



RIDA® Колонки для афлатоксина

Арт. No. R5001 (10 шт/уп)

Арт. No. R5002 (50 шт/уп)

Иммуноаффинные колонки для очистки образцов
перед анализом афлатоксинов B1, B2, G1, G2

Анализ in vitro

Хранить при 2-8°C

Пожалуйста, обращайтесь по вопросам технической поддержки и дополнительной информации к официальным дистрибьюторам на территории Вашей страны:

**Официальный дистрибьютор
в России:**

ООО "НеоТест"

ул. Растопчина, 1Г, г. Владимир

+7 499 649 02 01

info@neo-test.ru

www.neo-test.ru

Техническая поддержка

support@neo-test.ru

+7 499 704 05 50



**Официальный дистрибьютор
в Беларуси:**

ОДО "КомПродСервис"

ул. Филимонова, 25Г, г. Минск

+375 17 336 50 54

info@komprod.com

www.komprod.com

Техническая поддержка

support@komprod.com

+375 17 336 50 54



RIDA® и RIDASCREEN®

являются зарегистрированными торговыми марками R-Biopharm AG.

Производитель: R-Biopharm AG, Дармштадт, Германия

R-Biopharm AG имеет сертификат ISO 9001.

RIDA® and RIDASCREEN®

are registered trademarks of R-Biopharm AG

Manufacturer: R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany

R-Biopharm AG is ISO 9001 certified.

RIDA® Колонки для афлатоксина

Описание

Колонка RIDA® Aflatoxin (Арт. №: R5001 / R5002) представляет собой иммуноаффинную колонку для очистки образцов перед анализом афлатоксинов В1, В2, G1, G2 в пищевых продуктах и кормах. Колонки также подходят для очистки сложных образцов, таких как орехи, травы, специи и чайные листья.

R5001 содержит 10 иммуноаффинных одноразовых колонок.

R5002 содержит 50 иммуноаффинных одноразовых колонок.

Матрикс:	Сефароза
Антитела:	моноклональные антитела конъюгированные с Сефарозой
Скорость потока:	1 капля/секунда
Предел обнаружения: (соответствует стандартному веществу)	зависит от используемого объема образца и метода определения. Например, для зелени, специй и чайных листьев, проанализированных RIDASCREEN® Aflatoxin Total, лимит приблизительно 250 нг/кг (ppt)
Емкость колонки:	приблизительно 40 нг афлатоксина
Степень извлечения:	приблизительно 70 - 110 %

1. Общая информация

RIDA® Aflatoxin column можно использовать в сочетании с иммуноферментным анализом RIDASCREEN® Aflatoxin Total (R4701) для количественного определения афлатоксинов В1, В2, G1, G2. Подготовка проб с помощью иммуноаффинных колонок упрощает и улучшает процедуру очистки образца. В результате получают чистые экстракты, которые можно анализировать различными методами.

2. Принцип работы колонки

В основе функционирования колонки лежит реакция антиген-антитело. Колонка содержит суспензию геля с ковалентно связанными антителами. Антитела, связанные с колонкой, специфичны в отношении афлатоксинов В1, В2, G1, G2.

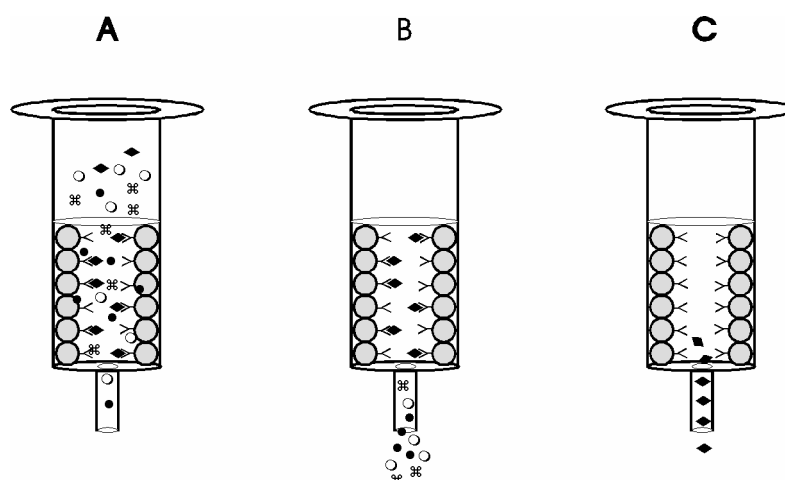


Рис.1: Принцип работы иммуноаффинной колонки

A: Образец был нанесен и прошел сквозь колонку. Если афлатоксины присутствуют в образце, они будут связываться с моноклональными антителами, локализованными на колонке.

