



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 105807041 A

(43)申请公布日 2016.07.27

(21)申请号 201610159561.5

(22)申请日 2016.03.21

(71)申请人 贵州勤邦食品安全科学技术有限公司

地址 550009 贵州省贵阳市小河区小孟工业园标准厂房二期1#楼1-2楼

(72)发明人 冯才伟 汪善良 蒲小容 王璐  
贾玲玲 覃婵 袁旭 谢体波  
陆苇 李平 王大敏 牛治存

(51) Int. Cl.

G01N 33/53(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

G01N 21/31(2006.01)

权利要求书1页 说明书8页 附图2页

(54)发明名称

检测高效氯氟氰菊酯残留的试剂盒

(57)摘要

本发明提供了一种检测高效氯氟氰菊酯残留的酶联免疫试剂盒制备及使用方法,包括包被有高效氯氟氰菊酯偶联抗原的酶标板、高效氯氟氰菊酯标准品、酶标二抗、抗体浓缩液、底物液、终止液、浓缩洗涤液和浓缩复溶液组成,所述高效氯氟氰菊酯偶联抗原是由高效氯氟氰菊酯半抗原与载体蛋白偶联得到,所述载体蛋白可为牛血清白蛋白、卵清蛋白、血蓝蛋白、甲状腺蛋白、人血清白蛋白;高效氯氟氰菊酯半抗原由高效氯氟氰菊酯与琥珀酸酐反应制得,该试剂盒具有检测快速、测量结果精确、检测成本低、灵敏度高的特点,可在高效氯氟氰菊酯残留现场检测和监测中发挥重要作用。



## 检测高效氯氟氰菊酯残留的试剂盒

### 技术领域

[0001] 本发明属于酶联免疫检测领域,具体涉及一种高效氯氟氰菊酯试剂盒的制备和应用,其特别适用于高效氯氟氰菊酯残留的检测。

### 背景技术

[0002] 高效氯氟氰菊酯,英文名Lambda-Cyhalothrin,又称为爱克宁、λ-三氟氯氰菊酯,属拟除虫菊酯类,具有触杀作用的卫生杀虫剂,化学名称:α-氰基-3-苯氧苄基-3-(2-氯-3,3,3-三氟-1-丙烯基)-2,2-二甲基环丙烷羧酸酯(Z)-(1R,3R),S-酯及(Z),(1S,3S),R-酯的1:1混合物。具有触杀作用,是对环境卫生害虫极为有效的一种广效杀虫剂,具有击倒速度快、击倒力强,用药量少等优点。能消灭传播疾病的媒介害虫和防治各种卫生害虫。拟除虫菊酯类被称为是杀虫剂农药的一个新突破,是杀虫剂历史上的第三个里程碑。在农业生产上,用途广泛。

[0003] 对高效氯氟氰菊酯残留的检测,国家制定了严格的残留检测标准,如GB/T 5009-2008《植物性食品中有机氯和拟除虫菊酯类农药多种残留的鉴定》、GB/T 19649-2006《粮谷中475种农药及相关化学平残留量的测定》、SN/T 1117-2008《进出口食品中多种菊酯类农药残留量测定方法气相色谱法》,现行的残留检测方法是气相色谱法和高效液相色谱法,检测方法依赖于大型仪器和专业技术检测人员,检测时间长,检测过程中需要使用有机溶剂,会造成环境污染。寻求一种快速、有效、准确的检测方法和手段,势在必行。酶联免疫检测方法具有灵敏度好、精确度高、检测成本低、操作简单、检测时间短、可实现多样本同时检测的特点,在食品安全快速检测中发挥重要的作用。

[0004] 目前,国内外对拟除虫菊酯类的试剂盒有一些成果报道,如中国农业大学许艇等人申请了发明专利《功夫菊酯残留的间接竞争酶联免疫吸附分析试剂盒》(专利号:200810101544.1),以羟基苯丙酸为原料,经六步反应,获得半抗原3-[(±)-(cis)-3-[(Z)-3-氯-4,4,4-三氟-1-乙基-2,2-二甲基]环丙基羰基氧]苯氧基]苯丙酸,以功夫菊酯多克隆抗体为原料,组建了检测功夫菊酯残留的酶联免疫吸附试剂盒,该技术方案存在半抗原反应步骤繁琐,后续纯化工作量大,且多克隆抗体不如单克隆抗体特异性好的劣势。目前针对高效氯氟氰菊酯残留进行检测的酶联免疫试剂盒,暂未见到相关报道。

