



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108088993 A

(43)申请公布日 2018.05.29

(21)申请号 201710860467.7

(22)申请日 2017.09.21

(71)申请人 天津科技大学

地址 300222 天津市河西区大沽南路1038号

(72)发明人 生威 刘越 王硕 张燕 刘冰

(74)专利代理机构 天津合志慧知识产权代理事务所(普通合伙) 12219

代理人 陈松

(51) Int. Cl.

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

G01N 33/58(2006.01)

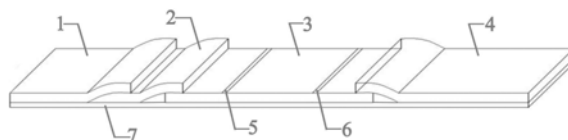
权利要求书1页 说明书7页 附图2页

(54)发明名称

一种检测邻苯二甲酸二甲酯的量子点荧光淬灭免疫层析试纸条及其制备方法

(57)摘要

本发明提供了一种检测邻苯二甲酸二甲酯的量子点荧光淬灭免疫层析试纸条,包括样品垫1、玻璃纤维素膜2、硝酸纤维素膜3、吸水纸4和PVC背板7,其特征在于,在PVC背板上按顺序依次粘附有样品垫1、玻璃纤维素膜2、硝酸纤维素膜3、吸水纸4;所述的硝酸纤维素膜3上分别包被有邻苯二甲酸二甲酯抗原和量子点-鸡卵白蛋白结合物构成的检测线5和量子点-鸡卵白蛋白结合物构成的质控线6。本发明还公开了这种试纸条的制备方法。发明具有以下突出的优点:1、特异性高,灵敏度好;2、检测成本低。3、操作简便。



1. 一种检测邻苯二甲酸二甲酯的量子点荧光淬灭免疫层析试纸条,包括样品垫、玻璃纤维素膜、硝酸纤维素膜、吸水垫和PVC背板,其特征在于,在PVC背板上按顺序依次粘附有硝酸纤维素膜、玻璃纤维素膜、样品垫、吸水垫;所述的硝酸纤维素膜上分别包被有邻苯二甲酸二甲酯抗原和量子点-鸡卵白蛋白结合物构成的检测线T和量子点-鸡卵白蛋白结合物构成的质控线C,两条线间隔距离为5mm。

2. 根据权利要求1所述的一种检测邻苯二甲酸二甲酯的量子点荧光淬灭免疫层析试纸条,其特征在于,用于检测邻苯二甲酸二甲酯。

3. 权利要求1所述的一种检测邻苯二甲酸二甲酯的量子点荧光淬灭免疫层析试纸条的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

(1) 含邻苯二甲酸二甲酯抗体血清的纯化,得到被检物的多克隆抗体;

(2) 制备被检物抗原;

(3) 采用活化酯法制备量子点-鸡卵白蛋白偶联物;

(4) 制备胶体金-抗体标记物;

(5) 取适量步骤(4)制备的被检物胶体金-抗体标记物,添加于样品溶液中;

(6) 取适量步骤(3)制备的被检物量子点-鸡卵白蛋白标记物与步骤(2)制备的被检物抗原混合包被在硝酸纤维素膜上构成检测线,取适量步骤(3)制备的被检物量子点-鸡卵白蛋白标记物包被于硝酸纤维素膜上构成质控线;

(7) 在PVC背板上按顺序依次粘附硝酸纤维素膜、玻璃纤维素膜、样品垫、吸水垫,得到所述的邻苯二甲酸二甲酯的量子点荧光淬灭免疫层析试纸条。

## 一种检测邻苯二甲酸二甲酯的量子点荧光淬灭免疫层析试纸条及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种快速检测食用水 and 环境水中邻苯二甲酸二甲酯的方法,特别是一种检测邻苯二甲酸二甲酯的量子点荧光淬灭免疫层析试纸条及其制备方法。

