

美国 BioXL 黄曲霉毒素 B1 检测试剂盒说明书

适用

BioXL 黄曲霉毒素检测试剂盒利用竞争酶联免疫吸附原理定量检测小麦, 大麦, 芽麦, 燕麦, 食品添加剂, 谷物中的总黄曲霉毒素。

检测原理

BioXL 黄曲霉毒素检测试剂盒是基于竞争性酶联免疫吸附检测法。用甲醇/水震荡萃取粉碎样品中的黄曲霉毒素, 过滤水相萃取物, 然后进行免疫学检测。加黄曲霉毒素的酶标记物到已加有标准或样品的测试孔中, 抗体被加入后反应开始, 样品及酶标记物竞争结合连接在微孔上的抗体, 10 分钟培养后, 倒掉孔中的溶液, 洗掉微孔中未的结合黄曲霉毒素和酶标记物。加入无色的底物溶液, 培养 10 分钟, 所有结合的酶标记物使底物转化成蓝色物质。加入停止液然后读取吸光度值, 未知浓度样品与标准吸光度值进行比较, 就可以得到样品的总黄曲霉毒素浓度。

特异性

BioXL 黄曲霉毒素检测试剂盒对于黄曲霉毒素有很强的特异性, 以下表格展示了与其他形式的交叉反应率。

复合物	50%BO	交叉反应率
黄曲霉毒素 B1	40	100%
黄曲霉毒素 B2	39	38%
黄曲霉毒素 G1	39.5	35%
黄曲霉毒素 G2	22	34%

试剂及材料

若试剂盒保存在 2-8℃, 未拆开包装的试剂盒在标识的保质期之前均可放心使用。

1. 真空包装, 包含干燥剂的 8×12 的微孔板。
2. 5 瓶 2ml 浓度为 0, 2.0, 7.5, 25, 100 ng/ml (ppb) 的黄曲霉毒素标准品, (注意: 因为谷物样品在萃取过程中 1: 10 倍稀释, 标准品实际上为设定标准浓度的 1/10, 所以原样品的浓度无需校正)。
3. 1 瓶 8ml 的酶标记物。
4. 1 瓶 8ml 的兔抗黄曲霉毒素抗体。
5. 1 瓶 14ml 的底物溶液
6. 1 瓶 14ml 的停止液 (注意: 1N 盐酸, 小心操作!)
7. 操作说明书

注意事项

1. 每种试剂最适用于 BioXL 黄曲霉毒素试剂盒。其他生产商的试剂不可替代本试剂盒中的任何试剂, 不同批次之间的试剂不可混用。
2. 被稀释或污染的试剂及程序中未提及的样品种类都会导致结果失真。
3. 不可使用过期试剂。
4. 开始实验前试剂需回温于室温 (20-28℃), 但避免试剂在室温存放过久 (>24 小时)。

5. 黄曲霉毒素为极毒物质，将所有丢弃的液体倒入盛有家用漂白粉(不低于 10%)的塑料容器中，所有的实验器具必须在 30%家用漂白粉溶液中浸泡至少 1 小时，戴上手套穿上防护服以避免皮肤及黏膜与试剂或样品萃取物接触，如果一旦接触，必须立即用大量水冲洗。
 6. 停止液为 1N 盐酸，避免皮肤及黏膜接触，如果有溅出，立即清除并用大量水冲洗。
- 所需材料（不提供）

1. 实验室用蒸馏水或去离子水
2. 色谱级甲醇
3. 具塞锥形瓶，大于 100ml
4. 用于萃取样品及收集萃取液玻璃器皿
5. 滤纸，Whatman GF/A 及相当者
6. 可吸取 50ul 容量的移液器及一次性吸头
7. 可吸取 50ul 或 100ul 的八道移液器及一次性吸头
8. 吸水纸
9. 450nm 的酶标仪
10. 计时器

提取液制备

1. 分别量取 20ml 蒸馏水/去离子水至各锥形瓶
2. 分别量取 80ml 甲醇至各锥形瓶，震荡使之充分混匀

样品的准备

1. 粉碎好的样品过 20 目筛并在取样前充分混合，不立即分析的样品应放在冰箱中储存。
2. 称取 50g 样品和 5.0g NaCl 至一有盖容器中。
3. 加入 100ml 甲醇/水提取液，
4. 盖好盖子高速搅拌 1 分钟。
5. 静置 2-3 分钟，使样品沉淀。
6. 用 Whatman GF/A 玻璃纤维滤纸过滤 10ml 萃取液，收集滤液到一干净容器中。
7. 取 5ml 萃取液，用 20ml 水稀释。
8. 过滤稀释液，待测。

检测程序

（注意标准及样品做平行试验，可以提高检测的准确度及精确度）

1. 开始实验前要求试剂及样品萃取液达到室温。
2. 取适量的孔条固定在微孔板架上，未使用的孔条，与干燥剂一同放入密封袋中保存。
3. 加入 50ul 的酶标记物到微孔中。
4. 加入 50ul 的标准品及样品到相应的孔中，注意使用一次性吸头防止交叉污染
5. 加入 50ul 抗体溶液到微孔中，轻微震荡微孔板。
6. 室温下孵育 10 分钟。
7. 倒掉微孔中溶液，微孔中注满蒸馏水，然后到掉，重复 4 次，共五次洗板。
8. 最后一次清洗完后，倒掉孔中溶液，然后翻转微孔板在吸水纸上拍干。
9. 每孔中加入 100ul 的底物溶液。
10. 室温下孵育 10 分钟。
11. 每孔中加入 100ul 停止液。
12. 450nm 读吸光度值。

结果判断

1. 半定量结果的判定，可根据样品的吸光度值与标准的吸光度值来判定，样品的吸光度值低于某个标准的吸光度值，则说明

样品的黄曲霉毒素含量大于此标准的浓度，样品的吸光度值高于某个标准的吸光度值，则说明样品的黄曲霉毒素含量小于此标准的浓度。

2. 定量结果判定，需要以标准的吸光度值为 X 轴，标准浓度的对数为 Y 轴绘制曲线图，将标准浓度及吸光度值的点用直线连接，根据样品的吸光度值在 Y 轴上即可找到相应样品的浓度。

灵敏度: 本试剂盒在样品中的最低检出限为 10ppt。