



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107389927 A

(43)申请公布日 2017. 11. 24

(21)申请号 201710753493.X

(22)申请日 2017.08.29

(71)申请人 联合益康(北京)生物科技有限公司

地址 102100 北京市延庆区八达岭经济开发
区康西路2225号

(72)发明人 吴鹏 姚承志 王新华

(51) Int. Cl.

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

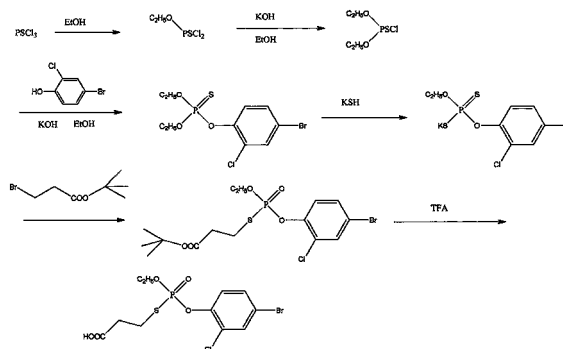
权利要求书2页 说明书7页 附图1页

(54)发明名称

一种检测丙溴磷的时间分辨荧光试纸条及其应用

(57)摘要

本发明公开了一种检测丙溴磷的时间分辨荧光试纸条及其应用。试纸条包括样品吸收垫、反应膜以及吸水垫,反应膜位于中间,样品吸收垫与吸水垫分别搭接于反应膜左右两端;样品吸收垫上设有加样区和微球区,微球区上载有丙溴磷时间时间分辨荧光微球;反应膜上设有检测线(T线)和质控线(C线),T线接上包被丙溴磷抗原(包被原),C线包被抗兔抗体。本发明还提供了一种应用上述丙溴磷试纸条检测苹果、玉米、黄瓜、西红柿、萝卜叶、白菜等样品中丙溴磷残留的方法。本发明所提供的试纸条具有操作简单、灵敏度高、定量检测、快速检测、成本低等特点,适合大量样本的筛查和现场监控。



1. 一种检测丙溴磷的时间分辨荧光试纸条,包括样品吸收垫、反应膜以及吸水垫,其特征在于所述反应膜位于中间,样品吸收垫与吸水垫分别搭接于反应膜左右两端;所述样品吸收垫上设有加样区和微球区,微球区上载有丙溴磷时间分辨荧光微球;所述反应膜上设有检测线(T线)和质控线(C线),T线接上包被丙溴磷抗原(包被原),C线包被抗兔抗体,所述丙溴磷抗原是丙溴磷半抗原-载体蛋白偶联物,所述丙溴磷半抗原的制备方法如下:

(1) 将20ml无水乙醇倒入单口瓶中,搅拌, $\leq 0^{\circ}\text{C}$,缓慢滴加5g三氯硫磷,反应30min,加入20ml水,移入分液漏斗,萃取,分层;取下层有机相,无水硫酸钠干燥,备用;

(2) 将20ml无水乙醇倒入单口瓶中,搅拌, $\leq 0^{\circ}\text{C}$,加入氢氧化钾5.6g,滴加步骤一的产物15g,反应30min,加入20ml水,移入分液漏斗,萃取,分层,取下层有机相,无水硫酸钠干燥,备用;

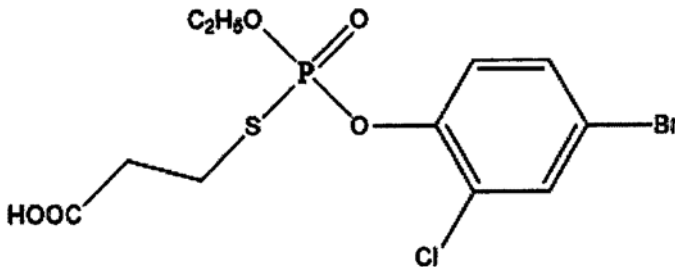
(3) 将20ml无水乙醇倒入单口瓶中,搅拌, $\leq 0^{\circ}\text{C}$,加入氢氧化钾5.6g,4-溴-2氯苯酚20g,搅拌溶解后,滴加步骤二的产物18g,反应5h;加入20ml水,移入分液漏斗,分层,乙酸乙酯萃取,干燥;蒸干溶剂,柱层析纯化,得到27.1g目标物,收率76%;

