



## (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109061136 A

(43)申请公布日 2018.12.21

(21)申请号 201811018736.6

(22)申请日 2018.09.03

(71)申请人 四川省轻工业研究设计院

地址 610081 四川省成都市金牛区白马寺街19号

(72)发明人 邓莉 王立博 张永辉 鲁时旭  
孙婉玲 成晓情 周欣睿 刘婧玮

(74)专利代理机构 北京众合诚成知识产权代理有限公司 11246

代理人 夏艳

(51)Int.Cl.

G01N 33/533(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

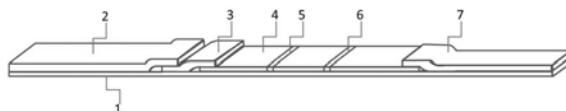
权利要求书1页 说明书3页 附图1页

### (54)发明名称

一种食品中苏丹红I的荧光免疫层析试纸及快速检测方法

### (57)摘要

本发明公开了一种食品中苏丹红I的荧光免疫层析试纸及快速检测方法,涉及食品安全领域。荧光免疫层析试纸包括底板,底板上依次相互交错粘贴有样品垫、结合垫、包被膜和吸水纸;包被膜贴合在底板中部,包被膜一侧边缘上端贴合结合垫,另一侧边缘上端贴合吸水纸,结合垫远离包被膜的一侧边缘上方贴覆样品垫,结合垫上包被有荧光微球标记的苏丹红I特异性单克隆抗体,包被膜上包被有检测线和质控线。本发明荧光免疫层析试纸能够实现对食品中苏丹红I的快速检测,特异性强,灵敏度高,操作简便且成本低廉。



1. 一种食品中苏丹红I的荧光免疫层析试纸,其特征在于,包括底板,所述底板上依次相互交错粘贴有样品垫、结合垫、包被膜和吸水纸;所述包被膜贴合在所述底板中部,所述包被膜一侧边缘上端贴合所述结合垫,所述包被膜另一侧边缘上端贴合所述吸水纸,所述结合垫远离所述包被膜的一侧边缘上方贴覆所述样品垫;所述结合垫上包被有荧光微球标记的苏丹红I特异性单克隆抗体,所述包被膜上包被有检测线和质控线。

2. 如权利要求1所述的食品中苏丹红I的荧光免疫层析试纸,其特征在于,所述包被膜上的检测线和质控线相互平行,所述检测线靠近所述结合垫,所述质控线靠近所述吸水纸。

3. 如权利要求1或2所述的食品中苏丹红I的荧光免疫层析试纸,其特征在于,所述检测线由苏丹红I抗原构成,所述质控线由羊抗鼠IgG构成。

4. 如权利要求1所述的食品中苏丹红I的荧光免疫层析试纸,其特征在于,所述样品垫为玻璃纤维棉。

5. 如权利要求1所述的食品中苏丹红I的荧光免疫层析试纸,其特征在于,所述结合垫为聚酯纤维膜。

6. 如权利要求1所述的食品中苏丹红I的荧光免疫层析试纸,其特征在于,所述包被膜为硝酸纤维素膜。

7. 如权利要求1所述的食品中苏丹红I的荧光免疫层析试纸,其特征在于,所述荧光微球为直径为100nm-300nm的稀土镧离子螯合物掺杂的微球,微球表面带有活性基团羧基。

8. 如权利要求3所述的食品中苏丹红I的荧光免疫层析试纸,其特征在于,所述苏丹红I抗原为苏丹红I与载体物质牛血清蛋白(BSA)形成的偶合物。

9. 一种食品中苏丹红I的荧光免疫层析试纸快速检测方法,其特征在于,将样品待测液滴加于权利要求1-8任一项所述的荧光免疫层析试纸的样品垫上,然后在紫外灯下观察,当检测线和质控线都发光时,则为阴性;当检测线消失,只有质控线发光时,则为阳性,此时苏丹红I浓度大于等于 $10\mu\text{g}/\text{kg}$ ,从而达到半定量检测。

