

DRIDASCREEN[®] FAST Aflatoxin M₁

酶联免疫法定量快速检测黄曲霉毒素 M1

订货号: R5812

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
北京市朝阳区曙光西里甲 5 号凤凰置地广场 F 座 1601
邮编: 100028
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®FAST Aflatoxin M₁ (订货号: R5802) 黄曲霉毒素 M₁ 快速检测试剂盒, 采用竞争性酶联免疫法定量测定液奶和奶粉中的黄曲霉毒素 M₁ 的含量。

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 **48** 次检测 (包括标准测定)。

定量分析需要使用微孔板酶标仪。

实验操作人员不需要特殊的技能培训即可对 RIDASCREEN®FAST Aflatoxin M₁ 黄曲霉毒素 M₁ 快速检测试剂盒进行实验操作, 同时, 德国拜发公司也非常乐意根据您的需要为您提供高水平的技术支持和服务。

样品处理: 离心

检测时间: 样品处理 (以 10 个样品为例)
奶和奶粉 约 15 分钟
检测过程 (孵育时间) 15 分钟

检测限: 奶..... < 125 ppt
(以标准品为基础测得) 奶粉 (以溶解后计) < 125 ppt

1. 用途

RIDASCREEN®FAST Aflatoxin M₁ 黄曲霉毒素 M₁ 快速检测试剂盒，采用竞争性酶联免疫法定量测定液奶和奶粉中的黄曲霉毒素 M₁ 的含量。

2. 概要

黄曲霉毒素是由霉菌 *Aspergillus flavus* 及 *Aspergillus parasiticus* 和 *nomius* 产生的致癌的高毒性代谢产物。

黄曲霉毒素 M₁，即所谓的牛奶黄曲霉毒素是黄曲霉毒素 B₁ 的代谢产物，它隐藏于由食用了含黄曲霉毒素 B₁ 的饲料的奶牛所产的牛奶中。

黄曲霉毒素 M₁ 能在常规的巴氏法消毒后继续存活，故其是生产原材料样品和成品的必检项目。

自 1999 年 1 月 1 日起，欧盟 EU 范围内统一了各国对黄曲霉毒素的限量要求。其中黄曲霉毒素 M₁ 的限量值为 0.05 µg/l (ppt)。

3. 检测原理

检测的基础是抗原抗体反应。微孔板包被有针对黄曲霉毒素 M₁ 抗体的捕获抗体。加入标准品或样品溶液、酶连接物和和黄曲霉毒素 M₁ 抗体。样品中含有的黄曲霉毒素 M₁ 和酶连接物竞争黄曲霉毒素 M₁ 抗体的连接位点（竞争法酶联免疫检测）。同时黄曲霉毒素 M₁ 抗体会和微孔板上包被的捕获抗体结合。没有结合的酶连接物等会在洗涤过程中被洗去。在洗涤步骤后向孔中加入底物/发色剂，结合的酶连接物将发色剂转化为蓝色。加入反应终止液后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黄曲霉毒素 M₁ 浓度成反比。

4. 试剂盒组份

每一个盒中的试剂足够进行 48 次检测（包括标准测定）。盒中的组份如下：

1 x 48 孔微孔板（12 条每条 8 孔）

包被有捕获抗体

6 x 标准品（每瓶 1.3 ml）

0 ppt（零标准品），125 ppt，250 ppt，500 ppt，1000 ppt，2000 ppt

含有黄曲霉毒素 M₁ 的奶缓冲液

即用型

1 x 酶连接物（3 ml）..... 红色瓶盖

过氧化物酶标记的黄曲霉毒素 M₁

即用型	
1 x 抗黄曲霉毒素 M1 抗体 (3 ml)	黑色瓶盖
即用型	
1 x 底物/发色剂 (10 ml)	棕色瓶盖
红色, 含有四甲基联苯胺	
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)	
用于制作 10 mM 的磷酸缓冲液, pH 7.4	
含有 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)
- 离心机
- 移液管
- 可调式 20 µl - 200 µl 和 200 - 1000 µl 微量移液管

