



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107478828 A

(43)申请公布日 2017.12.15

(21)申请号 201710874197.5

(22)申请日 2017.09.25

(71)申请人 河南科技大学

地址 471000 河南省洛阳市洛龙区开元大道263号

(72)发明人 王耀 裴亚峰 刘丽莉 陈秀金
樊振江 李兆周 任国艳 高红丽
李道敏 曹力 李燕虹 曹金博
金东亮

(74)专利代理机构 北京超凡志成知识产权代理
事务所(普通合伙) 11371

代理人 王晖

(51)Int.Cl.

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/535(2006.01)

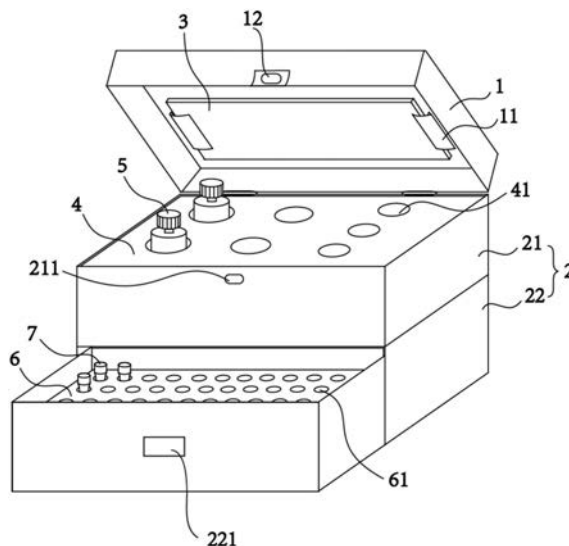
权利要求书2页 说明书12页 附图3页

(54)发明名称

快速检测草甘膦残留的试剂盒及草甘膦残留的检测方法和应用

(57)摘要

本发明提供了快速检测草甘膦残留的试剂盒及草甘膦残留的检测方法和应用,涉及草甘膦检测技术领域。该试剂盒包括检测板、草甘膦抗体溶液、草甘膦二抗溶液、草甘膦标准溶液、洗涤液、稀释液、显色液和终止液,其是以竞争性酶联免疫原理为基础,在获得草甘膦特异性抗体的基础上,利用酶联免疫反应的高效放大作用实现草甘膦的高灵敏检测,能够检测 $1\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下浓度的草甘膦,该试剂盒检测特异性好,灵敏度高,检测结果直观准确,操作快捷简便,改善了现有方法在样品处理、分析时间上存在的不足,以及不适宜于大批量快速筛查和推广应用的缺陷。本发明还提供了草甘膦残留的检测方法,该检测方法采用上述试剂盒实现了对草甘膦残留的高效筛查。



1. 一种快速检测草甘膦残留的试剂盒,其特征在于,所述试剂盒包括检测板、草甘膦抗体溶液、草甘膦二抗溶液、草甘膦标准溶液、洗涤液、稀释液、显色液和终止液;

检测板上固定有草甘膦与载体蛋白的偶联物。

2. 根据权利要求1所述的快速检测草甘膦残留的试剂盒,其特征在于,所述试剂盒包括:

检测板,固定有草甘膦与载体蛋白的偶联物;

草甘膦抗体溶液,为草甘膦兔源特异性抗体;

草甘膦二抗溶液,为辣根过氧化物酶标记的羊抗兔IgG抗体;

草甘膦标准溶液;

洗涤液,为PBST溶液;

稀释液,含5%w/v脱脂奶的PBST溶液;

显色液,为3,3',5,5'-四甲基联苯胺缓冲液;

终止液,为2mol/L的盐酸溶液或硫酸溶液。

3. 根据权利要求1所述的快速检测草甘膦残留的试剂盒,其特征在于,所述试剂盒包括:

检测板,固定有草甘膦与载体蛋白的偶联物;

草甘膦抗体溶液,为草甘膦兔源特异性抗体;

草甘膦二抗溶液,为碱性磷酸酶标记的羊抗兔IgG抗体;

草甘膦标准溶液;

洗涤液,为PBST溶液;

稀释液,含5%w/v脱脂奶的PBST溶液;

显色液,为对硝基苯磷酸酯缓冲液;

终止液,为2mol/L的氢氧化钠溶液。

4. 根据权利要求1-3任意一项所述的快速检测草甘膦残留的试剂盒,其特征在于,所述载体蛋白为鸡卵清蛋白;

优选的,所述草甘膦标准溶液的浓度分别为2000ng/mL,1000ng/mL,500ng/mL,250ng/mL,125ng/mL,62.5ng/mL和0ng/mL。

5. 根据权利要求1-3任意一项所述的快速检测草甘膦残留的试剂盒,其特征在于,所述偶联物的制备方法包括如下步骤:

(a) 将2~10mg草甘膦溶解于500~2500 μ L磷酸盐缓冲液中,得到溶液A;

(b) 将2~10mg 1-(3-(二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐溶解于500~2500 μ L磷酸盐缓冲液后,然后在搅拌的条件下,将其加入到溶液A中反应8~12min,得到溶液B;

(c) 将3~15mg载体蛋白溶解于1000~5000 μ L磷酸盐缓冲液,然后在搅拌的条件下,将其逐滴缓慢加入到溶液B中,在2~4 $^{\circ}$ C避光条件下搅拌反应2.5~3.5h,然后将反应产物在磷酸盐缓冲液中透析,最后以4500~5500r/min离心4~6min取上清液,即得到偶联物。

6. 根据权利要求1-3任意一项所述的快速检测草甘膦残留的试剂盒,其特征在于,所述偶联物经碳酸盐缓冲液稀释后吸附于检测板的检测孔表面。

7. 根据权利要求1-3任意一项所述的快速检测草甘膦残留的试剂盒,其特征在于,所述草甘膦抗体溶液的制备方法包括如下步骤:

(a) 采用牛血清白蛋白作为载体蛋白制备免疫原；

(b) 选取清洁级新西兰白兔，采用颈部皮下多点注射进行免疫，免疫剂量为100~300 μ g/mL/只，共免疫4次，每次间隔2~4周；

(c) 免疫程序完成后，进行耳缘静脉或心脏采血，分离血清并采用饱和硫酸铵法提纯抗体，得到草甘膦抗体溶液。

8. 根据权利要求1-3任意一项所述的快速检测草甘膦残留的试剂盒，其特征在于，所述检测板为聚苯乙烯材质的96孔板。

9. 一种草甘膦残留的检测方法，其特征在于，采用权利要求1-8任意一项所述的快速检测草甘膦残留的试剂盒，包括以下步骤：

(a) 向检测板上的各检测孔中依次加入不同浓度的草甘膦标准溶液；

(b) 从草甘膦标准溶液低浓度检测孔向草甘膦标准溶液高浓度检测孔逐孔加入草甘膦抗体溶液，37 $^{\circ}$ C温育10~20min，洗板；

(c) 向检测板上的各检测孔中加入草甘膦二抗溶液，37 $^{\circ}$ C温育25~35min，洗板；

(d) 向检测板上的各检测孔中加入显色液，反应5~15min；

(e) 向检测板上的各检测孔中加入终止液终止反应，测定OD450nm或OD405nm吸光值，根据草甘膦的竞争酶联免疫标准曲线，计算样品中草甘膦残留浓度。

10. 权利要求1-8任意一项所述的快速检测草甘膦残留的试剂盒或权利要求9所述的草甘膦残留的检测方法在检测环境或食品中草甘膦残留的应用。

快速检测草甘膦残留的试剂盒及草甘膦残留的检测方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及草甘膦检测技术领域,具体而言,涉及快速检测草甘膦残留的试剂盒及草甘膦残留的检测方法和应用。

