

# PuriTox MultiToxin

Cod Prodotto: TC-M160

Colonne di pulizia in fase solida da utilizzarsi con i sistemi HPLC e GC.  
Solo per uso in vitro.

TC-M160/V4/17.01.20

[www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com)



**R-BIOPHARM**  
**RHÔNE LTD**



## Contenuto

	Pag
Principio del test .....	4
Reagenti non forniti .....	4
Materiale richiesto ma non fornito .....	4
Rischi .....	4
Decontaminazione .....	4
Conservazione e durata .....	5
Prelievo dei campioni .....	5
Recuperi .....	5
Preparazione del campione .....	6
• Aflatossine nei cereali .....	6
• Zearalenone nei cereali .....	6
Preparazione degli standard .....	7
• Standard di aflatossina .....	7
• Standard di zearalenone .....	7
Curva di calibrazione .....	8
• Aflatossina .....	8
• Zearalenone .....	8
Condizioni raccomandate per l'HPLC .....	9
• Aflatossina .....	9
• Zearalenone .....	9
Tipico tracciato HPLC per l'analisi delle aflatossine totali e dello zearalenone con l'utilizzo delle colonne PuriTox Multitoxin .....	10
• Aflatossine totali .....	10
• Zearalenone .....	10
Qualità .....	11
Supporto tecnico .....	11
Garanzia .....	11

## Principio del test

Estrarre le tossine dal campione, filtrare l'estratto e farlo passare attraverso la colonna di pulizia in fase solida.

Le colonne di pulizia possono essere utilizzate con i sistemi HPLC nell'analisi dei campioni pigmentati.

La durata totale dell'operazione di pulizia è di ca. 30 minuti. Il test riduce l'interferenza di fondo e migliora quindi l'accuratezza dei risultati.

## Reagenti non forniti

- Acqua distillata/deionizzata (adatta per HPLC, es. MilliQ)
- Solventi (acetonitrile e metanolo per HPLC)
- Standard di aflatossine e zearalenone (vedi capitolo sulla preparazione degli standard)

## Materiale richiesto ma non fornito

- Carta da filtro Whatman N. 113 o N. 4 (P66/P67)\*

\* Disponibile su richiesta: contattare il distributore R-Biopharm di zona per ulteriori informazioni.

## Rischi

Le micotossine sono sostanze molto pericolose che devono essere analizzate solamente in laboratori attrezzati per manipolare materiali e solventi tossici. Durante le analisi è necessario indossare indumenti protettivi come camici, occhiali protettivi e guanti in lattice.

Conservare i solventi infiammabili in un armadietto antiesplorazione. Se necessario operare sotto cappa chimica e utilizzare attrezzature protettive.

Se necessario contattare il rivenditore R-Biopharm di zona per ulteriori informazioni sulle specifiche sulla sicurezza dei materiali.

## Decontaminazione

Le soluzioni standard in eccesso devono essere trattate, prima dello smaltimento, con almeno un decimo del loro volume di ipoclorito di sodio al 5 %. Immergere la strumentazione e il materiale residuo contaminato in una soluzione di ipoclorito di sodio al 5 % per 30 minuti, poi aggiungere il 5 % di acetone e lasciare in ammollo per altri 30 minuti. Sciacquare abbondantemente con acqua prima dello smaltimento. Dopo la decontaminazione lavare scrupolosamente tutta l'attrezzatura di laboratorio utilizzata. Incenerire ove consentito dai regolamenti.

## **Conservazione e durata**

Le colonne hanno una durata di 36 mesi dalla data di produzione se conservate a temperatura ambiente. Non congelare.

## **Prelievo dei campioni**

Per il prelievo di campioni rappresentativi seguire una delle procedure di campionamento ufficialmente riconosciute. Si raccomanda di tritare finemente almeno 1 kg di campione rappresentativo e di prelevarne una porzione (da 10 a 50 g a seconda del metodo) per l'estrazione.

