DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240725002

水果蔬菜中甲拌磷残留胶体金免疫层析快速检测方法评估与分析

古丽君*, 吴世玉, 林长虹, 林振华, 洪佳瑞

(深圳市计量质量检测研究院, 深圳 518000)

摘 要: 目的 制定食品快检快速检测方法《水果蔬菜中甲拌磷残留的快速检测 胶体金免疫层析法》的技术指标。**方法** 依据《中华人民共和国农业部公告 第 1490 号》和 GB 2763—2021《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》, 初步拟定适用范围和检出限, 并筛选符合要求的快速检测产品。依据《市场监管总局关于规范食品快速检测使用的意见》对快速检测产品进行评价, 初步确定该方法的性能指标和交叉反应。采用真实阳性样品测试该方法的检测应用效果, 并分析比对该方法与参比方法的一致性。随机选择 5 家相关专业机构进行实验间验证。**结果** 该方法适用于 11 类蔬菜(鳞茎类、芸薹属类、叶菜类等)、6 类水果(柑橘类、仁果类、核果类等)中甲拌磷残留的快速检测, 检出限为 0.01 mg/kg, 灵敏度≥95%、特异性≥95%、假阴性率≤5%、假阳性率≤5%; 该方法与甲拌磷砜交叉反应率≥50%, 与甲拌磷亚砜交叉反应率≥50%, 与甲胺磷、乙酰甲胺磷、水胺硫磷、甲基对硫磷、甲基硫环磷的交叉反应率均<0.1%, 与杀螟硫磷的交叉反应率≤0.1%, 与对硫磷的交叉反应率≤10%。**结论** 该方法可以作为新制订标准, 为甲拌磷快速检测试剂盒生产提供规范统一的技术指标参数, 应用于水果蔬菜中甲拌磷残留量的监测。

关键词: 甲拌磷; 快速检测; 检出限; 交叉反应

Evaluation and analysis of rapid colloidal gold immunochromatographic detection method for phorate residues in fruits and vegetables

GU Li-Jun*, WU Shi-Yu, LIN Chang-Hong, LIN Zhen-Hua, HONG Jia-Rui

(*Shenzhen Academy of Metrology & Quality Inspection*, *Shenzhen* 518000, *China*)

ABSTRACT: Objective To establish the technical specifications for the rapid detection method of food of *Rapid detection of methyl mixed phosphorus residues in fruits and vegetables-Colloidal gold immunochromatography*. **Methods** According to the *Announcement No.1490 of the ministry of agriculture of the People's Republic of China* and the GB 2763—2021 *National food safety standard-Maximum residue limits for pesticides in food*, the scope of application and limits of detection were preliminarily formulated, and the rapid detection products meeting the requirements were screened. According to the *Opinions of the general administration of market supervision on regulating the use of rapid detection of food*, the rapid detection products were evaluated, and the performance

基金项目: 国家市场监督管理总局研究委托任务资助项目(2022-WB39)

Fund: Supported by the State Administration for Market Regulation (2022-WB39)

***通信作者:** 古丽君, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: 249032279@qq.com

***Corresponding author:** GU Li-Jun, Master, Senior Engineer, Shenzhen Academy of Metrology & Quality Inspection, No.114, Mingkang Road, Longhua District, Shenzhen 518000, China. E-mail: 249032279@qq.com

indicators and cross-reactivity of the method were preliminatively determined. The efficacy of the method was evaluated using naturally contaminated positive samples, and its consistency with the reference method was analyzed and compared. Inter-laboratory validation was conducted with 5 randomly selected professional institutions. **Results** The method was found to be suitable for the rapid detection of phorate residues in 11 types of vegetables (bulbous, *Brassica*, and leafy varieties, *etc*.) and 6 types of fruits (*Citrus*, pome, and stone fruits, *etc*.), with a limit of detection of 0.01 mg/kg. Sensitivity and specificity were both≥95%, false-negative rate was≤5% and false-positive rate was≤5%. Cross-reactivity rates were≥50% with phorate sulfone and phorate sulfoxide, while cross-reactivity was<0.1% with methamidophos, acephate, isocarbophos, parathion-methyl, and phosfolan-methyl. Cross-reactivity with fenitrothion was≤0.1%, and with parathion was≤10%. **Conclusion** This method has been established as a new standard, providing standardized technical specifications for the production of rapid detection kits for phorate. It is suitable for monitoring phorate residue levels in fruits and vegetables.

