



## (12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105675858 B

(45)授权公告日 2017.07.21

(21)申请号 201610145337.0

(22)申请日 2016.03.15

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105675858 A

(43)申请公布日 2016.06.15

(73)专利权人 中国烟草总公司郑州烟草研究院

地址 450001 河南省郑州市高新区枫杨街2号

专利权人 国家烟草质量监督检验中心  
北京勤邦生物技术有限公司

(72)发明人 陈黎 范子彦 李行 杨吕松  
潘立宁 胡斌 唐纲岭 刘惠民  
贾芳芳 崔华鹏 樊美娟

(74)专利代理机构 郑州中民专利代理有限公司  
41110

代理人 姜振东

(51)Int.Cl.

G01N 33/535(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

审查员 许珊萍

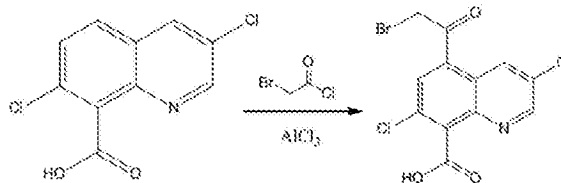
权利要求书1页 说明书6页 附图1页

### (54)发明名称

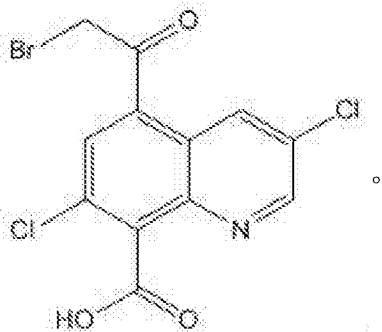
检测二氯喹啉酸的酶联免疫试剂盒及其应用

### (57)摘要

本发明提供了一种检测二氯喹啉酸的酶联免疫试剂盒,它包括:包被有包被原的酶标板、二氯喹啉酸标准品溶液、二氯喹啉酸抗体、酶标二抗、底物显色液、终止液、洗涤液、复溶液,所述包被原为二氯喹啉酸偶联抗原,所述酶标二抗为酶标记的二氯喹啉酸抗抗体。本发明还公开了一种应用上述酶联免疫试剂盒检测二氯喹啉酸的方法,它包括:首先进行样品前处理,然后用试剂盒进行检测,最后分析检测结果。本发明提供的酶联免疫试剂盒可用于检测土壤样本中二氯喹啉酸的含量,其操作简便、费用低廉、灵敏度高、能够现场监控且适合大量样本的筛查。



1. 一种检测二氯喹啉酸酶联免疫试剂盒, 其特征在于: 包括包被有包被原的酶标板、二氯喹啉酸标准品溶液、二氯喹啉酸抗体、酶标二抗、底物显色液、终止液、洗涤液以及复溶液, 所述包被原为二氯喹啉酸偶联抗原, 所述酶标二抗为酶标记的二氯喹啉酸抗抗体, 所述二氯喹啉酸偶联抗原是由二氯喹啉酸半抗原与载体蛋白偶联得到, 所述二氯喹啉酸半抗原是由二氯喹啉酸与溴乙酰氯反应得到, 二氯喹啉酸半抗原分子结构式为:



2. 如权利要求1所述试剂盒, 其特征在于: 所述载体蛋白为鼠血清蛋白、甲状腺蛋白、牛血清白蛋白、兔血清蛋白、人血清蛋白、卵清蛋白、血蓝蛋白或纤维蛋白原。

3. 如权利要求1所述试剂盒, 其特征在于: 所述二氯喹啉酸抗体是以二氯喹啉酸偶联抗原作为免疫原制备获得, 所述二氯喹啉酸抗体为二氯喹啉酸单克隆抗体或二氯喹啉酸多克隆抗体。

