

H2DON

酶联免疫法检测脱氧雪腐镰刀菌烯醇

code [HU40017 (MD500) / HU40037 (MD501)]

H2DON 是定量分析脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)的酶联免疫试剂盒。试剂盒内包含96孔 (codeHU40017-MD500)或48孔 (codeHU40037- MD501)实验所需的试剂盒耗材, 包括标准品。

需要实验室配备酶标仪。

检测类型:

谷物 (玉米, 小麦, 硬质小麦, 大麦, 全燕麦, 去壳燕麦, 糙米), 玉米蛋白粉, 猪饲料, DDGS, 豆粕, malted barley, 麦麸和次粉, 黑麦。

样品前处理

粉碎, 水提取, 过滤, 稀释。

分析时间: 20 分钟 (不包括样品前处理)。

检出限

0.2 ppm

组分	特异性	交叉反应 %
3-acetyl-DON		> 100
DON		100
3-glucosyl-DON		51±9
15-acetyl-DON		12±2
Nivalenol		< 0,5

1 测试原理

该测试是在包被有特异性抗DON抗体的微孔板中进行。在预混合孔中, 将酶标记的DON和标准溶液或样品混合, 然后转移到包被有抗DON抗体的微孔板中。在第一次孵育期间, 标准溶液/样品中的游离DON和酶标记的DON竞争固相上的抗DON抗体结合位点, 然后在洗涤步骤中除去任何未结合的酶耦合物和DON分子。加入固定量的生色底物将无色原体转化为蓝色产物。添加终止试剂会导致颜色从蓝色变为黄色, 用酶标仪在450nm处测量吸光度。溶液颜色的深浅与标准溶液/样品中的脱氧雪腐镰刀菌烯醇浓度成反比。

2 提供的试剂

预混合板: 未包被抗体, 空白板。

Code HU40017 - MD500: 96 wells (12 条 × 8 孔)。

Code HU40037 - MD501: 48 wells (6 条 × 8 孔)。

微孔板: 包被有抗-DON 抗体, 装于带有干燥机的铝箔袋中。

Code HU40017- MD500: 96 wells (12 条 × 8 孔)

Code HU40037- MD501: 48 wells (6 条 × 8 孔)。

微孔板可独立拆分, 单独使用。

DON 标准品: 5瓶包含1.5 ml 的: 0 ; 0.2; 0.5 ; 2 ; 8 ppm 的 DON。

酶耦合物: 1 瓶。

Code HU40017 - MD500: 14 ml;

Code HU40037 - MD501: 8 ml。

洗涤缓冲液 10x: 1 瓶 50 ml。

发展液: 1 瓶

Code HU40017 - MD500: 14 ml;

Code HU40037 - MD501: 8 ml。

终止液: 1 瓶。白色盖子。

Code HU40017 - MD500: 8 ml;

Code HU40037 - MD501: 6 ml。

3 未提供的材料

- 蒸馏水或去离子水
- NaCl
- 天平
- 研磨机
- 振荡器 (可选)
- 滤纸 (Whatman 1)
- 20-200 µl 微量可调移液器
- 50-200 µl 多通道微量可调移液器及配套枪头
- 酶标仪: 450 nm

4 使用者注意事项

- 仅用于体外诊断。
- 部分溶液包含被 (EC)No1272/2008认为的危险物质。可在 Tecna 网站上下载安全数据表。
- 小心处理试剂, 避免接触皮肤、眼睛和粘膜。

5 处理和存储说明

- 试剂盒的所组分需保存在 +2/+8°C, 不得冷冻。
- 将未使用的微孔板放回带有干燥剂的铝箔袋中。
- 不要使用过期的试剂盒。
- 不要混合不同试剂盒内的试剂。
- 使用试剂盒内的说明书。
- 严格按照说明书进行操作。

6 样品处理

6.1 谷物 (玉米, 小麦, 硬质小麦, 大麦, 去壳燕麦, 糙米), 玉米蛋白粉, 猪饲料, DDGS, malted barley

- 充分混匀待测样品
- 细细粉碎样品。
- 称取粉碎后的样品, 选择下表中描述的任一选项

样品量	提取液
50 g	250 ml 10% NaCl in water*
5 g	25 ml 10% NaCl in water*

为了使样品更具有代表性, 建议称取 50g 样品。

***制备 10% NaCl 水溶液:**

100 ml 溶液为例: 在70 ml 去离子水或蒸馏水中充分溶解10g NaCl, 然后用去离子水或蒸馏水定容至100 ml.

