

RIDASCREEN[®] DON

酶联免疫法定量检测呕吐毒素含量

订货号：R5906

体外检测试剂

储存温度 2 - 8 °C

拜发分析系统销售（北京）有限公司

电话：+86 10 8458 3218 传真：+86 10 8458 0691

地址:

拜发分析系统销售（北京）有限公司
北京市朝阳区霄云路 26 号 鹏润大厦 B2908
邮编: 100016
www.r-biopharm.com

欢迎随时联系德国拜发中国区:

电话:

客服中心: +86 10 8458 3218

传真/邮箱:

销售部: +86 10 - 84 58 32 18 - 223
info@r-biopharm.cn

市场部: +86 10 - 84 58 32 18 - 217
info@r-biopharm.cn

RIDA[®] 和 RIDASCREEN[®]

均为R-Biopharm 德国拜发公司的注册品牌标志
制造商: R-Biopharm AG, Darmstadt, 德国

R-Biopharm AG 拥有 ISO 9001 认证。

RIDA[®] and RIDASCREEN[®]

are registered trademarks of R-Biopharm AG
Manufacturer: R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany

R-Biopharm AG is ISO 9001 certified.

产品简介

RIDASCREEN® DON (订货号: R5906) 呕吐毒素检测试剂盒, 采用竞争性酶联免疫反应, 用于定量检测谷物、麦芽、饲料啤酒和麦芽汁中的呕吐毒素含量。

试剂盒中含有酶联免疫检测所需的所有试剂, 包括标准品。

试剂盒足够进行 96 次检测 (包括标准测定)。

定量分析需要使用微孔板酶标仪。

本试剂盒对技术人员无任何专业特殊使用技能的要求。若需要我们乐意为您提供免费的使用培训。

样品处理:	谷物、麦芽、饲料样品: 提取, 过滤 啤酒样品: 除气 (CO ₂) 麦芽汁样品: 不需任何预处理
检测时间:	样品制备 (以 10 个样品为例) 谷物、麦芽、饲料样品 约 10 分钟 啤酒样品 约 5 分钟 麦芽汁样品 无 检测过程 (孵育时间) 45 分钟
检测限:	谷物、麦芽、饲料样品 18.5 ppb 啤酒样品 3.7 ppb 麦芽汁样品 3.7 ppb
回收率:	谷物、麦芽、饲料样品 啤酒和麦芽汁样品中 85 - 110 %
特异性:	RIDASCREEN® DON 呕吐毒素检测试剂盒的特异性根据与相应霉菌毒素的交叉反应确定。 呕吐毒素 100 % 3-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇 > 100 % 15-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇 约 19 % 雪腐镰刀菌烯醇 约 4 % 镰刀菌烯酮 X < 1 % T-2 毒素 < 1 %

1. 用途

RIDASCREEN® DON 呕吐毒素检测试剂盒，采用竞争性酶联免疫反应，用于定量检测谷物、麦芽、饲料啤酒和麦芽汁中的呕吐毒素含量。

2. 概要

呕吐毒素是霉菌毒素中单端孢霉烯毒素的一种，由真菌 *Fusarium* 属产生。呕吐毒素常出现在植物性产品，特别是谷物中。而作为单端孢霉烯毒素的呕吐毒素类中，150 多种主要已知的烯醇毒素最常见于欧洲和北美地区。此外还有 3-乙酰基和 15-乙酰基脱氧雪腐镰刀菌烯醇。在小麦、玉米或大米中的霉菌毒素常以 ppm 含量级别出现。因其强细胞毒性和免疫抑制性，这些毒素对人类和动物的健康均具危险性。

