

RIDASCREEN[®] Histamin

酶联免疫法定量检测组胺

订货号：R1601（96 孔）

订货号：R1604（48 孔）

体外检测试剂

储存温度 2 - 8 °C

拜发分析系统销售（北京）有限公司

电话：+86 10 8458 3218 传真：+86 10 8458 0691

地址:

拜发分析系统销售（北京）有限公司
北京市朝阳区霄云路 26 号 鹏润大厦 B2908
邮编: 100016
www.r-biopharm.com

欢迎随时联系德国拜发中国区:

电话:

客服中心: +86 10 8458 3218

传真/邮箱:

销售部: +86 10 - 84 58 32 18 - 223
info@r-biopharm.cn

市场部:

+86 10 - 84 58 32 18 - 217
info@r-biopharm.cn

RIDA[®] 和 RIDASCREEN[®]

均为R-Biopharm 德国拜发公司的注册品牌标志
制造商: R-Biopharm AG, Darmstadt, 德国

R-Biopharm AG 拥有 ISO 9001 认证。

RIDA[®] and RIDASCREEN[®]

are registered trademarks of R-Biopharm AG
Manufacturer: R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany

R-Biopharm AG is ISO 9001 certified.

产品简介

RIDASCREEN® Histamin (订货号: R1601, 96孔/R1604, 48孔) 组胺检测试剂盒, 采用竞争性酶联免疫法, 定量检测食品中的组胺含量。试剂盒中含有酶联免疫检测所需的所有试剂, 包括标准品。试剂盒足够进行 **96** 次或 **48** 次检测 (包括标准测定)。定量分析需要使用微孔板酶标仪。

样品处理: 不同的样品有不同的处理方法 (参见 8.)

检测时间: 样品制备 (以 10 个样品为例) 约 15 分钟
检测过程 (孵育时间) 90 分钟
检测过程 (孵育使用了振荡器的时间) 70 分钟

检测限: 汽酒、白葡萄酒、红酒样品 250 ppb
奶类样品 100 ppb
奶酪、鲜鱼、罐头鱼样品 2.5 ppm
鱼粉样品 100 ppm

回收率: 汽酒、白葡萄酒、红酒样品 95 %
奶类样品 109 %
奶酪、鲜鱼、罐头鱼样品 100 %
鱼粉样品 96 %

特异性: 组胺 100 %
3-甲基-组胺 约 0.01 %
酪胺 无交叉反应
L-苯丙氨酸 无交叉反应
L-盐酸组氨酸 无交叉反应
L-酪氨酸 无交叉反应
色胺 无交叉反应
5-羟基吲哚乙酸 无交叉反应
血清素 无交叉反应

使用标记:

	试剂盒中含有用于多次检测 (n 次) 的物质		制造商
	储存温度	LOT	批号
	有效至	CONT	成分
	在使用前请阅读说明书	REF	编号
IVU	仅用于体外检测	REC	用于复溶
LYO	冻干粉 (剂)		

1. 用途

RIDASCREEN® Histamin组胺检测试剂盒，采用竞争性酶联免疫法，定量检测红/白葡萄酒、汽酒、奶类、奶酪、鲜鱼、罐头鱼和鱼粉产品中的组胺。

2. 概要

组胺是因在富蛋白质的食品，如鱼、奶酪、肉、汽酒，葡萄酒及啤酒中的某些细菌在生长过程中分解了组氨酸而产生的。组胺的含量取决于细菌的种类，温度及其作用时间等因素，高时可能超过 1000 ppm (mg/kg)。鱼内含有大量的组胺，因此常引至所谓的“鲭鱼中毒”现象。为降低鱼中出现组胺的机率，人们采取了很多质量控制方法。质量好的鱼内的组胺含量应在 10 ppm 以下。鱼和鱼制品中组胺的限量值为 100 mg/kg，在部分国家甚至为 50 mg/kg。在瑞士，葡萄酒内组胺的最大限量值为 10 mg/l。

3. 检测原理

在样品处理后，先用酰化试剂将样品中的组胺衍生为 N-酰基组胺。通过竞争酶联免疫反应，游离的酰化组胺和包被的组胺竞争抗体的结合位点。洗板后加入过氧化物酶标记的二级抗体（酶连接物），于组胺抗体结合形成复合物。没有结合的酶连接物在洗涤步骤中被除去。将底物和发色剂加入孔中并孵育。酶连接物将发色剂转化为蓝色的产物。加入反应终止液后使颜色由蓝色转变为黄色。在 450 nm 处测量。吸光度值与样品中的组胺浓度成反比。

