DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20251117003
引用格式: 相海峤, 田秀梅. 骆驼乳掺假快速检测试纸条的研制及应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(10): 140–147.
XIANG HQ, TIAN XM. Development and application of rapid detection test strips for camel milk adulteration [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(10): 140–147. (in Chinese with English abstract).

骆驼乳掺假快速检测试纸条的研制及应用

相海峤[1], 田秀梅[2*]

(1. 黑龙江八一农垦大学食品学院, 大庆 163319; 2. 北京中盛世康科技有限公司, 北京 102101)

摘 要: 目的 制备一种基于特异性抗原、抗体反应的快速检测试纸条, 用于骆驼乳掺假的快速、高敏检测。**方法** 利用牛乳和骆驼乳 α-乳白蛋白结构差异, 开发特异性抗体, 并采用间接竞争胶体金免疫层析技术, 开发检测试纸条。**结果** 该试纸条可检测骆驼乳掺假, 其灵敏度能够达到 0.03%, 此外也可用于检测骆驼乳粉中的掺假, 其检测灵敏度以乳粉计可达到 0.1%。**结论** 本研究开发的胶体金快速层析检测试纸条, 灵敏度高、操作便捷、成本低, 大大地提高了检测效率, 对骆驼乳掺假的快速检测和筛查起到重要的作用。

关键词: 骆驼乳; 掺假; 试纸条; 抗体

Development and application of rapid detection test strips for camel milk adulteration

XIANG Hai-Qiao[1], TIAN Xiu-Mei[2*]

(1. *College of Food Science*, *Heilongjiang Bayi Agricultural University*, *Daqing* 163319, *China*;
2. *Beijing Zhongsheng Shikang Technology Co*., *Ltd*., *Beijing* 102101, *China*)

ABSTRACT: Objective To develop a rapid detection test strip based on specific antigen-antibody reactions, which can be used for rapid and highly sensitive detection of camel milk adulteration. **Methods** By utilizing the structural differences of α-lactalbumin between cow's milk and camel milk, specific antibodies were developed. Then, an indirect competitive colloidal gold immunochromatographic technique was adopted to develop the detection test strip. **Results** The test strip could detect adulteration in camel milk, with a sensitivity of up to 0.03%. In addition, it could also be used to detect adulteration in camel milk powder and its detection sensitivity could reach 0.1% when calculated based on milk powder. **Conclusion** The colloidal gold rapid chromatographic detection test strip developed in this study has high sensitivity, convenient operation and low cost. It greatly improves the detection efficiency and plays an important role in the rapid detection and screening of camel milk adulteration.

KEY WORDS: camel milk; adulteration; test strip; antibody

收稿日期: 2025-11-17
第一作者: 相海峤(2005—), 女, 主要研究方向为食品科学与工程。E-mail: xianghaiqiao666@qq.com
***通信作者:** 田秀梅(1987—), 女, 硕士, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: 562990313@qq.com

0 引　言

随着人们对骆驼乳研究的深入, 其营养和医用价值愈加凸显。从营养成分上看, 骆驼乳富含优质蛋白和脂肪, 其中蛋白含量高达 4%, 脂肪含量高达 6%以上[1], 易于消化和吸收, 此外还含有钙、铁、维生素 A、维生素 B 及维生素 C 以及不饱和脂肪酸等多种有益于人体健康的营养成分。长期食用骆驼乳及其制品, 能够有效提高人体预防各种疾病的免疫能力[2]。在医用价值方面, 研究较多的是其对糖尿病的辅助治疗作用[3–4], 其核心在于骆驼乳中胰岛素的含量是牛乳中的约 3~4 倍[5]; 也有报道显示其在慢性肾功能衰竭及肝炎的治疗上有辅助作用。除此之外, 包括骆驼乳粉、骆驼乳化妆品等在内的副产品也逐步被开发和应用[6]。

骆驼乳因高营养、高价值, 价格远高于牛乳, 可达到 90~120 元/kg, 而且供不应求[7]。受高额利润驱动, 骆驼乳掺假现象随之出现, 一般掺假成分主要是牛乳, 因成分类似, 很难辨别[8]。目前常规的检测方法主要有超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)[9]、聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增法[10–11]、微生物法及生物传感器法等[12]。但这些方法并不适合于现场检测, 且存在设备昂贵、需专人操作、耗时较久等缺点[13]。在食品安全检测方面, 胶体金免疫层析技术, 方法成熟, 且成本低、易操作, 是现场检测最便捷的方法[14]。骆驼源与牛源 *α*-乳白蛋白的氨基酸序列具有高度相似性, 其相似度约为 82.9%; 骆驼源 *α*-乳白蛋白缺乏游离巯基, 而牛源 *α*-乳白蛋白则存在游离巯基。这一结构差异导致骆驼源 *α*-乳白蛋白在加热时蛋白质聚合现象极少, 而牛源 *α*-乳白蛋白更易发生热诱导聚集。本研究基于牛乳与骆驼乳 *α*-乳白蛋白的结构差异[15], 制备了以牛乳 *α*-乳白蛋白为靶抗原的抗体。基于该抗体, 利用间接竞争免疫法的原理[16], 采用胶体金免疫层析技术, 开发出能够满足快速、方便、高效、低成本、高灵敏、现场检测骆驼乳掺假的胶体金试纸条, 为骆驼乳企业质量安全问题的把控提供一种高效快速的方法。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

