



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111089966 A

(43)申请公布日 2020.05.01

(21)申请号 201911410989.2

(22)申请日 2019.12.31

(71)申请人 杭州南开日新生物技术有限公司
地址 311215 浙江省杭州市萧山区民和路
481号联合中心南区B座10楼

(72)发明人 桑丽雅 陈笑笑 王振国 王伟萍
陈青舟 张少恩 陶润华 叶茂
李开扬

(74)专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

代理人 王欢

(51)Int.Cl.

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

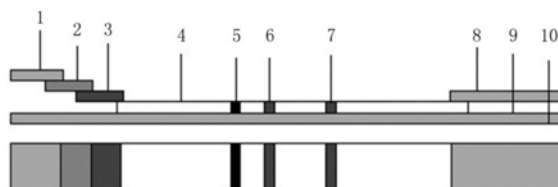
权利要求书1页 说明书7页 附图4页

(54)发明名称

一种检测农兽药及非法添加物的胶体金试纸条及其制备方法

(57)摘要

本发明涉及生物检测领域,特别涉及一种检测农兽药及非法添加物的胶体金试纸条及其制备方法。该试纸条包括底板和底板上依次紧密连接的样品垫、胶体金结合垫、缓冲垫、反应膜、吸水垫、不干胶;所述胶体金结合垫上包被有可与所述农兽药及非法添加物结合的标记抗体;所述缓冲垫包被有缓冲溶液;所述反应膜上沿层析方向依次设有氨基酸线、检测线和质控线;所述氨基酸线包被有氨基酸溶液;所述检测线上包被有人工合成抗原,所述质控线上包被有可与所述标记抗体结合的羊抗鼠IgG二抗。本发明试纸条能够快速用于农兽药及非法添加物的检测,灵敏度高、准确性好、精密度高、显色均匀,有效地解决了现有产品灵敏度低差、显色不均、准确性不够的问题。



1. 一种检测农兽药及非法添加物的胶体金试纸条,其特征在于,包括底板和底板上依次紧密连接的样品垫、胶体金结合垫、缓冲垫、反应膜、吸水垫、不干胶;

所述胶体金结合垫上包被有与所述农兽药及非法添加物结合的标记抗体;所述缓冲垫包被有缓冲溶液;所述反应膜上沿层析方向依次设有氨基酸线、检测线和质控线;所述氨基酸线包被有氨基酸溶液;所述检测线上包被有人工合成抗原;所述质控线上包被有可与所述标记抗体结合的羊抗鼠IgG二抗。

2. 根据权利要求1所述的胶体金免疫层析试纸条,其特征在于,所述氨基酸溶液由亮氨酸、苯丙氨酸、苏氨酸、赖氨酸、天冬氨酸和防腐剂的PBS缓冲液组成。

3. 根据权利要求1所述的胶体金免疫层析试纸条,其特征在于,所述氨基酸溶液为含0.05-0.2%亮氨酸、0.05-0.2%苯丙氨酸、0.05-0.2%苏氨酸、0.05-0.2%赖氨酸、0.05-0.2%天冬氨酸和0.1-0.3%叠氮钠的pH7.2-7.4的0.01M PBS缓冲液,优选的,所述氨基酸溶液为含0.1%亮氨酸、0.1%苯丙氨酸、0.1%苏氨酸、0.1%赖氨酸、0.1%天冬氨酸和0.2%叠氮钠的pH7.4的0.01M PBS缓冲液。

4. 根据权利要求1所述的胶体金免疫层析试纸条,其特征在于,所述缓冲垫包被的缓冲溶液为含1%聚乙二醇辛基苯基醚、1%牛血清白蛋白的0.1mol/L磷酸盐缓冲溶液。

5. 根据权利要求1所述的胶体金试纸条,其特征在于,所述标记抗体为胶体金标记的单克隆抗体。

6. 根据权利要求1所述的胶体金免疫层析试纸条,其特征在于,所述人工合成抗原为农兽药及非法添加物与载体蛋白的偶联物。

7. 根据权利要求6所述的胶体金试纸条,其特征在于,所述载体蛋白为牛血清白蛋白、卵清蛋白、血蓝蛋白中的一种。

8. 根据权利要求1所述的胶体金试纸条,其特征在于,所述氨基酸线与所述检测线的距离为4~6mm。

9. 根据权利要求1所述的胶体金试纸条,其特征在于,所述底板为PVC板,所述样品垫、缓冲垫和胶体金结合垫由玻璃纤维制成,所述反应膜为NC膜。

10. 权利要求1所述胶体金试纸条的制备方法,其特征在于,包括:

制备胶体金颗粒;用胶体金颗粒标记所述农兽药及非法添加物结合的标记抗体,获得标记抗体;将所述标记抗体包被到结合垫上干燥,获得胶体金结合垫;将玻璃纤维膜经缓冲溶液浸泡后烘干获得缓冲垫;

将人工合成抗原、羊抗鼠IgG二抗沿层析方向依次包被到反应膜上,分别作为检测线、质控线;

制备氨基酸溶液,将所述氨基酸溶液包被到反应膜靠近胶体金结合垫的一端,获得氨基酸线,所述氨基酸线与所述检测线的距离为4~6mm;

