

FSLB/SJ

佛山市食用农产品快速检测联盟标准

FSLB/SJ 14—2017

蔬菜水果中有机氯类农药残留量 的快速检测

2017-10-30 发布

2017-10-31 实施

佛山市食用农产品快速检测标准联盟 发布

前 言

本标准按照GB/T 1.1—2009《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》规定编写。

本标准由佛山市食品药品监督管理局提出和归口管理。

本标准起草单位：佛山市质量和标准化研究院、佛山市食品药品检验检测中心、广东汇信农产品检验有限公司、华南农业大学食品学院、深圳市易瑞生物技术有限公司、广东达元绿洲食品安全科技股份有限公司、广州万联生物科技有限公司、广州安诺食品科学技术有限公司、佛山职业技术学院。

本标准主要起草人：郭友珍、陈瑞莲、伍志权、杨金易、付辉、金虹、谢俊平、吴文玲、马丽、郑琳。

本标准为首次发布。

引 言

有机氯农药主要分为以苯为原料和以环戊二烯为原料的两大类。以苯为原料的有机氯农药包括使用最早、应用最广的杀虫剂DDT和六六六，以及六六六的高丙体制品林丹、DDT的类似物甲氧DDT、乙滴涕，也包括从DDT结构衍生而来、生产吨位小、品种繁多的杀螨剂，如杀螨酯、三氯杀螨砒、三氯杀螨醇等。而以环戊二烯为原料的有机氯农药包括作为杀虫剂的氯丹、七氯、硫丹、狄氏剂、艾氏剂、异狄氏剂、碳氯特灵等。有机氯农药通过食物链进入人体和动物体，能在心肝、肝、肾等组织中蓄积，由于这类农药脂溶性大，所以在脂肪中蓄积最多。蓄积的残留农药也能通过母乳排出，或转入卵蛋等组织，影响子代。因此各国对有机氯农药在食品中的残留控制甚严，德国、美国、日本等不容许在食品中检测出环戊二烯类杀虫剂。目前，常规检测方法有气相色谱法和气相色谱-质谱/质谱法等。这些方法的检出限低、灵敏度高，已有相关的技术标准可参考，但样品前处理复杂、仪器昂贵、操作技术要求高，对于食用农产品安全监控中要求的大批量样品快速初筛工作无法胜任。

本标准提供蔬菜水果中硫丹、三氯杀螨醇残留快速检测方法，能快速检测硫丹、三氯杀螨醇在蔬菜水果中的残留，以便及时发现问题，采取措施，控制高残留农药蔬菜水果的上市，保障食品安全。

蔬菜水果中有机氯类农药残留量的快速检测

1 范围

本标准规定了蔬菜水果中有机氯农药中 β -硫丹、三氯杀螨醇残留量的快速检测方法。

本标准方法适用于叶菜类、果菜类、豆菜类、瓜菜类等蔬菜和苹果、梨、柑橘、香蕉、葡萄、菠萝等水果中 β -硫丹残留量和蔬菜、茶叶、瓜果等食用农产品中三氯杀螨醇残留量的快速检测。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是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/T 5009.19 食品中有机氯农药多组分残留量的测定

GB/T 5009.176 茶叶、水果、食用植物油中三氯杀螨醇残留量的测定

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

方法一 β -硫丹快速检测

3 原理

本方法采用竞争抑制免疫层析原理。样品中有机氯类农药与胶体金标记的特异性抗体结合，抑制了抗体和检测卡中检测线（T 线）上抗原的结合，从而导致检测线颜色深浅的变化。通过检测线与控制线（C 线）颜色深浅比较，对样品中有机氯类进行定性判定。

4 试剂与材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，实验用水为 GB/T 6682 规定的二级水。

4.1 试剂

4.1.1 甲醇。

4.1.2 提取液或其他具有同等功效用于进行试样提取的试剂。

4.2 参考物质

参考物质为 β -硫丹。其中英文名称、CAS 登录号、分子式、相对分子量见表 1，纯度 $\geq 98.6\%$ 。

表 1 β -硫丹的中英文名称、CAS 登录号、分子式、相对分子量

中文名称	英文名称	CAS 登录号	分子式	相对分子量
β -硫丹	β -Endosulfan	33213-65-9	$C_9H_6Cl_6O_3S$	406.93

