



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102297965 A

(43) 申请公布日 2011. 12. 28

(21) 申请号 201110133391. 0

(22) 申请日 2011. 05. 23

(71) 申请人 无锡安迪生物工程有限公司

地址 214174 江苏省无锡市惠山区文惠路
18-1 号

(72) 发明人 周坚 吴文晔 熊晓芳

(74) 专利代理机构 无锡市大为专利商标事务所
32104

代理人 时旭丹 刘品超

(51) Int. Cl.

G01N 33/558 (2006. 01)

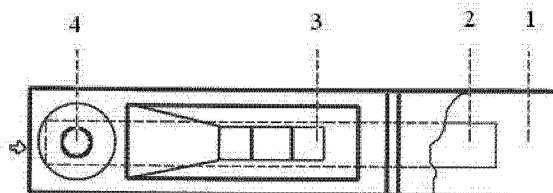
权利要求书 1 页 说明书 3 页 附图 1 页

(54) 发明名称

一种氯吡脞快速检测卡及其检测方法

(57) 摘要

一种氯吡脞快速检测卡及其检测方法,属于果蔬膨大剂检测技术领域。本发明氯吡脞快速检测卡外壳内有测试条,由支承背板上依次粘贴样品垫、胶体金膜或乳胶颗粒膜、硝酸纤维素膜和吸水膜所组成;胶体金膜为含抗氯吡脞抗体胶体金标记的玻璃纤维膜,或乳胶颗粒膜为含抗氯吡脞抗体的乳胶颗粒标记的玻璃纤维膜,硝酸纤维素膜上有两条检测带,一条为含氯吡脞蛋白质偶联物的检测带,另一条为含抗兔抗体或抗鼠抗体的质控带。本发明优点是应用免疫学的方法直接检测水果如西瓜、葡萄等的氯吡脞含量。本发明氯吡脞快速检测卡易于制备,使用方便快速,结果准确。



1. 一种氯吡脞快速检测卡,其特征在于:在长条扁平薄壳状的检测卡外壳(1)中设置测试条(2),检测卡外壳表面有检测窗孔(3)和加样孔(4);测试条(2)是由支承背板(5)上通过不干胶在其上依次粘贴样品垫(8)、胶体金膜或乳胶颗粒膜(7)、硝酸纤维素膜(6)、和吸水膜(9)所组成;支承背板中部叠置粘贴硝酸纤维素膜(6),支承背板一端叠置粘贴吸水膜(9),另一端叠置粘贴样品垫(8),吸水膜内端与样品垫内端各自分别与硝酸纤维素膜搭接,在样品垫与硝酸纤维素膜的搭接部,两者之间夹置粘贴一段胶体金膜或乳胶颗粒膜(7);胶体金膜为含抗氯吡脞抗体胶体金标记的玻璃纤维膜,或乳胶颗粒膜为含抗氯吡脞抗体的乳胶颗粒标记的玻璃纤维膜,硝酸纤维素膜上有一条检测带和一条质控带,依次是:含氯吡脞蛋白质偶联物的检测带(10),含抗兔抗体或抗鼠抗体的质控带(11),测试条(2)置入检测卡外壳(1)内,样品垫(8)正对加样孔(4),硝酸纤维素膜(6)正对检测窗孔(3)。

2. 权利要求1所述的氯吡脞快速检测卡的检测方法,其特征在于:应用免疫学的方法直接检测样品中氯吡脞的含量,检测样品为西瓜、葡萄、猕猴桃,处理方法如下:

随机采集待测样本,粉碎均匀;称取5g粉碎后的样品,加入10mL样品抽提液充分搅拌均匀,震荡反应30min;4000r/min离心10min,取离心后的上清液按1:3的比例稀释,即取上清液100 μ L加入300 μ L样品稀释液,混合后测定;

必要时用滤纸过滤上清液,取滤过的上清液按比例稀释后测定;

所述样品抽提液为体积分数70%甲醇溶液,即甲醇70mL加入30mL蒸馏水;

所述样品稀释液为pH 7.6、含10mmol PBST缓冲液的溶液;

当检测带10和质控带11同时显现棕红色印迹带,检测结果为阴性,表示被检测样品中氯吡脞含量未超标;

