|  |  |
| --- | --- |
| ICS  | 67.140.10 |
| CCS  |

|  |
| --- |
| D:\000000部门项目\09标准化插件开发\程序源代码\StandardEditor_ShanDongKeXieYuan\团标首页面字母T.pngD:\000000部门项目\09标准化插件开发\程序源代码\StandardEditor_ShanDongKeXieYuan\团标首页面字母T后面的反斜杠.png GAPARI |

X 50 |

团体标准

T/GAPARI XXXX—XXXX

六堡茶鲜叶中噻虫嗪、啶虫脒、吡虫啉、呋虫胺、水胺硫磷5种农药残留检测 胶体金免疫层析法

Rapid detection for Thiamethoxam、Acetamiprid、Imidacloprid、Dinotefuranand Isocarbophos in liupao tea Colloidal gold immunochromatography assay

XXXX - XX - XX发布

XXXX - XX - XX实施

广西农业农村产业振兴促进会  发布

1. 前言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由梧州市农产品质量安全综合检测中心提出。

本文件由广西农业农村产业振兴促进会归口。

本文件起草单位：梧州市农产品质量安全综合检测中心、山东美正生物科技有限公司、广西益谱检测技术公司、广西-东盟食品检验检测中心、苍梧县农产品质量安全检测中心、苍梧县六堡镇农业服务中心、藤县濛江镇农业农村中心、苍梧县六堡茶产业发展有限公司、苍梧县六堡镇官营坪六堡茶专业合作社、苍梧县不倚恭州茶业有限公司、苍梧县心怡六堡茶业有限公司。

本文件主要起草人：杨桂强、吴玉钧、高君、黄海军、王滢、赵长军、李吉生、田华丽、甘祥鸿、陈小聪、刘枫、刘薏、黄演勋、陈英海、严洲芬、潘金新、石绍明、秦永强、黄利华、黄东乔、谭爱云。

六堡茶鲜叶中噻虫嗪、啶虫脒、吡虫啉、呋虫胺、水胺硫磷5种农药残留检测 胶体金免疫层析法

* 1. 范围

本文件界定了六堡茶鲜叶中噻虫嗪、啶虫脒、吡虫啉、呋虫胺、水胺硫磷5种农药残留检测 胶体金免疫层析法的术语和定义，规定了原理、试剂耗材、仪器和设备、试验方法、测定、结果分析和性能指标的技术内容。

本文件适用于六堡茶鲜叶中噻虫嗪、啶虫脒、吡虫啉、呋虫胺、水胺硫磷5种农药残留检测 胶体金免疫层析法。

* 1. 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 6682 分析实验室用水规格和试验方法

NY/T 2102 茶叶抽样技术规范

* 1. 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

* 1. 原理

采用竞争抑制免疫层析原理。样品中残留的噻虫嗪、啶虫脒、吡虫啉、呋虫胺、水胺硫磷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)上包被原的结合，从而导致检测线(T线)颜色变浅或消失，通过检测线(T线)与控制线(C线)颜色深浅比较，对样品中残留的噻虫嗪、啶虫脒、吡虫啉、呋虫胺、水胺硫磷进行定性判定。

* 1. 试剂耗材

除另有说明外，本文件使用分析纯（含）以上试剂，用水符合GB/T 6682要求的二级水。

* + 1. 试剂

噻虫嗪、啶虫脒、吡虫啉、呋虫胺、水胺硫磷：纯度≥99％，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

