

# 国家市场监督管理总局

# 公 告

2018 年 第 6 号

## 市场监管总局关于发布《辣椒制品中 苏丹红 I 的快速检测 胶体金免疫层析法》 食品快速检测方法的公告

按照《中华人民共和国食品安全法》有关规定，为规范食品快速检测方法使用，《辣椒制品中苏丹红 I 的快速检测 胶体金免疫层析法》食品快速检测方法已经国家市场监督管理总局批准，现予发布。

特此公告。

附件：辣椒制品中苏丹红 I 的快速检测 胶体金免疫层析法  
(KJ201801)



(公开属性：主动公开)

## 附件

# 辣椒制品中苏丹红 I 的快速检测 胶体金免疫层析法（KJ201801）

### 1 范围

本方法规定了辣椒制品中苏丹红 I 的胶体金免疫层析快速检测方法。

本方法适用于辣椒酱、辣椒油、辣椒粉等辣椒制品中苏丹红 I 的快速测定。

### 2 原理

本方法采用竞争抑制免疫层析原理。样品中的苏丹红 I 与胶体金标记的特异性抗体结合，抑制了抗体和检测线（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，对样品中苏丹红 I 进行定性判定。

### 3 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 乙腈。

3.1.2 无水硫酸镁。

3.1.3 正己烷。

3.1.4 二氯甲烷。

3.1.5 氢氧化钠。

3.1.6 氢氧化钠溶液（2mol/L）：称取氢氧化钠（3.1.5）8g，用水溶解并稀释至 100mL。

3.1.7 无水乙醇。

3.1.8 复溶液：将无水乙醇（3.1.7）与水按照体积比 25:75 混匀。

#### 3.2 参考物质

3.2.1 苏丹红 I 参考物质的中文名称、英文名称、CAS 登录号、分子式、相对分子量见表 1，纯度 ≥95%。

表 1 苏丹红 I 参考物质的中文名称、英文名称、CAS 登录号、分子式、相对分子量

中文名称	英文名称	CAS 登录号	分子式	相对分子量
苏丹红 I	Sudan I	842-07-9	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O	248.28

注：或等同可溯源物质。

#### 3.3 标准溶液的配制

3.3.1 苏丹红 I 标准储备液 (1mg/mL): 精密称取苏丹红 I 标准品 (3.2.1) 适量, 置于 10mL 容量瓶中, 加入适量乙腈 (3.1.1) 超声溶解后, 用乙腈稀释至刻度, 摇匀, 制成浓度为 1mg/mL 的苏丹红 I 标准储备液。-20℃避光保存, 有效期 6 个月。

3.3.2 苏丹红 I 标准中间液 (1μg/mL): 精密量取苏丹红 I 标准储备液 (1mg/mL) (3.3.1) 100μL, 置于 100mL 容量瓶中, 用乙腈 (3.1.1) 稀释至刻度, 摇匀, 制成浓度为 1μg/mL 的苏丹红 I 标准中间液。

### 3.4 材料

3.4.1 固相萃取柱: CNW Poly-sery MIP-SDR 固相萃取柱 (200mg/3mL), 或相当者。

3.4.2 苏丹红 I 胶体金免疫层析试剂盒, 适用基质为辣椒酱、辣椒油、辣椒粉。

3.4.2.1 金标微孔。

3.4.2.2 试纸条或检测卡。

### 4 仪器和设备

4.1 移液器: 200μL、1mL 和 5mL。

4.2 涡旋混合器。

4.3 离心机: 转速 ≥4000r/min。

4.4 电子天平: 感量为 0.01g。

4.5 氮吹仪。

4.6 水浴锅。

4.7 环境条件: 温度 15℃~35℃, 湿度 ≤80%。

### 5 分析步骤

#### 5.1 试样制备

取适量样品, 液体样品或半固体样品充分混匀, 固体样品充分粉碎混匀。

#### 5.2 试样的提取

##### 5.2.1 辣椒酱

称取辣椒酱 2g (精确至 0.01g) 于 15mL 离心管中, 加入 0.5g 无水硫酸镁 (3.1.2) 和 5mL 正己烷 (3.1.3) 提取液, 涡旋振荡 1min 后, 4000r/min 离心 5min。将上清液全部加入到固相萃取柱 (3.4.1) 中, 流出液弃去。再加入 6mL 正己烷淋洗固相萃取柱, 流出液弃去。用 2mL 二氯甲烷 (3.1.4) 洗脱固相萃取柱, 收集洗脱液吹干。精密加入 400μL 复溶液 (3.1.8), 涡旋混合 1min, 作为待测液, 立即测定。

