

磺胺类检测试剂盒说明书

适用

Beacon 磺胺检测试剂盒是利用竞争酶联免疫吸附测定法用于食品中的磺胺的定量检测。

检测原理

竞争酶联免疫吸附测定法定量测定磺胺残留(普天酶标仪检测磺胺)。利用萃取液通过混合及振荡的方式提取样品中的磺胺, 再进行免疫测定。先将酶标记物加入到微孔中, 再加入标准及样品, 然后加入抗体进行反应。孵育 30 分钟后洗掉小孔中所有没有结合的分子。每孔中加入干净的底物溶液, 结合的酶标记物将无色的发色剂转化为蓝色的物质。孵育 30 分钟后停止此反应, 根据各孔颜色深浅进行数据读取。依据标准的颜色得出样品的浓度值。

特异性

Beacon 磺胺检测试剂盒能检测磺胺及其相似物, 它们的结合程度是不同, 以下表格中展示的是相关值及交叉反映率 (%CR), 以下所有浓度均为 ppb 级。

种类	%CR	种类	%CR
磺胺嘧啶	100%	磺胺喹噁啉	96%
磺胺甲氧哒嗪	>100%	磺胺二甲嘧啶	56%
磺胺二甲噻唑	>100%	磺胺二甲氧嘧啶	55%
磺胺噻唑	>100%	磺胺脒	9%
磺胺吡啶	>100%	磺胺异噁啉	1%
磺胺氯哒嗪	>100%	水杨酸偶氮磺胺吡啶	1%
磺胺间甲氧嘧啶	>100%	对氨基苯磺酰胺	<1%
磺胺甲噁唑	98%		

试剂盒的最低检测限为: 蜂蜜: 1 ppb

虾类、鱼类、肉类: 1ppb

注意事项:

1. 最好配套使用 Beacon 所提供的试剂, 不要同其它公司的产品混用, 不要将不同批次的产品混用。
2. 样品稀释或含有杂质很可能对结果的准确性有影响。
3. 不要使用过期的产品。
4. 使用之前将所有试剂回升至室温 20-28° C, 但不要放置超过 24 小时。
5. 磺胺属于抗生素, 请小心处理。
6. 停止液是 1N 盐酸, 避免接触皮肤

试剂及材料

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

• 真空包装微孔板 (12×8 条)

• 6 瓶磺胺嘧啶标准液, 每瓶 2 mL 浓度分别为 0, 2, 10, 30, 100, 300 µg/L (ppb)

• 1 瓶 8 mL 磺胺酶标记物.

• 1 瓶 8 mL 磺胺抗体.

• 1 瓶 14 mL 底物.

• 1 瓶 14 mL 停止液. (注意! 1N 盐酸. 勿接触皮肤.)

• 1 瓶样品稀释液

• 10 倍浓缩洗液

说明书

所需材料 (不提供)

1. 蒸馏水或去离子水
2. 量筒, 100 ml 或更大.
3. 样品萃取及收集用的玻璃器皿
4. 离心机
5. 可吸取 50ul 的移液器及吸头
6. 可吸取 50ul 和 100ul 的八道移液器及吸头
7. 吸水纸或相当的吸水材料
8. 乙腈
9. 正己烷
10. 氯仿
11. 450nm 的普天酶标仪 (PT-3502)
12. 计时器
13. 旋涡混合器
14. 洗瓶

样品的准备

蜂蜜样品提取 (稀释倍数: 0.5)

1. 称 3g 蜂蜜样品于 50 ml 离心管中。
2. 加入 2 ml 20 mM PBS 。
3. 震荡 5 分钟, 使样品混合均匀。
4. 加 6ml 乙腈, 混合震荡, 超声 10 分钟。
5. 室温 3000g 离心 5 分钟。
6. 取 2ml 上清液氮气吹干。
7. 加 0.5ml 样品稀释液, 混匀。
8. 取 50 ul 分析。

虾类、鱼类、肉类样品提取(稀释倍数: 0.5)

1. 将样品均质
2. 称 5g 均质后样品, 加入 10 ml 乙腈。
3. 充分混合 5 分钟。
4. 3000 g 室温离心 5 分钟。
5. 移取上清液 2 ml 于干净试管中, 氮气吹干。
6. 加 2ml 正己烷, 混合 1 分钟, 再加 0.5ml 样品稀释液, 混合均匀。
7. 3000 g 室温离心 5 分钟。
8. 轻轻取上层 50 ul 进行分析。

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. 将所有试剂及样品置于室温下, 取 30 ml 10 倍浓缩清洗液加 270 ml 水稀释后备用。
2. 从铝箔袋中拿出要求数量的微孔条, 其余孔条放入干燥剂并重新封好袋子以免微孔条受潮。

3. 吸取 50ul 酶标记物到微孔板的每个孔中。
4. 吸取 50ul 标准、样品到对应微孔中, 必须保证每种溶液使用干净的吸头吸取, 避免交叉污染。
5. 加入 50ul 抗体溶液到每个小孔中。
6. 室温孵育 30 分钟。
7. 孵育完后, 将微孔中的溶液倒入水槽中, 用清洗液清洗完全充满微孔, 震荡后倒掉, 重复三次, 总共四次洗板。
8. 在吸水纸上拍打, 尽可能将水拍干。
9. 每个微孔中加入 100ul 底物溶液。
10. 室温孵育 30 分钟。
11. 每个微孔中加入 100ul 停止液。
12. 450nm 下读板。

结果判断

1. 半定量的结果是由样品的吸光率与标准的吸光率的简单对比而来判定:样品的颜色比标准的颜色浅则磺胺的浓度比标准样的浓度高, 样品的颜色比标准的颜色深则磺胺的浓度比标准样的浓度低。
2. 定量分析需要绘制以标准样的吸光率为 X 轴,以标准样的浓度的半对数为 Y 轴的曲线图.依据标准样吸光率的点画成一直线,如此样品的光吸收率可在线上找到,与此相对应的 X 轴则为样品的浓度,样品光吸收率范围应比标准样的最低范围高,比最高范围低, 即可说明此样品中磺胺的含量大于小于 2ppb 或 300ppb。