

## 真菌毒素快速定量检测系统

步骤	仪器、试剂	项目描述					
		AFQ (黄曲霉毒素)	ZEAR (玉米赤霉烯酮)	FUM (伏马毒素)	OCHRA (赭曲霉毒素)	DON (呕吐毒素)	
	<b>国标限量标准 (ug/kg)</b> <b>GB 2761-2017</b>	玉米 (20)、豆类 (5) 稻谷、大米 (10) 小麦、小麦粉 (5)	小麦 (60) 玉米 (60)	-----	谷物 (5) 豆类 (5)	玉米 (1000) 小麦 (1000)	
	单样品非平行实验一次使用耗材量	自封袋1个、离心管 (白色50ml、100ml) 1个、离心管 (白色1.5ml) 2个、移液器枪头 (蓝色100~1000ul) 3个、移液器枪头 (黄色20~100ul) 1个, 对应毒素试纸条一根。					
一、 样品制备	1、制粉	粉碎机	按国标方法进行采样, 并取样品后需要用分样器大混五次, 取出500克, 全部通过粉碎机, 粉碎后的样品必须全部通过20目筛, 建议不要超过40目筛, 不便于操作。				
	2、称量	百分之一天平	准确称量10g				
	3、加入溶剂	甲醇、蒸馏水	20ml 70% 甲醇 (分析纯、色谱纯均可)			50ml 纯净水/蒸馏水	
	4、提取	涡旋仪	全部涡旋, 使得液体到达瓶盖的高度, 振荡1.5分钟。 静置1分钟, 建议1分钟, 但根据样品不同, 可选择性延长时间1分钟左右。				
	5、净化	掌上离心机	准确吸取1000ul 上清液 (大概接近蓝吸头的上端棱角处) 并置于①离心管中, 平衡放入离心机中, 大于4000r/min, 离心1分钟。				
	6、检测液制备 (如有复检, 需再次使用)	A、涡旋仪 B、移液枪 C、稀释缓冲液 (注: 稀释缓冲液恢复到室温使用)	从①离心管中取100ul 样品提取液, 和1000ul 黄曲霉毒素B1 稀释缓冲液(AFQ), 放入②离心管中漩涡仪振荡10秒。	从①离心管中取100ul 样品提取液, 和1000ul 玉米赤霉烯酮稀释缓冲液(ZEAR), 放入②离心管中漩涡仪振荡10秒。	从①离心管中取100ul 样品提取液, 和1000ul 伏马毒素缓冲稀释液(FUM), 放入②离心管中漩涡仪振荡10秒。	从①离心管中取100ul 样品提取液, 和1000ul 赭曲霉毒素稀释缓冲液(OCHRAQ), 放入②离心管中漩涡仪振荡10秒。	从①离心管中取100ul 样品提取液, 和1000ul 呕吐毒素稀释缓冲液(DONQ), 放入②离心管中漩涡仪振荡10秒。
二、 检测阶段	1、放入测试条	试剂条	AFQ(紫色)	ZEAR (黄色)	FUM(翠绿色)	OCHRA (咖啡色)	DONQ (深绿色)
	2、加入试剂	移液器	试纸条冷藏 (2-4度) 保存, 取适量使用其余放置在冰箱中 将试纸条反面放入孵育器中, 将胶纸揭开至黑线处。				
	3、孵育	孵育器	45°C 5分钟		45°C 10分钟	45°C 5分钟	
三、 读数结果	1、检测项目频道选择	读数仪	AFLA SL	ZEAR	FUM	OCHRA	DON
	2、浓度范围频道选择	读数仪	00	00	00	00	00
	3、放入测试条	试纸条	黄色海绵在下端, 面对试验人员, 眼观试纸条是否出现三条线, 三条线出现再插入读数仪中。				
	4、开始检测	读数仪	按ENTER键, 等待8秒, 读数。				
四、 二次稀释	1、数据分析	读数仪	当数值 ≥ 30+	当数值 ≥ 350+	当数值 ≥ 1501+	当数值 ≥ 30+	当数值 ≥ 1501+
