



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106645683 A

(43)申请公布日 2017.05.10

(21)申请号 201610898665.8

(22)申请日 2016.10.14

(71)申请人 广州安诺食品科学技术有限公司

地址 511000 广东省广州市高新技术产业
开发区科学城揽月路3号广州国际企
业孵化器G区G204号房

(72)发明人 杨鹏博 马丽 张陇清 杨松林
王军

(51)Int.Cl.

G01N 33/532(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

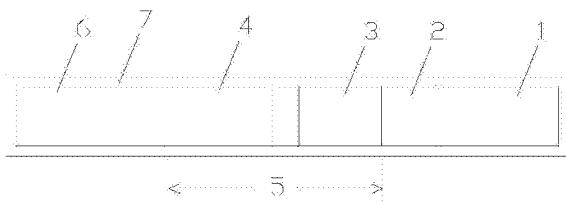
权利要求书2页 说明书6页 附图1页

(54)发明名称

金橙Ⅱ胶体金检测卡及其制备方法

(57)摘要

本发明提供了一种金橙Ⅱ胶体金检测卡，主要用于快速检测食品中是否非法添加金橙Ⅱ成分，该检测卡包括衬底、滤样纸、免疫胶体金纸片、免疫硝酸纤维素膜和吸水纸，其中，滤样纸、免疫胶体金纸片、免疫硝酸纤维素膜和吸水纸依次首尾衔接并固定于衬底上；所述免疫胶体金纸片上包被有胶体金标记的第二种属动物蛋白和抗金橙Ⅱ单克隆抗体，所述免疫硝酸纤维素膜上设有包被有金橙Ⅱ-牛血清白蛋白复合物的检测线和包被有抗第二种属动物蛋白的IgG的质控线。本发明具有特异性强、灵敏性高、操作简单方便等有益效果。使用所需环境温度为4-35℃，适合于个人及工厂、食品卫生质检部门、海关等对食品进行金橙Ⅱ成分的快速检测。



1. 金橙Ⅱ胶体金检测卡，其特征在于：所述检测卡包括衬底、滤样纸、免疫胶体金纸片、免疫硝酸纤维素膜和吸水纸，其中，所述滤样纸、免疫胶体金纸片、免疫硝酸纤维素膜和吸水纸依次首尾衔接并固定于衬底上；所述免疫胶体金纸片上包被有胶体金标记的第二种属动物蛋白和抗金橙Ⅱ单克隆抗体，所述免疫硝酸纤维素膜上设有包被有金橙Ⅱ-牛血清白蛋白复合物的检测线和包被有抗第二种属动物蛋白的IgG的质控线。

2. 根据权利要求1所述的金橙Ⅱ胶体金检测卡，其特征在于：所述的抗第二种属动物蛋白的IgG为羊抗兔IgG。

3. 根据权利要求1所述的金橙Ⅱ胶体金检测卡，其特征在于：所述的第二种属动物蛋白为非抗体来源动物的蛋白质，如牛血清白蛋白、鸡卵白蛋白或人血清白蛋白中的一种，本发明具体为牛血清白蛋白。

4. 根据权利要求1所述的金橙Ⅱ胶体金检测卡，其特征在于：所述免疫胶体金纸片具有胶体金颗粒，胶体金颗粒大小在30nm左右，形状为圆形，大小基本相等，均匀一致，无凝集，所述胶体金是由柠檬酸三钠还原法制备获得。

5. 根据权利要求4所述的金橙Ⅱ胶体金检测卡，其特征在于：所述金橙Ⅱ胶体金检测卡包括经过预处理液进行过预处理的玻璃纤维纸，所述预处理的预处理液包括1～1.5% Tween-80, 6～8% 双糖、多糖，溶剂为水。

6. 如权利要求1-5任意一项所述的金橙Ⅱ胶体金检测卡的制备方法，其特征在于：包括以下步骤：

1) 柠檬酸三钠还原法制备胶体金；

2) 用步骤1) 制备的胶体金，标记第二种属动物蛋白和抗金橙Ⅱ单克隆抗体，获得胶体金标记的第二种属动物蛋白和抗金橙Ⅱ单克隆抗体；

3) 免疫胶体金纸片的制备：预处理玻璃纤维纸；稀释步骤2) 获得的胶体金标记的第二种属动物蛋白和抗金橙Ⅱ单克隆抗体，得到免疫胶体金溶液；用所述免疫胶体金溶液包被预处理过的玻璃纤维纸，获得免疫胶体金纸片；