6. 操作者应该注意之事项

建议由经过相关培训的实验人员进行本试剂盒的使用操作。请严格按照说明书的要求使用本试剂盒。

标准品中含有黄曲霉毒素 M₁, 应特别小心。避免皮肤接触 (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)。

反应终止液为 1 N 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。

黄曲霉毒素对光敏感, 因此标准品要避免直接暴露在光线下。

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。

本试剂盒在正确保存的前提下可以正常使用至有效期（参见试剂盒外包装说明）末。

不能交叉使用不同批号的盒中试剂。

8. 试剂变质的迹象

- 红色的底物/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 ($A_{450\text{ nm}} < 0.6$)

9. 样品处理

样品应当冷藏避光保存。

9.1. 液奶样品

- 建议用冷冻离心机在 10 min / 3500 g / 10 °C 条件下去除脂肪（如果没有冷冻离心机，必须在离心前将样品冷却到 10 °C）
- 离心后，完全去除脂肪层
- 若样品为脱脂奶（或去除脂肪层后的奶），可直接上板检测（每孔 50 μ l）

9.2. 奶粉样品

- 称取 10 g 奶粉样品于烧杯中，加入去离子水至 100 ml*）
- 搅拌 5 分钟使其充分溶解
- 然后按液奶样品进行处理（参见 9.1）

*）样品的量可以根据实际情况增大，同时也需要同比例地增大溶解用的水的量。

10. 检测步骤

10.1. 检测前的准备

1. 使用之前将所有试剂回温至室温（20 - 25 °C）。
2. 特异性反应在向板孔加入了特异性抗体后即开始。若使用单道移液器，请一次检测不要同时使用超过 3 条板孔。若使用 8 道移液器，则可最多一次检测同时使用 6 条板孔。
3. 本次实验不再需要用到的试剂请立即放回 2 - 8 °C 保存。

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洗涤缓冲液。制备好的洗涤缓冲液可在 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。

10.3. 检测操作

仔细进行洗板的操作非常重要。在使用中不要让微孔出现干燥。多次操作的结果重现性很大程度上与每个板孔的洗涤程度是否一致有关。因此，请按照说明书进行洗涤操作。

在所有的孵育过程中，需要避免阳光直射微孔板，建议对微孔板进行遮盖。

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. 将 50 µl 标准品或者处理后的样品加入相应的微孔中，每次取不同的标准品和样品时需要更换新的移液器枪头。
3. 将 50 µl 酶连接物（红色瓶盖）加入到相应的微孔中。
4. 将 50 µl 黄曲霉毒素 M1 抗体（黑色瓶盖）加入到相应的微孔中，轻轻地通过敲打或振动混合板孔中的液体，充分混合后，在室温下（20 - 25 °C）暗处孵育 10 (+/- 1) 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。使用多道移液器向每个孔中加入 250 µl 洗涤缓冲液（参见 10.1）洗涤，倒空板孔中的液体。上述操作重复进行两遍。
6. 向每一个微孔中加入 100 µl 底物/发色剂（棕色瓶盖），充分混合后在室温下（20 - 25 °C）暗处孵育 5 (+/- 0.5) 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。

我们建议在样品单次检测时使用 Logit/Log 曲线进行结果分析，在进行样品双平行或多平行检测时使用 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）

$$\frac{\text{-----}}{\text{零标准品的吸光度值}} \times 100 = \% \text{ 吸光度比值}$$

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，并绘成一个与黄曲霉毒素 M₁ [ng/l] 相关的半对数坐标系统的曲线图。

根据检测得到的吸光度值直接对应标准曲线，所读取出来的值乘以相应的样品稀释倍数，即为样品中的黄曲霉毒素 M₁ 的浓度 ng/l。根据说明书的方法进行样品处理，得到的稀释倍数分别为：

奶类样品	1
奶粉样品（相对于溶解后的液态样品）	1
奶粉样品（相对于所称量的奶粉质量）	10

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。