

《食品及生产中过敏原快速检测法》系列团体标准

编制说明

（公开征求意见稿）

目 录

一、工作简况.....	3
1. 任务来源.....	3
2. 主要工作过程.....	3
二、标准编制原则和主要研究内容.....	3
1. 编制原则.....	3
2. 主要研究内容.....	4
三、主要试验（或验证）情况.....	5
1. 灵敏度研究（sensitivity study）.....	5
2. 检测能力研究.....	15
3. 包容性研究.....	18
四、标准中涉及到的专利和知识产权的说明.....	23
五、产业化情况和推广应用论证.....	23
六、与国际、国外对比情况.....	23
七、与现行相关法律、法规、规章及相关标准，特别是强制性标准的协调性.....	23
八、重大意见分歧的处理经过和依据.....	23
九、贯彻标准的要求和措施建议.....	23
十、废止现行相关标准的建议.....	24
十一、其他应予说明的事项.....	24

一、工作简况

1. 任务来源

本文件由中国食品工业协会提出并归口。

2. 主要工作过程

2023 年 1 月：提案阶段--提出制定标准项目，起草单位协商共同确定标准文本框架

2023 年 2 月：立项阶段--进行标准立项征求意见和论证工作；由中国食品工业协会公布计划项目，并在中国食品工业协会官网公开征求意见；

2023 年 3 月 进行前期调研、存在问题分析 and 相关资料收集整理等准备工作，拟定标准“编制说明”编写大纲，起草“标准草案”；

2023 年 4 月-5 月 召开标准工作会，围绕标准草案进行讨论，根据专家意见和建议修改标准草案，形成标准“征求意见稿”。

二、标准编制原则和主要研究内容

1. 编制原则

全国人大常委会在 2017 年 11 月 4 日审议通过新修订的《标准化法》，该法第二条规定：“标准包括国家标准、行业标准、地方标准和团体标准、企业标准。”从法律上进一步明确了团体标准地位。我国现行的法规体系中，国家标准、行业标准、地方标准属于政府标准，由政府主导制定；团体标准和企业标准属于市场标准，由市场自主制定。政府标准与市场标准协同发展、协调配套。市场标准除了快速反应市场需求外，其承载的一个重要功能就是创新。

本标准基于 GB/T 1.1《标准化工作导则》、GB/T 20000《标准化工作指南》等系列标准的要求，结合我国食品安全发展实际与国内外验证结果，对标准适用范围、检验步骤等关键要素进行明确。

现行 SN/T 1961 系列《出口产品过敏原成分检测》测试需要使用荧光 PCR 或者 LAMP 法检测特定的基因片段，测试时间长，对于设备和耗材要求较高，对生产企业来说具有一定的使用门槛。由于几乎所有食源性过敏原中的主要过敏物质均为蛋白质，因此基于灵敏的蛋白质检测方法可以证明食品生产线表面没有蛋白质残留，进而说明没有过敏原污染；同时，针对清洗水、环境表面以及食品原料和终产品中的特定食品过敏原，也可以使用试剂盒、试剂条等快检工具进行测试。因此，具有提高测试效率、设备简便易用等特点的快速检测方法具有市场意义。

2. 主要研究内容

Clean-Trace™ 表面过敏原采样棒用于检测食品生产线表面或液体样品中的蛋白质残留。使用采样棒进行目标区域的样品涂抹采集或浸入液体样品，激活并甩动混匀后进行 55°C 保温 15 分钟。蛋白质肽键在碱性条件下与铜离子 (Cu^{2+}) 形成络合物，并被还原成 Cu^+ ，随后与二喹啉甲酸 (BCA) 形成紫色络合物。通过观察反应后溶液的颜色，判断所涂抹的表面是否有蛋白质残留，从而推断是否存在过敏原。相比其他方法，所使用的设备简单易得，因此可以更方便的进行过敏原监测。

本标准适用于食品生产线设备表面上和溶液中过敏原的快速检测。

本标准的制定旨在协助企业建立快速过敏原检测方法，主要技术内容说明如下：

- (1) 本标准所采用的方法为双缩脲反应检测蛋白质含量。
- (2) 本标准为表面过敏原的快速检测方法。使用采样棒在目标区域进行 10*10cm 的采样或浸入液体样品，随后将采样棒插回装置内，用力向下按压 Clean-Trace™ 表面过敏原采样棒的手柄顶端，使得手柄顶端与装置顶端持平。抓紧装置管顶端，在保持装置管垂直的情况下左右快速摇晃混匀 5 秒钟，溶液将变为薄荷绿色。将 Clean-Trace™ 表面过敏原采样棒置于预热至 55°C 的加热模块内加热 15 分钟，随后立刻取出观察对比溶液颜色即可完成检测流程。Clean-Trace™ 表面过敏原采样棒为专利产品，受到美国专利保护；
- (3) 本标准中的附录给出了常见过敏原中的蛋白含量及操作要点，以帮助实验人员更高的理解检验原理，进行正确判读。

