

团体标准

T/CIFST 021.15—2024

食品及食品生产过程中食品致敏原的 免疫分析检测方法 第 15 部分：开心果

Detection of food allergens in foods and during the food production process
using immunoassay method
Part 15: Pistachio

2024-04-20 发布

2024-04-20 实施

中国食品科学技术学会 发布

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。

本文件是 T/CIFST 021《食品及食品生产过程中食品致敏原的免疫分析检测方法》的第15部分。
T/CIFST 021 已经发布了以下部分：

- 第1部分：麸质；
- 第2部分：甲壳纲类动物；
- 第3部分：蛋类；
- 第4部分：花生；
- 第5部分：大豆；
- 第6部分：乳；
- 第7部分：酪蛋白；
- 第8部分： β -乳球蛋白；
- 第9部分：扁桃仁；
- 第10部分：腰果；
- 第11部分：榛子；
- 第12部分：巴西坚果；
- 第13部分：椰子；
- 第14部分：夏威夷果。

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。

本文件由中国食品科学技术学会提出并归口。

本文件起草单位：广州海关技术中心、南昌大学、上海海关动植物与食品检验检疫技术中心、国家粮食和物资储备局科学研究院、北京工商大学、南京海关动植物与食品检测中心、内蒙古伊利实业集团股份有限公司、杭州娃哈哈集团有限公司、石家庄君乐宝乳业有限公司、拜发分析系统销售（北京）有限公司。

本文件主要起草人：刘津、梁颖婕、高东微、陈红兵、武涌、蔡一村、谢刚、王佳雅、王彦波、王宇、龙云凤、刘丽君、蒋晶君、张奕敏、吴琴、王镓萍、张耀广、李兴佳、卢曼慧、贺丽丽、葛丽花。

引 言

目前预包装食品标签中以推荐性标识的方式规定了“八大类”致敏原标识的种类和标示方式，分别为含有麸质的谷物及其制品、甲壳纲类动物及其制品、鱼类及其制品、蛋类及其制品、花生及其制品、大豆及其制品、乳及乳制品、坚果及其果仁类制品。2020年，FAO/WHO 食品过敏风险评估专家建议用芝麻替代原“八大类”食品致敏原中的大豆。综合考虑，T/CIFST 021《食品及食品生产过程中食品致敏原的免疫分析检测方法》拟分为如下17个部分。