	2、二次检测液制备	a 涡旋仪 b 移液枪 c 缓冲稀释液	取300ul 检测液, 并加入1000ul 黄曲霉毒素B1 缓冲稀释液 (AFQ), 在漩涡仪振荡10秒	取300ul 检测液, 并加入1000ul 玉米赤霉烯酮缓冲稀释液 (ZEAR), 在漩涡仪振荡10秒	取300ul 检测液, 并加入1000ul 伏马毒素缓冲稀释液 (FUM), 在漩涡仪振荡10秒	取300ul 检测液, 并加入1000ul 赭曲霉毒素缓冲稀释液 (OCHRA), 在漩涡仪振荡10秒	取300ul 检测液, 并加入1000ul 呕吐毒素稀释缓冲液 (DONQ), 在漩涡仪振荡10秒
	3、放入测试条	试剂条	AFQ(紫色)	ZEAR (黄色)	FUM(翠绿色)	OCHRA (咖啡色)	DONQ (绿色)
	4、加入试剂	移液器	试纸条冷藏 (2-4度) 保存, 取适量使用其余放置在冰箱中 将试纸条反面放入孵育器中, 将胶纸揭开至黑线处。				
	5、孵育5分钟	孵育器	45°C 5分钟		45°C 10分钟	45°C 5分钟	
	6、检测项目频道选择	读数仪	AFLA SL	ZEAR	FUM	OCHRA	DON
	7、浓度范围频道选择	读数仪	01	01	01	01	01
	8、放入测试条	试纸条	黄色海绵在下面对试验人员, 同时观察三条线是否出线完整, 插入读数仪中				
	9、开始检测	读数仪	按ENTER键, 等待8秒, 读数				
1、日常监控卡使用方法: (注: 黑色桶中的三线校准条日常需要避光干燥保存) (1) 读数仪停留在待检测页面, 频道选择PAT, 按ESC键+数字5键, SAMPLE 行显示“PERF TEST”, 再按确定键。 (2) 日期的下一行, SAMPLE 行显示出“LOWCRL”字样, 将黑色桶里的三线塑料板“LOW”一面朝上插入读数仪中, 按“ENTER”键, 仪器开始读数, 约5秒钟, SAMPLE 行显示“T1”的读数, 应与校准卡数值相差300以内。按“ENTER”, SAMPLE 行立即显示“T2”的读数, 应与校准卡数值相差300以内。按“ENTER”, SAMPLE 行立即显示“C”的读数, 应与校准卡数值相差正负300以内。 (3) 按“ENTER”, RESULT 行显示结果“READING”, 同时 SAMPLE 行(样品)显示“HIGHCRL”。从读数仪中取出检测条, 将“HIGH”一面朝上放入读数仪, 按“ENTER”, 仪器开始读数, 约5秒钟。SAMPLE 行显示“T1”的读数, 应与校准卡数值相差300以内。按“ENTER”, SAMPLE 行立即显示“T2”的读数, 应与校准卡数值相差300以内。按“ENTER”, SAMPLE 行立即显示“C”的读数, 应与校准卡数值相差300以内。按“ENTER”, RESULT 行显示读数结果 READING。 (4) 按“ESC”返回仪器正常读数模式。 2、读数仪的使用 (1) 检测频道的选择: 当屏幕中除了最上一行字母在闪烁, 其他都不闪烁时, 代表检测频道可调, 使用“NEXT→”或“PREV←”键选择校准频道。 (2) 浓度范围(MATRIX)的选择: 00 调整为 01 时, 按“↓”键移动光标, 至 MATRIX 字符行闪烁。按“NEXT→”键, 将 MATRIX 字符后的数字“00”调整为数字“01”, 即可进行二次稀释样品的读数。反向操作可以回到00频道。							