



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

G01N 33/18 (2020.08); G01N 33/543 (2020.08); G01N 33/558 (2020.08)

(21)(22) Заявка: 2020130162, 14.09.2020

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
14.09.2020Дата регистрации:
05.02.2021

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 14.09.2020

(45) Опубликовано: 05.02.2021 Бюл. № 4

Адрес для переписки:

119071, Москва, Ленинский пр-т, 33, корп. 2,
патентный отдел

(72) Автор(ы):

Бызова Надежда Алексеевна (RU),
Жердев Анатолий Виталиевич (RU),
Дзантиев Борис Борисович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное учреждение
"Федеральный исследовательский центр
"Фундаментальные основы биотехнологии"
Российской академии наук (ФИЦ
Биотехнологии РАН) (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 196383 U1, 27.02.2020. RU 191660
U1, 15.08.2019. WO 2018174733 A1, 27.09.2018.
CN 101533014 A, 16.09.2009. CN 103018467 B,
21.12.2016. CN 102183642 A, 14.09.2011. CN
102507959 A, 20.06.2012. СТАРОДУБ Н.Ф. и
др. Иммуноферментный анализ неионных
поверхностно-активных веществ в воде.
Український б ох м чний журнал, 2005, т.77,
№6, с. 116-121.(54) Устройство для иммунохроматографической экспрессной лабораторной и внелабораторной
одновременной индивидуальной детекции токсичных контаминантов в воде

(57) Реферат:

Заявленная полезная модель предназначена для иммунохроматографической экспрессной лабораторной и внелабораторной одновременной индивидуальной детекции токсичных контаминантов – поверхностно-активных веществ (ПАВ) бисфенола А, нонилфенола и октилфенола в воде. Устройство представляет собой мультимембранный композит с нанесенными иммунореагентами (тест-полоску). Мультимембранный композит состоит из рабочей нитроцеллюлозной мембраны на твердой полистироловой основе с нанесенными иммунореагентами, стекловолоконной мембраны с нанесенными иммунореагентами, мембраны для впитывания и сепарации исследуемого образца и конечной адсорбирующей мембраны

для впитывания компонентов образца после прохождения реакции. Отличительной особенностью заявленного устройства является то, что в контрольную зону (К.З.) нанесены поликлональные козы антитела, специфичные к иммуноглобулинам кролика. В первую тестовую зону (Т.З.1) нанесен конъюгат бисфенола А с белком-носителем соевым ингибитором трипсина (СИТ). Во вторую тестовую зону (Т.З.2) нанесен конъюгат нонилфенола с белком-носителем бычьим сывороточным альбумином (БСА). В третью тестовую зону (Т.З.3) нанесен конъюгат октилфенола с белком-носителем БСА. На стекловолоконную мембрану нанесена смесь конъюгатов поликлональных кроличьих антител, специфичных к бисфенолу А, с коллоидным

золотом (КЗ), поликлональных кроличьих антител, специфичных к нонилфенолу, с КЗ и поликлональных кроличьих антител, специфичных к октилфенолу, с КЗ. Для проведения анализа не требуется никаких дополнительных приспособлений.

Продолжительность анализа составляет 10 мин.

Технической задачей заявленной полезной модели является одновременная индивидуальная детекция трех токсичных контаминантов - ПАВ

бисфенола А, нонилфенола и октилфенола в воде.

Технический результат заявленной полезной модели заключается в одновременной индивидуальной детекции на одной тест-полоске трех токсичных контаминантов - ПАВ бисфенола А, нонилфенола и октилфенола с использованием простой одностадийной процедуры проведения анализа, обеспечиваемой за счет нанесения на тест-полоску всех необходимых реагентов.

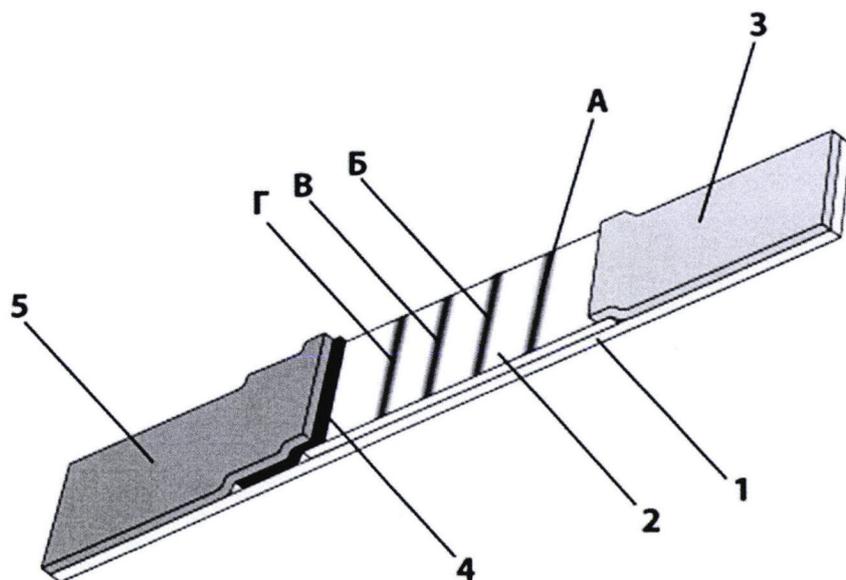


Рис. 1

Полезная модель относится к определению токсичных контаминантов - поверхностно активных веществ (ПАВ) бисфенола А, нонилфенола и октилфенола, и может быть использована как экспрессное средство лабораторного и внелабораторного контроля для обеспечения безопасности разных видов потребительской продукции (питьевой и бытовой воды) и мониторинга окружающей среды (природных и сточных вод).

Устройство предназначено для иммунохроматографической экспрессной лабораторной и внелабораторной одновременной индивидуальной детекции токсичных контаминантов - ПАВ бисфенола А, нонилфенола и октилфенола в воде.

ПАВ широко используются человеком в повседневной жизни в составе моющих средств, при производстве текстиля, бумаги и пр. в качестве эмульгирующих, солюбилизирующих, смачивающих и диспергирующих агентов. Большое количество ПАВ постоянно сбрасывается в окружающую среду и распространяется в составе сточных и природных вод. В связи с возрастающими объемами потребления ПАВ являются загрязнителями мирового масштаба. В промышленности широко применяются анионные ПАВ - линейные алкилбензолсульфонаты, например, бисфенол А, и неионные ПАВ - нонилфенолполиэтоксилаты, которые в процессе деградации образуют стабильные продукты нонилфенол и октилфенол.

Структура бисфенола А сходна со структурой эстрогенов, поэтому данное соединение и его аналоги отнесены к факторам разрушения эндокринной системы. Связываясь с рецепторами эстрогенов, данные соединения нарушают нормальное функционирование щитовидной и поджелудочной желез, мозга, иммунной системы. В связи с этим в странах Евросоюза установлена предельно допустимая концентрация (ПДК) бисфенола А в воде и почве - 0,6 мг/кг. В РФ нормативы содержания бисфенола А в почве и пище не установлены, в воде установлена предельная допустимая концентрация ПДК, равная 0,01 мг/дм³.

Нонилфенол и октилфенол также обладают сильными тератогенными и эстрогенными свойствами. Было обнаружено, что эти метаболиты токсичны для беспозвоночных. Их токсичность возрастает с уменьшением длины этоксилатной цепи (октилфенол обладает более высокой эстрогенной активностью, чем нонилфенол). С 2005 г. оксиэтилированные нонилфенолы (неонолы) запрещены Еврокомиссией к использованию в концентрации свыше 0,1% в промышленных средствах очистки, товарах бытовой химии, косметике, и других областях применения на территории ЕС. В РФ установлена ПДК нонилфенола и октилфенола в воде водных объектов рыбохозяйственного значения в пределах от 0,0001 до 0,3 мг/дм³.

Для определения ПАВ используются инструментальные методы анализа - жидкостная хроматография, газовая хроматография с масс-спектрометрической детекцией, капиллярный электрофорез. Преимуществами этих методов являются высокая точность и низкий предел обнаружения. Однако для их применения необходимо дорогостоящее оборудование, высокоочищенные растворители и квалифицированный персонал. Стоимость характеристики одной пробы инструментальными методами довольно высока.