B: Все остальные вещества не будут задерживаться на колонке.

C: Для элюции используйте метанол. Метанол вызывает денатурацию антител и приводит к высвобождению афлатоксинов из комплекса антиген-антитело. Следовательно, афлатоксины не задерживаются в колонке и могут быть элюированы.

3. Состав набора

Каждый набор содержит 10 или 50 иммуноаффинных колонок соответственно 10 или 50 образцов может быть обработано (один образец на одну колонку).

4. Необходимые материалы, которые не входят в состав набора

4.1. Оборудование

- лабораторные весы
- мельница для измельчения
- шейкер
- магнитная мешалка
- фильтры из рифленой бумаги
- пластиковые шприцы (для заполнения образцом)
- опционально: вакуумный блок для одновременного использования нескольких колонок
- градуированные пипетки
- микропипетки с переменным объемом 20 - 200 мкл и 200 - 1000 мкл

4.2. Реактивы

- метанол
- Твин 20
- дистиллированная/деионизированная вода

5. Предупреждения и меры предосторожности

Колонки должны использоваться только обученными сотрудниками лаборатории.

Инструкция по применению должна строго соблюдаться.

Будьте внимательны: афлатоксины являются токсичными и канцерогенными веществами.

Избегайте контакта образца или экстракта из образца с кожей, используйте для работы перчатки.

Лучше всего проводить дезактивацию стеклянной посуды и растворов, содержащих токсины используя раствор гипохлорита натрия (отбеливатель) (10% об./об.) в течение ночи (доведите pH раствора до 7 с помощью HCl).

6. Инструкция по хранению

Храните иммуноаффинные колонки при 2 - 8 °C – НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ.

Неиспользованные колонки упакуйте в оригинальный пакет из фольги и храните при 2 - 8 °C.

Гарантия качества не действует после истечения срока годности, указанного на этикетке набора.

7. Подготовка образцов

Образцы должны храниться в прохладном месте, защищенном от света.

Афлатоксины чувствительны к свету, поэтому избегайте прямого воздействия света на образцы и экстракты из образцов.

В соответствии с протоколами экстракции (п. 7.1. и п. 7.2.), приведенными ниже, объем пробы, прошедшей через колонку, эквивалентен 1 г исходного продукта. Предел обнаружения зависит от аналитического метода и может варьировать в сторону увеличения или уменьшения.

7.1. Корм и орехи

- добавить 5 г измельченного образца к 25 мл метанола (70%)
- экстрагировать, перемешивая на магнитной мешалке или аккуратно встряхивая смесь в течение 10 минут
- отфильтровать экстракт через фильтр из рифленой бумаги
- добавить 15 мл дистиллированной воды к 5 мл отфильтрованного раствора
- пропустить раствор образца (20 мл, эквивалентно 1 г образца) через колонку

7.2. Травы, специи и чайные листья

- добавить 5 г измельченного образца к 25 мл метанола (70%)
- экстрагировать, перемешивая на магнитной мешалке или аккуратно встряхивая смесь в течение 10 минут
- отфильтровать экстракт через фильтр из рифленой бумаги
- добавить 15 мл дистиллированной воды к 5 мл отфильтрованного раствора
- добавить 0,25 мл Твин 20 и перемешать в течение 2 мин.
- пропустить раствор образца (примерно 20 мл) через колонку

8. Разделение с помощью RIDA® Aflatoxin column

8.1. Предварительные комментарии

Перед использованием колонок нагрейте их до комнатной температуры (20 - 25 °C).

Колонки поставляются без адаптера для резервуара для образца.

