



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111175510 A

(43)申请公布日 2020.05.19

(21)申请号 201911416705.0

(22)申请日 2019.12.31

(71)申请人 宁波大学

地址 315211 浙江省宁波市江北区风华路
818号

(72)发明人 史西志 张泽明 刘晨曦 张蓉蓉
孙爱丽 陈炯

(74)专利代理机构 宁波奥圣专利代理事务所
(普通合伙) 33226

代理人 何仲

(51)Int.Cl.

G01N 33/58(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

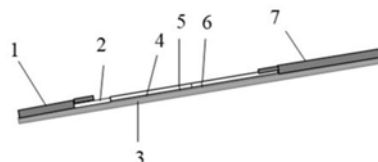
权利要求书1页 说明书6页 附图3页

(54)发明名称

一种检测除草剂敌稗的仿生免疫荧光试纸条及其制备方法和应用

(57)摘要

本发明公开了一种检测除草剂敌稗的仿生免疫荧光试纸条及其制备方法和应用,特点是包括样品垫、玻璃纤维膜、硝酸纤维素膜、吸水垫和PVC底板,PVC底板上按顺序依次粘附有样品垫、玻璃纤维膜、硝酸纤维素膜和吸水垫,硝酸纤维素膜上设置有检测线和质控线,检测线和质控线上包被有敌稗分子印迹聚合物-量子点复合物,其制备方法包括敌稗分子印迹聚合物-量子点复合物的制备步骤;将敌稗分子印迹聚合物-量子点复合物均匀吸附在硝酸纤维素膜上,形成荧光强度一致的检测线T线和质控线C线,在PVC底板上按顺序依次粘附样品垫、玻璃纤维膜、硝酸纤维素膜和吸水垫得到试纸条的步骤,优点是选择性强、灵敏度和准确性高。



1. 一种检测除草剂敌稗的仿生免疫荧光试纸条,包括样品垫、玻璃纤维膜、硝酸纤维素膜、吸水垫和PVC底板,所述的PVC底板上按顺序依次粘附有样品垫、玻璃纤维膜、硝酸纤维素膜和吸水垫,所述的硝酸纤维素膜上设置有检测线和质控线,其特征在于:所述的检测线和所述的质控线上包被有敌稗分子印迹聚合物-量子点复合物。

2. 根据权利要求1所述的一种检测除草剂敌稗的仿生免疫荧光试纸条,其特征在于:所述的检测线与所述的质控线之间的间隔距离为5 mm,所述的检测线和所述的质控线之间的硝酸纤维素膜的中间隔断距离为1 mm。

3. 一种权利要求1所述的检测除草剂敌稗的仿生免疫荧光试纸条的制备方法,其特征在于包括以下步骤:

(1) 敌稗配制

采用由环己烷和丙酮按体积比9:1的比例混合而成的溶液为溶剂配制敌稗溶液;

(2) 敌稗分子印迹聚合物-量子点复合物的制备

将1.8 mL的Triton x-100和7.5 mL的致孔剂环己烷加入圆底烧瓶,以400 r/min的速度常温搅拌15 min,然后向圆底烧瓶中加入400 μ L浓度为1 mg/mL 的溶于氯仿的CdSe/ZnS量子点溶液,再加入50 μ L的交联剂TEOS和100 μ L的氨水,黑暗常温搅拌2小时;将45.6 μ L的APTES和110 μ L的浓度为25 mg/mL的敌稗溶液加入到小棕瓶中,黑暗中搅拌2小时后;目的是待测物质敌稗与功能单体APTES的键合;将小棕瓶中的混合物倒入圆底烧瓶,继续黑暗环境下搅拌12小时;然后倒入盛有10 mL丙酮的离心管中,等待沉淀完成后,以9000 r/min离心10分钟后,去除上清液;离心管中加入6 mL 超纯水,震荡20分钟后以9000 r/min离心20分钟后,去除上清液;离心管中加入由 乙醇和乙腈按体积比8:2的比例混合而成的溶液,超声均匀后震荡40分钟后,以9000 r/min转速离心15分钟,去除上清液;重复用由 乙醇和乙腈按体积比8:2的比例混合而成的溶液洗涤除去模板分子敌稗直到用荧光分光光度计测量聚合物的荧光值不再变化,即得到敌稗分子印迹聚合物-量子点复合物,将其加入到含有1 mL乙醇的琥珀色玻璃瓶内,放置在4℃冰箱避光保存;

(3) 硝酸纤维素膜上检测线T线和质控线C线的制备

将洗脱去模板分子的敌稗分子印迹聚合物-量子点复合物均匀吸附在硝酸纤维素膜上,形成荧光强度一致的检测线T线和质控线C线,常温下干燥避光保存;

