



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109917123 A

(43)申请公布日 2019.06.21

(21)申请号 201910317520.8

(22)申请日 2019.04.19

(71)申请人 广州安诺科技股份有限公司

地址 510663 广东省广州市高新技术产业
开发区科学城揽月路3号广州国际企
业孵化器G区G204号房

(72)发明人 杨松林 王军 马丽 张祺
吕丽珊

(74)专利代理机构 深圳市君胜知识产权代理事
务所(普通合伙) 44268

代理人 王永文 刘文求

(51)Int.Cl.

G01N 33/533(2006.01)

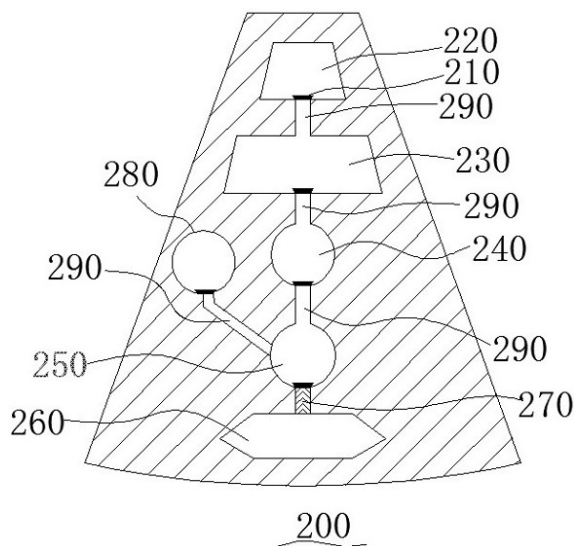
权利要求书2页 说明书8页 附图6页

(54)发明名称

一种基于DELFI A的农残检测装置及检测方法

(57)摘要

本发明提供一种基于DELFI A的农残检测装置及检测方法,包括离心盘和荧光检测机构的分析仪,固定设置在离心盘上并通过离心作用获取检验液的微流控芯片;所述微流控芯片内部沿离心盘的径向由内至外依次设置有样品孔、过滤孔、第一反应孔、第二反应孔以及废液孔;样品孔、过滤孔、第一反应孔、第二反应孔以及废液孔之间依次通过微流道连通,在各微流道口分别设置有不同厚度的糖膜,不同厚度的糖膜根据不同的离心转速而分别开启微流道;所述样品孔用于容纳农残检验液的样品溶液并通过离心转动而搅拌均匀;从而检测出农作物样品中的有害成份含量,整个过程手动操作工序少,且操作简单,实现农残样品溶液的快速检测。



1. 一种基于DELFI A的农残检测装置, 包括带有离心盘和荧光检测机构的分析仪, 其特征在于: 还包括有固定设置在离心盘上并通过离心作用获取检验液的微流控芯片;

所述微流控芯片内部沿离心盘的径向由内至外依次设置有样品孔、过滤孔、第一反应孔、第二反应孔以及废液孔;

样品孔、过滤孔、第一反应孔、第二反应孔以及废液孔之间依次通过微流道连通, 在各微流道口分别设置有不同厚度的糖膜, 不同厚度的糖膜根据不同的离心转速而分别开启微流道;

所述样品孔用于容纳农残检验液的样品溶液并通过离心转动而搅拌均匀;

所述过滤孔用于接收所述样品孔中的样品溶液并过滤掉高分子杂质以及吸附脂溶性杂质;

所述第一反应孔用于接收所述过滤孔中的样品溶液且使样品溶液中抗原与位于第一反应孔内的荧光螯合试剂标记抗体进行特异性免疫反应;

所述第二反应孔用于接收所述第一反应孔中的样品溶液, 通过固定在第二反应孔中的抗原捕捉溶液中剩余的所有未被反应的螯合试剂标记的抗体;

所述废液孔用于接收所述第二反应孔中的多余废液;

所述第二反应孔与所述废物室之间的微流道内设置有填料, 所述填料通过吸水后膨胀而堵塞第二反应孔通往废液孔之间的微流道而分离第二反应孔内的带荧光标记的免疫复合物和废液孔内的废液。

2. 根据权利要求1所述的基于DELFI A的农残检测装置, 其特征在于: 所述过滤孔内设置有多层用于过滤掉高分子杂质的滤膜, 所述相连两滤膜之间设置有用于吸附脂溶性杂质的过滤填料层。

3. 根据权利要求2所述的基于DELFI A的农残检测装置, 其特征在于: 所述第一反应孔的底面均匀铺设冻干的荧光螯合试剂标记抗体; 所述荧光螯合试剂为DTTA-Eu螯合试剂。

4. 根据权利要求3所述的基于DELFI A的农残检测装置, 其特征在于: 所述第二反应孔的表面固化设置有BSA偶联的抗原层。

5. 根据权利要求1所述的基于DELFI A的农残检测装置, 其特征在于: 所述第二反应孔的一侧通过微流道连通有复溶液孔, 微流道的一端设置有用以启闭微流道的第五糖膜, 所述复溶液孔用于容纳复溶液和荧光增强液。

6. 根据权利要求5所述的基于DELFI A的农残检测装置, 其特征在于: 所述第一反应孔设置有多组, 多组第一反应孔通过单个微流道与过滤孔相连通, 所述第二反应孔与第一反应孔对应设置有多组。

7. 根据权利要求1所述的基于DELFI A的农残检测装置, 其特征在于: 所述微流控芯片外形轮廓为扇形, 扇形微流控芯片设置有多组并以离心盘的旋转中心围成一个圆。

8. 一种基于DELFI A的农残检验液的检验方法, 其特征在于: 适用于如权利要求1-7任一所述的农残检测装置, 包括有步骤:

将农产品的样品溶液加入到微流控芯片中的样品孔;

密封样品孔;

将微流控芯片固定安装在离心盘上;

启动离心盘对微流控芯片进行离心操作;

溶液完成离心操作后开启荧光检测机构对第二反应孔发射激发光；
测量发射光并结合预定曲线计算样品中的抗原浓度。

9. 根据权利要求8所述的基于DELFIA的农残检验液的检测方法, 其特征在于, 在所述启动离心盘对微流控芯片进行离心操作的步骤中具体包括:

离心盘按第一速度正反向交替转动使样品孔与过滤孔之间的微流道口的糖膜被冲破且样品溶液通过过滤孔;

离心盘按第二速度反向转动使过滤孔与第一反应孔之间的微流道口的糖膜被冲破且样品溶液进入第一反应孔;

离心盘按第三速度正向转动使样品溶液在第一反应孔内混合反应;

离心盘按第四速度正向转动使第一反应孔与第二反应孔之间的微流道口的糖膜被冲破且样品溶液进入第一反应孔;

离心盘按第五速度反向转动使样品溶液在第二反应孔内混合反应;

离心盘按第六速度反向转动使第二反应孔与废液孔之间的微流道口的糖膜被冲破且多余样品溶液进入废液孔;

离心盘按第七速度反向转动使多余样品溶液完全进入废液孔。

10. 根据权利要求9所述的基于DELFIA的农残检测的方法, 其特征在于, 所述第一速度为1500转/分钟, 正反转各运行时间为1分钟; 所述第二速度为3000转/分钟, 运行时间为1分钟; 所述第三速度为3000转/分钟, 运行时间为1分钟; 所述第四速度为4500转/分钟, 运行时间为1分钟; 所述第五速度为4500转/分钟, 运行时间为1分钟; 所述第六速度为6000转/分钟, 运行时间为1分钟; 所述第七速度为6000转/分钟, 运行时间为1分钟。

