

生物素微孔板法即用型试剂盒 (产品货号: GVT 2003)

版本GBTN [01]10.23

1. 简介

本产品是根据国标GB 5009.259-2023《食品安全国家标准 食品中生物素的测定》研制的生物素检测即用型试剂盒，每盒产品包含3套试剂。

2. 检测原理

生物素是植物乳植杆菌*Lactiplantibacillus plantarum* (ATCC 8014) 生长所必需的营养素，在一定控制条件下，将植物乳植杆菌菌液接种至含有试样液的培养液中，培养一段时间后测定透光率（或吸光度值），根据生物素含量与透光率（或吸光度值）的标准曲线计算出试样中生物素的含量。

3. 套装组成

生物素标准品（冻干）	3瓶
生物素检测菌球（冻干）	3瓶
生物素测定培养基添加剂（冻干）	3瓶
生物素测定培养基基础（20 mL）	3瓶
无菌水（30mL）	3瓶
无菌96孔微孔板	3块
封板膜	3片

4. 贮藏条件：于2-8℃避光保存一年。

5. 其他试剂、耗材和设备（本试剂盒不提供）

5.1 无菌工作台（无菌操作时使用）	5.6 移液枪及无菌枪头，20-200 μL ，100-1000 μL
5.2 恒温培养箱，36℃ $\pm$ 1℃	5.7 三角瓶和容量瓶
5.3 酶标仪（540nm~550nm或610nm~630nm）	5.8 无菌离心管：1.5 mL或2 mL，15 mL（需带有旋转盖）
5.4 高压灭菌锅	5.9 无菌注射器与0.22 μm 无菌滤膜
5.5 涡旋振荡器	

6. 测定培养基制备（无菌操作）

- 6.1 制备生物素测定培养基：取1支生物素测定培养基添加剂加入20 mL生物素测定培养基基础中，混匀。
6.2 未接种空白孔用培养基：取上述培养基200 μL 于1.5 mL无菌离心管中备用。
6.3 接种生物素测定培养基：取1支生物素检测菌球，加入制备好的生物素测定培养基（6.1）中，混匀。

7. 标准系列管制备（无菌操作）：

准确吸取1.5 mL无菌水于生物素标准品中，溶解后充分混匀。取1mL加入4mL无菌水中，混匀，即为生物素标准曲线工作液。
取10个1.5 mL（或2mL）无菌离心管，按表1配制系列浓度标准溶液，混匀后备用。

表1标准曲线系列离心管

离心管号	UN	IN	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8
生物素含量/ng	0.0	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.8	1.0
无菌水/ μL	1000	1000	900	800	700	600	500	400	200	0
标准曲线工作液/ μL	0	0	100	200	300	400	500	600	800	1000

8. 试样系列离心管制备

- 8.1 试样按照GB 5009.259-2023对应的步骤“12.2”进行提取和稀释。
8.2 将制备好的试样提取液在无菌条件下用0.22 μm 无菌水相滤膜过滤，按照表2顺序制备试样系列离心管，混匀后备用。

表2 试样系列离心管

离心管号	1	2	3	4
无菌水/ μL	800	600	400	200
试样提取液/ μL	200	400	600	800

9. 检测步骤（无菌操作）

9.1 取出无菌微孔板，记录板孔位置，标准溶液和试样提取液做3孔平行试验，另外准备1孔加入150 μL无菌水作为未接种空白孔(UN)。

9.2 在每个微孔中加入150 μL制备好的生物素测定培养基(6.3)，其中未接种空白孔（UN）加入150 μL未接种空白孔用培养基(6.2)。

9.3 吸取150 μL标准曲线系列离心管和试样系列离心管至指定微孔中。

9.4 用封板膜密封微孔条上的各个微孔，按压封板膜，保证各个微孔充分密闭（特别注意微孔的边缘部分）。

10. 培养

置于36°C±1°C恒温培养箱中避光培养40h-48h。

11. 测定

11.1 取出微孔板，再次按压封板膜，保证封板膜充分密封各个微孔，反复颠倒振荡，使微生物充分混匀。

11.2 对角揭开封板膜，用针刺破各微孔表面的气泡。

11.3 用酶标仪在540nm~550nm或610nm~630nm处测定吸光度值。

未接种空白孔（UN）吸光度值应小于0.1，否则测定无效。

12. 分析结果表述

按照国标GB 5009.259.2023中“13 分析结果的表述”进行结果分析。

12.1 标准曲线：以生物素标准品的浓度为横坐标，吸光度为纵坐标，绘制标准曲线。

12.2 试样结果计算：

试样提取液生物素浓度按式（1）计算：

$$\rho_x = \frac{c_x}{V_x} \quad \dots\dots\dots (1)$$

ρ_x —— 试样提取液生物素的浓度ng/mL；

c_x —— 从标准曲线上查得试样系列管中生物素的含量 ng；

V_x —— 制备试样系列管时吸取的试样提取体积 mL。

试样生物素的含量按式（2）计算：

$$X = \frac{\rho \times V}{m} \times \frac{V_1}{V_2} \times f \times \frac{100}{1000} \quad \dots\dots\dots (2)$$

X —— 试样中生物素的含量μg/100 g(mL)；

ρ —— 计算所得的试样提取液中生物素浓度的平均值，ng/mL；

V —— 试样提取液的定容体积 mL；

m —— 试样的质量或体积 g或mL；

V_1 —— 过滤前的定容体积 mL；

V_2 —— 过滤后吸取滤液的体积 mL

f —— 试样提取液稀释倍数

100 —— 换算系数；

1000 —— 换算系数。

结果保留三位有效数字。

北京陆桥技术股份有限公司

地址：北京市朝阳区高碑店北路甲3号（100123）

山东：青岛市市北区台柳路177号和达中心A座703室（266033）

广东：广州市番禺区石北工业路金河产业园A栋东4楼（511400）

东北：哈尔滨市松北区科技创新城创新一路2727号国乳中心808室

成都：四川省成都高新西区中海国际橙郡一期1栋1单元204（610096）

上海：上海市漕河泾松江新兴产业园区研展路455号B座4层406室

销售热线：010-51203999 0532-82689263

020-38011430 0451-87821139

网 址：www.beijinglandbridge.com

E- mail: tech_e@beijinglandbridge.com