KEY WORDS: phorate; rapid detection; limit of detection; cross-reactivity

0　引　言

甲拌磷是一种高毒广谱内吸性有机磷杀虫剂, 其代谢产物甲拌磷砜和甲拌磷亚砜毒性更强, 性质更稳定, 曾被广泛应用于农业领域[1−3]。食用甲拌磷残留超标的果蔬会影响人体胆碱酯酶活性, 造成神经生理功能紊乱等一系列危害[4−5]。为规范使用, 农业部于 2002 年 6 月 5 日发布公告第 199 号, 明确规定甲拌磷在蔬菜、果树、茶叶、中草药材的种植中禁止使用, 以减少可能的风险。然而, 各地市监局在对水果蔬菜进行监督抽检时, 频繁发现甲拌磷含量超标的情况。

目前测定甲拌磷的国家标准有 GB 23200.113—2018《食品安全国家标准 植物源性食品中 208 种农药及其代谢物残留量的测定 气相色谱-质谱联用法》、GB/T 20769—2008《水果和蔬菜中 450 种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》、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》。在文献报道方面, 检测甲拌磷的方法有分子印迹技术[6−8]、荧光光度法[9−10]、气相色谱法[11−13]、高效液相色谱-串联质谱法[14−17]、气相色谱-串联质谱法[18−22]、超高效液相色谱-串联质谱法[23−27], 这类方法灵敏度和准确度高, 但前处理复杂, 检测周期长, 对人员、仪器、场地都有较高要求, 无法满足监管方实时、现场、快速检测的需求。

基于抗原抗体特异性结合而建立的胶体金免疫层析法具有灵敏度高、操作简单、检测高效、成本低廉和便于携带的优势, 适合现场大批量样品的快速筛选[28−30]。但是目前市场上的甲拌磷快速检测产品质量良莠不齐, 检出限偏高, 不能满足监管需求, 且缺乏相应的食品快速检测方法标准。本研究依据《市场监管总局关于规范食品快速检测使用的意见》(国市监食检规〔2023〕1 号)中《附件 4 食品快速检测产品符合性评价程序》对两个品牌的甲拌磷快速检测产品进行评价, 并根据评价结果初步制定了食品快速检测方法《水果蔬菜中甲拌磷残留的快速检测 胶体金免疫层析法》的技术指标, 并随机挑选 5 家相关专业技术机构参与实验间验证, 为甲拌磷快速检测方法的制定提供了理论依据。

1　材料与方法

1.1　样品与试剂

新鲜水果、蔬菜购于深圳市龙华区农贸市场; 自然污染的胡萝卜(甲拌磷含量为 0.096 mg/kg, 样品编号: 103230137078)、萝卜(甲拌磷含量为 0.10 mg/kg, 样品编号: 103230146730), 由本单位食品检测所农产品检测实验室提供。

甲拌磷、甲拌磷砜、甲拌磷亚砜、甲基对硫磷、甲基硫环磷、甲胺磷、乙酰甲胺磷、对硫磷、水胺硫磷、杀螟硫磷标准品溶液(质量浓度均为 100 μg/mL, 坛墨质检科技有限公司); 硫酸镁、氯化钠、柠檬酸钠、柠檬酸氢二钠(分析纯, 上海凌峰化学试剂有限公司); 乙腈、甲醇、乙酸乙酯(色谱纯, 德国默克公司); PuriTest GCB/PSA(石墨化碳 PSA 双层柱, 江苏美正生物科技有限公司); A 品牌甲拌磷快速检测卡(北京勤邦生物技术有限公司); B 品牌甲拌磷快速检测卡(深圳市卓润生物科技有限公司), 均采用胶体金免疫层析法。

TG-5SILMS 色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm)、TSQ™ 9000 三重四极杆气相色谱质谱联用仪(美国赛默飞科技世尔公司); 0.22 μm 微孔滤膜(美国安捷伦公司)。

1.2　技术路线

本研究中快速检测方法的适用范围参照《中华人民共和国农业部公告 第 1490 号》, 检出限参照 GB 2763—2021《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》, 依据适用范围和检出限进行市场调研, 筛选符合要求的快速检测

产品。依据《市场监管总局关于规范食品快速检测使用的意见》(国市监食检规〔2023〕1 号)中《附件 4 食品快速检测产品符合性评价程序》对快速检测产品进行评价，得到了两家快速检测产品的技术指标，并以此为依据，初步确定快速检测方法的性能指标和交叉反应，并随机抽选了 5 家相关专业技术机构对初步制定的性能指标进行实验间验证，技术路线详情见图 1。