骆驼乳(新疆乳农); 牛乳(延庆乳农)。

牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)(纯度 98%)、*α*-乳白蛋白(纯度>85%)、酪蛋白(纯度>90%)、乳球蛋白(纯度≥90%)(德国 Sigma 公司); 骆驼乳掺假抗体、抗原、胶体金溶液(自制); 羊抗鼠免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG)(纯度>85%, 南通博爱瑞生物科技有限公司); 磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、氯化钠、吐温-20、蔗糖、海藻糖、柠檬酸、柠檬酸三钠、氯金酸、碳酸钾(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 硝酸纤维素膜(nitrocellulose membrane, NC 膜)[赛多利斯(上海)贸易有限公司]; 聚氯乙烯(polyvinyl chloride, PVC)背板(尚美科技有限公司); Fusion 5 样本垫[玻璃纤维, 赛帕菲尔德技术(北京)有限公司]。

1.2 仪器与设备

XYZ3060 喷金仪[美国百道贸易(上海)有限公司]; GZX-9240MBE 电热鼓风干燥箱(上海博讯医疗生物仪器股份有限公司); ZQ2002 微电脑自动切条机(上海金标生物科技有限公司); HF4500 酶标仪、YZ6000 胶体金读数仪、YZ8000G 胶体金读数仪器、YZ1600 多孔孵育器(北京中盛世康科技有限公司); 84-1A 磁力搅拌器(上海驰久泵业有限公司); H2050R 低温高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); LGJ-10 冷冻干燥机(北京松源华兴科技发展有限公司)。

1.3 *α*-乳白蛋白单克隆抗体的制备

以 *α*-乳白蛋白为免疫原, 对 6~8 周龄的 BALB/c 雌性小鼠进行免疫, 免疫方法参考文献[17–18]所述。第 5 次免疫后 1 周, 采集小鼠尾部静脉血并分离血清, 采用间接竞争酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测血清抗体效价与特异性, 选择效价高且抑制率较好的小鼠进行细胞融合。经过 3 次亚克隆筛选后, 通过腹水诱生法制备抗体[19–20]。得到腹水后, 采用辛酸-硫酸铵沉淀法纯化抗体[21], 测定抗体浓度后备用。

1.4 抗体的筛选

将抗体与抗原进行棋盘实验组合测试[22], 以显色效果、线性相关系数、抑制率及交叉反应率为评价指标, 筛选出亲和力、特异性与灵敏度最优的抗体。

1.5 免疫层析试纸条的制备与条件优化

1.5.1 胶体金溶液的制备

采用柠檬酸钠还原法制备胶体金颗粒[23–24], 并在基础上进行改良, 具体步骤如下: (1)取 1 L 超纯水加入到洁净的圆底烧瓶中, 加热至微沸; (2)加入 2%的氯金酸溶液 15 mL, 搅拌 5 min; (3)迅速加入 4%的柠檬酸三钠溶液 15 mL, 待溶液颜色由黄色变成无色、黑色, 最后到红色后, 计时继续加热搅拌 15 min, 储存于 4 ℃备用。

1.5.2 金标抗体的制备

采用静电吸附的方法[25]标记单克隆抗体: 取 6 支 2 mL 洁净离心管, 用超纯水润洗 2 次后各加入 1 mL 胶体金溶液; 依次加入 0.2 mol/L 碳酸钾 5、6、7、8、9、10 μL, 振荡混匀; 随后各加入 10 μg 单克隆抗体, 轻轻混匀后静置 5 min, 再加入 50 μL 10% BSA, 混匀封闭 10 min; 最后于 10000 r/min 离心 10 min, 弃去上清液, 加入 200 μL 复

溶液混匀并于 4 ℃保存备用[26]。

1.5.3 免疫层析试纸条的组装

首先将 NC 膜粘贴于 PVC 背板上。用 0.01 mol/L pH 7.4 的磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)将 *α*-乳白蛋白稀释为不同浓度, 作为 T 线进行划膜, 同时将羊抗鼠 IgG 稀释成不同浓度, 作为 C 线进行划膜。划膜参数设置为线宽 1 mm、喷量 1 μL/cm, 喷涂在 NC 膜的检测区域和质控区域, 完成后于 37 ℃烘干 16~18 h。最后, 将样品垫、吸水垫、手柄纸分别粘贴于 PVC 背板上, 切割成 4.2 mm 的窄条备用[27]。

1.5.4 试纸条制备条件优化

(1) NC 膜的筛选

分别选取赛多利斯 140/25、赛多利斯 95/25 和天韧 110/25 3 种层析速度不同的 NC 膜进行划膜实验, 以试纸条的显色效果、层析速度、条带形态为指标筛选出最合适的 NC 膜。不同 NC 膜因孔径与制备工艺不同, 在层析速度、显色效果及灵敏度上均存在差异。将不同 NC 膜贴到背板后, 在对应位置分别粘贴吸水纸和样本垫。将 *α*-乳白蛋白用 0.01 mol/L pH 7.4 的 PBS 稀释成 5 mg/mL 用于 T 线划膜, 羊抗鼠 IgG 稀释至 0.08 mg/mL 用于 C 线划膜, 37 ℃烘干 16~18 h 后备用。对标记好的胶体金, 采用复溶液按 1:10 (*V*:*V*)稀释后备用。由于骆驼乳样品脂肪和蛋白含量较高, 不稀释难以实现层析, 因此选用超纯水按 1:1 (*V*:*V*)对骆驼乳样品进行稀释。取 50 μL 胶体金溶液加入到 96 孔微孔板中, 再加入 200 μL 制备好的骆驼乳样品, 40 ℃孵育 3 min 后插入不同 NC 膜制备的试纸条, 层析 5 min 后判读结果, 每种 NC 膜设置 3 组平行实验[28]。