纽勤 Reveal 3D 过敏原检测试剂条（牛奶：8479/麸质：8505）基于抗原抗体反应、胶体金标记技术及毛细管层析技术所研发，是一种具有高灵敏度和特异性的定性检测试剂条，其主要原理如下：

样品提取液通过试剂条上的试剂区，该区域含有与胶体金颗粒结合的目标过敏原特异性抗体。如果样品中存在目标过敏原，它将被胶体金抗体捕获，然后将过敏原-抗体颗粒复合物吸附到含有过敏原特异性抗体区域的膜上，该区域将捕获复合物，使胶体金颗粒集中并形成一条可见的线，即检测线 (T 线)；如果没有目标过敏原，则不会发生显色。此外，在出现过敏原含量过高的情况下，被称为“过载线”的第二条线（即 O 线）将消失，以防止出现假阴性结果。试剂条上还包含一个控制区，试剂区中的胶体金抗体颗粒层析到该区域中时会被第二抗体捕获，从而形成一条可见线，即控制线 (C 线)。若控制线不显色，则说明检测失败，需要重新检测。

纽勤 Reveal 3-D 过敏原检测试剂条设计有 3 条线，即 T 线、O 线和 C 线。如果 T 线、O 线和 C 线位置均显色，则检测结果呈阳性。如果 T 线位置没有显色，但 O 线和 C 线显色，则表示样品中过敏原水平低于该检测限，检测结果呈阴性。如果 C 线正常显色，O 线不显色，T 线不显色或隐约可见，则说明样品中具有极高浓度的目标过敏原成分。

纽勤 Reveal 3-D 过敏原检测试剂条主要适用于生产加工设备表面上拭子涂抹、清洗水（CIP）中牛奶/麸质残留等的定性检测，以及部分食品 and 食品配料中牛奶/麸质残留物的验证等。

纽勤 Veratox 过敏原酶联免疫试剂盒（牛奶：8470/麸质：8510）基于双抗体夹心酶联免疫吸附实验（Sandwich ELISA）所研发，是一种具有高灵敏度和特异性的定量检测试剂盒，其主要原理如下：

将样品提取液加入到抗体包被的微孔中，若样品中存在目标过敏原，其在孵育期间会与抗体结合，而任何未结合的蛋白都会在清洗过程中被冲走；然后加入目标过敏原的第二种抗体，即酶标记抗体，酶标抗体会与已经结合到包被抗体上的过敏原蛋白进行结合。在经过第二次洗涤后，添加底物进行孵育，由于已结合酶标抗体的存在，各微孔会显现出深浅不一的颜色。向各微孔中添加红色终止液，使用酶标仪检测吸光度——吸光度越高（蓝色越深）表示阳性越强，吸光度低（红色）则表示样品中目标过敏原含量较低或不含过敏原。利用试剂盒提供的过敏原标准品的吸光度制作标准曲线，并通过该标准曲线计算出样品中过敏原成分的含量。

Veratox 过敏原酶联免疫试剂盒主要适用于原料及终产品中牛奶/麸质残留物的定量检测，也可用于生产加工设备表面环境采样以及清洗水（CIP）中的牛奶/麸质残留验证等（可进行基质验证，包括在各种天然不含牛奶/麸质的食品中进行加标回收验证以及天然含牛奶/麸质食品的检测）。

三、主要试验（或验证）情况

1. 灵敏度研究（sensitivity study）

灵敏度研究是指参考方法或替代方法（Clean-Trace™ 表面过敏原采样棒）检出过敏原的能力。

对于要求较为严格的食品生产工厂，通常对于表面清洁程度有很高的要求，因此选取了坚果类，豆类，种子类，动物源和谷物制品 5 个大类共 17 种过敏原进行灵敏度研究。使用基质包括 UHT 灭菌杏仁奶饮料、巴西坚果粉，碳烤开心果等（表 1）。使用不锈钢表面作为采样目标，使用每种过敏原分别进行表面接种，随后使用 Clean-Trace™ 表面过敏原采样棒进行涂抹采样、检测和判读。

表 1：所使用的食品种类、过敏原和来源。

食品种类	过敏原	来源
坚果	杏仁	超高温灭菌杏仁奶饮料
	巴西坚果	巴西坚果粉
	腰果	超高温灭菌腰果牛奶饮料
	椰子	超高温灭菌椰奶 饮料
	榛子	磨碎的榛子
	山核桃	磨碎的烤山核桃 坚果
	开心果	磨碎的烤开心果 坚果
	松子	磨碎的烤松子
	核桃	超高温灭菌核桃乳饮料
	花生	花生酱
豆类	大豆	超高温灭菌豆浆饮料
种子	芥末	芥末粉
	芝麻	磨碎的烤芝麻 种子
动物	蛋	经过杀菌的打蛋器表面
	牛奶	超高温灭菌全脂牛奶
	鱼	冷冻生鳕鱼
谷物	小麦	通用面粉