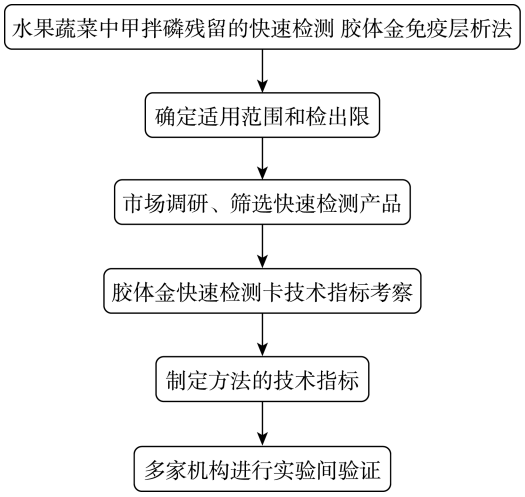


图 1 快速检测方法评价技术路线

Fig.1 Technical evaluation workflow of the rapid detection method

1.3 前处理

本研究前处理环节涉及的试样制备、试样提取和测定步骤均按照快速检测产品试剂盒说明书进行操作。

1.4 确定方法适用范围

本快速检测方法是针对水果蔬菜中甲拌磷的检测，为检验方法适用性，参考《中华人民共和国农业部公告 第 1490 号》和 GB 2763—2021《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》，并结合 2022 年国家监督抽检、全国各省市监督抽检工作中甲拌磷不合格情况，考虑到基质效应对方法可能存在干扰以及对检出限的影响，选择 11 个不同种类的蔬菜、6 个不同种类的水果中的典型基质进行测试，共 10 种水果和 24 种蔬菜。采用空白基质加标的方式分别制备甲拌磷 0.5 倍限量(0.005 mg/kg)、1 倍限量(0.01 mg/kg)样品，每种基质测试 3 个浓度水平(空白、0.5 倍检出限、1 倍检出限)。

1.5 确定方法检出限

依据《食品快速检测产品符合性评价程序》(国市监食检规〔2023〕1 号)，对存在国家标准限值规定的物质，检出限设置(最低检出水平)应尽量与限值一致。因此，将本方法的检出限设置为 GB 2763—2021《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》规定的限量值要求，11 类蔬菜(鳞茎类、芸薹属类、叶菜类等)、6 类水果(柑橘类、仁果类、核果类等)的检出限均为 0.01 mg/kg。

1.6 方法性能指标评价

依据《食品快速检测产品符合性评价程序》(国市监食检规〔2023〕1 号)评价两个品牌快速检测产品的性能指标(灵敏度、特异性、假阴性率和假阳性率)，并根据评价结果初步制定快速检测方法的性能指标。根据 2022 年国家监督抽检、全国各省市监督抽检工作中甲拌磷不合格情况，并考虑到基质效应对方法可能存在干扰以及对检出限的影响，选取 4 种蔬菜(芹菜、韭菜、白萝卜、辣椒)和 2 种水果(柑、梨)作为研究对象进行指标测试，选取 A 品牌和 B 品牌两家企业生产的甲拌磷快速检测产品，每家快速检测产品每种基质测试 3 种不同浓度水平(即空白、0.5 倍检出限、1 倍检出限)，采用空白基质加标的方式分别制备甲拌磷 0.5 倍限量(0.005 mg/kg)、1 倍限量(0.010 mg/kg)样品，每种基质每个浓度水平测试样品 50 个，合计测试样品数 1800 个。

1.7 与参比方法一致性分析

选取 6 种具有代表性的蔬菜水果(经参比方法检测且未检出甲拌磷)，2 种真实阳性样品，分别用胶体金免疫层析法和参比方法 GB 23200.113—2018《食品安全国家标准 植物源性食品中 208 种农药及其代谢物残留量的测定 气相色谱-质谱联用法》检测，进行对比，开展两种方法的一致性分析。

1.8 交叉反应率测试

《食品快速检测产品符合性评价程序》(国市监食检规〔2023〕1 号)中规定：交叉反应率(%)=目标物质检出限×100%/干扰物质检出阳性时的最小浓度。为考察快速检测方法的交叉反应情况，选取与甲拌磷同属有机磷类杀虫剂的甲拌磷砜、甲拌磷亚砜、甲基对硫磷、甲基硫环磷、甲胺磷、乙酰甲胺磷、对硫磷、水胺硫磷、杀螟硫磷来测试交叉反应率。以芹菜和梨作为研究对象进行加标测试，加标水平为相应基质检出限的 1000 倍。

1.9 真实阳性样品测试

为测试快速检测方法对真实阳性样品的检测应用效果，使用自然污染样品胡萝卜和萝卜进行验证。样品经过参比方法 GB 23200.113—2018《食品安全国家标准 植物源性食品中 208 种农药及其代谢物残留量的测定气相色谱-质谱联用法》对样品中甲拌磷进行定量检测，并进行快速检测结果验证。

1.10 实验室间协同验证

本次验证实验随机抽选了 5 家相关专业技术机构参与，验证产品选用 A 品牌和 B 品牌两家公司的甲拌磷快速检测产品对本方法进行验证。验证用的蔬菜和水果基质均经过参比方法检测，不含甲拌磷且均匀性符合 CNAS