## **Recuperi**

Qualora si desideri calcolare le perdite che si verificano durante l'estrazione, si raccomanda di analizzare un campione arricchito, costituito dello stesso materiale del campione da analizzare, che sarà lo standard di riferimento. I valori di recupero ottenuti col campione arricchito possono essere successivamente impiegati per correggere i risultati ottenuti con il campione utilizzato nel test.

## Preparazione del campione

### • Aflatossine nei cereali

Questo metodo è stato verificato con vari cereali, tra cui mangimi animali in grani e a base di cereali.

1. Introdurre 25 g di campione tritato in un vaso per miscelatore resistente ai solventi, capacità 1 litro.
2. Aggiungere 100 ml di acetonitrile all'84 % e miscelare ad alta velocità per 3 minuti.
3. Filtrare il campione con carta da filtro Whatman N. 113 o N. 4 oppure centrifugare a 4,000 rpm per 10 minuti.
4. Far passare 2 ml del filtrato attraverso la colonna applicando una pressione con lo stantuffo e raccogliere il filtrato purificato in una provetta di vetro. Flussare con aria la colonna per eliminare ogni traccia di liquido.
5. Diluire 200 µl di filtrato purificato con 880 µl di acqua distillata.
6. Iniettare 100 µl nel sistema HPLC.

### • Zearalenone nei cereali

Questo metodo è stato verificato con vari cereali, tra cui mangimi animali in grani e a base di cereali.

1. Introdurre 25 g di campione tritato in un vaso per miscelatore resistente ai solventi, capacità 1 litro.
2. Aggiungere 100 ml di acetonitrile all'84 % e miscelare ad alta velocità per 3 minuti.
3. Filtrare il campione con carta da filtro Whatman N. 113 o N. 4 oppure centrifugare a 4,000 rpm per 10 minuti.
4. Far passare 4 ml del filtrato attraverso la colonna applicando una pressione con lo stantuffo e raccogliere il filtrato purificato in una provetta di vetro. Flussare con aria la colonna per eliminare ogni traccia di liquido.
5. Portare a secco il filtrato purificato con un flusso d'aria a 60 - 70 °C.
6. Ricostituire con 500 µl di fase mobile (acqua : metanolo : acetonitrile : acido acetico (200 : 80 : 80 : 1.8 v/v/v/v)). Mescolare tramite vortex per 20 secondi.
7. Iniettare 150 µl nel sistema HPLC.

## Preparazione degli standard

### • Standard di aflatossine

Preparazione di una soluzione stock di aflatossina B1, B2, G1 e G2 da 1.000 ng/ml:

1. E' possibile acquistare presso R-Biopharm AFLASTANDARD (P22 / P22A 1.000 ng/ml).

oppure

1. In alternativa, è possibile acquistare aflatossina B1, B2, G1 e G2 cristallina in polvere. Per maggiori informazioni potete contattare il distributore locale R-Biopharm. La polvere deve essere ricostituita seguendo le istruzioni fornite e lasciata per tutta la notte a temperatura ambiente e al buio per ottenere una soluzione stock.
2. Utilizzarla per preparare una soluzione stock da aflatossina B1, B2, G1 e G2 da 1.000 ng/ml.

Nota: Il rapporto di B1, B2, G1 e G2 può variare in ciascuno standard. Si prega pertanto di far riferimento al rapporto indicato sullo standard acquistato.

### • Standard di zearalenone

Preparazione di una soluzione stock di zearalenone 1.000 ng/ml:

1. E' possibile acquistare presso R-Biopharm ZEASTANDARD, ovvero standard di zearalenone in soluzione e pronto all'uso (P44 / P44A, 1.000 ng/ml).

oppure

1. In alternativa, è possibile acquistare zearalenone cristallino in polvere. Per maggiori informazioni potete contattare il distributore locale R-Biopharm. La polvere deve essere ricostituita seguendo le istruzioni fornite e lasciata per tutta la notte a temperatura ambiente e al buio per ottenere una soluzione stock.
2. Utilizzarla per preparare una soluzione stock da 1.000 ng/ml di zearalenone.

