



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105424925 A

(43) 申请公布日 2016. 03. 23

(21) 申请号 201510812801. 2

(22) 申请日 2015. 11. 20

(71) 申请人 天津科技大学

地址 300457 天津市河西区大沽南路 1038 号

(72) 发明人 生威 王硕 张燕 王俊平 胡高爽

(74) 专利代理机构 北京金智普华知识产权代理有限公司 11401

代理人 李明卓

(51) Int. Cl.

G01N 33/559(2006. 01)

G01N 33/535(2006. 01)

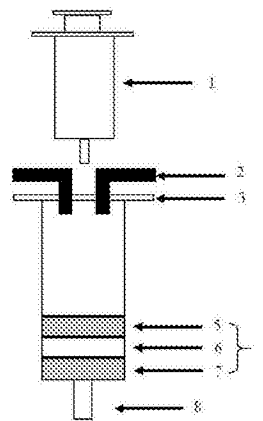
权利要求书1页 说明书6页 附图1页

(54) 发明名称

一种检测呋喃它酮代谢物免疫亲和凝胶检测柱

(57) 摘要

本发明提供了一种可视化快速检测食品中呋喃它酮代谢物 (AMOZ) 的免疫亲和凝胶检测柱的制备方法。以琼脂糖凝胶为固相载体, 将 AMOZ 抗体和溴化氰活化的琼脂糖凝胶偶联制备抗体胶作为检测层, 将 HRP 抗体与溴化氰活化的琼脂糖凝胶偶联制备 HRP 抗体胶作为质控层, 装入 1mL 的固相萃取柱, 制备免疫亲和凝胶检测柱。本发明研制了一种新型快速定性半定量检测食品中呋喃它酮代谢物残留的免疫亲和凝胶柱检测产品, 动物源性食品中呋喃它酮代谢物检测限为 3 μg/kg。发明具有以下突出的优点: 1、特异性高, 灵敏度好; 2、样品前处理简单; 3、检测耗时短, 准确性高; 4、操作简便, 不需要大型仪器的辅助。



1. 一种检测呋喃它酮代谢物免疫亲和凝胶检测柱,其特征在於:

凝胶检测柱的原理是利用抗原抗体的特异性结合和辣根过氧化物酶的酶催反应,依据质控层和检测层颜色变化,进而对待测物进行定性半定量分析。

2. 根据权利要求 1 所述的呋喃它酮代谢物免疫亲和凝胶检测柱,其特征在於:

在一个标准的 1mL 固相萃取柱内设有两层,上层为呋喃它酮代谢物抗体胶与封闭胶混合加入形成的检测层,下层为 HRP 抗体胶与封闭胶混合加入形成的质控层,质控层和检测层之间隔开一个 3mm 的空气层。

3. 一种呋喃它酮代谢物免疫亲和凝胶检测柱的制备方法,其特征在於:

(1) 封闭胶的制备,取 0.5g CNBr 活化的琼脂糖凝胶,用 40mL 1mmol/L HCl 溶液在具砂板层析柱中溶胀清洗 15min,待凝胶完全溶胀后用偶联缓冲液调至中性。然后加入 9mL 甘氨酸封闭液室温反应 2h,目的是封闭凝胶上残余的基团。再用 10mL 偶联缓冲液和 10mL 醋酸钠缓冲液交替清洗三次,以调整其 pH。制备好的封闭胶用 10mL PBS(含有 0.03%的 Proclin 300) 稀释重悬,4℃ 贮存;

(2) 抗体胶和 HRP 抗体胶的制备,取 0.25g 的溴化氢 (CNBr) 活化的琼脂糖凝胶,用 20mL 1mmol/L HCl 溶液在具砂板层析柱中溶胀清洗 15min,待凝胶完全溶胀后用偶联缓冲液调至中性。取 0.5mg 的呋喃它酮代谢物多克隆抗体,并用 1mL 偶联缓冲液对抗体稀释,加入到凝胶中悬起,在室温下用定向摇床振摇 2h。使用 10mL 偶联缓冲液清洗凝胶,去除未偶联上的呋喃它酮代谢物多克隆抗体。再用甘氨酸封闭液溶液将凝胶上残余的活性基团进行封闭,室温下在定向摇床上反应 2h。反应完后用 10mL 偶联缓冲液和 10mL 醋酸钠缓冲液交替清洗三次,以调整其 pH。制备好的凝胶用 5mL PBS(含有 0.03%的 Proclin 300) 稀释重悬,4℃ 贮存;