Перспективным направлением выявления токсичных контаминантов является применение в аналитических системах антител в качестве рецепторных молекул. Возможности иммуноанализа связаны с его методической простотой, а также производительностью, обеспечивающей одновременное тестирование до 80 проб в течение 1-2 часов, а в кинетических форматах - в течение 10-20 мин. Поэтому в последнее время для определения ПАВ активно развиваются альтернативные методы - иммуноферментный анализ, поляризационный флуороиммуноанализ, рассматривается

применение аптамеров в качестве рецепторных молекул и различных наночастиц в качестве маркеров.

Наиболее простой в использовании формой иммунохимического анализа является иммунохроматографический анализ (ИХА), который обнаруживает присутствие антигена (токсичного контаминанта) в жидкой пробе за 5-15 минут. ИХА основан на движении жидкой пробы вдоль мембраны, которое приводит к образованию на разных участках мембраны специфических иммунных комплексов. Конъюгированный со специфическими антителами окрашенный маркер (коллоидное золото, латексные частицы и др.) распределяется по мембране, и его наличие или отсутствие в определенных участках мембраны по окончании анализа является основанием для вывода о полученных результатах. Использование ИХА для детекции токсичных контаминантов обеспечивает достижение ряда преимуществ - проведение эффективного контроля в лабораторных и внелабораторных условиях, экспрессность проведения анализа при минимальной пробоподготовке, проведение анализа в одну стадию без необходимости в дополнительных реагентах и манипуляциях и простоту детектирования и интерпретации результатов анализа.

В научной и коммерческой литературе описаны разработки устройств для иммунохроматографического определения одного ПАВ - бисфенола А (1-5), нонилфенола (6), и одновременного определения двух ПАВ - нонилфенола и бисфенола А (7). Устройства для одновременного иммунохроматографического определения трех ПАВ в научной и коммерческой литературе не описаны.

Наиболее близкими аналогами заявляемой полезной модели являются устройства для иммунохроматографической детекции одного и двух ПАВ:

- иммунохроматографическая тест-система для определения бисфенола А в талой воде, описанная в публикации Дзантиева и соавторов «Lateral flow immunoassay for bisphenol A: Development of test strips and their application for ecological monitoring» (Иммунохроматографический анализ бисфенола А: разработка тестов и их применение для экологического мониторинга), International Conference on Applied Physics, Power and Material Science, IOP Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series, 2019, 1172, 012088. DOI: 10.1088/1742-6596/1172/1/012088;

- иммунохроматографическая тест-система для определения нонилфенола в сточных водах текстильного производства, описанная в патенте № CN 102507959 А «Rapid detecting card of nonyl phenol and detecting method thereof» (Устройство для быстрой детекции нонилфенола и метод определения с использованием заявляемого устройства). 2012. China (Китай). <https://patents.google.com/patent/CN102507959A/en>;

- иммунохроматографическая тест-система для одновременного определения нонилфенола и бисфенола А в питьевых, бытовых, природных и сточных водах, описанная в патенте РФ №196383 «Устройство для иммунохроматографической экспрессной лабораторной и внелабораторной одновременной детекции токсичных контаминантов – поверхностно-активных веществ нонилфенола и бисфенола А, в питьевых, бытовых, природных и сточных водах». Опубликовано 27.02.2020. Бюл. №6.

Представленная в публикации Дзантиева и соавторов тест-система представляет собой мультимембранный композит размерами 78×3,5×1,5 мм, который состоит из:

- нитроцеллюлозной рабочей мембраны на твердой полистироловой основе с нанесенными в контрольную зону поликлональными козьими антителами к иммуноглобулинам кролика и нанесенным в тестовую зону конъюгатом бисфенола А с белком-носителем СИТ;

- стекловолоконной мембраны с нанесенным конъюгатом поликлональных кроличьих

антител, специфичных к бисфенолу А, с коллоидным золотом;

- мембраны для впитывания и сепарации исследуемого образца;

- конечной адсорбирующей мембраны для впитывания компонентов образца после прохождения реакции.

5 Анализ проводят следующим образом:

1. Образцы снега расплавляют при комнатной температуре, твердые примеси отфильтровывают и полученную талую воду используют для ИХА.

2. 100 мкл фильтрованной талой воды переносят в пластиковую пробирку вместимостью 1,5 мл.

10 3. Тест-полоску погружают вертикально нижним концом мембраны для впитывания образца в жидкость на 10 мин.

4. Через 10 мин тест-полоску вынимают. Результат анализа фиксируют визуально или с использованием детектора с видеоцифровой регистрацией.

Результат анализа интерпретируют следующим образом:

15 1. Если через 10 мин на рабочей мембране тест-полоски появляются две линии (контрольная и тестовая), окрашенные в темно-красный цвет, то результат анализа считается отрицательным, т.е. в образце не содержится бисфенол А или его концентрация ниже предела обнаружения.

20 2. Если через 10 мин на рабочей мембране тест-полоски появляется одна темно-красная линия (контрольная), то результат анализа считается положительным, т.е. в образце содержится бисфенол А в концентрации равной или выше предела обнаружения.

3. Если через 10 мин на рабочей мембране тест-полоски не образуется ни одной окрашенной линии или образуется только одна тестовая окрашенная линия, то результат анализа считается недействительным.

25 Описанная в публикации Дзантиева и соавторов тест-система дает информацию о содержании в талой воде только одного ПАВ - бисфенола А.

Описанная в патенте № CN 102507959 А тест-система представляет собой пластиковую кассету длиной 70 мм, шириной 20 мм, толщиной 5 мм (в собранном виде), с толщиной

30 жидкой пробы и прямоугольное окно для считывания результатов анализа. В кассету помещена тест-полоска размерами 60×4×2,5 мм, которая состоит из:

- нитроцеллюлозной рабочей мембраны на твердой полистироловой основе с нанесенными в контрольную зону кроличьими анти-мышинными антителами и нанесенным в тестовую зону конъюгатом нонилфенола с белком-носителем; размеры

35 нитроцеллюлозной мембраны (20-25)×4×0,5 мм;

- стекловолоконной мембраны с нанесенным конъюгатом моноклональных антител, специфичных к нонилфенолу, с коллоидным золотом (или окрашенными частицами латекса); размеры стекловолоконной мембраны 5×4×(0,5-0,8) мм;

40 0,8) мм;

- конечной адсорбирующей мембраны для впитывания компонентов образца после прохождения реакции размерами (16-20)×4×(0,5-0,8) мм.

Анализ проводят следующим образом:

45 1. Мутные пробы сточных вод очищают от крупных частиц взвеси путем фильтрования или центрифугирования, прозрачные пробы используют для ИХА без предварительной пробоподготовки.

2. Пробу воды вносят в круглое окно кассеты с помощью пипетки.

3. Результат анализа фиксируют визуально через 5-10 мин после внесения пробы.

Результат анализа интерпретируют следующим образом:

1. Если через 5-10 мин на рабочей мембране тест-полоски появляются две окрашенные линии (контрольная и тестовая), то результат анализа считается отрицательным, т.е. в образце не содержится нонилфенол или его концентрация ниже предела обнаружения.

5 2. Если через 5-10 мин на рабочей мембране тест-полоски появляется одна окрашенная линия (контрольная), то результат анализа считается положительным, т.е. в образце содержится нонилфенол в концентрации равной или выше предела обнаружения.

3. Если через 5-10 мин на рабочей мембране тест-полоски не образуется ни одной окрашенной линии или образуется только одна тестовая окрашенная линия, то результат
10 анализа считается недействительным.

Описанная в патенте № CN 102507959 А (Китай) тест-система дает информацию о содержании в сточных водах текстильного производства только одного ПАВ - нонилфенола.

15 Описанная в патенте №196383 тест-система представляет собой мультимембранный композит размерами 78×3,5×1,5 мм, который состоит из:

- нитроцеллюлозной рабочей мембраны на твердой полистироловой основе с нанесенными в контрольную зону поликлональными козьими антителами к иммуноглобулинам кролика, нанесенным в первую тестовую зону конъюгатом нонилфенола с белком-носителем БСА и нанесенным во вторую тестовую зону

20 конъюгатом бисфенола А с белком-носителем СИТ;

- стекловолоконной мембраны с нанесенной эквимольярной смесью конъюгатов поликлональных кроличьих антител, специфичных к нонилфенолу, с коллоидным золотом и поликлональных кроличьих антител, специфичных к бисфенолу А, с коллоидным золотом;

25 - мембраны для впитывания и сепарации исследуемого образца;

- конечной адсорбирующей мембраны для впитывания компонентов образца после прохождения реакции.