(4) 于单口瓶中倒入20ml DMF,加入硫化钾7.2g,室温搅拌,加入步骤三的产物30g;缓慢升高温度至60度,反应10h;加入20ml水,移入分液漏斗,乙酸乙酯萃取,干燥,蒸干溶剂,柱层析纯化,得到29.6g目标物,收率77%;

(5) 于单口瓶中倒入20ml DMF,加入38g步骤四的产物,加入碳酸钾13.8g,加入溴丙酸叔丁酯22g,室温搅拌,缓慢升温至60度,反应20h,降温,加入20ml水,移入分液漏斗,乙酸乙酯萃取;干燥,蒸干溶剂,柱层析纯化,得到37.6g目标物,收率82%;

(6) 将步骤五的产物4.58g倒入20ml TFA中,室温搅拌2h,得目标物3.65g,收率91%。

2. 如权利要求1所述的检测丙溴磷的时间分辨荧光试纸条,其特征在于所述丙溴磷半抗原的分子结构式为:



3. 如权利要求1所述的检测丙溴磷的时间分辨荧光试纸条,其特征在于所述丙溴磷时间分辨荧光微球,包括检测微球和质控微球,检测微球为表面包被有丙溴磷单克隆抗体的荧光微球,质控微球为表面包被有兔抗标记蛋白的荧光微球。

4. 如权利要求1所述的检测丙溴磷的时间分辨荧光试纸条,丙溴磷单克隆抗体是以丙溴磷半抗原-载体蛋白偶联物作为免疫原制备获得,所述免疫原的制备方法如下:

将133mg BSA溶于5ml 0.01M PBS,搅拌溶解。丙溴磷半抗原与BSA比例可在1:1~60:1的范围内调整,本申请选择在加入40.2mg丙溴磷半抗原(与BSA摩尔比为50:1),加入EDC盐酸盐10mg,室温搅拌2h。移入透析袋中透析48h。

5. 如权利要求1所述的检测丙溴磷的时间分辨荧光试纸条,所述包被原的制备方法如下:

将86mg OVA溶于5ml 0.01M PBS,搅拌溶解。丙溴磷半抗原与OVA比例可在1:1~40:1的范围内调整,本申请选择在加入32.2mg丙溴磷半抗原(与OVA摩尔比为40:1),加入EDC盐酸盐10mg,室温搅拌2h。移入透析袋中透析48h。

6. 一种制备权利要求1-5任一项所述试纸条的方法,其包括步骤:

- 1) 制备喷涂有丙溴磷单克隆抗体-时间分辨荧光标记物的样品吸收垫;
- 2) 制备具有包被有丙溴磷半抗原-载体蛋白偶联物的检测线和包被有抗兔抗体的质控线的反应膜;
- 3) 将1) 和2) 制备好的样品吸收垫、反应膜以及吸水垫组装成试纸条。

7. 一种检测苹果、玉米、黄瓜、西红柿、萝卜叶、白菜等样品中丙溴磷残留的方法,其包括步骤:

- 1) 样本前处理;
- 2) 用权利要求1-6任一项所述的试纸条进行检测;
- 3) 分析检测结果。

一种检测丙溴磷的时间分辨荧光试纸条及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种检测丙溴磷的时间分辨荧光试纸条及其应用,属于时间分辨荧光免疫分析 (TRFIA) 技术领域,用于苹果、玉米、黄瓜、西红柿、萝卜叶、白菜等样品中丙溴磷的含量检测。

背景技术

[0002] 丙溴磷,是一种有机磷杀虫剂,又名溴氯磷、多虫磷,它能够抑制蔬菜、棉花及其他农作物上的害虫,主要适用于防治棉铃虫、棉蚜、红铃虫、稻纵卷叶螟等。丙溴磷为浅黄色液体,能够与大多有机溶剂混溶,中性和微酸条件下比较稳定,碱性环境中不稳定。丙溴磷具有触杀和胃毒作用,并且作用迅速。随着该农药的应用日益广泛,必然会造成对蔬菜及其他作物的污染。因此,我国相关质检部门对该物质进行了限量规定。GB 2763-2016《食品安全国家标准食品中农药最大残留限量》规定了丙溴磷的最大残留限量:谷物(糙米)0.02mg/kg,油料和油脂(棉籽油)0.05mg/kg,蔬菜中结球甘蓝0.5mg/kg,普通白菜和萝卜叶均为5mg/kg,番茄10mg/kg,辣椒3mg/kg,萝卜1mg/kg,马铃薯和甘薯0.05mg/kg,水果中柑橘和芒果0.2mg/kg,苹果0.05mg/kg,山竹10mg/kg,调味料(干辣椒)20mg/kg。