## Curva di calibrazione

### • Aflatossine

Si raccomanda di costruire una curva di calibrazione di almeno 3 - 6 punti. In una curva ideale i livelli degli standard di calibrazione devono raggruppare o includere la gamma dei risultati attesi. La soluzione standard diluita deve essere preparata fresca nel giorno dell'analisi e deve essere utilizzata entro 24 ore.

Realizzazione della curva di calibrazione a cinque punti per ciascuno standard:

1. Introdurre in altrettante provette di vetro i volumi di standard stock e acetonitrile all'84 % di seguito elencati, e portarli a 10 ml con acetonitrile all'84 %.

Curva di calibrazione – Aflatossine totali	
Volume di standard stock	Concentrazione di aflatossine
5 µl	1 ng/ml B1 e G1 0.25 ng/ml B2 e G2
10 µl	2 ng/ml B1 e G1 0.5 ng/ml B2 e G2
15 µl	3 ng/ml B1 e G1 0.75 ng/ml B2 e G2
20 µl	4 ng/ml B1 e G1 1 ng/ml B2 e G2
25 µl	5 ng/ml B1 e G1 1.25 ng/ml B2 e G2

### • Zearalenone

Si raccomanda di costruire una curva di calibrazione di almeno 3 - 6 punti. In una curva ideale i livelli degli standard di calibrazione devono raggruppare o includere la gamma dei risultati attesi. La soluzione standard diluita deve essere preparata fresca nel giorno dell'analisi e deve essere utilizzata entro 24 ore.

Realizzazione della curva di calibrazione a cinque punti per ciascuno standard:

1. Introdurre in altrettante provette di vetro i volumi di standard stock e fase mobile di seguito elencati, e portarli al volume richiesto con la fase mobile di zearalenone.

Curva di calibrazione – Zearalenone		
Volume di standard stock	Volume totale fase mobile	Concentrazione di zearalenone
10 µl	5 ml	50 ng/ml
20 µl	5 ml	100 ng/ml
100 µl	4.9 ml	500 ng/ml
200 µl	4.8 ml	1,000 ng/ml
600 µl	4.4 ml	3,000 ng/ml