背景技术

[0002] 随着现代农业的迅速发展,农药的使用越来越广泛,农药残留对环境、动植物及人体健康造成的威胁越来越凸显。草甘膦目前已成为使用最广泛、用量最大的除草剂之一。草甘膦(Glyphosate)是美国孟山都公司在1971年开发的一种广谱灭生性水溶性除草剂,能够非选择性的有效抑制多种一年生或多年生杂草。草甘膦商品名为镇草宁、农达等,化学名为N-膦羧甲基甘氨酸(N-phosphonomethyl-glycine,PMG),化学式为 $C_3H_8NO_5P$,分子量为169。

[0003] 虽然草甘膦的毒性较低,但长期大量使用会在环境和生物体内不断富集,并通过食物链进入人体,对人体健康造成潜在威胁。已有研究证实草甘膦具有一定的动物毒性作用。因此,很多国家和地区都将草甘膦的残留限量列入相关法规与标准中,我国以及美国的饮用水标准中都规定草甘膦的最大残留限量为0.7mg/L,我国2014年修订的食品安全国家标准《食品中农药最大残留限量》(GB2763-2014)中对草甘膦在食品中的最大残留限量作出了更为详细的规定。

[0004] 近年来,针对草甘膦残留的检测研究逐渐成为研究热点,目前较为成熟的检测方法包括气相色谱、液相色谱以及联用技术,但这些传统方法在样品处理、分析时间上都存在一些不足,不适宜于大批量快速筛查以及推广应用。

[0005] 鉴于此,特提出本发明以解决上述技术问题

发明内容

[0006] 本发明的第一个目的在于提供一种快速检测草甘膦残留的试剂盒,该试剂盒操作快捷简便,检测特异性好,灵敏度高,检测结果直观准确,且适合大批量样品同时检测,可有效减少检测费用和检测时间,经济实用,改善了现有方法在样品处理、分析时间上都存在一些不足,以及不适宜于大批量快速筛查和推广应用的缺陷。

[0007] 本发明的第二个目的在于提供一种草甘膦残留的检测方法,通过采用上述快速检测草甘膦残留的试剂盒,使得该检测方法简便快捷,检测结果直观准确,能够满足检验检疫、环境监测、卫生监督、生产企业等不同行业的检测需求。

[0008] 本发明的第三个目的在于提供上述快速检测草甘膦残留的试剂盒或草甘膦残留的检测方法在检测环境或食品中草甘膦残留的应用。

[0009] 为了实现本发明的上述目的,特采用以下技术方案:

[0010] 本发明提供一种快速检测草甘膦残留的试剂盒,包括检测板、草甘膦抗体溶液、草甘膦二抗溶液、草甘膦标准溶液、洗涤液、稀释液、显色液和终止液;

[0011] 检测板上固定有草甘膦与载体蛋白的偶联物。

- [0012] 进一步的,所述试剂盒包括:
- [0013] 检测板,固定有草甘膦与载体蛋白的偶联物;
- [0014] 草甘膦抗体溶液,为草甘膦兔源特异性抗体;
- [0015] 草甘膦二抗溶液,为辣根过氧化物酶(Horseradish Peroxidase,HRP) 标记的羊抗兔IgG抗体;
- [0016] 草甘膦标准溶液;
- [0017] 洗涤液,为PBST溶液;
- [0018] 稀释液,含5%w/v脱脂奶的PBST溶液;
- [0019] 显色液,为3,3',5,5'-四甲基联苯胺缓冲液;
- [0020] 终止液,为2mol/L的盐酸溶液或硫酸溶液。
- [0021] 进一步的,所述试剂盒包括:
- [0022] 检测板,固定有草甘膦与载体蛋白的偶联物;
- [0023] 草甘膦抗体溶液,为草甘膦兔源特异性抗体;
- [0024] 草甘膦二抗溶液,为碱性磷酸酶(Alkaline Phosphatase,AP) 标记的羊抗兔IgG抗体;
- [0025] 草甘膦标准溶液;
- [0026] 洗涤液,为PBST溶液;
- [0027] 稀释液,含5%w/v脱脂奶的PBST溶液;
- [0028] 显色液,为对硝基苯磷酸酯缓冲液;
- [0029] 终止液,为2mol/L的氢氧化钠溶液。
- [0030] 进一步的,所述载体蛋白为鸡卵清蛋白;
- [0031] 优选的,所述草甘膦标准溶液的浓度分别为2000ng/mL,1000ng/mL, 500ng/mL, 250ng/mL,125ng/mL,62.5ng/mL和0ng/mL。
- [0032] 进一步的,所述偶联物的制备方法包括如下步骤:
- [0033] (a) 将2~10mg草甘膦溶解于500~2500 μ L磷酸盐缓冲液中,得到溶液A;
- [0034] (b) 将2~10mg 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐溶解于500~2500 μ L磷酸盐缓冲液后,然后在搅拌的条件下,将其加入到溶液A 中反应8~12min,得到溶液B;
- [0035] (c) 将3~15mg载体蛋白溶解于1000~5000 μ L磷酸盐缓冲液,然后在搅拌的条件下,将其逐滴缓慢加入到溶液B中,在2~4 $^{\circ}$ C避光条件下搅拌反应2.5~3.5h,然后将反应产物在磷酸盐缓冲液中透析,最后以 4500~5500r/min离心4~6min取上清液,即得到偶联物。
- [0036] 进一步的,所述偶联物经碳酸盐缓冲液稀释后吸附于检测板的检测孔表面。
- [0037] 进一步的,所述草甘膦抗体溶液通过以下步骤制得:
- [0038] (a) 采用牛血清白蛋白作为载体蛋白制备免疫原;
- [0039] (b) 选取清洁级新西兰白兔,采用颈部皮下多点注射进行免疫,免疫剂量为100~300 μ g/mL/只,共免疫4次,每次间隔2~4周;
- [0040] (c) 免疫程序完成后,进行耳缘静脉或心脏采血,分离血清并采用饱和硫酸铵法提纯抗体,得到草甘膦抗体溶液。
- [0041] 进一步的,所述检测板为聚苯乙烯材质的96孔板。

[0042] 本发明还提供了一种草甘膦残留的检测方法,采用上述所述的快速检测草甘膦残留的试剂盒,包括以下步骤:

[0043] (a) 向检测板上的各检测孔中依次加入不同浓度的草甘膦标准溶液;

[0044] (b) 从草甘膦标准溶液低浓度检测孔向高浓度检测孔逐孔加入草甘膦抗体溶液,37℃温育10~20min,洗板;

[0045] (c) 向检测板上的各检测孔中加入草甘膦二抗溶液,37℃温育25~35 min,洗板;

[0046] (d) 向检测板上的各检测孔中加入显色液,反应5~15min;

[0047] (e) 向检测板上的各检测孔中加入终止液终止反应,测定OD450nm 或OD405nm吸光值,根据草甘膦的竞争酶联免疫标准曲线,计算样品中草甘膦残留浓度。

[0048] 本发明还提供了上述快速检测草甘膦残留的试剂盒或草甘膦残留的检测方法在检测环境或食品中草甘膦残留的应用。

[0049] 与现有技术相比,本发明提供的快速检测草甘膦残留的试剂盒及其制备方法具有如下有益效果:

[0050] (1) 本发明提供了一种快速检测草甘膦残留的试剂盒,是以竞争性酶联免疫原理为基础,在获得草甘膦特异性抗体的基础上,利用酶联免疫反应的高效放大作用实现草甘膦的高灵敏检测,能够检测1μg/mL以下浓度的草甘膦,故该试剂盒具有检测特异性好,灵敏度高的特性;且试剂盒结果通过酶的高效催化作用,使底物产生颜色反应,可将检测结果直观的表达出来,借助酶标仪对OD450nm或OD405nm吸光值的测定,能够准确的根据标准曲线计算结果数据,检测结果直观准确。

[0051] (2) 本发明了一种快速检测草甘膦残留的试剂盒,该试剂盒所需试剂种类固定,程序固定,操作简便快捷,适合实验操作基础薄弱人员使用,能够在2小时内完成样品的试剂盒结果判定,另外,可以对大批量样品进行同时检测,能够有效减少检测费用和检测时间,不需要昂贵仪器进行检测,能够有效减少设备费,改善了现有方法在样品处理、分析时间上存在的不足,以及不适宜于大批量快速筛查和推广应用的缺陷。

