RIDASCREEN® FAST Афлатоксин SC

Арт. No. R9002

Иммуноферментный анализ для количественного определения афлатоксина SC

Анализ *in vitro*

Хранить при 2-8°C

Пожалуйста, обращайтесь по вопросам технической поддержки и дополнительной информации к официальным дистрибьюторам на территории Вашей страны:

Официальный дистрибьютор в России:
ООО "НеоТест"
ул. Растопчина, 1Г, г. Владимир
+7 499 649 02 01
info@neo-test.ru
www.neo-test.ru

Техническая поддержка
support@neo-test.ru
+7 499 704 05 50

Официальный дистрибьютор в Беларуси:
ОДО "КомПродСервис"
ул. Филимонова, 25Г, г. Минск
+375 17 336 50 54
info@komprod.com
www.komprod.com

Техническая поддержка
support@komprod.com
+375 17 336 50 54

RIDA® и RIDASCREEN®

являются зарегистрированными торговыми марками R-Biopharm AG.

Производитель: R-Biopharm AG, Дармштадт, Германия

R-Biopharm AG имеет сертификат ISO 9001.

RIDA® and RIDASCREEN®

are registered trademarks of R-Biopharm AG

Manufacturer: R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany

R-Biopharm AG is ISO 9001 certified.

RIDASCREEN® FAST Афлатоксин SC

Описание

RIDASCREEN®Aflatoxin SC (Кат. №.:R9002) представляет собой набор для количественного определения афлатоксина SC в кукурузе и кукурузном масле, коричневом рисе и кормах методом конкурентного иммуноферментного анализа. Все необходимые для иммуноферментного анализа реагенты, включая стандарты, входят в комплектацию набора. Набор предназначен для 48 измерений (включая стандарт). Для количественного анализа требуется микропланшетный ИФА анализатор (ридер).

Для количественного определения необходим спектрофотометр

Пробоподготовка:	Экстракция, фильтрация, разбавление
Время выполнения:	Подготовка проб (10 проб)……ок. 10 мин Проведение теста (время инкубации)……..……15 мин
Предел обнаружения: (соответствует стандартному веществу)	Кукуруза……..……..…..1,5 мкг/кг Корма……..…….……..5,3 мкг/кг Коричневый рис….……...ок. 2 мкг/кг Кукурузное масло……..……ок. 2 мкг/кг
Степень извлечения: (естественно загрязненные образцы - Trilogy®)	Кукуруза……...70-120% Коричневый рис……..70-120% Корма……....70-100%

Для повышения качества оценки при выполнении процедур ИФА мы дополнительно ссылаемся на наше Руководство по надлежащей практике ИФА (GEP) в соответствующей версии. В них перечислены минимальные стандарты, касающиеся базовых условий при использовании тест-наборов R-Biopharm AG и проведении ИФА-анализа. Руководство можно найти, распечатать и загрузить с веб-сайта официального дистрибьютора:

ООО «Неотест», РФ	https://neo-test.ru/wp-content/uploads/2021/10/prakticheskoe-rukovodstvo-ifa-rus.pdf	
ОДО «КомПродСервис», РБ	https://komprod.com/wp-content/uploads/2021/10/prakticheskoe-rukovodstvo-ifa-rus.pdf	

Сопутствующие товары

RIDASCREEN® Aflatoxin B1 30/15 (R1211)
RIDASCREEN® Aflatoxin Total (R4701)
RIDASCREEN®FAST Aflatoxin (R5202)
EASI-EXTRACT® Aflatoxin (RBRRP71/RBRRP70N)
RIDA® Aflatoxin column (R5001/R5002)

1. Применение

RIDASCREEN®Aflatoxin SC (Кат. №.:R9002) представляет собой тест-систему, предназначенную для количественного определения афлатоксина SC в кукурузе, кормах, коричневом рисе и кукурузном масле методом конкурентного иммуноферментного анализа.

2. Общая информация

Афлатоксины являются вторичными метаболитами плесневых грибов рода *Aspergillus flavus, parasiticus* и *nomius*. Данные плесневые грибы являются типичными контаминантами пищевых продуктов растительного происхождения во влажных тропических широтах. Афлатоксины относятся к сильнейшим природным канцерогенным веществам, обладая выраженным токсическим действием.

Афлатоксин B1, который обычно присутствует совместно с афлатоксином B2, G1 и G2, может быть обнаружен в зерновых культурах, кукурузе, хлопковом семени, некоторых орехах.