4. 如权利要求1所述试剂盒, 其特征在于: 所述酶标二抗的标记酶为辣根过氧化物酶或细菌提取碱性磷酸酯酶, 当标记酶为辣根过氧化物酶时, 底物显色液A液为过氧化氢或过氧化脲, 底物显色液B液为邻苯二胺或四甲基联苯胺, 终止液为1~2 mol/L的硫酸缓冲液或1~2 mol/L盐酸缓冲液; 当标记酶为细菌提取碱性磷酸酯酶时, 底物显色液为对硝基磷酸盐缓冲液, 终止液为1~2 mol/L氢氧化钠。

5. 如权利要求1所述试剂盒, 其特征在于: 所述洗涤液为pH值为7.4, 含有0.5%~1.0%吐温-20、0.01%~0.03%叠氮化钠防腐剂、0.1~0.3 mol/L的磷酸盐缓冲液; 所述复溶液为pH值为7.0、0.02 mol/L的磷酸盐缓冲液, 洗涤液中的百分比为重量体积百分比, 单位g/mL。

6. 如权利要求1所述试剂盒, 其特征在于: 所述二氯喹啉酸标准品溶液的浓度分别为0 μg/L、0.5 μg/L、1.5 μg/L、4.5 μg/L、13.5 μg/L、40.5 μg/L。

7. 一种利用权利要求1所述试剂盒检测土壤样品中二氯喹啉酸含量的方法, 其特征在于: 包括以下步骤:

- (1) 样品前处理;
- (2) 用试剂盒进行检测;
- (3) 分析检测结果。

## 检测二氯喹啉酸的酶联免疫试剂盒及其应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及酶联免疫检测技术,具体涉及一种用于检测二氯喹啉酸的酶联免疫试剂盒及其应用,可定性、定量检测土壤中二氯喹啉酸的残留量。

### 背景技术

[0002] 二氯喹啉酸是由德国巴斯夫公司开发的新型喹啉酸类激素型除草剂,具有选择性强和持效期长的特点。二氯喹啉酸在一年生杂草和禾本科作物之间有明显的选择性,可用于秧前和秧后的水稻田或直播水稻田的杂草防除,是我国稻田主要除草剂品种之一。由于二氯喹啉酸显酸性,在酸性土壤中降解缓慢,容易给后茬敏感作物造成严重危害,特别在水稻与烟草轮作地区,可造成烟草生长畸形。伴随二氯喹啉酸应用量的逐年增长,应用范围的逐年扩大,由于不合理的使用而导致农作物产生药害的事件也常有发生。在实际应用中,水稻田施用二氯喹啉酸后,经过半年的降解,二氯喹啉酸仍会有相当累积。水稻田施用二氯喹啉酸后的近300天内,除水稻外,不能种植任何作物;两年内不能种植烟草、茄子、番茄、胡萝卜、芹菜等作物,不能用施过二氯喹啉酸的水灌上述作物。为了缓解因土壤残留二氯喹啉酸而致烟草畸形生长,减少由此而造成的经济损失,种植前检测植烟土壤中二氯喹啉酸的含量显得尤为重要。

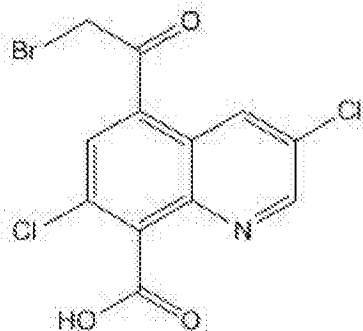
[0003] 目前常用的二氯喹啉酸检测方法主要是仪器方法,如高效液相色谱法、液相色谱串联质谱法,采用这些分析方法需要昂贵的仪器和专门的技术人员,样品前处理过程复杂且花费高、费时长,难以满足大量样品和现场样品快速检测的需要。因此,开发一种不受检测设备限制并且能够实现对大批量样品进行快速检测的产品和方法成为迫切需要解决的问题。

### 发明内容

[0004] 本发明的目的正是针对上述现有技术状况而提供一种能够检测土壤中二氯喹啉酸残留量的酶联免疫试剂盒,并提供一种高效、准确、简便、适于大批量样品筛选的定性、定量检测方法,应用本发明的酶联免疫法测定土壤中二氯喹啉酸的残留量,具有检测限低、特异性强、操作简便、检测速度快、检测成本低,易于推广等优点。