-GL003: 2018《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》要求。采用空白基质加标的方式分别制备甲拌磷 0.5 倍限量(0.005 mg/kg)、1 倍限量(0.010 mg/kg)样品。每家验证机构每家产品分别测试盲样至少 300 份, 其中大白菜不少于 150 份, 橙不少于 150 份。(每种基质空白样品、0.5 倍检测水平、1 倍检测水平各制备至少 50 份)。

1.11　数据处理

通过 Excel 2024 对相关的数据进行统计分析。

2　结果与分析

2.1　方法适用性验证结果

为检验快速检测方法适用范围, 本次验证实验共测试了 24 种蔬菜、10 种水果, 每种基质测试 3 个浓度水平(空白、0.5 倍检出限、1 倍检出限)。由表 1 可知, 11 类蔬菜(鳞茎类、芸薹属类、叶菜类等)中的 24 种典型基质, 空白和 0.5 倍检出限的样品均为阴性, 1 倍检出限的加标样品均为阳性; 由表 2 可知, 6 类水果(柑橘类、仁果类、核果类等)中的 10 种典型基质, 空白和 0.5 倍检出限的样品均为阴性, 1 倍检出限的加标样品均为阳性。本研究方法适用于 24 种蔬菜、10 种水果的快速检测。

表 1　蔬菜基质适用性测试结果(A 品牌)
Table 1　Results of vegetable matrix applicability testing (brand A)

类别		蔬菜	空白	0.5 倍检出限	1 倍检出限
鳞茎类	鳞茎葱类	大蒜	-	-	+
	绿叶葱类	韭菜	-	-	+
芸薹属类	结球芸薹属	结球甘蓝	-	-	+
	头状花序芸薹属	花椰菜	-	-	+
叶菜类	茎类芸薹属	芥蓝	-	-	+
	绿叶类	菠菜	-	-	+
	叶柄类	芹菜	-	-	+
	大白菜	大白菜	-	-	+
茄果类	番茄类	番茄	-	-	+
	其他茄果类	辣椒	-	-	+
瓜类	黄瓜	黄瓜	-	-	+
	小型瓜类	西葫芦	-	-	+
	大型瓜类	冬瓜	-	-	+
豆类	荚可食类	豇豆	-	-	+
	荚不可食类	菜用大豆	-	-	+
茎类	/	芦笋	-	-	+
根茎类和薯芋类	根茎类	白萝卜	-	-	+
	马铃薯	马铃薯	-	-	+
	其他薯芋类	甘薯	-	-	+
水生类	茎叶类	水芹	-	-	+
	果实类	菱角	-	-	+
	根类	莲藕	-	-	+
芽菜类	/	黄豆芽	-	-	+
其他多年生蔬菜	/	竹笋	-	-	+

注: -为阴性, +为阳性, /为未有相关内容。表 2、4 同。

表 2　水果基质适用性测试结果(A 品牌)
Table 2　Results of fruit matrix applicability testing (brand A)

类别		水果	空白	0.5 倍检出限	1 倍检出限
柑橘类	/	柑	-	-	+
仁果类	/	梨	-	-	+
核果类	/	枣	-	-	+
浆果和其他小型水果	藤蔓和灌木类	蓝莓	-	-	+
	小型攀缘类	葡萄	-	-	+
	草莓	草莓	-	-	+
热带和亚热带水果	皮可食	柿子	-	-	+
	皮不可食	龙眼	-	-	+
瓜果类	西瓜	西瓜	-	-	+
	甜瓜类	哈密瓜	-	-	+

2.2　方法性能指标测试结果

由表 3 可知, A 品牌检测卡的灵敏度为 100.0%、特异性为 100.0%、假阴性率 0.0%、假阳性率 0.0%; B 品牌检测卡的灵敏度为 99.7%、特异性为 100.0%、假阴性率为 0.3%、假阳性率为 0%。A 品牌甲拌磷检测卡的性能指标略优于 B 品牌。为考虑各品牌胶体金检测卡的生产工艺差异, 结合本次试验结果, 将本研究方法的性能指标设置为灵敏度≥95%、特异性≥95%、假阴性率≤5%、假阳性率≤5%。

2.3　与参比方法一致性分析结果

国家市场监督管理总局发布的《市场监管总局关于规范食品快速检测使用的意见》(国市监食检规[2023]1 号)中《附件 3　食品快速检测结果验证规范》"第十一条, 食品快速检测结果实验室验证的判定要求如下: (1)当快速检测结果呈阳性, 其对应项目的实验室验证结果大于或等于快速检测检出限(最低检出水平)的最大负偏离(一般情况不超过 20%, 对于痕量物质检测时可达 30%)时, 则判定为验证通过。(2)当快速检测结果呈阴性时, 实验室验证结果小于快速检测检出限水平, 则判定为验证通过, 反之为不通过。"