(2) T 线抗原包被浓度优化

选择赛多利斯 140/25 的 NC 膜, 贴于合适的背板上, 将 *α*-乳白蛋白用 0.01 mol/L pH 7.4 的 PBS 稀释成 1、2、4、8 mg/mL; 采用划膜仪器进行划膜, 参数设置为 1.0 μL/cm, 完成后于 37 ℃烘干 18 h 备用。采用标记好的胶体金抗体溶液与其进行测试, 分别取稀释好的胶体金溶液 50 μL, 再加入 200 μL 制备好的骆驼乳样品, 于 40 ℃条件下孵育 3 min, 后插入包被不同浓度 NC 膜制备的试纸条, 层析 5 min 后判读结果, 每种浓度设置 3 组平行实验。

(3) C 线羊抗鼠 IgG 包被浓度优化

选择赛多利斯 140/25 的 NC 膜, 贴于合适的背板上, 将 *α*-乳白蛋白用 0.01 mol/L pH 7.4 的 PBS 稀释成最适浓度; 将羊抗鼠 IgG 用 0.01 mol/L pH 7.4 的 PBS 稀释成 0.02、0.04、0.06、0.08、0.10 mg/mL。参考 1.5.4(2)抗原包被浓度优化方法测试, 每种浓度设置 3 组平行实验[29]。

1.5.5 样品前处理方法优化

由于骆驼乳样品脂肪含量较高, 直接检测易出现层析速度慢、堵膜等问题, 且骆驼乳粉需经复溶后才能测定, 因此在测试前需对样品进行稀释处理。本实验分别选取水、0.01 mol/L pH 7.4 PBS 以及含吐温-20 的 PBS (phosphate buffered saline with Tween-20, PBST)(含 0.5%吐温-20, 0.01 mol/L pH 7.4 PBS) 3 种溶液作为稀释液进行优化实验; 确认最佳稀释液后, 进一步对骆驼乳设置 1:1、1:2、1:3、1:4 (*V*:*V*)的稀释比例, 骆驼乳粉按质量体积比 1:5、1:7、1:9、1:11 稀释, 分别开展稀释比例优化实验。根据掺假量和检测限的要求, 同时结合试纸条显色等方面的性能确定最佳的稀释液和稀释比例。

1.5.6 试纸条检测方法及结果判定

取适量标记好的胶体金加入 96 孔微孔板中。将骆驼乳样品按照合适的比例稀释, 稀释完成后取 200 μL 加入上述微孔中, 混匀后于 40 ℃条件下孵育 3 min。随后插入试纸条, 层析反应 5 min。反应结束后移除样本垫, 采用 YZ8000G 胶体金读数仪器进行检测。*R* 值计算公式见(1):

$$R\text{ 值}=T\text{ 值}/C\text{ 值} \tag{1}$$

式中: *T* 值为采用 YZ8000G 胶体金读数仪器读出的 T 线灰度值; *C* 值为采用 YZ8000G 胶体金读数仪器读出的 C 线灰度值; *R* 值为 T 线灰度与 C 线灰度的比值, 依据该数值大小判别样品是否掺假。

当 *R* 值>1.1 时, 结果为未检出; 当 *R* 值介于 0.9~1.1 之间时, 结果为疑似; 当 *R* 值<0.9 时, 说明骆驼乳样品中掺有牛乳或羊乳成分。若采用目测进行判读: 若 T 线显色浅于或等于 C 线, 则判定为阳性, 说明样品中存在牛乳或羊乳掺假; 若 T 线显色深于 C 线, 则判定为阴性[30]。

1.5.7 试纸条性能评价

取骆驼乳及复溶后的骆驼乳粉样品, 分别按 0.01%、0.02%、0.03%、0.04%、0.05%、0.10%、0.20%的质量体积比掺入牛乳样品, 每个样品设置 8 组平行实验, 记录 *R* 值并判定阴阳性, 确定方法的检测灵敏度范围。选择一份阴性的骆驼乳样品, 分别加入体积分数为 0.01%和 0.03%的生鲜牛乳样品, 采用 3 个批次组装好的试纸条进行检测, 每个样品同样设置 8 组平行实验, 记录 *R* 值并判定阴阳性, 考察检测结果的稳定性与重复性[31]。

1.6 数据处理

采用北京中盛世康科技有限公司 HF4500 酶标仪分析软件(2025-1 版)中双对数曲线公式对抗体灵敏度、抗体特异性进行数据分析和处理, 每组实验均进行 3 次重复。采用 WPS Office 2000 软件和 Origin 2021 进行其他图片和表格处理。

2 结果与分析

2.1 *α*-乳白蛋白抗体性能的鉴定

2.1.1 抗体灵敏度评价

用 *α*-乳白蛋白免疫并筛选得到两株细胞株 *α*-1 与 *α*-2, 制备腹水后采用 ELISA 方法进行灵敏度检测。以 0.01 mol/L

pH 7.4 的 PBS 配制系列浓度标准溶液, 以 *α*-乳白蛋白质量浓度的自然对数(ln*C*)为横坐标、OD 为纵坐标绘制标准曲线。*α*-1 抗体的线性回归方程为 Y=0.519–0.592ln$C$ (r^2=0.991), *α*-2 抗体的线性回归方程为 Y=0.573–0.644ln$C$ (r^2=0.992)。两种抗体在该实验条件下, 线性决定系数均良好, 均大于 0.990。如表 1 所示, *α*-1 抗体的 IC_{50} 为 0.173 mg/L, 低于 *α*-2 抗体的 0.244 mg/L, 表明其效价和灵敏度更优。因此选用 *α*-1 抗体进行后续实验。

表 1　*α*-1 和 *α*-2 标准曲线 OD 及 IC_{50}
Table 1　OD and IC_{50} of standard curves for *α*-1 and *α*-2

抗体	质量浓度						IC_{50}
	0.0 mg/L	0.1 mg/L	0.3 mg/L	0.9 mg/L	2.7 mg/L	8.1 mg/L	
α-1	1.830	1.180	0.800	0.466	0.233	0.090	0.173
	1.930	1.020	0.758	0.404	0.198	0.110	
α-2	1.865	1.185	0.897	0.534	0.273	0.128	0.244
	1.923	1.260	0.910	0.527	0.274	0.127	

