



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110275013 A

(43)申请公布日 2019.09.24

(21)申请号 201910430806.7

G01N 33/558(2006.01)

(22)申请日 2019.05.22

(71)申请人 克拉玛依市市场监督管理局

地址 834099 新疆维吾尔自治区克拉玛依市克拉玛依区天山路76号

(72)发明人 郭燕 李鹏 田杰 刘荣荣 陆武
张潇耀 陈思敏
曼古努尔·尼合买提 张艳
包文雯

(74)专利代理机构 西安亚信智佳知识产权代理
事务所(普通合伙) 61241

代理人 段国刚

(51)Int.Cl.

G01N 33/532(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

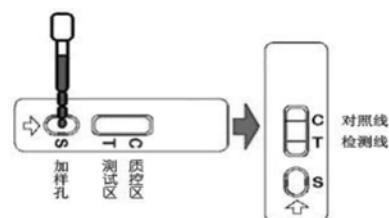
权利要求书1页 说明书7页 附图5页

(54)发明名称

适用于动物源性食品的西马特罗胶体金快速检测卡及其制备方法

(57)摘要

本发明旨在提供一种适用动物源性食品的西马特罗胶体金快速检测卡及其制备方法。制备获得的西马特罗胶体金快速检测卡具有灵敏度高、特异性强、稳定性高、操作简单、便于携带等特点,不需要复杂的仪器设备和专业的技术人员,其分析结果易于判断,短时间内可直接用肉眼观察到检测结果,广泛适用于快速食品检测等现场检测分析,在西马特罗监测领域具有广泛的实用性和开发价值。



1. 一种适用动物源性食品的西马特罗胶体金快速检测卡,其特征在于,包括人工制备的西马特罗单克隆抗体和PC-2羊抗鼠抗体成分的胶体金快速检测卡。

2. 如权利要求1所述的一种适用动物源性食品的西马特罗胶体金快速检测卡,其特征在于,所述检测卡为检测西马特罗成分,检测卡包括:包括含有胶体金标记的西马特罗单克隆抗体溶液喷涂的金标垫、绘有T线和C线的NC膜、样品垫以及吸水垫,进行组装。

3. 一种适用动物源性食品的西马特罗胶体金快速检测卡的制备方法,其特征在于,所述胶体金快速检测卡的制备具体过程为:

(1) 金标垫的制备:用1.35%红色金颗粒标记取1mL胶体金溶液于2mL试管中,加入0.2M K_2CO_3 2.0 μ L/mL,混匀;加入抗体原液1.0 μ L,混匀后静置5min;加入含10% BSA的封闭液10 μ L/mL,混匀后静置5min;4 $^{\circ}C$,12000r/min离心,5min;1/20体积的复溶液复溶,喷涂于已封闭好的玻璃纤维素膜上,迅速转移至冷冻干燥机内进行冷冻干燥,制作成为金标垫;

(2) C液和T液的制备:用包被液将抗原稀释,将PC-2羊抗鼠250倍稀释制得C液,将制得的人工抗原50倍稀释获得T液;

(3) NC膜的包被:将制备的C液、T液分别在NC膜上划线,从左至右顺序依次为T液和C液,置37 $^{\circ}C$ 干燥20~40min,干燥后浸没入封闭液封闭,置于37 $^{\circ}C$ 恒温箱中干燥备用;

(4) 检测卡的组装:将制备好的样品垫、金标垫、NC膜以及吸水垫裁剪为宽度相同的长方形,依次进行重叠组装,并设置加样孔,组装成检测西马特罗的检测卡。

4. 如权利要求3所述的一种适用动物源性食品的西马特罗胶体金快速检测卡的制备方法,其特征在于,所述的金标垫制备过程中加入0.2M K_2CO_3 的量为2.0 μ L/mL。

5. 如权利要求3所述的一种适用动物源性食品的西马特罗胶体金快速检测卡的制备方法,其特征在于,所述的金标垫制备过程中加入抗体原液的量为1.0 μ L。

6. 如权利要求3所述的一种适用动物源性食品的西马特罗胶体金快速检测卡的制备方法,其特征在于,所述T液,用用制备获得的人工西马特罗抗体进行50倍稀释的溶液。

7. 如权利要求3所述的一种适用动物源性食品的西马特罗胶体金快速检测卡的制备方法,其特征在于,所述C液,用用PC-2羊抗鼠稀释250倍获得的溶液。

8. 如权利要求1一种适用动物源性食品的西马特罗胶体金快速检测卡的应用,具体包括以下步骤:

(1) 样品处理:将待固态检样品于均质器中均质1min,10000rpm;称取 5.0 ± 0.05 g匀浆好的组织样本至10mL聚苯乙烯离心管中,扣上管盖,不宜太紧;放入80 $^{\circ}C$ 水浴锅中水浴10min后取出冷却至室温,待检;液态待检样品用干燥、洁净的离心管或适当容器采集50mL左右,如果不立即检测,在2-8 $^{\circ}C$ 冷藏可保存24小时,注意避免腐败造成失效或污染;

(2) 检测:使用前将检测卡和待检样本溶液恢复至室温,从原包装袋中取出检测卡,将检测卡平放,用滴管吸取待检样品溶液,垂直滴加3滴于加样孔中,加样后开始计时3-5分钟观察T线及C线的出现情况;

(3) 检测结果:检测卡中C线出现代表结果有效;检测卡中T线及未出现代表则表示样品中西马特罗浓度高于0.01ppb;检测卡中T线与C线同时出现,说明待检样品中不含有西马特罗或其浓度低于0.01ppb,纸条中C线未出现,代表结果无效。

适用于动物源性食品的西马特罗胶体金快速检测卡及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明主要涉及免疫检测的技术领域,具体地说,本发明涉及一种西马特罗胶体金快速检测卡及其制备方法的技术领域。

背景技术

[0002] 西马特罗(cimaterol,CIM)又名喜马特罗、塞曼特罗,是美国氰胺公司产品,属 β 2型兴奋剂,研究比较广泛,是继莱克多巴胺、克伦特罗和沙丁胺醇之后的新一代 β -肾上腺素受体类激动剂。较大剂量地使用西马特罗,还可以减少胴体的脂肪含量,提高瘦肉率,促进家畜生长、达到改善肉质的效果,因此被作为饲料添加剂非法用于动物源性食品生产中。而长期使用会造成西马特罗在可食性动物组织内蓄积残留,引起食用者中毒。特别是对冠心病高血压患者、老年人容易产生危害,严重的甚至有生命危险。1990年前后欧美等发达国家相继全面禁止使用 β -兴奋剂类促生长药物。中华人民共和国农业部公告第193号文件规定西马特罗同克伦特罗、沙丁胺醇等一起被列入禁用清单,禁止在畜禽生产和食品动物中添加。

[0003] 目前,国内外检测莱克多巴胺和西马特罗的方法主要有。在食品安全检测中,往往先用ELISA进行初筛后,再对阳性样本用HPLC 或GC-MS、LC-MS进行确证。但是上述方法所用的仪器设备昂贵复杂、成本高,同时需要对操作人员进行特殊培训,且实验结果不能立即显示,因此不适用于商检、防疫、畜牧生产者对怀疑对象的快速在线检测和监控。

[0004] 西马特罗作为新型“瘦肉精”物质,检测手段滞后,尤其是快速检测产品缺乏,目前已建立的检测西马特罗的方法有高压液相色谱法(HPLC)、液相色谱-质谱联用法(LC-MS)、超高效液相色谱-串联质谱分析方法(μ PLC-MS/MS)、气相色谱-质谱联用法(GC-MS)、高效毛细管区带电泳法(CZE)、酶联免疫吸附法(ELISA)等。这些方法操作需要对操作人员进行特殊培训,且实验结果不能立即显示,因此不适用于商检生产者对怀疑对象的快速在线检测和监控。因此急需适合批量、快速筛选的快速检测方法,以满足政府和企业的检测需要。

[0005] 胶体金检测卡是以胶体金作为免疫层析的指示物,其原理是以条状纤维层析材料为固相,通过毛细作用使样品溶液在层析条上泳动,并同时使样品中的待测物与层析材料上针对待测物的受体(如抗体或抗原)发生高特异高亲和性的免疫反应,层析过程中免疫复合物被富集或截留在层析材料的一定区域(检测带),通过直接运用可目测的胶体金标记物而得到直观的实验结果。

发明内容

[0006] 针对目前国内对于西马特罗的检测尚无灵敏度高、特异性强、稳定性高、操作简单、便于携带的检测方法的技术问题,本发明旨在提供西马特罗胶体金快速检测卡及其制备方法,通过制备西马特罗单克隆抗体,制备检测西马特罗的检测卡,获得一种西马特罗胶