Анализ проводят следующим образом:

1. 100-120 мкл анализируемой воды (питьевой, бытовой, природной, сточной) вносят
30 в пластиковую пробирку вместимостью 1,5 мл.

2. Тест-полоску погружают вертикально нижним концом мембраны для впитывания образца на глубину 0,5 см в жидкость и инкубируют при комнатной температуре в течение 1 мин.

3. Вынимают тест-полоску и помещают ее на сухую горизонтальную поверхность
35 на 9 мин.

4. Через 10 мин после начала движения жидкости по тест-полоске результат анализа фиксируют визуально или с использованием детектора с видеоцифровой регистрацией.

Результат анализа интерпретируют следующим образом:

1. Если через 10 мин на рабочей мембране тест-полоски появляются три красные
40 линии (контрольная и две тестовые), то результат анализа считается отрицательным, т.е. в образце не содержатся нонилфенол и бисфенол А или их концентрации ниже пределов обнаружения.

2. Если через 10 мин на рабочей мембране тест-полоски появляются две красные
45 линии (контрольная и первая по ходу движения жидкости тестовая), то результат анализа считается положительным по бисфенолу А и отрицательным по нонилфенолу, т.е. в образце содержится бисфенол А в концентрации равной или выше предела обнаружения и не содержится нонилфенол (или его концентрация ниже предела обнаружения).

3. Если через 10 мин на рабочей мембране тест-полоски появляются две красные линии (контрольная и вторая по ходу движения жидкости тестовая), то результат анализа считается положительным по нонилфенолу и отрицательным по бисфенолу А, т.е. в образце содержится нонилфенол в концентрации, равной или выше предела обнаружения и не содержится бисфенол А (или его концентрация ниже предела обнаружения).

4. Если через 10 мин на рабочей мембране тест-полоски появляется одна красная линия (контрольная), то результат анализа считается положительным по нонилфенолу и бисфенолу А, т.е. в образце содержатся нонилфенол и бисфенол А в концентрациях равных или выше пределов обнаружения.

5. Если через 10 мин на рабочей мембране тест-полоски не образуется ни одной окрашенной линии или образуются только тестовые линии (одна или две), то результат анализа считается недействительным.

Описанная в патенте №196383 (РФ) тест-система дает информацию о раздельном и/или одновременном содержании в питьевых, бытовых, природных и сточных водах двух ПАВ - нонилфенола и бисфенола А.

Технической задачей заявляемой полезной модели является одновременная индивидуальная детекция трех токсичных контаминантов - ПАВ нонилфенола, октилфенола и бисфенола А в воде.

Технический результат заявляемой полезной модели заключается в одновременной индивидуальной детекции на одной тест-полоске трех токсичных контаминантов - ПАВ нонилфенола, октилфенола и бисфенола А с использованием простой одностадийной процедуры проведения анализа, обеспечиваемой за счет нанесения на тест-полоску всех необходимых реагентов.

Предлагается устройство для иммунохроматографической экспрессной лабораторной и внелабораторной одновременной индивидуальной детекции токсичных контаминантов - ПАВ бисфенола А, нонилфенола и октилфенола в воде. Устройство представляет собой мультимембранный композит с нанесенными иммунореагентами (тест-полоску). Мультимембранный композит состоит из рабочей нитроцеллюлозной мембраны на твердой полистироловой основе с нанесенными иммунореагентами, стекловолоконной мембраны с нанесенными иммунореагентами, мембраны для впитывания и сепарации исследуемого образца и конечной адсорбирующей мембраны для впитывания компонентов образца после прохождения реакции.

Указанный технический результат достигается тем, что:

- в К.З. нанесены поликлональные козьи антитела, специфичные к иммуноглобулинам кролика;

- в Т.З.1 нанесен конъюгат бисфенола А с белком-носителем СИТ;

- в Т.З.2 нанесен конъюгат нонилфенола с белком-носителем БСА;

- в Т.З.3 нанесен конъюгат октилфенола с белком-носителем БСА;

- на стекловолоконную мембрану нанесена смесь конъюгатов поликлональных кроличьих антител, специфичных к бисфенолу А, с коллоидным золотом, поликлональных кроличьих антител, специфичных к нонилфенолу, с коллоидным золотом и поликлональных кроличьих антител, специфичных к октилфенолу, с коллоидным золотом.

На прилагаемом чертеже (рис. 1) представлено заявляемое устройство, где 1 - твердая основа рабочей нитроцеллюлозной мембраны из полистирола, 2 - рабочая нитроцеллюлозная мембрана с нанесенными и высушенными иммунореагентами, 3 - конечная адсорбирующая мембрана для впитывания компонентов образца после

прохождения реакции, 4 - стекловолоконная мембрана с нанесенными и высушенными иммунореагентами, 5 - мембрана для впитывания и сепарации исследуемого образца, А - К.З. с нанесенными поликлональными козьими антителами, специфичными к иммуноглобулинам кролика, Б - Т.З.3 с нанесенным конъюгатом октилфенола с белком-носителем БСА, В - Т.З.2 с нанесенным конъюгатом нонилфенола с белком-носителем БСА, Г - Т.З.1 с нанесенным конъюгатом бисфенола А с белком-носителем СИТ.

В таблице 1 приведена характеристика материалов, из которых изготовлены элементы заявляемого устройства.

Характеристика материалов, из которых изготовлены элементы заявляемого устройства				
№	Наименование элемента заявляемого устройства	Размер	Состав материала	Характеристика материала
1	Твердая основа рабочей мембраны	3,5 x 76 мм	полистироловый адгезивный материал	<ul style="list-style-type: none"> • цвет – белый • толщина – 250±15 мкм
2	Рабочая мембрана	3,5 x 26 мм	полимер нитроцеллюлоза	<ul style="list-style-type: none"> • цвет – белый • средний диаметр пор – 8 мкм; • сорбционная емкость по белку – не менее 50 мг/см²; • толщина – 100±15 мкм; • скорость прохождения физиологического раствора через 4 см мембраны – 170±25 с
3	Конечная адсорбирующая мембрана	3,5 x 27 мм	целлюлоза	<ul style="list-style-type: none"> • цвет – белый; • толщина – 280-480 мкм; • адсорбционная емкость – 8,5-15,5 мг/см²; • средний объем удержания воды – 37-47 мг/см²
4	Мембрана для нанесения конъюгатов антител с коллоидным золотом	3,5 x 6 мм	стеклянное микроволокно или полиэфирное микроволокно	<ul style="list-style-type: none"> • цвет – белый • ширина – 6 мм; • толщина – 400 мкм; • адсорбционная емкость – 9,8 мг/см²; • скорость прохождения воды через 4 см мембраны – 24 с
5	Мембрана для впитывания и сепарации образца	3,5 x 27 мм	целлюлоза	<ul style="list-style-type: none"> • цвет – белый; • толщина – 280-380 мкм; • адсорбционная емкость – 10,5-15,5 мг/см²; • средний объем удержания воды – 30-40 мг/см².

Анализ с помощью заявляемого устройства проводят следующим образом:

1. 100-120 мкл анализируемой пробы воды вносят в пластиковую пробирку вместимостью 1,5 мл.
2. Тест-полоску погружают вертикально нижним концом мембраны для впитывания образца на глубину 0,5 см в жидкость и инкубируют при комнатной температуре в течение 1 мин.
3. Вынимают тест-полоску и помещают ее на сухую горизонтальную поверхность

на 9 мин.

4. Через 10 мин после начала движения жидкости по тест-полоске результат анализа фиксируют визуально или с использованием детектора с видеоцифровой регистрацией.

Заявляемое устройство функционирует следующим образом (см. рис. 1): Если в образце присутствуют ПАВ (нонилфенол, октилфенол, бисфенол А), то они с потоком жидкости перемещаются по впитывающей мембране (5), доходят до стекловолоконной мембраны (4) и реагируют с конъюгатами коллоидного золота со специфичными к ПАВ антителами с образованием двойных окрашенных иммунокомплексов (растворенный антиген-специфические антитела, меченные коллоидным золотом).
Образовавшиеся двойные окрашенные иммунокомплексы под действием капиллярных сил движутся вдоль рабочей нитроцеллюлозной мембраны (2) и взаимодействуют с иммобилизованными в Т.З.1 (Г), Т.З.2 (В) и Т.З.3 (Б) конъюгатами антигенов бисфенола А с СИТ (Т.З.1, Г), нонилфенола с БСА (Т.З.2, В) и октилфенола с БСА (Т.З.3, Б) с образованием тройных иммунокомплексов (иммобилизованный на мембране через белок-носитель антиген-меченные коллоидным золотом специфические антитела-антиген из пробы). Избыток не связавшихся двойных окрашенных иммунокомплексов продолжает двигаться вдоль рабочей нитроцеллюлозной мембраны (2) и взаимодействует с антивидовыми антителами, иммобилизованными в К.З. (А), с образованием двойных иммунных комплексов (иммобилизованные на мембране антивидовые антитела-специфические антитела, меченные коллоидным золотом).

