

OR SELL SRL
CONTROLLA GLI ALIMENTI

MICOTOSSINE
Linea Controllo

DON SELECT-OR COD. RK-IAC5004

Colonne di immunoaffinità per la purificazione di Deossinivalenolo da matrici alimentari.

Le colonne di immunoaffinità **DON SELECT-OR** *sono di facile utilizzo e progettate per una rapida e semplice purificazione di* ***Deossinivalenolo****. Si utilizzano su cereali e prodotti derivati da cereali e garantiscono un'elevata precisione.*

Il Deossinivalenolo estratto con solvente viene purificato dalle colonne di immunoaffinità dalle quali sarà poi eluito con acqua e adattato alla lettura diretta in HPLC.

- *RAPIDO: clean-up in 20 minuti*
- *AFFIDABILE: anticorpi monoclonali contro Deossinivalenolo*
- *PRECISIONE: Recupero > 95%*
- *DUREVOLE: shelf life 18 mesi ddp*
- *VERSATILE: applicabile a matrici complesse*
- *In accordo Dir. CE 2002/26*

OR SELL s.r.l.
Via Lametta, 146
41010 Limidi di Soliera
(MO)

Tel. +39 059 652504
Fax +39 059 9782208
www.orsell.it
kits@orsell.it

Procedura

DON SELECT-OR

Il Deossinivalenolo è un componente del gruppo dei Tricoteceni di tipo B, micotossine prodotte da funghi come Fusarium graminearum *o* culmorum *su molte matrici alimentari come ad esempio mais e frumento.*
Il Deossinivalenolo è anche chiamato Vomitossina a causa del suo effetto nauseante ed emetico riscontrato nei suini e in altre specie di interesse zootecnico. Il Deossinivalenolo e gli altri tricoteceni del gruppo B sono immunosoppressanti e comportano cali di performance degli animali dati dalla riduzione dell'ingestione di alimento.
Le colonne di immunoaffinità DON SELECT-OR sono adatte alla purificazione del Deossinivalenolo da cereali grezzi o processati (mais, frumento, orzo, DDGs, glutine di mais). Il Deossinivalenolo presente in una quantità significativa del campione da analizzare, dopo macinazione, viene estratto mediante un solvente adatto. L'estratto così ottenuto viene filtrato per eliminare la porzione solida e successivamente un'aliquota viene fatta passare nelle colonne di immunoaffinità per la purificazione. Il Deossinivalenolo presente nel campione si lega agli anticorpi presenti nella colonna. Dopo un lavaggio della colonna, il Deossinivalenolo viene eluito e, previa evaporazione e risospensione nella fase mobile adatta al sistema HPLC, analizzato.

Soluzioni e solventi raccomandati:

*Phosphate Buffer Solution (PBS): Tampone fosfato (0.05 M / 0.15 M NaCl, pH 7.4)**
Solventi di estrazione: *Acqua deionizzata o per HPLC*
Eluente: *Metanolo per HPLC*
Le soluzioni devono essere portate a temperatura ambiente (22-28 °C) prima dell'uso.
Si raccomanda di utilizzare gli standard OR SELL per Deossinivalenolo.
*Tampone fosfato: pesare 8 g di NaCl; 1.16 g di $Na_2HPO_4.2H_2O$; 0.2 g di KH_2PO_4; 0.2 g di KCl. Sciogliere i sali in 990 ml di acqua distillata o deionizzata. Aggiustare il pH a 7.4 con HCl o NaOH e infine portare a 1000 ml con acqua.

Estrazione:

Macinare e omogeneizzare una quantità rappresentativa della matrice da analizzare fino a che il campione macinato non raggiunge le dimensioni di 1 mm di diametro.