一种基于DELFI A的农残检测装置及检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及农药残留检验领域,尤其涉及的是一种基于DELFI A的农残检测装置及检测方法。

背景技术

[0002] 农业产业化发展使农产品的生产越来越依赖于农药、抗生素和激素等外源物质。我国农药在农产品的用量居高不下,而这些物质的不合理使用必将导致农产品中的农药残留超标,影响消费者食用安全,严重时会造成消费者致病、发育不正常,甚至直接导致中毒死亡。农药残留超标也会影响农产品的贸易,世界各国对农药残留问题高度重视,对各种农副产品中农药残留都规定了越来越严格的限量标准,使中国农产品出口面临严峻的挑战。

[0003] 目前农药残留快速检测方法种类繁多,主要有酶法,酶联免疫法以及胶体金法,三种方法均是通过一步步加入不同的化学物质,分步反应,最后得到检验液,再进行检验分析,对比得到结果。农残的酶联免疫法检验原理为:在一定条件下,有机磷和氨基甲酸酯类农药对胆碱酯酶正常功能有抑制作用,其抑制率与农药的浓度呈正相关。正常情况下,酶催化神经传导代谢产物(乙酰胆碱)水解,其水解产物与显色剂反应,产生黄色物质,用分光光度计测定412nm下吸光度随时间的变化值,计算出抑制率,通过抑制率可以判断出样品中是否含有有机磷或氨基甲酸酯类农药的残留。在实现过程中的试剂步骤为:配置缓冲液:取1包缓冲剂加入500mL蒸馏水或纯净水中,搅拌溶解制成磷酸缓冲液(pH7.6),常温保存。配置显色剂:取1瓶显色剂加25mL缓冲液溶解,使用时取100 μ L,4℃冰箱保存。配置底物:取1瓶底物加12.5mL蒸馏水或纯净水溶解,使用时取100 μ L,4℃冰箱保存;或取1瓶底物加2.5mL蒸馏水或纯净水溶解,使用时取20 μ L,4℃冰箱保存。配置胆碱酯酶:使用时取100 μ L,4℃冰箱保存。

[0004] 上述方法在操作时每一步都需要加入试剂再按标准进行操作,从而导致使用较多的试剂且步骤很多,操作复杂。

[0005] 因此,现有技术还有待于改进和发展。

发明内容

[0006] 本发明要解决的技术问题在于,针对现有技术的上述缺陷,提供一种基于DELFI A的农残检测装置及检测方法,能够简化农残检测步骤,优化检测方式,实现农残快速检测。

[0007] 本发明解决技术问题所采用的技术方案如下:

一种基于DELFI A的农残检测装置包括带有离心盘和荧光检测机构的分析仪,固定设置在离心盘上并通过离心作用获取检验液的微流控芯片;

所述微流控芯片内部沿离心盘的径向由内至外依次设置有样品孔、过滤孔、第一反应孔、第二反应孔以及废液孔;

样品孔、过滤孔、第一反应孔、第二反应孔以及废液孔之间依次通过微流道连通,在各

微流道口分别设置有不同厚度的糖膜,不同厚度的糖膜根据不同的离心转速而分别开启微流道;

所述样品孔用于容纳农残检验液的样品溶液并通过离心转动而搅拌均匀;

所述过滤孔用于接收所述样品孔中的样品溶液并过滤掉高分子杂质以及吸附脂溶性杂质;

所述第一反应孔用于接收所述过滤孔中的样品溶液且使样品溶液中抗原与位于第一反应孔内的荧光螯合试剂标记抗体进行特异性免疫反应;

所述第二反应孔用于接收所述第一反应孔中的样品溶液,通过固定在第二反应孔中的抗原捕捉溶液中剩余的所有未被反应的螯合试剂标记的抗体;

所述废液孔用于接收所述第二反应孔中的多余废液;

所述第二反应孔与所述废物室之间的微流道内设置有填料,所述填料通过吸水后膨胀而堵塞第二反应孔通往废液孔之间的微流道而分离第二反应孔内的带荧光标记的免疫复合物和废液孔内的废液。

[0008] 进一步,所述过滤孔内设置有多层用于过滤掉高分子杂质的滤膜,所述相连两滤膜之间设置有用以吸附脂溶性杂质的过滤填料层。

[0009] 进一步,所述第一反应孔的底面均匀铺设冻干的荧光螯合试剂标记抗体;所述荧光螯合试剂为DTTA-Eu螯合试剂。

[0010] 进一步,所述第二反应孔的表面固化设置有BSA偶联的抗原层。

[0011] 进一步,所述第二反应孔的一侧通过微流道连通有复溶液孔,微流道的一端设置有用以启闭微流道的第五糖膜,所述复溶液孔用于容纳复溶液和荧光增强液。

[0012] 进一步,所述第一反应孔设置有多,多个第一反应孔通过单个微流道与过滤孔相连通,所述第二反应孔与第一反应孔对应设置有多。

[0013] 进一步,所述微流控芯片外形轮廓为扇形,扇形微流控芯片设置有多并以离心盘的旋转中心围成一个圆。

[0014] 一种基于DELFI的农残检验液的检验方法,适用于如上所述的农残检测装置,包括有步骤:

将农产品的样品溶液加入到微流控芯片中的样品孔;

密封样品孔;

将微流控芯片固定安装在离心盘上;

启动离心盘对微流控芯片进行离心操作;

溶液完成离心操作后开启荧光检测机构对第二反应孔发射激发光;

测量发射光并结合预定曲线计算样品中的抗原浓度。

[0015] 进一步,在所述启动离心盘对微流控芯片进行离心操作的步骤中具体包括:

离心盘按第一速度正反向交替转动使样品孔与过滤孔之间的微流道口的糖膜被冲破且样品溶液通过过滤孔;

离心盘按第二速度反向转动使过滤孔与第一反应孔之间的微流道口的糖膜被冲破且样品溶液进入第一反应孔;

离心盘按第三速度正向转动使样品溶液在第一反应孔内混合反应;

离心盘按第四速度正向转动使第一反应孔与第二反应孔之间的微流道口的糖膜被冲

破且样品溶液进入第一反应孔；

离心盘按第五速度反向转动使样品溶液在第二反应孔内混合反应；

离心盘按第六速度反向转动使第二反应孔与废液孔之间的微流道口的糖膜被冲破且多余样品溶液进入废液孔；

离心盘按第七速度反向转动使多余样品溶液完全进入废液孔。

[0016] 进一步,所述第一速度为1500转/分钟,正反转各运行时间为1分钟;所述第二速度为3000转/分钟,运行时间为1分钟;所述第三速度为3000转/分钟,运行时间为1分钟;所述第四速度为4500转/分钟,运行时间为1分钟;所述第五速度为4500转/分钟,运行时间为1分钟;所述第六速度为6000转/分钟,运行时间为1分钟;所述第七速度为6000转/分钟,运行时间为1分钟。