[0003] 目前,检测丙溴磷的方法有凝胶渗透柱色谱、硅胶柱色谱、液-液萃取、气相色谱-火焰光度检测法等。仪器检测方法的精确度较高,但是仪器昂贵,需要专业的技术人员,检测步骤复杂,难以批量检测样品,不适用于基层实验室批量、快速检测样品。而免疫学检测方法操作简单、快速、灵敏,可同时检测多数样品,是理想的快速筛选手段。

发明内容

[0004] 本发明的目的是提供一种灵敏度高、操作简单、成本低、检测时间短的丙溴磷时间分辨荧光试纸条。

[0005] 本发明所提供了一种丙溴磷时间分辨荧光试纸条,该试纸条包括样品吸收垫、反应膜以及吸水垫三部分。反应膜位于中间,样品吸收垫与吸水垫分别搭接于反应膜左右两端。其中,样品吸收垫上设有加样区和微球区,微球区上载有时间分辨荧光微球;反应膜上设有检测线(T线)和质控线(C线),T线接上包被丙溴磷抗原,C线包被抗兔抗体。

[0006] 所述丙溴磷时间分辨荧光微球,包括检测微球和质控微球,检测微球为表面包被有丙溴磷单克隆抗体的荧光微球,质控微球为表面包被有兔抗标记蛋白的荧光微球。

[0007] 所述荧光微球中填充了镧系元素化合物;较优的,该镧系元素螯合物为铕螯合物;最优的,该铕螯合物可为Eu(TTA)₃/TOPO或Eu(TTA)₃/Phen。

[0008] 所述蛋白可以是牛血清Y-球蛋白(BGG)或小牛血清白蛋白(BSA)。

[0009] 所述时间分辨荧光微球粒径范围为100-1000nm。

[0010] 所述硝酸纤维素膜上,T线上包被的抗体为丙溴磷抗原,C线上包被的抗兔抗体。

[0011] 所述丙溴磷时间分辨荧光免疫定量检测试纸条底部设有塑料底板。

[0012] 所述T线接上包被丙溴磷抗原是由丙溴磷半抗原与载体蛋白偶联得到,所述载体

蛋白可为牛血清白蛋白、卵清蛋白、血蓝蛋白、甲状腺蛋白、人血清白蛋白。

[0013] 所述丙溴磷单克隆抗体是以丙溴磷半抗原-载体蛋白偶联物作为免疫原制备获得,是由丙溴磷单克隆抗体杂交瘤细胞株分泌获得;所述抗兔抗体是将兔源抗体免疫羊得到。

[0014] 所述样品吸收垫为Fusion5膜或其他功能相同的膜;所述结合物释放垫可为玻璃棉或聚酯材料;所述吸水垫为吸水垫;所述反应膜可为硝酸纤维素膜或醋酸纤维素膜。

[0015] 本发明的另一个目的是提供一种制备上述试纸条的方法,其包括步骤:

[0016] (1) 质控微球制备:

[0017] ①用生物素标记蛋白;

[0018] ②采用上述标记蛋白包被醛基修饰的荧光微球;

[0019] (2) 半抗原制备:经过一系列化学反应得到丙溴磷半抗原产物;

[0020] (3) 将丙溴磷半抗原与载体蛋白偶联,得到丙溴磷半抗原-载体蛋白偶联物;

[0021] (4) 用丙溴磷半抗原-载体蛋白偶联物免疫新西兰大白兔,将新西兰大白兔脾细胞和骨髓瘤细胞通过融合、筛选,得到丙溴磷单克隆杂交瘤细胞株;

[0022] (5) 提取新西兰大白兔IgG免疫健康山羊,得到抗兔抗体;

[0023] (6) 检测微球制备:采用丙溴磷的单克隆抗体包被醛基修饰的荧光微球;