3. 检测原理

检测的基础是抗原抗体反应。微孔板包被有针对呕吐毒素抗体的捕获抗体。加入标准品、样品溶液、呕吐毒素酶连接物及呕吐毒素抗体。游离的呕吐毒素与呕吐毒素酶连接物竞争呕吐毒素抗体结合位点（竞争性酶免疫分析）。同时呕吐毒素抗体也与微孔板上固定的捕获抗体结合。没有结合的呕吐毒素酶连接物在洗涤步骤中被除去。将底物/发色剂加入到孔中。结合的酶连接物将发色剂转化为蓝色的产物。加入反应终止液后使颜色由蓝色转变为黄色。在 450 nm 处测量。吸光度值与样品中的呕吐毒素浓度成反比。

4. 试剂盒组份

每一个盒中的试剂足够进行 96 个试验（包括标准测定），盒中的组份如下：

1 x 96 孔微孔板（12 条每条 8 孔）

包被有捕获抗体

5 x 标准品（每瓶 1.3 ml）

0 ppb（零标准品），3.7 ppb，11.1 ppb，33.3 ppb，100 ppb

呕吐毒素水溶液

即用型

1 x 酶连接物（6 ml） 红色瓶盖

过氧化物酶标记的呕吐毒素

即用型

1 x 呕吐毒素抗体液（6 ml） 黑色瓶盖

单克隆抗体

即用型

- 1 x 底物/发色剂 (10 ml) 棕色瓶盖
 红色
 含有四甲基对二氨基联苯
- 1 x 反应终止液 (14 ml) 黄色瓶盖
 含 1 N 的硫酸
- 1 x 洗涤缓冲液 (盐)
 用于制备 10 mM 磷酸缓冲液 (pH 7.4)
 含 0.05 % Tween 20

5. 另需的试剂和设备

5.1. 设备:

- 微孔板酶标仪 (450 nm)
- 量筒 (塑料或玻璃) 100 ml, 1 升
- 用于样品处理: 漏斗和玻璃长颈瓶 (50 ml)
- 实验用粉碎机和或粮食碾磨机
- 可选: 振荡器
- 滤纸: Whatman No. 1 或者类似
- 可调式 20 µl - 200 µl 和 200 - 1000 µl 微量移液器

5.2. 试剂:

- 蒸馏或去离子水

6. 操作者应该注意之事项

标准品中含有呕吐毒素, 应特别小心。避免皮肤接触试剂 (使用手套)。

玻璃器具和有 毒溶液用次氯酸钠溶液 (10 % (v/v)) 浸泡消毒过夜 (用 HCl 调节溶液 PH 值为 7)。

反应终止液中含 1 N 的硫酸 (R36/38, S2-26)。

7. 储存条件

保存试剂盒于 2 - 8 °C, 不要冷冻。

将不用的微孔板放进原锡箔袋中并且与提供的干燥剂一起重新密封储存于 2 - 8 °C 条件下。

底物/发色剂对光敏感, 因此要避免直接暴露在光线下。

对过了有效期（见试剂盒标签）的试剂盒不再提供任何质量保证。

不能交叉使用不同批号的盒中试剂。

8. 试剂变质的迹象

- 红色底物/发色剂在使用前发现颜色变蓝。
- 零标准品的吸光度值小于 0.6（ $E_{450\text{ nm}} < 0.6$ ）。

9. 样品处理

样品应当避光冷藏保存。

对采集的代表性样品（按照相关规定采集的样品）在提取前粉碎并混合。

9.1. 谷物、麦芽和饲料样品

- 称取 5 g 粉碎后的样品，加入 25 ml 蒸馏水*）
- 用力振荡 3 分钟（手动或借助振荡器）
- 使用 Whatman No. 1 滤纸过滤提取物
- 每孔取 50 μl 稀释后滤液进行检测

