

KJ

食 品 快 速 检 测 方 法

KJ 202502

蔬 菜 水 果 中 百 草 枯 农 药 残 留 的 快 速 检 测 胶 体 金 免 疫 层 析 法

2025-11-13 发布

国家市场监督管理总局 发 布

蔬菜水果中百草枯农药残留的快速检测

胶体金免疫层析法

1 范围

本方法规定了蔬菜水果中百草枯农药残留的胶体金免疫层析快速检测方法。

本方法适用于蔬菜(韭菜、青花菜、冬瓜、辣椒、芹菜、叶用莴苣、茄子、普通白菜、食荚豌豆、蕹菜、扁豆、南瓜、黄瓜、马铃薯、结球甘蓝、胡萝卜、花椰菜、葱、菜豆、苦瓜、番茄、大白菜、茎用莴苣、豇豆)和水果(黑莓、蓝莓、猕猴桃、火龙果、菠萝、葡萄、芒果、油桃、樱桃、龙眼、荔枝、香蕉、哈密瓜、西瓜、柠檬、苹果、橄榄、柑、橙、橘、柚)中百草枯残留的快速测定。

2 原理

样品中残留的百草枯与胶体金标记的特异性抗体结合,抑制了抗体和检测线(T线)上竞争抗原的结合,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,对样品中残留的百草枯进行定性判定。

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 规定的二级水。

3.1 试剂

3.1.1 氯化钠(NaCl)。

3.1.2 氯化钾(KCl)。

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

3.1.4 磷酸二氢钾(KH_2PO_4)。

3.1.5 氢氧化钠溶液(NaOH , 0.1 mol/L)。

3.1.6 吐温-20($\text{C}_{58}\text{H}_{114}\text{O}_{26}$)。

3.2 试剂配制

样品稀释液(PBST, pH 8.0):称取 8.00 g 氯化钠(3.1.1)、0.20 g 氯化钾(3.1.2)、3.63 g 十二水合磷酸氢二钠(3.1.3)、0.24 g 磷酸二氢钾(3.1.4),加 900 mL 去离子水溶解,用 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液(3.1.5)调节 pH 至 8.0,定容至 1 L,再加入 5 mL 吐温-20(3.1.6),混匀。

3.3 参考物质

参考物质的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量见表 1,纯度 $\geq 98\%$ 。

注:或等同可溯源物质。

表 1 参考物质的中文名称、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
二氯百草枯	Paraquat	1910-42-5	$C_{12}H_{14}Cl_2N_2$	257.159

3.4 标准溶液配制

3.4.1 百草枯标准储备液(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$):准确称取参考物质(3.3)10 mg,精确至 0.1 mg,用水溶解并定容至 100 mL 容量瓶(聚丙烯或聚氯乙烯材质)中,摇匀,4 $^{\circ}\text{C}$ 冷藏避光保存,有效期 6 个月。

3.4.2 百草枯标准中间液(10 $\mu\text{g}/\text{mL}$):准确移取百草枯标准储备液(3.4.1)5 mL,用水定容至 50 mL 容量瓶(聚丙烯或聚氯乙烯材质)中,摇匀,4 $^{\circ}\text{C}$ 冷藏避光保存,有效期 1 周。

3.4.3 百草枯标准工作液(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$):准确移取百草枯标准中间液(3.4.2)5 mL,用水定容至 50 mL 容量瓶(聚丙烯或聚氯乙烯材质)中,摇匀,4 $^{\circ}\text{C}$ 冷藏避光保存,有效期 1 周。

3.5 材料

百草枯快速检测试剂盒:一般由金标微孔+胶体金检测卡/条,或者是单独的胶体金检测卡/条及配套的前处理试剂、说明书组成,按产品要求保存。

4 仪器和设备

4.1 电子天平:精度分别为 0.01 mg 和 0.1 mg。

4.2 pH 计。

4.3 粉碎机。

4.4 涡旋混合器。

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

4.6 恒温恒湿箱: $-5\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

4.7 移液器:10 μL 、200 μL 、1 000 μL 、5 mL。

4.8 胶体金试纸条读卡仪(可选)。

5 环境条件

温度应控制在 $10\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 40\text{ }^{\circ}\text{C}$,相对湿度 $\leq 80\%$ 。

6 分析步骤

6.1 试样制备

采集具有代表性的样品,根据 GB 2763—2021 附录 A 称取样品测定部位约 100 g,粉碎混匀。

6.2 试样提取

称取 $1\text{ g} \pm 0.05\text{ g}$ 试样(6.1)至 15 mL 离心管中,加入 2 mL 稀释液(3.2),剧烈振荡 3 min,4 000 r/min 离心 3 min,取离心后的上清液按照表 2 进行稀释操作,获取待测液。