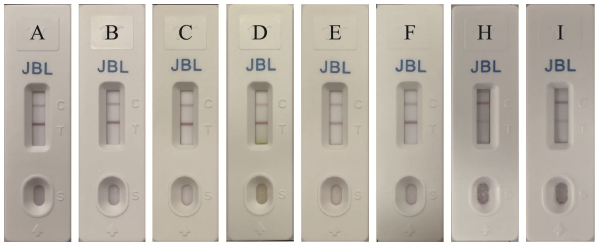
由图 2 可知, 胡萝卜、白萝卜、芹菜、菠菜、辣椒和柑, 快速检测结果均为阴性, 参比方法检测结果均是未检出, 检测结果一致; 胡萝卜(甲拌磷含量为 0.096 mg/kg, 样品编号: 103230137078)和萝卜(甲拌磷含量为 0.10 mg/kg, 样品编号: 103230146730)快速检测结果均为阳性, 与参比方法结果一致。根据规定, 本快速检测方法与参比方法检测结果一致性完全符合。

表 3 A 品牌和 B 品牌方法性能指标计算结果

Table 3 Performance metrics calculation results for brand A and brand B methods

样品情况 a	A 品牌			B 品牌		
	检测结果 b		总数	检测结果 b		总数
	阳性	阴性		阳性	阴性	
阳性(1 倍检出限)	N11=300	N12=0	N1.=N11+N12=300	N11=299	N12=1	N1.=N11+N12=300
阴性(空白+0.5 倍检出限)	N21=0	N22=600	N2.=N21+N22=600	N21=0	N22=600	N2.=N21+N22=600
总数	N.1=N11+N21=300	N.2=N12+N22=600	N=N1.+N2.=900	N.1=N11+N21=299	N.2=N12+N22=601	N=N1.+N2.=900
灵敏度(p+)/%	p+=N11/N1.×100=100.0			p+=N11/N1.×100=99.7		
特异性(p–)/%	p–=N22/N2.×100=100.0			p–=N22/N2.×100=100.0		
假阴性率(pf–)/%	pf–=N12/N1.×100=0.0			pf–=N12/N1.×100=0.3		
假阳性率(pf+)/%	pf+=N21/N2.×100=0.0			pf+=N21/N2.×100=0.0		

注: a 为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 为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 为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。p+通常指的是灵敏度(sensitivity), 也称为真阳性率(true positive rate, TPR), 它表示在所有实际为阳性的样本中, 测试正确识别为阳性的比例。p–通常表示特异性(specificity), 也称为真阴性率(true negative rate, TNR), 它衡量的是在所有实际为阴性的样本中, 测试正确识别为阴性的比例。pf–表示负预测值(negative predictive value, NPV), 即预测为阴性的结果中, 实际为阴性的比例, 用于衡量预测模型在阴性结果中的准确性。pf+表示正预测值(positive predictive value, PPV), 即预测为阳性的结果中, 实际为阳性的比例, 用于衡量预测模型的准确性, 特别是在阳性结果中的正确性。



注: A 为胡萝卜; B 为白萝卜; C 为芹菜; D 为菠菜; E 为辣椒; F 为柑; H 为胡萝卜(甲拌磷含量为 0.096 mg/kg, 样品编号: 103230137078); I 为萝卜(甲拌磷含量为 0.10 mg/kg, 样品编号: 103230146730)。

图 2 比对实验结果

Fig.2 Results of the comparison of experimental

2.4 交叉反应测试结果

由表 4 可知, A 品牌甲拌磷对各农药的交叉反应率分别为: 甲拌磷砜 50%、甲拌磷亚砜 50%、对硫磷 10%, 其余上述农药的交叉反应率均小于 0.1%。B 品牌甲拌磷对各农药的交叉反应率为甲拌磷砜 50%、甲拌磷亚砜 50%、对硫磷 10%、杀螟硫磷 0.1%, 其余上述农药的交叉反应率均小于 0.1%。为保障甲拌磷快速检测产品质量, 结合本次交叉反应测试结果, 将本研究方法交叉反应设置为: 与甲拌磷砜交叉反应率≥50%, 与甲拌磷亚砜交叉反应率≥50%, 与甲胺磷、乙酰甲胺磷、水胺硫磷、甲基对硫磷、甲基硫环磷的交叉反应率均<0.1%, 与杀螟硫磷交叉反应率≤0.1%, 与对硫磷的交叉反应率≤10%。