4. 试剂盒组份

每一个盒中的试剂足够进行 96 (R1601) 或 48 (R1604) 个试验（包括标准测定），盒中的组份如下：

样品酰化试剂:

Acylation plate	酰化板（未被包被）96 孔
Acylation tubes	96 支 (R1601) 或 48 支 (R1604) 试管（塑料），用于酰化反应
Standard 1-6	组胺标准品，（每瓶 4 ml） 0 ppb, 0.5 ppb, 1.5 ppb, 5 ppb, 15 ppb, 50 ppb
Control 1	质控 1（4 ml），浓度见瓶标签
Control 2	质控 2（4 ml），浓度见瓶标签
Acylation reagent	2 x (R1601) 或 1 x (R1604) 酰化试剂（1.5 ml），即用型
Acylation buffer	酰化缓冲液（22 ml），即用型

酶联免疫试剂:

Microtiter plate	96 孔或 48 孔微孔板，，（R1601 为 12 条，R1604 为 6 条 每条 8 孔）包被有组胺
Conjugate	酶连接物（R1601 为 12 ml， R1604 为 6 ml） 过氧化物酶标记的抗体，即用型
Anti-histamine antibody	组胺抗体液（R1601 为 12 ml， R1604 为 6 ml），即用型
Substrate-/Chromogen	底物/发色剂（R1601 为 12 ml， R1604 为 6 ml）含有四甲基对二氨基联苯，即用型
Stop solution	反应终止液（12 ml）含 0.5 N 的硫酸，即用型
Washing buffer	洗涤缓冲液（20 ml），50 倍浓缩液

5. 另需的试剂和设备

5.1. 设备:

- 微孔板酶标仪（450 nm）
- 粉碎机，研钵或者均质器
- 离心机和离心管
- 振荡器，例如涡流振荡器
- 可调式 20 μ l - 200 μ l 和 200 - 1000 μ l 微量移液器
- 为缩短孵育时间：微孔板振荡器（振幅 3 mm，约 600 rpm）

5.2. 试剂:

- 蒸馏水或去离子水
- 用于奶类样品：10 mM PBS，0.05 % Tween 20（例如 Sigma 公司，订货号 P3563）

6. 储存条件

保存试剂盒于 2 - 8 °C，不要冷冻。

将不用的微孔板放进原锡箔袋中并且与提供的干燥剂一起重新密封储存于 2 - 8 °C 条件下。

底物/发色剂对光敏感，因此要避免直接暴露在光线下。

对过了有效期（见试剂盒外标签 ）的试剂盒不再提供任何质量保证。

不能交叉使用不同批号的盒中试剂。

7. 试剂变质的迹象

- 底物/发色剂在使用前颜色变蓝
- 标准品 1 的吸光度值小于 0.9 ($E_{450\text{ nm}} < 0.9$)

8. 样品处理

为避免污染，试管或者酰化板只使用一次。

8.1. 汽酒、白葡萄酒、红酒样品

- 20 μl 葡萄酒样品用 10 ml 蒸馏水稀释
- 100 μl 每试管或者每酰化板孔进行检测

8.2. 奶类样品

- 4 ml 奶类样品离心 10 min / 3000 g 在室温 (20 - 25 °C)，去脂
- 取 20 μl 脱脂奶类样品和 4 ml PBS 缓冲液 (参见 5.2.) 混合
- 取 100 μl 每试管或者每酰化板孔进行检测

8.3. 奶酪、鱼（鲜鱼和罐头鱼）样品

- 10 g 样品均质
- 取其 1 g 均质样品中加入 9 ml 蒸馏水，充分混合
- 离心 5 min / 2500 g 在室温 (20 - 25 °C)
- 去除脂肪层
- 取 1 ml 上清液中加入 9 ml 水并充分混合
- 取其 200 μl 溶液用 9.8 ml 蒸馏水稀释
- 取 100 μl 每试管或者每酰化板孔进行检测

8.4. 鱼粉样品

- 1 g 鱼粉样品中加入 200 ml 蒸馏水，混合 15 分钟

- 取部分离心 5 min / 2500 g 室温 (20 - 25 °C)
- 取 200 µl 上清液用 200 ml 蒸馏水稀释
- 取 100 µl 每试管或者每酰化板孔进行检测

9. 检测步骤

9.1. 检测前的准备

使用之前将所有试剂回温至室温 (20 - 25 °C)。

洗涤缓冲液为 50 倍浓缩液，对洗涤缓冲浓缩液 (20 - 25 °C) 在使用前按比例 1:50 (1+24) 用蒸馏水稀释 (例如：10 ml 缓冲液浓缩液 + 490 ml 蒸馏水)。稀释后的缓冲液在 2 - 8 °C 条件下可保存约 4 周。