[0052] (3) 本发明提供了一种草甘膦残留的检测方法,通过采用上述快速检测草甘膦残留的试剂盒,使得整个检测过程简便快捷,检测结果直观准确,同时适合大批量样品同时检测,可有效减少检测费用和检测时间,经济实用。

[0053] (4) 本发明还提供了上述快速检测草甘膦残留的试剂盒或草甘膦残留的检测方法的应用,鉴于快速检测草甘膦残留的试剂盒或草甘膦残留的检测方法所具有的优势,其能够满足检验检疫、环境监测、卫生监督、生产企业等不同行业的检测需求,适用性强,尤其能够在基层单位推广使用;另外,本发明为草甘膦在水质及食品等物质中的残留检测提供了新的途径,能够为保障环境检测和食品检测发挥重要作用,能够产生良好的经济效益。

附图说明

[0054] 为了更清楚地说明本发明具体实施方式或现有技术中的技术方案,下面将对具体实施方式或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图是本发明的一些实施方式,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图获得其他的附图。

[0055] 图1为快速检测草甘膦残留的试剂盒的结构简图;

- [0056] 图2为快速检测草甘膦残留的试剂盒另一角度的结构简图；
- [0057] 图3为检测板的结构示意图；
- [0058] 图4为枪头板的结构示意图；
- [0059] 图5为实施例1中草甘膦的竞争酶联免疫标准曲线。
- [0060] 图标：1-盖体；2-盒体；3-检测板；4-固定垫；5-试剂瓶；6-枪头板；7-枪头；11-卡夹；12-卡环；21-第一盒体；22-第二盒体；31-封板膜；32-检测孔；41-下凹瓶位；61-安装孔；62-缺口；211-卡钩；221-把手。

具体实施方式

[0061] 下面将结合实施例对本发明的实施方案进行详细描述，但是本领域技术人员将会理解，下列实施例仅用于说明本发明，而不应视为限制本发明的范围。实施例中未注明具体条件者，按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者，均为可以通过市售购买获得的常规产品。

[0062] 目前草甘膦残留的检测方法多采用气相色谱、液相色谱以及联用技术，但这些方法在样品处理上较为繁琐，分析时间较长，设备成本以及检测成本较高，不适宜于大批量快速筛查以及推广应用。

[0063] 为解决上述问题，根据本发明的一个方面，提供了一种快速检测草甘膦残留的试剂盒，该试剂盒包括检测板、草甘膦抗体溶液、草甘膦二抗溶液、草甘膦标准溶液、洗涤液、稀释液、显色液和终止液；

[0064] 检测板上固定有草甘膦与载体蛋白的偶联物。

[0065] 本发明提供的快速检测草甘膦残留的试剂盒，是以竞争性酶联免疫原理为基础，在获得草甘膦特异性抗体的基础上，利用酶联免疫反应的高效放大作用实现草甘膦的高灵敏检测，能够检测 $1\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下浓度的草甘膦，故该试剂盒具有检测特异性好，灵敏度高的特性；且试剂盒结果通过酶的高效催化作用，使底物产生颜色反应，可将检测结果直观的表达出来，借助酶标仪对 $\text{OD}_{450\text{nm}}$ 或 $\text{OD}_{405\text{nm}}$ 吸光值的测定，能够准确的根据标准曲线计算结果数据，检测结果直观准确。

[0066] 具体的，竞争性酶联免疫是用酶标抗原(抗体)与待测的非标记抗原(抗体)竞争性的与固相载体上的限量抗体(抗原)结合，待测抗原(抗体)多，则形成非标记复合物多，酶标抗原与抗体结合就少，也就是酶标记复合物少，因此，显色程度与待测物含量成反比。竞争法即可用于检测抗原又可用于检测抗体。

[0067] 本发明的快速检测草甘膦残留的试剂盒，通过制备抗草甘膦的特异性抗体，采用竞争性酶联免疫的原理完成对草甘膦的检测，从而进行草甘膦残留的高效筛查。

[0068] 根据草甘膦二抗溶液以及对应的显色液和终止液不同，本发明试剂盒有不同的组成方式。作为本发明中的一种优选实施方式，该试剂盒包括：检测板，固定有草甘膦与载体蛋白的偶联物；草甘膦抗体溶液，为草甘膦兔源特异性抗体；草甘膦二抗溶液，为HRP标记的羊抗兔IgG抗体；草甘膦标准溶液；洗涤液，为 $0.01\text{mol}/\text{L}$ 磷酸盐缓冲液中含有 $0.5\text{mL}/\text{L}$ 的Tween-20(PBST)；稀释液，含 $5\%w/v$ 脱脂奶的PBST溶液；显色液，为 $3,3',5,5'$ -四甲基联苯胺缓冲液；终止液，为 $2\text{mol}/\text{L}$ 的盐酸溶液或硫酸溶液。

[0069] 作为本发明中的一种优选实施方式，该试剂盒包括：检测板，固定有草甘膦与载体

蛋白的偶联物;草甘膦抗体溶液,为草甘膦兔源特异性抗体;草甘膦二抗溶液,为AP标记的羊抗兔IgG抗体;草甘膦标准溶液;洗涤液,为PBST溶液;稀释液,含5%w/v脱脂奶的PBST溶液;显色液,为对硝基苯磷酸酯缓冲液;终止液,为2mol/L的氢氧化钠溶液。

[0070] 上述两种优选方式,均可以实现草甘膦残留的快速检测。

[0071] 本发明所述的“包括”,意指其除所述组份外,还可以包括其他组份,这些其他组份赋予试剂盒不同的特性。除此之外,本发明所述的“包括”,还可以替换为封闭式的“为”或“由……组成”。

[0072] 具体的,检测板为聚苯乙烯材质的96孔板。

[0073] 载体蛋白,优选为鸡卵清蛋白,草甘膦与载体蛋白的偶联物即为草甘膦与鸡卵清蛋白的偶联物(包被原)。偶联物的特性与其制备方法有直接关系。

[0074] 作为本发明中的一种优选实施方式,偶联物的制备方法包括如下步骤:

[0075] (a) 称取2~10mg草甘膦,用500~2500 μ L磷酸盐缓冲液(Phosphate Buffer solution,PBS)溶解,得到溶液A;

[0076] (b) 称取2~10mg 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐溶解于 500~2500 μ L PBS后,在搅拌的条件下,将其逐滴缓慢加入到溶液A中反应8~12min,得到溶液B;

[0077] (c) 将3~15mg载体蛋白溶解于1000~5000 μ L PBS,然后在搅拌的条件下,将其逐滴缓慢加入到溶液B中,在2~4 $^{\circ}$ C避光条件下搅拌反应2.5~3.5 h,然后将反应产物在磷酸盐缓冲液中透析,最后以4500~5500r/min离心 4~6min取上清液,即得到偶联物。

[0078] 其中,步骤(a)中,草甘膦典型但非限制性的用量为2mg、4mg、5mg、6mg、8mg或10mg;磷酸盐缓冲液典型但非限制性的用量为500 μ L、1000 μ L、1500 μ L、2000 μ L或2500 μ L。

[0079] 步骤(b)中,1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐典型但非限制性的用量为2mg、4mg、5mg、6mg、8mg或10mg;PBS典型但非限制性的用量为500 μ L、1000 μ L、1500 μ L、2000 μ L或2500 μ L;典型但非限制性的反应时间为8min、9min、10min、11min或12min;