3. Принцип метода

В основе метода – реакция взаимодействия антигенов с антителами. Лунки стрипов микротитровального планшета покрыты антителами захвата, направленными против антиафлатоксиновых антител. При проведении анализа в лунки планшета добавляют растворы стандартов или образцов, ферментный конъюгат афлатоксина и анти-афлатоксиновые антитела. Свободный афлатоксин и афлатоксин ферментного конъюгата конкурируют за центры связывания афлатоксиновых антител (конкурентный иммуноферментный анализ).

Одновременно анти-афлатоксиновые антитела связываются с иммобилизованными на поверхности планшета антителами захвата. Несвязавшийся ферментный конъюгат удаляют в процессе промывки. Далее в лунки планшета добавляют субстрат/хромоген. Связавшийся ферментный конъюгат преобразует хромоген в конечный продукт голубого цвета.

Добавление стоп-раствора приводит к изменению цвета с голубого на желтый. Измерение оптической плотности раствора проводят при 450 нм.

Оптическая плотность раствора в лунках обратно пропорциональна концентрации афлатоксина в пробе.

4. Предоставляемые реагенты

Каждый набор предназначен для 48 измерений (включая анализ стандартного раствора). Каждая тест- система содержит:

Компонент	Цвет крышки	Формат		Объём
Микротитрационный планшет М	-	Готов к использованию		48 лунок
Стандарт 1*	Белый	Готов к использованию	0 мкг/л	1,3 мл
Конъюгат	Красный	Готов к использованию		3 мл
Антитела	Черный	Готов к использованию		3 мл
Солевой промывочный буфер Твин		Раствор соли	-	
Субстрат/Хромоген Red Chromogen Pro	Коричневый	Готов к использованию		10 мл
Стоп-реагент	Жёлтый	Готов к использованию		14 мл

* - в комплект тестов входит только стандарт 1 (нулевой стандарт), значения остальных стандартов (B/B0) приведены в сертификате качества. Для расчета результатов см. п. 11.

5. Необходимые, но не предоставленные материалы

5.1. Оборудование:

- ИФА-анализатор (ридер) с фильтром на 450 нм;
- градуированный цилиндр (пластиковый или стеклянный), 100мл;
- стеклянные фильтровальная воронка и колба (50мл);
- лабораторная мельница;
- лабораторный шейкер (дополнительно);
- фильтровальная бумага: Whatman No.1 или аналог;
- градуированные пипетки;
- дозаторы автоматические на 20 мкл – 200мкл и 200 мкл – 1000мкл.

Для USDA/GIPSA метода экстракции:

- гомогенизатор универсальный Ultra Turrex (или аналогичный);
- шприцевой фильтр (JM 1000 или аналогичный).

5.2. Реагенты:

- метанол;
- 70%-й раствор метанола: 70 мл метанола (100%) смешивается с 30 мл дистиллированной или деионизированной воды;
- дистиллированная или деионизированная вода.

6. Меры предосторожности для пользователей

К проведению анализа допускается только специально обученный персонал. Необходимо строго соблюдать инструкцию по использованию набора. Стандартные растворы содержат афлатоксин SC, при работе необходимо соблюдать особые меры предосторожности. Избегайте контакта реагентов с кожей (используйте перчатки). Деконтаминацию стеклянной посуды и растворов, содержащих токсины, лучше всего проводить, используя 10 % (v/v) раствор гипохлорита натрия. Соляной кислотой доведите pH раствора гипохлорита до 7, погрузите в раствор загрязненную посуду и оставьте на ночь. Стоп-раствор содержит в своем составе 1H серную кислоту (R36/38, S226). В данном наборе могут содержаться и другие опасные вещества. Дополнительные рекомендации по работе с опасными веществами можно найти в соответствующих паспортах безопасности для данной продукции (MSDS), которые доступны на сайте www.r-biopharm.com.

7. Инструкции по хранению

Храните набор при температуре 2 - 8° C. Не замораживайте компоненты набора. Неиспользованные микролунки поместите в оригинальную фольгированную упаковку и плотно закройте её вместе с прилагаемым осушителем. Храните при 2 - 8° C. Афлатоксины светочувствительны, поэтому избегайте попадания прямого света на стандартные растворы или экстракты. Раствор субстрата/хромогена светочувствителен, поэтому избегайте попадания на него прямого света. По истечении срока годности, указанного на этикетке, гарантия качества аннулируется. Не заменяйте реагенты в составе одного комплекта реагентами из другого комплекта с другим номером партии.

