

团 体 标 准

T/SATA 047—2023

蔬菜水果中啮虫脒、阿维菌素、戊唑醇和 烯酰吗啉的多残留快速检测 胶体金免疫层析法

Rapid detection of acetamiprid, avermectin, tebuconazole and dimethylmorpholine residues in vegetables and fruits— colloidal gold immunochromatography

2023 - 04 - 18 发布

2023 - 05 - 18 实施

目 次

前 言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 原理	1
5 试剂与材料	1
5.1 试剂	1
5.2 试剂配制	2
5.3 标准物质	2
5.4 标准溶液配制	2
5.5 材料	2
6 仪器与设备	2
7 环境条件	2
8 分析步骤	3
8.1 试样制备	3
8.2 试样提取	3
8.3 测定步骤	3
8.4 质控试验	3
8.4.1 空白试验	3
8.4.2 加标质控试验	3
9 结果判定	3
9.1 目视判定	3
9.2 目视判定示意图	3
9.2.1 无效结果	3
9.2.2 阴性结果	3
9.2.3 阳性结果	4
9.3 质控试验结果	4
10 结果确认	4
11 性能指标	4
12 其他	4
附录 A （规范性） 快速检测方法性能指标计算表	5

前 言

本文件按照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》的规定起草。

本文件由深圳市分析测试协会提出。

本文件由深圳市分析测试协会归口。

本文件起草单位：深圳市易瑞生物技术股份有限公司、深圳海关食品检验检疫技术中心、深圳市检验检疫科学研究院、深圳市计量质量检测研究院、成都纺织高等专科学校。

本文件主要起草人：黄永健、林泳欣、陈嘉慧、王炳志、杨妤、古俊、彭斌、靳保辉、万志刚、张丽平、张鑫、李城、曾承乾、杨星星、张世伟、莫秋华、朱晓芳。

蔬菜水果中啶虫脒、阿维菌素、戊唑醇和烯酰吗啉的多残留快速检测 胶体金免疫层析法

1 范围

本文件规定了蔬菜水果中啶虫脒、阿维菌素、戊唑醇和烯酰吗啉的多残留快速检测的胶体金免疫层析快速检测方法。

本文件适用于本文件适用于蔬菜(大蒜、洋葱、葱、结球甘蓝、青花菜、芹菜、茄子、食荚豌豆、苦瓜)、水果(番木瓜)中啶虫脒、阿维菌素、戊唑醇和烯酰吗啉残留量的快速定性测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB 2763 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

快速检测方法 rapid detection method

具有能够满足用户适当需求的性能,具有减少分析时间、易于操作或者可以自动操作、小型化、降低检测成本等优势的优势的替代方法。

3.2

参比方法 reference method

经过系统研究,清楚而严密的描述所需条件和程序,用于对物质一种或多种特征值进行测量的方法。

注:该方法已经证明具有与预期用途相称的准确度及其他性能。原则上参比方法应为法定检验方法。

3.3

定性分析 qualitative analysis

根据物质的化学性质、生物性质或物理性质对其进行鉴定的分析方法。

4 原理

本方法采用竞争抑制免疫层析原理。样品中的目标物经提取后与胶体金标记的特异性抗体结合,抑制了抗体和试纸条中检测线(T线)上抗原的结合,从而导致检测线(T线)颜色深浅的变化。通过检测线(T线)与质控线(C线)颜色深浅比较,对样品中目标物进行定性分析。

5 试剂与材料

5.1 试剂

除另有说明外,所有试剂均为分析纯,实验室用水应符合 GB/T 6682 中三级水的要求。

5.1.1 氯化钠(NaCl)。

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

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

5.1.4 丙酮(CH_3COCH_3)。

5.2 试剂配制

样品提取液（0.2 mmol/L 磷酸盐缓冲溶液）：称取 9 g 氯化钠（5.1.1）、6 g 十二水合磷酸氢二钠（5.1.2）、0.4 g 二水合磷酸二氢钠（5.1.3），在烧杯中用水溶解后转移至 100 mL 容量瓶中，定容至 100 mL，摇匀。

注：也可由胶体金免疫层析试剂盒配套提供，或按照其说明书配制。

5.3 标准物质

啉虫脒、阿维菌素、戊唑醇及烯酰吗啉中文名称、英文名称、CAS登录号、分子式、相对分子量见表1，纯度≥98%。

表1 标准物质信息表

中文名称	英文名称	CAS登录号	分子式	相对分子量
啉虫脒	Acetamiprid	135410-20-7	C ₁₀ H ₁₁ ClN ₄	222.67
阿维菌素	Abamectin	71751-41-2	C ₄₉ H ₇₄ O ₁₄	887.11
戊唑醇	Tebuconazole	107534-96-3	C ₁₆ H ₂₂ ClN ₃ O	307.82
烯酰吗啉	Dimethomorph	110488-70-5	C ₂₁ H ₂₂ ClNO ₄	387.86