将样品垫、胶体金结合垫、缓冲垫、反应膜和吸水垫黏贴到底板上,获得所述胶体金试纸条。

一种检测农兽药及非法添加物的胶体金试纸条及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及生物检测领域,特别涉及一种检测农兽药及非法添加物的胶体金试纸条及其制备方法。

背景技术

[0002] 胶体金免疫层析试剂板由于其单份检测、操作简单快速、特异性好、灵敏度高、无需辅助试剂和仪器、肉眼观察结果、有效期长等特点,成为当今最快速灵敏方便的免疫学检测技术之一,特别适用于现场作业以及时间紧迫的检查和大面积普查。

[0003] 现有的普通的免疫胶体金快速检测试剂板装置,当样品溶液滴到样品垫上时,样品溶液中的待测物和金标抗体结合垫上的金标抗体进行抗原抗体之间的特异性结合反应,很快随着硝酸纤维素膜的毛细管作用,待测溶液向膜条另一端渗移,未与样品溶液中的待测物结合的金标抗体就会与检测线上的特异性结合抗原进行抗原抗体之间的特异性结合反应,剩余的金标抗体与控制线上的二抗(一般为羊抗鼠IgG)结合,从而使检测线和控制线显示出颜色变化。

[0004] 在该反应过程中,若样品溶液中的待测物和金标抗体结合垫上的金标抗体反应不够充分,则剩余未结合的金标抗体就相对变多,从而与检测线上的特异性结合抗原结合的金标抗体变多,检测线显色变深,按照免疫胶体金快速检测试剂板的检测结果判读方式,检测线和控制线的颜色深浅差异就会减小,可能导致检测线比控制线显色深或一样深,从而使得检测结果从阳性变为阴性,降低了产品检测灵敏度。因此,样品溶液中的待测物和金标抗体结合垫上的金标抗体反应是否足够充分,很大程度上决定了免疫胶体金快速检测试剂板的灵敏度高低。影响样品溶液中的待测物和金标抗体结合垫上的金标抗体反应充分性的因素除了抗原和抗体自身亲和性因素外,主要有硝酸纤维素膜(NC膜)、反应时间和反应体系的稳定性。NC膜其孔径、疏水亲水性能等不同会对同一个免疫胶体金快速检测试剂板的灵敏度产生差异。目前稳定性好、批间差较小的硝酸纤维素膜供应厂家有Millipore(美国)、Whatman and S&S、Sartorius(德国)、伊能(国产)、MDI(印度)。较常用的是Millipore、Whatman和Sartorius。这些NC膜厂家经过多次试验,在大量实验数据的基础上,已筛选出普适性最好的几种膜供应市场。因此,通过研究不同NC膜以提高免疫胶体金快速检测试剂板灵敏度的研究空间很小。而样品溶液中的待测物和金标抗体结合垫上的金标抗体反应体系越稳定、反应时间越充足,两者的反应就越充分。普通的免疫胶体金快速检测试剂板装置,样品溶液中的待测物和金标抗体在金标抗体结合垫上的反应时间比较局促,往往造成两者的反应不够充分,从而影响了灵敏度。

[0005] 此外,传统胶体金试纸条检测时或会出现检测线(T线)显色不均匀的现象,如线条下端颜色深上端颜色浅,或线条出现左右端颜色不均一等类似情况,这主要是由于受到原料、硝酸纤维素膜、点膜机器等多方面因素的影响。出现以上情况后,目前可通过更换原料(抗原、抗体)、筛选更换硝酸纤维素膜、筛选稳定剂和缓冲体系等方式进行优化。筛选品质优良的抗原和抗体针对某一种产品而言具有一定改善线条的可能,但不能使所有产品线

条情况都改善,不具有普适性。而稳定剂和缓冲体系的筛选工作较为繁琐和复杂,不同产品受稳定剂和缓冲体系的影响程度不同,故实际操作可行性也不大。

[0006] 因此,开发一种显色均匀、精密度高、灵敏度高,且普遍适用于检测农兽药及非法添加物检测的胶体金试纸条具有重要意义。

发明内容

[0007] 本发明的目的在于提供一种检测农兽药及非法添加物的胶体金试纸条及其制备方法。本发明提供的胶体金试纸条显色清晰、均匀,精密度较高,灵敏度较好,普遍适用于农兽药及非法添加物的检测。

[0008] 本发明提供了一种检测农兽药及非法添加物的胶体金试纸条,包括底板和底板上依次紧密连接的样品垫、胶体金结合垫、缓冲垫、反应膜、吸水垫、不干胶;

[0009] 所述胶体金结合垫上包被有与所述农兽药及非法添加物结合的标记抗体;所述缓冲垫包被有缓冲溶液;所述反应膜上沿层析方向依次设有氨基酸线、检测线和质控线;所述氨基酸线包被有氨基酸溶液;所述检测线上包被有人工合成抗原;所述质控线上包被有可与所述标记抗体结合的羊抗鼠IgG 二抗。

