

# **RIDASCREEN® Histamin**

酶联免疫法定量检测组胺

订货号：R1601（96孔）

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  
北京市朝阳区阜通东大街 6 号方恒国际中心 A 座 1903  
邮编: 100102  
[www.r-biopharm.com](http://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](mailto:info@r-biopharm.cn)

市场部: +86 10 - 84 58 32 18 - 217  
[info@r-biopharm.cn](mailto: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® Histamin** (订货号: **R1601**) 组胺检测试剂盒, 采用竞争性酶联免疫法, 定量检测食品中的组胺含量。

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: 不同的样品有不同的处理方法 (参见 **9**。)

检测时间: 样品制备 (以 **10** 个样品为例) ..... 约 **15** 分钟  
检测过程 (孵育时间) ..... **90** 分钟  
检测过程 (孵育使用了振荡器的时间) ..... **70** 分钟

检测限: 汽酒、白葡萄酒、红酒样品 ..... **250 ppb**  
(取决于样品基质) 奶类样品 ..... **100 ppb**  
奶酪、鲜鱼、罐头鱼样品 ..... **2.5 ppm**  
鱼粉样品 ..... **100 ppm**

回收率: 汽酒、白葡萄酒、红酒样品 ..... **95 %**  
(取决于样品基质) 奶类样品 ..... **109 %**  
奶酪、鲜鱼、罐头鱼样品 ..... **100 %**  
鱼粉样品 ..... **96 %**

特异性: 组胺 ..... **100 %**  
3-甲基-组胺 ..... 约 **0.01 %**  
酪胺 ..... 无交叉反应  
L-苯丙氨酸 ..... 无交叉反应  
L-盐酸组氨酸 ..... 无交叉反应  
L-酪氨酸 ..... 无交叉反应  
色胺 ..... 无交叉反应  
5-羟基吲哚乙酸 ..... 无交叉反应  
血清素 ..... 无交叉反应

## 相关产品

**RIDASCREEN® Histamine (enzymatic)** 酶法组胺检测试剂盒 (订货号: **R1605**)

## 1. 用途

RIDASCREEN® Histamin 组胺检测试剂盒（订货号：R1601），采用竞争性酶联免疫法，定量检测红/白葡萄酒、汽酒、奶类、奶酪、鲜鱼、罐头鱼和鱼粉产品中的组胺。本试剂盒经过验证亦可适用于其他食品样品的检测。

## 2. 概要

组胺是因在富蛋白质的食品，如鱼、奶酪、肉、汽酒，葡萄酒及啤酒中的某些细菌在生长过程中分解了组氨酸而产生的。组胺的含量取决于细菌的种类，温度及其作用时间等因素，高时可能超过 1000 ppm (mg/kg)。鱼内含有大量的组胺，因此常引至所谓的“鲭鱼中毒”现象。为降低鱼中出现组胺的机率，人们采取了很多质量控制方法。质量好的鱼内的组胺含量应在 10 ppm 以下。鱼和鱼制品中组胺的限量值为 100 mg/kg，在部分国家甚至为 50 mg/kg。在瑞士，葡萄酒内组胺的最大限量值为 10 mg/l。

## 3. 检测原理

在样品处理后，先用酰化试剂将样品中的组胺衍生为 N-酰基组胺。本检测方法的基本原理是抗原-抗体反应。微孔板内包被有组胺。加入标准品、样品和抗组胺抗体。通过竞争酶联免疫反应，游离的酰化组胺和板孔中包被的组胺竞争抗体的结合位点。洗板后加入过氧化物酶标记的二级抗体（酶连接物），与组胺抗体结合形成复合物。没有结合的酶连接物在洗涤步骤中被除去。将底物和发色剂加入孔中并孵育。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组胺浓度成反比。检测结果以 ng/ml 或 µg/kg (ppb)组胺的形式表示。

## 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：

试剂盒中的组份	瓶盖颜色	试剂状态	浓度	含量
<b>样品酰化相关试剂</b>				
<b>Acylation plate</b> 酰化板（未包被）	-	即开即用型		96 孔
<b>Acylation tubes</b> 酰化管	-	即开即用型		96 支 (塑料)
<b>Standard 1</b> 标准品 1	白色	即开即用型	0 ng/ml	4 ml
<b>Standard 2</b> 标准品 2	浅黄色	即开即用型	0.5 ng/ml	4 ml
<b>Standard 3</b> 标准品 3	浅红色	即开即用型	1.5 ng/ml	4 ml
<b>Standard 4</b> 标准品 4	黑色	即开即用型	5.0 ng/ml	4 ml

