



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103134920 A

(43) 申请公布日 2013.06.05

(21) 申请号 201110381682.1

(22) 申请日 2011.11.28

(71) 申请人 无锡艾科瑞思产品设计与研究有限公司

地址 214072 江苏省无锡市蠡园开发区滴翠路100号B幢802-3

(72) 发明人 赵春城 赵黎明 王晓东 单金莲 钱汝文

(51) Int. Cl.

G01N 33/53 (2006.01)

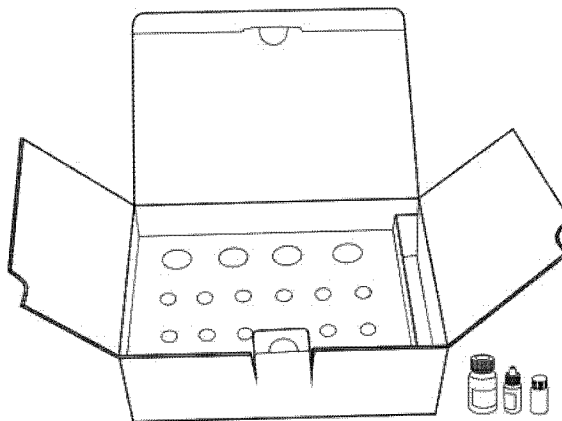
权利要求书1页 说明书3页 附图1页

(54) 发明名称

一种检测玉米赤霉烯酮的试剂盒

(57) 摘要

一种检测玉米赤霉烯酮的试剂盒,属于酶联免疫吸附分析(ELISA)技术领域,用于对谷物中玉米赤霉烯酮(简称ZEN)含量的检测。一种检测玉米赤霉烯酮的试剂盒,包括盒体和盒内的一块24孔ZEN包被反应板,一个反应盖板,14瓶试剂和放试剂的下凹瓶位,一个冰袋,一个框架,一份说明书,一包吸水纸,2支一次性滴管和一份质检报告,其特征在于:包被反应板是采用24孔试剂板作为固相载体,14瓶试剂分别6瓶ZEN标准品溶液、酶标二抗、ZEN抗体、抗体稀释缓冲液、样品稀释液、浓缩洗涤液、底物液、显色液、终止液,下凹瓶位共16个。该试剂盒结构简单,使用方便、廉价、灵敏度高,达到0.05ng/ml。



1. 一种检测玉米赤霉烯酮的试剂盒,包括盒体和盒内的一块 24 孔 ZEN 包被反应板,一个反应盖板,14 瓶试剂和放试剂的下凹瓶位,一个冰袋,一个框架,一份说明书,一包吸水纸,2 支一次性滴管和一份质检报告,其特征在于:包被反应板是采用 24 孔试剂板作为固相载体,14 瓶试剂分别 6 瓶 ZEN 标准品溶液、酶标二抗、ZEN 抗体、抗体稀释缓冲液、样品稀释液、浓缩洗涤液、底物液、显色液、终止液,下凹瓶位共 16 个。

2. 根据权利要求 1 所述的一种检测玉米赤霉烯酮的试剂盒,其特征在于:盒体是硬纸盒;24 孔的 ZEN 包被反应板,放于真空铝箔袋内;框架为白色 48 孔塑料框架,框架孔大小与 AFM₁ 包被反应板微孔大小相配;反应盖板是塑料硬盖,大小与框架大小相配;ZEN 标准品溶液均用黑色帽的棕色玻璃瓶,酶标二抗用绿色帽的棕色玻璃瓶,ZEN 抗体用白色帽的白色 PE 塑料瓶,抗体稀释缓冲液用绿色帽的白色 PE 塑料瓶,样品稀释液用兰色帽的白色 PE 塑料瓶,浓缩洗涤液用白色帽的白色 PE 塑料瓶,底物液用蓝色帽的白色 PE 塑料瓶,显色液用黑色帽的黑色 PE 塑料瓶,终止液用黄色帽的白色 PE 塑料瓶;下凹瓶位由塑料泡沫制成。

