

霉菌毒素荧光定量快速检测系统

技术性能验证报告

委托单位：上海飞测生物科技有限公司

测试单位：国家粮食局科学研究院

完成时间：2017.7.6



1 实验材料和方法

1.1 试剂和材料

黄曲霉毒素 B1 荧光定量检测试纸条、玉米赤霉烯酮荧光定量检测试纸条、呕吐毒素荧光定量检测试纸条、样品提取液、样品稀释液、标准曲线 ID 卡及标准曲线条形码均由上海飞测生物科技有限公司提供。

黄曲霉毒素 B1 及其他霉菌毒素的标准品：GBW (E) 100301、GBW (E) 100302、GBW (E) 100304。

玉米粉、全麦粉霉菌毒素基体标准物质：GBW (E) 100382、GBW (E) 100383、GBW (E) 100384、GBW (E) 100385、GBW (E) 100386。

玉米粉、全麦粉阴性样品，河北采购。

1.2 仪器和设备

FD-100 型霉菌毒素荧光免疫定量分析仪和 FD-500 型试纸条恒温孵育器均由上海飞测生物科技有限公司提供；台式离心机，北京时代北利离心机有限公司；涡旋振荡器，北京踏锦科技有限公司；电子天平，梅特勒-托利多中国。

1.3 试验方法

按照产品说明书进行样品前处理和检测。具体如下：

1.3.1 样品前处理

称取 $1.0 \pm 0.02\text{g}$ 过筛的样品于 10mL 离心管中，加入 5mL 提取液，用漩涡混匀仪震荡 5min(或者摇床振荡 8min) 后，4000RPM 离心 2min，取上清液。

1.3.2 检测

取 100 μL 上清液加入 400/600/1000 μL 样品稀释液中，用漩涡混匀器混匀 3-5s，然后取 100 μL 加入荧光定量检测试纸条的加样孔中，置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温孵育器中温育 8min，将试纸条插入霉菌毒素荧光免疫定量分析仪中读数，即为样品的实际检测浓度。

2 结果分析

2.1 准确性和重复性

2.1.1 黄曲霉毒素 B1：取玉米粉阴性样品 1g，分别添加 5.00、20.00、50.00ng 黄曲霉毒素 B1 标准品，用试纸条检测。每个浓度做 3 次独立平行实验，每个平行重复读数 2 次取平均值。检测结果见表 1。

表 1 黄曲霉毒素 B1 加标回收实验

基质	平行	AFB1 添加量(ug/kg)			
		0	5	20	50
玉米粉	1	0.07	5.39	25.50	55.39
	2	0.09	7.01	23.27	49.35
	3	1.08	6.72	22.11	60.12
平均值 ug/kg		0.41	6.37	23.62	54.95
回收率		——	119%	116%	109%
变异系数		——	13.55%	7.29%	9.83%

可知，黄曲霉毒素 B1 荧光定量检测试纸条玉米样品加标回收率 109%~119%，变异系数小于 13.55%。

2.1.2 玉米赤霉烯酮：取玉米粉、小麦粉阴性样品各 1g，分别添加 30.0、60.0、200.0ng 玉米赤霉烯酮标准品，用试纸条检测。每个浓度做 3 次独立平行实验，每个平行重复读数 2 次取平均值。检测结果见表 2。

表 2 玉米赤霉烯酮加标回收实验

基质	平行	ZEN 添加量(ug/kg)			
		0	25	60	200
玉米粉	1	0.1	20.66	57.68	248.76
	2	0.1	16.28	61.10	217.57
	3	0.1	19.34	53.20	190.76
平均值 ug/kg		0.1	18.76	57.32	219.03
回收率		——	75%	96%	110%

变异系数		——	11.98%	6.92%	13.25%
小麦粉	1	0.1	26.19	65.18	196.40
	2	2.23	29.82	56.27	215.64
	3	1.31	32.42	58.30	209.42
平均值 ug/kg		1.21	29.48	59.91	207.15
回收率		——	118%	100%	104%
变异系数		——	10.62%	7.79%	4.74%

