



食品快速检测方法

KJ 202307

蔬菜水果中丙环唑的快速检测 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

蔬菜水果中丙环唑的快速检测
胶体金免疫层析法

1 范围

本方法规定了蔬菜水果中丙环唑的胶体金免疫层析快速检测方法。
本方法适用于菜薹、苹果、茭白、香蕉、芹菜中丙环唑残留的快速检测。

2 原理

本方法采用竞争抑制免疫层析原理，试样中丙环唑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，从而导致检测线颜色深浅的变化。通过比较检测线(T线)与控制线(C线)颜色深浅，对试样中丙环唑进行定性判定。

3 试剂与材料

3.1 试剂

本方法所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的二级水。

- 3.1.1 十二水合磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)。
- 3.1.2 磷酸二氢钾(KH_2PO_4)。
- 3.1.3 氯化钠(NaCl)。
- 3.1.4 氯化钾(KCl)。
- 3.1.5 甲醇(CH_3OH)。

3.2 标准品

丙环唑标准品：纯度 $\geq 99\%$ ，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质，其中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量见表 1。

表 1 丙环唑标准品的中文名称、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
丙环唑	Propiconazole	60207-90-1	$\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_2$	342.22

3.3 溶液配制

- 3.3.1 甲醇-水(4+6)：将甲醇(3.1.5)和水按 4：6(体积比)混合均匀。
- 3.3.2 样品稀释液：称取 3.580 g 十二水合磷酸氢二钠(3.1.1)、0.280 g 磷酸二氢钾(3.1.2)、8.010 g 氯化钠(3.1.3)、0.200 g 氯化钾(3.1.4)，加水溶解并定容至 1 L。

3.4 标准溶液配制

3.4.1 丙环唑标准储备溶液(400 $\mu\text{g/mL}$):准确称取丙环唑标准品(3.2)20 mg(按纯度折算),精确至0.01 mg,置于10 mL烧杯中,加入甲醇(3.1.5)溶解,转移至50 mL容量瓶中,再用甲醇(3.1.5)定容,摇匀,配制成质量浓度400 $\mu\text{g/mL}$ 丙环唑标准储备溶液。4℃冷藏避光保存,有效期6个月。

3.4.2 丙环唑标准工作溶液(20 $\mu\text{g/mL}$):准确量取丙环唑标准储备溶液(3.4.1)2.5 mL,至50 mL容量瓶中,用甲醇(3.1.5)定容,摇匀,配制成质量浓度20 $\mu\text{g/mL}$ 丙环唑标准工作溶液,临用现配。

3.4.3 丙环唑标准工作溶液(2 $\mu\text{g/mL}$):准确量取丙环唑标准储备溶液(3.4.2)5 mL,至50 mL容量瓶中,用甲醇(3.1.5)定容,摇匀,配制成质量浓度2 $\mu\text{g/mL}$ 丙环唑标准工作溶液,临用现配。

3.5 材料

丙环唑胶体金免疫层析试剂盒:一般包含金标微孔、胶体金检测卡。需在阴凉、干燥、避光条件下保存。

4 仪器和设备

4.1 电子天平:感量分别为0.01 g和0.01 mg。

注:当实验室可获得符合规定的标准溶液时,无需配备感量为0.01 mg的天平。

4.2 高速组织捣碎机。

4.3 涡旋混合器。

4.4 离心机:转速 $\geq 4\,000\text{ r/min}$ 。

4.5 移液器:100 μL 、200 μL 、1 mL。

4.6 胶体金读数仪(可选)。

5 环境条件

检测环境温度为10℃~35℃。

6 分析步骤

6.1 试样制备

菜薹取整棵(去除根),苹果取全果(去柄),茭白取整棵(去除外皮)、香蕉取全蕉、芹菜取整棵(去除根),称取约1 kg具有代表性的样品,切碎后置于高速组织捣碎机中制成匀浆样品,均分成两份,分别装入洁净容器作为试样和留样,密封,标记。留样置于-18℃以下保存。

6.2 试样提取

准确称取菜薹、苹果、茭白、香蕉、芹菜试样2 g(精确至0.01 g)于15 mL离心管中,加入2 mL甲醇-水(3.3.1),涡旋提取30 s,置于离心机中4 000 r/min离心5 min使固液分层。用样品稀释液(3.3.2)分别稀释各试样上清液,混匀后即待测液。各试样稀释方式如表2所示。

表 2 试样上清液稀释方式

试样	第一次稀释	第二次稀释
菜薹	100 μL 上清液 + 700 μL 稀释液	无须第二次稀释
苹果	50 μL 上清液 + 750 μL 稀释液	无须第二次稀释
茭白	50 μL 上清液 + 750 μL 稀释液	无须第二次稀释
香蕉	50 μL 上清液 + 750 μL 稀释液	50 μL 第一次稀释液 + 450 μL 稀释液
芹菜	50 μL 上清液 + 1 950 μL 稀释液	50 μL 第一次稀释液 + 3 950 μL 稀释液