4.3 标准溶液配制

4.3.1 β -硫丹标准工作液：100 $\mu\text{g/mL}$ ，1mL，附标准物质证书。

4.4 材料

β -硫丹（有机氯类农药）残留胶体金免疫层析快速检测试剂盒（应在2℃~8℃、干燥、避光条件下保存，并在产品有效期内使用）。

4.4.1 金标微孔（含抗体）。

4.4.2 试纸条。

5 仪器设备

5.1 电子天平：感量为0.01g。

5.2 移液器：1mL，5mL。

5.3 涡旋振荡器。

5.4 设备使用条件：温度：15℃~25℃，相对湿度 $\leq 60\%$ 。

6 分析步骤

6.1 试样制备

称取具有代表性样品约500g（精确至0.01g），充分粉碎混匀，均分成两份，分别装入洁净容器作为试样和留样，密封，标记，于常温保存。

6.2 试样提取

称取2g（精确至0.01g）样品加入到15 mL或50 mL离心管中，量取并加入8 mL样品提取液，充分震荡混匀，即为待测液。

6.3 测定步骤

6.3.1 吸取200 μL 样品待测液于金标微孔中，抽吸5—10次使混合均匀，20℃~40℃静置3min；

6.3.2 温育结束后，将试纸条吸水海绵端垂直向下插入金标微孔中，20℃~40℃静置6min。

6.3.3 从微孔中取出试纸条，去掉试纸条下端的吸水海绵，进行结果判定。

6.4 质控试验

每批样品应同时进行空白试验和加标质控试验。

6.4.1 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。

6.4.2 加标质控试验

准确称取适量空白样品置于50mL具塞离心管中，加入适量 β -硫丹标准工作液（100 $\mu\text{g/mL}$ ），使 β -硫丹浓度为1.0mg/kg，按照6.2和6.3步骤与样品同法操作。

7 结果判定

通过对比控制线和检测线的颜色深浅进行结果判定。由于长时间放置会引起检测线颜色的变化，需在试剂盒说明书规定时间内进行结果判定。目视结果的判读按如图1所示。

7.1 阳性结果

在规定时间内，只有检测线（T 线）不显色，表明样品中 β -硫丹含量高于方法检测限，判定为阳性。

7.2 阴性结果

在规定时间内，只要检测线（T 线）显色，表明样品中 β -硫丹含量低于方法检测限，判定为阴性。

7.3 无效

控制线（C 线）不显色，表明不正确操作或试纸条无效。

7.4 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。

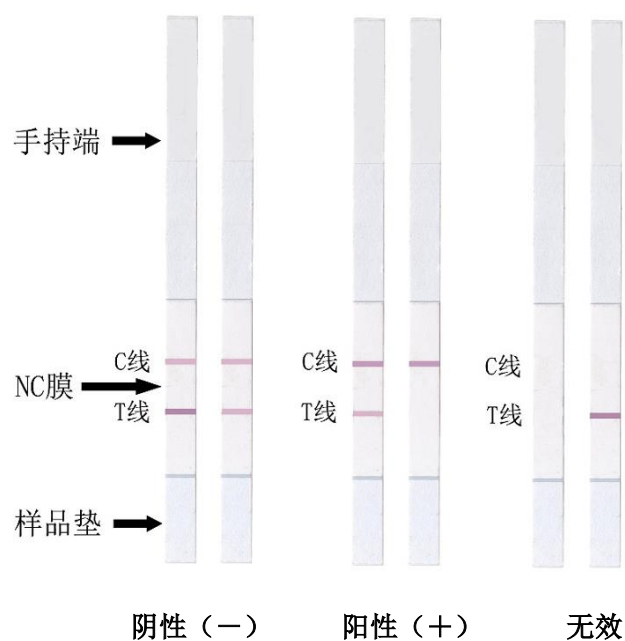


图1 检测结果判定图

8 结论

当检测结果为阳性时，应对结果进行确证。

9 性能指标

9.1 检测限： β -硫丹检出限为 1.0mg/kg。

9.2 灵敏度：灵敏度应 $\geq 99\%$ 。

9.3 特异性：特异性应 $\geq 90\%$ 。

9.4 假阴性率：假阴性率应 $\leq 1\%$ 。

9.5 假阳性率：假阳性率应 $\leq 10\%$ 。

10 其他

10.1 本方法所述试剂、试剂盒信息、操作步骤及结果判定要求是为给方法使用者提供方便，在使用本方法时不做限定。方法使用者在使用替代试剂、试剂盒或操作步骤前，须对其进行考察，应满足本方法规定的各项性能指标。

10.2 本方法参比方法为 GB/T 5009.19-2008（包括所有的修改单）。

方法二 三氯杀螨醇快速检测

11 原理

在碱性条件下，三氯杀螨醇发生碱解反应产生氯仿等物质，氯仿与显色剂发生反应产生黄色化合物，通过目视，对样品中三氯杀螨醇进行定性判定。

12 试剂与材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，实验用水为 GB/T 6682 规定的二级水。

