

三聚氰胺检测试剂盒

使用前请仔细阅读说明书 产地：美国 ABRAXIS

应用

本试剂盒采用竞争 ELISA 方法，适用于污染样品中三聚氰胺的定量分析。

检测原理

本试剂盒的原理为竞争 ELISA。利用萃取液通过均质及振荡的方式提取样品中的三聚氰胺进行免疫测定。将三聚氰胺 HRP 标记物、标样及样品提取液加入包被三聚氰胺抗体的试验孔中孵育。在 30 分钟的孵育过程中，样品中的三聚氰胺与 HRP 标记物竞争结合三聚氰胺抗体。孵育 30 分钟后，倾去孔内液体，洗涤除去未结合三聚氰胺和 HRP 标记物。每孔加入清澈的底物溶液，结合的酶标记物将无色的底物转化为蓝色的物质。孵育 20 分钟后终止反应，读取各孔 OD 值。比较未知样品的 OD 值与标样的 OD 值，就可计算出样品中的三聚氰胺浓度。

提供的试剂及材料

试剂盒在 2-8°C 贮存，于盒上标注日期前用完。

1. 用铝箔袋真空包装的 96 孔板（12×8 条），内含指示干燥剂。
2. 浓度分别为 0, 20, 50, 100, 200 和 500 µg/L (ppb) 的 6 瓶三聚氰胺标准液。
3. 1 瓶 7 mL 三聚氰胺 HRP 酶标记物。
4. 1 瓶 14 mL 底物。
5. 1 瓶 14 mL 终止液。（注意！1N 盐酸。勿接触皮肤。）
6. 5×浓缩洗液，用去离子水或蒸馏水稀释 5 倍。如果使用整瓶（100ml）需加 400ml 双蒸水或去离子水。

注意事项

1. 最好配套使用所提供的试剂，不要同其它公司的产品混用，不要将不同批次的产品混用。
2. 不按试验步骤稀释试剂或样品将导致不准确的结果。
3. 不要使用过期的产品。
4. 使用之前将所有试剂恢复至室温 20-28°C，但不要放置超过 24 小时。
5. 三聚氰胺是有毒化学物质，请小心处理。
6. 终止液是 1N 盐酸，避免接触皮肤和黏膜。万一溅在皮肤上，立即用大量的水冲洗。
7. 与其它分析技术一样（GC、HPLC），阳性结果应用另一种替代方法确认。

试剂盒未提供的材料

1. 蒸馏水或去离子水
2. 可吸取 50ul 的移液器及吸头
3. 可吸取 50ul 和 100ul 的八道移液器及吸头
4. 吸水纸或相当的吸水材料
5. 带 450nm 滤光片的酶标仪
6. 计时器
7. 洗瓶

试验准备

检测步骤（注意：标准及样品最好做平行试验以增加准确度。）

1. 将所有试剂及样品置于室温下，用实验室级水充满洗瓶。
2. 从铝箔袋中取出相应数量的微孔条，放入干燥剂并重新封好袋子以免微孔条受潮。
3. 吸取 100ul 标样或稀释的样品提取液到相应的微孔。每个样品使用一个新的吸头。每孔加 50ul 三聚氰胺 HRP 酶标记物。
4. 轻轻混合 60 秒，孵育 30 分钟。

5. 孵育完后，将微孔中的溶液倒入水槽中，用洗液完全充满微孔，震荡后倒掉，重复三次，总共洗板四次。
6. 在吸水纸上拍打，尽可能将水拍干。
7. 每孔加入 100ul 底物溶液。
8. 避光孵育 20 分钟。
9. 每孔加入 100ul 终止液。
10. 用酶标仪读取 450nm 下的吸光值。

结果分析

1. 半定量的结果可通过样品吸光值与标样吸光值的简单对比而获得:样品的颜色比标样的颜色浅则三聚氰胺的浓度比标样的浓度高，样品的颜色比标样的颜色深则三聚氰胺的浓度比标样的浓度低。
2. 定量分析需要绘制以标样吸光值为 X 轴,以标样的浓度的 log 值为 Y 轴的曲线图。画一条穿过标样点的直线，样品的吸光值位于该直线上。样品的吸光值在 Y 轴上的对应点为样品的浓度。如果样品吸光值大于最小标样的吸光值，则样品的浓度 < 20 ppb; 如果样品吸光值小于最大标样的吸光值，则样品的浓度 > 500 ppb。

检测极限

预计本试剂盒的最小检测极限为 10ppb。

特异性

三聚氰胺检测试剂盒与三嗪类似物的交叉反应可用最低检测剂量 (LLD, 约为 90%B/Bo) 或用抑制 50%的吸光值所需的剂量 (50%B/Bo) 表示。

化合物	LLD (ppb)	50%B/Bo (ppb)
三聚氰胺	10	400
三聚氰酸	400	> 10,000
三嗪	> 10,000	> 10,000
三嗪二铵	0.1	2