4) 将金橙Ⅱ-牛血清白蛋白复合物和抗第二种属动物蛋白的IgG分别喷在硝酸纤维素膜检测线和质控线的位置上，烘干备用，制得免疫硝酸纤维素膜；

5) 将滤样纸、免疫胶体金纸片、免疫硝酸纤维素膜、吸水纸依次粘贴在胶板上，切裁制得试剂条；

6) 将试剂条装入塑料盒，即获得金橙Ⅱ胶体金检测卡。

7. 如权利要求6所述的金橙Ⅱ胶体金检测卡的制备方法，其特征在于：所述柠檬酸三钠还原法为：

制备浓度为0.01%的HAuCl₄水溶液100mL，水浴或油浴至95-100℃，控制温度恒定，之后边搅拌边加入1%柠檬酸三钠(Na₃C₆H₅O₇ • 2H₂O)水溶液1.80mL，继续搅拌加热20分钟左右，超声振荡(频率在20-30kHz)2-3分钟后冷却至4.0℃水浴中保持温度恒定，即制得30nm左右粒径的胶体金溶液；

其中，配置各种水溶液均采用双蒸或三蒸去离子水。

8. 如权利要求6所述的金橙Ⅱ胶体金检测卡的制备方法，其特征在于：所述步骤3) 免疫胶体金纸片的制备为：

A. 用喷金缓冲液稀释胶体金标记的抗金橙Ⅱ单克隆抗体，获得OD₅₄₀值为1.5的免疫胶

体金溶液；

B. 用预处理液浸泡玻璃纤维纸，干燥后，再用免疫胶体金溶液喷涂预处理后的玻璃纤维纸，干燥，制得免疫胶体金纸片。

9. 如权利要求8所述的金橙Ⅱ胶体金检测卡的制备方法，其特征在于：所述步骤A中的喷金缓冲液配方如下：10~15%1.0M Tris液，0.2~0.5%聚乙二醇20000，0.1~0.2%牛血清白蛋白，0.1~0.3%脱脂牛奶，0.4~0.6%酪蛋白，和0.02~0.08%叠氮化钠，用盐酸调节pH至8.0±0.05，余量为水。

10. 如权利要求6所述的金橙Ⅱ胶体金检测卡的制备方法，其特征在于：所述步骤4)中，喷在硝酸纤维素膜质控线(C线)上的抗第二种属动物蛋白的IgG的浓度为0.3~0.5mg/ml，喷在硝酸纤维素膜检测线(T线)上的金橙Ⅱ-牛血清白蛋白复合物浓度为0.4~0.6mg/ml。

金橙Ⅱ胶体金检测卡及其制备方法

技术领域

[0001] 属于食品安全检测领域,具体涉及食品中非法添加物的检测方法,特别是金橙Ⅱ试纸检测方法。

背景技术

[0002] 金橙Ⅱ,又名酸性橙Ⅱ、二号橙、桔黄橙或酸性金黄Ⅱ,俗名金黄粉,化学名为2-萘酚偶氮对苯磺酸钠,是一种非生物合成着色剂,易溶于乙醇、乙腈等。是一种化工染料,主要用于皮革、纺织物染色,禁止作为食品添加剂使用。但其具有色泽鲜艳、着色稳定、价廉等特点,一些不法商贩将其用于药材生产与加工,严重危害了消费者健康。

[0003] 金黄粉具有较强的毒性和致癌性,国内外有关规定均严禁用于食品着色。然而,近年来,广东、四川等地均有报道某些厂家在烧腊等食品中滥用这类染料,存在着严重的食品安全隐患。目前,金橙Ⅱ检验方法多为高效液相色谱法、液相色谱-串联质谱、反相高效液相色谱法等。高效液相色谱及液质联用色谱等方法是最先进的现代分析手段,能够很好的分离检测金橙Ⅱ,并且达到一个很低的检测限,灵敏度非常高。采用标准品对照法,可以非常精确的检测出样本中金橙Ⅱ的含量。

