

黄曲霉毒素 B₁ 免疫亲和柱

使用说明书

【产品用途】

黄曲霉毒素 B₁ (AFB₁) 免疫亲和柱适合于和 AFB₁ 酶免分析试剂盒、HPLC 或液质结合使用，定量检测 AFB₁。用该免疫亲和柱净化样品，提高了样品的纯度。纯化后的样品可用不同的分析方法测定。

【适应范围及产品性能】

用于定性、定量检测谷物、粮油、饲料等样本中 AFB₁ 时的样本前处理。

柱吸附能力：≥50ng/支，≥100ng/支（可根据要求选择相应柱容量）；

回收率：75%~90%。

柱内凝胶：**Protein A 琼脂糖凝胶**

特点：**载量大，单抗定向偶联，易洗脱，回收率高。**

【测定原理】

本产品测定的基础是抗原抗体反应，黄曲霉毒素 B₁ (AFB₁) 单克隆抗体连接在柱内凝胶介质上，样品中的 AFB₁ 经过提取、过滤、稀释，然后将样品提取液缓慢通过 AFB₁ 免疫亲和柱，在免疫亲和柱内，AFB₁ 与抗体结合，洗涤液通过免疫亲和柱除去未被结合的杂质。最后采用甲醇洗脱 AFB₁，然后进行相关分析。

【产品组成】

标准品（选配）；

25 支/盒；1mL 柱管/支；

说明书 1 份；

【所需材料】

（1）设备及器皿耗材：天平、粉碎机、离心机、高速均质器（18000r/min~22000 r/min）；量筒、50mL 玻璃漏斗、微量移液器（100μL~1000μL）、定量滤纸、玻璃微纤维滤纸（直径 11cm，孔径 1.5μm whatman 934-AH 1827-110）、20mL 玻璃注射器等。

（2）试剂：甲醇（色谱级）、pH7.4 磷酸盐缓冲液（PBS）、pH7.0 磷酸盐缓冲液（PBS）、吐温-20、蒸馏水或去离子水。

【样品制备及净化】

（1）谷物、花生及其制品

----准确称取 25.0g 粉碎的样品，加入 5.0g 氯化钠，

----与 125.0mL 甲醇-水溶液（7+3）混合，以均质器高速搅拌提取 2min 或振荡提取 30min，

----用定量滤纸过滤，

----准确移取 15mL 滤液并加入 30mL 水稀释，用**玻璃微纤维滤纸**过滤，至滤液澄清，备用。

----准确移取 15.0mL 混合液进行过亲和柱。

（2）酱油

----准确称取 50.0g 样品，加入 2.5g 氯化钠，

----加入甲醇-水溶液（8+2）至 100mL，以均质器高速搅拌提取 2min 或振荡提取 30min，

----用定量滤纸过滤，

----准确移取 10.0mL 滤液并加入 40.0mL 水稀释，用**玻璃微纤维滤纸**过滤，至滤液澄清，备用。

----将滤液调至 PH 为中性。

----准确移取 10.0mL 混合液进行过亲和柱。

（3）醋

----准确称取 5.0g 样品，加入 1.0g 氯化钠，

----用 **pH7.0 的磷酸盐缓冲液** 稀释至 25.0mL，混匀，

----用定量滤纸过滤，

----加 10.0mL 滤液加入 10.0mL pH7.0 的磷酸盐缓冲液，混匀，用**玻璃微纤维滤纸**过滤至滤液澄清，备用。

----将滤液调至 PH 为中性。

----准确移取 10.0mL 混合液进行过亲和柱。

（4）植物油脂

----准确称取 25.0g 样品，加入 5.0g 氯化钠，

----加入甲醇-水（7+3）至 125.0mL，以均质器高速搅拌提取 2min 或振荡提取 30min，

----用定量滤纸过滤，

----准确移取 15.0mL 滤液加入 30.0mL 水稀释，用**玻璃微纤维滤纸**过滤，至滤液澄清，备用。

----准确移取 15.0mL 混合液进行过亲和柱。

（5）草药、香料及茶叶

----准确称取 25.0g 粉碎的样品，加入 5.0g 氯化钠，

----与 125.0mL 甲醇-水溶液（7+3）混合，以均质器高速搅拌提取 2min 或振荡提取 30min，

----用定量滤纸过滤，

----准确移取 10.0mL 滤液并加入 30.0mL 水稀释，用**玻璃纤维滤纸**过滤，至滤液澄清，备用。

----准确移取 20.0mL 混合液进行过亲和柱。

【亲和柱净化】

注意：整个纯化过程尽量不要让柱子干燥！

----将柱子上方堵头取出后斜剪断，然后再插回柱子上；

----将 20mL 注射器连接于免疫亲和柱上部，用 5~10mL pH7.4 磷酸盐缓冲液（PBS）或者去离子水平衡柱子，以 1 滴/秒的速度通过免疫亲和柱，样品提取液必须缓慢地连续地通过柱子（用注射器加以正压或用真空泵施加负压，也可以使用泵流操作架配合免疫亲和柱）；

----准确移取混匀提取液注入注射器中，调节针筒压力使其以 1 滴/2 秒的速度缓慢通过免疫亲和柱；

----先用 10mL 0.1%的吐温 20-PBS 溶液清洗，再用 10mL 10% 甲醇-水清洗，（主要针对酱油、醋、饲料等颜色较深的样品，其他可略去）；

----用 20mL 水冲洗柱子，弃去流出液，流速 2 滴/秒，直至 2~3mL 空气通过柱体，保证柱子内没有残余液体；

----准确加入 1.0mL 色谱级甲醇洗脱，流速 1 滴/2~3 秒，直至 2~3mL 空气通过柱体，保证柱子内没有残余液体。收集全部洗脱液待测。

【检测方法】

（1）AFB₁酶免试剂盒（苏微）检测

----用试剂盒中的样品稀释液以 1:10 稀释洗脱液（1 份洗脱液 +9 份样品稀释液），取 50μL 进行测定。

注意：如果 AFB₁ 污染较严重，需要进一步稀释样品，洗脱液最终必须稀释到 10%甲醇，详见试剂盒说明书。

（2）HPLC 法检测

----可参考 GB/T 18979-2003。

【注意事项】

（1）黄曲霉毒素对人体有害，应戴手套操作。凡接触到标样的玻璃器皿都要用 5%次氯酸钠浸泡过夜。

（2）不要使用过有效期的免疫亲和柱。

（3）**免疫亲和柱应在 2~8℃保存。不要冷冻。**

（4）**使用前，免疫亲和柱需至少提前半小时回温至室温（25℃左右）。**

（5）按以上的提取过程，样品通过柱子的实际体积等于 1g 原物质，分析方法的检测限可以通过改变进柱的样品体积而改变。

（6）称取的样品量以及提取液的体积可根据实际情况按比例调整，建议最低不少于 5g 样。

（7）黄曲霉毒素对光线敏感，因此样品及其提取液应当低温（2~8℃）、避光保存。

【保存期】

有效期为 12 个月。

生产日期见包装盒。

【缓冲溶液配制】

pH7.4 磷酸盐缓冲液（PBS）：

3g Na₂HPO₄·12H₂O，0.25g NaH₂PO₄·2H₂O，8.7g NaCl，用水定容至 1L。

pH7.0 磷酸盐缓冲液（PBS）：

25mL 0.2mol/L 磷酸二氢钾溶液与 29.1mL 0.1 0.2mol/L 的氢氧化钠溶液混匀后，用水定容至 100mL。

0.1%的吐温 20-PBS 溶液：

取 pH7.4 的 PBS 溶液 1L，加入 100uL 吐温。