# 食品中玉米赤霉烯酮的快速检测 胶体金免疫层析法（KJ201913）

来源：网络 作者：青灯古佛 更新时间：2024-08-07

*附件13食品中玉米赤霉烯酮快速检测胶体金免疫层析法(KJ201913)1.范围本标准规定了食品中玉米赤霉烯酮快速检测胶体金免疫层析法。本标准适用玉米、小麦及其碾磨加工品中玉米赤霉烯酮快速筛选测定。第一法比色法2.原理本方法采用竞争抑制免疫层...*

附件13

食品中玉米赤霉烯酮快速检测

胶体金免疫层析法

(KJ201913)

1.范围

本标准规定了食品中玉米赤霉烯酮快速检测胶体金免疫层析法。

本标准适用玉米、小麦及其碾磨加工品中玉米赤霉烯酮快速筛选测定。

第一法

比色法

2.原理

本方法采用竞争抑制免疫层析原理。样品中的玉米赤霉烯酮经提取后与胶体金标记的特异性抗体结合，抑制抗体和试纸条中检测线（T线）上的抗原结合，从而导致检测线颜色深浅的变化。通过检测线（T线）与控制线（C线）颜色深浅的比较，对样品中玉米赤霉烯酮进行结果判定。

3.试剂及材料

除另有规定外，本方法所用试剂均为分析纯，试验用水为GB/T

6682规定的二级水。

3.1.试剂

3.1.1.乙腈。

3.1.2.甲醇+水（7+3，体积比）。

3.1.3.稀释缓冲液（胶体金免疫层析检测试剂盒专用提取液或根据产品使用说明书配置）。

3.2.参考物质

玉米赤霉烯酮的中文名称、英文名称、CAS登录号、分子式、相对分子量见表1，纯度≥95%。

表1

玉米赤霉烯酮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

中文名称

英文名称

CAS登录号

分子式

相对分子量

玉米赤霉烯酮

Zearalenone

17924-92-4

C18H22O5

318.36

注：或等同可溯源物质。

3.3.标准溶液的配制

3.3.1.标准储备液：称取适量标准品，用乙腈（3.1.1）溶解，配制成浓度为100

μg/mL的标准储备液。﹣18

℃避光保存，有效期6个月。

3.3.2.标准工作液：准确量取标准储备液（100

μg/mL）（3.3.1）100

μL，置于10

mL容量瓶中，用乙腈（3.1.1）稀释至刻度，摇匀，制成浓度为1

μ稀/mL的玉米赤霉烯酮标准工作液，2

℃～8

℃避光保存，有效期1个月。

3.4.材料

玉米赤霉烯酮胶体金免疫层析试剂盒，适用基质为玉米、小麦及其碾磨加工品。

4.仪器和设备

4.1.移液器：100

μL、200

μL、1

mL和5

mL。

4.2.旋涡混合器。

4.3.离心机。

4.4.电子天平：感量为0.01

g。

5.环境条件

环境温度：20

℃～30

℃。

空气相对湿度：最佳测定湿度45

%～65

%。若湿度低于45

%，相应延长待测液-试纸条反应时间，以质控实验为准；若湿度为65

%～80

%，微孔与试纸条拆开后立即使用，避免微孔与试纸条长时间暴露在空气中受潮；避免在湿度80

%以上湿度进行实验。

6.分析步骤

6.1.试样制备

按GB

5491扦取的样品充分碾磨或粉碎混匀，过40目筛。

6.2.提取

准确称取试样5.0

g（精确至0.01

g）于50

mL离心管中，加入20

mL

甲醇+水溶液（3.1.2），用旋涡混合器振荡3

min，离心分层或静置分层，上清液备用。

准确移取0.8

mL稀释缓冲液（3.1.3）于1.5

mL离心管中，加入25

μL上清液，混匀，待检。

6.3.测定步骤

依检验所需，取相应数量的金标微孔和试纸条，做好标记。吸取待检液200

μL于金标微孔中，抽吸至孔底的紫红色颗粒完全溶解，孵育10

min。将试纸条插入金标微孔中，反应3

min～5

min。

从金标微孔中取出试纸条，弃去试纸条下端的样品垫，观察显色情况，进行结果判定。（若试剂盒冷藏保存，使用前需恢复至实验环境温度。）

7.质控试验

每批样品应同时进行空白试验和阳性质控试验，可根据检测样品量制定适宜频次的质控试验。

7.1.空白试验

7.1.1.试剂空白试验：除不称取试样外，均按6.2和6.3所述步骤操作。

7.1.2.基质空白试验：准确称取空白试样，按6.2和6.3所述步骤操作。

7.2.阳性质控试验

准确称取玉米赤霉烯酮含量为60

μg/kg的质控样，按6.2和6.3步骤操作。或准确称取空白试样，加入一定体积的玉米赤霉烯酮标准工作液（3.3.2），使玉米赤霉烯酮添加量为60

μg/kg，按6.2和6.3步骤操作。

