

团体标准

T/SZTIC XXX—2023

植物类中药材中氟虫腈的快速检测——胶体金免疫层析法

Rapid detection of Fipronil in Chinese herbal medicine -- colloidal gold immunochromatography

征求意见稿

2023 - XX - XX 发布

2023 - XX - XX 实施

深圳市检验检测认证协会 发布

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 原理	1
5 试剂与材料	1
6 仪器与设备	2
7 分析步骤	2
8 结果判定	3
9 结果确认	3
10 性能指标	4
11 其他	4

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。

本文件由深圳市检验检测认证协会提出。

本文件由深圳市检验检测认证协会归口。

本文件起草单位：深圳市易瑞生物技术股份有限公司，深圳市药品检验研究院，澳门大学，华南农业大学，食亦安（厦门）检测技术有限公司，呼和浩特海关技术中心。

本文件主要起草人：严义勇，王冰，李鹏，马红圳，王炳志，黄永健，殷果，梁松，余婷婷，徐梅，张鑫，雷洪涛，钟应立，林茂香，盛万里。

植物类中药材中氟虫腈的快速检测—胶体金免疫层析法

1 范围

本方法规定了植物类中药材中氟虫腈的胶体金免疫层析快速检测方法。
本方法适用于枸杞、薄荷、金银花、党参和当归等植物类中药材中氟虫腈的快速测定。

2 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。

《中国药典》2020年版 第四部
GB/T 6682 分析实验室用水规格和实验室方法
国市监食检规〔2023〕1号 市场监管总局关于规范食品快速检测使用的意见

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

本方法采用竞争抑制免疫层析原理，在检测微孔中冻干金标抗体，在硝酸纤维素膜的检测线（T线）和质控线（C线）处分别包被抗原和单克隆抗体。从样品垫中泳动过来的过量胶体金标记的单克隆抗体可被固定于质控线（C线）的单克隆抗体所捕获，使质控线（C线）显色。样本中若含有氟虫腈，在微孔温育过程中与胶体金标记的单克隆抗体结合，从而抑制金标抗体与硝酸纤维素膜上包被的抗原结合，导致检测线（T线）颜色变浅，因此，通过检测线与质控线（C线）颜色深浅比较，对样品中氟虫腈进行定性判定。

5 试剂与材料

5.1 试剂

除另有说明外，所有试剂均为分析纯，实验室用水应符合GB/T 6682中三级水的要求。

5.1.1 甲醇（CH₃OH）。

5.1.2 Tris 缓冲液（0.1 mol/L，pH8.0）。

5.1.3 标准物质：氟虫腈标准物质的中文名称、英文名称、CAS 登录号、分子式、相对分子质量见表 1，纯度≥98%。

表1 氟虫腈标准物质的中文名称、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
氟虫腈	Fipronil	120068-37-3	C ₁₂ H ₄ Cl ₂ F ₆ N ₄ OS	437.15

注：或等同可溯源物质。

5.1.4 氟虫腈标准储备液（100 μg/mL）：准确称取氟虫腈标准物质（5.1.3）100 mg（精确到 0.1mg），置于 1000 mL 容量瓶中，用甲醇（5.1.1）溶解并稀释至刻度，摇匀，制成 100 μg/mL 的标准储备液。-20 °C 避光保存，保质期 6 个月。

5.1.5 氟虫腈标准工作液（1 μg/mL）：精密移取氟虫腈标准储备液（100 μg/mL）（5.1.4）0.1mL，置于 10 mL 容量瓶，用甲醇（5.1.1）稀释至刻度，摇匀，制成浓度 1 μg/mL 的标准工作液。临用新配。

5.2 材料

5.2.1 固相萃取（Solid Phase Extraction，简称 SPE）净化小柱，填料比例为氧化铝：硅藻土：C18=70：30：20。需在阴凉、干燥、避光条件下保存。