[0010] 本发明提供的胶体金试纸条在反应膜靠近胶体金结合垫的一端包被有一条氨基酸线,实验表明,增加氨基酸线的胶体金试纸条显色均匀,且精密度和准确性均较高,明显改善现有胶体金试纸条T线显色不均匀,以及由显色不均匀导致的定量检测结果准确性较低的问题。

[0011] 一些实施方案中,所述氨基酸溶液由亮氨酸、苯丙氨酸、苏氨酸、赖氨酸、天冬氨酸和防腐剂的PBS缓冲液组成。

[0012] 一些实施方案中,所述氨基酸溶液为含0.05-0.2%亮氨酸、0.05-0.2%苯丙氨酸、0.05-0.2%苏氨酸、0.05-0.2%赖氨酸、0.05-0.2%天冬氨酸和0.1-0.3%叠氮钠的pH7.2-7.4的0.01MPBS缓冲液。

[0013] 一些具体实施例中,所述氨基酸溶液为含0.1%亮氨酸、0.1%苯丙氨酸、0.1%苏氨酸、0.1%赖氨酸、0.1%天冬氨酸和0.2%叠氮钠的pH7.4的0.01M PBS缓冲液。

[0014] 一些实施方案中,所述缓冲垫包被的缓冲溶液为含1%聚乙二醇辛基苯基醚、1%牛血清白蛋白的0.1mol/L磷酸盐缓冲溶液。

[0015] 本发明中,胶体金结合垫上包被有与所述抗原结合的标记抗体。一些实施方案中,所述标记抗体为胶体金标记的单克隆抗体。

[0016] 本发明中,所述人工合成抗原为农兽药及非法添加物与载体蛋白的偶联物。

[0017] 一些具体实施例中,所述农兽药及非法添加物为黄曲霉毒素B1、氯霉素、盐酸克伦特罗或咪喃唑酮代谢物。

[0018] 一些实施方案中,所述载体蛋白为牛血清白蛋白、卵清蛋白、血蓝蛋白中的一种。

[0019] 一些实施方案中,所述氨基酸线与所述检测线的距离为4~6mm。

[0020] 一些实施方案中,所述底板为PVC板,所述样品垫、缓冲垫和胶体金结合垫由玻璃纤维制成,所述反应膜为NC膜。

[0021] 本发明胶体金试纸条中,样品垫、胶体金结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫相邻各部分间有1~2mm的重叠。其目的的一方面是保证层析作用从样品垫到吸水垫部位顺利进行,另

一方面是为了使样品溶液从样品垫经金标结合垫至反应膜有充分反应时间,保证样品溶液中的有效成分与金标结合垫中的金标抗体顺利发生反应。

[0022] 本发明还提供了所述胶体金试纸条的制备方法,包括:

[0023] 制备胶体金颗粒;用胶体金颗粒标记与所述抗原结合的抗体,获得标记抗体;将所述标记抗体包被到结合垫上干燥,获得胶体金结合垫;将玻璃纤维膜经缓冲溶液浸泡后烘干,获得缓冲垫;

[0024] 将抗原、羊抗鼠IgG二抗沿层析方向依次包被到反应膜上,分别作为检测线、质控线;

[0025] 制备氨基酸溶液,将所述氨基酸溶液包被到反应膜靠近胶体金结合垫的一端,获得氨基酸线,所述氨基酸线与所述检测线的距离为4~6mm;

[0026] 将样品垫、胶体金结合垫、缓冲垫、反应膜和吸水垫黏贴到底板上,获得所述胶体金试纸条。

[0027] 本发明还提供一种胶体金试剂板,包括本发明胶体金试纸条和包裹胶体金试纸条的塑料外壳11,塑料外壳11上设有加样孔S和观察窗12。塑料外壳11起固定胶体金试纸条及标示功能。使用时,通过加样孔S将待测样本滴在胶体金试纸条的样品垫1上,静置等待几分钟后通过观察窗12观察C线和T线的显色情况,按照判读方法定性地判定检测样本中农兽药及非法添加物情况,结合胶体金读数仪可定量检测农兽药及非法添加物的含量。当小分子药物为药物时,该胶体金试纸条可定性、定量地检测待测样本中药物残留情况。

[0028] 本发明胶体金试纸条基于竞争法原理,样本中的农兽药及非法添加物及其试剂与检测线上的人工抗原竞争结合胶体金结合垫上的标记抗体,检测线上的显色程度与待测样本中农兽药及非法添加物含量成反比。

[0029] 定性检测结果的读取判读方法:当样本中不含被检测农兽药及非法添加物或者被检测农兽药及非法添加物含量低于检测限时,试纸条的T线显色比C线强或者一样强,为阴性;T线没有显色或显色比C线弱,为阳性;C线不显色,不论T有无显色,试纸条均为无效。

[0030] 本发明提供一种检测农兽药及非法添加物的胶体金试纸条及其制备方法,所述胶体金试纸条包括底板和底板上依次紧密连接的样品垫、胶体金结合垫、缓冲垫、反应膜、吸水垫;所述反应膜上沿层析方向依次设有氨基酸线、检测线和质控线;所述检测线上包被有抗原,所述胶体金结合垫上包被有与所述抗原结合的标记抗体;所述氨基酸线包被有氨基酸溶液。与现有的胶体金试纸条相比,本发明试纸条具有灵敏度高、显色均匀、精密度高等优势,且使用操作简便,不需要专业人员操作。

