

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl<sup>7</sup>

G01N 33/543

G01N 33/535

G01N 21/31

G01N 33/531



# [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200410022495.4

[43] 公开日 2005 年 11 月 16 日

[11] 公开号 CN 1696696A

[22] 申请日 2004.5.12

[21] 申请号 200410022495.4

[71] 申请人 成都诺金生物科技有限公司

地址 610041 四川省成都市高朋大道 10 号

[72] 发明人 唐晓松

[74] 专利代理机构 成都天元专利事务所

代理人 徐 宏

权利要求书 7 页 说明书 19 页

[54] 发明名称 黄曲霉主要毒素总量测试试剂盒及测定方法

[57] 摘要

本发明属于用酶联免疫反应快速、精确测定黄曲霉主要毒素 B1、B2、G1、G2 总量的方法，本技术涉及黄曲霉主要毒素测定用的抗原抗体制备，黄曲霉主要毒素总量测试试剂盒中酶标板的制作和各种试剂的制作，用黄曲霉主要毒素总量测试试剂盒测试样品中黄曲霉主要毒素 B1、B2、G1、G2 总量的方法和黄曲霉主要毒素 B1、B2、G1、G2 交叉反系数的测定，本发明解决了用酶联免疫反应只能测定黄曲霉毒素 B1 的问题，对食品黄曲霉毒素卫生检验意义重大。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1、黄曲霉主要毒素总量的测定方法，使用酶联免疫技术，用已知黄曲霉主要毒素抗原和主要抗体的量，测定样品中的黄曲霉主要毒素 B1、B2、G1、G2 的总量，其特征在于：所述黄曲霉毒素主要抗原是由黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2 的复合抗原组成，所述黄曲霉主要毒素抗体是由黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2 的复合抗体组成，本测定方法还使用具有黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2 复合的酶标抗原或抗体；免疫反应可用包被抗原也可用包被抗体方式；本发明对酶联免疫反应测定进行了技术改进，其测定包括：标准黄曲霉主要毒素抗原和主要抗体制作，并制作成冻干保存物及可长期保存物形式；标准黄曲霉主要毒素酶标抗原或抗体制作；标准抗原或抗体包被；进行酶联免疫反应；用酶标仪检测酶联免疫反应物对一定波长的波的吸收参数；作出黄曲霉主要毒素标准抗原的酶标仪检测参数图；将样品的酶标仪检测参数与标准抗原的酶标仪检测参数图比较而获得样品中黄曲霉毒素主要抗原 B1、B2、G1、G2 的总量。

2、黄曲霉主要毒素总量的测定方法，使用酶联免疫技术，用已知黄曲霉毒素抗原和抗体的量，测定样品中的黄曲霉主要毒素 B1、B2、G1、G2 的总量，其特征在于：所述黄曲霉毒素抗原是能表示 B1、B2、G1、G2 的抗原，所述黄曲霉毒素抗体是能表示 B1、B2、G1、G2 的抗体，本测定方法还使用酶标抗原或抗体，该酶标抗原是能表示 B1、B2、G1、G2 总量的酶标抗原，该酶标抗体是能表示 B1、B2、G1、G2 总量的酶标抗体；免疫反应可用包被抗原也可用包被抗体方式；本发明对酶联免疫反应测定进行了技术改进，其测定包括：标准黄曲霉毒素抗原和抗体制作，并制作成冻干保存物及可长期保存物形式；标准黄曲霉毒素酶标抗原或酶标抗体制作；标准抗原或标准抗体包被；进行酶联免疫反应；用酶标仪检测酶联免疫反应物对一定波长的波的吸收参数；作出黄曲霉

主要毒素 B1、B2、G1、G2 标准抗原总量的酶标仪检测参数图；将样品的酶标仪检测参数与标准抗原的酶标仪检测参数图比较，而获得样品中黄曲霉毒素主要抗原 B1、B2、G1、G2 的总量。

3、黄曲霉主要毒素总量的测定方法，使用酶联免疫技术，用已知黄曲霉毒素抗原和抗体的量，测定样品中的黄曲霉主要毒素 B1、B2、G1、G2 的总量，其特征在于：所述黄曲霉毒素抗原是 B1、B2、G1、G2 的通用抗原，所述黄曲霉毒素抗体是 B1、B2、G1、G2 的通用抗体，本测定方法还使用酶标通用抗原或抗体，该酶标通用抗原是能表示 B1、B2、G1、G2 总量的酶标通用抗原，该酶标抗体是能表示 B1、B2、G1、G2 总量的酶标通用抗体；免疫反应可用包被抗原也可用包被抗体方式；本发明对酶联免疫反应测定进行了技术改进，其测定包括：标准黄曲霉毒素抗原和抗体制作，并制作成冻干保存物及可长期保存物形式；标准黄曲霉毒素酶通用标抗原或酶标通用抗体制作；通用标准抗原或通用标准抗体包被；进行酶联免疫反应；用酶标仪检测酶联免疫反应物对一定波长的光的吸收参数；作出黄曲霉主要毒素 B1、B2、G1、G2 标准抗原总量的酶标仪检测参数图；将样品的酶标仪检测参数与标准抗原的酶标仪检测参数图比较，而获得样品中黄曲霉毒素主要抗原 B1、B2、G1、G2 的总量。

4、黄曲霉主要毒素总量的测定方法，使用酶联免疫技术，用已知黄曲霉毒素特 B1 抗原和特 B1 抗体的量，测定样品中的黄曲霉主要毒素 B1、B2、G1、G2 的总量，其特征在于：所述黄曲霉毒素特 B1 抗原是能表示 B1、B2、G1、G2 的抗原，所述黄曲霉毒素特 B1 抗体是能表示 B1、B2、G1、G2 的抗体，本测定方法还使用酶标抗原特 B1 或抗体特 B1，该酶标抗原特 B1 是能表示 B1、B2、G1、G2 总量的酶标抗原，该酶标抗体特 B1 是能表示 B1、B2、G1、G2 总量的酶标抗体；免疫反应可用包被抗原也可用包被抗体方式；本发明对酶联免疫反应测定进行了

技术改进，其测定包括：标准黄曲霉毒素抗原和抗体制作，并制作成冻干保存物及可长期保存物形式；标准黄曲霉毒素酶标抗原或酶标抗体制作；标准抗原或标准抗体包被；进行酶联免疫反应；用酶标仪检测酶联免疫反应物对一定波长的光的吸收参数；作出黄曲霉主要毒素 B1、B2、G1、G2 标准抗原总量的酶标仪检测参数图；将样品的酶标仪检测参数与标准抗原的酶标仪检测参数图比较，而获得样品中黄曲霉毒素主要抗原 B1、B2、G1、G2 的总量。

