

泛酸微孔板法即用型试剂盒

(产品货号: GVT2004)

版本GPAT [01]10.23

1. 简介

本产品是根据国标GB 5009.210-2023《食品安全国家标准 食品中泛酸的测定》“第三法 微生物法”研制的泛酸检测即用型试剂盒, 每盒产品包含3套试剂。

2. 检测原理

泛酸是植物乳植杆菌*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), 根据泛酸含量与透光率(或吸光度值)的标准曲线计算出试样中泛酸的含量。

3. 套装组成

泛酸标准品(冻干)	3瓶	无菌水(30mL)	3瓶
泛酸检测菌球(冻干)	3瓶	无菌96孔微孔板	3块
泛酸测定培养基添加剂(冻干)	3瓶	封板膜	3片
泛酸测定培养基基础(20 mL)	3瓶		

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℃±1℃	5.7 三角瓶和容量瓶
5.3 酶标仪(540nm~660nm)	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 制备泛酸测定培养基: 取1支泛酸测定培养基添加剂加入20 mL泛酸测定培养基基础中, 混匀。

6.2 不接种0对照孔用培养基: 取上述培养基200 μL于1.5 mL无菌离心管中备用。

6.3 接种泛酸测定培养基: 取1支泛酸检测菌球, 加入制备好的泛酸测定培养基(6.1)中, 混匀。

7. 标准系列管制备(无菌操作):

准确吸取1.5 mL无菌水于泛酸标准品中, 溶解后充分混匀。取1 mL加入4 mL无菌水中, 混匀, 即为泛酸标准曲线工作液。取11个1.5 mL(或2 mL)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

标准品管编号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11
泛酸浓度/(ng/mL)	0.00	2.00	4.00	6.00	8.00	10.0	12.0	14.0	16.0	18.0	20.0
无菌水/μL	500	450	400	350	300	250	200	150	100	50.0	0
标准工作液/μL	0	50.0	100	150	200	250	300	350	400	450	500

8. 试样系列离心管制备

8.1 试样按照GB 5009.210-2023对应的步骤“20.1-20.3”进行制备、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 试样或酶空白系列离心管

试管编号	1	2	3	4
试样稀释液或酶空白液(v _x /μL)	100	200	300	400
无菌水/μL	400	300	200	100

9. 检测步骤(无菌操作)

9.1 取出无菌微孔板, 记录板孔位置, 标准溶液做2~3孔平行试验, 另外准备1孔加入150 μL无菌水作为不接种0对照孔。

9.2 在每个微孔中加入150 μL制备好的泛酸测定培养基(6.3), 其中不接种0对照孔加入150 μL不接种0对照孔用培养基(6.2)。

9.3 吸取150 μL标准曲线系列离心管、试样或酶空白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℃±1℃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550nm处测定吸光度值。

注：有以下任一情形终止测定：接种的0对照管有明显的菌增长；与0对照管相比，标准0管吸光度值 > 0.3；与标准0管相比，标准系列管吸光度值变化量 < 0.4。

12. 分析结果表述

按照国标GB 5009.259.2023中“21 分析结果表述”进行结果分析。

12.1标准曲线：以泛酸浓度为横坐标，每个标准点吸光度值为纵坐标，绘制标准曲线，拟合四参数曲线方程。

12.2试样结果计算：

试样稀释液泛酸质量浓度及其平均值按式（1）、式（2）计算

$$c_i = c_x \times \frac{V_s}{V_x} \quad \text{..... (1)}$$

$$\bar{c} = \frac{\sum_{i=1}^n c_i}{n} \quad \text{..... (2)}$$

式中：

c_i —— 试样稀释液泛酸质量浓度ng/mL；

c_x —— 由标准曲线计算得到的试样系列管中泛酸质量浓度ng/mL；

$\frac{V_s}{V_x}$ —— 制备试样系列管时最终体积与吸取的试样稀释液体积比；

$\bar{c}$ —— 试样稀释液泛酸质量浓度ng/mL；

$\sum_{i=1}^n c_i$ —— 由有效管计算的试样稀释液质量浓度和ng/mL；

n —— 有效管个数。

采用直接提取法的试样按式（3）计算泛酸含量：

$$X = \frac{\bar{c} \times V \times f}{m} \times \frac{100}{10^6} \quad \text{..... (3)}$$

X —— 试样中泛酸含量mg/100 g；

$\bar{c}$ —— 试样稀释液泛酸质量浓度均值 ng/mL；

V —— 试样提取液定容体积 mL；

f —— 试样提取液稀释倍数；

m —— 试样的质量g；

$\frac{100}{10^6}$ —— 试样的质量g；

采用酶解法提取法的试样按式（4）计算泛酸含量：

$$X = \frac{(\bar{c} - \bar{c}_0) \times V}{m} \times \frac{V_2 \times V_4}{V_1 \times V_3} \times f \times \frac{100}{10^6}$$

式中：

X —— 试样中泛酸含量mg/100 g；

$\bar{c}$ —— 试样稀释液泛酸质量浓度均值 ng/mL；

$\bar{c}_0$ —— 酶空白液中泛酸质量浓度均值 ng/mL；

V_2 、 V_4 —— 调节pH后定容体积mL；

V_1 、 V_3 —— 调节pH时吸取的试样提取液mL；

f —— 试样提取液稀释倍数；

m —— 试样的质量g；

$\frac{100}{10^6}$ —— 试样的质量g；

结果保留3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