

DB

深 圳 市 地 方 标 准

DB XX/ XXXXX—XXXX

凉茶中 31 种非法添加药物的快速检测 胶
体金免疫层析法

Rapid detection of 31 illegally added drugs in herbal tea by colloidal gold
immunochromatography

(征求意见稿)

— XX — XX 发布

XXXX — XX — XX 实施

深圳市市场监督管理局 发布

前 言

本文件根据GB/T 1.1-2009《标准化工作导则 第一部分：标准的结构和编写规则》编写。
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这些专利的责任。
本文件由XXX提出并归口。

本文件主要起草单位：深圳市标准研究院、深圳市易瑞生物技术股份有限公司。

本文件主要起草人：XXX、付辉、金虹、王西丽、马涛、张美娟、杨星星、李细清、朱海、XXX。

凉茶中 31 种非法添加药物的快速检测 胶体金免疫层析法

1 范围

本文件规定了凉茶中31种非法添加药物的胶体金免疫层析快速检测方法。

本文件适用于凉茶中对乙酰氨基酚、阿司匹林、布洛芬、安乃近、氨基比林、异丙安替比林、吡罗昔康、吲哚美辛、双氯芬酸钠、地塞米松、倍他米松、氢化可的松、甲基泼尼松龙、醋酸地塞米松、醋酸泼尼松、泼尼松、氟氢可的松、马来酸氯苯那敏、吗啡、可待因、枸橼酸喷托维林、氯霉素、环丙沙星、氧氟沙星、洛美沙星、诺氟沙星、磺胺甲恶唑、磺胺嘧啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺噻唑、磺胺二甲氧嘧啶等31种化学药物的胶体金免疫层析快速检测。

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 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

本方法采用竞争抑制免疫层析原理。样品中待测药物与胶体金标记的特异性抗体结合，抑制抗体和试纸条或检测卡中检测线（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，对样品中化学药物进行定性判定。

4 试剂与材料

4.1 胶体金免疫层析试剂盒

凉茶中非法添加药物检测试剂盒，含乙酰氨基酚、阿司匹林、布洛芬、安乃近类（含安乃近、氨基比林、异丙安替比林）、吡罗昔康、吲哚美辛、双氯芬酸、地塞米松类、马来酸氯苯那敏、枸橼酸喷托维林、吗啡类（含吗啡、可待因）、氯霉素、喹诺酮类、磺胺类药物胶体金免疫层析试纸条及凉茶稀释试剂。

4.2 参考物质

31种药物的参考物质的中文名称、英文名称、CAS登录号、分子式、相对分子质量见表1，纯度均≥90%。

表1 31种药物参考物质中文名称、英文名称、CAS登录号、分子式、相对分子质量

中文名称	英文名称	CAS 登录号	分子式	相对分子质量
对乙酰氨基酚	Acetaminophen	103-90-2	C ₈ H ₉ NO ₂	151.16

阿司匹林	Aspirin	50-78-2	C ₉ H ₈ O ₄	180.16
布洛芬	Ibuprofen	15687-27-1	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	206.28
安乃近	Analgin	5907-38-0	C ₁₃ H ₁₃ N ₃ NaO ₅ S	333.34
氨基比林	Aminophenazone	58-15-1	C ₁₃ H ₁₇ N ₃ O	231.3
异丙安替比林	Propyphenazone	479-92-5	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O	230.31
吡罗昔康	Piroxicam	36322-90-4	C ₁₅ H ₁₃ N ₃ O ₄ S	331.35
吲哚美辛	Indomethacin	53-86-1	C ₁₉ H ₁₆ ClNO ₄	357.79
双氯芬酸钠	Diclofenac sodium	15307-79-6	C ₁₄ H ₁₀ C ₁₂ NNaO ₂	318.13
地塞米松	Dexamethasone	50-02-2	C ₂₂ H ₂₉ FO ₅	392.46
倍他米松	Betamethasone	378-44-9	C ₂₂ H ₂₉ FO ₅	392.46
氢化可的松	Hydrocortisone	50-23-7	C ₂₁ H ₃₀ O ₅	362.46
甲基泼尼松龙	Methylprednisolone	83-43-2	C ₂₂ H ₃₀ O ₅	374.47
醋酸地塞米松	Dexamethasone acetate	1177-87-3	C ₂₄ H ₃₁ FO ₆	434.5
醋酸泼尼松	Prednisone acetate	125-10-0	C ₂₃ H ₂₈ O ₆	400.46
泼尼松	Prednisone	53-03-2	C ₂₁ H ₂₆ O ₅	358.43
氟氢可的松	Fludrocortisone	127-31-1	C ₂₁ H ₂₉ FO ₅	380.45
马来酸氯苯那敏	Chlorpheniramine maleate	113-92-8	C ₂₀ H ₂₃ ClN ₂ O ₄	390.86
吗啡	Morphine	57-27-2	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃	285.34
可待因	Codeine	76-57-3	C ₁₈ H ₂₁ NO ₃	299.36
枸橼酸喷托维林	Pentoxyverine	77-23-6	C ₂₀ H ₃₁ NO ₃	333.47
氯霉素	Chloramphenicol	56-75-7	C ₁₁ H ₁₂ C ₁₂ N ₂ O ₅	323.13
环丙沙星	Ciprofloxacin	85721-33-1	C ₁₇ H ₁₈ FN ₃ O ₃	331.34
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
诺氟沙星	Norfloxacin	70458-96-7	C ₁₆ H ₁₈ FN ₃ O ₃	319.33
磺胺甲恶唑	Sulfamethoxazole	723-46-6	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	253.28
磺胺嘧啶	Sulfadiazine	68-35-9	C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₂ S	250.28
磺胺甲基嘧啶	Sulfamerazine	127-79-7	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₂ S	264.3
磺胺噻唑	Sulfathiazole	72-14-0	C ₉ H ₉ N ₃ O ₂ S ₂	255.32
磺胺二甲氧嘧啶	Sulfadimethoxine	122-11-2	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S	310.33
注：或等同可溯源物质。				

