水产学报
JOURNAL OF FISHERIES OF CHINA
DOI: 10.11964/jfc.20241214815
Science Press

李中林, 黄建联, 张凌晶, 等. 基于胶体金免疫层析技术快速检测鱼糜中的卵白蛋白 [J]. 水产学报, 2026, 50(1): 019817.
Li Z L, Huang J L, Zhang L J, *et al*. Rapid detection of ovalbumin in surimi based on colloidal goldimmunochromatography assay [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2026, 50(1): 019817 (in Chinese).

基于胶体金免疫层析技术快速检测鱼糜中的卵白蛋白

李中林[1]，黄建联[2,3*]，张凌晶[1]，张长弓[4]，陈玉磊[1]，
翁　凌[1]，曹敏杰[1*]

(1. 集美大学海洋食品与生物工程学院，福建 厦门　361021；
2. 福建省冷冻调理水产品加工重点实验室，福建 厦门　361028；
3. 安井食品集团股份有限公司，福建 厦门　361028；
4. 厦门波生生物技术有限公司，福建 厦门　361021)

摘要：【目的】建立基于胶体金免疫层析技术 (CGIA)，快速简便、现场检测鱼糜中食品过敏原成分卵白蛋白 (OVA) 的方法。【方法】鸡蛋清采用双水相萃取法进行前处理，通过离子交换层析法分离纯化 OVA，利用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 检测纯度并进行质谱鉴定。制备了抗 OVA 多克隆抗体，验证其特异性。以柠檬酸三钠还原法制备胶体金溶液标记抗体，基于竞争法原理制备 OVA 胶体金免疫层析试纸条并进行优化。【结果】SDS-PAGE 和质谱鉴定结果均表明获得了高纯度 OVA。蛋白免疫印迹 (Western blot) 结果显示，抗鸡 OVA 多克隆抗体对鸡蛋 OVA 和鸭蛋 OVA 均有特异性反应，与鱼糜中的其他蛋白无免疫交叉反应，特异性良好。开发的卵白蛋白胶体金免疫层析检测试纸 (OVA-CGIA-Strip) 可快速检测鱼糜中的鸡蛋 OVA 和鸭蛋 OVA。采用四参数逻辑曲线拟合标准曲线 y=7.17~2.79 lg$x$(R^2=0.983 4)，线性范围为 0.01~20.00 μg/mL，检出限为 0.20 μg/mL，IC_{50}=(3.13±0.18) μg/mL。【结论】本研究制备的卵白蛋白胶体金免疫层析检测方法操作简便、特异性好、准确度高，配合胶体金试纸条分析仪可以现场快速定量检测鱼糜中的卵白蛋白。本研究对于鱼糜制品生产企业把控原料质量，保障过敏人群的健康等具有重要意义。

关键词：卵白蛋白；鱼糜；胶体金免疫层析技术；食品过敏原；快速检测
中图分类号：TS 254.7　　**文献标志码：**A

卵白蛋白 (OVA) 是禽蛋清中的主要蛋白质，占蛋清总蛋白的 54%。OVA 是一种球状磷酸糖蛋白，相对分子质量约 45 ku，包含 385 个氨基酸残基，等电点约为 pH 4.5，性质较为稳定[1-2]。OVA 分子中含有 1 个二硫键和 4 个自由巯基，高温加热等处理后极易形成蛋白质间的交联，因而 OVA 具有良好的凝胶性、乳化性和起泡性，作为一种功能性食品配料被广泛应用于食品工业中。但是，OVA 是蛋清中的主要过敏原之一，其致敏性仅次于卵类黏蛋白，可引起人体由 IgE 介导的Ⅰ型速

收稿日期：2024-12-21　　**修回日期：**2025-02-21
资助项目：国家重点研发计划 (2018YFD0901004)；福建省冷冻调理水产品加工重点实验室开放课题 (FJKLRCAPP2024-01)
第一作者：李中林，从事水产品加工与贮藏研究，E-mail：lizhonglin0319@163.com
通信作者：黄建联，从事鱼糜制品加工研究，E-mail：416688254@qq.com；
曹敏杰，从事水产品深加工、蛋白质化学研究，E-mail：mjcao@jmu.edu.cn

发型变态反应，对婴幼儿和儿童致敏率较高，临床症状多表现为荨麻疹、呕吐、气喘等，严重可导致休克甚至死亡[3-5]。此外，OVA 的性质较稳定，即便经过高温等处理后依然具有致敏性。由于目前尚缺乏治疗 OVA 过敏的有效手段，防止 OVA 导致的食物过敏主要方法是避免摄入该蛋白[6]。因此，对非蛋类食品中 OVA 存在情况的检测对于有效防治因过敏蛋白引起的食品安全问题具有十分重要的意义。

鱼糜制品因营养价值高、食用方便等特点成为我国鱼类加工的重要产品[7]。鱼糜生产基本工艺是将鱼洗净去内脏后采肉去杂，鱼肉经漂洗、脱水后得到用于生产鱼糜制品的原料鱼浆，鱼浆经添加盐、淀粉等其他成分并擂溃，成型加热后成为鱼糜制品[8]。随着鱼糜制品需求量持续增长，更多的低值鱼类被用于制备鱼糜原料。目前的大型鱼糜制品生产企业自身并不生产原料鱼浆，而是从其他企业采购或从国外进口。在鱼浆生产过程中，部分企业通过添加经脱盐处理的蛋清蛋白、大豆分离蛋白等外源蛋白来替代鱼肉成分以降低成本并提高鱼糜制品的凝胶特性和白度[9-10]。鱼糜制品中蛋清等非鱼肉蛋白的过量添加不仅存在以低值蛋白替代高值鱼肉蛋白的问题，对于 OVA 等蛋白过敏的患者更存在安全隐患。我国国标中 8 类食品过敏原信息只是作为预包装食品标签的推荐标示内容，未对过敏蛋白的含量信息作具体要求。鉴于过敏蛋白可能带来的安全隐患以及非鱼肉蛋白过量添加对消费者的不利影响，对于蛋清 OVA 的快速准确检测可以方便鱼糜制品生产企业对原料鱼浆中蛋清蛋白的存在情况作定性定量分析，避免以次充好问题产生，对于保障产品质量具有重要意义和实际应用价值。

目前，应用于过敏原 OVA 的检测方法主要有免疫分析法[11]、质谱法[12] 等。Baldo 等[13] 将一次性电化学微流控制装置与免疫磁珠结合，开发了用于检测葡萄酒中残留的微量 OVA 方法，该方法灵敏度高。Azarnia 等[14] 采用 ESI-MS 方法成功鉴定了 OVA 的特征肽以检测食物中的 OVA，该方法适合热处理食品中 OVA 的检测。以上方法都可以不同程度地对食品中的 OVA 进行检出，但在实际应用中存在检测步骤烦琐，需要高昂精密仪器，对操作人员技术水平要求高，检测周期长，无法实现现场快速检测等缺陷，难以被用于鱼糜生产的实际检测中。