[0017] 采用上述方案的有益效果是:本发明提出的一种基于DELFI A的农残检测装置及检测方法,通过在一个微流控芯片内设置不同的腔室并通过不同的糖膜依次开启不同腔室与样品溶液进行反应,从而使现有复杂的配料过程集成在不同腔室中,从而只需要添加农产品的待测溶液(样品溶液)就能离心得到时间免疫荧光层析法所需要的检测液,使操作步骤简单,试剂消耗少。且本方法中采用微流道进行管道连通,从而实现精细控制,相比人工加样定量更为精确,溶液量只需进样50-100微升,包埋约200微升反应试剂,从而减少试剂的浪费,检测限最低可至PPt级别,检测结果重现性好,且反应盒可保存,各腔室独立设置,避免交叉污染,结果可重现。

附图说明

[0018] 图1是本发明一种基于DELFI A的农残检测装置实施例的结构示意图。

[0019] 图2是本发明一种基于DELFI A的农残检测装置实施例的正视图。

[0020] 图3是本发明一种基于DELFI A的农残检测装置实施例的微流控芯片剖视图。

[0021] 图4是本发明一种基于DELFI A的农残检测装置实施例的微流控芯片剖视图。

[0022] 图5是本发明另一种基于DELFI A的农残检测装置实施例的过滤孔剖视图。

[0023] 图6是本发明另一种基于DELFI A的农残检测装置实施例的微流控芯片剖视图。

[0024] 图7是本发明一种基于DELFI A的农残检测液的检测方法的流程图。

[0025] 图中:100、离心盘;200、微流控芯片;210、糖膜;211、第一糖膜;212、第二糖膜;213、第三糖膜;214、第四糖膜;215、第五糖膜;220、样品孔;230、过滤孔;231、滤膜;232、过滤填料层;240、第一反应孔;250、第二反应孔;260、废液孔;270、填料;280、复溶液孔;290、微流道;300、夹具;400、荧光检测机构。

具体实施方式

[0026] 为使本发明的目的、技术方案及优点更加清楚、明确,以下参照附图并举实施例对本发明进一步详细说明。应当理解,此处所描述的具体实施例仅仅用以解释本发明,并不用于限定本发明。

[0027] 如图1、图2所示,一种基于DELFI A的农残检测装置,包括带有离心盘100和荧光检测机构400的分析仪,离心盘100实现离心转动,荧光检测机构400用于荧光检测。本实施例中的离心盘100与水平方向成一定角度设置,工作时呈上下倾斜状态,在离心盘100上通过

夹具300固定安装有微流控芯片200,放在微流控芯片200中的农产品溶液通过离心作用分别与微流控芯片200中的物质化学反应,从而获得需要的检验液,直接通过激发光照射检验液,再分析对比,从而获得结果。

[0028] 如图3、图4所示,微流控芯片200内沿离心盘100的径向由内至外依次设置有样品孔220、过滤孔230、第一反应孔240、第二反应孔250以及废液孔260;各室之间依次通过微流道290连通,为便于离心时液体流出,各微流道290设置在各孔连接面的中间位置,且微流道290直径为2微米,从而通过精细孔而实现精确的流量控制。在各微流道290的流道口分别设置有不同厚度的糖膜210,不同厚度的糖膜210根据不同的离心转速而分别开启微流道290;当离心速度未达到设定值时,糖膜210就无法开启,那么微流道290是堵塞状态,当速度达到糖膜210开启的设定值,糖膜210被大的离心力冲开,使微流道290开启,而不同厚度的糖膜210开启的设定值不同,因此根据不同的转速可以开启相应腔式之间的微流道290,糖膜的主要成份为石蜡和高聚合度的聚乙二醇,靠离心冲击力冲破糖膜,且在糖膜位置的微流道设置因为收窄结构,即在糖膜位置前的微流道有一段比正常微流道窄的流道,如果溶液的离心力不够就无法通过收窄的管道,从而双重保证阻止溶液回流,通过糖膜与收窄管道设计,从而使农产品溶液能与各腔室逐步反应,最后得到想要的农残检测用检验液。

[0029] 样品孔220设置在最靠近离心盘100旋转中心的位置,样品孔220用于容纳农残检验液样品并通过离心转动而搅拌均匀,样品孔220定容为200微升,样品孔220中通过移液枪将农产品样溶液加入,并采用密封膜密封(图中未画出);在样品孔220内加入磨料,磨料为石英砂材质,磨料在运转的过程中受到重力作用会下落,受到离心力会离心,斜面放置的离心盘100使得磨料在两种力的作用下不断上下跳动,从而更利于细胞的充分破壁。样品孔220与过滤孔230之间的糖膜210为第一糖膜211,所述过滤孔230通过微流道290与样品孔220连通,当离心转速达到第一糖膜211开启的设定值时,过滤孔230与样品孔220之间连通,过滤孔230接收所述样品孔220中的样品溶液并过滤掉高分子杂质以及吸附脂溶性杂质。

[0030] 如图5所示,过滤孔230内设置有多层用于过滤掉高分子杂质的滤膜231,所述相连两滤膜231之间设置用于吸附脂溶性杂质的过滤填料层232。本实施例中的滤膜231为油性滤膜231,共设置有5层,滤膜231用于过滤样品溶液中的高分子杂质(如色素、有机酸),过滤填料层232为复合PSA(PSA是一种SPE固相萃取柱的填料270,N-丙基乙二胺固相吸附剂,英文名:primary secondary amine sorbent),用于吸附脂溶性杂质(如叶绿素等);通过多层滤膜231加过滤填料层叠加配合,使样品溶液中干扰检验的高分子杂质和脂溶性杂质能过滤掉,与传统离心分离法可去除更多的杂质;较佳的实施方式中,5层滤膜231斜向放置,即与过滤孔230的水流方向呈一定角度,传统的设置过程中滤膜231与水流方向垂直,但是水流在离心作用下冲击力较大,导致滤膜231被冲破,丧失过滤效果,因此采用倾斜滤膜231设置,能使水流顺着滤膜231流动,起到缓冲水流冲击的作用。每层滤膜231上设置有若干滤孔,每一层的滤孔孔径沿离心盘100的径向从内至外逐层变小,5层滤膜231的滤孔依次分别为100微米、50微米、10微米、5微米以及0.45微米,孔径逐级缩小,使样品溶液逐步过滤,从而使溶液过滤掉的杂质更多,避免后续检验干扰,使实验结果更准确。

[0031] 如图3、图4所示,第一反应孔240通过微流道290与过滤孔230连通,第一反应孔240与过滤孔230之间的糖膜210为第二糖膜212,第二糖膜212的厚度比第一糖膜211厚,连通当离心转速达到第二糖膜212开启的设定值时,第一反应孔240与过滤孔230之间连通,第一反

应孔240接收过滤孔230中的样品溶液且使样品溶液中抗原与通过荧光螯合试剂标记抗体进行免疫反应。具体为第一反应孔240的底面均匀铺设有一层冻干的荧光螯合试剂标记抗体,所述荧光螯合试剂为DTTA-Eu螯合试剂,样品溶液中的抗原与DTTA-Eu标记的抗体进行免疫反应;DTTA-Eu螯合试剂为异硫氰酸苄基二亚乙基三胺四乙酸铈双功能螯合试剂,其一端螯合Eu³⁺而另一端可与蛋白质的-NH₂ 连接。在中性或接近中性pH 条件下,DTTA 与Eu³⁺具有足够的螯合稳定性,而在增强液(呈酸性)作用下,DTTA-Eu 又能将螯合的Eu³⁺迅速、彻底地释放出来并与增强液中的配体螯合,进入胶束的疏水内核,使Eu³⁺荧光得以成千万倍地放大。