4.3 标准溶液的配制

4.3.1 标准储备液：精密称取或量取适量参考物质（4.2），置于 10 mL 容量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，制成标准储备液（浓度见表 2）；或可直接购买参考物质的标准储备液。-20 °C 避光保存备用，有效期 3 个月。

表2 31 种药物参考物质标准储备液浓度

参考物质	标准储备液浓度 mg/mL
对乙酰氨基酚、阿司匹林、安乃近、氨基比林、异丙安替比林、马来酸氯苯那敏、磺胺甲恶唑、磺胺甲基嘧啶	100
布洛芬、吡罗昔康、吲哚美辛、双氯芬酸钠、甲基泼尼松龙、吗啡、可待因、枸橼酸喷托维林、环丙沙星、氧氟沙星、洛美沙星、诺氟沙星、磺胺嘧啶、磺胺噻唑、磺胺二甲氧嘧啶	10
地塞米松、倍他米松、氢化可的松、醋酸地塞米松、醋酸泼尼松、泼尼松、氟氢可的松、氯霉素	1

4.3.2 标准中间液：精密量取标准储备液（4.3.1）1 mL，置于 100 mL 容量瓶中，用甲醇稀释至刻度，摇匀，参考物质标准中间液浓度见表 3。临用新制。

表3 31 种药物参考物质标准中间液浓度

参考物质	标准储备液浓度 $\mu\text{g/mL}$
对乙酰氨基酚、阿司匹林、安乃近、氨基比林、异丙安替比林、马来酸氯苯那敏、磺胺甲恶唑、磺胺甲基噻唑	1000
布洛芬、吡罗昔康、吲哚美辛、双氯芬酸钠、甲基泼尼松龙、吗啡、可待因、枸橼酸喷托维林、环丙沙星、氧氟沙星、洛美沙星、诺氟沙星、磺胺嘧啶、磺胺噻唑、磺胺二甲氧嘧啶	100
地塞米松、倍他米松、氢化可的松、醋酸地塞米松、醋酸泼尼松、泼尼松、氟氢可的松、氯霉素	10

5 仪器设备

5.1 电子天平（ $d=0.1\text{ g}\sim 0.000\text{ 1 g}$ ）。

5.2 温育器： $40\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

5.3 便携式读数仪（可选）。测量波长： 525 nm ，带宽 $\pm 8\text{ nm}$ ，波长准确度 $\pm 3\text{ nm}$ 。计算方式：峰面积分析，并可计算检测线峰面积/控制线峰面积比值。

5.4 移液器： $200\text{ }\mu\text{L}$

6 测定步骤

6.1 样品前处理

取 1 mL 凉茶，用 9 mL 凉茶稀释液稀释制成检测样。

6.2 分析步骤

6.2.1 取 7 滴稀释后凉茶样品于红色微孔中，上下抽吸 1-3 次混匀。

6.2.2 将检测试纸条插入红色微孔中， $20\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，反应 6 分钟。

6.2.3 从红色微孔中取出试纸条，去掉下端样品垫，进行结果判读。

7 结果判读

7.1 结果的判断也可使用胶体金读数仪判读，读数仪的具体操作与判读原则请参照读数仪的使用说明书。采用目视法对结果进行判读，目视判定示意图如图 1 和图 2 所示。

