



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109813880 A

(43)申请公布日 2019.05.28

(21)申请号 201711165324.0

(22)申请日 2017.11.21

(71)申请人 贵州勤邦食品安全科学技术有限公司

地址 550009 贵州省贵阳市经济技术开发区小孟工业园区科技路1号

(72)发明人 何方洋 万宇平 冯才伟 扶胜
袁光宇 罗维超 谢体波 吴紫洁
程茹

(51)Int.Cl.

G01N 33/53(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

C07D 239/48(2006.01)

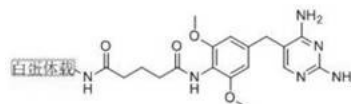
权利要求书1页 说明书7页 附图2页

(54)发明名称

一种检测三甲氧苄胺嘧啶残留的酶联免疫试剂盒

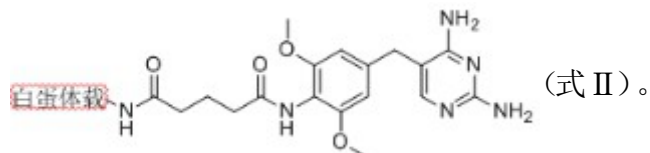
(57)摘要

本发明提供一种检测蜂蜜中三甲氧苄胺嘧啶残留量酶联免疫检测试剂盒和半抗原合成方案,试剂盒包含:包被有包被原的酶标板、酶标二抗、三甲氧苄胺嘧啶特异性抗体工作液、三甲氧苄胺嘧啶标准品溶液、底物显色液、终止液、浓缩洗涤液和浓缩复溶液。本发明提供的酶联免疫试剂盒用于蜂蜜中三甲氧苄胺嘧啶的残留量检测,该试剂盒具有检测简单快速、检测结果精确、检测成本低、灵敏度高等特点,可在三甲氧苄胺嘧啶残留现场检测中发挥重要作用。

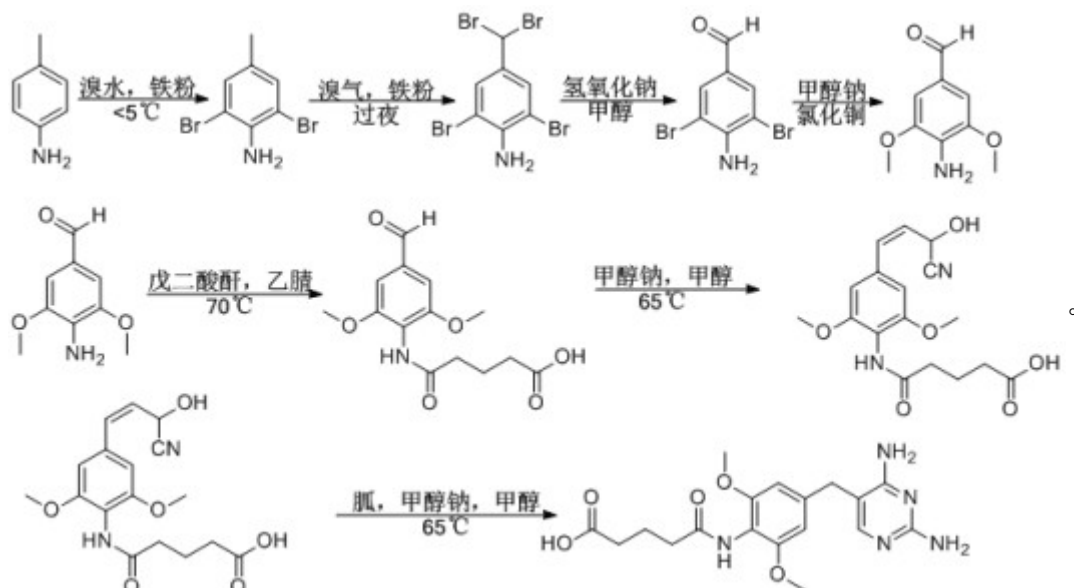


1. 一种检测三甲氧苄胺嘧啶残留的酶联免疫试剂盒, 包括包被有三甲氧苄胺嘧啶偶联抗原的酶标板、三甲氧苄胺嘧啶标准品、酶标二抗、抗体浓缩液、底物液、终止液、浓缩洗涤液和浓缩复溶液组成。

2. 所述三甲氧苄胺嘧啶偶联抗原是由三甲氧苄胺嘧啶半抗原与载体蛋白偶联得到, 所述载体蛋白为牛血清蛋白、卵清蛋白、白蓝蛋白, 其分子结构式如式 II 所示,



3. 根据权利1所述的一种检测三甲氧苄胺嘧啶残留的酶联免疫试剂盒, 三甲氧苄胺嘧啶半抗原由对甲基苯胺多步反应制得, 其反应技术路线如下:



4. 根据权利要求1所述的一种检测三甲氧苄胺嘧啶残留的酶联免疫试剂盒, 其特征在于所述三甲氧苄胺嘧啶标准品溶液的浓度分别为 $0\mu\text{g/L}$ 、 $0.05\mu\text{g/L}$ 、 $0.2\mu\text{g/L}$ 、 $6\mu\text{g/L}$ 、 $20\mu\text{g/L}$ 、 $80\mu\text{g/L}$ 。

5. 一种检测三甲氧苄胺嘧啶的方法, 包括以下步骤:

- (1) 样品前处理;
- (2) 用酶联免疫试剂盒检测;
- (3) 检测结果分析。

一种检测三甲氧苄胺嘧啶残留的酶联免疫试剂盒

技术领域

[0001] 本发明涉及到酶联免疫检测方法,具体涉及检测蜂蜜中三甲氧苄胺嘧啶残留的酶联免疫试剂盒及其检测应用。

背景技术

[0002] 三甲氧苄氨嘧啶(trimethoprim, MP)有较强的抗菌作用,与抗生素合用制成磺胺增效剂能数倍甚至数十倍增强抗菌作用;与磺胺类药物联合使用后抗菌谱扩大、抗菌活性大大增强,可从抑菌作用变为杀菌作用,对多种革兰阴性菌和阳性菌有效。但动物长期食用含三甲氧苄氨嘧啶的食品会产生耐药性甚至导致药物中毒。GB/T22943—2008《蜂蜜中三甲氧苄氨嘧啶残留量的测定液相色谱—串联质谱法》中标准方法的检出限为2.0 μ g/kg;日本将动物源性食品中三甲氧苄氨嘧啶的最低限量定为20 μ g/kg。

发明内容

[0003] 本发明所解决的技术问题在于提供一种检测三甲氧苄胺嘧啶残留的试剂盒和半抗原改造方法,采用该试剂盒检测不仅能够提供一种高灵敏度、特异性,而且能满足大批量样本筛选的定性、定量检测,反应速度快。

[0004] 为实现上述目的,为满足现场检测和大量样本筛查,本发明提供一种三甲氧苄胺嘧啶残留检测试剂盒,其主要包含以下试剂:包被三甲氧苄胺嘧啶偶联抗原的酶标板、三甲氧苄胺嘧啶药物标准溶液、酶标二抗、三甲氧苄胺嘧啶单克隆抗体工作液、底物液、终止液、浓缩洗涤液、浓缩复溶液所组成。

[0005] 所述标准品溶液6瓶,其浓度分别是0 μ g/L、0.05 μ g/L、0.2 μ g/L、6 μ g/L、20 μ g/L、80 μ g/L。

[0006] 底物液为辣根过氧化物酶显色液,底物A液为过氧化脲缓冲液,底物B液为四甲基联苯胺缓冲液。

[0007] 所述终止液为硫酸或盐酸缓冲液。

[0008] 所述洗涤液为含 Tween-20 20倍浓缩磷酸盐缓冲液。

[0009] 所述复溶液为2倍浓缩磷酸盐缓冲液。

[0010] 所述三甲氧苄胺嘧啶特异性抗体是经三甲氧苄胺嘧啶半抗原-载体蛋白偶联为免疫原免疫获得,所述三甲氧苄胺嘧啶特异性抗体可为三甲氧苄胺嘧啶单克隆抗体或三甲氧苄胺嘧啶多克隆抗体,其中优选三甲氧苄胺嘧啶单克隆抗体。

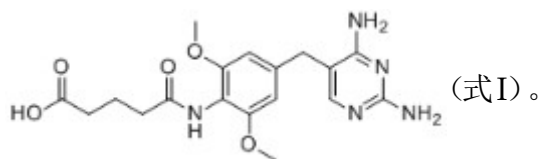
[0011] 所述酶标二抗的标记酶为辣根过氧化物酶;标记酶和抗抗体采用戊二醛法或碘酸钠法进行偶联。

[0012] 所述三甲氧苄胺嘧啶偶联抗原的酶标板制备过程使用的包被缓冲液为pH=9.2-9.6浓度0.1-0.2mol/L碳酸盐缓冲液,封闭液为pH=7.0-7.4含1%-5%脱脂奶粉,浓度0.1-0.2mol/L Tris缓冲液,所述百分比为质量体积百分比。