样品制备：

本实验通过人为在不锈钢表面进行已知浓度污染来达到所需的阳性涂抹样品。使用去离子水稀释过敏原食物后，将 1 mL 的食物稀释液均匀分布在一块 10 cm × 10 cm 的不锈钢表面，用来模拟食品蛋白质污染。待不锈钢平面干燥后，使用 Clean-Trace™ 表面过敏原采样棒进行测试。同时，使用两只 Clean-Trace™ 表面过敏原采样棒作为阴性质控以进行颜色的对比。每种过敏原进行 3 次重复实验。

表 2 灵敏度研究数据汇总

过敏原	来源	PA	NA	PD	ND	FP	SE alt(%)	SE ref(%)	RT(%)	FPR(%)
杏仁	超高温灭菌杏仁奶饮料	3	2	0	0	0	100	100	100	0
巴西坚果	巴西坚果粉	3	2	0	0	0	100	100	100	0
腰果	超高温灭菌腰果牛奶饮料	3	2	0	0	0	100	100	100	0
椰子	超高温灭菌椰奶	3	2	0	0	0	100	100	100	0

	饮料	3	2	0	0	0	100	100	100	0
榛子	磨碎的榛子	3	2	0	0	0	100	100	100	0
山核桃	磨碎的烤山核桃	3	2	0	0	0	100	100	100	0
	坚果	3	2	0	0	0	100	100	100	0
开心果	磨碎的烤开心果	3	2	0	0	0	100	100	100	0
	坚果	3	2	0	0	0	100	100	100	0
松子	磨碎的烤松子	3	2	0	0	0	100	100	100	0
核桃	超高温灭菌核桃乳饮料	3	2	0	0	0	100	100	100	0
花生	花生酱	3	2	0	0	0	100	100	100	0
大豆	超高温灭菌豆浆饮料	3	2	0	0	0	100	100	100	0
芥末	芥末粉	3	2	0	0	0	100	100	100	0
芝麻	磨碎的烤芝麻	3	2	0	0	0	100	100	100	0
	种子	3	2	0	0	0	100	100	100	0
蛋	经过杀菌的打蛋器表面	3	2	0	0	0	100	100	100	0
牛奶	超高温灭菌全脂牛奶	3	2	0	0	0	100	100	100	0
鱼	冷冻生鳕鱼	3	2	0	0	0	100	100	100	0
小麦	通用面粉	3	2	0	0	0	100	100	100	0

PA: Clean-Trace 表面过敏原采样棒结果和参考方法阳性结果一致的样品数量。

NA: Clean-Trace 表面过敏原采样棒结果和参考方法阴性结果一致的样品数量。

PD: 阳性偏差的样品数量, Clean-Trace 表面过敏原采样棒结果阳性, 参考方法阴性。

ND: 阴性偏差的样品数量, Clean-Trace 表面过敏原采样棒结果阴性, 参考方法阳性。

FP: 假阳性的样本数。

alt: Clean-Trace 表面过敏原采样棒方法。

ref: 参考方法。

SE: 相对灵敏度。

RT: 相对真实度。

FPR: 假阳性比。

根据 ISO 16140-2: 2016 相关规定, 灵敏度 ND-PD 的可接受限为 3, 本次实验 ND-PD=0。

结论: Clean-Trace 表面过敏原采样棒实验结果符合非配对设计实验等效性要求。

纽勤 Veratox 麦醇溶蛋白 R5 检测试剂盒用于定量检测无麸质食品中极低水平的麦醇溶蛋白, 其定量范围为 2.5-40 mg/kg (以麦醇溶蛋白计), 且可以通过稀释提取物来拓展检测范围。本验证报告详细说明了实验评估的结果, 以确定 Veratox 麦醇溶蛋白 R5 检测试剂盒符合标准要求。

选取 6 种典型的食品基质, 它们都是已知的阴性样本, 每种样本均使用不同批次的 Veratox 麦醇溶蛋白 R5 检测试剂盒检测 10 个平行样, 检测结果均低于 2.5 mg/kg。其中, 来自 AOAC 的