(4) 仿生免疫荧光试纸条的制备

在PVC底板上按顺序依次粘附样品垫、玻璃纤维膜、硝酸纤维素膜和吸水垫,得到检测除草剂敌稗的仿生免疫荧光试纸条。

4. 一种权利要求1-3中任一项所述的检测除草剂敌稗的仿生免疫荧光试纸条的检测方法,其特征在于包括以下步骤:将检测除草剂敌稗的仿生免疫荧光试纸条水平放置,用滴管向试纸孔缓慢逐滴加入含有待测样品的检测体系,在紫外灯下,当存在高于0.005 mg/L的敌稗分子时,可以肉眼捕捉检测线处明显的荧光猝灭,即可以判断检测体系中是否存在敌稗,检测体系配置方法为:配制4 mmol/L的PBS缓冲液,加入氯化钠使体系中氯化钠浓度为0.045 g/L,调整混合液pH 为9,将待测样品溶于检测体系中即可。其中优化该检测体系的目的是提高荧光试纸条的灵敏度,具体实验操作目的是该体系可以用于配制不同浓度敌稗分子的溶剂。

一种检测除草剂敌稗的仿生免疫荧光试纸条及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种快速检测环境水体中除草剂类内分泌干扰物敌稗的方法,尤其是涉及一种检测除草剂敌稗的仿生免疫荧光试纸条及其制备方法和应用。

背景技术

[0002] 敌稗是一种酰胺类除草剂,对稻苗安全而对稗草有很强的触杀作用,在我国广泛应用于多种农作物,在生产、使用的过程中亦可以进入环境造成土壤、水体、大气的污染。敌稗在植物体内几乎不输导,只是在药剂接触部位起作用。它的作用机制是多方面的,不仅破坏植物的光合作用,而且还抑制呼吸作用与氧公磷酸化作用,干扰核酸与蛋白质合成等,从而使敏感植物的生理机能受到影响,加速失水、叶片逐渐枯干,最后死亡。动物毒理学研究表明:敌稗会影响肝和脾的正常生理功能,提高间质细胞瘤和淋巴瘤的发病率,所以敌稗对于环境生态和人类健康的影响不容忽视。目前常用的检测敌稗的技术主要是色谱方法,主要有气相色谱法(Gas chromatography, GC)、液相色谱质谱联用法(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)、气相色谱质谱连用法(Gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)。上述方法检测过程复杂,而且无法实现现场检测。

[0003] 仿生免疫层析试纸快速检测技术是基于仿生免疫层析原理建立起来的一种适用于现场检测的技术,典型的仿生免疫层析试纸包括样品垫、PVC底板、检测线、控制线、玻璃纤维膜和吸收垫。以微孔膜作为固相载体,经渗透和毛细管虹吸作用使待测样品中的抗原与膜上包被的抗体结合,通过标记垫上标记物来呈现反应结果。定量层析技术,是在传统仿生免疫层析技术基础上发展起来的一种新型的定量检测技术。该技术不但具有操作简便、检测快速和便携性强的优点,还能通过荧光信号的强弱实现检测结果的定量。而由于荧光信号的漂移、检测时间不固定等操作原因、试纸条批内不均一、主校准曲线漂移等因素的影响,检测结果常常发生测定偏差较大问题,从而不能准确真实的反应待测物质的含量,因此,如何提高检测的精确度及可信度是需要解决的问题。

发明内容

[0004] 本发明所要解决的技术问题是提供一种选择性强、灵敏度和准确性高的检测除草剂敌稗的仿生免疫荧光试纸条及其制备方法和应用。

[0005] 本发明解决上述技术问题所采用的技术方案为:一种检测除草剂敌稗的仿生免疫荧光试纸条,包括样品垫、玻璃纤维膜、硝酸纤维素膜、吸水垫和PVC底板,所述的PVC底板上按顺序依次粘附有样品垫、玻璃纤维膜、硝酸纤维素膜和吸水垫,所述的硝酸纤维素膜上设置有检测线和质控线,所述的检测线和所述的质控线上包被有敌稗分子印迹聚合物-量子点复合物。

[0006] 所述的检测线与所述的质控线之间的间隔距离为5 mm,所述的检测线和所述的质

控线之间的硝酸纤维素膜的中间隔断距离为1 mm。被检测物通过层析进入检测线而无法到达控制线。

[0007] 上述检测除草剂敌稗的仿生免疫荧光试纸条的制备方法,包括以下步骤:

(1) 敌稗配制

采用由环己烷和丙酮按体积比9:1的比例混合而成的溶液为溶剂配制敌稗溶液;