[0080] 步骤(c)中,载体蛋白典型但非限制性的用量为3mg、4mg、5mg、6mg、8mg、10mg、12mg或15mg;PBS典型但非限制性的用量为1000 μ L、2000 μ L、3000 μ L、4000 μ L或5000 μ L;典型但非限制性的反应温度为2 $^{\circ}$ C、3 $^{\circ}$ C或4 $^{\circ}$ C,优选为4 $^{\circ}$ C;典型但非限制性的反应时间为2.5h、3h或3.5h,优选为3h;典型但非限制性的离心转速为4500r/min、4800 r/min、5000r/min、5200r/min或5500r/min,优选为5000r/min;典型但非限制性的离心时间为4min、5min或6min,优选为5min。

[0081] 偶联物是包被在检测板上的。优选的,草甘膦与载体蛋白的偶联物经碳酸盐缓冲液(Carbonate Buffer solution,CBS)稀释后吸附于检测板的检测孔表面且能够保持其免疫学活性。

[0082] 作为本发明中的一种优选实施方式,将上述偶联物用CBS 1:500倍稀释,每孔50 μ L加入检测孔中,4 $^{\circ}$ C条件下包被过夜,用洗涤液洗涤4次后,甩干加入拍干,加入5%脱脂奶的PBST溶液作为封闭液,37 $^{\circ}$ C封闭2h,用洗涤液洗涤4次后甩干,即制备得到包被有偶联物的检测板。

[0083] 对于草甘膦抗体溶液的制备方法可采用常规制备方法制得。作为本发明中的一种优选实施方式,草甘膦抗体溶液通过以下步骤制得:

[0084] (a) 采用牛血清白蛋白作为载体蛋白制备免疫原;

[0085] (b) 选取清洁级新西兰白兔,采用颈部皮下多点注射进行免疫,免疫剂量为100~300 $\mu\text{g}/\text{mL}/\text{只}$,共免疫4次,每次间隔2~4周;

[0086] (c) 免疫程序完成后,进行耳缘静脉或心脏采血,分离血清并采用饱和硫酸铵法提纯抗体,得到草甘膦抗体溶液。

[0087] 其中,典型但非限制性的免疫剂量为100 $\mu\text{g}/\text{mL}/\text{只}$ 、200 $\mu\text{g}/\text{mL}/\text{只}$ 或300 $\mu\text{g}/\text{mL}/\text{只}$,优选为200 $\mu\text{g}/\text{mL}/\text{只}$ 。

[0088] 作为本发明中的一种优选实施方式,草甘膦标准溶液的浓度分别为 2000ng/mL, 1000ng/mL, 500ng/mL, 250ng/mL, 125ng/mL, 62.5ng/mL, 0ng/mL。草甘膦标准溶液的浓度根据检测下限不同,可进行相应的调整,并不限于本发明中所列举的浓度。

[0089] 通过对草甘膦抗体溶液、草甘膦二抗溶液、草甘膦标准溶液、洗涤液、稀释液、显色液和终止液以及制备方法的具体限定,使得该试剂盒对于草甘膦的检测更加快速、特异、敏感、方便。

[0090] 本发明还提供了一种草甘膦残留的检测方法,采用上述快速检测草甘膦残留的试剂盒,包括以下步骤:

[0091] (a) 向检测板上的各检测孔中依次加入不同浓度的草甘膦标准溶液;

[0092] (b) 从草甘膦标准溶液低浓度检测孔向高浓度检测孔逐孔加入草甘膦抗体溶液,37 $^{\circ}\text{C}$ 温育10~20min,洗板;

[0093] (c) 向检测板上的各检测孔中加入草甘膦二抗溶液,37 $^{\circ}\text{C}$ 温育25~35 min,洗板;

[0094] (d) 向检测板上的各检测孔中加入显色液,反应5~15min;

[0095] (e) 向检测板上的检测孔中加入终止液终止反应,测定OD450nm或 OD405nm吸光值,绘制草甘膦的竞争酶联免疫标准曲线,计算样品中草甘膦残留浓度。

[0096] 其中,步骤(b)中,典型但非限制性的温育时间为10min、12min、14min、15min、16min、18min或20min,优选为15min。

[0097] 步骤(c)中,典型但非限制性的温育时间为25min、26min、28min、30min、32min、34min或35min,优选为30min。

[0098] 步骤(d)中,典型但非限制性的反应时间为5min、6min、8min、10min、12min、14min或15min,优选为10min。

[0099] 检测时选取适量的检测孔,首先按不同浓度依次加入草甘膦标准溶液,然后加入草甘膦抗体溶液(草甘膦特异性抗体),此时草甘膦抗体溶液将与草甘膦标准溶液和检测孔上的包被原发生竞争性反应,反应后经洗涤液洗涤,检测孔将会残留与包被原结合的特异性抗体,然后加入草甘膦二抗溶液,反应后经洗涤液洗涤,检测孔将会残留与特异性抗体结合的HRP标记的羊抗兔二抗或者AP标记的羊抗兔二抗,最后经显色液显色、终止液终止,利用酶标仪读取各检测孔的OD450nm(HRP标记二抗)或OD405nm(AP标记二抗)吸光值,吸光值随草甘膦标准溶液浓度的增大而减小,根据各浓度标准溶液与零浓度标准溶液OD450nm或OD405nm吸光值的比值和各浓度的对数值绘制检测标准曲线。然后依据同样的步骤进行实际样品的检测,得到OD450nm或OD405nm吸光值后,根据标准曲线方程即可求得样品中草甘膦的浓度。

[0100] 通过采用上述快速检测草甘膦残留的试剂盒,使得整个检测过程简便快捷,检测结果直观准确,适合大批量样品同时检测,可有效减少检测费用和检测时间,经济实用。

[0101] 本发明还提供了上述快速检测草甘膦残留的试剂盒或草甘膦残留的检测方法的应用,鉴于快速检测草甘膦残留的试剂盒或草甘膦残留的检测方法所具有的优势,使其能够满足检验检疫、环境监测、卫生监督、生产企业等多个单位的检测需求,适用性强,尤其能够在基层单位推广使用;另外,本发明为草甘膦在水质及食品等物质中的残留检测提供了新的途径,能够为保障环境检测和食品检测发挥重要作用,并产生良好的经济效益。

[0102] 另外,本发明还提供了快速检测草甘膦残留的试剂盒的结构示意图,具体如图1-4所示。

[0103] 该试剂盒包括盒体2以及可开启和闭合的盖体1,盖体1和盒体2的结构、形状不作特殊限定,只需要完成各试剂材料的存放即可,可选择满足使用要求的市面上常见的盒体2和盖体1。

[0104] 具体的,盖体1具有一空腔结构,盖体1内部设置有检测板3以及说明书(图中未标示)。应当说明的是,盖体1所形成的空腔的深度要大于检测板3和说明书的总厚度。

[0105] 检测板3上设置有若干个检测孔32。检测板3具体为聚苯乙烯材质的96孔板具体如图3所示。同时,在检测孔32内固定有草甘膦与载体蛋白形成的偶联物的包被层。

[0106] 在检测板3的顶部还设置有封板膜31,封板膜31可避免检测板3的污染。封板膜31优选为无菌透气封板膜,其可以实现空气和二氧化碳的均匀交换,同时能够阻止水蒸气蒸发。

[0107] 检测板3和说明书与盖体1可拆卸连接。可拆卸连接的方式可以为常见的几种方式。在本实施例中,在盖体1内部设置有卡夹11,卡夹11的一端固定在盖体1上,另一端在外力的作用下可相对于盖体1转动,通过卡夹11将检测板3和/或说明书固定或者夹持在盖体1内部。

[0108] 通过将盖体1设计为具有一定深度的空腔结构以及卡夹11的设置,使得检测板3和/或说明书可拆卸得固定在第一盒体21内部,既对检测板3和/或说明书起到定位作用,又能避免说明书长期使用容易丢失的问题。

[0109] 盖体1能够相对于盒体2转动以实现试剂盒的开启和关闭。盖体1与盒体2之间可以是活动连接,比如铰接,也可以是相互独立的。

[0110] 盒体2包括第一盒体21和第二盒体22,第一盒体21与第二盒体22的横截面积相同,两者的高度可以相同也可以不同。第一盒体21位于第二盒体22的上方或者下方。在本实施例中,第一盒体21位于第二盒体22的上方。