5、黄曲霉主要毒素总量测试试剂盒，盒体中装有酶反应底物、反应停止液等，其特征在于：盒体中还装有酶标板、多个容器中有不同含量的黄曲霉毒素标准抗原或抗体试剂（标准试剂）、酶标抗原或抗体、抗原或抗体稀释剂；酶标板上包被有 B1、B2、G1、G2 的抗原或抗体，或者酶标板上包被有能表示 B1、B2、G1、G2 抗原的特 B1 抗原，或者酶标板上包被有能表示 B1、B2、G1、G2 抗体的特 B1 抗体；黄曲霉毒素标准抗原或抗体试剂的含量范围是 0—500000ppt；酶标抗原或抗体是有一定抗原或抗体含量的酶标抗原或抗体。

6、根据权利要求 4 所述的黄曲霉主要毒素总量测试试剂盒，其特征在于：制作包被黄曲霉毒素特 B1 抗体测定黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2 总量的试剂盒中主要材料方法如下：

A、所述的酶标板上包被有能表示 B1、B2、G1、G2 抗原的特 B1 抗体的步骤是下述六步：

A1、特B1抗体室温下解冻后，放在旋涡混合器上振荡混和；

A2、稀释液1将特B1抗体稀释；

A3、将特B1抗体稀释液加入酶标板的每一个微孔中,加完后用锡箔纸包好平稳的放在2-8摄氏度的冰箱中,包被5至20小时；

A4、从2-8摄氏度的冰箱拿出包被后的酶标板，倒掉酶标板微孔中的特

B1抗体和稀释液溶液并用干,加入稀释液2,再把酶标板用锡箔纸包好放在室温(22-25摄氏度)暗处30--150分钟;

A5、将酶标板中的稀释液2倒掉,并用干,再加入稀释液2,立即倒掉稀释液2并用干,最后把孔中无溶液的酶标板放在吸潮的硅胶干燥剂面上并置入一密封装置内,在室温下(22-25摄氏度)干燥1--5小时;

A6、把密封装置内用吸潮硅胶已吸干水吸的酶标板放入黑色塑料包装袋,并放入吸潮硅胶干燥剂,封上封口,放入2-8摄氏度的冰箱中存放;

B、所述的多个容器中有不同含量的黄曲霉毒素标准抗原或抗体试剂(标准试剂)的制作是将已知量的抗原或抗体用专用稀释剂按比例稀释而得;

C、所述的酶标抗原或抗体制作步骤为下述三步:

C1、零下 20 摄氏度的冰箱中取出酶标专用原冻干抗原或抗体,室温下解冻后,放在旋涡混合器上振荡混和;

C2、制牛血清蛋白和 P-1 液的混合溶液;

C3、解冻后的酶标专用原冻干抗原或抗体加入到牛血清蛋白和 P-1 的混合溶液中,充分混合,放在 2-8 摄氏度中冰柜中贮存;

D、所述的抗原或抗体稀释剂是磷酸盐、氯化盐、表面活性剂的混合液。

7、用黄曲霉主要毒素总量测试试剂盒测试黄曲霉主要毒素总量的方法,测试黄曲霉主要毒素总量是指对黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2 总量测试,本测试采用酶联反应原理,将抗体包被在酶标板孔中,用黄曲霉主要毒素总量测试试剂盒中的酶标板和各种试剂对样品进行测定,步骤如下:

A、从 2-8 摄氏度的冰箱中取出含量范围是 0—10000ppt 的多个标准黄曲霉毒素抗原溶液,和有一定抗原含量的酶标抗原;

B、将标准黄曲霉毒素抗原溶液，和酶标抗原用同一稀释剂稀释待用；

C、将待测物品进行处理成待测样品形式待用；

D、取出放在 2-8 摄氏度冰柜中贮存的酶标板，在酶标板各孔中分别加入各标准浓度摄氏度的稀释后的标准黄曲霉毒素抗原液，和待测样品液；

E、将稀释后的酶标抗原等量加入到，各已有标准黄曲霉毒素抗原液和待测样品液的酶标板各孔中；

F、把加有标准黄曲霉毒素抗原液和酶标抗原液的混合液，加有待测样品液和酶标抗原液的混合液，的酶标板用锡箔纸包好，放在室温中孵育；

G、将已孵育的有各种混合液的酶标板孔中的混合液倒掉，并甩干，用去离子水充洗酶标板孔，再次倒掉微孔中的去离子水，再重复操作两次；

H、把酶反应底物加入酶标板各孔中，用锡箔纸包好，室温孵育一定时间。

I、把反应停止液加入酶标板各孔中，振摇后放入酶标仪，酶标仪调在一定波长进行检测酶标板各孔中液体吸光度参数；

J、将酶标仪检测的各浓度的标准黄曲霉毒素抗原吸光度参数绘制成标准曲线，用待测样品的吸光度参数与标准曲线对照，获得待测样品的黄曲霉主要毒素 B1、B2、G1、G2 的总量。

8、用黄曲霉主要毒素总量测试试剂盒测试黄曲霉主要毒素总量的方法，测试黄曲霉主要毒素总量是指对黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2 总量测试，本测试采用酶联反应原理，将已知抗原吸附在固态载体表面，洗除未吸附抗原，加入一定量抗体与待测样品(含有抗原)提取液的混合液，竞争培养后，在固相载体表面形成抗原抗体复合物。洗除多余抗体成分，然后加入酶标记的抗球蛋白的第二抗体结合物，与吸附在固体表面的抗

原抗体结合物相结合，再加入酶底物。在酶的催化作用下，底物发生降解反应，产生有色物质，通过酶标检测仪测出酶底物的降解量，从而推知被测样品中的抗原量。

9、用黄曲霉主要毒素总量测试试剂盒测试黄曲霉主要毒素总量的方法，测试黄曲霉主要毒素总量是指对黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2 总量测试，本测试采用酶联反应原理，将抗原包被在酶标板孔中，用黄曲霉主要毒素总量测试试剂盒中的酶标板和各种试剂对样品进行测定，步骤如下：