(2) 敌稗分子印迹聚合物-量子点 (MIP-QDs) 复合物的制备

将1.8 mL的Triton x-100和7.5 mL的致孔剂环己烷加入圆底烧瓶,以400 r/min的速度常温搅拌15 min,然后向圆底烧瓶中加入400 μ L浓度为1 mg/mL 的溶于氯仿的CdSe/ZnS量子点(QDs)溶液,再加入50 μ L的交联剂TEOS和100 μ L的氨水,黑暗常温搅拌2小时;将45.6 μ L的APTES和110 μ L的浓度为25 mg/mL的敌稗溶液加入到小棕瓶中,黑暗中搅拌2小时后;目的是待测物质敌稗与功能单体APTES的键合;将小棕瓶中的混合物倒入圆底烧瓶,继续黑暗环境下搅拌12小时;然后倒入盛有10 mL丙酮的离心管中,等待沉淀完成后,以9000 r/min离心10分钟后,去除上清液;离心管中加入6 mL 超纯水,震荡20分钟后以9000 r/min离心20分钟后,去除上清液;离心管中加入由 乙醇和乙腈按体积比8:2的比例混合而成的溶液,超声均匀后震荡40分钟后,以9000 r/min转速离心15分钟,去除上清液;重复用由 乙醇和乙腈按体积比8:2的比例混合而成的溶液洗涤除去模板分子敌稗直到用荧光分光光度计测量聚合物的荧光值不再变化,即得到敌稗分子印迹聚合物-量子点 (MIP-QDs) 复合物,将其加入到含有1 mL乙醇的琥珀色玻璃瓶内,放置在4℃冰箱避光保存;

(3) 硝酸纤维素膜上检测线T线和质控线C线的制备

将洗脱去模板分子的敌稗分子印迹聚合物-量子点复合物均匀吸附在硝酸纤维素膜上,形成荧光强度一致的检测线T线和质控线C线,常温下干燥避光保存;

(4) 仿生免疫荧光试纸条的制备

在PVC底板上按顺序依次粘附样品垫、玻璃纤维膜、硝酸纤维素膜和吸水垫,得到检测除草剂敌稗的仿生免疫荧光试纸条。

[0008] 上述检测除草剂敌稗的仿生免疫荧光试纸条的检测方法,包括以下步骤:将检测除草剂敌稗的仿生免疫荧光试纸条水平放置,用滴管向试纸孔缓慢逐滴加入含有待测样品的检测体系,在紫外灯下,当存在高于0.005 mg/L的敌稗分子时,可以肉眼捕捉检测线处明显的荧光猝灭,即可以判断检测体系中是否存在敌稗,检测体系配置方法为:配制4 mmol/L的PBS缓冲液,加入氯化钠使体系中氯化钠浓度为0.045 g/L,调整混合液pH 为9,将待测样品溶于检测体系中即可。其中优化该检测体系的目的是提高荧光试纸条的灵敏度,具体实验操作目的是该体系可以用于配制不同浓度敌稗分子的溶剂。

[0009] 与现有技术相比,本发明的优点在于:本发明首次公开了一种检测除草剂敌稗的仿生免疫荧光试纸条及其制备方法,利用量子点的优良荧光特性和分子印迹技术的高选择性,采用表面接枝技术制备了敌稗的MIP-QDs,优化了获得最大荧光抑制效率的最佳条件。利用竞争法来检测样品中敌稗,根据检测线条带的荧光强弱变化,利用凝胶成像技术判断待测样品中是否含有目标物并且达到可视化检测的目的。优点如下:

1、本发明基于MIP-QDs的仿生免疫荧光试纸条检测敌稗是利用类似抗体的特异性识别实现的,因此具有较高的特异性;

2、本发明的仿生免疫荧光试纸条检测时间快速,只需要便携式紫外灯检测就可达到低

浓度可视化检测的目的,检测成本低;

3、本发明的检测试纸条检测限低,通过凝胶成像仪对猝灭强度进行评估获得能够与检测信号定量比较的信号并建立标准曲线,可用于检测环境中低浓度敌稗;

4、本发明的检测试纸条操作简便,不需由专业人员操作。

附图说明

[0010] 图1为本发明仿生免疫荧光试纸条的主视图;,其中图中各标注如下:1、样品垫、2、玻璃纤维膜、3、PVC底板、4、硝酸纤维素膜、5、检测线T线、6、质控线C线、7、吸水垫;

图2为仿生免疫荧光试纸条在空白对照以及敌稗浓度分别为0、0.005、0.01、0.05、0.1、0.2、0.5 mg/L时紫外仪下荧光变化图(左)以及凝胶成像仪下荧光变化规律图(右);

图3为不同浓度的敌稗溶液与荧光试纸条荧光猝灭OD值拟合的线性标准曲线;

图4为不同浓度的敌稗溶液拟合曲线抑制效果图,其中T为检测线和C为质控线;

图5为仿生免疫荧光试纸条在空白对照以及敌稗、扑灭津、异丙隆、炔苯酰草胺和莠去津浓度均为0.5 mg/L时紫外仪下荧光变化图;从左到右依次为空白溶剂、敌稗、扑灭津、异丙隆、炔苯酰草胺和莠去津;

图6为仿生免疫荧光试纸条在敌稗分子加标浓度从左到右依次为0.005、0.01、0.1 mg/L的海水样品下的凝胶成像仪下荧光变化规律。

具体实施方式

[0011] 以下结合附图实施例对本发明作进一步详细描述。

[0012] 具体实施例一

一种检测除草剂敌稗的仿生免疫荧光试纸条,如图1所示,包括样品垫1、玻璃纤维膜2、硝酸纤维素膜4、吸水垫7和PVC底板3,PVC底板3上按顺序依次粘附有样品垫1、玻璃纤维膜2、硝酸纤维素膜4和吸水垫7,硝酸纤维素膜4上设置有检测线T线56和质控线C线67,检测线6和质控线7上包被有敌稗分子印迹聚合物-量子点复合物。

