

(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102590498 A

(43) 申请公布日 2012. 07. 18

(21) 申请号 201210011290. 0

(22) 申请日 2012. 01. 13

(71) 申请人 重庆市科学技术研究院

地址 401123 重庆市渝北区北部新区黄山大道中段杨柳路 2 号

(72) 发明人 乐涛 贾渝跃 徐建 何红秋 牛晓东

(74) 专利代理机构 重庆市前沿专利事务所 50211

代理人 郭云

(51) Int. Cl.

G01N 33/558 (2006. 01)

G01N 33/531 (2006. 01)

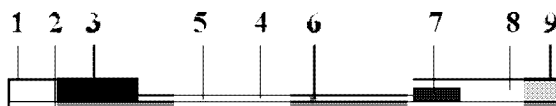
权利要求书 1 页 说明书 7 页 附图 3 页

(54) 发明名称

检测喹噁啉-2-羧酸残留的免疫胶体金试纸及其制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种检测喹噁啉-2-羧酸残留的免疫胶体金试纸及其制备方法。本发明应用免疫学技术筛选出抗喹噁啉-2-羧酸的多克隆抗体,通过胶体金的制备及胶体金标记条件的探索研究,在应用抗喹噁啉-2-羧酸多克隆抗体和 GICA 技术研究建立抗喹噁啉-2-羧酸多克隆抗体快速检测试纸,并对其性能进行测定。试纸检测范围较宽,假阳性低,检测灵敏,检测结果准确、可靠,适用于动物源性食品中的可食性组织如肌肉、肝脏等组织中喹噁啉-2-羧酸残留的检测。



1. 一种检测喹噁啉-2-羧酸药物残留的免疫胶体金试纸,包括背板(2),该背板(2)上设置手控区、测试区和样品端,所述测试区位于背板(2)中部,所述手控区和样品端位于背板(2)两个端部,其特征在于:所述手控区由吸水垫(3)和手控区封膜(1)组成,所述吸水垫(3)粘附在背板(2),该吸水垫(3)上表面及外端面和背板(2)外端面粘附手控区封膜(1),所述测试区为粘附在背板(2)上的硝酸纤维素膜(4),所述硝酸纤维素膜(4)上包被有羊抗兔 IgG 的质控线(5)和喹噁啉-2-羧酸-牛血清白蛋白偶联物的检测线(6),所述样品端由结合垫(7)、样品垫(8)和样品端封膜(9)组成,所述背板(2)上由测试区到外端依次粘附结合垫(7)和样品垫(8),该样品垫(8)搭在结合垫(7)上,所述样品垫(8)上表面及外端面和背板(2)外端面粘附样品端封膜(9)。

2. 一种如权利要求1所述检测喹噁啉-2-羧酸药物残留的免疫胶体金试纸的制备方法,其特征在于按如下步骤进行:

步骤一:将半抗原喹噁啉-2-羧酸与牛血清白蛋白偶联合成偶联物免疫原,待用;

步骤二:将步骤一中的偶联物免疫原免疫兔,得到特异性抗兔抗喹噁啉-2-羧酸的多克隆抗体,将多克隆抗体加入胶体金中得到抗喹噁啉-2-羧酸多克隆抗体-胶体金标记物,将抗喹噁啉-2-羧酸多克隆抗体-胶体金标记物包被在结合垫(7)上;

步骤三:将步骤一中的偶联物免疫原包被在硝酸纤维素膜(4)得到检测线 检测线(6),将羊抗兔 IgG 包被在硝酸纤维素膜(4)得到质控线(5);

步骤四:将受控区封膜(1),吸水垫(3),硝酸纤维素膜(4),结合垫(7),样品垫(8)和样品端封膜(9)一次粘贴在背板上,得到检测喹噁啉-2-羧酸药物残留的免疫胶体金试纸。

## 检测喹噁啉-2-羧酸残留的免疫胶体金试纸及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种兽药残留免疫化学快速检测技术领域,具体涉及喹噁啉-2-羧酸(QCA)残留的免疫胶体金试纸及其制备方法。