<b>Standard 5</b> 标准品 5	灰色	即开即用型	15.0 ng/ml	4 ml
<b>Standard 6</b> 标准品 6	黑色	即开即用型	50.0 ng/ml	4 ml
<b>Control 1</b> 质控 1	黄绿色	即开即用型	参见瓶标签	4 ml
<b>Control 2</b> 质控 2	深红色	即开即用型	参见瓶标签	4 ml
<b>Acylation reagent</b> 酰化试剂	绿色	即开即用型		3 ml
<b>Acylation buffer</b> 酰化缓冲液	棕色	即开即用型, 红色液体		22 ml
<b>Reagenzien für Enzymimmunoassay</b>				
<b>Microtiter plate</b> 微孔板	-	即开即用型		96 孔
<b>Wash buffer</b> 洗涤缓冲液	粉色	<b>浓缩液</b>	<b>50x</b>	20 ml
<b>Conjugate</b> 酶标记物	红色	即开即用型		12 ml
<b>Anti-histamin Antibody</b> 抗体	蓝色	即开即用型		12 ml
<b>Substrate/Chromogen</b> 底物/发色剂	黑色	即开即用型		12 ml
<b>Stop solution</b> 终止液	灰色	即开即用型		12 ml

## 5. 另需的试剂和设备

### 5.1. 设备:

- 微孔板酶标仪 (450 nm)
- 实验室用手套
- 天平
- 粉碎机, 研钵或者均质器
- 离心机和离心管
- 振荡器, 例如涡流振荡器
- 量筒
- 可调式 20 µl - 200 µl 和 200 - 1000 µl 微量移液器
- 为缩短孵育时间: 微孔板振荡器 (振幅 3 mm, 约 600 rpm)
- 可选: 8 道移液器
- 推荐: RIDASOFT® Win.NET (Z9996FF) 数据分析软件

### 5.2. 试剂:

- 蒸馏水或去离子水
- 用于奶类样品: 10 mM PBS, 0.05 % Tween 20 (例如 Sigma 公司, 订货号 P3563)

## 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。

试剂盒中可能含有对健康有害的物质。

请在德国拜发集团官方网站 [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com) 上获取 MSDS，了解关于本试剂盒内所含化学品的安全信息。

板孔不可重复使用。每个样品及每个标准品的取液须分别使用干净的移液器枪头，避免交叉污染。

所有使用后的试剂及耗材均须按照当地法规要求进行废弃物处理。

## 7. 储存条件

保存试剂盒于 2-8°C，不要冷冻。

封装有微孔板的锡箔袋请在回温到室温（20-25°C）后再打开，避免板孔底部因内外温差而形成冷凝水。

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

- 底物/发色剂在使用前颜色变蓝
- 标准品 1 的吸光度值小于 0.9 ( $E_{450\text{ nm}} < 0.9$ )

## 9. 样品处理

样品处理过程中请戴好实验室用手套。不洁净的实验室器具容易导致检测被污染。因此，建议采取以下措施：

- 在每一个样品处理完后均对实验室台面、玻璃器皿、均质器及其他相关器具进行彻底清洁

- 样品处理和试剂盒检测分开在两个不同的实验室房间进行

为避免污染，试管或者酰化板只使用一次。

只可以使用塑料管进行样品处理和制备！！！！

### 9.1. 汽酒、白葡萄酒、红酒样品

- 20 µl 葡萄酒样品用 10 ml 蒸馏水稀释
- 100 µl 每试管或者每酰化板孔进行检测

### 9.2. 奶类样品

- 4 ml 奶类样品离心 10 min / 3000 g 在室温（20 - 25 °C），去脂
- 取 20 µl 脱脂奶类样品和 4 ml PBS 缓冲液（参见 5.2.）混合
- 取 100 µl 每试管或者每酰化板孔进行检测

### 9.3. 奶酪、鱼（鲜鱼和罐头鱼）样品

- 10 g 样品均质
- 取其 1 g 均质样品中加入 9 ml 蒸馏水，充分混合
- 离心 5 min / 2500 g 在室温（20 - 25 °C）
- 去除脂肪层
- 取 1 ml 上清液中加入 9 ml 水并充分混合
- 取其 200 µl 溶液用 9.8 ml 蒸馏水稀释
- 取 100 µl 每试管或者每酰化板孔进行检测

### 9.4. 鱼粉样品

- 1 g 鱼粉样品中加入 200 ml 蒸馏水，混合 15 分钟
- 取部分离心 5 min / 2500 g 室温（20 - 25 °C）
- 取 200 µl 上清液用 200 ml 蒸馏水稀释
- 取 100 µl 每试管或者每酰化板孔进行检测

## 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**为 50 倍浓缩液，对洗涤缓冲浓缩液（20 - 25 °C）在使用前按比例 1:50（1+24）用蒸馏水稀释（例如：10 ml 缓冲液浓缩液 + 490 ml 蒸馏水）。稀释后的缓冲液在 2 - 8 °C 条件下可保存约 4 周。

