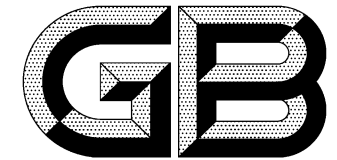


附录 A
(资料性附录)
回收率

本方法中泰乐菌素添加浓度及回收率的试验数据：
在添加量为 10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时，平均回收率为 97.20%。
在添加量为 30.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时，平均回收率为 102.50%。
在添加量为 50.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时，平均回收率为 97.80%。
在添加量为 100.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时，平均回收率为 104.35%。

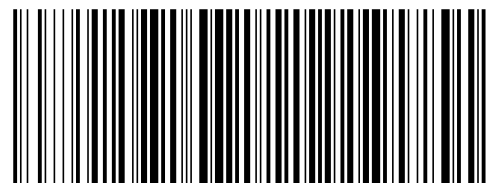


中华人民共和国国家标准

GB/T 18932.27—2005

蜂蜜中泰乐菌素残留量测定方法 酶联免疫法

Method for the determination of tylosin residue in honey—
Enzyme-linked immunosorbent assay method



GB/T 18932.27—2005

版权专有 侵权必究

*

书号:155066·1-22374

定价: 8.00 元

2005-02-04 发布

2005-08-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

吸光度)。

7.4 平行试验

按以上步骤,对同一标准、同一样品溶液均应进行平行试验测定。

7.5 空白试验

除不称取试样外,均按上述步骤进行。

7.6 监控试验

每次测定均应做一个添加泰乐菌素标准的显色剂样品。

8 结果计算

在半对数坐标纸上,以吸光度值为纵坐标(%),泰乐菌素标准工作溶液浓度($\mu\text{g/L}$)为横坐标,绘制标准工作曲线。从标准工作曲线上得到试样中相应的泰乐菌素浓度后,结果按公式(1)计算:

$$X = c \cdot \frac{V}{m} \cdot \frac{1\ 000}{1\ 000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X ——试样中泰乐菌素残留量,单位为微克每千克($\mu\text{g/kg}$);

c ——从标准工作曲线上得到的试样中泰乐菌素浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);

V ——样品溶液的体积,单位为毫升(mL);

m ——样品溶液所含的试样质量,单位为克(g)。

结果表示到小数点后两位。

注:计算结果应扣除空白值。

9 确证试验

如被测样品中泰乐菌素残留量的值大于检出限时,应用 LC-MS-MS 法进行确证。

10 精密度

本部分的精密度数据是按照 GB/T 6379 的规定确定的,其重复性和再现性的值是以 95% 的可信度来计算。

10.1 重复性

在重复性条件下,蜂蜜中泰乐菌素的含量在 $10.0\ \mu\text{g/kg}$ ~ $100.0\ \mu\text{g/kg}$ 范围时,获得的两次独立测试结果的绝对差值不超过重复性限(r),本部分的重复性限按方程式(2)计算:

$$\lg r = 1.285\ 5 \lg m - 1.752\ 9 \dots\dots\dots(2)$$

式中:

m ——两次测定值的平均值,单位为微克每千克($\mu\text{g/kg}$)。

如果差值超过重复性限,应舍弃试验结果并重新完成两次单个试验的测定。

10.2 再现性

在再现性条件下,蜂蜜中泰乐菌素的含量在 $10.0\ \mu\text{g/kg}$ ~ $100.0\ \mu\text{g/kg}$ 范围时,获得的两次独立测试结果的绝对差值不超过再现性(R),本部分的再现性限按方程式(3)计算:

$$R = 0.121\ 7 m + 0.717\ 6 \dots\dots\dots(3)$$

式中:

m ——两次测定值的平均值,单位为微克每千克($\mu\text{g/kg}$)。

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
蜂 蜜 中 泰 乐 菌 素 残 留 量 测 定 方 法
酶 联 免 疫 法

