

# GLİADİN / GLUTEN

Gıda alerjenleri, Gliadin ve diğer prolaminler, buğday alerjisi ve gluten intoleransı (çölyak hastalığı) da dahil olmak üzere bir dizi rahatsızlıkta başlıca nedensel ajanlar olarak tanımlanmıştır. Buğday alerjisi, gliadin, albümin, globulin ve glutenin dahil olmak üzere bir dizi buğday proteinine karşı spesifik bir bağışıklık tepkisidir. Çölyak hastalığı, ince bağırsakta besinlerin zayıf emilimiyle sonuçlanan gluten proteinlerine karşı kronik bir reaksiyondur.

## AMAÇLANAN KULLANIM

Veratox® for Gliadin, buğday, arpa ve çavdarda bulunan gliadin ve prolaminlerin varlığı açısından glutensiz olması amaçlanan bileşenlerin, yerinde temiz çözültülerin ve bitmiş gıda ürünlerinin kantitatif analizi için tasarlanmıştır.

### A. Isıl işlem görmemiş numunelerin orbital çalkalayıcı veya döndürücü ile ekstraksiyonu

1. 4 kısım etanol ile 6 kısım distile suyu birleştirerek %40 etanol ekstraksiyon solüsyonu hazırlayın. Örnek ekstrakt seyreltme solüsyonunu (PBS) prosedür notu 3'te ayrıntılı olarak açıklandığı şekilde hazırlayın.
2. Temiz bir 50 cc tüpe 1 g öğütülmüş numune veya 1 mL sıvı numune ekleyin.
3. Tüpe 1 kaşık ekstraksiyon katkı maddesi ekleyin.
4. Tüpe 10 mL (sıvı numuneler için 9 mL) %40 etanol ekleyin, kapağı sıkıca kapatın, ardından tam karışmayı sağlamak için tüpü yaklaşık 20 saniye boyunca elle kuvvetlice çalkalayın veya 10 saniye boyunca vorteksleyin.
5. Tüpü aletin düz pedi üzerine yan yatırarak ve bir lastik bant veya bant kullanarak sıkıca tutarak bir orbital çalkalayıcıda veya rotatörde sallayarak (150rpm) ekstrakte edin. Oda sıcaklığında 15 dakika boyunca döndürün veya çalkalayın.
6. Tüpü çıkarın ve berrak özütü çekmeden önce numune özütünün çökmesini sağlamak için yaklaşık 10 dakika rafta bekletin.
7. Ekstraktın üst katmanından 100 µL çekip 3,9 mL PBS içeren küçük bir tüpe veya şişeye aktararak her bir numuneyi 1:40 oranında seyreltin veya 0,5 mL ekstraktı Bir test tüpünde 19,5 mL PBS.
8. Karıştırmak için tüpü 5 saniye boyunca vorteksleyin veya elle birkaç kez ters çevirin.
9. Seyreltilmiş numuneleri ekstraksiyondan sonraki 2-3 saat içinde test edin.

### B. Isıl işlem görmemiş numunelerin çalkalayıcı veya çalkalayıcı su banyosu ile ekstraksiyonu

1. 4 kısım etanol ile 6 kısım distile suyu birleştirerek %40 etanol ekstraksiyon solüsyonu hazırlayın. Örnek ekstrakt seyreltme solüsyonunu (PBS) prosedür notu #3'te ayrıntılı olarak açıklandığı şekilde hazırlayın.
2. 125 mL'lik temiz bir ekstraksiyon şişesine 2 g öğütülmüş numune veya 2 mL sıvı numune ekleyin.
3. Şişeye 1 kaşık ekstraksiyon katkısı ekleyin.
4. 20 mL (sıvı numuneler için 18 mL) %40 etanol ekleyin, şişenin kapağını sıkıca kapatın, ardından tamamen karışmasını sağlamak için yaklaşık 20 saniye boyunca elle kuvvetlice çalkalayın.
5. Oda sıcaklığında 15 dakika boyunca bir çalkalayıcıda sallayarak (150 rpm) ekstrakte edin (bir çalkalayıcı su banyosu işe yarayabilir, ancak ısıyı açmayın). Şişeyi çalkalayıcıdan çıkarın ya da banyo.
6. Berrak özütü çekmeden önce numunenin bir kısmının çökmesini sağlamak için şişeyi yaklaşık 10 dakika bekletin.
7. Ekstraktın üst katmanından 100 µL çekip 3,9 mL PBS içeren küçük bir tüpe veya şişeye aktararak veya 0,5 mL ekstraktı 19,5 mL PBS ile karıştırarak her bir numuneyi 1:40 oranında seyreltin. C.
8. Karıştırmak için tüpü 5 saniye boyunca vorteksleyin veya elle birkaç kez ters çevirin.
9. Seyreltilmiş numuneleri ekstraksiyondan sonraki 2-3 saat içinde test edin.

