

## Deoxynivalenol (DON) Immunoaffinity Kolonu

Sipariş Kodu: YRIAC3004-1C



### Giriş

Deoksinivalenol (DON), kusmuk toksini veya kusma toksini (VT) olarak da bilinir, esas olarak bazı Fusarium türleri tarafından üretilen bir tür trikotesendir. Çeşitli tahıllarda ve ürünlerinde yaygın olarak bulunur.

DON, vücutta belirli bir dereceye kadar birikebilen güçlü ısı direncine ve asit direncine sahiptir ve güçlü sitotoksiniteye sahiptir, ancak özel hedef organları yoktur. İnsanlar ve hayvanlar DON ile kirlenmiş yiyecekleri yedikten sonra, mide bulantısı ve kusma gibi akut zehirlenme semptomlarına neden olur ve ciddi vakalarda hematopoietik sisteme zarar verir ve ölüme neden olur. Ayrıca, DON bağışıklık sistemini etkiler, belirgin embriyotoksiniteye ve belirli teratojenik etkilere sahiptir ve genetik toksiniteye sahip olabilir.

### Prensip

Antikor ve antijenin spesifik bağlanmasına dayanarak, DON'un monoklonal antikorları bir immünoafinite kolonu oluşturmak için kolonda sabitlendi. Numune çıkarıldıktan, santrifüj edildikten veya filtrelendikten ve süpernatant uygun şekilde seyreltildikten sonra, numunedeki DON yavaşça immünoafinite kolonundan geçer ve spesifik olarak antikora bağlanır. Bağlanmamış diğer maddeleri çıkarmak için immünoafinite kolonunu durulayın ve DON'u metanol ile elüe edin. Uygun seyreltmeden sonra analitik cihaz tespiti için kullanılabilir.

### Uygulama

Bu ürün DON 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, mısır, arpa, tahıl vb.

#### Sıvı Numune

Soya sosu, sirke, likör vb.

**【Not: Ayrıntılı olarak listelenmeyen numuneler için lütfen numune türüne göre çıkarma yöntemini seçin. Şüphemiz varsa lütfen ürün yöneticisiyle iletişime geçin veya onay yöntemi için numuneleri BIOEASY'ye gönderin.】**

## Performans Bilgileri

Kolon Kapasitesi : 2000ng

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. Azot Buharlaştırıcı
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 parçacık 1,6  $\mu$ m'dir
4. 1 mL Tek kullanımlık şırınga
5. 0,22  $\mu$ m milipor filtre membranlı tek kullanımlık milipor filtre başlığı (Kullanılmadan önce adsorpsiyon olayı olmadığını doğrulamak için seçilen filtre membranını standart çözeltiyle test edin).

### Reaktifler:

(Aksi belirtilmediği sürece, kullanılan tüm reaktifler analitik derecededir ve su saf sudur.)

1. Metanol: kromatografik saflık
2. Polietilen glikol (Göreceli moleküler kütle 8000'dir)
3. 1M sodyum hidroksit: 4,00 g sodyum hidroksiti tartın, suda çözün ve 100 mL'ye seyreltin.
4. pH 7,4 olan 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 klorürü tartın, suda çözün ve 1000 mL'ye seyreltin.

## 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 kapta iyice karıştırın, test edilecek 100 g (mL) numune alın.



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 Ekstraksiyonu

### Katı Numune

Buğday, mısır, arpa, tahıl vb.

1. 50 mL santrifüj tüpüne 5,00 g numune tartın.
2. 1 g polietilen glikol ve 20 mL su ekleyin, karıştırmak için vorteksleyin ve 30 dakika boyunca ultrasonik/vorteks çalkalayıcıda çalkalayın (veya homojenizatörle 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).

### Sıvı Numune

Soya sosu, sirke vb.

1. 50 mL santrifüj tüpüne 5,00 g numune tartın.
2. 1 g polietilen glikol ve 20 mL su ekleyin, karıştırmak için vorteksleyin ve 30 dakika boyunca ultrasonik/vorteks çalkalayıcıda çalkalayın (veya homojenizatörle 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).

### Sıvı Numune

Likörler, vb.

1. 50 mL santrifüj tüpüne 20,00 g numune tartın.
2. 1 g polietilen glikol ekleyin ve suyla 25 mL'ye seyreltin, karıştırmak için vorteksleyin ve 30 dakika boyunca ultrasonik/vorteks çalkalayıcıda çalkalayın (veya homojenizatörle 3 dakika homojenleştirin).
3. 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).

## Numune Çözeltisi Hazırlama

Örnek çözeltisi olarak 2 mL üst sıvıyı doğru bir şekilde pipetleyin.

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

## 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 5 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.
4. Numune solüsyonu damlası bittikten sonra, immünoafinite kolonunu durulamak için şırınga haznesine veya yükleme tüpüne 5 mL PBS ekleyin. Ardından immünoafinite kolonunu durulamak için 5 mL su ekleyin. Damla bittikten sonra immünoafinite kolonunu boşaltmak için bir vakum pompası kullanın.
5. Şırınga haznesini veya yükleme tüpünü çıkarın, immünoafinite kolonunun altına 4 mL'lik bir santrifüj tüpü yerleştirin.
6. 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 damlamıyorsa, lütfen 1-2 damla sıvının damlamasını sağlamak için biraz basınç uygulamak üzere bir şırınga kullanın, yerçekimi basıncı altında damlatmaya devam edin.】

7. Tüm elüatları toplayın ve iyice karıştırın.

8. Eluent azotla neredeyse kuruyana kadar üflendikten sonra, HPLC veya LC-MS'nin 1 mL başlangıç mobil fazıyla yeniden oluşturun, 0,22 µm mikro gözenekli filtreyle filtreleyin ve test için numune şişesine aktarın. Ya da seyreltilmemiş veya uygun şekilde seyreltilmiş eluent, 0,22 µm mikro gözenekli filtreyle filtreleyin ve test için numune şişesine aktarın.



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...

## Sonuç Yorumlama

2 mL eluanttaki DON içeriği, 0,5 g numunedeki DON içeriğine eşdeğerdir (Sıvılar 1,6 g'a eşdeğerdir)

DON içeriği = Algılama 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.

## Kolon Kapasitesi ve Kolon Kurtarma Doğrulaması

1. 6 mL suya 6000 ng DON standart stok solüsyonu ekleyin ve numune solüsyonu elde etmek için iyice karıştırın.
2. Aynı partiden üç immünoafinite kolonu alın. Eklenen numunenin hacmi 2 mL'dir (2000 ng DON'a eşdeğerdir).
3. Numune ekleme, durulama ve elüsyon prosedürü "Numune Solüsyonu Saflaştırma"daki adımla aynıdır. Suyu durulayın.
4. Tespit ve analiz

### Sonuç yorumlama:

DON sonucu  $\geq 1800$  ng ise geri kazanım oranının  $\geq 90$  olduğunu gösterir. Ürün geçerlidir.

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