[0005] 本发明的目的是通过以下技术方案来实现的:本发明的试剂盒包括:包被有包被原的酶标板、二氯喹啉酸标准品溶液、二氯喹啉酸抗体、酶标二抗、底物显色液、终止液、洗涤液、复溶液,所述包被原为二氯喹啉酸偶联抗原,所述酶标二抗为酶标记的二氯喹啉酸抗体,所述二氯喹啉酸偶联抗原是由二氯喹啉酸半抗原与载体蛋白偶联得到,所述二氯喹啉酸半抗原是由二氯喹啉酸与溴乙酰氯反应得到,二氯喹啉酸半抗原分子结构式为:

[0006]



[0007] 所述载体蛋白可为鼠血清蛋白、甲状腺蛋白、牛血清白蛋白、兔血清蛋白、人血清蛋白、卵清蛋白、血蓝蛋白或纤维蛋白原。

[0008] 所述二氯喹啉酸抗体是以二氯喹啉酸偶联抗原作为免疫原制备获得,所述二氯喹啉酸抗体为二氯喹啉酸单克隆抗体或二氯喹啉酸多克隆抗体,其中优选二氯喹啉酸单克隆抗体。

[0009] 所述酶标二抗的标记酶为辣根过氧化物酶或细菌提取碱性磷酸酯酶,其中优选辣根过氧化物酶;酶标二抗是由酶和二氯喹啉酸抗体偶联得到的。

[0010] 当标记酶为辣根过氧化物酶时,所述底物显色液由底物液A液和底物液B液组成,A为过氧化氢或过氧化脲,B液为邻苯二胺或四甲基联苯胺,所述终止液为1~2 mol/L的硫酸溶液或盐酸缓冲液;当标记酶为细菌提取碱性磷酸酯酶时,所述底物显色液为对硝基磷酸盐缓冲液,所述终止液为1~2 mol/L氢氧化钠溶液。

[0011] 所述二氯喹啉酸标准品溶液6瓶,浓度分别为0  $\mu\text{g/L}$ 、0.5  $\mu\text{g/L}$ 、1.5  $\mu\text{g/L}$ 、4.5  $\mu\text{g/L}$ 、13.5  $\mu\text{g/L}$ 、40.5  $\mu\text{g/L}$ 。

[0012] 所述洗涤液优选为pH值为7.4,含有0.5%~1.0%吐温-20、0.01‰~0.03‰叠氮化钠防腐剂、0.1~0.3 mol/L的磷酸盐缓冲液,其中的百分比为重量体积百分比,单位g/mL。

[0013] 所述复溶液优选为pH值为7.0、0.02 mol/L的磷酸盐缓冲液。

[0014] 本发明中酶标板的制备过程为:用包被缓冲液将包被原稀释成20  $\mu\text{g/mL}$ ,每孔加入100  $\mu\text{L}$ ,25℃避光孵育2 h或4℃过夜,倾去孔中液体,用洗涤液洗涤2次,每次30 s,拍干,然后在每孔中加入150~200  $\mu\text{L}$ 封闭液,25℃避光孵育1~2 h,倾去孔内液体拍干,干燥后用铝膜真空密封保存。

[0015] 其中,在酶标板制备过程中所用到的包被缓冲液为pH值为9.6,0.05 mol/L的碳酸盐缓冲液,封闭液为pH值为7.1~7.5,含有1%~3% (g/mL) 酪蛋白、0.1~0.3 mol/L的磷酸盐缓冲液。

[0016] 本发明的检测原理为:

[0017] 本试剂盒采用间接竞争ELISA方法,在酶标板微孔条上预包被二氯喹啉酸偶联抗原,加入样本溶液或标准品溶液后,再加入二氯喹啉酸单克隆抗体溶液,样本中残留的二氯喹啉酸和酶标板微孔条上预包被的偶联抗原竞争二氯喹啉酸单克隆抗体,加入酶标二抗进行放大作用,用显色液显色,样本吸光度值与其所含残留物二氯喹啉酸的含量成负相关,与标准曲线比较,再乘以其对应的稀释倍数,即可得出样本中二氯喹啉酸的残留量。