Campioni solidi:

Pesare **25 g di campione** *in una beuta da 500 ml.*
Aggiungere **200 ml della soluzione di acqua deionizzata o per HPLC** *e chiudere la beuta.*
Mantenere in agitazione per 30 minuti.
Mediante un imbuto, filtrare il campione con carta da filtro e raccogliere il filtrato.
Se il filtrato dovesse risultare torbido, filtrare nuovamente attraverso un filtro in fibra di vetro circa 20 mL dell'estratto.
Importante: il pH dell'estratto deve essere neutro. *Se necessario riportarlo alla neutralità con una soluzione di NaOH.*

Purificazione del campione:

Posizionare la colonna di immunoaffinità DON SELECT-OR sul supporto.
La colonna e l'estratto diluito devono prima essere stati portati a temperatura ambiente.
La colonna non richiede un lavaggio prima dell'applicazione dell'estratto diluito.
La colonna di immunoaffinità DON SELECT-OR permette il gocciolamento spontaneo del liquido.
Applicare se necessario la siringa-serbatoio con l'adattatore per il sostegno della colonna.
Versare i colonna 2 ml di estratto filtrato *(corrispondenti a 0.25 g di campione)*
Il flusso ottimale è 1 ml/min.

Procedura

Lavaggio:

Il lavaggio delle colonne di immunoaffinità DON SELECT-OR avviene con **5 ml di PBS al flusso di 1-3 ml/minuto.**
Asciugare la colonna provocando un leggero flusso d'aria con la siringa.

Eluizione:

Rimuovere la siringa-serbatoio dalle colonne di immunoaffinità DON SELECT-OR e posizionare sotto la colonna una provetta per la raccolta dell'eluato. Per l'eluizione del Deossinivalenolo legato in colonna utilizzare solo metanolo per HPLC (HPLC grade - water free).
Eluire con 1.5 - 3 ml di metanolo, *caricandoli in colonna in piccole quantità (esempio: 3 aliquote da 0.5 ml). Il metanolo deve essere lasciato in colonna per alcuni secondi prima di iniziare l'eluizione, questo al fine di permettere un miglior contatto con il gel di supporto agli anticorpi monoclonali.*
Dopo che l'ultima aliquota di soluzione di eluizione è stata caricata in colonna, la soluzione di eluizione residua presente ancora in colonna viene eliminata e aggiunta all'eluato ottenuto precedentemente.
L'eluato così ottenuto può essere analizzato direttamente mediante HPLC.
In caso di bassi livelli di contaminazione, l'eluato può essere portato a secco a temperature inferiori a 60°C e il residuo risospeso in una piccola aliquota di fase mobile.

Condizioni suggerite per l'analisi HPLC:

Colonna: ACE 5 C18 HiChrom (150 x 4.6 mm i.d.). Fase inversa, 5 µm RP-C18.
Fase mobile: Acqua:Metanolo:Acetonitrile (94:3:3). I reagenti devono essere di grado per HPLC. La composizione potrebbe essere modificata al fine di ottimizzare il risultato in funzione della colonna utilizzata.
Flusso: 1 ml/min
Lunghezza d'onda: 218 nm
Volume d'iniezione: 100 µl

Per la preparazione della curva di calibrazione si raccomanda l'uso degli standards OR SELL di Deossinivalenolo (es: 100 µg/ml in acetonitrile, 5 ml, codice: RK-002009).