[0013] 用Millipore的硝酸纤维素膜4裁成1.5cm×0.5cm的长条形,再从中间一分为二分别粘贴于PVC底板3上,用划膜法将浓度均匀的敌稗分子印迹聚合物-量子点复合物(MIP-QDs)均匀的划在硝酸纤维素膜4上两条,作为检测线T线5和控制线C线,避光晾干。其中检测线与质控线之间的间隔距离为5 mm,检测线T线5和质控线C线6之间的硝酸纤维素膜4的中间隔断距离为1 mm,使被检测物通过层析进入检测线而无法到达控制线。

[0014] 将PVC底板3切成3cm×0.5cm的长条,将样品垫1、玻璃纤维膜2、硝酸纤维素膜4和吸水垫7,按如图1所示的方式安装在PVC底板3上,真空封口。

[0015] 具体实施例二

上述具体实施例一中检测除草剂敌稗的仿生免疫荧光试纸条的制备方法,包括以下步骤:

(1) 模板敌稗配制

采用由环己烷和丙酮按体积比9:1的比例混合而成的溶液为溶剂配制敌稗溶液;

(2) 敌稗分子印迹聚合物-量子点复合物(MIP-QDs)的制备(采用了反相微乳液法)

将1.8 mL的Triton x-100和7.5 mL的致孔剂环己烷加入圆底烧瓶,以400 r/min的速

度常温搅拌15 min,然后向圆底烧瓶中加入400 μL 浓度为1 mg/mL 的溶于氯仿的CdSe/ZnS量子点(QDs)溶液,再加入50 μL 的交联剂TEOS和100 μL 的氨水,黑暗常温搅拌2小时;将45.6 μL 的APTES和110 μL 的浓度为25 mg/mL的敌稗溶液加入到小棕瓶中,黑暗中搅拌2小时后;目的是待测物质敌稗与功能单体APTES的键合;将小棕瓶中的混合物倒入圆底烧瓶,继续黑暗环境下搅拌12小时;然后倒入盛有10 mL丙酮的离心管中,等待沉淀完成后,以9000 r/min离心10分钟后,去除上清液;离心管中加入6 mL 超纯水,震荡20分钟后以9000 r/min离心20分钟后,去除上清液;离心管中加入由 乙醇和乙腈按体积比8:2的比例混合而成的溶液,超声均匀后震荡40分钟后,以9000 r/min转速离心15分钟,去除上清液;重复用由 乙醇和乙腈按体积比8:2的比例混合而成的溶液洗涤除去模板分子敌稗直到用荧光分光光度计测量聚合物的荧光值不再变化,即得到敌稗分子印迹聚合物-量子点(MIP-QDs)复合物,将其加入到含有1 mL乙醇的琥珀色玻璃瓶内,放置在4℃冰箱避光保存;

(3) 硝酸纤维素膜4上检测线T线5和质控线C线6的制备

将洗脱去模板分子的敌稗分子印迹聚合物-量子点复合物均匀吸附在硝酸纤维素膜4上,形成荧光强度一致的检测线T线5和质控线C线6,常温下干燥避光保存;

(4) 仿生免疫荧光试纸条的制备

在PVC底板3上按顺序依次粘附样品垫1、玻璃纤维膜2、硝酸纤维素膜4和吸水垫7,得到检测除草剂敌稗的仿生免疫荧光试纸条。

[0016] 上述材料中,敌稗购于上海农药研究有限公司。CdSe/ZnS量子点购自北京北达聚邦量子点技术开发有限公司,样品垫1和硝酸纤维素膜4购自美国Millipore公司,吸水垫7和PVC底板3购自上海金标生物科技公司。

[0017] 具体实施例三

检测上述具体实施例二合成的仿生免疫荧光试纸条的荧光抑制

1、用配有透明1cm \times 1cm石英比色皿的F-4600日立荧光分光光度计检测。电压为800 eV,激发波长设定为270 nm,发射波长扫描范围为570-680 nm,激发和发射波长的夹缝宽度都为5 nm。加入MIP-QDs得到初始荧光值定义为 F_0 ,之后加入抑制剂敌稗的荧光值定义为 F 。NIP-QDs的检测方法与MIP-QDs相同。荧光猝灭遵循Stern-Volmer方程: $F_0/F=1+K_{sv}[Q]$ 。 F_0 是MIP-QDs初始荧光值, F 是加入待测物质敌稗之后荧光值。 $IF=K_{sv,MIP-QDs}/K_{sv,NIP-QDs}$ 为印迹因子,用来评估合成材料MIP-QDs对敌稗的印迹能力大小。 IF 大于1说明MIP-QDs合成成功。

