



山东绿都生物科技有限公司

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

瘦肉精类 ELISA 检测试剂盒说明书

产品编号: SPLD001

一、原理

本试剂盒采用间接竞争 ELISA 方法定量检测样品中瘦肉精类的残留量。

二、适用范围

定量检测动物组织样品中瘦肉精类药物的残留。

三、试剂盒特点及技术指标

* 检测时间: 30 min

试剂盒灵敏度: 0.1 ppb ($\mu\text{g} / \text{kg}$)

* 试剂盒提供组织提取液, 无需氮吹;

试剂盒检测样本的灵敏度和准确度:

样本	检测下限	回收率
组织	0.5 ppb	70 %-120 %

试剂盒特异性:

药物名称	交叉反应率 (%)
瘦肉精类	100 %
特普他林	<1 %
莱克多巴胺	<1 %

四、试剂盒的种类

克伦特罗 ELISA 试剂盒; 沙丁胺醇 ELISA 试剂盒;
西马特罗 ELISA 试剂盒; 莱克多巴胺 ELISA 试剂盒

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 (1.5 mL, 50 mL)

微量移液器: 单道 1 μL ~10 μL 、10 μL ~100 μL 、100 μL ~1000 μL 、多道 50 μL ~300 μL

试剂: 浓盐酸、去离子水

六、试剂盒组成

序号	组成部分	96T 装量
1	瘦肉精类酶标板	12 \times 8 孔
2	瘦肉精类工作浓度标准品*6	6 \times 1mL
3	瘦肉精类酶标物	7 mL
4	瘦肉精类抗体	7 mL
5	底物液 A 液	7 mL
6	底物液 B 液	7 mL
7	终止液	7 mL
8	20 \times 浓缩洗涤液	40 mL
9	10 \times 瘦肉精类组织提取液	45mL
10	瘦肉精类平衡液	2mL

*注: 6 个标准品浓度为: 0 ppb, 0.1 ppb, 0.3 ppb, 0.9 ppb, 2.7 ppb, 8.1 ppb, 直接使用。

七、溶液配制

配液 1: 洗涤工作液



山东绿都生物科技有限公司

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

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

配液 2: 1 × 瘦肉精类组织提取液

用去离子水将 10 × 瘦肉精类样品稀释液按 1 : 9 体积比进行稀释。配好的 1 × 瘦肉精类组织提取液在室温环境可保存一个月。

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。

组织（稀释倍数：5）

- ① 称取组织样品 $2.0 \text{ g} \pm 0.05 \text{ g}$ 至 50 mL 离心管中，加入 5 mL 1 × 瘦肉精类组织提取液，震荡提取 1 min；
- ② 4000 r/min 离心 5 min；
- ③ 小心移取 1 mL 上清液至 1.5 mL 离心管中，加入 20 μL 平衡液，混匀。
- ④ 4000 r / min 离心 3 min；
- ⑤ 取上清 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 °C）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 50 μL 到对应的微孔中，加入瘦肉精类酶标物 50 μL /孔，再加入瘦肉精类抗体 50 μL /孔，用盖板膜盖板后置室温避光环境中反应 20 min。

④ **洗板:** 小心揭开盖板膜，将孔内液体甩干，加入洗涤工作液 250 μL /孔，静置 20 s 后，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 50 μL /孔，再加底物液 B 液 50 μL /孔，用盖板膜盖板后置室温避光环境中反应 10 min。

⑥ **测定:** 加入终止液 50 μL /孔，用酶标仪立即测定 450nm 处吸光度值（推荐用双波长 450/630 nm）。

十、结果判定

以标准品百分吸光率为纵坐标，以瘦肉精类标准品浓度（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瘦肉精类实际浓度。（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 2 M 硫酸，避免接触皮肤。
- ③ 不使用过了有效期的试剂盒，不交换使用不同批号的试剂。



山东绿都生物科技有限公司

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

④ 0 标准的吸光度(450 / 630 nm)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 15~20 min 即可。若颜色较浅, 可延长反
应时间到 30 min, 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 °C

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.

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
2	低吸光度 OD值	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
		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
		使用错误波长读数,或者酶标仪失灵	确保 450 nm 波长读数,检查酶标仪是否故障
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
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