

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷
G01N 33/53
G01N 33/558



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 02133586.9

[43] 公开日 2003 年 4 月 9 日

[11] 公开号 CN 1409113A

[22] 申请日 2002.8.6 [21] 申请号 02133586.9

[71] 申请人 张少恩

地址 400041 重庆市石桥铺高新区生物园标准厂房 J 座 7 楼

[72] 发明人 张少恩

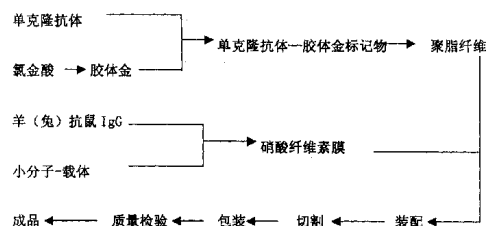
[74] 专利代理机构 重庆创新专利事务所有限公司
代理人 张先芸

权利要求书 2 页 说明书 4 页 附图 1 页

[54] 发明名称 胶体金免疫层析法在水、农及畜产品检测中的应用

[57] 摘要

本发明涉及胶体金免疫层析法在水、农及畜产品检测领域的应用，属生物学技术领域。本发明针对水产品、农产品及畜产品检测手段单一、条件受限等问题，将胶体金免疫层析技术引入到水产品、农产品及畜产品的检测领域。具有特异性强、敏感性高、简易快速、费用低廉等优点，尤其适于各级防疫、检验部门推广使用。



ISSN 1008-4274

- 1、胶体金免疫层析法在畜产品检测中的应用。
- 2、胶体金免疫层析法在水产品检测中的应用。
- 3、胶体金免疫层析法在农产品检测中的应用。
- 4、根据权利要求1所述的检测方法的应用，其特征在于胶体金免疫层析法中需检小分子包括各种激素及抗生素。
- 5、根据权利要求2或3所述的检测方法的应用，其特征在于胶体金免疫层析法中需检小分子包括各种激素、农药、杀虫剂及抗生素。
- 6、根据权利要求5所述的检测方法的应用，其特征在于所述农药包括有机磷、有机硫、有机氮化合物或氨基甲酸酯类化合物。
- 7、根据权利要求4或5所述的检测方法的应用，其特征在于所述抗生素包括黄曲霉素、链霉素、金霉素、四环素、土霉素、氯霉素等抗生素及其盐酯及制剂。
- 8、根据权利要求4或5所述的检测方法的应用，其特征在于胶体金免疫层析中需检小分子包括 Aristilochia spp、氯霉素 (Chloramphenicol)、氯仿 (Chloroform)、Chlorpromazine、秋水仙素 (Colchicine)、氨苯砒 (Dapsone)、Dimetridazole、甲硝达唑 (Metronidazole)、硝基呋喃 Nitrofurans (包括呋喃唑酮 Furazolidone)、Ronidazole。
- 9、根据权利要求4或5所述的检测方法的应用，其特征在于胶体金免疫层析中需检小分子还包括兴奋剂类：克伦特罗 Clenbuterol、沙丁胺醇 Salbutamol、希马特罗 Cimeterol 及其盐、酯及制剂；性激素类：己烯雌分 Diethylstilbestrol、双烯雌分、己烷雌分及其盐、酯及其制剂；具有雌激素样的物质：玉米赤霉醇 Zarand、去甲雄三烯醇酮 Trenbolone、醋酸甲孕酮 Mestrol Acetate 及制剂；氨苯砒 (Dapsone) 及制剂；硝基呋喃类：呋喃唑酮 Furazolidone、呋喃苯烯酸钠 Nifurstyrenate Sodium 及制剂；硝基化合物：硝基酚钠 Sodium nitrophenolate、硝呋烯腙 Nitrovin 及制剂；催眠、镇定类：安眠酮 Methaqualone 及制剂；林丹 (丙体六六六) Lindane；毒杀芬 (氯化烯) Camahechlor；呋喃丹 (克百威) Carbofuran；杀虫脒(克死螨)Chlordimeform；双甲醚 Amitraz；酒石酸锑钾 Antimony potassium tatarate；锥虫胂胺 Tryparsamide；孔雀石绿 Malachite

