



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106568965 A

(43)申请公布日 2017.04.19

(21)申请号 201610898635.7

(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 33/577(2006.01)  
G01N 33/531(2006.01)

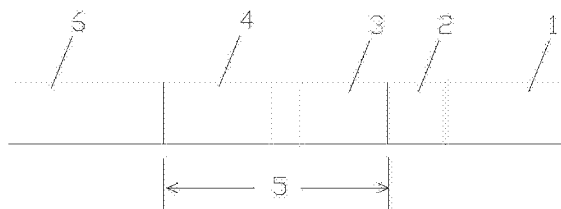
权利要求书2页 说明书6页 附图1页

(54)发明名称

金胺O胶体金检测卡及其制备方法

(57)摘要

本发明提供了一种金胺O胶体金检测卡,主要用于快速检测中药材、中药饮片及食品中是否非法添加金胺O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抗金胺O单克隆抗体,所述免疫硝酸纤维素膜上设有包被有金胺O-牛血清白蛋白复合物的检测线和包被有羊抗兔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、海关等中药材、中药饮片及食品进行金胺O成分的快速检测。



1. 一种金胺O胶体金检测卡,其特征在于: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,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抗金胺O单克隆抗体,所述免疫硝酸纤维素膜上设有包被有金胺O-牛血清白蛋白复合物的检测线和包被有羊抗兔IgG的质控线。

2. 根据权利要求1所述的金胺O胶体金检测卡,其特征在于:所述免疫胶体金纸片中胶体金的颗粒大小为35nm,形状为圆形。

3. 根据权利要求2所述的金胺O胶体金检测卡,其特征在于:所述金胺O胶体金检测卡是经过预处理液预处理的玻璃纤维纸,所述预处理液包括0.3~0.4v% Tween-20, 6~10w/v% 蛋白质、蛋白质片段、合成多肽、半合成多肽或双糖、多糖,溶剂为水。

4. 如权利要求1-3任一权利要求所述的金胺O胶体金检测卡的制备方法,包括以下步骤:

1) 两步还原法制备胶体金;

所述两步还原法为:

a. 第一次还原氯金酸溶液:制备浓度为0.01%的 $\text{HAuCl}_4$ 水溶液100mI,加热煮沸20-30分钟,之后边搅拌边加入1%柠檬酸三钠( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )水溶液2.00mI,用频率在20-30kHz的超声振荡2-3分钟后冷却至室温,即制得16nm左右粒径的胶体金原溶液;

b. 第二次还原氯金酸溶液:将第一步制得的胶体金原溶液放置于4.0℃水浴中保持温度恒定,随后按胶体金原溶液与 $\text{HAuCl}_4$ 水溶液体积比1:1.9~2.0加入4.0℃的1% $\text{HAuCl}_4$ 水溶液,随后立即边搅拌边滴加4.0℃的抗坏血酸与PVP的混合水溶液,加入的抗坏血酸与本步骤加入的 $\text{HAuCl}_4$ 的摩尔比为27~28:1,加入的PVP与本步骤加入的 $\text{HAuCl}_4$ 的重量比为1:1.8~2.0,反应中保持温度恒定,搅拌至反应完全,溶液呈透明的酒红色,制得35nm左右粒径的胶体金溶液;

2) 用步骤1)制备的胶体金标记抗金胺O单克隆抗体,获得胶体金标记的抗金胺O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抗金胺O单克隆抗体,OD540值为2.0的免疫胶体金溶液;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) 将金胺O-牛血清白蛋白复合物和羊抗兔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,即获得金胺O胶体金检测卡。

