



沙丁胺醇酶联免疫定量检测试剂盒说明书

ELISA kit for quantitative detection of Salbutamol

沙丁胺醇(Salbutamol)ELISA

四、待测样品处理

检测试剂盒

一、产品介绍

沙丁胺醇(Salbutamol)是选择性 β_2 -受体激动剂的一类,可以作为牛、羊、禽、猪的促生长剂,但是易于动物脏器积聚残留,并通过食物链进入人体,严重危害人类健康,欧盟、美国、中国等严禁沙丁胺醇等 β_2 -兴奋剂作为饲料添加剂。

本试剂盒采用间接竞争 ELISA 检测沙丁胺醇(Salbutamol)的药物残留,与仪器分析技术相比具有快速、简便、灵敏和高通量等特点,能最大限度地减少操作误差和工作强度。

二、试剂组成

包被板	12×8 孔	显色剂	12ml
标准液	6 瓶	终止液	12ml
酶标二抗	12ml	20×浓缩洗涤液	20ml
抗体工作液	6ml	说明书	一份

三、技术指标

- 试剂盒灵敏度: 0.3 ppb
- 样本最低检测限
血清/尿样0.3 ppb
- 组织样本检测下限
高检测限
肌肉/肝脏.....1 ppb
低检测限
饲料2 ppb
- 准确度:
鸡肉/肝、猪肉/肝.....91±7%
尿样95±7%
饲料90±8%
- 精密性: 试剂盒的变异系数均小于 10%
- 线性范围: 0.3-24.3 ppb
- 检测时间: 1.5 小时

1. 尿液

将样品 2,000 转离心 5 分钟后取上清液或者过滤后取滤液用于检测。

2. 血清

抽取动物血液,置于玻璃试管中待其凝固,2,000 转离心 5 分钟后取上层清亮液体(血清),如血块无明显收缩,导致血清量不足,可用竹签轻轻拨动血块后再离心,取上清液用于检测。

注:取血过程中尽量避免溶血,如血清混浊,可离心取上清液检测。

3. 肉样及内脏组织

- **破碎:** 用绞肉机将肝组织样品破碎搅匀。
- **提取:** 精确称取 5 克破碎后的组织样品到离心管中,加入 25 mL 浓度为 0.05 M 的盐酸,振荡 30 分钟。
- **离心:** 将以上样品以 8000 g 离心 30 分钟,吸取 9 mL 上清液到试管中。
- **提取:** 加入 2 M 的氢氧化钠溶液 250 μ L,充分混匀。
- **静置:** 加入样品稀释液液 1 mL,混匀后,于 4°C 静置至少 1 小时或过夜。
- **过柱:** 取 5 mL 上述样品,过 C-18 柱。称取 5 克均质后的组织样品到离心管中,加入 5 mL 浓度为 0.01 M 的盐酸,振荡 30 分钟。

C-18 柱纯化过程

1. 将所有的试剂和样品回温;
2. 用 5 mL 分析纯的无水甲醇洗涤柱子,流速为每秒 1 滴;
3. 用 5 mL pH 3.0 的 50 mM 磷酸二氢钾缓冲液洗涤柱子,流速为每秒 1 滴;
4. 5 mL 样品进柱,流速为 4 秒 1 滴;
5. 用 5 mL pH 3.0 的 50 mM 硫酸二氢钾缓冲液洗涤柱子,流速为每秒 1 滴;
6. 液体流尽后,柱子干燥 5 分钟;
7. 用 2 mL 无水甲醇洗脱样品,流速为 2 秒 1 滴;