### 背景技术

[0002] 卡巴氧作为抗菌促生长剂,广泛应用于畜禽养殖,能促进动物生长、提高饲料转化率、预防和控制猪痢疾和细菌性肠炎。代谢研究和毒理学研究表明,卡巴氧在猪体内迅速转化成脱一氧和脱二氧化合物,其原形和脱氧化合物对人和动物有一定的毒性作用,主要表现为诱癌性、致突变作用、繁殖毒性。因此,1999年欧盟禁止卡巴氧在食品动物中应用,2001年加拿大也颁布法令禁止卡巴氧在市面上销售,2003年食品添加剂联合专家委员会(JECFA)对卡巴氧进行了再评价,委员会决定对卡巴氧撤销其最大残留限量(MRLs),该残留限量由JECFA于1999年规定,肌肉和肝脏分别为5和30 $\mu$ g/kg。喹噁啉-2-羧酸是卡巴氧在猪体内最稳定的代谢产物,被欧盟法定为卡巴氧在猪食用组织中的残留标识物。目前在动物性食品中喹噁啉-2-羧酸的分析检测方法有很多,包括高效液相色谱法(HPLC)、液质连用(LC-MS)、气质连用(GC-MS)和ELISA。仪器检测主要存在仪器购置费用昂贵、样品前处理复杂、程序繁琐费时、检测费用高、不能现场操作等缺陷,所以在生产中应用受到限制。ELISA方法灵敏度高、成本低,在药物残留检测中应用也很广泛,但该方法需要酶标仪等实验室设备,分析时间长,难于应用与现场应用等局限性。近年来,胶体金免疫层析技术(GICA)与目前普遍采用的标记免疫分析技术相比,具有简便快速,特异性强、敏感性高,肉眼判断,实验结果易保存,无需特殊仪器设备等优点,因此GICA技术在药物残留检测领域得到了广泛应用。目前还没有针对喹噁啉-2-羧酸残留检测的免疫胶体金试纸及其制备方法的专利和文献报道。

### 发明内容

[0003] 为解决以上技术问题,本发明的目的之一在于提供一种能快速检测、准确可靠检测喹噁啉-2-羧酸残留的免疫胶体金试纸

[0004] 本发明的目的之二在于提供一种能快速检测、准确可靠检测喹噁啉-2-羧酸残留的免疫胶体金试纸的制备方法。

[0005] 本发明目的之一是这样实现的:一种检测喹噁啉-2-羧酸药物残留的免疫胶体金试纸,包括背板(2),该背板(2)上设置手控区、测试区和样品端,所述测试区位于背板(2)中部,所述手控区和样品端位于背板(2)两个端部,其关键在于:所述手控区由吸水垫(3)和手控区封膜(1)组成,所述吸水垫(3)粘附在背板(2),该吸水垫(3)上表面及外端面和背板(2)外端面粘附手控区封膜(1),所述测试区为粘附在背板(2)上的硝酸纤维素膜(4),所述硝酸纤维素膜(4)上包被有羊抗兔IgG的质控线(5)和喹噁啉-2-羧酸-牛血清白蛋白偶联物的检测线(6),所述样品端由结合垫(7)、样品垫(8)和样品端封膜(9)组成,所述背板(2)上由测试区到外端依次粘附结合垫(7)和样品垫(8),该样品垫(8)搭在结合

垫 (7) 上,所述样品垫 (8) 上表面及外端面 and 背板 (2) 外端面粘附样品端封膜 (9)。

[0006] 本发明目的之二是这样实现的:检测喹噁啉-2-羧酸药物残留的免疫胶体金试纸的制备方法,其特征在于按如下步骤进行:

[0007] 步骤一:将半抗原喹噁啉-2-羧酸与牛血清白蛋白偶联合成偶联物免疫原,待用;

[0008] 步骤二:将步骤一中的偶联物免疫原免疫兔,得到特异性抗兔抗喹噁啉-2-羧酸的多克隆抗体,将多克隆抗体加入胶体金中得到抗喹噁啉-2-羧酸多克隆抗体-胶体金标记物,将抗喹噁啉-2-羧酸多克隆抗体-胶体金标记物包被在结合垫 (7) 上;

[0009] 步骤三:将步骤一中的偶联物免疫原包被在硝酸纤维素膜 (4) 得到检测线检测线 (6),将羊抗兔 IgG 包被在硝酸纤维素膜 (4) 得到质控线 (5);

[0010] 步骤四:将受控区封膜 (1),吸水垫 (3),硝酸纤维素膜 (4),结合垫 (7),样品垫 (8) 和样品端封膜 (9) 一次粘贴在背板上,得到检测喹噁啉-2-羧酸药物残留的免疫胶体金试纸。

