



食 品 快 速 检 测 方 法

KJ 202309

蔬 菜 水 果 中 甲 基 异 柳 磷 的 快 速 检 测 胶 体 金 免 疫 层 析 法

2023-06-13 发布

国家市场监督管理总局 发 布

蔬菜水果中甲基异柳磷的快速检测

胶体金免疫层析法

1 范围

本方法规定了蔬菜水果中甲基异柳磷的胶体金免疫层析快速检测方法。

本方法适用于豆类、叶菜类、薯芋类、仁果类等蔬菜水果中甲基异柳磷的快速定性测定。

2 原理

本方法采用竞争抑制免疫层析原理。样品中的甲基异柳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(T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,对样品中甲基异柳磷进行定性判定。

3 试剂与材料

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 丙酮(C_3H_6O)。

3.1.2 氯化钠($NaCl$)。

3.1.3 十二水合磷酸氢二钠($Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$)。

3.1.4 二水合磷酸二氢钠($NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$)。

3.2 试剂配制

样品提取液(0.1 mol/L 磷酸盐缓冲溶液):准确称取 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

甲基异柳磷($C_{14}H_{22}NO_4PS$, CAS 号:99675-03-3):纯度 $\geq 98\%$,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 甲基异柳磷标准储备液(100 $\mu g/mL$):准确称取甲基异柳磷标准品(3.3)10 mg,用丙酮(3.1.1)溶解后,全部转移至 100 mL 容量瓶中,定容至刻度,摇匀,制成质量浓度为 100 $\mu g/mL$ 的标准储备液。 $-18\text{ }^{\circ}C$ 及以下避光保存,有效期 6 个月。

3.4.2 甲基异柳磷标准工作液(1 $\mu g/mL$):准确移取甲基异柳磷标准储备液(3.4.1)100 μL 置于 10 mL 容量瓶中,用丙酮(3.1.1)稀释,定容至刻度,摇匀,制成质量浓度为 1 $\mu g/mL$ 的标准工作液。 $-18\text{ }^{\circ}C$ 及以下避光保存,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

甲基异柳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 和 10 mL。

4.3 捣碎机。

4.4 离心机:转速 $\geq 4\ 000$ r/min(可选)。

4.5 涡旋振荡器。

4.6 孵育器。

4.7 胶体金读数仪(可选)。

5 环境条件

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

6 分析步骤

6.1 试样制备

取约 100 g 具有代表性的样品,搅碎至匀浆状,分别装入洁净容器作为试样和留样,密封,标记。留样置于-18 $^{\circ}$ C 及以下保存。

6.2 试样提取

6.2.1 蔬菜(除甘薯外)、水果

准确称取均质混匀的试样 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),涡旋或剧烈振荡 2 min,静置分层或 4 000 r/min 离心 2 min,上清液即为待测液。

6.2.2 甘薯

准确称取均质混匀的试样 1 g(精确至 0.1 g)于 15 mL 离心管,加入 10 mL 样品提取液(3.2),涡旋或剧烈振荡 2 min,静置分层或 4 000 r/min 离心 2 min,上清液即为待测液。

6.3 测定步骤

6.3.1 蔬菜(除甘薯外)、水果

吸取待测液(6.2.1)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 10 min 内进行结果判定。

6.3.2 甘薯

吸取样品提取液(3.2)100 μ L 于金标微孔中,加入待测液(6.2.2)100 μ L,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 10 min 内进行结果判定。

6.4 质控试验

6.4.1 每批快检试剂应同时进行空白试验和阳性质控试验。

6.4.2 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。

6.4.3 阳性质控试验:测定蔬菜(除甘薯外)、水果时,称取甲基异柳磷含量为 0.01 mg/kg 的质控样,或称取空白试样,加入适量甲基异柳磷标准工作液(3.4.2),使甲基异柳磷的添加量为 0.01 mg/kg,按照 6.2 和 6.3 步骤操作。

测定甘薯时,称取甲基异柳磷含量为 0.05 mg/kg 的质控样,或称取空白试样,加入适量甲基异柳磷标准工作液(3.4.2),使甲基异柳磷的添加量为 0.05 mg/kg,按照 6.2 和 6.3 步骤操作。

7 结果判定要求

7.1 通则

通过对比控制线(C线)和检测线(T线)的颜色深浅对结果进行判读,目视判定示意图如图 1 所示。必要时也可使用胶体金读数仪判读,读数仪的具体操作与判读方法参照产品使用说明书。

7.2 目视法结果判定

7.2.1 无效

控制线(C线)不显色,检测结果无效。

7.2.2 阴性结果

控制线(C线)显色,检测线(T线)比控制线(C线)颜色深或者相当,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。

7.2.3 阳性结果

控制线(C线)显色,检测线(T线)不显色或比控制线(C线)颜色浅,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。

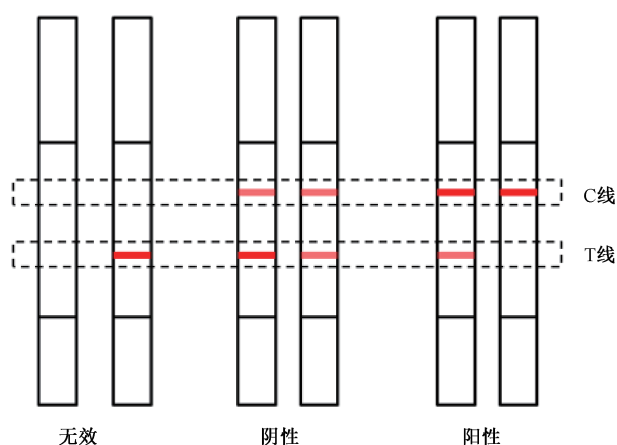


图 1 目视判定示意图

7.3 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,应采用参比方法对甲基异柳磷和水胺硫磷进行确证。

9 性能指标

9.1 检出限

蔬菜(除甘薯外)、水果为 0.01 mg/kg,甘薯为 0.05 mg/kg。

9.2 灵敏度

灵敏度 $\geq 95\%$ 。

9.3 特异性

特异性 $\geq 90\%$ 。

9.4 交叉反应率

水胺硫磷 $\leq 25\%$,甲胺磷、乙酰甲胺磷、蝇毒磷、啶硫磷、对硫磷、马拉硫磷、甲基对硫磷、乐果、甲拌磷、灭线磷、敌敌畏、三唑磷、毒死蜱 $< 0.1\%$ 。

9.5 假阴性率

假阴性率 $\leq 5\%$ 。

9.6 假阳性率

假阳性率 $\leq 10\%$ 。

10 其他

本方法分析步骤和结果判定可以根据厂家试剂盒的说明书进行,但应符合或优于本方法规定的性能指标。

本方法参比方法为 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)。

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:厦门市食品药品质量检验研究院、四川省食品检验研究院、华南农业大学、深圳市计量质量检测研究院、广州市食品检验所、广西-东盟食品检验检测中心、广东省食品工业研究有限公司。

本方法主要起草人:罗志浩、刘海虹、蔡若纯、雷毅、雷红涛、骆和东、黄璐瑶、张瑾如、叶秋雄、李锐。