[0018] 本发明还提供了一种应用上述酶联免疫试剂盒检测二氯喹啉酸的方法,它包括步骤:

- [0019] (1) 样品前处理；  
[0020] (2) 用试剂盒进行检测；  
[0021] (3) 分析检测结果。

[0022] 本发明检测二氯喹啉酸的酶联免疫试剂盒主要采用间接竞争ELISA方法定性或定量检测样品中二氯喹啉酸残留量；对样品的前处理要求低，样品前处理过程简单，能同时快速检测大批量样品；主要试剂以工作液的形式提供，检验方法方便易行，具有检测限低、特异性高、操作简便、灵敏度高、精确度高、准确度高等特点。本发明的酶联免疫试剂盒，结构简单、使用方便、价格便宜、携带便利、检测方法高效、准确、简便、适于大批量样品筛选的定性、定量检测。

## 附图说明

- [0023] 图1：二氯喹啉酸半抗原合成路线图。  
[0024] 图2：试剂盒标准曲线图。

## 具体实施方式

[0025] 下面结合具体的实施例来进一步阐述本发明。应理解，这些实施例仅用于说明本发明，而不用来限制本发明的范围。

### [0026] 实施例1 试剂盒组分的制备

#### [0027] 1、二氯喹啉酸半抗原的制备

[0028] 取0.43 g溴乙酰氯，加10 mL氯仿溶解，加30.28 g  $AlCl_3$ 搅拌，室温反应2 h，滴加含有1.0 g二氯喹啉酸的吡啶溶液20 mL，50 °C反应4 h。停止反应，旋蒸，除去有机溶剂，加水溶解，加稀盐酸调节pH=5，乙酸乙酯萃取，无水硫酸钠干燥，浓缩，得到红色油状物，上硅胶柱，石油醚/乙酸乙酯(v/v, 1/1)，洗脱分离，得到溴乙酰化二氯喹啉酸半抗原产物1.38 g，收率92%。

[0029] 取上述半抗原经核磁共振氢谱鉴定， $^1H$  NMR( $CDCl_3$ , 300 MHz)  $\delta$ : 4.353 (2, 2H), 8.330 (7, 1H, d,  $J=3.832$ ), 8.812 (9, 1H, dd,  $J=3.832$ ,  $J=1.700$ ), 8.703 (15, 1H, d,  $J=1.700$ ) 化学位移 $\delta=4.35$ 的为间隔臂上亚甲基的氢的共振吸收峰，除原料本身氢的特征吸收峰外，该吸收峰的存在证明间隔臂偶联成功。

#### [0030] 2、抗原的制备

[0031] 免疫原制备——二氯喹啉酸半抗原与牛血清白蛋白(BSA) (也可选用其它蛋白如人血清蛋白、鼠血清蛋白)偶联得到免疫原。

[0032] 取22 mg半抗原，溶解于0.8 mL N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中，搅拌，溶解澄清，得到反应液A；称取BSA 30 mg，使之充分溶解在4 mL 0.1 mol/L柠檬酸盐缓冲液(CB, pH 9.6)中，将反应液A逐滴缓慢滴加到蛋白溶液中，并于室温下搅拌24 h，用0.01 mol/L磷酸盐缓冲液(PBS) 4 °C透析3 d，每天换3次透析液，以除去未反应的小分子物质，得到免疫原。

[0033] 包被原制备——二氯喹啉酸半抗原与卵清蛋白(OVA) (也可选用其它蛋白如血蓝蛋白、纤维蛋白)偶联得到包被原。

[0034] 取18 mg半抗原，溶解于1 mL DMF中，溶解澄清，得到反应液A；称取OVA 30 mg，使之充分溶解在6 mL 0.1 mol/L CB(pH 9.6)中，将反应液A逐滴缓慢滴加到蛋白溶液中，并