[0011] 本发明中的吸水垫、硝酸纤维素膜、结合垫、样品垫等均购自 Millipore 公司。

[0012] 本发明选用样品区的结合垫 (7) 包被胶体金标记好的抗 QCA 多克隆抗体,测试区的检测线 (6) 为 QCA-BSA,控制线为羊抗兔 IgG。金标 QCA 多抗因为毛吸作用随样品流向测试区的检测线和控制线,如果样品中没有 QCA 存在,测试区的 QCA-BSA 就可以结合 QCA 金标多抗,检测线和控制线都显红色,表明阴性结果。如果样品中有 QCA 存在, QCA 就和测试区的 QCA-BSA 竞争地结合 QCA 金标多抗,若有足量的 QCA 存在时,就竞争性地阻止 QCA 金标多抗和 QCA-BSA 的结合,检测线不显色,控制线显红色,表明阳性结果。如果检测线和控制线都不显色,表示检测的方法不正确或者试纸失效,须重新使用新的试纸检测。QCA 试纸可以用于检测样品中的 QCA。取不超过 80  $\mu$  L 的样品加至 96 孔板上,室温下把试纸样品端浸入样品 10-20 秒后取出水平放置,只有控制线显色表明阳性。检测线和控制线都显色表明阴性。

[0013] 有益效果:本发明的检测喹噁啉-2-羧酸残留的免疫胶体金试纸,具有特异性强,灵敏度高,检测时间短等优点;本发明的检测试纸不需要特殊仪器、设备,检测成本低,可现场操作;本发明的检测试纸操作简便,不需由专业人员操作;本发明检测试纸存储方便,对温度要求不高,室温可保存八个月,4-8 $^{\circ}$ C 保存,有效期一年。

[0014] 说明书附图

[0015] 图 1 为本发明检测喹噁啉-2-羧酸残留的免疫胶体金试纸结构示意图;

[0016] 图 2 为本发明胶体金检测试纸结果判断示意图;

[0017] 图 3:本发明胶体金检测试剂盒机读标准曲线示意图;

[0018] 图 4 为本发明胶体金检测试纸目测结果示意图。

## 具体实施方式

[0019] 下面通过实施例对本发明作进一步说明,但不以任何形式限制本发明。

[0020] 实施例

[0021] 如图 1 所示,一种检测喹噁啉-2-羧酸药物残留的免疫胶体金试纸,背板 2 上设置手控区、测试区和样品端,所述测试区位于背板 2 中部,所述手控区和样品端位于背板 2 两个端部,其特征在于:所述手控区由吸水垫 3 和手控区封膜 1 组成,所述吸水垫 3 粘附在背

板 2, 该吸水垫 3 上表面及外端面和外板 2 外端面粘附手控区封膜 1, 所述测试区为粘附在背板 2 上的硝酸纤维素膜 4, 所述硝酸纤维素膜 4 上包被有羊抗兔 IgG 的质控线 5 和喹噁啉-2-羧酸-牛血清白蛋白 偶联物的检测线 6, 所述样品端由结合垫 7、样品垫 8 和样品端封膜 9 组成, 所述背板 2 上由测试区到外端依次粘附结合垫 7 和样品垫 8, 该样品垫 8 搭在结合垫 7 上, 所述样品垫 8 上表面及外端面和外板 2 外端面粘附样品端封膜 9。

[0022] 1、喹噁啉-2-羧酸(QCA-载体蛋白偶联物的制备

[0023] 免疫原(QCA-BSA)的合成:准确称取喹噁啉-2-羧酸 348mg 溶解在 2mLN, N-二甲基甲酰胺中, 搅拌下逐滴加入  $\gamma$ -氨基丁酸溶液, 搅拌反应 3h, 调节反应液 pH10 左右。离心除掉沉淀物。将上述反应物逐滴加入 BSA 溶液中(340mgBSA 溶于 5mL 生理盐水), 再加入 N-羟基琥珀酰亚胺(NHS) 23mg, N, N-二环己基碳二亚胺(DCC) 43.4mg, 4℃反应过夜, 离心除去沉淀, 取上清液用磷酸缓冲液(PBS)透析 3d, 每 6h 更换透析液, 将所得产物低压冻干, 于 -20℃保存备用。

