



新疆维吾尔自治区质量检验检测协会团体标准

T/XXX XXXX—XXXX

驼奶中四环素类抗生素的测定 试纸条+智能手机定量法

Smartphone integrated with test strip method for the determination of tetracycline residues in camel milk

草案版次选择

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX – XX – XX 发布

XXXX – XX – XX 实施

新疆维吾尔自治区质量检验检测协会

发 布

前 言

本文件按照 GB/T1.1—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。

本文件由新疆质量基础发展研究院提出。

本文件由新疆维吾尔自治区质量检验检测协会归口。

本文件起草单位:新疆质量基础发展研究院、浙江中医药大学、新疆新驼乳业有限公司,招商新疆质量检测技术研究院有限公司。

本文件主要起草人:龙泽荣,张泉龙,赵林,苏华,木合塔尔·买买提依明,李小飞,李瑜,王建玲,傅涵,范田丽,杨婷钰。

本文件实施应用中的疑问,请咨询新疆质量基础发展研究院。

对本文件的修改意见建议,请反馈至新疆质量基础发展研究院(乌鲁木齐市新市区河北东路188号)。

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。

驼奶中四环素类抗生素的测定 试纸条+智能手机定量法

1 范围

本文件规定了驼奶中四环素类抗生素（四环素、盐酸四环素、土霉素、金霉素、多西环素）试纸条快速筛选检测方法。

本文件适用于生鲜乳、巴氏杀菌乳和超高温灭菌乳中四环素类抗生素（四环素、盐酸四环素、土霉素、金霉素、多西环素）残留的快速筛选检测。

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/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB 31658.6-2021 食品安全国家标准 动物性食品中四环素类药物残留量的测定 高效液相色谱法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

以磷酸盐缓冲液（或者水）/甲醇混合液提取样品中的四环素类残留，利用标准试纸进行快速筛查检测。当待测物浓度高于检测限时，紫外灯下（365 nm）试纸条会呈现红色斑点，由此定性检测样品中四环素等5种四环素类抗生素残留。智能手机内置应用软件“色采”提取图片RGB值，通过色差分析，外标法定量。

5 试剂

所有试剂除另有规定外，均为分析纯。

5.1 水

符合 GB/T 6682规定的一级水。

5.2 盐酸

取80 μL 浓盐酸（37%），以水稀释至100 mL，配制浓度0.01 mol L⁻¹。

5.3 磷酸盐缓冲液（0.01 mol L⁻¹, pH = 7.4±0.1）

称取 Na₂HPO₄·12H₂O 2.2 g, NaH₂PO₄·2H₂O 0.6 g, 加水溶解，混合，室温定容至 1000 mL。

5.4 95%乙醇

5.5 甲醇

5.6 标准溶液制备

四环素、盐酸四环素、土霉素、金霉素、多西环素标准储备液（100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ）：取四环素、盐酸四环素、土霉素、金霉素、多西环素各约10 mg，精密称定，用盐酸溶解，甲醇和水（1:1）稀释定容至100 mL棕色容量瓶中，摇匀，即得。-18 °C以下避光保存，有效期3个月。

5.4 标准试纸

包括试纸条（或检测条，7.5×3.5 cm）和试纸条测试流程，见附录A。

6 仪器设备

主要仪器设备如下：

- a) 分析天平：感量 0.0001 g 和 0.01 g；
- b) 紫外灯（365 nm）；
- c) 超声波振荡器；
- d) 高速离心机：最大转速 12000 r/min；
- e) 高速匀浆机；
- f) 均质器；
- g) 旋转蒸发器；
- h) 具塞离心管：50 mL；
- i) 鸡心瓶：50 mL；
- j) 容量瓶：5 mL, 100 mL, 1000 mL；
- k) 移液枪：10 μ L, 100 μ L, 1000 μ L。

7 测定步骤

7.1 提取

取5 mL纯驼奶样品与5 mL 95%乙醇混合，剧烈搅拌促进蛋白质沉淀并澄清。3000 r/min离心10 min，上清液倒入另一50 mL具塞离心管中。残渣中加入酸化甲醇5 mL，按上述方法再提取一次，上清液一并合并。接着再10 000r/min离心10 min,将上清液转移至鸡心瓶，于45℃水浴中减压旋转蒸发至原体积的约1/3，转移至5 mL容量瓶中，用磷酸盐缓冲液定容至5 mL，0.22 μ m滤膜过滤备用。

7.2 测定

7.2.1 移液枪准确量取 100 μ L 试样提取液，将其逐滴滴至标准试纸“+”中心点，斑点直径 \leq 0.5cm。每次点样后，用吹风机吹干。

7.2.2 将试纸放置于三用紫外灯下（365 nm 档）暗室观察，并采用智能手机拍照。

7.2.3 空白对照：磷酸盐缓冲液为空白样，空白样滴到试纸条表面应不呈现红色或其他颜色，否则应更换试纸重新测定。

7.2.4 标准工作曲线：磷酸盐缓冲液稀释标准储备液得 100 μ g/L、200 μ g/L、500 μ g/L、1000 μ g/L、1500 μ g/L 和 2000 μ g/L 的标准工作液。随后按照 7.2.1 和 7.2.2 同步测定，绘制标准工作曲线。