[0013] 包被原经包被缓冲液稀释为10 μ g/mL,每孔加入100 μ L,37 $^{\circ}$ C恒温孵育2h或4 $^{\circ}$ C过

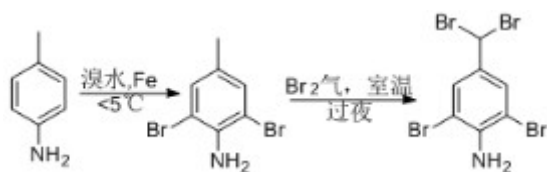
夜,倒去空中液体,用洗涤液洗涤1次,停留30s,拍干,每孔加入150 μ L封闭液,37 $^{\circ}$ C孵育2-3h,倒去孔内液体,拍干,干燥后用滤膜真空密封保存。

[0014] 本发明所述试剂盒,以三甲氧苄胺嘧啶半抗原制备方法作为基础,该方法以甲基苯胺为原料,经一系列反应获得半抗原,分子结构式为式I所示:



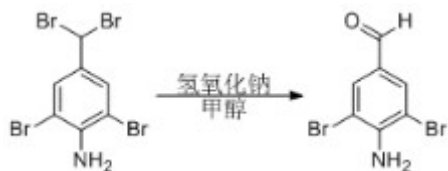
[0015] 三甲氧苄胺嘧啶半抗原化合物的合成方案,包括以下步骤:

1、将溴水冷却至0-5 $^{\circ}$ C,称取5g对甲基苯胺和催化量铁粉,反应室温过夜,TLC法检测至无原料。乙酸乙酯进行提取,用水和8%-10%的氢氧化钠溶液洗涤2-3次。无水硫酸钠干燥,减压蒸馏,得2,6-二溴对氨基二溴甲苯。所述合成路线如下:



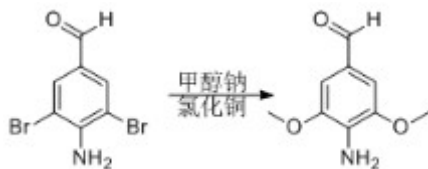
所述反应原料摩尔比为:对甲基苯胺:铁粉:Br₂=0.5-0.1:0.2:0.5-1。

[0016] 2、将1所述产品溶于适量甲醇,加入2mol/L氢氧化钠溶液,室温搅拌过夜,次日TLC检测反应过程,确定反应完全后,将反应液减压蒸馏,去除甲醇,再用2mol/L盐酸调节pH到6,乙酸乙酯提取,无水硫酸钠干燥,产品用硅胶柱层析提纯,收集主要点的产品组分,得2,6-二溴对氨基苯甲醛。所述合成路线如下:



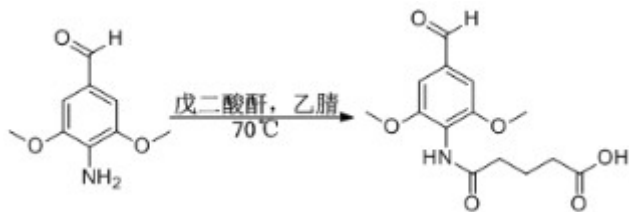
所述反应原料摩尔比为:甲醇:氢氧化钠溶液=1:3-5;2,6-二溴对氨基苯甲醛。

[0017] 3、将2所述产品溶于适量N,N-二甲基甲酰胺,加入甲醇钠和催化量的氯化铜,80-90 $^{\circ}$ C反应4h,TLC检测反应完全后,将反应液倒入冰块中,析出大量固体,将所述固体溶于乙醇,静置过夜,收集针状晶体。得2,6-二甲氧基对氨基苯甲醛。所述合成路线如下:



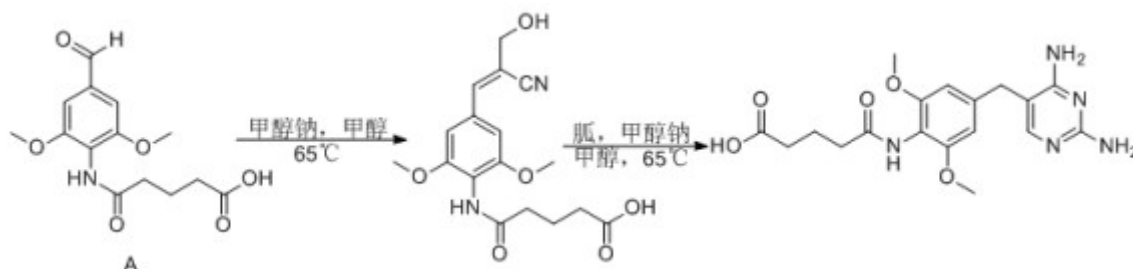
所述反应原料摩尔比为:甲醇钠:氯化铜=1:2-2.5:0.1-0.3。

[0018] 4、将3所述产品溶于乙腈,加入戊二酸酐,70 $^{\circ}$ C反应16-20h,过滤,获得结晶的2,6-二溴对氨基苯甲醛的酰胺化产物。所述合成路线如下:



所述反应原料摩尔比为:2,6-二溴对氨基苯甲醛:戊二酸酐=1:2-3。

[0019] 5、将4所述产品溶于甲醇中,加入适量丙烯晴和甲醇钠,65℃回流4-6h,TLC法检测反应完全后,缓慢滴加胍的甲醇溶液,继续反应2-3h,TLC检测原料完全后,减压蒸馏除,用饱和碳酸钠溶液洗涤4-5次,无水硫酸钠干燥。产品用硅胶柱层析提纯,产物即为三甲氧苄胺嘧啶半抗原。所述合成路线如下:



所述反应原料摩尔比为:甲醇钠:胍=1:1.5-2.5。

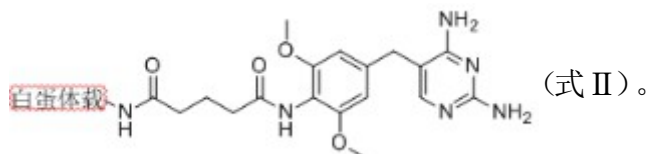
[0020] 上述反应中,反应所有压力为常压。

[0021] 采用本发明的方法制得结构式为式I的半抗原化合物,该半抗原最大限度保留了三甲氧苄胺嘧啶的化学结构。

[0022] 本化学反应需多步改造,最终获得所述三甲氧苄胺嘧啶半抗原1.1g,回收率为22%。

[0023] 本发明还提供一种三甲氧苄胺嘧啶抗原的制备方法。

[0024] 称取一定量半抗原溶于DMF溶液中,加入DEC活化30min,加入载体蛋白(溶解在5mL pH为7.2的磷酸盐缓冲液中)进行偶联,制备免疫原,用0.01mol/L 磷酸盐缓冲液在4℃透析3d,每天更换3次透析袋,除去未反应的小分子物质;透析完成后用于动物免疫。结构式为式II:



[0025] 载体蛋白为牛血清蛋白、卵清蛋白、白蓝蛋白。

[0026] 本发明的检测原理为:

在酶标板上预包被三甲氧苄胺嘧啶偶联抗原,加入样本溶液或标准品溶液后,再加入三甲氧苄胺嘧啶特异性抗体溶液,样本中残留的三甲氧苄胺嘧啶药物与酶标板上包被的三甲氧苄胺嘧啶偶联抗原竞争三甲氧苄胺嘧啶特异性抗体,加入酶标二抗进行放大作用,用显色液显色,样本吸光度值与三甲氧苄胺嘧啶药物的含量呈负相关,与标准曲线比较即可得到样本中三甲氧苄胺嘧啶的残留量;同时根据酶标板上颜色的深浅,与系列浓度的三甲氧苄胺嘧啶标准品溶液颜色的比较可粗略判断样品中三甲氧苄胺嘧啶残留量的浓度范围。

[0027] 本发明检测三甲氧苄胺嘧啶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三甲氧苄胺嘧啶的含量；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