HRP 抗体胶由 HRP 多克隆抗体与 CNBr 活化的琼脂糖凝胶偶联后制得,用于免疫亲和凝胶检测柱的对照层。HRP 抗体胶的制备步骤同抗体胶制备过程。

4. 根据权利要求 3 所述的抗体胶和封闭胶制备方法进行检测柱的组装,其特征在於:

制作步骤为将聚乙烯垫片加入 1mL 的固相萃取柱中,然后加入 150 μ L 的 HRP 抗体胶与封闭胶比例为 1:20 的混合胶,加入第二层聚乙烯垫片,用注射器活塞将 PBS 压出,在组装好的质控层上方约 3mm 处加入第三层聚乙烯垫片,然后加入 150 μ L 的抗体胶与封闭胶比例为 1:80 的混合胶,最后在顶部加入第四层垫片,用注射器活塞将 PBS 压出。

5. 根据权利要求 4 所述的组装好的呋喃它酮代谢物免疫亲和凝胶检测柱,其特征在於:所述的呋喃它酮代谢物免疫亲和凝胶检测柱检测动物源性食品中呋喃它酮代谢物的检测限为 3 μ g/kg。

一种检测呋喃它酮代谢物免疫亲和凝胶检测柱

技术领域

[0001] 本发明属于小分子化合物免疫化学和残留分析技术领域,涉及免疫化学、酶学与分析化学技术等,尤其是涉及一种呋喃它酮代谢物免疫亲和凝胶可视化检测柱的制备。

背景技术

[0002] 硝基呋喃类 (Nitrofurans) 是一种广谱抗生素药物,主要包括呋喃它酮 (Furaltadone), 呋喃唑酮 (Furazolidone), 呋喃妥因 (Furantoin), 和呋喃西林 (Nitrofurazone), 通过干扰细菌的糖代谢而具有很好的抑菌杀菌作用。主要针对多种革兰氏阳性菌 (葡萄球菌、链球菌、梭菌和棒状杆菌) 和革兰氏阴性菌 (大肠杆菌、组织滴虫属和痢疾阿米巴), 并对一些原虫、真菌有一定得作用。硝基呋喃类抗生素同时具有促生长的作用。因其价格低廉且效果较好, 抑菌受生物机制影响小, 作为外用时对组织的刺激较小, 而且菌类对其较少产生耐药性因而被广泛的应用于畜牧业和水产养殖业。硝基呋喃类药物在动物体内极不稳定, 很快被代谢完全。进入动物体内后 12h 即可代谢完毕, 但其代谢物分子 (AMOZ, AHD, AOZ, SEM) 与体内蛋白结合保持长期稳定状态, 可残留数周不易代谢出体外极为稳定, 通过加工加热等方法 (如煎, 炸, 烤, 炖或微波加热等) 难以是其分解。这种与蛋白结合状态存在的代谢物对人体造成一定的毒副作用。因此对硝基呋喃类药物的残留检测主要检测其代谢物的残留。目前检测硝基呋喃类抗生素及其代谢物残留的方法主要有: 液相色谱质谱联用法 (LC-MS)、液相色谱 - 串联质谱法 (LC-MS/MS)、液相色谱 - 紫外法 (HPLC-UV)、原子吸收法、紫外分光光度法、酶联免疫法 (ELISA)。其中液相色谱串联质谱法是广泛应用的确证方法, 方法准确性高, 但是前处理方法繁琐, 需要昂贵的仪器以及专业的人员操作, 检测费用昂贵, 不适合进行现场快速检测。因此, 积极发展一种灵敏度高、快速、简便的药物残留检测手段势在必行。免疫检测方法, 可有效避免样品处理, 仪器等因素的制约, 而且方法的特异性强, 灵敏度高, 甚至可以制成试纸用于现场快速检测。然而试纸条检测也易受样品基质的影响, 在不同食品样品检测中受到一定限制。本发明阐述的凝胶柱免疫检测产品为某些颜色较深及基质影响较大的样品中的呋喃它酮代谢物残留检测分析提供一种行之有效的可视化定性半定量快速简单的检测方法, 为食品安全的有力监管提供可靠的技术保障。