注: 半数抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC_{50})。

2.1.2　抗体特异性评价

乳品中除 *α*-乳白蛋白外, 还有很多蛋白, 如乳铁蛋白、乳球蛋白、酪蛋白等多种蛋白。将这些蛋白分别配制成 0.1~8.1 mg/L 的质量浓度并绘制标准曲线进行测定, 同时通过交叉反应实验验证抗体特异性。具体数据如表 2 所示, 从数据可以看出, 即使在最高质量浓度 8.1 mg/L 时, 其他 3 种蛋白对该抗体没有明显的抑制作用, 表明其特异性良好。

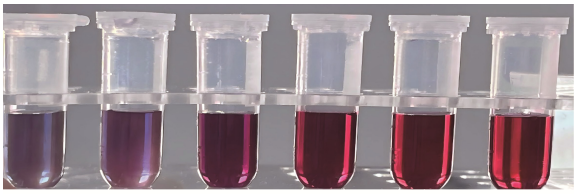
表 2　*α*-1 抗体交叉反应(OD)
Table 2　Cross-reactivity of *α*-1 antibody (OD)

质量浓度/(mg/L)	乳白蛋白	乳铁蛋白	乳球蛋白	酪蛋白
0.0	2.148	2.054	2.269	2.059
0.1	1.296	1.912	1.945	1.927
0.3	0.812	1.934	1.867	2.020
0.9	0.427	1.949	2.042	2.006
2.7	0.186	1.940	1.990	2.040
8.1	0.076	1.982	1.949	2.028

2.2　试纸条制备条件的优化

2.2.1　抗体最佳标记 pH 及最佳标记量的选择

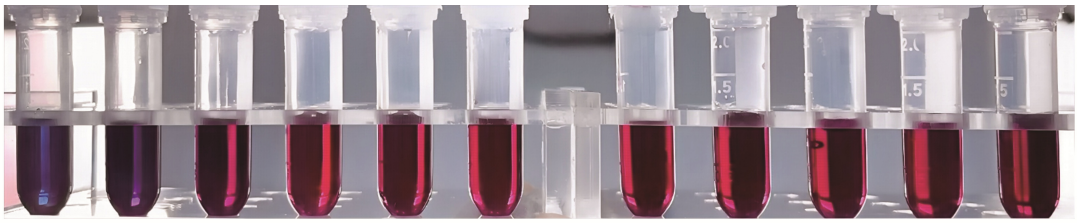
采用静电吸附法标记胶体金颗粒, 适宜的标记pH是实验成功的关键。如图 1 所示, 在 *α*-1 抗体标记量为 10 μg/mL 的条件下, 考察不同碳酸钾的量对标记结果的影响。结果表明, 随着碳酸钾量的增加, 胶体金溶液由灰色变成紫色最终变成红色。因此选取首次出现红色时对应的碳酸钾用量(8 μL/mL)作为最适的标记条件。



5 μL/mL　6 μL/mL　7 μL/mL　8 μL/mL　9 μL/mL　10 μL/mL

图 1　不同碳酸钾浓度下的抗体标记结果
Fig.1　Antibody labeling results under different potassium carbonate concentrations

在上述最佳标记 pH 的条件下, 先用 0.01 mol/L pH 7.4 的PBS溶液将待标记抗体稀释至 1 mg/mL, 再按照标记流程操作。分别进行 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15 μg/mL 不同抗体质量浓度的标记, 观察胶体金溶液颜色变化。结果显示, 胶体金溶液同样由灰色变成紫色最终变成红色, 因此以首次出现红色时对应的抗体质量浓度作为最适的标记条件。结果如图 2 所示: 5~7 μg/mL 的质量浓度范围内, 胶体金溶液呈明显紫色; 自 8 μg/mL 起, 溶液呈现稳定的酒红色且不再发生明显变化, 因此确定 8 μg/mL 为该抗体的最适标记量。综上, 该抗体的最佳标记条件为: 0.2 mol/L 碳酸钾用量 8 μL/mL, 抗体标记量为 8 μg/mL。



5 μg/mL　6 μg/mL　7 μg/mL　8 μg/mL　9 μg/mL　10 μg/mL　11 μg/mL　12 μg/mL　13 μg/mL　14 μg/mL　15 μg/mL

图 2　不同抗体标记量下的标记结果
Fig.2　Labeling results under different antibody labeling amounts

2.2.2 NC 膜的选择

从图 3(上面为 C 线，下面为 T 线，下同)可以看出，在相同的包被浓度条件下，赛多利斯 95/25 的 NC 膜条带较窄，天韧 110/25 的 NC 膜条带扩散明显，赛多利斯 140/25 的 NC 膜条带均匀且显色最深，因此选择该膜进行后续实验。

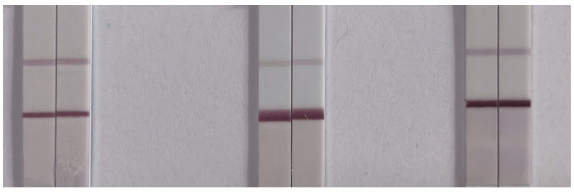


图 3 不同 NC 膜条带形态和显色的比较

Fig.3 Comparison of band morphology and color development of different NC membranes

2.2.3 抗原包被浓度选择

结果如图 4 所示。当抗原包被质量浓度为 1 mg/mL 时，T 线显色最浅且条带不均匀; 2 mg/mL 时显色弱于 4 mg/mL; 而 8 mg/mL 时因质量浓度过高，超出了 NC 膜承载能力，出现条带扩散现象。综合比较，选择 4 mg/mL 作为最佳包被质量浓度。