表 4 交叉反应率测试结果

Table 4 Results of cross-reactivity testing

目标化合物	样品名称	A 品牌		B 品牌	
		加标浓度/(mg/kg)	交叉反应率/%	加标浓度/(mg/kg)	交叉反应率/%
基质空白	芹菜	/	/	/	/
	梨	/	/	/	/
甲拌磷	芹菜	0.01	100	0.01	100
	梨	0.01	100	0.01	100
甲拌磷砜	芹菜	0.02	50	0.02	50
	梨	0.02	50	0.02	50
甲拌磷亚砜	芹菜	0.02	50	0.02	50
	梨	0.02	50	0.02	50
水胺硫磷	芹菜	10	<0.1	10	<0.1
	梨	10	<0.1	10	<0.1
甲胺磷	芹菜	10	<0.1	10	<0.1
	梨	10	<0.1	10	<0.1
乙酰甲胺磷	芹菜	10	<0.1	10	<0.1
	梨	10	<0.1	10	<0.1
甲基对硫磷	芹菜	10	<0.1	10	<0.1
	梨	10	<0.1	10	<0.1
甲基硫环磷	芹菜	10	<0.1	10	<0.1
	梨	10	<0.1	10	<0.1
杀螟硫磷	芹菜	10	<0.1	10	0.1
	梨	10	<0.1	10	0.1
对硫磷	芹菜	0.1	10	0.1	10
	梨	0.1	10	0.1	10

2.5　真实阳性样品验证结果

自然污染的胡萝卜(甲拌磷含量为 0.096 mg/kg, 样品编号: 103230137078)和萝卜(甲拌磷含量为 0.10 mg/kg, 样品编号: 103230146730)甲拌磷的含量均超过国家标准 GB 2763—2021 规定的限量值, 每种基质取真实阳性样品和阴性样品(经参比方法未检出甲拌磷)混合, 制备 5 个浓度水平为 0.02 mg/kg 的胡萝卜样品(图 3 A)和 5 个浓度水平为 0.02 mg/kg 的萝卜样品(图 3 B), 根据本研究方法的步骤进行快速检测, 测试结果均为阳性, 满足检测需求, 详情见图 3。

真实阳性样品中甲拌磷是甲拌磷砜和甲拌磷亚砜之和, 两个真实阳性样品中并没有甲拌磷。由于甲拌磷砜和甲拌磷亚砜的交叉反应率均为 50%, 因此测试浓度选择 0.02 mg/kg。

图 3　真实阳性样品测试结果
Fig.3　Results of testing with real positive samples

2.6　实验室间协同验证结果

对 5 家机构的验证结果进行分析, 根据国家市场监督管理总局发布的《市场监管总局关于规范食品快速检测使用的意见》(国市监食检规〔2023〕1 号), 计算了各单位验证本方法的性能指标(灵敏度、特异性、假阴性率、假阳性率)。由表 5 可知, A 品牌和 B 品牌甲拌磷快速检测产品均是: 灵敏度≥99.0%、特异性≥99.5%、假阴性率≤1.0%、假阳性率≤0.5%, 具有良好的重复性和再现性, 完全满足方法性能指标测试结果(2.2)中制定的性能指标, 具有较高的可靠性。

表 5　产品性能指标计算结果(%)
Table 5　Results of product performance metrics calculation (%)

产品品牌	验证单位	灵敏度	特异性	假阴性率	假阳性率
A 品牌	山东省食品药品检验研究院	100.0	100.0	0.0	0.0
	广东省食品检验所	99.0	100.0	1.0	0.0
	广州市食品检验所	100.0	100.0	0.0	0.0
	深圳市质量安全检验检测研究院	100.0	100.0	0.0	0.0
	深圳海关食品检验检疫技术中心	100.0	100.0	0.0	0.0
B 品牌	山东省食品药品检验研究院	100.0	100.0	0.0	0.0
	广东省食品检验所	100.0	100.0	0.0	0.0
	广州市食品检验所	99.0	99.5	1.0	0.5
	深圳市质量安全检验检测研究院	100.0	100.0	0.0	0.0
	深圳海关食品检验检疫技术中心	100.0	100.0	0.0	0.0

3　讨论与结论

方法性能指标测试结果(2.2)表明 A 品牌的性能指标略优于 B 品牌。实验间协同验证结果(2.6)显示, A 品牌存在假阴性问题, 而 B 品牌出现假阳性的情况, 这表明甲拌磷胶体金检测卡确实存在假阳性和假阴性的可能。为考虑各品牌胶体金检测卡的差异, 结合 2.2 和 2.6 的测试结果, 将本研究快速检测方法的性能指标设置为灵敏度≥95%、特异性≥95%、假阴性率≤5%、假阳性率≤5%。