——第1部分：麸质。目的在于提供食品及食品生产过程中麸质的夹心酶联免疫吸附法和竞争酶联免疫吸附法及免疫层析检测方法；

——第2部分：甲壳纲类动物。目的在于提供食品及食品生产过程中甲壳纲类动物致敏原的酶联免疫吸附和免疫层析检测方法；

——第3部分：蛋类。目的在于提供食品及食品生产过程中蛋类致敏原的酶联免疫吸附和免疫层析测定方法；

——第4部分：花生。目的在于提供食品及食品生产过程中花生致敏原的酶联免疫吸附和免疫层析测定方法；

——第5部分：大豆。目的在于提供食品及食品生产过程中大豆致敏原的酶联免疫吸附和免疫层析测定方法；

——第6部分：乳。目的在于提供食品及食品生产过程中乳致敏原（奶蛋白）的酶联免疫吸附和免疫层析测定方法；

——第7部分：酪蛋白。目的在于提供食品及食品生产过程中酪蛋白的酶联免疫吸附测定方法；

——第8部分： β -乳球蛋白。目的在于提供食品及食品生产过程中 β -乳球蛋白致敏原的酶联免疫吸附测定方法；

——第9部分：扁桃仁。目的在于提供食品及食品生产过程中扁桃仁致敏原的酶联免疫吸附和免疫层析测定方法；

——第10部分：腰果。目的在于提供食品及食品生产过程中腰果致敏原的酶联免疫吸附和免疫层析测定方法；

——第11部分：榛子。目的在于提供食品及食品生产过程中榛子致敏原的酶联免疫吸附和免疫层析测定方法；

——第12部分：巴西坚果。目的在于提供食品及食品生产过程中巴西坚果致敏原的免疫层析测定方法；

——第13部分：椰子。目的在于提供食品及食品生产过程中椰子致敏原的免疫层析测定方法；

——第14部分：夏威夷果。目的在于提供食品及食品生产过程中夏威夷果致敏原的免疫层析测定方法；

——第15部分：开心果。目的在于提供食品及食品生产过程中开心果致敏原的免疫层析测定方法；

——第16部分：核桃。目的在于提供食品及食品生产过程中核桃致敏原的免疫层析测定方法；

——第17部分：芝麻。目的在于提供食品及食品生产过程中芝麻致敏原的酶联免疫吸附和免疫层析测定方法。

食品及食品生产过程中食品致敏原的免疫分析检测方法

第 15 部分：开心果

1 范围

本文件描述了食品及食品生产过程中开心果致敏原的免疫层析测定方法。
本文件适用于食品、环境采样和 CIP 生产线原位清洗水中开心果致敏原的定性检测。

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

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

开心果 pistachio

漆树科黄连木属阿月浑子 (*Pistacia Vera* L.) 所产果实。

注：又称阿月浑子、胡棒子、无名子。

4 原理

试样中的开心果致敏原与预包被在反应管内的标记抗体发生反应，所形成的抗原-抗体结合物被预包被在免疫层析试纸条上的特异性抗体捕获，形成抗体-抗原-抗体的夹心复合物，并在检测区显色，通过目测判读检测结果。

5 试剂和材料

5.1 bioavid Lateral Flow Pistachio¹⁾ 开心果致敏原免疫层析检测试剂盒

1) bioavid Lateral Flow Pistachio 是由 bioavid 公司提供的产品的商品名。给出这一信息是为了方便本文件使用者，并不表示对该产品的认可。如果其他等效产品具有相同的效果，那么可使用这些等效产品。

应符合附录 A 的要求。

5.2 食品中开心果致敏原提取试剂

除特别说明外，所有试剂均为分析纯或生化试剂。水为 GB/T6682 规定的三级水。

5.2.1 氯化钠（NaCl）。

5.2.2 氯化钾（KCl）。

5.2.3 磷酸氢二钠（ Na_2HPO_4 ）。

5.2.4 磷酸二氢钾（ KH_2PO_4 ）。

5.2.5 盐酸（HCl）。

5.2.6 氢氧化钠（NaOH）。

5.2.7 Tween-20。

5.3 试剂配制

PBS-Tween 缓冲液：8.00 g NaCl，0.20 g KCl，1.44 g Na_2HPO_4 ，0.24 g KH_2PO_4 ，2 mL Tween-20，调 pH 至 7.2~7.4，用蒸馏水定容至 1 L。

6 仪器和设备

6.1 分析天平：感量 0.01 g。

6.2 匀浆机。

6.3 涡旋混匀仪。

6.4 离心机：转速不低于 4000 r/min。

6.5 单道移液器：100 μL ~1000 μL ，500 μL ~5000 μL 。

6.6 棉签拭子（无食品致敏原）。

7 分析步骤

7.1 环境拭子的采样

7.1.1 吸取 1 mL PBS-Tween 缓冲液（5.3）置于洁净离心管中，浸润棉签拭子（6.6）。

7.1.2 用浸润的棉签拭子（6.6）的棉头充分擦拭 10 cm×10 cm 的待检测环境表面。若无法实现 10 cm×10 cm 的待检测环境表面擦拭，自行定义合理及合适的待检测环境表面范围并记录。

7.1.3 将擦拭取样后的棉签拭子（6.6）置回装有 PBS-Tween 缓冲液（5.3）的离心管中，充分浸洗并挤压释放出棉签拭子（6.6）采样棉头上采集的试样（液）后，取出挤干的棉签拭子（6.6）。

7.1.4 从离心管中取 0.1 mL 用于检测。

7.1.5 若采样棉签拭子（6.6）上含有肉眼清晰可见的致敏原颗粒，或可能含有的致敏原浓度超过 1000 mg/kg，则宜将棉签拭子（6.6）采样处理后的离心管中试样液，进行例如 1:100 的进一步稀释后，再用于检测。

7.2 CIP 生产线原位清洗水的采样

直接取 0.1 mL CIP 生产线原位清洗水用于检测。

7.3 食品试样前处理和提取

7.3.1 液态试样：对不少于 5 mL 试样进行充分均质。

7.3.2 固态或半固态试样：称取 50.00 g 试样，向其中加入 450 mL 水和 4.00 g NaCl（5.2.1）后均质。置离心机在室温（20℃~25℃）条件下以转速 4000 r/min 离心 5 min，取上清液用于检测。无离心条件时，可用粗滤纸过滤，得到澄清滤液用于检测。若离心后产生脂肪层，则轻挑除去脂肪层后，取脂肪层下的无脂肪清液用于检测。脂肪含量高的试样，宜进行冷冻离心以去除脂肪。