8 结果判定

8.1 肉眼观察样品检测结果，并与空白组的显色结果对比，当试纸出现红色斑点时，判定存在五种四环素的任何一种，或者其中两种以上结果同时存在。

8.2 智能手机闪光灯拍照，内置应用程序“色采”提取图片 RGB 值（A），建立 A 与对应的标准液浓度（C_s）的校准线性方程，相关系数（r²）>0.95，外标法定量。

9 结果计算和表述

9.1 智能手机采集图片颜色值与测量浓度的换算

见公式（1）。

$$A = bC + d \cdots \cdots \cdots (1)$$

式中：

A —为智能手机采集图片的颜色值RGB;

C —为被测组分溶液浓度, 单位为 $\mu\text{g/L}$;

b 和 d 为线性方程常数。

注: 计算结果以平行测定结果的算术平均值表示, 保留 3 位有效数字。

9.2 试样中被测组分残留量

见公式 (2)。

$$X = C \times \frac{V}{l} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X —为试样中被测组分残留量的数值, 单位为微克每升 ($\mu\text{g/L}$);

V —试料溶液定容体积的数值, 单位为毫升(mL);

l —为试料体积的数值, 单位为mL。

注: 计算结果以平行测定结果的算术平均值表示, 保留 3 位有效数字。

10 本方法的灵敏度

各抗生素检出限为 $20 \mu\text{g/L}$ 。

附录 A
(资料性)
试纸条和试纸条测试流程

A.1 试纸条

取标准试纸一张，带黑色横线的为检测面。

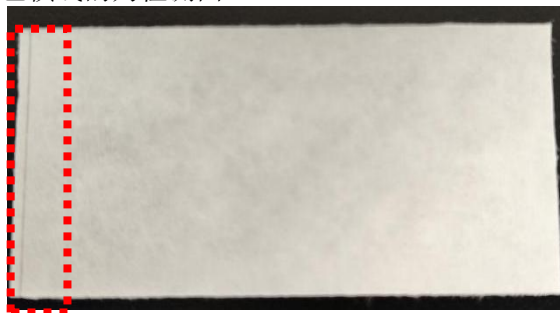


图 A.1 试纸全貌

A.2 试纸检测

用移液枪量取100 μL 待测液，滴加至试纸上。单张检测试纸最大可检测8个点。