[0024] 免疫原(QCA-OVA)的合成:准确称取喹噁啉-2-羧酸 348mg 溶解在 2mLN, N-二甲基甲酰胺中, 搅拌下逐滴加入  $\gamma$ -氨基丁酸溶液, 搅拌反应 3h, 调节反应液 pH10 左右。离心除掉沉淀物。将上述反应物逐滴加入 OVA 溶液中(230mgOVA 溶于 5mL 生理盐水), 再加入 N-羟基琥珀酰亚胺(NHS) 23mg, N, N-二环己基碳二亚胺(DCC) 43.4mg, 4℃反应过夜, 离心除去沉淀, 取上清液用磷酸缓冲液(PBS)透析 3d, 每 6h 更换透析液, 将所得产物低压冻干, 于 -20℃保存备用。

[0025] 2、抗喹噁啉-2-羧酸多克隆抗体制备

[0026] 2.1 动物免疫

[0027] 用 1 中制备的免疫原(QCA-BSA) 分别免疫将新西兰大白兔, 基础免疫时将免疫原用生理盐水稀释, 加等体积的弗氏完全佐剂充分乳化, 注射时采用颈背部多点皮下注射, 免疫剂量为 0.5 ~ 1mg/ 只, 加强免疫方法同基础免疫, 佐剂为 不完全佐剂。从第 3 次加强免疫开始, 免疫后第 8d, 耳静脉采血测定抗体效价和特异性。达到一定效价后, 采心脏全血, 分离抗血清(先于室温静置 1h, 再置于 4℃冰箱数小时后, 4000r/min 冷冻离心 10min), 经硫酸铵分级沉淀得纯化的抗 QCA 多克隆抗体。

[0028] 2.2 抗体纯化

[0029] 采用辛酸-硫酸铵盐析法纯化抗体。取兔血清 5mL, 加入 0.06mol/L pH5.0 的乙酸缓冲液, 用 0.1mol/L 的 HCl 调至 pH4.5, 于室温下加入辛酸 165  $\mu$ L, 搅拌 30min。将血清 10000r/min 冷冻离心 30min, 弃沉淀, 用 0.1mol/L 的 NaOH 溶液将上清液 pH 调至 7.4。向上清液缓慢滴加等量饱和硫酸铵溶液, 使硫酸铵的终浓度为 50%, 搅拌 20min, 10000r/min 冷冻离心 30min, 弃上清液, 将沉淀溶于少量 0.01mol/L pH7.2PBS 中。将沉淀悬浮液移入透析袋, 用 0.01mol/L pH7.2PBS 透析过夜, 将纯化的血清分装小瓶, 置 -20℃冰箱保存。

[0030] 3 抗喹噁啉-2-羧酸多克隆抗体-胶体金标记物的制备

[0031] 3.1 胶体金的制备

[0032] 量取去离子水 100mL, 移入 500mL 的平底烧瓶中, 将烧瓶置于磁力搅拌器的加热套内, 打开搅拌旋钮和加热旋钮, 加热至沸腾。加入 1% HAuCl<sub>4</sub> 溶液 1.0mL, 继续加热 2min, 然后一定体积一次性迅速加入 1% 柠檬酸三钠溶液, 继续加热。待溶液变为亮红色或橙红色后, 再继续加热搅拌 15min。关掉加热旋钮, 冷却至室温, 过滤备用。

### [0033] 3.2 抗喹噁啉-2-羧酸多克隆抗体-胶体金标记物的制备与纯化

[0034] 于50mL的小烧杯中加入30mL的胶体金,用0.1mol/L  $K_2CO_3$  适量调pH达到最佳标记pH值,在搅拌的状态下,缓慢加入一定量稀释好的0.1mg/mL的抗喹噁啉-2-羧酸多克隆抗体,继续搅拌30min;加10% BSA使其终浓度为1%,搅拌30min;4℃放置2h后,将以上胶体金标记物分装,以2000r/min离心15min,取上清,弃去沉淀;以10000r/min离心30min,弃上清,加入标记洗涤液到原体积;再次以10000r/min离心30min,弃上清,加入标记洗涤液到原体积;以10000r/min离心30min,弃上清,沉淀用1.0mL标记洗涤液进行重悬,然后置4℃冰箱。

### [0035] 3.3 金标垫的制备

[0036] 分别剪取规格为20×4mm的玻璃纤维棉,然后将金标抗体复合物溶液用ZX1000喷点平台系统均匀喷洒于玻璃纤维棉上,置于37℃干燥1h,加入干燥剂密封保存,后置于4℃冰箱。