Интерпретация результатов анализа производится в соответствие со схемой, представленной на рис. 2:

1. Если через 10 мин на рабочей мембране тест-полоски появляются четыре красные линии (К.З., Т.З.1, Т.З.2 и Т.З.3), то результат анализа считается отрицательным, т.е. в образце не содержатся бисфенол А, нонилфенол и октилфенол или их концентрации ниже пределов обнаружения (рис. 2а).

2. Если через 10 мин на рабочей мембране тест-полоски появляются две красные линии (К.З. и первая по ходу движения жидкости Т.З.1), то результат анализа считается отрицательным по бисфенолу А и положительным по нонилфенолу и октилфенолу, т.е. в образце не содержится бисфенол А (или его концентрация ниже предела обнаружения) и содержатся нонилфенол и октилфенол в концентрациях, равных или выше пределов обнаружения (рис. 2б).

3. Если через 10 мин на рабочей мембране тест-полоски появляются две красные линии (К.З. и вторая по ходу движения жидкости Т.З.2), то результат анализа считается отрицательным по нонилфенолу и положительным по бисфенолу А и октилфенолу, т.е. в образце не содержится нонилфенол (или его концентрация ниже предела обнаружения) и содержатся бисфенол А и октилфенол в концентрациях, равных или выше пределов обнаружения (рис. 2в).

4. Если через 10 мин на рабочей мембране тест-полоски появляются две красные линии (К.З. и третья по ходу движения жидкости Т.З.3), то результат анализа считается отрицательным по октилфенолу и положительным по бисфенолу А и нонилфенолу, т.е. в образце не содержится октилфенол (или его концентрация ниже предела обнаружения) и содержатся бисфенол А и нонилфенол в концентрациях, равных или выше пределов обнаружения (рис. 2г).

5. Если через 10 мин на рабочей мембране тест-полоски появляются три красные линии (К.З., вторая и третья по ходу движения жидкости, Т.З.2 и Т.З.3), то результат анализа считается положительным по бисфенолу А и отрицательным по нонилфенолу и октилфенолу, т.е. в образце содержится бисфенол А в концентрации, равной или выше

предела обнаружения, и не содержатся нонилфенол и октилфенол (или их концентрации ниже предела обнаружения) (рис. 2д).

6. Если через 10 мин на рабочей мембране тест-полоски появляются три красные линии (К.З., первая и третья по ходу движения жидкости, Т.З.1 и Т.З.3), то результат анализа считается положительным по нонилфенолу и отрицательным по бисфенолу А и октилфенолу, т.е. в образце содержится нонилфенол в концентрации, равной или выше предела обнаружения, и не содержатся бисфенол А и октилфенол (или их концентрации ниже предела обнаружения) (рис. 2е).

7. Если через 10 мин на рабочей мембране тест-полоски появляются три красные линии (К.З., первая и вторая по ходу движения жидкости, Т.З.1 и Т.З.2), то результат анализа считается положительным по октилфенолу и отрицательным по бисфенолу А и нонилфенолу, т.е. в образце содержится октилфенол в концентрации, равной или выше предела обнаружения, и не содержатся бисфенол А и нонилфенол (или их концентрации ниже предела обнаружения) (рис. 2ж).

8. Если через 10 мин на рабочей мембране тест-полоски появляется одна красная линия (К.З.), то результат анализа считается положительным по бисфенолу А нонилфенолу и октилфенолу, т.е. в образце содержатся бисфенол А, нонилфенол и октилфенол в концентрациях, равных или выше пределов обнаружения (рис. 2з).

9. Если через 10 мин на рабочей мембране тест-полоски не образуется ни одной окрашенной линии или образуются только тестовые линии (одна, две или три в любых комбинациях), то результат анализа считается недействительным (рис. 2и).

Эффективность данного подхода подтверждается следующими представленными ниже примерами:

Пример 1 (исследование времени получения отрицательных по бисфенолу А, нонилфенолу и октилфенолу результатов анализа с использованием заявляемого устройства):

С использованием заявляемого устройства проводят анализ пробы воды, не содержащей бисфенол А, нонилфенол и октилфенол по данным ИФА. 120 мкл пробы вносят в пробирку. Заявляемое устройство (тест-полоску) погружают вертикально нижним концом мембраны для впитывания образца на глубину 0,5 см в жидкость и инкубируют при комнатной температуре в течение 1 мин. Вынимают тест-полоску и помещают ее в паз выдвижной каретки детектирующего устройства для видеоцифровой регистрации. Результат анализа оценивают через 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 и 15 мин с помощью программного обеспечения видеоцифрового детектора. Время анализа контролируют с помощью секундомера. Анализ проводят в пяти повторностях, используя тест-полоски пяти разных серий (полоски №№ 1-5).

Результаты анализа приведены в таблице 2. Интенсивности окрашивания каждой из зон связывания нормированы на ее среднее значение, полученное через 15 мин после начала анализа. Из приведенных экспериментальных данных видно, что через 10 мин после начала анализа интенсивности окрашивания К.З. достигают 100,2-100,6%, зон связывания бисфенола А (Т.З.1) - 100,0-100,5%, зон связывания нонилфенола (Т.З.2) - 99,6-100,0%, зон связывания октилфенола (Т.З.3) - 99,0-100,0% и практически не изменяются в течение следующих пяти минут, т.е. время анализа с использованием заявленного устройства при отсутствии в пробе бисфенола А, нонилфенола и октилфенола составляет 10 мин.

Таблица 2

Динамика формирования окрашенных зон связывания при одновременном индивидуальном иммунохроматографическом определении бисфенола А, нонилфенола и октилфенола в воде (при отсутствии бисфенола А, нонилфенола и октилфенола в пробе по данным ИФА)

Время, мин	Интенсивность окрашивания зон связывания, %																			
	Тест-полоска №1				Тест-полоска №2				Тест-полоска №3				Тест-полоска №4			Тест-полоска №5				
	Т.3.1	Т.3.2	Т.3.3	К.З.	Т.3.1	Т.3.2	Т.3.3	К.З.	Т.3.1	Т.3.2	Т.3.3	К.З.	Т.3.1	Т.3.2	Т.3.3	К.З.	Т.3.1	Т.3.2	Т.3.3	К.З.
2	28,9	10,3	3,5	39,8	25,7	11,3	4,5	30,4	26,9	12,3	5,5	35,8	28,0	11,5	7,2	36,5	23,8	12,1	4,8	40,1
3	34,5	19,4	9,8	45,6	32,5	20,3	10,8	44,3	32,8	18,4	10,3	42,7	33,5	18,2	10,8	44,2	30,5	20,4	10,6	49,6
4	41,8	26,8	14,0	58,5	44,6	27,8	17,2	52,2	43,5	25,9	17,8	54,4	44,5	25,7	15,6	55,5	45,2	29,3	19,6	55,8
5	56,7	48,6	26,8	69,7	60,2	46,8	27,8	65,4	58,4	42,6	31,6	62,1	58,0	41,5	31,2	61,8	55,8	41,2	31,4	62,4
6	67,3	56,8	47,9	79,8	70,9	52,8	41,8	76,4	69,8	53,9	40,4	74,5	71,5	57,4	51,0	72,8	71,2	52,8	46,8	74,4
7	77,3	75,5	64,5	86,8	82,6	73,5	65,7	83,5	80,5	71,7	62,6	82,4	82,5	72,7	64,5	84,0	84,3	71,7	58,9	83,5
8	86,9	87,2	81,2	97,7	93,3	85,0	79,5	95,8	93,5	84,5	79,8	96,6	94,8	83,8	83,1	98,5	93,8	84,8	74,8	97,7
9	99,4	98,6	96,5	98,9	99,5	98,3	94,8	99,6	99,8	97,5	93,6	99,2	99,6	97,9	96,3	99,8	97,9	96,5	94,6	99,8
10	100,5	99,8	99,4	100,3	100,3	99,7	99,3	100,6	100,2	99,6	99,0	100,4	100,0	99,8	100,0	100,2	100,1	100,0	99,2	100,3
11	100,3	100,0	99,8	101,2	100,5	100,3	100,0	101,2	100,5	99,9	99,8	101,4	100,5	100,1	100,5	100,7	100,3	100,6	99,8	100,7
12	101,0	100,5	100,3	100,9	100,8	100,6	100,3	100,8	101,1	100,3	100,1	100,8	101,0	100,3	100,5	100,6	100,7	100,7	100,4	100,8
13	100,4	101,3	101,2	100,5	100,6	100,5	100,5	100,5	100,6	100,6	100,3	100,5	100,7	100,2	100,3	100,3	100,5	100,4	100,2	100,5
14	100,1	100,1	100,5	100,1	100,2	100,2	100,2	100,2	100,3	100,2	100,2	100,3	100,1	100,2	100,1	100,0	100,2	100,1	100,2	100,3
15	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Пример 2 (исследование времени получения положительного по бисфенолу А и отрицательного по нонилфенолу и октилфенолу результатов анализа с использованием заявляемого устройства):