8.结果判定

通过对比控制C线和检测T线的颜色深浅进行结果判定。

8.1.无效结果

无论样品中有无玉米赤霉烯酮存在，控制C线均会出现一条紫红色条带。若C线未显色，表明操作不正确或试纸条已失效，检测结果无效（见图1）。

无效

图1

试纸条目视判定图

8.2.阳性结果

控制C线显色，检测T线显色比C线浅或者没有颜色，判定为阳性（见图2）。

8.3.阴性结果

控制C线显色，检测T线显色比C线深或者一致，判定为阴性（见图2）。

比色法

图2

试纸条目视判定图

8.4.质控试验要求

空白试验结果应为阴性，阳性质控试验结果应为阳性。

第二法

消线法

9.原理

本方法采用竞争抑制免疫层析原理。样品中的玉米赤霉烯酮经提取后与胶体金标记的特异性抗体结合，抑制抗体和试纸条中检测线（T线）上的抗原结合，从而导致检测线颜色深浅的变化。通过T线显色与否进行结果判定。

10.试剂及材料

同3。

11.仪器和设备

同4。

12.环境条件

环境温度：10

℃～40

℃。

空气相对湿度：同5。

13.分析步骤

13.1.试样制备

同6.1。

13.2.提取

准确称取试样5.0

g（精确至0.01

g）于50

mL离心管中，加入12.5

mL甲醇+水溶液（3.1.2），用旋涡混合器振荡3

min，离心分层或静置分层，上清液备用。

准确移取400

μL稀释缓冲液（3.1.3）于1.5

mL离心管中，加入上清液(小麦50

μL，玉米80

μL），混匀，待测。

13.3.测定步骤

同6.3。

14.质控试验

每批样品应同时进行空白试验和阳性质控试验，可根据检测样品量制定适宜频次的质控试验。

14.1.空白试验

14.1.1.试剂空白试验：除不称取试样外，均按13.2和13.3所述步骤操作。

14.1.2.基质空白试验：准确称取空白试样，按13.2和13.3所述步骤操作。

14.2.阳性质控试验

准确称取玉米赤霉烯酮含量为60

μg/kg的质控样，按13.2和13.3步骤操作。或准确称取空白试样，加入一定体积的玉米赤霉烯酮标准工作液（3.3.2），使玉米赤霉烯酮添加量为60

μg/kg，按13.2和13.3步骤操作。

15.结果判定

通过观察检测T线显色与否进行结果判定。

15.1.无效

同8.1

15.2.阳性结果

控制C线显色，检测T线不显色，判定为阳性（见图3）。

15.3.阴性结果

控制C线显色，检测T线显色，判定为阴性（见图3）。

消线法

图3

试纸条目视判定图

16.质控试验要求

同8.4

第三法

读数仪法

17.具体检测步骤及结果判定可参考相应的说明书操作，质控试验参照第一法与第二法。

18.结论

本方法筛查出的阳性样品进行确认时，应按GB

2761指定方法标准检测并判定。

19.性能指标

19.1.检出限

μg/kg。

19.2.灵敏度

灵敏度≥95%。

19.3.特异性

特异性≥90%。

19.4.假阴性

假阴性≤5%。

19.5.假阳性

假阳性≤10%。

注：性能指标计算方法见附录A。

20.其他

本方法所述试剂、试剂盒信息及操作步骤是为了方便方法使用者，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，满足本方法规定的各项性能指标时方可使用。

本方法参比标准为GB

5009.209-2024

食品安全国家标准食品中玉米赤霉烯酮的测定。

附录A

快速检测方法性能指标计算表

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+N21

N.2=N12+N22

N=N1.+N2.或N.1+N.2

显著性差异（c2）

c2=（½N12-N21½-1）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样品中实际的公议值结果；

b由玉米赤霉烯酮胶体金试纸条检验方法得到的结果。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。

本方法起草单位：成都市食品药品检验研究院。

本方法参与单位：江南大学、国家粮食局科学研究院、广东省食品检验所、山东省食品药品检验研究院、浙江省食品药品检验研究院。

本方法主要起草人：肖全伟、姚蕾珺、王昕、张敏、胥传来、田洪芸、沈泓、周露

本文档由站牛网zhann.net收集整理，更多优质范文文档请移步zhann.net站内查找