酰化试剂为即用型，其凝固点为 18.5 °C。酰化试剂在使用是必须为液体，所以应储存于室温条件下 (20 - 25 °C) 或在使用前回温至室温 (20 - 25 °C)。

9.2. 酰化过程

小心吸取，避免飞溅

1. 所有标准品、质控和样品均应进行两次平行实验。(针对订货号为 R1604 的试剂盒，酰化板只使用其 48 孔，不要 96 孔全部使用，因为酶联免疫微孔板只有 48 孔。) 记录标准品和样品的位置。

或者：取必需的试管插入酰化板中作为反应容器。

2. 向每一个酰化孔或试管中加入 100 µl 标准品、质控和处理过的样品。
3. 向每一个试管/酰化孔中加入 25 µl 酰化试剂。
4. 向每一个试管/酰化孔中加入 200 µl 酰化缓冲液，充分混合后在室温条件下 (20 - 25 °C) 孵育 15 分钟。
5. 每孔取 25 µl 用于酶联免疫分析。

9.3. 酶联免疫分析过程

小心吸取，避免飞溅。仔细洗板非常重要。避免在操作过程中微孔出现干燥。

1. 将足够标准品和样品检测所需数量的孔条插入微孔板架，均做两个平行实验，记录下标准品和样品的位置。
2. 向每个微孔中加入 25 µl 酰化标准品及质控和处理好的样品。

3. 向每一个微孔中加入 100 μl 组胺抗体溶液，充分混合，在室温条件下（20 - 25 $^{\circ}\text{C}$ ）继续孵育 40 分钟。或者，在微孔板振荡器（约 600 rpm）上振荡 30 分钟。
4. 倒出孔中的液体，将微孔板架倒置在吸水纸上拍打（每轮拍打 3 次）以保证完全除去孔中的液体。每孔加入 250 μl 洗涤缓冲液（参见 9.1.）洗涤微孔。上述操作重复进行两遍。
5. 向每一个微孔中加入 100 μl 酶连接物溶液，充分混合，在室温条件下（20 - 25 $^{\circ}\text{C}$ ）孵育 20 分钟。或者，在微孔板振荡器（约 600 rpm）上振荡 10 分钟。
6. 倒出孔中的液体，将微孔板架倒置在吸水纸上拍打（每轮拍打 3 次）以保证完全除去孔中的液体。每孔加入 250 μl 洗涤缓冲液（参见 9.1.）洗涤微孔。上述操作重复进行两遍。
7. 向每一个微孔中加入 100 μl 底物/发色剂，充分混合后在室温（20 - 25 $^{\circ}\text{C}$ ）条件下暗处孵育 15 分钟。或者，在微孔板振荡器（约 600 rpm）上振荡 15 分钟。
8. 向每一个微孔中加入 100 μl 反应终止液，充分混合。在加入反应终止液后 10 分钟内于 450 nm 处测量吸光度值。

10. 结果评估

请使用R-Biopharm德国拜发公司专门为RIDASCREEN[®] 系列产品设计的应用软件RIDA[®] SOFT Win（订货号：Z9999）来进行结果分析。

关于标准曲线请参看试剂盒中附带的质保证书。

通过标准曲线上对应的吸光度值，可得到组胺的浓度 $\mu\text{g}/\text{kg}$ （ppb）。此浓度必须乘以对应的稀释倍数。稀释倍数和样品处理过程有关，见下表。

样品处理方法	样品	稀释倍数
8.1.	红酒、白葡萄酒、汽酒	500
8.2.	奶类	200
8.3.	奶酪、鲜鱼、罐头鱼	5 000
8.4.	鱼粉	200 000

建议：

为获得更好的检测效果：

- 将吸光度值 < 0.4 的样品进行进一步稀释并再次进行检测
- 每个样品进行平行检测
- 质控的测量结果其差异应该在 $\pm 30\%$ 之内（否则需重做实验）
- 使用本试剂盒的最佳温度为 $20 - 25\text{ }^{\circ}\text{C} / 68 - 77\text{ }^{\circ}\text{F}$.

以上信息是基于我们现有知识的基础上对我们的产品及其相关应用的说明。而并非对产品的任何特定性能或特定使用目的进行担保。R-Biopharm 德国拜发

公司不承担除试剂基本品质之外的任何责任。除因产品使用而造成的直接或间接损坏及损失外，其它有缺陷的试剂盒可退换。