胶体金免疫层析技术 (CGIA) 是以纳米金作为示踪标志物应用于抗原抗体的侧流免疫层析检测技术[15]。由于 CGIA 制作成本低、方便携带、便于现场快速检测且分析结果可肉眼辨别等优点而被广泛应用于各个检测领域[16-17]。利用 CGIA 快速检测食品中过敏原的研究已有相关报道[18]。高红艳等[19] 基于双抗夹心胶体金免疫层析技术建立了检测甲壳类水产品中过敏原原肌球蛋白的方法，该方法可在 5 min 内显示结果，视觉检测限为 10.00 ng/mL。Anfossi 等[20] 采用金和银纳米颗粒设置多色侧流免疫层析试纸，利用 3 种不同颜色的特异性探针同时对 OVA、酪蛋白和榛子敏蛋白这 3 种过敏原进行检测，其中 OVA 的检测限为 0.10 mg/L。鱼糜制品在我国的产销量逐年增加，对 OVA 过敏的人数也有较高比例，但对鱼糜制品中 OVA 的检测工作尚少有相关报道。本研究拟通过制备抗鸡 OVA 多克隆抗体，基于胶体金免疫层析检测技术，开发一种操作便捷、低成本、高特异性的卵白蛋白胶体金免疫层析检测试纸 (OVA-CGIA-Strip)，用于现场快速检测鱼糜原料及制品中过敏蛋白 OVA 的存在情况，为鱼糜类食品的原料质量及产品的安全控制提供技术支撑。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

新鲜鸡蛋、鸭蛋 (厦门市集美区某大型超市)；鱼糜原料 (福建安井食品股份有限公司)。

DEAE-Sepharose 树脂 [中科森辉微球技术 (苏州) 有限公司]；四氯金酸 (上海麦克林生化科技有限公司)；ECL 化学发光试剂盒 (苏州优逸兰迪生物公司)；硝酸纤维素膜 (NC 膜)、PVC 底板、样品垫、结合垫、玻璃纤维棉、重悬工作液 Base E (2×) 、T 线包被液 (厦门波生生物技术有限公司)；聚乙二醇 8000、聚乙二醇 20000(北京索莱宝科技有限公司)；辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的羊抗鼠 IgG(上海碧云天生物技术有限公司)；其他常规试剂均为分析纯 (国药集团化学试剂有限公司)。

1.2　仪器与设备

G:BOX 凝胶成像仪 (英国 Syngene 公司)；HGS510-2-3 划膜仪 (上海金标生物技术有限公司)；SC-100 自动切条机 (东莞鼎鑫机械有限公司)；PILot10-15ES 真空冷冻干燥机 (北京博医康仪器有

限公司)；DHP-9402 电热恒温培养箱 (上海一恒科学仪器有限公司)；PT-2500 组织捣碎机 (瑞士 Kinematica 公司)；E07419 胶体金试纸分析仪 (厦门波生生物技术有限公司)；Avanti JA-25 高速冷冻离心机 (美国 Beckman 公司)。

1.3　实验方法

OVA 的纯化　蛋清前处理参考 Geng 等[21]的方法并加以修改。将 30 mL 鸡蛋清用 3 倍体积的 50 mmol/L NaCl 溶液稀释，4 ℃ 下搅动 2 h，用 6 mol/L HCl 调节 pH 至 5.0，4 ℃ 静置 0.5 h 后于 4 ℃、12 000×*g* 离心 25 min，取上清液。边搅动上清液边加入聚乙二醇 8000 至饱和度达到 9%(质量体积比)，静置 0.5 h 后，4 ℃、12 000×*g* 离心 20 min，取上清液。再边搅动边加入聚乙二醇 8000 至饱和度达到 15%(质量体积比)，静置 0.5 h 后，4 ℃、12 000×*g* 离心 20 min，取上清液，用缓冲液 (20 mmol/L Tris-HCl，pH 7.5) 充分透析。

将已透析的样品上样于用缓冲液 (20 mmol/L Tris-HCl，pH 7.5) 预平衡的 DEAE-Sepharose 离子交换层析柱 (2.5 cm×20 cm)，用缓冲液流洗掉未结合蛋白，用含有 0~0.2 mol/L NaCl 的缓冲液进行线性洗脱，收集第 3 个洗脱峰即为纯化的目的蛋白 OVA。

SDS-PAGE　参考 Jiang 等[22]的方法，采用 SDS-PAGE 对分离蛋白进行分析检测，将样品与上样缓冲液以 1∶3(体积比) 混合后，振荡混匀，95℃ 加热 10 min。采用丙烯酰胺质量分数为 12% 分离胶和 5% 浓缩胶。电泳结束后，经考马斯亮蓝 R-250 显色、脱色后进行凝胶成像分析。

质谱鉴定　将纯化的 OVA 进行 SDS-PAGE 后，染色、脱色后切胶回收目的蛋白条带，委托深圳维纳菲生物技术有限公司进行肽质量指纹图谱鉴定分析。

抗鸡 OVA 多克隆抗体的制备　取 100 μL 纯化的鸡 OVA(2 mg/mL) 与等体积的弗氏完全佐剂，充分乳化后，进行皮下多点注射 ICR 小鼠，每隔 2 周以相同剂量的抗原加强免疫。免疫 4 次后，采血，静置待血清析出后，3 000×*g* 离心 10 min，将血清用 Protein G 亲和层析柱纯化。抗体制备在厦门大学医学院完成。

Western blot　通过半干转膜方式将蛋白从聚丙烯酰胺凝胶转移到 NC 膜上，用含 5% 脱脂奶的 TBST 缓冲液 (含 0.5% 吐温-20 的 20 mmol/L Tris-HCl，pH 8.0) 室温封闭 1 h，用 TBST 洗膜 3 次，每次 5 min。将鼠抗鸡 OVA 多克隆抗体与 TBST 按 1∶10 000 (体积比) 稀释后室温孵育 NC 膜 1 h，TBST 洗膜 5 次，每次 5 min；再以 HRP 标记的羊抗鼠 IgG 与 TBST 按 1∶20 000 (体积比) 稀释后室温孵育 1 h，TBST 洗膜 5 次，每次 5 min。加入 ECL 显色液至 NC 膜，室温避光孵育 3 min，在荧光化学发光成像系统上记录结果。

OVA-CGIA-Strip 的制备及性能测定　胶体金溶液采用柠檬酸还原法制备[23]，具体操作：取 100 mL 配制好的 0.01% 氯金酸溶液搅动加热至沸腾，吸取 1 mL 1% 柠檬酸三钠溶液快速加入，持续沸腾 10 min 后，停止加热并冷却至室温。通过目测得到胶体金的外观特征，同时以紫外-可见分光光度计分析在 400~700 nm 处的吸光度，根据最大吸收峰位置判断胶体金颗粒粒径及均一性，并以此验证胶体金是否合成。

金标抗体的制备　取 1 mL 胶体金溶液，采用氯化钠破坏法确定最佳 pH 和最适抗体添加量。将标记完成的金标抗体溶液采用两步法离心，所得的沉淀混合均匀后复溶，加入 500 μL 重悬工作液 Base E (2×)，加水补足至 1 mL，均匀平铺在空白玻璃纤维上，冷冻真空干燥 2 h 后取出密封即为金标垫。

将 NC 膜平滑地贴在 PVC 底板中间位置上，用划膜仪划线。根据标尺位置分别将浓度为 0.8 mg/mL 的抗原 OVA 和浓度为 1 mg/mL 的羊抗鼠 IgG 划至 NC 膜上的 T 线和 C 线处，37 ℃ 干燥至少 4 h，取出密封干燥备用。免疫层析条件主要优化检测线 T 和质控线 C 的最佳工作质量浓度以及最适 NC 膜。按顺序将金标垫、样品垫和吸水纸贴在底板上，用切条机切割成宽 3.5 mm 试纸条，密封保存备用。

