

附件 2

江苏省农学会团体标准 《蔬菜中丙环唑的快速检测方法 胶体金法》编制说明

一、标准编制背景

丙环唑是一种高效的三唑类杀菌剂，能防治多数高等真菌引起的病害，同时具有调节植物生长的功能。近年来，由于同时具有较好的控旺压苗作用，农民为了控制菜心、普通白菜、芥蓝等叶菜的外形，促进茎叶粗壮和叶色深绿，提高商品性能品质，大量地使用丙环唑等农药，给蔬菜安全生产和食品安全带来潜在威胁。作为一种灵敏、快速、高通量的检测方法，胶体金免疫层析法在丙环唑残留量的测定工作中日益受到关注，但至今未有相应的方法和标准出台。起草单位在前期研究工作的基础上，从试剂和材料、试样制备、限量测定、测定条件以及结果判断等方面制定蔬菜中丙环唑残留的免疫胶体金快速检测方法的标准，这对推进蔬菜中丙环唑残留量的现场快速检测工作具有重要意义。

二、主要工作过程

针对已建立的菜心中丙环唑免疫层析检测方法，重点优化试纸条制备工艺和检测工作条件。在此基础上组织有关专家对标准的格式、条款、涉及的内容等进行研讨，充分吸收前期工作成果，并查阅相关的技术、标准资料，完成标准的征求意见稿。

三、标准编制原则及主要技术内容的确定

1 标准编制原则

本标准按 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则》要求进行编写。

2 主要技术内容的确定

2.1 方法原理

以硝酸纤维素膜为载体，胶体金为固相标记物，制作检测条。利用免疫测定中竞争法检测原理，通过在检测区包被一定量的包被抗原，对照区包被羊抗鼠多克隆抗体，利用胶体金标记的抗体与样品及检测区的物质之间的竞争反应，观测在试纸条的检测区和对照区呈现的反应结果（试纸条出现色带），然后根据色带有无和颜色深浅，判断农药检出或超标。

2.2 试剂材料

(1) 丙环唑胶体金快速检测试剂盒中包括阳性参考品（达到检测限浓度的农药标品）、阴性参考品（PBST）、甲醇、样品处理液（含 10—20% 甲醇的 PBST）。检测试纸条用铝箔袋密封包装。

(2) 丙环唑标准工作溶液：根据需要用甲醇或样品处理液将丙环唑储备液(1000 μ g/mL)稀释配制成适当浓度的标准工作溶液，供试纸条检测性能优化用。

2.3 样品制备

(1) 田间样品制备：在田间采集菜心样品100份。每份样品称取10 g（精确至0.01g），切碎后混匀，加入1 mL甲醇，震荡后静置15分钟。加入5 mL样品处理液，充分混匀后，利用滤纸进行固液分离。滤液转移至10 mL容量瓶并定容至10 mL（样品处理液冲洗滤纸中的样品），将作为待测液。

(2) 添加样品制备：以检测限（0.5 mg/kg）为关注浓度，在空白菜心样品中添加终浓度为0.01、0.025、0.05、0.1、0.25、0.5、1.0mg/kg 的农药标准品，以无添加的空白基质提取液作为对照，并按上述方法制备样待测液，用于试纸条检测性能优化。