附图说明

[0031] 为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案,下面将对实施例或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图仅仅是本发明的实施例,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据提供的附图获得其他的附图。

[0032] 图1为本发明胶体金试纸条的结构示意图和俯视图;

[0033] 其中,1示样品垫,2示胶体金结合垫,3示缓冲垫,4示反应膜,5示氨基酸线,6示检测线,7示质控线,8示吸水垫,9示不干胶,10示PVC底板;

[0034] 图2为本发明胶体金试剂板的操作示意图;其中,S示加样孔,6示检测线,7示质控线,11示塑料外壳,12示观察窗;

[0035] 图3为本发明胶体金试纸条和试剂板的结果判断示意图,其中T为检测线,C为质控线;T线显色比C线深或者显色强度一样,为阴性;T线没有显色或显色比C线浅,为阳性;C线不显色,为无效;

[0036] 图4为采用传统胶体金试纸条和本发明胶体金试纸条对氯霉素的检测结果比较,其中,4-a~4-b为五种氨基酸浓度均为0.05%的检测结果,4-c~4-d为五种氨基酸浓度均为0.1%的检测结果,4-e~4-f为五种氨基酸浓度均为0.2%的检测结果;

[0037] 图5为传统胶体金试纸条的结构示意图;其中,1示样品垫,2示胶体金结合垫,3示反应膜,4示检测线,5示质控线,6示吸水垫,7示PVC底板;

[0038] 图6为不同浓度氨基酸线对黄曲霉毒素B1胶体金试纸条显色的影响,6-a 为传统胶体金试纸条的检测结果,6-b为本发明胶体金试纸条的检测结果;

[0039] 图7为采用传统胶体金试纸条和本发明胶体金试纸条对盐酸克伦特罗的检测结果比较,7-a~7-b为传统胶体金试纸条的检测结果,7-c~7-d为本发明胶体金试纸条的检测结果;

[0040] 图8为采用传统胶体金试纸条和本发明胶体金试纸条对氯霉素的检测结果比较,8-a~8-b为传统胶体金试纸条的检测结果,8-c~8-d为本发明胶体金试纸条的检测结果;

[0041] 图9为采用传统胶体金试纸条和本发明胶体金试纸条对呋喃唑酮代谢物的检测结果比较,9-a~9-b为传统胶体金试纸条的检测结果,9-c~9-d为本发明胶体金试纸条的检测结果。

具体实施方式

[0042] 本发明公开了一种检测农兽药及非法添加物的胶体金试纸条及其制备方法,本领域技术人员可以借鉴本文内容,适当改进工艺参数实现。特别需要指出的是,所有类似的替换和改动对本领域技术人员来说是显而易见的,它们都被视为包括在本发明。本发明的方法及应用已经通过较佳实施例进行了描述,相关人员明显能在不脱离本发明内容、精神和范围内对本文所述的方法和应用进行改动或适当变更与组合,来实现和应用本发明技术。

[0043] 对所公开的实施例的说明,使本领域专业技术人员能够实现或使用本发明。对这些实施例的多种修改对本领域的专业技术人员来说将是显而易见的,本文中所定义的一般原理可以在不脱离本发明的精神或范围的情况下,在其它实施例中实现。因此,本发明将不会被限制于本文所示的这些实施例,而是要符合与本文所公开的原理和新颖特点相一致的最宽的范围。

[0044] 本发明提供的检测农兽药及非法添加物的胶体金试纸条及其制备方法中,采用的试剂、材料、仪器皆为普通市售品,皆可于市场购得。

[0045] 下面结合实施例,进一步阐述本发明:

[0046] 实施例1本发明胶体金试纸条的制备

[0047] 1) 样品垫的制备:由玻璃纤维膜经缓冲溶液浸泡后烘干制得,具体制备方法为:用样品垫处理液浸泡15分钟以上,放置37℃的干燥箱或烘房中,烘至16小时以上。样品垫处理液制备方法:称取38.137g $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 、10g PVP、1g BSA、10mL Triton X-100,加1L H_2O

溶解、调节pH9.3。

[0048] 2) 胶体金结合垫的制备:由玻璃纤维膜经缓冲溶液浸泡后烘干制得,具体制备方法为:用样品垫处理液浸泡30分钟以上,放置37℃的干燥箱或烘房中,烘至16小时以上。金标抗体结合垫处理液的配制方法:称取5gPVA、7.1g Na₂HPO₄、5g BSA、1mLTriton X-100,加1LH₂O溶解,调节pH至7.4。制备胶体金颗粒,用胶体金颗粒标记与检测线抗原结合的抗体,按照反复调试确定好的金标抗体喷量,用点金机将金标抗体包被到结合垫上。

[0049] 3) 缓冲垫的制备:用0.1mol/L磷酸盐缓冲溶液(PBS)+1%聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)+1%牛血清白蛋白(BSA)混合溶液浸泡玻璃纤维膜后晾干制得。