体金快速检测卡,该检测卡灵敏度高、特异性强、稳定性高、操作简单、便于携带,在西马特罗监测领域具有广泛的实用性和开发价值。

[0007] 本发明通过以下技术方案实现的:

[0008] 本发明提供一种适用动物源性食品的西马特罗胶体金快速检测卡,包括含有胶体金标记的西马特罗单克隆抗体溶液喷涂的金标垫、绘有T线和C线的NC膜、样品垫以及吸水垫,进行组装。其中,T 线使用1 μ L/mL人工制备的西马特罗单克隆抗体T液进行绘制,C线使用250倍稀释的PC-2羊抗鼠的C液绘制。

[0009] 本发明中,所述一种适用动物源性食品的西马特罗胶体金快速检测卡的具体制备过程为:

[0010] (1) 金标垫的制备:用1.35%红色金颗粒标记取1mL胶体金溶液于2mL试管中,加入0.2M K_2CO_3 2.0 μ L/mL,混匀;加入抗体原液 1.0 μ L,混匀后静置5min;加入含10%BSA的封闭液10 μ L/mL,混匀后静置5min;4 $^{\circ}C$,12000r/min离心,5min;1/20体积的复溶液复溶,喷涂于已封闭好的玻璃纤维素膜上,迅速转移至冷冻干燥机内进行冷冻干燥,制作成为金标垫;

[0011] (2) C液和T液的制备:用包被液将抗原稀释,将PC-2羊抗鼠250 倍稀释制得C液,将制得的人工抗原50倍稀释获得T液;

[0012] (3) NC膜的包被:将制备的C液、T液分别在NC膜上划线,从左至右顺序依次为T液和C液,置37 $^{\circ}C$ 干燥20~40min,干燥后浸没入封闭液封闭,置于37 $^{\circ}C$ 恒温箱中干燥备用;

[0013] (4) 检测卡的组装:将制备好的样品垫、金标垫、NC膜以及吸水垫裁剪为宽度相同的长方形,依次进行重叠组装,并设置加样孔,组装成检测西马特罗的检测卡。

[0014] 本发明中,所述的金标垫制备过程中加入0.2M K_2CO_3 的量为 2.0 μ L/mL。

[0015] 本发明中,所述的金标垫制备过程中加入抗体原液的量为1.0 μ L。

[0016] 本发明中,所述T液,用制备获得的人工西马特罗抗体进行50倍稀释的溶液。

[0017] 本发明中,所述C液,用PC-2羊抗鼠稀释250倍获得的溶液。

[0018] 本发明中,所述检测卡为检测西马特罗含量,检测卡包括,使用制备获得的西马特罗单克隆抗体溶液喷涂的金标垫、使用西马特罗单克隆抗体的T液绘制的T线和以及使用PC-2羊抗鼠的C液绘制C线的NC膜、样品垫以及吸水垫,进行组装。

[0019] 本发明中,所述西马特罗的单克隆抗体制备过程为:

[0020] 选取约10只Balb/c小鼠作为免疫动物,免疫原为西马特罗半抗原-BSA,三至四次皮下多点注射,最后一次为腹腔加强免疫;利用SP2/0 小鼠骨髓瘤细胞与优选小鼠的脾细胞进行细胞融合,融合后经培养、观察、检测及阴阳性对照试验获得理想的细胞株及抗体;对所获得的特异阳性细胞株均进行小鼠腹水(抗体)制备,经腹水检测,不同的细胞株产生的腹水效价等方面存在一定的差异,最高抗体效价可达到 1:27W;将获得单克隆抗体,冻干备用。

[0021] 本发明中,所述的检测用包被原为西马特罗半抗原-OVA。

[0022] 另外,本发明提供一种适用动物源性食品的西马特罗胶体金快速检测卡的应用,具体包括以下步骤:

[0023] (1) 样品处理:将待固态检样品于均质器中均质1min, 10000rpm;称取5.0 $\pm$ 0.05g匀浆好的组织样本至10mL聚苯乙烯离心管中,扣上管盖,不宜太紧;放入80 $^{\circ}C$ 水浴锅中水浴10min后取出冷却至室温,待检;液态待检样品用干燥、洁净的离心管或适当容器采集 50mL

左右,如果不立即检测,在2-8℃冷藏可保存24小时,注意避免腐败造成失效或污染;

[0024] (2) 检测:使用前将检测卡和待检样本溶液恢复至室温,从原包装袋中取出检测卡,将检测卡平放,用滴管吸取待检样品溶液,垂直滴加3滴于加样孔中,加样后开始计时3-5分钟观察T线及C线的出现情况;