8. Признаки непригодности реагентов

- Окрашивание красноватого раствора субстрата/хромогена в голубой цвет ещё до проведения тестирования
- Значение оптической плотности в лунке с нулевым стандартом ниже 0,8 ($A_{450\ нм} < 0,8$)

9. Подготовка образцов

Пробы должны храниться в прохладном темном месте. Предоставленную пробу (отобранную в соответствие с действующими техническими нормативными правовыми актами в установленном порядке) перед экстракцией необходимо измельчить и перемешать.

9.1. Корма, кукуруза, коричневый рис

- Взвесьте 5 г измельчённой пробы, поместите в подходящую емкость и добавьте 25 мл 70% метанола*.

- Тщательно перемешивайте в течение 3 мин (вручную или на шейкере).

- Профильтруйте экстракт через фильтровальную бумагу Whatman No.1 (или аналог).

- 1мл фильтрата разведите в 1 мл дистиллированной или деионизированной воды.

- Для анализа используйте 50 мкл разведённого фильтрата на лунку.

* - объём пробы может быть увеличен пропорционально объёму раствора метанола/воды, например 10 г в 50 мл 70%-го метанола.

Метод извлечения USDA / GIPSA

- Взвесьте 50 г измельченной пробы, поместите в подходящую емкость, добавьте 250 мл 70%-ого раствора метанола;

- Тщательно гомогенизируйте подготовленный образец в течение двух минут или энергично встряхните в течение трех минут (вручную или на шейкере);

- Профильтруйте экстракт с помощью шприцевого фильтра: внесите экстрагированный образец в шприцевой фильтр в пределах 1 см от верхнего края; используя плунжер, профильтруйте 1,5 мл экстракта;

- Отберите фильтрат в чистую пробирку;

- 1мл фильтрата разведите в 1 мл дистиллированной или деионизированной воды;

- Для анализа используйте 50 мкл разведённого фильтрата на лунку.

Примечание: образцы с обнаруженной концентрацией афлатоксина >100 мкг/кг (ppb), для последующего исследования подвергают дополнительному разведению, например в соотношении 1:3 (1 + 2) водным раствором метанола (метанол/вода в соотношении 35/65 соответственно). Полученный коэффициент разбавления 3 должен учитываться при обработке результатов анализа (полученные результаты необходимо умножить на 3).

9.2. Кукурузное масло

Выборка должна быть репрезентативной (в соответствии с принятыми методами выборки). Убедитесь, что образец однородный. В противном случае восстановление может отличаться. Образцы следует хранить в прохладном, защищенном от света месте. Для контроля метода мы рекомендуем запускать известные холостые образцы и пробы с добавлением.

Реагенты:

- н-гексан, ч.д.а.

Процедура:

- Взвесьте 1 ± 0,05 г образца в подходящий контейнер и добавьте 1 мл н-гексана.

- Вортекс 10-30 с

- Добавьте 5 мл метанола (70%)*

- Вортекс 10-30с

- Энергично встряхивайте в течение 10 минут (вручную или с помощью шейкера).

- Центрифугируйте: 10 мин/3000 г /10°C (50°F); если центрифуга с охлаждением недоступна, охладите образцы в холодильнике при 2–8°C (35–46°F) в течение примерно 15 минут перед центрифугированием.

- Осторожно погрузите наконечник пипетки через верхнюю фазу гексана в нижнюю фазу.

- Отберите 500 мкл из нижней фазы и перенесите в новый флакон.

- Добавьте 500 мкл дистиллированной или деионизированной воды.

- Вортекс 10-30с

- Немедленно используйте 50 мкл разбавленного фильтрата на лунку в тесте.

* При необходимости размер образца может быть увеличен, но объемы н-гексана и метанола (70%) должны быть адаптированы соответствующим образом, например, 2 г образца + 2 мл н-гексана + 10 мл метанола (70%).

10. Проведение теста

10.1. Предварительные указания

1. Перед использованием доведите все реагенты до комнатной температуры (20 – 25°C). После использования все реагенты необходимо хранить при температуре 2 - 8°C.

2. Реакция начинается с внесения специфических антител. В связи с этим, при использовании одноканального дозатора для постановки анализа необходимо использовать не более трех стрипов одновременно. При использовании многоканального дозатора возможно использование большего количество стрипов (до 6).

3. Стандарт афлатоксина 1 (0 ppb) готов к использованию. Значения оптических плотностей стандартов афлатоксина 2 - 7 (с концентрациями 2, 4, 10, 20, 50 и 100 ppb соответственно) представлены в сертификате к тест-системе. Стандартная кривая рассчитывается с помощью программы RIDA®OFT Win (см. п 11.) в соответствии с указанными значениями. В этом расчете учитывался коэффициент разбавления 10.