С использованием заявляемого устройства проводят анализ пробы воды, содержащей бисфенол А в концентрации 0,1 мкг/мл и не содержащей нонилфенол и октилфенол по данным ИФА. 120 мкл пробы вносят в пробирку. Заявляемое устройство (тест-полоску) погружают вертикально нижним концом мембраны для впитывания образца на глубину 0,5 см в жидкую пробу и инкубируют при комнатной температуре в течение 1 мин. Вынимают тест-полоску и помещают ее в паз выдвижной каретки детектирующего устройства для видеоцифровой регистрации. Результат анализа оценивают через 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 и 15 мин с помощью программного обеспечения видеоцифрового детектора. Время анализа контролируют с помощью секундомера. Анализ проводят в пяти повторностях, используя тест-полоски пяти разных серий (полоски №№ 1-5).

Результаты анализа приведены в таблице 3. Интенсивности окрашивания К.З., Т.3.2 и Т.3.3 нормированы на их средние значения, полученные через 15 мин после начала анализа. Интенсивности окрашивания Т.3.1 нормированы на ее среднее значение, полученное при отсутствии бисфенола А в пробе (см. Пример 1).

Из приведенных экспериментальных данных видно, что через 10 мин после начала анализа интенсивности окрашивания К.З. достигают 99,8-100,4%, зон связывания нонилфенола (Т.3.2) - 99,4-100,0%, зон связывания октилфенола (Т.3.3) - 99,2-99,8% и практически не изменяются в течение следующих пяти минут. Интенсивности окрашивания тестовых зон связывания бисфенола А (Т.3.1) через 10 мин после начала анализа составляют от 0 до 0,3% и практически не изменяются в течение следующих пяти минут. Таким образом, время анализа пробы воды, содержащей бисфенол А в концентрации 0,1 мкг/мл и не содержащей нонилфенол и октилфенол по данным ИФА, с использованием заявленного устройства составляет 10 мин.

Таблица 3

Динамика формирования окрашенных зон связывания при одновременном индивидуальном иммунохроматографическом определении бисфенола А, нонилфенола и октилфенола в воде (при концентрации бисфенола А, равной 0,1 мкг/мл, и отсутствия нонилфенола и октилфенола в пробе по данным ИФА)

Время, мин	Интенсивность окрашивания зон связывания, %																			
	Тест-полоска №1				Тест-полоска №2				Тест-полоска №3				Тест-полоска №4				Тест-полоска №5			
	Т.З.1	Т.З.2	Т.З.3	К.З.	Т.З.1	Т.З.2	Т.З.3	К.З.	Т.З.1	Т.З.2	Т.З.3	К.З.	Т.З.1	Т.З.2	Т.З.3	К.З.	Т.З.1	Т.З.2	Т.З.3	К.З.
2	3,7	9,3	4,5	37,8	2,7	10,3	3,5	39,8	2,8	10,8	5,3	41,5	3,8	10,6	4,6	38,8	2,2	11,2	3,0	36,5
3	5,8	18,4	8,8	45,2	6,2	19,4	10,7	45,6	5,5	20,4	12,3	49,6	6,3	22,4	12,8	45,2	4,9	22,5	7,8	40,6
4	4,9	27,5	13,5	54,5	5,6	30,5	17,6	50,5	4,7	28,5	20,8	54,8	6,2	31,5	25,3	52,4	4,0	32,2	20,6	53,8
5	3,3	35,4	28,4	65,4	4,5	44,8	25,6	62,4	2,2	42,6	32,4	62,8	4,3	51,8	38,4	66,1	3,4	48,3	32,1	61,2
6	1,6	50,8	45,3	75,7	2,8	60,7	40,8	77,0	1,3	56,9	51,8	74,2	2,9	63,7	51,9	72,9	2,1	59,6	46,4	75,5
7	0,5	69,2	62,7	86,5	1,5	76,8	70,8	85,2	0,6	74,7	67,6	82,5	1,4	76,6	65,3	85,5	1,2	73,2	62,2	88,6
8	0,3	84,2	78,7	96,7	0,7	87,5	83,8	96,7	0,2	85,7	81,6	97,2	0,7	82,7	80,2	98,7	0,4	83,7	80,3	98,3
9	0,1	96,8	92,8	99,0	0,4	96,7	94,3	99,5	0,1	97,8	96,8	99,3	0,4	98,9	95,3	99,6	0,1	97,5	92,8	99,8
10	0,1	99,4	99,2	100,4	0,2	99,8	99,5	99,8	0	100,0	99,5	100,1	0,3	100,0	99,8	100,4	0	99,6	99,2	100,3
11	0	100,2	100,1	101,1	0,1	100,2	100,2	100,6	0	100,2	99,8	100,6	0,1	100,6	100,4	101,2	0	100,2	100,0	100,8
12	0	100,7	100,3	100,7	0	100,6	100,6	100,8	0	100,6	100,3	100,6	0	100,7	100,8	100,8	0	100,5	100,2	101,3
13	0	100,5	100,4	100,5	0	100,5	100,7	100,6	0	100,6	100,1	100,4	0	100,5	100,5	100,5	0	100,5	100,3	100,6
14	0	100,2	100,3	100,1	0	100,2	100,4	100,3	0	100,5	100,1	100,2	0	100,2	100,1	100,2	0	100,1	100,1	100,2
15	0	100,0	100,0	100,0	0	100,0	100,0	100,0	0	100,0	100,0	100,0	0	100,0	100,0	100,0	0	100,0	100,0	100,0

Пример 3 (исследование времени получения положительного по нонилфенолу и отрицательного по бисфенолу А и октилфенолу результатов анализа с использованием заявляемого устройства):

С использованием заявляемого устройства проводят анализ пробы воды, содержащей нонилфенол в концентрации 1,0 мкг/мл и не содержащей бисфенол А и октилфенол по данным ИФА. 120 мкл пробы воды вносят в пробирку. Заявляемое устройство (тест-полоску) погружают вертикально нижним концом мембраны для впитывания образца на глубину 0,5 см в жидкую пробу и инкубируют при комнатной температуре в течение 1 мин. Вынимают тест-полоску и помещают ее в паз выдвижной каретки детектирующего устройства для видеоцифровой регистрации. Результат анализа оценивают через 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 и 15 мин с помощью программного обеспечения видеоцифрового детектора. Время анализа контролируют с помощью секундомера. Анализ проводят в пяти повторностях, используя тест-полоски пяти разных серий (полоски №№ 1-5).

Результаты анализа приведены в таблице 4. Интенсивности окрашивания К.З., Т.З.1 и Т.З.3 нормированы на их средние значения, полученные через 15 мин после начала анализа. Интенсивности окрашивания Т.З.2 нормированы на ее среднее значение, полученное при отсутствии нонилфенола в пробе (см. Пример 1)

Из приведенных экспериментальных данных видно, что через 10 мин после начала анализа интенсивности окрашивания К.З. достигают 99,9-100,5%, зон связывания бисфенола А (Т.З.1) - 99,8-100,4%, зон связывания октилфенола (Т.З.3) - 99,1-99,6% и практически не изменяются в течение следующих пяти минут. Интенсивности окрашивания тестовых зон связывания нонилфенола (Т.З.2) через 10 мин после начала анализа составляют от 0 до 0,3% и практически не изменяются в течение следующих пяти минут. Таким образом, время анализа пробы воды, содержащей нонилфенол в концентрации 1,0 мкг/мл и не содержащей бисфенол А и октилфенол по данным ИФА, с использованием заявленного устройства составляет 10 мин.