green; 五氯酚酸钠 Pentachlorophenol sodium; 各种汞制剂: 氯化亚汞 (甘汞) Calomel、硝酸亚汞 Mercurous、醋酸汞 Mercurous acetate、吡啶基醋酸汞 Pyridyl mercurous acetate; 性激素类: 甲基睾九酮 Methyltestosterone、丙酸睾酮、苯丙酸诺龙、苯甲酸雌二醇 Estradiol Benzoate 及其盐、酯及制剂; 催眠、镇静类: 氯丙嗪 Chlorpromazine、地西洋 (安定) Diazepam 及其盐、酯及制剂; 硝基咪唑类: 甲硝唑 Metronidazole、地美硝唑 Dimetronidazole 及其盐、酯及制剂。

- 10、根据权利要求 5 所述的检测方法的应用, 其特征在于胶体金免疫层析法中需检小分子包括滴滴涕、磺胺类、恶喹酸、多氯联苯、腹泻性贝类毒素 (DSP)、麻痹性贝类毒素 (DSP)。

胶体金免疫层析法在水、农及畜产品检测中的应用

一、技术领域

本发明涉及水产品、农产品及畜产品检测技术，具体涉及胶体金免疫层析法在水、农及畜产品检测领域的应用，属生物医学技术领域。

二、背景技术

现有技术中，水产品、农产品及畜产品检测通常采用色谱技术，由于其具有高灵敏度、高分离效率、高选择性，几乎成为现代各行业分析实验室中必备的分析手段。

但是，色谱技术存在下述缺陷：1) 样品的预处理程序繁琐，要求高；2) 对操作时使用的水及各种溶剂有着严格的要求；3) 操作过程复杂，时间长；4) 需要经过专业培训的技术人员操作，操作人员要有丰富的相关经验；操作人员必须了解影响色谱分析的各种干扰因素，了解所使用的预处理方法的优缺点，才能获得可靠的分析结果；5) 需要昂贵的仪器设备辅助，难以在城市及中小企业中普及；6) 仪器保养的要求高，保养的好坏直接影响分析结果的准确性；7) 检测费用高。

胶体金免疫层析技术是一项九十年代的先进生物技术，它具有特异性强，敏感性高，简易快速，试剂易保存，成本低廉及不需要特异设备等优点，主要应用于卫生、防疫、检验部门。

三、发明内容

本发明针对水产品、农产品及畜产品检测手段单一、条件受限等问题，将胶体金免疫层析技术引入到水产品、农产品及畜产品的检测领域。属于用途发明，是将公知的技术用于新的目的，能够产生预料不到的技术效果。其技术内容如下：

胶体金免疫层析法在畜产品检测中的应用。

胶体金免疫层析法在水产品检测中的应用。

胶体金免疫层析法在农产品检测中的应用。

胶体金免疫层析法中需检小分子包括各种激素、农药、杀虫剂及抗生素。所述农药包括有机磷、有机硫、有机氮化合物或氨基甲醛酯类化合物。所述抗生素包括黄曲霉素、链霉素、金霉素、四环素、土霉素、氯霉素等抗生素及其盐酯及制剂。

胶体金免疫层析中需检小分子包括 *Aristolochia* spp、氯霉素

(Chloramphenicol)、氯仿 (Chloroform)、Chlorpromazine、秋水仙素 (Colchicine)、氨苯砒 (Dapsone)、Dimetridazole、甲硝达唑 (Metronidazole)、硝基呋喃 Nitrofurans (包括呋喃唑酮 Furazolidone)、Ronidazole。