一种检测玉米赤霉烯酮的试剂盒

技术领域

[0001] 一种检测玉米赤霉烯酮的试剂盒,属于酶联免疫吸附分析(ELISA)技术领域,用于对谷物中玉米赤霉烯酮(简称ZEN)含量的检测。

背景技术

[0002] ZEN是一种雌激素真菌毒素,由禾谷镰刀菌(*F. graminearum*)、三线镰刀菌(*F. tricinctum*)、尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)、黄色镰刀菌(*F. culmorum*)、串珠镰刀菌(*F. oeniliforme*)、木贼镰刀菌(*F. eguisei*)、燕麦镰刀菌(*F. avenaceum*)、雪腐镰刀菌(*F. nivale*)等多种菌种代谢产生。玉米赤霉烯酮其主要存在于玉米和玉米制品中,小麦、大麦、高粱、大米中也有一定程度的分布,其主要污染小麦、大麦、燕麦、小米、芝麻、干草和青贮饲料等。玉米赤霉烯酮具有较强的生殖毒性和致畸作用,可引起动物发生雌激素中毒症,主要症状有阴道和乳腺肿胀、子宫肿大、外翻、导致动物不孕或流产,对家禽特别是猪、牛和羊的影响较大,给畜牧业带来经济损失;玉米赤霉烯酮可直接通过污染的谷类等作物进入人和动物体内,亦可通过被污染的肉、奶等动物性食品进入人体,它引起人中毒的症状主要出现无力、头痛、头晕、呕吐、腹泻和中枢神经系统的紊乱。因此为了保障人们的健康,开展食品中ZEN的卫生检测研究是很有必要的。

[0003] 欧盟委员会规则856/2005号规定了谷物食品和谷物中玉米赤霉烯酮的最大限量,20-100ug/kg,于2006年7月1日生效。目前也有许多国家制定了玉米赤霉烯酮的限量标准,奥地利规定小麦、裸麦、硬质小麦中不得超过60ug/kg,巴西、法国、罗马尼亚、俄罗斯、乌拉圭等国也制定了限量标准。修订的《粮食卫生标准》规定小麦、玉米中ZEN的限量为60ug/kg。

[0004] 我国玉米赤霉烯酮污染较重地区主要集中在东北冷湿储粮生态区和华东热湿储粮生态区。谷物在耕作、收获、储藏期间,若湿度较高,温度适宜25-28°C,镰刀菌可不断增殖,而且在较低温度下12°C左右或温度高低变化的情况下,玉米赤霉烯酮毒素都可产生。

[0005] 目前玉米赤霉烯酮的检测方法主要有:色谱技术和免疫分析技术。色谱技术(HPLC、GC-MS、LC-MS)由于费时,花费多,在实际应用中受到一定限制,通常作为确定性的定量检验方法;免疫分析技术(ELISA)是常用的现场抽样快速筛选检验方法。国外的酶免试剂盒有德国R-Biopharm(检测范围50-4050ppt)、美国Neogen(检测范围25-600ppb)、Beacon(检测范围20-1000ppb)等公司生产的ZEN-ELISA检测试剂盒。但由于进口试剂盒价格昂贵,在一定程度上限制了它的使用范围。国内有研制的ZEN-ELISA试剂盒,其最低检出浓度为1ug/L(ppb),标准曲线的线性范围为1-200ug/L。检测的灵敏度和试剂的稳定性不够,所以需要建立高灵敏的ZEN的检测。

发明内容

[0006] 本发明的目的在于提供一种检测玉米赤霉烯酮的试剂盒,用于对谷物中玉米赤霉

烯酮含量的检测。

[0007] 本发明解决其技术问题所采用的技术方案是：一种检测玉米赤霉烯酮的试剂盒，包括盒体和盒内的一块 24 孔 ZEN 包被反应板，一个反应盖板，14 瓶试剂和放试剂的下凹瓶位，一个冰袋，一个框架，一份说明书，一包吸水纸，2 支一次性滴管和一份质检报告，其特征在于：包被反应板是采用 24 孔试剂板作为固相载体，14 瓶试剂分别 6 瓶 ZEN 标准品溶液、酶标二抗、ZEN 抗体、抗体稀释缓冲液、样品稀释液、浓缩洗涤液、底物液、显色液、终止液，下凹瓶位共 16 个。

[0008] 盒体是硬纸盒；24 孔的 ZEN 包被反应板，放于真空铝箔袋内；框架为白色 48 孔塑料框架，框架孔大小与 AFM₁ 包被反应板微孔大小相配；反应盖板是塑料硬盖，大小与框架大小相配；ZEN 标准品溶液均用黑色帽的棕色玻璃瓶，酶标二抗用绿色帽的棕色玻璃瓶，ZEN 抗体用白色帽的白色 PE 塑料瓶，抗体稀释缓冲液用绿色帽的白色 PE 塑料瓶，样品稀释液用兰色帽的白色 PE 塑料瓶，浓缩洗涤液用白色帽的白色 PE 塑料瓶，底物液用蓝色帽的白色 PE 塑料瓶，显色液用黑色帽的黑色 PE 塑料瓶，终止液用黄色帽的白色 PE 塑料瓶；下凹瓶位由塑料泡沫制成。

