

呕吐毒素 DON 检测试剂盒说明书

适用

Beacon 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

Beacon 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(普天酶标仪检测呕吐毒素)。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

Beacon 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率。

复合物 交叉反应率

3-acetyl-deoxynivalenol >1%

15-acetyl-deoxynivalenol <300%

LOD(最低检测限) 100ppb

LOQ(最低定量限) 200ppb

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 包洗液粉末。
8. 操作说明书

注意事项

1. 每种试剂最适用于 Beacon 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混用。
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 的普天酶标仪 (型号: PT-3502)
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 50ul 的酶标记物到微孔中。
4. 加入 50ul 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 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 100ul 的底物溶液。
10. 室温下孵育 5 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 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 DON 的含量小于 0.2ppm 或大于 2.5ppm。