胶体金免疫层析中需检小分子还包括兴奋剂类：克伦特罗 Clenbuterol、沙丁胺醇 Salbutamol、希马特罗 Cimatrol 及其盐、酯及制剂；性激素类：己烯雌分 Diethylstilbestrol、双烯雌分、己烷雌分及其盐、酯及其制剂；具有雌激素样的物质：玉米赤霉醇 Zearalenone、去甲雄三烯醇酮 Trenbolone、醋酸甲孕酮 Mestranolone Acetate 及制剂；氨苯砒 (Dapsone) 及制剂；硝基呋喃类：呋喃唑酮 Furazolidone、呋喃苯烯酸钠 Nifurstyrenate Sodium 及制剂；硝基化合物：硝基酚钠 Sodium nitrophenolate、硝呋烯腙 Nitrovin 及制剂；催眠、镇定类：安眠酮 Methaqualone 及制剂；林丹 (丙体六六六) Lindane；毒杀芬 (氯化烯) Chlordane；呋喃丹 (克百威) Carbofuran；杀虫脒 (克死螨) Chlordimeform；双甲醚 Amitraz；酒石酸锑钾 Antimony potassium tartrate；锥虫胂胺 Tryparsamide；孔雀石绿 Malachite green；五氯酚酸钠 Pentachlorophenol sodium；各种汞制剂：氯化亚汞 (甘汞) Calomel、硝酸亚汞 Mercurous nitrate、醋酸汞 Mercurous acetate、吡啶基醋酸汞 Pyridyl mercurous acetate；性激素类：甲基睾酮 Methyltestosterone、丙酸睾酮、苯丙酸诺龙、苯甲酸雌二醇 Estradiol Benzoate 及其盐、酯及制剂；催眠、镇静类：氯丙嗪 Chlorpromazine、地西洋 (安定) Diazepam 及其盐、酯及制剂；硝基咪唑类：甲硝唑 Metronidazole、地美硝唑 Dimetronidazole 及其盐、酯及制剂。

胶体金免疫层析法中需检小分子包括滴滴涕、磺胺类、恶唑酸、多氯联苯、腹泻性贝类毒素 (DSP)、麻痹性贝类毒素 (DSP)。

采用本发明方法，具有特异性强、敏感性高、简易快速、费用低廉的等优点，尤其适于各级防疫、检验部门推广使用。

四、附图说明

图 1 是本发明工艺流程图。

五、具体实施方式

下面结合附图和实施方式对本发明作进一步说明：

参见图 1，本发明的应用主要包括以下步骤：

1. 原料准备

1) 单克隆抗体的制备：取杂交瘤细胞株在体外常规培养、传代，用需检小分子-载体注射 BALB/C 小鼠腹腔，收取腹水，以亲和层析法提纯单克隆抗体。

2) 多克隆抗体的制备：用需检小分子-载体多次免疫山羊或家兔，提取抗血清纯化后得羊抗鼠 IgG 或兔抗鼠 IgG。

3) 胶体金的制备：用柠檬酸三钠等还原剂将氯金酸还原成胶体金颗粒。

4) 单克隆抗体胶体金标记：将胶体金与单克隆抗体按最适比例混匀，使胶体金与抗体形成稳定的胶体颗粒，通过纯化浓缩形成抗体-胶体金标记物。

2. 生产步骤

1) 将单克隆抗体-胶体金标记物包被于聚脂纤维膜上。

2) 将需检小分子-载体和羊（兔）抗鼠 IgG 用点膜机点于硝酸纤维素膜的检测区带和控制区带上，充分干燥，使硝酸纤维素膜牢固地吸附抗体。

3) 将上述玻璃纤维膜和硝酸纤维素膜通过复合压膜机，复合在 PVC 塑料薄板上。

4) 将复合好的塑料薄板置于分切机上，分切成单人份试剂条，也可制成试剂板结构。

5) 将单人份试剂条（试剂板）装入配套的塑料盒内。

6) 将塑料盒，干燥剂放入包装袋内，封口，待检。

7) 待检品抽检其灵敏度，特异性和稳定性合格出厂。

本发明应用方法：

（一）胶体金试剂条操作：

1、样本采集

2、样本简单处理

3、检测：

1) 在检测前先将样本和试剂条放在室温条件下放置一段时间（10 分钟），使其恢复至室温；

2) 从铝箔袋中取出检测试剂条，按 MARK 线下箭头所示的方向将试剂条浸入样本溶液中，液面不得超过 MARK 线，5—8 秒后取出，平放在操作台上；

3) 5—15 分钟内判断结果，30 分钟后判断的结果无效。

（二）胶体金试剂板操作：

- 1、样本采集
- 2、样本简单处理
- 3、检测：

1) 在检测前先将样本和试剂板放在室温条件下放置一段时间（10分钟），使其恢复至室温；

2) 从铝箔袋中取出检测试剂板，平放在操作台上，往加样孔中滴加3滴（约120ul）样品溶液；

3) 5—15分钟内判断结果，30分钟后判断的结果无效。

（三）结果判断：如果样品中没有要检测的小分子物质存在，则检测线处出现红色条带，同时质控线上也出现红色条带，此时结果为阴性；如果样品中存在要检测的小分子物质，则检测线处无条带出现，但质控线上出现红色条带，此时结果为阳性。如果质控线上无红色条带出现，则产品失效。

