

KJ

食 品 快 速 检 测 方 法

KJ 202503

蔬菜水果中苯醚甲环唑的快速检测 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

蔬菜水果中苯醚甲环唑的快速检测 胶体金免疫层析法

1 范围

本方法规定了蔬菜、水果中苯醚甲环唑的快速检测胶体金免疫层析法。

本方法适用于洋葱、西红柿、葡萄、梨、苹果、菜豆、辣椒、黄瓜、大白菜、叶用莴苣、结球莴苣、芹菜中苯醚甲环唑的快速定性测定。

2 原理

本方法采用竞争抑制免疫层析原理,样品中的苯醚甲环唑经提取后与胶体金标记的特异性抗体结合,抑制抗体和试纸条检测线上抗原的结合,从而产生检测线颜色深浅的变化,通过检测线与控制线颜色深浅比较,对样品中苯醚甲环唑进行定性判定。

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 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 二水合磷酸二氢钠($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)。
- 3.1.3 甲醇(CH_3OH)。

3.2 试剂配制

3.2.1 样品提取液:取 17.0 g 十二水磷酸氢二钠(3.1.1)与 0.41 g 二水磷酸二氢钠(3.1.2)用蒸馏水溶解并定容至 500 mL。

3.3 标准品

苯醚甲环唑标准品的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量见表 1,纯度 $\geqslant 99.0\%$ 。

注:或等同可溯源物质。

表 1 苯醚甲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
苯醚甲环唑	Difenoconazole	119446-68-3	$\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_3$	406.26

3.4 标准溶液配制

3.4.1 苯醚甲环唑标准储备液(1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$):精密称取苯醚甲环唑标准品(3.3)25 mg(精确至 0.1 mg)置于烧杯中,用甲醇(3.1.3)溶解并转移定容至 25 mL,配制成质量浓度为 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 苯醚甲

环唑标准储备液,避光-18 ℃下保存,有效期1年。

3.4.2 苯醚甲环唑工作液(10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$):准确吸取苯醚甲环唑标准储备液(3.4.1)1.0 mL于100 mL容量瓶中,用甲醇(3.1.3)定容至刻度,摇匀,配制成质量浓度为10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的苯醚甲环唑工作液,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

3.5.1 苯醚甲环唑胶体金免疫层析试剂盒(性能指标符合本方法规定):一般包含胶体金检测试纸条或检测卡及配套的试剂,按产品要求保存。

3.5.2 离心管(20 mL或50 mL)。

4 仪器和设备

4.1 涡旋混合器。

4.2 电子天平:感量分别为0.01 g和0.01 mg。

4.3 移液器:量程分别为100 μL 、1 mL、5 mL和10 mL。

4.4 计时器。

4.5 高速均质机。

5 环境条件

室温(15 ℃~30 ℃)。

6 分析步骤

6.1 试样制备

取新鲜样品,按GB 2763—2021《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》的规定取样约100 g,搅碎至匀浆状,均分为2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

称取2.00 g±0.05 g样品至离心管中,加入6 mL提取液(3.2.1),盖上盖子,涡旋振荡或手动振摇1 min,静置1 min,得样品处理液。根据检测需求,按照表2进行稀释后,得样品待测液。

表2 不同样品基质的最大残留限量及样品提取液稀释方法

基质种类	最大残留限量/(mg/kg)	样品处理液(μL)+提取液(μL)
洋葱、西红柿、葡萄、梨、苹果、菜豆	0.5	无需稀释即为样品待测液
辣椒、黄瓜、大白菜	1	100+100
叶用莴苣、结球莴苣	2	100+300
芹菜	3	100+500

6.3 测定步骤

测试前,先将未开封的试纸条恢复至室温;取出试纸条,用一次性吸管吸取样品待检液,垂直缓慢滴加2滴(约100 μL)于加样孔中,样品溶液加入检测卡加样孔中并开始计时,反应15 min,在10 min内进行结果判定。

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。

6.4.2 空白试验

称取不加标准品的空白试样,按照6.2和6.3与试样同法操作。

6.4.3 加标质控试验

根据测定试样限量,称取相应限量浓度的质控样,或称取空白试样,针对不同样品类型基质加入适量苯醚甲环唑工作液(3.4.2),使达到限量含量后,按6.2和6.3步骤操作,平行测试3次。加标量参照表3。

表3 不同基质加标质控试样制备方法

基质名称	加入标准溶液体积/μL	试样中苯醚甲环唑浓度/(mg/kg)
洋葱、西红柿、葡萄、梨、苹果、菜豆	100	0.5
辣椒、黄瓜、大白菜	200	1
叶用莴苣、结球莴苣	400	2
芹菜	600	3

7 结果表示

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。

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,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,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。

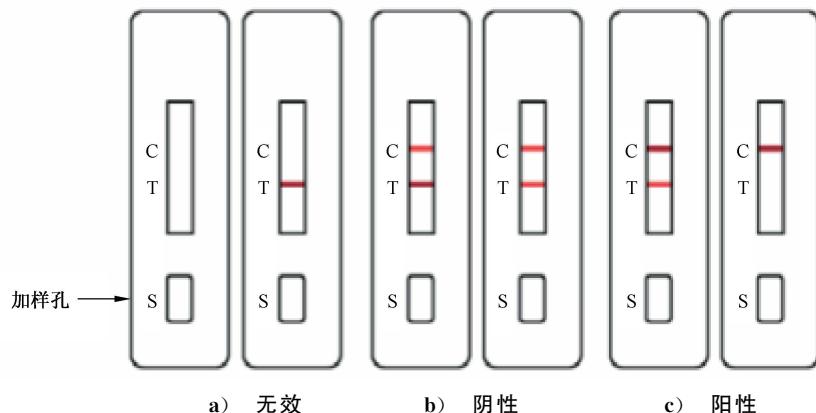


图 1 目视结果示意图

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,应采用参比标准对结果进行确证。

9 性能指标

9.1 检出限:洋葱、西红柿、葡萄、梨、苹果、菜豆为 0.5 mg/kg;辣椒、黄瓜、大白菜为 1 mg/kg;叶用莴苣、结球莴苣为 2 mg/kg;芹菜为 3 mg/kg。

9.2 灵敏度: $\geq 95\%$ 。

9.3 特异性: $\geq 95\%$ 。

9.4 交叉反应率:与三唑酮、烯唑醇、戊唑醇、丙环唑、氟环唑、毒死蜱、百菌清、敌敌畏、克百威、3-羟基克百威、多菌灵、腐霉利的交叉反应率 $<0.1\%$ 。

9.5 假阴性率: $\leq 5\%$ 。

9.6 假阳性率: $\leq 5\%$ 。

10 其他

本方法所述试剂、试剂盒信息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。

本方法参比标准(方法)为 GB 23200.121—2021《食品安全国家标准 植物源性食品中 331 种农药及其代谢物残留量的测定 液相色谱-质谱联用法》(包括所有的修改单)。

本方法起草单位:福建省产品质量检验研究院(李郁、魏桂云、刘华丰、刘芳、李健、蒋明琴、柯晓凤)。