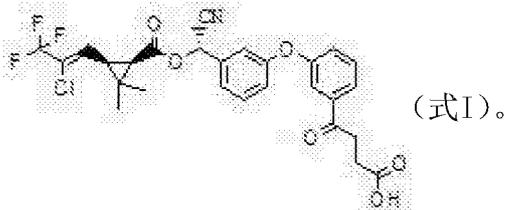
### 发明内容

[0005] 本发明拟提供一种专门针对高效氯氟氰菊酯残留检测的试剂盒,采用间接竞争ELISA方法,并提供一种高效、准确、简便、适于大批量样品筛选的定性、定量检测方法和试剂盒制备方法,该方法对烟草的检测限为900μg/kg。

[0006] 本发明所述的试剂盒,它包括:高效氯氟氰菊酯偶联抗原的酶标板、高效氯氟氰菊酯标准品、酶标二抗、特异性抗体、底物液、终止液、浓缩洗涤液和浓缩复溶液组成,所述酶标二抗为酶标记抗抗体。

[0007] 本发明所述的试剂盒,以高效氯氟氰菊酯半抗原制备的技术方法为基础,该方法

以高效氯氟氰菊酯为原料,经过一步反应,即可获得半抗原,合成方法具有工艺简单,反应率高的特点,且最大限度保留了高效氯氟氰菊酯的化学结构,分子结构式为式I所示:



[0008] 高效氯氟氰菊酯半抗原化合物的制备方法,包括以下步骤:

1)以高效氯氟氰菊酯为原料,溶解于经干燥后的二氯甲烷中,通入氮气进行保护,得到溶液I;

2)在溶液I中加入琥珀酸酐,常温下搅拌溶解;

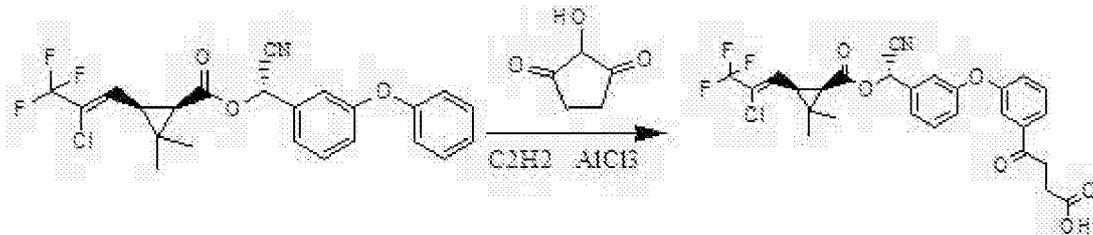
3)加入三氯化铝固体进行催化反应;

4)TLC薄层板监测反应进行,直至没有原料或原料点很浅,停止反应;

5)硅胶柱净化,浓缩得到产物,即为半抗原。

[0009] 上述反应中,反应温度为常温,反应压力为常压,高效氯氟氰菊酯与琥珀酸酐的反应摩尔比为1:(1-3),催化剂与高效氯氟氰菊酯质量比为1%-5%。

[0010] 本发明的高效氯氟氰菊酯半抗原合成路线如下所示:



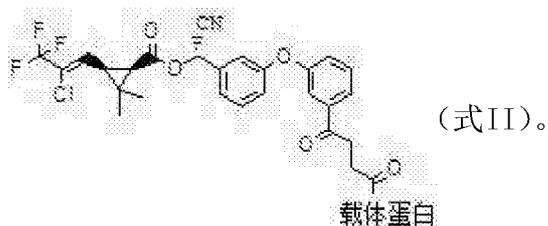
本发明中,所使用的高效氯氟氰菊酯,其化学名为: $\alpha$ -氰基-3-苯氧苄基-3-(2-氯-3,3,3-三氟-1-丙烯基)-2,2-二甲基环丙烷羧酸酯(Z)-(1R,3R),S-酯及(Z),(1S,3S),R-酯的1:1混合物,分子式为: $C_{23}H_{19}ClF_3NO_3$ 。

[0011] 采用本发明的方法能制得结构式为I的半抗原化合物,该半抗原最大限度地保留了高效氯氟氰菊酯的化学结构,且引入了活性基团-OH,为抗原制备加入连接点。

[0012] 本化学反应采用一步法完成,收率可达51.6%

本发明还提供一种高效氯氟氰菊酯抗原的制备方法。

[0013] 称取一定量的半抗原溶解于DMF溶液中,加入EDC和NHS(溶解于水中)进行活化30min,加入到载体蛋白(溶于5mL 含30%DMF水溶液中)进行偶联,制备出免疫原,用0.02mol/L PB缓冲液透析3天,每天早晚更换透析液,透析完成后用于动物免疫制备出抗体。结构式为式II:



