

团 体 标 准

T/CIFST XXX.12—XXXX

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 12 部分：巴西坚果

Detection of food allergens in foods and during the food
production process using Immunoassay method
Part 12: Brazil Nut

（征求意见稿）

20XX-XX-XX 发布

20XX-XX-XX 实施

中国食品科学技术学会 发布

前 言

T/CIFST XXX 《食品及食品生产过程中食品致敏原的免疫分析检测方法》由下列 17 部分组成：

- 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
- 第 15 部分：开心果
- 第 16 部分：核桃
- 第 17 部分：芝麻

本文件为 T/CIFST XXX 的第 12 部分。

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。

本文件由中国食品科学技术学会提出并归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

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 12 部分：巴西坚果

1 范围

本部分规定了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。

本部分适用于食品中巴西坚果致敏原的免疫层析定性检测，也适用于食品生产过程中监控巴西坚果致敏原时对食品、环境采样和 CIP 清洁水进行的定性检测。

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部分。

3.1

巴西坚果 Brazil Nut

又称巴西栗、鲍鱼果、巴西果，是玉蕊科巴西栗属植物（*Bertholletia excelsa*）的可食用种仁。

4 原理

试样中的巴西坚果致敏原与预包被在反应管内的标记抗体发生反应，形成抗原-抗体结合物。此抗原-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 Brazil Nut¹ 巴西坚果致敏原免疫层析检测试剂盒

见附录 A。

¹ bioavid Lateral Flow Brazil Nut 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标准的使用者，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，则可使用这些等效的产品。

5.2 食品中巴西坚果致敏原提取试剂

除特别说明外，所有试剂均为分析纯或生化试剂，水为 GB/T 6682 规定的三级水。

5.2.1 PBS-Tween 缓冲液：8.00 g NaCl, 0.20 g KCl, 1.44 g Na₂HPO₄, 0.24 g KH₂PO₄, 2 mL Tween-20, 调 pH 至 7.2~7.4, 用蒸馏水定容至 1 L。

5.2.2 氯化钠 (NaCl)。

6 仪器和设备

6.1 分析天平：感量 0.01g。

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（5.2.1）置于洁净的离心管中，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，请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）放回装有 PBS-Tween 缓冲液（5.2.1）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。

注：若采样棉签拭子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，则建议将棉签拭子采样处理后的离心管中样液，进行例如 1:100 的进一步稀释后，再用于检测。

7.2 清洁用水的采样

直接取 0.1 mL 清洁用水用于检测。

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（5.2.2）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，建议进行冷冻离心以去除脂肪。

注：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。若试样中可能含有的致敏原浓度超过 1000 mg/kg，则建议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（附录 A）中加入 0.2 mL 试剂盒中的流动相缓冲液（附录 A），再加入 0.1 mL 于 7.1/7.2/7.3 步骤处理得到的试样液，盖上管盖，混合并室温（20℃~25℃）孵育 5min。向反应管（附录 A）中放入巴西坚果致敏原试纸条（附录 A）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巴西坚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清洁用水中巴西坚果致敏原的检出限为 1 mg/kg（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，并请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巴西坚果（>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，则建议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）污染应尽量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 在实验过程中必须戴手套操作，且在称量、均质试样，试样提取，及检测三个不同

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)

巴西坚果致敏原免疫层析检测试剂盒

A.1 试剂盒组成

巴西坚果致敏原免疫层析检测试剂盒 bioavid Lateral Flow Brazil Nut 包括：

- a) 预包被标记抗体的反应管：10 支或 25 支（根据试剂盒规格不同）；
- b) 巴西坚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 未开封试剂盒保存在 2℃~8℃，使用前回复至室温（20℃~25℃）。开封后试剂条保存在室温（20℃~25℃）并保持干燥。
 - A.2.3 超过有效期的试剂盒不得使用。
-