GB/T 18932.27—2005

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.bzcb.com

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.5 字数 8 千字

2005年2月第一版 2005年2月第一次印刷

*

书号:155066·1-22374 定价 8.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68533533

5 仪器

- 5.1 酶标仪。
- 5.2 8道移液器:50 μL ~300 μL 。
- 5.3 单道移液器:5 μL ~50 μL ,100 μL ~1 000 μL 和 2 mL~10 mL。
- 5.4 液体混匀器。
- 5.5 离心机。
- 5.6 注射过滤器:2 mL,并带有孔径为 0.45 μm 的水相针头式过滤膜。
- 5.7 具塞试管:10 mL,20 mL。

6 试样的制备与保存

6.1 试样的制备

对无结晶的实验室样品,将其搅拌均匀。对有结晶的实验室样品,在密闭的情况下,置于不超过 60℃的水浴中温热、振荡,待样品全部融化后搅匀,冷却至室温,分出 0.5 kg 作为试样。制备好的试样置于样品瓶中,密封,并加以标识。

6.2 试样的保存

将样品于室温下保存。

7 分析步骤

7.1 提取

称取 1 g 试样,精确到 0.01 g,置于 20 mL 具塞试管中,加入 9 mL 缓冲溶液(4.2)于液体混匀器上快速混匀 1 min,使试样完全溶解,以 3 000 r/min 离心 10 min 后,取适量的样品上清溶液用注射过滤器过滤至 10 mL 的具塞试管中,供酶标仪测定。此溶液稀释系数为 10。

7.2 测定条件

以下所有操作应在 20℃~24℃室温下进行。

- 7.2.1 酶标仪测定条件:酶标仪测定波长为 450 nm。
- 7.2.2 人工洗板条件:洗涤次数五次以上,每次注水量为 250 μL 。
- 7.2.3 泰乐菌素试剂盒中所有试剂的温度均应回升至室温(20℃~24℃)后方可使用。
- 7.2.4 将测定需用的微孔板(4.1.1)备齐并插入微孔架上,记录标准及样品等在微孔架上的位置(模板图)。

7.3 测定

测定中吸取不同的试剂和样品溶液时应更换吸头。

- 7.3.1 分别吸取 50 μL 泰乐菌素标准工作溶液(4.3)和样品溶液等,按模板图位置依次加入各自的微孔底部。
- 7.3.2 分别吸取 100 μL 泰乐菌素酶标记物溶液(4.4)于每一个微孔底部,然后,用封口膜密封孔口以防溶液挥发。持微孔板在台面上以圆周运动方式混匀后,于 20℃~24℃避光孵育 10 min。
- 7.3.3 倒出孔中的液体,将微孔架反扣在吸水纸上反复拍打,以除去孔中过多的残液,但不能使微孔干燥,然后,立即用洗板工作溶液(4.5)按 7.2.2 要求进行洗板,每次弃去洗板溶液后,均应将微孔架反扣在吸水纸上反复拍打,以除去孔中过多的残液,但不能使微孔干燥。
- 7.3.4 迅速加入 100 μL 显色剂(4.1.7)于每一个微孔底部,然后,持微孔板在台面上以圆周运动方式混匀后,于 20℃~24℃避光孵育 10 min。
- 7.3.5 迅速加入 100 μL 反应停止液(4.1.8)于每一个微孔底部,然后,持微孔板在台面上以圆周运动方式混匀后,将微孔架置于酶标仪中,在 450 nm 处测量吸光度(加入反应停止液后应在 60 min 内读取

前 言

GB/T 18932 本部分的附录 A 为资料性附录。

本部分由中华人民共和国秦皇岛出入境检验检疫局提出。

本部分由中华全国供销合作总社归口。

本部分起草单位:中华人民共和国秦皇岛出入境检验检疫局。

本部分主要起草人:庞国芳、付宝莲、张进杰、肖艳霞。

本部分系首次发布的国家标准。