



中华人民共和国粮食行业标准

LS/T 6143—2023

粮油检验 谷物中黄曲霉毒素 B₁ 的测定 时间分辨荧光免疫层析定量法

Inspection of grain and oils—Determination of aflatoxin B₁ in cereals—
Time-resolved fluorescent immunochromatographic method

2023-03-20 发布

2023-09-20 实施

国家粮食和物资储备局 发布
中国标准出版社 出版

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。

本文件由国家粮食和物资储备局提出。

本文件由全国粮油标准化技术委员会(SAC/TC 270)归口。

本文件起草单位：国家粮食和物资储备局科学研究院、中国农业科学院油料作物研究所、北京智云达科技股份有限公司、江南大学、中储粮成都储藏研究院有限公司、河南省食品和盐业检验技术研究院、遂宁市粮食质量监督检验站、广西壮族自治区粮油质量检验中心、北京市粮油食品检验所、福建省粮油质量监测所、河北省粮油质量检测中心、内蒙古自治区粮油质量检测中心、北京市农林科学院。

本文件主要起草人：叶金、王松雪、张冰、喻理、孙秀兰、兰盛斌、陈晋莹、王文珺、姬建生、李小明、伍先绍、杨宏伟、黄建立、易伟民、邱庆丰、王蒙、桑华春。

粮油检验 谷物中黄曲霉毒素 B₁ 的测定

时间分辨荧光免疫层析定量法

1 范围

本文件规定了时间分辨荧光免疫层析定量法测定谷物中黄曲霉毒素 B₁ 的原理、试剂及材料、仪器及设备、样品制备、样品测定、结果表述和精密度。

本文件适用于谷物中黄曲霉毒素 B₁ 的快速检测。

本文件的方法检出限为 0.7 μg/kg, 定量限为 2.0 μg/kg。

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 2761 食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量

GB 5009.22—2016 食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定

GB/T 5491 粮食、油料检验 扦样、分样法

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

试样中黄曲霉毒素 B₁ 与含镧-螯合物的聚苯乙烯微球标记的特异性抗体发生结合后, 抑制了层析过程中抗体与硝酸纤维膜检测线上黄曲霉毒素 B₁-BSA 偶联物的免疫反应, 使检测线上荧光强度降低, 通过荧光强度变化和荧光分析仪的内置曲线自动计算出试样中黄曲霉毒素 B₁ 的含量。

4 试剂与材料

除另有说明外, 所用试剂均为分析纯, 实验室用水应符合 GB/T 6682 中三级水的要求。

4.1 甲醇

4.2 甲醇溶液: 取 70 mL 甲醇加入 30 mL 水, 混匀。

4.3 样品稀释液: 由产品配套提供, 或根据产品说明书配制。

4.4 黄曲霉毒素 B₁ 时间分辨荧光免疫层析卡(以下简称“免疫层析卡”): 经测定免疫层析卡的性能应符合附录 A 的规定, 具体储存条件参照使用说明。

5 仪器与设备

5.1 天平: 感量 0.01 g。

5.2 粉碎机: 电机转速 ≥ 1 000 r/min, 可使试样粉碎后全部通过 0.85 mm 筛孔。

5.3 离心机: 转速 ≥ 3 000 r/min。

5.4 振荡器:转速 $\geq 2\ 500$ r/min。

5.5 离心管:50 mL 和 1.5 mL。

5.6 黄曲霉毒素 B₁ 时间分辨荧光分析仪(以下简称“荧光分析仪”):激发波长为 365 nm \pm 5 nm,发射波长为 615 nm \pm 5 nm。

6 样品制备

6.1 扦样与分样

按照 GB/T 5491 执行,在采样过程中,应防止样品污染,取代表性样品不少于 500 g。

6.2 样品粉碎

用粉碎机(5.2)将样品粉碎至全部通过 0.85 mm 筛孔,充分混合均匀。

6.3 样品处理

准确称取 5 g(精确到 0.01 g)样品(6.1)于 50 mL 离心管(5.5)中,加入 25 mL 甲醇溶液(4.2),用振荡器(5.4)振荡提取 5 min,静置 1 min,取 50 μ L 提取液加入 650 μ L 样品稀释液(4.3)混合,以 3 000 r/min 离心 3 min,取上清液待测。