Колонки с обоих концов закрыты заглушками, которые должны быть удалены перед использованием колонок. Буфер для хранения удаляется из колонки в ходе первого этапа промывки колонки. Колонки не должны высыхать во время использования. Исключения см. п. 8.2 (удаление остаточной жидкости из колонки до элюирования и полное удаление остаточной жидкости после элюирования). Чрезмерное давление на колонне или чрезмерный вакуум в вакуумной установке может вызвать деформацию геля и, следовательно, низкое разделение.

8.2. Очистка афлатоксинов

Не дайте колонкам высохнуть!

1. уравновесьте колонку 2 мл дистиллированной воды
2. заполните колонку приблизительно 1 мл приготовленного экстракта образца
3. заполните шприц оставшимся раствором экстракта образца
4. создавая положительное давление с помощью шприца (или отрицательное с помощью вакуумного устройства), медленно и непрерывно пропустите экстракт образца через колонку (скорость потока: примерно 1 капля/сек)
5. отбросьте раствор, прошедший через колонку
6. промойте колонку 10 мл дистиллированной воды
7. отбросьте раствор, прошедший через колонку
9. пропустите немного воздуха через колонку (или втяните немного воздуха с помощью легкого вакуума), в течение примерно 10 секунд, чтобы убедиться, что все остатки жидкости были удалены из колонки
10. выньте шприц и поместите чистый, закрывающийся флакон прямо под колонкой
11. элюируйте афлатоксины 0,5 мл метанола (100%); метанол должен медленно проходить через колонку (скорость потока: приблизительно 1 капля/сек), чтобы гарантировать полное вымывание афлатоксинов
12. если элюент прошел слишком быстро (быстрее, чем 10 секунд), соберите элюант и пропустите его через колонку еще раз
13. соберите остатки элюата, тщательно продавливая воздух через колонку или втягивая воздух с помощью вакуума в течение 30 сек
14. определите афлатоксины с помощью RIDASCREEN® Aflatoxin Total (см. п. 9.1.)

8.2.1 Рекомендации по очистке афлатоксинов в экстракте из орехов

- уравновесьте колонку, промыв ее 2 мл дист. воды;
- заполните колонку примерно 1 мл разбавленного экстракта образца;
- медленно пропустите образец (1 капля/сек) через колонку;
- промойте колонку, пропустив через нее 10 мл дистиллированной воды;
- пропустите через колонку воздух, чтобы удалить жидкость из колонки;
- выбросьте собранные растворы и поместите новую пробирку под колонку;
- элюируйте 1 мл метанола (100 %) со скоростью потока 1 капля/сек;
- пропустите воздух через колонку, чтобы собрать всю жидкость из колонки;
- смешайте элюированную фракцию;

- разбавьте 1:3 (1 + 2) дист. водой (например: 1 мл элюированного образца + 2 мл дист. воды);
- для определения афлатоксинов используйте RIDASCREEN® Aflatoxin B1 30/15.

Поскольку стандартная кривая RIDASCREEN® Aflatoxin B1 30/15 строится с учетом фактора разбавления 10, для получения окончательного коэффициента расчета, фактор разбавления, полученный в результате очистки, должен быть умножен соответственно на 0,1.

Пример:

Коэффициент разбавления процедуры очистки (конечный объем/очищенный образец): 3 мл/1 г = 3

Расчетный коэффициент: 0,1 x 3 = 0,3

Предел обнаружения (std 2) 0,3 мкг/л (ppb)

8.2.2 Рекомендации по очистке афлатоксинов в экстракте из зеленого кофе

1. добавьте 25 мл метанола (70 %) к 5 г измельченного образца и экстрагируйте путем перемешивания (магнитной мешалкой) или плавным встряхиванием в течение 10 мин;

2. центрифугируйте экстракт в течение короткого времени: 5 мин / 4000 г;

3. осаждение по Каррезу:

a. добавьте 250 мкл Carrez I (0,36 М ферроцианид калия (II) x 3 H₂O), быстро и не сильно встряхните (реагент должен перемешиваться без сильного завихрения центрифугированного материала)

b. добавьте 250 мкл Carrez II (1,04 М сульфат цинка x 7 H₂O) и снова быстро перемешайте;

4. центрифугируйте: 10 мин / 4000 г (альтернативный вариант - фильтрация через бумажный фильтр);

