



食 品 快 速 检 测 方 法

KJ 202305

豆芽中喹诺酮类药物的快速检测 胶体金免疫层析法

2023-06-13 发布

国家市场监督管理总局 发 布

豆芽中喹诺酮类药物的快速检测
胶体金免疫层析法

1 范围

本方法规定了豆芽中喹诺酮类药物的快速检测胶体金免疫层析法。
本方法适用于绿豆芽、黄豆芽等芽菜类食品中恩诺沙星、环丙沙星、诺氟沙星、氧氟沙星、洛美沙星、培氟沙星、氟罗沙星、沙拉沙星、双氟沙星、达氟沙星的快速定性测定。

2 原理

本方法根据竞争抑制免疫层析原理。样品中的喹诺酮类药物经提取、稀释后，与胶体金标记的特异性抗体结合，抑制抗体和检测线(T 线)上的抗原结合，从而导致检测线(T 线)颜色变化。通过检测线(T 线)与控制线(C 线)颜色深浅比较，对样品中的喹诺酮类药物进行定性判定。

3 试剂与材料

除另有规定外，本方法所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的二级水。

3.1 试剂

- 3.1.1 磷酸二氢钾(KH₂PO₄)。
- 3.1.2 乙腈(CH₃CN)。
- 3.1.3 甲酸(HCOOH)。

3.2 参考物质

喹诺酮类参考物质的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量见表 1，纯度≥95%。
注：或等同可溯源物质。

表 1 喹诺酮类参考物质的中文名称、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
恩诺沙星	Enrofloxacin	93106-60-6	C ₁₉ H ₂₂ FN ₃ O ₃	359.39
环丙沙星	Ciprofloxacin	85721-33-1	C ₁₇ H ₁₈ FN ₃ O ₃	331.34
诺氟沙星	Norfloxacin	70458-96-7	C ₁₆ H ₁₈ FN ₃ O ₃	319.33
氧氟沙星	Ofloxacin	82419-36-1	C ₁₈ H ₂₀ FN ₃ O ₄	361.37
洛美沙星	Lomefloxacin	98079-51-7	C ₁₇ H ₁₉ F ₂ N ₃ O ₃	351.35
培氟沙星	Pefloxacin	70458-92-3	C ₁₇ H ₂₀ FN ₃ O ₃	333.36
氟罗沙星	Fleroxacin	79660-72-3	C ₁₇ H ₁₈ F ₃ N ₃ O ₃	369.34
沙拉沙星	Sarafloxacin	98105-99-8	C ₂₀ H ₁₇ F ₂ N ₃ O ₃	385.36
双氟沙星	Difloxacin	98106-17-3	C ₂₁ H ₁₉ F ₂ N ₃ O ₃	399.39
达氟沙星	Danofloxacin	112398-08-0	C ₁₉ H ₂₀ FN ₃ O ₃	357.38

3.3 溶液配制

磷酸二氢钾溶液(0.1 mol/L):称取磷酸二氢钾(3.1.1)6.8 g,用水溶解并稀释至 500 mL,pH 为 4.0~5.0。

3.4 标准溶液配制

3.4.1 喹诺酮类药物标准储备溶液(1 mg/mL):称取喹诺酮类参考物质 10 mg(精确至 0.01 mg)至烧杯中,用适量乙腈溶解(必要时加入适量甲酸),并转移至 10 mL 容量瓶,乙腈定容,制成质量浓度为 1 mg/mL 的标准储备溶液。—18 °C 以下避光保存,有效期 6 个月。

3.4.2 喹诺酮类药物标准工作溶液(1 μg/mL):吸取喹诺酮类药物标准储备溶液 0.1 mL (3.4.1),置于 100 mL 容量瓶中,磷酸二氢钾溶液(3.3)稀释并定容,制成质量浓度为 1 μg/mL 的标准工作溶液。临用现配。

3.5 材料

喹诺酮类药物胶体金免疫层析试剂盒,一般包含金标微孔、胶体金检测卡或试纸条,适用于芽菜类基质。

4 仪器和设备

4.1 捣碎机。

4.2 电子天平:感量为 0.01 mg 和 0.01 g。

4.3 移液器:100 μL、200 μL、1 mL 和 5 mL。

4.4 涡旋振荡器。

4.5 离心机:转速 $\geq$ 4 000 r/min。

4.6 pH 计:测量精度 0.1 pH 单位。

5 环境条件

温度 15 °C~35 °C。

6 分析步骤

6.1 试样制备

取约 200 g 具有代表性的样品(不可用水洗),将其切碎后,经捣碎机充分捣碎、混匀,装入洁净容器,—18 °C 以下避光保存。

6.2 试样提取

称取 2 g 试样(精确至 0.01 g)于 15 mL 离心管,加入 5 mL 提取液(3.3),涡旋振荡 2 min,4 000 r/min 离心 3 min 或静置 5 min 使固液分层,取上清液(必要时过 0.45 μm 水系滤膜) 200 μL,加提取液(3.3)800 μL,混匀,作为待测液。