注:不同厂家所用的样品处理方法可能会略有不同,按照产品使用说明中规定方法进行操作。

7 样品测定

7.1 免疫层析卡(4.4)取出 10 min,恢复至室温后待用。

7.2 荧光分析仪(5.6)读取标准曲线后进入测试界面,准确移取 100 μ L 待测溶液(6.3),加入免疫层析卡加样孔中,孵育 10 min 后,立即将免疫层析卡放入荧光分析仪中进行检测(1 min 后读取的检测结果显示无效)。

注:不同厂家检测卡所用的样品测定可能会略有不同,按照产品使用说明中规定方法进行操作。

8 结果表述

试样中黄曲霉毒素 B₁ 含量由荧光分析仪自动计算并显示,单位为微克每千克(μ g/kg)。计算结果以重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的算术平均值表示,保留 3 位有效数字。当结果超过 GB 2761 限量要求或临界时,应按 GB 5009.22—2016 中第一法、第二法或第三法确认。

9 精密度

9.1 重复性

在重复性条件下获得的 2 次独立测试结果的绝对差值大于重复性限值(r)的情况应不超过 5%,黄曲霉毒素 B₁ 含量的重复性限值(r)见附录 B。

9.2 再现性

在再现性条件下获得的 2 次独立测试结果的绝对差值大于再现性限值(R)的情况应不超过 5%,黄曲霉毒素 B₁ 含量的再现性限值(R)见附录 B。

附 录 A

(规范性)

时间分辨荧光免疫层析法产品的性能评价要求

本附录规定了时间分辨荧光免疫层析卡的技术性能要求,用于对每批次时间分辨荧光免疫层析法产品的技术性能进行验证,以确认其适用于本方法。

A.1 检出限和定量限

通过对 20 个独立的空白样品进行测定,检出限以空白样品 20 次测定结果的均值加 3 倍标准偏差计算;定量限以空白样品 20 次测定结果的均值加 10 倍标准偏差计算,其结果应小于或等于产品标示值并满足本标准。

A.2 准确性和重复性

采用高(25.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、中(10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、低(2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$)3 个含量水平的自然污染有证标准物质或采用国家标准方法定值的自然污染样品,每个含量水平测试不低于 6 次。针对每个含量水平的准确率应在 80%~120%容许范围内,重复性相对标准偏差应小于 15%。

附录 B

(资料性)

实验室间比对试验统计结果

时间分辨荧光免疫层析法产品的性能评价要求组织 6 家实验室对 10 个不同样品进行实验室间比对试验,建立了本方法的精密度,结果按 GB/T 6379.1 和 GB/T 6379.2 统计分析,统计结果见表 B.1。

表 B.1 实验室间比对试验统计结果

样品	玉米				小麦			糙米		
	低含量	中含量	高含量	有证标准物质	低含量	中含量	高含量	低含量	中含量	高含量
参加实验室的数目	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
样品的数量	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18
去除离群值后的测试实验室数量	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
所有可接受结果的数量	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18
平均值/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	9.96	20.55	31.25	27.82	5.04	10.10	20.60	5.08	10.70	21.28
重复性的标准偏差 (S_r)/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	0.73	1.65	2.04	1.24	0.37	0.94	1.65	0.25	1.01	1.36
重复性的变异系数/%	7.29	8.01	6.53	4.47	7.27	9.35	8.02	4.92	9.40	6.38
重复性限值 (r)/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	2.05	4.66	5.78	3.52	1.04	2.67	4.68	0.71	2.85	3.84
再现性的标准偏差 (S_R)/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	0.73	1.69	2.21	1.52	0.39	0.96	1.65	0.26	1.02	1.36
再现性的变异系数/%	7.29	8.25	7.08	5.46	7.81	9.54	8.02	5.05	9.51	6.38
再现性限值 (R)/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	2.05	4.80	6.27	4.30	1.11	2.73	4.68	0.73	2.88	3.84
HorRat 值	0.65	0.82	0.75	0.57	0.63	0.85	0.80	0.41	0.85	0.63
回收率/%	99.59	102.73	104.18	—	100.73	101.05	102.98	101.63	107.04	106.39

参 考 文 献

- [1] GB/T 6379.1 测定方法与结果的准确度(正确度与精密度) 第1部分:总则与定义
- [2] GB/T 6379.2 测定方法与结果的准确度(正确度与精密度) 第2部分:确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法
-