5. добавьте 15 мл дистиллированной воды к 5 мл фильтрата, и полностью заполните колонку подготовленным раствором образца (20 мл соответствует 1 г образца);

a. промойте колонку 2 мл дистиллированной воды;

b. пропустите разбавленный экстракт образца через колонку со скоростью потока прилб. 1 капля/сек, экстракт образца должен проходить через колонку медленно и постоянно (используйте положительное давление с помощью шприца или абсорбент при использовании вакуумной установки);

c. промыть колонку 10 мл дистиллированной воды и выбросить прошедший раствор;

d. пропустите немного воздуха через колонку, создав отрицательное давление с помощью вакуумной установки, чтобы убедиться, что вся остаточная жидкость будет удалена из колонки;

e. поместите чистую пробирку непосредственно под колонку и элюируйте афлатоксин 0,5 мл метанола (100 %) (скорость потока: 1 капля/сек);

f. продавите немного воздуха через колонку, чтобы убедиться, что элюент собран полностью

6. разбавьте элюент, содержащий токсин, 1:10 дистиллированной водой;

7. используйте 50 мкл на лунку в анализе RIDASCREEN® Aflatoxin Total.

Примечание:

Диапазон обнаружения для RIDASCREEN® Aflatoxin Total Test: 5 0.25 - 20.25 ppb

Фактор разбавления: 5

9. Обнаружение и количественное определение

9.1. RIDASCREEN® Aflatoxin Total (R4701)

- разбавьте элюат, содержащий токсин, дистиллированной водой 1:10 (1+9) (например, 50 мкл элюата + 450 мкл дистиллированной воды)

- в анализе используйте полученный раствор в количестве 50 мкл/лунка

Пожалуйста, обратите внимание:

Чтобы получить концентрацию афлатоксина, фактически содержащуюся в образце, концентрация, считанная с калибровочной кривой, должна быть умножена на соответствующий коэффициент разбавления.

При работе в соответствии с протоколом, приведенным в п. 7.1. и п. 7.2., результирующий коэффициент разбавления равен 5. Диапазон стандартной кривой для RIDASCREEN® Aflatoxin Total составляет от 0,250 до 20,25 мкг/кг (ppb) афлатоксина; предел обнаружения: 0,250 ppb.

В случае высокого содержания афлатоксинов необходимо дальнейшее разбавление образца. Это разбавление должно быть выполнено дистиллированной водой, содержащей 10% метанола (например, 9 мл дист. воды + 1 мл метанола 100%).

Для использования в RIDASCREEN® Aflatoxin Total все образцы должны быть разбавлены в дистиллированной воде с 10% содержанием метанолом.

Для улучшения предела обнаружения через колонку пропускают объем экстракта, соответствующий более чем 1 г исходного материала. Например, для

2 г экстракта коэффициент разбавления составляет 2,5, а для 4 г экстракта – 1.25. Диапазон измерения и предел обнаружения набора варьируют соответственно.

Замечания по хранению образцов и экстрактов образцов:

1. Первичный материал всегда должен храниться в холодильнике, сухим, защищенным от света и хорошо упакованным

2. Метанольные элюаты: храните элюат в прохладном, защищенном от света месте. В замороженных и защищенных условиях элюат может храниться от 2 до 3 месяцев.

Предоставляемые данные соответствуют нашему текущему состоянию технологий и дают информацию о наших продуктах и их использованию. R-Biopharm не дает никаких гарантий, явных или подразумеваемых, за исключением того, что материалы, из которых произведена продукция, стандартного качества. Дефектные продукты будут заменены. R-Biopharm не несет ответственности за любой ущерб, включая специальный или косвенный ущерб, или расходы, возникающие непосредственно или косвенно от использования этого продукта.

Данные соответствуют нашему нынешнему состоянию технологий и предоставляют информацию о наших продуктах и их использовании. R-Biopharm не дает никаких гарантий, явных или подразумеваемых, за исключением того, что материалы, из которых изготовлены ее продукты, имеют стандартное качество. Дефектные продукты будут заменены. Нет никаких гарантий товарной пригодности этого продукта или пригодности продукта для каких-либо целей. R-Биофарм не несет ответственности за любой ущерб, в том числе фактический или косвенный ущерб, или расходы, возникшие прямо или косвенно от использования этого продукта.