OVA-CGIA-Strip 灵敏度测试　对试纸条进行灵敏度试验，配制终浓度为 0、0.01、0.10、1.00、10.00、20.00、40.00、100.00 μg/mL 的 OVA 标准工作液，用 OVA-CGIA-Strip 检测，各取 50 μL 不同浓度的工作液滴加到样品垫上，反应 5 min 后观察显色结果。结果判定方法：阴性，T、C 线均显色；阳性，C 线显色，T 线不显色；无效，T 线、C 线均不显色。依靠胶体金试纸分析仪读取 T 线数值，以 T 线条带的光吸收值为纵坐标，各 OVA 浓度的对数值为横坐标，每个浓度样本平行测得 3 次，利用 Origin 2021 软件拟合线性标准曲线。

OVA-CGIA-Strip 特异性测试　选取 5 种常见鱼糜制品的原料鱼肉：草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*)、鲢 (*Hypophthalmichthys molitrix*)、蓝圆鲹 (*Decapterus maruadsi*)、尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 和大西洋鳕 (*Gadus morhua*)，参考 Jiang 等[22] 的方法取鱼肌肉，用冰水漂洗 2~3 次，擦干鱼肉表面水分后切碎，加盐擂溃后简单制成鱼糜。鱼糜与样品提取缓冲液按 1∶10(质量体积比) 充分溶解混匀，静置 5 min 后吸取上清液 50 μL 进行检测，同时以鸡蛋 OVA 和鸭蛋 OVA 作为阳性对照，静置 5 min 显色后观察结果。

OVA-CGIA-Strip 准确性测试　选取 2 份上述制备的不含蛋清的阴性鱼糜样品，向其中分别添加不同浓度的鸡蛋 OVA 和鸭蛋 OVA，使加标后 OVA 终浓度分别为 1.00、10.00 和 100.00 μg/mL，每个浓度设置 3 组平行，鱼糜与样品提取缓冲液按 1∶10(质量体积比) 充分溶解混匀，静置 5 min 后吸取上清液 50 μL 分别测定，并用胶体金试纸分析仪进一步确证。加标回收率和变异系数 (CV) 计算公式：

$$\text{加标回收率}(\%)=\frac{\text{加标量}}{\text{实际检测值}}\times 100\%$$

$$\text{CV}(\%)=\frac{\text{SD}}{\text{Mean}}\times 100\%$$

OVA-CGIA-Strip 的实际应用效果　随机选取 7 种市售鱼糜和 1 份不含蛋清的鱼糜样品作为阴性对照样本，鱼糜与样品提取缓冲液按 1∶10(质量体积比) 充分溶解，静置 5 min 后取上清液进行 10~100 倍稀释处理，保证最终检测浓度处于检测线性范围内，滴加 50 μL 溶液于样品垫上进行检测，5 min 后观察条带显色情况，并通过胶体金试纸分析仪读取 T 线数值，代入标准曲线中推测出鱼糜样品中 OVA 的含量。

1.4　数据分析

采用 DOSON-10 软件读取胶体金试纸条 T 线灰度值，实验均作 3 次平行，取平均值和标准偏差。采用 Excel 软件进行数据分析，Origin 8.0 软件绘图。图片采用 Adobe Illustrator 2022 软件标注。

2　结果

2.1　鸡蛋 OVA 的纯化

为了获得高纯度 OVA 以制备特异性抗体，本研究利用柱层析从鸡蛋清中纯化 OVA。蛋清通过双水相萃取法前处理除杂后上样于 DEAE-Sepharose 阴离子交换层析柱，经流洗掉未结合的杂蛋白后用含 0~0.20 mol/L NaCl 的 20 mmol/L Tris-HCl (pH 7.5) 缓冲液进行线性洗脱，OVA 在约 0.12 mol/L NaCl 浓度开始被洗脱下来，收集图 1-a 中第 3 个蛋白洗脱峰进行 SDS-PAGE 分析，图中字母序列为鉴定得到的 OVA 酶解肽段的氨基酸序列。SDS-PAGE 结果表明 (图 1-b)，OVA 在非还原状态下呈现分子质量约为 40 和 80 ku 的蛋白条带，推测

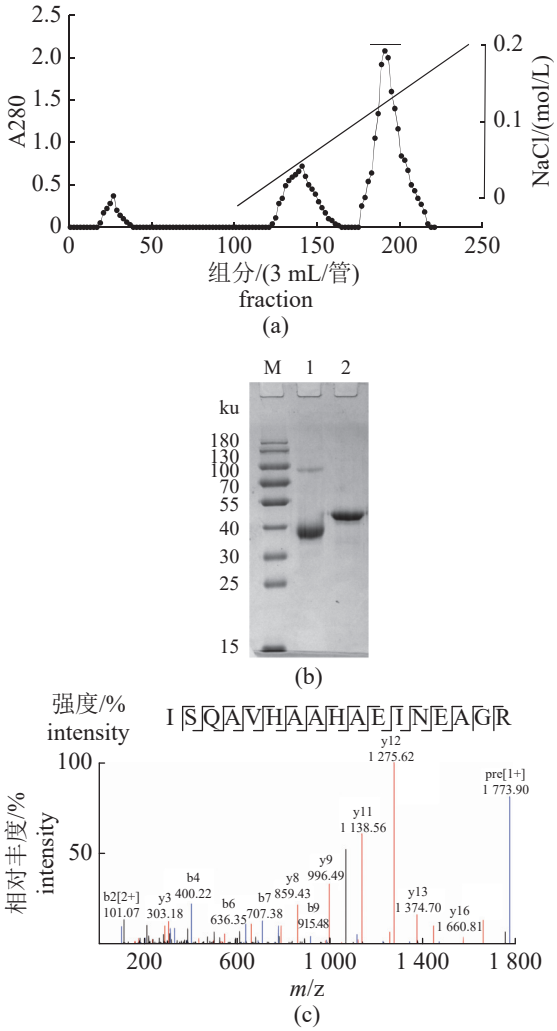


图 1　OVA 的柱层析纯化及质谱鉴定

(a) OVA 的 DEAE-Sepharose 柱层析纯化图；(b) OVA 的 SDS-PAGE 结果。M.标准蛋白；1.非还原；2.还原；(c) OVA 的肽质量指纹图谱。

Fig. 1　Column chromatography purification and mass spectrometry identification of OVA

(a) DEAE-Sepharose column chromatography purification of OVA; (b) SDS-PAGE analysis of OVA. M. molecular weight marker; 1. non-reduced; 2. reduced; (c) peptide mass fingerprinting of OVA.

