

团 体 标 准

T/SATA 025—2021

农产品中克百威的快速检测方法 胶体金 免疫层析法

Rapid Detection Method of Carbofuran in Agricultural Products Colloidal
gold immunochromatographic assay

2021-09-22 发布

2021-10-22 实施

深圳市分析测试协会

发布

目 次

前言.....	II
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 原理.....	1
4 试剂和材料.....	1
5 仪器和设备.....	2
6 分析步骤.....	2
7 质控试验.....	3
8 结果判读.....	4
9 结论.....	4
10 方法性能指标.....	4
11 其他.....	4
附录 A.....	5

前 言

本标准按照GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规则起草。

本标准由深圳市分析测试协会归口。

本标准主要起草单位：深圳计量质量检测研究院、华南农业大学。

本标准主要起草人：冯荣虎、雷红涛、张王伟、徐振林、王弘、王珍妮、劳翠瑜、伍聪。

本标准为首次发布。

农产品中克百威的快速检测 胶体金免疫层析法

1 范围

本方法规定了农产品中克百威的胶体金免疫层析快速检测方法。

本方法适用于豇豆、菜豆、芹菜（根芹菜）、韭菜、菠菜、芥菜、油麦菜、蕹菜、菜薹（菜心）、黄花菜、黄瓜、西兰花、辣椒、茄子、柑橘、梨、油桃等农产品中克百威的快速检测。

2 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

3 原理

本方法采用竞争抑制免疫层析原理。样品中克百威与胶体金标记的克百威特异性抗体结合，抑制抗体和检测卡中检测线（T线）上克百威抗原的结合，从而导致检测线颜色深浅的变化。通过检测线与质控线（C线）颜色深浅比较，对样品中目标克百威进行定性判定。

4 试剂与材料

除另有规定外，本方法所用试剂均为分析纯，试验用水为GB/T 6682规定的二级水。

4.1 试剂

4.1.1 磷酸氢二钾（ K_2HPO_4 ）。

4.1.2 磷酸二氢钾（ KH_2PO_4 ）。

4.1.3 样品提取液：分别称取 11.9 g 磷酸氢二钾及 3.2 g 磷酸二氢钾，溶解于 1000 mL 水中，混匀。

4.1.4 甲醇。

4.2 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 克百威参考物质中文名称、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
克百威	Carbofuran	1563-66-2	$C_{12}H_{15}NO_3$	221.25

注：或等同可溯源物质。

4.3 标准溶液的配制

4.3.1 克百威标准储备液（1000 $\mu\text{g/mL}$ ）：精密称取适量克百威标准品（4.2），置于 10 mL 容量瓶中，用甲醇（4.1.4）溶解并稀释至刻度，摇匀，制成浓度为 1000 $\mu\text{g/mL}$ 的克百威标准储备液；或可直接购克百威标准储备液。-18℃避光保存备用，有效期 6 个月。

4.3.2 克百威标准工作液（1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）：分别吸取克百威标准储备液（1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）（4.3.1）100 μL 于 100 mL 容量瓶中，用甲醇（4.1.4）稀释至刻度，摇匀，配制成浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的克百威标准工作液。

4.4 克百威胶体金免疫层析试剂盒

4.4.1 金标微孔（含胶体金标记的特异性抗体）。

4.4.2 试剂条或检测卡。

5 仪器和设备

5.1 移液器：200 μL 、1000 μL 和 5 mL。

5.2 涡旋混合器。

5.3 电子天平：感量为 0.01 g。

5.4 环境条件：温度 15 $^{\circ}\text{C}$ ~35 $^{\circ}\text{C}$ ，湿度 \leq 80%。

6 分析步骤

6.1 样品前处理

将蔬菜等样品剪成 1 cm^2 大小，取 2 g 样品，再加 5 mL 提取液，震荡混匀 2 min，取管中液体即为样品提取液。

6.2 分析步骤

6.2.1 检测卡测定步骤

吸取 150-200 μL 样品待测液于检测卡加样孔（4.4.2）中，室温反应 5-8 min，进行结果判定。

6.2.2 试剂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（4.4.1）中，抽吸 5~10 次使混合均匀，不要有气泡，反应 5 min，将检测试纸条（4.4.2）样品端垂直向下插入金标微孔中，室温跑样 5 min，从微孔中取出试纸条，进行结果判定。

注：试剂条（或检测卡）具体检测步骤可参考相应的说明书操作。

7 质控试验

每批样品应同时进行空白试验和阳性质控试验，可根据检测样品量制定适宜频次的质控试验。

7.1 空白试验

准备空白样品，按照 6.1 和 6.2 步骤与样品同法操作。

7.2 阳性质控试验

准确称取空白试样 2 g（精确至 0.01 g）置于 50 mL 离心管中，加入 40 μL 克百威标准工作液（1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）（4.3.2），使试样中克百威终浓度为 0.02 mg/kg，按 6.1 和 6.2 步骤操作。

