



食 品 快 速 检 测 方 法

KJ 202210

蔬菜水果中灭蝇胺的快速检测 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

蔬菜水果中灭蝇胺的快速检测 胶体金免疫层析法

1 范围

本方法规定了蔬菜水果中灭蝇胺快速检测胶体金免疫层析法。

本方法适用于葱、叶用莴苣、结球莴苣、油麦菜、茎用莴苣叶、芹菜、黄瓜、西葫芦、丝瓜、豇豆、扁豆、荷兰豆、茎用莴苣、姜、哈密瓜中灭蝇胺的快速定性测定。

2 原理

本方法采用竞争抑制免疫层析原理。试样中灭蝇胺经磷酸盐缓冲液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。通过比较检测线与控制线(C线)颜色深浅,对试样中灭蝇胺进行快速检测。

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 乙腈(CH_3CN):分析纯。

3.1.2 甲醇(CH_3OH):分析纯。

3.1.3 氯化钠(NaCl):分析纯。

3.1.4 十二水合磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$):分析纯。

3.1.5 二水合磷酸二氢钠($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$):分析纯。

3.1.6 曲拉通 x-100:分析纯。

3.2 试剂配制

样品提取液:准确称取 8.50 g 氯化钠(3.1.3)、5.54 g 十二水合磷酸氢二钠(3.1.4)、0.26 g 二水合磷酸二氢钠(3.1.5),用水溶解,再准确量取 50 mL 甲醇(3.1.2)、20 mL 曲拉通 x-100(3.1.6),用水定容至 1 000 mL。

3.3 标准品

灭蝇胺标准品的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量见表 1,纯度 $\geq 95\%$ 。

注:或等同可溯源物质。

表 1 灭蝇胺标准品的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量

中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子质量
灭蝇胺	Cyromazine	66215-27-8	$C_6H_{10}N_6$	166.18

3.4 标准溶液配制

3.4.1 灭蝇胺标准储备液(100 mg/L):精密称取灭蝇胺标准品(3.3)10.0 mg,精确至 0.01 mg,置于 200 mL 烧杯中,用乙腈(3.1.1)溶解,定量转移至 100 mL 容量瓶中,再用乙腈(3.1.1)定容,摇匀,配制成 100 mg/L 的灭蝇胺标准储备液,4 ℃冷藏避光保存,有效期 6 个月。

3.4.2 灭蝇胺标准工作液(10 mg/L):精密量取灭蝇胺标准储备液(3.4.1)5 mL 加入 50 mL 容量瓶中,用样品提取液(3.2)定容,摇匀,配制成 10 mg/L 的灭蝇胺标准工作液,临用现配。

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

灭蝇胺胶体金免疫层析试剂盒:一般包含金标微孔、胶体金免疫层析检测卡或试纸条,按产品要求保存。

4 仪器和设备

4.1 电子天平:感量分别为 0.01 g 和 0.01 mg。

4.2 移液器:量程为 100 μ L、200 μ L、1 mL、10 mL。

4.3 高速组织捣碎机。

4.4 涡旋混合器。

4.5 胶体金读数仪(可选)。

5 环境条件

温度 15 ℃ ~35 ℃。

6 分析步骤

6.1 试样制备

取不少于 100 g 具有代表性的蔬菜水果试样,取样部位参考 GB 2763—2021《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》中附录 A。充分均质混匀,分别装入洁净容器作为试样和留样,密封,标记。留样置于-20 ℃下避光保存。

6.2 试样提取

准确称取均质混匀的试样 1.0 g(精确至 0.01 g)于 10 mL 离心管中,加入一定体积的样品提取液(3.2),涡旋 1 min,静置 2 min。根据不同基质及最大残留限量,需对上清液进行进一步稀释,根据表 2 所述稀释方法,将上清液与一定体积样品提取液(3.2)混合,混合液即为待测液。

表 2 不同基质的最大残留限量、所用样品提取液体积及上清液稀释方法

基质名称	最大残留限量 /(mg/kg)	样品提取液 /mL	上清液/ μL +样品提取液/ μL
葱	3	3	50 + 150
叶用莴苣、结球莴苣、芹菜	4	3	50 + 200
油麦菜	20	6	20 + 280
茎用莴苣叶	15	5	20 + 200
黄瓜、茎用莴苣	1	3	300 + 200
西葫芦	2	3	100 + 200
丝瓜	10	5	100 + 500
姜	7	3	100 + 600
扁豆、豇豆、荷兰豆	0.5	3	无需稀释
哈密瓜	0.5	1	无需稀释