甲醇(CH3OH)：ρ=0.79 g/cm³。

氯化钠(NaC1)：ρ=2.165 g/cm³，含量≥99.5％。

氯化钾(KC1)：ρ=1.98 g/cm³，含量≥99.0％。

磷酸氢二钠(Na2HPO4)：ρ=1.064 g/cm³，含量≥98.0％。

磷酸氢二钾(KH2PO4)：ρ=2.44 g/cm³**，**含量≥98.0％。

水胺硫磷（C11H16NO4PS）：ρ=1.275 g/cm³，含量≥90.0％。

啶虫脒（CHClN4）：ρ=1.330 /cm³，含量≥98.0％。

呋虫胺（C7H14N4O3）：ρ=1.425 g/cm³，含量≥90.0％。

噻虫嗪（C8HClN5O3S）：ρ=1.7 g/cm³，含量≥97.0％。

吡虫啉（C9HClN5O2）：ρ=1.543 g/cm³，含量≥97.0％。

* + 1. 溶液配制
			1. 10％甲醇溶液

吸取10 mL甲醇（5.1.2），用水定容至100 mL，混匀。

* + - 1. 稀释液

分别称取8 g氯化钠（5.1.3）、0.2 g氯化钾（5.1.4）、1.44 g磷酸氢二钠（5.1.5）、0.24 g磷酸二氢钾（5.1.6）于1000 mL烧杯中，加水充分搅拌溶解后定容至1000 mL。

* + - 1. 标准储备液、中间液、工作液的制备
				1. 水胺硫磷标准储备液、中间液、工作液

100 g/L 的水胺硫磷标准储备液

准确称取1.0 g(精确至0.0001 g)水胺硫磷（5.1.7），用甲醇（5.1.2）溶解，定容至10 mL。-20 ℃冷冻避光保存，有效期12个月。

1 g/L的水胺硫磷标准中间液

准确移取100 g/L的水胺硫磷标准储备液（5.2.3.1.1）100 μL至10 mL，用甲醇（5.1.2）溶解，定容至10 mL。4 ℃冷冻避光保存，有效期3个月。

0.01 g/L的水胺硫磷标准工作液

准确移取1 g/L的水胺硫磷标准中间液（5.2.3.1.2）100μL至10 mL容量瓶中，用10％甲醇(5.2.1)溶解，定容至10 mL。4 ℃冷冻避光保存，有效期1个月。

* + - * 1. 啶虫脒标准储备液、中间液、工作液

100 g/L 的啶虫脒标准储备液

准确称取1.0 g(精确至0.0001 g)啶虫脒（5.1.8），用甲醇（5.1.2）溶解，定容至10 mL。-20 ℃冷冻避光保存，有效期12个月。

10 g/L的啶虫脒标准中间液

准确移取100 g/L 的啶虫脒标准储备液（5.2.3.2.1）1000 μL至10 mL，用甲醇（5.1.2）溶解，定容至10 mL。4 ℃冷冻避光保存，有效期3个月。

1 g/L的啶虫脒标准工作液

准确移取10g/L 的啶虫脒标准中间液（5.2.3.2.1）1000 μL至10 mL容量瓶中，用10％甲醇(5.2.1)溶解，定容至10 mL。4 ℃冷冻避光保存，有效期1个月。

* + - * 1. 呋虫胺标准储备液、中间液、工作液

100 g/L的呋虫胺标准储备液

准确称取1.0 g(精确至0.0001 g)呋虫胺（5.1.9），用甲醇（5.1.2）溶解，定容至10 mL。-20 ℃冷冻避光保存，有效期12个月。

10 g/L的呋虫胺标准中间液

准确移取100g/L的呋虫胺标准储备液（5.2.3.3.1）1000 μL至10 mL，用甲醇（5.1.2）溶解，定容至10 mL。4 ℃冷冻避光保存，有效期3个月。

2 g/L的呋虫胺标准工作液

准确移取呋虫胺10 g/L的水胺硫磷标准中间液（5.2.3.3.2）2000 μL至10 mL容量瓶中，用10％甲醇(5.2.1)溶解，定容至10 mL。4 ℃冷冻避光保存，有效期1个月。

* + - * 1. 噻虫嗪标准储备液、中间液、工作液

100 g/L 的噻虫嗪标准储备液

准确称取1.0 g(精确至0.0001 g)噻虫嗪（5.1.10），用甲醇（5.1.2）溶解，定容至10 mL。-20 ℃冷冻避光保存，有效期12个月。

10 g/L的噻虫嗪标准中间液

准确移取100 g/L 的噻虫嗪标准储备液（5.2.3.4.1）1000 μL至10 mL，用甲醇（5.1.2）溶解，定容至10 mL。4 ℃冷冻避光保存，有效期3个月。