2.4 检测方法

将 100 μ L 检测液滴入试纸条取样端，待检液在层析作用下向检测试纸条的尾端侧向流动。

反应 8 min，观察检测区和对照区的色带条数和颜色深浅。

同时对试剂盒内的阳性参考品、阴性参考品进行同样操作，以协助结果判定。

2.5 结果判定

(1) 读数仪测定法

按读数仪说明书要求操作直接读取并进行结果判定。

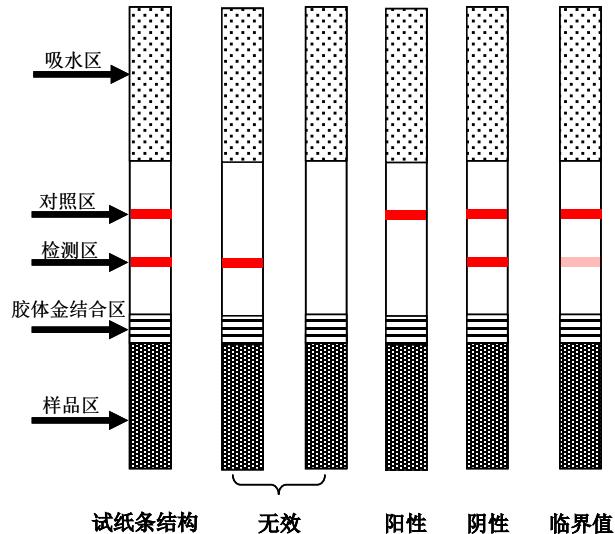
(2) 目视法

对照阳性参考品和阴性参考品的测定结果，根据试纸条检测区（检测线）和对照区（控制线）色带有无和颜色深浅，按照如下原则进行结果判定（图 1）。对阳性样品或处于临界值的“可疑阳性”样品，需重复检测两次以上，并用色谱方法进行确证。

表1 检测试纸条检测结果判定表

结果判定	判定依据
无效	在对照区未出现色带，即控制线不显色
阳性	仅在对照区出现一条红线，即检测线不显色
阴性	在检测区及对照区各出现一条红线，即检测线和控制线均显色

临界值	在对照区出现一条红线，在检测区出现一条模糊的阴影线 即检测线颜色比控制线浅
-----	--



2.6 质控参数测定

(1) 检测限测试

目前我国还没有规定蔬菜中丙环唑的残留限量标准。我们在丙环唑环境和卫生毒性研究结果基础上，参考类似农药在蔬菜中的残留限量标准，暂时以 0.05mg/kg 作为芸苔类、叶菜类蔬菜中丙环唑的残留限量，并以此浓度为关注浓度，按照 2.3 方法在空白菜心样品中添加已知浓度的丙环唑并制备待测液，用试纸条进行检测，每个样品重复 5 次。当阳性检出率 100% 时的浓度为方法的检测限。同时将 2.2 的标准工作溶液稀释成上述浓度（要换算），用试纸条进行检测，比较实际样品检测限与标准品检测灵敏度之间的差别，以此考察样品基质即菜心对检测限的影响。

(2) 特异性测试

在前期已明确抗体与丙环唑结构类似农药（标准品）的交叉反应率（ELISA 方法）的基础上，按照 2.3 方法在空白菜心样品中添加不同浓度的三环唑、百菌清、吡虫啉等结构类似农药并制备待测液，然后用试纸条进行测定，根据测定结果明确试纸条的检测特异性。

(3) 假阳性率/假阴性率测试

按 2.3 方法在田间采集菜心样品 100 份，制备样品的待测液后，按 4 的方法对待测液进行检测以确定阳性和阴性样品数，重复 3 次。同时将田间采集的相同菜心样品用行业标准 SN/T 0519-2010 规定的方法（气相色谱方法和气相色谱—质谱方法）进行确证。将试纸条检测结果与行标方法检测结果进行对比，统计试纸条检测方法的假阳性和假阴性样品数，最终

确定试纸条检测方法的假阳性率和假阴性率。

(4) 重复性和再现性测试

在重复性和再现性条件下，测定 2 次独立检测结果的准确率。

(5) 试纸条货架期测试

将制备好的试纸条在干燥、室温条件下保存。分别在 2 周、4 周、8 周、16 周、32 周、64 周、104 周用 2.3 制备的丙环唑添加菜心样品待测液进行测试。当试纸条稳定出现 5.2 中的阳性检测结果时，可判定试纸条稳定。试纸条稳定的最长时间为试纸条货架期。

2.7 质控参数

对蔬菜中丙环唑残留的检测限达到 0.5mg/kg；假阴性率≤5%，假阳性率≤5%；对三环唑、百菌清、吡虫啉等农药的交叉反应小于 5%；重复性和重现性≥90%，10 分钟内完成单次检测；在室温条件下避光保存 6 个月以上。

四、采用国际、国内标准情况

本标准内容尚没有国际标准可采用，故制定中未采用国际标准。引用和参考了以下的国家标准：

GB/T 6682 分析实验室用水规格和实验方法

GB/T 8855 新鲜水果和蔬菜取样方法

五、与现行法律法规和强制性标准的关系

本标准与现行有关法律法规和强制性标准相协调一致。

六、标准作为强制性或推荐性标准发布的意见

建议本标准作为推荐性团体标准发布。

七、贯彻标准的主要措施和建议

本标准适宜于在菜心、普通白菜、芥蓝等叶菜生产地区推广应用，建议由起草单位会同有关生产、监管企业和业务部门组织对此标准的贯彻实施，强化对标准相关技术培训和技术指导。