

## Aflatoxin B1, B2, G1, G2 Immunoaffinity Kolonu

Sipariş Kodu: YRIAC3001-1C



### Giriş

Aflatoxinler (AF'ler), uygun sıcaklık ve nem koşulları altında çoğunlukla *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* tarafından üretilen mikotoksinlerdir. Çoğunlukla dört çeşit AFB1, AFB2, AFG1 ve AFG2 içerir. Bunlar arasında AFB1 en toksik olanıdır ve güçlü teratojenik, kanserojen ve mutajenik etkilere sahiptir ve Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından "Sınıf I kanserojen" olarak sınıflandırılmıştır. Aynı zamanda, AF'ler oldukça toksik maddelerdir ve akut zehirlenmenin toksisitesi potasyum siyanürün 10 katıdır. AF'ler doğal olarak geniş bir yelpazede dağılmıştır ve analiz seviyesinin iyileştirilmesiyle AF'ler tahıllarda, yağ bitkilerinin tohumlarında, işlenmiş ürünlere, meyvelerde, kurutulmuş meyvelerde, sebzelerde, çöşnilerde, tütünde, Çin bitkisel ilaçlarında, süt ürünlerinde ve fermente ürünlerde bulunmuştur. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ilk olarak tarımsal ürünlerde ve gıdalarda izin verilen maksimum AF miktarını belirlemiş, ardından dünya çapında ülkeler art arda AF sınır standartları oluşturmuştur.

### Prensip

Antikor ve antijenin spesifik bağlanmasına dayanarak, AF'lerin monoklonal antikoları, bir immünoafinite kolonu oluşturmak için kolonda sabitlendi. Örnek çıkarıldıktan, santrifüj edildikten veya filtrelendikten ve üst sıvı uygun şekilde seyreltikten sonra, örnekteki AF'ler yavaşça immünoafinite kolonundan geçer ve spesifik olarak antikora bağlanır. Bağlanmamış diğer maddeleri çıkarmak için immünoafinite kolonunu durulayın ve AF'leri metanol ile elüe edin. Uygun seyreltmeden sonra analitik cihaz tespiti için kullanılabilir.

### Uygulama

Bu ürün AF içeren numunelerin ön işlenmesi için uygundur. Numune çözeltisi immünoafinite kolonu tarafından saflaştırıldıktan sonra, HPLC, LC-MS ve diğer analitik cihazlar tarafından doğrudan nitel ve nicel tespit için kullanılabilir. Sinyal-gürültü oranını etkili bir şekilde iyileştirebilir ve tespit yönteminin hassasiyetini ve doğruluğunu artırabilir.

### Katı Numune

Buğday, buğday unu, arpa, mısır, pirinç, esmer pirinç, fıstık, antep fıstığı, incir, fındık ve bebekler için tamamlayıcı gıdalar, vb.

### Katı Numune - Çin Geleneksel Tıbbi Malzemeleri

Jujube, Hirudo, Lumbricus, Akrep, Semen cassiae, Malt, Polygala tenuifolia willd, Pericarpium citri reticulatae, Fructus quisqualis, Platycladi tohumu, Sterculia Lychnophora, Lotus tohumu, Semen persicae, Kirkayak, Semen Ziziphi Spinosae, Bombyx batryticatus, Coix tohumu, Betel cevizi, Nidus vespae, Aspongopus chinensis Dallas, Yer böceği, Corydalis yanhusuo, Semen strychni, Hindistan cevizi.

### Sıvı Numune

Susam yağı, mısır yağı, fıstık yağı, harmanlanmış yağ, soya sosu, sirke vb.

### Yarı - Sıvı Numune

Soya fasulyesi ezmesi vb.

## Performans Bilgileri

Kolon Kapasitesi : 300ng

Geri Kazanım Oranı :  $\geq 90\%$

## Test Kiti Bileşenleri (Kit başına 25 Test)

1. 25 Adet 3 mL İmmünoafinite Kolonu
2. 1 kullanım kılavuzu

## Gerekli ancak sağlanmayan malzemeler (BIOEASY'den temin edilebilir)

### Ekipman:

1. Homojenizatör, yüksek hızlı pulverizatör, doku pulverizatörü
2. Eleme: 1mm-2mm açıklıklı test eleği
3. Terazî: 0,01 g duyarlılık
4. Vorteks karıştırıcı
5. Ultrasonik veya vorteks çalkalayıcı
6. Yüksek hızlı homojenizatör: 6500 r/dak-24000r/dak
7. Santrifüj: hız  $\geq 6000$  r/dak
8. Katı Faz Ekstraksiyon cihazı (vakum pompalı)
9. Termovap Numune Konsantratörü
10. Sıvı Kromatografisi ve Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi gibi analitik cihazlar
11. 50mL dereceli silindir
12. Tek kanallı pipet: 10  $\mu$ L-100  $\mu$ L, 100  $\mu$ L-1000  $\mu$ L, 1000  $\mu$ L-5000  $\mu$ L
13. pH ölçer (veya pH testi)

