

饲料中呕吐毒素的快速筛查 胶体金快速定量法

Screening of vomitoxin 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	2
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、北京勤邦生物技术有限公司、拜发分析系统销售（北京）有限公司、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：符金华、杨琳芬、李瑾瑾、赵正苗、龙光宗、崔廷婷、廖丰、刘四宁、贺丽丽、彭正学、王玉兰、徐国茂、赵薇娜、徐田放。

饲料中呕吐毒素的快速筛查 胶体金快速定量法

1 范围

本标准规定了饲料中呕吐毒素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呕吐毒素的快速定量检测。检测限为0.5mg/kg，检测范围为0.5mg/kg~5.5mg/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

样品提取液中呕吐毒素的与检测条中胶体金微粒发生呈色反应，颜色深浅与样品中呕吐毒素的含量相关。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呕吐毒素的含量。

4 试剂和材料

4.1 试剂纯度

饲料中呕吐毒素的快速筛查 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 呕吐毒素残留检测试纸条

符合附录A规定的技术要求，并按说明书要求保存。

4.3 样本提取液

0.1%的Triton X-100水溶液：量取1L实验用溶液，加入1g Triton X-100，混匀。商品试剂盒中提供此溶液。

4.4 氢氧化钠（NaOH 1.00mol/L）

称取40g氢氧化钠，加水定容至1000mL，混匀。

4.5 盐酸 (HCL 1.00mol/L) :

量取83.33mL, $\rho=1.18\text{g/mL}$ 的盐酸,加水定容至1000.00mL,混匀。

5 仪器和设备

5.1 天平

感量0.01g。

5.2 涡旋仪

转速不低于1500r/min。

5.3 离心机

转速不低于3000r/min。

5.4 微量移液器

20 μL ~200 μL 。

5.5 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 $^{\circ}\text{C}$ ~-20 $^{\circ}\text{C}$ 下避光保存。

7 检测步骤

7.1 样品提取

7.1.1 称取(5.00 \pm 0.01)g 谷物样品至 50.00mL 聚苯乙烯离心管中,加入 10.00mL 70%甲醇,将瓶盖盖紧,涡动 3min,室温 3000r/min 以上离心 5min,取 100 μL 上清液加入 200 μL 样本稀释液,混匀,待测。

7.1.2 非谷物基质,如果上清液 pH 值小于 6 或大于 8,则需要用 1.00mol/L 氢氧化钠溶液或 1.00 mol/L 盐酸溶液调节 pH 至 7 左右,然后取 100 μL 此溶液加入 200 μL 样本稀释液,混匀,待测。

7.2 样品检测

7.2.1 将胶体金检测条取出放置至最适试验温度 23 $^{\circ}\text{C}$ ~25 $^{\circ}\text{C}$ 。将读数仪打开,按照提示输入样品,检测人员,检测项目,方法等相关信息。将比色卡平放于桌面,用读数仪扫描比色卡上的二维码,等待检测。

7.2.2 准确移取 100 μ L 待测溶液，加入检测条加样孔中，准确计时 5min。

7.2.3 孵育 5min 后，用读数仪扫描检测卡，按下读取键，几秒钟读数仪的屏幕上即可显示测试样中呕吐毒素的含量信息。

7.2.4 如结果显示：invalid，如果检测条上质控线（C 线）无色，测试线（T 线）上颜色肉眼可见很深，则表明试样中呕吐毒素含量非常高，可将试样提高稀释倍数，重新进行检测。

8 结果表述

呕吐毒素含量以mg/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. 1 准确度

采用700.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、1000.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和2000.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 三个浓度水平的样品，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6次重复的偏差均应控制在-20%~+20%之间。

A. 1. 2 精密度

采用1000.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 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. 1. 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. 1. 4 批间稳定性

采用700.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 左右浓度水平的阳性样品，用至少6个不同批次的试剂条进行实验，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. 2 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。