# 液体乳中三聚氰胺的快速检测 胶体金免疫层析法（KJ201907）

来源：网络 作者：梦醉花间 更新时间：2025-02-21

*附件7液体乳中三聚氰胺的快速检测胶体金免疫层析法(KJ201907)范围本方法规定了液体乳中三聚氰胺的胶体金免疫层析快速检测方法。本方法适用于巴氏杀菌乳、灭菌乳、调制乳和发酵乳中三聚氰胺的快速测定。原理本方法采用竞争抑制免疫层析原理。样品中...*

附件7

液体乳中三聚氰胺的快速检测

胶体金免疫层析法

(KJ201907)

范围

本方法规定了液体乳中三聚氰胺的胶体金免疫层析快速检测方法。

本方法适用于巴氏杀菌乳、灭菌乳、调制乳和发酵乳中三聚氰胺的快速测定。

原理

本方法采用竞争抑制免疫层析原理。样品中的三聚氰胺与胶体金标记的特异性抗体结合，抑制抗体和试纸条或检测卡中检测线（T线）上抗原的结合，从而导致检测线颜色深浅的变化。通过检测线与控制线（C线）颜色深浅比较，对样品中三聚氰胺进行定性判定。

试剂和材料

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。

3.1

试剂

3.1.1

甲醇。

3.1.2

三羟甲基氨基甲烷（Tris）。

3.1.3

1mol/L盐酸：移取83

mL浓盐酸，加入900mL水中，定容至1

L。

3.1.4

甲醇水溶液：准确量取50

mL甲醇和50

mL水，混匀后备用。

3.1.5

稀释液：准确称取6.05

g

Tris（3.1.2）和8.5

g

1mol/L盐酸（3.1.3），加水定容至1

L，混匀后备用。

3.2

参考物质

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≥99%。

表1

三聚氰胺参考物质中文名称、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

三聚氰胺

Melamine

108-78-1

C3H6N6

126.12

注：或等同可溯源物质。

3.3

标准溶液的配制

三聚氰胺标准储备液（1000

μg/mL）：精密称取适量三聚氰胺标准品（3.2），置于10

mL容量瓶中，用甲醇水溶液（3.1.4）溶解并稀释至刻度，摇匀，制成浓度为1000

μg/mL的三聚氰胺标准储备液；或可直接购三聚氰胺标准储备液。4℃避光保存备用，有效期3个月。

3.4

三聚氰胺胶体金免疫层析试剂盒

3.4.1

金标微孔（含胶体金标记的特异性抗体）。

3.4.2

试纸条或检测卡。

仪器和设备

4.1

移液器：200

µL、1000

µL和5

mL。

4.2

涡旋混合器。

4.3

电子天平：感量为

0.01

g。

4.4

环境条件：温度15℃~35℃，湿度≤80%。

分析步骤

5.1

试样制备

取适量有代表性样品充分混匀。

5.2

试样提取

准确称取样品0.5

g于离心管中，加入5

mL稀释液（3.1.5），涡旋混匀提取5

min，即得待测液。

注：试样提取过程可按照试剂盒说明书，不做限定。

5.3

测定步骤

5.3.1

试纸条与金标微孔测定步骤

吸取150~200

μL样品待测液于金标微孔（3.4.1）中，抽吸5~10次使混合均匀，不要有气泡，40℃温育3

min，将检测试纸条（3.4.2）样品端垂直向下插入金标微孔中，40℃温育5

min，从微孔中取出试纸条，进行结果判定。

5.3.2

检测卡测定步骤

吸取150-200

μL样品待测液于检测卡加样孔（3.4.2）中，室温反应3-5

min，进行结果判定。

5.4

质控试验

每批样品应同时进行空白试验和加标质控试验。

5.4.1

空白试验

称取空白试样，按照5.2和5.3步骤与样品同法操作。

5.4.2

加标质控试验

准确称取空白试样100

g（精确至0.01

g）置于100

mL玻璃溶液瓶中，加入250

μL三聚氰胺标准溶液（1000

μg/mL）（3.3），使试样中三聚氰胺浓度为2.5

mg/kg，按照5.2和5.3步骤与样品同法操作。

注：可参考标准品的说明书配置操作。

结果判定要求

通过对比控制线（C线）和检测线（T线）的颜色深浅进行结果判定。目视结果判读如图1。

6.1

无效