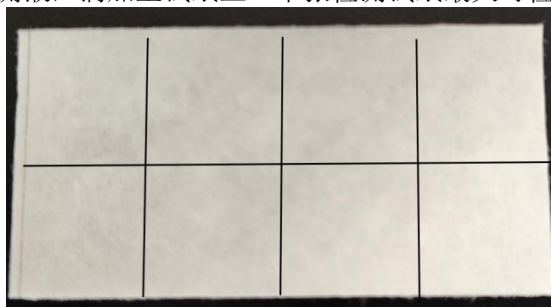


图 A.2 试纸检测区域

A.3 试纸加样

滴加待测液后，吹风机吹干。

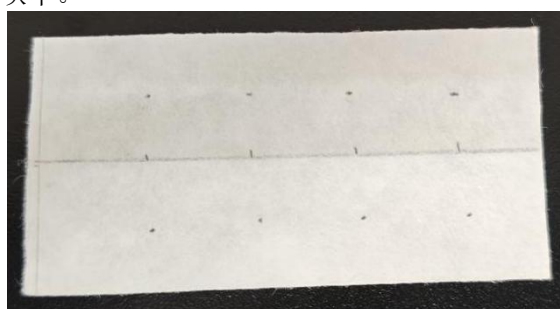


图 A.3 试纸加样后状态

A.4 标准色卡对比

待检测点风干后，找光线较暗处使用手持紫外灯照射，并与标准色卡进行对比获得大致浓度。

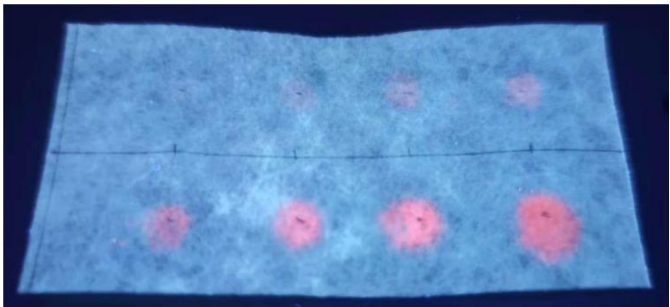


图 A.4 标准色卡

A.5 定量检测

对待测液进行定量检测，需要手机下载APP“色采”，拍摄在紫外灯（365 nm）下的荧光照片。



图 A.5 色采 APP

A.6 取点

打开采集的荧光照片，随后依次取点，每个待测点建议取3个R值，随后带入标准方程计算具体浓度。

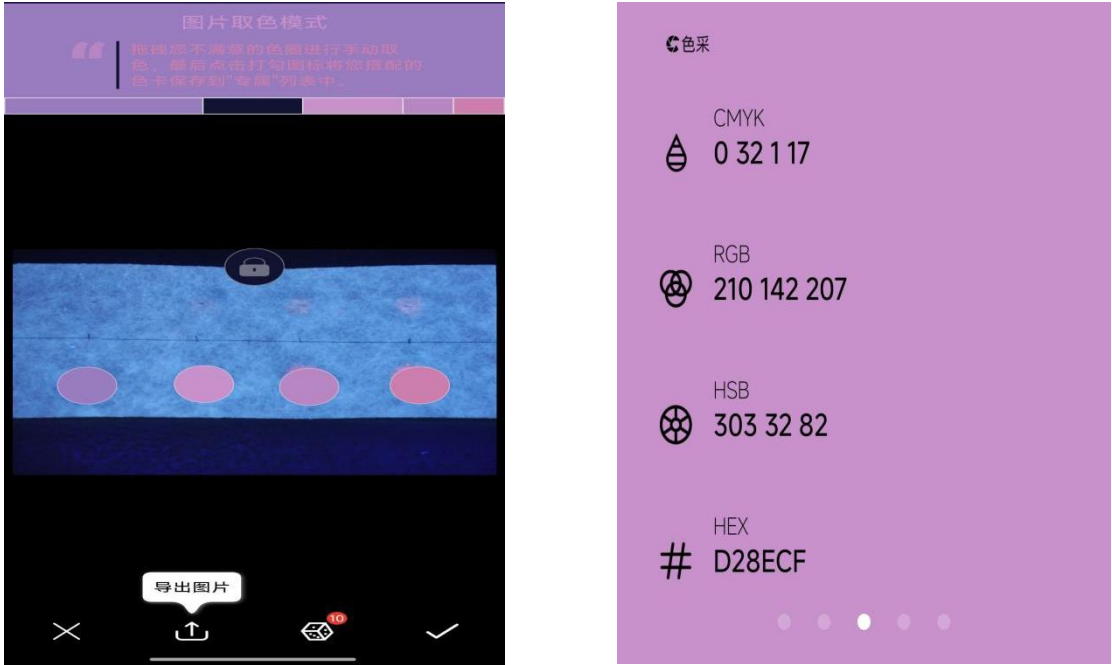


图 A.6 选取 3 个以上的色点以及色点具体 RGB 值

A.7 浓度计算

A.7.1 带入标准方程计算待测液实际浓度。

A.7.2 检测范围：0.1–2.00 $\mu\text{g mL}^{-1}$

A.7.3 计算公式：

$$R = 45.918[C] + 126.04 (R^2 = 0.9553) \dots\dots\dots (A. 1)$$

式中：

R ：RGB中的红值；

C ：四环素浓度 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)。

A. 8 标准线性方程

见图A. 7。

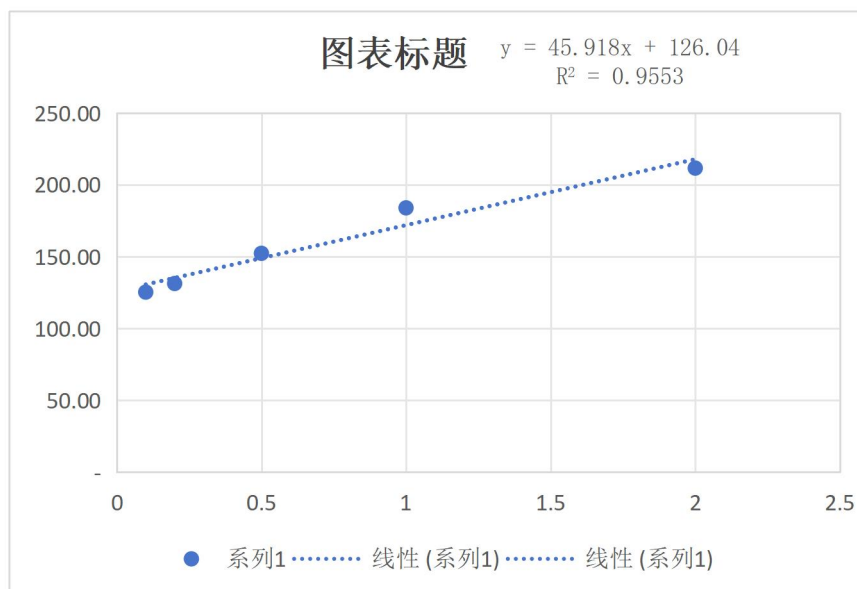


图 A. 7 标准线性方程