[0004] 另外,市面上还未发现有金橙Ⅱ的快检检测卡,若采用上述实验方法,操作过程都比较复杂,实验时间长、实验成本高,且并不适用于现场检测。

发明内容

[0005] 本发明的目的是提供一种金橙Ⅱ胶体金检测卡,主要用于快速检测食品中是否非法添加金橙Ⅱ成分。

[0006] 本发明采用的技术方案如下:一种金橙Ⅱ胶体金检测卡,包括试剂条,所述试剂条包括衬底、滤样纸、免疫胶体金纸片、免疫硝酸纤维素膜和吸水纸;所述滤样纸、免疫胶体金纸片、免疫硝酸纤维素膜和吸水纸依次首尾衔接并固定于所述衬底上;所述免疫胶体金纸片上包被有胶体金标记的第二种属动物蛋白和抗金橙Ⅱ单克隆抗体,所述免疫硝酸纤维素膜上设有包被有金橙Ⅱ-牛血清白蛋白复合物的检测线和包被有抗第二种属动物蛋白的IgG的质控线。

[0007] 较优的,所述免疫胶体金纸片具有胶体金颗粒,胶体金颗粒大小在30nm左右。

[0008] 较优的,所述胶体金是由柠檬酸三钠还原法制备获得,柠檬酸三钠还原法为:制备浓度为0.01%的HAuCl₄水溶液100mL,水浴或油浴至95-100℃,控制温度恒定,之后边搅拌边加入1%柠檬酸三钠(Na₃C₆H₅O₇ • 2H₂O)水溶液1.80mL,继续搅拌加热20分钟左右,超声振荡(频率在20-30kHz)2-3分钟后冷却至4.0℃水浴中保持温度恒定,即制得30nm左右粒径的胶体金溶液;

[0009] 其中,配置各种水溶液均采用双蒸或三蒸去离子水。

[0010] 采用上述方法制得的胶体金清亮透明,粒径尺寸均一,无凝集颗粒,基本未发现非球形粒子。

[0011] 较优的,所述免疫胶体金纸片是经过预处理的玻璃纤维纸,所述预处理的预处理液包括1~1.5%Tween-80,6~8%双糖或多糖,溶剂为水。

[0012] 本发明的另一目的是提供一种金橙Ⅱ胶体金检测卡的制备方法,包括以下步骤:

[0013] 1) 柠檬酸三钠还原法制备胶体金;

[0014] 2) 用步骤1)制备的胶体金,标记抗金橙Ⅱ单克隆抗体,获得胶体金标记的第二种属动物蛋白和抗金橙Ⅱ单克隆抗体,即所需免疫胶体金;

[0015] 3) 免疫胶体金纸片的制备:预处理玻璃纤维纸;稀释步骤2)获得的胶体金标记的第二种属动物蛋白和抗金橙Ⅱ单克隆抗体,得到免疫胶体金溶液;用所述免疫胶体金溶液包被预处理过的玻璃纤维纸,获得免疫胶体金纸片;

[0016] 4) 将金橙Ⅱ-牛血清白蛋白复合物和抗第二种属动物蛋白的IgG分别喷在硝酸纤维素膜检测线(T线)和质控线(C线)的位置上,烘干备用,制得免疫硝酸纤维素膜;

[0017] 5) 将滤样纸、免疫胶体金纸片、免疫硝酸纤维素膜、吸水纸依次粘贴在胶板上,裁制得试剂条;

[0018] 6) 最后将试剂条装入塑料盒,即获得金橙Ⅱ胶体金检测卡。

[0019] 其中,较优的,步骤2)中,胶体金标记的抗金橙Ⅱ单克隆抗体的比例为:向胶体金中按照18~20 μ g抗体/(mI胶体金)的比例加入抗金橙Ⅱ单克隆抗体,制备得到免疫胶体金(抗金橙Ⅱ单克隆抗体-胶体金)。

[0020] 较优的,步骤3)中,每30~35mI预处理液浸泡玻璃纤维纸261mm×220mm×0.5mm,干燥后,再用免疫胶体金溶液喷涂玻璃纤维纸,每261mm×220mm×0.5mm玻璃纤维纸上喷涂20~25mI免疫胶体金溶液,干燥,制得免疫胶体金纸片。

[0021] 较优的,步骤4)中,喷在硝酸纤维素膜质控线(C线)上的抗第二种属动物蛋白的IgG的浓度为0.3~0.5mg/mI,喷在硝酸纤维素膜检测线(T线)上的金橙Ⅱ-牛血清白蛋白复合物浓度为0.4~0.6mg/mI。