A、从 2-8 摄氏度的冰箱中取出含量范围是 0—10000ppt 的多个标准黄曲霉毒素抗体溶液，和有一定抗体含量的酶标抗体；

B、将标准黄曲霉毒素抗体溶液，和酶标抗体用同一稀释剂稀释待用；

C、将待测物品进行处理成待测样品形式待用；

D、取出放在 2-8 摄氏度冰柜中贮存的酶标板，在酶标板各孔中分别加入各标准浓度摄氏度的稀释后的标准黄曲霉毒素抗体液，和待测样品液；

E、将稀释后的酶标抗体等量加入到，各已有标准黄曲霉毒素抗体液和待测样品液的酶标板各孔中；

F、把加有标准黄曲霉毒素抗体液和酶标抗体液的混合液，加有待测样品液和酶标抗体液的混合液，的酶标板用锡箔纸包好，放在室温中孵育；

G、.将已孵育的有各种混合液的酶标板孔中的混合液倒掉，并甩干，用去离子水充洗酶标板孔，再次倒掉微孔中的去离子水，再重复操作两次；

H、把酶反应底物加入酶标板各孔中，用锡箔纸包好，室温孵育一定时间。

I、把反应停止液加入酶标板各孔中，振摇后放入酶标仪，酶标仪调

在一定波长进行检测酶标板各孔中液体吸光度参数；

J、将酶标仪检测的各浓度的标准黄曲霉毒素抗原吸光度参数绘制成标准曲线，用待测样品的吸光度参数与标准曲线对照，获得待测样品的黄曲霉主要毒素 B1、B2、G1、G2 的总量。

10、黄曲霉各主要毒素总量的交叉反应系数的测定方法，用生物化学技术和与黄曲霉毒素适应方法，将黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2 为被测物，通过生物化学反应，测定黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2 交叉反应系数，经测定部分植物黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2 的交叉反应系数是：

黄曲霉毒素 B1： 100 %  
黄曲霉毒素 B2： 31 %  
黄曲霉毒素 G1： 76 %  
黄曲霉毒素 G2： 27 % 。

## 黄曲霉主要毒素总量测试试剂盒及测定方法

### 技术领域

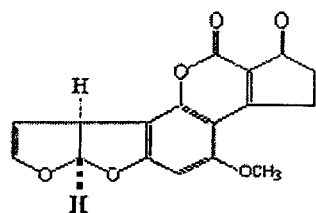
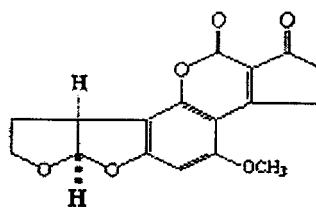
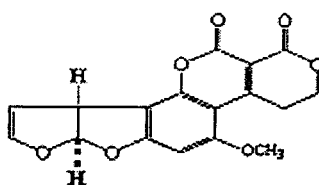
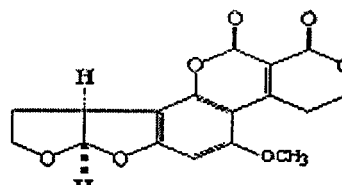
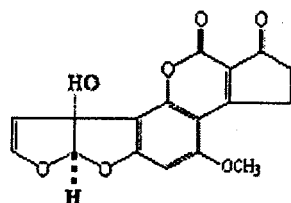
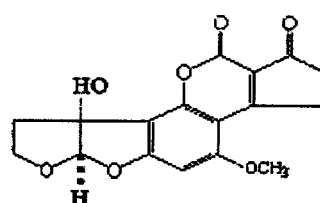
本发明属于用免疫反应测定微量物质的技术领域，特别是用酶联免疫反应测定黄曲霉毒素的方法。

### 背景技术

1993 年黄曲霉毒素被世界卫生组织(WHO)的癌症研究机构划定为 1 类致癌物，是一种毒性极强的剧毒物质。黄曲霉毒素的危害性在于对人及动物肝脏组织有破坏作用，严重时，可导致肝癌甚至死亡。在天然污染的食品中以黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 最为多见，其毒性和致癌性也最强。上世纪 60 年代，英国发现了黄曲霉 (*Aspergillus.flavus*) 产生的有毒代谢物质，即黄曲霉毒素 (Aflatoxins)。黄曲霉毒素主要有 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>、G<sub>2</sub> 以及另外两种代谢产物 M<sub>1</sub>、M<sub>2</sub>。其中 M<sub>1</sub> 和 M<sub>2</sub> 是从牛奶中分离出来的。B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>、G<sub>2</sub>、M<sub>1</sub> 和 M<sub>2</sub> 的在分子结构上十分接近。

黄曲霉毒素 (Aflatoxins)，是一组化学结构类似的化合物，目前已分离鉴定出 12 种，包括 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>、G<sub>2</sub>、M<sub>1</sub>、M<sub>2</sub>、P<sub>1</sub>、Q、H<sub>1</sub>、GM、B<sub>2a</sub> 和毒醇。黄曲霉毒素的基本结构为二呋喃环和香豆素，B<sub>1</sub> 是二氢呋喃氧杂萘邻酮的衍生物。即含有一个双呋喃环和一个氧杂萘邻酮 (香豆素)。前者为基本毒性结构，后者与致癌有关。M<sub>1</sub> 是黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 在体内经过羟化而衍生成的代谢产物。其中 M<sub>1</sub> 和 M<sub>2</sub> 主要存在于牛奶中。B<sub>1</sub> 为毒性及致癌性最强的物质。

《黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>、G<sub>2</sub>、M<sub>1</sub>、M<sub>2</sub> 化学结构式》

黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>黄曲霉毒素 B<sub>2</sub>黄曲霉毒素 G<sub>1</sub>黄曲霉毒素 G<sub>2</sub>黄曲霉毒素 M<sub>1</sub>黄曲霉毒素 M<sub>2</sub>

在紫外线下，黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub> 发蓝色荧光，黄曲霉毒素 G<sub>1</sub>、G<sub>2</sub> 发绿色荧光。黄曲霉毒素的相对分子量为 312-346。难溶于水，易溶于油、甲醇、丙酮和氯仿等有机溶剂，但不溶于石油醚、己烷和乙醚中。其纯品为无色结晶，耐高温，黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的分解温度为 268℃ 紫外线对低浓度黄曲霉毒素有一定的破坏性。

1995 年，世界卫生组织制定的食品黄曲霉毒素最高允许浓度为 15ug/kg。我国政府对各种食物中黄曲霉毒素的最高允许量根据食物不同，单项毒素最高允许含量为 0.5—20.0 ug/kg。