- 充分振荡3 分钟.
- 过滤样品 (Whatman 1 filter) 并收集滤液. 注意:不建议将样品离心, 因为离心会导致结果准确性降低.
- 用蒸馏水或去离子水稀释提取液 4倍 (例如: 100µl 提取液 +300 µl 水).
- 如果样品浓度>8 ppm, 用蒸馏水或去离子水再次稀释 6 倍(例如: 100 µl 稀释后的提取液 + 500 µl 水), 得到 1.2-48 ppm的检测范围.

6.2 全燕麦, 豆粕

- 充分混匀待测样品.
- 细细粉碎样品.
- 称取粉碎后的样品, 选择下表中描述的任一选项

样品量	提取液
50 g	250 ml 20% NaCl in water*
5 g	25 ml 20% NaCl in water *

为了使样品更具有代表性, 建议称取 50g 样品.

*** 制备 20% NaCl 水溶液:**

100 ml 溶液为例: 用70 ml 去离子水或蒸馏水充分溶解20g NaCl, 然后用去离子水或蒸馏水定容至100 ml.

- 充分振荡提取 3 分钟.
- 过滤样品 (Whatman 1 filter) 并收集滤液. 注意:不建议将样品离心, 因为离心会导致结果准确性降低.
- 用去离子水或蒸馏水稀释提取液 4倍 (例如: 100µl 提取液 +300µl 水).
- 如果样品浓度>8 ppm, 用蒸馏水或去离子水再次稀释 6 倍 (例如: 100µl 稀释后的提取液 +500µl 水), 得到 1.2-48 ppm的检测范围.

6.3 黑麦

- 充分混匀待测样品.
- 细细粉碎样品.
- 称取粉碎后的样品, 选择下表中描述的任一选项

样品量	提取液
50 g	250 ml 水
5 g	25 ml 水

为了使样品更具有代表性, 建议称取 50g 样品..

- 充分振荡3 分钟.
- 过滤样品 (Whatman 1 filter) 并收集滤液. 注意: 不建议将样品离心, 因为离心会导致结果准确性降低.
- 用蒸馏水稀释提取液8倍 (例如: 100µl 提取液 +700µl水).
- 得到 0.4-16 ppm的检测范围,稀释倍数为2

6.4 麦麸和次粉

- 充分混匀待测样品.
- 细细粉碎样品.
- 称取粉碎后的样品, 选择下表中描述的任一选项

样品量	提取溶液
50 g	500ml 20% NaCl in water*
5 g	50 ml 20% NaCl in water *

为了使样品更具有代表性, 建议称取 50g 样品.

*** 制备 20% NaCl 水溶液:**

以100ml溶液为例: 将 20 g 氯化钠溶于约70 ml 去离子或蒸馏水中, 然后用去离子或蒸馏水定容至100ml .

- 充分振荡提取 3 分钟.
- 过滤样品(Whatman 1 filter) 并收集滤液
注意:不建议将样品离心, 因为离心会导致结果准确性降低 .
- 用蒸馏水或去离子水稀释提取液 4倍 (例如: 100µl 提取液 +300µl 水).
- 得到 0.4-16 ppm的检测范围,稀释倍数为2

7 工作液准备

DON 标准品: 即时使用.

酶耦合剂: 即时使用.

洗涤缓冲液: 用蒸馏水 1:10稀释 (1+9) ; 注意:如存在晶体, 在室温下搅拌至晶体完全溶解. 稀释后的洗涤缓冲液可在室温下保存 24 小时或在+2/+8°C 下保存两周.

发展液: 即时使用; 该溶液对光敏感, 需避光保存.

终止液: 即时使用. 注意: 该溶液包含 1M硫酸. 小心处理, 如有接触, 用自来水彻底冲洗.

8分析步骤

8.1 初步准备

- 使用前将所有试剂放置室温条件下至少一小时.
- 使用后立即将试剂放回到 +2/+8 °C .
- 不要更改实验流程, 特别是:
 - 不要延长第一步的孵育时间;
 - 不要再高于 25°C 或低于 18°C的条件下孵育微孔板;
 - 孵育期间不要振荡微孔板;
 - 使用精确的移液器, 并使用配套枪头
- 一旦开始实验, 不间断完成所有操作.
- ELISA结果的重复性在很大程度上取决于微孔清洗的一致和均匀性;
- 始终遵循试剂盒内说明书中所述步骤.
- 对每个标准品和样品使用新的加样头, 以避免交叉污染.
- 枪头不要接触微孔内的液体.
- **所有孵育过程避免阳光直射.** 不建议使用密封带粘住微量滴定板

