

RP91RP90/V21/01.10.21

EASI-EXTRACT® Зеараленон

Арт. No. RP91 / RP90

Иммуноаффинные колонки для использования вместе
с ВЭЖХ или ЖХ-МС/МС

Только для использования *in vitro*



R-BIOPHARM
RHÔNE LTD

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



EASI-EXTRACT® Зеараленон

Принцип работы

Принцип работы основан на использовании моноклональных антител, которые обеспечивают высокую специфичность, чувствительность, скорость и простоту выполнения процедуры.

Колонка содержит гель, насыщенный моноклональными антителами специфичными в отношении искомого токсина. Токсин экстрагируется из образца, фильтруется, разводится и медленно пропускается через иммуноаффинную колонку. Токсин, присутствующий в образце, задерживается антителами и остается внутри геля. Колонка промывается для удаления не связавшихся компонентов, затем токсин элюируется из колонки растворителем. Элюат собирается, растворитель выпаривается, образец восстанавливается. Далее образец анализируют ВЭЖХ или ЖХ-МС/МС.

Процедура экстракции и очистки занимает примерно 20 минут. Результат – высокая чистота и концентрация токсинов, экстрагированных из пищи и кормов, что дает более четкую хроматограмму и, следовательно, обеспечивает более точную и чувствительную детекцию токсина в продукте. При большом количестве образцов работу с колонками можно автоматизировать.

Необходимые, но не предоставленные реагенты

- дистиллированная/деионизированная вода (вода пригодная для использования в ВЭЖХ, например MilliQ);
- растворители (метанол или ацетонитрил, чистота – HPLC grade);
- стандарт зеараленона (см. раздел подготовка стандартов);
- раствор фосфатно-солевого буфера (ФСБ) (RP202*);
- гидроксид натрия.

Вспомогательные материалы

- Whatman № 113 или фильтровальная бумага № 4;
- фильтровальная бумага из стекловолокна;
- стойка для иммуноаффинных колонок (CR1*);
- набор аксессуаров для иммуноаффинных колонок (AP01*);

* – продукты доступные в R-Biopharm. Пожалуйста, для получения дополнительной информации и приобретения свяжитесь с местным дистрибьютером.

Меры предосторожности

Микотоксины являются очень опасными веществами. Только лаборатории, оснащенные для работы с токсическими веществами и растворителями, должны проводить анализ на микотоксины. Соответствующая

защитная одежда, включающая перчатки, защитные очки и лабораторные накидки должна использоваться в ходе проведения анализа. Работы должны выполняться в вытяжном шкафу с использованием защитного экрана. Огнеопасные растворители должны храниться в специальной комнате, при соблюдении правил хранения огне- и взрывоопасных веществ.

Для получения дополнительной информации и Листков безопасности (MSDS) свяжитесь с местным дистрибьютером R-Biopharm.

Методы использования и рекомендации

Методы, изложенные в инструкции, применимы для широкого спектра образцов. Пожалуйста, для получения дополнительной информации свяжитесь с местным дистрибьютером.

Деконтаминация

Перед утилизацией, оставшиеся после анализа стандартные растворы, должны быть обработаны 5% гипохлоритом натрия, минимальное соотношение стандартного раствора и 5% гипохлорита натрия 10:1. Лабораторное оборудование и загрязненные отходы должны быть погружены в 5% раствор гипохлорита натрия на 30 мин и затем в 5% ацетон на 30 мин, далее загрязненные предметы необходимо обильно сполоснуть водой. После деконтаминации лабораторное оборудование необходимо тщательно вымыть. Отходы, при наличии соответствующего разрешения, сожгите.

Условия и сроки хранения

Колонки могут использоваться на протяжении 18 месяцев с даты их производства, если хранятся при 2-8°C или 12 месяцев с даты их производства, если хранятся при 21-25°C. Колонки нельзя замораживать. Убедитесь, что колонка в процессе хранения не высохла и содержит буфер над гелем. Важно заметить, что антитела, входящие в состав колонки могут быть денатурированы, если колонка подвергалась воздействию экстремальных температур или pH.

Образцы

Представленные образцы должны быть получены в ходе официально установленной процедуры. Рекомендуется, как минимум 1 кг представленного образца измельчить и отобрать порцию (10-50 г в зависимости от используемого метода) для экстракции.

Чувствительность

Чувствительность метода зависит от чувствительности оборудования, на котором выполняется анализ. Тем не менее, чувствительность теста может быть улучшена, если увеличить объем образца пропускаемого через

иммуноаффинную колонку. Пожалуйста, обратите внимание, что необходимо поддерживать соотношение растворителя и ФСБ.

Степень извлечения материала

Если необходимо учесть потери при проведении экстракции токсинов из определенного образца, рекомендуется в качестве референс стандарта использовать, контаминированный спайк-раствором, заведомо чистый аналогичный образец. Степень извлечения, обнаруженная в ходе анализа контаминированного референс образца, может быть использована при корректировке результатов анализа неизвестных образцов.