### Sarf Malzemeleri:

1. Santrifüj tüpü (4 mL, 50 mL)
2. Şırınga veya yükleme tüpü (30 mL)
3. Cam mikrofiber filtreler: gerekli hızlı, yüksek yük, sıvıda tutulan partikül 1,6  $\mu$ m'dir
4. 1 mL Tek kullanımlık şırınga
5. 0,22  $\mu$ m milipor filtre membranlı tek kullanımlık milipor filtre başlığı  
(Seçilen filtre membranını kullanmadan önce adsorpsiyon olayı olmadığını doğrulamak için standart solüsyonla test edin).

### Reaktifler:

(Aksi belirtilmediği sürece, kullanılan tüm reaktifler analitik derecededir)

1. Metanol: kromatografik saflık
2. Asetonitril: kromatografik saflık
3. Su: Damıtılmış su veya deiyonize su
4. Sodyum klorür
5. %1 Tween-20: 1 mL tween-20 alın, suyla 100 mL'ye seyreltin ve iyice karıştırın.
6. 1 M sodyum hidroksit: 4,00 g sodyum hidroksiti tartın, suda çözün ve 100 mL'ye seyreltin.
7. 1 M hidroklorik asit: 8,5 mL hidroklorik asit alın, suyla 91,5 mL'ye seyreltin ve iyice karıştırın.
8. pH 7,4'lü Fosfat Tampon Çözeltisi (PBS): 8,00 g sodyum klorür, 1,20 g disodyum hidrojen fosfat, 0,20 g potasyum dihidrojen fosfat ve 0,20 g potasyum klorür tartın, suda çözün ve 1000 mL'ye seyreltin.
9. PBS'de %1 Tween-20 (PBST): 10 mL Tween-20 alın ve PBS ile 1000 mL'ye seyreltin.
10. Asetonitril sulu çözeltisi (84+16): 840 mL asetonitrile 160 mL su ekleyin, iyice karıştırın.



TAHİL, UN, GIDA ve YEM  
KALİTE KONTROL CİHAZLARI

+90 (312) 397 43 30  
abp@abp.com.tr  
www.abp.com.tr



Detaylı bilgi için ABP Satış Mühendislerine danışabilirsiniz...

## Numune Hazırlama

### Katı Numuneler

Numuneyi toz haline getirmek için yüksek hızlı bir toz haline getirici kullanın, parçacık boyutunu 2 mm'den daha küçük hale getirmek için eleyin, eşit şekilde karıştırın ve numune şişesine 100 g'a kadar alt paketleyin, kapatın ve test için saklayın.

### Sıvı Numuneler

Tüm sıvı numuneleri homojenizatör tarafından bir kaptan iyice karıştırın, test edilecek 100 g (mL) numune alın.

### Yarı - Sıvı Numune

Bir doku ezici ile ezin ve karıştırın, numune şişesine kapatın ve test için saklayın.

## Numune Ekstraksiyonu

### Katı Numune

Buğday, buğday unu, arpa, mısır, pirinç, esmer pirinç, fıstık, antep fıstığı, incir, fındık ve bebekler için tamamlayıcı gıdalar, vb.

### Katı Numune - Çin Geleneksel Tıbbi Malzemeleri

Jujube, Hirudo, Lumbricus, Akrep, Semen cassiae, Malt, Polygala tenuifolia willd, Pericarpium citri reticulatae, Fructus quisqualis, Platycladi tohumu, Sterculia Lychnophora, Lotus tohumu, Semen persicae, Kırkayak, Semen Ziziphi Spinosa, Bombyx batryticatus, Coix tohumu, Betel cevizi, Nidus vespae, Aspongopus chinensis Dallas, Yer böceği, Corydalis yanhusuo, Semen strychni, Hindistan cevizi.

### Sıvı Numune - Bitkisel yağ

Susam yağı, mısır yağı, fıstık yağı, harmanlanmış yağ, vb.

### Yarı - Sıvı Numune

Soya fasulyesi ezmesi, vb.