## 一种食品中苏丹红I的荧光免疫层析试纸及快速检测方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于食品安全领域,具体地说,涉及一种食品中苏丹红I的荧光免疫层析试纸及快速检测方法。

### 背景技术

[0002] 苏丹红是一类人工合成的亲脂性偶氮化合物,主要包括I、II、III和IV四类,其中,苏丹红II、III、IV都是苏丹红I的衍生物。苏丹红由于具有鲜亮的红色常被不法商家添加到食品中,借以改善感官性状,吸引消费者,其中以苏丹红I最为常见。苏丹红I在代谢过程中降解产生的中等毒性致癌物苯胺,会引发中毒性肝病,长期摄入也可造成人神经系统损害。

[0003] 目前苏丹红I的主要检测方法为仪器检测(如高效液相色谱法)。而仪器检测费用昂贵,样品前处理复杂(需要经过繁复的分离、提取、净化等过程),耗时长,不能对多个样品同时检测,且需要专业人员操作而不易普及。因此需要建立一种快速可靠,操作简便,节约成本的检测食品中苏丹红I的方法。

### 发明内容

[0004] 有鉴于此,本发明针对现有苏丹红I采用仪器检测费用昂贵、耗时常的问题,提供了一种食品中苏丹红I的荧光免疫层析试纸,还提供了利用该荧光免疫层析试纸快速检测食品中苏丹红I的方法。

[0005] 为了解决上述技术问题,本发明公开了一种食品中苏丹红I的荧光免疫层析试纸,包括底板,底板上依次相互交错粘贴有样品垫、结合垫、包被膜和吸水纸;包被膜贴合在底板中部,包被膜一侧边缘上端贴合结合垫,包被膜另一侧边缘上端贴合吸水纸,结合垫远离包被膜的一侧边缘上方贴覆样品垫;结合垫上包被有荧光微球标记的苏丹红I特异性单克隆抗体,包被膜上包被有检测线和质控线。

[0006] 进一步地,检测线由苏丹红I抗原构成,质控线由羊抗鼠IgG构成。

[0007] 进一步地,包被膜上的检测线和质控线相互平行,检测线靠近结合垫,质控线靠近吸水纸。

[0008] 进一步地,样品垫为玻璃纤维棉。

[0009] 进一步地,结合垫为聚酯纤维膜。

[0010] 进一步地,包被膜为硝酸纤维素膜。

[0011] 进一步地,荧光微球为直径为100nm-300nm的稀土镧离子螯合物掺杂的微球,微球表面带有活性基团羧基。

[0012] 进一步地,苏丹红I抗原为苏丹红I与载体物质牛血清蛋白(BSA)形成的偶合物。

[0013] 本发明还公开了一种食品中苏丹红I的荧光免疫层析试纸快速检测方法,将样品待测液滴加于荧光免疫层析试纸的样品垫上,然后在紫外灯下观察,当检测线和质控线都发光时,则为阴性;当检测线消失,只有质控线发光时,则为阳性,此时苏丹红I浓度大于等于10 $\mu$ g/kg,从而达到半定量检测。

[0014] 与现有技术相比,本发明可以获得包括以下技术效果:

[0015] 1) 本发明荧光免疫层析试纸,特异性强。与苏丹红 II、III、IV 无交叉反应。

[0016] 2) 本发明食品中苏丹红 I 的荧光免疫层析试纸及快速检测方法,操作方便,设备简单。铈离子螯合物荧光微球在紫外灯下发红光,结果易于判别。

[0017] 3) 该方法的检出限苏丹红 I 为 10 $\mu$ g/kg。

[0018] 当然,实施本发明的任一产品并不一定需要同时达到以上所述的所有技术效果。

## 附图说明

[0019] 此处所说明的附图用来提供对本发明的进一步理解,构成本发明的一部分,本发明的示意性实施例及其说明用于解释本发明,并不构成对本发明的不当限定。在附图中:

[0020] 图1是本发明食品中苏丹红 I 的荧光免疫层析试纸的结构示意图。

[0021] 图中,1、底板,2、样品垫,3、结合垫,4、包被膜,5、检测线,6、质控线,7、吸水纸。

## 具体实施方式

[0022] 以下将配合实施例来详细说明本发明的实施方式,借此对本发明如何应用技术手段来解决技术问题并达成技术功效的实现过程能充分理解并据以实施。

[0023] 如图1所示,本发明实施例公开了一种食品中苏丹红 I 的荧光免疫层析试纸,包括底板1,底板1上依次相互交错粘贴有样品垫2、结合垫3、包被膜4和吸水纸7;包被膜4贴合在底板1中部,包被膜4一侧边缘上端贴合结合垫3,包被膜4另一侧边缘上端贴合吸水纸7,结合垫3远离包被膜4的一侧边缘上方贴覆样品垫2;结合垫3上包被有荧光微球标记的苏丹红 I 特异性单克隆抗体,其中荧光微球为直径为100nm-300nm的稀土铈离子螯合物掺杂的微球,微球表面带有活性基团羧基,包被膜4上包被有检测线5和质控线6。

[0024] 包被膜4上的检测线5和质控线6相互平行,检测线5靠近结合垫3,质控线6靠近吸水纸7;检测线5由苏丹红 I 抗原构成,质控线6由羊抗鼠 IgG 构成。其中苏丹红 I 抗原为苏丹红 I 与载体物质牛血清蛋白 (BSA) 形成的偶合物。

[0025] 进一步地,样品垫2为玻璃纤维棉;结合垫3为聚酯纤维膜;包被膜4为硝酸纤维素膜。

[0026] 下面结合附图和具体实施例进一步说明本发明荧光免疫层析试纸的快速检测方法。

[0027] 实施例1

[0028] 主要步骤如下:

[0029] (1) 制备荧光微球标记的苏丹红 I 特异性单克隆抗体的复合物并喷涂在结合垫3上;

[0030] 荧光微球标记的苏丹红 I 抗体的复合物的制备方法如下:将200 $\mu$ L、1% (w/v) 的铈离子螯合物荧光微球加入到800 $\mu$ L、0.2mol/L、pH=8.2的硼酸缓冲溶液中,超声分散后再加入20mg 碳二亚胺 (EDC) 和10mg N-羟基琥珀酰亚胺,振荡反应2小时后,离心洗涤后分散于1mL 硼酸缓冲溶液中,后加入160 $\mu$ L、1.0mg/mL 的苏丹红 I 特异性单克隆抗体溶液,反应过夜。离心分离后用含1% (w/v) BSA 的硼酸缓冲溶液封闭2小时,离心洗涤后置于1mL 硼酸缓冲液中4 $^{\circ}$ C 保存。最后将储存液按1:100的比例稀释于含0.5% (w/v) BSA、2.5% (v/v) Tween-

20, 0.5% (w/v) 聚乙烯吡咯烷酮、2% (w/v) 海藻糖、0.02% (w/v) 叠氮化钠、pH8.2的硼酸缓冲溶液中, 使用定量喷膜仪喷涂于结合垫3上, 在37℃烘干2小时, 放入干燥器中避光保存备用。

[0031] (2) 在包被膜4的不同位置分别包被苏丹红I抗原(苏丹红I-BSA偶合物)和羊抗鼠IgG, 形成检测线5和质控线6;

[0032] 包被膜4的制备方法为: 将0.5mg/mL的苏丹红I-BSA偶合物和1.0mg/mL的羊抗鼠IgG以0.60cm的间隔喷涂于包被膜4(即硝酸纤维素膜)上, 形成检测线5和质控线6, 再在37℃烘干3小时, 放入干燥器中保存备用。

[0033] (3) 试纸组装。在底板1上依次相互交错的粘贴上样品垫2、结合垫3、包被膜4和吸水纸5, 然后切割成0.4cm大小, 放入干燥器中保存备用。

[0034] (4) 食品中苏丹红I的检测, 包括样品前处理、荧光试纸的使用以及结果判定。

[0035] 检测过程中, 以市售豆瓣酱中的苏丹红I检测为例。

[0036] 先对豆瓣酱进行前处理: 称取豆瓣酱2g, 加入10mL乙腈, 振荡提取5分钟, 离心分离后取上清液5mL氮气吹干, 最后加入1mL、0.2mol/L、pH=8.2的硼酸缓冲溶液复溶, 所得即为样品待测液。