5. 根据权利要求4所述的金胺O胶体金检测卡的制备方法,其特征在于:所述两步还原法中,配置各种水溶液均采用双蒸或三蒸去离子水。

6. 根据权利要求4所述的金胺O胶体金检测卡的制备方法,其特征在于:所述两步还原法中步骤b)中,抗坏血酸与PVP的混合水溶液的滴加速度为1-2滴/秒。

7. 根据权利要求4所述的金胺O胶体金检测卡的制备方法,其特征在于:所述两步还原法中步骤b)中,所述抗坏血酸与PVP的混合水溶液中,抗坏血酸的浓度为3%,PVP的浓度为

0.137-0.139%，并且搅拌反应为60分钟。

8. 根据权利要求4所述的金胺O胶体金检测卡的制备方法，其特征在于：所述步骤3)中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胺O单克隆抗体，获得OD<sub>540</sub>值为2.0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. 根据权利要求8所述的金胺O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：8~12% 1.0m Tris液，0.2~0.4% 聚乙二醇20000，0.15~0.25% 牛血清白蛋白，0.1~0.3% 脱脂牛奶，0.35~0.40% 酪蛋白，和0.02~0.08% 叠氮化钠，用盐酸调节pH至7.5±0.05，余量为水。

10. 根据权利要求8所述的金胺O胶体金检测卡的制备方法，其特征在于：所述步骤b中每28-35ml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18-25ml免疫胶体金溶液，干燥，制得免疫胶体金纸片。

## 金胺O胶体金检测卡及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于中药材及中药饮片安全检测领域,涉及中药材及中药饮片中非法添加物的检测方法,特别是一种金胺O胶体金检测卡及其制备方法。

### 背景技术

[0002] 金胺O,又称盐基淡黄、金丝雀黄、奥黄、碱性槐黄等,为化工色素,被国际癌症研究所(IARC)列为人类致癌化合物,主要用于醋纤、棉织品的染色,和纸张、皮革、油漆等的着色。金胺O对人体具有一定毒性作用,对皮肤黏膜有轻度刺激,可引起结膜炎、皮炎和上呼吸道刺激症状,长期过量食用,将对人体肾脏、肝脏造成损害甚至致癌,卫生部早于2008年将其列为非食用物质。

[0003] 中药养生是近些年的热门话题,然中药材质量实在令人担忧,采用化工染料对中药材染色的问题更是屡见不鲜,其中金胺O主要用于黄色药材的染色,曾发现被用于劣质黄柏、蒲黄、延胡索等中药材、中药饮片的非法染色。病人在不知情的情况下长期使用,容易引起暂时性或持久性的病理状态,甚至危及生命,故在中药材、中药饮片和中成药中均不得检出。

[0004] 目前对于中药材中非法添加金胺O的检测,主要采用薄层色谱法(TLC法)、高效液相色谱法(HPLC法)、高效液相色谱串联紫外检测(HPLC-PAD法)、高效液相色谱-质谱联用(HPLC-MS/MS)二级质谱对样品进行确认。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胺O,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胺O的含量。

[0005] 另外,市面上还未发现有金胺O的快检试剂盒,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

[0006] 本发明的目的是针对现有技术的不足,提供一种金胺O胶体金检测卡及其制备方法,主要用于快速检测中药材、中药饮片及食品中是否非法添加金胺O成分。

[0007] 本发明采用的技术方案如下:一种金胺O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抗金胺O单克隆抗体,所述免疫硝酸纤维素膜上设有包被有金胺O-牛血清白蛋白复合物的检测线和包被有羊抗兔IgG的质控线。

[0008] 较优的,所述免疫胶体金纸片中胶体金的颗粒大小为35nm,形状为圆形。

[0009] 较优的,所述胶体金由两步还原法制备获得,其具体的步骤为:

[0010] a) 第一次还原氯金酸溶液:制备浓度为0.01%的 $\text{HAuCl}_4$ 水溶液100mI,加热煮沸20-30分钟,之后边搅拌边加入1%柠檬酸三钠( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )水溶液2.00mI,用频率在20-30kHz的超声振荡2-3分钟后冷却至室温,即制得16nm左右粒径的胶体金原溶液;