本研究确定了食品快速检测方法《水果蔬菜中甲拌磷残留的快速检测 胶体金免疫层析法》的灵敏度、特异性、假阴性率、假阳性率以及交叉反应, 并采用真实阳性样品进行验证和确认, 表明方法具有可靠的稳定性和极高的准确性。5 家验证单位对方法假阴性率和假阳性率指标的测试结果, 说明方法具有良好的重复性和再现性, 可作为新制订标准, 为甲拌磷快速检测试剂盒生产提供规范统一的技术指标参数, 应用于水果蔬菜中甲拌磷残留量的监测。

参考文献

[1] ADAR M, ABABA Z, KAUSHIK G. A review on phorate persistence, toxicity and remediation by bacterial communities [J]. Pedosphere, 2022, 32(1): 171–183.

[2] LI WT, WANG BB, YIN Y, *et al*. Spatiotemporal distribution patterns and ecological risk of multi-pesticide residues in the surface water of a typical agriculture area in China [J]. Sci Total Environ, 2023, 870: 161872.

[3] LI ZH, SUN JT, ZHU LZ, *et al*. Organophosphorus pesticides in greenhouse and open-field soils across China: Distribution characteristic,

polluted pathway and health risk [J]. Sci Total Environ, 2021, 765: 142757.

[4] HENDERSON MC, KRUEGER SK, SIDDENS LK, *et al*. S-Oxygenation of the thioether organophosphate insecticides phorate and disulfoton by human lung flavin-containing monooxygenase 2 [J]. Biochem Pharmacol, 2004, 68(5): 959–967.

[5] SAQUID Q, MUSARRAT J, ASIDDIQUI M, *et al*. Cytotoxic and necrotic responses in human amniotic epithelial (WISH) cells exposed to organophosphate insecticide phorate [J]. Mutat Res/Genet Toxicol Environ Mutagen, 2012, 744(2): 125–134.

[6] SHIKHA S, PATTANAYEK SK. Specific interaction through functional group and molecularly imprint-based QCM-D sensor for detection of phorate and malathion [J]. Colloids Surf A: Physicochem Eng Aspects, 2023, 658: 130760.

[7] HE J, SONG LX, CHEN S, *et al*. Novel restricted access materials combined to molecularly imprinted polymers for selective solid-phase extraction of organophosphorus pesticides from honey [J]. Food Chem, 2015, 187: 331–337.

[8] BOULANOUAR S, MEZZACHE S, COMBÈS A, *et al*. Molecularly imprinted polymers for the determination of organophosphorus pesticides in complex samples [J]. Talanta, 2018, 176: 465–478.

[9] 张明丽, 董学芝, 张国胜, 等. 钙黄绿素-钯(II)荧光光度法测定土壤中甲拌磷残留[J]. 分析科学学报, 2008, 24(5): 583–585.
ZHANG ML, DONG XZ, ZHANG GS, *et al*. Fluorometric determination of phorate with calcein-Pd(II) in soil [J]. J Anal Sci, 2008, 24(5): 583–585.

[10] LIU S, NIE C, HE FJ, *et al*. Oxidase-like nanozymes-driven colorimetric, fluorescence and electrochemiluminescence assays for pesticide residues [J]. Trends Food Sci Technol, 2024, 150: 104597.

[11] WANG K, DONG FS, PAN XL, *et al*. Quantitative screening of organophosphorus and organochlorine pesticides in water and soil using comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry [J]. J Chromatogr Open, 2024, 5: 100140.

[12] 崔帅, 郭一婧, 师钰淇. 采用气相色谱仪-火焰光度检测器法对玫瑰花中有机磷农药残留的分析[J]. 化学世界, 2022, 63(6): 405–410.
CUI S, GUO YJ, SHI YQ. Determination of organophosphorus pesticide residues in rose by gas chromatography flame photometric detector [J]. Chem World, 2022, 63(3): 405–410.

[13] 孙光举. 气相色谱法测定蔬菜中甲拌磷及其氧类似物[J]. 福建分析测试, 2022, 31(5): 40–42.
SUN GJ. Determination of phorate pesticide and metabolites residues in vegetables by Gas chromatography method [J]. Fujian Anal Test, 2022, 31(5): 40–42.

[14] SHIN JM, CHOI SJ, PARK YH, *et al*. Comparison of QuEChERS and liquid-liquid extraction methods for the simultaneous analysis of pesticide residues using LC-MS/MS [J]. Food Control, 2022, 141: 109202.

[15] KODALI J, PURAM S, SRINIVAS P, *et al*. C_{18}-functionalized zirconized silica for effective removal of phorate pesticide from agricultural runoff involving groundwater remediation [J]. Ground Sustain Dev, 2023, 23: 100993.