*）样品的用量可以适当的增大，但是水的用量也应同比例增加。例如：25 g 样品于 125 ml 蒸馏水中，或者 50 g 样品于 250 ml 蒸馏水中。

9.2. 啤酒样品

- 去除足量啤酒样品中的气体（继续降低碳酸含量，直到没有肉眼能识别的气泡为止，例如通过搅拌或过滤）
- 取 50 μl 除气后的啤酒样品/孔进行检测

对于浑浊的啤酒样品（例如酵母小麦啤酒），必须在除气步骤之后进行无菌过滤，然后才能进行检测！

9.3. 麦芽汁

- 取 50 μl 未稀释的麦芽汁样品/孔进行检测

对于浑浊的样品必须在之前进行无菌过滤！

10. 检测步骤

10.1. 检测前的准备

使用之前将所有试剂回温至室温（20 - 25 °C）。

洗涤缓冲液是 PBS-Tween 缓冲液，为此试剂盒中提供了一袋洗涤缓冲液盐（参见 4.）。使用 1 l 蒸馏水溶解一袋洗涤缓冲液盐制得缓冲液。制备好的缓冲液可在 2 - 8 °C 下保存大约 4 - 6 周时间。

或者：用 100 ml 蒸馏水溶解袋中的洗涤缓冲液盐，得到 10 倍的洗涤缓冲液盐浓缩液，此溶液能在室温（20 - 25 °C）下储存 8 - 12 周。
使用时，用 9 份蒸馏水溶解 1 份此浓缩液得到洗涤缓冲液。

10.2. 检测操作

仔细洗板非常重要。避免在操作过程中微孔出现干燥。

1. 将足够标准品和样品检测所需数量的孔条插入微孔板架。记录标准品和样品的位置。
2. 50 µl 标准品或处理好的样品溶液加到相应的微孔中。不同样品或标准品的添加请换用新的移液头。
3. 向每一个微孔中加入 50 µl 酶连接物溶液（红色瓶盖）。
4. 向每一个微孔中加入 50 µl 呕吐毒素抗体溶液（黑色瓶盖），充分混合，在室温（20 - 25 °C）条件下孵育 30 分钟。
5. 倒出孔中的液体，将微孔板架倒置在吸水纸上拍打（每轮拍打 3 次）以保证完全除去孔中的液体。使用多级移液器（250 µl 每个微孔）用蒸馏水或去离子水对每个微孔进行洗涤，再次倒掉微孔中液体。上述操作再重复进行两遍。
6. 向每一个微孔中加入 100 µl 底物/发色剂（棕色瓶盖），充分混合后在室温（20 - 25 °C）条件下暗处孵育 15 分钟。
7. 向每一个微孔中加入 100 µl 反应终止液（黄色瓶盖），充分混合。在加入反应终止液后 10 分钟内于 450 nm 处测量吸光度值。

11. 结果评估

请使用R-Biopharm德国拜发公司专门为RIDASCREEN® 系列产品设计的应用软件 RIDA® SOFT Win（订货号：Z9999）来进行结果分析。

对单次检测建议使用Logit/log 曲线进行结果分析，对两次或多次平行检测应该使用 Cubic Spline 曲线进行结果分析。

关于标准曲线请参看试剂盒中附带的质保证书。

以下是没有使用软件的计算方法：

标准品的吸光度值（或样品）

$$\text{-----} \times 100 = \% \text{ 吸光度比值}$$

零标准品的吸光度值

吸光度值以百分比表示，因此零标准品等同于 100%。计算标准品相应的比值，并绘成一个与呕吐毒素浓度 [$\mu\text{g}/\text{kg}$] 相关的半对数坐标系统的曲线图。

为了真实反映呕吐毒素的浓度 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，从校正曲线上读出的浓度值必须乘以相对应样品的稀释倍数。按照说明书中给出的方法进行操作，可得到以下样品稀释倍数：

谷物、麦芽、饲料样品	5
啤酒样品	1
麦芽汁样品	1

以上信息是基于我们现有知识的基础上对我们的产品及其相关应用的说明。而并非对产品的任何特定性能或特定使用目的进行担保。R-Biopharm 德国拜发公司不承担除试剂基本品质之外的任何责任。除因产品使用而造成的直接或间接损坏及损失外，其它有缺陷的试剂盒可退换。