[0018] 2、优化反应体系MIP-QDs检测灵敏度(用于获得最佳检测敌稗的体系,随后通过获得的最佳检测体系溶液用来配制一定浓度的敌稗分子作为后续灵敏度、选择性和准确性分析)。通过单因素优化水比例、pH值、PBS缓冲液浓度和盐浓度。水比例为乙醇比水(v/v)分别为0,20%,40%,60%,80%,100%,在纯水中印迹效果最好, IF 达到1.4;随后选择纯水为检测体系优化PBS缓冲液浓度分别为0,4 mM,8 mM,12 mM,16 mM,和20 mM,在PBS缓冲液浓度为4 mM时, IF 值达到1.75;接着在上述条件下探究pH值和盐浓度对 IF 的影响,选择优化pH范围6-11之间,在pH=9的情况下 IF 值为2;接着在盐浓度为0.005 g/L中, IF 值达到2.5。最终,检测体系配置方法为:配制4 mmol/L的PBS缓冲液,加入氯化钠使体系中氯化钠浓度为0.045 g/L,调整混合液pH 为9。通过优化条件使得待检物质与聚合物更好的以非共价键结合,在表面产生电子转移而达到荧光猝灭。敌稗在250 nm处有明显的紫外吸收峰,而MIP-QDs的紫外吸收在270 nm,与敌稗分子的紫外吸收峰并无重合排除内滤效应导致的荧光猝灭,而MIP-

QDs的荧光发射波长在630 nm,远离敌稗紫外吸收峰排除共振能量转移导致的荧光猝灭。由此,荧光猝灭由于电子转移导致,即量子点表面电子激发后跃迁至敌稗分子表面最低未占电子轨道,而发生电子转移,导致荧光猝灭。

[0019] 3、检测方法:敌稗快速检测荧光试纸条包括检测线T线5和控制线C线,使用时将试纸卡水平放置,用滴管向试卡孔缓慢逐滴加入含有待测样品的检测体系。在紫外灯下,当存在高于0.005 mg/L的敌稗分子时,可以肉眼捕捉检测线T线5处明显的荧光猝灭。即可以判断,检测液中是否存在敌稗。该荧光试纸条检出限远低于国家标准。

[0020] 本发明荧光抑制基于量子点为电子供体而量子点上的分子印迹层对模板分子敌稗特异性识别将电子转移至电子受体(敌稗)。敌稗的紫外吸收峰与MIP-QDs的激发波长和发射波长并无重叠,排除是内滤效应和能量转移导致的荧光猝灭。通过紫外光谱扫描敌稗后加入功能单3-氨基丙基三乙氧基硅烷(APTES),敌稗的紫外吸收峰发生了红移,可以判断是电子转移导致荧光猝灭。MIP-QDs荧光猝灭技术是基于在仿生免疫分析技术的基础,并且利用MIP-QDs作荧光供体与敌稗混合,将相同浓度的MIP-QDs作为T线和C线固定于NC膜上,当MIP-QDs与敌稗分子特异性结合时,在紫外灯的照射下可以观察到MIP-QDs的荧光猝灭。质控线C线6和检测线T线5的存在保证了试纸条是否有效,而T线的有无可以判定目标物的有无。

[0021] 具体实施例四

灵敏度测试

如图4所示,从左到右在荧光试纸条中添加敌稗标准品,浓度分别为0、0.005、0.01、0.05、0.1、0.2、0.5 mg/L的敌稗,抑制效果肉眼可见如图2所示,当敌稗浓度为0.005 mg/L时,检测线荧光开始出现明显的猝灭,当敌稗浓度到大于0.5 mg/L时,荧光完全猝灭。分析了6个浓度的抑制效果凝胶成像图,根据荧光凝胶成像分析之后对这6个梯度浓度拟合线性方程,如图3所示,线性方程为 $y=97.88x+8.5207$,相关系数 $R^2=0.9991$,检出限0.6 $\mu\text{g/L}$ 。图4为凝胶成像仪荧光拟合抑制曲线,由图3和4可知,荧光试纸条的荧光猝灭呈线性,线性相关系数良好,可用于半定量检测敌稗分子。

[0022] 具体实施例五

选择性测试

选择了敌稗的结构类似物,包括莠去津,扑灭津,异丙隆和炔苯酰草胺,以进行选择评估。Stern-Volmer方程 $F_0/F = 1+K_{sv}[Q]$ 用于评估荧光响应特性。使用方程式 $K_{sv,MIP-QDs} / K_{sv,NIP-QDs}$ 计算印迹因子(IF)。MIP-QDs的交叉反应性是通过竞争性荧光猝灭试验分析的,其中敌稗与炔苯酰草胺的浓度比增加。结果如图5所示,从左到右分别为溶剂、敌稗、扑灭津、异丙隆、炔苯酰草胺和莠去津浓度都为0.5 mg/L。可以看出,MIP-QDs只有在加入敌稗时才产生明显的荧光猝灭。结果表明:该MIP-QDs对敌稗具有选择性。

[0023] 具体实施例六

准确性分析

如图6所示,从左到右敌稗分子加标浓度依次为0.005、0.01、0.1 mg/L的海水样品凝胶成像仪下荧光变化规律。表1总结了加标回收实验,海水样品中试纸条回收率范围在90.1%~111.1%之间,相对标准偏差小于2.0%。实验表明本发明的试纸条准确性好、灵敏度高,而且样品前处理方法简单,整个检测过程不超过20 min,适用于大量样品的快速筛选,可作为是