表 2 样本稀释方法

食品类别/名称	残留限量要求/(mg/kg)	稀释方法 (上清液+稀释液)
黑莓、蓝莓、火龙果、猕猴桃、菠萝、葡萄、芒果、油桃、樱桃、龙眼、荔枝	0.01	50 μL +150 μL
香蕉、哈密瓜、西瓜、柠檬、柚	0.02	20 μL +180 μL
蔬菜(韭菜、青花菜、冬瓜、辣椒、芹菜、叶用莴苣、茄子、普通白菜、食荚豌豆、蕹菜、扁豆、南瓜、黄瓜、马铃薯、结球甘蓝、胡萝卜、花椰菜、葱、菜豆、苦瓜、番茄、大白菜、茎用莴苣、豇豆)、苹果	0.05	10 μL +200 μL
橄榄	0.1	15 μL +500 μL
柑、橙、橘	0.2	10 μL +1 000 μL
注：试样提取(6.2)也可按照试剂盒说明书进行。		

6.3 测定步骤

用移液器移取 100 μL 待测液于金标微孔中,缓慢抽吸多次至待测液与微孔试剂充分混匀,孵育 2 min。将金标微孔中全部液体滴加至检测卡上的加样孔中,反应 5 min,直接进行结果判定。

注：测定步骤(6.3)也可按照试剂盒说明书进行。

6.4 质控试验

6.4.1 通则

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百草枯。

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 加标质控试验

准确称取空白试样 1 g $\pm$ 0.05 g 于 15 mL 离心管中,根据样本中百草枯残留限量要求加入相应体积的百草枯标准工作液(3.4.3),按照 6.2 和 6.3 步骤与样品同法操作。

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。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。

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。

7.2 目视法结果判定

7.2.1 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。

7.2.2 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)的颜色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)不显色或颜色浅于控制线(C线)的颜色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。

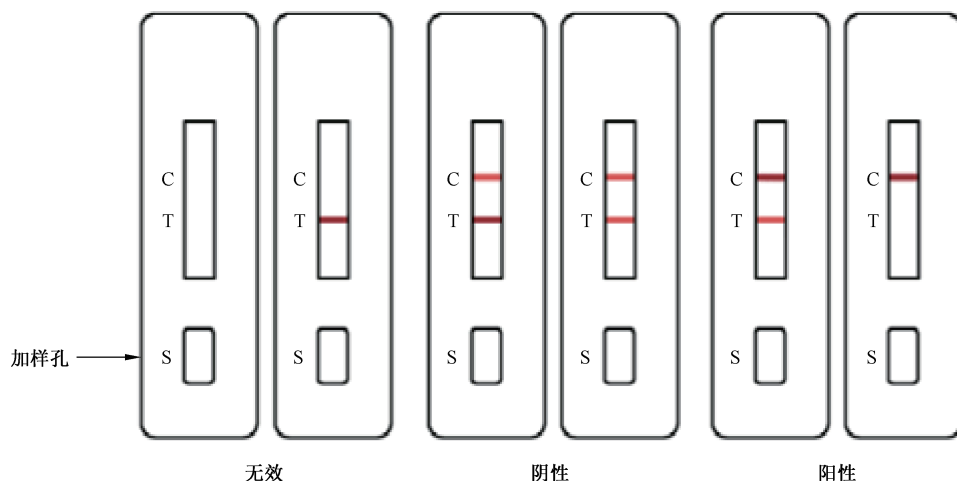


图 1 目视结果示意图

7.3 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。

8 结论

当测定结果为阳性时,应采用参比方法对结果进行确证。

9 性能指标

9.1 检出限

黑莓、蓝莓、火龙果、猕猴桃、菠萝、葡萄、芒果、油桃、樱桃、龙眼、荔枝为 0.01 mg/kg;香蕉、哈密瓜、西瓜、柠檬、柚为 0.02 mg/kg;蔬菜、苹果为 0.05 mg/kg;橄榄为 0.1 mg/kg;柑、橙、橘为 0.2 mg/kg。

9.2 灵敏度

灵敏度 $\geq 99\%$ 。

9.3 特异性

特异性 $\geq 95\%$ 。

9.4 交叉反应率

敌草快、草铵膦、甲胺磷、丙溴磷、草甘膦、麦草畏和氟吡甲禾灵的交叉反应率均 $\leq 0.1\%$ 。

9.5 假阴性率

假阴性率 $\leq 1\%$ 。

9.6 假阳性率

假阳性率 $\leq 5\%$ 。

10 废物处理

试验中产生的废液应集中收集,并做好相应标识,委托有资质的单位进行处理。

11 注意事项

在样品采集、前处理及分析过程中不得使用玻璃材质器皿及耗材。试验中使用的参考物质和标准溶液对人体健康有害,溶液配制及样品前处理过程应按规定佩戴防护用具,避免接触皮肤和衣物。

12 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 SN/T 0293—2014《出口植物源性食品中百草枯和敌草快残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法》(包括所有的修改单)。

本方法起草单位:深圳市计量质量检测研究院(庄晓东、王伟达、古丽君、卢灿鑫、蓝勇波、林长虹、江培淳、张洁吟、陈琳玲)。