控制线（C线）不显色，表明不正确操作或试纸条/检测卡无效。

6.2

阳性结果

6.2.1

消线法

检测线（T线）不显色，控制线（C线）显色，表明样品中三聚氰胺含量高于方法检测限，判定为阳性（如图1试纸条/检测卡目视判定示意图）。

6.2.2

比色法

检测线（T线）颜色比控制线（C线）颜色浅或几乎不显色，表明样品中三聚氰胺含量高于方法检测限，判定为阳性（如图1试纸条/检测卡目视判定示意图）。

6.3

阴性结果

6.3.1

消线法

检测线（T线）、控制线（C线）均显色，表明样品中三聚氰胺含量低于方法检测限，判定为阴性（如图1试纸条/检测卡目视判定示意图）。

6.3.2

比色法

检测线（T线）颜色比控制线（C线）颜色深或者检测线（T线）颜色与控制线（C线）颜色相当，表明样品中三聚氰胺含量低于方法检测限，判定为阴性（如图1试纸条/检测卡目视判定示意图）。

试纸条

手持端

C线

T线

样品端

检测卡

加样孔

T线

C线

C线

T线

T线

T线

C线

C线

阴性

阳性

阳性

阴性

消线法

比色法

结果无效

检测装置示意图

图1

试纸条/检测卡目视判定示意图

6.4

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。

6.5

读数仪测定法

按读数仪说明书要求操作直接读取并进行结果判定。

结论

三聚氰胺与灭蝇胺有交叉反应，当检测结果为阳性时，应对三聚氰胺结果进行确证。

性能指标

8.1

检测限

2.5mg/kg。

8.2

灵敏度

灵敏度应≥99%

8.3

特异性

特异性应≥85%。

8.4

假阴性率

假阴性率应≤1%。

8.5

假阳性率

假阳性率应≤15%。

注：性能指标计算方法参见附录A。

其他

本方法所述试剂、试剂盒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，可根据试剂盒说明书进行操作。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、试剂盒。

本方法参比标准为《食品安全国家标准原料乳与乳制品中三聚氰胺检测方法》（GB/T

22388-2025）。

本方法使用试剂盒可能与灭蝇胺存在交叉反应，当结果判定为阳性时，应采用实验室仪器方法《食品安全国家标准原料乳与乳制品中三聚氰胺检测方法》（GB/T

22388-2025）对三聚氰胺结果进行确证。

附录A

快速检测方法性能指标计算表

表A.1性能指标计算方法

样品情况a

检测结果b

总数

阳性

阴性

阳性

N11

N12

N1.=N11+N12

阴性

N21

N22

N2.=N21+N22

总数

N.1=N11+N21

N.2=N12+N22

N=N1.+N2.或N.1+N.2

显著性差异（χ2）

χ2=（|N12-N21|-1）2/（N12+N21），自由度（df）=1

灵敏度（p+，%）

p+=N11/N1.特异性（p-，%）

p-=N22/N2.假阴性率（pf-，%）

pf-=N12/N1.=100-灵敏度

假阳性率（pf+，%）

pf+=N21/N2.=100-特异性

相对准确度，%c

（N11+N22）/(N1.+N2.)

注：

a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；

b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。

N：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：N11表示第一行，第一列，N1.表示所有的第一行，N.2表示所有的第二列；N12表示第一行，第二列。

C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。

本方法负责起草单位：北京市食品安全监控和风险评估中心（北京市食品检验所）

验证单位：山东省食品药品检验研究院、四川省食品药品检验检测院、江南大学

主要起草人：史娜、吴燕涛、孙蕊、王丽、潘攀、张丽华

本DOCX文档由 www.zciku.com/中词库网 生成，海量范文文档任你选，，为你的工作锦上添花,祝你一臂之力！