[0024] (7) 空白大卡粘贴:将硝酸纤维素膜粘贴在塑料底板中间,Fusion5膜与吸水垫分别搭接于硝酸纤维素膜左右两端;

[0025] (8) 喷膜:将兔抗标记蛋白的荧光微球和丙溴磷单克隆抗体的荧光微球采用释放缓冲液混合稀释到一定浓度,喷到Fusion5膜的微球区;丙溴磷抗原和抗兔抗体稀释后,分别喷到硝酸纤维素膜的T线和C线位置;

[0026] (9) 干燥及切条:将上述喷好试剂的大卡烘干、切条。

[0027] 喷膜步骤中用到的释放缓冲液含有10%-20%蔗糖、3%-10%海藻糖、0.5%-1% N,0-双三甲硅基乙酰胺(BSA),0.2%-0.5%庆大霉素。

[0028] 喷膜步骤稀释后检测微球终浓度为0.5mg/mL-2mg/mL,质控微球终浓度0.05mg/mL-0.2mg/mL;T线抗原终浓度0.5mg/mL-2mg/mL,C线抗原终浓度0.5mg/mL-2mg/mL;C,T线喷膜液量为0.5 μ L/cm-1.5 μ L/cm,微球喷膜量为2 μ L/cm-8 μ L/cm。

[0029] 干燥及切条步骤中所述的烘干可在恒温烘箱或者烘房中,37 $^{\circ}$ C烘干8-12小时。

[0030] 本发明的另一个目的是提供一种应用上述试纸条检测苹果、玉米、黄瓜、西红柿、萝卜叶、白菜等样品中丙溴磷残留的方法,它包括步骤:

[0031] (1) 样品前处理;

[0032] (2) 用试纸条进行检测;

[0033] (3) 分析检测结果。

[0034] 本发明的丙溴磷时间分辨荧光试纸条采用高度特异性的抗体抗原反应及免疫层析分析技术,将丙溴磷单克隆抗体-时间分辨荧光标记物固定于Fusion5膜上,样品中的丙溴磷在流动过程中,与Fusion5膜上的丙溴磷单克隆抗体-时间分辨荧光标记物结合,形成药物-抗体-时间分辨荧光标记物。样品中的药物与反应膜检测线上的丙溴磷半抗原-载体蛋白偶联物竞争结合丙溴磷单克隆抗体-时间分辨荧光标记物,最终应用免疫层析检测仪计算待测样品液中含有的丙溴磷残留量。

[0035] 本发明的试纸条具有特异性强、灵敏度高、定量检测、成本低、操作简单、检测时间短、适合各种单位使用、储存简单、保质期长的优点。用本发明试纸条检测丙溴磷残留的方法简便、快速、直观、准确、适用范围广、成本低、易推广使用。

附图说明

[0036] 图1为丙溴磷半抗原合成路线图。

[0037] 图2为丙溴磷半抗原核磁共振氢谱图。

具体实施方式

[0038] 下面结合具体的实施例来进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明,而不用来限制本发明的范围。

[0039] 实施例1丙溴磷检测试纸条的制备

[0040] 该试纸条的制备方法主要包括以下步骤:

[0041] 1) 制备喷涂有丙溴磷单克隆抗体-时间分辨荧光标记物的样品吸收垫;

[0042] 2) 制备具有包被有丙溴磷半抗原-载体蛋白偶联物的检测线和包被有抗兔抗体的质控线的反应膜;

[0043] 3) 将1)和2)制备好的样品吸收垫、反应膜以及吸水垫组装成试纸条。

[0044] 下面分步详细叙述:

[0045] 1、丙溴磷半抗原的制备

[0046] (1) 将20ml无水乙醇倒入单口瓶中,搅拌, $\leq 0^{\circ}\text{C}$,缓慢滴加5g三氯硫磷,反应30min,加入20ml水,移入分液漏斗,萃取,分层。取下层有机相,无水硫酸钠干燥,备用。

[0047] (2) 将20ml无水乙醇倒入单口瓶中,搅拌, $\leq 0^{\circ}\text{C}$,加入氢氧化钾5.6g,滴加步骤一的产物15g,反应30min,加入20ml水,移入分液漏斗,萃取,分层,取下层有机相,无水硫酸钠干燥,备用。