发明内容

[0003] 本发明提出一种可以定性半定量的检测食品中的呋喃它酮代谢物的简单、省时、灵敏的可视化免疫亲和凝胶检测柱的制备。只要样品中含有酶标记抗原, 凝胶检测柱的质控层就会出现蓝色, 它可以确保检测柱可以正常检测, 达到质控的作用。以凝胶检测柱的质控层为基准, 通过检测层颜色深浅变化达到定性或半定量检测食品样品中的呋喃它酮代谢物的目的。

[0004] 为解决上述技术问题, 本发明采用的技术方案是:

[0005] 封闭胶的制备

[0006] (1) 溶胀 :称取 0.5g 溴化氰活化琼脂糖凝胶,加入到 40mL 的配制好的 HCl 溶液中,搅拌溶胀 15min。

[0007] (2) 淋洗 :将溶胀好的琼脂糖凝胶转移到在具砂板层析柱中,再加入 200mL HCl 淋洗,然后用偶联缓冲液冲洗柱子,调节柱子 pH 至中性。

[0008] (3) 封闭 :加入 9mL 甘氨酸封闭液,密封柱子,室温下震荡反应 2h。

[0009] (4) 清洗 :首先加入 10mL 的偶联缓冲液淋洗一次,然后用 10mL 的醋酸钠缓冲溶液和 10mL 的偶联缓冲液分别冲洗 3 遍。

[0010] (5) 贮存 :待清洗液抽空,制备好的封闭胶用 PBS 悬起,约 10mL PBS(含有 0.3ml/L 的抑菌素),放置于 4℃ 保存待用。

[0011] 呋喃它酮代谢物抗体胶和 HRP 抗体胶的制备

[0012] (1) 溶胀 :准确称取 0.25g 溴化氰活化琼脂糖凝胶,加入到 20mL 的配制好的 HCL 溶液中,搅拌溶胀 15min。

[0013] (2) 淋洗 :将溶胀好的琼脂糖凝胶转移到在具砂板层析柱中,再加入 200mL HCL 淋洗,然后用偶联缓冲液冲洗柱子,调节柱子 pH 至中性,将淋洗液全部洗完。

[0014] (3) 偶联抗体 :取 0.5mg (1.00mg/mL) 抗体,用 1mL 的偶联缓冲液稀释,然后加入到在具砂板层析柱中,密封柱子,室温下震荡反应 2h。

[0015] (4) 封闭 :加入 10mL 的偶联缓冲液淋洗柱子,然后加入 10mL 的封闭液,再次密封柱子,室温震荡反应 2h。

[0016] (5) 清洗 :首先加入 10mL 的偶联缓冲液淋洗一次,然后用 10mL 的醋酸钠缓冲溶液和 10mL 的偶联缓冲液分别冲洗 3 遍 ;

[0017] (6) 贮存 :待清洗液抽空,制备好的抗体胶用 PBS 悬起,约 5mL PBS(含有 0.3ml/L 的抑菌素),放置于 4℃ 保存待用。

[0018] HRP 抗体胶和呋喃它酮代谢物抗体胶的制备过程相同,只是偶联不同的抗体。

[0019] 将所述封闭胶和抗体胶 (HRP 抗体胶) 按一定比例混合制备凝胶检测柱的质控层和检测层,即 :

[0020] (1) 质控层是由 HRP 抗体胶与封闭胶以一定比例混合好后,取 150 μ L 混合胶加入到 1mL 的 SPE 塑料柱中,用注射器活塞将 PBS 压出 ;

[0021] (2) 检测层是由优化好的抗体胶与封闭胶以一定的比例混合好后,取 150 μ L 加入其中,用注射器活塞将 PBS 压出 ;

[0022] 进一步的,所述质控层和检测层,制备检测柱,即 :

[0023] (1) 检测柱由下到上,分别是对照层和检测层,对照层和检测层之间隔开一个 3mm 的空气层,可以防止加入底物显色后试剂和颜色从对照层迁移到检测层中。

[0024] (2) 首先将聚乙烯垫片加入 1mL 的塑料柱中,然后加入对照层混合胶,加入第二层聚乙烯垫片,在对照层上方约 3mm 处加入第三层聚乙烯垫片,然后加入其检测层的混合胶,最后在顶部加入第四层垫片。

[0025] 本发明创造所述的免疫检测柱相对于现有技术具有以下优势 :