[0022] 较优的,每1m长硝酸纤维素膜分别包被有1mI的羊抗兔IgG和金橙Ⅱ-牛血清白蛋白复合物溶液,检测线和质控线的间距为5.0mm。

[0023] 本发明的采用了柠檬酸三钠还原法,得到胶体金分子呈大小均一的30nm球形颗粒,由于胶体金颗粒大小适中、整体均一,使其与单克隆抗体的结合效率更高、效果更稳定。

[0024] 本发明金橙Ⅱ胶体金检测卡的工作原理为:利用高度特异的抗体-抗原特异性结合反应及免疫膜层析技术,通过免疫竞争抑制法来定性检测食品中出现的金橙Ⅱ成分。

[0025] 检测卡内的检测试剂条是实现金橙Ⅱ检测的关键,在试剂条检测线(T线)包被了金橙Ⅱ-牛血清白蛋白复合物;在试剂条的免疫胶体金纸片上固定有胶体金标记的抗金橙Ⅱ单克隆抗体。当样品提取液从加样孔加入,渗透到试剂条的加样垫上,被检样本首先与玻璃纤维膜上的胶体金标记的金橙Ⅱ单克隆抗体结合,并通过毛细作用继续层析至免疫硝酸纤维素膜,顺序通过免疫硝酸纤维素膜上喷点了金橙Ⅱ-牛血清白蛋白复合物的检测线和喷点了抗第二种属动物蛋白的IgG的质控线。如果样品提取液中含有金橙Ⅱ,它们将与金橙Ⅱ-牛血清白蛋白复合物竞争胶体金-抗金橙Ⅱ抗体上有限的抗原结合位点,当金橙Ⅱ浓度达到产品设计的阈值浓度以上时,它们将占据抗金橙Ⅱ单克隆抗体上的部分或全部的抗原结合位点,这样就阻止了胶体金标记的抗金橙Ⅱ单克隆抗体和检测线的金橙Ⅱ-牛血清白蛋白复合物结合,检测线不能捕获到足够的胶体金颗粒而出现较质控线浅的红色色带或无

红色色带出现,检测结果呈阳性。如果样品提取液中没有金橙Ⅱ或金橙Ⅱ的浓度低于阈值浓度,则抗金橙Ⅱ单克隆抗体-胶体金随同样品提取液运行至检测线,检测线捕获到胶体金颗粒而呈现较质控线深或一样深的红色色带,检测结果呈阴性。

[0026] 在试剂条上的质控线(C线)包被有抗第二种属动物蛋白的IgG,以指示检测卡反应系统工作是否正常(免疫胶体金纸片上的第二种属动物蛋白,随样品在纸条上的运行已经到达质控线所在位置,第二种属动物蛋白与抗第二种属动物蛋白的IgG结合,即可出现红色色带)。质控线的出现与金橙Ⅱ的存在无关。质控线条带的出现表明:①样品加入量充足②样品在纸条上运行正常。

[0027] 本发明检测卡样品处理方法是:称取待测样品表皮或样本液体于反应容器中,加入适量溶剂,充分震荡混匀,使金橙Ⅱ尽可能多的溶到溶剂中。该溶剂可以是水、乙醇、甲醇或其他溶剂中的一种或几种。其中优选为纯净水,因为水最为安全(保护操作者),提取效果理想,所述溶剂的体积可优选所取食品量的3~5倍,这样可以将食品中的金橙Ⅱ充分提取,又不用将金橙Ⅱ的含量稀释太多以降低检出效果。

[0028] 胶体金试纸条的使用方法:

[0029] 1. 将检测卡放置在水平台面上。

[0030] 2. 用加样吸管吸取样品提取液,然后滴5滴(约120uL)样品提取液到检测卡的加样孔中。每检测一份不同的样品注意要使用不同的吸管。

[0031] 3. 观察结果:在滴加样品后5~8分钟判读结果。

[0032] 检测结果的判断方法:

[0033] 阴性:在结果观察窗口内出现两条色带,T线(检测线,靠近加样孔一端)显色比C线深或一样深,表示样品中无金橙Ⅱ存在。

[0034] 阳性:在结果观察窗口,T线明显比C线浅或T线无显色,表示样品中有金橙Ⅱ存在。

[0035] 无效:质控线(C线)不出现。任何情况下,C线均应形成,表示加样和操作正确。C线未出现表明测试结果是不确定的,可能是操作不当或试剂板已失效,应重做。

[0036] 本发明具有特异性强、灵敏性高、操作简单方便等有益效果,使用所需环境温度为4~35℃,适合于个人及工厂、食品卫生质检部门、海关等对食品进行金橙Ⅱ成分的快速检测。

[0037] 本发明具有特异性强、灵敏性高、操作简单方便等有益效果,使用所需环境温度为4~35℃,适合于个人及工厂、食品卫生质检部门、海关等对食品进行金橙Ⅱ成分的快速检测,并且本发明方法在检测步骤和检测成本上都有着明显的优势。

附图说明

[0038] 图1为金橙Ⅱ胶体金检测卡的试剂条示意图,图中:1.滤样纸;2.免疫胶体金纸片;3.检测线;4.质控线;5.免疫硝酸纤维素膜;6.吸水纸;7.衬底。

具体实施方式

[0039] 以下结合具体实施例,进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明,而非限制本发明的范围。

[0040] 如图1所示,一种金橙Ⅱ胶体金检测卡,包括试剂条,所述试剂条包括衬底7、滤样

纸1、免疫胶体金纸片2、免疫硝酸纤维素膜5和吸水纸6；所述滤样纸1、免疫胶体金纸片2、免疫硝酸纤维素膜5和吸水纸6依次首尾衔接并固定于所述衬底7上；所述免疫胶体金纸片2上包被有胶体金标记的第二种属动物蛋白和抗金橙Ⅱ单克隆抗体，所述免疫硝酸纤维素膜上设有包被有金橙Ⅱ-牛血清白蛋白复合物的检测线3和包被有抗第二种属动物蛋白的IgG的质控线4。

[0041] 以下为本发明的实施例：

[0042] 实施例1：金橙Ⅱ胶体金检测卡的制备；

[0043] 1. 胶体金的制备：柠檬酸三钠还原法：

[0044] 制备浓度为0.01%的HAuCl₄水溶液100mL，水浴或油浴至99℃，控制温度恒定，之后边搅拌边加入1%柠檬酸三钠(Na₃C₆H₅O₇·2H₂O)水溶液1.80mL，继续搅拌加热20分钟左右，超声振荡，频率为25kHz，3分钟后冷却至4.0℃水浴中保持温度恒定，即制得30nm左右粒径的胶体金溶液；

[0045] 其中，配置各种水溶液均采用双蒸或三蒸去离子水。

[0046] 2. 免疫胶体金的制备；

[0047] 2.1 将抗金橙Ⅱ单克隆抗体用0.1M pH8.0的磷酸盐缓冲液稀释至浓度为1.0mg/mL的抗体溶液。

[0048] 2.2 取1000mL的胶体金溶液，往里加入100mL的0.1M pH 8.0磷酸盐缓冲液混合3分钟。在快速搅拌下，再缓缓将稀释的抗金橙Ⅱ单克隆抗体溶液20mL加入其中。室温反应5分钟并不时缓缓搅拌。

[0049] 2.3 反应结束后，在上述反应液中快速加入20mL的10%的牛血清白蛋白(BSA)溶液，室温反应5分钟并不时缓缓搅拌。

[0050] 2.4 将制备好的免疫胶体金8000转/min离心20分钟，保留沉淀，并收集上清10000转/min离心30分钟，弃上清。收集两次离心沉淀用含有0.1%BSA的硼酸缓冲液复溶到OD₅₄₀在10。

[0051] 3. 免疫胶体金纸制备；

[0052] 3.1 预处理液的制备：准确称取10mL Tween-80, 70g可溶性淀粉，加纯化水定容至1000mL。

[0053] 3.2 喷金缓冲液的制备：取800mL纯化水，往里加入150mL 1.0M Tris液，用盐酸调节pH至8.0。准确称取3.0g聚乙二醇20000、2.0g牛血清白蛋白，2.0g脱脂牛奶，5.0g酪蛋白溶液和0.6g叠氮化钠加入溶液中，充分溶解，混合均匀，加纯化水至总体积1000mL。