### 背景技术

[0002] 邻苯二甲酸酯主要用在塑料生产中做增塑剂,加入可以提高塑料产品的可塑性和柔软性,降低脆性,例如,生产聚乙烯塑料(PVC)时,不加入邻苯二甲酸酯可得到硬质塑料,适当加入此种塑化剂便可得到软质塑料,柔软程度与加入塑化剂的比例成正比。而它的另一个用途是生产纺织品,在纺织品染色时,可作为染色载体。高温条件下,邻苯二甲酸分子可将染料和水分子同时带入纺织品纤维内,增加扩散力,提高染色效果。邻苯二甲酸酯可使分散染料在常压下染色,以便涤/毛混纺织物与分散/酸性染料同浴染色,美国专利(3632293)中也对邻苯二甲酸酯在染料上染过程中的作用有详细说明。邻苯二甲酸酯类物质也经常用于建筑材料、食品包装等产品的生产中,此外,润滑油、溶剂和清洁剂的生产也常用到。而由于邻苯二甲酸酯类化合物的大量应用,这类物质已经大量进入环境中,湖水和土壤中尤为常见。而在含有这类物质的食品包装材料,由于生活中的食品加热等其他操作会导致邻苯二甲酸酯进入到食品中,给人体带来健康威胁。

[0003] 邻苯二甲酸酯的测定方法在国内外有很多报道,早期有分光光度法、薄层色谱法和滴定法等。后来又有气相色谱、高效液相色谱以及一些联用技术。酶免疫分析是最近发展起来的测定邻苯二甲酸酯的技术。早期的测定方法一般是针对总量进行测定的,这些方法的灵敏度低、选择性差。

[0004] 量子点(Quantum dots, QDs),又称为半导体纳米晶,主要由II~VI族或者III~V族元素组成,如碲化镉(CdTe)、硒化镉(CdSe)等。与传统荧光材料相比,QDs的优点有:具有量子效应和良好的发光性;具有较宽的激发波长和较窄的发射波长;稳定性好;具有良好的生物兼容性;荧光寿命较长。

[0005] 量子点荧光淬灭免疫层系试纸条是基于荧光供体(量子点)与荧光受体(胶体金)的能量共振转移(FRET)实现的。即当荧光供体(量子点)的发射光谱与荧光受体(胶体金)的吸收光谱有一定重叠,当这两个荧光基团间的距离合适时(一般小于 $100\text{\AA}$ ),就可观察到荧光能量由供体向受体转移的现象。量子点荧光淬灭免疫层析技术是在免疫分析技术的基础上,利用荧光量子点作荧光供体与包被抗原混合,固定于NC膜上,胶体金作荧光受体与抗体结合,当抗体与抗原特异性结合时,胶体金就标记于待测抗原上,在紫外灯的照射下与量子点发生能量共振转移。其中,质控线(C线)颜色的有无决定着试纸条的有效性,而检测线(T线)的有无则表示着目标物的有无。该技术操作简单快速、结果容易判定、安全无污染,具有广泛的应用前景。

### 发明内容

[0006] 有鉴于此,本发明创造旨在提出一种检测食用水和环境水中邻苯二甲酸二甲酯的量子点荧光猝灭免疫层析试纸条。

[0007] 为达到上述目的,本发明创造的技术方案是这样实现的:

[0008] 一种检测邻苯二甲酸二甲酯的量子点荧光猝灭免疫层析试纸条,包括样品垫、玻璃纤维素膜、硝酸纤维素膜、吸水垫和PVC背板,在PVC背板上按顺序依次粘附有硝酸纤维素膜、玻璃纤维素膜、样品垫、吸水垫;所述的硝酸纤维素膜上分别包被有邻苯二甲酸二甲酯抗原和量子点-鸡卵白蛋白结合物构成的检测线5和量子点-鸡卵白蛋白结合物构成的质控线6,两条线间隔距离为5mm。

[0009] 本发明还公开了上述量子点荧光猝灭免疫层析试纸条的制备方法,包括如下步骤:

[0010] 1. 邻苯二甲酸二甲酯血清的纯化

[0011] 抗体的纯化采用亲和层析原理纯化抗血清。Protein A从金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)中分离出来,可以特异性与抗体蛋白IgG重链的Fc片段结合。当把抗血清加入到层析柱后,Protein A与IgG特异性结合,固定在填料上,通过淋洗洗掉其他杂质,换洗脱液再次洗脱,就可得到目的蛋白。纯化的步骤如下:

[0012] (1) 提前配置好所用溶液,并将盖子微微拧松,超声20分钟,以去除溶液中的气泡,以防将气泡进入纯化柱,影响纯化效果。

[0013] (2) 平衡纯化柱:先用超纯水冲洗管路15min,保证整个管路内无杂质,再用pH 7.4的结合缓冲液(Binding buffer)冲洗管路20min,将流速设为5mL/min。将纯化柱从冰箱中取出,倒掉三分之一乙醇溶液,与蛋白纯化仪连接,继续用pH 7.4的Binding buffer冲洗柱子,流速设定为1mL/min。观察软件中紫外和电导两条基线水平,并保持一段时间。

[0014] (3) 上样:将抗血清取出并恢复到室温,与Binding buffer等体积混合稀释后,过0.45 $\mu$ m水膜以去除杂质,上样。上样时流速不宜过快,一般设置为0.5mL/min。随着抗血清进入到凝胶中,抗体蛋白会结合到柱子上,而其他蛋白不结合,可用Binding buffer冲洗掉,此时,紫外和电导会出现杂蛋白峰,待两条基线再次水平后,保持一段时间。

[0015] (4) 洗脱:用pH 2.7的洗脱液缓冲液(Elution buffer,现配现用)冲洗柱子,将凝胶上的目的蛋白洗脱下来,流速0.5mL/min。

[0016] (5) 收集目的蛋白:加入Elution buffer后,观察紫外电导图的变化,当基线有向上走的趋势时收集液体,每管收集1mL,直至紫外电导图的曲线再次水平。将每管液体均用紫外-可见分光光度计在280nm测定吸光度值,保留吸光度值 $>0.2$ 的纯化抗体,将所有抗体混合,用0.1mol/L的Tris 调节抗体pH至7.0。

[0017] (6) 处理纯化柱:用0.1mol/L醋酸冲洗柱子2min,流速设定为2 mL/min,再用Binding buffer冲洗柱子半小时,用pH试纸测定流出缓冲液的pH值,当pH试纸显示中性后,用20%乙醇溶液冲洗柱子20min,取下柱子,将纯化装置关闭,取下的柱子需用20%乙醇溶液填满,4 $^{\circ}$ C保存。

[0018] 将纯化之后的多克隆抗体在1 $\times$ PB溶液中4 $^{\circ}$ C透析3天,取出后4 $^{\circ}$ C储存备用。

[0019] 2. 被检物抗原(DMP-OVA)的制备

[0020] 包被抗原采用戊二醛法(GDA)将半抗原和卵清白蛋白(OVA)偶联。具体方法如下:

[0021] (1) 取10mg OVA于小玻璃瓶中,用1mL PBS(pH 7.4)溶液溶解。

[0022] (2) 另取2.78mg邻苯二甲酸二甲酯半抗原溶于100 $\mu$ L DMF中,待完全溶解后,置于磁力搅拌器上,以5 $\mu$ L/min的速度将半抗原溶液加入到蛋白溶液中,加入溶液时分多点加入以混合均匀。

[0023] (3) 将10 $\mu$ L戊二醛与10 $\mu$ L PBS混合,加入到上述反应体系中,加入时间不超过2min,室温避光反应1h后,至于4 $^{\circ}$ C搅拌反应过夜。

[0024] (4) 用PB透析72h除去多余的戊二醛,透析完全后,每管1mL分装置于4 $^{\circ}$ C冰箱中保存,每毫升中加10%叠氮钠5 $\mu$ L,4 $^{\circ}$ C保存。

[0025] 3. 备量子点-鸡卵白蛋白偶联物的制备:

[0026] 使用活化酯法制备量子点-鸡卵白蛋白(QDs-OVA)偶联物。

[0027] (1) 偶联反应。取25 $\mu$ L量子点于离心管中,加入0.3mg鸡卵白蛋白和 11.5 $\mu$ L EDC溶液(10mg/ml),混匀,并用硼酸盐缓冲液将溶液体积补充至 200 $\mu$ L。然后用铝箔纸包裹安道管,于摇床避光震荡反应3h。

[0028] (2) 离心纯化。将反应液于4 $^{\circ}$ C条件下,10000rpm离心3min,以除去标记过程中形成的聚沉物;将上清液转移到超滤膜中,于4 $^{\circ}$ C条件下,8000 rpm离心3min,去除溶液中的盐离子;最后将滤膜倒置在另一个离心管中,4 $^{\circ}$ C条件下,8000rpm离心3min,收集滤膜内的溶液。4 $^{\circ}$ C避光保存备用。

[0029] 4. 胶体金-邻苯二甲酸二甲酯抗体(AuNPs-DMP-Ab)标记物的制备

[0030] (1) 准确移取1mL胶体金溶液置于进口安道管中,加入10 $\mu$ L 0.2mol/L  $K_2CO_3$ 溶液,轻摇安道管混匀,调节pH值至最佳值。

[0031] (2) 将10 $\mu$ L 2.4mg/mL的邻苯二甲酸二甲酯抗体(DMP-Ab)加入到上述溶液中混合均匀,放置在4 $^{\circ}$ C冰箱中1h。

[0032] (3) 向其中加入20 $\mu$ L浓度为20%的BSA溶液以稳定金标抗体,再加入10 $\mu$ L 20%的PEG 20000溶液,封闭胶体金表面未与抗体连接的其他位点,室温下静置30min。

[0033] (4) 将安道管配平,4 $^{\circ}$ C2000rpm条件下离心15min,未连接上抗体的金粒子团聚,形成沉淀,吸取上清液转移至另一安道管中。

[0034] (5) 再次以4 $^{\circ}$ C,10000rpm的条件离心30min,这时金标抗体形成沉淀。

[0035] (6) 吸走上清液,保存沉淀,用金标工作液重悬。

[0036] 5. 硝酸纤维素膜的包被

[0037] 用上海金标的双维平面划膜仪将步骤3制备的DMP-OVA用PBS溶液稀释2倍后与用PBS溶液稀释6倍后的QDs-OVA标记物包被于硝酸纤维素膜3上作为检测线5,包被量为0.5 $\mu$ L/cm;将用PBS溶液稀释6倍后的 QDs-OVA包被于硝酸纤维素膜3上作为质控线6,包被量为0.5 $\mu$ L/cm,37 $^{\circ}$ C烘干,封装备用。

[0038] 6. 取4.5 $\mu$ L步骤4制备的AuNPs-DMP-Ab标记物,添加于样品溶液中;

[0039] 7. 在PVC背板上按顺序依次粘附硝酸纤维素膜、玻璃纤维素膜、样品垫、吸水垫,得到所述的邻苯二甲酸二甲酯量子点荧光猝灭免疫层析试纸条。

[0040] 上述材料中,水溶性量子点购自武汉珈源量子点技术开发有限公司,样品垫和硝酸纤维素膜购自美国Millipore公司,吸水垫和PVC背板购自上海金标生物科技公司。

[0041] 本发明纯化了被检物抗体血清,得到了被检物多克隆抗体,备用。制备 DMP-OVA混合QDs-OVA标记物为检测线的包被抗原,采用QDs-OVA标记物质控线。利用竞争法来检测邻

苯二甲酸二甲酯,根据检测线条带的深浅判断待测样品中是否含有目标物。

[0042] 与现有国内外检测邻苯二甲酸二甲酯的方法相比,本发明具有以下突出的优点:1、本发量的量子点荧光猝灭免疫层析试纸条是利用抗原抗体的特异性反应实现的,因此特异性高,灵敏度好。2、本发量的检测试纸条检测时间快速且不需要任何特殊仪器及设备,检测成本低。3、本发量的检测试纸条操作简便,不需由专业人员操作。