6.3 测定步骤

吸取 120 μL 上述待测液于金标微孔中,抽吸至微孔底部胶体金完全溶解,水平静置 2 min。吸取微孔内溶液,全部滴加到检测卡加样孔(S)中,反应 8 min,根据示意图图 1 判定结果,在 2 min 内进行判读。

6.4 质控试验

6.4.1 每批试样应同时进行空白试验和加标质控试验。

空白试样应经参比方法检测且未检出丙环唑。

6.4.2 空白试验:称取空白试样,按照 6.2 和 6.3 步骤与试样同法操作。

6.4.3 加标质控试验:准确称取空白试样 2 g(精确至 0.01 g),置于 15 mL 离心管中,菜薹加入 50 μL 的标准工作溶液(3.4.3),使试样中丙环唑浓度为 0.05 mg/kg;苹果、茭白加入 100 μL 的标准工作溶液(3.4.3),使试样中丙环唑浓度为 0.1 mg/kg;香蕉加入 100 μL 的标准工作溶液(3.4.2),使试样中丙环唑浓度为 1 mg/kg;芹菜加入 100 μL 的标准储备溶液(3.4.1),使试样中丙环唑浓度为 20 mg/kg,按照 6.2 和 6.3 步骤与试样同法操作。

7 结果判定

7.1 通则

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。结果有以下几种:

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。

- 无效结果:控制线(C线)不显色,无论检测线(T线)是否显色,检测结果无效。
- 阳性结果:控制线(C线)显色,若检测线(T线)不显色或颜色浅于控制线(C线)表示试样中含有丙环唑且其含量高于方法检出限,视为阳性。
- 阴性结果:控制线(C线)显色,若检测线(T线)颜色深于或等于控制线(C线)表示试样中不含丙环唑或其含量低于方法检出限,视为阴性。

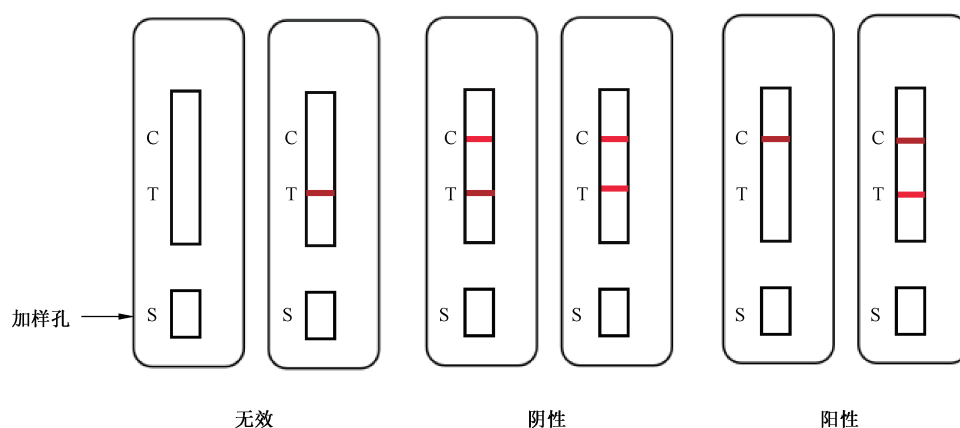


图 1 目视判定示意图

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

当检测结果为阳性时,应采用参比方法对结果进行确证。

9 性能指标

9.1 检出限

莱薹检出限为 0.05 mg/kg,苹果、茭白检出限为 0.1 mg/kg,香蕉检出限为 1 mg/kg,芹菜检出限为 20 mg/kg。

9.2 灵敏度

灵敏度 $\geq 97\%$ 。

9.3 特异性

特异性 $\geq 92\%$ 。

9.4 交叉反应率

苯醚甲环唑、多效唑、烯唑醇、粉唑醇、联苯三唑醇、戊唑醇、腈唑醇 $< 0.1\%$ 。

9.5 假阴性率

假阴性率 $\leq 3\%$ 。

9.6 假阳性率

假阳性率 $\leq 8\%$ 。

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,应满足本方法规定的各项性能指标。

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:江苏省农业科学院、南京农业大学。

本方法验证单位:山西省检验检测中心药品检验技术研究所、中国农业科学院植物保护研究所、浙江省农业科学院农产品质量安全与营养研究所、安徽省农业科学院植物保护与农产品质量安全研究所、绿城农科检测技术有限公司。

本方法主要起草人:刘凤权、华修德、王鸣华、王利民、丁园、李姣、陈贺、张存政、王玉龙。