

黄曲霉毒素 B1 (AFB1) ELISA Kit

Catalog Number: BSKV0035

本试剂盒用于定量检测谷物、坚果、饲料、棉籽、食用油等样本中黄曲霉毒素 B1 (AFB1)含量。**使用前请仔细阅读说明书并检查试剂组分**，如有任何疑问请与北京博奥森生物技术有限公司联系，公司将为您提供强有力的技术支持。

仅供研究，不用于临床诊断。

目录

检测原理.....	3
试剂盒组成.....	3
其它实验材料.....	3
注意事项.....	4
样本收集、处理及保存方法.....	4
试剂准备.....	5
操作步骤.....	5
结果判断.....	6
试剂盒性能.....	7
检测范围.....	7
灵敏度.....	7

检测原理:

本试剂盒采用竞争 ELISA 方法。将标准品/待测样本和辣根过氧化物酶（HRP）标记的黄曲霉毒素 B1 抗体加到空白板条/离心管中进行预反应，然后转移至包被了黄曲霉毒素 B1 抗原的酶标板微孔上，未结合的酶标抗体与微孔板上的黄曲霉毒素 B1 结合，经过彻底洗涤后加入底物 TMB 显色。TMB 在 HRP 酶的催化作用下转化成蓝色，并在酸的作用下最终转化成黄色。颜色的深浅和样本中的黄曲霉毒素 B1 含量呈负相关。用酶标仪在 450nm 波长下测定吸光值（OD 值），通过绘制标准曲线计算样本中黄曲霉毒素 B1 浓度。

试剂盒组成:

试剂盒组成	规格（96T）	保存条件
抗体包被板条	8×12	2-8℃保存
标准品	2 支（100 μL/支）	2-8℃保存
标准品/样本稀释液	25 mL×1 瓶	2-8℃保存
酶标抗体浓缩液（100×）	30 μL×2 瓶	2-8℃保存
酶标抗体稀释液	15 mL×1 瓶	2-8℃保存
浓缩洗涤液（20×）	25 mL×1 瓶	2-8℃保存
显色底物（避光）	12 mL×1 瓶	2-8℃保存
终止液	6 mL×1 瓶	2-8℃保存
封板胶纸	4 张	
说明书	1 份	

其它实验材料（不提供，但可协助购买）:

- 1.酶标仪(主波长 450 nm，参考波长 630 nm)
- 2.高精度可调移液器（已校准）及吸头：0.5-10,2-20,20-200,200-1000 μL。
一次检测样本较多时，建议使用多通道移液器。
- 3.自动洗板机或洗瓶
- 4.37℃温箱
- 5.双蒸水或去离子水

6.坐标纸

7.量筒

注意事项:

1.试剂盒保存在 2-8℃, 已复溶但未用完的标准品, 建议丢弃。不可混合使用不同来源或不同批号的试剂盒组分, 请在有效期内使用本产品。

2.浓缩洗涤液低温取出可能会伴有结晶析出, 稀释时可在水浴中加热助溶, 不影响使用。

3.各步加样均应使用移液器, 并经过校准, 以免产生误差。建议一次加样时间最好控制在 5 分钟内, 如样本数量较多, 推荐使用排枪加样。

4.请每次测定的同时做标准曲线, 最好做复孔。

5.为避免交叉污染, 在加入不同浓度的标准品、不同样本、不同试剂时谨记及时更换吸头, 封板胶纸只限一次性使用。

6.浓缩酶结合物及显色底物请避光保存, 显色底物在添加之前, 应保持无色, 请勿使用已变为蓝色的显色底物。

7.严格按照说明书的操作进行, 试验结果判定必须以酶标仪读数为准。

样本收集、处理及保存方法:

1.谷物、坚果、饲料、棉籽: 样品粉碎均质, 样品: 提取液(70%甲醇水溶液, 含 4% NaCl)按照 1:5 (W/V) 混匀, 振荡/超声提取 5 min, 离心/静置/过滤, 取上清液或滤液进行检测。为了使样品更具有代表性, 建议至少称取 50g 样品进行实验。

