



玉米赤霉烯酮酶联免疫定量检测试剂盒说明书

ELISA kit for quantitative detection of Zearalenone

一、概要

玉米赤霉烯酮从有赤霉病的玉米中分离得到，其产毒菌主要是镰刀菌属(*Fusarium*)的菌株，如禾谷镰刀菌(*F.graminearum*)和三线镰刀菌(*F.tricinctum*)。玉米赤霉烯酮主要污染玉米、小麦、大米、大麦、小米和燕麦等谷物，玉米赤霉烯酮的耐热性较强,110℃下处理 1 h 才被完全破坏。人食用含玉米赤霉烯酮的食物可引起流产，死胎和畸胎。食用含赤霉病麦面粉制作的各种面食也可引起中枢神经系统的中毒症状，如恶心，发冷，头痛，神智抑郁和共济失调等。

本试剂盒利用酶联免疫吸附测定法 (ELISA) 对各种谷物及其制品中的 ZEN 含量进行快速、定量检测。

二、原理

本试剂盒是利用间接酶联免疫吸附微孔模式进行检测，灵敏度可达 1 µg/kg (ppb)。样品或标准品中游离的玉米赤霉烯酮与包被在微孔中的抗原竞争结合游离的玉米赤霉烯酮抗体上的结合位点，形成抗原抗体结合物，经洗板洗去多余的抗体与玉米赤霉烯酮后，加入酶标记的二抗与玉米赤霉烯酮抗体结合，经再次洗板后加入显色剂与反应底物，其与酶标物作用而成蓝色，加入反应停止液后颜色由蓝色转变为黄色，黄色越深则表明呕吐毒素越少，用酶标仪在 450 nm 处测定光吸收值可准确定量检测样品中的玉米赤霉烯酮污染水平。

三、试剂盒构成

1、反应板支架	1 块
2、玉米赤霉烯酮抗原包被反应板	36 孔
3、玉米赤霉烯酮标准品溶液 (0 ppb, 1 ppb, 2.5 ppb, 5 ppb, 10 ppb, 20 ppb)	1 套
4、玉米赤霉烯酮抗体	1 瓶
5、样品稀释液	1 瓶
6、抗体稀释液	1 瓶
7、酶标二抗溶液	1 瓶
8、显色剂溶液	1 瓶
9、反应底物溶液	1 瓶
10、终止液	1 瓶
11、浓缩洗涤液 (20 X)	1 瓶

四、注意事项

- 1、试剂盒请置于 2-8℃ 条件下保存，使用过程中不要让微孔干燥，使用后应立即将试剂放回至 2-8℃ 条件下冷藏。
- 2、标准品和无色的反应底物对光敏感，避免直接暴露在光线下。
- 3、吸取不同的液体后，要更换枪头，即使是吸取标准品时。
- 4、尽量避免所有试剂接触皮肤。
- 5、试剂盒应在有效期内使用。不同批号的试剂盒不能混用。试剂稀释或掺杂使用会使灵敏度降低。
- 6、对玻璃器皿和 ZEN 溶液消毒最好用次氯酸钠 (10%；v/v) 溶液 (将溶液用 HCl 调整至 PH 7) 浸泡过夜。

五、样品处理

饲料与谷物样品

准确称取 5.0 g 样品进行粉碎以使 75% 的样品可以通过 20 目筛，样品的大小颗粒与速溶咖啡相当。接着将粉碎后的样品放入三角瓶中，加入 25 ml 甲醇与水 (6:4) 的混合液，振荡 15 min。然后用定量滤纸过滤，收集滤液。取适量滤液用样品稀释液稀释 5 倍。如果样品 ZEN 浓度过高则可再进行适当的稀释。

上海佑隆生物科技有限公司

联系电话: 021-60955248; 传真: 021-60955249;

www.youlong-bio.com.cn

E-mail: info@youlong-bio.com.cn



玉米赤霉烯酮酶联免疫定量检测试剂盒说明书

ELISA kit for quantitative detection of Zearalenone

六、实验步骤

(一)实验准备

- 1、使用前请先将试剂盒拿出冰箱，放到室温环境下回温 10 min。
- 2、本试剂盒所提供的 ZEN 抗体是浓缩液，使用前请先用稀释液进行稀释。用 2.0 mL 稀释液将 1 瓶 ZEN 抗体溶解，配制的溶液够 36 孔使用。
- 3、本试剂盒所提供的酶标二抗是浓缩液，使用前请先用稀释液进行稀释。用 4.0 mL 稀释液将 1 瓶酶标二抗浓缩液溶解，配制的溶液够 36 孔使用。
- 4、本试剂盒所提供的浓缩洗涤液用蒸馏水稀释 20 倍后即可使用。例如：4 mL 浓缩洗涤液+76 mL 蒸馏水，足够 36 孔使用。