### 附图说明

[0043] 构成本发明创造的一部分的附图用来提供对本发明创造的进一步理解,本发明创造的示意性实施例及其说明用于解释本发明创造,并不构成对本发明创造的不当限定。在附图中:

[0044] 图1为本发明检测试纸条的组装示意图。

[0045] 图2为邻苯二甲酸二甲酯检测限的确定(邻苯二甲酸二甲酯的浓度从左到右分别为0,10,20,50,100,500,1000 $\mu\text{g/L}$ )。

[0046] 图3为矿泉水样品中添加邻苯二甲酸二甲酯的样品检测结果。每组邻苯二甲酸二甲酯的浓度从左到右分别为0,4,10,100 $\mu\text{g/L}$ 。

[0047] 图4为河水样品中添加邻苯二甲酸二甲酯的样品检测结果。每组邻苯二甲酸二甲酯的浓度从左到右分别为0,4,10,100 $\mu\text{g/L}$ 。

[0048] 附图1标记说明:

[0049] 1、样品垫

[0050] 2、玻璃纤维素膜

[0051] 3、硝酸纤维素膜

[0052] 4、吸水纸

[0053] 5、检测线

[0054] 6、质控线

[0055] 7、PVC背板

### 具体实施方式

[0056] 需要说明的是,在不冲突的情况下,本发明创造中的实施例及实施例中的特征可以相互组合。

[0057] 下面将参考附图并结合实施例来详细说明本发明创造。

[0058] 实施例1(制备实施例)

[0059] (一)邻苯二甲酸二甲酯血清的纯化

[0060] (1)提前配置好所用溶液,并将盖子微微拧松,超声20分钟,以去除溶液中的气泡,以防将气泡进入纯化柱,影响纯化效果。

[0061] (2)平衡纯化柱:先用超纯水冲洗管路15min,保证整个管路内无杂质,再用pH 7.4的结合缓冲液(Binding buffer)冲洗管路20min,将流速设为5mL/min。将纯化柱从冰箱中取出,倒掉三分之一乙醇溶液,与蛋白纯化仪连接,继续用pH 7.4的Binding buffer冲洗柱子,流速设定为1mL/min。观察软件中紫外和电导两条基线水平,并保持一段时间。

[0062] (3)上样:将抗血清取出并恢复到室温,与Binding buffer等体积混合稀释后,过

0.45 $\mu$ m水膜以去除杂质,上样。上样时流速不宜过快,一般设置为0.5mL/min。随着抗血清进入到凝胶中,抗体蛋白会结合到柱子上,而其他蛋白不结合,可用Binding buffer冲洗掉,此时,紫外和电导会出现杂蛋白峰,待两条基线再次水平后,保持一段时间。

[0063] (4) 洗脱:用pH 2.7的洗脱液缓冲液(Elution buffer,现配现用)冲洗柱子,将凝胶上的目的蛋白洗脱下来,流速0.5mL/min。

[0064] (5) 收集目的蛋白:加入Elution buffer后,观察紫外电导图的变化,当基线有向上走的趋势时收集液体,每管收集1mL,直至紫外电导图的曲线再次水平。将每管液体均用紫外-可见分光光度计在280nm测定吸光度值,保留吸光度值>0.2的纯化抗体,将所有抗体混合,用0.1mol/L的Tris 调节抗体pH至7.0。

[0065] (6) 处理纯化柱:用0.1mol/L醋酸冲洗柱子2min,流速设定为2 mL/min,再用Binding buffer冲洗柱子半小时,用pH试纸测定流出缓冲液的pH值,当pH试纸显示中性后,用20%乙醇溶液冲洗柱子20min,取下柱子,将纯化装置关闭,取下的柱子需用20%乙醇溶液充满,4 $^{\circ}$ C保存。

[0066] (7) 将纯化之后的多克隆抗体在1 $\times$ PB溶液中4 $^{\circ}$ C透析3天,取出后4 $^{\circ}$ C储存备用。

[0067] (二) 被检物抗原(DMP-OVA)的制备

[0068] 包被抗原采用戊二醛法(GDA)将半抗原和卵清白蛋白(OVA)偶联。具体方法如下:

[0069] (1) 取10mg OVA于小玻璃瓶中,用1mL PBS(pH 7.4)溶液溶解。

[0070] (2) 另取2.78mg邻苯二甲酸二甲酯半抗原溶于100 $\mu$ L DMF中,待完全溶解后,置于磁力搅拌器上,以5 $\mu$ L/min的速度将半抗原溶液加入到蛋白溶液中,加入溶液时分多点加入以混合均匀。

[0071] (3) 将10 $\mu$ L戊二醛与10 $\mu$ L PBS混合,加入到上述反应体系中,加入时间不超过2min,室温避光反应1h后,至于4 $^{\circ}$ C搅拌反应过夜。

[0072] (4) 用PB透析72h除去多余的戊二醛,透析完全后,每管1mL分装置于4 $^{\circ}$ C冰箱中保存,每毫升中加10%叠氮钠5 $\mu$ L,4 $^{\circ}$ C保存。

[0073] 利用该抗原与量子点-鸡卵白蛋白QDs-OVA混合,包被硝酸纤维素膜上的检测线。

[0074] 实施例2(制备实施例)

[0075] 量子点荧光淬灭免疫层析试纸条的组装及制备方法

[0076] 1、试纸条组装:

[0077] 本发明的试纸条组成如下:样品垫、玻璃纤维素膜、硝酸纤维素膜、吸水垫和PVC背板,在PVC背板上按顺序依次粘附有硝酸纤维素膜、玻璃纤维素膜、样品垫、吸水垫;所述的硝酸纤维素膜3上分别包被有抗原与量子点-鸡卵白蛋白QDs-OVA混合物构成的检测线5和量子点-鸡卵白蛋白 QDs-OVA构成的质控线6。

[0078] 2、备量子点-鸡卵白蛋白偶联物的制备:

[0079] 使用活化酯法制备量子点-鸡卵白蛋白(QDs-OVA)偶联物。

[0080] (1) 偶联反应。取25 $\mu$ L量子点于离心管中,加入0.3mg鸡卵白蛋白和 11.5 $\mu$ L EDC溶液(10mg/ml),混匀,并用硼酸盐缓冲液将溶液体积补充至 200 $\mu$ L。然后用铝箔纸包裹安道管,于摇床避光震荡反应3h。

[0081] (2) 离心纯化。将反应液于4 $^{\circ}$ C条件下,10000rpm离心3min,以除去标记过程中形成的聚沉物;将上清液转移到滤膜中,于4 $^{\circ}$ C条件下,8000rpm 离心3min,去除溶液中的盐离

子;最后将滤膜倒置在另一个离心管中,4℃条件下,8000rpm离心3min,收集滤膜内的溶液4℃保存备用。

[0082] 3、胶体金-邻苯二甲酸二甲酯抗体(AuNPs-DMP-Ab)标记物的制备

[0083] (1)准确移取1mL胶体金溶液置于进口安道管中,加入10μL 0.2mol/L K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>溶液,轻摇安道管混匀,调节pH值至最佳值。

[0084] (2)将10μL 2.4mg/mL的邻苯二甲酸二甲酯抗体(DMP-Ab)加入到上述溶液中混合均匀,放置在4℃冰箱中1h。

[0085] (3)向其中加入20μL浓度为20%的BSA溶液以稳定金标抗体,再加入10μL 20%的PEG 20000溶液,封闭胶体金表面未与抗体连接的其他位点,室温下静置30min。

[0086] (4)将安道管配平,4℃2000rpm条件下离心15min,未连接上抗体的金粒子团聚,形成沉淀,吸取上清液转移至另一安道管中。

[0087] (5)再次以4℃,10000rpm的条件离心30min,这时金标抗体形成沉淀。

[0088] (6)吸走上清液,保存沉淀,用金标工作液重悬。

[0089] 4、硝酸纤维素膜的包被

[0090] 用上海金标的双维平面划膜仪将用PBS溶液稀释2倍后的邻苯二甲酸二甲酯抗原与用PBS溶液稀释6倍后的QDs-OVA等体积混合包被于硝酸纤维素膜3上作为检测线5,包被量为0.5μL/cm;将用PBS溶液稀释6倍后的 QDs-OVA包被于硝酸纤维素膜3上作为质控线6,包被量为0.5μL/cm,37℃烘干,封装备用。