[0111] 具体的,在第一盒体21内部设置有固定垫4和若干个试剂瓶5。固定垫4的尺寸略小于第一盒体21的尺寸。固定垫4上设置有若干个下凹瓶位41,若干个下凹瓶位41的数量、形状和大小与试剂瓶5的数量、形状和大小相对应。

[0112] 固定垫4主要为泡沫塑料固定垫或海绵固定垫,也可以采用硬质纸板固定垫。上述几种固定垫4均可将试剂瓶5牢固得固定在第一盒体21内部,防止在运输或者移动过程中试剂瓶5的散落。

[0113] 若干个试剂瓶5内分别盛装有草甘膦抗体溶液、草甘膦二抗溶液、草甘膦标准溶液、洗涤液、稀释液、显色液和终止液。

[0114] 为与上述溶液种类的数量一致,试剂瓶5的数量为13个,试剂瓶5的大小根据用量有所不同。

[0115] 为防止在使用过程中将上述溶液混淆,在各试剂瓶5的瓶身和/或瓶盖上均设有各自所盛装溶液的标签。另外也可采用不同的颜色对各试剂瓶5 进行区分,既达到明显标识的目的,又具有一定的观赏性。

[0116] 为实现盒体2与盖体1的闭合,在上述技术方案基础之上,第一盒体 21上设置有卡钩211,在盖体1的相应位置上设置有卡环12,卡钩211和卡环12可配合连接。需要注意的是,第一盒体21与盖体1之间的连接并不限于卡钩211和卡环12的这种连接方式,只要市面上常见的盒体与盖体的连接方式均可满足使用要求。

[0117] 第一盒体21和第二盒体22之间可拆卸连接。

[0118] 第二盒体22可以是以推拉的方式拉出,具体如图2所示。为便于第二盒体22的推拉,在第二盒体22上还设置有把手221;

[0119] 或者,第一盒体21和第二盒体22上分别设置有相应的凸块和凹槽(在图中未标示出来),通过凸块和凹槽的配合将第一盒体21和第二盒体22进行连接。

[0120] 在第二盒体22内设置用于固定若干个枪头7的枪头板6,具体如图4 所示。枪头板6的尺寸与第二盒体22的尺寸相对应。枪头板6上设置有若干个安装孔61,枪头7通过安装孔61固定在枪头板6上。

[0121] 安装孔61的孔径大小可相同,也可不同。当固定不同型号的枪头7时,枪头板6上可设置不同孔径的安装孔61。

[0122] 在枪头板6相对的两侧还设置有缺口62,缺口62的大小与手指的大小一致。当对枪头板6整体进行取用时,手指可通过缺口62对枪头板6进行取放。

[0123] 枪头7的容量可以为10 μ L、200 μ L或1000 μ L等,具体可根据实际需要进行取用。为防止枪头7的污染,可将枪头7采用塑封膜进行包覆。

[0124] 将试剂盒的盒体设置为第一盒体和第二盒体,第一盒体主要用于盛放试剂瓶,第二盒体主要用于盛放枪头,整体结构设计合理,操作起来更为便利。

[0125] 下面结合具体实施例和实验例,对本发明作进一步说明。

[0126] 实施例1

[0127] 本实施例提供一种快速检测草甘膦残留的试剂盒,该试剂盒包括:

[0128] 检测板,固定有草甘膦与载体蛋白的偶联物;

[0129] 5mL 1:6400倍稀释的草甘膦兔源特异性抗体;

[0130] 5mL 1:5000倍稀释的草甘膦二抗溶液,为HRP标记的羊抗兔IgG抗体;

[0131] 草甘膦标准溶液7瓶,各1mL,浓度分别为2000ng/mL,1000ng/mL, 500ng/mL, 250ng/mL,125ng/mL,62.5ng/mL,0ng/mL;

[0132] 洗涤液100mL,0.01mol/L PBS溶液中含有0.5mL/L的Tween-20 (PBST);

[0133] 稀释液50mL,含5% (w/v) 脱脂奶的PBST溶液;

[0134] 显色液5mL,3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB) 缓冲液;

[0135] 终止液5mL,2mol/L的盐酸溶液。

[0136] 其中,偶联物的制备方法,包括以下步骤:

[0137] (a) 称取2mg草甘膦,用500 μ L磷酸盐缓冲液(PBS) 溶解;

[0138] (b) 称取2mg 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐溶解于500 μ L PBS,然后在磁力搅拌的条件下,将其液逐滴缓慢加入第一步溶液中反应10min左右;

[0139] (c) 称取3mg载体蛋白溶解于1000 μ L PBS,然后在磁力搅拌的条件下逐滴缓慢加入上述混合液中,在4 $^{\circ}$ C避光条件下搅拌反应3h,然后将反应产物在PBS中透析,最后5000r/min离心5min取上清液,得到偶联物。

[0140] 草甘膦兔源特异性抗体的制备方法,包括如下步骤:

[0141] (a) 根据上述的偶联物制备方法,选用牛血清白蛋白作为载体蛋白制备免疫原;

[0142] (b) 选取清洁级新西兰白兔,采用颈部皮下多点注射进行免疫,免疫剂量为200 μ g/mL/只,共免疫4次,每次间隔2周。首次免疫将免疫原用 PBS稀释后与等体积的弗氏完全佐剂混合,25000r/min充分乳化10min,待溶液变为白色乳浊液后对新西兰白兔进行免疫,2次免疫为加强免疫,加强免疫剂量与首免相同,仅将弗氏完全佐剂换为弗氏不完全佐剂。

[0143] (c) 免疫程序完成后10天,进行耳缘静脉或心脏采血,首先置于37 $^{\circ}$ C条件下2h,然后置于4 $^{\circ}$ C条件下6h,5000r/min离心10min,取出上清液。以饱和硫酸铵法提纯抗体,取血清加双倍PBS,然后加等体积饱和硫酸铵溶液混匀,置于4 $^{\circ}$ C条件下过夜,然后5000r/min离心10min,将沉淀用少量PBS溶解,然后加1/2体积饱和硫酸铵,混匀置于4 $^{\circ}$ C条件下过夜,然后5000r/min离心10min,将沉淀用少量PBS溶解,用PBS透析48h,换液10次,然后5000r/min离心10min,取上清即为草甘膦特异性抗体。

[0144] 实施例2

[0145] 本实施例提供的一种快速检测草甘膦残留的试剂盒,除了终止液为 2mol/L的硫酸溶液,其余原料以及用量与实施例1相同。

[0146] 其中,偶联物的制备方法,包括以下步骤:

[0147] (a) 称取10mg草甘膦,用2500 μ L PBS溶解;

[0148] (b) 称取10mg 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐溶解于 2500 μ L PBS,然后在磁力搅拌的条件下,将其液逐滴缓慢加入第一步溶液中反应12min左右;

[0149] (c) 称取15mg载体蛋白溶解于5000 μ L PBS,然后在磁力搅拌的条件下逐滴缓慢加入上述混合液中,在4 $^{\circ}$ C避光条件下搅拌反应3.5h,然后将反应产物在PBS中透析,最后5500r/min离心4min取上清液,得到偶联物。

[0150] 草甘膦兔源特异性抗体的制备方法,包括如下步骤:

[0151] (a) 根据上述的偶联物制备方法,选用牛血清白蛋白作为载体蛋白制备免疫原;

[0152] (b) 选取清洁级新西兰白兔,采用颈部皮下多点注射进行免疫,免疫剂量为300 μ g/mL/只,共免疫4次,每次间隔4周。首次免疫将免疫原用 PBS稀释后与等体积的弗氏完全佐剂混合,25000r/min充分乳化10min,待溶液变为白色乳浊液后对新西兰白兔进行免疫,4次免疫为加强免疫,加强免疫剂量与首免相同,仅将弗氏完全佐剂换为弗氏不完全佐剂。

