

膠體金免疫層析法 檢測乳製品中三聚氰胺



文 | 康玉專 李珺 梁家欣 陳寶華 黃佩儀

一、引言

自從2008年內地的毒奶粉事件以後，有關乳製品中三聚氰胺（melamine）的檢測引起了政府部門及社會各界的廣泛關注。三聚氰胺是一種含氮雜環有機化合物，是重要的氮雜環有機化工原料，主要用於工業生產，常被不法商人用作食品添加劑，以冒充食品中的蛋白質，被稱為“蛋白精”。由於乳製品中的蛋白質主要由氨基酸組成，其含氮量一般不超過30%，平均含氮量為16%，每100g牛奶中添加0.1g三聚氰胺，就能提高0.4%蛋白質。食品中蛋白質測試方法常採用凱氏定氮法測定總氮來估算蛋白質含量。這種方法只能知道氮的總量，不能識別氮的來源和氮源的種類，這就為三聚氰胺的非法添加提供了可乘之機。

目前，三聚氰胺及其代謝物的分析檢測主要依賴儀器聯用技術如液相色譜-質譜/質譜法（LC-MS/MS）法。為了幫助學生對三聚氰胺的測量及危害有所瞭解，作者在2012學年申請了課題《課外化學研究性學習的探究》，並得到澳門科技發展基金大力資助。本研究主要是借鑒目前醫學界普遍受到重視的一種較先進的快速檢測方法“膠體金免疫層析法”，定性判斷乳製品中是否含有三聚氰胺，此法能準確、快速、簡便地檢測三聚氰胺（MEL）。

二、實驗原理

本實驗所用到的三聚氰胺金標試紙條的結構如圖1所示。在樣品墊上滴加樣品後，樣品會由於層析作用向檢測線T和質控線C方向移動，

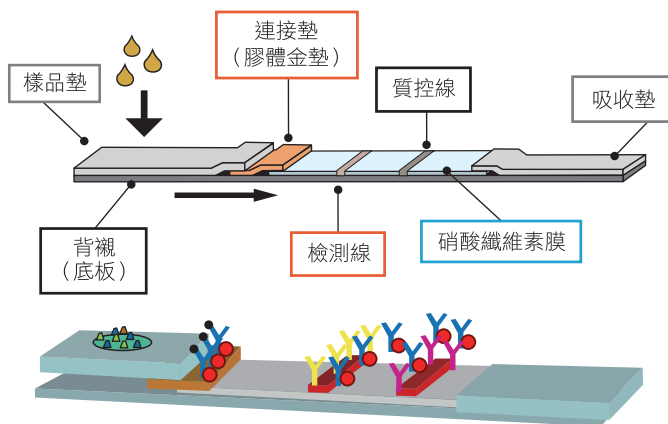


圖 1：三聚氰胺金標試紙條的結構

通過免疫反應在T線或C線顯示出明顯的顏色。

本檢測方法的原理主要是採用膠體金免疫層析法中的競爭抑制法，其原理如圖 2 所示。

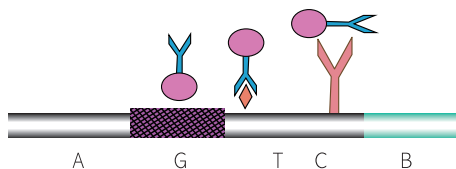


圖 2：免疫層析試驗競爭法測小分子抗原原理圖

(C是質控線包被抗免疫金抗體，T是檢測包被標準抗原線，G處為金標抗體，測試時待測標本加於A端)

競爭法是指當被檢溶液中含有一定量以上的抗原物質時，抗原分子會識別膠體金標記的抗體上的特異性部位發生免疫反應並完全飽和這些特異性結合部位，而形成有膠體金粒子攜帶的抗體抗原複合物，在試紙條上部吸水材料的牽引力下，膠體金粒子向上擴散，當進入硝酸纖維素膜時，膠體金粒子就猶如分子篩柱層析中的大分子物質一樣，在硝酸纖維素膜的孔徑中發生層析。當到達硝酸纖維素膜上點加了同一抗原的檢測線位置時，由膠體金粒子攜帶來的抗體抗原複合物中抗體分子上已沒有空餘的特異性