[0050] 4) C线、T线的包被:按照反复调试确定好的C线羊抗鼠IgG的工作浓度、喷量,T线特异性结合抗原的工作浓度、喷量,用点膜机将羊抗鼠IgG、特异性结合抗原包被到硝酸纤维素膜上作为C线、T线。

[0051] 5) 氨基酸线的包被:制备氨基酸溶液(0.1%亮氨酸、0.1%苯丙氨酸、0.1%苏氨酸、0.1%赖氨酸、0.1%天冬氨酸和、0.2%叠氮钠和余量PBS(0.01MpH7.4),将所述氨基酸溶液包被到反应膜靠近胶体金结合垫的一端,获得氨基酸线,所述氨基酸线与所述检测线的距离为4~6mm;

[0052] 6) 试剂条的组装:将样品垫、胶体金结合垫、缓冲垫、硝酸纤维素膜、吸水垫依次黏贴于PVC底衬上,组成试剂卡,用切割机将卡片分切成试纸条。

[0053] 结构示意图如图1所示。

[0054] 参见图1,本发明胶体金试纸条包括底板10和底板10上依次紧密连接的样品垫1、胶体金结合垫2、缓冲垫3、反应膜4、吸水垫8、不干胶9;所述胶体金结合垫1上包被有与所述农兽药及非法添加物结合的标记抗体;所述缓冲垫3包被有缓冲溶液;所述反应膜4上沿层析方向依次设有氨基酸线5、检测线6和质控线7;所述氨基酸线5包被有氨基酸溶液;所述检测线6上包被有人工合成抗原;所述质控线7上包被有可与所述标记抗体结合的羊抗鼠IgG二抗。

[0055] 本发明胶体金试剂板的操作流程见图2,其中,S示加样孔,6示检测线,7示质控线,11示塑料外壳,12示观察窗。

[0056] 本发明胶体金试纸条的判读方法见图3,其中T为检测线,C为质控线;当样本中不含被测农兽药及非法添加物或者农兽药及非法添加物含量低于检测限时,试纸条的T线显色比C线强或者一样强,为阴性;T线没有显色或显色比C线弱,为阳性;C线不显色,不论T有无显色,试纸条均为无效。

[0057] 实施例2不同浓度氨基酸溶液包被的氨基酸线的优化

[0058] 以氯霉素为待测农兽药及非法添加物,对氨基酸溶液浓度进行优化。考察了氨基酸溶液中五种氨基酸溶液浓度均为0.05%、均为0.1%和均为0.2%时对氯霉素试纸条显色的影响。其余按照实施例1的方法制备试纸条。结果见图4。

[0059] 实验结果表明,以0.1%氨基酸溶液浓度包被氨基酸线制备的胶体金试纸条,T线显色清晰,显色更加均匀。

[0060] 实施例3精密度检测实验

[0061] 以黄曲霉毒素B1为待测农兽药及非法添加物,按照实施例1的方法制备检测黄曲霉毒素B1的胶体金试纸条,检测浓度为0ppb、0.5ppb、1ppb、2ppb、4ppb和8ppb的黄曲霉毒素

B1溶液,用胶体金读数仪测定检测数据。根据4次的测量结果,计算变异系数(CV)。

[0062] 同时,利用传统胶体金试纸条(结构见图5)对待测样本进行检测,结果见表1~2。

[0063] 表1传统胶体金试纸条检测结果

样本浓度 (ppb)	T/C 比值					CV (%)
	测试 1	测试 2	测试 3	测试 4	平均值	
0	2.167	2.588	2.422	2.063	2.310	10.34
0.5	1.769	1.579	1.836	1.694	1.720	6.41
1	1.256	1.105	1.338	1.396	1.274	9.91
2	0.892	0.657	0.798	0.926	0.818	14.71
4	0.532	0.421	0.587	0.396	0.484	18.72
8	0.261	0.196	0.312	0.288	0.264	18.96

[0065] 表2本发明胶体金试纸条检测结果

样本浓度 (ppb)	T/C 比值					CV (%)
	测试 1	测试 2	测试 3	测试 4	平均值	
0	2.179	2.225	2.142	2.188	2.184	1.56
0.5	1.685	1.726	1.655	1.701	1.692	1.76
1	1.288	1.366	1.308	1.354	1.329	2.79
2	0.836	0.806	0.850	0.824	0.829	2.25
4	0.457	0.426	0.448	0.437	0.442	3.04
8	0.216	0.241	0.236	0.207	0.225	7.18

[0067] 由表1~2的检测结果显示,本发明胶体金试纸条的变异系数在1.5~7.2%之间,明显小于传统胶体金试纸条的变异系数,表明本发明试纸条具有较高的精密性。

[0068] 实施例4本发明胶体金试纸条

[0069] 分别以黄曲霉毒素B1、盐酸克伦特罗、氯霉素、呋喃唑酮代谢物为待测农兽药及非法添加物,按照实施例1的方法制备得到本发明用于检测黄曲霉毒素B1、盐酸克伦特罗、氯霉素、呋喃唑酮,结构示意图见图1。