##### 5.2.2 辣椒油

称取辣椒油 5g (精确至 0.01g) 于 15mL 离心管中, 加入 8mL 正己烷 (3.1.3) 进行提取, 涡旋振荡 1min 后, 将上清液全部加入到固相萃取柱中, 流出液弃去。再加入 6mL 正己烷淋洗固相萃取柱, 流出液弃去。用 2mL 二氯甲烷 (3.1.4) 洗脱固相萃取柱, 收集洗脱液吹干。精密加入 400μL 复溶液 (3.1.8), 涡旋混合 1min, 作为待测液, 立即测定。

### 5.2.3 辣椒粉

称取辣椒粉3g（精确至0.01g）于50mL离心管中，加入8mL乙腈（3.1.1）提取，涡旋振荡1min后，6000r/min离心5min。转移上清液于10mL离心管中，吹干后加入2mL氢氧化钠溶液（3.1.6），涡旋混匀30s后置于80℃水浴皂化5min。再加入2mL正己烷（3.1.3），涡旋萃取30s后，6000r/min离心5min，转移上清液于新的10mL离心管中，加入无水硫酸镁（3.1.2）0.5g，涡旋振荡30s后，4000r/min离心5min，转移上清液于10mL离心管中吹干。精密加入400μL复溶液（3.1.8），涡旋混合1min，作为待测液，立即测定。

## 5.3 测定步骤

### 5.3.1 试纸条与金标微孔测定步骤

吸取200μL待测液于金标微孔（3.4.2.1）中，抽吸5~10次使混合均匀，室温温育3~5min，将试纸条（3.4.2.2）吸水海绵端垂直向下插入金标微孔中，温育5~8min，从微孔中取出试纸条，进行结果判定。

### 5.3.2 检测卡与金标微孔测定步骤

吸取200μL待测液于金标微孔（3.4.2.1）中，抽吸5~10次使混合均匀，室温温育3~5min，将金标微孔中全部溶液滴加到检测卡（3.4.2.2）上的加样孔中，温育5~8min，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（精确至0.01g）置于具塞离心管中，加入一定体积的苏丹红I标准中间液（3.3.2），使苏丹红I添加浓度为10μg/kg，按照5.2和5.3步骤与样品同法操作。

## 6 结果判定

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。目视判定示意图见图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 阴性结果

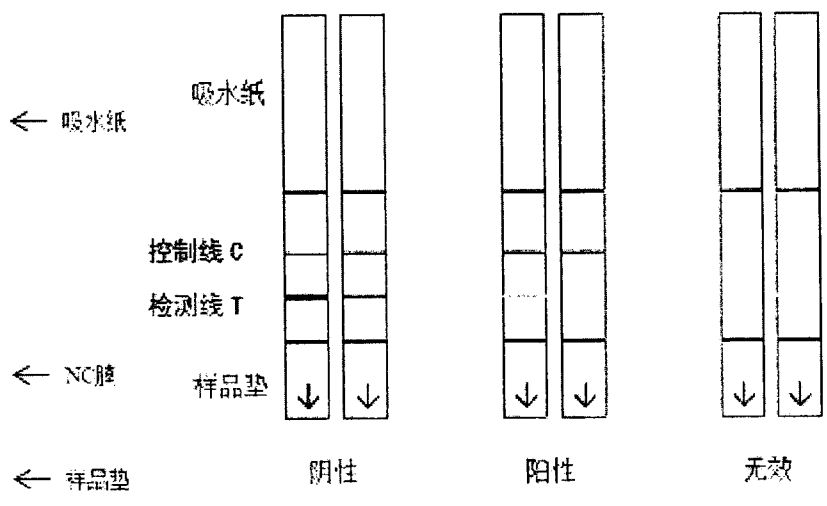
检测线（T线）颜色比控制线（C线）颜色深或者检测线（T线）颜色与控制线（C线）颜色相当，表明样品中苏丹红I低于方法检测限，判定为阴性。