7.3.3 含有多酚类的试样如啤酒、葡萄酒、可可、调味料、中草药等，需要使用 bioavid 吸附缓冲液进行试样处理：取 1 mL 液体或 1 g 固体均质样品加入已内置 9 mL 吸附缓冲液的样品管中，室温（20℃~25℃）孵育 10 min~15 min，边孵育边振荡。孵育结束后，在 2000 g~3000 g 室温（20℃~25℃）离心 5 min，离心后得到的上清液可用于后续的过敏原检测。若试样中可能含有的致敏原浓度超过 1000 mg/kg，则宜将试样提取清液进行例如 1：100 的进一步稀释后，再用于检测。密封好的上清液/滤液可在 2℃~8℃ 黑暗处避光保存不超过 2 天。

7.4 试样的检测

向反应管中加入 0.2 mL 试剂盒中的流动相缓冲液，再加入 0.1 mL 于 7.1~7.3 步骤处理得到的试样液，盖上管盖，混合并室温（20℃~25℃）孵育 5 min。向反应管中置入开心果致敏原试纸条后反应 5 min，目测读取检测结果。

7.5 检测结果表述

试纸条同时出现蓝紫色质控带和蓝紫色检测带，检测结果为阳性。

试纸条只出现蓝紫色质控带，未出现蓝紫色检测带，检测结果为阴性。

试纸条上若有钩状效应带，则参考试纸条说明书上关于钩状效应带的结果评估方法。

8 质量控制

8.1 试剂失效

试纸条未出现蓝紫色质控带，检测结果无效。

8.2 内部质控

定期或必要时使用商品化加工食品开心果致敏原质控物或实验室自行制备的人工添加试样进行质量控制。

9 检出限

本方法对食品试样及 CIP 生产线原位清洗水中开心果致敏原的检出限为 1 mg/kg（或 mg/L）。

本方法对环境表面的拭子采样的检出限为 1 µg/100 cm²（当采样面积为 10 cm×10 cm 时），或 1 µg/采样拭子（当采样面积是自行确定时，明确所记录的采样范围）。

10 方法局限性

若试样中含有特别高浓度的开心果（>1000 mg/kg），则检测带的颜色可能会变浅，甚至完全抑制其形成。若试样可能含有特别高浓度的目标检测过敏原，则宜对试样进行大倍数稀释。

11 注意事项/防污染措施

11.1 防污染措施

11.1.1 食品试样的均质可能产生粉尘，为避免粉尘级别的蛋白（食品致敏原）污染应在独立的房间或使用通风橱进行试样均质的前处理操作。

11.1.2 设备和器具用水冲洗后，用 60% 乙醇或异丙醇彻底清洁，以消除谷物粉尘污染。

11.1.3 在试验过程中应戴手套操作，且在称量、均质试样，试样提取，及试剂盒检测三个不同阶段中应更换新的手套。

11.2 试样 pH 值

强酸性或强碱性试样应调节 pH 值至 7.5 ± 0.5 后再检测。

附 录 A

(规范性)

开心果致敏原免疫层析检测试剂盒

A.1 试剂盒组成

开心果致敏原免疫层析检测试剂盒 bioavid Lateral Flow Pistachio 包括:

- a) 预包埋标记抗体的反应管: 10 支或 25 支 (根据试剂盒规格不同);
- b) 开心果致敏原快速检测条: 10 支或 25 支 (根据试剂盒规格不同);
- c) 内含 10 mL 流动相 (缓冲液) 的滴瓶: 1 支;
- d) 冻干阳性质控: 1 份, 使用时加入 1 mL 水复溶, 涡旋混匀 5 min。

A.2 试剂盒验收和保存

A.2.1 每个批号试剂盒应按照质量控制要求进行验收试验, 考察检测性能。

A.2.2 未开封试剂盒应保存在 2 °C~8 °C, 使用前回复至室温 (20 °C~25 °C)。开封后试剂条应保存在室温 (20 °C~25 °C) 并保持干燥。

A.2.3 不使用超过有效期的试剂盒。