[0028] 图1三甲氧苄胺嘧啶半抗原结构图式I。

[0029] 图2三甲氧苄胺嘧啶抗原结构图式II。

[0030] 图3三甲氧苄胺嘧啶半抗原合成反应路线。

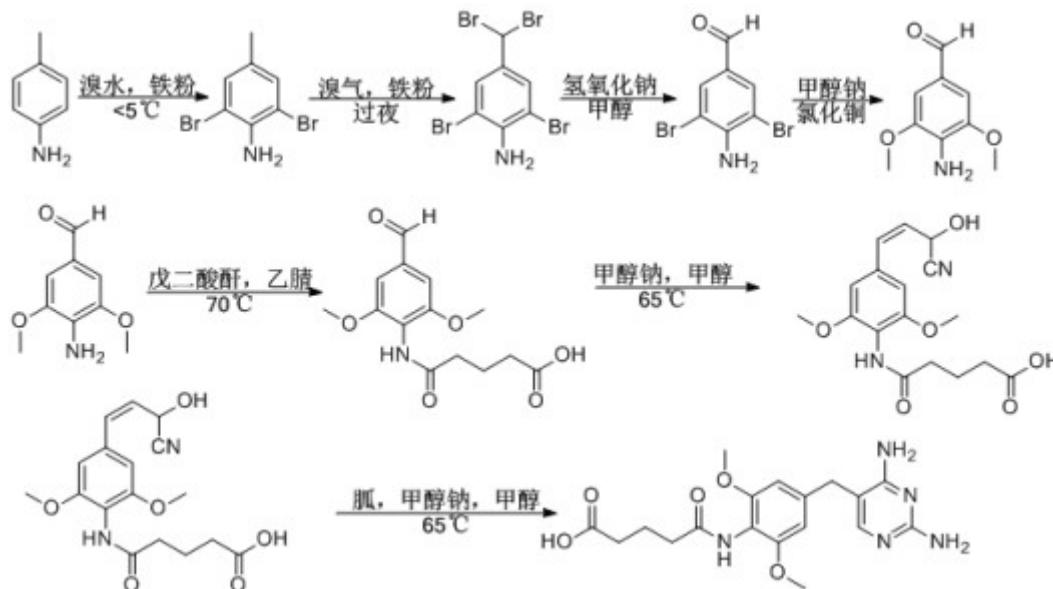
[0031] 图4三甲氧苄胺嘧啶ELISA试剂盒标准曲线。

具体实施方式

[0032] 实施例一：三甲氧苄胺嘧啶试剂盒组成制备

一、三甲氧苄胺嘧啶半抗原合成及鉴定

- (1) 溴水冷却至0-5℃，称取5g对甲基苯胺和催化量铁粉，反应室温过夜；
 - (2) 将(1)所得产物溶于适量甲醇，加入2mol/L氢氧化钠溶液，室温搅拌过夜；
 - (3) 将(2)所得产品溶于适量N,N-二甲基甲酰胺，加入甲醇钠和催化量的氯化铜，80-90℃反应4h；
 - (4) 所(3)所得产品溶于乙腈，加入戊二酸酐，70℃反应16-20h；
 - (5) 所(4)所得产品溶于甲醇中，加入适量丙烯腈和甲醇钠，65℃回流4-6h；
 - (6) TLC法检测反应完全后，产品用硅胶柱层析提纯，产物即为三甲氧苄胺嘧啶半抗原。
- 最终获得所述三甲氧苄胺嘧啶半抗原1.1g，回收率为22%。反应技术路线如下：



二、三甲氧苄胺嘧啶免疫原的制备

取40.4mg三甲氧苄胺嘧啶半抗原，溶解于1mL N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中，取15mg碳化二亚胺(EDC)用0.2mL水充分溶解后加入半抗原溶解液中，室温下搅拌24h，即可得到反应液

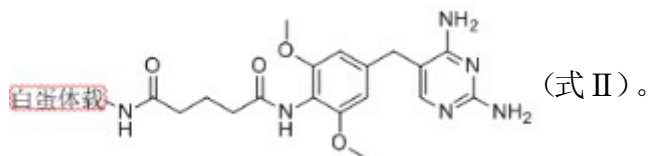
A液;称取牛血清白蛋白40mg,充分溶解在2.8mL pH为7.2的PBS中,将反应液A逐滴缓慢滴加到蛋白溶液中,并在室温下搅拌24h;用0.01mol/L PBS在4℃透析3d,每天更换3次透析袋,以除去未反应的小分子物质;分装,于-20℃保存备用。

[0033] 三、三甲氧苄胺嘧啶包被原的制备

取40.4mg三甲氧苄胺嘧啶半抗原,溶解于1mL N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中,取15mg碳化二亚胺(EDC)用0.2mL水充分溶解后加入半抗原溶解液中,室温下搅拌24h,即可得到反应液A液;称取白蛋白30mg,充分溶解在2.8mL pH为7.2的PBS中,将反应液A逐滴缓慢滴加到蛋白溶液中,并在室温下搅拌24h;用0.01mol/L PBS在4℃透析3d,每天更换3次透析袋,以除去未反应的小分子物质;分装,于-20℃保存备用。

[0034] 四、三甲氧苄胺嘧啶半抗原-载体蛋白偶联物的鉴定

将载体蛋白、三甲氧苄胺嘧啶半抗原、三甲氧苄胺嘧啶半抗原-载体蛋白偶联物用pH7.4的PBS配成0.5mg/mL的溶液,以0.01mol/L pH7.4的PBS调零,用紫外分光光度计在波长200-750nm范围内扫描。得到载体蛋白、三甲氧苄胺嘧啶半抗原、三甲氧苄胺嘧啶半抗原-载体蛋白偶联物的吸收曲线。结果显示三者出现不同的吸收曲线,表明三甲氧苄胺嘧啶半抗原与载体蛋白偶联成功,三甲氧苄胺嘧啶半抗原与牛血清白蛋白的结合比为10-15:1,三甲氧苄胺嘧啶半抗原与白蛋白的结合比为15-20:1。分子结构式如式II所示:



[0035] 五、三甲氧苄胺嘧啶单克隆抗体制备

动物免疫:将上述得到三甲氧苄胺嘧啶半抗原-载体蛋白偶联物免疫8-10周龄Balb/c小鼠,免疫剂量为100μg/只。

[0036] 细胞融合与克隆化:取免疫Balb/c小鼠脾细胞,与SP2/0骨髓瘤细胞在融合剂聚乙二醇4000的作用下融合,筛选获得能够稳定分泌单克隆抗体的杂交瘤细胞株。

[0037] 细胞冻存和复苏:将杂交瘤细胞用冻存液制备成 5×10^6 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37℃水浴中速溶,离心去除冻存液,移入培养瓶培养。

[0038] 将Balb/c小鼠腹腔注射灭菌石蜡油,剂量为0.5mL/只,7天后腹腔注射三甲氧苄胺嘧啶单克隆杂交瘤细胞株 5×10^5 个/只,7天后采集腹水。用辛酸-饱和硫酸铵法进行纯化,纯化后的腹水放入-20℃环境中保存。

[0039] 六、酶标二抗的制备

将羊抗鼠抗抗体与辣根过氧化物酶(HRP)采用优化后的过碘酸钠法进行偶联。优化后HRP与三甲氧苄胺嘧啶抗体摩尔浓度比为1.5-2.5:1。

[0040] 七、酶标板的制备

三甲氧苄胺嘧啶偶联抗原的酶标板制备过程使用的包被缓冲液为pH=9.2-9.6浓度0.1-0.2mol/L碳酸盐缓冲液,包被原经包被缓冲液稀释为15μg/mL,每孔加入100μL,37℃恒温孵育4h或4℃过夜,倒去空中液体,用洗涤液洗涤1次,停留30s,拍干封闭液为pH=7.0-7.4含1%-5%脱脂奶粉,浓度0.1-0.2mol/L Tris缓冲液,每孔加入150μL封闭液,37℃孵育2-3h,倒去孔内液体,拍干,干燥后用滤膜真空密封保存。

[0041] 实施例二：三甲氧苄胺嘧啶酶联免疫试剂盒构成

三甲氧苄胺嘧啶三甲氧苄胺嘧啶酶联免疫试剂盒，包含下述各组成分：

- (1) 包被三甲氧苄胺嘧啶偶联蛋白的抗原酶标板。
- [0042] (2) 酶标二抗：羊抗鼠抗抗体-辣根过氧化物酶。
- [0043] (3) 三甲氧苄胺嘧啶单克隆抗体工作液。
- [0044] (4) 标准溶液6瓶，按照梯度稀释，其浓度分别为0 μ g/L、0.05 μ g/L、0.2 μ g/L、6 μ g/L、20 μ g/L、80 μ g/L。
- [0045] (5) 底物A液为过氧化脲缓冲液，底物B液为四甲基联苯胺缓冲液。
- [0046] (6) 终止液为1-2mol/L的硫酸或盐酸缓冲液。
- [0047] (7) 浓缩洗涤液为0.5%-1% Tween-20的0.2-0.5mol/L pH=7.2的 Tris缓冲液。
- [0048] (8) 浓缩复溶液为pH=7.2含有2%-5%酪蛋白的0.1-0.2mol/L的 PB缓冲液。
- [0049] 实施例三：三甲氧苄胺嘧啶酶联免疫试剂盒实测样本的应用

(1) 试剂配置

配液1：0.1M碳酸盐缓冲溶液 称取4.66g无水碳酸钠和0.5g碳酸氢钠加入500mL去离子水溶解混匀。

[0050] 配液2：1M碳酸盐缓冲液 称取46.6g无水碳酸钠和5.0g碳酸氢钠加入500mL去离子水溶解混匀。

[0051] 配液3：0.1M盐酸溶液 移取0.83 mL浓盐酸加入去离子水中定容至100 mL，混匀。

[0052] 配液4：复溶工作液 用去离子水将2 \times 浓缩复溶液按1:1体积比进行稀释(1份2 \times 浓缩复溶液+1份去离子水)用于样本的复溶，复溶工作液在4 $^{\circ}$ C环境可保存一个月。