可知，玉米赤霉烯酮荧光定量检测试纸条检测玉米样品加标回收率 75%~110%，变异系数小于 13.25%；小麦样品加标回收率 100%~118%，变异系数小于 10.62%。

2.1.3 呕吐毒素：取玉米粉、小麦粉阴性样品各 1g，分别添加 200、1000、4000ng 呕吐毒素标准品，用试纸条检测。每个浓度做 3 次独立平行实验，每个平行重复读数 2 次取平均值。检测结果见表 3。

表 3 呕吐毒素加标回收实验

基质	平行	DON 添加量(ug/kg)			
		0	200	1000	4000
玉米粉	1	0.10	214.08	1085.50	4110.65
	2	0.10	225.09	1159.46	3956.78
	3	0.09	184.30	1203.40	4225.52
平均值 ug/kg		0.10	207.82	1149.45	4097.65
回收率		——	104%	115%	102%
变异系数		——	10.16%	5.18%	3.29%
小麦粉	1	0.09	209.11	1162.98	4269.25
	2	1.86	208.55	1354.20	4184.51
	3	2.55	184.53	1304.20	3938.08
平均值 ug/kg		1.50	200.73	1273.79	4130.61
回收率		——	100%	127%	103%
变异系数		——	6.99%	7.79%	4.16%

可知，呕吐毒素荧光定量检测试纸条玉米样品加标回收率 102%~115%，变异系数小

于 10.16%；小麦样品加标回收率 100%~127%，变异系数小于 7.79%。

2.2 有证标准物质检测

分别检测 5 种玉米粉、小麦粉霉菌毒素有证基体标准物质，每种样品做 6 次独立平行实验。根据 SN/T2775-2001，计算正确度：正确度（%）=检测值/认定值×100。检测结果见表 4。

表 4 标准物质检测正确度

平行	检测浓度(ug/kg)				
	玉米 AFS	玉米 ZEN	小麦 ZEN	小麦 DON	玉米 DON
1	28.75	48.33	96.18	1844.50	1544.85
2	33.17	47.22	103.90	1907.90	1395.97
3	35.05	55.44	95.98	1795.90	1529.80
4	29.68	48.05	93.92	1814.70	1559.22
5	35.58	46.63	88.04	1759.80	1380.01
6	31.73	59.52	97.59	1880.00	1614.47
浓度范围	27±3	67±16	95±12	1870±150	1410±110
平均值	32.33	50.87	95.94	1833.80	1504.05
正确度	120%	76%	101%	98%	107%
变异系数	8.62%	10.46%	5.37%	2.99%	6.28%

可知，上海飞测生物科技有限公司生产的霉菌毒素荧光定量快速检测系统检测粮食中常见 3 种霉菌毒素（粮食基质霉菌毒素标准物质）正确度为 76%-120%，变异系数小于 10.46%。

3 结论

采用上海飞测生物科技有限公司提供的霉菌毒素荧光定量快速检测系统检测粮食样品中的三种霉菌毒素，对产品的准确性、重复性和正确度进行了测试评估。结果表明：

1.黄曲霉毒素 B1：玉米样品加标回收率 109%~119%，变异系数小于 13.55%，检测

玉米粉标物正确度 120%；

2.玉米赤霉烯酮：玉米样品加标回收率 75%~110%，变异系数小于 13.25%，检测玉米粉标物正确度 76%；小麦样品加标回收率 100%~118%，变异系数小于 10.62%，检测小麦粉标物正确度 101%；

3.呕吐毒素：玉米样品加标回收率 102%~115%，变异系数小于 10.16%，检测玉米粉标物正确度 107%；小麦样品加标回收率 100%~127%，变异系数小于 7.79%，检测小麦粉标物正确度 98%。

上海飞测生物科技有限公司生产的霉菌毒素荧光定量快速检测系统检测流程快速、简便，平均每个样品检测时间小于 15 分钟，且准确性和重复性均满足粮食行业标准 LST 6111-2015、LST 6112-2015 和 LST 6113-2015 中对胶体金快速定量检测类产品的要求，适用于粮食谷物中黄曲霉毒素 B1、玉米赤霉烯酮和呕吐毒素的现场快速筛查定量检测。