1 g/L 的噻虫嗪标准工作液

准确移取噻虫嗪10 g/L的噻虫嗪标准中间液（5.2.3.4.2）1000 μL至10 mL容量瓶中，用10％甲醇(5.2.1)溶解，定容至10 mL。4 ℃冷冻避光保存，有效期1个月。

* + - * 1. 吡虫啉标准储备液、中间液、工作液

100 g/L的吡虫啉标准储备液

准确称取1.0 g(精确至0.0001 g)吡虫啉（5.1.11），用甲醇（5.1.2）溶解，定容至10 mL。-20 ℃冷冻避光保存，有效期12个月。

1 g/L的吡虫啉标准中间液

准确移取100 g/L的吡虫啉标准储备液（5.2.3.5.1）100 μL至10 mL，用甲醇（5.1.2）溶解，定容至10 mL。4 ℃冷冻避光保存，有效期3个月。

0.1 g/L 的吡虫啉标准工作液

准确移取吡虫啉1g/L 的吡虫啉标准中间液（5.2.3.5.2）1000 μL至10 mL容量瓶中，用10％甲醇(5.2.1)溶解，定容至10 mL。4 ℃冷冻避光保存，有效期1个月。

* 1. 仪器和设备

电子天平：分别精确至0.01 g、0.0001 g和0.01 mg。

移液器：20 μL～200 μL，100 μL～1000 μL，1 μL～10 mL。

旋涡混合器。

离心管：1.5 mL、2 mL、5 mL、50 mL。

胶体金免疫层析检测卡

* 1. 试验方法
		1. 样品采集

茶叶鲜叶采集按照NY/T 2102的规定执行。

* + 1. 鲜茶样品前处理
			1. 样品混合液制备

选取一定量的有代表性样本，剪成1 cm左右见方碎片；准确称取1 g±0.1 g样品于15 mL或50 mL离心管中；加入3 mL稀释液（5.2.2），剧烈振荡2 min～3 min即为样品混合液。

* + - 1. 样品待测液的制备
				1. 水胺硫磷项目测定的样品待测液

按照7.2.1的要求执行。

* + - * 1. 啶虫脒项目测定的样品待测液

吸取5 μL样品混合液（7.2）于5 mL离心管中，加入3495 μL稀释液（5.2.2），混匀后即为待测液。

* + - * 1. 呋虫胺项目测定的样品待测液

吸取10 μL样品混合液（7.2）于2 mL离心管中，加入1000 μL稀释液（5.2.2），混匀后即为待测液。

* + - * 1. 噻虫嗪项目测定的样品待测液

吸取50 μL样品混合液（7.2）于2 mL离心管中，加入950 μL稀释液（5.2.2），混匀后即为待测液。

* + - * 1. 吡虫啉项目测定的样品待测液

吸取50 μL样品混合液（7.2）于2 mL离心管中，加入700 μL稀释液（5.2.2），混匀后即为待测液。

* + 1. 空白样品前处理

称取空白试样，按照7.2的要求执行。

1. 空白试样：不含此5种农药的鲜茶叶。
	* 1. 加标质控样品前处理

分别准确称取6个空白试样1.0 g(精确至0.01 g)置于15 mL或 50 mL离心管中，加入适量水胺硫磷（5.2.3.1.3）、啶虫脒（5.2.3.2.3）、呋虫胺（5.2.3.3.3）、噻虫嗪（5.2.3.4.3）、吡虫啉（5.2.3.5.3）标准工作液，使待测液中的终浓度分别为0.05 mg/kg水胺硫磷、10 mg/kg啶虫脒、20 mg/kg呋虫胺、10 mg/kg噻虫嗪、0.5 mg/kg吡虫啉。再加入3 mL稀释液（5.2.2），剧烈振荡2 min～3 min即为样品混合液,按照7.2.2的要求执行。