敌稗快速检测的有效手段。

[0024] 表1 敌稗试纸条海水样品加标回收分析(n=6)

样品	添加浓度 ($\mu\text{g/L}$)	检出浓度 ($\mu\text{g/L}$)	回收率 (%)	RSD
海水	5.0	4.5	90.1	0.7
	10.0	111.1	111.1	2.0
	100.0	94.0	94.0	0.9

[0025] 应用实施例

1. 实际样品前处理

从宁波近海收集海水样品,并将其放在 -4°C 的干净玻璃瓶中进行低温冷藏,然后当天运回实验室进行测试。海水样品通过 $0.22\ \mu\text{m}$ 醋酸纤维素膜过滤以去除颗粒物,然后进行分析。

[0026] 2、检测过程

荧光试纸是在MIP-QDs的基础上制备的,并根据可视化荧光猝灭原理使其适合于现场检测。竞争性荧光猝灭用于敌稗的定性检测,而成像技术则用于敌稗的定量检测。将已开发的MIP-QDs($10.0\ \text{mg/L}$)多次均匀地固定在硝酸纤维素膜4上,以形成质控线C线6和检测线T线5。硝酸纤维素膜4在室温下在黑暗中干燥。荧光检验试纸在 $365\ \text{nm}$ 紫外灯(WD-9403F, 北京,中国)下显示出强烈的红色荧光。通过Biospectrum UVP510凝胶成像系统观察荧光测试条的强度。将无敌稗的荧光测试条放置在透射照明器的暗室中,并使用VisionworksLS 7.0软件在1.5秒的紫外光下拍照。然后加入含不同浓度的敌稗溶液(采用检测体系为溶剂)等待 $200\ \text{s}$,肉眼即可观察到MIP-QDs在测试线上的荧光强度变化。用配备有图像读取器的CCD相机(曝光时间 $1.5\ \text{s}$,光圈 $f1.3$,变焦 6% ,聚焦 86.9%)确定线上的荧光强度,并通过Gel-pro analyser4软件分析荧光带。数据记录在凝胶记录系统(UVP BioSpectrum 凝胶成像系统,美国)中。

[0027] 3. 结果判定

若待测样品试纸条检测线荧光强度与质控线一致,则判断为阴性样品,即不含敌稗;若待测样品试纸条检测线荧光浅于质控线颜色或与荧光完全消失,则判断为阳性样品,即待测样品中含有敌稗;阳性结果和阴性结果,质控线均显红色荧光条带,若质控线红色荧光条带消失,则试纸条检测失效。

[0028] 上述材料中,敌稗、莠去津、扑灭津、炔苯酰草胺、异丙隆均购于上海农药研究有限公司。CdSe/ZnS量子点购自北京北达聚邦量子点技术开发有限公司,样品垫1和硝酸纤维素膜4购自美国Millipore公司,吸水垫7和PVC底板3购自上海金标生物科技公司。

[0029] 述说明并非对本发明的限制,本发明也并不限于上述举例。本技术领域的普通技术人员在本发明的实质范围内,做出的变化、改型、添加或替换,也应属于本发明的保护范围。