[0026] (1) 本发明提供的呋喃它酮代谢物免疫亲和凝胶检测柱,可专一识别呋喃它酮代谢物,具有非常高的选择性。

[0027] (2) 本发明呋喃它酮代谢物免疫亲和凝胶检测柱是一种可视化的定性半定量检测

产品。对目标待测物的检测,检测柱会以检测层颜色的有无给出检测结果,即以是/否的可视定性信号给予应答,操作方便,结果判断简单。

[0028] (3) 本发明制得的呋喃它酮代谢物免疫亲和凝胶检测柱既可以使之与净化柱串联,消除样品基质影响;又可容纳较大体积的清洗缓冲液和样品溶液,提高了方法灵敏度。检测产品不需要任何复杂的前处理,及大型仪器的辅助,具有很好的易用性和准确性,满足现场快速检测的要求。

附图说明

[0029] 构成本发明创造的一部分的附图用来提供对本发明创造的进一步理解,本发明创造的示意性实施例及其说明用于解释本发明创造,并不构成对本发明创造的不当限定。在附图中:

[0030] 图 1 为本发明创造实施例所述的凝胶检测柱的组装示意图;

[0031] 1-注射器,2-转接头,3-进样口,4-聚乙烯垫片,5-检测层,6-空气层,7-质控层,8-出口。

[0032] 图 2 本发明创造实施例所述的呋喃它酮代谢物凝胶检测柱检测限的判定 (NPAMOZ 的浓度从左至右依次为:0 $\mu\text{g/L}$, 5 $\mu\text{g/L}$, 10 $\mu\text{g/L}$, 20 $\mu\text{g/L}$);

[0033] 图 3 为本发明创造实施例所述的呋喃它酮代谢物凝胶检测柱特异性的判定 (与硝基呋喃类兽药结构类似物的交叉反应结果),从左到右依次是:NPAMOZ、NPAOZ、NPAHD、NPSEM、呋喃它酮、呋喃唑酮、呋喃妥因、呋喃西林、AMOZ、AOZ、AHD、SEM、邻硝基苯甲醛、对硝基苯甲酸 (NPAMOZ 浓度为 20 $\mu\text{g/L}$,呋喃它酮浓度为 100 $\mu\text{g/L}$,AMOZ 浓度为 300 $\mu\text{g/L}$,其他均是 1000 $\mu\text{g/L}$);

[0034] 图 4 本发明创造实施例所述的呋喃它酮代谢物凝胶检测柱特异性的判定 (与其它兽药的交叉反应结果),左到右依次是:NPAMOZ;恩诺沙星;氯霉素;链霉素;青霉素;甲硝唑;磺胺二甲嘧啶;磺胺多辛;四环素 (NPAMOZ 浓度为 20 $\mu\text{g/L}$,其他兽药均是 1000 $\mu\text{g/L}$);

具体实施方式

[0035] 下面结合实施例,对本发明进一步说明;下述实施例是说明性的,不是限定性的,不能以下述实施来限定本发明的保护范围。

[0036] 下面将参考附图并结合实施例来详细说明本发明创造。

[0037] 实施例 1

[0038] 1、呋喃它酮代谢物抗血清的纯化

[0039] 采用 Protein A - Sepharose 4B 作亲和层析介质纯化呋喃它酮代谢物抗血清,可一次性获得接近纯度较高的特异性抗体。具体的操作步骤如下:(1)平衡:使用已配好的 Binding 缓冲液冲洗柱子,冲洗管路直到仪器绘出稳定的基线,流速为 1mL/min。(2)上样:用等体积的 Binding 缓冲液稀释抗血清后上柱,流速调为 0.5mL/min。(3)洗杂:继续使用 Binding 缓冲液冲洗柱子,会出现杂蛋白峰被洗脱流出,而抗体 IgG 会吸附在 Protein A-SepHarose4B 柱上,继续冲洗至仪器出现稳定基线,流速控制在 1.0ml/min。(4)洗脱:用 Elution 缓冲液洗脱柱子,流速控制为 0.5ml/min。洗脱过程中紫外信号线开始上升,电导信号线开始下降时,开始收集抗体蛋白,每个试管接 1ml。用紫外可见分光光度计,在 280nm

下测收集液的 OD 值 (Elution 缓冲液调零), 保留 OD 值大于 0.5 的蛋白溶液, 并迅速用 1mol/L Tri-HCl 缓冲液调收集抗体的 pH 至为 7.4。(5) 用 PB 缓冲液透析 72h, 加入 0.1% (W/V) 的叠氮钠, 置 4℃ 冰箱保存备用。用来制备凝胶检测柱检测层的抗体胶。