于室温下搅拌24 h,用0.01 mol/L PBS 4℃透析3 d,每天换3次透析液,以除去未反应的小分子物质,得到包被原。

[0035] 3、二氯喹啉酸单克隆抗体的制备

[0036] 动物免疫:将上述步骤得到的免疫原注入到Balb/c小鼠体内,免疫剂量为150 µg/只,使其产生抗血清。

[0037] 细胞融合和克隆化:小鼠血清测定结果较高后,取其脾细胞,按8:1(数量配比)比例与SP2/0骨髓瘤细胞融合,采用间接竞争ELISA测定细胞上清液,筛选阳性孔。利用有限稀释法对阳性孔进行克隆化,直到得到分泌二氯喹啉酸单克隆抗体的杂交瘤细胞株。

[0038] 细胞冻存和复苏:将单克隆杂交瘤细胞株用冻存液制成 $1 \times 10^6$ 个/mL的细胞悬液,在液氮中长期保存。复苏时取出冻存管,立即放入37℃水浴中速融,离心去除冻存液后,移入培养瓶内培养。

[0039] 单克隆抗体的生产与纯化:将Balb/c小鼠腹腔注入灭菌石蜡油0.5 mL/只,7天后腹腔注射稳定的单克隆杂交瘤细胞株 $5 \times 10^5$ 个/只,7天后采集腹水。用辛酸-饱和硫酸铵法进行腹水纯化,-20℃保存。

[0040] 4、酶标二抗的制备

[0041] 以山羊作为免疫动物,以二氯喹啉酸单克隆抗体为免疫原对无病原体山羊进行免疫,得到二氯喹啉酸抗抗体。将二氯喹啉酸抗抗体与辣根过氧化物酶(HRP)进行偶联得到酶标二抗。

[0042] 5、酶标板的制备

[0043] 用包被缓冲液将包被原稀释成20 µg/mL,每孔加入100 µL,25℃避光孵育2 h,倾去孔中液体,用洗涤液洗涤2次,每次30 s,拍干,然后在每孔中加入200 µL封闭液,25℃避光孵育2 h,倾去孔内液体拍干,干燥后用铝膜真空密封保存。

[0044] 实施例2 检测二氯喹啉酸的酶联免疫试剂盒的组建

[0045] 组建检测二氯喹啉酸的酶联免疫试剂盒,使其包含下述组分:

[0046] (1)包被二氯喹啉酸偶联抗原的酶标板;

[0047] (2)二氯喹啉酸标准品溶液6瓶,浓度分别为0 µg/L、0.5 µg/L、1.5 µg/L、4.5 µg/L、13.5 µg/L、40.5 µg/L;

[0048] (3)二氯喹啉酸单克隆抗体工作液;

[0049] (4)用辣根过氧化物酶标记的二氯喹啉酸抗抗体;

[0050] (5)底物显色液由A液和B液组成,A液为过氧化脲,B液为四甲基联苯胺;

[0051] (6)终止液为2 mol/L硫酸;

[0052] (7)洗涤液为pH值为7.4,含有0.5%~1.0%吐温-20、0.01%~0.03%叠氮化钠防腐剂、0.1~0.3 mol/L的磷酸盐缓冲液;

[0053] (8)复溶液为pH值为7.0、0.02 mol/L的磷酸盐缓冲液。

[0054] 实施例3 土壤中二氯喹啉酸的检测

[0055] 1、样品前处理

[0056] 称取 $1.0 \pm 0.05$ g均质后的土壤样本至10mL聚苯乙烯离心管中,加入5 mL蒸馏水,用振荡器振荡5 min,混匀,3000 g室温(20~25℃)离心5 min;移取50 mL上清液至2 mL聚苯乙烯离心管中,加入950 mL样本复溶工作液,用涡旋仪涡动2 min,充分混匀,取50 mL用于

