



# 中华人民共和国粮食行业标准

LS/T 6147—2023

## 粮油检测 粮食中 T-2 毒素的测定 时间分辨荧光免疫层析快速定量法

Inspection of grain and oils—Determination of T-2 toxin in cereals—  
Time-resolved fluorescent immunochromatographic method

2023-11-14 发布

2024-05-14 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：江南大学、深圳市易瑞生物技术股份有限公司、深圳市绿诗源生物技术有限公司、江苏省粮油质量监测中心、南京微测生物科技有限公司、国家粮食和物资储备局科学研究院。

本文件主要起草人：胥传来、郭玲玲、李爱科、匡华、刘丽强、王忠兴、徐丽广、付辉、黄永健、张鑫、蒋永青、黄斌、张金超、黄熙荣、黄伟。



# 粮油检测 粮食中 T-2 毒素的测定

## 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快速定量法测定粮食中 T-2 毒素含量的试剂及材料、仪器设备、样品、样品测定、结果表述和重复性。

本文件适用于玉米、小麦、稻米等粮食中 T-2 毒素的快速定量检测。

本文件的方法检出限为  $3.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为  $5.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

### 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/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

### 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 T-2 毒素与含镧-时间分辨荧光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检测线上 T-2 毒素-蛋白偶联物的免疫反应，使检测线上荧光强度降低，通过荧光强度变化对应的荧光分析仪内置曲线自动计算出试样中 T-2 毒素的含量。

### 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 中三级水的要求。

#### 5.1 试剂

5.1.1 T-2 毒素(CAS:21259-20-1)；纯度 $\geq 98\%$ 。

5.1.2 甲醇。

5.1.3 十水硼酸钠( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ )。

5.1.4 硼酸( $\text{H}_3\text{BO}_3$ )。

5.1.5 吐温-20( $\text{C}_{58}\text{H}_{114}\text{O}_{26}$ )。

#### 5.2 T-2 毒素荧光免疫层析卡(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 进行性能测定。

### 5.3 溶液配制

#### 5.3.1 样本提取液

取 50.0 mL 的甲醇(5.1.2)加水 50.0 mL,混匀,现用现配。由检测卡配套提供,或根据产品说明书配制。

#### 5.3.2 样品稀释液

称取 19.07 g 十水硼酸钠(5.1.3)、12.37 g 硼酸(5.1.4)、50 g 吐温-20(5.1.5),用水溶解定容至 1 000 mL,室温保存,有效期 6 个月。由检测卡配套提供,或根据产品说明书配制。

### 5.4 标准溶液配制

称取 1.0 mg 标准品 T-2 毒素(5.1.1),精确至 0.01 mg,用甲醇(5.1.2)溶解定容至 10.0 mL。此标准溶液中 T-2 毒素的含量为 0.10 mg/mL,−20 °C 条件下保存,有效期 6 个月。

## 6 仪器设备

6.1 天平:感量 0.01 g。

6.2 粉碎机:电机转速 $\geq 1\ 000$  r/min。

6.3 检验筛:40 目。

6.4 离心管:1.5 mL、50 mL。

6.5 涡旋振荡器。

6.6 离心机:转速 $\geq 5\ 000$  r/min。

6.7 孵育器:37 °C $\pm 3$  °C。

6.8 时间分辨荧光分析仪:激发波长为 365 nm $\pm 5$  nm,发射波长为 615 nm $\pm 5$  nm。

6.9 移液枪:200  $\mu$ L、1 000  $\mu$ L。

## 7 样品

### 7.1 试样制备

随机取样 500 g,粉碎后使其全部通过检验筛,充分混匀后,放入聚乙烯瓶或袋中。

### 7.2 试样储存

将试样按照测试和备用分别存放,置于−18 °C 及以下条件下保存。

## 8 试验步骤

### 8.1 试样处理

准确称取 5.0 g 样品,精确至 0.01 g,倒入 50 mL 离心管(6.4)中,加入 25.0 mL 的样品提取液(5.3.1),用涡旋振荡器(6.5)振荡提取 3 min,然后用离心机(6.6)以 5 000 r/min 的转速在室温下离心 3 min。用移液枪(6.9)取 100  $\mu$ L 上清液加入已加有 400  $\mu$ L 样品稀释液(5.3.2)的 1.5 mL 离心管中,涡旋混合,此溶液为待测溶液。

## 8.2 孵育

拆开产品包装,将 T-2 毒素检测卡放入孵育器(6.7),37 °C 下孵育 5 min。

## 8.3 检测

用时间分辨荧光分析仪(6.8)读取相应磁卡曲线后进入测试界面,准确移取 100  $\mu\text{L}$  待测溶液(8.1),加入检测卡加样孔中,37 °C 下反应 6 min 后,立即将检测卡(5.2)放入时间分辨荧光分析仪(6.8)中进行检测,1 min 内读取数据。

## 9 试验数据处理

9.1 基于阴性对照样品,在 5.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~600  $\mu\text{g}/\text{kg}$  内,设置空白样品添加的不同浓度梯度。以添加 T-2 毒素浓度的对数值为横坐标、检测线 T 信号值与质控线 C 信号值的比值( $T/C$ )为纵坐标,采用四参数 logistic 拟合算法建立标准曲线。拟合程度  $R^2$  值应在 0.99 以上。

9.2 根据内置拟合曲线,试样中 T-2 毒素含量由时间分辨荧光分析仪自动计算并显示,单位为微克每千克( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )。检测结果在临界值时,应进行复验确认,复验方法应符合相关国家标准规定。

## 10 重复性

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不应超过算术平均值的 20%。

## 附 录 A

(规范性)

### T-2 毒素时间分辨荧光免疫层析卡性能评价要求

#### A.1 概述

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.2 准确度

采用高、中、低 3 个浓度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,用检测卡对每个浓度水平的标准物质或样品测试不少于 6 次,取平均值。计算检测卡检测结果的平均值与标准物质或样品定值的偏差。3 个浓度水平的偏差均应在  $-20\% \sim +10\%$  之间。

#### A.3 重复性

采用  $20 \mu\text{g}/\text{kg}$  左右污染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,用检测卡测定不少于 6 次,计算检测卡批内变异系数。变异系数应小于或等于  $15\%$ 。

#### A.4 检出限

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.5 批间稳定性

采用  $20 \mu\text{g}/\text{kg}$  左右污染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,用检测卡测定不少于 6 个批次,每个批次测定不少于 2 次,取批内测定平均值,计算批间变异系数。变异系数应小于或等于  $20\%$ 。

#### A.6 质控

按照产品说明要求,检测检测卡自带的阴性质控和阳性质控样品。阴性质控的检测结果小于  $3 \mu\text{g}/\text{kg}$ ,阳性质控样品的检测结果在  $5 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 600 \mu\text{g}/\text{kg}$  范围内,表明检测卡质量合格。



参 考 文 献

- [1] GB/T 27404—2008 实验室质量控制规范 食品理化检测
-