結合部位可與檢測線抗原結合，膠體金複合物不會在此處聚集，故檢測線不顯示膠體金的紅色，免疫膠體金粒子則繼續層析，當到達點加了二抗的質控線位置時，會有紅色出現，此結果為陽性結果。如果被檢測溶液中沒有或含有很少量的抗原，這些抗原不足以飽和膠體金抗體的特異性結合部位，剩餘的膠體金抗體複合物到達檢測線時，便會和檢測線的抗原結合，從而此處顯示膠體金的紅色，其餘未反應的免疫膠體金粒子則繼續層析，當到達點加了二抗的質控線位置時，會有紅色條帶出現，此表示陰性結果。若試紙條質控線無紅色條帶出現，則說明試紙條已失效，見下圖 3 所示。

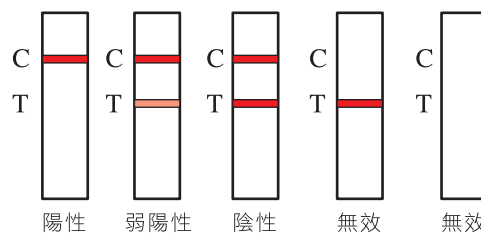


圖 3：膠體金試紙條檢測結果判斷模式圖

三、實驗材料

三聚氰胺金標試紙條若干、吸管、市面上三款牛奶（內地伊利牛奶、香港維他牛奶、外國 FOREMOST 牛奶）

四、實驗步驟

1、測驗樣本的準備

取出待測乳製品樣本，放置實驗枱上10至15分鐘平衡至室溫（請不要使用冷的乳製品進行測試，否則會影響實驗結果），取出實驗用的金標試紙條，平放在實驗枱上。

2、乳製品樣本的檢測

用吸管吸取牛奶樣本，往加樣孔垂直滴加2~3滴，待5~10分鐘後判讀結果。

3、觀察金標條的變化

根據說明書上膠體金試紙條檢測結果判斷模式圖判斷結果。

五、實驗結果與討論

把待測樣品垂直滴加到加樣孔後，過一段時間，可以看到樣品向檢測區移動，並在檢測線和質控線位置出現條帶。若僅在試紙的質控線位置處出現紫紅色的條帶，表明待檢液中含有相應的抗原即為陽性樣品；若在試紙條的質控線和檢測線的位置處分別出現一條紫紅色的條帶，表明待檢液中含有相應的抗原在檢測下限以下即為陰性樣品；若在試紙的質控線和檢測線的位置處都無紫紅色的條帶出現，或在試紙的檢測線的位置處出現條帶而在質控線位置無紫紅色的條帶出現，表明該檢測結果為無效結果。



內地 伊利牛奶 香港 維他牛奶 外國 FOREMOST牛奶

圖4：三種樣品的檢測線和質控線的顏色變化

本實驗的三個檢測樣品在檢測線和質控線都有紅色條帶出現，如圖4所示，且5~10分鐘過後，可以明顯看到每條試紙條的紅色條帶都

穩定沒有變化，說明試紙條沒有失效，試紙條對三個樣品的檢測是成功的有效的，三個樣品都呈陰性。

六、結論

近幾年奶粉事件使人們對三聚氰胺的毒性異常關注，因此對於三聚氰胺的檢測要求也越來越嚴。本研究表明用膠體金免疫層析法檢測三聚氰胺，不需特殊大型儀器設備，僅用試紙條就能快速、準確、簡便地測定某乳製品中是否含有三聚氰胺，且特異性強、試驗的重複性、穩定性效果較好，可用於對大批乳製品樣品的篩選檢測，對保證乳製品的品質安全、保護人們的身體健康具有重要意義。

康玉專

濠江中學教師。

李 珺 梁家欣 陳寶華 黃佩儀

濠江中學學生。