### [0037] 3.4 硝酸纤维素膜(NC膜)的制备

[0038] 将NC膜置于ZX1000喷点平台系统上,将浓度为0.1mg/mL的完全抗原QCA-BSA放于贮存池A,浓度为0.5mg/mL的羊抗兔IgG放于贮存池B。将NC膜展平,放上压条,质控线与检测线位于膜的中间相距0.5cm,其距膜的边距为0.75cm。开机后,喷点平台系统将完全抗原QCA-BSA和羊抗兔IgG分别点射于NC膜上,形成检测线和质控线,置室温自然干燥后,加入干燥剂密封,置于4℃保存,备用。

### [0039] 3.5 检测试纸的组装

[0040] 将背板2、样品端封膜9、结合垫7、硝酸纤维素膜4、吸水垫3和手控区封膜1按一定的工艺组装到一起。将组装的半成品试纸放入试纸切割机槽内进行切割,然后将制备成品的试纸注明生产时间和批次,置4℃保存(密封)。

## [0041] 4、检测喹噁啉-2-羧酸的免疫胶体金试纸的使用方法

### [0042] 4.1 组织样品预处理

[0043] 取2g动物组织(肉、肝)均质物,加入5%偏磷酸10%甲醇溶液5mL,振荡2min,4800r/min离心10min,取上清液,再按上述步骤重复提取一次,合并两次提取液。在提取液中加入乙酸乙酯6mL,振荡2min,4800r/min离心10min,取上清液,重复萃取一次,合并乙酸乙酯层。加入0.5mol/L磷酸盐缓冲液5mL反萃取,振荡1min,提取下清液,再按上述步骤重复提取一次,合并水相。取MAX柱子(60mg,3mL)净化,活化MAX柱子(3mL甲醇,3mL水)。样品提取液全部流出后,分别用0.05mol/L NaOH溶液3mL、甲醇3mL淋洗,除去杂质干扰。最后用2%甲酸甲醇溶液3mL洗脱,收集洗脱液,45℃左右氮气吹干,加入2mL二氯甲烷溶解残渣。分别向试管加入稀释后的衍生化试剂盒催化剂各10 $\mu$ L,置37℃水浴锅避光反应5h。反应完毕47℃氮气吹干,向离心管中加入样本稀释液2mL,振荡30s,作为试样溶液,供胶体金试纸测定。

### [0044] 4.2 检测结果判定

[0045] 如图2所示,将样品溶液加到试纸样品垫上,静置10min,根据肉眼观察试验显色结果进行判断,随着样品中QCA浓度增大检测线颜色逐渐变淡,当组织样品中QCA含量低于2.5 $\mu$ g/L时其检测线颜色与阴性对照检测线没有明显差异,判定结果为阴性(-);当QCA含量在2.5~25 $\mu$ g/L范围时,其检测线颜色明显浅于阴性对照检测线,判为弱阳性(±);当