### 一、薄层层析法

薄层层析(Thin-Layer Chromatography, TLC)是在黄曲霉毒素研究方面应用最广的分离技术。

### 二、液相色谱法

液相色谱(Liquid Chromatography, LC)与薄层层析在许多方面具有相似

性，二者互相补充。

### 三、 免疫化学分析方法

利用具有高度专一性的单克隆抗体或多克隆抗体设计的黄曲霉毒素的免疫分析方法，也是最常用的黄曲霉毒素检测方法。这类方法通常包括放射免疫分析方法(Radioimmunoassay, RIA), 酶联免疫法(Enzyme-linked of Immunosorbent Assay, ELISA)和免疫层析法(Immunoaffinity Column Assay, ICA)。它们均可以对黄曲霉毒素进行定量测定。

#### (一)、 免疫亲和柱-荧光分光光度法和免疫亲和术-HPLC 法:

免疫亲和柱法和酶联免疫吸附法虽然都可达到速简便效果，但酶联免疫吸附法仅能检测单一毒素(如黄曲霉毒素 B1)含量，而且易出现假阳性结果，难以控制。免疫亲和柱法(包括荧光光度法和 HPLC 法)却能达到既定量准确又快速简便的要求。

黄曲霉毒素免疫亲和柱-荧光光度计法是以单克隆免疫亲和柱为分离手段，用荧光计、紫外灯作为检测工具的快速分析方法。可以进行黄曲霉毒素总量 (B1B2G1G2) 的测定，检测限可达到 1ug/kg，达到黄曲霉毒素标准限量值以下测定范围为 1-300ug/kg。

#### (二)、 酶联免疫吸附法:

1996 年，Nakane 建立了辣根过氧化物酶标记抗体的测定技术。由于该方法简便、敏感、特异，可作为多种抗原或抗体的测定，20 世纪 70 年代后期，该方法引入真菌毒素的检测中，下面介绍的是竞争性酶联免疫吸附间接法检测黄曲霉毒素 B1。

原理：将已知抗原吸附在固态载体表面，洗除未吸附抗原，加入一定量抗体与待测样品(含有抗原)提取液的混合液，竞争培养后，在固相载体表面形成抗原抗体复合物。洗除多余抗体成分，然后加入酶标记的抗球蛋白的第二抗体结合物，与吸附在固体表面的抗原抗体结合物相结合，再加入酶底物。在酶的催化作用下，底物发生降解反应，产生有色物质，通过酶标检测仪测出酶底物的降解量，从而推知被测样品中的抗原量。

#### (三)、 微柱筛选法:

可以用来半定量测定各种食品中黄曲霉毒素 B1, B2, G1, G2 的总量。

(四)、一步式黄曲霉毒素检测金标试纸法, 是利用单克隆抗体而设计的固相免疫分析法。可在 5—10 分钟完成对样品中黄曲霉毒素的定性测定。适用于现场测试和进行大量样品的初选。

薄膜层析法和液相色谱法是目前国内绝大多数检测机构都在使用的方法, 由于其检测周期长、程序复杂、所需试剂繁多等缺点已远远不能满足现代检测要求。随着现代科学技术的不断发展, 特别是免疫学的不断发展, 酶联免疫吸附法创建了简便、特异、敏感的黄曲霉毒素检测方法。但现有技术用酶联免疫吸附法只能测定黄曲霉毒素 B1, 而限制了酶联免疫吸附法测定黄曲霉毒素的广泛应用。

### 技术内容

本发明的目的是提供特殊技术处理的黄曲霉毒素抗原和抗体, 用这些新形式的黄曲霉毒素抗原和抗体制作测试精确、测试时间较短、测试过程较简单的黄曲霉主要毒素 B1, B2, G1, G2 的总量的测试盒, 以及用该测试盒测定黄曲霉主要毒素 B1, B2, G1, G2 的总量的方法。

**本发明的技术方案为:**

**一、 制作特殊技术处理的黄曲霉毒素抗原和抗体的技术方案:**

用黄曲霉毒素原抗原制作成能表示 B1, B2, G1, G2 的复合抗原和相应的酶标抗原, 用原抗原制作成能表示 B1、B2、G1、G2 的抗原和相应的酶标抗原, 用原抗原制作成 B1、B2、G1、G2 的通用抗原和相应的酶标抗原, 用 B1 原抗原制作成能表示 B1、B2、G1、G2 抗原的特 B1 抗原和相应的酶标抗原;

用黄曲霉毒素原抗原制成原抗体, 用原抗体制作成能表示 B1、B2、G1、G2 的复合抗体和相应的酶标抗体, 用原抗体制作成能表示 B1、B2、

G1、G2 的抗体和相应的酶标抗体，用原抗体制作成 B1、B2、G1、G2 的通用抗体和相应的酶标抗体，用 B1 原抗体制作成能表示 B1、B2、G1、G2 抗体的特 B1 抗体和相应的酶标抗体；

将上述各种抗原和抗体制成冻干保存物及可长期保存物形式；

将上述各种抗原和抗体分别制成相应的包被抗原和包被抗体；

将上述各种抗原和抗体分别制成相应的各种不同含量梯度的标准抗原和标准抗体；

用上述匹配的抗原和抗体、酶标抗原和抗体、包被抗原和包被抗体、标准抗原和标准抗体、稀释剂、酶反应底物、反应停止液进行技术改进了的酶联免疫反应，用酶标仪检测酶联免疫反应物对一定波长的光的吸收参数；作出黄曲霉主要毒素标准抗原的酶标仪检测参数图；将样品的酶标仪检测参数与标准抗原的酶标仪检测参数图比较而获得样品中黄曲霉毒素主要抗原 B1、B2、G1、G2 的总量。

## 二、 黄曲霉主要毒素总量测试试剂盒的制备：

测试试剂盒中装有包被有能表示 B1、B2、G1、G2 抗原的特 B1 抗原或抗体的酶标板、黄曲霉毒素标准抗原或抗体、酶标抗原或抗体、抗原或抗体稀释剂、酶反应底物、反应停止液等。

A、酶标板上包被有能表示 B1、B2、G1、G2 抗原的特 B1 抗原或抗体的步骤是下述六步：

A1、特B1抗体室温下解冻后，放在旋涡混合器上振荡混和；

A2、稀释液1将特B1抗体稀释；

A3、将特B1抗体稀释液加入酶标板的每一个微孔中，加完后用锡箔纸包好平稳的放在2-8摄氏度的冰箱中,包被5至20小时；

A4、从2-8摄氏度的冰箱拿出包被后的酶标板，倒掉酶标板微孔中的特B1抗体和稀释液溶液并甩干，加入稀释液2，再把酶标板用锡箔纸包好放在室温(22-25摄氏度)暗处30--150分钟；