[0011] b) 第二次还原氯金酸溶液:将第一步制得的胶体金原溶液放置在4.0℃水浴中保持温度恒定,随后按胶体金原溶液与HAuCl<sub>4</sub>水溶液体积比1:1.9~2.0加入4.0℃的1% HAuCl<sub>4</sub>水溶液,随后立即边搅拌边滴加4.0℃的抗坏血酸与PVP的混合水溶液,加入的抗坏血酸与本步骤加入的HAuCl<sub>4</sub>的摩尔比为27~28:1,加入的PVP与本步骤加入的HAuCl<sub>4</sub>的重量比为1:1.8~2.0,反应中保持温度恒定,搅拌至反应完全,溶液呈透明的酒红色,制得35nm左右粒径的胶体金溶液;

[0012] 两步还原法中,配置各种水溶液均采用双蒸或三蒸去离子水。

[0013] 最优的,步骤b)中,抗坏血酸与PVP的混合水溶液的滴加速度为1-2滴/秒。

[0014] 最优的,步骤b)中,所述抗坏血酸与PVP的混合水溶液中,抗坏血酸的浓度为3%,PVP的浓度为0.137-0.139%。

[0015] 步骤b)中,搅拌反应约为60分钟。

[0016] 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。

[0017] 较优的,所述免疫胶体金纸片为经过预处理的玻璃纤维纸,所述预处理的预处理液包括0.3~0.4v% Tween-20,6~10w/v%蛋白质、蛋白质片段、合成多肽、半合成多肽或双糖、多糖,溶剂为水。

[0018] 本发明的另一目的是提供一种金胺O胶体金检测卡的制备方法,其包括以下步骤:

[0019] 1) 两步还原法制备胶体金;

[0020] 2) 用步骤1)制备的胶体金标记抗金胺O单克隆抗体,获得胶体金标记的抗金胺O单克隆抗体,即所需免疫胶体金;

[0021] 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抗金胺O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;

[0022] 4) 将金胺O-牛血清白蛋白复合物和羊抗兔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;

[0023] 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,切割制得试剂条;

[0024] 6) 最后将试剂条装入塑料盒,即获得金胺O胶体金检测卡。

[0025] 其中,较优的,步骤2)中,胶体金标记的抗金胺O单克隆抗体的比例为:向胶体金中按照18-25μg抗体/(mI胶体金)的比例加入抗金胺O单克隆抗体,制备得到免疫胶体金(抗金胺O单克隆抗体-胶体金)。

[0026] 较优的,步骤b)中,每28-35mI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18-25mI免疫胶体金溶液,干燥,制得免疫胶体金纸片。

[0027] 较优的,步骤4)中,喷在硝酸纤维素膜质控线(C线)上的羊抗兔IgG的浓度为0.4~0.6mg/mI,喷在硝酸纤维素膜检测线(T线)上的金胺O-牛血清白蛋白复合物浓度为0.3~0.5mg/mI。

[0028] 较优的,每1m长硝酸纤维素膜分别包被有1mI的羊抗兔IgG和金胺O-牛血清白蛋白复合物溶液,检测线和质控线的间距为5.0mm。

[0029] 本发明的采用了两步还原法,使得到的胶体金分子呈大小均一的35nm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。

[0030] 本发明金胺O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中药材、中药饮片及食品中出现的金胺O成分。

[0031] 试剂卡内的检测试剂条是实现金胺O检测的关键,在试剂条检测线(T线)包被了金胺O-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胺O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胺O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胺O-牛血清白蛋白复合物的检测线和喷点了羊抗兔IgG的质控线。如果样品提取液中含有金胺O,它们将与金胺O-牛血清白蛋白复合物竞争胶体金-抗金胺O抗体上有限的抗原结合位点,当金胺O浓度达到产品设计的阈值浓度以上时,它们将占据抗金胺O单克隆抗体上全部的抗原结合位点,这样就阻止了胶体金标记的抗金胺O单克隆抗体和检测线的金胺O-牛血清白蛋白复合物结合,检测线不能捕获到胶体金颗粒而无红色色带出现,检测结果呈阳性。如果样品提取液中没有金胺O或金胺O的浓度低于阈值浓度,则抗金胺O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红色色带,检测结果呈阴性。