[0032] 优选的,在第一反应孔240和微流道290的内表面上镀有一层四氟乙烯薄膜,冻干的增强荧光螯合试剂标记抗体铺设在四氟乙烯薄膜上,增加四氟乙烯薄膜可以防止液体粘连在壁上而使溶液损失,从而导致实验误差,且增加四氟乙烯薄膜可隔绝第一反应孔240中的塑化剂对蛋白的影响,当然实际设置中的四氟乙烯薄膜可以替换为其他类似材料。

[0033] 第二反应孔250通过微流道290与第一反应孔240连通,第二反应孔250与第一反应孔240之间的糖膜210为第三糖膜213,第三糖膜213的厚度比第二糖膜212厚,因此第三糖膜213开启转速设定值比第二糖膜212要高,当离心转速达到第三糖膜213开启的设定值时,第二反应孔250与第一反应孔240之间连通,第二反应孔250接收第一反应孔240中的样品溶液且通过固定的抗原捕捉溶液中剩余的所有未被反应的螯合试剂标记的抗体。具体为,所述第二反应孔250的表面固化设置有BSA偶联的抗原层,通过BSA偶联的抗原层捕获样品溶液中多余DTTA标记的抗体。荧光检测机构400检验第二反应室捕捉的抗体数量,实际为总抗体数减去第二反应室捕捉数,得到第一反应室中反应的抗体,从而推算出第一反应室中反应的抗原数,即样品溶液中的抗原数,从而根据抗原数判断农残情况。

[0034] 废液孔260通过微流道290与第二反应孔250连通,废液孔260与第二反应孔250之间的糖膜210为第四糖膜214,第四糖膜214的厚度比第三糖膜213厚,因此第四糖膜214开启转速设定值比第三糖膜213要高,当离心转速达到第四糖膜214开启的设定值时,废液孔260与第二反应孔250之间连通,废液孔260接收第二反应孔250中的样品溶液,第二反应孔250与所述废物室之间的微流道290内设置有填料270,所述填料270为快速吸水饱和式海藻糖凝胶,填料270通过吸水后膨胀而堵塞第二反应孔250通往废液孔260之间的微流道290而分离第二反应孔250内检验液和废液孔260内的废液;因此当第四糖膜214开启,第二反应孔250的样品溶液进入微流道290,从而溶液中的水份被填料270吸收,填料270在吸收水份的同时,一部分水份和没有与BSA偶联的抗原反应的溶液会流入到废液孔260内成为废液,而第二反应孔250内为需要的检验液,当填料270膨胀完成堵塞微流道290,从而分离第二反应孔250内的检验液和废液孔260内的废液。

[0035] 因此,农产品溶液通过样品室220进行细胞破碎后再通过过滤孔230过滤,再通过第一反应孔240时样品溶液中的抗原与DTTA-Eu标记的抗体进行免疫反应,再通过第二反应孔250中偶联的抗原层捕获样品溶液中多余标记的抗体,从而获得检验溶液,再通过荧光检测机构400发射的激发光透过第二反应孔250的检验溶液,再在特定距离检测发射光的强度,检验出第二反应室捕捉的抗体数量,最后结合预定曲线计算样品中的抗原浓度,从而分析得出农产品中的药残量;本实施例中的发射波长为340nm激发光,发射后400微秒-800微秒内在613nm处测量发射光,在该参数下检测效果最稳定。

[0036] 本实施例中还包括在第二反应孔250的一侧通过微流道290连通的复溶液孔280,微流道290的一端设置有利于启闭微流道290的第五糖膜215,所述复溶液孔280用于容纳复溶液和荧光增强液,复溶液可以使第二反应孔250内的检验液充分溶解,避免第二反应孔250内的检验液中的胶体颗粒沉积成环形。荧光增强液内增强多余DTTA标记的抗体的荧光效果,照射荧光时更容易被检测。

[0037] 如图6所示,本实施例中的优选方案中,第一反应孔240设置有多,多个第一反应孔240通过单个微流道与过滤孔230相连通,所述第二反应孔250与第一反应孔240对应设置有多。这样,当第一反应孔240与第二反应孔250中放置不同反应物时,可通过一次加农产品样品溶液而可做多组不同实验,提高实验效率,在采用设置有多第一反应孔240的方案时,过滤孔230通过微流道290与废液孔260直接连通,相应的在微流道口增加糖膜210,在微流道290内设置有填料270,过滤孔230出来溶液依次经过两个第一反应孔240,然后多余的溶液(超过两个反应孔容积),就会进入微流道压力稍高的废液孔,使管道压力稍高可通过收窄微流道来实现。

[0038] 如图2所示,本实施例中的优选方案中,微流控芯片200外形轮廓设置为扇形,扇形微流控芯片200设置有多并以离心盘100的旋转中心围成一个圆。这样,可以一次离心操作实现不同的样品溶液的实验,提高本萃取器的适用范围,方便多组不同样品溶液的实验同时进行。

[0039] 因此,本发明提出的一种基于DELFI A的农残检测装置,通过在一个微流控芯片200内设置不同的腔室并通过不同的糖膜210依次开启不同腔室与样品溶液进行反应,从而使现有复杂的配料过程集成在不同腔室中,从而只需要添加农产品的待测溶液(样品溶液)就能离心得到时间免疫荧光层析法所需要的检测液,使操作步骤简单,试剂消耗少。且本方法中采用微流道290进行管道连通,从而实现精细控制,相比人工加样定量更为精确,溶液量只需进样50-100微升,包埋约200微升反应试剂,从而减少试剂的浪费,检测限最低可至PPT级别,检测结果重现性好,且反应盒可保存,各腔室独立设置,避免交叉污染,结果可重现。

[0040] 如图7所示,本发明还提供一种基于DELFI A的农残检验液的检测方法,适用于如上所述的农残检测装置,包括有步骤:

步骤S100、将农产品的样品溶液加入到微流控芯片中的样品孔。

[0041] 具体实施过程为:通过移液枪将250微升农产品的匀浆溶液加入到微流控芯片的样品孔,样品孔定容为200微升,直至样品孔加满。

[0042] 步骤S200、密封样品孔。

[0043] 具体实施过程为:当样品孔加满后,需要对样品孔进行密封,本实施例中采用密封膜密封样品孔,操作方便快捷。

[0044] 步骤S300、将微流控芯片固定安装在离心盘上。

[0045] 具体实施过程为:将微流控芯片放置于离心盘的旋转托盘上,并通过夹具固定,夹具可采用固定夹或者特定夹具,当进行多组实验的时候,可以在一个旋转托盘上同时放置多组微流控芯片。

[0046] 步骤S400、启动离心盘对微流控芯片进行离心操作。

[0047] 具体实施过程为:开启离心盘,通过对微流控芯片进行离心操作而使样品溶液在各个腔室分别反应,得到检验液。

[0048] 其中,优选步骤具体包括:

步骤S410、离心盘按第一速度正反向交替转动使样品孔与过滤孔之间的微流道口的糖膜被冲破且样品溶液通过过滤孔。

[0049] 具体实施过程为:离心盘的第一速度为1500转/分钟,离心盘开启后先顺时针1500转/分钟运行1分钟,再逆时针1500转/分钟运行1分钟,从而第一糖膜被冲破,正反转的设置,使样品溶液能搅拌均匀。

