



食 品 快 速 检 测 方 法

KJ 202204

蔬 菜 水 果 中 水 胺 硫 磷 的 快 速 检 测 胶 体 金 免 疫 层 析 法

2022-12-05 发布

国家市场监督管理总局 发 布

蔬菜水果中水胺硫磷的快速检测

胶体金免疫层析法

1 范围

本方法规定了蔬菜水果中水胺硫磷的胶体金免疫层析快速检测方法。
本方法适用于仁果类、柑橘类、豆类、叶菜类等蔬菜水果中水胺硫磷的快速定性测定。

2 原理

本方法采用胶体金竞争抑制免疫层析原理。样品中的水胺硫磷经提取后与胶体金标记的特异性抗体结合,抑制抗体和检测线(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(T线)与控制线(C线)颜色深浅比较,对样品中水胺硫磷进行定性判定。

3 试剂与材料

除另有规定外,本方法所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的三级水。

3.1 试剂

- 3.1.1 甲醇(CH_3OH)。
- 3.1.2 氯化钠(NaCl)。
- 3.1.3 十二水合磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)。
- 3.1.4 二水合磷酸二氢钠($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)。

3.2 试剂配制

样品提取液(0.1 mol/L 磷酸盐缓冲溶液):称取 9 g 氯化钠(3.1.2)、6 g 十二水合磷酸氢二钠(3.1.3)、0.4 g 二水合磷酸二氢钠(3.1.4),用水溶解并定容至 200 mL。

3.3 标准品

水胺硫磷($\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{NO}_4\text{PS}$,CAS 号:24353-61-5);纯度 $\geq 99\%$,或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

3.4 标准溶液配制

- 3.4.1 水胺硫磷标准储备液(1.0 mg/mL):准确称取水胺硫磷标准品(3.3)10 mg,用甲醇(3.1.1)溶解后,全部转移至 10 mL 容量瓶中,定容至刻度,摇匀,配制成浓度为 1.0 mg/mL 的标准储备液。—18 ℃及以下避光保存,有效期 12 个月。
- 3.4.2 水胺硫磷标准工作液(10 $\mu\text{g/mL}$):准确移取水胺硫磷标准储备液(3.4.1)100 μL 置于 10 mL 容量瓶中,用甲醇(3.1.1)稀释,定容至刻度,摇匀,配制成浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 的标准工作液。—18 ℃及以下避光保存,有效期 1 个月。
- 3.4.3 标准溶液为外部获取时,管理及使用应符合相关规定。

3.5 材料

水胺硫磷胶体金免疫层析试剂盒:一般包含金标微孔、试纸条等。

4 仪器和设备

4.1 电子天平:感量分别为 0.000 1 g 和 0.1 g。

4.2 移液器:200 μ L、1 mL、10 mL。

4.3 捣碎机。

4.4 离心机:转速 $\geq 4\ 000$ r/min(可选)。

4.5 涡旋混合器。

4.6 孵育器。

4.7 胶体金读数仪(可选)。

5 环境条件

环境温度 10 $^{\circ}$ C $\sim$ 30 $^{\circ}$ C。

6 分析步骤

6.1 试样制备

参考 GB 2763—2021《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》表 A.1 取样方式进行取样,取约 100 g 具有代表性的样品,搅碎至匀浆状,分为两份分别装入洁净容器作为试样和留样,密封,标记。留样置于一18 $^{\circ}$ C 及以下保存。

6.2 试样提取

6.2.1 仁果类水果

称取均质混匀的仁果类水果试样 4 g(精确至 0.1 g)于 15 mL 离心管,加入 4 mL 样品提取液(3.2),涡旋振荡 2 min,静置分层或 4 000 r/min 离心 1 min,上清液即为待测液。

6.2.2 柑橘类水果

称取均质混匀的柑橘类水果试样 1 g(精确至 0.1 g)于 15 mL 离心管,加入 2 mL 样品提取液(3.2),涡旋振荡 2 min,静置分层或 4 000 r/min 离心 1 min,上清液即为待测液。

6.2.3 蔬菜和其他水果

称取均质混匀的蔬菜和其他水果试样 2 g(精确至 0.1 g)于 15 mL 离心管,加入 8 mL 样品提取液(3.2),涡旋振荡 2 min,静置分层或 4 000 r/min 离心 1 min,上清液即为待测液。

6.3 测定步骤

吸取上述待测液 200 μ L 于金标微孔中,上下抽吸 5 次 $\sim$ 10 次直至微孔试剂混合均匀。室温温育 3 min,将试纸条插入到金标微孔中,反应 6 min 后,从微孔中取出试纸条,拭去下端的样品垫,在 15 min 内进行结果判定。

6.4 质控试验

每批快检试剂应同时进行空白试验和阳性质控试验。

6.4.1 空白试验

称取空白试样,按照 6.2 和 6.3 步骤与样品同法操作。

6.4.2 阳性质控试验

6.4.2.1 仁果类水果

测定仁果类水果时,称取水胺硫磷含量为 0.01 mg/kg 的质控样,或称取空白试样,加入适量水胺硫磷标准工作液(10 $\mu\text{g/mL}$)(3.4.2),使水胺硫磷的添加量为 0.01 mg/kg,按照 6.2 和 6.3 步骤操作。

6.4.2.2 柑橘类水果

测定柑橘类水果时,称取水胺硫磷含量为 0.02 mg/kg 的质控样,或称取空白试样,加入适量水胺硫磷标准工作液(10 $\mu\text{g/mL}$)(3.4.2),使水胺硫磷的添加量为 0.02 mg/kg,按照 6.2 和 6.3 步骤操作。