[0053] 配液5：洗涤工作液 用去离子水将20 \times 浓缩洗涤液按1:19体积比进行稀释(1份20 \times 浓缩洗涤液+19份去离子水)用于酶标板的洗涤，洗涤工作液在4 $^{\circ}$ C环境可保存一个月。

[0054] (2) 样品前处理

称取4.0 \pm 0.05g蜂蜜样本至50mL聚苯乙烯离心管中，加入5mL 0.1M碳酸盐缓冲液，用涡旋仪涡动5min至充分溶解，再加入8mL乙酸乙酯，用振荡器振荡5min，3000g室温离心5min；

取4mL上清液至另一50 mL聚苯乙烯离心管中，分别加入4mL 三氯甲烷和8 mL 0.1 M盐酸溶液，用振荡器振荡5min，3000g室温离心5min；

取6mL上清液至另一50mL聚苯乙烯离心管中，分别加入1.5mL 1M碳酸盐缓冲溶液和6mL乙酸乙酯，用振荡器充分振荡5min，3000g室温离心5min；

取4mL上清液至10mL洁净干燥玻璃管中，于50-60 $^{\circ}$ C水浴氮气流下吹干；

加入1mL正己烷，用涡旋仪涡动30s溶解干燥残留物，再加入1mL 复溶工作液，用涡旋仪涡动2min，3000g室温离心5min；

除去上层正己烷相，取下层水相50 μ L用于分析。

[0055] (3) 检测步骤

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。

[0056] 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 $^{\circ}$ C保存。

[0057] 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。

[0058] ④加标准品/样本50μL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50μL/孔,轻轻振荡混匀,用盖板膜盖板后置25℃避光环境中反应30min。

[0059] 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)250μL/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)。

[0060] ⑥显色:加入底物液A液50μL/孔,再加入底物液B液50μL/孔,轻轻振荡混匀,用盖板膜盖板后置25℃避光环境中反应15min。

[0061] ⑦测定:加入终止液50μL/孔,轻轻振荡混匀,设定酶标仪双波长450/630nm检测,测定每孔OD值。

[0062] (4)结果判断

百分吸光率的计算,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)除以第一个标准品(0标准)的吸光度值的平均值,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,以三甲氧苄胺嘧啶标准品浓度的对数为横标,绘制标准曲线图。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三甲氧苄胺嘧啶的实际浓度。

[0063] 百分吸光率(%) = $\frac{B}{B_0} \times 100\%$

B—标准品或样本溶液的平均吸光度值

B₀—0ppb标准溶液的平均吸光度值

实施例四:三甲氧苄胺嘧啶酶联免疫试剂盒技术参数的确定

(1)试剂盒最低检测限和灵敏度测定

50%抑制浓度(即IC₅₀,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。利用三甲氧苄胺嘧啶标准品溶液进行反应,根据实验结果绘制标准曲线(图4),由图可知试剂盒三甲氧苄胺嘧啶标准曲线在0.05-80μg/L之间。蜂蜜样品中三甲氧苄胺嘧啶灵敏度为9.68μg/L。

[0064] (2)试剂盒准确度和精密度

取空白蜂蜜样品分别以20μg/L、40μg/L和60μg/L三甲氧苄胺嘧啶进行添加,每种样品、每个浓度各6个平行。抽取3批试剂盒,每批试剂盒测定同一份样品2次,结果得该方法对蜂蜜样品回收率在80.1%-109.5%之间,批内和批间变异系数均<10%。

[0065] (3)试剂盒保存实验

试剂盒保存条件为2-8℃,经过15个月测定,试剂盒的零标准品的OD值,IC₅₀值,20μg/L、40μg/L和60μg/L添加蜂蜜回收率,12个月以内均在正常范围之内。同时做加速老化和冷冻试验,将试剂盒放在37℃、-20℃中9天,测定结果也表明试剂盒的各项指标基本正常。从以上结果得到三甲氧苄胺嘧啶酶联免疫试剂盒可以在2-8℃保存12个月。