[0091] 5、试纸条的组装

[0092] 将硝酸纤维素膜3、玻璃纤维素膜2、样品垫1、吸水垫4按图1所示的顺序依次粘附在PVC板7上,切成3.7mm宽的小条,真空封装。

[0093] 实施例3(应用实施例)

[0094] 1、量子点标记免疫层析试纸条使用方法

[0095] 样品的预处理

[0096] 用移液管准确移取5mL样品(矿泉水或河水)置于比色管中,向其中加入5mL的正己烷,在涡旋振荡器上充分震荡5min,5000rpm离心10min,取上清液2mL放置于干净试管中,用氮气吹干后,用400μL样品稀释液复溶,震荡均匀。

[0097] 2、检测步骤

[0098] 用移液枪吸取100μL待检样品提取液于安道管中,并加入4.5μL AuNPs-DMP-Ab,混匀后,滴加到试纸条的加样孔里,10分钟后观察结果。

[0099] 3、结果判定

[0100] 若待测样品试纸条检测线荧光消失,则判断为阴性样品,即不含邻苯二甲酸二甲酯;若待测样品试纸条检测线荧光浅于质控线颜色或与质控线颜色一致,则判断为阳性样品,即待测样品中含有邻苯二甲酸二甲酯;阳性结果和阴性结果,质控线均显绿色荧光条带,若质控线绿色荧光条带消失,则试纸条检测失效。

[0101] 实施例4(应用实施例)

[0102] 本发明的应用效果举例

[0103] 本实施例中所指的量子点荧光猝灭免疫层析试纸条检测方法参照实施例3所述的操作步骤,其检测结果如下。

[0104] 1、灵敏度试验

[0105] 如图2所示,按实施例3所述方法进行试验。当邻苯二甲酸二甲酯标准品浓度低于 $20\mu\text{g/L}$ 时,试纸条检测线无荧光条带,显色结果与质控线颜色目测比较有明显差别;当邻苯二甲酸二甲酯标准品浓度为 $20\mu\text{g/L}$ 时,试纸条检测线出现荧光条带,显色结果与质控线颜色目测比较差别较小;当邻苯二甲酸二甲酯标准品浓度继续增大,检测线逐渐变亮。因此确定方法的目视检测限为 $20\mu\text{g/L}$ 。

[0106] 2、加标样品的检测

[0107] 如图3-图4所示,向样品中添加邻苯二甲酸二甲酯标准品,样品中最终浓度为0,4,10,100 $\mu\text{g/L}$ ,按实施例3所述方法进行实验,检测结果如图3-图4,检测限为 $4\mu\text{g/L}$ 。

[0108] 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20min,适用于大量样品的快速筛选,可作为是邻苯二甲酸酯快速检测的有效筛检手段。

[0109] 以上所述仅为本发明创造的较佳实施例而已,并不用以限制本发明创造,凡在本发明创造的精神和原则之内,所作的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明创造的保护范围之内。