80 ku 处的条带为 OVA 的二聚体[24]。加入还原剂后的 OVA 分子质量在 45 ku 处呈单一蛋白条带，这与报道的还原条件下 OVA 理论分子质量一致[9]。

为进一步验证该蛋白条带是否为目的蛋白 OVA，将还原条件下的 OVA 蛋白条带切胶回收后进行质谱鉴定分析。质谱鉴定共扫描得到了 195 个肽段，含 385 个氨基酸残基。图 1-c 是该蛋白条带的其中一个二级质谱图，与鸡 (*Gallus gallus*) OVA 氨基酸序列比对覆盖率为 99%，证明本研究纯化得到了高纯度鸡 OVA。

2.2　抗 OVA 多克隆抗体的特异性分析

以高度纯化的鸡 OVA 免疫小鼠，通过 Protein G 亲和层析柱纯化小鼠血清，得到抗 OVA 多克隆抗体 IgG。用 Western blot 分析抗体的特异性。图 2-a 为还原条件下鸡蛋清全蛋白，咸鸭蛋清全蛋白，鲢、草鱼、蓝圆鲹和凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 的肌肉全蛋白 SDS-PAGE。图 2-b 为 Western blot 结果，制备的抗 OVA 多克隆抗体对鸡、鸭蛋清中的 OVA 均有特异性反应，与蛋清中的其他蛋白及 3 种鱼肉肌肉蛋白和凡纳滨对虾肌肉蛋白不产生免疫交叉反应。鉴于鸡 OVA 和鸭 OVA 的蛋白同源性高达 81%[25]，所制备的抗 OVA 多克隆抗体对鸡 OVA 和鸭 OVA 均有特异性反应且亲和力较好，可用于后续实验。

2.3　胶体金溶液的制备

采用传统的柠檬酸三钠还原法制备胶体金溶液，通过紫外可见光光谱和目测观察对其进行表征，图 3-a 是通过紫外可见光扫描光谱表征其粒径，500~550 nm 为其特征峰，最大吸收波长在 527 nm，对应的最大吸光值为 3.49，峰形较窄、波形光滑。目测观察结果如图 3-b 所示。胶体金溶液清澈透亮，呈酒红色，无悬浮物和沉淀，判断胶体金溶液质量良好。

2.4　金标抗体最佳 pH 值和最佳抗体蛋白用量的确定

胶体金溶液颗粒易受 pH 值、盐离子、温度等因素的影响。因此，金标抗体在制备过程中应保持整体稳定，使胶体金与抗体之间较好地进行耦联，提高耦联成功率，减少“死金”现象发生[26]。

在金标抗体制备过程中，主要考虑胶体金溶液的 pH 以及抗体蛋白的最佳添加量。由于胶体金溶液易损坏 pH 计探头，采用不同添加量的

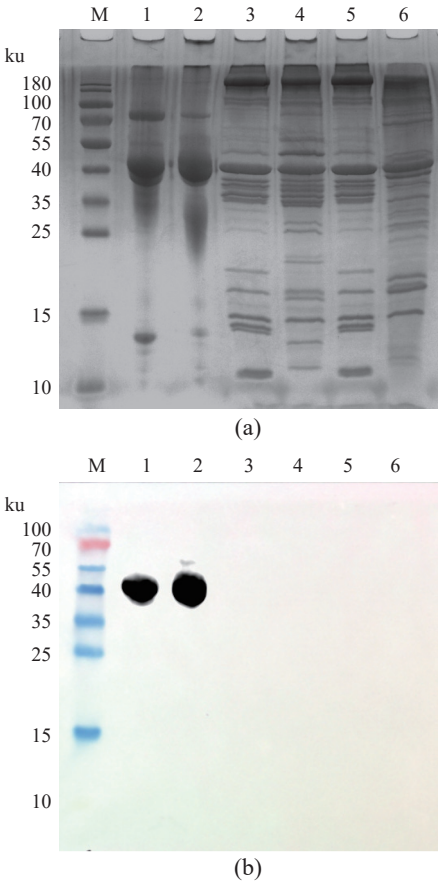


图 2　抗 OVA 多克隆抗体的特异性分析

(a) SDS-PAGE；(b) Western blot。M.标准蛋白，1.鸡蛋清，2.咸鸭蛋清，3.鲢，4.草鱼，5. 蓝圆鲹，6. 凡纳滨对虾。

Fig. 2　Specificity analysis of anti-OVA polyclonal antibody

(a) SDS-PAGE; (b) Western blot. M. molecular weight marker; 1. hen egg white, 2. salted duck egg white, 3. *H. molitrix*, 4. *C. idella*, 5. *C. crysos*, 6. *L. vannamei*.

0.2 mol/L K_2CO_3 来定义 pH[27]。如图 4-a 所示，1 mL 胶体金-抗体耦合物溶液的 OD_{520} 值随着 0.2 mol/L K_2CO_3 的增加不断增大。当 0.2 mol/L K_2CO_3 添加量为 10 μL 时，OD_{520} 达到最大值，此后变化幅度不大。表明在 1 mL 胶体金溶液中加入 10 μL 的 0.2 mol/L K_2CO_3，金颗粒与抗体蛋白吸附效果最好，此时的溶液达到标记抗体的最适 pH，故而选择 1 mL 胶体金溶液中 0.2 mol/L K_2CO_3 的最适添加量为 10 μL。如图 4-b 所示，随着抗体添加量的增加，胶体金-抗体耦合物 OD_{520} 值逐渐增大，当每毫升胶体金溶液中抗体浓度为 0.075 mg/mL 时，OD_{520} 为最大值，之后随着抗体添加量继续增大，OD_{520} 的值未出现显著升高，表明体系达到稳定状态。此时即为胶体金溶液中鼠抗鸡蛋 OVA 多克隆抗体的最适浓度。

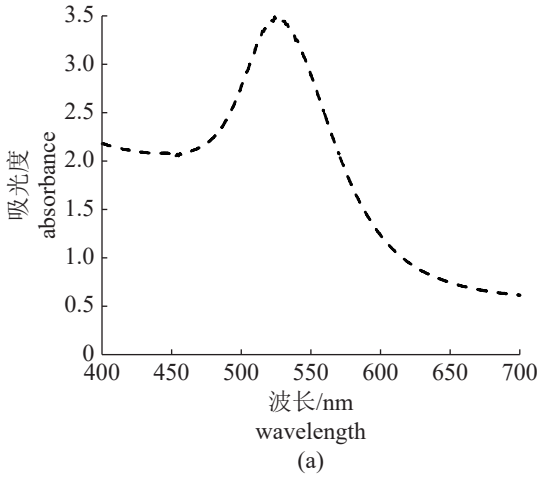


图 3　胶体金溶液的表征

(a) 胶体金溶液的紫外可见光扫描图谱；(b) 目测观察结果。

Fig. 3　Characterization of the colloidal gold solution

(a) UV-Vis spectrum of the colloidal gold solution; (b) visual observation result.

2.5　OVA-CGIA-Strip 的灵敏度测试

通过制备不同浓度的 OVA 标准工作液，滴加到试纸条上进行灵敏度测定及拟合标准曲线。图 5-a 为 T 线灰度值随着 OVA 工作液浓度变化的曲线，当 OVA 的浓度为 0.01~20.00 μg/mL 时，OVA 浓度的对数值与 T 线灰度值呈线性关系，线性方程为 y=7.17-2.79 lg$x$，R^2=0.98，LOD=0.20 μg/mL，作为抑制性 ELISA，其 IC_{50}=(3.13±0.18) μg/mL。随着 OVA 反应浓度的增大，OVA-CGIA-Strip 的 T 线颜色逐渐变浅，C 线颜色保持不变(图 5-b)。当 OVA 浓度为 1.00 μg/mL 时，T线仍略有颜色；浓度为 20.00 μg/mL 时，T 线完全消失，因此视觉检出限 (vLOD) 为 20.00 μg/mL。