QCA 含量大于  $25 \mu\text{g/L}$  范围时,其检测线无颜色出现,判为阳性 (+),符合我们国家 QCA 残留限量标准。

[0046] 5、本发明喹喔啉-2-羧酸药物检测试纸的应用

[0047] 5.1QCA 残留检测试纸的灵敏度测定

[0048] 将 QCA 配成浓度分别为 0、0.5、1、2.5、5、10、25、50、100  $\mu\text{g/L}$  的标准品,分别加到试纸的样品垫上,测试重复 8 次,静置试纸反应 5min,然后用 BioDot-TSR3000 读条仪扫描检测线的相对光密度值 (G/Peak-ROD 值)。以不同浓度标准品与空白标准品相对光密度值的百分率 (B/B0%) 为纵坐标,以标准品不同浓度的常用对数值作为横坐标,绘制检测试纸的标准曲线,求回归方程,进行相关回归分析,结果见图 3。通过对检测线的 G/Peak-ROD 值进行统计学分析,当 G/Peak-ROD 值与 0ng/mL 的标准品检测线 G/Peak-ROD 值 (B/B0) 为 80% 时,为机读灵敏度,确定试纸的检测限。本试纸当 B/B0% = 80% 时,回归标准曲线方程对应的 QCA 浓度为  $0.58 \mu\text{g/L}$ ,即为机读灵敏度,考虑到在实际检测工作的需要和实际实验操作方面的误差,确定其机读检测限为  $0.6 \mu\text{g/L}$ 。目测检测方法建立:将不同浓度 QCA 标准品溶液,加到试纸样品垫上,静置 10min,根据肉眼观察试验显色结果进行判断,随着标准品浓度增大检测线颜色逐渐变淡,当检测线线显色结果介于两个标准品试纸检测线线颜色之间,表明样品中 QCA 含量也介于这两个标准品浓度之间;当检测线明显浅于 0ng/mL 的标准品检测线时的 QCA 药物浓度,即为 QCA 药物残留检测试纸检测该种 QCA 药物的肉眼判定检测限。本试纸在不同浓度 QCA 样品液中检测,通过目测结果见图 4,当 QCA 标准品浓度低于  $2.5 \mu\text{g/L}$  时与  $0 \mu\text{g/L}$  的标准品检测线无明显差异。当 QCA 标准品浓度在  $2.5 \sim 25 \mu\text{g/L}$  范围内时,肉眼观察其检测线明显浅于  $0 \mu\text{g/L}$  的标准品检测线。当 QCA 标准品浓度高于  $25 \mu\text{g/L}$  时检测线无颜色出现。通过肉眼观察,对 QCA 残留进行半定量及定性检测,目测定检测限为  $25 \mu\text{g/L}$ ,当 QCA 含量低于  $2.5 \mu\text{g/L}$  时其检测线颜色与阴性对照检测线没有明显差异,判定结果为阴性 (-);当 QCA 含量在  $2.5 \sim 25 \mu\text{g/L}$  范围时,其检测线颜色明显浅于阴性对照检测线,判为弱阳性 ( $\pm$ );当 QCA 含量大于  $25 \mu\text{g/L}$  范围时,其检测线无颜色出现,判为阳性 (+),符合我们国家 QCA 残留限量标准。

[0049] 5.2QCA 残留检测试纸的特异性测定

[0050] 表 1 试纸特异性试验

[0051]

化合物	测试线	化合物含量 ( $\mu\text{g/L}$ )								
		0.5	1	2.5	5	10	25	50	100	200
喹喔啉-2-羧酸	Test	+	+	+	$\pm$	$\pm$	—	—	—	—
	Control	+	+	+	+	+	+	+	+	+
卡巴氧	Test	+	+	+	+	+	+	+	+	$\pm$
	Control	+	+	+	+	+	+	+	+	+
喹赛多	Test	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Control	+	+	+	+	+	+	+	+	+

[0052]

喹乙醇	Test	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Control	+	+	+	+	+	+	+	+	+
喹烯酮	Test	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Control	+	+	+	+	+	+	+	+	+
对氨基苯甲酸	Test	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Control	+	+	+	+	+	+	+	+	+

[0053] 注 :+ :红色 ;± :淡红 ; - :无色 .

[0054] 将 QCA 标准溶液用 PBS 溶液稀释至终浓度分别为 0.5、1、2.5、5、10、50、100、200  $\mu\text{g/L}$  共 7 个浓度,用试纸测定各竞争物在不同浓度的标准品溶液,测试试纸的交叉反应性,每个浓度测试 8 个重复,试纸的特异性试验结果见表 2。

[0055] 5.3 实验动物样品检测

[0056] 本试验选择 96 头 15kg 左右的长大二元杂交去势健康仔猪,随机分为 2 组,即对照组和试验组。对照组饲喂不含任何抗菌药物的饲料,试验组饲喂含 50mg/kg 喹噁啉-2-羧酸的饲料。试验期间,自由采食,自由饮水。连续饲喂 7d 后,试验组停止饲喂加药饲料。于停药后 0 天、4 天、10 天、14 天分别屠宰试验组猪 2 头,对照组也分别在停药 0 天、4 天、10 天、14 天屠宰 1 头,采肌肉和肝脏,同时用试纸法和液相 (HPLC) 法同步测定。测定结果见表 2。试验结果表明试纸具有更高的灵敏度,可用于定量检测动物性食品中的喹噁啉-2-羧酸残留。

[0057] 表 2 本发明试纸法和 HPLC 法对猪肉、猪肝中喹噁啉-2-羧酸药物残留测试比较  
[0058]

组 织	停 药 时 间 (天)	HPLC	试纸机读	试纸目 测
		平均值 $\pm$ 标准 差 ( $\text{ng g}^{-1}$ )	平均值 $\pm$ 标准 差 ( $\text{ng g}^{-1}$ )	
肌 肉	0	8.1 $\pm$ 0.8	9.1 $\pm$ 0.5	-, -, -, -

[0059]