例如，检测新鲜牛肉中的己烯雌酚激素。

以用己烯雌酚胶体金免疫层析试剂板检测牛肉中的己烯雌酚为例：

1. 样本采集：称取5g（±0.1g）新鲜牛肉样品。

2. 样本简单处理：将样品用小型绞肉机绞碎，放入50ml离心管中加入10ml甲醇，充分搅拌、振荡20min，于3000r/min离心10min，将上清液移出；残渣中再加10ml甲醇，混匀后振荡20min，于3000r/min离心10min，合并上清液备用。

3. 检测

1) 将样品及试剂板放在室温条件下10min，使样品恢复至室温状态。

2) 从铝箔袋中取出检测试剂板，平放在操作台上，往加样孔中滴加3滴（约120ul）样品溶液。

3) 5—15分钟内判断结果，30分钟后判断的结果无效，判断方法同前。

同样，检测水产品如检测鳗鱼中的恶喹酸；

检测农产品如检测花生中的黄曲霉素、蜂蜜产品中的链霉素均可采用本方法。

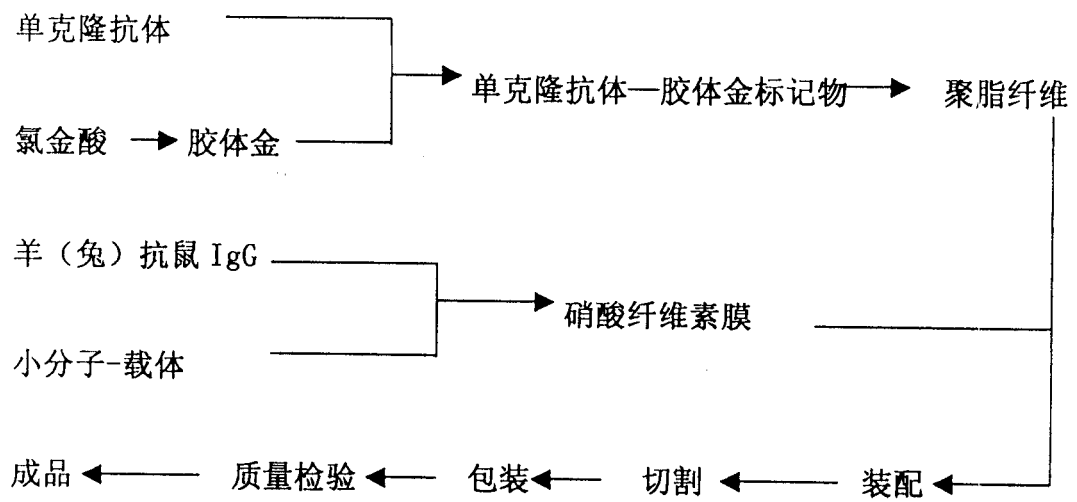


图 1

专利名称(译)	胶体金免疫层析法在水、农及畜产品检测中的应用		
公开(公告)号	CN1409113A	公开(公告)日	2003-04-09
申请号	CN02133586.9	申请日	2002-08-06
[标]申请(专利权)人(译)	张少恩		
申请(专利权)人(译)	张少恩		
当前申请(专利权)人(译)	张少恩		
[标]发明人	张少恩		
发明人	张少恩		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/558		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及胶体金免疫层析法在水、农及畜产品检测领域的应用，属生物医学技术领域。本发明针对水产品、农产品及畜产品检测手段单一、条件受限等问题，将胶体金免疫层析技术引入到水产品、农产品及畜产品的检测领域。具有特异性强、敏感性高、简易快速、费用低廉的等优点，尤其适于各级防疫、检验部门推广使用。