8.2 分析步骤

1. 预先安排好实验流程, 记录好每个标准品/样品的位置, 如果条件允许, 建议做平行实验。把未使用的微孔条放回原有干燥剂的铝箔袋中, 并用夹子夹好。

准备相同数量预混合孔。

注意: 建议每次测定不超过48个微孔(含标准品); 如果不使用多通道移液器, 建议每次测定不超过16个微孔(含标准品)。

2. 添加 100 μ l 酶耦合物到预混合孔

3. 添加 50 μ l 标准品/ 样品到相应的预混合孔中。

4. 用移液器混合孔中内容物(上下吹吸3次) 然后立即转移100 μ l液体到包被有抗-DON 抗体的微孔板中。

注意: 每个微孔使用新的加样头, 避免交叉污染。

5. 室温孵育 10 分钟;

不要延长第一步孵育时间, 孵育时不要振荡微孔板。

6. 洗板

- 孵育完成后, 倒出孔中内容物。

- 用工作用洗涤缓冲液 1x 充满整个微孔。倒出微孔内的液体。重复洗板过程3 - 4次。

- 在吸水纸上用力排干微孔内的剩余液体。

不要让微孔内干燥

7. 添加 100 μ l 发展液到每个微孔中并轻轻混合几秒钟。

8. 室温孵育10 分钟。

避光孵育。

9. 添加 50 μ l 终止液到每个微孔中并轻轻混匀几秒钟。

10. 在450 nm处读取吸光度值。在15分钟内完成读数。

9 结果计算

将每个标准品和样品的吸光度值除以标准0 (B₀) 的吸光度值并乘以100; 因此, 最大结合 (B₀) 等于100%, 吸光度值以百分比表示:

$$\frac{\text{标准品 (或样品) 吸光度值}}{\text{标准品 0 (B}_0\text{) 吸光度值}} \times 100 = \frac{B}{B_0}$$

- 根据每个标准品的B/B₀值和DON标准品浓度绘制标准曲线。

- 将每个样品的B/B₀值插入校准曲线中得到相应浓。

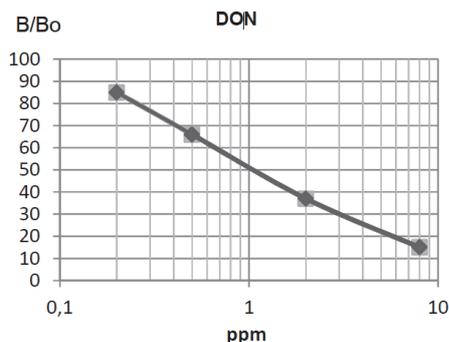
- DON 标准品浓度 (ppm) 已经考虑了样品的稀释倍数。

- 如果样品被进一步稀释了 6 倍得到1.2-48 ppm的检测范围, 将校准曲线上得到的结果诚意稀释倍数 6。

请注意: 关于结果计算, 可在

teca.euofins-technologies.com 网站上下载专用表格

10 标准曲线示例



11 结果评估

得到检测结果后有必要验证其测定性能, 通过将获得的数据与试剂盒中给出的数据(见 12部分)进行比较来执行验证。如果超出给定的数据, 建议检查试剂盒的失效日期, 吸光度波长, 以及所用的程度等。如果没有出现操作失误, 请联系我们的技术支持。

12 试剂盒参数

12.1 分析参数

Bo 吸光度值	> 0,7 OD _{450nm}
B/B ₀ 50%	0,9-1.7 ppm

12.2 分析性能

基质	浓度 ppm	回收率 % ± ds
玉米 (参考材料)	0.5-30	95±17
小麦 (reference materials)	0.5-30	101±17
硬质小麦 (naturally incurred)	0.4-4	103±15
大麦 (reference materials)	0.5-9	99±17
全燕麦 (spiked materials)	0.5-5	109±21
去壳燕麦 (spiked materials)	0.5-3	94±15
糙米 (spiked materials)	0.3-3	108±15
玉米蛋白粉 (spiked materials)	0.3-3	90±9
猪饲料 (reference materials)	1	96±10
DDGS (reference materials)	4	86±9
豆粕 (spiked materials)	0.5-3	99±14
黑麦 (spiked materials)	1-3	96±20
麦麸和次粉 (spiked materials)	1-3	100±16

基质	Cut off – ppm	LOQ- ppm
玉米	0,25	0,3
普通小麦	0,25	0,3
硬质小麦	0,25	0,3
大麦	0.4	0.5
全燕麦	< 0.2	0.5

通过点对点校正曲线获得的结果

13 责任

使用试剂盒评估为阳性的样品必须使用确认方法进行重新测试。

Tecna对由于不正确使用试剂盒而给客户造成的任何损害以及由于结果而采取的任何行为概不负责。