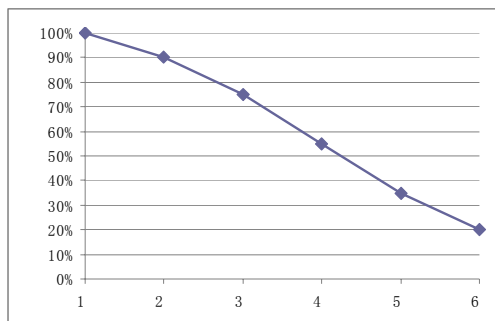
(二)测定程序

- 1、根据样品检测数插入足够数量的酶标板微孔于反应板支架上。标记好空白对照孔、标准品孔和样品孔。然后每孔加入 250 μ L 左右稀释好的洗涤液，放置 1 min，倒掉液体后将酶标板在报纸或毛纸上用力拍干。
- 2、在空白对照孔中加入 50 μ L 样品稀释液，在各个标准品孔中加入 50 μ L ZEN 标准品(0 ppb、1 ppb、2.5 ppb、5 ppb、10 ppb、20 ppb)，在样品孔中加入 50 μ L 待测样品液。
- 3、每孔都加入 50 μ L 稀释后的 ZEN 抗体溶液。轻轻摇匀混合，然后在 37 $^{\circ}$ C 恒温孵育 60 min。
- 4、孵育结束后甩掉微孔中的液体，然后每孔加入 250 μ L 左右稀释好的洗涤液，放置 1 min，倒掉液体。重复洗涤 3 次。倒掉液体后将酶标板在报纸或毛纸上用力拍干。
- 5、每孔都加入 100 μ L 稀释后的酶标二抗溶液。然后再 37 $^{\circ}$ C 恒温孵育 30min。
- 6、孵育结束后甩掉微孔中的液体，然后每孔加入 250 μ L 左右稀释好的洗涤液，放置 1 min，倒掉液体。重复洗涤 3 次。倒掉液体后将酶标板在报纸或毛纸上用力拍干。
- 7、每孔分别加入 50 μ L 显色剂和 50 μ L 反应底物，轻轻摇匀混合后，恒温孵育箱中 37 $^{\circ}$ C 显色 15 min。
- 8、显色反应结束后每孔加入 50 μ L 终止液。用酶标仪在 450 nm 处进行测定。必须在加入终止液后 10 min 内完成。

七、结果判定

用酶标仪在 450 nm 处测得每孔的光吸收值(A)绘制标准曲线。通过标准曲线，可准确定量样品中 ZEN 含量。

标准曲线：横坐标为 ZEN 标准品浓度，纵坐标为百分比（即各标准品孔和样品孔光吸收值除以 0 ppb 标准品孔光吸收值再乘以 100% 所得）。相应每个样品的 ZEN 浓度可从曲线上获得。



标准曲线（仅作参考）

八、酶标计算专业软件

酶联免疫测定法（ELISA）是目前食品安全检测、医疗检测以及环境监测等中最广泛的免疫分析方法，可用于目标物质的定量测定。一般而言，在未知样品测定前，需测定梯度标准物质建立标准曲线方程。然



玉米赤霉烯酮酶联免疫定量检测试剂盒说明书

ELISA kit for quantitative detection of Zearalenone

后根据未知样品的 OD 值或者其变化值，代入标准曲线方程，获得未知样品中待测物质的浓度。然而，常规方法均使用手动计算或者绘制图，来获得一个个的最终数据，该方法费时、繁琐以及人为错误概率高。

据此，本公司开发出酶标计算专业软件（YL software 1.0 版），专门解决该酶标测定中的计算难题，并可根据实际需要，自动调整计算数目，最多可同时计算一整块酶标板（96 孔）的数据，并可同时导出通用 excel 文档，编辑和保存。根据实际中的应用,该软件分为两种计算模式:单孔模式与双孔模式。双孔模式即取该点的两个值进行取平均值再进行计算,最终根据数据来判定是否合格,不合格以及未检测。

上海佑隆生物科技有限公司酶标计算软件 联系电话: 021-60955248 邮箱: info@youlong-bio.com.cn

空白值: 0.01 V1.00版 判定值: 2 PPB 模式选择: 单孔模式 稀释倍数: 1

曲线拟合 计算

Microsoft Excel 是否保存对 "moban1" 的更改? 是(Y) 否(N) 取消

校准品1	2	2	样品5	样品13	样品21	样品53	样品61	样品69	样品77
校准品2	1.8	1.8	样品6	样品14	样品22	样品54	样品62	样品70	样品78
校准品3	1.5	1.5	样品7	样品15	样品23	样品55	样品63	样品71	样品79
校准品4	1.1	1.1	样品8	样品16	样品24	样品32	样品40	样品48	样品56
校准品5	0.7	0.7	样品9	样品17	样品25	样品33	样品41	样品49	样品57
校准品6	0.4	0.4	样品10	样品18	样品26	样品34	样品42	样品50	样品58
样品1	1	样品2	0.7	样品11	样品19	样品27	样品35	样品43	样品51
样品3	1.2	样品4	样品12	样品20	样品28	样品36	样品44	样品52	样品60
									样品68
									样品76
									样品84

1	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

样品序号	吸光度值	氯霉素含量	结果判定	送样单位	检测单位
样品1	1	1.25	合格		2010-7-13
样品2	0.5	3.96	不合格		

