

RIDA[®] Aflatoxin column

Colonne di immunoaffinità per la preparazione dei campioni
prima dell'analisi di aflatossine

Art. No.: R5001

Art. No.: R5002

Test in vitro

Conservare a 2 - 8 °C

R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany

Tel.: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Telefax: +49 (0) 61 51 81 02-20

Prodotto da:

R-Biopharm AG
An der neuen Bergstraße 17
D-64297 Darmstadt
www.r-biopharm.de

Per informazioni:

Telefono:

Centralino (0 61 51) 81 02-0

Telefax / E-Mail:

Ordini (0 61 51) 81 02-20
orders@r-biopharm.de

Marketing

(0 61 51) 81 02-40
info@r-biopharm.de

Distribuito da:

R-Biopharm Italia Srl
Via Morandi 10
20077 Melegnano MI
Telefono 02 9823 3330

info@r-biopharm.it – www.r-biopharm.com

RIDA[®] e RIDASCREEN[®]
sono marchi registrati della R-BIOPHARM AG
Produttore: R-BIOPHARM AG, Darmstadt, Germania

R-BIOPHARM AG è certificata ISO 9001.

RIDA[®] Aflatoxin column

Introduzione

RIDA[®] Aflatoxin Column (Cod. R5001 / R5002) sono colonne di immunoaffinità per la preparazione dei campioni prima dell'analisi delle aflatossine B₁, B₂, G₁, G₂ e M₁ negli alimenti e nei mangimi.

Sono particolarmente indicate per la purificazione di campioni difficili quali noci, erbe, spezie e foglie di tè.

R5001 contiene 10 colonne di immunoaffinità monouso.

R5002 contiene 50 colonne di immunoaffinità monouso.

Sospensione di gel:	Sefarosio
Anticorpi:	anticorpi monoclonali coniugati a Sefarosio
Flusso:	1 goccia/sec
Limite di determinazione: (corrispondente alla sostanza standard)	in funzione del volume di campione e del metodo; per esempio erbe aromatiche, spezie e foglie di tè analizzate con il kit RIDASCREEN [®] Aflatoxin Total circa 250 ng/kg (ppt)
Capacità della colonna:	ca. 40 ng di aflatossina
Recupero:	ca. 70 - 110 %

1. Generale

Le colonne RIDA[®] Aflatoxin Column sono utilizzabili in combinazione al kit immunoenzimatico RIDASCREEN[®] Aflatoxin Total (R4701) per l'analisi quantitativa delle aflatossine B₁, B₂, G₁, G₂.

La preparazione del campione con le colonne di immunoaffinità semplifica e migliora la procedura di preparazione. Gli estratti puri ottenuti possono essere dosati con diversi metodi analitici.

2. Principio del test

La base è una reazione antigene-anticorpo.

La colonna contiene un gel a cui sono legati covalentemente anticorpi monoclonali. Gli anticorpi sono specifici per aflatossina B₁, B₂, G₁, G₂.

- A: L'estratto del campione viene fatto fluire attraverso la colonna. Le aflatossine eventualmente presenti nel campione si legano agli anticorpi monoclonali.
- B: Tutte le altre sostanze non sono trattenute dalla colonna.
- C: Le aflatossine sono separate dall'anticorpo utilizzando metanolo come eluente. Il metanolo provoca la denaturazione degli anticorpi. Pertanto l'antigene (aflatoxina) viene liberato e può essere fuito.