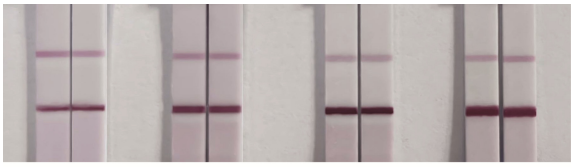


图 4 不同抗原包被质量浓度的结果

Fig.4 Results of different antigen coating mass concentrations

2.2.4 C 线包被浓度选择

结果如图 5 所示。在抗原包被质量浓度为 4 mg/mL 条件下，当C线包被质量浓度为0.02 mg/mL和0.04 mg/mL时显色较浅，质量浓度提升至 0.06、0.08、0.10 mg/mL 时显色逐渐增强，但 0.08 mg/mL 与 0.10 mg/mL 组间差异不明显。结合产品判读时 C 线与 T 线的对比要求，综合评判选择 0.08 mg/mL 为最佳包被质量浓度。

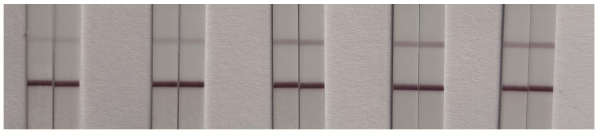


图 5 不同羊抗鼠 IgG 包被质量浓度下试纸条显色结果

Fig.5 Colorimetric results of test strips under different coating mass concentrations of goat anti-mouse IgG

2.3 前处理方法优化

2.3.1 骆驼乳前处理方法优化

(1)稀释液的选择

取生鲜骆驼乳样品，分别用水、0.01 mol/L pH 7.4 PBS 及 0.01 mol/L PBST 进行 1:1 (*V*:*V*)稀释，采用已优化的最佳条件组装试纸条进行检测，结果如图 6 所示，经水和 PBS 稀释的样品 T 线、C 线显色均较浅; 而以 PBST 为稀释液时，T 线显色深、显色均匀且边缘整齐，C 线显色同样深。这可能是由于样品中含有大量的脂肪和蛋白质，体系中添加表面活性剂可促进胶体金层析过程，进而提升显色效果，因此选定 PBST 作为稀释液。

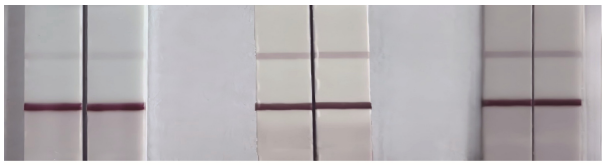


图 6 不同稀释液条件下的检测结果

Fig.6 Detection results under different dilution buffers

(2)稀释比例的选择

采用 PBST 溶液将骆驼乳样品按 1:1、1:2、1:3、1:4 (*V*:*V*) 4 个比例进行稀释，稀释后参考 2.3.1(1)的方法进行测定，结果如图 7 所示，随着稀释倍数的增加，T 线与 C 线显色逐渐变浅，条带形态及边缘均较整齐，无明显扩散现象，且层析速度加快。稀释倍数过大会导致检测灵敏度越低，综合考虑选择 1:1 (*V*:*V*)作为最终的稀释比例。

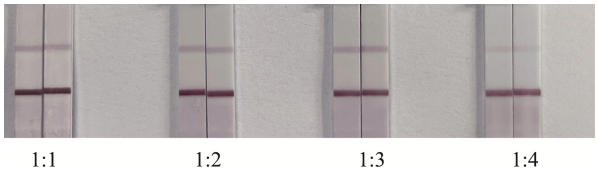


图 7 驼乳样品不同稀释比例条件下的检测结果

Fig.7 Detection results of camel milk samples at various dilution ratios

2.3.2 骆驼乳粉检测前处理方法优化

(1)稀释溶剂的筛选

将骆驼乳粉按 1:9 的质量体积比(即取 1.0 g 骆驼乳粉，加入 9 mL 的稀释液)分别加入水、0.01 mol/L PBS 及 0.01 mol/L PBST 溶液，振荡混匀，参考 2.3.1(1)的方法进行检测。以水和 0.01 mol/L PBS 为稀释液的样品，检测结果与生鲜乳相似，显色较浅且 T 线条带形态较差; 而以 0.01 mol/L PBST 为稀释液时效果最佳。因此，骆驼乳粉同样采用 0.01 mol/L PBST 作为稀释液。

(2)稀释配比的优化

采用 0.01 mol/L PBST 作为稀释液, 分别按 1:5、1:7、1:9、1:11 4 个质量体积比对骆驼乳粉样品进行稀释。结果如图 8 所示, 当稀释比例为 1:5 和 1:7 时, 虽然显色较深, 但骆驼乳粉的溶解和层析速度均较慢, 层析时间超过 3 min; 而 1:9 和 1:11 组结果无明显差别, 显色与层析速度均较适宜。综合考虑, 选择质量体积比为 1:9。

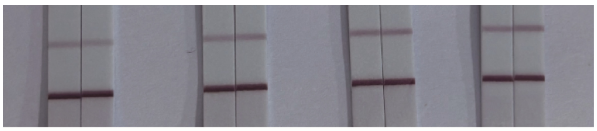


图 8　不同稀释比例下骆驼乳粉样品的检测结果
Fig.8　Detection results of camel milk powder samples at various dilution ratios