12.1 试剂

12.1.1 正己烷（C₆H₁₄）。

12.1.2 提取液或其他具有同等功效用于进行试样提取的试剂。

12.1.3 复溶液或其他具有同等功效用于进行试样复溶的试剂。

12.1.4 显色剂 B 或其他具有同等功效用于进行试样显色的试剂。

12.1.5 显色剂 A 或其他具有同等功效用于进行试样显色的试剂。

12.2 参考物质

参考物质为三氯杀螨醇。其中英文名称、CAS 登录号、分子式、相对分子量见表 2，纯度≥98%。

表 2 三氯杀螨醇的中英文名称、CAS 登录号、分子式、相对分子量

中文名称	英文名称	CAS 登录号	分子式	相对分子量
三氯杀螨醇	Dicofol	115-32-2	C ₁₄ H ₉ Cl ₃ O	370.5

12.3 标准溶液配制

12.3.1 三氯杀螨醇标准溶液：100 μg/mL，1mL），附标准物质证书。

12.4 材料

三氯杀螨醇农残速测盒（应在常温干燥，通风保存，并在产品有效期内使用）。速测盒组成：提取液，复溶液，显色剂 A，显色剂 B，50mL 离心管，15mL 离心管，2mL 离心管。

13 仪器设备

13.1 电子天平：感量为 0.01g。

13.2 移液器。

13.3 恒温水浴锅。

13.4 氮吹仪或空气吹干仪。

13.5 涡旋振荡器。

14 分析步骤

14.1 样品处理

14.1.1 蔬菜瓜果类：选取有代表性的蔬菜或瓜果样品，擦去表面泥土，剪成 1cm 左右见方碎片，取 5g（精确至 0.01g）放入 50mL 离心管中，加入 10mL 提取液，间歇震荡 50 次，每次 10s；或者震荡 3min。

14.1.2 干茶叶类：取 2.5g（精确至 0.01g）放入 50mL 离心管中，加入 10mL 提取液，振荡 50 次。将上清液全部倒入 15mL 离心管中（注意避免倒入样品残渣），将试管置于 75℃ 空气吹干仪中吹至 2mL 左右。取出 15mL 试管，加入 1mL 复溶液，轻微上下震荡 1min 后 4000r/min 离心 3min，用移液器移出上清液于 2mL 离心管中，将试管置于 75℃ 空气吹干仪中吹干。

14.2 测定步骤

往上述 2mL 离心管中加入 0.5mL 显色剂 A，50μL 显色剂 B，摇匀，80℃ 水浴反应 2min，与空白对比颜色。

14.3 质控试验

每批样品应同时进行空白试验和加标质控试验。

14.3.1 空白试验

称取空白试样，按照 14.1 和 14.2 步骤与样品同法操作。

14.3.2 加标质控试验

准确称取适量空白样品置于 50mL 具塞离心管中，加入适量三氯杀螨醇标准工作液（100 μg/mL），使三氯杀螨醇浓度瓜果蔬菜为 0.5mg/kg，干茶叶 1.0mg/kg，按照 14.1 和 14.2 步骤与样品同法操作。

15 结果判定

15.1 反应后与空白对照，溶液显示黄色为阳性，颜色越深，浓度越高。

15.2 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。

16 结论

当检测结果为阳性时，应对结果进行确证。

17 检测限

蔬菜瓜果类：0.5mg/kg；干茶叶：1mg/kg。

18 其他

本方法参比方法为 GB/T 5009.176。

19 快速检测产品评价

19.1 检测试剂生产厂家应按《总局关于规范食品快速检测方法使用管理的意见》要求，委托具有资质的检测机构，通过盲样测试、平行送实验室检验等方式对产品进行评价，并将评价报告提供给采购方和试剂使用方。

19.2 评价结果显示不符合国家相应要求的，不得采购或应立即停止使用。

附 录 A
(规范性附录)
性能指标计算方法

表A.1 性能指标计算表

样品情况 ^a	检验结果 ^b		总数
	阳性	阴性	
阳性	N11	N12	N1. =N11+N12
阴性	N21	N22	N2. =N21+N22
总数	N. 1=N11+N21	N. 2=N12+N22	N=N1. +N2. 或 N. 1+N. 2
显著性差异 (x ²)	x ² =(N12-N21 -1) ² /(N12+N21) 自由度 (df) =1		
灵敏度 (p+, %)	p+=N11/N1.		
特异性 (p-, %)	p-=N22/N2.		
假阴性率 (pf-, %)	pf-=N12/N1.=100-灵敏度		
假阳性率 (pf+, %)	pf+=N21/N2.=100-特异性		
相对准确度, % ^c	(N11+N22) / (N1. +N2.)		
注: ^a 由参比方法检验得到的结果或者样品中实际的公议值结果; ^b 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: N11 表示第一行, 第一列, N1. 表示所有的第一行, N. 2 表示所有的第二列; N12 表示第一行, 第二列。 ^c 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。			