[0032] 在试剂条上的质控线(C线)包被有羊抗兔IgG,以指示试剂盒反应系统工作是否正常。质控线的出现与金胺O的存在无关。质控线色带的出现表明:①样品加入量充足②样品在纸条上运行正常。

[0033] 本发明检测卡样品处理方法是:向待测中药材、中药饮片或食品中加入适量溶剂(包括水、乙醇等)进行提取,使金胺O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,所述溶剂的体积可优选所取中药材量的0.5~2倍,这样可以将中药材中的金胺O充分提取,又不用将金胺O的含量稀释太多以降低检出效果。

[0034] 胶体金试纸条的使用方法:

[0035] 1.将检测卡放置在水平台面上。

[0036] 2.用加样吸管吸取样品提取液,然后滴5滴(约120uI)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。

[0037] 3.观察结果:在滴加样品后5-10分钟判读结果。

[0038] 检测结果的判断方法:

[0039] 阴性:在结果观察窗口内出现两条色带,即检测线(T线)和质控线(C线)位置各出现一条红色线条,表示样品中无金胺O存在。

[0040] 阳性:只在结果观察窗口的质控线(C线)位置出现一条红色线条,检测线(T线)未出现任何线条,表示样品中有金胺O存在。

[0041] 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,应重做。

[0042] 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、海关等中药材、中药饮片及食品进行金胺O

成分的快速检测。

### 附图说明

[0043] 图1为本发明所述金胺0胶体金检测卡的结构示意图。

[0044] 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。

### 具体实施方式

[0045] 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。

[0046] 一种金胺0胶体金检测卡,包括试剂条,所述试剂条包括衬底、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上;所述免疫胶体金纸片2上包被有胶体金标记的抗金胺0单克隆抗体,所述免疫硝酸纤维素膜5上设有包被有金胺0-牛血清白蛋白复合物的检测线3和包被有羊抗兔IgG的质控线4。

[0047] 所述免疫胶体金纸片2中胶体金的颗粒大小为35nm,形状为圆形。

[0048] 以下为金胺0胶体金检测卡制备的具体实施例:

[0049] 实施例1:金胺0胶体金检测卡的制备;

[0050] 1.胶体金的制备:两步还原法制备胶体金;

[0051] a.第一次还原氯金酸溶液:制备浓度为0.01%的 $\text{HAuCl}_4$ 水溶液100mI,加热煮沸25分钟,之后边搅拌边加入1%柠檬酸三钠( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )水溶液2.00mI,超声振荡(频率为25kHz)3分钟后冷却至室温,即制得16nm左右粒径的胶体金原溶液;

[0052] b.第二次还原氯金酸溶液:将第一步制得的胶体金原溶液30mI放置于4.0℃水浴中保持温度恒定,随后加入预冷为4.0℃的1% $\text{HAuCl}_4$ 水溶液60mI,随后立即边搅拌边滴加4.0℃的3%抗坏血酸与0.139%PVP(聚乙烯吡咯烷酮)的混合水溶液,滴加速度为1-2滴/秒,搅拌至反应完全,约60分钟左右,溶液呈透明的酒红色,制得35nm左右粒径的胶体金溶液;

[0053] 两步还原法中,配置各种水溶液均采用双蒸或三蒸去离子水。

[0054] 2.免疫胶体金的制备

[0055] 2.1将抗金胺0单克隆抗体用0.1M pH 7.5的磷酸盐缓冲液稀释至浓度为1.0mg/mI的抗体溶液。

[0056] 2.2取1000mI的胶体金溶液,往里加入1/10倍胶体金体积的0.1M pH 7.5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胺0单克隆抗体溶液20mI加入其中。室温反应5分钟并不时缓缓搅拌。