Таблица 4

Динамика формирования окрашенных зон связывания при одновременном индивидуальном иммунохроматографическом определении бисфенола А, нонилфенола и октилфенола в воде (при концентрации определении нонилфенола, равной 1,0 мкг/мл, и отсутствии бисфенола А и октилфенола в пробе по данным ИФА)

Время, мин	Интенсивность окрашивания зон связывания, %																			
	Тест-полоска №1				Тест-полоска №2				Тест-полоска №3				Тест-полоска №4				Тест-полоска №5			
	Т.З.1	Т.З.2	Т.З.3	К.З.	Т.З.1	Т.З.2	Т.З.3	К.З.	Т.З.1	Т.З.2	Т.З.3	К.З.	Т.З.1	Т.З.2	Т.З.3	К.З.	Т.З.1	Т.З.2	Т.З.3	К.З.
2	28,5	1,9	7,7	38,8	26,4	0,8	8,5	35,6	24,5	1,6	10,4	38,2	23,4	0,6	5,6	40,1	26,2	1,0	6,2	32,8
3	33,4	2,8	11,2	41,7	30,3	1,7	15,0	40,2	32,4	2,5	14,7	44,0	29,8	1,8	11,8	46,7	31,3	2,5	10,3	41,2
4	41,6	3,2	18,7	50,4	39,7	2,5	22,6	48,7	42,2	3,8	22,6	52,6	38,7	2,3	20,2	54,2	40,4	3,8	19,5	49,7
5	57,3	4,4	29,6	64,3	56,3	3,8	35,6	61,3	58,3	4,7	40,3	63,5	55,3	3,5	32,5	65,6	58,3	4,5	34,2	61,2
6	64,7	3,2	44,6	75,5	65,3	3,2	48,5	77,5	68,6	3,5	51,7	74,6	64,6	2,2	52,3	76,9	68,9	3,6	46,8	74,6
7	75,8	2,3	57,8	87,8	78,6	2,1	64,8	85,5	79,4	2,1	70,8	83,4	80,5	1,6	60,8	84,0	81,2	2,4	64,2	87,2
8	87,6	1,3	75,8	97,5	87,7	0,9	78,4	96,8	87,8	1,0	82,3	95,3	89,6	0,5	78,5	97,6	92,5	1,2	80,2	98,1
9	99,4	0,4	94,7	99,7	99,6	0,6	94,3	99,2	99,5	0,3	95,7	99,6	98,7	0,2	94,8	99,8	99,8	0,5	93,7	99,5
10	100,2	0,2	99,4	100,5	100,4	0,3	99,6	99,9	100,0	0,1	99,2	100,3	99,8	0	99,1	100,3	100,3	0,3	99,4	100,4
11	100,6	0,1	100,0	101,2	100,7	0,1	100,1	100,3	100,4	0	99,8	100,7	100,0	0	100,2	101,1	100,6	0,1	100,2	100,8
12	100,8	0	100,4	101,0	100,5	0	100,5	100,5	100,6	0	100,2	100,5	100,5	0	100,4	101,0	100,5	0	100,6	100,6
13	100,5	0	100,5	100,6	100,3	0	100,7	100,3	100,3	0	100,4	100,4	100,3	0	100,5	100,6	100,2	0	100,8	100,3
14	100,2	0	100,2	100,2	100,0	0	100,2	100,1	100,1	0	100,2	100,2	100,2	0	100,2	100,3	100,0	0	100,3	100,1
15	100,0	0	100,0	100,0	100,0	0	100,0	100,0	100,0	0	100,0	100,0	100,0	0	100,0	100,0	100,0	0	100,0	100,0

Пример 4 (исследование времени получения положительного по октилфенолу и отрицательного по бисфенолу А и нонилфенолу результатов анализа с использованием заявляемого устройства):

С использованием заявляемого устройства проводят анализ пробы воды, содержащей октилфенол в концентрации 1,0 мкг/мл и не содержащей бисфенол А и нонилфенол по данным ИФА. 120 мкл пробы вносят в пробирку. Заявляемое устройство (тест-полоску) погружают вертикально нижним концом мембраны для впитывания образца на глубину 0,5 см в жидкую пробу и инкубируют при комнатной температуре в течение 1 мин. Вынимают тест-полоску и помещают ее в паз выдвигной каретки детектирующего устройства для видеоцифровой регистрации. Результат анализа оценивают через 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 и 15 мин с помощью программного обеспечения видеоцифрового детектора. Время анализа контролируют с помощью секундомера. Анализ проводят в пяти повторностях, используя тест-полоски пяти разных серий (полоски №№ 1-5).

Результаты анализа приведены в таблице 5. Интенсивности окрашивания К.З., Т.З.1 и Т.З.2 нормированы на их средние значения, полученные через 15 мин после начала анализа. Интенсивности окрашивания Т.З.3 нормированы на ее среднее значение, полученное при отсутствии октилфенола в пробе (см. Пример 1).

Из приведенных экспериментальных данных видно, что через 10 мин после начала анализа интенсивности окрашивания К.З. достигают 100-100,5%, зон связывания бисфенола А (Т.З.1) - 99,8-100,3%, зон связывания нонилфенола (Т.З.2) - 99,2-100,0% и практически не изменяются в течение следующих пяти минут. Интенсивности окрашивания тестовых зон связывания октилфенола (Т.З.3) через 10 мин после начала анализа составляют от 0,1 до 0,6% и практически не изменяются в течение следующих пяти минут. Таким образом, время анализа пробы воды, содержащей октилфенол в концентрации 1,0 мкг/мл и не содержащей бисфенол А и нонилфенол по данным ИФА, с использованием заявленного устройства составляет 10 мин.

Таблица 5

Динамика формирования окрашенных зон связывания при одновременном индивидуальном иммунохроматографическом определении бисфенола А, нонилфенола и октилфенола в воде (при концентрации определении октилфенола, равной 1,0 мкг/мл, и отсутствии бисфенола А и нонилфенола в пробе по данным ИФА)

Время, мин	Интенсивность окрашивания зон связывания, %																			
	Тест-полоска №1				Тест-полоска №2				Тест-полоска №3				Тест-полоска №4				Тест-полоска №5			
	Т.3.1	Т.3.2	Т.3.3	К.З.	Т.3.1	Т.3.2	Т.3.3	К.З.	Т.3.1	Т.3.2	Т.3.3	К.З.	Т.3.1	Т.3.2	Т.3.3	К.З.	Т.3.1	Т.3.2	Т.3.3	К.З.
2	26,7	15,8	0,3	38,6	28,9	16,7	0,8	35,3	25,8	13,8	0,6	37,0	26,7	16,0	0,4	33,8	27,5	14,8	1,0	37,8
3	30,5	20,2	0,7	46,7	33,4	21,2	1,4	41,2	32,5	19,7	1,0	46,8	35,2	21,3	0,7	39,7	35,0	18,8	1,7	43,6
4	38,7	28,4	1,4	56,3	45,5	30,4	2,1	51,3	42,7	26,5	1,8	52,2	44,5	28,9	1,3	48,3	45,6	25,3	2,4	53,4
5	52,3	45,6	3,1	68,4	60,2	46,7	3,1	64,4	58,6	41,5	2,8	61,3	60,9	39,5	2,2	57,8	61,5	37,7	4,4	63,5
6	62,8	53,5	4,4	76,7	68,9	54,5	3,8	75,7	70,7	52,9	3,4	72,6	73,5	54,8	3,2	68,9	74,8	50,6	3,5	74,2
7	77,6	68,5	3,3	86,8	81,2	72,7	2,5	81,5	84,3	68,7	2,1	84,6	83,6	75,6	2,5	80,3	84,4	68,2	2,0	84,5
8	88,3	83,4	2,4	95,8	93,3	85,6	1,4	94,8	93,6	80,9	1,4	95,7	95,5	85,8	1,5	96,7	97,8	83,5	1,1	95,8
9	99,6	97,8	1,2	99,3	99,0	98,0	0,3	99,4	99,4	95,7	0,6	100,0	98,8	98,6	0,6	99,5	99,8	96,5	0,4	99,2
10	100,3	99,3	0,6	100,2	99,9	99,6	0,2	100,5	100,1	99,3	0,3	100,3	99,8	100,0	0,3	100,0	100,3	99,2	0,1	100,1
11	100,5	100,1	0,3	100,6	100,2	100,2	0,1	101,2	100,4	100,3	0	101,3	100,4	100,5	0,2	100,4	100,5	100,0	0,1	100,5
12	100,4	100,5	0,1	100,9	100,5	100,6	0	100,7	100,7	100,5	0	101,0	101,1	100,8	0,1	100,6	100,8	100,4	0	100,8
13	100,2	101,0	0	100,5	100,3	100,3	0	100,3	100,6	100,4	0	100,6	100,5	100,4	0	100,4	100,4	100,3	0	100,6
14	100,1	100,1	0	100,2	100,1	100,2	0	100,1	100,3	100,2	0	100,2	100,3	100,2	0	100,2	100,1	100,1	0	100,2
15	100,0	100,0	0	100,0	100,0	100,0	0	100,0	100,0	100,0	0	100,0	100,0	100,0	0	100,0	100,0	100,0	0	100,0