2.4　实际样品测试

2.4.1　骆驼乳样品测定

选取 10 份新鲜骆驼乳样品, 分别按 0.01%、0.02%、0.03%、0.04%、0.05%、0.10%、0.20%的质量体积比掺入生鲜牛乳样品。按 2.3.1 的前处理方法进行试纸条检测。结果如图 9 所示, 随着牛乳添加量增加, T 线信号逐渐减弱, C 线信号逐渐增强。采用胶体金读数仪器进行检测, 并根据 *R* 值进行结果判读。检测结果如表 3 所示, 当牛乳添加量为 0.03%时, 所有样品 *R* 值均小于 0.9, 可判定为阳性, 表明该方法对骆驼乳中牛乳掺假的检测灵敏度可以达 0.03%。



图 9　阴性骆驼乳样品中添加不同浓度牛乳样品检测结果
Fig.9　Detection results of spiked cow milk at varying concentrations in negative camel milk samples

2.4.2　骆驼乳粉样品测定

将骆驼乳粉样品按 2.3.2 优化后的方法进行稀释, 再分别按 0.01%、0.02%、0.03%、0.04%、0.05%、0.10%、0.20%的比例掺入生鲜牛乳样品, 并按上述前处理方法进行试纸条检测。结果如图 10 所示, 随着牛乳添加量增加, T 线信号逐渐减弱, C 线的信号逐渐增强; 当添加比例为 0.01%时, *R* 值已均小于 0.9, 结果呈阳性, 如表 4 所示。说明其检测的灵敏度以乳粉计可达到 0.1%。

表 3　骆驼乳样品添加不同体积的牛乳样品 *R* 值检测结果(*n*=3)
Table 3　Detection results of *R* values for camel milk samples spiked with different volumes of cow milk samples (*n*=3)

样品	添加比例							
	0.00%	0.01%	0.02%	0.03%	0.04%	0.05%	1.00%	2.00%
骆驼乳 1	3.580	2.890	1.054	0.654	0.258	0.124	0.112	0.054
骆驼乳 2	3.050	2.486	1.025	0.587	0.223	0.101	0.052	0.051
骆驼乳 3	4.020	3.050	1.321	0.852	0.423	0.321	0.214	0.125
骆驼乳 4	3.950	2.890	1.102	0.789	0.562	0.289	0.125	0.112
骆驼乳 5	3.058	2.658	0.985	0.456	0.321	0.125	0.089	0.052
骆驼乳 6	2.986	2.215	0.998	0.456	0.312	0.124	0.078	0.042
骆驼乳 7	3.589	3.024	1.214	0.654	0.421	0.235	0.124	0.058
骆驼乳 8	3.569	2.865	1.025	0.547	0.357	0.211	0.100	0.075

2.5　稳定性测试

产品稳定性测试结果如表 5 所示。3 个批次的试纸条检测结果均符合阴性、阳性判定标准, 无假阳性与假阴性情况; 不同批次试纸条检测结果一致性良好。3 个批次试纸条不同牛乳添加比例样品 *R* 值的变异系数为 2.835~8.753%, 均小于 10%, 表明该试纸条及检测方法具有良好的稳定性。

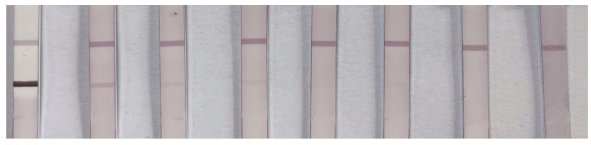


图 10　阴性骆驼乳粉中添加不同比例的牛乳检测结果
Fig.10　Detection results of spiked cow milk at varying concentrations in negative camel milk powder samples

表 4　骆驼乳粉样品添加不同体积的牛乳样品 *R* 值检测结果(*n*=3)
Table 4　Detection results of *R* values for camel milk powder samples spiked with different volumes of cow milk powder samples (*n*=3)

样品	添加比例							
	0.00%	0.01%	0.02%	0.03%	0.04%	0.05%	0.10%	0.20%
骆驼乳粉 1	4.020	0.801	0.524	0.452	0.354	0.112	0.112	0.050
骆驼乳粉 2	4.200	0.850	0.620	0.587	0.452	0.325	0.210	0.151

表 4(续)

样品	添加比例							
	0.00%	0.01%	0.02%	0.03%	0.04%	0.05%	0.10%	0.20%
骆驼乳粉 3	3.850	0.750	0.458	0.327	0.321	0.221	0.150	0.090
骆驼乳粉 4	3.650	0.680	0.400	0.301	0.211	0.189	0.112	0.082
骆驼乳粉 5	3.058	0.425	0.321	0.214	0.111	0.084	0.080	0.052
骆驼乳粉 6	4.025	0.901	0.624	0.531	0.451	0.124	0.114	0.080
骆驼乳粉 7	3.564	0.547	0.324	0.241	0.121	0.110	0.092	0.084
骆驼乳粉 8	3.821	0.824	0.580	0.324	0.302	0.205	0.111	0.092

表 5 稳定性测试数据

Table 5 Data of stability test

产品批次	添加量/%	*R* 值								变异系数/%
20250123	0.00	3.524	3.498	3.725	3.564	3.874	3.586	3.654	3.758	3.558
	0.10	2.724	2.675	2.854	2.758	2.954	2.678	2.589	2.758	4.124
	0.30	0.604	0.594	0.780	0.687	0.701	0.655	0.654	0.677	8.753
20250415	0.00	3.251	3.341	3.421	3.358	3.574	3.654	3.540	3.234	4.502
	0.10	2.654	2.431	2.211	2.321	2.354	2.451	2.754	2.465	7.178
	0.30	0.502	0.458	0.598	0.498	0.508	0.524	0.544	0.534	7.839
20250819	0.00	3.425	3.458	3.546	3.687	3.574	3.457	3.687	3.547	2.835
	0.10	2.658	2.678	2.724	2.489	2.387	2.582	2.478	2.624	4.502
	0.30	0.498	0.478	0.524	0.547	0.548	0.608	0.602	0.544	8.330

