

## T-2 Toxin Immunoaffinity Kolonu

Sipariş Kodu: YRIAC3006-1C



### Giriş

T-2 Toksini, Fusarium tarafından üretilen A tipi trikotesenlerden (TS) biridir. T-2 Toksini üretebilen mantarlar çoğunlukla toprak mantarları ve bazı önemli bitki patojenleridir. T-2 Toksini doğada yaygın olarak bulunur ve mahsulleri ve yemleri kolayca kirletebilir. Bunlar arasında mısır, yulaf, buğday, arpa ve diğer tahıl mahsulleri en ciddi şekilde kirletilir ve bu da bir dizi potansiyel gıda güvenliği riskine neden olur. 1973 yılında T-2 Toksini, Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından doğal olarak oluşan gıda kirliliğinin en tehlikeli kaynaklarından biri olarak tanımlandı.

T-2 Toksini kimyasal özellikler açısından çok kararlıdır ve oldukça toksiktir. Kirlenmiş tahılların veya yemlerin insanlar ve hayvanlar tarafından yanlışlıkla yutulması çeşitli akut ve kronik zehirlenmelere neden olur. Başlıca toksik etkileri sindirim sistemi ve karaciğer toksisitesi, sitotoksosite, kan sistemi toksisitesi, bağışıklık sistemi toksisitesi, üreme ve gelişim toksisitesi, nörotoksosite vb.'dir.

### Prensip

Antikor ve antijenin spesifik bağlanmasına dayanarak, T-2 Toksinin monoklonal antikorları, bir immünoafinite kolonu oluşturmak için kolonda sabitlendi.

Numune çıkarıldıktan, santrifüj edildikten veya filtrelendikten ve üst sıvı uygun şekilde seyreltildikten sonra, numunedeki T-2 Toksini yavaşça immünoafinite kolonundan geçer ve spesifik olarak antikora bağlanır. Bağlanmamış diğer maddeleri çıkarmak için immünoafinite kolonunu durulayın ve T-2 Toksini metanol ile elüe edin. Uygun seyreltmeden sonra analitik cihaz tespiti için kullanılabilir.

### Uygulama

Bu ürün, T-2 Toksin içeren numunelerin ön işlenmesi için uygundur. Numune çözeltisi immünoafinite kolonu tarafından saflaştırıldıktan sonra, LC-MS ile doğrudan kalitatif ve kantitatif tespit için kullanılabilir veya HPLC ve diğer analitik cihazlar için türevlendirilebilir. Sinyal-gürültü oranını etkili bir şekilde iyileştirebilir ve tespit yönteminin hassasiyetini ve doğruluğunu artırabilir.

**Katı Numune** : Mısır, buğday, sorgum vb. gibi tahıllar.

**Sıvı Numune** : Soya sosu, sirke, likör, bira vb.

【Not: Ayrıntılı olarak listelenmeyen numuneler için lütfen numune türüne göre ekstraksiyon yöntemini seçin. Şüphemiz varsa lütfen ürün yöneticisiyle iletişime geçin veya teyit 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. 1M sodyum hidroksit: 4,00g sodyum hidroksiti tartın, suda çözün ve 100mL'ye seyreltin.
3. Metanol-sulu çözelti (80+20): 800 mL metanole 200 mL su ekleyin, iyice karıştırın.
4. Metanol-sulu çözelti (16+84): 160 mL metanole 840 mL su ekleyin, iyice karıştırın.

## 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

Bir kap içerisinde bulunan tüm sıvı numuneleri homojenizatör ile iyice karıştırdıktan sonra, test edilecek 100 gr (mL) numune alınır. Alkol numunelerinin öncelikle ultrasonik olarak gazının alınması gerekir.



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

Mısır, buğday, sorgum vb. gibi tahıllar.

1. 50 mL santrifüj tüpüne 5,00 g örnek tartın.
2. 20 mL metanol-sulu çözelti (80+20) ekleyin, karıştırmak için vorteksleyin ve 20 dakika boyunca ultrasonik/vorteks çalkalayıcıda çalkalayın (veya homojenizatörle 3 dakika homojenleştirin). 3. Örnek çözeltisinin 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 25,00 g örnek tartın. 2. 50 mL'ye metanol ile 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).