5.2.2 氟虫腈胶体金免疫层析试纸条，适用基质为中药材。需在阴凉、干燥、避光条件下保存。

6 仪器与设备

6.1 电子天平：感量为 0.01 g 及 0.0001 g。

6.2 移液器：量程为 10 μL ~1000 μL。

6.3 均质器。

6.4 涡旋仪。

6.5 胶体金读数仪（可选）。

7 分析步骤

7.1 试样制备

取适量代表性样品，充分均质混匀。

7.2 试样提取与净化

称取 1 g 枸杞、薄荷、金银花、党参和当归（精确至 0.05 g）放入 15 mL 离心管中，加入 4 mL 甲醇（色谱级）提取，IKA 型涡旋仪高速涡旋 1 min，静置 30 sec 或 3000 rpm 离心 2 min，上清液即为提取液。

准确吸取 500 μL 提取液于 SPE 净化小柱，依靠重力让其自然滴下，用 2 mL 离心管收集流穿液。

7.3 测定步骤

将收集到的流穿液用 0.1 mol/L Tris 8.0 稀释 10 倍（25 μL 流穿液，225 μL 0.1 mol/L Tris 8.0 稀释液）。

混合均匀后即待测液。测试前，将未开封的试纸条恢复至室温；在 20-30 °C 室温下取 200 μL 待测液于红色微孔中混合均匀，反应 3 min 后取出试纸筒中的试纸条，将测试条插入上述红色微孔中反应 6 min，待时间到后从微孔中取出试纸条，轻轻刮去试纸条下端的吸水海绵，进行结果判读。（超过 5 min 后的结果判读无效）

注 1：测定步骤建议按照试纸条说明书。

注 2：结果判定建议使用读数仪，读数仪的具体使用参照仪器使用说明书。

7.4 质控试验

每批样品应同时进行空白试验和加标质控试验。

7.4.1 空白试验

称取空白试样，按照7.2和7.3步骤与样品同法操作。

7.4.2 加标质控试验

准确称取空白试样1 g(精确至0.05 g)放入15mL离心管中，加入20 μL氟虫腈标准工作液(1 μg/mL)，使试样中氟虫腈浓度为0.02 mg/kg，按照7.2和7.3步骤与样品同法操作。

8 结果判定

8.1 目视判定

通过对比质控线（C线）和检测线（T线）的颜色深浅进行结果判定。目视判定示意图见图1。

注：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参照读数仪的使用说明书。

8.2 目视判定示意图

8.2.1 无效结果

质控线（C线）不显色，无论检测线（T线）是否显色，判定为无效结果；质控试验结果不符合要求时，同批次所有检测结果判定为无效结果。若出现无效结果，需对同批次样品进行重新检测。

8.2.2 阴性结果

质控线（C线）显色，检测线（T线）颜色深于或等于质控线（C线），判定视为阴性结果。

8.2.3 阳性结果

质控线（C线）显色，检测线（T线）不显色或颜色浅于质控线（C线），判定为阳性结果。

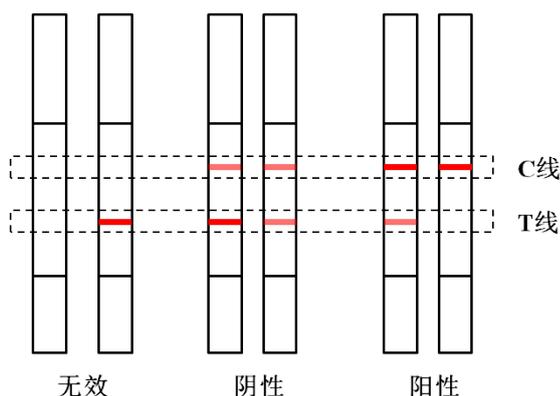


图1 目视判定示意图

8.3 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。

9 结果确认

当检测结果为阳性时，应按照《中国药典》2020版第四部，2341农药残留量测定法第五法-药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留测定法进行确证。

10 性能指标

10.1 检出限：0.02 mg/kg

10.2 灵敏度：≥95%

10.3 交叉反应率：<0.1%

10.4 假阴性率：≤5%

10.5 假阳性率：≤10%

11 其他

本方法所述试剂、试纸条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。方法使用者在使用试剂、试纸条或操作步骤之前，应对其进行考察。性能指标应满足本方法规定的各项性能指标。

本方法参比方法为《中国药典》2020版第四部，2341农药残留量测定法第五法-药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留测定法。