

RIDASCREEN[®] Zearalenon

酶联免疫法定量检测玉米赤霉烯酮含量

订货号: R1401

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® Zearalenon (订货号: R1401) 玉米赤霉烯酮检测试剂盒, 采用竞争性酶联免疫法定量测定谷物、饲料、啤酒、血清和尿液中的玉米赤霉烯酮含量。

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。

样品处理: 谷物和饲料样品: 提取、过滤和稀释
啤酒样品: 除气和稀释
血清和尿液样品: 柱层析纯化
使用 RIDA® C18 column (订货号: R2002)

检测时间: 样品制备 (以 10 个样品为例)
谷物和饲料样品 约 20 分钟
啤酒样品 约 10 分钟
血清和尿液样品 约 3.5 小时
检测过程 (孵育时间) 2.5 小时

检测限: 谷物和饲料样品 约 1750 ppt
(以标准品为基础测得) 啤酒样品 约 250 ppt
血清和尿液样品 约 50 ppt

回收率: 人工添加的谷物和饲料样品 约 80 %
(以标准品为基础测得) (变异系数平均值为 15 %)

特异性: RIDASCREEN® Zearalenon 玉米赤霉烯酮检测试剂盒的特异性根据与相关霉菌毒素的交叉反应确定。

玉米赤霉烯酮 100 %
 α -玉米赤霉醇 约 41.6 %
玉米赤霉醇 约 27.7 %
 β -玉米赤霉醇 约 13.8 %

1. 用途

RIDASCREEN® Zearalenon 玉米赤霉烯酮检测试剂盒，采用竞争性酶联免疫法定量测定谷物、饲料、啤酒、血清和尿液中残留的玉米赤霉烯酮含量。

2. 概要

玉米赤霉烯酮是由镰刀菌类的真菌形成。它是一种植物性激素，并具雌激素性特征。从而导致动物生育能力紊乱或降低，临床症状表现为雌激素过多。此类疾病不仅常见于肉猪，也出现在牛、马、羊等牲畜上。而关于摄入霉菌毒素的植物或动物器官等食品对人体导致的潜在健康危害更是频频被讨论的焦点。

3. 检测原理

检测的基础是抗原抗体反应。微孔板包被有特殊的玉米赤霉烯酮抗体。加入标准品、样品溶液和酶标记的玉米赤霉烯酮（酶连接物）。游离的玉米赤霉烯酮和酶连接物竞争抗体结合位点（竞争性酶联免疫分析）。没有结合的酶连接物在洗涤步骤中被除去。

在孔中加入底物（过氧化脲）和发色剂（四甲基对二氨基联苯），结合的酶连接物将无色的发色剂转化为蓝色。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玉米赤霉烯酮浓度成反比。

4. 试剂盒组份

每一个盒中的试剂足够进行 96 次检测（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）
包被有针对玉米赤霉烯酮的抗体
- 6 x 标准品（每瓶 1.3 ml）
0 ppt（零标准品），50 ppt，150 ppt，450 ppt，1350 ppt，4050 ppt
玉米赤霉烯酮水溶液
- 1 x 酶连接物（0.7 ml） 红色瓶盖
过氧化物酶标记的玉米赤霉烯酮
浓缩液
- 1 x 底物（7 ml） 绿色瓶盖
含有过氧化脲
- 1 x 发色剂（7 ml） 蓝色瓶盖
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 缓冲液 1 (50 ml) 白色瓶盖
样品和酶连接物稀释缓冲液

5. 另需的试剂和设备

5.1. 设备:

- 微孔板酶标仪 (450 nm)
- 实验用粉碎机和或粮食碾磨机
- 振荡器
- 用于样品处理: 漏斗和玻璃长颈瓶 (100 ml)
- 滤纸: Whatman No. 1 或者类似
- 离心机
- 旋转蒸发器或者其他蒸发设备
- 巴氏吸液管
- 刻度移液管
- 20 μ l - 200 μ l 和 200 - 1000 μ l 微量移液管

5.2. 试剂

- 甲醇

其他用于处理血清或尿液的必要试剂:

- Glucuronidase/Arylsulfatase aus *Helix pomatia* (Merck, Art. Nr.: 4114) 来源于罗曼蜗牛的葡萄糖醛酸酶/芳基硫酸酯酶 (Merck 公司, 订货号: 4114)
- RIDA[®] C18 column (订货号: R2002)
- 50 mM 乙酸钠缓冲液, pH 4.8
- 20 mM Tris 缓冲液, pH 8.5 / 甲醇 (80/20)

6. 操作者应该注意之事项

建议由经过相关培训的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。

标准品中含有玉米赤霉烯酮, 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。

玉米赤霉烯酮对光敏感，因此标准品要避免直接暴露在光线下。

无色底物/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

- 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

样品应当避光冷藏保存。

9.1. 谷物和饲料样品

对采集的代表性样品用实验用粉碎机粉碎并充分混合

- 称取 5 g 粉碎后的样品，加入 25 ml 甲醇/水（70/30）溶液*
- 用力振荡 3 min（手动或借助振荡器）
- 提取物离心：10 min / 3500 g / 室温（20 - 25 °C）或者使用 Whatman No. 1 滤纸过滤
- 上清液或者滤液用样品稀释缓冲液（缓冲液 1）按照 1:7 (1 + 6) 的比例稀释（例如：100 μ l 上清液或滤液 + 600 μ l 缓冲液 1）**）
- 每孔取 50 μ l 稀释后的上清液或稀释后滤液进行检测