### Sıvı Numune

İçki, bira, vb.

1. 20,00 g numuneyi 50 mL santrifüj tüpüne tartın.
2. 50 mL'ye metanol ile seyreltin, karıştırmak için vorteksleyin ve 20 dakika boyunca ultrasonik/vorteks çalkalayıcıda çalkalayın (veya homojenizatör ile 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

1. 10 mL üst sıvıyı doğru bir şekilde pipetleyin.
2. 40 mL su ekleyin ve iyice karıştırın.
3. 10 mL üst sıvıyı numune çözeltisi olarak elde etmek için 10 dakika boyunca  $\geq 6000$  r/dk'da santrifüj edin.

【Not: Numune sirke gibi olduğunda, numune çözeltisinin pH'ını 7,4'e ayarlamak için lütfen 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. Numune solüsyonunu şırınga haznesine veya yükleme tüpüne doğru bir şekilde pipetleyin, numune solüsyonunun yerçekimi basıncı altında saniyede 1-2 damla hızında damlamasını sağlayın.
3. Numune solüsyonu damlası bittikten sonra, immünoafinite kolonunu durulamak için şırınga haznesine veya yükleme tüpüne 10 mL su ekleyin. Damla bittikten sonra immünoafinite kolonunu boşaltmak için bir vakum pompası kullanın.

【Not: İmmünoafinite kolonu daha fazla safsızlık adsorbe ederse, önce 10 mL %1 Tween-20 ile durulanabilir ve %1 Tween-20'nin hacmi adsorpsiyon durumuna göre uygun şekilde artırılabilir ve son olarak 10 mL su ile durulanabilir.】

4. Şırınga haznesini veya yükleme tüpünü çıkarın, immünoafinite kolonunun altına 4 mL'lik bir santrifüj tüpü yerleştirin.
5. İmmünoafinite kolonunu elüe etmek için 1 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. Eluent azotla neredeyse kuruyana kadar üflendikten sonra, HPLC veya LC-MS'nin 1 mL başlangıç mobil fazıyla yeniden oluşturun, 0,22 µm mikro gözenekli filtreye filtreleyin ve test için numune şişesine aktarın. Ya da seyreltilmemiş veya uygun şekilde seyreltilmiş eluent, 0,22 µm mikro gözenekli filtreye 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

1 mL eluanttaki T-2 Toksin içeriği, 0,5 g katı numunedeki T-2 Toksin içeriğine eşdeğerdir (Soya sosu ve sirke numuneleri 1 g'a, likör ve bira numuneleri 0,8 g'a eşdeğerdir)

T-2 Toksin içeriđi = Tespit Konsantrasyonu × Seyreltme Faktörü

## Önlemler

1. Tüm analiz işlemleri gerekli alanda yapılmalıdır. Alan nispeten bağımsız bir ameliyat masası ve atık depolama cihazı olmalı ve doğrudan güneş ışığından uzak tutulmalıdır.
2. Operatör tüm deney boyunca son derece toksik maddelere maruz kalma gerekliliklerine uygun olarak 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 asitle ayarlayın. 8. Kullanılmış kabin ve mikotoksin çözeltisinin %5 sodyum hipoklorit çözeltisi (V/V) ile bir gece bekletilmesi önerilir.

## Kolon Kapasitesi ve Kolon Kurtarma Doğrulaması

1. 30 mL metanol-sulu çözeltiye (16+84) 6000 ng T-2 Toksin standart stok çözeltisi ekleyin ve numune çözeltisi elde etmek için iyice karıştırın.
2. Aynı partiden üç immünoafinite kolonu alın. Eklenen numunenin hacmi 10 mL'dir (2000 ng T-2 Toksine eşdeğerdir).
3. Numune ekleme, durulama ve elüsyon prosedürü "Numune Çözeltisi Saflaştırma"daki adımla aynıdır. Suyu durulayın.
4. Tespit ve analiz.

### Sonuç yorumlama:

T-2 Toksin sonucu  $\geq 1800$ ng ise iyileşme 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