[0153] (c) 免疫程序完成后30天,进行耳缘静脉或心脏采血,首先置于37 $^{\circ}$ C条件下2h,然后置于4 $^{\circ}$ C条件下8h,10000r/min离心5min,取出上清液。以饱和硫酸铵法提纯抗体,取血清加双倍PBS,然后加等体积饱和硫酸铵溶液混匀,置于4 $^{\circ}$ C条件下过夜,然后10000r/min离心5min,将沉淀用少量PBS溶解,然后加1/2体积饱和硫酸铵,混匀置于4 $^{\circ}$ C条件下过夜,然后10000r/min离心5min,将沉淀用少量PBS溶解,用PBS透析72h,换液5次,然后10000r/min离心5min,取上清即为草甘膦特异性抗体。

[0154] 实施例3

[0155] 本实施例提供的一种快速检测草甘膦残留的试剂盒,该试剂盒包括:

- [0156] 检测板,固定有草甘膦与载体蛋白的偶联物;
- [0157] 5mL 1:6400倍稀释的草甘膦兔源特异性抗体;
- [0158] 5mL 1:5000倍稀释的草甘膦二抗溶液,为AP标记的羊抗兔IgG抗体;
- [0159] 草甘膦标准溶液7瓶,各1mL,浓度分别为2000ng/mL,1000ng/mL,500ng/mL,250ng/mL,125ng/mL,62.5ng/mL,0ng/mL;
- [0160] 洗涤液100mL,0.01mol/L PBS溶液中含有0.5mL/L的Tween-20 (PBST);
- [0161] 稀释液50mL,含5% (w/v) 脱脂奶的PBST溶液;
- [0162] 显色液5mL,对硝基苯磷酸酯缓冲液;
- [0163] 终止液5mL,2mol/L的氢氧化钠溶液。
- [0164] 其中,偶联物的制备方法,包括以下步骤:
- [0165] (a) 称取8mg草甘膦,用1500 μ L PBS溶解;
- [0166] (b) 称取8mg 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐溶解于1500 μ L PBS,然后在磁力搅拌的条件下,将其液逐滴缓慢加入第一步溶液中反应8min左右;
- [0167] (c) 称取10mg载体蛋白溶解于3000 μ L PBS,然后在磁力搅拌的条件下逐滴缓慢加入上述混合液中,在4 $^{\circ}$ C避光条件下搅拌反应2.5h,然后将反应产物在PBS中透析,最后4500r/min离心6min取上清液,得到偶联物。
- [0168] 草甘膦兔源特异性抗体的制备方法,包括如下步骤:
- [0169] (a) 根据上述的偶联物制备方法,选用牛血清白蛋白作为载体蛋白制备免疫原;
- [0170] (b) 选取清洁级新西兰白兔,采用颈部皮下多点注射进行免疫,免疫剂量为100 μ g/mL/只,共免疫4次,每次间隔3周。首次免疫将免疫原用 PBS稀释后与等体积的弗氏完全佐剂混合,25000r/min充分乳化10min,待溶液变为白色乳浊液后对新西兰白兔进行免疫,3次免疫为加强免疫,加强免疫剂量与首免相同,仅将弗氏完全佐剂换为弗氏不完全佐剂。
- [0171] (c) 免疫程序完成后20天,进行耳缘静脉或心脏采血,首先置于37 $^{\circ}$ C条件下2h,然后置于4 $^{\circ}$ C条件下7h,8000r/min离心8min,取出上清液。以饱和硫酸铵法提纯抗体,取血清加双倍PBS,然后加等体积饱和硫酸铵溶液混匀,置于4 $^{\circ}$ C条件下过夜,然后8000r/min离心8min,将沉淀用少量PBS溶解,然后加1/2体积饱和硫酸铵,混匀置于4 $^{\circ}$ C条件下过夜,然后8000r/min离心8min,将沉淀用少量PBS溶解,用PBS透析64h,换液 8次,然后8000r/min离心8min,取上清即为草甘膦特异性抗体。
- [0172] 应当说明的是,实施例1-3中偶联物包被到检测板的步骤为:将偶联物用碳酸盐缓冲液1:500倍稀释,每孔50 μ L加入检测孔中,4 $^{\circ}$ C条件下包被过夜,用洗涤液洗涤4次后,甩干加入拍干,加入5%脱脂奶的PBST溶液作为封闭液,37 $^{\circ}$ C封闭2h,用洗涤液洗涤4次后甩干,便制备得到检测板。
- [0173] 实施例4
- [0174] 本实施例提供了一种草甘膦残留的检测方法,采用实施例1提供的快速检测草甘膦残留的试剂盒,包括以下步骤:
- [0175] (a) 取包被好的检测板,选取适量的检测孔,按不同浓度依次加入草甘膦标准溶液50 μ L;
- [0176] (b) 从草甘膦标准溶液低浓度检测孔向高浓度检测孔逐孔加入50 μ L 草甘膦特异性抗体(1:6400倍稀释),37 $^{\circ}$ C温育15min,洗板;

[0177] (c) 每孔加50 μ L草甘膦二抗溶液(1:5000倍稀释),37 $^{\circ}$ C温育30min,洗板;

[0178] (d) 加显色液,每孔50 μ L,室温下反应10min;

[0179] (e) 每孔加50 μ L终止液终止反应,然后用酶标仪读出OD450nm吸光值。

[0180] 结果分析:计算抑制率 B/B_0 ,其中 B_0 为草甘膦标准溶液浓度为0ng/mL时的OD450nm吸光值, B 为草甘膦标准溶液不同浓度的OD450nm吸光值,以 B/B_0 为纵坐标,以草甘膦标准溶液浓度的对数值为横坐标,绘制标准曲线,曲线的线性回归方程用于计算方法的半数抑制浓度(IC_{50})以及样品中草甘膦浓度。

[0181] 实施例5

[0182] 一种草甘膦残留的检测方法,采用实施例2提供的快速检测草甘膦残留的试剂盒,检测步骤与实施例4相同,具体可参考实施例4。

[0183] 实施例6

[0184] 一种草甘膦残留的检测方法,采用实施例3提供的快速检测草甘膦残留的试剂盒,包括以下步骤:

[0185] (a) 取包被好的检测板,选取适量的检测孔,按不同浓度依次加入草甘膦标准溶液50 μ L;

[0186] (b) 从草甘膦标准溶液低浓度检测孔向高浓度检测孔逐孔加入50 μ L草甘膦特异性抗体(1:6400倍稀释),37 $^{\circ}$ C温育20min,洗板;

[0187] (c) 每孔加50 μ L草甘膦二抗溶液(1:5000倍稀释),37 $^{\circ}$ C温育5min,洗板;

[0188] (d) 加显色液,每孔50 μ L,室温下反应15min;

[0189] (e) 每孔加50 μ L终止液终止反应,然后用酶标仪读出OD405nm吸光值。

[0190] 结果分析:计算抑制率 B/B_0 ,其中 B_0 为草甘膦标准溶液浓度为0ng/mL时的OD405nm吸光值, B 为草甘膦标准溶液不同浓度的OD405nm吸光值,以 B/B_0 为纵坐标,以草甘膦标准溶液浓度的对数值为横坐标,绘制标准曲线,曲线的线性回归方程用于计算方法的半数抑制浓度(IC_{50})以及样品中草甘膦浓度。

[0191] 应当说明的是,在采用实施例4-6的草甘膦残留的检测方法时,样品前处理步骤为:以水质为例,吸取1mL加入9mL PBS中,充分混匀10min,10000r/min离心5~10min,取上清。