[16] TARIK B, HASAN K. Determination of 301 pesticide residues in tropical fruits imported to Turkey using LC–MS/MS and GC-MS [J]. Food Control, 2023, 147: 109576.

[17] MARIA C, DESPO LC, AGAPIOS A. Method validation for the determination of 314 pesticide residues using tandem MS systems (GC–MS/MS and LC-MS/MS) in raisins: Focus on risk exposure assessment and respective processing factors in real samples (a pilot survey) [J]. Food Chem, 2021, 360: 129964.

[18] 何旭峰, 肖琦, 朱泽兵, 等. GC-MS/MS 法测定 5 种中药材中 100 种有机磷农药的残留量[J]. 华西药学杂志, 2023, 38(6): 687–694.
HE XF, XIAO Q, ZHU ZB, *et al*. Determination of 100 types of organophosphorus pesticide residues in five traditional Chinese medicines by GC-MS/MS [J]. West China J Pharma Sci, 2023, 38(6): 687–694.

[19] ZHANG YY, ZHANG Z, CHEN F, *et al*. Effect of sonication on eliminating of phorate in apple juice [J]. Ultrason Sonochem, 2012, 19(1): 43–48.

[20] 张政, 郜亮, 王林, 等. 气相色谱-三重四极杆质谱联用法测定果蔬汁中的甲拌磷[J]. 食品安全导刊, 2023(3): 83–85.
ZHANG Z, TAI L, WANG L, *et al*. Determination of phorate in fruit and vegetable juices by gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry [J]. China Food Saf Magaz, 2023(3): 83–85.

[21] PARK EY, LEE JH, LEE JH, *et al*. Method for the simultaneous analysis of 300 pesticide residues in hair by LC-MS/MS and GC-MS/MS, and its application to biomonitoring of agricultural workers [J]. Chemosphere, 2021, 277: 130215.

[22] ISSA MM, TAHA SM, El-MARSAFY AM, *et al*. Acetonitrile-Ethyl acetate based method for the residue analysis of 373 pesticides in beeswax using LC-MS/MS and GC-MS/MS [J]. J Chromatogr B, 2020, 1145: 122106.

[23] 卜庆状, 王建忠, 郭春景, 等. 生育期和货架期设施韭菜中甲拌磷及其代谢产物残留分析与膳食风险评估[J]. 农药, 2023, 62(6): 443–447.
BO QZ, WANG JZ, GUO CJ, *et al*. Residue analysis and dietary risk assessment of phorate and its metabolites in leek (*Allium tuberosum*) during growth period and shelf life [J]. Agrochemicals, 2023, 62(6): 443–447.

[24] 陈永平, 付志茹, 韩现芹, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定水中甲拌磷及其代谢物残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(1): 168–174.

CHEN YP, FU ZR, HAN XQ, *et al*. Determination of phorate and its metabolites residues in water by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(1): 168–174.

[25] 韩梅, 焦颖, 邱世婷, 等. 超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨串联质谱法测定菜田土壤中甲拌磷及其代谢物残留量[J]. 理化检验(化学分册), 2021, 57(11): 1005–1010.
HAN M, JIAO Y, QIU ST, *et al*. Determination of Phorate and its metabolites residues in vegetable soil by ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole/ electrostatic field orbitrap high resolution tandem mass spectrometry [J]. Phys Test Chem Anal (Part B: Chem Anal), 2021, 57(11): 1005–1010.

[26] PAN W, CHEN ZL, WANG X, *et al*. Occurrence, dissipation and processing factors of multi-pesticides in goji berry [J]. J Hazard Mater, 2024, 473: 134696.

[27] WU XL, DING ZM. Evaluation of matrix effects for pesticide residue analysis by QuEChERs coupled with UPLC-MS/MS in complex herbal matrix [J]. Food Chem, 2023, 405: 134755.

[28] GUO MW, PANG JR, WANG Y, *et al*. Nanobodies-based colloidal gold immunochromatographic assay for specific detection of parathion [J]. Anal Chim Acta, 2024, 1310: 342717.

[29] HRISTOV DR, RODRIGUEZ QC, GOMEZMARQUEZ J, *et al*. Designing paper-based immunoassays for biomedical applications [J]. Sensors, 2019, 19(3): 554–578.

[30] ZHANG B, NAN TG, HUANG LQ, *et al*. Development of a colloidal gold-based lateral flow dipstick immunoassay for rapid detection of chlorogenic acid and luteoloside in flos *Lonicerae japonicae* [J]. J Pharma Biomed Anal, 2019, 170: 83–88.

(责任编辑: 韩晓红　蔡世佳)

作者简介

古丽君, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。
E-mail: 249032279@qq.com