2.6　OVA-CGIA-Strip 特异性测试

为了验证 OVA-CGIA-Strip 的特异性，选取 5 种市面上常见用于鱼糜制品生产的原料鱼，将它们简单加工制成生鱼糜。将鱼糜与样品提取缓冲液 (含 0.05% 吐温-20 的 10 mmol/L PBS, pH 7.4) 按 1∶10(质量体积比) 充分混合均匀，让鱼糜在缓冲液中均匀分散，静置 5 min 后吸取 50 μL 滴加到样品孔进行特异性检测。反应 5 min 后观察 OVA-CGIA-Strip 的 C 线和 T 线的显色情况。结果如图 6 所示，5 种鱼糜的测试结果均为阴性，而对照组鸡蛋 OVA、鸭蛋 OVA 均呈阳性，表明所研发的 OVA-CGIA-Strip 与鱼肉蛋白不发生免疫交叉反应，与 Western blot 结果一致，特异性良好。

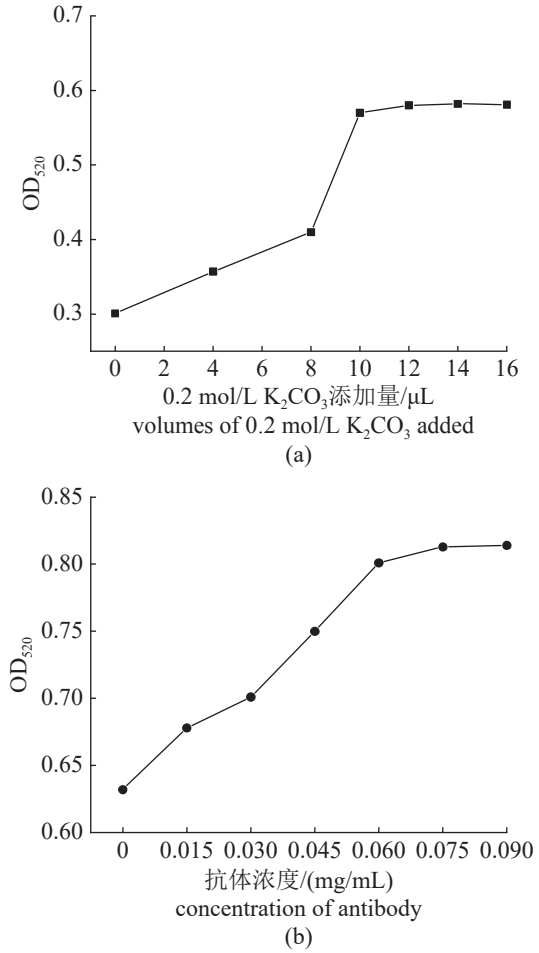


图 4　0.2 mol/L K_2CO_3 最适添加量和最佳抗体浓度的确定

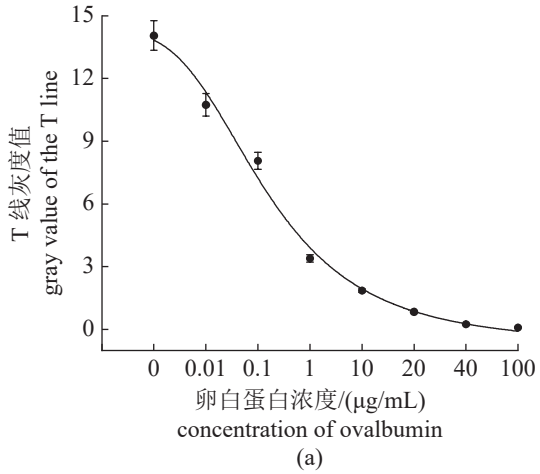
(a) 不同 0.2 mol/L K_2CO_3 添加量下胶体金的 OD_{520}；(b) 不同抗体浓度下胶体金的 OD_{520}。

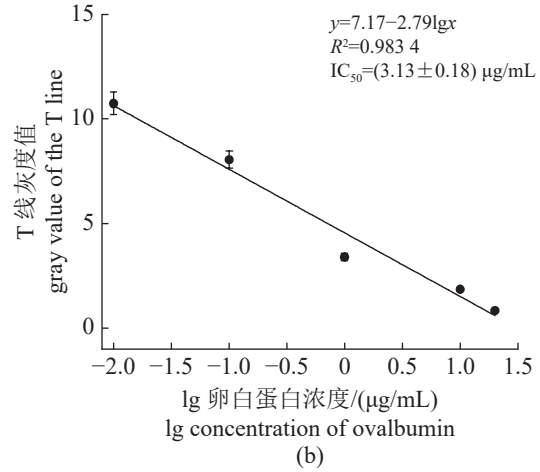
Fig. 4　Determination of the optimal addition of 0.2 mol/L K_2CO_3 and antibody concentration

(a) OD_{520} of colloidal gold with different amounts of 0.2 mol/L K_2CO_3 added; (b) OD_{520} of colloidal gold at different antibody concentrations.

2.7　OVA-CGIA-Strip 准确性测试

向阴性鱼糜样品中添加不同浓度的鸡蛋





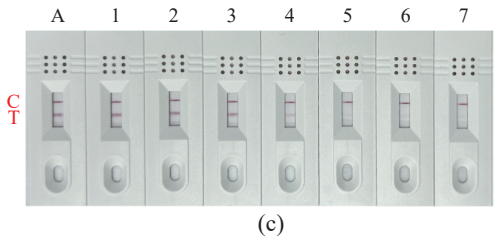


图 5　OVA-CGIA-Strip 的灵敏度分析

(a) OVA-CGIA-Strip 四参数竞争抑制曲线；(b) OVA-CGIA-Strip 标准曲线；(c) 不同标准浓度 OVA 的检测结果，A.提取缓冲液。

Fig. 5　Sensitivity analysis of OVA-CGIA-Strip

(a) four-parameter competitive inhibition curve of OVA-CGIA-Strip; (b) OVA-CGIA-Strip standard curve; (c) detection results of OVA at different standard concentrations, A. extracted buffer solution, 1. 0.01 μg/mL, 2. 0.10 μg/mL, 3. 1.00 μg/mL, 4. 10.00 μg/mL, 5. 20.00 μg/mL, 6. 40.00 μg/mL, 7. 100.00 μg/mL.

OVA 和鸭蛋 OVA 标准品，加标终浓度分别为 1.00、10.00 和 100.00 μg/mL，每个加标浓度重复测定 3 次，并用胶体金试纸分析仪器进一步确证。鸡蛋 OVA 在鱼糜样品中的加标回收率为 109.50%~112.52%，CV 值为 9.83%~11.32%；鸭蛋 OVA 在鱼糜样品中的加标回收率为 87.94%~114.92%，

图 6　OVA-CGIA-Strip 的特异性测试

B.空白对照，1.草鱼糜，2.鲢鱼糜，3.蓝圆鲹鱼糜，4.尼罗罗非鱼糜，5.大西洋鳕鱼糜，6.鸡蛋 OVA，7.鸭蛋 OVA。

Fig. 6　Specificity test of OVA-CGIA-Strip

B. blank，1. *C. idella* surimi，2. *H. molitrix* surimi，3. *D. maruadsi* surimi，4. *O. niloticus* surimi，5. *G. morhua* surimi，6. egg OVA，7. duck egg OVA.