[0040] 2、人工抗原的制备

[0041] (1) 半抗原 CPAMOZ 的合成

[0042] 取 10.0mg 的 AMOZ 溶解于 125 μ L 的 0.1mol/L 的 HCl 中, 搅拌溶解, 此溶液为 A 液。取 8.0mg 的对醛基苯甲酸 (4-CBA), 缓慢加入 DMF (大约 125 μ L) 至其完全溶解, 此溶液为 B 液。B 液在搅拌中缓慢加入 A 液, 室温搅拌反应 48h。将混合液离心 (4500r/min) 15min, 然后弃去清液, 得到白色物质即为 CPAMOZ, 50℃ 真空干燥, 最终得到白色固体粉末, 4℃ 保存待用。

[0043] (2) 活化酯法制备酶标抗原 (CPAMOZ-HRP)

[0044] 取 4.7mg CPAMOZ (5 μ mol), 2.3mg N-羟基琥珀酰亚胺 (NHS) (7.5 μ mol) 溶解于 100 μ L DMF 中, 然后再向混合液中加入 3.9mg (5 μ mol) DCC, 室温下搅拌 18h, 离心 (4500r/min) 15min, 得到的上清液为活性酯中间体。取 5mg HRP 蛋白溶解于 2mL 的 PBS (0.01mol/L, pH 7.4) 中。4℃ 下再逐渐加入 50 μ L 活性酯中间体。继续搅拌过夜, 将反应液转移到透析袋中, 用 PBS 缓冲溶液透析 72h。收集透析后液体加入 0.1% (W/V) 的柳硫汞, 置 4℃ 冰箱保存备用。用来与待测物竞争结合抗体, 产生颜色变化, 测定待测物含量。

[0045] 3、呋喃它酮代谢物检测柱的制备和组装方法

[0046] (1) 制备封闭胶、呋喃它酮代谢物抗体胶和 HRP 抗体胶

[0047] 制备封闭胶, 首先取 0.5g CNBr 活化的琼脂糖凝胶, 用 40mL 1mmol/L HCl 溶液在具砂板层析柱中溶胀清洗 15min, 待凝胶完全溶胀后用偶联缓冲液调至中性。然后加入 9mL 甘氨酸封闭液室温反应 2h, 目的是封闭凝胶上残余的基团。再用 10mL 醋酸钠缓冲溶液和 10mL 偶联缓冲液交替清洗三次, 以调整其 pH。制备好的封闭胶用 10mL PBS (含有 0.03% 的 Proclin 300) 稀释重悬, 4℃ 贮存。

[0048] 抗体胶和 HRP 抗体胶的制备方法同封闭胶, 差别仅在于在封闭之前呋喃它酮代谢物特异性抗体和 HRP 抗体被加入到凝胶当中室温偶联 2h。

[0049] (2) 制备免疫亲和凝胶检测柱质控层与检测层

[0050] 质控层是由 HRP 抗体胶与封闭胶以一定比例混合好后, 取 150 μ L 混合胶加入到 1mL 的 SPE 塑料柱中, 用注射器活塞将 PBS 压出得到; 检测层是由优化好的抗体胶与封闭胶以一定的比例混合好后, 取 150 μ L 加入其中, 用注射器活塞将 PBS 压出得到;

[0051] (3) 组装呋喃它酮代谢物免疫亲和凝胶检测柱

[0052] 检测柱由下到上, 分别是质控层和检测层, 质控层和检测层之间隔开一个 3mm 的空气层, 可以防止加入底物显色后试剂和颜色从质控层迁移到检测层中。首先将聚乙烯垫片加入 1mL 的塑料柱中, 然后加入质控层混合胶, 加入第二层聚乙烯垫片, 在质控层上方约 3mm 处加入第三层聚乙烯垫片, 然后加入其检测层的混合胶, 最后在顶部加入第四层垫片, 检测柱经过实验验证不能重复使用。

[0053] 实施例 2

[0054] 呋喃它酮代谢物凝胶检测柱使用方法

[0055] 1、检测步骤

[0056] (1) 加样 :用 1mL PBS 将按一定比例稀释酶标抗原与 NPAMOZ 标准品或样品溶液预混合,从进样口加入到柱子中,控制流速为 1mL/min。

