖上孵育器的盖子，孵育器上的计时器自动开始计时，红灯闪烁，孵育 3 min。

1.12 5.3.1.4 取出检测卡，不要挤压样品槽，放于读数仪中，读数前保持样品槽一端朝下直到在读数仪上读取结果，或从孵育器上取出后直接目视法进行结果判定。

1.13 5.3.2 试剂条与金标微孔测定步骤

1.14 吸取 300 μL 待测液(5.2)于金标微孔(3.4.1)中，抽吸 5～10 次使混合均匀，将试剂条(3.4.2)吸水海绵端垂直向下插入金标微孔中，孵育 5～8 min，从微孔中取出试剂条，进行结果判定。

注：试剂条（或检测卡）具体检测步骤可参考相应的说明书操作。

5.4 质控试验

每批样品应同时进行空白试验和加标质控试验。

5.4.1 空白试验

称取空白试样，按照5.2和5.3步骤与样品同法操作。

5.4.2 加标质控试验

准确称取空白试样（精确至0.01 g）置于具塞离心管中，加入一定体积的诺氟沙星标准中间液，使诺氟沙星终浓度为6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，按照5.2和5.3步骤与样品同法操作。

6 结果判定

6.1 读数仪测定法

1.15 按读数仪说明书要求操作直接读取并进行结果判定，

6.2 目视法

1.16 通过对比控制线（C线）和检测线（T线）的颜色深浅进行结果判定。目视判定示意图见图1。

6.2.1 无效

控制线（C线）不显色，表明不正确操作或试剂条/检测卡无效。

6.2.2 阴性

检测线（T线）颜色比控制线（C线）颜色深或者检测线（T线）颜色与控制线（C线）颜色相当，表明样品中喹诺酮类低于方法检测限，判定为阴性。

6.2.3 阳性

检测线（T线）不显色或检测线（T线）颜色比控制线（C线）颜色浅，表明样品中喹诺酮类的含量高于方法检测限，判定为阳性。

6.3 质控试验要求

空白试验测定结果应为阴性，加标质控试验测定结果应为阳性。

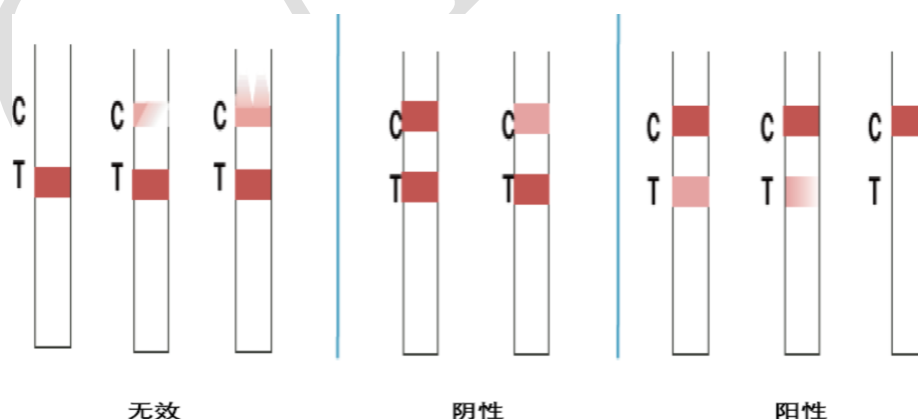


图1 目视判定示意图

7 结论

当检测结果为阳性时，应对结果进行确证。

8 性能指标

8.1 检测限

1.17 生乳、巴氏杀菌乳、灭菌乳、猪肉、猪肝、猪肾中洛美沙星、培氟沙星、氧氟沙星、诺氟沙星、达氟沙星、二氟沙星、恩诺沙星、环丙沙星、氟甲喹、噁喹酸为 3 $\mu\text{g/kg}$ 。

8.2 灵敏度

1.18 灵敏度应 $\geq 99\%$ 。

8.3 特异性

1.19 特异性应 $\geq 95\%$ 。

8.4 假阴性率

1.20 假阴性率应 $\leq 1\%$ 。

8.5 假阳性率

1.21 假阳性率应 $\leq 5\%$ 。

注：性能指标计算方法见附录 A。

9 其他

本方法所述试剂、试剂盒信息及操作步骤是为给方法使用者提供方便，在使用本方法时不做限定。方法使用者在使用替代试剂、试剂盒或操作步骤前，须对其进行考察，应满足本方法规定的各项性能指标。

本方法参比标准为 GB/T 21312-2007 《动物源性食品中 14 种喹诺酮类药物残留检测方法 液相色谱-质谱/质谱法》。

附录A

定性方法性能指标计算方法

表 A.1 性能指标计算表

样品情况 ^a	检测结果 ^b		总数
	阳性	阴性	
阳性	N11	N12	N1.=N11+N12
阴性	N21	N22	N2.=N21+N22
总数	N.1=N11+N12	N.2=N21+N22	N=N1.+N2.或 N.1+N.2
显著性差异（ χ^2 ）	$\chi^2=（ N12-N21 -1）^2/（N12+N21）$ ， 自由度（df）=1		
灵敏度（p+，%）	p+=N11/N1.		
特异性（p-，%）	p-=N22/N2.		
假阴性率（pf-，%）	pf-=N12/N1.=100-灵敏度		
假阳性率（pf+，%）	pf+=N21/N2.=100-特异性		
相对准确度，% ^c	$（N11+N22）/（N1.+N2.）$		
注：			
^a 由参比方法检验得到的结果或者样品中实际的公议值结果；			
^b 由待确认方法检验得到的结果。灵敏度的计算使用确认后的结果。			
N：任何特定单元的结果数，第一个下标指行，第二个下标指列。例如：N11 表示第一行，第一列，N1.表示所有的第一行，N.2 表示所有的第二列；N12 表示第一行，第二列。			
^c 为方法的检测结果相对准确性的结果，与一致性分析和浓度检测趋势情况综合评价。			

本方法负责起草单位: 黑龙江省质量监督检测研究院。

验证单位: 国家农林副产品质量监督检验中心、国家乳制品质量监督检验中心、海南省药品检验所。

主要起草人: 佟晓芳, 杨光, 赵平, 陈薇薇, 李春娟, 姜金斗, 王玉芝, 陈坚。