CV 值为 11.03%~12.41% (表 1)。由于鱼糜的基质干扰较大，导致两种 OVA 在鱼糜中的加标回收率整体略偏高，但该方法在线性范围内的加标回收结果符合预期要求，具有良好的准确度，表明研发的 OVA-CGIA-Strip 可用于鱼糜中 OVA 的检测。

2.8　OVA-CGIA-Strip 的实际应用效果

随机选取市售的 7 种鱼糜制品 (序号 1~7，配料表中均有标注含蛋清成分，但未明确具体含量) 和不含蛋清鱼糜 (序号 8，作为阴性对照)，用 OVA-CGIA-Strip 进行检测。结果如图 7-a 所示，7 种冷冻鱼糜制品在检测卡的 T 线均出现不同程度的弱化，表明不同鱼糜制品中均有不同程度添加蛋清，这也提示了在鱼糜制品包装上对蛋清含量进行明确标示及监管的必要性。进一步可利用胶体金试纸条分析仪对 T 线条带进行量化，代入标准曲线可计算得到鱼糜样品中 OVA 的含量。

为进一步确认这 7 种鱼糜制品中 OVA 的存在情况，用 Western blot 作进一步验证。如图 7-b 所示，7 种鱼糜制品均在分子质量 45 ku 处有 OVA 特异性条带显示，而阴性对照未检测到该条

表 1　OVA-CGIA-Strip 的准确性测试

Tab. 1　Accuracy test of OVA-CGIA-Strip

样品 samples	加标量/(μg/mL) spiked level	实际检测值/(μg/mL) measured value	加标回收率/% recovery	变异系数/% CV
鸡蛋 OVA egg OVA	1.00	1.19±0.15	109.50	10.60
	10.00	11.25±0.76	112.52	11.32
	100.00	112.21±0.24	112.41	9.83
鸭蛋OVA duck egg OVA	1.00	1.14±0.92	114.92	11.03
	10.00	8.79±0.69	87.94	12.35
	100.00	93.46±0.78	93.43	12.41

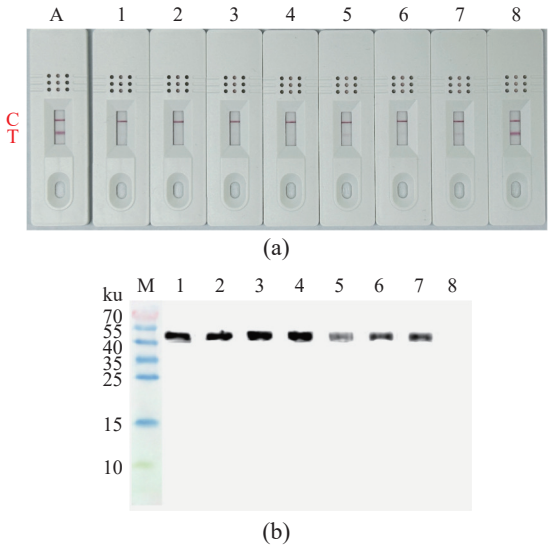


图 7　利用 OVA-CGIA-Strip 检测鱼糜样品及 Western blot 验证

(a) 8 种鱼糜样品的 OVA-CGIA-Strip 检测结果，A.提取缓冲液；(b) Western blot。M.标准蛋白；1~7. 市售鱼糜样品，8. 阴性对照样品。

Fig. 7　OVA-CGIA-Strip assay for surimi samples and Western blot

(a) OVA-CGIA-Strip detection results of eight surimi samples, A. extracted buffer solution; (b) Western blot. M, molecular weight marker; 1-7. commercial surimi samples; 8. negative control sample.

带，此结果与检测试纸条一致。综合以上结果表明，本研究开发的试纸条对于鱼糜制品中 OVA 的检测是可行的，这也为冷冻鱼糜原料及制品中 OVA 的快速检测提供了解决途径。

3　讨论

鱼糜制品适量添加蛋清可以提高凝胶强度，丰富鱼糜制品种类等[25,28-29]。但随着鱼糜制品市场需求量的增加，产品良莠不齐的情况值得关注，部分鱼糜制品的生产为了降低成本，过量添加蛋清且没有正确标识，同时蛋清作为潜在的致敏性食物，对于过敏患者潜在风险巨大。早期，咸蛋清作为咸蛋黄产品加工废弃物因其高含盐量等原因往往被直接丢弃，造成大量蛋白质资源的浪费[30]。随着电渗析技术的广泛使用，咸蛋清经过脱盐处理后被添加到鱼糜制品中，以增强鱼糜制品的凝胶特性，丰富质感[31-32]。除此之外，蛋清蛋白的添加形式还有干蛋清粉、冷冻蛋清等。目前，大多数鱼糜制品生产企业都是直接购入冷冻鱼糜原料进行鱼糜制品的生产加工，购买原料时无法快速准确得知原料鱼糜中是否含有 OVA 及其含量，同一生产线的制品中可能受 OVA 的残留或交叉污染。因此，迫切需要建立一种能在现场快速、灵敏地检测出鱼糜原料及其制品中 OVA 含量的方法，便于鱼糜制品生产企业进行合理化生产，从而在产品外包装上正确标识，对于 OVA 过敏者维护自身健康权益具有重要的现实意义。

目前，检测鱼糜制品及其他食品中 OVA 存在情况的研究已有报道。鱼糜制品中 OVA 的检测最早是以免疫测定法为主，Romero-Rodríguez 等[24]将免疫印迹技术 (Western blot) 应用于检测鱼糜制品中的 OVA，检测限为 0.50 ng/mL。后来逐步发展为以 ELISA 检测模式的检测方法居多，例如赵勇娟等[9]基于竞争性 ELISA 建立了鱼糜制品中 OVA 的检测方法，该方法对鱼糜制品中 OVA 的检测限为 1.82 mg/kg，具有良好的检测效果。朱文嘉等[33]通过开发了双抗体夹心酶联免疫吸附检测试剂盒，提升了 ELISA 检测法对鱼糜制品中的 OVA 的检测灵敏度，并进而实现对鱼糜制品中的鸡蛋清含量的定量检测。诸如 Western blot、ELISA 等检测方法操作步骤繁琐，检测时间长，需要精密昂贵仪器且实际应用困难。随后研究人员将免疫测定与传感器进行结合，突破了单一免疫检测方法的模式，检测灵敏度得到较大提升。Kareem 等[34]建立了一种基于纳米纤维素-Ti 的超灵敏化学免疫传感器用于检测某些食品 (如饼干、葡萄酒等) 中的鸡蛋过敏原 OVA，该方法表现出很高的灵敏度，定量限为 1.10 fg/mL，检测线性范围为 0.01~1 000.00 pg/mL。虽然这类检测方法较为灵敏，检测限较低，但难以应用于检测鱼糜等成分复杂的食品中。本研究通过采用离子交换层析法从鸡蛋清中高度纯化 OVA，并制备了特异性较好、亲和力较高的多克隆抗体，开发的胶体金检测试纸条可以针对鱼糜中的 OVA 快速灵敏地检测，相较于上述检测方法有较大的优势，主要体现在本检测方法操作简便且耗时短，从样品处理到检测完成整个过程可在 10 min内实现。同时，无需特定的专业操作人员来完成检测，检测结果灵敏度较高。最后，区别于目前已有的方法大多依靠大型昂贵精密的分析仪器完成定量检测，本研究建立的检测方法只需借助微型或手持的胶体金试纸分析仪实现 OVA 的定量检测。虽在检测限方面 (LOD=0.20 μg/mL) 高于以上几种方法，但在鱼糜制品实际生产过程中蛋清的添加量较大，一般为