[0014] 载体蛋白可为牛血清蛋白、鼠血清蛋白、兔血清蛋白、甲状腺蛋白、卵清蛋白、血蓝

蛋白或人血清白蛋白。

[0015] 所述高效氯氟氰菊酯特异性抗体是以高效氯氟氰菊酯偶联抗原作为免疫原制备获得,所述高效氯氟氰菊酯特异性抗体可为高效氯氟氰菊酯单克隆抗体或高效氯氟氰菊酯多克隆抗体,其中优选高效氯氟氰菊酯单克隆抗体。

[0016] 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;酶标记的抗抗体是采用戊二醛法或过碘酸钠法将标记酶与抗抗体进行偶联得到的。

[0017] 为了方便现场监控和大量样本筛查,所述试剂盒还包括高效氯氟氰菊酯标准品溶液、底物液、终止液、洗涤液、复溶液。

[0018] 所述标准品溶液6瓶,浓度分别为0 $\mu$ g/L、30 $\mu$ g/L、90 $\mu$ g/L、270 $\mu$ g/L、810 $\mu$ g/L、2430 $\mu$ g/L。

[0019] 当标记酶为辣根过氧化物酶时,所述显色液由底物显色液A液和底物显色液B液组成,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,所述终止液为1-2moI/L的硫酸或盐酸缓冲液;当标记酶为碱性磷酸酯酶时,所述显色液为对硝基磷酸盐缓冲液,所述终止液为1-2moI/L氢氧化钠溶液。

[0020] 所述洗涤液优选为pH值为7.2-7.5,含有0.8%-1.0%吐温-20、0.03%-0.05%叠氮化钠防腐剂、0.1-0.3moI/L的磷酸盐缓冲液,所述百分比为重量体积百分比。

[0021] 所述复溶液优选为pH值为7.0、0.02moI/L的磷酸盐缓冲液,所述百分比为重量体积百分比。

[0022] 其中在酶标板制备过程中所用到的包被缓冲液为pH值为9.2-9.6,0.1-0.2moI/L的碳酸盐缓冲液,封闭液为pH值为7.1-7.5,含有1%-3%酪蛋白、0.1-0.3moI/L的磷酸盐缓冲液,所述百分比为重量体积百分比。

[0023] 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30 $\mu$ g/ml,每孔加入100 $\mu$ l,37 $^{\circ}$ C避光孵育2h或4 $^{\circ}$ C过夜,倾去孔中液体,用洗涤液洗涤1次,停留30s,拍干,然后在每孔中加入150 $\mu$ l封闭液,37 $^{\circ}$ C避光孵育1-2h,倾去孔内液体拍干,干燥后用铝膜真空密封保存。

[0024] 本发明的检测原理为:

在酶标板上预包被高效氯氟氰菊酯偶联抗原,加入样本溶液或标准品溶液后,再加入高效氯氟氰菊酯特异性抗体溶液,样本中残留的高效氯氟氰菊酯药物与酶标板上包被的高效氯氟氰菊酯偶联抗原竞争高效氯氟氰菊酯特异性抗体,加入酶标二抗进行放大作用,用显色液显色,样本吸光度值与高效氯氟氰菊酯药物的含量呈负相关,与标准曲线比较即可得到样本中高效氯氟氰菊酯的残留量;同时根据酶标板上颜色的深浅,与系列浓度的高效氯氟氰菊酯标准品溶液颜色的比较可粗略判断样品中高效氯氟氰菊酯残留量的浓度范围。

[0025] 本发明检测高效氯氟氰菊酯的酶联免疫试剂盒主要采用竞争ELISA方法定性或定量检测样品中高效氯氟氰菊酯的含量;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,具有特异性高、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。

## 附图说明

- [0026] 图1高效氯氟氰菊酯半抗原结构图式I。  
 [0027] 图2高效氯氟氰菊酯抗原结构图式II。  
 [0028] 图3高效氯氟氰菊酯半抗原合成反应路线。  
 [0029] 图4高效氯氟氰菊酯半抗原鉴定图(氢谱图)。  
 [0030] 图5高效氯氟氰菊酯半抗原鉴定图(碳谱图)。  
 [0031] 图6 高效氯氟氰菊酯ELISA试剂盒标准曲线。

