



山东绿都生物科技有限公司

Shandong Lvdu Bio-Sciences&Technology Co., Ltd.

食品安全毒素类 ELISA 检测试剂盒说明书

产品编号: DSLD001

一、原理

本试剂盒采用间接竞争 ELISA 方法定量检测样品中各个项目的残留量。

二、适用范围

定量检测粮食、饲料等样本中各个项目残留。

三、食品安全试剂盒的种类:

黄曲霉毒素总量 ELISA 试剂盒; 玉米赤霉烯酮 ELISA 试剂盒; 黄曲霉毒素 B1 试剂盒; 黄曲霉毒素 M1 试剂盒; 呕吐毒素 ELISA 试剂盒; 赭曲霉毒素 ELISA 试剂盒; T2 毒素 ELISA 试剂盒

四、试剂盒特点及技术指标

* 检测时间: 30 min

试剂盒灵敏度: 各个项目不同

* 试剂盒检测纯阴性样本的背景值 < 20ppb

* 样品处理方法更加简洁, 符合率大于 90%

试剂盒检测样本的灵敏度和准确度:

样本	检测下限	回收率
饲料等	100ppb	70%-120%
药物名称	交叉反应率 (%)	
各个项目	100%	
玉米赤霉烯醇	< 1%	

试剂盒特异性:

五、所需材料

仪器: 微孔板酶标仪 450 nm/630 nm、均质器、振荡器、离心机、天平 (感量 0.01 g)、离心管 (5 mL, 50 mL)

微量移液器: 单道 1μL~10 μL、10 μL~100μL

多道 50μL~300μL

试剂: 去离子水

六、试剂盒组成

序号	组成部分	96T 装量
1	酶标板	12×8 孔
2	标准品*6	6×1 mL
3	酶标物	7 mL
4	抗体	7mL
5	底物液 A 液	7 mL
6	底物液 B 液	7 mL
7	终止液	7 mL
8	20×浓缩洗涤液	40 mL

*注: A、B、C、D、E 5 个标准品浓度为: 0 ppb, 5 ppb, 15 ppb, 45ppb, 135ppb, 405ppb 直接使用。



山东绿都生物科技有限公司

Shandong Lvdu Bio-Sciences & Technology Co., Ltd.

七、溶液配制

配液 1: 洗涤工作液

用去离子水将 20×浓缩洗涤液按 1:19 体积比进行稀释, 用于酶标板的洗涤, 洗涤工作液在 4℃ 环境可保存一个月, 用前一天取出回温。

八、样本前处理

样本处理前须知:

① 处理完的样品应及时进行下步检测, 实验中必须使用一次性吸头, 吸取不同试剂时要更换吸头。

② 样本数目超过 8 个时推荐使用排枪加样。

(一) 豆粕、猪全价饲料、玉米、牛饲料、DDGS
(稀释倍数: 20)

① 称取样品 1.0g ± 0.05g 至离心管中, 加入 20 mL 去离子水, 2000rpm 震荡提取 1min;

② 4000rpm 离心 5min.;

③ 小心取出上清液 50 μL 用于分析。

九、酶标免疫测定程序

① 将所需试剂从冷藏环境中取出, 待其完全回升至室温 (20~25℃) 后方可使用。注意每种液体试剂使用前均须摇匀。

② 按标准品和样品双孔平行的数量使用微孔。

③ 加标准品/样品、酶、抗体: 加标准品/样品 50μL 到对应的微孔中, 加入各个项目酶标物 50μL /孔, 再加入各个项目抗体 50μL/孔, 轻

轻振荡混匀, 用盖板膜盖板后置 37℃ 避光环境中反应 20min。

④ 洗板: 小心揭开盖板膜, 将孔内液体甩干, 加入洗涤工作液 250μL/孔, 每次静置 20s, 甩去孔内液体, 重复洗涤 3 次, 最后一次用吸水纸拍干 (拍干后未被清除的气泡可用未使用过的枪头戳破)。

⑤ 显色: 加入底物液 A 液 50μL/孔, 再加底物液 B 液 50μL/孔, 轻轻振荡混匀, 用盖板膜盖板后置 37℃ 避光环境中反应 10min。

⑥ 测定: 加入终止液 50μL/孔, 用酶标仪立即测定 450nm 处的吸光度值 (建议用双波长 450/630nm) 检测。

十、结果判定

以标准品百分吸光率为纵坐标, 以各个项目标准品浓度 (ppb) 的半对数为横坐标, 绘制标准曲线图。将样本的百分吸光率代入标准曲线中, 从标准曲线上读出样本所对应的浓度, 乘以其对应的稀释倍数即为样本中各个项目实际浓度。(详见试剂盒专业分析软件, 以便进行大量样本的分析计算。)