[0057] (2) 洗柱 :用 3mL PBST 冲洗柱子,再用 2mL PBS 冲洗柱子,以冲洗去除未与抗体结合的抗原和残留的 Tween-20。

[0058] (3) 显色 :加入 300 μ L 底物液,反应 30s 后,用注射器将底物液完全排出,继续显色 4min 后,观察反应结果。

[0059] 2、结果判定

[0060] 目测凝胶柱的质控层和检测层颜色。质控层呈明显蓝色,说明检测柱可以正常使用。使用检测柱检测不同浓度的 NPAMOZ (0、5、10、20 μ g/L),当目测检测层颜色完全消逝时待测物的最低浓度作为检测柱的检出限。随着 NPAMOZ 浓度的升高,检测柱子检测层的颜色从深到浅再到消逝。由图 2 结果表明,当 NPAMOZ 的浓度为 20 μ g/L 时,检测柱的检测层颜色消失。多次重复试验后,由此判定免疫凝胶检测柱的方法检测限(以 NPAMOZ 记)为 20 μ g/L。

[0061] 3、特异性判定

[0062] 选择了硝基呋喃类兽药及其代谢物和 8 种其它种类兽药,使用呋喃它酮代谢物凝胶检测柱检测,如图 3 所示。结果表明,该抗体与呋喃它酮原药有交叉,与 AMOZ 表现了较低的交叉反应。剩下其他药物,当其浓度达到 1000 μ g/L 时,检测层仍会出现明显的蓝色,表明本呋喃它酮代谢物凝胶检测柱和其他硝基呋喃类原药及其代谢物没有交叉反应。如图 4 所示,只有检测 NPAMOZ (20 μ g/L) 时呈阳性结果,其余兽药 (1000 μ g/L) 都呈阴性结果。表明呋喃它酮代谢物凝胶检测柱与其他兽药也没有交叉反应,具有良好的特异性。

[0063] 实施例 3

[0064] 本发明的应用效果举例

[0065] 1、样品处理方法

[0066] 传统检测硝基呋喃代谢物的衍生方法是在 37 $^{\circ}$ C 下衍生 16h,衍生化时间较长,不利于快速检测硝基呋喃代谢物,本实验对衍生化时间进行了优化。选择阴性样品虾、鱿鱼、鸡肉、猪肉、鸡肝等做样品,添加一定量的 AMOZ 标准品,首先进行衍生处理:称取 5.0g 的样品于 50mL 的离心管中,加入 10mL 的去离子水和 2mL 的 1mol/L 的 HCl 溶液,混匀后加入 300 μ L 的邻硝基苯甲醛溶液 (50mmol/L),混匀后,分别置于 37 $^{\circ}$ C 恒温箱和 60 $^{\circ}$ C 水浴中分别反应 60min、120min、180min、16h;再进行萃取处理:将衍生后的样品取出恢复至室温后加入 5mL 的 PBS 和 1.6mL 的 1mol/L 的 NaOH 溶液调制 pH 至中性,然后再加入 7mL 的乙酸乙酯,漩涡混匀 30s 后 5000r/min 离心 10min,取上层即乙酸乙酯层于 10mL 的离心管中,50 $^{\circ}$ C 氮气吹干。加 2mL 的正己烷复溶,再加入 1mL 的 PBS 缓冲溶液,震荡混匀后 5000r/min 离心 10min,将上层的正己烷层弃掉,下层溶液检测用。

[0067] 3、有效性实验

[0068] 由于样品处理方法起到浓缩的作用是的方法灵敏度得到提高。向阴性组织样品(牛肉、猪肉、鸡肉、鸡肝、虾、鱿鱼、鲷鱼、黄花鱼)中添加 AMOZ 使样品中 AMOZ 最终浓度为 0、3 μ g/kg。当组织样品中 AMOZ 浓度为 3 μ g/kg 时,检测柱检测层颜色完全消失,所以动物源性食品中呋喃它酮代谢物 AMOZ 检测限为 3 μ g/kg。

[0069] 实验表明本发明的凝胶检测柱准确性好、灵敏度高、特异性好,而且样品前处理方

法简单,整个检测过程不超过 10min,可作为是呋喃它酮代谢物残留快速检测的有效筛检手段。

[0070] 以上所述仅为本发明创造的较佳实施例而已,并不用以限制本发明创造,凡在本发明创造的精神和原则之内,所作的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明创造的保护范围之内。