3 结 论

本研究利用骆驼乳与牛乳、羊乳中 α-乳白蛋白的结构差异，采用胶体金免疫层析技术，开发出能够快速识别骆驼乳或骆驼乳粉中牛乳、羊乳掺假的检测产品。与传统的 UPLC-MS/MS 等方法相比，该产品具有成本低廉、操作快速简便及可现场使用等优势。实验结果表明，该产品在骆驼乳中的检测灵敏度可达到 0.03%，在骆驼乳粉中可达到 0.1%，且检测重复性好、结果稳定，同批次样品 R 值变异系数均小于 10%。该方法的灵敏度在一定程度上也受到掺入牛乳样品中 α-乳白蛋白含量的影响。然而，在实际掺假过程中，痕量掺假通常难以带来显著的经济收益，因此实际掺假比例往往远高于本方法的最低检出限。由此可见，该方法能够满足骆驼乳中牛乳成分掺假的检测需求，其应用效果基本不受上述因素限制。需要指出的是，高温处理等加工过程可能导致蛋白质结构发生改变，从而影响抗体识别效果，因此本方法对高温灭菌乳的适用性仍有待进一步研究。总体而言，本研究建立的快速检测方法为骆驼乳中牛乳掺假的识别提供了一种高效、简便的技术手段，也为食品掺假快速检测方法的开发提供了有益参考。

参考文献

[1] 褚楚, 张依, 向世馨, 等. 山羊奶、牦牛奶、马奶和驼奶中营养成分含量的比较研究[J]. 中国奶牛, 2022(3): 34–39.
CHU C, ZHANG Y, XIANG SX, *et al*. Comparative study on nutrient content in goat milk, yak milk, mare milk and camel milk [J]. China Dairy Cattle, 2022(3): 34–39.

[2] 李静, 汪天玲, 玛依拉·吐尔地别克. 骆驼奶的应用价值与发展前景分析[J]. 食品安全导刊, 2021(23): 157–158, 160.
LI J, WANG TL, MAYILA TERDBK. Analysis of application value and development prospect of camel milk [J]. Journal of Food Safety Guide, 2021(23): 157–158, 160.

[3] 蔡树东, 潘伊微, 李文, 等. 中国双峰驼驼乳营养价值研究进展[J]. 中国乳业, 2025(12): 109–117, 123.
CAI SD, PAN YW, LI W, *et al*. Research progress on nutritional value of Bactrian camel milk in China [J]. China Dairy, 2025(12): 109–117, 123.

[4] 蔡瑞丽, 侯志梅, 刘顺. 新疆双峰驼奶对 2 型糖尿病患者血糖、血脂及血压的影响[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(20): 46–47, 52.
CAI RL, HOU ZM, LIU S. Effects of Xinjiang Bactrian camel milk on blood glucose, blood lipid and blood pressure in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. World Latest Medicine Information, 2019, 19(20): 46–47, 52.

[5] 蔡树东, 黄浩, 阿里甫·努肉力, 等. 骆驼乳对疾病辅助治疗作用研究进展[J]. 中国草食动物科学, 2019, 39(6): 52–55.
CAI SD, HUANG H, ALIFU NRL, *et al*. Research progress on adjuvant therapeutic effects of camel milk on diseases [J]. China Herbivore Science, 2019, 39(6): 52–55.

[6] 马洪鹏, 娄肖肖, 马宪兰, 等. 我国驼乳品质产地差异及相关标准研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(6): 280–287.
MA HP, LOU XX, MA XL, *et al*. Research progress on regional differences of camel milk quality and related standards in China [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(6): 280–287.

[7] 苗金梁, 张九凯, 周正火, 等. 不同乳源动物成分鉴别技术研究进展

[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(18): 7314–7323.
MIAO JL, ZHANG JK, ZHOU ZH, *et al*. Research progress on identification techniques of animal components from different milk sources [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(18): 7314–7323.

[8] 刘燕, 温嘉和, 赵子慧, 等. 骆驼乳、牛乳、山羊乳中蛋白质和脂肪酸成分的比较[J]. 食品科学, 2024, 45(16): 161–168.
LIU Y, WEN JH, ZHAO ZH, *et al*. Comparison of protein and fatty acid components in camel milk, cow milk and goat milk [J]. Food Science, 2024, 45(16): 161–168.

[9] 古淑青, 陈念念, 曾静, 等. 超高效液相色谱- 串联质谱法鉴定驼乳及其制品中的动物源性成分[J]. 色谱, 2024, 42(1): 13–23.
GU SQ, CHEN NN, ZENG J, *et al*. Identification of animal-derived components in camel milk and its products by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2024, 42(1): 13–23.

[10] 王之莹. 基于核酸扩增技术的高值乳品快速鉴别方法研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2020.
WANG ZY. Rapid identification method of high-value dairy products based on nucleic acid amplification technology [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2020.

[11] 张永金, 胡艳红, 葛武鹏, 等. 母乳、牛乳与主要小品种乳蛋白质组成及乳清蛋白二级结构比较[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(15): 4779–4786.
ZHANG YJ, HU YH, GE WP, *et al*. Comparison of protein composition and whey protein secondary structure between human milk, cow milk and main minor species milk [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2022, 13(15): 4779–4786.

[12] 李玲玉, 王俊, 李敏婧, 等. 基于乳清蛋白的骆驼乳中掺假牛乳的检测及热处理对方法的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(10): 329–335.
LI LY, WANG J, LI MJ, *et al*. Detection of cow milk adulteration in camel milk based on whey protein and the effect of heat treatment on the detection method [J]. Food Science, 2022, 43(10): 329–335.

[13] SARKAR D, NAHA S. Advancement in species specific adulteration identification in camel milk [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2024(130): 106168.