[0048] (3) 将20ml无水乙醇倒入单口瓶中,搅拌, $\leq 0^{\circ}\text{C}$,加入氢氧化钾5.6g,4-溴-2氯苯酚20g,搅拌溶解后,滴加步骤二的产物18g,反应5h。加入20ml水,移入分液漏斗,分层,乙酸乙酯萃取,干燥。蒸干溶剂,柱层析纯化,得到27.1g目标物,收率76%。

[0049] (4) 于单口瓶中倒入20ml DMF,加入硫化钾7.2g,室温搅拌,加入步骤三的产物30g。缓慢升高温度至60度,反应10h。加入20ml水,移入分液漏斗,乙酸乙酯萃取,干燥,蒸干溶剂,柱层析纯化,得到29.6g目标物,收率77%。

[0050] (5) 于单口瓶中倒入20ml DMF,加入38g步骤四的产物,加入碳酸钾13.8g,加入溴丙酸叔丁酯22g,室温搅拌,缓慢升温至60度,反应20h,降温,加入20ml水,移入分液漏斗,乙酸乙酯萃取。干燥,蒸干溶剂,柱层析纯化,得到37.6g目标物,收率82%。

[0051] (6) 将步骤五的产物4.58g倒入20ml TFA中,室温搅拌2h,得目标物3.65g,收率91%。

[0052] 由丙溴磷半抗原核磁共振氢谱图可知,12.7的羧基峰,7-8的芳香环上氢的峰,以及1.2的乙基上的甲基的峰存在,说明三个部分都链接上了,目标半抗原合成成功。

[0053] 该方法制备的半抗原并没有改变丙溴磷的结构,而是引入了羧基,使得半抗原保留了全部丙溴磷的结构,更促进了机体免疫应答产生针对丙溴磷的抗体。

[0054] 2、免疫原的制备

[0055] 将133mg BSA溶于5ml 0.01M PBS,搅拌溶解。丙溴磷半抗原与BSA比例可在1:1~60:1的范围内调整,本申请选择在加入40.2mg丙溴磷半抗原(与BSA摩尔比为50:1),加入EDC盐酸盐10mg,室温搅拌2h。移入透析袋中透析48h。该比例下得到丙溴磷免疫原可以在抗原表面暴露出更多的丙溴磷半抗原,从而更好地引起针对丙溴磷的免疫应答。

[0056] 3、包被原的制备

[0057] 将86mg OVA溶于5ml 0.01M PBS,搅拌溶解。丙溴磷半抗原与OVA比例可在1:1~40:1的范围内调整,本申请选择在加入32.2mg丙溴磷半抗原(与OVA摩尔比为40:1),加入EDC盐酸盐10mg,室温搅拌2h。移入透析袋中透析48h。该比例下得到丙溴磷包被原在与样品中抗原竞争抗体时,能够充分与抗体反应,从而避免假阳性,也不会因为包被原暴露位点过多,形成空间位阻,从而避免假阴性。

[0058] 4、丙溴磷单克隆抗体的制备

[0059] 将免疫原注入Balb/c新西兰大白兔体内,产生抗血清。取免疫Balb/c新西兰大白兔脾细胞与SP2/0骨髓瘤细胞融合,筛选阳性孔,得到稳定分泌单克隆抗体的杂交瘤细胞株。将杂交瘤细胞用冻存液制成细胞悬液,备用。将杂交瘤细胞置于细胞培养基中,在37℃条件下进行培养,用辛酸-饱和硫酸铵法将得到的培养液进行纯化,得到单克隆抗体,-20℃保存。

[0060] 所述细胞培养基为向RPMI1640培养基中添加小牛血清和碳酸氢钠,使小牛血清在细胞培养基中的终浓度为20%(质量分数),碳酸氢钠在细胞培养基中的终浓度为0.2%(质量分数);所述细胞培养基的pH为7.4。以羊作为免疫动物,以兔源抗体为免疫原对无病原体羊进行免疫,得到抗兔抗体。

[0061] 5、微球溶液、检测线(T线)溶液以及质控线(C线)溶液的制备

[0062] (1)微球溶液的配置

[0063] 用释放缓冲液(含有20%蔗糖、5%海藻糖、0.5%BSA,0.2%庆大霉素)将质控微球和检测微球配制成时间分辨荧光微球混合液,质控微球终浓度为0.1mg/mL-0.3mg/mL,检测微球终浓度为0.8mg/mL-1.2mg/mL。