[0192] 为验证上述实施例中试剂盒的检测效果,特设以下实验例。

[0193] 实验例1

[0194] 草甘膦的竞争酶联免疫标准曲线的绘制:计算抑制率 B/B_0 ,其中 B_0 为草甘膦标准溶液浓度为0ng/mL时的OD450nm或OD405nm吸光值, B 为草甘膦标准溶液不同浓度的OD450nm或OD405nm吸光值,以 B/B_0 为纵坐标,以草甘膦标准溶液浓度(PMG溶液)的对数值为横坐标,绘制标准曲线,曲线的线性回归方程用于计算样品中草甘膦浓度。

[0195] 对上述实施例绘制草甘膦的竞争酶联免疫标准曲线,此处仅以实施例1为例进行说明。图5即为实施例1对应的草甘膦的竞争酶联免疫标准曲线。从图5可以看出,标准曲线线性回归方程 $y = -0.3506x + 1.5067$, $R^2 = 0.9864$,其半数抑制浓度(IC_{50})为0.744 μ g/mL,这说明草甘膦标准品对于草甘膦特异性抗体的抑制效果良好。

[0196] 实验例2

[0197] 使用其他常用农药亚胺磷、内吸磷、对硫磷、敌百虫、马拉硫磷以及载体蛋白作为

竞争物,采用竞争酶联免疫方法测定草甘膦特异性抗体对竞争物的半数抑制浓度,特异性抗体对草甘膦的 IC_{50} 与竞争物的 IC_{50} 之比即为特异性抗体的交叉反应率(Cross reactivity,CR%),交叉反应率越小则说明试剂盒的特异性强。特异性试验结果如表1所示。

[0198] 表1 特异性试验结果

[0199]

竞争物	$IC_{50}/(\mu\text{g}/\text{mL})$	CR/%
亚胺磷	$>1.0 \times 10^3$	<0.1
内吸磷	$>1.0 \times 10^3$	<0.1
对硫磷	$>1.0 \times 10^3$	<0.1
敌百虫	$>1.0 \times 10^3$	<0.1
马拉硫磷	$>1.0 \times 10^3$	<0.1
鸡卵清蛋白	$>1.0 \times 10^3$	<0.1
牛血清白蛋白	$>1.0 \times 10^3$	<0.1

[0200] 从表1中数据可以明显看出,草甘膦对于其他常用农药交叉反应率较小,可见本发明提供的试剂盒具有较强的特异性。

[0201] 综合可知,本发明提供的快速检测草甘膦残留的试剂盒及草甘膦残留的检测方法,操作快捷简便,检测特异性好,灵敏度高,检测结果直观准确,且适合大批量样品同时检测,有效减少了检测费用和检测时间,经济实用,满足环境或食品检测领域的检测需求,适于大批量快速筛查和推广应用。

[0202] 最后应说明的是:以上各实施例仅用以说明本发明的技术方案,而非对其限制;尽管参照前述各实施例对本发明进行了详细的说明,本领域的普通技术人员应当理解:其依然可以对前述各实施例所记载的技术方案进行修改,或者对其中部分或者全部技术特征进行等同替换;而这些修改或者替换,并不使相应技术方案的本质脱离本发明各实施例技术方案的范围。