分析。

## [0057] 2、用试剂盒检测

[0058] 加入标准品/样本50 mL到对应的微孔中,然后加入抗体工作液50 mL/孔,轻轻振荡混匀,用盖板膜盖板后置25℃避光环境中反应30 min。小心揭开盖板膜,将孔内液体甩干,加入洗涤工作液250 mL/孔,充分洗涤4~5次,每次间隔10 s,泼掉板孔内洗涤液,用吸水纸拍干。加入酶标二抗100 mL/孔,轻轻振荡混匀,用盖板膜盖板后置25℃避光环境中反应30 min,取出重复洗板步骤。加入底物液A液50 mL/孔,再加入底物液B液50 mL/孔,轻轻振荡混匀,用盖板膜盖板后置25℃避光环境中反应15 min。加入终止液50 mL/孔,轻轻振荡混匀,设定酶标仪于450nm处,参比波长620 nm,测定每孔OD值。

## [0059] 3、检测结果分析

[0060] 用标准品或样本的吸光度值的平均值(双孔)除以第一个标准品(0标准)的吸光度值的平均值,再乘以100%,得到标准品或样本的百分吸光度值。以标准品百分吸光度值为纵坐标,以二氯喹啉酸标准品浓度( $\mu\text{g/L}$ )的对数为横坐标,绘制标准曲线图。将样本的百分吸光度值代入标准曲线中,从标准曲线上读出样本提取液中二氯喹啉酸所对应的浓度,乘以其对应的稀释倍数即为样本中二氯喹啉酸的实际浓度。

## [0061] 实施例4 二氯喹啉酸技术参数的确定试验

### [0062] 1、试剂盒灵敏度和检测限

[0063] 按照常规方法测定试剂盒灵敏度,标准曲线的范围为0~40.5  $\mu\text{g/L}$ ,  $1C_{50}$  (50%抑制浓度)浮动范围为2.9~5.2  $\mu\text{g/L}$ ;对20份样品进行检测,从标准曲线上查出对应于各百分吸光度值的浓度,以20份样本浓度的平均值加上3倍标准差表示检测限,结果显示,该方法对土壤中二氯喹啉酸的检测限均为4  $\mu\text{g/kg}$ 。

### [0064] 2、样本精密度和准确度试验

[0065] 以回收率作为准确度评价指标,重复测定某一浓度样品的检测结果相对标准偏差(RSD%)作为精密度评价指标。计算公式为:回收率(%) = 实际测定值/理论值 $\times 100\%$ ,其中理论值为样品的添加浓度;相对标准偏差 $RSD\% = SD/X \times 100\%$ ,其中SD为标准偏差,X为测定数据的平均值。

[0066] 按4 $\mu\text{g/kg}$ 、8 $\mu\text{g/kg}$ 两个浓度的二氯喹啉酸分别对土壤样品进行添加回收测定,每个样品做4个平行,用三批不同试剂进行测定,计算样品的平均回收率及精密度结果见下表。

[0067] 表1 土壤样本精密度及准确度试验

| 二氯喹啉酸  | 添加浓度( $\mu\text{g/kg}$ ) | 回收率(n=4)% | 批内RSD(n=4)% | 批间RSD(n=3)% |
|--------|--------------------------|-----------|-------------|-------------|
|        | 土壤                       |           |             |             |
| [0068] | 4                        | 102.6     | 9.2         | 9.7         |
|        | 8                        | 91.3      | 8.4         | 9.5         |

[0069] 以4 $\mu\text{g/kg}$ 、8 $\mu\text{g/kg}$ 两个浓度的二氯喹啉酸分别对土壤进行添加,平均回收率在102.6%~91.3%之间;批内、批间相对标准偏差均小于10%。