## Condizioni di HPLC raccomandate

### • Aflatossine

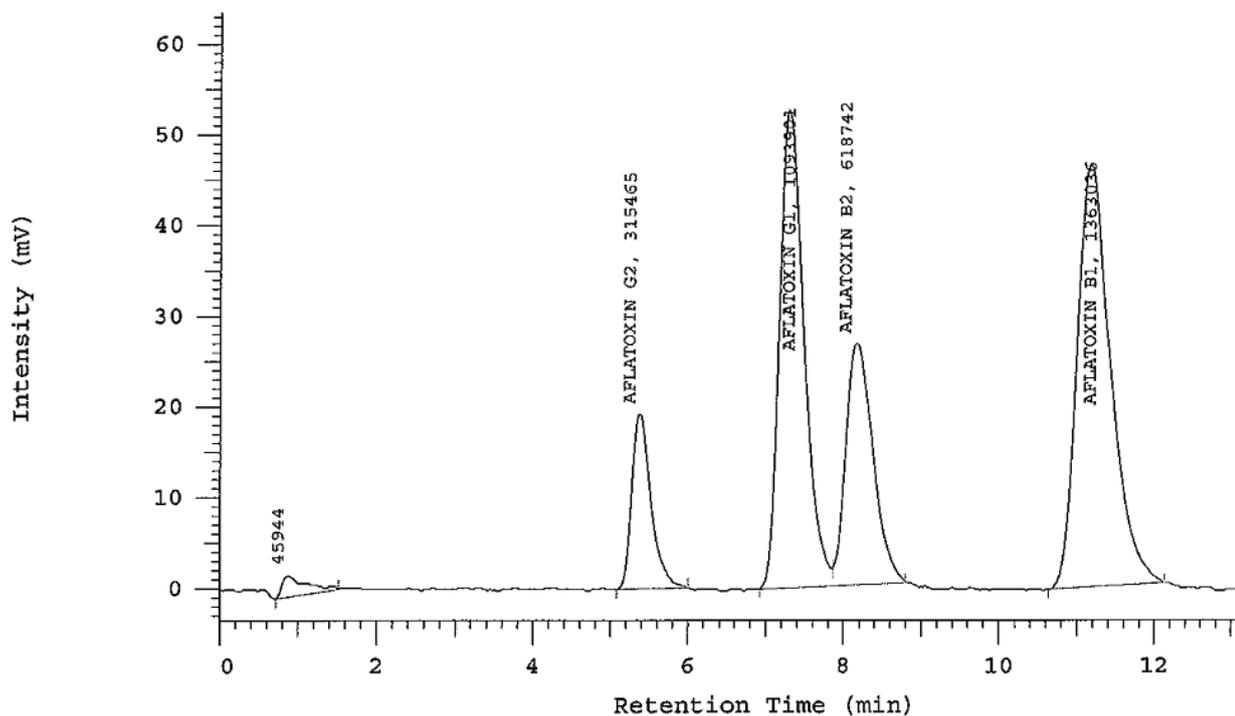
Condizioni per la HPLC	
Derivatizzazione	KOBRA® CELL, potenza 100 µA
Cartuccia di Guardia	Inertsil ODS-3 5 µm, 4 mm x 10 mm o (Hichrom) equivalente
Colonna Analitica	Inertsil ODS-3V 5 µm, 4.6 mm x 150 mm (Hichrom) o equivalente
Fase Mobile	Acqua : Metanolo : Acetonitrile (70 : 15 : 15 (v/v/v)) Preparare fresca nel giorno dell'analisi.
Pompa per HPLC	Per l'erogazione della fase mobile Addizionare 119 mg di bromuro di potassio e 350 µl di acido nitrico 4M a 1 litro di fase mobile
Flusso Pompa	1.2 ml/minuto
Fluorimetro	Eccitazione: 360 nm Emissione: 440 nm
Termostato Colonna	Mantenere la colonna di guardia e la colonna analitica a 40 °C
Integratore / Data Control System	Del fornitore preferito
Iniettore	Autocampionatore / Valvola Rheodyne
Volume di Iniezione	100 µl

### • Zearalenone

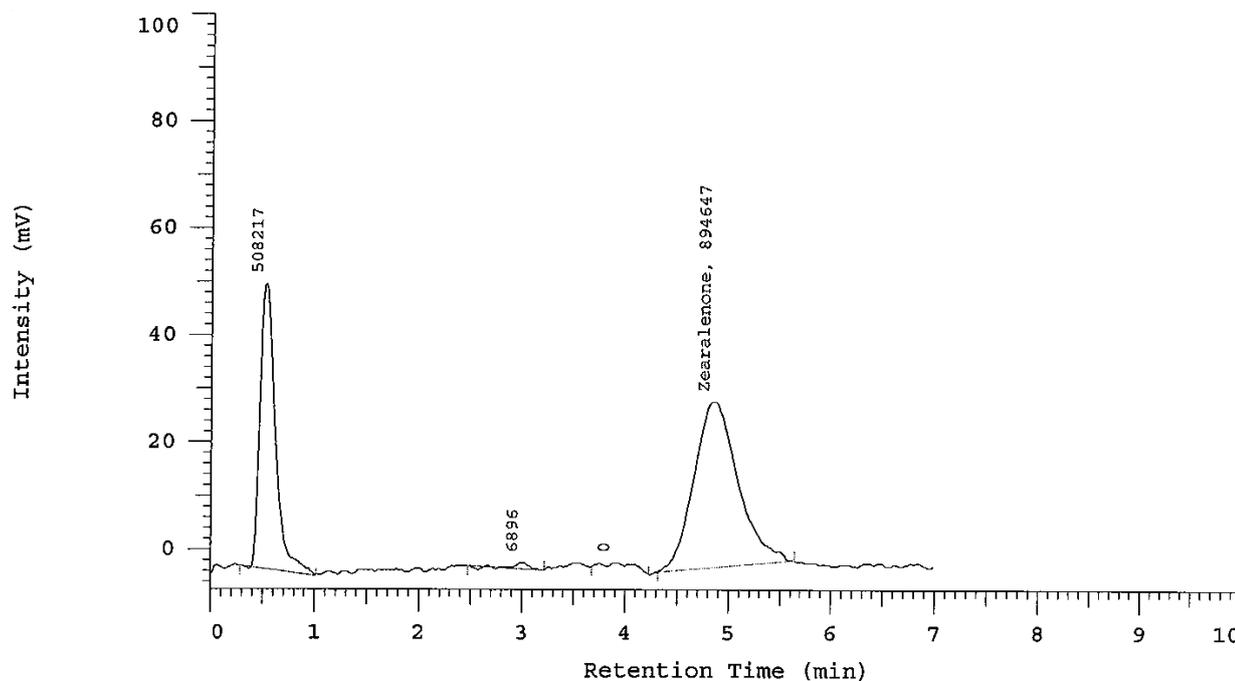
Condizioni per la HPLC	
Cartuccia di Guardia	Inertsil ODS-3 5 µm, 4 mm x 10 mm o (Hichrom) equivalente
Colonna Analitica	Inertsil ODS-3V 5 µm, 4.6 mm x 150 mm (Hichrom) o equivalente
Fase Mobile	Acqua : Metanolo : Acetonitrile : Acido Acetico (200 : 80 : 80 : 1.8 (v/v/v/v)) Preparare fresca nel giorno dell'analisi.
Pompa per HPLC	Per l'erogazione della fase mobile
Flusso Pompa	2.0 ml/minuto
Fluorimetro	Eccitazione: 285 nm Emissione: 460 nm
Termostato Colonna	Mantenere la colonna di guardia e la colonna analitica a 40 °C
Integratore / Data Control System	Del fornitore preferito
Iniettore	Autocampionatore / Valvola Rheodyne
Volume di Iniezione	150 µl

