

ICS 67.050

Z

备案号:

# 全联农业产业商会标准

T/CAICC-02-2023

## 生乳中百菌清的快速检测 胶体金免疫层析法

Rapid detection of chlorothalonil in raw milk  
— Colloidal gold immunochromatography

送审稿

2023-12-31 发布

2024-01-01 实施

全联农业产业商会发布

# 目 次

|                                |    |
|--------------------------------|----|
| 目 次 .....                      | I  |
| 前 言 .....                      | II |
| 1 范围 .....                     | 1  |
| 2 规范性引用文件 .....                | 1  |
| 3 术语和定义 .....                  | 1  |
| 4 原理 .....                     | 1  |
| 5 试剂与材料 .....                  | 1  |
| 6 仪器与设备 .....                  | 2  |
| 7 分析步骤 .....                   | 2  |
| 8 结果判定 .....                   | 3  |
| 9 结果确认 .....                   | 3  |
| 10 性能指标 .....                  | 4  |
| 11 其他 .....                    | 4  |
| 附 录 A （规范性） 快速检测方法性能指标计算 ..... | 5  |

## 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。

本文件由全联农业产业商会提出。

本文件起草单位：全联农业产业商会、西北农林科技大学、北京勤邦科技股份有限公司、内蒙古蒙牛乳业（集团）股份有限公司、西北大学、北大荒研究院（北京）有限公司

本文件主要起草人：吕欣，郭树，赵三军、万宇平、牛晨、张瑜、王丹、刘佳文、王欣、刘强辉、王晓敏、高永亮、刘国强、李佳颖

本文件为首次发布。

# 生乳中百菌清的快速检测 胶体金免疫层析法

## 1 范围

本文件规定了生乳中百菌清的胶体金免疫层析快速检测方法。  
本文件适用于生乳中百菌清的快速定性测定。

## 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

国市监食检规（2023）1号 市场监管总局关于规范食品快速检测使用的意见

## 3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

## 4 原理

本方法采用竞争抑制免疫层析原理。样品中的百菌清经提取后与胶体金标记的特异性抗体结合，抑制了抗体和试纸条中检测线（T线）上抗原的结合，从而导致检测线颜色深浅的变化。通过检测线与质控线（C线）颜色深浅比较，对样品中百菌清进行定性判定。

## 5 试剂与材料

除另有规定外，本方法所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的二级水。

### 5.1 试剂

5.1.1 甲醇（CH<sub>3</sub>OH）。

5.1.2 参考物质：百菌清参考物质的中文名称、英文名称、CAS 登录号、分子式、相对分子质量见表 1，纯度≥98%。

表 1 百菌清参考物质的中文名称、英文名称、CAS 登录号、分子式、相对分子质量

| 中文名称 | 英文名称           | CAS 登录号   | 分子式                                           | 相对分子质量 |
|------|----------------|-----------|-----------------------------------------------|--------|
| 百菌清  | Chlorothalonil | 1897-45-6 | C <sub>8</sub> N <sub>2</sub> Cl <sub>4</sub> | 265.91 |

注：或等同可溯源物质。

### 5.2 溶液配制

5.2.1 百菌清标准储备液（1.0 mg/mL）：准确称取百菌清参考物质（5.1.2）10 mg（精确至 0.01 mg），置于小烧杯中，用甲醇（5.1.1）溶解，定量转移至 10 mL 容量瓶中，再用甲醇（5.1.1）定容，摇匀，配制成浓度为 1.0 mg/mL 的百菌清标准储备液。-20℃避光保存，有效期 6 个月。

5.2.2 百菌清标准中间液（10 µg/mL）：精密移取百菌清标准储备液（1.0 mg/mL）（5.2.1）0.1 mL，置于 10 mL 容量瓶中，用甲醇（5.1.1）定容，摇匀，配制成浓度为 10 µg/mL 的百菌清标准中间液。-20℃避光保存，有效期 1 个月。