[0009] 本发明的有益效果是：该试剂盒结构简单，使用方便、廉价、灵敏度高，达到 0.05ng/ml。

附图说明

[0010] 图 1 是本发明的外观示意图。

具体实施方式

[0011] 具体检测步骤如下：

样品处理：称取粉碎过筛（20 目）试样 5.0g 于具塞三角瓶中，加入 25mL60% 甲醇—水溶液，密塞，充分振摇 5 分钟，静止片刻，过滤。量取一定体积滤液用样品稀释液适当稀释（比如 6 倍），即为待测样液。取待测样液 50uL 直接加样于微孔中，进行 ELISA 检测。

[0012] 实验准备

浓缩洗涤液用蒸馏水稀释 20 倍，使用前稀释。（例如：3mL 浓缩洗涤液加 57mL 蒸馏水，足够 24 孔使用）

ZEN 抗体工作溶液配制方法：在使用前，取 1 瓶 ZEN 抗体，准确加入 2.0mL 抗体稀释缓冲液，混匀，配制成实验用 ZEN 抗体工作溶液，够 24 孔反应板使用。

[0013] 酶标二抗工作溶液配制方法：在使用前，取 1 瓶酶标二抗，准确加入 4.0mL 抗体稀释缓冲液，混匀，配制成实验用酶标二抗工作溶液，够 24 孔反应板使用。

[0014] 虽 ZEN 标准浓度很低，但是严格规范的实验操作不可忽视，凡接触到标样的器皿都要用 5% 次氯酸钠溶液（或 3.7% 甲醛溶液）处理。

[0015] 实验步骤

试剂平衡：将测试盒取出，放置 15 分钟以上，平衡至室温。

[0016] 小孔编号：移取所需微孔放置反应板支架上，每孔加入 250uL 洗涤液，洗液不得溢出，放置 1 分钟，甩掉洗液，在吸水纸上拍干，重复洗涤 1 次。设定 1 号孔为酶标仪调零孔，2-7 号为 ZEN 标准溶液对照孔，其余为样品孔。

[0017] 免疫反应 :按系列步骤所示,依次加入配制好的溶液及样品液。

[0018] 第一步 :1号孔加入 50uL 样品稀释液,2-7号孔分别加入 50uL 系列浓度(0,1,2,5,5,10,20ppb)的标准品,其余孔加入相应的样品提取液。

[0019] 第二步 :1号孔内加入 50uL 抗体稀释缓冲液,在其他所有微孔中加入 50uLZEN 抗体工作溶液。

[0020] 第三步 :轻轻振摇,使各孔中反应物混匀。

[0021] 第四步 :37℃,孵育 60 分钟。

[0022] 洗涤 :倒掉板中液体,每孔加入 250uL 洗涤液,洗液不得溢出,放置 1 分钟后,甩掉洗液,在吸水纸上拍干,重复洗涤 3 次。

[0023] 酶标二抗反应 :每孔加入 100uL 酶标二抗工作溶液,37℃,孵育 30 分钟。

[0024] 洗涤 :倒掉板中液体,每孔加入 250uL 洗涤液,洗液不得溢出,放置 1 分钟后,甩掉洗液,在吸水纸上拍干,重复洗涤 5 次。显色 :在每个小孔内加入 50uL 底物液,再加入 50uL 显色液,混匀,在 37℃保温箱中显色 15 分钟。终止 :在每个微孔中加入 50uL 终止液。测定 :轻轻摇动微孔板,30 分钟内在 450nm 处读取光密度值(OD 值)。

[0025] 最后应当说明的是 :以上实施例仅用以说明本发明的技术方案而非对其限制 ;尽管参照较佳实施例对本发明进行了详细的说明,所属领域的普通技术人员应当理解 :依然可以对本发明的具体实施方式进行修改或者对部分技术特征进行等同替换 ;而不脱离本发明技术方案的精神,其均应涵盖在本发明请求保护的技术方案范围当中。