[0057] 2.3反应结束后,在上述反应液中快速加入20mI的10wt%的牛血清白蛋白(BSA)溶液,室温反应5分钟并不时缓缓搅拌。

[0058] 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0.1wt%BSA的硼酸缓冲液复溶到 $\text{OD}_{540}$ 在13。

[0059] 3. 免疫胶体金纸制备

[0060] 3.1 预处理液的制备: 准确称取3mI Tween-20, 80g可溶性淀粉, 加纯化水定容至1000mI。

[0061] 3.2 喷金缓冲液的制备: 取800mI纯化水, 往里加入100mI 1.0M Tris液, 用盐酸调节pH至7.5。准确称取3.0g聚乙二醇20000、2.0g牛血清白蛋白, 3.0g脱脂牛奶, 4.0g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1000mI。

[0062] 3.3 用喷金缓冲液稀释胶体金标记的抗金胺0单克隆抗体, 至溶液OD<sub>540</sub>值为2.0, 获得免疫胶体金溶液。

[0063] 3.4 用预处理液浸泡玻璃纤维纸, 每28mI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20mI免疫胶体金溶液, 干燥, 制得免疫胶体金纸片。

[0064] 4. 免疫硝酸纤维素膜的制备

[0065] 4.1 将羊抗兔IgG用磷酸盐缓冲液稀释成0.6mg/mI, 制得质控线(C线)溶液。

[0066] 4.2 将金胺0-牛血清白蛋白复合物用磷酸盐缓冲液稀释至蛋白浓度为0.4mg/mI, 制得检测线(T线)溶液。

[0067] 4.3 用点膜机喷点C、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。

[0068] 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, 切割成宽度为4mm的试剂条(如图1所示)。

[0069] 6. 将检测试剂条装入塑料盒内即得检测试剂盒。

[0070] 本发明设计的金胺0胶体金检测卡的阈值为0.1μg/mI。

[0071] 实施例2: 金胺0胶体金检测卡的灵敏度实验;

[0072] 1. 检测方法:

[0073] (1) 取实施例1制备的金胺0胶体金检测卡, 将检测卡放置在水平台面上。

[0074] (2) 用加样吸管吸取样品, 然后滴5滴(约120uI)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。

[0075] (3) 观察结果: 在滴加样品后5-10分钟判读结果。

[0076] 2. 检测样品:

[0077] 配置金胺0浓度为0μg/mI, 0.01μg/mI, 0.05μg/mI, 0.1μg/mI, 0.2μg/mI, 0.5μg/mI的质控参考品作为样品, 每个浓度重复3次。

[0078] 3. 检测结果:

[0079] 浓度为0μg/mI, 0.01μg/mI, 0.05μg/mI的样本均显示阴性, 0.1μg/mI, 0.2μg/mI, 0.5μg/mI的样本均显示阳性。本发明检测卡的检测灵敏度为0.1μg/mI, 该金胺0胶体金检测卡灵敏度符合检测要求。

[0080] 实施例3: 金胺0胶体金检测卡的特异性实验;

[0081] 1. 检测方法:

[0082] (1) 取实施例1制得的金胺0胶体金检测卡, 将检测卡放置在水平台面上。

[0083] (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120uI)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。

[0084] (3) 观察结果:在滴加样品后5-10分钟判读结果。

[0085] 2. 检测样品:

[0086] 用不同浓度的碱性橙、碱性橙II、酸性橙I、酸性橙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。

[0087] 3. 检测结果:

[0088] 结果证实,本发明的检测卡对金胺O的检测不会受到碱性橙、碱性橙II、酸性橙I、酸性橙II、柠檬黄、日落黄等的干扰,即本发明的金胺O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。