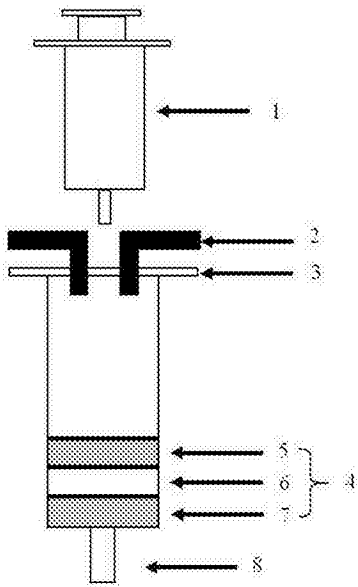


图 1



图 2

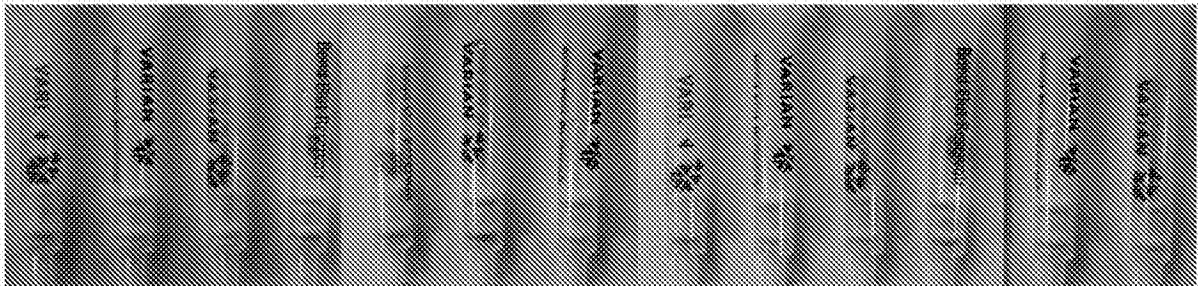


图 3

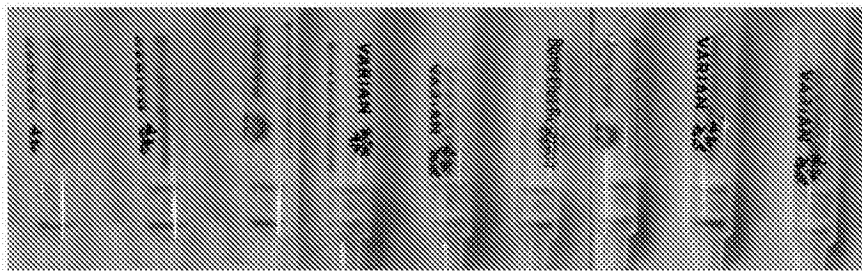


图 4

专利名称(译)	一种检测呋喃它酮代谢物免疫亲和凝胶检测柱		
公开(公告)号	CN105424925A	公开(公告)日	2016-03-23
申请号	CN201510812801.2	申请日	2015-11-20
[标]申请(专利权)人(译)	天津科技大学		
申请(专利权)人(译)	天津科技大学		
当前申请(专利权)人(译)	天津科技大学		
[标]发明人	生威 王硕 张燕 王俊平 胡高爽		
发明人	生威 王硕 张燕 王俊平 胡高爽		
IPC分类号	G01N33/559 G01N33/535		
CPC分类号	G01N33/559 G01N33/535		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了一种可视化快速检测食品中呋喃它酮代谢物(AMOZ)的免疫亲和凝胶检测柱的制备方法。以琼脂糖凝胶为固相载体，将AMOZ抗体和溴化氰活化的琼脂糖凝胶偶联制备抗体胶作为检测层，将HRP抗体与溴化氰活化的琼脂糖凝胶偶联制备HRP抗体胶作为质控层，装入1mL的固相萃取柱，制备免疫亲和凝胶检测柱。本发明研制了一种新型快速定性半定量检测食品中呋喃它酮代谢物残留的免疫亲和凝胶柱检测产品，动物源性食品中呋喃它酮代谢物检测限为3μg/kg。发明具有以下突出的优点：1、特异性高，灵敏度好；2、样品前处理简单；3、检测耗时短，准确性高；4、操作简便，不需要大型仪器的辅助。