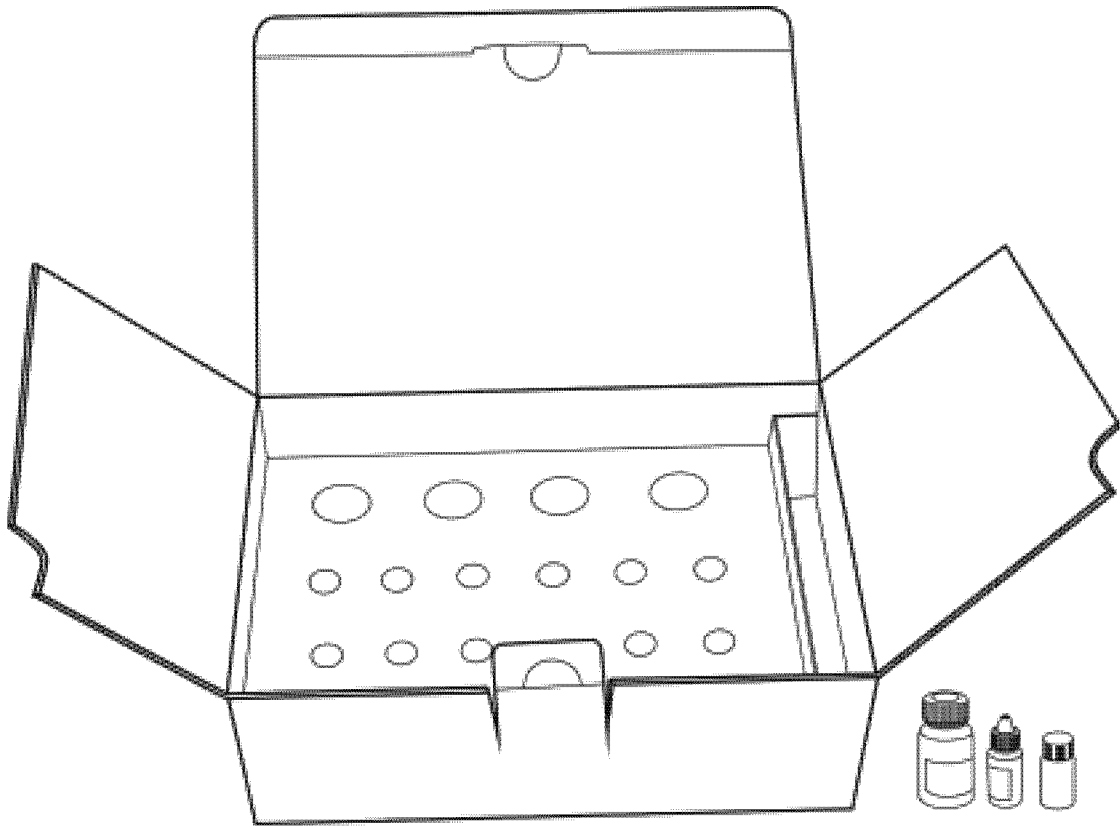


图 1

专利名称(译)	一种检测玉米赤霉烯酮的试剂盒		
公开(公告)号	CN103134920A	公开(公告)日	2013-06-05
申请号	CN201110381682.1	申请日	2011-11-28
[标]申请(专利权)人(译)	无锡艾科瑞思产品设计与研究有限公司		
申请(专利权)人(译)	无锡艾科瑞思产品设计与研究有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	无锡艾科瑞思产品设计与研究有限公司		
[标]发明人	赵春城 赵黎明 王晓东 单金莲 钱汝文		
发明人	赵春城 赵黎明 王晓东 单金莲 钱汝文		
IPC分类号	G01N33/53		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

一种检测玉米赤霉烯酮的试剂盒，属于酶联免疫吸附分析(ELISA)技术领域，用于对谷物中玉米赤霉烯酮(简称ZEN)含量的检测。一种检测玉米赤霉烯酮的的试剂盒，包括盒体和盒内的一块24孔ZEN包被反应板，一个反应盖板，14瓶试剂和放试剂的下凹瓶位，一个冰袋，一个框架，一份说明书，一包吸水纸，2支一次性滴管和一份质检报告，其特征在于：包被反应板是采用24孔试剂板作为固相载体，14瓶试剂分别6瓶ZEN标准品溶液、酶标二抗、ZEN抗体、抗体稀释缓冲液、样品稀释液、浓缩洗涤液、底物液、显色液、终止液，下凹瓶位共16个。该试剂盒结构简单，使用方便、廉价、灵敏度高，达到0.05ng/ml。