验证数据有：谷物类-2.16 mg/kg；熟汉堡-1.21 mg/kg；面包-0.63 mg/kg 和米粉-1.23 mg/kg。

表 X :6 个已知阴性样品的麦醇溶蛋白检测情况（单位：mg/kg）

平行测定	燕麦	高粱	玉米	荞麦	香肠	薄脆饼干
1	0.0	1.9	0.3	0.0	1.0	0.4
2	0.2	2.1	0.2	0.0	0.2	0.8
3	0.0	0.0	0.4	0.0	0.1	0.5
4	0.1	0.5	0.1	0.0	0.2	0.4
5	0.5	0.9	0.5	0.1	1.0	0.8
6	0.4	1.0	0.4	0.0	0.7	0.6
7	0.1	1.2	0.2	0.0	0.4	0.4
8	0.3	1.2	0.3	0.1	0.2	0.5
9	0.1	1.0	0.1	0.0	0.1	0.4
10	0.5	0.9	0.2	0.0	0.6	0.7
平均值	0.22	1.07	0.27	0.02	0.45	0.55
标准差	0.19	0.61	0.13	0.04	0.35	0.16
检出限 (平均值+2 标准差)	0.61	2.28	0.54	0.10	1.16	0.88

以下所有无麸质食品 100%与 Veratox 麦醇溶蛋白 R5 检测试剂盒无交叉反应，而六种含麸质食品也接受了检测。

表 X：不同食品基质与 Veratox 麦醇溶蛋白 R5 检测试剂盒的交叉反应情况

编号	食品名称	结果
1	红豆	BLQ
2	杏仁	BLQ
3	苋菜	BLQ
4	阿纳萨齐豆	BLQ
5	大麦	100%
6	黑豆	BLQ
7	豇豆	BLQ
8	黑芸豆	BLQ
9	牛明胶	BLQ
10	巴西坚果	BLQ
11	棕色亚麻籽	BLQ
12	糙米	BLQ
13	荞麦	BLQ
14	腰果	BLQ
15	栗子	BLQ
16	栗子粉	BLQ
17	鹰嘴豆	BLQ

18	肉桂粉	BLQ
19	可可豆	BLQ
20	椰子	BLQ
21	玉米	BLQ
22	玉米糖浆	BLQ
23	红莓豆	BLQ
24	金亚麻籽	BLQ
25	大北豆	BLQ
26	半青豌豆	BLQ
27	碎牛肉	BLQ
28	碎鸡肉	BLQ
29	碎猪肉	BLQ
30	碎火鸡肉	BLQ
31	榛子	BLQ
32	卡姆小麦	100%
33	芸豆	BLQ
34	兵豆	BLQ
35	利马豆	BLQ
36	夏威夷果	BLQ
37	中粒米	BLQ
38	栗	BLQ
39	海军豆	BLQ
40	脱脂奶粉	BLQ
41	燕麦	BLQ
42	欧芹片	BLQ
43	花生	BLQ
44	美洲山核桃	BLQ
45	干胡椒	BLQ
46	松子	BLQ
47	黑白斑豆	BLQ
48	开心果	BLQ
49	罂粟籽	BLQ
50	猪明胶	BLQ
51	土豆粉	BLQ
52	南瓜子	BLQ
53	生虾	BLQ
54	米饭	BLQ
55	黑麦	100%
56	芝麻粒	BLQ
57	高粱粉	BLQ
58	大豆	BLQ
59	大豆卵磷脂	BLQ
60	斯佩尔特小麦	100%

61	葵花子	BLQ
62	木薯粉	BLQ
63	画眉草	BLQ
64	黑小麦	100%
65	核桃	BLQ
66	小麦	100%
67	乳清蛋白	BLQ
68	全蛋粉	BLQ
69	梅洛红酒	BLQ
70	活性干酵母	BLQ

BLQ:表示检测结果低于试剂盒的定量限。

纽勤 Veratox 总牛奶检测试剂盒用于定量检测无牛奶食品中的牛奶组分，其定量范围为 2.5-25 mg/kg（，以脱脂奶粉计），且可以通过稀释提取物来拓展检测范围。本验证报告详细说明了实验评估的结果，以确定 Veratox 牛奶检测试剂盒符合标准要求。

选取一种已知的阴性样本，使用不同批次的 Veratox 总牛奶检测试剂盒检测 10 个平行样，检测结果低于 2.5 mg/kg。

表 X：已知阴性样品牛奶组分的检测情况（单位：mg/kg）

平行测定	燕麦
1	0.0
2	0.0
3	0.0
4	0.0
5	0.1
6	0.0
7	0.0
8	0.0
9	0.0
10	0.0
平均值	0.01
标准差	0.03
检出限 (平均值+2 标准差)	0.07