# Tipico tracciato HPLC per l'analisi delle aflatossine totali e dello zearalenone con l'utilizzo delle colonne PuriTox MultiToxin

- Aflatossine totali



- Zearalenone



## Qualità

I prodotti RBR sono sviluppati, prodotti, verificati e spediti in accordo con le normative dei sistemi registrati di gestione della qualità ISO 9001 e ISO 13485 che ne assicurano l'alta e costante qualità e la rispondenza ai requisiti di performance da noi stabiliti. I nostri prodotti sono stati impiegati in molti studi collaborativi per l'elaborazione di metodi standard europei e internazionali e sono largamente utilizzati dai principali enti, industrie alimentari e laboratori governativi. Referenze sui prodotti RBR per i clienti sono disponibili su richiesta.

## Supporto tecnico

Sensibile alle richieste di assistenza e suggerimenti che possono emergere da parte della clientela, RBR offre i seguenti servizi:

- Analisi dei campioni problematici
- Procedure per campioni difficili
- Referenze dalla letteratura della biblioteca RBR
- Installazione e supporto della KOBRA® CELL
- Consulenza per i parametri di rilevazione
- Consulenza per la preparazione e la manipolazione degli standard
- Aggiornamenti sulle normative e sulla preparazione dei campioni e altre notizie via e-mail
- Fornitura di campioni arricchiti

Contattare il rivenditore R-Biopharm di zona per ulteriori informazioni.

## Garanzia

R-Biopharm Rhône Ltd 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 risultasse difettosi, R-Biopharm Rhône Ltd si impegna a fornire prodotti sostitutivi. L'utilizzatore si assume qualsiasi rischio e responsabilità derivante dall'impiego dei prodotti e delle procedure R-Biopharm Rhône Ltd. R-Biopharm Rhône Ltd non è da ritenersi responsabile per danni, ivi compresi danni speciali o indiretti, o spese derivanti direttamente o indirettamente dall'utilizzo dei prodotti o delle procedure R-Biopharm Rhône Ltd.

Prodotto da:  
**R-Biopharm Rhône Ltd**  
Scozia

Distribuito da:  
**R-Biopharm Italia Srl**  
Via Morandi, 10  
20077 Melegnano MI  
Tel: 02 9823 3330  
Fax: 02 9834 100  
info@r-biopharm.it