

饲料中赭曲霉毒素 A 的快速筛查 胶体金快速定量法

Screening of ochratoxin A in animal feeding stuffs—rapid quantitative method of colloidal gold technique

2018 - 03 - 19 发布

2018 - 09 - 20 实施

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 原理	1
4 试剂和材料	1
5 仪器和设备	1
6 样品制备与留存	2
7 检测步骤	2
8 结果表述	3
9 重复性	3
附录 A（资料性附录） 胶体金快速定量检测条性能评价要求	4

前 言

本标准按照GB/T 1.1《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》给出的规则起草。

本标准由江西省农业厅提出并归口。

本标准起草单位：江西省兽药饲料监察所、中检环贸生物技术（北京）有限公司、中国农业科学院北京畜牧研究所、双胞胎（集团）股份有限公司、江西正邦科技股份有限公司。

本标准主要起草人：杨琳芬、符金华、李瑾瑾、李华、张军民、饶正华、廖丰、刘四宁、徐国茂、董泽民、刘国花、黄艳清、邢磊、尹腾桂。

饲料中赭曲霉毒素 A 的快速筛查 胶体金快速定量法

1 范围

本标准规定了饲料中赭曲霉毒素A的胶体金快速定量检测方法的原理、试剂和材料、仪器设备、样品制备与留存、检测步骤、结果表述和重复性。

本标准适用于饲料产品及饲料原料中赭曲霉毒素A的快速定量检测。检测限为 $2\mu\text{g}/\text{kg}$ ，检测范围为 $2\mu\text{g}/\text{kg}\sim 150\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是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 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

GB/T 27404 实验室质量控制规范 食品理化检测

3 原理

样品提取液中赭曲霉毒素A与检测条中胶体金微粒发生呈色反应，颜色深浅与样品中赭曲霉毒素A含量相关。用读数仪测定检测条的颜色深浅，根据颜色深浅和读数仪内置曲线自动计算出样品中赭曲霉毒素A的含量。

4 试剂和材料

4.1 试剂纯度

饲料中赭曲霉毒素A的快速筛查 胶体金快速定量法所用试剂均为分析纯，用水符合GB/T 6682二级水的规定。

4.2 赭曲霉毒素 A 检测试纸条

符合附录A规定的技术要求，并按说明书要求保存。

4.3 稀释缓冲液

与胶体金检测条配套提供，或按照其说明书配制。

4.4 提取液

70% (v/v) 甲醇溶液或胶体金检测条配套的提取液。

5 仪器和设备

5.1 天平

分度值0.01g。

5.2 粉碎机

样品粉碎后全部通过0.85mm筛。

5.3 离心机

转速不低于4000r/min。

5.4 涡旋振荡器

转速不低于1500r/min。

5.5 孵育器

调节时间、温度,控温精度 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ 。

5.6 读数仪

可测定并显示胶体金定量检测条的测定结果。

6 样品制备与留存

6.1 样品制备

按GB/T 20195要求制备样品,取有代表性的样品至少500g,粉碎及粉碎至全部通过0.85mm筛,混匀。

6.2 样品留存

如需留样,样品应置于 $-10^{\circ}\text{C}\sim-20^{\circ}\text{C}$ 下避光保存。

7 检测步骤

7.1 样品提取

准确称取10.00g试样于100mL具塞锥形瓶中,加入20.00mL试样提取液,密闭,用涡旋振荡器振荡1min~2min,静置后用滤纸过滤,或取1.00mL~1.50mL混合液于离心管中,用离心机(4000r/min)离心1min。取滤液或离心后上清液100 μL 于另一离心管中,加入1.00mL稀释缓冲液,充分混匀待测。

7.2 样品测定

7.2.1 将孵育器预热至孵育温度 45°C 。将检测条平放在孵育器凹槽中,打开加样槽。

7.2.2 准确移取300 μL 待测溶液,加入检测条加样孔中,关闭孵育器盖。

7.2.3 孵育5min后,取出检测条观察质控线和检测线显色情况,必须出现清晰齐整的质控线即C线。若C线不出现或T线显色不清晰不均匀,视为检测条无效。

7.2.4 选取读数仪赭曲霉毒素A检测频道中“基质00”(MATRIX00)样品测定类型进行测定,测定需在2min内完成,读数仪显示样品中赭曲霉毒素A的含量。若读数仪显示“30+”,需将样品稀释后,读

数仪设定为“基质 01”（MATRIX01）样品测定类型重新进行测定。稀释方法为：移取 300 μ L 稀释提取液于离心管中，加入 1.00mL 稀释缓冲液后混匀，按 7.2.1~7.2.4 重新测定。

8 结果表述

赭曲霉毒素A含量以 μ g/kg表示，由读数仪直接显示和读取。

9 重复性

在相同测定条件下的两次独立测试结果的绝对差值大于算术平均值20%的情况不超过5%。

附 录 A
(资料性附录)

胶体金快速定量检测条性能评价要求

本附录参照GB/T 27404的要求，规定了胶体金定量检测试纸条的技术性能要求，用于对胶体金快速定量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 准确度

采用 $5\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $10\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 $20\mu\text{g}/\text{kg}$ 三个浓度水平的阳性样品，每个浓度水平测定不低于6次，通过偏差来表达，3个浓度水平的偏差均应控制在 $-20\%\sim+20\%$ 之间。

A.2 精密度

采用 $5\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度水平的实际样品，测定不低于6次，通过批内变异系数来表达，变异系数应 $\leq 20\%$ 。

A.3 检测限

计算20份阴性样品测定均值加3倍标准差，其结果应小于或等于产品灵敏度标示值。

A.4 批间稳定性

采用 $5\mu\text{g}/\text{kg}$ 左右浓度水平的阳性样品，不得低于6个批次，每个批次测定不低于2次，批内测定取平均值，通过批间变异系数来表达，变异系数应 $\leq 25\%$ 。

A.5 质控

检测阴性质控和阳性质控以验证检测条性能，购买有标准证书的阴性参考样及阳性参考样进行质控，可根据参考样的证书上的真实含量水平对检测体系进行质控。