5%~10%，甚至更高[8]。因此，过于追求较低的检测限对于鱼糜制品中 OVA 的检测实际应用意义不大。由于鸡 OVA 和鸭 OVA 的氨基酸序列同源度较高[35]，所开发的检测试纸对二者均有特异性反应，达到了对鱼糜中鸡蛋清 OVA、鸭 OVA 的检测目标要求。接下来可从优化检测抗体的角度出发，制备单克隆抗体、纳米抗体等，有针对性地区分两种不同禽类的 OVA。此外，应进一步改进检测试纸的性能，为其他复杂食品基质中 OVA 的快速灵敏检测提供理论和技术支持。

总之，本研究开发的检测试纸可以实现现场、快速检测鱼糜原料及制品中的 OVA，配合胶体金试纸分析仪可实现对 OVA 的定量检测。整个检测方法特异性好、成本低、速度快，较其他现有的检测方法具有一定优势。

（作者声明本文无利益冲突）

参考文献 (References)：

[1] Ma B, Fu X, Zhu P, *et al*. Allergenicity, assembly and applications of ovalbumin in egg white: a review[J]. Critical Reviews in Food Sceince and Nutrition, 2024, 64(24): 8672-8688.

[2] Rostamabadi H, Chaudhary V, Chhikara N, *et al*. Ovalbumin, an outstanding food hydrocolloid: applications, technofunctional attributes, and nutritional facts, a systematic review[J]. Food Hydrocolloids, 2023, 139: 108514.

[3] Liu E G, Tan J, Munoz J S, *et al*. Food matrix composition affects the allergenicity of baked egg products[J]. The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice, 2024, 12(8): 2111-2117.

[4] Wang Z L, Zhang J, Yuan J, *et al*. Oral administration of egg ovalbumin allergen induces dysregulation of tryptophan metabolism in sensitized BALB/c mice[J]. Food & Function, 2024, 15(8): 4375-4388.

[5] Shifti D M, Soriano V X, Perrett K P, *et al*. Milk and egg allergy are associated with increased risk of peanut allergy at age 1 in Australia[J]. The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice, 2024, 12(10): 2868-2869. e2.

[6] Csurka T, Varga-Tóth A, Kühn D, *et al*. Comparison of techno-functional and sensory properties of sponge cakes made with egg powder and different quality of powdered blood products for substituting egg allergen and developing functional food[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 979594.

[7] 薛长湖, 李兆杰. 我国水产品加工和流通产业科技现状与发展趋势 [J]. 水产学报, 2023, 47(11): 119817.
Xue C H, Li Z J. Current situation and development trend of science and technology in aquatic product processing and circulation industry of China[J]. Journal of Fisheries of China, 2023, 47(11): 119817 (in Chinese).

[8] 王卉楠, 励建荣, 李学鹏, 等. 鱼糜组分间相互作用对其凝胶特性影响的研究进展 [J]. 中国食品学报, 2022, 22(9): 365-375.
Wang H N, Li J R, Li X P, *et al*. Research progress on the effect of component interactions on the gel properties of surimi[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2022, 22(9): 365-375 (in Chinese).

[9] 赵勇娟, 翁凌, 颜龙杰, 等. 竞争性 ELISA 检测鱼糜制品中蛋清含量 [J]. 食品科学, 2017, 38(14): 284-289.
Zhao Y J, Weng L, Yan L J, *et al*. Quantification of added egg white in surimi products by competitive enzyme linked-immunosorbent assay[J]. Food Science, 2017, 38(14): 284-289 (in Chinese).

[10] 李钰金, 林洪, 赵元晖, 等. 蛋白质类添加物在鱼糜制品中的应用现状及发展趋势 [J]. 食品研究与开发, 2020, 41(5): 220-224.
Li Y J, Lin H, Zhao Y H, *et al*. Application status and development trend of protein additives in fish surimi products[J]. Food Research and Development, 2020, 41(5): 220-224 (in Chinese).

[11] Huang Y H, Li R R, Zhu W Y, *et al*. Development of a fluorescent multiplexed lateral flow immunoassay for the simultaneous detection of crustacean allergen tropomyosin, sarcoplasmic calcium binding protein and egg allergen ovalbumin in different matrices and commercial foods[J]. Food Chemistry, 2024, 440: 138275.

[12] Mattarozzi M, Milioli M, Bignardi C, *et al*. Investigation of different sample pre-treatment routes for liquid chromatography–tandem mass spectrometry detection of caseins and ovalbumin in fortified red wine[J]. Food Control, 2014, 38: 82-87.

[13] Baldo T A, Proença C D A, da Silva Felix F, *et al*. Disposable electrochemical microfluidic device for ultrasensitive detection of egg allergen in wine samples[J]. Talanta, 2021, 232: 122447.

[14] Azarnia S, Boye J I, Mongeon V, *et al*. Detection of ovalbumin in egg white, whole egg and incurred pasta using LC-ESI-MS/MS and ELISA[J]. Food Research International, 2013, 52(2): 526-534.

[15] 龚频, 王思远, 陈雪峰, 等. 胶体金免疫层析试纸条技术及其在食品安全检测中的应用研究进展 [J]. 食品工业科技, 2019, 40(13): 358-364.
Gong P, Wang S Y, Chen X F, *et al*. Research progress of colloidal gold immunochromatographic test strip technology and its application in food safety testing[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(13): 358-364 (in Chinese).

[16] Wang Y D, Fu Y W, Miao K, *et al*. A colloidal gold immunochromatographic method for rapid screening of imidacloprid residues in Chinese herbal medicines[J]. Journal of Chromatography B, 2024, 1244: 124240.

[17] 徐超莲, 赖卫华, 刘道峰. 胶体金免疫层析法检测食品中天然存在的危害物质的研究进展 [J]. 食品科学, 2014, 35(5): 257-261.

Xu C L, Lai W H, Liu D F. Progress in the detection of naturally occurring hazardous substances in foods by colloidal gold immunochromatography assay[J]. Food Science, 2014, 35(5): 257-261 (in Chinese).

[18] Wang Y, Deng R G, Zhang G P, *et al*. Rapid and sensitive detection of the food allergen glycinin in powdered milk using a lateral flow colloidal gold immunoassay strip test[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(8): 2172-2178.

[19] 高红艳, 赵金龙, 王雅晴, 等. 甲壳类水产品主要过敏原原肌球蛋白胶体金免疫层析快速检测方法的建立及应用 [J]. 水产学报, 2022, 46(7): 1269-1281.
Gao H Y, Zhao J L, Wang Y Q, *et al*. Establishment and application of colloidal gold immunochromatographic method for rapid detection of major allergen tropomyosin in crustacean aquatic products[J]. Journal of Fisheries of China, 2022, 46(7): 1269-1281 (in Chinese).

[20] Anfossi L, Di Nardo F, Russo A, *et al*. Silver and gold nanoparticles as multi-chromatic lateral flow assay probes for the detection of food allergens[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2019, 411(9): 1905-1913.

[21] Geng F, Xie Y X, Wang J Q, *et al*. Large-scale purification of ovalbumin using polyethylene glycol precipitation and isoelectric precipitation[J]. Poultry Science, 2019, 98(3): 1545-1550.

[22] Jiang T L, Cai Q F, Shen J D, *et al*. Establishment of immunological methods for the detection of soybean proteins in surimi products[J]. LWT-Food Science and Technology, 2015, 64(1): 344-349.