6.3 测定步骤

吸取 200 μL 待测液,加入至金标微孔,上下抽吸 5 次~10 次直至微孔试剂全部溶解,室温孵育

5 min。将试纸条下端插入金标微孔中,反应 5 min。从微孔中取出试纸条,去掉下端样品垫,在 5 min 内判读结果。

6.4 质控试验

6.4.1 每批样品应同时进行空白试验和加标质控试验。

6.4.2 空白试验:称取空白试样 2 g(精确至 0.01 g),按照 6.2 和 6.3 步骤与样品同法操作。

6.4.3 加标质控试验:称取空白试样 2 g(精确至 0.01 g),加入一定体积恩诺沙星标准工作溶液(3.4.2),使恩诺沙星含量为 30 $\mu\text{g/kg}$,按照 6.2 和 6.3 步骤与样品同法操作。

7 结果判定

7.1 目视结果

通过对比检测线(T线)与控制线(C线)颜色深浅进行结果判定。目视判定示意图见图 1。结果有以下几种:

- 无效结果:控制线(C线)不显色,无论检测线(T线)是否显色,均表示实验结果无效。
- 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),表示试样中不含待测组分或待测组分含量低于方法检出限,视为阴性。
- 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),表示试样中含有待测组分且其含量高于方法检出限,视为阳性。

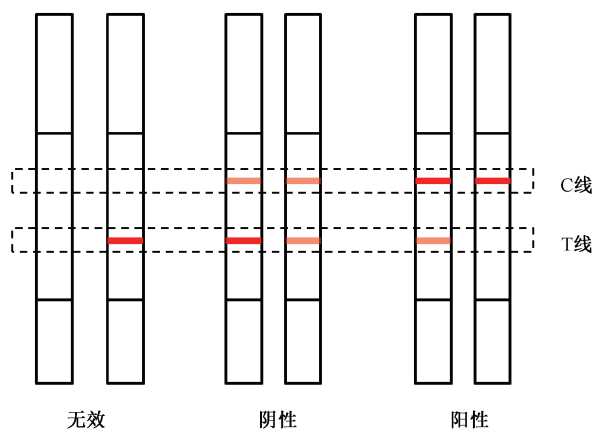


图 1 目视判定示意图

7.2 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。

8 结论

当检测结果为阳性时,采用参比方法对结果进行确证。

9 性能指标

9.1 检出限

恩诺沙星、环丙沙星、诺氟沙星、氧氟沙星、洛美沙星、培氟沙星、氟罗沙星、沙拉沙星、双氟沙星、达氟沙星检出限为 $15.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

9.2 灵敏度

灵敏度 $\geq 95\%$ 。

9.3 特异性

特异性 $\geq 95\%$ 。

9.4 交叉反应率

本方法对豆芽中可能共存的 6-苄基腺嘌呤、4-氯苯氧乙酸、甲硝唑、尿素以及氯吡脘等常见药物无交叉反应。

9.5 假阴性率

假阴性率 $\leq 5\%$ 。

9.6 假阳性率

假阳性率 $\leq 5\%$ 。

10 其他

本方法所述试剂、试剂盒信息及操作步骤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。

本方法参比方法为 BJS 201909《豆制品、火锅、麻辣烫等食品中喹诺酮类化合物的测定》(包含其所有修改单和最新版本)。

本方法检测喹诺酮类药物时,不与 6-苄基腺嘌呤、4-氯苯氧乙酸、甲硝唑、氯吡脘、尿素发生交叉反应。

本方法起草单位:四川省食品检验研究院。

本方法验证单位:广东省食品检验所(广东省酒类检测中心)、国家轻工业食品质量监督检测成都站、河南省产品质量监督检验院、南京市产品质量监督检验院、湛江市食品药品检验所。

本方法主要起草人:余晓琴、刘美、姚欢、何绍志、周海燕、刘娜、闵宇航、于春来。