5.2.3 百菌清标准工作液（0.1 µg/mL）：精密移取百菌清标准中间液（10 µg/mL）（5.2.2）0.1 mL，置于 10 mL 容量瓶中，用甲醇（5.1.1）定容，摇匀，配制成浓度为 0.1 µg/mL 的百菌清标准工作液。临用新配。

### 5.3 材料

百菌清胶体金免疫层析试纸条，适用基质为生乳。需在阴凉、干燥、避光条件下保存。

5.3.1 金标微孔（含胶体金标记的特异性抗体）。

5.3.2 试纸条。

## 6 仪器与设备

6.1 电子天平：感量为 0.01 mg。

6.2 移液器：10 µL~200 µL、100 µL~1000 µL。

6.3 迷你金属浴。

6.4 胶体金读数仪（可选）。

## 7 分析步骤

### 7.1 试样制备

取适量有代表性样品充分混匀。

### 7.2 试样提取

以生乳为基质的样品可直接上样检测或根据产品说明书稀释后检测。

### 7.3 测定步骤

吸取 200 µL 样品待测液于金标微孔（5.3.1）中，抽吸 5~10 次使混合均匀，35℃温育 5 min，将检测试纸条（5.3.2）样品端垂直向下插入金标微孔中，35℃温育 5 min，取出试纸条，对结果进行判定。

注 1：测定步骤建议按照试纸条说明书。

注 2：结果判定可使用胶体金读数仪，读数仪的具体使用参照仪器使用说明书。

### 7.4 质控试验

每批样品应同时进行空白试验和加标质控试验。

#### 7.4.1 空白试验

称取空白试样，按照7.2和7.3步骤与样品同法操作。

#### 7.4.2 加标质控试验

准确移取空白试样1.94 mL放入离心管中，加入0.06 mL百菌清标准工作液（0.1  $\mu\text{g/mL}$ ）（5.2.3），使试样中百菌清浓度为3  $\mu\text{g/L}$ ，按照7.2和7.3步骤与样品同法操作。