1. 50 mL santrifüj tüpüne 5,00 g örnek tartın.
2. 1,00 g NaCl ekleyin.
3. 25 mL asetonitril sulu çözeltisi (84+16) ekleyin, karıştırmak için vorteksleyin ve 20 dakika boyunca ultrasonik/vorteks çalkalayıcıda çalkalayın (veya homojenizatörle 3 dakika homojenleştirin).
4. Örnek çözeltisinin hazırlanması için üst sıvıyı elde etmek üzere  $\geq 6000$  r/dk'da 10 dakika santrifüj edin (veya homojenizasyondan sonra gres hariç cam elyaf filtre kağıdıyla filtreleyin).

### Sıvı Numune

Soya sosu, sirke, vb.

1. 50 mL santrifüj tüpüne 5,00 g örnek tartın.
2. Asetonitril ile 25 mL'ye seyreltin, karıştırmak için vorteksleyin ve 20 dakika boyunca ultrasonik/vorteks çalkalayıcıda çalkalayın (veya homojenizatör ile 3 dakika homojenleştirin).
3. Numune solüsyonunun hazırlanması için süpernatantı elde etmek üzere  $\geq 6000$  r/dk'da 10 dakika santrifüj edin (veya homojenizasyondan sonra gres hariç cam elyaf filtre kağıdıyla filtreleyin).

### Katı Numune

Bebekler için mama maması

1. 50 mL santrifüj tüpüne 1,00 g numune tartın.
2. Çözülmesi için 10 mL su ekleyin.
3. 10 mL metanol ekleyin, karıştırmak için vorteksleyin ve 20 dakika boyunca ultrasonik/vorteks çalkalayıcıda çalkalayın (veya homojenizatör ile 3 dakika homojenleştirin).
4. Numune çözeltisinin hazırlanması için üst sıvıyı elde etmek amacıyla  $\geq 6000$  r/dk'da 10 dakika santrifüj edin (veya homojenizasyondan sonra gres hariç cam elyaf filtre kağıdıyla filtreleyin).



TAHİL, UN, GIDA ve YEM  
KALİTE KONTROL CİHAZLARI

+90 (312) 397 43 30  
abp@abp.com.tr  
www.abp.com.tr



Detaylı bilgi için ABP Satış Mühendislerine danışabilirsiniz...

## Numune Çözeltisi Hazırlama

### Katı Numune

Buğday, buğday unu, arpa, mısır, pirinç, esmer pirinç, fıstık, antep fıstığı, incir, fındık ve bebekler için tamamlayıcı gıdalar, vb.

### Sıvı Numne - Bitkisel yağ

Susam yağı, mısır yağı, fıstık yağı, harmanlanmış yağ, soya sosu, sirke, vb.

### Yarı - Sıvı Numune

Soya fasulyesi ezmesi, vb.

1. 5 mL üst sıvıyı dikkatlice pipetleyin.
2. PBS'ye 35 mL %1 Tween-20 ekleyin ve iyice karıştırın.
3. Tüm üst sıvıyı örnek çözeltisi olarak elde etmek için 10 dakika boyunca  $\geq 6000$  r/dk'da santrifüj edin.

【Not: Örnek sirke gibi olduğunda, lütfen örnek çözeltisinin pH'ını 7,4'e ayarlamak için 1M sodyum hidroksit kullanın】

### Katı Numune

Bebekler için mama

1. Tüm üst sıvıyı alın.
2. 50 mL'ye su ile seyreltin ve iyice karıştırın.
3. Tüm üst sıvıyı örnek solüsyonu olarak elde etmek için 10 dakika boyunca  $\geq 6000$  r/dk'da santrifüj edin.

### Katı Numune - Çin Geleneksel Tıbbi Malzemeleri

Jujube, Hirudo, Lumbricus, Scorpion, Semen cassiae, Malt, Polygala tenuifolia willd, Pericarpium citri reticulatae, Fructus quisqualis, Platycladi tohumu, Sterculia Lychnophora, Lotus tohumu, Semen persicae, Centipede, Semen Ziziphi Spinosae, Bombyx batryticatus, Coix tohumu, Betel cevizi, Nidus vespae, Aspongopus chinensis Dallas, Yer böceği, Semen strychni.

1. 2,5 mL üst sıvıyı dikkatlice pipetleyin.
2. PBS'ye 47,5 mL %1 Tween-20 ekleyin ve iyice karıştırın.
3. Tüm üst sıvıyı örnek solüsyonu olarak elde etmek için 10 dakika boyunca  $\geq 6000$  r/dk'da santrifüj edin.