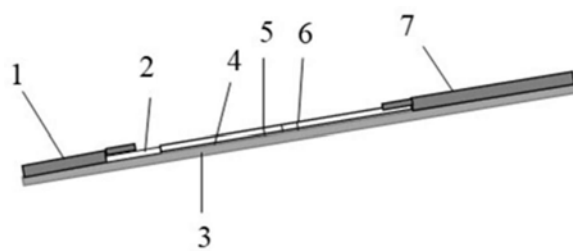


图1

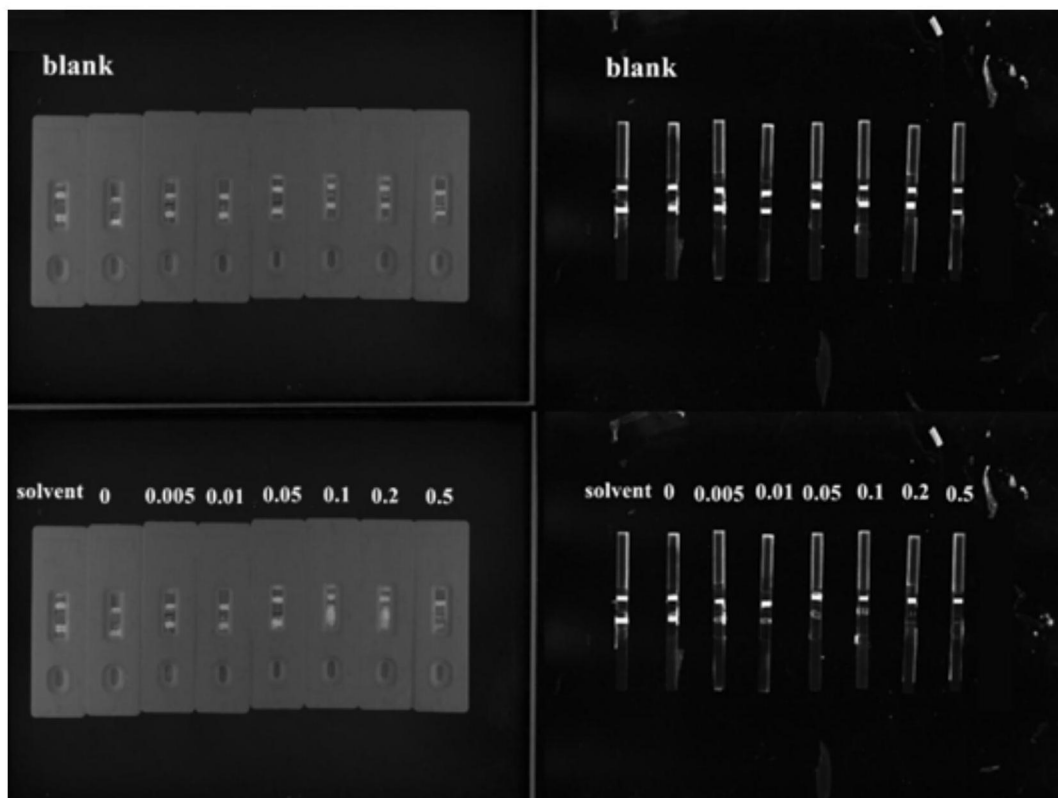


图2

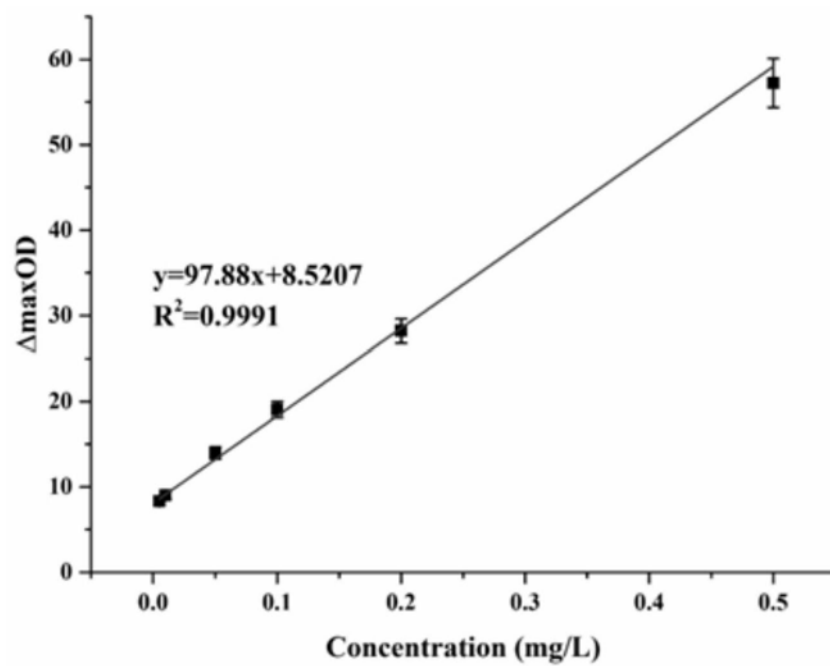


图3

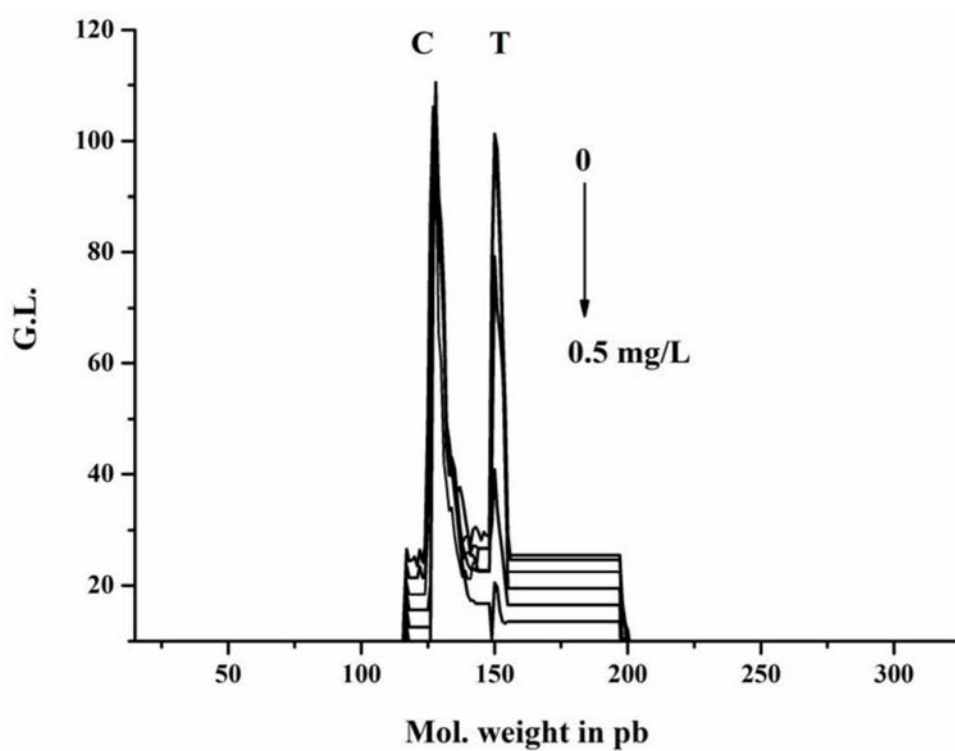


图4

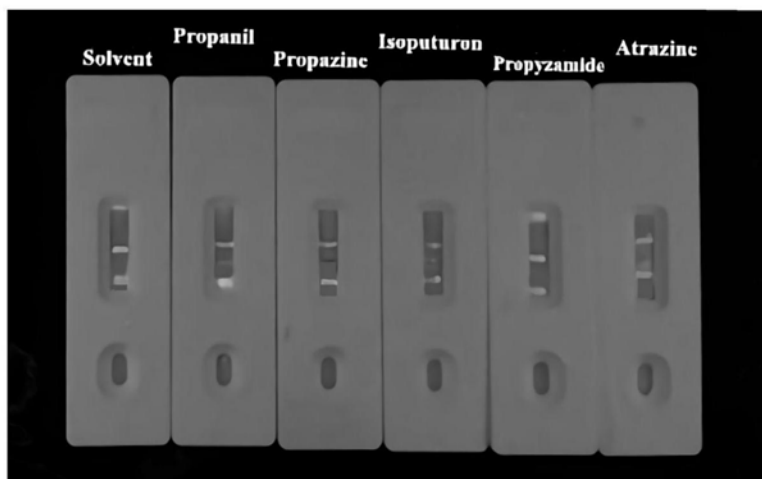


图5

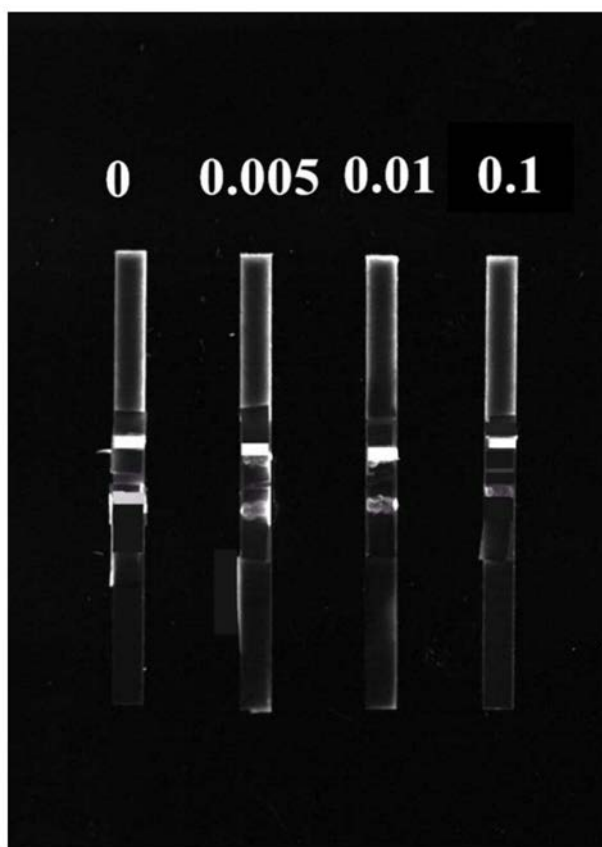


图6

专利名称(译)	一种检测除草剂敌稗的仿生免疫荧光试纸条及其制备方法和应用		
公开(公告)号	CN111175510A	公开(公告)日	2020-05-19
申请号	CN201911416705.0	申请日	2019-12-31
[标]申请(专利权)人(译)	宁波大学		
申请(专利权)人(译)	宁波大学		
当前申请(专利权)人(译)	宁波大学		
[标]发明人	史西志 张泽明 刘晨曦 张蓉蓉 孙爱丽 陈炯		
发明人	史西志 张泽明 刘晨曦 张蓉蓉 孙爱丽 陈炯		
IPC分类号	G01N33/58 G01N33/53		
代理人(译)	何仲		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种检测除草剂敌稗的仿生免疫荧光试纸条及其制备方法和应用，特点是包括样品垫、玻璃纤维膜、硝酸纤维素膜、吸水垫和PVC底板，PVC底板上按顺序依次粘附有样品垫、玻璃纤维膜、硝酸纤维素膜和吸水垫，硝酸纤维素膜上设置有检测线和质控线，检测线和质控线上包被有敌稗分子印迹聚合物-量子点复合物，其制备方法包括敌稗分子印迹聚合物-量子点复合物的制备步骤；将敌稗分子印迹聚合物-量子点复合物均匀吸附在硝酸纤维素膜上，形成荧光强度一致的检测线T线和质控线C线，在PVC底板上按顺序依次粘附样品垫、玻璃纤维膜、硝酸纤维素膜和吸水垫得到试纸条的步骤，优点是选择性强、灵敏度和准确性高。