Пример 5 (исследование времени получения положительного по бисфенолу А, нонилфенолу и октилфенолу результатов анализа с использованием заявляемого устройства):

С использованием заявляемого устройства проводят анализ пробы воды, содержащей бисфенол А в концентрации 0,1 мкг/мл, нонилфенол и октилфенол в концентрациях 1,0 мкг/мл по данным ИФА. 120 мкл пробы вносят в пробирку. Заявляемое устройство (тест-полоску) погружают вертикально нижним концом мембраны для впитывания образца на глубину 0,5 см в жидкую пробу и инкубируют при комнатной температуре в течение 1 мин. Вынимают тест-полоску и помещают ее в паз выдвигной каретки детектирующего устройства для видеоцифровой регистрации. Результат анализа оценивают через 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 и 15 мин с помощью программного обеспечения видеоцифрового детектора. Время анализа контролируют с помощью секундомера. Анализ проводят в пяти повторностях, используя тест-полоски пяти разных серий (полоски №№ 1-5).

Результаты анализа приведены в таблице 6. Интенсивности окрашивания К.З. нормированы на ее среднее значение, полученное через 15 мин после начала анализа. Интенсивности окрашивания Т.3.1, Т.3.2 и Т.3.3 нормированы на их средние значения, полученные при отсутствии бисфенола А, нонилфенола и октилфенола в пробе (см. Пример 1).

Из приведенных экспериментальных данных видно, что через 10 мин после начала анализа интенсивности окрашивания К.З. достигают 99,8-100,5% и практически не изменяются в течение следующих пяти минут. Интенсивности окрашивания тестовых зон связывания бисфенола А (Т.3.1), нонилфенола (Т.3.2) и октилфенола (Т.3.3) через 10 мин после начала анализа составляют от 0 до 0,5% и практически не изменяются в течение следующих пяти минут. Таким образом, время анализа пробы, содержащей бисфенол А в концентрации 0,1 мкг/мл, нонилфенол и октилфенол в концентрациях 1,0 мкг/мл по данным ИФА, с использованием заявленного устройства составляет 10 мин.

Таблица 6

Динамика формирования окрашенных зон связывания при одновременном индивидуальном иммунохроматографическом определении бисфенола А, нонилфенола и октилфенола в воде (при концентрации бисфенола А, равной 0,1 мкг/мл, и концентрациях нонилфенола и октилфенола, равных 1,0 мкг/мл, по данным ИФА)

Время, мин	Интенсивность окрашивания зон связывания, %																			
	Тест-полоска №1				Тест-полоска №2				Тест-полоска №3				Тест-полоска №4				Тест-полоска №5			
	Т.З.1	Т.З.2	Т.З.3	К.З.	Т.З.1	Т.З.2	Т.З.3	К.З.	Т.З.1	Т.З.2	Т.З.3	К.З.	Т.З.1	Т.З.2	Т.З.3	К.З.	Т.З.1	Т.З.2	Т.З.3	К.З.
2	3,2	2,3	0,4	29,6	2,8	1,8	0,5	27,5	2,5	1,5	0,3	28,6	3,0	2,0	0,5	25,8	2,7	1,1	0,3	30,2
3	4,4	2,8	0,9	40,2	4,2	2,3	1,0	37,8	3,8	2,0	0,8	36,5	4,8	2,8	0,9	37,9	3,8	1,8	1,1	41,3
4	5,2	3,1	2,0	55,3	6,0	3,2	1,7	52,3	5,6	2,8	1,4	51,3	6,0	3,3	1,5	50,0	5,2	2,6	2,1	54,6
5	3,8	4,5	3,2	68,4	4,0	4,1	3,3	64,5	4,2	3,4	2,5	61,5	4,5	4,5	2,4	61,8	3,3	4,3	3,4	64,5
6	2,6	3,6	4,0	75,7	2,8	3,5	4,2	76,4	2,8	3,7	3,5	73,6	2,8	3,6	3,5	70,4	1,6	4,0	3,7	74,8
7	1,3	2,2	2,8	85,4	1,1	2,3	3,1	81,6	0,8	2,4	2,2	84,5	1,5	2,5	2,8	82,6	0,7	2,8	2,2	85,6
8	0,5	1,3	2,0	96,7	0,5	1,7	2,4	93,7	0,4	1,6	1,3	96,3	0,6	1,2	1,8	95,7	0,5	1,6	1,4	97,8
9	0,2	0,5	1,3	98,5	0,2	0,8	1,1	98,8	0,2	0,5	0,7	100,1	0,3	0,5	1,0	99,6	0,2	0,6	0,7	99,5
10	0,1	0,3	0,4	99,8	0	0,4	0,5	100,2	0,1	0,2	0,4	100,5	0,1	0,2	0,5	100,0	0	0,3	0,4	100,3
11	0	0	0,1	100,3	0	0,1	0,3	100,6	0	0,1	0,2	101,1	0	0,1	0,3	100,5	0	0,1	0,2	100,5
12	0	0	0	100,6	0	0	0,1	100,8	0	0	0,1	101,0	0	0	0,1	100,7	0	0	0	101,3
13	0	0	0	100,5	0	0	0	100,5	0	0	0	100,5	0	0	0	100,4	0	0	0	100,7
14	0	0	0	100,1	0	0	0	100,2	0	0	0	100,1	0	0	0	100,1	0	0	0	100,3
15	0	0	0	100,0	0	0	0	100,0	0	0	0	100,0	0	0	0	100,0	0	0	0	100,0

ССЫЛКИ

1. Signal-enhancement type immunochromatographic gold-labeled test strip and preparation method thereof. 2014. Patent CN 102507929. China.

2. Maiolini E., et al. Bisphenol A determination in baby bottles by chemiluminescence enzyme-linked immunosorbent assay, lateral flow immunoassay and liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Analyst*. 2014, 139(1): 318-324.

3. Sheng W., et al. Lateral flow quantum-dot-based immunochromatographic assay and fluorescence quenching immunochromatographic assay with quantum dots as fluorescence donors to visually detect bisphenol A in food and water samples. *Food Anal. Meth.* 2018, 11(3): 675-685.

4. Peng X.Y., et al. A signal-enhanced lateral flow strip biosensor for ultrasensitive and on-site detection of bisphenol A. *Food Agric. Immunol.* 2018, 29(1): 216-227.

5. Dzantiev B.B., et al. Lateral flow immunoassay for bisphenol A: Development of test strips and their application for ecological monitoring. *J. Physics: Confer. Series*. 2019, 1172, article number 012088.

6. Rapid detecting card of nonyl phenol and detecting method thereof. 2012. Patent CN 102507959 A. China.

7. Устройство для иммунохроматографической экспрессной лабораторной и внелабораторной одновременной детекции токсичных контаминантов - поверхностно активных веществ нонилфенола и бисфенола А, в питьевых, бытовых, природных и сточных водах. 2020. Патент на полезную модель №196383. РФ.