[0070] 实施例5传统胶体金试纸条和本发明胶体金试纸条对小分子药物检测显色的比较实验

[0071] 制备用于检测黄曲霉毒素B1、盐酸克伦特罗、氯霉素、呋喃唑酮代谢物的四种传统胶体金试纸条,结构示意图见图5。

[0072] 利用传统胶体金试纸条与实施例4胶体金试纸条分别对黄曲霉毒素B1、盐酸克伦特罗、氯霉素、呋喃唑酮代谢物进行检测,结果见图6~9。

[0073] 由图6~9可知,相比传统胶体金试纸条,本发明胶体金试纸条添加氨基酸线后显色更加清晰、均匀,适用于黄曲霉毒素B1、盐酸克伦特罗、氯霉素、呋喃唑酮代谢物的检测。

[0074] 实施例6传统胶体金试纸条和本发明胶体金试纸条的灵敏度比较实验

[0075] 以氯霉素免疫胶体金试剂板为例,对比传统的不使用缓冲垫(结构见图5)和本申

请实施例1使用缓冲垫的试剂板(结构见图1)的灵敏度,在阴性溶液中加入氯霉素标准品溶液至终浓度为0.05、0.1、0.2和0.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$,分别滴定有缓冲垫的试剂板和无缓冲垫的试剂板,用胶体金读数仪测定检测数据和检测结果,实验结果见表3。

[0076] 表3灵敏度试验结果

添标情况	本发明实施例1有缓冲垫的试剂板				传统无缓冲垫的试剂板			
	C线数值	T线数值	T/C值	检测结果	C线数值	T线数值	T/C值	检测结果
0	205.0	572.6	2.793	阴性	235.1	517.1	2.199	阴性
0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$	257.9	202.5	0.785	阳性	332.7	339.4	1.020	阴性
0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$	284.8	153.8	0.540	阳性	350.4	188.8	0.539	阳性
0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$	395.1	144.6	0.366	阳性	302.4	150.9	0.499	阳性
0.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$	403.2	62.1	0.154	阳性	430.3	83.9	0.195	阳性

[0078] 由表3实验数据可以看出,本发明使用有缓冲垫的试剂板的检出限明显低于不使用缓冲垫的传统试剂板的检出限。

[0079] 以上所述仅是本发明的优选实施方式,应当指出,对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明原理的前提下,还可以做出若干改进和润饰,这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。