### Katı Numune - Çin Geleneksel Tıbbi Malzemeleri

Corydalis yanhusuo, Hindistan cevizi.

1. 2,5 mL üst sıvıyı doğru bir şekilde pipetleyin.
2. PBS'ye 47,5 mL %1 Tween-20 ekleyin ve iyice karıştırın.
3. Örnek solüsyonu olarak 25 mL üst sıvıyı elde etmek için 10 dakika boyunca  $\geq 6000$  r/dk'da santrifüj edin.

## Numune Çözeltisi Saflaştırma

1. Kullanmadan önce immünoafinite kolonunu oda sıcaklığına getirin, şırınga haznesini veya yükleme tüpünü immünoafinite kolonuna bağlayın ve kolondaki orijinal sıvıyı tamamen damlatın.
2. İmmünoafinite kolonunu durulamak için şırınga haznesine veya yükleme tüpüne 10 mL PBS ekleyin ve kolondaki sıvıyı tamamen damlatın.
3. Numune solüsyonunu şırınga haznesine veya yükleme tüpüne doğru bir şekilde pipetleyin, numune solüsyonunun yerçekimi basıncı altında saniyede 1-2 damla hızında damlamasına izin verin.

### Katı Numune

Buğday, buğday unu, arpa, mısır, pirinç, esmer pirinç, fıstık, antep fıstığı, incir, fındık ve bebekler için tamamlayıcı gıdalar, vb.



TAHİL, UN, GIDA ve YEM  
KALİTE KONTROL CİHAZLARI

+90 (312) 397 43 30  
abp@abp.com.tr  
www.abp.com.tr



Detaylı bilgi için ABP Satış Mühendislerine danışabilirsiniz...

## Sıvı Numune

Susam yağı, mısır yağı, fıstık yağı, harmanlanmış yağ, soya sosu, sirke, vb.

## Yarı - Sıvı Numune

Soya fasulyesi ezmesi, vb.

1) Örnek solüsyon damlası bittikten sonra, immünoafinite kolonunu durulamak için şırınga haznesine veya yükleme tüpüne 20 mL su ekleyin. Damla bittikten sonra immünoafinite kolonunu boşaltmak için bir vakum pompası kullanın.

## Katı Numune - Çin Geleneksel Tıbbi Malzemeleri

Jujube, Hirudo, Lumbricus, Akrep, Semen cassiae, Malt, Polygala tenuifolia willd, Pericarpium citri reticulatae, Fructus quisqualis, Platycladi tohumu, Sterculia Lychnophora, Lotus tohumu, Semen persicae, Kırkayak, Semen Ziziphi Spinosae, Bombyx batryticatus, Coix tohumu, Betel cevizi, Nidus vespae, Aspongopus chinensis Dallas, Yer böceği, Corydalis yanhusuo, Semen strychni, Hindistan cevizi.

1) Örnek solüsyon damlası bittikten sonra, immünoafinite kolonunu durulamak için şırınga haznesine veya yükleme tüpüne PBS'de 20 mL %1 Tween-20 ekleyin. Ardından immünoafinite kolonunu durulamak için 10 mL su ekleyin. Damla bittikten sonra immünoafinite kolonunu boşaltmak için bir vakum pompası kullanın.

4. Şırınga haznesini veya yükleme tüpünü çıkarın, immünoafinite kolonunun altına 4 mL'lik bir santrifüj tüpü yerleştirin.

5. İmmünoafinite kolonunu elüe etmek için 2 mL metanol ekleyin. Damla bittikten sonra immünoafinite kolonunu boşaltmak için bir vakum pompası kullanın.

**[Not: Metanol eklendikten yaklaşık 1 dakika sonra sıvı damlamazsa, lütfen 1-2 damla sıvının damlaması için biraz basınç vermek üzere bir şırınga kullanın, yerçekimi basıncı altında damlatmaya devam edin.]**

6. Tüm elüatları toplayın ve iyice karıştırın.

7. Elüent azotla neredeyse kuruyana kadar üflendikten sonra, HPLC veya LC-MS'nin 1 mL başlangıç mobil fazıyla yeniden oluşturun, 0,22 µm mikro gözenekli filtreyle süzün ve test için numune şişesine aktarın. Seyreltilmemiş veya uygun şekilde seyreltilmiş elüenti 0,22 µm mikro gözenekli filtreden geçirin ve test için numune şişesine aktarın.