[0037] 检测时, 将100μL如上样品待测液滴加在样品垫2上, 通过层析作用在试纸上泳动, 若样品待测液中含有苏丹红I, 则苏丹红I与结合垫中荧光微球标记的苏丹红I抗体免疫结合, 进而封闭荧光微球-抗体上苏丹红I的抗原结合点, 抑制抗体与检测线5上苏丹红I-BSA偶合物结合, 随着样品中苏丹红I含量的升高, 结合于检测线5上的抗体量减少, 相应检测线上的荧光强度也随之减弱。而质控线6上的羊抗鼠IgG不受苏丹红I浓度而影响荧光微球标记的抗体的结合。

[0038] 由于铕离子螯合物荧光微球在紫外灯下发出鲜亮的红光, 试纸免疫反应8分钟后, 将其置于365nm的紫外灯下观察。阴性结果呈现两条红色荧光, 及检测线5和质控线6, 而当苏丹红I高于或等于10μg/kg时, 检测线5消失, 只出现一条质控线6, 此时则为阳性结果。检测过程快速简便, 结果直观。

[0039] 上述说明示出并描述了发明的若干优选实施例, 但如前所述, 应当理解发明并非局限于本文所披露的形式, 不应看作是对其他实施例的排除, 而可用于各种其他组合、修改和环境, 并能够在本文所述发明构想范围内, 通过上述教导或相关领域的技术或知识进行改动。而本领域人员所进行的改动和变化不脱离发明的精神和范围, 则都应在发明所附权利要求的保护范围内。

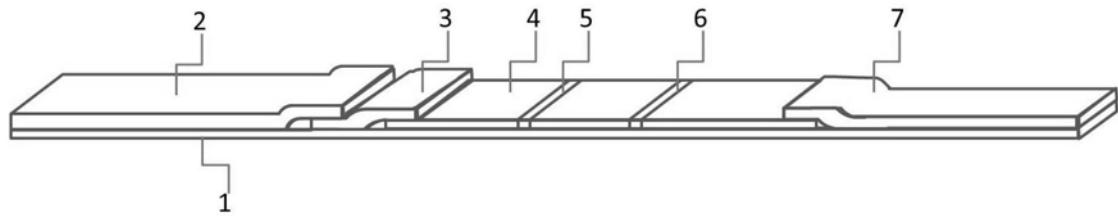


图1

专利名称(译)	一种食品中苏丹红I的荧光免疫层析试纸及快速检测方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN109061136A</a>	公开(公告)日	2018-12-21
申请号	CN201811018736.6	申请日	2018-09-03
[标]发明人	邓莉 王立博 张永辉 鲁时旭 孙婉玲 成晓情 周欣睿 刘婧玮		
发明人	邓莉 王立博 张永辉 鲁时旭 孙婉玲 成晓情 周欣睿 刘婧玮		
IPC分类号	G01N33/533 G01N33/543		
CPC分类号	G01N33/533 G01N33/54313		
代理人(译)	夏艳		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明公开了一种食品中苏丹红I的荧光免疫层析试纸及快速检测方法，涉及食品安全领域。荧光免疫层析试纸包括底板，底板上依次相互交错粘贴有样品垫、结合垫、包被膜和吸水纸；包被膜贴合在底板中部，包被膜一侧边缘上端贴合结合垫，另一侧边缘上端贴合吸水纸，结合垫远离包被膜的一侧边缘上方贴覆样品垫，结合垫上包被有荧光微球标记的苏丹红I特异性单克隆抗体，包被膜上包被有检测线和质控线。本发明荧光免疫层析试纸能够实现对食品中苏丹红I的快速检测，特异性强，灵敏度高，操作简便且成本低廉。