[0050] 步骤S420、离心盘按第二速度反向转动使过滤孔与第一反应孔之间的微流道口的糖膜被冲破且样品溶液进入第一反应孔。

[0051] 具体实施过程为:离心盘的第一速度为3000转/分钟,离心盘逆时针3000转/分钟运行1分钟,从而第二糖膜被冲破,样品溶液进入第一反应孔。

[0052] 步骤S430、离心盘按第三速度正向转动使样品溶液在第一反应孔内混合反应。

[0053] 具体实施过程为:离心盘的第三速度为3000转/分钟,离心盘顺时针3000转/分钟运行1分钟,样品溶液中的抗原在第一反应孔与第一反应孔内的DTTA-Eu标记的抗体进行充分的免疫反应。

[0054] 步骤S440、离心盘按第四速度正向转动使第一反应孔与第二反应孔之间的微流道口的糖膜被冲破且样品溶液进入第一反应孔;

具体实施过程为:离心盘的第四速度为4500转/分钟,离心盘顺时针4500转/分钟运行1分钟,从而第三糖膜被冲破,样品溶液进入第二反应孔。

[0055] 步骤S450、离心盘按第五速度反向转动使样品溶液在第二反应孔内混合反应。

[0056] 具体实施过程为:离心盘的第五速度为4500转/分钟,离心盘逆时针4500转/分钟运行1分钟,样品溶液中的多余DTTA标记的抗体被第二反应孔固定的抗原捕获,使反应充分进行。

[0057] 步骤S460、离心盘按第六速度反向转动使第二反应孔与废液孔之间的微流道口的糖膜被冲破且多余样品溶液进入废液孔。

[0058] 具体实施过程为:离心盘的第六速度为6000转/分钟,离心盘逆时针6000转/分钟运行1分钟,从而第四糖膜被冲破,多余的样品溶液进入废液孔。

[0059] 步骤S470、离心盘按第七速度反向转动使多余样品溶液完全进入废液孔。

[0060] 具体实施过程为:离心盘的第七速度为6000转/分钟,离心盘顺时针6000转/分钟运行1分钟,样品溶液中的多余样品溶液完全进入废液孔,实现检验液与废液的分离。

[0061] 在步骤S470之后,还包括有步骤S480、步骤S490;

步骤S480、离心盘按第八速度正向转动使复溶液孔与第二反应孔之间的微流道口的糖膜被冲破使复溶液孔的溶液进入第二反应孔。

[0062] 步骤S490、离心盘按第九速度反向转动使从复溶液孔进入第二反应孔内的溶液在第二反应孔内混合反应。

[0063] 具体实施过程为:离心盘的第八速度为7500转/分钟,离心盘顺时针7500转/分钟运行1分钟,从而第五糖膜被冲破,使复溶液孔内的溶液进入第二反应孔,复溶液孔内的溶液为100微升酸性荧光增强液,之后,离心盘的第九速度为7500转/分钟,离心盘以逆时针7500转/分钟运行1分钟,复溶液孔中的复溶液及荧光增强剂与第二反应孔内的样品溶液反应,从而得到显示荧光更好的检验液。

[0064] S500、溶液完成离心操作后开启荧光检测机构对第二反应孔发射激发光。

[0065] S600、测量发射光并结合预定曲线计算样品中的抗原浓度。

[0066] 具体实施过程为：开启荧光检测器对第二反应孔发射波长为340nm激发光，在于613nm处测量发射光，由发射光强度结合预设定曲线计算样品中抗原浓度。从而检测出农作物样品中的有害成份含量。

[0067] 综上所述，本方法通过一个微流控芯片内设置不同的腔室并通过离心盘上的不同速度来使不同的糖膜依次开启，从而使不同腔室中的物质与样品溶液进行反应，设置一次离心操作程序就能得到检验液，开启荧光检测器对位于第二反应孔的检验液照射，由发射光强度结合预设定曲线计算样品中抗原浓度。从而检测出农作物样品中的有害成份含量，整个过程手动操作工序少，且操作简单，实现农残样品溶液的快速检测。

[0068] 应当理解的是，本发明的应用不限于上述的举例，对本领域普通技术人员来说，可以根据上述说明加以改进或变换，所有这些改进和变换都应属于本发明所附权利要求的保护范围。

