

核桃过敏原

检测说明书

食品中核桃过敏原的定量酶免疫检测试剂盒

灵敏度（以核桃计）	0.35ppm
回收率	75-106%
孵育时间	60 分钟

核桃过敏原

核桃（胡桃）属于胡桃科，含有高达 15% 的蛋白质。其中有些蛋白具有致敏性，比如 rJug r1 和 rJug r4。核桃过敏原很多在加工过程中都具有热稳定性。因此，核桃也是最重要的一种过敏原。对于核桃过敏人群，食品中潜在的核桃过敏原是一个严重问题。据悉，极微量核桃即可引起严重的过敏反应，甚至可能导致过敏性休克。因此，核桃过敏患者一定要避免摄食含有核桃的食物。加工过程中的交叉污染也要受到关注，比如巧克力的生产过程。有些加工过程并不一定能完全排除核桃过敏原，因此，对食品成品的检测会更好确定其是否含有核桃过敏原。

欧陆分析核桃快检试剂盒是一种灵敏度高，专门性强的定量分析试剂盒，广泛应用于饼干、粮食、冰淇淋和巧克力等食品中核桃过敏原的检测。

检测原理

该产品基于酶联免疫检测的原理。微孔板内包被抗体能直接捕获核桃蛋白。样品经过提取后的待测液，连同标准品系列加入到包被有抗体的微孔中进行孵育。室

温孵育 20 分钟后，用清洗液清洗掉未结合的残留物，加入酶标记的第二抗体，与核桃蛋白形成双抗体夹心结构。再次清洗后，加入底物，与酶复合物形成蓝色。加入终止液溶液变为黄色。核桃含量和显色浓度成正比。

注意事项

完全遵守良好实验室操作规范，将会得到更可靠的检测结果：

1. 检测开始前，使所有试剂回复至室温。
2. 使用前轻摇或倒置试剂使试剂均匀，不要产生泡沫。
3. 检测开始后，按照操作步骤的顺序和时间，中途不要停顿。
4. 试剂使用后用各自的盖子封好，不要相互交叉。
5. 每个不同样本更换一次性吸头以免交叉污染。
6. 所有样本和标准品应同时进行操作，以确保测试条件一致。
7. 不同批次的试剂盒不要混用。
8. 不要使用过期的试剂。
9. 检定实验室设备（移液器，酶标仪等）的精度和准确性。

安全说明

1. 实验室不要吸烟、饮食和用嘴吸取液体。
2. 处理危险样本时带上一一次性手套。
3. 避免底物和终止液皮肤和口鼻（可能会有刺激、灼烧或毒性危害）。一旦接触，大量的水冲洗。
4. 按照良好实验室规范处理使用过的化学物质。

试剂盒提供材料

试剂盒含有 96/48 次检测。保存条件为 2-8℃。瓶子上和外包装注有有效期。

1. 微孔板含有 12/6 条每条 8 孔抗体微孔
2. 核桃标准品 (0,2,6,20 和 60ppm)：每瓶 2.0mL，共 5 瓶，红色，即用。
3. 酶结合物：15/7.5mL，标记为红色，即用。
4. 底物 (TMB)：15mL，即用。
5. 终止液 (0.5M 硫酸)：15mL，即用。
6. 提取和稀释缓冲液 (Tris) :2/1*120mL 的 10 倍浓缩液，标记为红色，和蒸馏水按 1+9 稀释后使用。稀释后 4℃下可至少保存 1 周，冷冻后如有结晶要在 37℃下回温 15 分钟。

7. 浓缩清洗液 (PBS-Tween20) : 60mL 的 10 倍浓缩液, 和蒸馏水按 1+9 稀释后使用。稀释后 4C°下可至少保存 4 周, 冷冻后如有结晶要在 37C°回温 15 分钟。
8. 塑料袋用于保存未使用的微孔。
9. 操作说明书。

其它未提供的材料

1. 移液器, 100 μ L
2. 量筒和天平
3. 混匀器
4. 水浴摇床
5. 离心机
6. 酶标仪
7. 蒸馏水

样品准备

为了避免交叉污染, 所有使用的容器必须彻底清洗干净, 因为核桃蛋白可能会牢固附着在某些容器表面。为避免交叉污染, 强烈建议注意清洗顺序。以下样品制备适用于各种样品。