	4	$4.5 \pm 0.6$	$4.9 \pm 0.3$	-,-,-,-
	10	$1.8 \pm 0.3$	0	-,-,-,-
	14	0	0	-,-,-,-
肝	0	$83.2 \pm 8.3$	$89.6 \pm 5.6$	+,+,+,+,+
脏	4	$35.6 \pm 7.3$	$38.6 \pm 4.7$	+,+,+,+,+
	10	$14.6 \pm 2.4$	$16.8 \pm 2.6$	-,-,-,-
	14	$4.4 \pm 0.5$	$4.2 \pm 0.7$	-,-,-,-

[0060] 注：阴性-；阳性+。

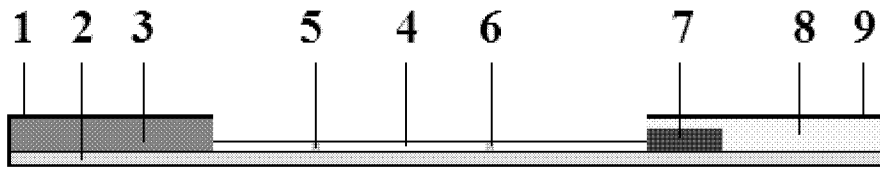


图 1

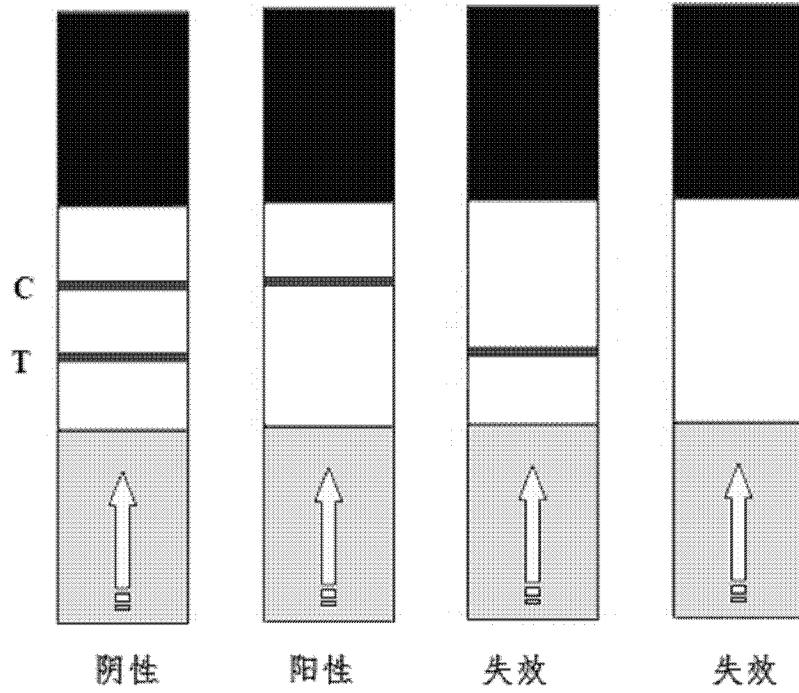


图 2

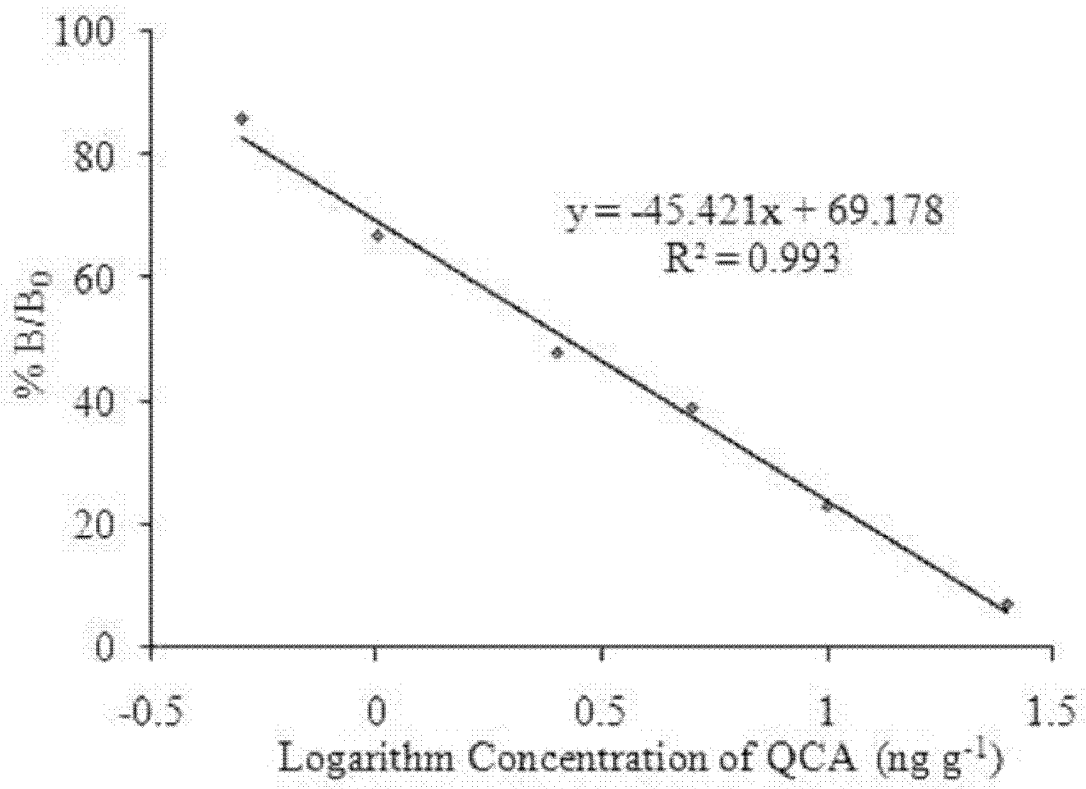
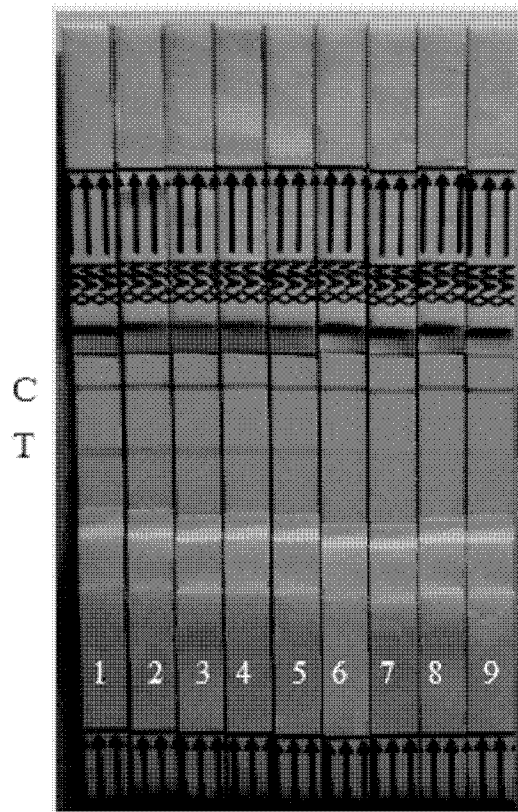


图 3



1-7表示测试样品中含QCA标准品浓度分别为0、0.5、1、2.5、5、10、25、50、100  $\mu\text{g/L}$ 。

图 4

