

## 饲料中三聚氰胺的 ELISA 检测方法的探讨

郭洁<sup>1</sup>, 李宏<sup>1</sup>, 贾青<sup>1</sup>, 杨汉卿<sup>1</sup>, 陈瑛<sup>2</sup>, 冯西辉<sup>1</sup>

(1. 农业部饲料质量监督检验测试中心, 西安 710016; 2. 铜川市印台区畜牧站, 陕西 铜川 727000)

**摘要:** 试验利用 BRAXIS 试剂盒和自制(经气相色谱质谱法确证不含三聚氰胺)三聚氰胺添加量为 2 mg/kg 的配合料和浓缩料作为阳性对照样品, 对 100 批次饲料产品的进行了三聚氰胺筛选, 并将两种方法的筛选结果按照 NY/T1372-2007 中的气相色谱质谱法进行了确证和比较。试验结果表明: 利用三聚氰胺添加量为 2 mg/kg 配合料和浓缩料为阳性对照样品, 对样品的筛选结果, 要比使用 BRAXIS 试剂盒的内制曲线筛选的结果, 产生的假阳性少, 准确率相对要高。

**关键词:** 三聚氰胺; 检测; ELISA 方法

中图分类号: S816.17

文献标识码: A

文章编号: 1008-0864(2009)S1-0050-02

## Discussion on Melamine Determination in Feed by ELISA Method

GUO Jie<sup>1</sup>, LI Hong<sup>1</sup>, JIA Qing<sup>1</sup>, YANG Han-qing<sup>1</sup>, CHEN Ying<sup>2</sup>, FENG Xi-hui<sup>1</sup>

(1. Feed Quality Supervision and Testing Center, Ministry of Agriculture, Xi'an 710016;

2. Tongchuan City Yintai District Animal Husbandry Station, Shaanxi Tongchuan 727000, China)

**Abstract:** The research made use of BRAXIS kit and self-made compound and concentrated feed (via gas chromatography-mass spectrometry confirmed melamine-free) that melamine adding amount is 2 mg/kg as a positive control sample, screened melamine in 100 batches of pig and chicken feed products. Screening results of two methods in accordance were confirmed and compared with NY/T1372-2007 gas chromatography-mass spectrometry. The results showed that: the use of compound and concentrated feed that melamine adding amount is 2mg/kg as a positive control sample, the results were in fewer false-positive rate and higher accuracy than the use of BRAXIS Kit for the results of screening within the system of curves.

**Key words:** melamine; determination; ELISA method

饲料中三聚氰胺的检测方法有 ELISA 法、液相法、气相色谱质谱法三种。ELISA 法操作简便, 检测速度快, 但假阳性和假阴性高; 液相法的假阳性较少, 但分析速度慢, 而且色谱峰的分离度受流动相的影响较为明显, 导致定性与定量困难。气相色谱质谱法的分析速度与液相法相当, 其优点是准确率高, 但仪器昂贵, 检测成本高, 过程烦琐。面对大批量样品检测, 利用液相法和气相色谱质谱法, 想在短时间内得到检测结果, 显然很困难。那么, 能不能利用 ELISA 法, 既能提高检测速度又能避免大量假阳性的出现呢? 我们分别以 BRAXIS 试剂盒方法, 使用其内制曲线和经确证不含三聚氰胺的三聚氰胺添加量为 2 mg/kg 的浓缩料和配合料为阳性对照, 以液相法的 2 mg/kg

检测限为控制线, 同时对 100 批次饲料产品进行了检测。并将筛选的三聚氰胺阳性样品进行气相色谱质谱法确证。通过比较两种筛选结果与气相色谱质谱法检测结果的重合度, 从而确定以自制类似待测样品成分, 并经确证不含三聚氰胺的三聚氰胺添加量为 2 mg/kg 的阳性对照, 对于大批量样品中三聚氰胺快速检测的可行性。

### 1 试验材料与方法

#### 1.1 试验仪器与材料

酶标仪、BRAXIS 试剂盒、GC-MS (6890N/5973I)、高速冷冻离心机、固相萃取装置、微量加液器、恒温干燥箱、氮气以及经检测不含三聚氰胺

收稿日期: 2009-10-15; 修回日期: 2009-11-20

作者简介: 郭洁, 助理畜牧师, 主要从事饲料产品质量安全检验工作。Tel: 029-86253278

的饲料样品、100 批猪鸡饲料。

### 1.2 主要试剂及溶液

蒸馏水、洗瓶、衍生化试剂: N, O—双三甲基硅基三氟乙酰胺 (BSTFA): 三甲基氯硅烷 (TMCS) = 99:1; 吡啶、三氯乙酸溶液 (10 g/L 与 50 g/L)、乙酸铅溶液 (22 g/L 与 10 g/L)、三聚氰胺标准溶液等。