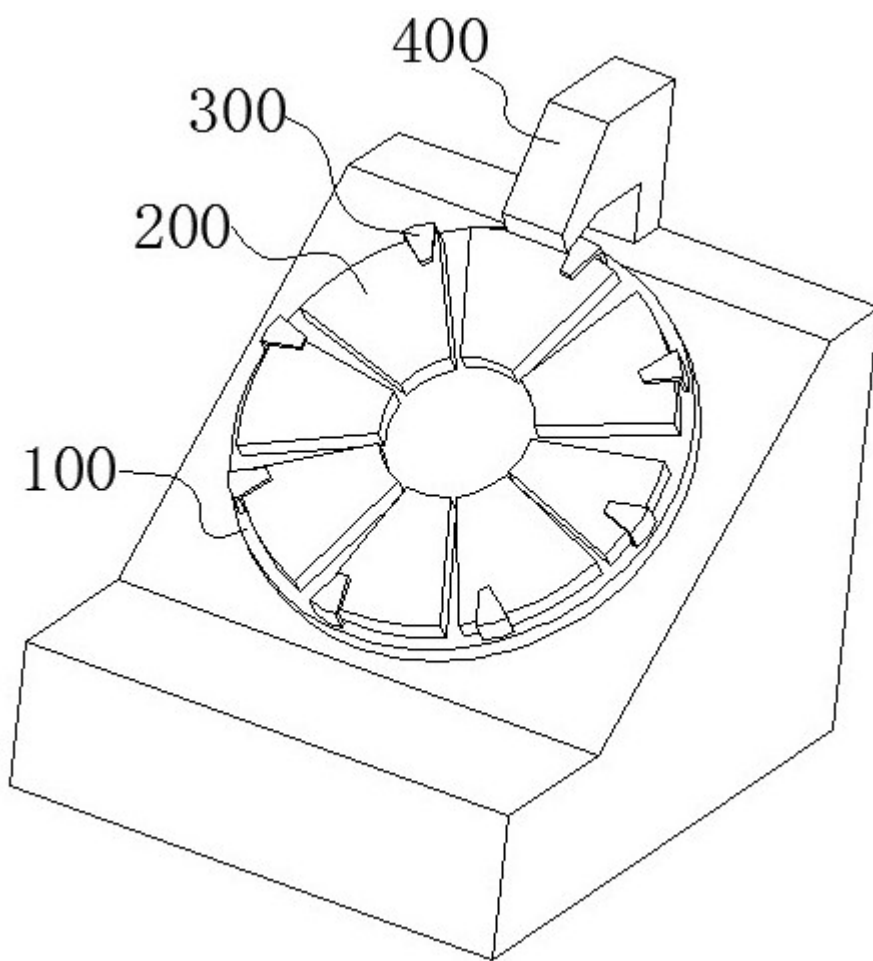


图1

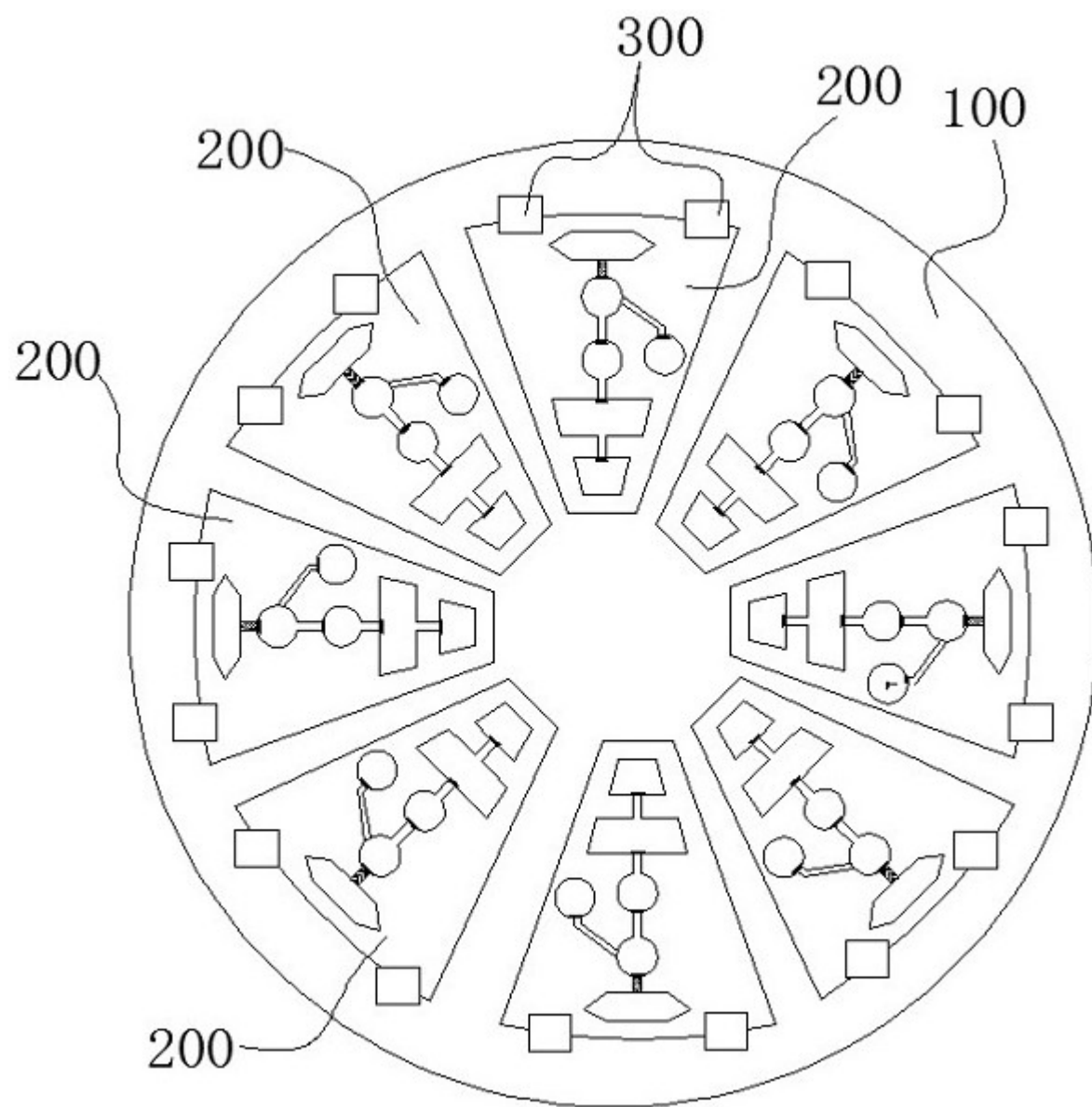


图2

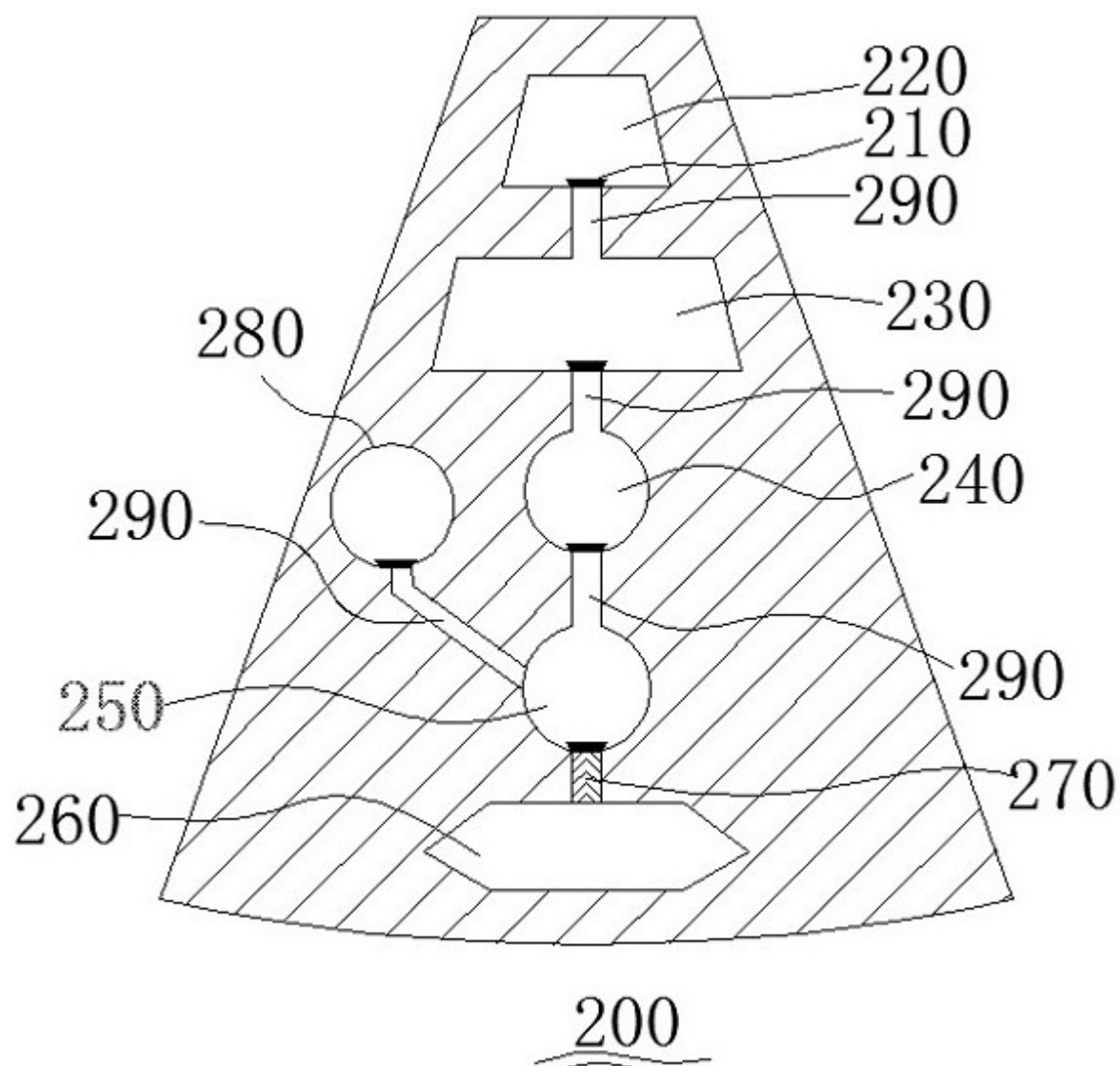


图3

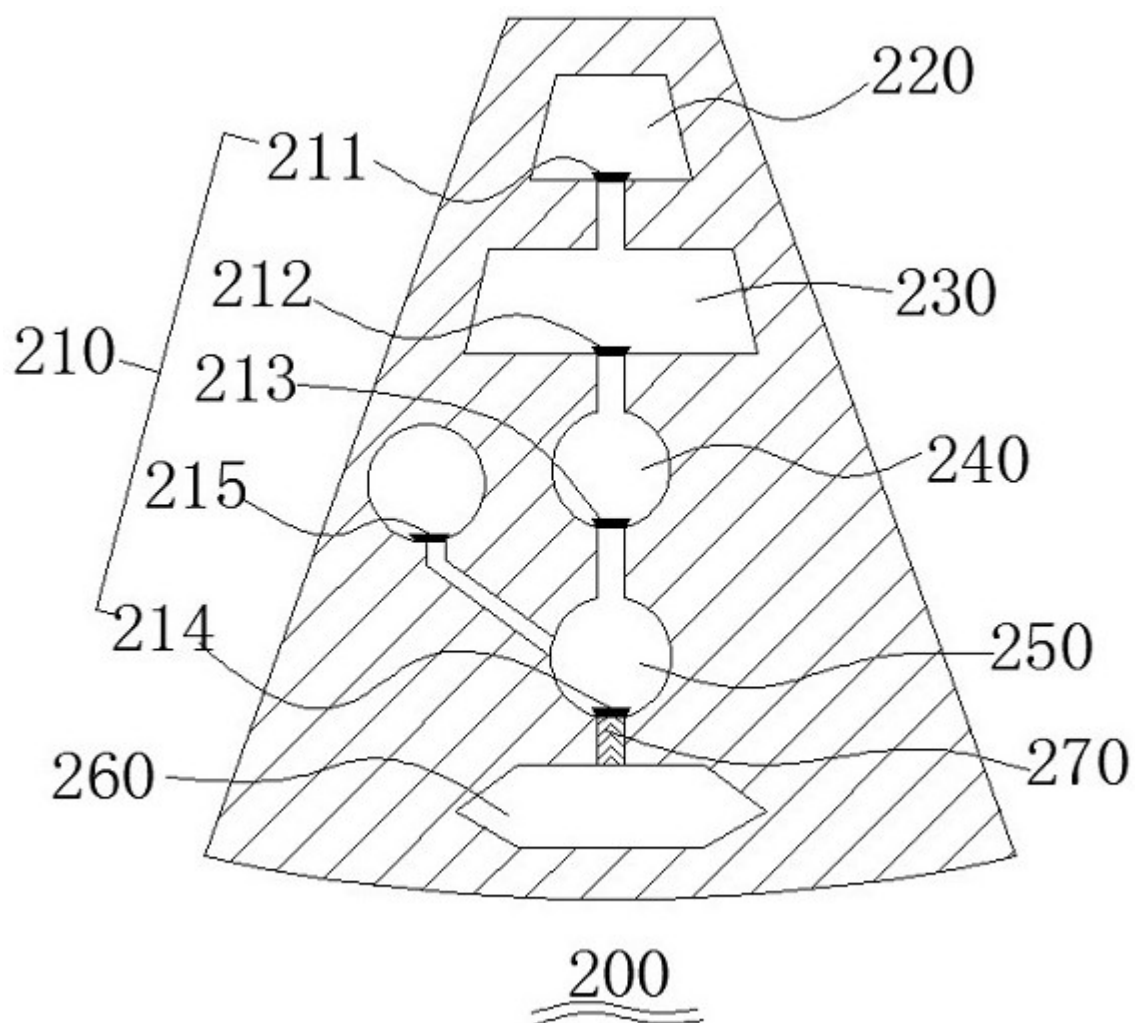


图4

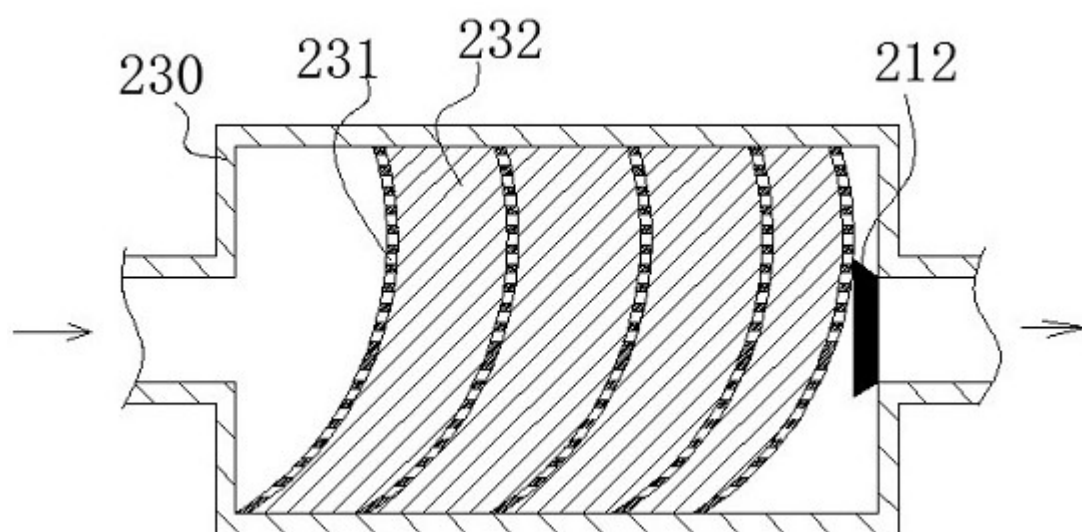


图5

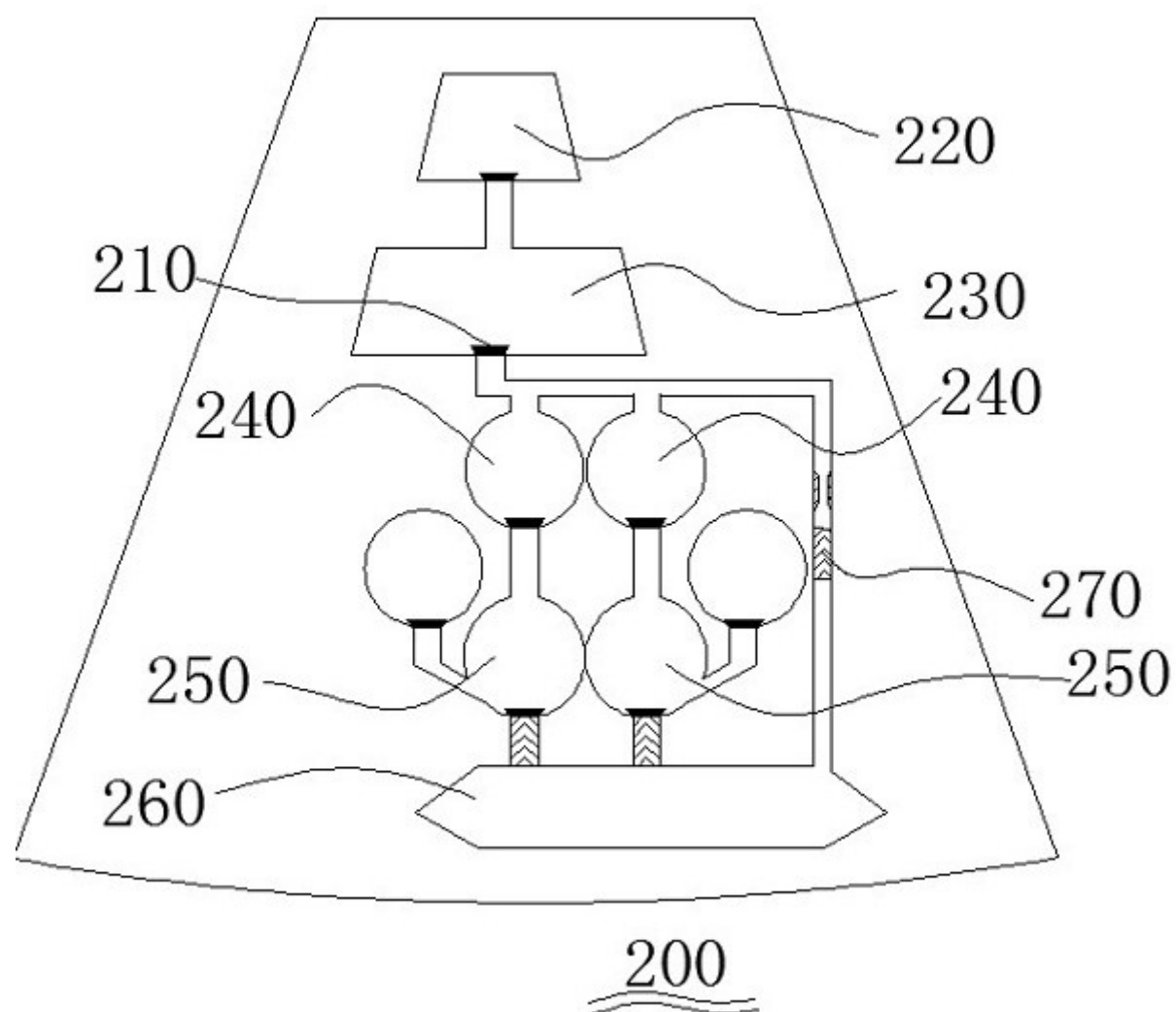


图6