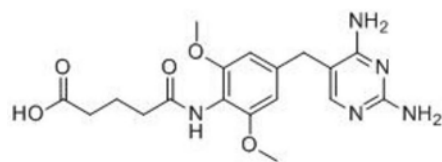


图1

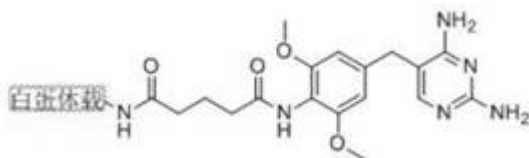


图2

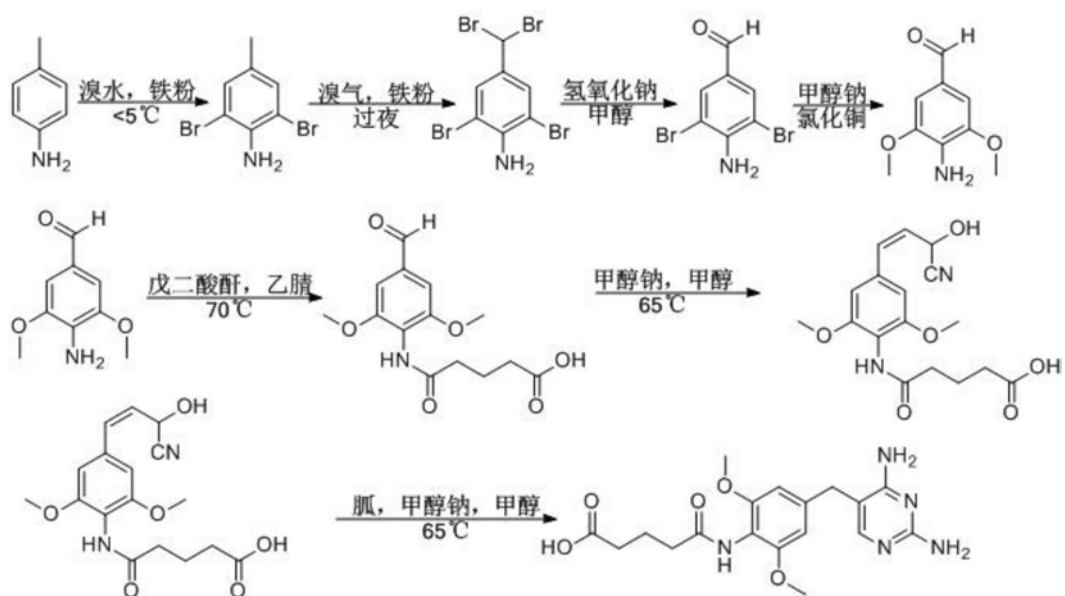


图3

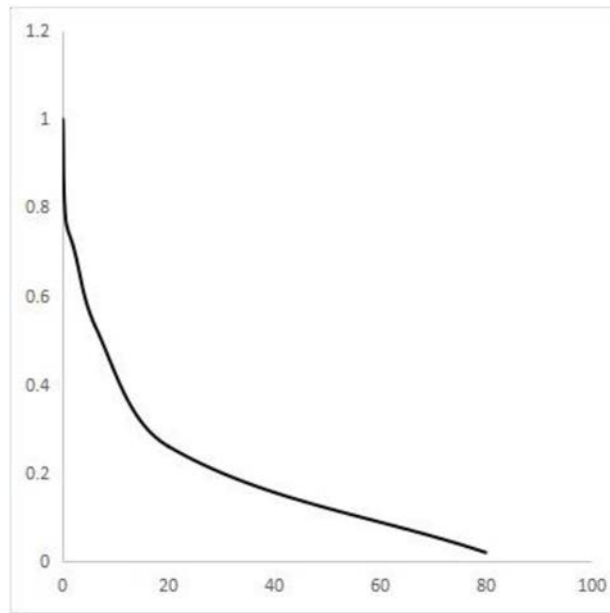


图4

专利名称(译)	一种检测三甲氧苄胺嘧啶残留的酶联免疫试剂盒		
公开(公告)号	CN109813880A	公开(公告)日	2019-05-28
申请号	CN201711165324.0	申请日	2017-11-21
[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	何方洋 万宇平 冯才伟 扶胜 袁光宇 罗维超 谢体波 吴紫洁 程茹		
发明人	何方洋 万宇平 冯才伟 扶胜 袁光宇 罗维超 谢体波 吴紫洁 程茹		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/531 C07D239/48		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供一种检测蜂蜜中三甲氧苄胺嘧啶残留量酶联免疫检测试剂盒和半抗原合成方案，试剂盒包含：包被有包被原的酶标板、酶标二抗、三甲氧苄胺嘧啶特异性抗体工作液、三甲氧苄胺嘧啶标准品溶液、底物显色液、终止液、浓缩洗涤液和浓缩复溶液。本发明提供的酶联免疫试剂盒用于蜂蜜中三甲氧苄胺嘧啶的残留量检测，该试剂盒具有检测简单快速、检测结果精确、检测成本低、灵敏度高等特点，可在三甲氧苄胺嘧啶残留现场检测中发挥重要作用。