6.4.2.3 蔬菜和其他水果

测定蔬菜和其他水果时,称取水胺硫磷含量为 0.05 mg/kg 的质控样,或称取空白试样,加入适量水胺硫磷标准工作液(10 $\mu\text{g/mL}$)(3.4.2),使水胺硫磷的添加量为 0.05 mg/kg,按照 6.2 和 6.3 步骤操作。

7 结果表示

根据读数仪/胶体金免疫层析试剂盒等说明书要求操作,并直接读数表示结果;或采用目视法观察结果。

7.1 目视结果

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。目视结果示意图见图 1。

7.1.1 无效结果

控制线(C线)不显色,无论检测线(T线)是否显色,均表示实验结果无效。

7.1.2 阳性结果

控制线(C线)显色,检测线(T线)不显色或颜色浅于控制线(C线),表示试样中含有待测组分且其含量高于方法检出限,视为阳性。

7.1.3 阴性结果

控制线(C线)显色,检测线(T线)颜色深于或等于控制线(C线),表示试样中不含待测组分或其含量低于方法检出限,视为阴性。

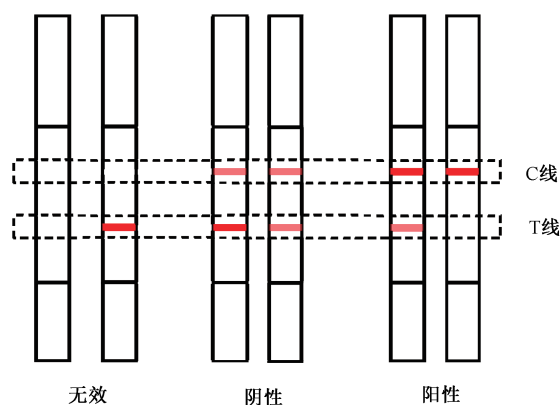


图 1 目视结果示意图

7.2 质控试验要求

空白试验测定结果应为阴性,阳性质控试验测定结果应为阳性。

8 结论

当检测结果为阳性时,应采用参比方法同时对水胺硫磷和甲基异柳磷进行确证。

9 性能指标

9.1 性能指标计算方法按照附录 A 执行。

9.2 检出限:仁果类水果中水胺硫磷的检出限为 0.01 mg/kg,柑橘类水果中水胺硫磷的检出限为 0.02 mg/kg,蔬菜和其他水果中水胺硫磷的检出限为 0.05 mg/kg。

9.3 灵敏度: $\geq 95\%$ 。

9.4 特异性: $\geq 85\%$ 。

9.5 交叉反应率:甲基异柳磷 $\leq 10\%$,其他有机磷类农药 $< 0.1\%$ 。

9.6 假阴性率: $\leq 5\%$ 。

9.7 假阳性率: $\leq 15\%$ 。

10 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,在使用本方法时不作限定。方法使用者在使用替代试剂、试剂盒或操作步骤前,应对其进行考察,以满足本方法规定的各项性能指标。

本方法参比标准为 GB 23200.113—2018《食品安全国家标准 植物源性食品中 208 种农药及其代谢物残留量的测定 气相色谱-质谱联用法》(包括所有的修改单)。

附 录 A
(规范性)
定性方法性能指标计算表

定性方法各个性能指标计算方法见表 A.1。

表 A.1 定性方法性能指标计算表

样品情况 ^a	检测结果 ^b		总数
	阳性	阴性	
阳性	N_{11}	N_{12}	$N_{1.}=N_{11}+N_{12}$
阴性	N_{21}	N_{22}	$N_{2.}=N_{21}+N_{22}$
总数	$N_{.1}=N_{11}+N_{21}$	$N_{.2}=N_{12}+N_{22}$	$N=N_{1.}+N_{2.}$ 或 $N_{.1}+N_{.2}$
显著性差异(χ^2)	$\chi^2=(N_{12}-N_{21} -1)^2/(N_{12}+N_{21})$, 自由度(df)=1		
灵敏度($p+$)/%	$p+=N_{11}/N_{1.}\times 100$		
特异性($p-$)/%	$p-=N_{22}/N_{2.}\times 100$		
假阴性率($pf-$)/%	$pf-=N_{12}/N_{1.}\times 100=100-\text{灵敏度}$		
假阳性率($pf+$)/%	$pf+=N_{21}/N_{2.}\times 100=100-\text{特异性}$		
相对准确度 ^c /%	$(N_{11}+N_{22})/(N_{1.}+N_{2.})\times 100$		
注： N 为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, N_{11} 表示第一行,第一列, $N_{1.}$ 表示所有的第一行, $N_{2.}$ 表示所有的第二列; N_{12} 表示第一行,第二列。			
^a 样品中实际的公议值结果。			
^b 胶体金试纸条得到的结果。灵敏度的计算使用确认后的结果。			
^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。			

本方法起草单位:广东省食品检验所(广东省酒类检测中心)。

本方法验证单位:广东产品质量监督检验研究院、深圳市计量质量检测研究院、江南大学、深圳海关食品检验检疫技术中心、浙江省食品药品检验研究院。

本方法主要起草人:蔡若纯、黎佩锦、张佩霞、钟海鹰、雷毅、孙秀兰、张燕、张洁吟、涂小珂、沈泓、孙嘉迪。