

LS

中华人民共和国粮食行业标准

LS/T XXXXX—XXXX

粮油检测 谷物中玉米赤霉烯酮的测定 时
间分辨荧光免疫层析快速定量法

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

(征求意见稿)

(本稿完成日期：2022年9月20日)

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

国家粮食和物资储备局 发布

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。

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：中国农业大学、国家粮食和物资储备局科学研究院、北京维德维康生物技术有限公司、江南大学、中储粮成都储藏研究院有限公司、上海市农业科学院、安徽省粮油产品质量监督检测站、广西壮族自治区粮油质量检验中心、中储粮江苏质检中心有限公司。

本文件主要起草人：温凯、叶金、刘洪美、马立才、孙秀兰、杨柳、陈晋莹、韩铮、胡斌、伍先绍、纪剑、张佳林、聂冬霞、袁华山、孙嘉笛、轩志宏。

粮油检测 谷物中玉米赤霉烯酮的测定

时间分辨荧光免疫层析快速定量法

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玉米赤霉烯酮的原理、试剂及材料、仪器及设备、样品制备、样品测定、结果表述和重复性。

本文件适用于小麦、玉米等谷物中玉米赤霉烯酮的快速定量检测。

本文件的方法检出限为12 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

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 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

GB/T 27404 实验室质量控制规范 食品理化检测

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样中玉米赤霉烯酮与含镧-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素膜检测线上玉米赤霉烯酮-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标准曲线，自动计算出试样中玉米赤霉烯酮的含量。

5 试剂及材料

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中一级水的要求。

5.1 玉米赤霉烯酮时间分辨荧光免疫层析卡（以下简称检测卡）：性能应满足附录 A 的要求，不同品牌不同批次的检测卡使用前，应按照附录 A 进行检测卡性能测定。

5.2 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 玉米赤霉烯酮标准储备溶液。

5.3 0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 玉米赤霉烯酮标准工作溶液：准确吸取 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 玉米赤霉烯酮标准储备溶液 100 μL 于 10 mL 容量瓶中，用水定容，浓度为 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。再取此稀释溶液 1.0 mL 于 10 mL 容量瓶中，用水定容，则浓度为 0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准工作溶液。

5.4 提取液：70%（体积分数）甲醇水溶液

5.5 样品稀释液：由荧光检测卡配套提供，或根据产品说明书配制。

5.6 离心管：50 mL 和 1.5 mL。

6 仪器及设备

6.1 粉碎机：电机转速 ≥ 1000 r/min。

6.2 分样筛：1 mm 孔径。

6.3 天平：分度值 0.01 g。

6.4 离心机： \geq 转速 4000 r/min。

6.5 振荡器：转速 ≥ 2500 r/min。

6.6 计时器。

6.7 时间分辨荧光分析仪：在激发波长为 $365\text{ nm} \pm 5\text{ nm}$ ，检测波长为 $615\text{ nm} \pm 5\text{ nm}$ 条件下测定。

7 样品制备

7.1 扦样与分样

按照 GB 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。

7.2 样品粉碎

用粉碎机（6.1）将被测样品粉碎至全部通过 1 mm 分样筛（6.2），充分混合均匀。

7.3 待测溶液制备

用天平（6.3）准确称取粉碎后的样品 5.0 g（精确到 0.01 g）于 50 mL 离心管（5.6）中，加入 20 mL 样品提取液。振荡提取 1 min~3 min，静置 3 min，过滤或离心得上清液。取 450 μL 室温（ $25\text{ }^\circ\text{C} \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ ）下的样品稀释液（5.5）与 50 μL 上清液涡旋混合，此溶液为待测溶液。

注：不同厂家检测卡所用的样品制备方法可能不同，应按照产品使用说明中规定方法进行。

8 样品测定

8.1 将检测卡（5.1）从冷藏状态（ $2\text{ }^\circ\text{C} \sim 8\text{ }^\circ\text{C}$ ）取出，室温平衡 15 min。

8.2 仪器校准：选取测试项目为玉米赤霉烯酮，准确移取 100 μL 玉米赤霉烯酮标准溶液（5.3）通过样品稀释液稀释 10 倍后，加到检测卡加样小孔中，室温孵育 10 min 后，将其放入时间分辨荧光分析仪（6.7）中，点击仪器主界面“测量”菜单中“标准测量”按钮，然后按“是”按钮进行校准。

8.3 样品检测：准确移取 100 μL 待测溶液（7.3），加到检测卡加样小孔中，室温孵育 10 min 后，将其放入时间分辨荧光分析仪（6.7）中，点击仪器主界面“测量”菜单进行测量，即可读取样品中玉米赤霉烯酮的含量。

注：不同厂家时间分辨荧光分析仪读取界面可能不同，应按照产品使用说明中规定进行。

9 结果表述

试样中玉米赤霉烯酮含量由时间分辨荧光分析仪自动计算并显示，单位为微克/千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）。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，保留至小数点后两位。

10 重复性

在同一实验室，由同一操作人员，使用同一仪器，按照相同的测定方法，对同一被测试对象进行相互独立测试获得的两次独立测试结果的绝对差值大于其算术平均值20%的情况不超过5%。

附 录 A

(规范性)

时间分辨荧光免疫层析卡性能评价要求

本附录规定了时间分辨荧光免疫层析卡的技术性能要求,用于对时间分辨荧光免疫层析法检测类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 (LOD) 及定量限 (LOQ)

通过对20个独立的空白样品进行测定,检出限LOD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LOQ以空白样品20次测定结果的均值加10倍标准偏差计算。

A.2 准确性

采用高(120 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、中(60 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、低(30 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 3个浓度水平的实物标准样品,每个浓度水平测试不低于6次,在 $P = 0.05$ 水平时,采用配对t检验法比较每个浓度水平的检测结果与给定值不存在显著差异。

A.3 重复性

采用同一台时间分辨荧光分析仪,6次重复测定含中等水平玉米赤霉烯酮的小麦或玉米样品,两次独立测试结果的绝对差值大于其算术平均值20%的情况不超过5%。

A.4 批间稳定性

采用含中间浓度水平玉米赤霉烯酮的实物标准样品,检测卡不低于6个批次,每个批次测定不低于2次,批内测定取平均值,计算层析卡批间变异系数,变异系数(CV) $\leq 15\%$ 。