A5、将酶标板中的稀释液2倒掉，并甩干,再加入稀释液2，立即倒掉稀

释液2并甩干,最后把孔中无溶液的酶标板放在吸潮的硅胶干燥剂面上并置入一密封装置内,在室温下(22-25摄氏度)干燥1--5小时;

A6、把密封装置内用吸潮硅胶已吸干水吸的酶标板放入黑色塑料包装袋,并放入吸潮硅胶干燥剂,封上封口,放入2-8摄氏度的冰箱中存放;

B、有不同含量的黄曲霉毒素标准抗原或抗体试剂(标准试剂)的制作是将已知量的抗原或抗体用专用稀释剂按比例稀释而得。

C、酶标抗原或抗体制作步骤为下述三步:

C1、零下20摄氏度的冰箱中取出酶标专用原冻干抗原或抗体,室温下解冻后,放在旋涡混合器上振荡混和;

C2、制牛血清蛋白和P-1液的混合溶液;

C3、解冻后的酶标专用原冻干抗原或抗体加入到牛血清蛋白和P-1的混合溶液中,充分混合,放在2-8摄氏度中冰柜中贮存。

D、抗原或抗体稀释剂是磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、氯化钠、氯化钾的混合液;抗原或抗体稀释剂是磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、氯化钠、氯化钾、吐温-20的混合液。

E、上述的酶反应底物为过氧化氢和四甲基联苯混合液。

F、上述的反应停止液为盐酸液。

三、用本发明的黄曲霉主要毒素总量测试试剂盒测试黄曲霉主要毒素总量的方法有三种:包被抗体测试法、包被抗原--第二抗体测试法、包被抗原测试法。

(一)、包被抗体测试法:用黄曲霉主要毒素总量测试试剂盒测试黄曲霉主要毒素总量的方法,测试黄曲霉主要毒素总量是指对黄曲霉毒素

B1、B2、G1、G2 总量测试，本测试采用酶联反应原理，将抗体包被在酶标板孔中，用黄曲霉主要毒素总量测试试剂盒中的酶标板和各种试剂对样品进行测定，步骤如下：

A、从 2-8 摄氏度的冰箱中取出含量范围是 0—50000ppt 的多个标准黄曲霉毒素抗原溶液，和有一定抗原含量的酶标抗原；

B、将标准黄曲霉毒素抗原溶液，和酶标抗原用同一稀释剂稀释待用；

C、将待测物品进行处理成待测样品形式待用；

D、取出放在 2-8 摄氏度冰柜中贮存的酶标板，在酶标板各孔中分别加入各标准浓度摄氏度的稀释后的标准黄曲霉毒素抗原液，和待测样品液；

E、将稀释后的酶标抗原等量加入到各已有标准黄曲霉毒素抗原液和待测样品液的酶标板各孔中；

F、把加有标准黄曲霉毒素抗原液和酶标抗原液的混合液，加有待测样品液和酶标抗原液的混合液的酶标板用锡箔纸包好，放在室温中孵育；

G、.将已孵育的有各种混合液的酶标板孔中的混合液倒掉，并甩干，用去离子水充洗酶标板孔，再次倒掉微孔中的去离子水，再重复操作两次；

H、把酶反应底物加入酶标板各孔中，用锡箔纸包好，室温孵育一定时间；

I、把反应停止液加入酶标板各孔中，振摇后放入酶标仪，酶标仪调在一定波长进行检测酶标板各孔中液体吸光度参数；

J、将酶标仪检测的各浓度的标准黄曲霉毒素抗原吸光度参数绘制成标准曲线，用待测样品的吸光度参数与标准曲线对照，获得待测样品的黄曲霉主要毒素 B1、B2、G1、G2 的总量。

(二)、包被抗原--第二抗体测试法：用黄曲霉主要毒素总量测试试剂盒测试黄曲霉主要毒素总量的方法，测试黄曲霉主要毒素总量是指对黄曲霉

毒素 B1、B2、G1、G2 总量测试，本测试采用酶联反应原理，将已知抗原吸附在固态载体表面，洗除未吸附抗原，加入一定量抗体与待测样品(含有抗原)提取液的混合液，竞争培养后，在固相载体表面形成抗原抗体复合物。洗除多余抗体成分，然后加入酶标记的抗球蛋白的第二抗体结合物，与吸附在固体表面的抗原抗体结合物相结合，再加入酶底物。在酶的催化作用下，底物发生降解反应，产生有色物质，通过酶标检测仪测出酶底物的降解量，从而推知被测样品中的抗原量。

(三)、包被抗原测试法：用黄曲霉主要毒素总量测试试剂盒测试黄曲霉主要毒素总量的方法，测试黄曲霉主要毒素总量是指对黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2 总量测试，本测试采用酶联反应原理，将抗原包被在酶标板孔中，用黄曲霉主要毒素总量测试试剂盒中的酶标板和各种试剂对样品进行测定，步骤如下：

A、从 2-8 摄氏度的冰箱中取出含量范围是 0—50000ppt 的多个标准黄曲霉毒素抗体溶液，和有一定抗体含量的酶标抗体；

B、将标准黄曲霉毒素抗体溶液，和酶标抗体用同一稀释剂稀释待用；

C、将待测物品进行处理成待测样品形式待用；

D、取出放在 2-8 摄氏度冰柜中贮存的酶标板，在酶标板各孔中分别加入各标准浓度摄氏度的稀释后的标准黄曲霉毒素抗体液，和待测样品液；

E、将稀释后的酶标抗体等量加入到，各已有标准黄曲霉毒素抗体液和待测样品液的酶标板各孔中；

F、把加有标准黄曲霉毒素抗体液和酶标抗体液的混合液，加有待测样品液和酶标抗体液的混合液，的酶标板用锡箔纸包好，放在室温中孵育；

G、.将已孵育的有各种混合液的酶标板孔中的混合液倒掉，并甩干，用去离子水充洗酶标板孔，再次倒掉微孔中的去离子水，再重复操作两次；

H、把酶反应底物加入酶标板各孔中，用锡箔纸包好，室温孵育一定时间；

I、把反应停止液加入酶标板各孔中，振摇后放入酶标仪，酶标仪调在一定波长进行检测酶标板各孔中液体吸光度参数；

J、将酶标仪检测的各浓度的标准黄曲霉毒素抗原吸光度参数绘制成标准曲线，用待测样品的吸光度参数与标准曲线对照，获得待测样品的黄曲霉主要毒素 B1、B2、G1、G2 的总量。