### 1.3 试验方法

称取 1.000 g (精确到 0.001 g) 猪鸡饲料样品, 使用 BRAXIS 试剂盒及方法, 以 NY/T1372-2007 中液相法 2 mg/kg 的检测限为控制线, 以 BRAXIS 试剂盒的内制曲线和确证不含三聚氰胺的三聚氰胺添加量为 2 mg/kg 的浓缩料和配合料为阳性对照, 同时对 100 批次猪鸡饲料进行检测。并将两种筛选结果同时利用 NY/T1372-2007 中气相色谱质谱法进行确证。

## 2 结果与分析

使用 BRAXIS 试剂盒及方法, 以 2 mg/kg 为控制点, 100 批次样品中被检出的三聚氰胺阳性样品:

SJ-423、SJ-424、SJ-427、SJ-428、SJ-431、SJ-432、SJ-437、SJ-438、SJ-439、SJ-442、SJ-450、SJ-453、SJ-460、SJ-467、SJ-474、SJ-475、SJ-481、SJ-484、SJ-486、SJ-489、SJ-497、SJ-501、SJ-502、SJ-503、SJ-512 共计 25 个阳性样品被检出, 检出率为 25%。

使用三聚氰胺的添加量为 2 mg/kg 的配合料和浓缩料为阳性对照, 对 100 批次猪鸡饲料样品进行筛选的结果。

SJ-423、SJ-424、SJ-427、SJ-431、SJ-438、SJ-440、SJ-467、SJ-474、SJ-475、SJ-486、SJ-489、SJ-497、SJ-501、SJ-502 共计 14 个阳性样品被检出, 检出率为 14%。

利用气相色谱质谱法进行确证的最后结果为:

SJ-423、SJ-424、SJ-427、SJ-474、SJ-475、SJ-486、SJ-497、SJ-501、SJ-502 共计 9 个样品被确证含三聚氰胺。检出率为 9%。

## 3 讨论

试验结果表明: 使用经气相色谱质谱联用仪确证不含三聚氰胺的三聚氰胺添加量为 2 mg/kg 样品作为控制线, 对 100 批次样品进行筛选的结果, 要比使用 BRAXIS 试剂盒的内制曲线, 以 2 mg/kg 为控制点, 检出的假阳性样品少, 而且与 GC/MS 法最后确证结果重合度高。

饲料样品的成分比较复杂, 仅浓缩料的成分就达 60 余种, 配合料中的成分达 100 多种, 除蛋白、脂肪、水分、碳水化合物外, 许多维生素、矿质离子的活性较强, 利用 ELISA 方法对饲料中三聚氰胺进行筛选, 首先要进行修饰, 在修饰的过程中结构发生变化, 当参与酶联免疫反应时, 许多活度较高的成分就会与暴露的底物产生竞争性抑制, 这可能是 ELISA 方法在液态奶中检测效果好, 而在饲料检测中效果差, 产生假阳性和假阴性多的主要原因。

我们以类似待测样品成分的配合料和浓缩料作为模态样本基质参考, 以 2 mg/kg 的三聚氰胺添加作为阳性对照和控制线, 考虑到样品基质产生的干扰, 克服了试剂盒基质的单一性。所以对样品进行筛选的结果, 要比使用 BRAXIS 试剂盒的内制曲线, 以 2 mg/kg 为控制点被检出的结果更为可靠, 而且与利用经气相色谱质谱法进行确证的最后结果的重合度要高, 准确率相对要高。

以类似待测样品成分, 且经确证不含三聚氰胺的三聚氰胺添加量为阳性对照, 以 2 mg/kg 为控制线, 利用 ELISA 方法, 对于大批量样品中三聚氰胺检测, 速度快, 检测结果与气相色谱质谱法进行确证的结果重合度要高, 准确度高, 在目前不失为一种较快较好的方法。

### 参 考 文 献

- [1] 陈锡龙, 黄 瑾, 钱莘莘. 应用酶联免疫吸附法测定饲料中三聚氰胺的研究[J]. 贵州畜牧兽医, 2008, 6: 5-6.
- [2] 李俊玲, 王 林, 宫玲玲, 等. 酶联免疫吸附法及饲料中的检测对象[J]. 山东畜牧兽医, 2004, 1: 30-31.
- [3] 饶钦雄, 童 敬, 王金芳, 等. 饲料及食品中三聚氰胺的毒性及残留检测方法的研究进展[J]. 饲料工业, 2009, 30(11): 34-36.
- [4] 万美芳. 饲料中三聚氰胺及检测方法的研究[J]. 饲料研究, 2009, 9: 7-11.