[0054] 3.3 用喷金缓冲液稀释胶体金标记的抗金橙Ⅱ单克隆抗体，至溶液OD₅₄₀值为1.5，获得免疫胶体金溶液。

[0055] 3.4 用预处理液浸泡玻璃纤维纸，每30mL预处理液浸泡玻璃纤维纸261mm×220mm×0.5mm，浸泡30min后，37℃下干燥；再用免疫胶体金溶液喷涂玻璃纤维纸，每261mm×220mm×0.5mm玻璃纤维纸上喷涂25mL免疫胶体金溶液，干燥，制得免疫胶体金纸片。

[0056] 4. 免疫硝酸纤维素膜的制备；

[0057] 4.1 将羊抗兔IgG用磷酸盐缓冲液稀释成0.4mg/mL，制得质控线(C线)溶液。

[0058] 4.2 将金橙Ⅱ-牛血清白蛋白复合物用磷酸盐缓冲液稀释至蛋白浓度为0.5mg/mL，制得检测线(T线)溶液。

[0059] 4.3用点膜机喷点C线、T线溶液,制得免疫硝酸纤维素膜。每1m长硝酸纤维素膜分别包被有1mI的C线和T线溶液,检测线和质控线的间距为5.0mm。

[0060] 5.如图1所示,将滤样纸、免疫胶体金纸片、免疫硝酸纤维素膜、吸水纸依次粘贴在胶板上,切裁成宽度为4mm的试剂条。

[0061] 6.将检测试剂条装入塑料盒内即得检测检测卡。

[0062] 本发明设计的金橙Ⅱ胶体金检测卡的阈值为1 $\mu\text{g}/\text{mI}$ 。

[0063] 实施例2:金橙Ⅱ胶体金检测卡的灵敏度实验;

[0064] 1.检测方法:

[0065] (1)取实施例1制备的金橙Ⅱ胶体金检测卡,将检测卡放置在水平台面上。

[0066] (2)用加样吸管吸取样品,然后滴5滴(约120 μl)样品到检测卡的加样孔中。每检测一份不同的样品使用不同的吸管。

[0067] (3)观察结果:在滴加样品后5-10分钟判读结果。

[0068] 2.检测样品:

[0069] 配置金橙Ⅱ浓度为0 $\mu\text{g}/\text{mI}$,0.1 $\mu\text{g}/\text{mI}$,0.5 $\mu\text{g}/\text{mI}$,1 $\mu\text{g}/\text{mI}$,2 $\mu\text{g}/\text{mI}$,的质控参考品作为样品,每个浓度重复3次。

[0070] 3.检测结果:

[0071] 浓度为0 $\mu\text{g}/\text{mI}$,0.1 $\mu\text{g}/\text{mI}$,0.5 $\mu\text{g}/\text{mI}$ 的样本均显示阴性,1 $\mu\text{g}/\text{mI}$,2 $\mu\text{g}/\text{mI}$ 的样本均显示阳性。本发明检测卡的检测灵敏度为1 $\mu\text{g}/\text{mI}$,该金橙Ⅱ胶体金检测卡灵敏度符合检测要求。

[0072] 实施例3:金橙Ⅱ胶体金检测卡的特异性实验。

[0073] 1.检测方法:

[0074] (1)取实施例1制得的金橙Ⅱ胶体金检测卡,将检测卡放置在水平台面上。

[0075] (2)用加样吸管吸取用于检测交叉反应实验的检测样品,然后滴5滴(约120 μl)样品到检测卡的加样孔中。每检测一份不同的样品使用不同的吸管。

[0076] (3)观察结果:在滴加样品后5-10分钟判读结果。

[0077] 2.检测样品:

[0078] 用不同浓度的碱性橙、碱性橙II、柠檬黄、日落黄等对本发明的检测卡进行检测,观察是否发生交叉反应。

[0079] 3.检测结果:

[0080] 结果证实,本发明的检测卡对金橙Ⅱ的检测不会受到碱性橙、碱性橙II、柠檬黄、日落黄等的干扰,即本发明的金橙Ⅱ胶体金检测卡在一定浓度下,不会与类似效果的染料产生交叉反应,特异性良好。

[0081] 实施例4:金橙Ⅱ胶体金检测卡的重复性和稳定性实验;

[0082] 一、检测卡的批内和批间重复性实验;

[0083] 1.实验方法:

[0084] 将同批和不同批次的金橙Ⅱ胶体金检测卡分别检测0.1、0.5、1、2 $\mu\text{g}/\text{mI}$ 标准品,每个浓度重复3次,观察检测卡的重复性。