[0025] (3) 检测结果:检测卡中C线出现代表结果有效;检测卡中T线及未出现代表则表示样品中 β -兴奋剂西马特罗浓度高于0.01ppb;检测卡中T线与C线同时出现,说明待检样品中不含有 β -兴奋剂西马特罗或其浓度低于0.01ppb,纸条中C线未出现,代表结果无效。

[0026] 通过实施本发明的技术方案,可以达到以下有益效果:

[0027] 本发明提供一种适用动物源性食品的西马特罗胶体金快速检测卡及其制备方法,基于免疫学的检测方法,通过制备西马特罗单克隆抗体,并分制备检测西马特罗的检测卡,获得一种适用动物源性食品的西马特罗胶体金快速检测卡,该检测卡能够快速、便捷的进行食品中西马特罗的检测,且最好抗体效价达到1:27万,灵敏度达到0.1ppb,能够满足日常生产加工、快速检测的需要。

附图说明

[0028] 图1显示为检测卡组装示意图。

[0029] 图2显示为人工制备单克隆抗体显色效果鉴定图。

[0030] 图3显示为人工制备单克隆抗体纯化效果鉴定图。

[0031] 图4显示为胶体金快速检测卡PH的优化效果鉴定图。

[0032] 图5显示为抗体标记量的优化效果鉴定图。

[0033] 图6显示为西马特罗胶体金快速检测卡样本模拟检测效果图。

[0034] 图7显示为西马特罗胶体金快速检测卡检测结果判定图。

具体实施方式

[0035] 下面,举实施例说明本发明,但是,本发明并不限于下述的实施例。

[0036] 采用的主要试剂:玻璃纤维素膜购自上海金标生物科技有限公司,NC膜(硝酸纤维素膜)购自上海金标生物科技有限公司;雌性 Balb/c小鼠购自镇江生物有限公司;羊抗鼠IgG购自SIGMA公司、K₂CO₃购自SIGMA公司。

[0037] 采用的主要的仪器设备:Eppendorf台式低温高速离心机, AKTApure全自动蛋白纯化仪,AL104电子天平,BRANSON超声仪,分光光度计。

[0038] 本发明采用的试剂和设备均可通过公共渠道购买或定制。

[0039] 本发明中选用的所有材料、试剂和仪器都为本领域熟知的,但不限制本发明的实施,其他本领域熟知的一些试剂和设备都可适用于本发明以下实施方式的实施。

[0040] 实施例一:适用动物源性食品的西马特罗单克隆抗体制备

[0041] (1) 西马特罗单克隆抗体制备:

[0042] 选取周龄相同的10只Balb/c小鼠作为免疫动物,免疫原为西马特罗半抗原-BSA,免疫剂量:0.2mg次/只,三至四次皮下多点注射及腹腔注射免疫小鼠,具体免疫方式如表1所示。

[0043] 表1:西马特罗单克隆抗体制备免疫程序

[0044]

流程名称	时间
免疫前采血	T=-4天
第一次免疫	T=0天
第二次免疫	T=14天
第一次采血检测	T=21天
第三次免疫	T=28天
第二次采血检测	T=35天
加免	T=42天
融合	T=终免+4天

[0045] 第3次采血检测后,优选10只小鼠中的2只最优小鼠用于融合,检测结果如表2所示。

[0046] 表2:西马特罗单克隆抗体制备免疫结果检测

[0047]	采血次数	鼠编号	抗体效价	标准品浓度	OD 值
	第一次采血	3-2	1:1×10 ⁵	10ng/mL	1.121
		3-4	1:1×10 ⁵	10ng/mL	0.750
	第二次采血	3-2	1:1×10 ⁵	10ng/mL	1.121
		3-4	1:1×10 ⁵	10ng/mL	0.750
	第三次采血	3-2	1:1×10 ⁵	10ng/mL	2.007
		3-4	1:1×10 ⁵	10ng/mL	1.951

[0048] 利用SP2/0小鼠骨髓瘤细胞与优选小鼠的脾细胞进行细胞融合,融合后经培养、观察、检测及阴阳性对照试验。从后期筛选细胞株情况看,从以上3-2小鼠获得理想的细胞株及抗体。检测用包被原:西马特罗半抗原-OVA经有限稀释法的一次、二次克隆及上清检测,共得到6株特异性阳性细胞株,具体实验结果如表3所示。

[0049] 表3:西马特罗单克隆抗体制备融合结果检测

[0050]

