

ICS XXX

CCS XXX

# 团体标准

T/CCOA XXX—XXXX

## 谷物中脱氧雪腐镰刀菌烯醇和玉米 赤霉烯酮同时测定荧光免疫层析快 速定量法

Simultaneous determination of deoxynivalenol and zearalenone in  
cereals by rapid fluorescence immunochromatographic method

20XX-XX-XX 发布

20XX-XX-XX 实施

中国粮油学会 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》。

本文件由中国粮油学会提出。

本文件主要起草单位：国家粮食和物资储备局科学研究院、江苏省苏微微生物研究有限公司、国家食品安全风险评估中心、中储粮成都储藏研究院有限公司、中储粮江苏质检中心有限公司、广西—东盟食品检验检测中心、广西壮族自治区粮油质量检验中心、安徽省粮油产品质量监督检测站、江苏省粮油质量监测中心、南京财经大学等

本文件主要起草人：叶金、刘洪美、张海涛、韩小敏、陈晋莹、李丽、袁华山、王海波、伍先绍、胡斌、莫晓嵩、汪海峰、焦梓毅、杨婷婷、祁苏娴、陆廷瑾等。

---

# 谷物中脱氧雪腐镰刀菌烯醇和玉米赤霉烯酮同时测定荧光免疫层析快速定量法

## 1. 范围

本文件适用于稻谷、玉米、小麦、大豆等粮食及其加工产品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇和玉米赤霉烯酮快速同时定量检测。

## 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 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 27404-2008 实验室质量控制规范 食品理化检测

LS/T 6402-2017 粮油检验 设备和方法标准适用性验证及结果评价一般原则

## 3. 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

## 4. 原理

基于抗原抗体免疫性竞争结合的原理，待测定样本中如果含有 DON、ZEN 等待测抗原，则在层析涌动过程中会与结合垫上荧光微球标记的特异性单克隆抗体反应，抑制带有荧光标记物的抗体与固相在 NC 膜检测线上 DON-BSA 与 ZEN-BSA 固相物的结合。待测物中 DON 与 ZEN 含量不尽相同，结合于检测线上的荧光标记的抗体量也不同，相应的检测线上微球的荧光强度也有强弱。使用多通道时间分辨荧光免疫分析仪对检测线进行扫描，仪器将光信号转换为电压信号，经过放大输入到模拟数字转换器，将模拟信号转换为数字信号，通过读数仪微处理器预置代码程序分别计算检测线 T1、T2 与 C 的荧光强度比值，结合标准定量

---

曲线即可一体式同步定量测定样本中 DON 与 ZEN 的含量。

## 5. 材料和试剂

除另有规定，所有试剂均为分析纯及以上，水为 GB/T 6682 规定的二级及以上水。

5.1 脱氧雪腐镰刀菌烯醇/玉米赤霉烯酮一体式时间分辨荧光免疫层析定量卡(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 µg/mL脱氧雪腐镰刀菌烯醇标准储备溶液。

5.3 1 µg/mL玉米赤霉烯酮标准储备溶液。

5.4 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。

5.5 提取液：甲醇水溶液（60:40，体积比）。

5.6 离心管：50 mL和1.5 mL。

## 6. 标准溶液配制

### 6.1 0.1 µg/mL脱氧雪腐镰刀菌烯醇标准溶液

准确吸取10 µg/mL脱氧雪腐镰刀菌烯醇标准储备溶液（5.2）100 µL于10 mL容量瓶中，用水定容。4 °C可保存3个月。

### 6.2 0.01 µg/mL玉米赤霉烯酮标准溶液

准确吸取 1 µg/mL 玉米赤霉烯酮标准储备溶液（5.3）100 µL 于 10 mL 容量瓶中，用水定容。4 °C可保存 3 个月。

## 7. 仪器和设备

7.1 粉碎机：电机转速≥ 1000 r/min。

7.2 离心机：转速不低于 4000 r/min。

7.3 分样筛：1 mm 孔径。

---

7.4 天平：分度值 0.01 g。

7.5 振荡器：转速  $\geq 2500$  r/min。

7.6 计时器。

7.7 多通道荧光免疫分析仪：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。

## 8. 样品制备

### 8.1 扦样与分样

按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。

### 8.2 样品粉碎

用粉碎机（7.1）将被测样品粉碎至全部通过1 mm分样筛（7.3），充分混合均匀。

### 8.3 待测溶液制备

用天平（7.4）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~7 min，振荡结束后，过滤或离心得上清液。取 50  $\mu\text{L}$  上清液加入到 450  $\mu\text{L}$  室温（ $25\text{ }^\circ\text{C} \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ ）下的样品稀释液（5.5）中，涡旋混合，即为待测溶液。

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。

## 9. 样品测定

9.1 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。

9.2 仪器校准：选取测试项目为脱氧雪腐镰刀菌烯醇/玉米赤霉烯酮，准确移取 100  $\mu\text{L}$  脱氧雪腐镰刀菌烯醇标准溶液（6.1）和 100  $\mu\text{L}$  玉米赤霉烯酮标准溶液（6.2）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 3 min~10 min 后，将其放入荧光分析仪（7.7）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。

9.3 样品检测：准确移取 100  $\mu\text{L}$  待测溶液（8.3），加到检测卡加样小孔中，室温孵育 3 min~10 min 后，将其放入荧光免疫分析仪（7.7）中，点击仪器主界面“测量”菜单进行测量，即可读取样品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇和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。

---

## 10. 结果表述

试样中脱氧雪腐镰刀菌烯醇和玉米赤霉烯酮的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。

## 11. 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

本附录参照 GB/T 27404-2008 的要求,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 检出限和定量限

依据LS/T 6402-2017《粮油检验 设备和方法标准适用性验证及结果评价一般原则》中6.1的规定,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

采用本方法对添加脱氧雪腐镰刀菌烯醇和玉米赤霉烯酮的阴性小麦粉和玉米粉样品进行检测。脱氧雪腐镰刀菌烯醇/玉米赤霉烯酮添加量分别为高(2000/120  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )、中(1000/60  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )、低(500/30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )3个浓度水平,每个加标水平进行6次重复实验,计算回收率和变异系数,回收率在80%~120%之间,变异系数 $\leq 15\%$ 。

##### 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脱氧雪腐镰刀菌烯醇和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脱氧雪腐镰刀菌烯醇和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) $\leq 15\%$ 。