### 6.3 阳性结果

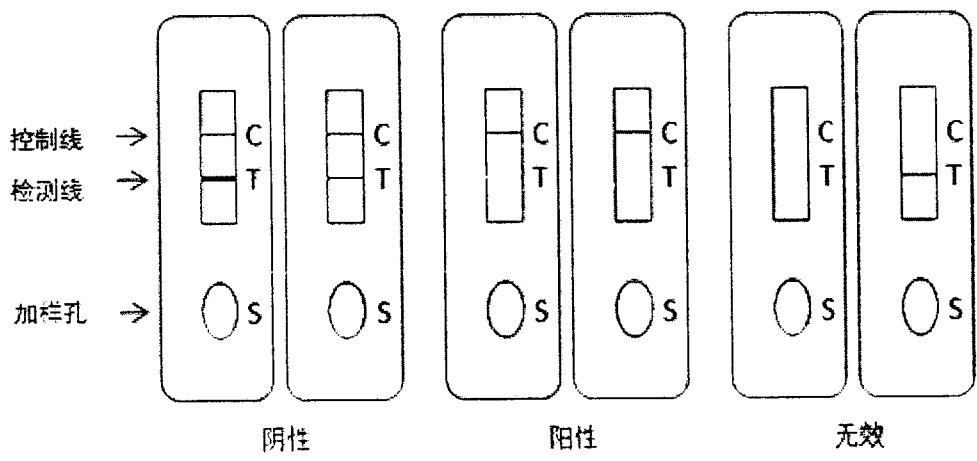
检测线（T线）不显色或检测线（T线）颜色比控制线（C线）颜色浅，表明样品中苏丹红I的含量高于方法检测限，判定为阳性。

### 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。



a) 试纸条



b) 检测卡

图1 目视判定示意图

7 结论

当检测结果为阳性时，应对结果进行确证。

8 性能指标

- 8.1 检测限：10 $\mu$ g/kg。
- 8.2 灵敏度：灵敏度应 $\geq$ 99%
- 8.3 特异性：特异性应 $\geq$ 85%。
- 8.4 假阴性率：假阴性率应 $\leq$ 1%。
- 8.5 假阳性率：假阳性率应 $\leq$ 15%。

注：性能指标计算方法见附录 A。

## 9 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。方法使用者在使用替代试剂、试剂盒或操作步骤前，须对其进行考察，应满足本方法规定的各项性能指标。

本方法参比标准为GB/T 19681-2005《食品中苏丹红染料的检测方法高效液相色谱法》。

附录 A

## 定性方法性能计算表

表 A.1 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	N11	N12	N1.=N11+N12
阴性	N21	N22	N2.=N21+N22
总数	N.1=N11+N12	N.2=N21+N22	N=N1.+N2.或 N.1+N.2
显著性差异( $\chi^2$ )	$\chi^2=( N12-N21 -1)^2/(N12+N21)$ , 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, % <sup>c</sup>	(N11+N22) / (N1.+N2.)		
注:			
<sup>a</sup> 由参比方法检验得到的结果或者样品中实际的公认值结果;			
<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。			
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。			
<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。			

本方法负责起草单位: 南京工业大学。

验证单位: 山东省食品药品检验研究院、中国农业科学院油料作物研究所。

主要起草人: 熊晓辉, 汪开银, 卢一辰, 王骏, 王督。

分送: 各省、自治区、直辖市食品药品监督管理局, 新疆生产建设兵团食品药品监督管理局, 中检院。

国家市场监督管理总局办公厅

2018年5月23日印发