**酰化试剂**为即用型，其凝固点为 18.5 °C。酰化试剂在使用时必须为均质的无结晶的液体，所以应储存于室温条件下（20 - 25 °C）或在使用前回温至室温（20 - 25 °C）。

## 10.2. 酰化过程

小心吸取，避免飞溅

1. 所有标准品、质控和样品均应进行两次平行实验。记录标准品和样品的位置。  
或者：取必需的试管插入酰化板中作为反应容器。
2. 向每一个酰化孔或试管中加入 100 µl 标准品、质控和处理过的样品。
3. 向每一个试管/酰化孔中加入 25 µl 酰化试剂。
4. 向每一个试管/酰化孔中加入 200 µl 酰化缓冲液，充分混合后在室温条件下（20 - 25 °C）孵育 15 分钟。
5. 每孔取 25 µl 用于酶联免疫 ELISA 分析。

## 10.3. 酶联免疫分析过程

小心吸取，避免飞溅。仔细洗板非常重要。避免在操作过程中微孔出现干燥。

建议用多道排枪或自动分液器对抗体、酶标记物、底物和发色剂及终止液进行上板，以避免单孔加液所带来的过大的孔间反应时间差。

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. 向每个微孔中加入 25 µl 酰化标准品及质控和处理好的样品。
3. 向每一个微孔中加入 100 µl 组胺抗体溶液，充分混合，在室温条件下（20 - 25 °C）继续孵育 40 分钟。或者，在微孔板振荡器（约 600 rpm）上振荡 30 分钟。
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。每孔加入 250 µl 洗涤缓冲液（参见 10.1.）洗涤微孔。上述操作重复进行两遍。
5. 向每一个微孔中加入 100 µl 酶连接物溶液，充分混合，在室温条件下（20 - 25 °C）孵育 20 分钟。或者，在微孔板振荡器（约 600 rpm）上振荡 10 分钟。

6. 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。每孔加入 250  $\mu$ l 洗涤缓冲液（参见 10.1.）洗涤微孔。上述操作重复进行两遍。
7. 向每一个微孔中加入 100  $\mu$ l 底物/发色剂，充分混合后在室温（20 - 25 °C）条件下暗处孵育 15 分钟。或者，在微孔板振荡器（约 600 rpm）上振荡 15 分钟。
8. 向每一个微孔中加入 100  $\mu$ l 反应终止液，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。

## 10. 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 RIDASOFT® Win.NET (订货号: Z9996FF) 来进行结果分析。

关于标准曲线请参看试剂盒中附带的质保证书。

通过标准曲线上对应的吸光度值，可得到组胺的浓度  $\mu$ g/kg (ppb)。此浓度必须乘以对应的稀释倍数。稀释倍数和样品处理过程有关，见下表。

样品处理方法	样品	稀释倍数
9.1.	红酒、白葡萄酒、汽酒	500
9.2.	奶类	200
9.3.	奶酪、鲜鱼、罐头鱼	5 000
9.4.	鱼粉	200 000

## 12. 方法局限性

样品称量的不准确会直接导致检测结果的不正确。要保证检测结果的可靠性，通常称量的误差须控制在 +/- 1 % 以内。

若样品的检测吸光度值 < 0.4，则可将样品稀释后再次检测。进一步稀释所产生的稀释倍数，必须在进行组胺浓度检测结果分析时考虑进去。

考虑到食品样品的复杂性和多样性，本试剂盒选取了不同种类食品样品的有代表性的样品进行验证。针对未经验证的样品，建议在检测时进行人工加标检测。

不能排除因为食品样品的复杂性和多样性而出现的部分特殊样品的基质干扰情况，及可能导致的假阳性或结果偏高，或反应被抑制导致结果偏低。此类基质干扰与本试剂盒中所使用的抗体的特异性无关，因此可以通过人工加标检测的方式进行核查。

检测限和定量限与样品基质、加工程度和提取过程有关。

### 13. 建议

为获得更好的检测效果：

- 执行实验室良好操作规范（例如进行双平行检测）。
- 各实验室可在经过了内部风险评估管理流程后自行决定，是否进行单点检测。单点检测不会影响试剂盒本身的功能性，只是有可能会影响操作过程（例如移液加样等）出现无法识别的错误的风险升高。
- 取液前对枪头进行吸打浸润。
- 每次检测均应带上质控。可使用试剂盒中配的质控。
- 质控的测量结果其差异应该在 $\pm 30\%$ 之内（否则需重做实验）。
- 使用本试剂盒的最佳温度为  $20 - 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

### 版本修订

版本号	相关修订章节
2010-06-14	第一版
2020-08-28	第二版 修订内容： 4. 试剂盒组份 通篇文字性优化

### 图形标识解释

- 通用图形标识：



参照产品使用说明



批号



保质期

	保存温度
	订货号
	检测数量
	生产日期
	生产商及地址

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。