## Sonuç Yorumlama

2 mL eluanttaki AF içeriği, 1 g numunedeki AF içeriğine eşdeğerdir (Corydalis yanhusuo veya Hindistan cevizi 0,25 g'a eşdeğerdir, Corydalis yanhusuo veya Hindistan cevizi hariç Çin Geleneksel Tıp Malzemeleri 0,5 g'a eşdeğerdir)

AF içeriği = Tespit Konsantrasyonu × Seyreltme Faktörü

## Önlemler

1. Tüm analiz işlemi gerekli alanda yapılmalıdır. Alan, nispeten bağımsız bir ameliyat masası ve atık depolama cihazı olmalı ve doğrudan güneş ışığından uzak tutulmalıdır.

2. Tüm deney boyunca, operatör son derece toksik maddelere maruz kalma gerekliliklerine uygun olarak ilgili koruyucu önlemleri almalıdır.

3. Kullanmadan önce gerekli sayıda immünoafinite kolonunu çıkarın ve oda sıcaklığına geri koyun.

4. Son kullanma tarihinden sonra immünoafinite kolonunu kullanmayın.

5. Tartılacak numune miktarı ihtiyaçlara göre uygun şekilde artırılabilir veya azaltılabilir ve sodyum klorür ve ekstraksiyon çözeltisi miktarı orantılı olarak artırılabilir veya azaltılabilir.

6. Numunedeki toksin içeriğinin seyreltme faktörüne bölünmesi kolon kapasitesinden yüksek olduğunda, tekrar test yapılması gerekir. Müşteriler numune çözeltisinin hacmini uygun şekilde azaltabilir veya seyreltme faktörünü artırabilir.

7. Numune çözeltisinin optimum pH'ı 7-8 arasındadır, numune çözeltisini kolona damlatmadan önce pH metre (veya pH test şeridi) ile pH'ı kontrol edin. pH bu aralıkta değilse, pH'ı sodyum hidroksit veya hidroklorik asit ile ayarlayın.

8. Kullanılmış kabın ve mikotoksin çözeltisinin %5 sodyum hipoklorit çözeltisi (V/V) ile bir gece bekletilmesi önerilir.



TAHİL, UN, GIDA ve YEM  
KALİTE KONTROL CİHAZLARI

+90 (312) 397 43 30  
abp@abp.com.tr  
www.abp.com.tr

Detaylı bilgi için ABP Satış Mühendislerine danışabilirsiniz...

## Kolon Kapasitesi ve Kolon Kurtarma Doğrulaması

1. PBS'de 30 mL %1 Tween-20'ye 900 ng AFB1 standart stok solüsyonu ekleyin ve numune solüsyonu elde etmek için iyice karıştırın.
2. Aynı partiden üç immünoafinite kolonu alın. Eklenen numunenin hacmi 10 mL'dir (300 ng AFB1'e eşdeğerdir) ve eluant metanoldür.
3. Numune ekleme, durulama ve elüsyon prosedürü "Numune Solüsyonu Saflaştırma"daki adımla aynıdır.
4. Tespit ve analiz

### Sonuç yorumlama:

AFB1 sonucunun  $\geq 270$  ng olması, geri kazanım oranının  $\geq 90$  olduğunu gösterir. Ürün geçerlidir.

## Çapraz Reaksiyon Oranının Doğrulaması

1. PBS'de 30 mL %1 Tween-20'ye 450 ng AFG2 standart stok solüsyonu ekleyin ve numune solüsyonu elde etmek için iyice karıştırın.
2. Aynı partiden üç immünoafinite kolonu alın. Eklenen numunenin hacmi 10 mL'dir (150 ng AFG2'ye eşdeğerdir).
3. Numune ekleme, durulama ve elüsyon prosedürü "Numune Solüsyonu Saflaştırma"daki adımla aynıdır. Suyla durulayın.
4. Tespit ve analiz.

### Sonuç yorumlama:

AFG2 sonucu  $\geq 135$  ng, iyileşme oranının  $\geq 90$  olduğunu gösterir.

Bu ürün AFB1, AFB2, AFG1 ve AFG2'nin eş zamanlı ölçümü için kullanılabilir.

Detaylı bilgi için  
ABP Satış Mühendislerine danışabilirsiniz...



TAHİL, UN, GIDA ve YEM KALİTE KONTROL CİHAZLARI

**Tel.** : 0 (312) 397 43 30

**Faks** : 0 (312) 397 23 49

**Mail** : abp@abp.com.tr

**Web** : www.abp.com.tr