[0089] 实施例4:金胺O胶体金检测卡的重复性和稳定性实验;

[0090] 一、检测卡的批内和批间重复性实验;

[0091] 1. 实验方法:

[0092] 将同批和不同批次的金胺O胶体金检测卡分别检测0.05、0.1、0.2、0.5 $\mu\text{g}/\text{mI}$ 标准品,每个浓度重复3次,观察检测卡的重复性。

[0093] 2. 实验结果:经验证,金胺O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。

[0094] 二、检测卡的稳定性实验;

[0095] 1. 实验目的:

[0096] 将金胺O胶体金检测卡密封保存,并存放于4 $^{\circ}\text{C}$ 及室温(25 $^{\circ}\text{C}$ 左右)下,观察不同存放温度对检测卡稳定性的影响。

[0097] 2. 实验方法:

[0098] 保存于4 $^{\circ}\text{C}$ 的检测卡每10天取出4份次,分别检测0.05、0.1、0.2、0.5 $\mu\text{g}/\text{mI}$ 浓度的标准品;保存于室温(25 $^{\circ}\text{C}$ )的检测卡每周取出4份次,分别检测0.05、0.1、0.2、0.5 $\mu\text{g}/\text{mI}$ 浓度的标准品。

[0099] 3. 实验结果:

[0100] 经验证,试剂条在4 $^{\circ}\text{C}$ 下可保存18个月,在室温下可保存12个月,在可保存的期限内,检测卡均可达到0.1 $\mu\text{g}/\text{mI}$ 的检测灵敏度。

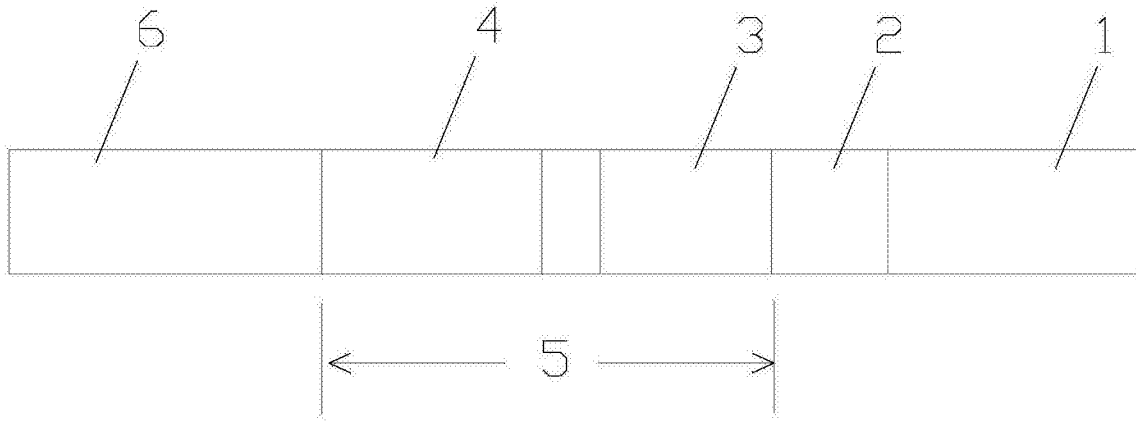


图1

专利名称(译)	金胺O胶体金检测卡及其制备方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN106568965A</a>	公开(公告)日	2017-04-19
申请号	CN201610898635.7	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		
当前申请(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	G01N33/577 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/558 G01N33/531		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明提供了一种金胺O胶体金检测卡，主要用于快速检测中药材、中药饮片及食品中是否非法添加金胺O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抗金胺O单克隆抗体，所述免疫硝酸纤维素膜上设有包被有金胺O-牛血清白蛋白复合物的检测线和包被有羊抗兔IgG的质控线。本发明具有特异性强、灵敏度高、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、海关等中药材、中药饮片及食品进行金胺O成分的快速检测。