以下所有无牛奶食品 100%与 Veratox 总牛奶检测试剂盒无交叉反应。

表 X：不同食品基质与 Veratox 总牛奶检测试剂盒的交叉反应情况

编号	食品名称	结果
1	杏仁	BLQ
2	大麦	BLQ
3	黑胡桃	BLQ
4	豇豆	BLQ
5	黑芸豆	BLQ
6	巴西坚果	BLQ
7	糙米	BLQ
8	荞麦	BLQ
9	腰果	BLQ
10	栗子	BLQ
11	鹰嘴豆	BLQ
12	可可豆	BLQ
13	椰子	BLQ
14	玉米	BLQ
15	玉米糖浆	BLQ
16	玉米粉	BLQ
17	大北豆	BLQ
18	青豌豆	BLQ
19	半青豌豆	BLQ
20	牛肉	BLQ
21	鸡肉	BLQ
22	猪肉	BLQ
23	火鸡肉	BLQ
24	榛子	BLQ
25	蜂蜜	BLQ
26	芸豆	BLQ
27	兵豆	BLQ
28	利马豆	BLQ
29	夏威夷果	BLQ
30	海军豆	BLQ
31	燕麦	BLQ
32	花生	BLQ
33	花生粉	BLQ
34	美洲山核桃	BLQ
35	松子	BLQ
36	黑白斑豆	BLQ
37	开心果	BLQ
38	罂粟籽	BLQ
39	猪明胶	BLQ
40	土豆粉	BLQ
41	南瓜子	BLQ

42	生虾	BLQ
43	白米饭	BLQ
44	黑麦	BLQ
45	芝麻粒	BLQ
46	高粱	BLQ
47	大豆卵磷脂	BLQ
48	葵花子	BLQ
49	核桃	BLQ
50	小麦	BLQ
51	小麦麸质	BLQ
52	全蛋粉	BLQ

BLQ:表示检测结果低于试剂盒的定量限。

Reveal 3-D 麸质检测试剂条采用独特的三线检测设计，适用于环境拭子、CIP 清洗水和食品样品中麸质过敏原的定性筛查，以及验证是否有小麦、大麦或黑麦组分的存在。其检出限为 5 mg/kg（清洗水或食品，以麸质计）或 5µg/100cm²（环境表面，以麸质计）。本验证报告详细说明了实验评估的结果，以确定 Reveal 3-D 麸质检测试剂条符合标准要求。

该试剂盒显示，所有样品在 5 mg/kg 麸质蛋白(2.5 mg/kg 麦醇溶蛋白样本)上得到 100%的阳性结果，在低至 0.5 mg/kg 的麦醇溶蛋白/1 mg/kg 的麸质蛋白时观察到部分阳性。

表 X：不同浓度下含麸质样品的麸质蛋白检出情况

麦醇溶蛋白 (mg/kg)	结果	大麦 (mg/kg 麸质)	结果
0.5	阳性/部分阳性	0.5	阳性/部分阳性
1	阳性	1	阳性/部分阳性
2.5	阳性	2.5	阳性
5	阳性	5	阳性
10	阳性	10	阳性
50	阳性	50	阳性
500	阳性	500	阳性
5000	阳性	5000	阳性
小麦 (mg/kg 麸质)	结果	黑麦 (mg/kg 麸质)	结果
0.5	阳性/部分阳性	0.5	阳性/部分阳性
1	阳性/部分阳性	1	阳性/部分阳性
2.5	阳性/部分阳性	2.5	阳性
5	阳性	5	阳性
10	阳性	10	阳性
50	阳性	50	阳性

500	阳性	500	阳性
5000	阳性	5000	阳性

对 46 个潜在的交叉反应基质进行了测试，并在下表中列出。交叉反应实验显示杏仁组分会产生基质效应，进一步分析表明，食品中杏仁组分的含量必须达到或超过 25%时才有假阳性的风险，因此将样品进行 1:4 稀释就可以去除杏仁带来的假阳性信号。其他基质的交叉反应检测结果则均为阴性。

表 X：不同食品基质与 Reveal 3-D 麸质检测试剂条的交叉反应情况

编号	食品名称	结果
1	杏仁	阳性
2	黑豆	阴性
3	豇豆	阴性
4	巴西坚果	阴性
5	亚麻籽	阴性
6	糙米粉	阴性
7	腰果	阴性
8	栗子粉	阴性
9	鹰嘴豆粉	阴性
10	肉桂粉	阴性
11	可可豆	阴性
12	椰子粉	阴性
13	大北豆	阴性
14	青豌豆	阴性
15	牛肉	阴性
16	猪肉	阴性
17	火鸡肉	阴性
18	榛子	阴性
19	芸豆	阴性
20	兵豆	阴性
21	利马豆	阴性
22	夏威夷果	阴性
23	海军豆	阴性
24	脱脂奶粉	阴性
25	牛奶	阴性
26	燕麦	阴性
27	欧芹	阴性
28	干胡椒	阴性
29	松子	阴性
30	黑白斑豆	阴性
31	开心果	阴性
32	罂粟籽	阴性