当检测带10不显示颜色,只有质控带11显现棕红色印迹,检测结果为阳性,表示被检测样品中氯吡脞含量超标;

当检测带10和质控带11均不显色,则表明测试条已失效。

一种氯吡脞快速检测卡及其检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种氯吡脞快速检测卡及其检测方法,是一种检测氯吡脞的检测器具,属于果蔬膨大剂检测技术领域。

背景技术

[0002] 氯吡脞 (forch lorfenuron), 商品名为吡效隆, 化学名称为 1-(2-氯-4-吡啶基)-3-苯基脞, 是一种广泛应用于农业生产新型高效植物生长调节剂。因氯吡脞可能会对人体带来潜在的健康危害, 欧盟、日本等对其残留量作出了严格限定, 其中日本“肯定列表”限量为 0.02mg/kg。到目前为止, 关于氯吡脞在果蔬中的残留测定方法国内鲜有报道, 经常使用的检测方法是高效液相色谱法。但这些方法对实验仪器设备要求高, 操作繁琐, 对操作人员的专业知识要求高, 费时费力。因此建立一种准确可靠又快速方便的检测水果中膨大剂含量成分分析方法是必要的。

[0003] 本发明拟发明一种基于小分子物质氯吡脞偶联蛋白质后而具有抗原性的免疫学检测方法, 采取免疫学竞争法的原理, 结合胶体金标记技术和免疫层析法设计的一种快速检测试剂, 可快速特异地检测水果样品中的氯吡脞。根据检测卡样品检测带和质控带的有无显色来判定水果样品中的氯吡脞含量。反应是利用氯吡脞蛋白质偶联物抗原性而建立的一种检测方法, 具有特异性强的优点, 可避免其它检测方法的假阳性导致的误检问题。同时检测卡操作简单快速, 无需特殊的仪器设备, 既可以在实验室进行, 也可在超市、家庭、车间等实地进行测定。由于样本量需要少、简便快速, 适用于大量样本的筛查, 结果准确, 灵敏度高, 准确率大。

发明内容

[0004] 本发明的目的在于提供一种能检测氯吡脞的检测器具, 直接应用免疫学的方法检测水果样品中氯吡脞的含量, 克服现有色谱法检测的操作繁琐等缺点, 建立基于免疫学特异性的检测方法。

[0005] 本发明的技术方案: 一种氯吡脞快速检测卡, 其为在长条扁平薄壳状的检测卡外壳 1 中设置测试条 2, 检测卡外壳表面有检测窗孔 3 和加样孔 4; 测试条 2 是由支承背板 5 上通过不干胶在其上依次粘贴样品垫 8、胶体金膜或乳胶颗粒膜 7、硝酸纤维素膜 6、和吸水膜 9 所组成; 支承背板中部叠置粘贴硝酸纤维素膜 6, 支承背板一端叠置粘贴吸水膜 9, 另一端叠置粘贴样品垫 8, 吸水膜内端与样品垫内端各自分别与硝酸纤维素膜搭接, 在样品垫与硝酸纤维素膜的搭接部, 两者之间夹置粘贴一段胶体金膜或乳胶颗粒膜 7; 胶体金膜为含抗氯吡脞抗体胶体金标记的玻璃纤膜, 或乳胶颗粒膜为含抗氯吡脞抗体的乳胶颗粒标记的玻璃纤膜, 硝酸纤维素膜上有一条检测带和一条质控带, 依次是: 含氯吡脞蛋白质偶联物的检测带 10, 含抗抗体或抗鼠抗体的质控带 11, 测试条置入检测卡外壳内, 样品垫正对加样孔, 硝酸纤维素膜正对检测窗孔。

[0006] 应用免疫学的方法直接检测样品中氯吡脞的含量, 检测样品为西瓜、葡萄、猕猴桃

桃,处理方法如下:

随机采集待测样本,粉碎均匀;称取 5g 粉碎后的样品,加入 10mL 样品抽提液充分搅拌混合均匀,震荡反应 30min;4000r/min 离心 10min,取离心后的上清液按 1:3 的比例稀释,即取上清液 100 μ L 加入 300 μ L 样品稀释液,混合后测定。