1. 在混匀有代表性的样品中抽取至少 5g 磨碎的粉末样品。
2. 取适量浓缩提取液, 稀释 10 倍。
3. 1g 均匀样品中加入 20mL 预稀释的提取液, 60C°水浴 15 分钟, 期间每 2 分钟摇晃以确保提取均匀。
4. 样品液 2000g 离心 10 分钟, 如果有悬浮物, 过滤。
5. 每孔用 100 μ L 清液。如果结果超出检测范围, 稀释后重测。

检测步骤

取适量的浓缩清洗液, 和蒸馏水 1+9 的比例稀释 10 倍。标准品在样品前后各加 1 次, 用平均值进行计算。考虑良好实验室规范和质控, 建议样品做 2 重复。具体过程如下:

1. 如前述准备好提取的样品。
2. 取出适量微孔, 分别加入 100 μ L 标准品和样品。

- 3. 室温孵育 20 分钟。
- 4. 倒掉微孔中的液体。将清洗液加满每个微孔，清洗后倒掉。重复清洗 3 次，然后将微孔倒置并在吸水纸巾上拍干，确保微孔中无液体残留。
- 5. 吸取 100μL 酶结合物到每个微孔中。
- 6. 室温孵育 20 分钟。
- 7. 按步骤 4 重复清洗微孔。
- 8. 吸取 100μL 底物到每个微孔中。
- 9. 室温避光（抽屉里）孵育 20 分钟。
- 10. 吸取 100μL 终止液到每个微孔中。
- 11. 混匀后在 450nm 波长下读取吸光值，并输入表格计算结果。

曲线标准值

下表是典型标准曲线参考值。结合比例以 60ppm 的标准吸光值为 100%基准。这些数据仅作为示例，不能替代每次测定实验。

核桃含量/ppm	60ppm 的结合比率/%
60	100
20	80
6	55
2	32
0	12

性能

灵敏度

该试剂盒的检出限为 0.35ppm，定量低限为 2ppm。

由于样品基质和空白的影响，检测结果低于定量低限可视为阴性。

交叉反应性

本试剂盒与以下产品无交叉反应。

Adzuki bean 红小豆	Cow's milk 牛奶	Onion 洋葱
Almond 扁桃仁	Crab, cooked 熟螃蟹	Paprika 辣椒
Apricot 杏	Crab, raw 生螃蟹	Pea 豌豆
Barley 大麦	Cress 水芹	Peanut 花生
Bean, white 白豆	Cumin 茴香	Pepper 红椒
Beef 牛肉	Duck 鸭肉	Pine seed 松子
Bovine gelatin 牛明胶	Egg 蛋	Pistachio 开心果
Brazil nut 巴西坚果	Ewe's milk 绵羊奶	Plum 李
Buckwheat 荞麦	Fenugreek 葫芦巴	Poppy seed 罂粟籽
Caraway 香菜	Fish gelatin 鱼胶	Pork 猪肉
Carob gum 槐树豆胶	Gliadin 醇溶蛋白	Potato 土豆
Carrot 胡萝卜	Goat's milk 山羊奶	Pumpkin seed 南瓜子
Cayenne 花椒	Guar gum 瓜尔豆胶	Rice 大米
Celery 芹菜	Hazelnut 榛子	Rye 黑麦
Cherry 樱桃	Isinglass 明胶	Saccharose 蔗糖
Chervil 山萝卜	Kidney bean 菜豆	Sesame 芝麻
Chestnut 栗	Kiwi 猕猴桃	Shrimp, cooked 熟虾
Chia 鼠尾草	Lamb 羊肉	Shrimp, raw 生虾
Chickpea 鹰嘴豆	Lentil 兵豆	Soy flour 大豆粉
Chili 红椒	Lupin 羽扇豆	Sunflower seeds 葵花籽
Cocoa 可可	Macadamia 夏威夷果	Tomato 番茄
Coconut 椰子	Mustard 芥末	Turkey 火鸡
Cod 鳕鱼	Nutmeg 肉豆蔻	Wheat 小麦
Corn 玉米	Oats 燕麦	

其他交叉反应如下：

腰果	0.0003%
鸡肉	0.0003%
美洲山桃核	0.0005%

精度

批内稳定性	4-9%
批间稳定性	12%

线性

加标样品（曲奇饼干、谷物、冰淇淋和巧克力）系列浓度的结果在 70-128%。

回收率

不同样品中进行核桃加标，测定平均回收率如下：

曲奇饼干	103%
谷物	106%
冰淇淋	86%
巧克力	75%