[0064] (2)检测线(T线)溶液的配制

[0065] 用0.01M PB溶液将丙溴磷抗原复合物稀释成0.4mg/mL-0.6mg/mL。

[0066] (3)质控线(C线)溶液的配制

[0067] 用0.01M PB溶液将链霉亲和素稀释成0.4mg/mL-0.6mg/mL。

[0068] 6、试纸条的制备

[0069] 反应膜位于中间,样品吸收垫与吸水纸分别搭接于反应膜左右两端,粘贴在带有背胶的塑料底板上。C,T线喷膜液量为0.6μL/cm-1.2μL/cm,微球溶液喷膜量为2μL/cm-6μL/cm。将喷好试剂的丙溴磷大卡在恒温烘箱中37℃烘干12小时。将烘干的丙溴磷大卡切割成3mm-5mm宽度的纸条,即得到丙溴磷试纸条。

[0070] 实施例2样品中丙溴磷残留的检测

[0071] 1、样品处理

[0072] (1)苹果前处理方法。

[0073] 用均质器均质样品;称取(2.00±0.05)g均质后的苹果样品到10mL聚苯乙烯离心

管中,分别加入4mL 0.01M PBS,2mL甲醇,用涡旋仪涡动5min;室温下4000r/min离心5min;取上清液200 μ L,加入到800 μ L 0.01M PBS中,充分混匀,取其50 μ L用于分析。

[0074] (2) 玉米前处理方法。

[0075] 用均质器均质样品;称取(2.00 \pm 0.05)g均质后的玉米样品到10mL聚苯乙烯离心管中,分别加入4mL 10%氯化钠,2mL甲醇,用涡旋仪振动5min;室温下4000r/min离心5min;取上清液100 μ L,加入到900 μ L0.01M PBS中,充分混匀,取其50 μ L用于分析。

[0076] (3) 蔬菜前处理方法。

[0077] 用均质器均质样品;称取(1.00 \pm 0.05)g均质后的蔬菜样品到10mL聚苯乙烯离心管中,加入2mL 0.1mol/L硫酸,再加入5mL甲醇,用涡旋仪涡动5min;室温下1000r/min离心5min;取上清液200 μ L,加入到800 μ L 0.01M PBS中,充分混匀,取50 μ L用于分析。

[0078] 2、用试纸条进行检测

[0079] (1) 将试纸条和提取液恢复至室温。

[0080] (2) 用移液器准确吸取60 μ L待检样品,(取样时注意不要吸入气泡)垂直缓慢滴加于加样孔(S)中,加样后开始计时,加样后8分钟读取结果。

[0081] (3) 将试剂卡插入免疫层析检测仪的承载器中,按检测键,仪器将自动对测试卡进行扫描。

[0082] (4) 从免疫层析检测仪的显示屏幕上读取检测结果。

[0083] 3、分析检测结果

[0084] 检测限范围:1ng/ml-30ng/ml。

[0085] 实施例3样品检测实例

[0086] 1、检测限试验

[0087] 取空白苹果/玉米/黄瓜/西红柿/萝卜叶/白菜等样品,分别添加丙溴磷至终浓度为0.5ng/ml、1ng/ml、5ng/ml、10ng/ml、15ng/ml、25ng/ml、30ng/ml、35ng/ml,取试纸条进行检测,每个样品重复测定三次。

[0088] 用试纸条检测苹果/玉米/黄瓜/西红柿/萝卜叶/白菜等样品时,根据试纸条显示结果确定检测限范围,表明本试纸条检测限范围:1ng/ml-30ng/ml。

[0089] 2、样本精密度和准确度试验

[0090] 以回收率作为准确度评价指标,重复测定某一浓度样品的检测结果相对标准偏差(RSD%)作为精密度评价指标。计算公式为:回收率(%)=实际测定值/理论值 \times 100%,其中理论值为样品的添加浓度;相对标准偏差RSD%=SD/X \times 100%,其中SD为标准偏差,X为测定数据的平均值。

[0091] 按1ng/ml、5ng/ml、10ng/ml、20ng/ml、30ng/ml五个浓度丙溴磷分别对苹果/玉米/黄瓜/西红柿/萝卜叶/白菜等样品进行添加回收测定,每个样品做4个平行,用三批不同试剂进行测定,计算样品的平均回收率及精密度结果见下表。