代号	细胞株编号	稀释倍数	标准品浓度	OD值
101	106-B1	250	1ng/mL	2.107
102	106-D1	450	1ng/mL	1.223
201	106-F1-H3	260	0.1ng/mL	2.386
202	106-F1-H8	260	0.1ng/mL	1.344
301	1E6-E5-H2	260	0.1ng/mL	2.078
302	1B6-H5-F9	260	0.1ng/mL	1.739

[0051] (2) 西马特罗单克隆抗体效价检测:

[0052] 用2μg/mL西马特罗抗体包被酶标板,50μL/孔,4℃过夜或37℃包被2~4h。倾去包被液,用PBST洗涤3~5次后,加入0.4%鱼皮明胶封闭,200μL/孔,37℃,1~3h。弃去封闭液,

加入PBST洗涤3~5次后,加入自1000倍(母液浓度为1mg/mL)开始倍比稀释纯化抗体,空白对照为PBS,50~100μL/孔,37℃孵育1~3h。PBST人工洗板3次后,加入1:5000稀释的碱性磷酸酶标记的山羊抗小鼠IgG二抗,50μL/孔,37℃孵育1~3h。PBST人工洗板5次后,加入显色底物pNPP,50μL/孔,37℃显色0.5~1h。测定波长405nm下的吸光度。

[0053] 对所获得的特异阳性细胞株均进行小鼠腹水(抗体)制备,经腹水检测,不同的细胞株产生的腹水效价等方面存在一定的差异。6株细胞株共获得15个腹水样品。最高抗体效价可达到1:27W。具体检测结果如表4所示。

[0054] 表4:西马特罗单克隆抗体制备抗体效价结果检测

[0055]

编号	细胞株	标准品浓度	抗体效价	OD值
MC-3	102	0.1ng/mL	1:3W	1.983
MC-4	101	0.1ng/mL	1:27W	1.611
MC-5	101	0.1ng/mL	1:27W	1.066
MC-8	102	0.1ng/mL	1:3W	1.733
MC-10	102	0.1ng/mL	1:3W	1.928
MC-13	201	0.1ng/mL	1:27W	1.875
MC-19	102	0.1ng/mL	1:27W	1.512
MC-20	201	0.1ng/mL	1:27W	2.107
MC-21	202	0.1ng/mL	1:9W	1.879
MC-22	202	0.1ng/mL	1:9W	1.680
MC-23	301	0.1ng/mL	1:3W	1.112
MC-24	301	0.1ng/mL	1:27W	1.267
MC-25	302	0.1ng/mL	1:27W	1.375
MC-26	302	0.1ng/mL	1:27W	1.682
MC-28	201	0.1ng/mL	1:27W	2.101

[0056] 实施例二:适用动物源性食品的胶体金快速检测卡的制备

[0057] (1) 金标垫的制备

[0058] 用1.35%红色金颗粒标记取1mL胶体金溶液于2mL试管中,加入 0.2M K_2CO_3 2.0μL/mL,混匀;加入抗体原液1.0μL,混匀后静置5min;加入封闭液10μL/mL (10%BSA),混匀后静置5min;4℃,12000r/min 离心,5min;1/20体积的复溶液复溶,喷涂于已封闭好的玻璃纤维素膜上,迅速转移至冷冻干燥机内进行冷冻干燥,制作成为金标垫。

[0059] (2) 样品垫和吸水垫的制备

[0060] 样品垫为玻璃纤维素膜浸没入封闭液(含有2~3%牛血清白蛋白的0.01mol/L磷酸缓冲液)进行封闭,37℃干燥备用。吸水垫为吸水性能较好的吸水滤纸材料。

[0061] (3) 硝酸纤维素膜(NC膜)的包被

[0062] 用包被液将制备的人工西马特罗抗体稀释50倍为作为T液,PC-2 羊抗鼠单克隆抗体稀释250倍作为C液。将制备的C液及T液分别在NC 膜上划线,从左至右顺序依次为T液和C液,置37℃干燥20~40min,干燥后浸没入封闭液封闭,置于37℃恒温箱中干燥备用。

[0063] (4) 检测卡的组装

[0064] 将制备好的样品垫、金标垫、NC膜以及吸水垫裁剪为宽度相同的长方形,并按附图1所示进行重叠组装,把人工抗原用包被液50倍稀释后用移液器点1 μ L于空白NC膜上,背板一端贴上吸水纸,另一端贴上处理后的金标垫与样品垫,辅料之间相互连接,两端均压NC膜1-2mm,切成3.5mm宽的条子,组装成检测西马特罗含量的检测卡。

