

呕吐毒素DON(脱氧雪腐镰刀菌烯醇)检测试剂盒

适用

脱氧雪腐镰刀菌烯醇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，麦芽，玉米及燕麦中的呕吐毒素。

检测原理

脱氧雪腐镰刀菌烯醇检测试剂盒是基于竞争性酶联免疫吸附检测法。用水震荡萃取粉碎样品中的DON, 过滤水相萃取物，然后进行免疫学检测。加入呕吐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呕吐毒素和酶标记物。加入无色的底物溶液，培养5 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，就可以得到样品的呕吐毒素浓度。

特异性

脱氧雪腐镰刀菌烯醇检测试剂盒对于脱氧雪腐镰刀菌烯醇有很强的特异性，以下表格展示了与其他形式的交叉反应

复合物交叉反应率

3-acetyl-deoxynivalenol >1%

15-acetyl-deoxynivalenol <300%

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, 0.2, 0.5, 1.0, 2.5 ug/ml (ppm) 的DON 标准品，（注意：因为谷物样品在萃取过程中1: 5 稀释，标准品实际上为设定标准浓度的1/5，原始样品的浓度无需换算。）
3. 1 瓶8ml 的酶标记物。
4. 1 瓶8ml 的鼠抗DON 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. 1 瓶30ml 的20 倍浓缩清洗浓缩液

注意事项

1. 每种试剂最适用于DON 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用。
2. 试剂的稀释及污染以及程序中未提及的样品，均会导致结果失真。
3. 不可使用过期试剂。
4. 开始实验前试剂回温到室温（20-28℃），避免试剂在室温存放过久（>24 小时）。
5. DON 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，如果有喷洒，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. 100ml 量筒
3. 用于萃取样品及收集萃取液玻璃器皿
4. 滤纸，Whatman GF/A 及相当者
5. 可吸取50ul 容量的移液器及一次性吸头
6. 可吸取50ul 或100ul 的八道移液器及一次性吸头
7. 吸水纸
8. 450nm 的酶标仪
9. 计时器

样品的准备

1. 粉碎好的样品过20 目筛并彻底混合，不立即分析的样品需冷冻储存。
2. 称取20g 样品，量取100ml 水到一有盖容器中。
3. 剧烈震荡3 分钟。
4. 静置2-3 分钟，使样品沉淀。
5. 用Whatman GF/A 玻璃纤维滤纸过滤15ml 萃取液，收集滤液到一干净容器中。

清洗液的准备

1. 将清洗浓缩液倒入1L 容积的容器中，加入实验室用蒸馏水。
2. 将配好的清洗液转移至洗瓶中。

检测程序（注意标准及样品做重复，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，确定未使用的孔条，与干燥剂一同放入密封袋中保存。
3. 加入50u1 的酶标记物到微孔中。
4. 加入50u1 的样品及标准品到相应的孔中，注意使用一次性吸头防止交叉污染
5. 加入50u1 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，微孔中注满清洗液，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100u1 的底物溶液。
10. 室温下孵育5 分钟。
11. 每孔中加入100u1 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DON 含量大于此标准的DON 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DON 含量小于此标准的DON 浓度。
2. 定量结果判定，需要以标准的吸光度值为X 轴，标准浓度的半对数为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，如果样品的吸光度值大于最大标准的吸光度值或小于最小样品的吸光度值，即可说明此样品中DON 的含量小于0.2ppm 或大于2.5ppm。