注：或等同可溯源物质。

5.4 标准溶液配制

5.4.1 啉虫脒、阿维菌素、戊唑醇及烯酰吗啉标准储备溶液（1 000 μg/mL）：准确称取适量经纯度折算后的啉虫脒、阿维菌素、戊唑醇及烯酰吗啉标准物质(5.3)各 10 mg(精确至 0.01 mg)，置于小烧杯中，用丙酮(5.1.4)溶解，定量转移至 10 mL 容量瓶中，再用丙酮(5.1.4)定容，摇匀，制成浓度为 1 000 μg/mL 的啉虫脒、阿维菌素、戊唑醇及烯酰吗啉标准储备溶液或可直接购买啉虫脒、阿维菌素、戊唑醇及烯酰吗啉标准储备溶液。避光 -18℃ 及以下条件保存，有效期 6 个月。

5.4.2 啉虫脒、阿维菌素、戊唑醇及烯酰吗啉标准中间溶液（100 μg/mL）：准确量取 1 mL 啉虫脒、阿维菌素、戊唑醇及烯酰吗啉标准储备溶液（1 000 μg/mL）（5.4.1），置于 10 mL 容量瓶中，用丙酮（5.1.4）稀释至刻度，摇匀，制成浓度为 100 μg/mL 的啉虫脒、阿维菌素、戊唑醇及烯酰吗啉标准中间溶液。2℃~8℃ 避光保存，有效期 3 个月。

5.4.3 啉虫脒、阿维菌素、戊唑醇及烯酰吗啉标准工作溶液（10 μg/mL）：准确量取 1 mL 啉虫脒、阿维菌素、戊唑醇及烯酰吗啉标准中间溶液（100 μg/mL）（5.4.2），置于 10 mL 容量瓶中，用丙酮（5.1.4）稀释至刻度，摇匀，制成浓度为 10 μg/mL 的啉虫脒、阿维菌素、戊唑醇及烯酰吗啉标准工作溶液。2℃~8℃ 避光保存，有效期 3 个月。

5.5 材料

啉虫脒+阿维菌素+戊唑醇+烯酰吗啉四联卡胶体金快速检测试剂盒。应在阴凉、干燥、避光条件下保存。

5.5.1 四联金标微孔（含胶体金标记的特异性抗体）。

5.5.2 四联检测卡。

6 仪器与设备

6.1 电子天平：感量为 0.1 mg 和 0.01 g。

6.2 移液器：10 μL、100 μL、200 μL、1 mL、5 mL。

6.3 粉碎机或搅拌机。

6.4 涡旋振荡器。

6.5 离心机：转速≥4 000 r/min。

6.6 胶体金读数仪（可选）。

7 环境条件

温度 15°C~35°C, 相对湿度≤80%。

8 分析步骤

8.1 试样制备

样品测定部位应按照 GB 2763 中附录A的规定执行。

称取不少于 100 g 具有代表性的蔬菜或水果样品, 剪碎, 分别装入洁净容器作为试样和留样, 密封, 标记。留样置于 -18°C 以下保存。

8.2 试样提取

称取 2 g 试样(精确至 0.1 g) 剪碎混匀, 置于 15 mL 离心管中, 加 8 mL 样品提取液(5.2), 盖上盖子, 涡旋混合器混匀或手动上下振荡混匀30 s, 静置分层或4 000 r/min离心1 min, 取上清液, 即为待测液。

在四联金标微孔中依次加入 200 μL 待测液, 用一次性吸管或移液器上下抽吸 5~10 次直至微孔试剂混合均匀, 待测定。

注: 试样提取(8.2)也可按照试剂盒说明书进行。

8.3 测定步骤

8.3.1 将以上(8.2)已加入测试样品混匀待测定的金标微孔在 20°C~30°C 反应 3 min。

8.3.2 将四联检测卡对应插入到四联金标微孔中, 20°C~30°C 反应 6 min。

8.3.3 从金标微孔中取出四联检测卡, 除去试纸条下端的样品垫, 进行结果判定。

注1: 测定步骤(8.3)也可按照试剂盒说明书进行。

注2: 若试剂盒需冷藏保存, 使用前恢复至环境温度。

8.4 质控试验

质控试验包括空白试验和加标质控试验。

8.4.1 空白试验

称取空白试样, 按照 8.2 和 8.3 步骤与试样同法操作。

8.4.2 加标质控试验

准确称取 2 g (精确至 0.1 g) 空白试样置于 15 mL 离心管中, 加入 10 μL 啉虫脒、阿维菌素、戊唑醇及烯酰吗啉标准工作溶液(10 μg/mL)(5.4.3), 使试样中啉虫脒、阿维菌素、戊唑醇及烯酰吗啉终浓度均为 0.05 mg/kg, 按 8.2 和 8.3 步骤操作。