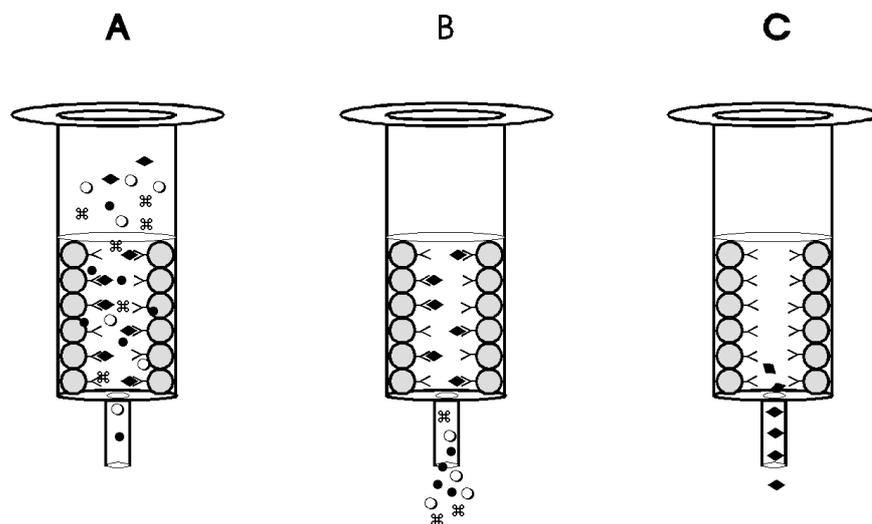


Fig. 1: Principio di colonna di immunoaffinità

3. Reagenti forniti

Con le colonne di immunoaffinità si possono eseguire 10 o 50 preparazioni di campioni rispettivamente (una preparazione del campione per colonna). Ogni kit contiene:

10 oppure 50 colonne di immunoaffinità

4. Materiale richiesto ma non fornito

4.1. Attrezzatura

- bilancia da laboratorio
- macinino (molino)
- centrifuga
- miscelatore
- agitatore magnetico
- filtro di carta
- siringhe in plastica monouso (per il campione)
- opzionale: unità per la creazione del vuoto per l'uso contemporaneo di più colonne
- pipette graduate
- pipette Pasteur
- micropipette da 20–200 µl e 200-1000 µl a volume variabile

4.2. Reagenti

- metanolo
- tween 20
- acqua distillata/deionizzata

5. Avvertenze e precauzioni per gli utilizzatori

Le colonne devono essere utilizzate solo da personale di laboratorio qualificato. Le istruzioni per l'uso devono essere seguite scrupolosamente

Le aflatossine sono tossiche e cancerogene: maneggiare con attenzione. Evitare il contatto dei campioni e degli estratti con la cute. Usare guanti.

La decontaminazione della vetreria e delle soluzioni contenenti la tossina deve essere eseguita mediante immersione in soluzione 10% v/v di sodio ipoclorito (candeggina) per una notte (portare a pH 7 con HCl).

6. Conservazione

Conservare il kit a 2-8°C (36-46°F) . NON CONGELARE.

Conservare ogni colonna non usata nella busta originale e mantenerla a 2-8°C (35-46°F).

La garanzia di qualità non è valida oltre la data di scadenza indicata sulla confezione.

7. Preparazione dei campioni

I campioni vanno conservati al fresco e al riparo dalla luce.

Le aflatossine sono fotosensibili: evitare l'esposizione dei campioni e degli estratti alla luce.

Utilizzando i protocolli seguenti (punti 7.1. e 7.2.) il volume di campione che passa attraverso la colonna risulta equivalente a 1 g di campione di partenza. Il limite di determinazione per i vari metodi analitici può essere modificato variando questa quantità.

7.1. Mangimi e frutta a guscio

- aggiungere 5 g di campione macinato a 25 ml di metanolo al 70%
- estrarre con agitatore magnetico o miscelazione delicata per 10 minuti
- filtrare l'estratto con filtro di carta
- aggiungere 15 ml di acqua distillata a 5 ml della soluzione filtrata
- passare tutta la soluzione (= 20 ml) nella colonna

7.2. Erbe aromatiche, spezie e foglie da tè

- aggiungere 5 g di campione macinato a 25 ml di metanolo al 70%
- estrarre con agitatore magnetico o miscelazione delicata per 10 minuti
- filtrare l'estratto con filtro di carta
- aggiungere 15 ml di acqua distillata a 5 ml della soluzione filtrata
- aggiungere 0,25 ml di Tween 20 e miscelare per 2 minuti
- passare tutta la soluzione (ca.20 ml) nella colonna

Nota:

Per il caffè verde da analizzare mediante RIDASCREEN® Aflatoxin Total (R4701) è disponibile a richiesta una metodica di preparazione supplementare. Contattate il vostro distributore locale.

8. Separazione con RIDA® Aflatoxin Column

8.1. Indicazioni preliminari

Portare le colonne a temperatura ambiente (20-25°C / 68-77°F) prima dell'uso.

Le colonne sono fornite senza adattatore per il contenitore del campione.

Le colonne sono chiuse con tappi superiore ed inferiore. I tappi devono essere rimossi prima dell'uso. Il tampone di conservazione sopra il gel è eliminato con il primo passaggio di lavaggio.