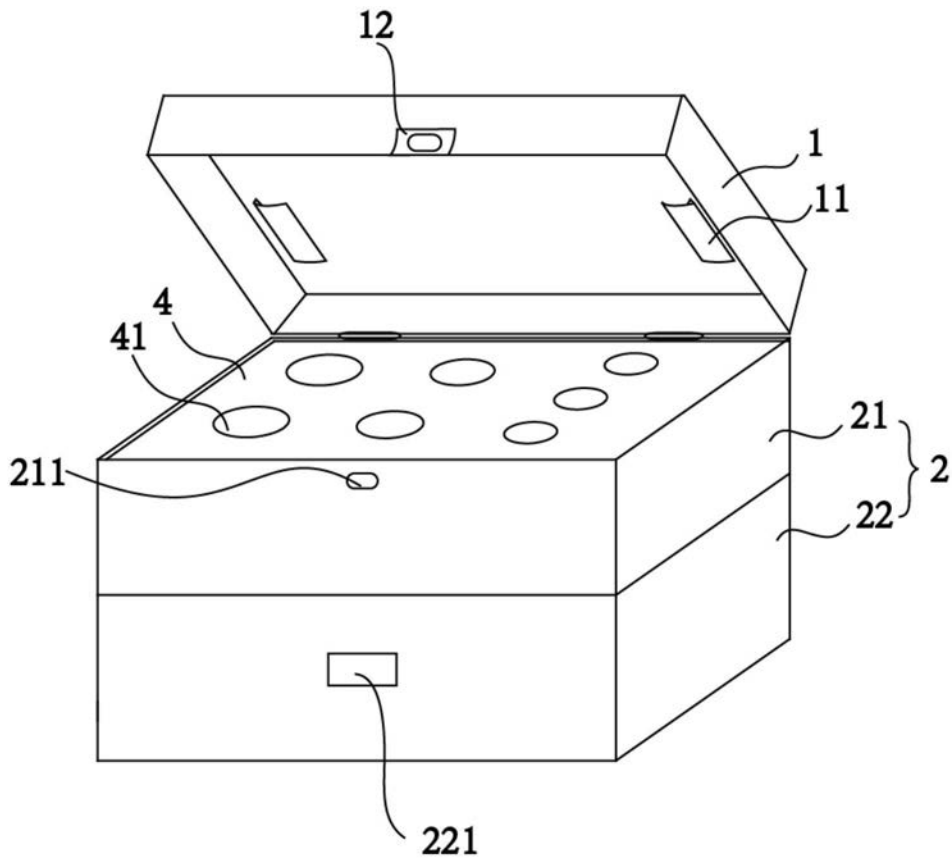


图1

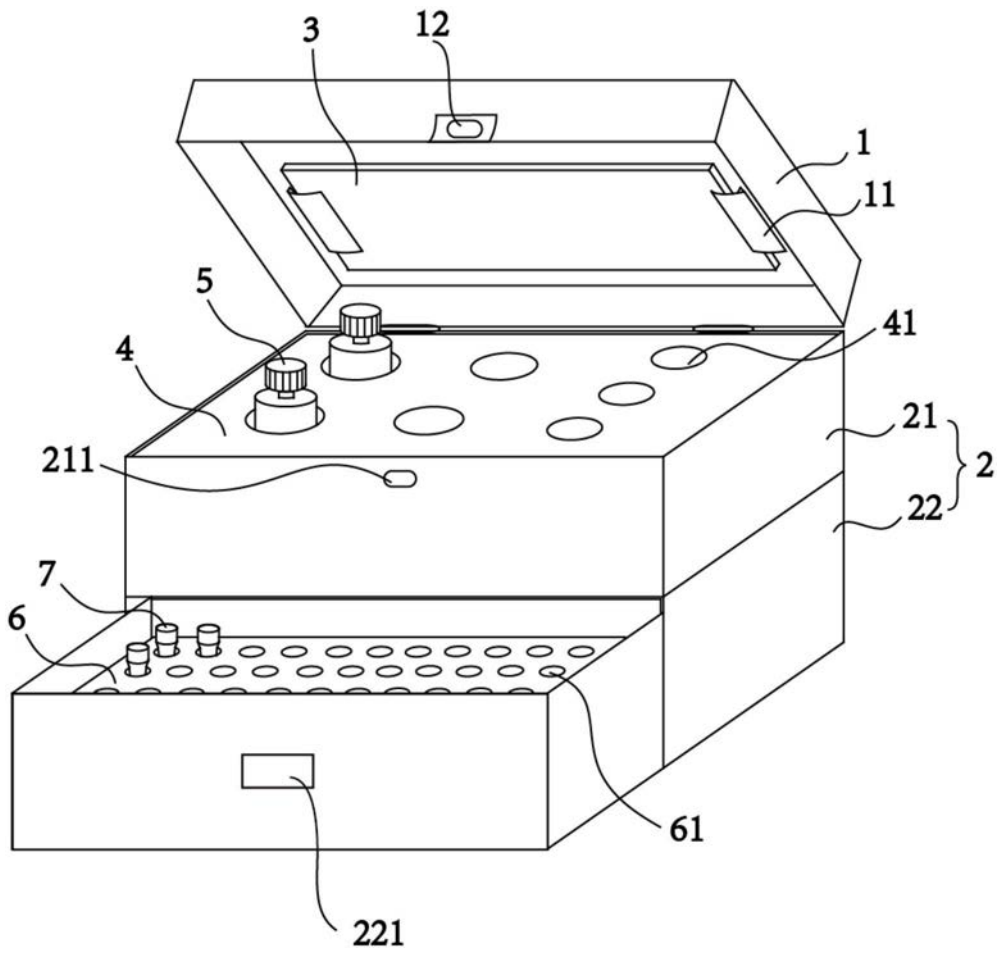


图2

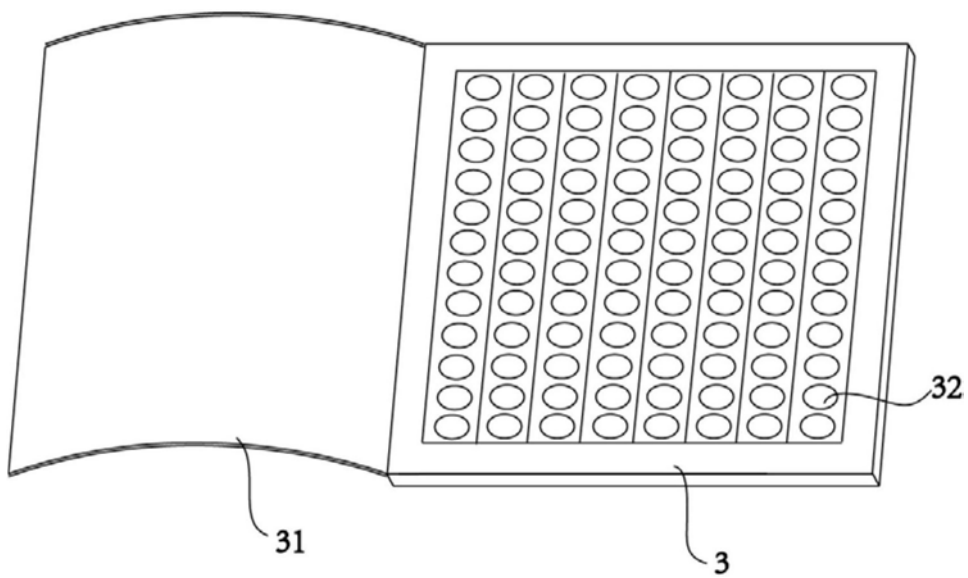


图3

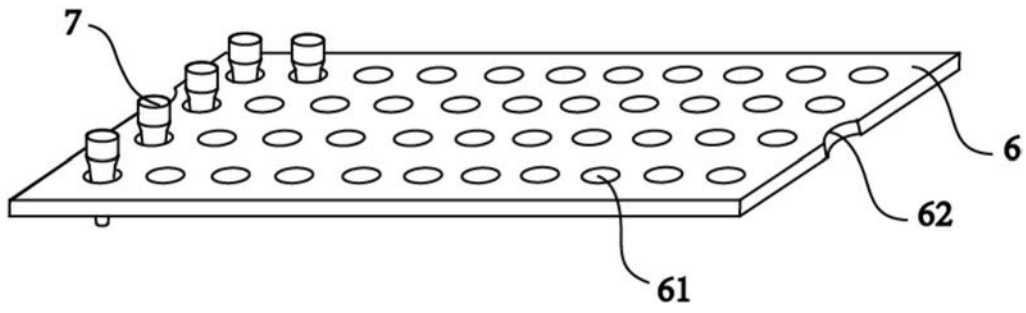


图4

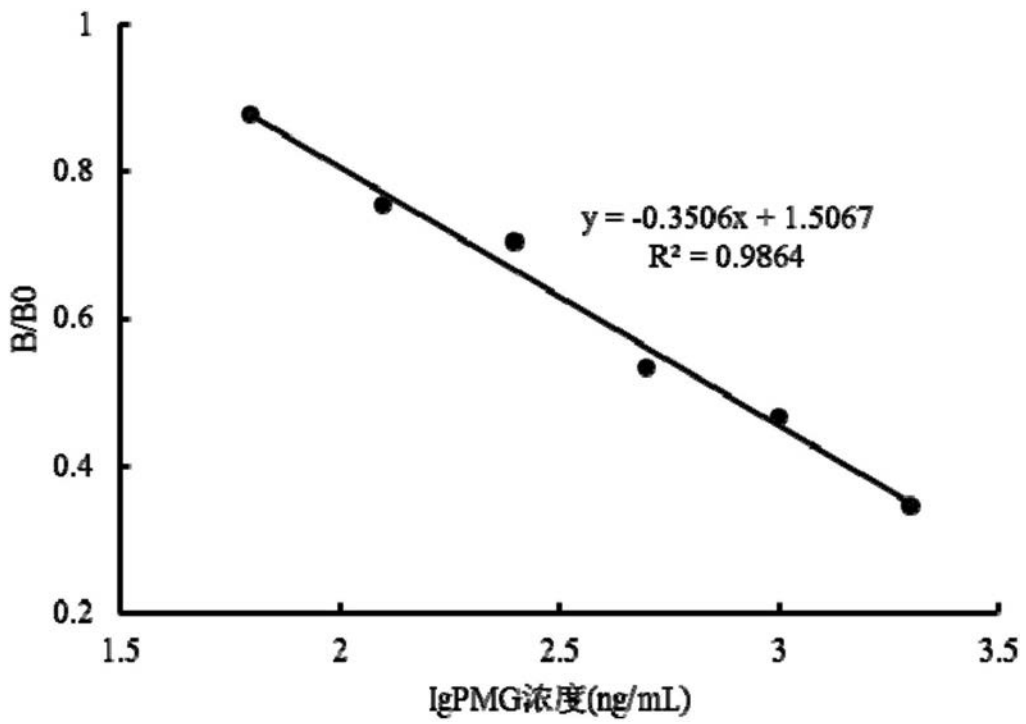


图5

专利名称(译)	快速检测草甘膦残留的试剂盒及草甘膦残留的检测方法和应用		
公开(公告)号	CN107478828A	公开(公告)日	2017-12-15
申请号	CN2017110874197.5	申请日	2017-09-25
[标]申请(专利权)人(译)	河南科技大学		
申请(专利权)人(译)	河南科技大学		
当前申请(专利权)人(译)	河南科技大学		
[标]发明人	王耀 裴亚峰 刘丽莉 陈秀金 樊振江 李兆周 任国艳 高红丽 李道敏 曹力 李燕虹 曹金博		
发明人	王耀 裴亚峰 刘丽莉 陈秀金 樊振江 李兆周 任国艳 高红丽 李道敏 曹力 李燕虹 曹金博 金东亮		
IPC分类号	G01N33/558 G01N33/535		
CPC分类号	G01N33/558 G01N33/535		
代理人(译)	王晖		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了快速检测草甘膦残留的试剂盒及草甘膦残留的检测方法和应用，涉及草甘膦检测技术领域。该试剂盒包括检测板、草甘膦抗体溶液、草甘膦二抗溶液、草甘膦标准溶液、洗涤液、稀释液、显色液和终止液，其是以竞争性酶联免疫原理为基础，在获得草甘膦特异性抗体的基础上，利用酶联免疫反应的高效放大作用实现草甘膦的高灵敏检测，能够检测1 μ g/mL以下浓度的草甘膦，该试剂盒检测特异性好，灵敏度高，检测结果直观准确，操作快捷简便，改善了现有方法在样品处理、分析时间上存在的不足，以及不适宜于大批量快速筛查和推广应用的缺陷。本发明还提供了草甘膦残留的检测方法，该检测方法采用上述试剂盒实现了对草甘膦残留的高效筛查。