[0065] 实施例三:适用动物源性食品的胶体金快速检测卡的调试

[0066] 基于实施例一至实施例二中所提供的方案,对胶体金快速检测卡进行调试。具体过程如下:

[0067] (1) 人工制备单克隆抗体显色效果鉴定

[0068] 用人工抗原筛抗体,每个细胞株取一支原料进行检测,检测结果如附图2所示,结果显示MC-20与抗原结合显色效果好。

[0069] (2) 人工制备单克隆抗体纯化效果鉴定

[0070] 对与MC-20同一细胞株的抗体腹水MC-13/MC-20/MC-28进行纯化后得到MC-13-CT、MC-20-CT、MC-28-CT三支单抗,重新与抗原配对。检测结果如附图3所示,结果显示相同标记条件下三只抗体中 MC-28-CT的整体显色情况稍优于其他两支抗体。故最终确定配对原料为抗原与抗体MC-28-CT。

[0071] (3) 胶体金快速检测卡PH的优化

[0072] 用1.35%的红色金颗粒标记,0.2mol/L的K₂CO₃分别加 1.5/2.0/2.5/3.0 μ L/mL,抗体标记量为5 μ L/mL,每个条件标记1mL, 10%BSA封闭,复溶液复溶至100 μ L,备用。检测结果如附图4所示,结果显示碳酸钾加2 μ L/mL时效价最好。

[0073] (4) 抗体标记量的优化

[0074] 在上述标记条件下,抗体标记量调整为0.5/1.0/1.5/2.0/2.5 μ L/mL,检测结果如附图5所示,结果显示抗体标记量在1 μ L/mL时显色最好。

[0075] (5) 西马特罗胶体金快速检测卡样本模拟检测

[0076] 通过使用获得的西马特罗胶体金快速检测卡对含有西马特罗的样品进行检测,检测结果如附图6所示,检测结果显示本发明所获得的西马特罗胶体金快速检测卡灵敏度达到0.1ppb,通过调试产品达到检测需求。

[0077] 实施例四:适用动物源性食品胶体金快速检测卡快速检测西马特罗

[0078] 通过实施例一至实施例五的试验基础上,本发明进一步提供胶体金快速检测卡快速检测西马特罗的方法,即本发明进一步的提供一种检测西马特罗的胶体金快速检测卡的应用,具体包括以下步骤:

[0079] (1) 样品处理:将待固态检样品于均质器中均质1min,10000rpm;称取5.0 $\pm$ 0.05g匀浆好的组织样本至10mL聚苯乙烯离心管中,扣上管盖,不宜太紧;放入80 $^{\circ}$ C水浴锅中水浴10min后取出冷却至室温,待检;液态待检样品用干燥、洁净的离心管或适当容器采集 50mL左右,如果不立即检测,在2-8 $^{\circ}$ C冷藏可保存24小时,注意避免腐败造成失效或污染。

[0080] (2) 检测:使用前将检测卡和待检样本溶液恢复至室温,从原包装袋中取出检测卡,将检测卡平放,用滴管吸取待检样品溶液,垂直滴加3滴于加样孔中,加样后开始计时3-5分钟观察T线及C线的出现情况;

[0081] (3) 检测结果:如附图7所示,检测卡中C线出现代表结果有效;检测卡中T线及未出现代表则表示样品中 β -兴奋剂西马特罗浓度高于 0.01ppb;检测卡中T线与C线同时出现,

说明待检样品中不含有 β -兴奋剂西马特罗或其浓度低于0.01ppb,纸条中C线未出现,代表结果无效。

[0082] 实施例五:适用动物源性食品胶体金快速检测卡检测西马特罗应用

[0083] 将西马特罗按重量比掺入待检样品中,掺入西马特罗的比例分别为100 μ g/kg、10 μ g/kg、1 μ g/kg、0.1 μ g/kg,并设置蒸馏水作为空白对照,按照实施例四的步骤,将样品液体滴在胶体金快速检测卡的样品垫部分,等待液体扩散至吸水垫后,静置3~5min后观察T线及C线的出现情况,试验结果如表5所示。

[0084] 表5:胶体金快速检测卡检测食品不同比例西马特罗实验结果

[0085]

样品掺入比	C 线	T 线	结果判断
-------	-----	-----	------

[0086]