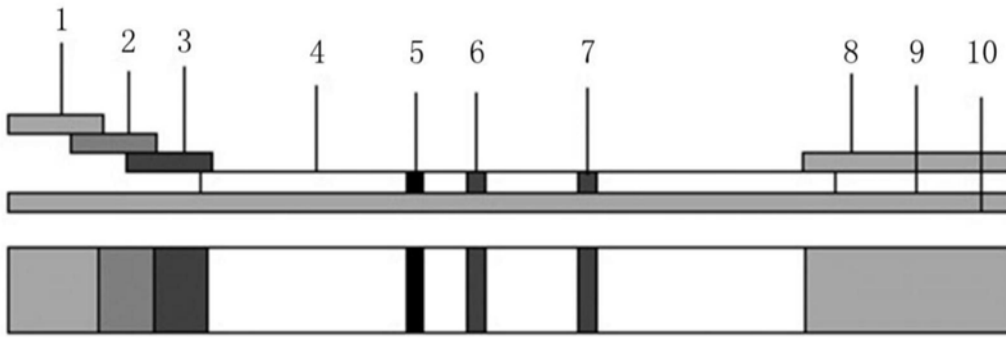


图1

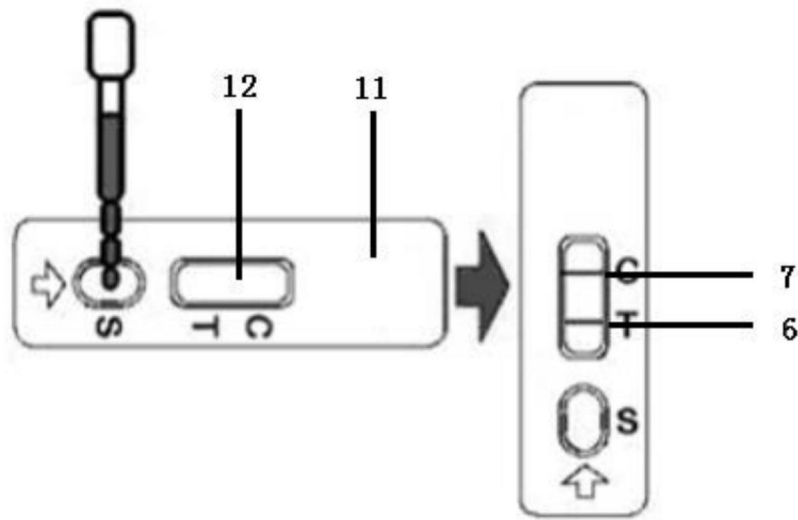


图2

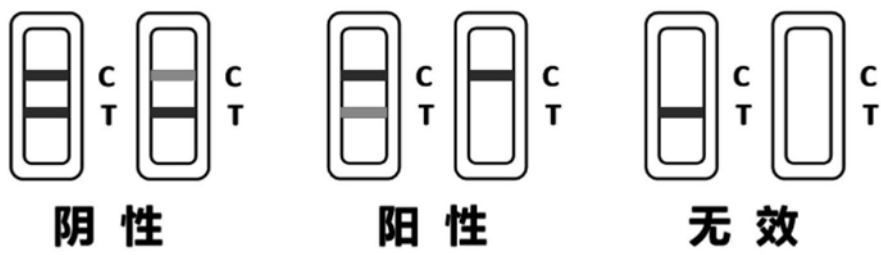


图3

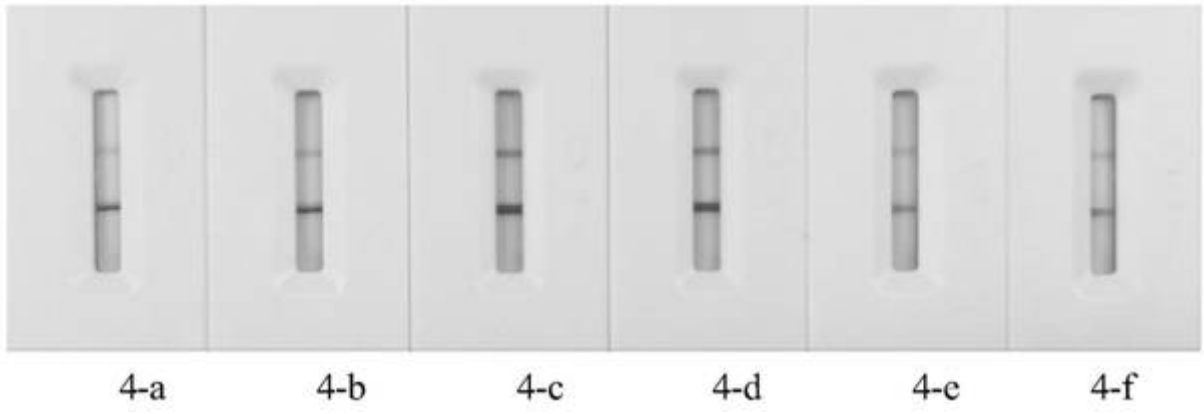


图4



图5

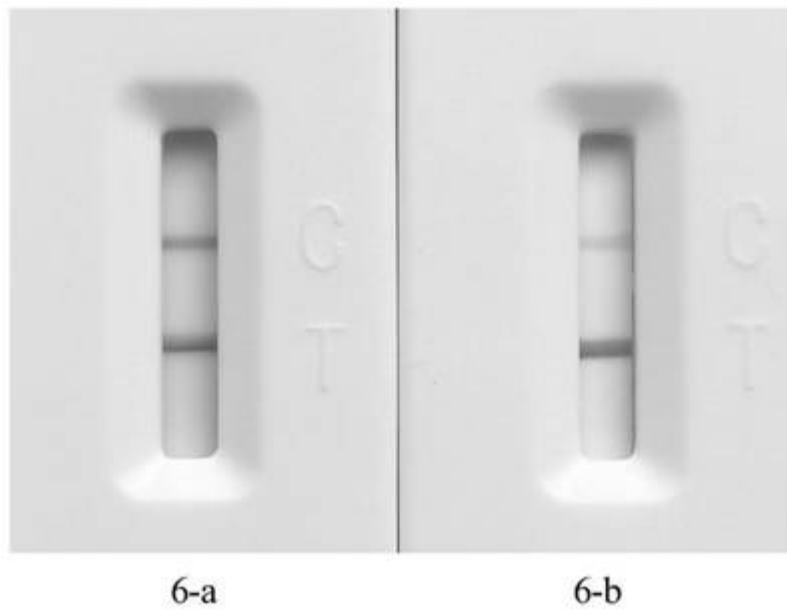


图6

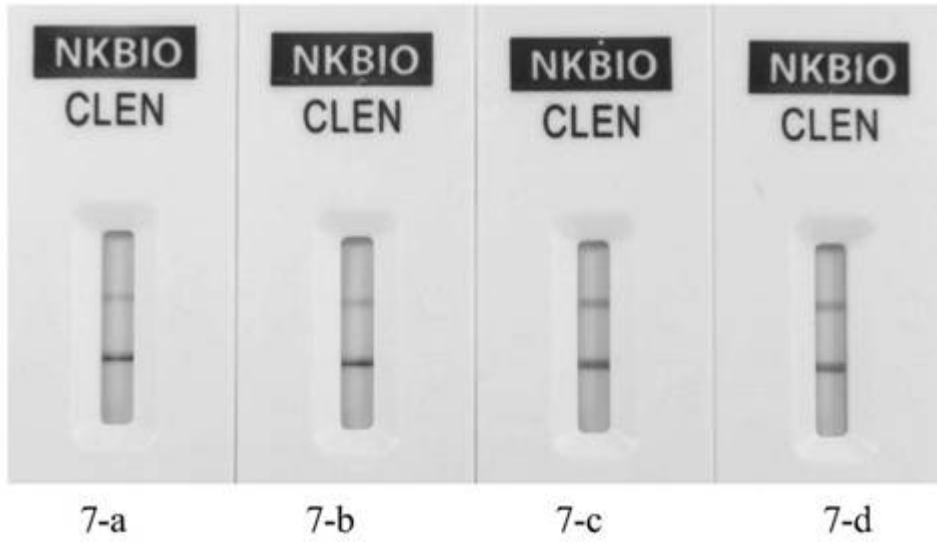


图7

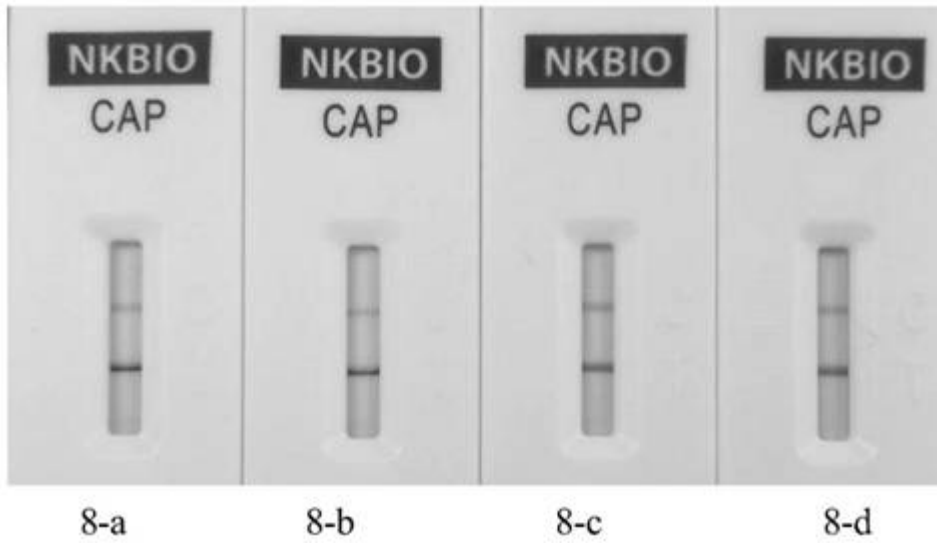


图8

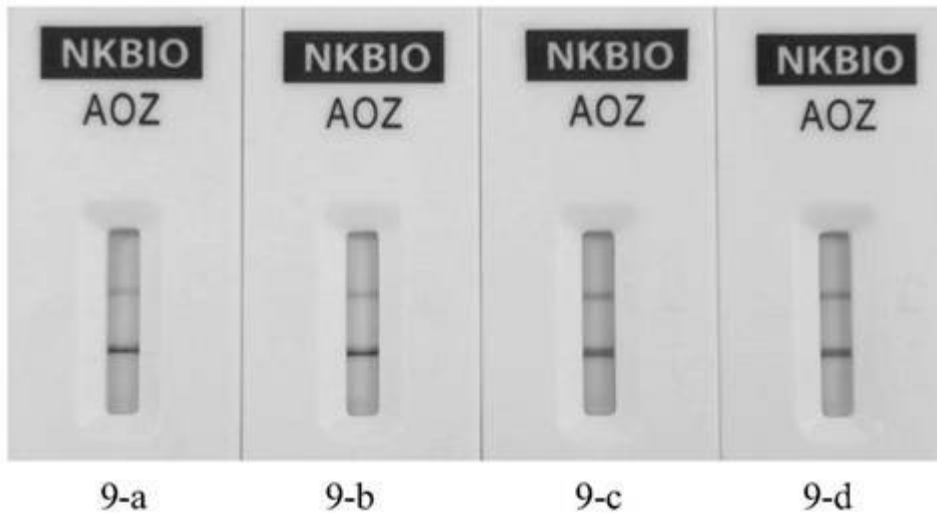


图9

专利名称(译)	一种检测农兽药及非法添加物的胶体金试纸条及其制备方法		
公开(公告)号	CN111089966A	公开(公告)日	2020-05-01
申请号	CN201911410989.2	申请日	2019-12-31
[标]申请(专利权)人(译)	杭州南开日新生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	杭州南开日新生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	杭州南开日新生物技术有限公司		
[标]发明人	桑丽雅 陈笑笑 王振国 王伟萍 陈青舟 张少恩 叶茂 李开扬		
发明人	桑丽雅 陈笑笑 王振国 王伟萍 陈青舟 张少恩 陶润华 叶茂 李开扬		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/558 G01N33/53		
代理人(译)	王欢		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及生物检测领域，特别涉及一种检测农兽药及非法添加物的胶体金试纸条及其制备方法。该试纸条包括底板和底板上依次紧密连接的样品垫、胶体金结合垫、缓冲垫、反应膜、吸水垫、不干胶；所述胶体金结合垫上包被有可与所述农兽药及非法添加物结合的标记抗体；所述缓冲垫包被有缓冲溶液；所述反应膜上沿层析方向依次设有氨基酸线、检测线和质控线；所述氨基酸线包被有氨基酸溶液；所述检测线上包被有人工合成抗原，所述质控线上包被有可与所述标记抗体结合的羊抗鼠IgG二抗。本发明试纸条能够快速用于农兽药及非法添加物的检测，灵敏度高准确性好、精密度高、显色均匀，有效地解决了现有产品灵敏度低差、显色不均、准确性不够的问题。