Для приготовления моющего буфера (фосфатно-солевой буфер с твином) растворите содержимое прилагаемого пакетика буферной соли (см. п. 4) в 1 л дистиллированной воды. Готовый моющий буфер может храниться при 2 – 8°C в течение 4-6 недель.

Альтернативно. Растворите содержимое пакетика в 100 мл дистиллированной воды (10-ти кратный концентрат). Этот раствор может храниться около 8-12 недель при комнатной температуре (20 - 25°C). Для

получения готового к работе моющего буфера, растворите одну часть 10-ти кратного концентрата в 9 частях дистиллированной воды.

10.2. Процедура анализа

Внимательно следуйте рекомендованной процедуре промывки. В процессе выполнения анализа не допускайте высыхания микролунок.

Избегайте попадания прямых солнечных лучей во время всех инкубаций. Во время инкубации микротитровальные планшеты необходимо накрывать во избежание испарения жидкости из лунок.

1. Вставьте в рамку планшета микролунки в количестве, достаточном для всех стандартов и исследуемых растворов. Запишите расположение лунок со стандартами и исследуемыми растворами.

2. Внесите 50 мкл стандартов или исследуемых проб в соответствующие лунки. Для каждого образца или стандарта используйте новые наконечники.

3. Внесите в лунки по 50 мкл ферментного конъюгата (красная крышка).

4. Внесите в лунки по 50 мкл раствора анти-афлатоксиновых антител (чёрная крышка). Перемешайте осторожными круговыми движениями, и инкубируйте при комнатной температуре (20 - 25 °C) в течение 10 минут (+/- 1).

5. Вылейте жидкость из лунок, переверните рамку планшета и тщательно выбейте капельки жидкости, оставшиеся в лунках, путем троекратного постукивания рамки с лунками по столу, накрытому фильтровальной бумагой. Заполните все лунки 250 мкл моющего буфера (см. 10.1). Снова вылейте жидкость из лунок и тщательно выбейте капельки жидкости. Повторите промывку еще два раза.

6. Добавьте по 100 мкл раствора субстрата/хромогена (коричневая крышка) в каждую лунку. Перемешайте осторожными круговыми движениями, инкубируйте при комнатной температуре (20 - 25°C) в течение 5 минут (+/- 1) в темноте.

7. Добавьте в каждую лунку по 100 мкл стоп-раствора (жёлтая крышка). Перемешайте осторожными круговыми движениями. Измерьте оптическую плотность при 450 нм в течение 10 минут после добавления стоп-раствора.

11. Результаты

Для расчета результатов вам необходимо внести в программу RIDA®SOFT Win измеренную оптическую плотность для стандарта 1 (0 ppb), а также значения B/B0 для стандартов 2-7 (2, 4, 10, 20, 50, 100 ppb), представленные в сертификате, поставляемом с тест-набором.

По величинам относительной оптической плотности, вычисленным для стандартных растворов, и соответствующим значениям концентрации афлатоксина в мкг/кг (ppb) строится калибровочная кривая в полулогарифмической системе координат.

Концентрация афлатоксина в мкг/кг (ppb) рассчитывается по калибровочной кривой соответственно относительному поглощению каждой пробы.

Для оценки этого иммуноферментного анализа RIDASCREEN® была разработана специальная программная программа R-Biopharm. С помощью этой программы можно легко вычислить результаты.

Программу RIDA®SOFT Win (арт. № Z9999) можно заказать у местного дистрибьютора.

R-Biopharm не дает каких-либо гарантий, явных или подразумеваемых, кроме того, что материалы, из которых продукция изготовлена, имеют стандартное качество. В случае дефекта каких либо материалов, R-Biopharm обеспечивает их замену. Не существует гарантии годности этого продукта для продажи или пригодности продукта для любых целей. R-Biopharm не несет ответственности за любые убытки, включая прямой или косвенный ущерб или расходы, возникающие прямо или косвенно в результате использования данного продукта.

Данные соответствуют нашему нынешнему состоянию технологий и предоставляют информацию о наших продуктах и их использовании. R-Biopharm не дает никаких гарантий, явных или подразумеваемых, за исключением того, что материалы, из которых изготовлены ее продукты, имеют стандартное качество. Дефектные продукты будут заменены. Нет никаких гарантий товарной пригодности этого продукта или пригодности продукта для каких-либо целей. Р-Биофарм не несет ответственности за любой ущерб, в том числе фактический или косвенный ущерб, или расходы, возникшие прямо или косвенно от использования этого продукта.