100 μ g/kg	+	-	样品中西马特罗浓度高于 5ppb
10 μ g/kg	+	-	样品中剂西马特罗浓度高于 5ppb
1 μ g/kg	+	-	样品中西马特罗浓度高于 5ppb
0.1 μ g/kg	+	-	样品中西马特罗浓度高于 5ppb
空白对照	+	+	样品中不含有西马特罗或其浓度低于 0.1ppb

[0087] 注:“+”表示出现,“-”表示未出现

[0088] 通过表5所示的试验结果,可以看出,通过本发明制备的胶体金快速检测卡能够快速、便捷的进行适用动物源性食品在西马特罗的检测,且灵敏度达到0.1ppb,能够满足日常生产加工、快速检测的需要。

[0089] 如上所述,即可较好地实现本发明,上述的实施例仅仅是对本发明的优选实施方式进行描述,并非对本发明的范围进行限定,在不脱离本发明设计精神的前提下,本领域普通技术人员对本发明的技术方案做出的各种改变和改进,均应落入本发明确定的保护范围内。

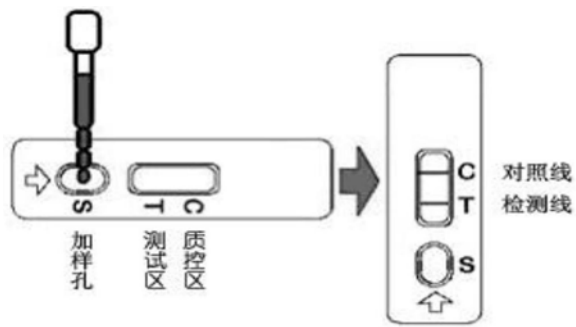


图1

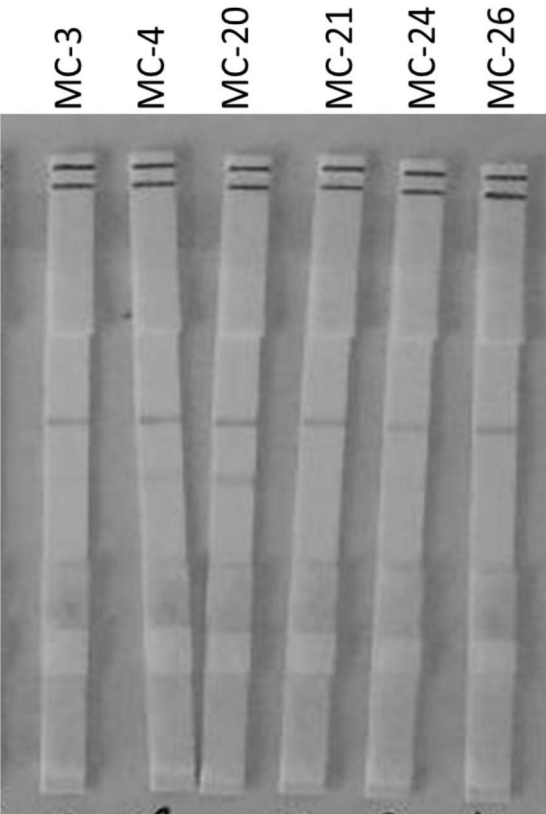


图2

MC-13 MC-20 MC-28
显色 抑制 显色 抑制 显色 抑制

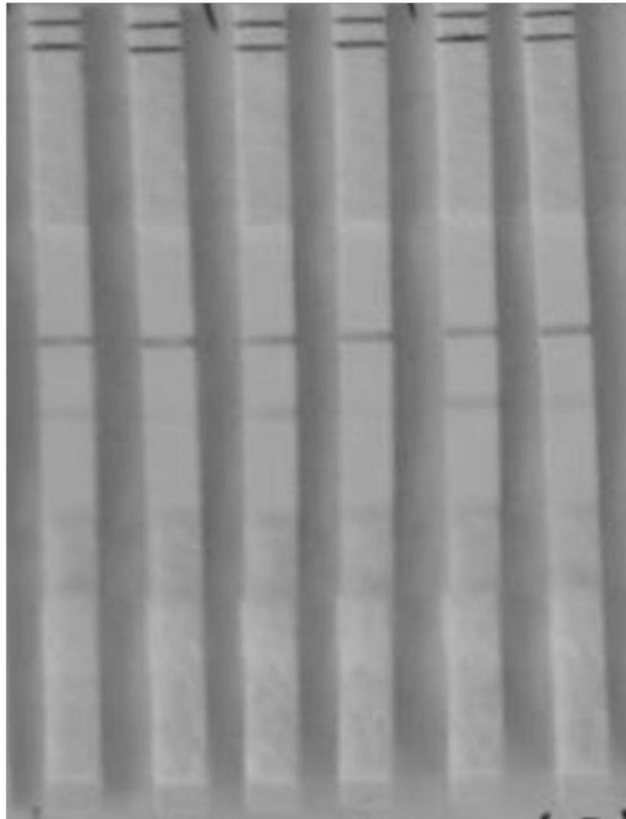


图3

1.5 2.0 2.5 3.0



图4

0.5 1.0 1.5 2.0 2.5

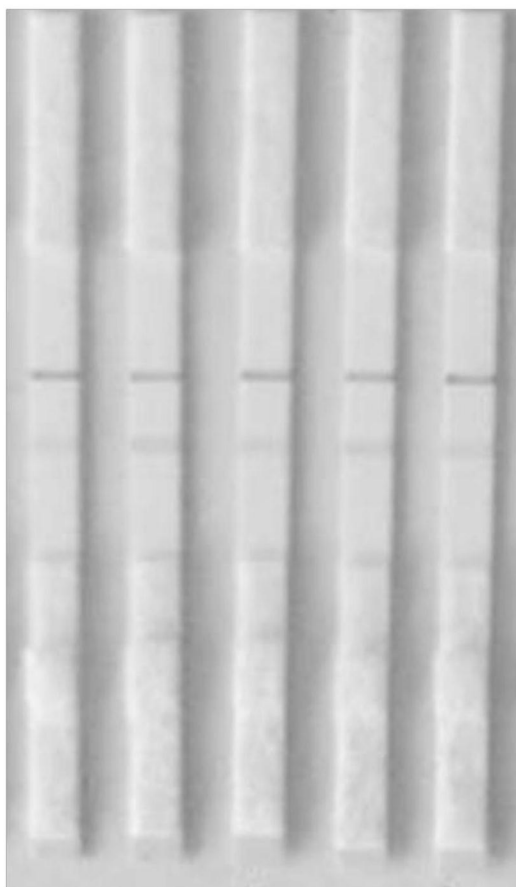


图5

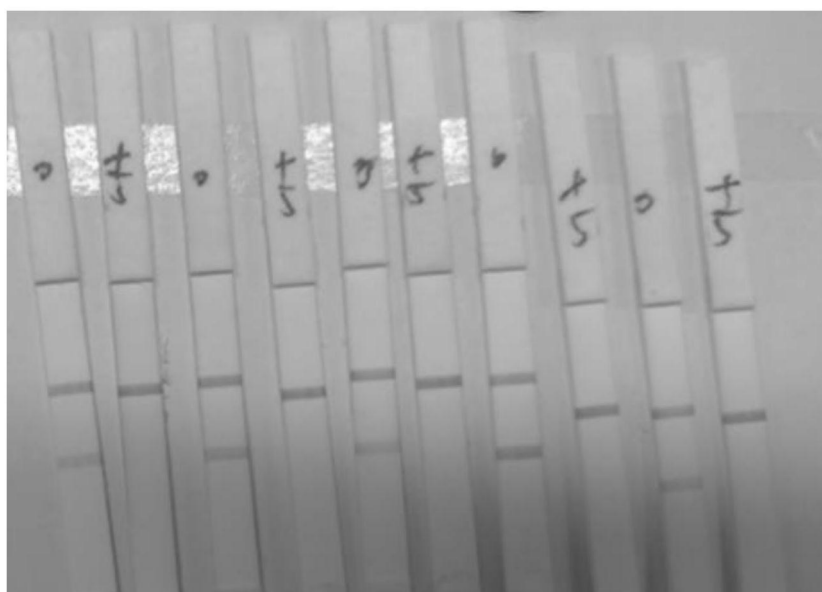


图6

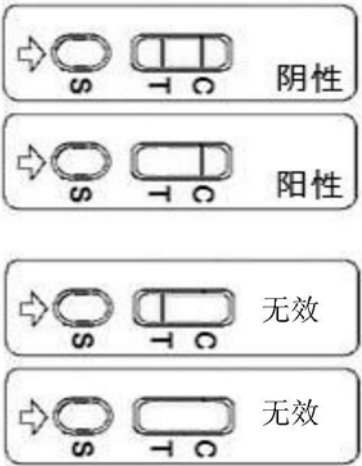


图7