

蛋类过敏原

检测说明书

食品中蛋类过敏原的定量酶免疫检测试剂盒

以蛋清蛋白计	0.05ppm
回收率	82-98%
孵育时间	60 分钟

蛋类过敏原

鸡蛋含有很高的蛋白质，是人类食物的一个主要来源。蛋黄中仅含有极少的过敏原，很多过敏原都来自蛋白。除了卵白蛋白，卵铁传递蛋白，溶菌素和卵黄球蛋白之外，卵类黏蛋白也是一种重要的过敏原。和其他过敏原不同的是，卵类黏蛋白能耐高温，在很多热加工如烘焙过程中能保持稳定。食物中潜在的蛋类过敏原对蛋类过敏的人而言是一个严重问题。微量的蛋类可引起过敏反应，严重会导致过敏性休克。蛋类过敏的人必须严格避免蛋类或含蛋类的食物。食品中未标示的蛋类过敏原可能引起严重的问题。在生产过程中可能存在交叉污染，如巧克力的生产过程是一个代表性的例子。因此，对食品成品的准确检测会更好确定其是否含有蛋类残留。

欧陆分析基于检测卵类黏蛋白的蛋类快检试剂盒是一种灵敏度高，专门性强的定量分析试剂盒，广泛应用于意大利面、面包制品、香肠和巧克力中蛋类过敏原的检测。

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卵类黏蛋白。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，用蒸馏水清洗掉未结合的残留物，加入酶标记的第二抗体，与蛋类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。蛋类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，用大量的水冲洗。
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. 蛋清蛋白标准品 (0,0.4,1,4 和 10ppm)：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 4C°下可至少保存 1 周, 冷冻后如有结晶要在 37C°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. 未使用的微孔保存在塑料袋。
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(450nm)
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, 因为蛋类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。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 100 μ L 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 100 μ L 底物到每个微孔中。
9. 室温避光（抽屉里）孵育 20 分钟。
10. 吸取 100 μ L 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。

结果表示

检测结果以 XXXppm 的蛋清蛋白含量表示，可以乘以转换因子 4.35 表示为全蛋粉（美国国家标准技术研究所参考物质 8445）。

曲线标准值

下表是典型标准曲线参考值。结合比例以 10ppm 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。

蛋清蛋白含量/ppm	10ppm 的结合比率/%
10	100
4	74
1	34
0.4	17
0	3

性能

灵敏度

该试剂盒的检出限(LOD)为 0.05ppm 蛋清蛋白，最低定量限(LOQ)为 0.4ppm 的蛋清蛋白。

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 红豆	Fish gelatin 鱼明胶	Poppy seed 罂粟籽
Almond 扁桃仁	Hazelnut 榛子	Pork 猪肉
Apricot 杏	Isinglass 明胶	Prawn 对虾
Barley 面包	Kidney bean 菜豆	Pumpkin seed 南瓜子
Beef 牛肉	Kiwi 猕猴桃	Rice, brown 黄大米
Bovine gelatin 牛明胶	Lecithin 卵磷脂	Rice, white 白大米
Brazil nut 巴西坚果	Lentil 兵豆	Rye 黑麦
Buckwheat 荞麦	Linseed 亚麻籽	Sesame 芝麻
Cashew nut 腰果	Macadamia 夏威夷果	Sheep' s milk 羊奶
Cherry 樱桃	Oats 燕麦	Shrimps 虾
Chestnut 栗	Octopus 章鱼	Soy 大豆
Chicken, cooked 熟鸡肉	Pea 豌豆	Split peas 豌豆瓣
Chickpea 鹰嘴豆	Peach 桃	Saccharose 蔗糖
Cocoa 可可	Peanut 花生	Sunflower seeds 葵花籽
Coconut 椰子	Pecan 美洲山核桃	Turkey 火鸡
Cod 鳕鱼	Pine nut 松子	Walnut 核桃
Corn 玉米	Pistachio 开心果	Wheat 小麦
Cow' s milk 牛奶	Plum 李	

其他交叉反应如下：

Ovalbumin 卵清蛋白	0. 25%
Ovomucoid 卵类黏蛋白	614%
Conalbumin 伴清蛋白	2. 60%
Lysozyme 溶菌素	<0. 0003%
Chicken, raw 生鸡肉	<0. 001%
Duck, raw 生鸭肉	<0. 0002%

精度

批内稳定性	4-9%
批间稳定性	3-7%

线性

加标样品（意大利面、饼干、曲奇、香肠和巧克力）系列浓度的结果在 93-112%。

回收率

不同样品中进行蛋清蛋白加标，测定平均回收率如下：

意大利面	91%
饼干	83%
曲奇饼干	85%
香肠	98%
黑巧克力	82%