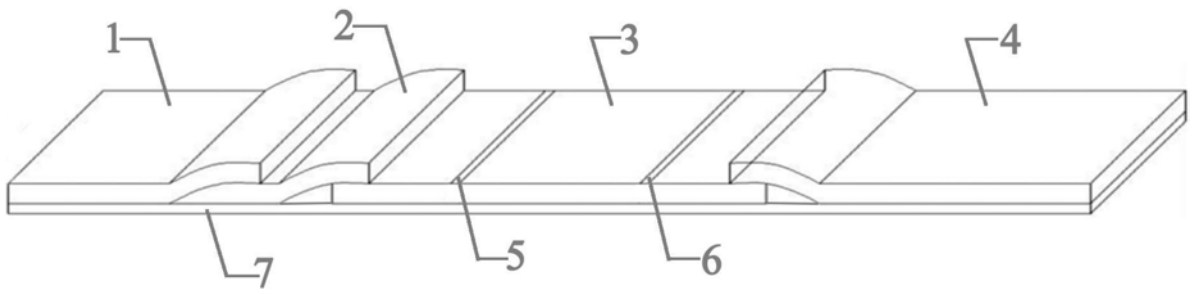


图1

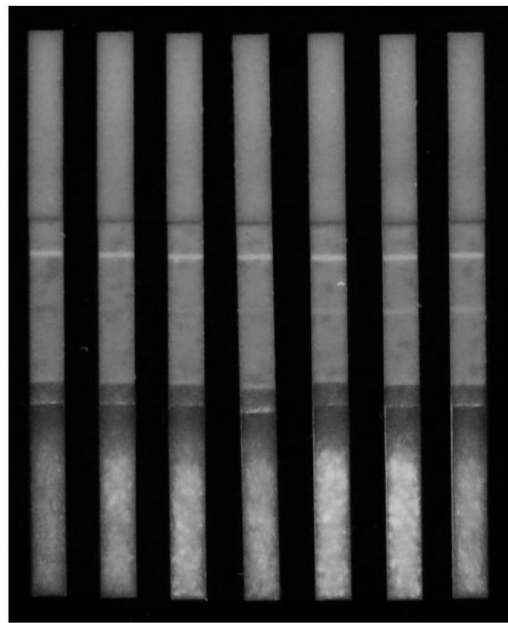


图2

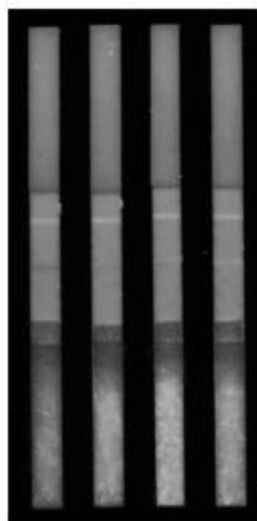


图3

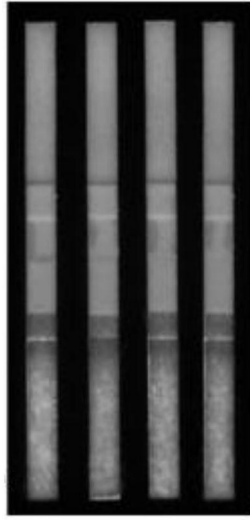


图4

专利名称(译)	一种检测邻苯二甲酸二甲酯的量子点荧光淬灭免疫层析试纸条及其制备方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN108088993A</a>	公开(公告)日	2018-05-29
申请号	CN2017110860467.7	申请日	2017-09-21
[标]申请(专利权)人(译)	天津科技大学		
申请(专利权)人(译)	天津科技大学		
当前申请(专利权)人(译)	天津科技大学		
[标]发明人	生威 刘越 王硕 张燕 刘冰		
发明人	生威 刘越 王硕 张燕 刘冰		
IPC分类号	G01N33/558 G01N33/533 G01N33/58		
CPC分类号	G01N33/558 G01N33/533 G01N33/582		
代理人(译)	陈松		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明提供了一种检测邻苯二甲酸二甲酯的量子点荧光淬灭免疫层析试纸条，包括样品垫1、玻璃纤维素膜2、硝酸纤维素膜3、吸水纸4和PVC背板7，其特征在于，在PVC背板上按顺序依次粘附有样品垫1、玻璃纤维素膜2、硝酸纤维素膜3、吸水纸4；所述的硝酸纤维素膜3上分别包被有邻苯二甲酸二甲酯抗原和量子点-鸡卵白蛋白结合物构成的检测线5和量子点-鸡卵白蛋白结合物构成的质控线6。本发明还公开了这种试纸条的制备方法。发明具有以下突出的优点：1、特异性高，灵敏度好；2、检测成本低。3、操作简便。