33	南瓜	阴性
34	藜麦粉	阴性
35	米粉	阴性
36	迷迭香	阴性
37	芝麻	阴性
38	高粱粉	阴性
39	大豆粉	阴性
40	葵花子	阴性
41	木薯粉	阴性
42	茶	阴性
43	UHT 杏仁奶	阴性
44	蛋粉	阴性
45	红酒	阴性
46	酵母	阴性

Reveal 3-D 总牛奶检测试剂条采用独特的三线检测设计，适用于环境拭子、CIP 清洗水和食品样品中牛奶组分的定性筛查，包括牛奶中的酪蛋白和乳清蛋白，其检出限为 5 mg/kg（清洗水或食品，以脱脂奶粉计）或 20 µg/100cm²（环境表面，以脱脂奶粉计）。

对 52 个潜在的交叉反应基质进行了测试，并在下表中列出。当用 Reveal 3-D 总牛奶检测试剂条测试时，以下产品 100%没有交叉反应性。本验证报告详细说明了实验评估的结果，以确定 Reveal 3-D 总牛奶检测试剂条符合标准要求。

表 X：不同食品基质与 Reveal 3-D 总牛奶检测试剂条的交叉反应情况

编号	食品名称	结果
1	杏仁	阴性
2	大麦	阴性
3	牛肉	阴性
4	黑胡桃	阴性
5	豇豆	阴性
6	黑芸豆	阴性
7	巴西坚果	阴性
8	糙米	阴性
9	荞麦	阴性
10	腰果	阴性
11	栗子	阴性
12	鹰嘴豆	阴性
13	鸡肉	阴性
14	可可豆	阴性
15	椰子	阴性

16	玉米	阴性
17	玉米糖浆	阴性
18	玉米粉	阴性
19	大北豆	阴性
20	青豌豆	阴性
21	半青豌豆	阴性
22	榛子	阴性
23	蜂蜜	阴性
24	芸豆	阴性
25	兵豆	阴性
26	利马豆	阴性
27	夏威夷果	阴性
28	海军豆	阴性
29	燕麦	阴性
30	花生	阴性
31	花生粉	阴性
32	美洲山核桃	阴性
33	松子	阴性
34	黑白斑豆	阴性
35	开心果	阴性
36	罂粟籽	阴性
37	猪明胶	阴性
38	猪肉	阴性
39	土豆粉	阴性
40	南瓜子	阴性
41	生虾	阴性
42	白米饭	阴性
43	黑麦	阴性
44	芝麻粒	阴性
45	高粱	阴性
46	大豆卵磷脂	阴性
47	葵花子	阴性
48	火鸡肉	阴性
49	核桃	阴性
50	小麦	阴性
51	小麦麸质	阴性
52	全蛋粉	阴性

2. 检测能力研究

实验使用全脂奶粉、鸡蛋粉和花生粉溶解在超纯水中，制成 1-1000 mg/ml 的样品溶液。分

别取 1 mL 的三种过敏原溶液加到不锈钢表面、聚氨酯带和聚四氟乙烯表面上，随后使用 80℃烘箱将表面烘干，从而制成具有 0-1000µg 的食物残留的表面。每种平板分别使用目视检查、ATP 测试法和总蛋白涂抹棒法分别检测三种样品表面的过敏原残留，所有实验至少重复 3 次，测试原始数据详见表 3。

表 3: LOD 测试值原始数据

表面种类	测试方法	表面脱脂乳粉含量					
		0 µg (阴性对照)	10 µg	50 µg	100 µg	500 µg	1000 µg
不锈钢	目视	-	+	+	+	+	+
	ATP 法	-	-	+	+	+	+
	总蛋白法	-	+	+	+	+	+
聚氨酯	目视	-	-	-	+	+	+
	ATP 法	-	-	+	+	+	+
	总蛋白法	-	+/-	+	+	+	+
聚四氟乙烯	目视	-	-	+	+	+	+
	ATP 法	-	+	+	+	+	+
	总蛋白法	-	+/-	+	+	+	+
表面种类	测试方法	表面鸡蛋粉含量					
		0 µg (阴性对照)	10 µg	50 µg	100 µg	500 µg	1000 µg
不锈钢	目视	-	+	+	+	+	+
	ATP 法	-	-	-	-	+	+
	总蛋白法	-	+	+	+	+	+
聚氨酯	目视	-	-	-	+	+	+
	ATP 法	-	-	-	-	+	+
	总蛋白法	-	+	+	+	+	+
聚四氟乙烯	目视	-	-	-	+	+	+
	ATP 法	-	-	-	-	+	+
	总蛋白法	-	+/-	+	+	+	+
表面种类	测试方法	表面花生粉含量					
		0 µg (阴性对照)	10 µg	50 µg	100 µg	500 µg	1000 µg
不锈钢	目视	-	-	-	+	+	+
	ATP 法	-	-	-	+	+	+
	总蛋白法	-	-	+	+	+	+
聚氨酯	目视	-	-	-	+	+	+
	ATP 法	-	-	+	+	+	+
	总蛋白法	-	-	+	+	+	+
	目视	-	-	-	-	+	+