十一、注意事项

① 洗板拍干后应立即进行下一步操作。

② 反应终止液为 2M 硫酸, 避免接触皮肤。

③ 不使用过了有效期的试剂盒, 不交换使用不同



山东绿都生物科技有限公司

Shandong Lvdu Bio-Sciences & Technology Co., Ltd.

序号	现象	可能原因	解决方法
1	板条不显色或者无相应数值	试剂使用顺序混乱,或操作步骤出错	严格遵循实验说明重复实验
		使用了不同批次的试剂	确保试剂来自同一试剂盒
		板条受潮严重	板条要封好,干燥剂失效要及时更换
		试剂过期,或者不同的批次混用	查证过期试剂和批次
		洗液配制错误、洗涤浸泡时间过长	按照说明书要求洗涤,并正确配制洗液

批号的试剂。

④ 0 标准的吸光度 (450/630nm) 值小于 0.5

($A_{450nm} < 0.5$) 时,表示试剂可能变质。

⑤ 在加入底物液 A 液和底物液 B 液后,一般显色

时间为 10~15min 即可。若颜色较浅,可延长

反应时间到 20min,反之则减短反应时间。

十二、贮藏条件及保存期

贮藏条件: 2~8℃

保质期: 12 个月

十三、问题与对策

(见下页)



山东绿都生物科技有限公司

Shandong Lvdu Bio-Sciences&Technology Co., Ltd.

2	低吸光度	孵育时间过短	按照说明书要求, 严格计算好时间
		试剂污染	确保吸取不同液体更换新的枪头和盛放器皿
		试剂温度过低	根据试剂体积大小回温时间相应延长, 确保试剂完全回温
	OD值	使用错误波长读数, 或者酶标仪失灵	确保 450nm 波长读数, 检查酶标仪是否故障
		试剂盒处于极端的条件	使用完毕的部分请立即放回冰箱, 勿置于过热环境时间太长
3	过高的背景值或吸光度 (OD 值)	使用了质量差的水配制试剂	使用双蒸水或去离子水配制试剂
		洗涤不当或者洗板机洗板效果不好	增加 1-2 次洗涤, 每孔至少加入 250 μ L 洗液
		酶标仪失灵, 如 OD 值读数很高而颜色很浅	使用校正微孔板检查酶标仪, 检查光源
		实验室温度过高, 反应时间过长	测定操作温度是否合适, 时间是否计算正确
		试剂混淆, 被污染或者配制不当	确保使用正确的试剂, 准确配制, 避免污染
4	板内差异性大	加入标准品和样品等的时间不一致	使用多道枪加样, 同种试剂加样途中不能中断
		多道枪使用不当	校准多道枪, 检查吸嘴是否套紧, 确保吸液量一致
		洗涤系统出现故障	检查洗涤系统, 保持良好运行
5	板间差异性大	板与板之间孵育时间相差太大	独立计时, 确保一致的孵育时间
		板与板之间不一致的洗涤过程	确保相同的洗涤次数, 保证洗涤系统正常运作
		使用移液枪不当	检查移液枪, 确保吸取相同液量
		试剂和样品处于不同温度	确保盒内试剂和样品液等充分回温, 如果试剂体积较大则需要回温较长时间。不能用温水浴回温样品
		不同批次的试剂混用, 或试剂盒过期	试剂不要混用, 通常 0 标准品的 OD 值小于 0.5 显示试剂质量下降
6	一个或多个标准品数据点超出曲线范围	标准品添加顺序混乱, 或者放置于错误位置	按照说明要求重复实验, 保证标准品添加正确
		标准品被污染或与其他标准品混淆	改用新的标准品, 按照由低浓度到高浓度的顺序添加标准品
		洗涤不一致或者洗涤系统失灵	遵循一如既往的洗涤方式, 检查洗涤系统
		加入标准品和试剂的时间不一致	由低到高浓度依次添加标准品, 使用多道枪移液
		多道枪使用不当	校准多道枪, 检查吸嘴是否套紧, 确保吸液量一致