上海佑隆生物生物科技有限公司

联系电话: 021-60955248; 传真: 021-60955249;

www.youlong-bio.com.cn

E-mail: info@youlong-bio.com.cn



沙丁胺醇酶联免疫定量检测试剂盒说明书

ELISA kit for quantitative detection of Salbutamol

- 50-60°C 氮气吹干，残留物用 500 μL 稀释液复溶，涡旋 5 秒后待检。

若不立刻检测，可置于 4°C 冰箱中保存，保存期 1 天。

五、检测之前的注意事项及准备工作：

1. 注意事项：

- 使用前将所有试剂回升至室温 18-25°C。
- 严格按说明书操作，不得改变加样顺序及温育时间。
- 尽量缩短加样时间，加入相同试剂或样品时应使用多道微量加样器。
- 洗板过程要小心操作，每个孔要均匀充满冲洗液。操作时应保持一致性和一定的强度，不可更改冲洗次数。
- 在读数之前用软纸轻轻擦试微孔板底部，防止因污染而影响读数结果。
- 洗涤后，避免微孔干燥。
- 在所有恒温孵育过程中，避免光线照射，可盖住微孔板。
- 没有用完的微孔板应存放在有干燥剂的密封袋内，2-8°C 保存。

2. 试剂准备：

• 实验前准备

将试剂盒取出放置于室温中，使试剂盒回温至室温 (18-25°C)。

• 20 倍稀释洗涤液准备

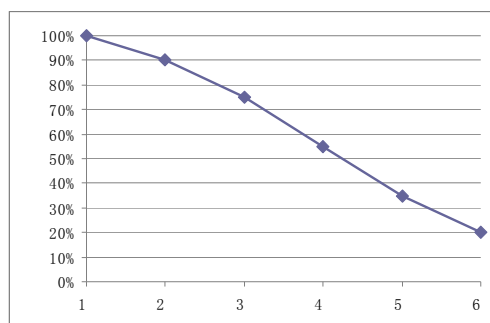
20 mL 浓缩洗涤液 (20X)，用蒸馏水或去离子水稀释至 400 mL。在 2~8°C 可保存三个月。用前混匀。

六、操作步骤：

- 从密封袋中取出所需数目微孔板条放置在支架内，并编号。
- 加入沙丁胺醇标准液 (浓度由低到高) 和待测样品，每孔 50 μL 。

- 加入沙丁胺醇单克隆抗体，每孔 50 μL ，轻轻摇匀 10 秒。
- 置于 37°C 反应 30 分钟。
- 弃去微孔中的反应液，用稀释好的洗涤液冲洗微孔，重复洗 3 次。
- 将微孔中剩余液体在吸水纸上拍干。
- 加入酶标二抗，每孔 100 μL ，轻轻摇匀 30 秒。
- 置于 37°C 反应 30 分钟。
- 弃去微孔中的反应液，用稀释好的洗涤液冲洗微孔，重复洗 3 次。
- 将微孔中剩余液体在吸水纸上拍干。
- 加入显色剂，每孔 100 μL ，轻轻摇匀 10 秒。
- 置于室温反应 15 分钟 (18-25°C)，避免光线照射。
- 加入反应终止液，每孔 100 μL ，轻轻摇匀 20 秒。
- 在 10 分钟内，使用酶标仪在 450 nm 波长处读取各孔吸光度值，并绘制标准曲线。

七、结果分析：



标准曲线 (仅作参考)

八、酶标计算专业软件

酶联免疫测定法 (ELISA) 是目前食品安全检测、医疗检测以及环境监测等中最广泛的免疫分析方法，可用于目标物质的定量测定。一般而言，在未知样品测定前，需测定梯度标准物质建立标准曲线方程。然后根据未知样品的 OD 值或者其变化值，代入标准曲线方程，获得未知样品中待测物质的浓



沙丁胺醇酶联免疫定量检测试剂盒说明书

ELISA kit for quantitative detection of Salbutamol

度。然而，常规方法均使用手动计算或者绘制图，来获得一个个的最终数据，该方法费时、繁琐以及人为错误概率高。

据此，本公司开发出酶标计算专业软件（YL software 1.0 版），专门解决该酶标测定中的计算难题，并可根据实际需要，自动调整计算数目，最多可同时计算一整块酶标板（96 孔）的数据，并可同时导出通用 excel 文档，编辑和保存。根据实际中的应用,该软件分为两种计算模式:单孔模式与双孔模式。双孔模式即取该点的两个值进行取平均值再进行计算,最终根据数据来判定是否合格,未合格以及未检测。