#### 四、黄曲霉各主要毒素总量的交叉反应系数的测定方法：

用生物化学技术和与黄曲霉毒素适应方法，将黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2 为被测物，通过生物化学反应，测定黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2 交叉反应系数，经测定部分植物黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2 的交叉反应系数是：

黄曲霉毒素 B1： 100 %

黄曲霉毒素 B2： 31 %

黄曲霉毒素 G1： 76 %

黄曲霉毒素 G2： 27 % 。

#### 具体实施例

1、取 1 公斤腐坏并有大量黄曲酶毒素的花生，磨浆，加入甲醇，放入专用黄曲酶毒素吸附树脂柱中，用树脂吸附黄曲酶毒素，取出吸附树脂柱，分离出高纯度的黄曲酶主要毒素 B1、B2、G1、G2 原抗原。

2、将原抗原注入试验兔体内，从兔体内取出黄曲酶主要毒素 B1、B2、G1、G2 抗体，并纯化。

3、将原抗原制成特 B1 抗原，将纯化抗体制成特 B1 抗体。

4、制作黄曲霉主要毒素总量测试剂盒：测试剂盒中装有包被有能表示 B1、B2、G1、G2 抗原的特 B1 抗体的酶标板、黄曲霉毒素标准抗原或抗体、酶标抗原或抗体、抗原或抗体稀释剂、酶反应底物、反应停止液等。

A、酶标板上包被有能表示 B1、B2、G1、G2 抗原的特 B1 抗原的步骤是下述六步：

A1、从零下20度的冰箱中拿出特B1抗体室温下解冻后，放在旋涡混合器上振荡混和，将壁上的溶液甩到底部；

A2、用稀释液1将特B1抗体稀释，稀释比例为稀释液1：特B1抗体=35ml:20ul，在烧杯中摇均稀释后的溶液，放入溶液槽中备用。稀释比例常用表如下：

酶标板数	特B1抗体(uL)	稀释液 (mL)
5板+1条(8孔)	45 uL	79 mL
10板+1条(8孔)	90 uL	158 mL
20板+1条(8孔)	180 uL	315 mL
50板+1条(8孔)	450 uL	788 mL

A3、用八孔移液器把稀释后的特B1抗体稀释液加入酶标板的每一个微孔中，每孔加入量为150ul（保证每孔中数量完全一致），加完后用锡箔纸包好平稳的放在2-8摄氏度的冰箱中，包被15至17小时；

A4、从2-8摄氏度的冰箱拿出包被后的酶标板，倒掉酶标板微孔中的特B1抗体和稀释液溶液并甩干，直至水份完全干，加入200ul稀释液2(保证每孔中数量完全一致)，再把酶标板用锡箔纸包好放在室温(22-25摄氏度)暗处90分钟；

A5、取出锡箔纸包好的酶标板，将酶标板中的稀释液2倒掉，并甩干，再加入200ul稀释液2，立即倒掉稀释液2并甩干，最后把孔中无溶液的酶标板放在吸潮的硅胶干燥剂(内装有未吸潮的硅胶干燥剂，颜色为蓝色)面上并置入一密封装置内，在室温下(22-25摄氏度)干燥3小时；

A6、把密封装置内用吸潮硅胶已吸干水吸的酶标板放入黑色塑料包装袋，并放入吸潮硅胶干燥剂，封上封口，放入2-8摄氏度的冰箱中存放；

B、不同含量的黄曲霉毒素标准抗原试剂（AFB1）的制作是将已知量的抗原用专用稀释剂按比例稀释而得；具体配制 60mL 浓度分别为 0ppt, 200ppt, 700ppt , 2000ppt, 4000ppt, 10000ppt 的 AFB1 标准溶液，用 100%甲醇稀释配制，配制步骤如下：

B1、在 60ml 的玻璃瓶上贴上标签，写上配制人的姓名和配制日期以及浓度。

B2、从 2-8 度的冰箱中拿出 715ppb AFB1 标准溶液

B3、用 715ppb AFB1 标准溶液稀释 71.5 倍配制 10000ppt AFB1 标准溶液：

用 100ml 的量筒量取甲醇 98.7ml 放入锥形瓶中，用移液器取 1.4ml 的 715ppb AFB1 标准溶液加入到锥形瓶中并摇匀。

B4、用 10000ppt AFB1 标准溶液稀释 2.5 倍配制 4000ppt AFB1 标准溶液：

用 100ml 的量筒量取甲醇 62.1ml 放入新的锥形瓶中，用 50ml 的量筒量取已配好的 10000ppt AFB1 标准溶液 41.4ml 加入到锥形瓶中并摇匀。将量过 10000ppt 标准溶液的量筒放在一边，不能再用。再将配好的 10000ppt AFB1 标准溶液倒入标有 10000ppt AFB1 的瓶子中盖好。

B5、用 4000ppt AFB1 标准溶液稀释 2 倍配制 2000ppt AFB1 标准溶液：

用 50ml 的量筒量取甲醇 43.5ml 放入新的锥形瓶中，用 50mL 的量筒量取已配好的 4000ppt AFB1 标准溶液 43.5ml 加入到锥形瓶中并摇匀。将量过 4000ppt AFB1 标准溶液的量筒放在一边，不能再用。再将配好的 4000ppt AFB1 标准溶液倒入标有 4000ppt AFB1 的瓶子中盖好。

B6、用 2000ppt AFB1 标准溶液稀释 2.857 倍配制 700ppt AFB1 标准溶液：

用 50ml 的量筒量取甲醇 50.1ml 放入新的锥形瓶中，用 50mL 的量筒量取已配好的 2000ppt AFB1 标准溶液 27ml 加入到锥形瓶中并摇匀。将量过 2000ppt AFB1 标准溶液的量筒放在一边，不能再用。再将配好的 2000ppt

AFB1 标准溶液倒入标有 2000ppt AFB1 的瓶子中盖好。

B7、用 700ppt AFB1 标准溶液稀释 3.5 倍配制 200ppt AFB1 标准溶液：  
用 50ml 的量筒量取甲醇 42.5ml 放入新的锥形瓶中，用 50mL 的量筒量取已配好的 700ppt AFB1 标准溶液 17ml 加入到锥形瓶中并摇匀。将量过 700ppt AFB1 标准溶液的量筒放在一边，不能再用。再将配好的 700ppt 与 200ppt AFB1 标准溶液分别倒入标有 700ppt 与 200ppt AFB1 的瓶子中盖好。