### 8 结果判定

#### 8.1 目视判定

通过对比质控线（C线）和检测线（T线）的颜色深浅进行结果判定。目视判定示意图见图1。

##### 8.1.1 阴性结果

质控线（C线）显色，检测线（T线）颜色深于质控线（C线）或与质控线（C线）颜色基本一致，表明样品中百菌清含量低于方法检出限，判定为阴性。

##### 8.1.2 阳性结果

质控线（C线）显色，检测线（T线）颜色浅于质控线（C线）或不显色，表明样品中百菌清含量高于方法检出限，判定为阳性。

##### 8.1.3 无效

质控线（C线）不显色，无论检测线（T线）是否显色，表明操作不正确或试纸条已失效，检测结果无效。

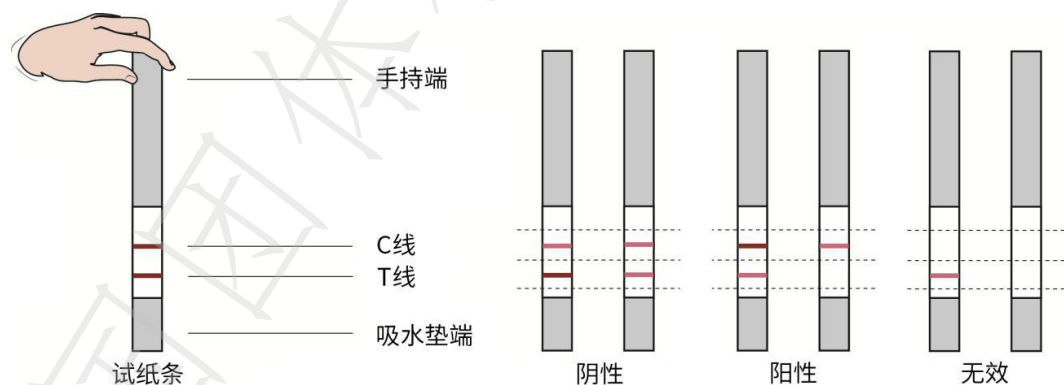


图1 目视判定示意图

#### 8.2 读数仪测定

按读数仪说明书要求操作，直接读数并进行结果判定。

#### 8.3 质控试验要求

空白试验测定结果应为阴性，加标质控试验测定结果应为阳性。

### 9 结果确认

当检测结果为阳性时，采用参比方法进行确证。

## 10 性能指标

10.1 检出限：3 µg/L。

10.2 灵敏度：≥95%。

10.3 特异性：≥90%。

10.4 假阴性率：≤5%。

10.5 假阳性率：≤10%。

注：性能指标计算方法见附录A。

10.6 交叉反应率：滴滴涕、三氯杀螨砒、氯丹<1%。

## 11 其他

本方法所述试剂、试纸条信息及操作步骤是为给方法使用者提供方便，在使用本方法时不做限定。方法使用者应使用经过验证的满足本方法规定的各项性能指标的试剂、试纸条。

本方法参比方法为SN/T 2320-2009《进出口食品中百菌清、苯氟磺胺、甲抑菌灵、克菌灵、灭菌丹、敌菌丹和四溴菊酯残留量检测方法 气相色谱-质谱法》（包括所有的修改单）。

附 录 A  
(规范性)  
快速检测方法性能指标计算

快速检测方法各性能指标计算方法见表A. 1。

表 A. 1 快速检测方法性能指标计算方法

| 样品情况 <sup>a</sup>                                                                                                                                                                                                                                                           | 检测结果 <sup>b</sup>                                                 |                        | 总数                                  |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|------------------------|-------------------------------------|
|                                                                                                                                                                                                                                                                             | 阳性                                                                | 阴性                     |                                     |
| 阳性                                                                                                                                                                                                                                                                          | $N_{11}$                                                          | $N_{12}$               | $N_{1.}=N_{11}+N_{12}$              |
| 阴性                                                                                                                                                                                                                                                                          | $N_{21}$                                                          | $N_{22}$               | $N_{2.}=N_{21}+N_{22}$              |
| 总数                                                                                                                                                                                                                                                                          | $N_{.1}=N_{11}+N_{21}$                                            | $N_{.2}=N_{12}+N_{22}$ | $N=N_{1.}+N_{2.}$ 或 $N_{.1}+N_{.2}$ |
| 显著性差异( $\chi^2$ )                                                                                                                                                                                                                                                           | $\chi^2=( N_{12}-N_{21} -1)^2/(N_{12}+N_{21})$ ,<br>自由度( $df$ )=1 |                        |                                     |
| 灵敏度( $p+$ ) / %                                                                                                                                                                                                                                                             | $p+=N_{11}/N_{1.}\times 100$                                      |                        |                                     |
| 特异性( $p-$ ) / %                                                                                                                                                                                                                                                             | $p-=N_{22}/N_{2.}\times 100$                                      |                        |                                     |
| 假阴性率( $pf-$ ) / %                                                                                                                                                                                                                                                           | $pf-=N_{12}/N_{1.}\times 100=100-\text{灵敏度}$                      |                        |                                     |
| 假阳性率( $pf+$ ) / %                                                                                                                                                                                                                                                           | $pf+=N_{21}/N_{2.}\times 100=100-\text{特异性}$                      |                        |                                     |
| 相对准确度 <sup>c</sup> / %                                                                                                                                                                                                                                                      | $(N_{11}+N_{22})/(N_{1.}+N_{2.})\times 100$                       |                        |                                     |
| 注:<br>$N$ 为任何特定单元的结果数, 第一个下标指行, 第二个下标指列。例如, $N_{11}$ 表示第一行, 第一列; $N_{1.}$ 表示所有的第一行, $N_{2.}$ 表示所有的第二列; $N_{12}$ 表示第一行, 第二列。<br><sup>a</sup> 由参比方法检验得到的结果或者样品中实际的公议值结果。<br><sup>b</sup> 由待确认方法检验得到的结果。灵敏度的计算使用确认后的结果。<br><sup>c</sup> 为方法的检测结果相对准确性的结果, 与一致性分析和浓度检测趋势情况综合评价。 |                                                                   |                        |                                     |