[0092] 表1样品精密度及准确度试验

[0093]

丙溴磷	添加浓度(ng/ml)	回收率(n=4)%	批内RSD(n=4)%	批间RSD(n=3)%
苹果	1	98.0	9.4	10.6
	5	95.8	8.9	13.8
	10	108.2	8.9	12.4
	20	105.0	8.5	14.1
	30	108.4	9.1	10.7

[0094]

玉米	1	94.9	8.6	12.2
	5	107.7	8.2	10.7
	10	91.2	8.0	13.9
	20	103.2	8.8	11.7
	30	105.2	8.1	11.8
黄瓜	1	108.1	9.5	12.0
	5	98.8	8.6	10.4
	10	95.7	7.9	12.8
	20	104.0	8.4	14.1
	30	96.7	9.2	13.0
西红柿	1	104.5	8.4	10.3
	5	91.6	8.2	10.3
	10	93.9	7.9	12.6
	20	91.4	8.9	12.7
	30	96.8	8.5	11.1
萝卜叶	1	99.2	9.0	13.3
	5	99.6	8.2	10.6
	10	97.1	8.4	12.2
	20	108.3	8.8	12.9
	30	90.9	8.4	12.9
白菜	1	94.4	8.8	11.7
	5	90.3	7.8	13.5
	10	107.2	8.6	12.5
	20	92.0	8.8	13.9

[0095]		30	94.9	9.5	11.5
--------	--	----	------	-----	------

[0096] 以1ng/ml、5ng/ml、10ng/ml、20ng/ml、30ng/ml五个浓度的丙溴磷分别对苹果/玉米/黄瓜/西红柿/萝卜叶/白菜等样品进行添加,平均回收率在90.3%~108.4%之间;批内、批间相对标准偏差均小于15%。

[0097] 3、交叉反应率试验

[0098] 选择与丙溴磷具有类似结构和类似功能的药物进行时间分辨荧光试纸条测定,通过各种药物的标准曲线分别得到其50%抑制浓度,用下式计算试剂盒对其它药物的交叉反应率。

$$[0099] \quad \text{交叉反应率}(\%) = \frac{\text{引起 50\%抑制的丙溴磷浓度}}{\text{引起 50\%抑制的丙溴磷类似物浓度}} \times 100\%$$

[0100] 表2交叉反应率试验

[0101]

药物名称	交叉反应率(%)
丙溴磷	100
毒死蜱	<1
二嗪农	<1
氧化乐果	<1
乐果	<1
乙基对硫磷	<1
辛硫磷	<1
甲胺磷	<1
马拉硫磷	<1
水胺硫磷	<1
稻丰散	<1
甲基对硫磷	<1