[0007] 必要时可用滤纸过滤上清液,取滤过的上清液按比例稀释后测定。

[0008] 所述样品抽提液为体积分数 70% 甲醇溶液,即甲醇 70mL 加入 30mL 蒸馏水。

[0009] 所述样品稀释液为 pH 7.6、含 10mmol PBST 缓冲液的溶液。

[0010] 当检测带 10 和质控带 11 同时显现棕红色印迹带,检测结果为阴性,表示被检测样品中氯吡脞含量未超标。

[0011] 当检测带 10 不显示颜色,只有质控带 11 显现棕红色印迹,检测结果为阳性,表示被检测样品中氯吡脞含量超标。

[0012] 当检测带 10 和质控带 11 均不显色,则表明测试条已失效。

[0013] 本发明的有益效果:本发明的优点是能检测水果样品中含有的氯吡脞,易于制备且节省检测费用,使用方便,检测快速,灵敏度高,结果准确。

附图说明

[0014] 图 1 氯吡脞快速检测卡外壳及测试条在外壳内的安置图。1、检测卡外壳,2、测试条,3、检测窗孔,4、加样孔。

[0015] 图 2 检测试条的硝酸纤维素膜上显示印迹示意图。6、硝酸纤维素膜,10、检测带,11、质控带。

[0016] 图 3 氯吡脞快速检测卡的检测试条结构示意图。5、支承背板,6、硝酸纤维素膜,7、胶体金膜或乳胶颗粒膜,8、样品垫,9、吸水膜。

具体实施方式

[0017] 本发明结合具体实施例参见附图进一步说明如下:

实施例 1

一种氯吡脞快速检测卡,它是在检测卡外壳 1 中设置测试条 2,检测卡外壳 1 的结构及测试条 2 的设置参见附图 1,检测卡外壳 1 为长条扁平薄壳状外壳,长 70mm,宽 20mm,厚 5mm,薄壳壁厚 1mm,由工程塑料制成。检测卡外壳 1 由壳盖与壳座两半联接构成,在检测卡外壳 1 壳盖上有检测窗孔 3 和加样孔 4。测试条 2 放置在检测卡外壳 1 的壳座内。

[0018] 测试条 2 是多层结构的窄条薄片,片长约 60mm,片宽约 4mm,厚度约 2.5mm。测试条 2 是多层结构:底层是支承背板 5,为聚氯乙烯塑料薄片,厚约 0.5mm,长 60mm,宽 4mm;支承背板 5 中部叠置粘贴硝酸纤维素膜 6,硝酸纤维素膜厚 0.5mm,长 20-25mm,宽 4mm。硝酸纤维素膜 6 上有二条间隔开的横向显示印迹带,参见附图 2,二条显示印迹带中,一条是检测带 10,含氯吡脞蛋白质偶联物;另一条是质控带 11,含抗兔抗体或抗鼠抗体。支承背板 5 一端部上叠置粘贴吸水膜 9,支承背板 5 另一端部上叠置粘贴样品垫 8,吸水膜 9 内端与样品垫 8 内端各自分别与硝酸纤维素膜 6 一端搭接,在样品垫 8 与硝酸纤维素膜 6 的搭接部,两者之间夹置粘贴一段胶体金膜或乳胶颗粒膜 7,胶体金膜为含抗氯吡脞抗体胶体金标记的玻璃纤维膜,或乳胶颗粒膜为含抗氯吡脞抗体的乳胶颗粒标记的玻璃纤维膜,胶体金

膜或乳胶颗粒膜 7 厚 0.5-0.8mm, 长 5mm, 宽 4mm。样品垫 8 厚 0.5-0.8mm, 长 20mm, 宽 4mm。吸水膜 9 厚 0.5-0.8mm, 长 16-20mm, 宽 4mm。胶体金膜或乳胶颗粒膜 7、样品垫 8 及吸水膜 9 与硝酸纤维素膜搭接长度为 1-2mm。吸水膜 9 材料是吸水纸, 样品垫 8 材料是吸水玻璃纤维膜。

[0019] 本发明氯吡脞检测卡用于检测水果样品中的氯吡脞的检测。

[0020] 实施例 2

样品的处理方法如下:

随机采集待测样本, 粉碎均匀; 称取 5g 粉碎后的样品, 加入 10mL 样品抽提液充分搅拌均匀, 震荡反应 30min; 4000r/min 离心 10min, 取离心后的上清液按 1:3 的比例稀释, 即取上清液 100 μ L 加入 300 μ L 样品稀释液, 混合后测定。

[0021] 必要时可用滤纸过滤上清液, 取滤过的样品按比例稀释后测定。

[0022] 所述样品抽提液为体积分数 70% 甲醇溶液, 即甲醇 70mL 加入 30mL 蒸馏水。

[0023] 所述样品稀释液为 pH 7.6、含 10mmol PBST 缓冲液的溶液。

[0024] 使用氯吡脞快速检测卡进行检测时, 先将待检测的样品液从加样孔 4 中滴注入氯吡脞快速检测卡测试条 2 的样品垫 8 上, 由于虹吸作用原理, 带动待检测的样品液及胶体金膜或乳胶颗粒膜 7 所含的抗氯吡脞单克隆抗体胶体金或乳胶颗粒标记物一起向硝酸纤维素膜 6 扩散, 5-10 分钟内观察结果。

[0025] 检测卡的主要反应是免疫学的抗原和抗体反应, 在硝酸纤维素膜上迁移的胶体金或乳胶颗粒标记的抗体, 在测试带上分别与含氯吡脞蛋白质偶联物, 以及质控带上的抗兔抗体或抗鼠抗体反应, 形成棕红色条带。若样品中有待检氯吡脞存在, 当样品加入后即与抗体发生反应, 而不会与检测带所含的氯吡脞蛋白质偶联物反应, 从而不显色。主要反应的结果有以下 3 种情况:

1、当检测带 10 和质控带 11 同时显现棕红色印迹带, 表示检测结果为阴性, 说明被检测样品中氯吡脞含量未超标。

[0026] 2、当检测带 10 不显示颜色, 只有质控带 11 显现棕红色印迹, 检测结果为阳性, 说明被检测样品中氯吡脞含量超标。

[0027] 3、当检测带 10 和质控带 11 均不显色, 则表明检测试条已失效。

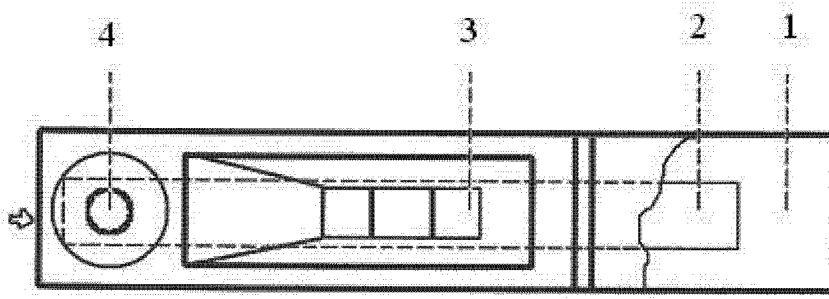


图 1

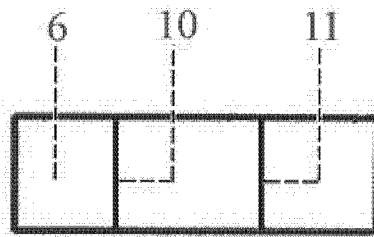


图 2

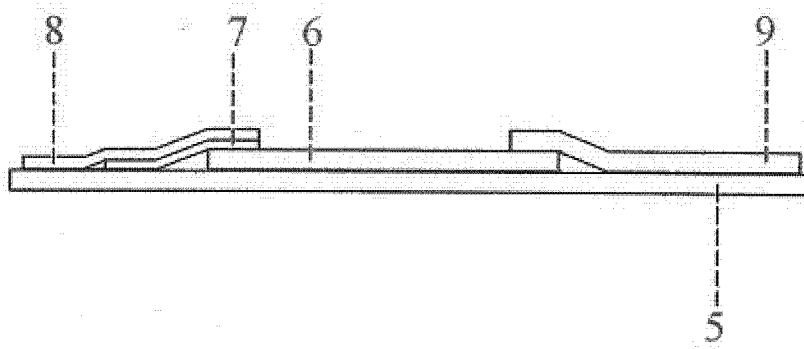


图 3