Le colonne non devono andare a secco durante l'uso. Eccezioni: Sezione 8.2 Purificazione punto 9 (breve rimozione dei fluidi residui dalla colonna prima dell'eluizione) e punto 13 (rimozione completa dei fluidi residui dopo l'eluizione).

Una eccessiva pressione sulla colonna o un vuoto estremo possono causare compressione del gel e conseguenti recuperi ridotti.

8.2. Purificazione

Non far asciugare le colonne!

1. Equilibrare la colonna lavando con 2 ml di acqua distillata
2. Riempire la colonna con circa 1 ml di estratto
3. Applicare un adattatore adeguato sulla sommità della colonna e utilizzare una siringa per dispensare il campione
4. Riempire la siringa con il resto dell'estratto del campione
5. Passare lentamente la soluzione di campione attraverso la colonna (con un flusso di circa 1 goccia/sec.). Creare una pressione positiva utilizzando una siringa o assorbire se si usa un'unità di creazione del vuoto)
6. Eliminare la soluzione passata in colonna
7. Lavare la colonna con 10 ml di acqua distillata
8. Eliminare la soluzione passata in colonna
9. Far passare alcuni ml di aria attraverso la colonna oppure utilizzare per 10 secondi il sistema da vuoto per eliminare ogni residuo di liquido
10. Rimuovere la siringa e porre una provetta pulita e richiudibile direttamente sotto la colonna
11. Eluire con 0,5 ml di metanolo 100% nella colonna; il metanolo deve passare **lentamente** attraverso la colonna (flusso 1 goccia/sec), in modo da assicurare la completa eluizione delle aflatoxine
12. In caso di passaggio troppo rapido attraverso la colonna (più di 10 sec), raccogliere l'eluato e passarlo nuovamente attraverso la colonna
13. Far passare aria attraverso la colonna oppure utilizzare per 30 secondi il sistema da vuoto in modo da raccogliere tutto l'eluato
14. Analizzare con RIDASCREEN® Aflatoxin Total

9. Rilevazione e quantificazione

9.1. RIDASCREEN® Aflatoxin Total (R4701)

- Diluire l'eluato contenente la tossina 1:10 (1 + 9) con acqua distillata (per esempio 50 µl + 450 µl di acqua distillata)
- Usare 50 µl per pozzetto nel test

Nota:

Per ottenere la concentrazione di aflatossina contenuta nel campione, la concentrazione letta dalla curva di calibrazione deve essere moltiplicata per il fattore di diluizione corrispondente.

Lavorando secondo quanto indicato ai punti 7.1 e 7.2., il fattore di diluizione è **5**. L'intervallo di misura della curva standard con il kit RIDASCREEN® Aflatoxin Total è tra 0.250 e 20.25 µg/kg (ppb); limite di determinazione: 0.250 ppb.

In caso di alta contaminazione da aflatossina, è necessaria una ulteriore diluizione dell'eluato. Questa diluizione deve essere eseguita con acqua distillata contenente metanolo al 10%. (es. 9 ml di acqua distillata + 1 ml di metanolo al 100%) **Per l'analisi con il kit RIDASCREEN® Aflatoxin Total tutti i campioni devono essere diluiti con acqua distillata contenente metanolo al 10%.**

Per aumentare il limite di rilevazione, far passare attraverso la colonna un volume di estratto corrispondente a più di 1 g di campione. Per esempio, per 2 g di estratto, il fattore di diluizione è **2,5** e per 4 g di estratto è **1,25**. L'intervallo di dosaggio e il limite di determinazione risultano variati di conseguenza.

Indicazioni per la conservazione dei campioni e degli estratti:

1. I campioni originali devono essere sempre tenuti in frigorifero, asciutti, al riparo dalla luce e ben sigillati.
2. Conservare gli eluati contenenti metanolo in ambiente fresco e al riparo dalla luce; l'eluato può durare anche 2-3 mesi se congelato, sigillato e protetto dalla luce.

R-Biopharm non fornisce alcuna garanzia, esplicita o implicita, oltre a quella relativa alla qualità standard dei materiali di cui sono costituiti i suoi prodotti. Nel caso tali materiali risultassero difettosi, R-Biopharm si impegna a fornire prodotti sostitutivi. Non esiste garanzia di commerciabilità o di idoneità del prodotto per uno scopo particolare. R-Biopharm non è da ritenersi responsabile per danni, ivi compresi danni speciali o indiretti, o spese derivanti direttamente o indirettamente dall'utilizzo del prodotto.