辣椒素酶联免疫快速检测试剂盒说明书

适用

Beacon 辣椒素检测试剂盒利用竞争酶联免疫吸附原理定量检测辣椒, 辣椒酱及局部止痛剂中的辣椒素。

检测原理

Beacon 辣椒素检测试剂盒是基于竞争性酶联免疫吸附检测法(酶标仪检测辣椒素)。加入辣椒素及辣椒素酶标记物到测试孔中, 样品中的辣椒素与辣椒素的酶标记物竞争结合连接在微孔上的辣椒素抗体。混合并培养 30 分钟之后, 倒掉孔中的溶液, 洗掉微孔中未的结合分子, 然后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。颜色越深表明辣椒素含量越少, 反之, 辣椒素含量越高, 加入停止液然后在酶标仪上读取吸光度值, 未知浓度样品与标准吸光度值进行比较, 就可以得到样品的辣椒素浓度。

试剂盒的最低检测限为: 辣椒油或干辣椒: 1000 ppb

特异性

Beacon 辣椒素检测试剂盒对于辣椒素有很强的特异性, 以下表格展示了与其他形式的交叉反应率。

复合物	50% Bo	%CR
辣椒素 (天然)	0.625	100
辣椒素 (纯的)	0.599	104
二氢辣椒碱	0.639	98

试剂及材料

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, 包被有兔抗辣椒素抗体的 8×12 的微孔板 1 块。
2. 4 瓶 浓度为 0, 1, 10, 100ppb 辣椒素标准溶液。
3. 1 瓶 酶标记物。
4. 1 瓶 10 倍浓缩的稀释液
5. 1 瓶 底物溶液
6. 1 瓶 停止液

注意事项

1. 未使用时, 试剂盒储存于 2-4℃下。
2. 不可冷冻试剂盒或将其暴露在大于 37℃的温度下。
3. 开始测定前, 所有样品及试剂达到室温(20-28℃为宜)。
4. 不可使用过期试剂。
5. 不同批次试剂不可混用。
6. 使用推荐方法确认阳性样品。

所需材料(不提供)

1. 450nm 的酶标仪
2. 实验室用蒸馏水或去离子水
3. 混合器

样品处理程序

辣椒油或干辣椒(稀释倍数: 100000)

样品稀释液准备: 取 20ml10 倍稀释液到 180ml 纯净水中混匀。

1. 准确称量 0.1g 样品到 20ml 离心管中。
2. 加入 10ml 甲醇到离心管中, 混匀, 超声萃取 5min 或震荡 10min。
3. 用甲醇稀释萃取液 1: 1000 倍稀释 (取 30ul 萃取液到 30ml 纯甲醇中)
4. 稀释完的样品再用稀释好的样品稀释液按 1:10 稀释 (取 100ul 上述稀释后样品加入到 0.9ml 样品稀释液中)
5. 取 100ul 待测。

辣味食品 (稀释倍数: 1000)

1. 将样品绞碎
2. 准确称量 1g 样品到 20ml 离心管中。
3. 加入 10ml 甲醇到离心管中, 混匀, 超声萃取 5min 或震荡 10min。
4. 用甲醇稀释萃取液 1: 100 倍稀释 (取 100ul 萃取液到 10ml 纯甲醇中)
5. 稀释完的样品再用稀释好的样品稀释液按 1:10 稀释 (取 100ul 上述稀释后样品加入到 0.9ml 样品稀释液中)
6. 取 100ul 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. 标准稀释: 取试剂盒中标准 100ul 加入到 0.9ml 样品稀释液中。混匀, 测定。
3. 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。
4. 加入 100ul 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 100ul 酶标记物到微孔中, 轻微震荡微孔板。
6. 室温下孵育 30 分钟。
7. 倒掉微孔中溶液, 微孔中注满蒸馏水或纯净水, 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, 则说明样品的辣椒素含量大于此标准的辣椒素浓度, 样品的吸光度值高于某个标准的吸光度值, 则说明样品的辣椒素含量小于此标准的辣椒素浓度。

2. 定量结果判定, 需要以标准的吸光率为 X 轴, 标准浓度的半对数为 Y 轴绘制曲线图, 将标准浓度及吸光率的点用直线连接, 根据样品的吸光率在 Y 轴上即可找到相应样品的浓度, 如果样品的吸光率大于最小标准的吸光率或小于最大标准的吸光率, 即可说明此样品中辣椒素的含量小于 1.0ppb 或大于 100ppb。

样品换算: 用从曲线上计算出样品的含量 $\text{ppb}/1000 \times \text{稀释倍数} \times 16\text{SU}/\text{ppm}$, 即为样品辣椒素的单位 SU。