[23] 张鑫磊, 隋建新, 陈静, 等. 水产品中恩诺沙星胶体金免疫层析毛细管检测及其前处理 [J]. 食品科学, 2017, 38(22): 322-329.
Zhang X L, Sui J X, Chen J, *et al*. Development of a nano-gold capillary immunochromatographic assay and comparison of different sample pretreatments for detection of enrofloxacin in aquatic products[J]. Food Science, 2017, 38(22): 322-329 (in Chinese).

[24] Romero-Rodríguez M A, Barcia-Vieitez R, Vázquez-Odériz M L. An immunochemical technique for the detection of ovalbumin in surimi-derived products[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2002, 82(14): 1614-1616.

[25] Wasinnitiwong N, Benjakul S, Hong H. Effects of κ-carrageenan on gel quality of threadfin bream (*Nemipterus* spp.) surimi containing salted duck egg white powder[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 221: 61-70.

[26] 韩金治, 李亚茹, 罗林, 等. 胶体金免疫层析法快速检测水产品中河豚毒素的研究 [J]. 分析测试学报, 2023, 42(12): 1598-1606.
Han J Z, Li Y R, Luo L, *et al*. Rapid detection of tetrodotoxin in aquatic products by colloidal gold immunochromatography assay[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2023, 42(12): 1598-1606 (in Chinese).

[27] 何晓婷, 陈子键, 黄松, 等. 基于纳米抗体的胶体金免疫层析法快速检测蔬菜中腐霉利 [J]. 食品科学, 2023, 44(8): 307-316.
He X T, Chen Z J, Huang S, *et al*. Rapid detection of procymidone in vegetables by nanobody-based colloidal gold immunochromatography assay[J]. Food Science, 2023, 44(8): 307-316 (in Chinese).

[28] Pang Y M, Zhao S J, Liu Z W, *et al*. An enhanced immunochromatography assay based on colloidal gold-decorated polydopamine for rapid and sensitive determination of gentamicin in animal-derived food[J]. Food Chemistry, 2022, 387: 132916.

[29] Srisai P, Pansawat N, Rattanaporn K, *et al*. Textural and physicochemical properties of threadfin bream surimi gels prepared with salted duck egg white as substitute for hen egg white[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2023, 58(3): 1098-1107.

[30] Zhou B, Zhao J Y, Rong Y J, *et al*. Foaming and interfacial properties of desalted duck egg white nanogels after weak enzymatical hydrolyzation[J]. Food Hydrocolloids, 2023, 134: 108093.

[31] Wang Y D, Yan H, Zhuang Y, *et al*. Effect of soy protein isolate, egg white protein and whey protein isolate on the flavor characteristics of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) surimi[J]. LWT, 2023, 186: 115237.

[32] Du M Y, Sun Z G, Liu Z N, *et al*. High efficiency desalination of wasted salted duck egg white and processing into food-grade pickering emulsion stabilizer[J]. LWT, 2022, 161: 113337.

[33] 朱文嘉, 陈江平, 秦智慧, 等. 双抗体夹心酶联免疫吸附法检测鱼糜制品中鸡蛋卵白蛋白 [J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(6): 190-197.
Zhu W J, Chen J P, Qin Z H, *et al*. Determination of egg ovalbumin in surimi products by double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(6): 190-197 (in Chinese).

[34] Kareem F, Mohd-Naim N F, Ahmed M U. A novel and ultrasensitive electrochemical immunosensor based on nanocellulose-$Ti_3C_2T_x$@ZrO_2 nano framework for the detection of ovalbumin[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 257(Pt 2): 128657.

[35] Da Silva M, Beauclercq S, Harichaux G, *et al*. The family secrets of avian egg-specific ovalbumin and its related proteins Y and X[J]. Biology of Reproduction, 2015, 93(3): 71.

Rapid detection of ovalbumin in surimi based on colloidal gold immunochromatography assay

LI Zhonglin [1], HUANG Jianlian [2, 3*], ZHANG Lingjing [1], ZHANG Changgong [4], CHEN Yulei [1], WENG Ling [1], CAO Minjie [1*]

(1. *College of Ocean Food and Biological Engineering*, *Jimei University*, *Xiamen* 361021, *China*;
2. *Key Laboratory of Refrigeration and Conditioning Aquatic Products Processing in Fujian Province*, *Xiamen* 361028, *China*;
3. *Anjoy Foods Group Co.*, *Ltd.*, *Xiamen* 361028, *China*;
4. *Xiamen Bonson Biotechnology Co.*, *Ltd.*, *Xiamen* 361021, *China*)

Abstract: Egg white is widely used in the food industry due to its unique properties, particularly in the production and processing of surimi products. However, some manufacturers excessively add egg white as a substitute for fish meat without proper labeling, aiming to reduce production costs. Ovalbumin (OVA), a major allergen in egg white, is the primary protein of concern. Currently, established standards for the use of OVA in surimi products are not available. The addition of non-fish proteins, such as egg white protein, not only constitutes food adulteration but also causes significant health risks to individuals with allergies due to the presence of OVA. Since there is no effective clinical treatment for food allergies, patients are advised to avoid allergenic ingredients in their diets. Therefore, developing a rapid, simple, and sensitive detection method for allergens is of practical significance. In this study, a rapid, simple, and on-site method for detecting the food allergen OVA in surimi raw material and its products was developed based on the colloidal gold immunochromatographic assay (CGIA). Egg white was pretreated using a two-phase aqueous extraction method, and OVA was purified by ion-exchange chromatography. The purity of purified OVA was assessed via sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and further confirmed by mass spectrometry. Polyclonal antibodies against OVA were prepared, and colloidal gold solution was synthesized using the trisodium citrate reduction method. The antibodies were then labeled with colloidal gold. A colloidal gold immunochromatographic test strip for OVA detection was developed based on a competitive assay principle and optimized. Western blot analysis demonstrated that the anti-OVA polyclonal antibodies specifically recognized chicken egg OVA and duck egg OVA without cross-reacting with other proteins in surimi, indicating high specificity. The developed OVA-CGIA-Strip could rapidly detect chicken and duck OVAs in surimi. Four parameter logistic curve was used to fit the standard curve y=7.17-2.79 lg$x$ (R^2 = 0.983 4). The linear range was 0.01 to 20.00 μg/mL, with a limit of detection (LOD) of 0.20 μg/mL and IC_{50} of (3.13±0.18) μg/mL. The OVA-CGIA method is simple to use, highly specific, and accurate. When combined with a colloidal gold strip analyzer, it enables convenient, rapid, and quantitative detection of OVA in surimi. In summary, the OVA-CGIA-Strip established in this study provides a simple, specific, and accurate approach for rapid on-site detection of OVA in surimi. This method not only helps safeguard the health of allergic individuals but also ensures the integrity of surimi products, with significant implications for both public health and the food industry. Its promising research and development prospects make it a valuable tool for future applications.

Key words: ovalbumin; surimi; colloidal gold immunochromatographic assay; food allergen; rapid detection

Corresponding authors: HUANG Jianlian. E-mail: 416688254@qq.com;
CAO Minjie. E-mail: mjcao@jmu.edu.cn

Funding projects: National Key R & D Program of China (2018YFD0901004); Open Research Program of Fujian Key Laboratory of Refrigerated and Prepared Aquatic Products Processing (FJKLRCAPP2024-01)