Краткое описание чертежей

На рис. 1 изображена схема заявляемого устройства для иммунохроматографической экспрессной лабораторной и внелабораторной одновременной индивидуальной детекции токсичных контаминантов - ПАВ бисфенола А, нонилфенола и октилфенола в воде. 1 - твердая основа рабочей нитроцеллюлозной мембраны из полистирола, 2 - рабочая нитроцеллюлозная мембрана с нанесенными и высушенными иммунореагентами, 3 - конечная адсорбирующая мембрана для впитывания компонентов образца после прохождения реакции, 4 - стекловолоконная мембрана с нанесенными и высушенными иммунореагентами, 5 - мембрана для впитывания и сепарации исследуемого образца, А - К.З. с нанесенными поликлональными козьими антителами, специфичными к иммуноглобулинам кролика, Б - Т.З.3 с нанесенным конъюгатом октилфенола с белком-носителем БСА, В - Т.З.2 с нанесенным конъюгатом нонилфенола с белком-носителем БСА, Г - Т.З.1 с нанесенным конъюгатом бисфенола А с белком-носителем СИТ.

На рис. 2 изображен алгоритм интерпретации результатов анализа. В том случае,

когда на рабочей мембране тест-полоски появляются четыре красные линии (К.З., Т.З.1, Т.З.2 и Т.З.3), результат анализа считается отрицательным по трем ПАВ (рис. 2а). В том случае, когда на рабочей мембране тест-полоски появляются две красные линии (К.З. и Т.З.1), результат анализа считается отрицательным по бисфенолу А и положительным по нонилфенолу и октилфенолу (рис. 2б). В том случае, когда на рабочей мембране тест-полоски появляются две красные линии (К.З. и Т.З.2), результат анализа считается отрицательным по нонилфенолу и положительным по бисфенолу А и октилфенолу (рис. 2в). В том случае, когда на рабочей мембране тест-полоски появляются две красные линии (К.З. и Т.З.3), результат анализа считается отрицательным по октилфенолу и положительным по бисфенолу А и нонилфенолу (рис. 2г). В том случае, когда на рабочей мембране тест-полоски появляются три красные линии (К.З., Т.З.2 и Т.З.3), результат анализа считается отрицательным по нонилфенолу и октилфенолу и положительным по бисфенолу А (рис. 2д). В том случае, когда на рабочей мембране тест-полоски появляются три красные линии (К.З., Т.З.1 и Т.З.3), результат анализа считается отрицательным по бисфенолу А и октилфенолу и положительным по нонилфенолу (рис. 2е). В том случае, когда на рабочей мембране тест-полоски появляются три красные линии (К.З., Т.З.1 и Т.З.2), результат анализа считается отрицательным по бисфенолу А и нонилфенолу и положительным по октилфенолу (рис. 2ж). В том случае, когда на рабочей мембране тест-полоски появляется одна красная линия (К.З.), результат анализа считается положительным по трем ПАВ (рис. 2з). В том случае, когда на рабочей мембране тест-полоски не образуется ни одной окрашенной линии или образуются только тестовые линии (одна, две или три в любой комбинации), результат анализа считается недействительным (рис. 2и).

(57) Формула полезной модели

Устройство для иммунохроматографической экспрессной лабораторной и внелабораторной одновременной индивидуальной детекции токсичных контаминантов в воде, содержащее тест-полоску, состоящую из полистироловой подложки, на которую наклеены нитроцеллюлозная мембрана с нанесенными и высушенными иммунореагентами, стекловолоконная мембрана с нанесенными и высушенными иммунореагентами, мембрана для впитывания и сепарации исследуемого образца и конечная адсорбирующая мембрана для впитывания компонентов образца после прохождения реакции, на нитроцеллюлозную мембрану нанесены контрольная и три тестовые зоны, отличающиеся тем, что в контрольную зону нанесены поликлональные козы антитела, специфичные к иммуноглобулинам кролика, в первую тестовую зону нанесен конъюгат бисфенола А с белком-носителем соевым ингибитором трипсина, во вторую тестовую зону нанесен конъюгат нонилфенола с белком-носителем бычьим сывороточным альбумином и в третью тестовую зону нанесен конъюгат октилфенола с белком-носителем бычьим сывороточным альбумином, на стекловолоконную мембрану нанесена смесь конъюгатов поликлональных кроличьих антител, специфичных к бисфенолу А, с коллоидным золотом, поликлональных кроличьих антител, специфичных к нонилфенолу, с коллоидным золотом и поликлональных кроличьих антител, специфичных к октилфенолу, с коллоидным золотом.

1

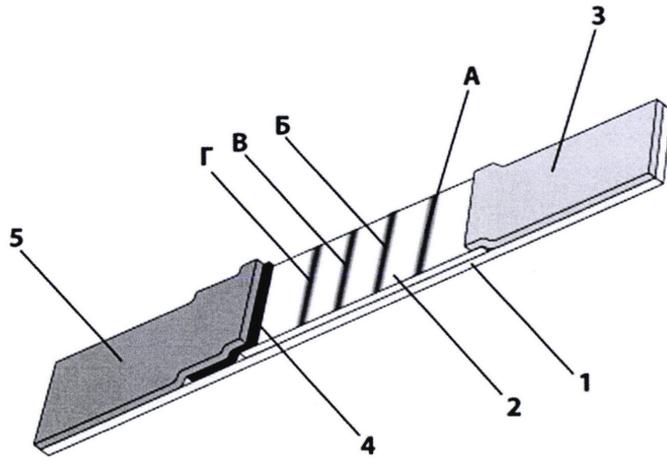


Рис. 1

2

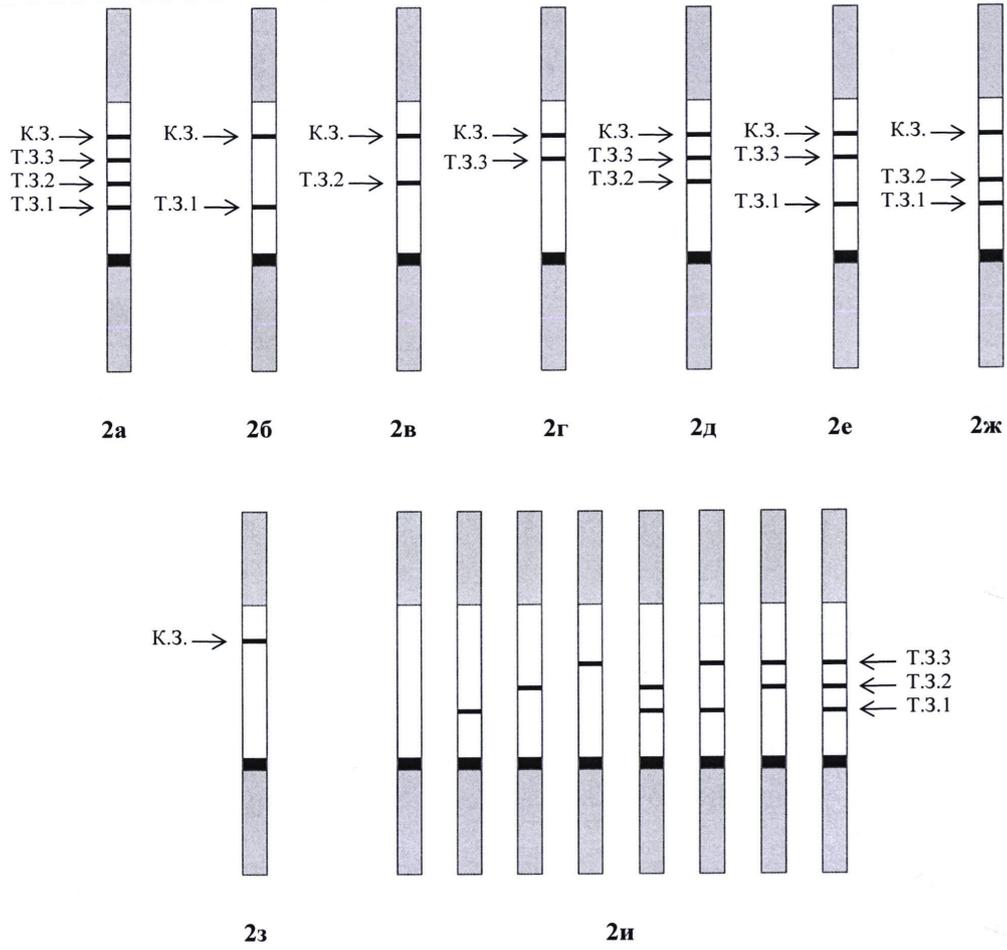


Рис. 2