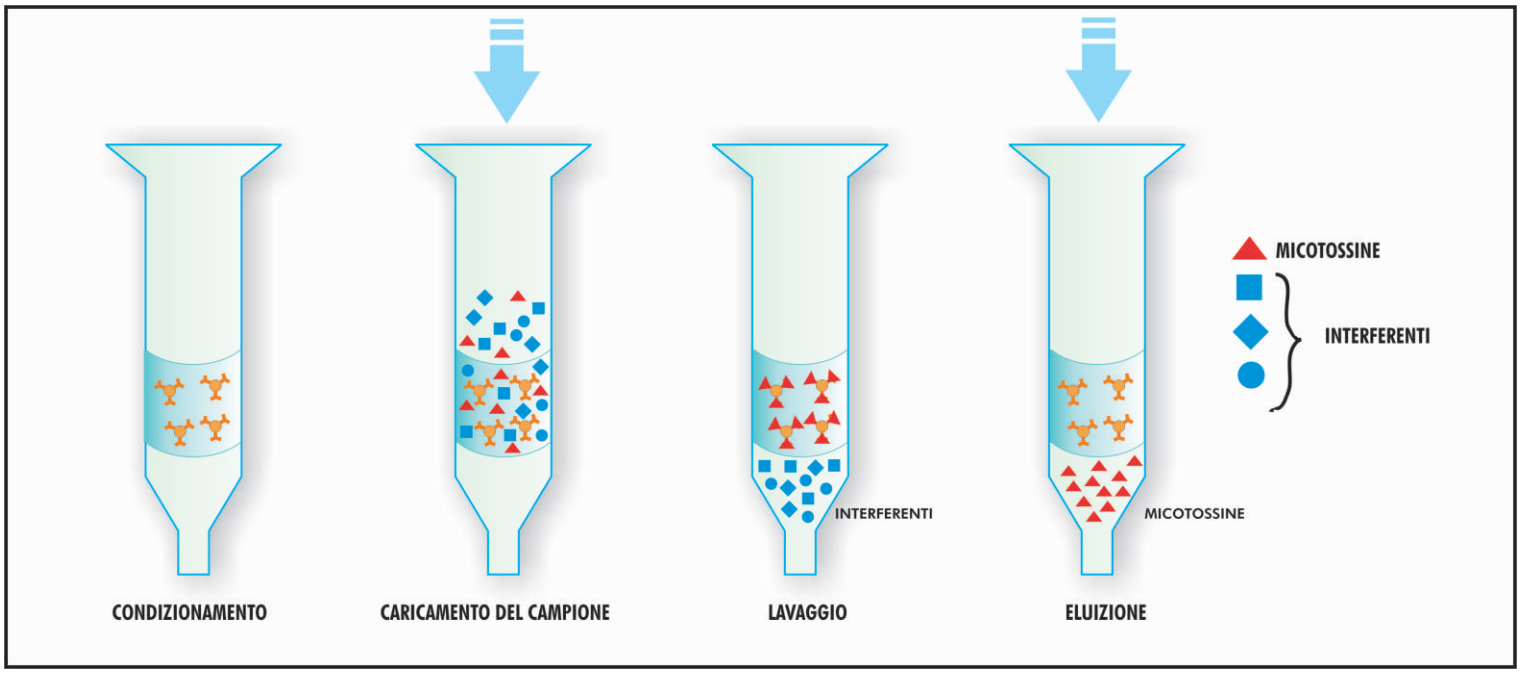
Avvertenze e precauzioni:

Le micotossine sono sostanze altamente tossiche e probabilmente cancerogene per l'uomo e gli animali.
Prestare la massima attenzione alle misure di protezione!
Decontaminare tutto il materiale utilizzato con una soluzione di sodio ipoclorito al 5%.
Le colonne di immunoaffinità DON SELECT-OR contengono anticorpi monoclonali contro il Deossinivalenolo legati a un supporto gelatinoso; contengono sodio azide.
Non utilizzare le colonne di immunoaffinità DON SELECT-OR dopo la data di scadenza indicata sulla confezione.
Le colonne di immunoaffinità DON SELECT-OR sono monouso.

Materiale addizionale e disponibile ma non fornito:

Adattatore
Siringa da 50ml
Valvola di chiusura
Mulino
Macina/frullatore Osterizer

Procedura di clean up con colonne di immunoaffinità



DON SELECT-OR - Colonne di immunoaffinità per Deossinivalenolo
Codice: RK-IAC5004

Caratteristiche: Anticorpi monoclonali contro Deossinivalenolo
Confezione: 25 colonne di immunoaffinità
Flusso: 1 ml/min
Volume del gel in colonna: 1 ml
Conservazione: 2- 8°C, non congelare

Bibliografia:

CAST (Council for Agricultural Science and Technology) report, Mycotoxins Risks in Plant, Animal, and Human Systems, Jan. 2003.

EC-Directive 98/53/EC, 16th July 1998, EC-directive 2002/27/EC of 13th of March 2002, laying down the sampling methods and methods for analysis for the official control of the levels for certain contaminants in foodstuff. http://vm.cfsan.fda.gov/

OR SELL s.r.l.
Via Lametta, 146
41010 Limidi di Soliera
(MO)

Tel. +39 059 652504
Fax +39 059 9782208
www.orsell.it
kits@orsell.it