## 具体实施方式

[0032] 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,而不是用来限制本发明的范围。

[0033] 实施例一:高效氯氟氰菊酯试剂盒组分的制备

## 一、高效氯氟氰菊酯半抗原合成及鉴定

分别称取0.42g(1mmol)高效氯氟氰菊酯、0.10g(1mmol)琥珀酸酐和0.05g 三氯化铝。

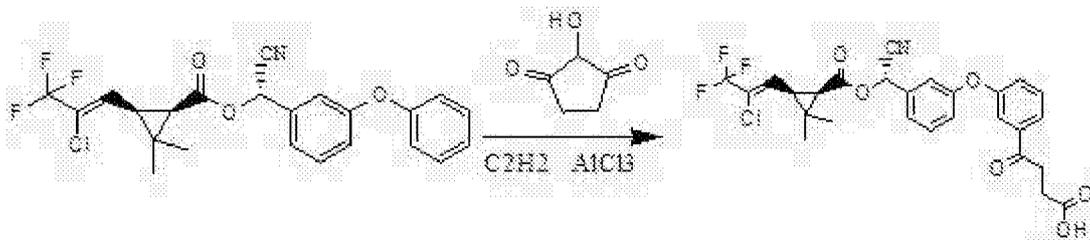
[0034] 1)将0.42g高效氯氟氰菊酯,溶解于经干燥后的二氯甲烷中,通入氮气进行保护,得到溶液I;

2)在溶液I中加入0.10g琥珀酸酐,常温下搅拌溶解;

3)加入0.01g三氯化铝固体进行催化反应;

4)TLC薄层板监测反应进行,直至没有原料或原料点很浅,停止反应;

5)硅胶柱净化,浓缩得到产物,即为半抗原,得到产物0.205g,收率48.8%,反应技术路线如下:



## 二、高效氯氟氰菊酯半抗原鉴定

取上述图1化合物,经核磁共振氢谱进行结构分析,如图4所示,发现图谱中11ppm(mg/L)附近的峰为羟基上的H,同时,经核磁共振碳谱进行结构分析,如图5所示,碳谱图中177ppm附近的峰为羧基上的C,说明高效氯氟氰菊酯半抗原合成成功。

[0035] 三、高效氯氟氰菊酯抗原的制备

## 1. 免疫原的合成

称取27.5mg半抗原溶解于4mL DMF溶液中,加入各60mg EDC和60mg NHS(溶于2mL水中)进行活化30分钟,加入到110-264mg载体蛋白BSA(溶于5mL含30% DMF水溶液中)进行偶联制备出免疫原,用0.02mol/L PB缓冲液透析3天,每天早晚更换透析液,以除去未反应的小分子物质,透析完成后,将得到的免疫原分装,于-20℃保存备用。

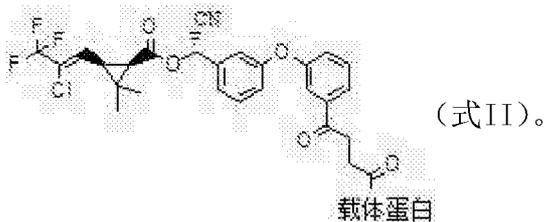
[0036] 2. 包被原的合成

称取27.5mg半抗原溶解于4mL DMF溶液中,加入各60mg EDC和60mg NHS(溶于2mL水中)

进行活化30分钟,加入到100-240mg载体蛋白OVA(溶于5mL含30% DMF水溶液中)进行偶联制备出免疫原,用0.02mol/L PB缓冲液透析3天,每天早晚更换透析液,以除去未反应的小分子物质,透析完成后,将得到的免疫原分装,于-20℃保存备用。

### [0037] 3. 高效氯氟氰菊酯抗原的鉴定

将载体蛋白、高效氯氟氰菊酯半抗原、高效氯氟氰菊酯半抗原-载体蛋白偶联物用pH 7.4的PB配成0.5mg/mL的溶液,以0.01mol/L pH 7.4 PB调零,用紫外分光光度计在波长260~750nm范围内进行扫描,绘制载体蛋白、高效氯氟氰菊酯半抗原、高效氯氟氰菊酯半抗原-载体蛋白偶联物的吸收曲线,并计算其结合比。结果显示,三者出现不同的吸收曲线,证明高效氯氟氰菊酯半抗原与载体蛋白偶联成功,高效氯氟氰菊酯半抗原与牛血清蛋白的结合比为15-21:1,高效氯氟氰菊酯半抗原与卵清白蛋白的结合比为20-25:1。分子结构式如式II所示:



### [0038] 四、高效氯氟氰菊酯单克隆抗体

#### 1. 高效氯氟氰菊酯单克隆抗体制备

动物免疫:高效氯氟氰菊酯半抗原与载体蛋白偶联物免疫8-10周龄BaI b/c小鼠。

[0039] 细胞融合与克隆化:取免疫后的鼠脾细胞,与SP2/0骨髓瘤细胞在融合剂聚乙二醇(PEG)4000的作用下融合,筛选获得能稳定分泌单克隆抗体的杂交瘤细胞株。

[0040] 经筛选得到高效氯氟氰菊酯的单克隆杂交瘤细胞株。高效氯氟氰菊酯的单克隆杂交瘤细胞株可以无限量地产生高效氯氟氰菊酯特异性抗体,该抗体特异性是针对高效氯氟氰菊酯的,灵敏度达到1μg/L。

[0041] 细胞冻存和复苏:将杂交瘤细胞用冻存液制成 $1 \times 10^9$ 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。

#### [0042] 2. 单克隆抗体效价的测定

用间接竞争ELISA法测定抗体的效价为1:100000~150000。

[0043] 间接竞争ELISA方法:用高效氯氟氰菊酯半抗原-牛血清蛋白偶联物包被酶标板,加入高效氯氟氰菊酯标准品工作液溶液、单克隆抗体工作液和酶标二抗,25℃反应30min,倒出孔内液体,用PBST洗涤液洗涤3~5次,用吸水纸拍干;加入底物显色液,25℃反应15min后,加入终止液终止反应;设定酶标仪于波长450nm处测定每孔吸光度值。

#### [0044] 3. 单克隆抗体的特异性

抗体特异性是指它同特异性抗原结合的能力与同该类抗原类似物结合能力的比较,常用交叉反应率作为评价标准。交叉反应越小,抗体的特异性则越高。

[0045] 本实验将高效氯氟氰菊酯、氯氰菊酯和氰戊菊酯3种药物做系列稀释,分别与单克隆抗体进行间接竞争ELISA,制作标准曲线,分析得到 $IC_{50}$ ,然后按下式计算交叉反应率:

$$\text{交叉反应率} = \frac{\text{引起 50\%抑制的高效氯氟氰菊酯浓度}}{\text{引起 50\%抑制的其他高效氯氟氰菊酯类似物}} \times 100\%$$

结果显示交叉反应率为：高效氯氟氰菊酯100%，氯氰菊酯<50%，氰戊菊酯<10%。本发明抗体对高效氯氟氰菊酯有较强的特异性和亲和力。

#### [0046] 五、羊抗鼠抗抗体的制备

以羊为免疫动物，以鼠源抗体为免疫原免疫无病原体羊，得到羊抗鼠抗抗体。

#### [0047] 六、酶标二抗的制备

将羊抗鼠抗抗体与辣根过氧化物酶(HRP)采用改良后的过碘酸钠法进行偶联。改良后的反应体系中酶与抗体的摩尔浓度比为1.8-2.4:1。

#### [0048] 七、酶标板的制备

用包被缓冲液将包被原稀释成20 $\mu$ g/ml，每孔加入100 $\mu$ l，37 $^{\circ}$ C避光孵育2h，倾去孔中液体，用洗涤液洗涤1次，停留30s，拍干，然后在每孔中加入150 $\mu$ l封闭液，37 $^{\circ}$ C避光孵育2h，倾去孔内液体拍干，干燥后用铝膜真空密封保存。

#### [0049] 实施例二：组建高效氯氟氰菊酯单克隆抗体制备的酶联免疫试剂盒

一、高效氯氟氰菊酯酶联免疫试剂盒，包含下述各组分：

(1)包被有高效氯氟氰菊酯偶联抗原的酶标板。

[0050] (2)酶标记抗抗体：辣根过氧化物酶-羊抗鼠抗抗体。

[0051] (3)高效氯氟氰菊酯单克隆抗体工作液。

[0052] (4)标准溶液：采用梯度稀释法配制标准品溶液，得到系列标准品6瓶，浓度分别为0.0 $\mu$ g/L、30 $\mu$ g/L、90 $\mu$ g/L、270 $\mu$ g/L、810 $\mu$ g/L、2430 $\mu$ g/L，以及高浓度标准品1g/L。