[0085] 2.实验结果:经验证,金橙Ⅱ胶体金检测卡的批内和批间重复性为100%,假阳性率和假阴性率均为0。

[0086] 二、检测卡的稳定性实验：

[0087] 1. 实验目的：

[0088] 将金橙Ⅱ胶体金检测卡密封保存，并存放于4℃及室温(25℃左右)下，观察不同存放温度对检测卡稳定性的影响。

[0089] 2. 实验方法：

[0090] 保存于4℃的检测卡每20天取出4份次，分别检测0.1、0.5、1、2 μ g/ml浓度的标准品；保存于室温(25℃)的检测卡每10天取出4份次，分别检测0.1、0.5、1、2 μ g/ml浓度的标准品。

[0091] 3. 实验结果：

[0092] 经验证，试剂条在4℃下可保存24个月，在室温下可保存18个月，在可保存的期限内，检测卡均可达到1 μ g/ml的检测灵敏度。

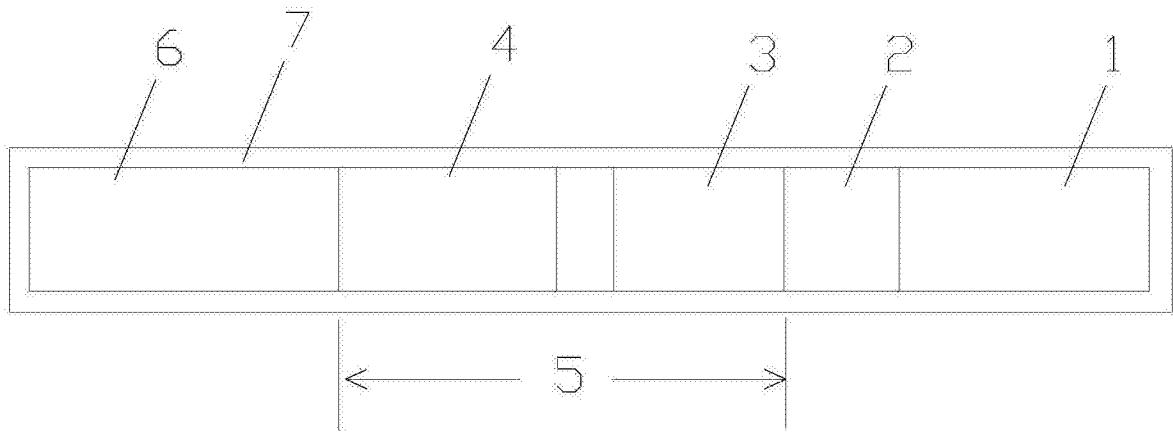


图1

专利名称(译)	金橙II胶体金检测卡及其制备方法		
公开(公告)号	CN106645683A	公开(公告)日	2017-05-10
申请号	CN201610898665.8	申请日	2016-10-14
[标]申请(专利权)人(译)	广州安诺食品科学技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	广州安诺食品科学技术有限公司		
[标]发明人	杨鹏博 马丽 张陇清 杨松林 王军		
发明人	杨鹏博 马丽 张陇清 杨松林 王军		
IPC分类号	G01N33/532 G01N33/543 G01N33/558 G01N33/577		
CPC分类号	G01N33/577 G01N33/532 G01N33/543 G01N33/558		
外部链接	Espacenet Sipo		

摘要(译)

本发明提供了一种金橙II胶体金检测卡，主要用于快速检测食品中是否非法添加金橙II成分，该检测卡包括衬底、滤样纸、免疫胶体金纸片、免疫硝酸纤维素膜和吸水纸，其中，滤样纸、免疫胶体金纸片、免疫硝酸纤维素膜和吸水纸依次首尾衔接并固定于衬底上；所述免疫胶体金纸片上包被有胶体金标记的第二种属动物蛋白和抗金橙II单克隆抗体，所述免疫硝酸纤维素膜上设有包被有金橙II-牛血清白蛋白复合物的检测线和包被有抗第二种属动物蛋白的IgG的质控线。本发明具有特异性强、灵敏性高、操作简单方便等有益效果。使用所需环境温度为4-35℃，适合于个人及工厂、食品卫生质检部门、海关等对食品进行金橙II成分的快速检测。