*) 样品的用量可以适当的增大，但是甲醇/水溶液的用量也应同比例增加，比如 10 g 样品中加入 50 ml 70 % 甲醇/水溶液（70/30）

**）小麦样品可能会在缓冲液稀释后出现混浊情况，从而导致回收率降低。为此，我们建议，在缓冲液稀释后进行高速离心（3 分钟/ 20000 g / 室温(20 - 25 °C)），取 50 μ l 离心后的上清液进行检测。

备注:

此甲醇提取物（上清液或滤液）可以在冰箱中（2 - 8 °C）保存 2 星期，可以在冰柜中（-20 °C）保存 2 个月。应保存于棕色玻璃瓶中并储存于暗处。

如果玉米赤霉烯酮的浓度预计较高，必须用样品稀释缓冲液（缓冲液 1）继续稀释。

9.2. 啤酒样品

- 去除足量啤酒样品中的气体（继续减少碳酸的含量，直到肉眼不能看见气泡为止，例如通过搅拌或者过滤）
- 去除气体的啤酒样品用样品稀释缓冲液（缓冲液 1）稀释，稀释比例为 1: 5（1 + 4）（例如：100 µl 样品 + 400 µl 缓冲液 1）
- 每孔 50 µl 进行检测

备注:

对于有浑浊的啤酒样品（例如酵母小麦啤酒），在去除气体后必须对样品进行无菌过滤，然后再进行检测！

9.3. 血清和尿液

仅针对尿液的处理:

- 取 0.5 ml 尿液样品用 50 mM 乙酸钠缓冲液，pH 4.8 稀释
- 加入 8 µl 罗曼蜗牛葡萄糖醛酸酶/芳基硫酸酯酶
- 在 37 °C 条件下孵育 3 小时

使用 RIDA® C18 column（订货号：R2002）对 3.5 ml 水解尿或 0.5 ml 血清（未处理）按照如下步骤纯化：

- 滴速为 1 滴/秒
- 使用 3 ml 甲醇（100 %）洗涤层析柱
- 使用 2 ml 20 mM Tris 缓冲液，pH 8.5 / 甲醇（80/20）平衡层析柱
- 3.5 ml 水解尿或者 0.5 ml 血清上柱
- 使用 2 ml 20 mM Tris 缓冲液，pH 8.5 / 甲醇（80/20）洗脱
- 使用 3 ml 甲醇溶液（40 %）洗脱
- 压入或吸出空气对层析柱进行干燥（1 分钟）
- 使用 1 ml 甲醇溶液（80 %）缓慢洗脱样品（15 滴每分钟）
- 蒸发洗脱液，最高温度 60 °C（尽量在通风厨中弱氮气流条件下）
- 干燥残留物溶解于 50 µl 甲醇中，加入样品稀释缓冲液 450 µl（缓冲液 1）并充分混合

-每孔 50 µl 进行检测

备注:

可根据需求提供肉类和奶类样品的处理方法。

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）。

玉米赤霉烯酮酶连接物（红色瓶盖瓶子）为浓缩液。由于稀释的酶连接物的弱稳定性，所以只稀释实际需用量的酶连接物。在吸取浓缩液之前，要仔细地轻轻振摇。用缓冲液 1（白色瓶盖的瓶子）以 1:11（1 + 10）的比例稀释酶连接物浓缩液（例如：200 µl 浓缩液 + 2.0 ml 缓冲液，足够 4 个微孔板条用）。

10.2. 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。

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，均做两个平行实验，记录下标准品和样品的位置。
2. 将 50 µl 标准品及处理好的样品溶液加到相应的微孔中，均做两个平行实验。
3. 向每一个微孔中加入 50 µl 稀释后的酶连接物溶液，充分混合后在室温（20 - 25 °C）条件下暗处孵育 2 小时。
4. 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。加入 250 µl 蒸馏水洗涤微孔。上述操作重复进行两遍。
5. 向每一个微孔中加入 50 µl 底物和 50 µl 发色剂，充分混合后在室温（20 - 25 °C）条件下暗处孵育 30 分钟。
6. 向每一个微孔中加入 100 µl 反应终止液，充分混合。在加入反应终止液后 30 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）

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

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，并绘成一个与玉米赤霉烯酮浓度（ng/kg）相关的半对数坐标系统的曲线图。根据每个样品对应的吸光度值，从校正曲线中读出样品中玉米赤霉烯酮的浓度（ng/kg）。

为了获得样品中玉米赤霉烯酮的实际浓度 ng/kg，从校正曲线上读出的浓度值必须乘以相对应的样品稀释倍数。按照说明书中给出的方法进行操作，样品稀释倍数为：

谷物和饲料样品	35
啤酒样品	5
尿液和血清样品	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。