[0053] (5)底物液A液为过氧化脲溶液，底物液B液为四甲基联苯胺溶液。

[0054] (6)终止液为2moI/L的硫酸溶液。

[0055] (7)浓缩洗涤液为0.6%~1.0%吐温-20和0.01%~0.02%的叠氮化钠防腐剂的0.3-0.6moI/LpH7.4的PBS。

[0056] (8)浓缩复溶液为pH值为7.4，含有9%~12%卵清白蛋白、0.1-0.3moI/L的PBS。

[0057] 本试剂盒的主要试剂以工作液的形式提供，检验方法方便易行，具有特异性高、灵敏度高、精确度高、准确度高等特点。

#### [0058] 实施例三 酶联免疫试剂盒检测实际样本的应用

以烟草为例，利用试剂盒对高效氯氟氰菊酯残留量进行检测。

##### [0059] 1. 样品的前处理

新鲜烟叶样本前处理方法：

(1)检测前将样本剪碎成小于1cm的碎片；

(2)称取1.0 $\pm$ 0.05g剁碎的样本，放入5ml 甲醇至液面全部浸满；

(3)盖上盖子，振荡1min；

(4)静置后移取0.1ml上清液加入到900 $\mu$ l 0.1M PBS中混匀。

##### [0060] 干烟叶样本前处理方法：

(1)检测前将样本粉碎；

(2)称取0.5 $\pm$ 0.05g粉碎的样本，加入5ml 甲醇；

(3) 盖上盖子, 振荡1min;

(4) 静置后移取0.1mI上清液加入到900uI 0.1M PBS中混匀。

#### [0061] 2、用试剂盒进行检测

(1) 将所需试剂从冷藏环境中取出, 按照上述方法进行回温, 注意每种液体试剂使用前均须摇匀。

[0062] (2) 取出需要数量的微孔板, 将不用的微孔板放回铝箔袋重新真空密封, 2-8℃保存。

[0063] (3) 编号: 将样本和标准品对应微孔按序编号, 每个样本和标准品做2孔平行, 并记录标准孔和样本孔所在的位置。

[0064] (4) 加标准品/样本50mI到对应的微孔中, 然后加入抗体浓缩液与酶标二抗工作液的混合液50mI/孔, 轻轻振荡混匀, 用盖板膜盖板后置25℃避光环境中反应30min。

[0065] (5) 洗板: 小心揭开盖板膜, 将孔内液体甩干, 加入洗涤工作液(用去离子水将20×浓缩洗涤液按1:19体积比进行稀释)250mI/孔, 充分洗涤4-5次, 每次间隔10s, 泼掉板孔内洗涤液, 用吸水纸拍干(拍干后未被清除的气泡可用未使用过的枪头戳破)。

[0066] (6) 显色: 加入底物液A液50mI/孔, 再加入底物液B液50mI/孔, 轻轻振荡混匀, 用盖板膜盖板后置25℃避光环境中反应15min。

[0067] (7) 测定: 加入终止液50mI/孔, 轻轻振荡混匀, 设定酶标仪于450nm处(建议用双波长450/630nm检测, 请在5min内读完数据), 测定每孔OD值。(若无酶标仪, 则不加终止液用目测法可进行判定)。

#### [0068] 3、检测结果分析

标准品或样本的百分吸光率等于标准品或样本的吸光度值的平均值(双孔)除以第一个标准(0标准)的吸光度值, 再乘以100%, 即得到百分吸光率。以标准品百分吸光率为纵坐标, 以高效氯氟氰菊酯标准品浓度的对数为横坐标, 绘制标准曲线图(如图6)。将样本的百分吸光率代入标准曲线中, 从标准曲线上读出样本所对应的浓度, 乘以其对应的稀释倍数即为样本中高效氯氟氰菊酯实际浓度。

$$\text{百分吸光率}(\%) = \frac{B}{B_0} \times 100\%$$

[0069] B—标准品或样本溶液的平均吸光度值

B<sub>0</sub>—0ppb标准溶液的平均吸光度值

### 三、酶联免疫试剂盒技术参数的确定

#### 1. 试剂盒灵敏度测定

50%抑制浓度(即IC<sub>50</sub>, 指零标准品溶液的吸光度值的50%处所对应的药物浓度)常作为评价竞争酶联免疫试剂盒的灵敏度指标。利用高效氯氟氰菊酯标准品溶液进行反应, 根据实验结果绘制标准曲线, 由图可知试剂盒高效氯氟氰菊酯标准曲线在30~2430μg/L之间。烟草样品中高效氯氟氰菊酯灵敏度为30μg/L。