8 结果判读

通过对比控制线和检测线的颜色深浅进行结果判定。由于长时间放置会引起检测线颜色的变化，需在规定时间内（反应结束后 5min 内）进行结果判定。目视结果判读依据如图 1 所示。

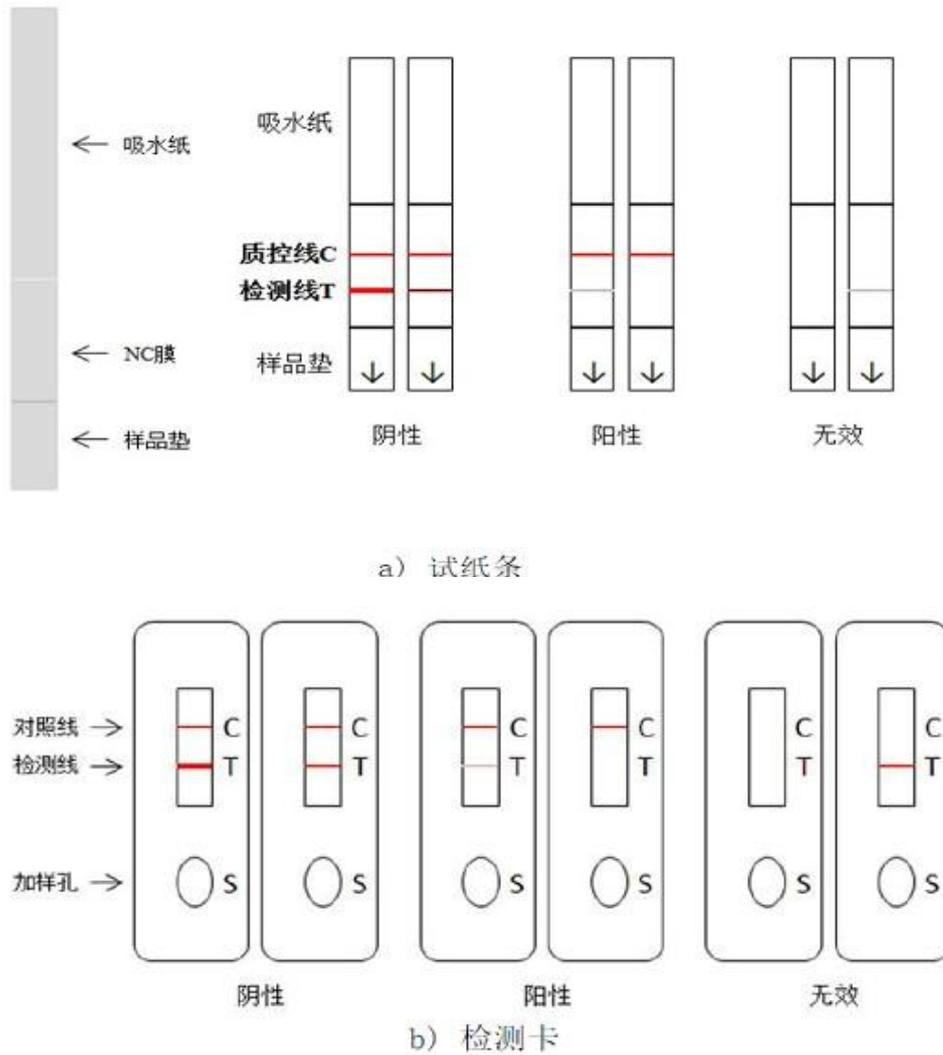


图 1 目视判定示意图（对比法）

8.1 无效

质控线（C 线）不显色，表明不正确操作或试纸条/检测卡无效。

8.2 阳性结果

检测线（T 线）不显色，表明样品中目标检测物高于方法检测限，判为阳性。

8.3 阴性结果

检测线（T 线）与质控线（C 线）均显色，表明样品中目标检测物低于方法检测限或无残留，判为阴性。

8.4 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。

9 结论

当检测结果为阳性时，应对结果进行确证。

10 方法性能指标

10.1 按附录A 的规定计算快速检测方法性能指标。

10.2 检出限：0.02 mg/kg

10.3 灵敏度：灵敏度应 $\geq 99\%$ 。

10.4 特异性：特异性应 $\geq 85\%$ 。

10.5 假阴性率：假阴性率应 $\leq 1\%$ 。

10.6 假阳性率：假阳性率应 $\leq 15\%$ 。

11 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《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》（GB/T 20769-2008）。

当结果判定为阳性时，应采用实验室仪器方法《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》（GB/T 20769-2008）对克百威结果进行确证。

附录 A
(规范性附录)
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+N12	N.2=N21+N22	N=N1.+N2. 或 N.1+N.2
显著性差异(X ²)	$X^2=(N12-N21 -1)^2/(N12+N21)$, 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, % ^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。			