专利名称(译)	检测喹噁啉-2-羧酸残留的免疫胶体金试纸及其制备方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN102590498A</a>	公开(公告)日	2012-07-18
申请号	CN201210011290.0	申请日	2012-01-13
[标]申请(专利权)人(译)	重庆市科学技术研究院		
申请(专利权)人(译)	重庆市科学技术研究院		
当前申请(专利权)人(译)	重庆市科学技术研究院		
[标]发明人	乐涛 贾渝跃 徐建 何红秋 牛晓东		
发明人	乐涛 贾渝跃 徐建 何红秋 牛晓东		
IPC分类号	G01N33/558 G01N33/531		
代理人(译)	郭云		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明公开了一种检测喹噁啉-2-羧酸残留的免疫胶体金试纸及其制备方法。本发明应用免疫学技术筛选出抗喹噁啉-2-羧酸的多克隆抗体，通过胶体金的制备及胶体金标记条件的探索研究，在应用抗喹噁啉-2-羧酸多克隆抗体和GICA技术研究建立抗喹噁啉-2-羧酸多克隆抗体快速检测试纸，并对其性能进行测定。试纸检测范围较宽，假阳性低，检测灵敏，检测结果准确、可靠，适用于动物源性食品中的可食性组织如肌肉、肝脏等组织中喹噁啉-2-羧酸残留的检测。