#### [0070] 2. 试剂盒最低检测限

对20份空白样品进行检测, 从标准曲线上查出对应于各百分吸光值的浓度, 以20份样品的高效氯氟氰菊酯测定值的平均值加上3倍标准差表示检测限, 结果得该方法在烟草样品中检测限为900μg/kg。

[0071] 3. 试剂盒准确度和精密度

分别向空白烟草中添加810 $\mu\text{g}/\text{L}$ 和1620 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度的高效氯氟氰菊酯,进行测定,取3个不同批次的试剂盒,并且每个批次抽取2个试剂盒进行检测,每种样本做6次平行,每个样本重复2次,结果得该方法对高效氯氟氰菊酯的回收率为均95% $\pm$ 25%,批内变异系数 $<$

10%,批间变异系数 $<$ 10%。

[0072] 4. 保存期实验

试剂盒保存条件为2-8 $^{\circ}\text{C}$ ,经过12个月测定,试剂盒的最大吸光度值、 $\text{IC}_{50}$ 值、高效氯氟氰菊酯添加实际测定值均在正常范围之内。同时做加速老化和冷冻试验,将试剂盒放在37 $^{\circ}\text{C}$ 、-20 $^{\circ}\text{C}$ 中6天,测定结果也表明试剂盒的各项指标正常。从以上结果得到高效氯氟氰菊酯试剂盒可以在2-8 $^{\circ}\text{C}$ 保存12个月。