Подготовка колонки

Перед использованием температуру иммуноаффинной колонки необходимо довести до температуры окружающей среды. Удалите крышку с верхней части колонки, срезав запечатанный конец. Надежно прикрепите колонку к цилиндру стеклянного шприца и поместите в подставку или стойку для иммуноаффинных колонок.

Элюция

Для полного удаления токсина из иммуноаффинной колонки необходимо, чтобы растворитель контактировал с антителами, расположенными внутри геля колонки, достаточный период времени. Это гарантирует разрушение всех связей между антителами и молекулами токсина и, следовательно, полное извлечение связанного токсина.

Для увеличения времени контакта растворителя и геля можно использовать следующие методы:

Обратная промывка (метод рекомендуемый производителем): Обратная промывка выполняется путем аккуратного нажатия и вытягивания поршня шприца при пропускании растворителя через колонку. Направление этого процесса будет обратным направлению движения элюата. Обратную промывку нужно повторить три раза.

Использование малых объемов растворителя: разделите объем растворителя, наносимый для элюирования, на две или три части (аликвоты). Пусть каждая аликвота остается в контакте с гелевой суспензией в течение как минимум 30 секунд, прежде чем дать растворителю пройти через гель. Перейдите к следующему шагу в выполнении метода.

Инкубация с растворителем: нанесите растворитель, в объеме необходимом для элюирования, дайте 2-3 каплям растворителя пройти через



колонку. Пусть оставшийся растворитель остается в контакте с гелевой суспензией в течение как минимум 60 секунд, прежде чем дать ему возможность пройти через гель. Перейдите к следующему шагу в выполнении метода.

Пробоподготовка

- зерновые и корма для животных

Метод был протестирован на пшенице, ячмене, маисе, а также на продуктах, основанных на зерновых культурах.

1. Взвесьте 25 г измельченного образца в емкости блендера объемом 1 л, резистентной к действию растворителя.

2. Добавьте 125 мл 75% ацетонитрила и перемешайте на большой скорости в течение 2 минут.

3. Профильтруйте образец через Whatman №113 или №4 или центрифугируйте при 4000 об/мин в течение 10 мин.

4. Смешайте 20 мл фильтрата с 80 мл фосфатно-солевого буфера.

5. Доведите pH раствора до 7,4 используя 2 М раствор гидроксида натрия.

6. Пропустите 25 мл фильтрата (эквивалентного 1 г образца) через колонку при скорости потока 2 мл/мин (также можно позволить фильтрату двигаться через колонку за счет действия силы тяжести). Медленный, стабильный поток фильтрата необходим для захвата токсина антителами.

7. Промойте колонку, пропуская через нее 20 мл фосфатно-солевого буфера при скорости потока 5 мл/мин. Пропустите через колонку воздух для удаления остатков жидкости.

8. Элюируйте токсин из колонки при скорости потока 1 капля/сек используя 1,5 мл 100 % ацетонитрила и соберите элюат в темную стеклянную емкость. Рекомендуется провести обратную промывку колонки, как это описано в соответствующем разделе инструкции.

9. После элюции пропустите через колонку 1,5 мл воды и соберите ее в ту же емкость, получив общий объем равный 3 мл.

10. Введите 100 мкл элюата в ВЭЖХ систему.

Подготовка стандартов

Приготовление стокового раствора зеараленона в концентрации 1000 нг/мл:

1. Можно приобрести кристаллический порошок зеараленона. Для этого свяжитесь с местным дистрибьютором R-Biopharm для получения дальнейшей информации. Порошок необходимо подготовить в соответствии с инструкцией и оставить в темноте при комнатной температуре для получения раствора стоковой концентрации.

2. Полученный раствор можно использовать для приготовления раствора содержащего зеараленон в концентрации 1000 нг/мл.

Калибровочная кривая

Рекомендуется строить калибровочную кривую с использованием как минимум 3-6 точек. Диапазон калибровочных стандартов должен включать значения ожидаемых результатов. Растворы стандартов должны быть приготовлены непосредственно в день анализа и использоваться в течение 24 часов.

Чтобы подготовить калибровочную кривую по четырем точкам:

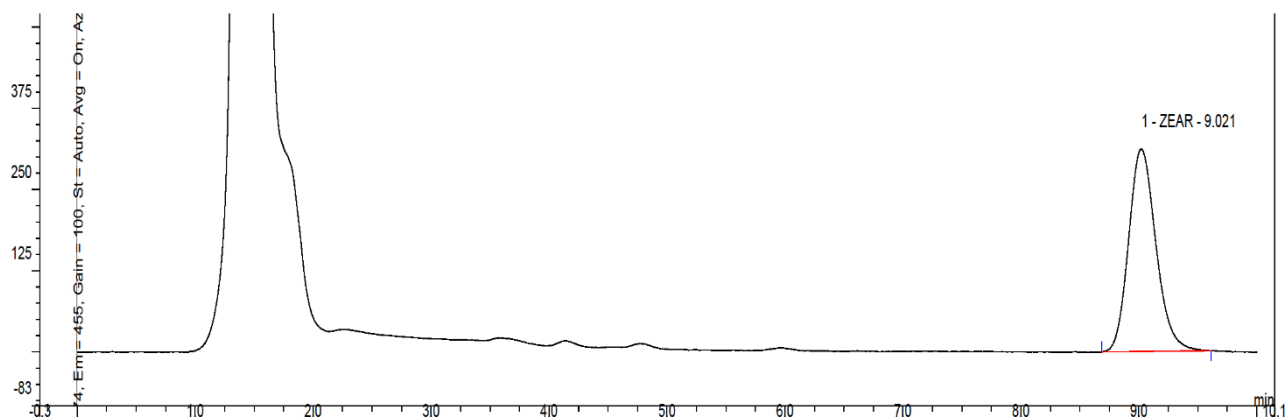
1. Разведите сток-раствор 100% ацетонитрилом до концентрации 1000 нг/мл. Полученный раствор можно хранить 6 месяцев при 2-8° С.
2. Возьмите 1,8 мл 1000 нг/мл раствора зеараленона и добавьте 1,2 мл 100% ацетонитрила для получения концентрации 600 нг/мл.
3. Стандарт 4. Возьмите 2 мл раствора 600 нг/мл, добавьте 2 мл воды для получения концентрации 300 нг/мл.
4. Стандарт 3. Возьмите 2 мл раствора 300 нг/мл, добавьте 2 мл 50% ацетонитрила для получения концентрации 150 нг/мл.
5. Стандарт 2. Возьмите 2 мл раствора 150 нг/мл, добавьте 2 мл 50% ацетонитрила для получения концентрации 75 нг/мл.
6. Стандарт 1. Возьмите 2 мл раствора 75 нг/мл, добавьте 2 мл 50% ацетонитрила для получения концентрации 37,5 нг/мл.
7. Введите 100 мкл стандарта в ВЭЖХ.

Рекомендуемые условия ВЭЖХ

Условия ВЭЖХ	
Защитный картридж (Guard Cartridge)	Inertsil ODS-3 5 мкм, 4 мм x 10 мм (Hichrom) или аналогичный
Аналитическая колонка	Inertsil ODS-3V 5 мкм, 4,6 мм x 150 мм (Hichrom) или аналогичный
Мобильная фаза	Ацетонитрил : Вода : Метанол (46:46:8 v/v/v) Готовить в день анализа
Насос HPLC	Для доставки мобильной фазы
Скорость потока	1 мл/мин
Флуоресцентный детектор	Возбуждение: 274 нм Испускание: 455 нм
Нагреватель колонки	Поддерживающий картридж (maintain guard) и аналитическую колонку до 40°C
Интегратор/Система управления данными	По предпочтению потребителя
Инжектор	Автосамплер/клапан Rheodyne
Вводимый объем	100 мкл

Пример хроматограммы корма для животных (100 ppb):

- **Злаковые**



Качество

Продукты R-Biopharm разработаны, произведены, протестированы и отправлены в соответствии с системой управления качеством ISO 9001, гарантирующей постоянство качества изделия. Наши изделия использовались во многих исследованиях, лежащих в основе разработки европейских и международных стандартных методов, и широко используются ключевыми институтами, пищевыми компаниями и правительственными лабораториями. Отзывы потребителей R-Biopharm доступны по запросу.

Техническая поддержка

R-Biopharm понимает, что время от времени, пользователи нашей продукции могут нуждаться в помощи или совете. Следовательно, мы с удовольствием предлагаем следующие сервисы для наших пользователей.

1. Анализ проблем с образцами.
2. Практические рекомендации по работе со сложными образцами.
3. Доступ к библиотеке R-Biopharm.
4. Инсталляция и поддержка KOBRA®CELL.
5. Советы по параметрам детекции.
6. Советы по приготовлению стандартов.
7. Информирование об изменениях в законодательстве, пробоподготовке или других новостях по e-mail.
8. Обеспечение спайкованными образцами.

Для получения дополнительной информации свяжитесь с местным дистрибьютером R-Biopharm.

**Официальный дистрибьютор
в России:
ООО "НеоТест"**

Техническая поддержка
support@neo-test.ru
+7 499 704 05 50

**Официальный дистрибьютор
в Беларуси:
ОДО "КомПродСервис"**

Техническая поддержка
support@komprod.com
+375 17 336 50 54

Гарантия

R-Biopharm не дает никаких гарантий, явных или подразумеваемых, за исключением того, что все изделия произведены R-Biopharm. Материалы, из которых произведена продукция, соответствующего качества. Дефектные продукты будут заменены. Потребитель берет на себя все риски и ответственность за использование изделий и процедур предлагаемых R-Biopharm. R-Biopharm не несет ответственности за любой ущерб, включая специальный или косвенный ущерб, или расходы, возникающие непосредственно или косвенно от использования продукта и процедур R-Biopharm.