聚四氟乙烯	ATP 法	-	-	-	+	+	+
	总蛋白法	-	-	+	+	+	+

对食品工业中常见的环境表面：不锈钢、塑料和聚四氟乙烯，通过人为污染的方式添加已知水平的麸质组分，这相当于 1、5、10、20 $\mu\text{g}/100\text{ cm}^2$ 的麸质蛋白溶液沉积在表面并自然晾干。按照 Reveal 3-D 麸质检测试剂条说明书进行拭子涂抹并提取其中的麸质成分。提取的样品使用试剂条进行检测(每个样品平行检测 3 次)，记录检测线（T 线）、过载线（O 线）和控制线（C 线）的显色强度。

在整个报告中，将试剂条与参考比色卡进行比较，对 T 线、O 线和 C 线的显色强度进行评分，评分范围为 0(没有显色)到 5(最高强度显色)之间。

表 X：不同环境表面下麸质蛋白的检测情况

环境表面	0 $\mu\text{g}/100\text{ cm}^2$	1 $\mu\text{g}/100\text{ cm}^2$	5 $\mu\text{g}/100\text{ cm}^2$	10 $\mu\text{g}/100\text{ cm}^2$	20 $\mu\text{g}/100\text{ cm}^2$
阳性结果比例%					
不锈钢	0	0	100	100	100
聚四氟乙烯	0	0	100	100	100
塑料	0	0	100	100	100

检测结果显示，在 5 $\mu\text{g}/100\text{ cm}^2$ 及更大的浓度下，所有三种环境表面能得到 100%的阳性结果。

Reveal 3-D 总牛奶检测试剂条的验证方法同上，即通过人为污染的方式添加已知水平的脱脂牛奶，这相当于 0.5、1、2、4、8、10、20、50、100 $\mu\text{g}/100\text{ cm}^2$ 的脱脂牛奶沉积在表面并自然晾干。按照 Reveal 3-D 总牛奶检测试剂条的说明书进行拭子涂抹并提取其中的总牛奶成分。提取的样品使用试剂条进行检测(每个样品平行检测 3 次)，记录检测线（T 线）、过载线（O 线）和控制线（C 线）的显色强度。

在整个报告中，将试剂条与参考比色卡进行比较，对 T 线、O 线和 C 线的显色强度进行评分，评分范围为 0(没有显色)到 5(最高强度显色)之间。

表 X：不同环境表面下牛奶组分的检测情况

环境表面	0 $\mu\text{g}/100\text{ cm}^2$	4 $\mu\text{g}/100\text{ cm}^2$	8 $\mu\text{g}/100\text{ cm}^2$	10 $\mu\text{g}/100\text{ cm}^2$	20 $\mu\text{g}/100\text{ cm}^2$	50 $\mu\text{g}/100\text{ cm}^2$	100 $\mu\text{g}/100\text{ cm}^2$
阳性结果比例%							
塑料	0	0	0	55	100	100	100
不锈钢	0	0	100	100	100	100	100
聚四氟乙烯	0	0	100	100	100	100	100

检测结果显示，在 20 $\mu\text{g}/100\text{ cm}^2$ 及更大的浓度下，所有三种环境表面能得到 100%的阳性结果。

3. 包容性研究

本实验通过人为在不锈钢表面进行已知浓度污染，来达到所需的阳性涂抹样品。测试过敏原包括 17 种基质用于验证 Clean-Trace™ 表面过敏原采样棒的包容性。使用去离子水稀释过敏原食品至 5 和 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，将 1 mL 的食品稀释液均匀分布在一块 10 cm $\times$ 10 cm 的不锈钢表面，用来分别模拟 5 μg 和 10 $\mu\text{g}/100\text{ cm}^2$ 的食品蛋白质污染。待不锈钢平面干燥后，使用 Clean-Trace™ 表面过敏原采样棒进行测试。同时，使用两只 Clean-Trace™ 表面过敏原采样棒作为阴性质控以进行颜色的对比。每种过敏原进行 3 次重复实验。

包容性研究实验数据见表 4：

表 4：包容性研究原始数据

	ALLTEC60 (10ppm)					ALLTEC60 (5 ppm)				
食品过敏原	阴性对照	Rep 1	Rep2	Rep3	阴性对照	阴性对照	Rep 1	Rep2	Rep3	阴性对照
杏仁										
	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照
	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-
巴西坚果										
	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照
	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-

腰果										
	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照
	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-
椰子										
	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照
	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-
榛子										
	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照
	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-
山核桃										
	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照
	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-
开心果										
	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照
	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-