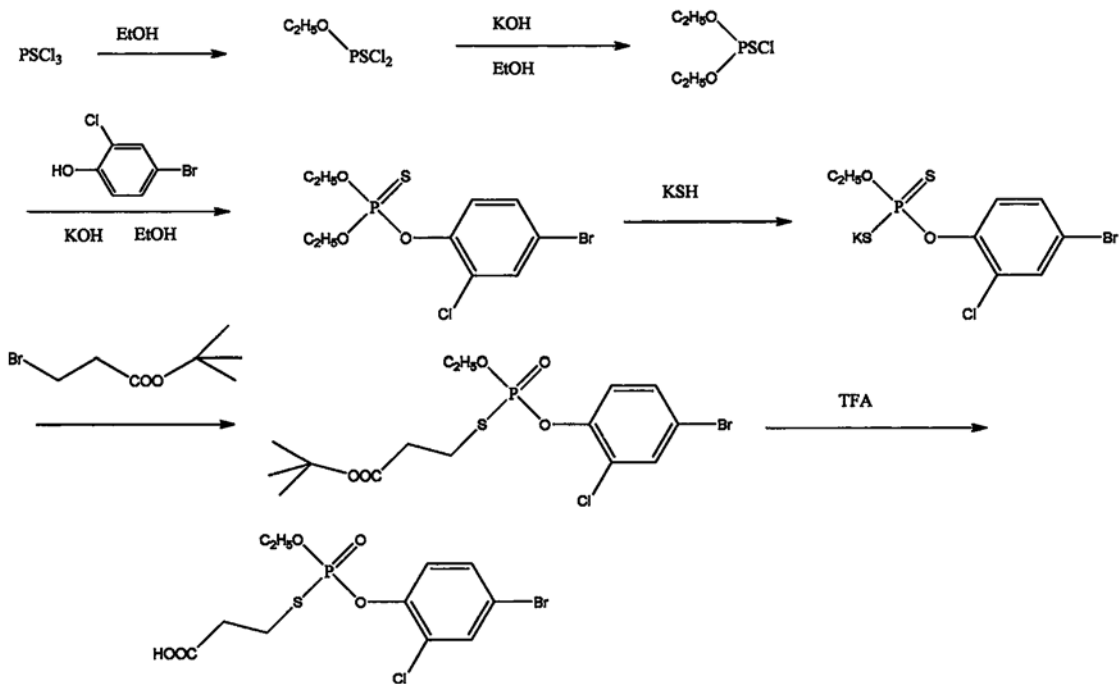


图1

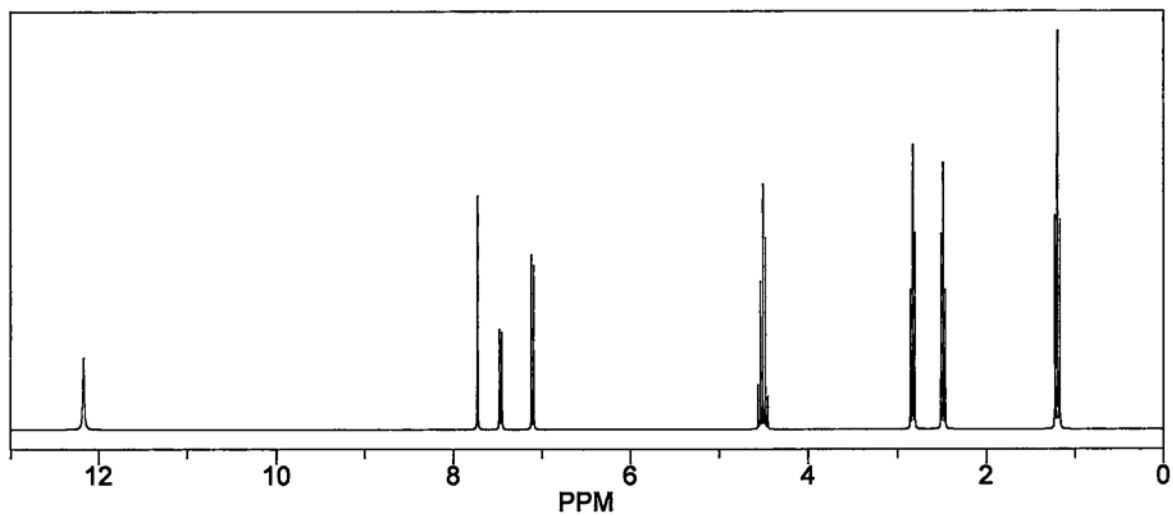


图2

专利名称(译)	一种检测丙溴磷的时间分辨荧光试纸条及其应用		
公开(公告)号	CN107389927A	公开(公告)日	2017-11-24
申请号	CN201710753493.X	申请日	2017-08-29
[标]发明人	吴鹏 姚承志 王新华		
发明人	吴鹏 姚承志 王新华		
IPC分类号	G01N33/558 G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/558 G01N33/533		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种检测丙溴磷的时间分辨荧光试纸条及其应用。试纸条包括样品吸收垫、反应膜以及吸水垫，反应膜位于中间，样品吸收垫与吸水垫分别搭接于反应膜左右两端；样品吸收垫上设有加样区和微球区，微球区上载有丙溴磷时间分辨荧光微球；反应膜上设有检测线(T线)和质控线(C线)，T线接上包被丙溴磷抗原(包被原)，C线包被抗兔抗体。本发明还提供了一种应用上述丙溴磷试纸条检测苹果、玉米、黄瓜、西红柿、萝卜叶、白菜等样品中丙溴磷残留的方法。本发明所提供的试纸条具有操作简单、灵敏度高、定量检测、快速检测、成本低等特点，适合大量样本的筛查和现场监控。