### [0070] 3、试剂盒稳定性试验

[0071] 试剂盒保存条件为2~8℃,经过12个月的测定,试剂盒的最大吸光度值(零标准)、

50%抑制浓度、二氯喹啉酸添加实际测定值均在正常范围之内。考虑在运输和使用过程中,会有非正常保存条件出现,将试剂盒在37℃保存条件下放置7天,进行加速老化实验,结果表明该试剂盒各项指标完全符合要求。考虑到试剂盒冷冻情况发生,将试剂盒放入-20℃冰箱冷冻7天,测定结果也表明试剂盒各项指标完全正常。从以上结果可得出试剂盒可以在2~8℃至少保存12个月以上。

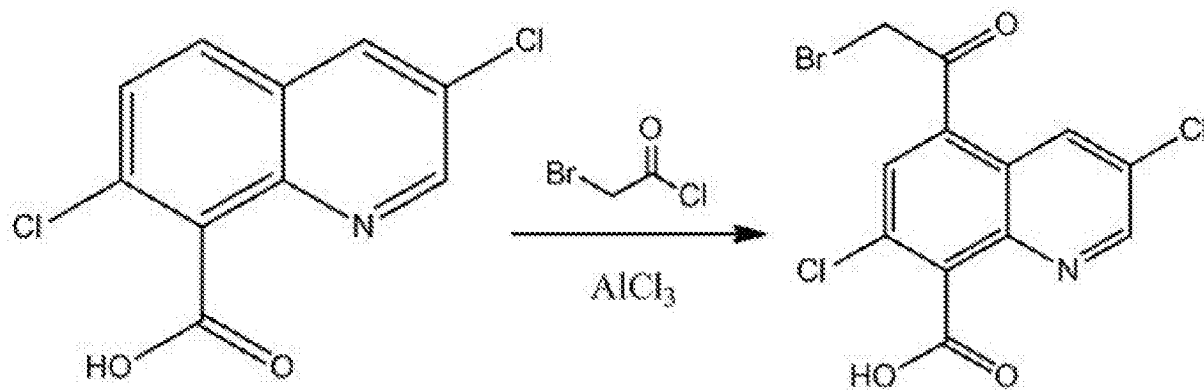


图1

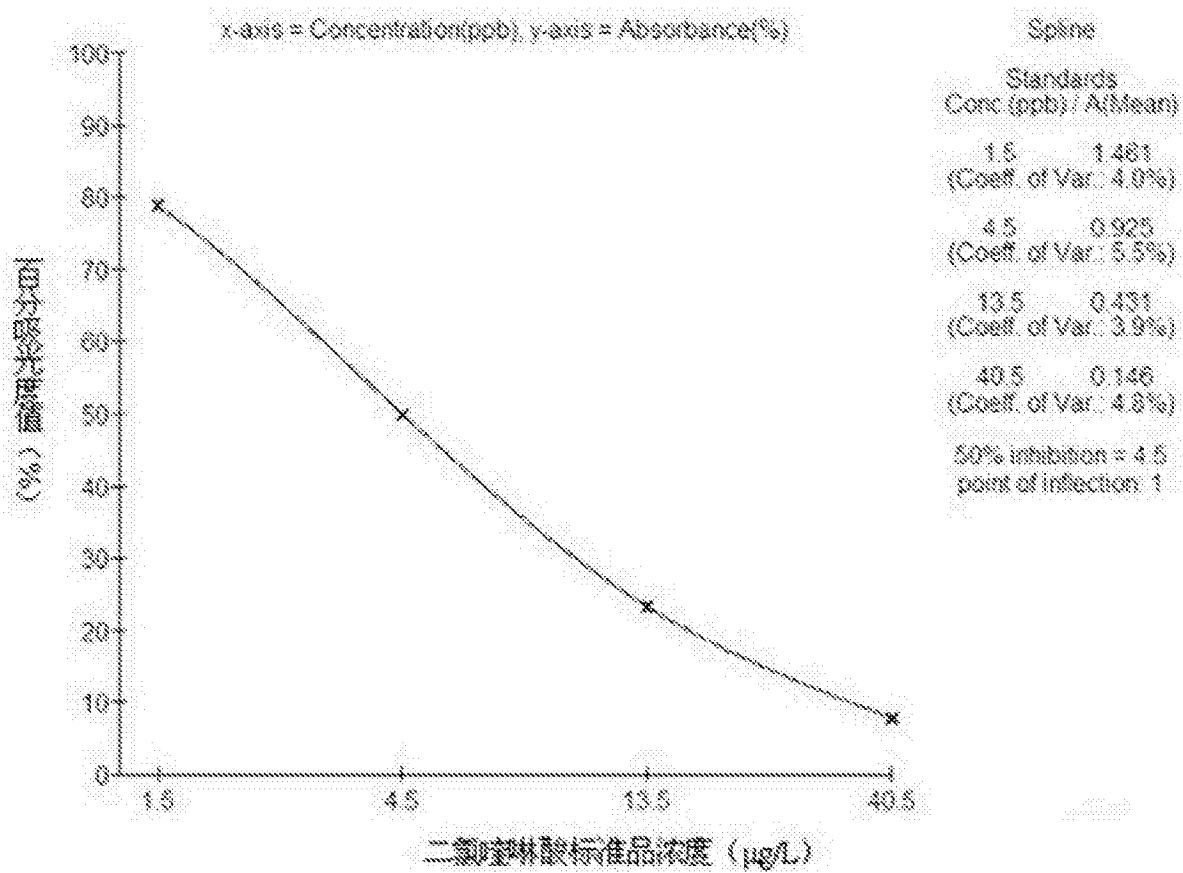


图2

|                |                                                                        |         |            |
|----------------|------------------------------------------------------------------------|---------|------------|
| 专利名称(译)        | 检测二氯喹啉酸的酶联免疫试剂盒及其应用                                                    |         |            |
| 公开(公告)号        | <a href="#">CN105675858B</a>                                           | 公开(公告)日 | 2017-07-21 |
| 申请号            | CN201610145337.0                                                       | 申请日     | 2016-03-15 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 中国烟草总公司郑州烟草研究院<br>国家烟草质量监督检验中心<br>北京勤邦生物技术有限公司                         |         |            |
| 申请(专利权)人(译)    | 中国烟草总公司郑州烟草研究院<br>国家烟草质量监督检验中心<br>北京勤邦生物技术有限公司                         |         |            |