### C. Isıl işlem görmüş numunelerden gliadin ekstrakte etmek için:

1. 55 kısım etanol ile 45 kısım distile suyu birleştirerek %55 etanol ekstraksiyon solüsyonu hazırlayın.
2. Örnek ekstrakt seyreltme solüsyonunu (PBS) prosedür notu 3'te ayrıntılı olarak açıklandığı şekilde hazırlayın. NOT: Ekstraksiyon kokteyli çözeltisi ile ekstraksiyon bir kimyasal başlık altında yapılmalıdır.
3. 0,25 g numuneyi 50 cc'lik vidalı kapaklı santrifüj tüpüne tartın.
4. 2,5 mL ekstraksiyon kokteyli çözeltisi ekleyin (seyreltme faktörü 1:10).
5. Kokteyli ve numuneyi homojenize etmek için kapağı kapatın ve 10-20 saniye vorteksleyin.
6. 50°C'de 40 dakika inkübe edin (su banyosu veya fırın).
7. Örnekleri çıkarın ve 5-10 dakika soğumaya bırakın.
8. 1 kaşık özel ekstraksiyon katkısı ekleyin (prosedür notu 'e' bakın).
9. 7,5 mL %55 etanol ekleyin ve 10-20 saniye boyunca tekrar vorteksleyin (nihai etanol konsantrasyonu %41 olacaktır ve bu noktaya kadar örnek seyreltmesi 1:40'tır).
10. Oda sıcaklığında 1 saat boyunca bir döndürücü üzerinde (tüp yan yatırılarak) çalkalayın (150-200 rpm).
11. Numuneyi (gerekirse) 2500 rpm'de 5 dakika santrifüjleyin.
12. Numuneyi PBS içinde 1:10 oranında seyreltin (1,8 mL PBS içinde 200 µL numune).
13. Örnekler çalışmaya hazırdır (1:400 nihai seyreltme).

**Örnek ekstrakt seyreltme solüsyonu (PBS):** Bir folyo poşet seyreltme çözücüsü olan 10 mM PBS'yi 1 L distile veya deiyonize suya ekleyerek ekstrakt seyreltme çözeltisini hazırlayın. İyice karıştırmak için döndürün.

**Yıkama tamponu:** Yıkama tamponu konsantrasyonunu 960 mL distile veya deiyonize su içinde 1 L'lik boş bir kaptan seyrelterek yıkama tamponu çözeltisini hazırlayın. Şişeyi birkaç kez suyla durulayarak tüm konsantrenin aktarıldığından emin olun ve iyice karışmasını sağlamak için döndürün.

\*Bitter çikolata, kakao ve tenen. Bitter çikolata ve kakao tozu gibi bitter çikolata, kakao ve/veya tenenin bulunduğu ürünleri test ediyorsanız, özel bir ekstraksiyon katkısı (Neogen ürün 8482) için iletişime geçin.

# GLİADİN / GLUTEN

Gıda alerjenleri, Gliadin ve diğer prolaminler, buğday alerjisi ve gluten intoleransı (çölyak hastalığı) da dahil olmak üzere bir dizi rahatsızlıkta başlıca nedensel ajanlar olarak tanımlanmıştır. Buğday alerjisi, gliadin, albümin, globulin ve glutenin dahil olmak üzere bir dizi buğday proteinine karşı spesifik bir bağışıklık tepkisidir. Çölyak hastalığı, ince bağırsakta besinlerin zayıf emilimiyle sonuçlanan gluten proteinlerine karşı kronik bir reaksiyondur.

## AMAÇLANAN KULLANIM

Veratox® for Gliadin, buğday, arpa ve çavdarda bulunan gliadin ve prolaminlerin varlığı açısından glutensiz olması amaçlanan bileşenlerin, yerinde temiz çözültülerin ve bitmiş gıda ürünlerinin kantitatif analizi için tasarlanmıştır.



1

150 µL kontrol ve numune ekstraktlarını kırmızı işaretli aktarım kuyucuklarına aktarın.



2

100 µL kontrol ve numune antikor kaplı kuyucuklara aktarın. Kuyu tutucuyu düz bir yüzey üzerinde ileri geri kaydırarak 20 sn. boyunca karıştırın. Mikro kuyucukları 18-30°C (64-86°F) oda sıcaklığında 10 dk. inkübe edin. Kırmızı işaretli transfer kuyularını atın.



3

Kuyucukların içindekileri boşaltın.



4

Her bir antikor kuyusunu 5 kez yıkama tampon çözeltisiyle yıkayın.



5

Kuyuları ters çevirin ve kalan yıkama solüsyonu çıkana kadar bir kağıt havlu üzerine hafifçe vurun.



6

12 kanallı pipet kullanarak 100 µL konjugatı reaktif kabından antikor kuyucuklarına aktarın. 10 dk. inkübe edin. Düz bir yüzeyde ileri geri kaydırarak 20 sn. karıştırın.



7

3. ve 4. adımları tekrarlayın.



8

100 µL substratı reaktif kabından antikor kuyucuklarına 12 kanallı pipet kullanarak aktarın. 18-30°C (64-86°F) oda sıcaklığında 10 dk. inkübe edin. Düz bir yüzeyde ileri geri kaydırarak 20 sn. karıştırın.



9

100 µL Kırmızı Durdurma Solüsyonu reaktif kabından antikor kuyucuklarına aktarın. Karıştırın.



10

Mikrokuyucukların altını kuru bir bezle silin ve 650 nm filtrelili bir mikrokuyucuk okuyucu Stat- Fax'ta okuyun. Analitik sonuçları etkileyebileceğinden hava kabarcıkları ortadan kaldırılmalıdır. Sonuçlar Kırmızı Durdurma Solüsyonu eklendikten sonra 20 dk. içinde okunmalıdır.

## SONUÇLARIN YORUMLANMASI

Standart kontroller buğday gliadininden yapılmış ve gliadin olarak hesaplanmıştır. Glutenin yaklaşık %50'si gliadin olarak mevcuttur. Bu nedenle, numunelerin gluten değerini hesaplamak için ppm gliadin sonuçlarını 2 ile çarpın.

## DEPOLAMA GEREKLİLİKLERİ

Kit, 2-8°C'de (35-46°F) buzdolabında saklandığında etiket üzerindeki son kullanma tarihine kadar kullanılabilir. Dondurmayın.

**Format:** Sandviç ELISA

**Kantitasyon aralığı:** 5-50 ppm

**Sağlanan kontroller:** 0, 5, 10, 20 ve 50 ppm

**Test süresi:** 30 dakika