7.2 比色法

7.2.1 无效

控制线（C 线）不显色，表明不正确操作或试纸条/检测卡无效。

7.2.2 阳性结果

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，表明样品中检测药物高于方法检测限，判为阳性。

7.2.3 阴性结果

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，表明样品中检测药物低于方法检测限或无残留，判为阴性。

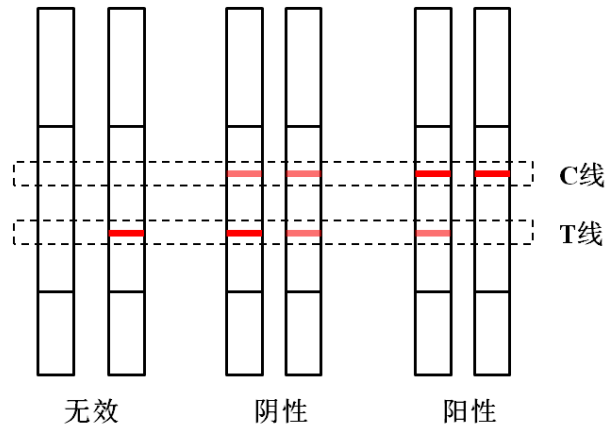


图1 目视判定示意图（比色法）

7.3 消线法

7.3.1 无效

控制线（C线）不显色，表明不正确操作或试纸条/检测卡无效。

7.3.2 阳性结果

检测线（T线）不显色，表明样品中检测药物高于方法检测限，判为阳性。

7.3.3 阴性结果

检测线（T线）与控制线（C线）均显色，表明样品中检测药物低于方法检测限或无残留，判为阴性。

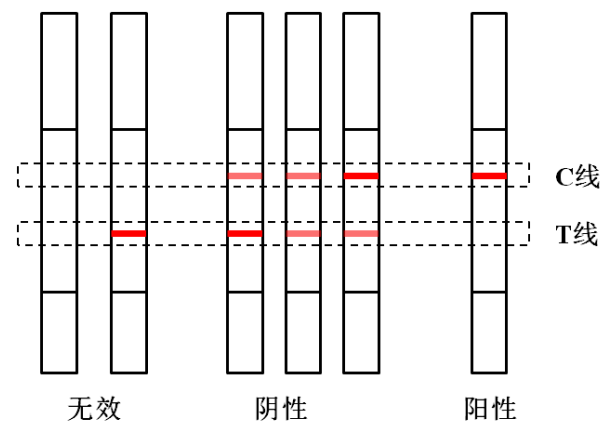


图2 目视判定示意图（消线法）

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。

8 结论

当检测结果为阳性时，应对结果进行确证。

9 方法性能指标

9.1 按附录 A 的规定计算快速检测方法性能指标。

9.2 检出限

检出限应符合表4的规定。

表4 胶体金免疫层析检测方法检出限

检测药物名称	检出限 (µg/kg)	检测药物名称	检出限 (µg/kg)
对乙酰氨基酚	3 000	氟氢可的松	10
阿司匹林	1 000	马来酸氯苯那敏	200
布洛芬	200	吗啡	100
安乃近	800	可待因	100
氨基比林	700	枸橼酸喷托维林	50
异丙安替比林	700	氯霉素	5
吡罗昔康	60	环丙沙星	300
吲哚美辛	300	氧氟沙星	300
双氯芬酸钠	100	洛美沙星	300
地塞米松	10	诺氟沙星	300
倍他米松	10	磺胺甲恶唑	500
氢化可的松	10	磺胺嘧啶	400
甲基泼尼松龙	50	磺胺甲基嘧啶	500
醋酸地塞米松	10	磺胺噻唑	200
醋酸泼尼松	10	磺胺二甲氧嘧啶	300
泼尼松	10		

9.3 灵敏度：灵敏度应≥99%。

9.4 特异性：特异性应≥90%。

9.5 假阴性率：假阴性率应≤1%。

9.6 假阳性率：假阳性率应≤10%。

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。

附 录 A
(规范性附录)
快速检测方法性能指标计算表

表A.1 性能指标计算方法

样品情况 ^a	检测结果 ^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+N12	N.2=N21+N22	N=N1.+N2.或 N.1+N.2
显著性差异(χ^2)	$\chi^2=(N12-N21 -1)^2/(N12+N21)$, 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	$(N11+N22) / (N1.+N2.)$		
^a 由参比方法检验得到的结果或者样品中实际的公认值结果; ^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。			