B8、配制 0ppt AFB1 标准溶液：

量取 60ml 的甲醇倒入标有 0ppt AFB1 标准溶液的瓶子中并盖好。

B9、用 PARAFILM 将所有的标准溶液进一步密闭后放入 2-8 度的冰箱中贮存。

**C、酶标抗原或抗体制作步骤为下述三步：**

C1、零下 20 摄氏度的冰箱中取出酶标专用原冻干抗原或抗体，室温下解冻后，放在旋涡混合器上振荡混和，将壁上的溶液甩到底部；

C2、制牛血清蛋白和 P-1 液的混合溶液：加入 1.2 克牛血清蛋白到 120mL 的 P-1 溶液，充分混合；

C3、解冻后的酶标专用原冻干抗原 200uL 加入到牛血清蛋白和 P-1 的混合溶液中，充分混合；

C4、混合好的溶液倒入两个 60mL 的棕色玻璃瓶中，贴上标签后，放在 2-8 摄氏度中冰柜中贮存。

**D、稀释剂 1 是：磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、氯化钠、氯化钾的混合液；  
稀释剂 2 是：磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、氯化钠、氯化钾、蛋白粉的混合液；  
稀释剂 3 是：磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、氯化钠、氯化钾、吐温-20 的混合液。**

**E、酶反应底物为过氧化氢和四甲基联苯混合液。**

F、反应停止液为 1N 浓度的盐酸液。

5、用本发明的黄曲霉主要毒素总量测试试剂盒测试黄曲霉主要毒素总量的方法，测试黄曲霉主要毒素总量是指对黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2 总量测试，本测试采用酶联反应原理，将抗体包被在酶标板孔中，用黄曲霉主要毒素总量测试试剂盒中的酶标板和各种试剂对样品进行测定，步骤如下：

A、从 2-8 摄氏度的冰箱中取出含量范围是 0—10000ppt 的 6 个标准黄曲霉毒素抗原溶液，和有一定抗原含量的酶标抗原；

B、将标准黄曲霉毒素抗原溶液稀释剂稀释待用。按以下比例稀释成标准溶液，首先在与标准溶液对应的瓶中加入稀释剂 3，然后从与之对应的标准溶液中取出标准溶液放入瓶中混合摇匀。

酶标板孔数	2	4	6	8	10
稀释剂 3 (uL)	135	270	360	450	540
标准溶液 (uL)	15	30	40	50	60

C、酶标抗原用稀释剂稀释待用：

表 1：稀释 10 倍，用于室温下测试

条数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
酶标板孔数	8	16	24	32	40	48	56	64	72	80	88	96
稀释剂 3 (uL)	450	810	1170	1620	1980	2340	2700	3060	3420	3780	4140	4500
酶标抗原 (uL)	50	90	130	180	220	260	300	340	380	420	460	500

表 2: 稀释 7 倍, 用于 37 摄氏度测试

条数	1	2	3	4	5	6
酶标板孔数	8	16	24	32	40	48
稀释剂 3 (uL)	420	750	1110	1530	1860	2160
酶标抗原(uL)	70	125	185	255	310	360

D、将待测物品进行处理成待测样品形式待用:

样品应存放在凉处, 避免直接暴露在光线下。

D1 一般样品:

...称取 3g 粉碎的样品 (粉碎过 20 目筛或研磨均匀) 于带盖的玻璃瓶中

...准确加入 15ml 的 50%的甲醇水溶液 (甲醇: 蒸馏水为 50: 50)。  
盖好瓶盖, 在室温下置于振荡器上振荡 10 分钟

...用滤纸过滤

...取 0.1ml 滤液, 加入 0.4ml 的试剂盒中的稀释液

...测定时, 每孔加入 0.05ml 的样品 (参见测定程序说明)

注意: 制备面粉及由面粉制成的食物样品时, 如样品出现浑浊, 应加大样品制备量, 多次过滤, 或用离心机离心样品, 直至样品清亮透明。

D2 含油量高的样品 (花生油, 菜油, 麻油, 色拉油等):

...称取 2g 样品于带盖的玻璃瓶中

...加入 10ml 的正庚烷 (n-heptane), 盖好瓶盖, 在室温下振荡 3 分钟

...加入 10ml 的 50%的甲醇水溶液 (甲醇: 蒸馏水为 50: 50)。盖好瓶盖, 在室温下振荡 3 分钟

...静置分层

...除去庚烷层（上层）

...取 0.1ml 的甲醇层（下层），加入 0.4ml 的试剂盒中的稀释液

...测定时，每孔加入 0.05ml 的样品（参见测定程序说明）

D3 含盐量高的样品（酱油，腐乳制品等）：

...称取 2g 样品于带盖的玻璃瓶中

...加入 10ml 的二氯甲烷和 10ml 的 50%的甲醇水溶液（甲醇：蒸馏水为 50：50）。盖好瓶盖，在室温下振荡 3 分钟

...静置分层

...除去含水的上层。

...取 1ml 的二氯甲烷层（下层），于 50-60 度的温度下在弱空气或氮气气流下完全蒸发溶剂(亦可使用专用旋转挥干机)

...用 1ml 的 50%的甲醇水溶液（甲醇：蒸馏水为 50：50）彻底溶解干燥的残留物

...取 0.1ml 的甲醇层（下层），加入 0.4ml 的试剂盒中的稀释液

...测定时，每孔加入 0.05ml 的样品（参见测定程序说明）。

E、取出放在 2-8 摄氏度冰柜中贮存的酶标板，在酶标板各孔中分别加入 50 $\mu$ l 各标准浓度的稀释后的标准黄曲霉毒素抗原液，和待测样品液；

F、将稀释后的酶标抗原 50 $\mu$ l 稀释后等量加入到，各已有标准黄曲霉毒素抗原液和待测样品液的酶标板各孔中，注意每次加入的量要一样为 50 $\mu$ l, 针头不能有气泡；

G、把加液后的的酶标板用锡箔纸包好，如果是在室温（22-25 度）下检测，放入暗处孵育 2h；如果是在 37 度下检测，则放入 37 度的烘箱中孵育 30min。在孵育快结束前，打开酶标仪，把酶标仪波长调到 450nm 处，预热 25 分钟以上；