6.3 测定步骤

测试前,将未开封的检测卡或试纸条恢复至室温。吸取待测液 120 μL 加入微孔中,缓慢抽吸 5 次~10 次至待测液与微孔试剂充分混匀;室温孵育 2 min 后,吸取微孔中的混匀液 100 μL 滴于检测卡加样孔中,加样同时开始计时,反应 6 min 判读结果。

6.4 质控试验

每批试样应同时进行空白试验和加标质控试验。

6.4.1 空白试验

不称取试样,按照 6.2 和 6.3 步骤与试样同法操作。

6.4.2 加标质控试验

准确称取试样 1.0 g(精确至 0.01 g)置于 10 mL 离心管中,针对不同基质分别添加一定体积的灭蝇胺标准储备液(3.4.1)或标准工作液(3.4.2),制备灭蝇胺浓度达到最大残留限量值的加标质控试样(见表 3),按照 6.2 和 6.3 步骤与试样同法操作。

表 3 不同基质加标质控试样制备方法

基质名称	灭蝇胺标准溶液	标准溶液体积 μL	试样中灭蝇胺 浓度/(mg/kg)
葱	标准工作液(3.4.2)	300	3
叶用莴苣、结球莴苣、芹菜	标准工作液(3.4.2)	400	4
油麦菜	标准储备液(3.4.1)	200	20

表 3 不同基质加标质控试样制备方法(续)

基质名称	灭蝇胺标准溶液	标准溶液体积 μL	试样中灭蝇胺 浓度/(mg/kg)
茎用莴苣叶	标准储备液(3.4.1)	150	15
黄瓜、茎用莴苣	标准工作液(3.4.2)	100	1
西葫芦	标准工作液(3.4.2)	200	2
丝瓜	标准储备液(3.4.1)	100	10
姜	标准储备液(3.4.1)	70	7
扁豆、豇豆、荷兰豆	标准工作液(3.4.2)	50	0.5
哈密瓜	标准工作液(3.4.2)	50	0.5

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表示。目视结果示意图见图 1。

注:如使用其他方法进行结果表示,可在本条款基础上进行适当修改。

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,均表示试验结果无效。

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),表示试样中不含有待测组分或其含量低于方法检出限,视为阴性。

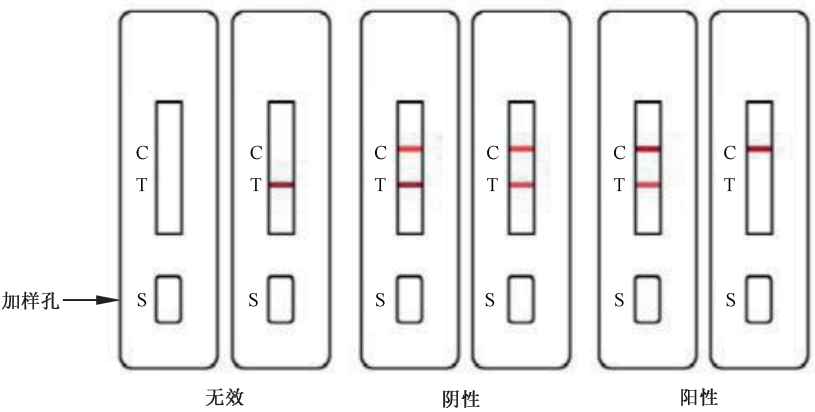


图 1 目视结果示意图

7.2 质控试验结果

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。

8 结论

当测定结果为阳性时,应对结果进行确证。

9 性能指标

- 9.1 灵敏度: $\geq 96\%$ 。
- 9.2 特异性: $\geq 95\%$ 。
- 9.3 交叉反应率: 与三聚氰胺交叉反应率为 333% , 与其他农药不存在交叉反应。
- 9.4 假阴性率: $\leq 4\%$ 。
- 9.5 假阳性率: $\leq 5\%$ 。

10 其他

本方法所述试剂、试剂盒信息、操作步骤及结果判定要求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/T 20769—2008《水果和蔬菜中 450 种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》(包括所有的修改单)。

KJ 202210

本方法负责起草单位：中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所。

本方法验证单位：中国检验检疫科学研究院、江西省食品检验检测研究院、江苏省农业科学院农产品质量安全与营养研究所、深圳海关食品检疫技术中心、四川省食品检验研究院。

本方法主要起草人：王静、曹振、李辉、潘凌屹、于春生、崔雪妍、罗婷、崔晨、郑鹭飞、邵华、王森、金茂俊。