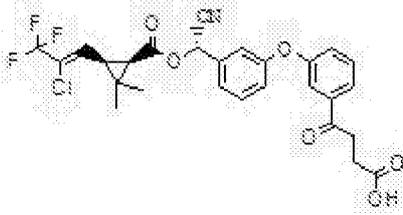


图1

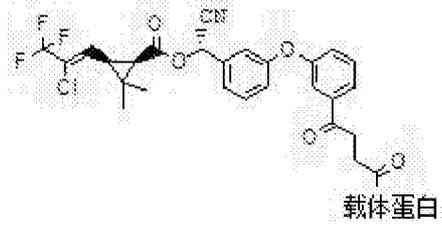


图2

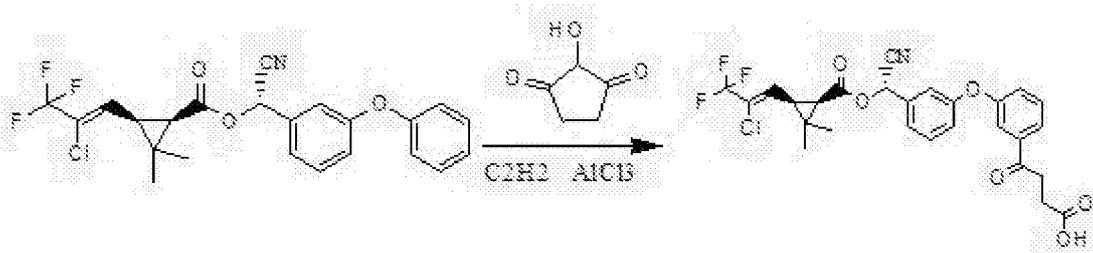


图3

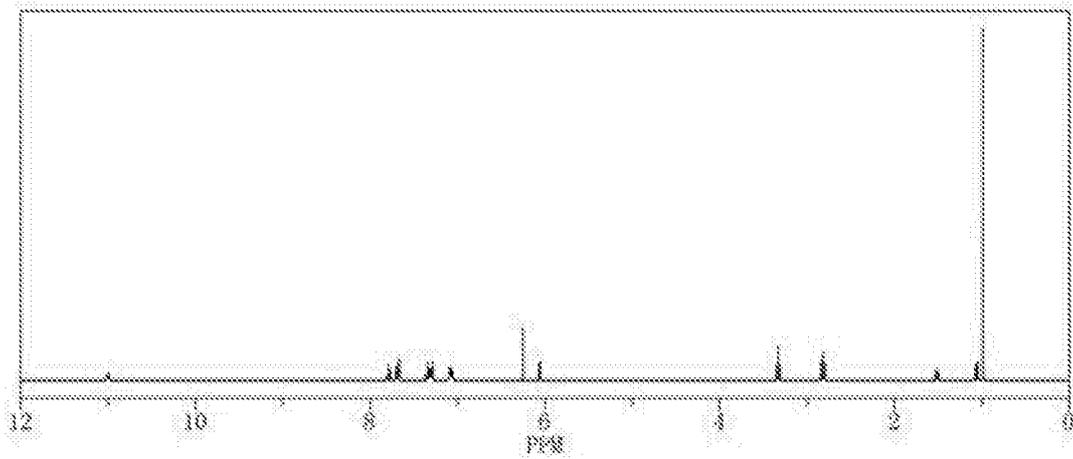


图4

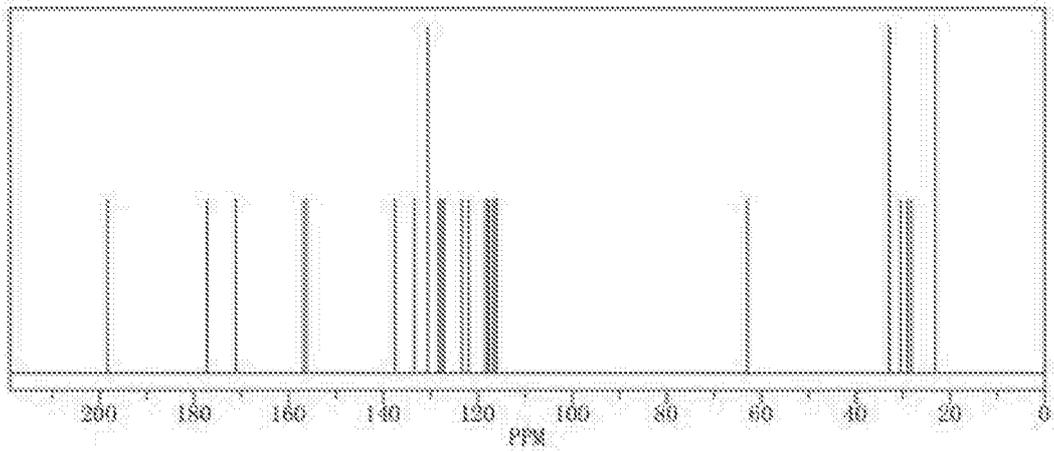


图5

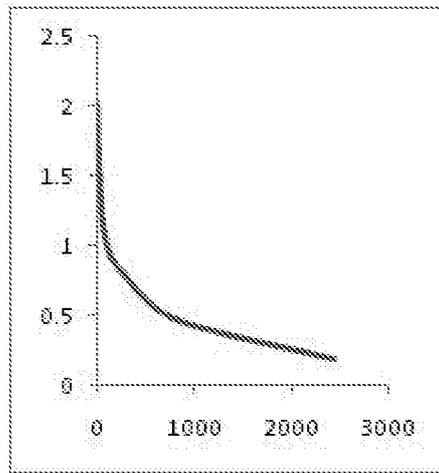


图6

专利名称(译)	检测高效氯氟氰菊酯残留的试剂盒		
公开(公告)号	<a href="#">CN105807041A</a>	公开(公告)日	2016-07-27
申请号	CN201610159561.5	申请日	2016-03-21
[标]申请(专利权)人(译)	贵州勤邦食品安全科学技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	贵州勤邦食品安全科学技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	贵州勤邦食品安全科学技术有限公司		
[标]发明人	冯才伟 汪善良 蒲小容 王璐 贾玲玲 覃婵 袁旭 谢体波 陆苇 李平 王大敏 牛治存		
发明人	冯才伟 汪善良 蒲小容 王璐 贾玲玲 覃婵 袁旭 谢体波 陆苇 李平 王大敏 牛治存		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/531 G01N21/31		
CPC分类号	G01N33/53 G01N21/31 G01N33/531		
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高效氯氟氰菊酯残留的酶联免疫试剂盒制备及使用方法，包括包被有高效氯氟氰菊酯偶联抗原的酶标板、高效氯氟氰菊酯标准品、酶标二抗、抗体浓缩液、底物液、终止液、浓缩洗涤液和浓缩复溶液组成，所述高效氯氟氰菊酯偶联抗原是由高效氯氟氰菊酯半抗原与载体蛋白偶联得到，所述载体蛋白可为牛血清白蛋白、卵清蛋白、血蓝蛋白、甲状腺蛋白、人血清白蛋白；高效氯氟氰菊酯半抗原由高效氯氟氰菊酯与琥珀酸酐反应制得，该试剂盒具有检测快速、测量结果精确、检测成本低、灵敏度高的特点，可在高效氯氟氰菊酯残留现场检测和监测中发挥重要作用。