H、. 取出酶标板，将已孵育的有各种混合液的酶标板孔中的混合液倒掉，并甩干，用 200  $\mu$  l 去离子水充洗酶标板孔，再次倒掉微孔中的

去离子水，再重复操作两次；

I、把 100 $\mu$ l 的酶反应底物加入酶标板各孔中，用锡箔纸包好，如果是在室温（22-25 度）下检测，放入暗处孵育 30 分钟，如果是在 37 度下检测，则放入 37 度的烘箱中孵育 15 分钟。

J、把反应停止液 100 $\mu$ l（1N HCL）加入酶标板各孔中，振摇后放入酶标仪，酶标仪调在 450nm 下进行检测，检测酶标板各孔中液体吸光度参数；

K、将酶标仪检测的各浓度的标准黄曲霉毒素抗原吸光度参数绘制成标准曲线，用待测样品的吸光度参数与标准曲线对照，获得待测样品的黄曲霉主要毒素 B1、B2、G1、G2 的总量。

#### 6、稀释剂配制：

##### 稀释剂 1：

A、将已按配制好磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、氯化钠、氯化钾混含粉剂一小袋全部到入 1000ml 的烧杯中，然后加入 400ml 左右的去离子水，放在磁力搅拌器上搅拌，直至完全溶解为止。

B、把烧杯中的溶液倒入 1000ml 的量筒中，用去离子水（每次不超过 100ml，共洗三次）把烧杯中残留的溶液洗入量筒中。

C、用去离子水定容至 1000ml，然后再倒入标有稀释剂 1 的瓶子中，摇匀后盖上，贴好标签，写上配制的日期和配制人的姓名。

##### 稀释剂 2：

A. 打开天平预热 30 分钟以上。

B. 将稀释剂 1 放入锥形瓶中，按下表的比例将蛋白粉 casein 加入稀释剂 1 中。

酶标板数	稀释剂 1 (ml)	蛋白粉 CASEIN (g)
5	200	2
10	400	4

20	800	8
50	2000	20

C. 将小磁搅拌子放入瓶中，用锡箔纸密闭瓶口，搅拌 15-17 小时。

D. 上述溶液可直接用于制板。剩余溶液倒入标有稀释剂 2 的瓶中，写上配制的日期和配制人的姓名，放入 2-8 度的冰箱中保存。

稀释剂 3:

A. 打开分析天平预热 30 分钟以上。

B. 将 100ml 的烧杯置于分析天平称量盘上，用巴式吸管移取 0.5g 吐温-20 (tween-20)。

C. 加入 50 ml 左右的稀释剂 1 于上述 100 ml 的烧杯中，放入小磁搅拌子，搅拌 5-10 分钟，倒入中 1000ml 的量筒中。

D. 用稀释剂 1 将烧杯中残留的溶液洗入量筒中（每次不超过 50ml，共洗八次）。

E. 用稀释剂 1 定容至 1000 ml 的量筒中，倒入标有稀释剂 3 的瓶中，摇匀盖好后，写上配制的日期和配制人的姓名。

7 定量测定结果:

所获得的标准和样品吸光度值的平均值除以标准液 1 (0 标准) 的吸光度值再乘以 100, 因此 0 标准等于 100% 并且以百分比的形式给出吸光度值:

$$(\text{标准 (或样品) 的吸光度值} / \text{0 标准的吸光度值}) \times 100 = \% \text{吸光度值}$$

计算的标准值绘成为一个对应黄曲霉毒素浓度 (ng/kg 或 ng/L) 的半对数坐标系统曲线图, 校正曲线在 20-1000pg/g(ppt 范围内应当成为线性。相对应每一个样品的浓度 (ng/kg 或 pg/L) 可以从校正曲线上读出。为了得到初始样品中黄曲霉毒素的实际含量, 从校正曲线上读出的浓度还必

须乘以相应的稀释倍数。稀释倍数为 25。如果样品还作了进一步的稀释或是用其他方法制备的样品，准确计算出稀释倍数，再乘以从校正曲线上读出的浓度。

筛选测定结果:

(1) 目测法:

用筛选法测定的样品，在未加反应停止液前，可用目测比较样品孔与标准液 1 孔（0 标准）和标准液 4 孔(200ppt)的颜色。标准液 1 孔的颜色应深于标准液 4 孔的颜色，若样品孔的颜色比标准液 4 孔的颜色浅，则为阳性；若样品孔的颜色比标准液 4 孔的颜色深，则为阴性。如样品呈阳性，则黄曲霉毒素的含量如下表：

进一步稀释倍数	最终稀释倍数	样品中黄曲霉毒素的含量
1	25	> 5
2	50	> 10
4	100	> 20
10	250	> 50

若样品孔的颜色与标准液 4 孔的颜色接近，则需加入反应停止液，用酶标仪进行测定。

(2) 酶标仪测定法:

用筛选法测定的样品，加入反应停止液后，用酶标仪在 450nm 处测量吸光度值。标准液 1 孔（0 标准）的吸光度值应大于标准液 4 孔(200ppt)的吸光度值。若样品孔的吸光度值小于标准液 4 孔的吸光度值，则为阳性；若样品孔的吸光度值大于标准液 4 孔的吸光度值，则为阴性。如样品呈阳性，则黄曲霉毒素的含量与上表所列相同。

用本发明的黄曲霉主要毒素总量测试试剂盒测试黄曲霉主要毒素 B1、B2、G1、G2 总量，检测极限为 20ppt，线性范围为 20ppt--1000ppt，检测方法简单方便，在室温下测试所需时间为 2 小时 30 分钟，在 37 摄氏度下做快速筛选仅需 45 分钟。

专利名称(译)	黄曲霉主要毒素总量测试试剂盒及测定方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN1696696A</a>	公开(公告)日	2005-11-16
申请号	CN200410022495.4	申请日	2004-05-12
[标]发明人	唐晓松		
发明人	唐晓松		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/535 G01N21/31 G01N33/531		
代理人(译)	徐宏		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>	<a href="#">SIPO</a>	

摘要(译)

本发明属于用酶联免疫反应快速、精确测定黄曲霉主要毒素B1、B2、G1、G2总量的方法，本技术涉及黄曲霉主要毒素测定用的抗原抗体制备，黄曲霉主要毒素总量测试试剂盒中酶标板的制作和各种试剂的制作，用黄曲霉主要毒素总量测试试剂盒测试样品中黄曲霉主要毒素B1、B2、G1、G2总量的方法和黄曲霉主要毒素B1、B2、G1、G2交叉反系数的测定，本发明解决了用酶联免疫反应只能测定黄曲霉毒素B1的问题，对食品黄曲霉毒素卫生检验意义重大。