2.食用油: 采用谷物等样品的提取方法进行提取, 静置分层, 取下层提取液进行检测。

3.请根据实际情况, 将样本做适当倍数稀释(建议根据预试验结果确定稀释倍数)。

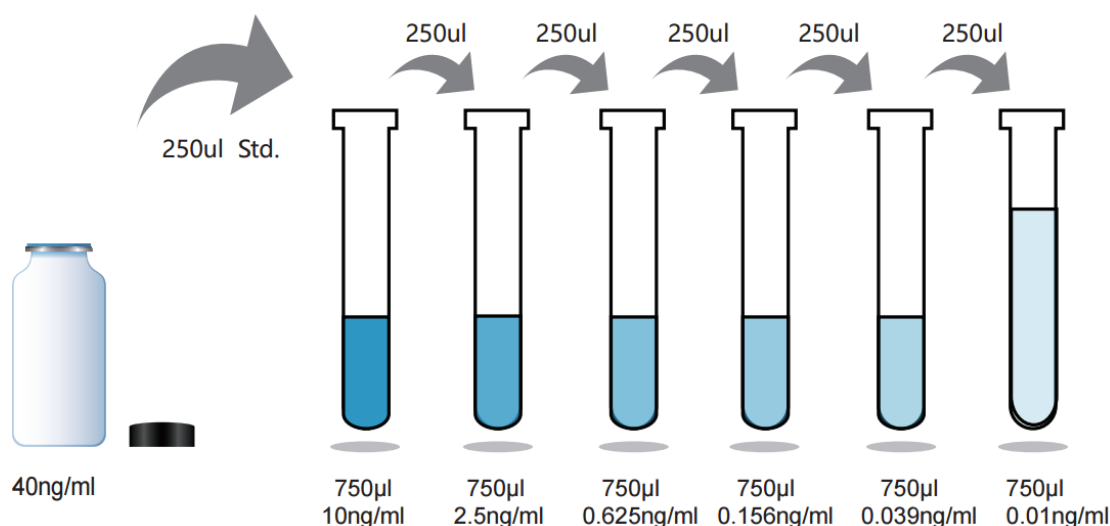
试剂准备:

1.试剂回温: 请在实验前将试剂盒和待测样本置于室温下回温。

2.洗涤液配制: 根据浓缩洗液的浓缩倍数, 用双蒸水或去离子水进行相应倍数稀释后备用。

3.标准品梯度稀释: 取出试剂盒标准品, 取 900 μL 标准品/样本稀释液至高浓度标准品中, 振荡混匀(浓度为 40 ng/mL), 再取 6 只聚丙烯试管, 各加入 750 μL 标准品/样本稀释液, 然后对标准品依次进行 4 倍稀释即: 10、2.5、0.625、0.156、0.039、0.01 ng/mL。

40 ng/mL 标准品试管为标准曲线最高点浓度, 标准品/样本稀释液作为标准曲线的零点(0 ng/mL)。稀释过的标准品原液(40 ng/mL)未用完的应废弃。



4.酶标抗体工作液：根据试验所需用量，用酶标抗体稀释液将酶标抗体浓缩液进行100倍稀释，例如99 µL酶标抗体稀释液加1 µL酶标抗体浓缩，请于30 min内使用（备注酶标抗体浓缩取量最小为1 µL，不能低于1 µL）。

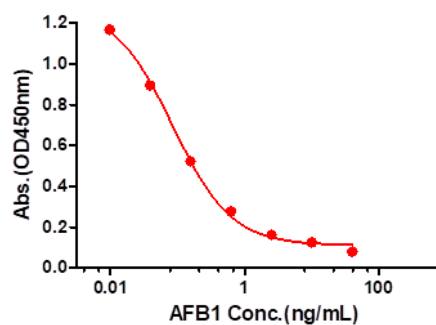
操作步骤：

- 1.预反应：根据试验所需用量，取出相应空白板条/离心管，分别将已配制好的标准品、标准品零点（标品/样本稀释液）及待测样本以 50 µL/孔加入实验孔/离心管中，同时，各离心管加入酶标抗体工作液（50 µL/孔），混匀，37°C孵育 15 min（采用避光封板膜）。
- 2.加样：根据试验所需用量，取出相应抗体包被板条，将预反应结束的样品转移到对应板条中，尽量不触及孔壁。
- 3.温育：用封板胶纸封板后置 37°C温育 60 min。
- 4.洗涤：小心揭掉封板胶纸，弃去液体，甩干，每孔加满洗涤液（350 µL），静置 30 秒后弃去，如此重复 4 次，最后于吸水纸上拍干。
- 5.显色：每孔加入 100 µL 显色底物，用封板胶纸封板后室温显色 5-15 min。
- 6.终止：每孔加终止液 50 µL（此时蓝色立转黄色）。
- 7.测定：用酶标仪 450 nm 波长测定各孔的吸光度（OD 值），测定应在加终止液后 5 min 以内进行。

结果判定：

1. 每个标准品和样本的 OD 值应取各复孔的平均值。
2. 使用计算机软件以吸光度 OD 值为纵坐标(Y),相应的 AFB1 标准品浓度为横坐标(X),生成相应的标准曲线,样本的 AFB1 含量可根据其 OD 值由标准曲线换算出相应的浓度。

Concentration (ng/mL)	Optical Density (450 nm)
40	0.079
10	0.125
2.5	0.162
0.625	0.277
0.156	0.523
0.039	0.894
0.01	1.168
0	1.221



本图仅供参考，应以同次试验标准品所绘标准曲线为准

试剂盒性能:

批内与批间差应小于 10%

检测范围:

0.01 ng/mL - 40 ng/mL

灵敏度:

0.01 ng/mL