注: 更换快检试剂品牌、批次时, 均应进行空白试验和加标质控试验。

9 结果判定

9.1 目视判定

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, 见图1目视判定示意图。

注: 也可使用胶体金读数仪判读, 读数仪的具体操作与判读原则参照读数仪的使用说明书。

9.2 目视判定示意图

9.2.1 无效结果

质控线(C线)不显色, 无论检测线(T线)是否显色, 判定为无效结果。质控试验结果不符合要求时, 同批次所有检测结果判定为无效结果。若出现无效结果, 需对同批次样品进行重新检测。

9.2.2 阳性结果

质控线(C线)显色,检测线(T线)颜色深于或等于质控线(C线),判定为阴性结果。

9.2.3 阳性结果

质控线(C线)显色,检测线(T线)不显色或颜色浅于质控线(C线),判定为阳性结果。

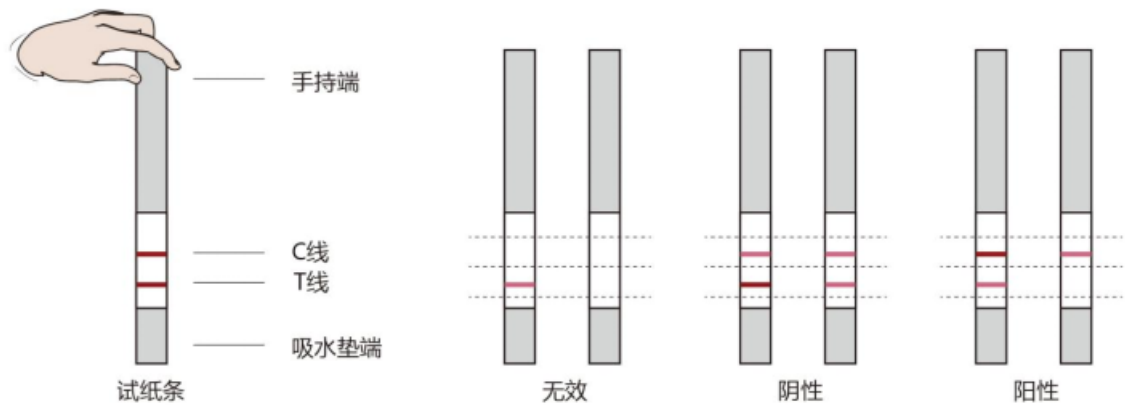


图1 目视判定示意图

9.3 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。

10 结果确认

当检测结果为阳性时,采用参比方法进行确证。

11 性能指标

11.1 检出限: 啉虫脒: 0.05 mg/kg; 阿维菌素: 0.05 mg/kg; 戊唑醇: 0.05 mg/kg; 烯酰吗啉: 0.05 mg/kg。

11.2 灵敏度: $\geq 95\%$ 。

11.3 特异性: $\geq 85\%$ 。

11.4 假阴性率: $\leq 5\%$ 。

11.5 假阳性率: $\leq 15\%$ 。

注: 性能指标计算方法见附录A。

12 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。方法使用者在使用试剂、试剂盒或操作步骤之前,应对其进行考察,性能指标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 23584-2009《水果、蔬菜中啉虫脒残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》; GB 23200.20-2016《食品安全国家标准 食品中阿维菌素残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法》; 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》; 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》。

附录 A
(规范性)
快速检测方法性能指标计算表

性能指标计算方法见表A.1。

表A.1 性能指标计算方法

样品情况 ^①	检测结果 ^②		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 (X^2)	$X^2 = (N_{12} - N_{21} - 1)^2 / (N_{12} + N_{21})$, 自由度 (df) = 1		
灵敏度 (p+, %)	$p+ = N_{11} / N_{1.}$		
特异性 (p-, %)	$p- = N_{22} / N_{2.}$		
假阴性率 (pf-, %)	$pf- = N_{12} / N_{1.} = 100 - \text{灵敏度}$		
假阳性率 (pf+, %)	$pf+ = N_{21} / N_{2.} = 100 - \text{特异性}$		
相对准确度, % ^③	$(N_{11} + N_{22}) / (N_{1.} + N_{2.})$		
注: ① 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; ② 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: 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。 ③ 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。			