[14] 徐志鹏, 泮秋立, 肖晶, 等. 胶体金免疫层析试纸条鉴别乳品中牛、羊源性成分的性能评价[J]. 乳业科学与技术, 2024, 47(6): 37–42.
XU ZP, PAN QL, XIAO J, *et al*. Performance evaluation of colloidal gold immunochromatographic strip for identification of bovine and ovine components in dairy products [J]. Journal of Dairy Science and Technology, 2024, 47(6): 37–42.

[15] YANG YX, ZHENG N, YANG JH, *et al*. Animal species milk identification by comparison of two-dimensional gel map profile and mass spectrometry approach [J]. International Dairy Journal, 2014(35): 15–20.

[16] LI DL, KONG X, YU Y, *et al*. Research progresses on nutritional components and authenticity identification of camel milk [J]. Food Science, 2025, 46(10): 346–357.

[17] YANG XD, WANG FY, SONG CM, *et al*. Establishment of a lateral flow colloidal gold immunoassay strip for the rapid detection of estradiol in milk samples [J]. LWT-Food Science Technology, 2015, 64: 88–94.

[18] 姚添淇, 劳翠瑜, 王士峰, 等. 糖皮质激素广谱特异性单克隆抗体的制备及其 ic-ELISA 方法的建立[J]. 食品科学, 2019, 40(14): 186–191.
YAO TQ, LAO CY, WANG SF, *et al*. Preparation of a broad-spectrum and specific monoclonal antibody against glucocorticoids and development of an ic-ELISA method [J]. Food Science, 2019, 40(14): 186–191.

[19] HERNÁNDEZ C, PINA R, PÉREZ-PAZ JJ, *et al*. Assessing two strategies for production of murine ascites with anti-SARS-CoV-2 monoclonal antibodies [J]. Cluj Veterinary Journal, 2021, 26: 2–7.

[20] 王红连, 陆丽婷, 于婷, 等. 抗 DON 单克隆抗体制备工艺优化研究[J]. 生物化工, 2024, 10(5): 112–115.
WANG HL, LU LT, YU T, *et al*. Study on optimization of preparation process of anti-DON monoclonal antibody [J]. Biological Chemical Engineering, 2024, 10(5): 112–115.

[21] 段长飞, 梁琦, 马少芹, 等. 莱克多巴胺单克隆抗体非亲和层析法纯化研究[J]. 质量安全与检验检测, 2023, 33(2): 53–60.
DUAN CF, LIANG Q, MA SQ, *et al*. Study on purification of ractopamine monoclonal antibody by non-affinity chromatography [J]. Quality Safety and Inspection Technology, 2023, 33(2): 53–60.

[22] HU JL, GUO LL, LIU LQ, *et al*. Rapid determination of *α*-lactalbumin in raw cow's milk and recombined milk using an immunochromatographic assay strip analysis method [J]. Food Bioscience, 2024, 61: 104936.

[23] BORSE V, KONWAR AN. Synthesis and characterization of gold nanoparticles as a sensing tool for the lateral flow immunoassay development [J]. Sensors International, 2020, 1: 100051.

[24] TYAGI H, KUSHWAHA A, KUMAR A, *et al*. A facile pH controlled citrate-based reduction method for gold nanoparticle synthesis at room temperature [J]. Nanoscale Research Letters, 2016, 11(1): 1–11.

[25] 边瑞丽, 何保山, 任文洁. 基于金纳米棒免疫层析试纸条快速检测玉米中的黄曲霉毒素 B_1[J]. 河南工业大学学报(自然科学版) , 2024, 45(5): 97–103, 110.
BIAN RL, HE BS, REN WJ. Rapid detection of aflatoxin B_1 in corn based on gold nanorod immunochromatographic test strip [J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2024, 45(5): 97–103, 110.

[26] WANG K, YU P, CHEN K, *et al*. A colloidal gold immunochromatography-based method for detecting enramycin residues in feed [J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(7): 2346–2356.

[27] 谭建林, 彭珍华, 孙皓, 等. 鹅膏毒素胶体金酶联免疫层析试纸条的研制及其应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(8): 69–75.
TAN JL, PENG ZH, SUN H, *et al*. Development and application of colloidal gold enzyme-linked immunochromatographic test strip for amanitin detection [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(8): 69–75.

[28] 付辉, 于志强, 黄素文, 等. 驼乳中牛乳和羊乳掺假快速检测试纸条的研制[J]. 中国口岸科学技术, 2023, 5(8): 40–47.
FU H, YU ZQ, HUANG SW, *et al*. Development of rapid detection strip for adulteration of cow milk and goat milk in camel milk [J]. China Port Science and Technology, 2023, 5(8): 40–47.

[29] 张燕, 江迎春, 李浩天, 等. 莱克多巴胺胶体金免疫层析试纸条的研制及性能测试[J]. 广州化工, 2023, 51(11): 83–85.
ZHANG Y, JIANG YC, LI HT, *et al*. Development and performance test of ractopamine colloidal gold immunochromatographic strip [J]. Guangzhou Chemical Industry, 2023, 51(11): 83–85.

[30] ZHANG SL, JIANG XC, LU SQ, *et al*. A quantitative detection algorithm for multi-test line lateral flow immunoassay applied in smartphones [J]. Sensors, 2023, 23(14): 6401.

[31] 邢常瑞, 刘崇靖, 孔志康, 等. 基于酪蛋白免疫快速检测的羊奶鉴伪方法建立[J]. 食品工业科技, 2022, 43(8): 281–287.
XING CR, LIU CJ, KONG ZK, *et al*. Establishment of a method for adulteration identification of goat milk based on rapid casein immune detection [J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(8): 281–287.

(责任编辑: 安香玉　韩晓红)