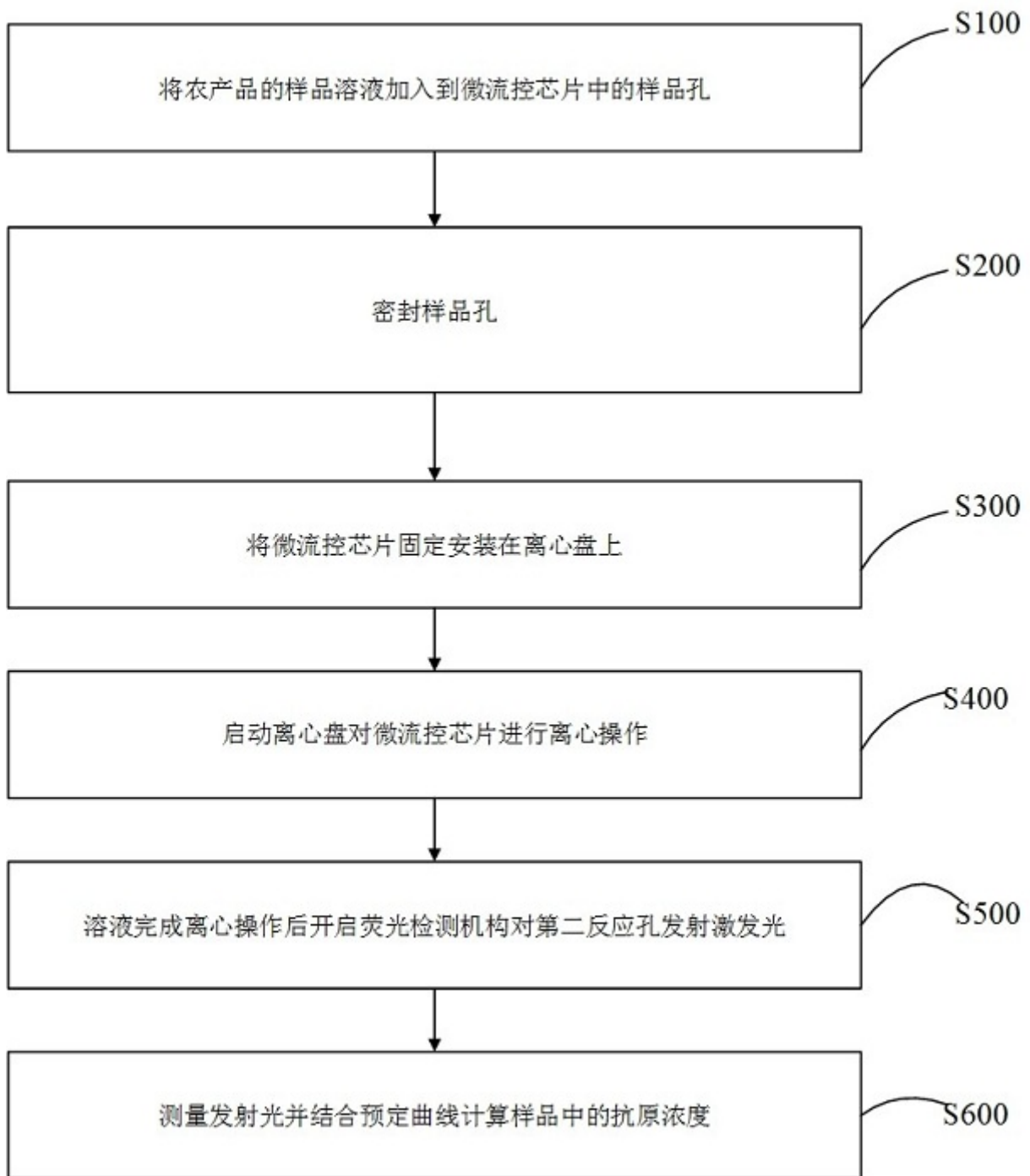


图7

专利名称(译)	一种基于DELFI A的农残检测装置及检测方法		
公开(公告)号	CN109917123A	公开(公告)日	2019-06-21
申请号	CN201910317520.8	申请日	2019-04-19
[标]发明人	杨松林 王军 马丽 张祺 吕丽珊		
发明人	杨松林 王军 马丽 张祺 吕丽珊		
IPC分类号	G01N33/533		
代理人(译)	王永文		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供一种基于DELFI A的农残检测装置及检测方法，包括离心盘和荧光检测机构的分析仪，固定设置在离心盘上并通过离心作用获取检验液的微流控芯片；所述微流控芯片内部沿离心盘的径向由内至外依次设置有样品孔、过滤孔、第一反应孔、第二反应孔以及废液孔；样品孔、过滤孔、第一反应孔、第二反应孔以及废液孔之间依次通过微流道连通，在各微流道口分别设置有不同厚度的糖膜，不同厚度的糖膜根据不同的离心转速而分别开启微流道；所述样品孔用于容纳农残检验液的样品溶液并通过离心转动而搅拌均匀；从而检测出农作物样品中的有害成份含量，整个过程手动操作工序少，且操作简单，实现农残样品溶液的快速检测。