松子										
	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照
	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-
核桃										
	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照
	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-
花生										
	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照
	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-
大豆										
	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照
	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-
芥末										
	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照
	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-

芝麻										
	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照
	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-
鸡蛋										
	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照
	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-
鱼										
	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照
	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-
牛奶										
	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照
	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-
小麦										
	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照	阴性对照	Rep 1	Rep 2	Rep 3	阴性对照
	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-

如表 4 所示，所有低浓度加标过敏原均可从样品基质中检出。

结论：Clean-Trace™ 表面过敏原采样棒具有极佳的包容性。

通过溶解稀释各种含有麸质成分的食物样品的方法进行模拟 CIP 清洗水测试。由于样品中麸质的含量未知，试验按 1:10、1:100 和 1:1000 的梯度稀释进行。检测数据表明该测定方法对清洗水中的麸质残余组分仍具有灵敏度，检测结果如下表所示。

表 X：使用 Reveal 3-D 麸质检测试剂条验证模拟清洗水的检测情况

样品名称	稀释梯度	结果
全麦意大利面	1:100	阳性
洋葱酥	1:100	阳性
谷物麦片	1:100	阳性
椒盐脆饼干	1:1000	阳性
小麦饼干	1:1000	阳性
巧克力片曲奇	1:100	阳性
意大利面罐头	1:10	阳性
全麦华夫饼	1:100	阳性
肉丸	1:100	阳性
披萨卷	1:1000	阳性
玉米热狗	1:1000	阳性
巧克力脆饼冰淇淋	1:100	阳性

同样地，通过溶解稀释各种含有牛奶或奶酪成分的食物样品的方法进行模拟 CIP 清洗水测试。由于样品中牛奶组分的含量未知，试验按 1:10、1:100 和 1:1000 的梯度稀释进行。检测数据表明该测定方法对清洗水中的牛奶残余组分仍具有灵敏度，检测结果如下表所示。

表 X：使用 Reveal 3-D 总牛奶检测试剂条验证模拟清洗水的检测情况

样品名称	稀释梯度	结果
热狗	1:1000	阳性
香肠	1:1000	阳性
面包	1:100	阳性
谷物麦片	1:1000	阳性
蛋糕粉	1:1000	阳性
雪葩	1:1000	阳性
咸饼干	1:100	阳性
燕麦卷	1:1000	阳性
黑巧克力	1:1000	阳性
披萨	1:1000	阳性
油酥糕点	1:1000	阳性
松饼	1:1000	阳性
煎饼粉	1:1000	阳性

沙拉酱	1:1000	阳性
意大利油醋汁	1:100	阳性

四、标准中涉及到的专利和知识产权的说明

Clean-Trace™表面过敏原采样棒为专利产品，受到美国专利保护。

五、产业化情况和推广应用论证

国内现行的标准主要针对食品样品中的八大类过敏原，对于生产车间内的关注较少。然而车间环境中的监管也是食品生产安全的一个环节，而行业内缺乏针对表面过敏原的相关标准和依据。Clean-Trace™表面过敏原采样棒可以在15分钟内快速对涂抹表面进行判断，其表面总蛋白的检测结果既可以满足食品企业对于过敏原检测的相关需求，又可以作为表面整体清洁度的重要参考依据。不仅如此，针对特定的食品过敏原组分，Reveal 3-D胶体金试剂条和Veratox酶联免疫试剂盒可分别进行定性和定量检测，从而对车间整体的清洁度以及物料的清洁度进行整体监控。

国际上，Clean-Trace™表面过敏原采样棒、Reveal 3-D胶体金试剂条和Veratox酶联免疫试剂盒已在包括美国、加拿大、欧盟、澳大利亚等广大发达国家中的食品工厂中广泛应用。

Clean-Trace™表面过敏原采样棒和Reveal 3-D胶体金试剂条可以对清洗水、表面环境的过敏原进行简单有效的定性检测，帮助企业管控车间环境，避免过敏原的交叉污染；而Veratox酶联免疫试剂盒则可用于原料及终产品中特定过敏原组分的含量。这些快速检测工具能提高产品的安全性，确保产品和消费者的安全。

六、与国际、国外对比情况

本文件制定过程中未查到同类国际、国外标准。

七、与现行相关法律、法规、规章及相关标准，特别是强制性标准的协调性

本文件与现行相关法律、法规、规章及相关标准，特别是强制性标准完全保持一致。

八、重大意见分歧的处理经过和依据

标准制定过程中未发生重大分歧意见。

九、贯彻标准的要求和措施建议

建议本文件批准发布6个月后实施。

十、废止现行相关标准的建议

无

十一、其他应予说明的事项

无

《食品及生产中过敏原快速检测法》系列团体标准起草工作组

2023 年 06 月