* 1. 测定

所有操作需在室温下(20 ℃±5 ℃)进行。

* + 1. 鲜茶样品待测液测定
			1. 水胺硫磷、吡虫啉项目测定

分别吸取7.2.2.1和7.2.2.5的样品待测液体100 μL（滴管约3～4滴）于微孔中，缓慢抽吸多次至待测液与微孔试剂充分混匀；孵育3 min后将微孔内所有液体转移至检测卡的加样孔中，加样同时开始计时；反应5min后判读结果。

* + - 1. 啶虫脒、呋虫胺、噻虫嗪项目测定

分别吸取7.2.2.2、7.2.2.3和7.2.2.4的样品待测液100 μL（滴管约3～4滴）于加样孔中，加样同时开始计时，反应5min后判读结果。

* + 1. 空白样品测定

按照8的要求执行。

* + 1. 加标质控样品测定

按照8的要求执行。

* 1. 结果分析
		1. 结果判定
			1. 阳性

检测线(T线)不显色或检测线(T线)颜色比控制线(C线)颜色浅，表明样品中噻虫嗪、啶虫脒、吡虫啉、呋虫胺、水胺硫磷残留的含量高于方法检测限，判定为阳性。判定示意图见图1。



1. 目视判定示意图
	* + 1. 阴性

检测线（T线）颜色比控制线（C线）颜色深或者检测线（T线）颜色与控制线（C线）颜色相当，表明样品中腐霉利残留低于方法检测限，判定为阴性。判定示意图见图1。

* + - 1. 无效

控制线(C线)不显色，表明操作不正确或试剂条无效。判定示意图见图1。

* + 1. 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。否则表示不满足质控试验要求，此批样品结果无效。

* 1. 性能指标
		1. 灵敏度

灵敏度应≥95％。

* + 1. 特异性

特异性应≥95％。

* + 1. 假阴性率

假阴性率应≤5％。

* + 1. 假阳性率

假阳性率应≤5％。

1. 性能指标计算方法见附录A。
2.
3. （资料性）
定性方法性能指标计算方法

性能指标计算表见表A.1。

* 1. 性能指标计算表

| 样品情况a | 监测结果b | 总数 |
| --- | --- | --- |
| 阳性 | 阴性 |
| 阳性 | $$N\_{11}$$ | $$N\_{12}$$ | $N\_{1.}$=$N\_{11}$+$N\_{12}$ |
| 阴性 | $$N\_{21}$$ | $$N\_{22}$$ | $N\_{2.}$=$N\_{21}$+$N\_{22}$ |
| 总数 | $N\_{.1}$=$N\_{11}$+$N\_{21}$ | $N\_{.2}$=$N\_{12}$+$N\_{22}$ | $N=N\_{1.}$+$N\_{2}$或$N\_{.1}$+$N\_{.2}$ |
| 显著性差异(X2) | $$χ2=（\left|N\_{12}-N\_{21}\right|-1）^{2}/N\_{12}+N\_{21}$$自由度（df）=1 |
| 灵敏度（$P^{+}$,％） | $P^{+}=N\_{11}$/$N\_{1.}$ |
| 特异性（$P^{-}$,％） | $P^{-}=N\_{22}$/$N\_{2.}$ |
| 假阴性率（$Pf^{-}$,％） | $Pf^{-}=N\_{12}$/$N\_{1.}=100-灵敏度$ |
| 假阳性率（$Pf^{+}$,％） | $Pf^{+}=N\_{21}$/$N\_{2.}$=特异性 |
| 相对准确度（,％）c | $$(N\_{11}+N\_{22})/(N\_{1.}+N\_{2.})$$ |
| 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；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。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。示例：$N\_{11}$表示第一行，第一列，$N\_{1.}$表示所有的第一行，$N\_{2.}$表示所有的第二列；$N\_{12}$表示第一行，第二列。 |