| 当前申请(专利权)人(译)  | 中国烟草总公司郑州烟草研究院<br>国家烟草质量监督检验中心<br>北京勤邦生物技术有限公司                         |         |            |
| [标]发明人         | 陈黎<br>范子彦<br>李行<br>杨吕松<br>潘立宁<br>胡斌<br>唐纲岭<br>刘惠民<br>贾芳芳<br>崔华鹏<br>樊美娟 |         |            |
| 发明人            | 陈黎<br>范子彦<br>李行<br>杨吕松<br>潘立宁<br>胡斌<br>唐纲岭<br>刘惠民<br>贾芳芳<br>崔华鹏<br>樊美娟 |         |            |
| IPC分类号         | G01N33/535 G01N33/577                                                  |         |            |
| CPC分类号         | G01N33/535 G01N33/577                                                  |         |            |
| 代理人(译)         | 姜振东                                                                    |         |            |
| 其他公开文献         | CN105675858A                                                           |         |            |
| 外部链接           | <a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>                         |         |            |

#### 摘要(译)

本发明提供了一种检测二氯喹啉酸的酶联免疫试剂盒，它包括：包被有包被原的酶标板、二氯喹啉酸标准品溶液、二氯喹啉酸抗体、酶标二抗、底物显色液、终止液、洗涤液、复溶液，所述包被原为二氯喹啉酸偶联抗原，所述酶标二抗为酶标记的二氯喹啉酸抗抗体。本发明还公开了一种应用上述酶联免疫试剂盒检测二氯喹啉酸的方法，它包括：首先进行样品前处理，然后用试剂盒进行

检测，最后分析检测结果。本发明提供的酶联免疫试剂盒可用于检测土壤样本中二氯喹啉酸的含量，其操作简便、费用低廉、灵敏度高、能够现场监控且适合大量样本的筛查。

