ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДЕЗОКСИНИВАЛЕНОЛА

В ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ И КОРМАХ

МЕТОДОМ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

«МУЛЬТИСКРИН® Дезоксиниваленол»

РАЗРАБОТАНО

ОДО «КомПродСервис»

ОДО "КомПродСервис"

ул. Филимонова, 25 «Г»

220114, Минск

+375 (17) 336-50-54

+7 (499) 704-05-50

[www.komprod.com](http://www.komprod.com)

info@komprod.com



1 ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

1.1 Набор реагентов МУЛЬТИСКРИН® Дезоксиниваленол предназначен для количественного определения содержания дезоксиниваленола (ДОН) в зерне, зернобобовых, масличных культурах, продуктах их переработки: мукомольно-крупяных и макаронных изделиях, хлебобулочных и кондитерских изделиях, продукции масложировой промышленности, а также в кормах, комбикормах, кормовых добавках растительного происхождения в целях ветеринарно-санитарной экспертизы и санитарно-гигиенического контроля методом прямого конкурентного иммуноферментного анализа.

1.2 Наличие микотоксинов в кормах, продовольственном сырье и продуктах питания вызывает ряд необратимых патологических изменений в организме, представляя серьёзную угрозу для здоровья человека и животных, и приносит большой экономический ущерб в сельском хозяйстве. Во многих странах мира существует обязательная система контроля кормов, пищевого сырья и продуктов питания на наличие и содержание основных микотоксинов. В частности, в странах ЕС это отражено в ряде Регламентов и Директив ЕС, таких как 2002/32/ЕС, EЕС №1881/ 2006, 2006/576/ЕС и т.д. В Республике Беларусь эти мероприятия регулируются санитарными нормами и правилами «Требования к продовольственному сырью и пищевым продуктам», утвержденными постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 21.06.13г. №52, и гигиеническим нормативом «Показатели безопасности и безвредности для человека продовольственного сырья и пищевых продуктов», утвержденным постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 21.06.13 №52, ТР ТС 021 «О безопасности пищевой продукции», ТР ТС 015/2011 «О безопасности зерна» и ветеринарно-санитарными правилами обеспечения безопасности кормов, кормовых добавок и сырья для производства комбикормов, утвержденными Постановлением Минсельхозпрода РБ от 10.02.2011 № 10 в редакции №33 от 20.05.2011.

1.3 Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 43 анализируемых проб и 5 градуировочных растворов при использовании всех стрипов одновременно, всего 96 определений. При необходимости набор может быть разделен на 3-4 независимые части с различным количеством определяемых проб. Для каждой постановки необходимо построение нового градуировочного графика.

Предел измерений ДОН определяется нижним значением величины диапазона измерений. Диапазон измерения (0,07 – 2,50) мг/кг. Продолжительность анализа составляет 50-60 мин без учета пробоподготовки.

2 СОСТАВ И ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

2.1 В состав набора входят следующие компоненты, представленные в таблице 1.

Таблица 1 – Состав набора

|  |  |
| --- | --- |
| Компонент | Количество |
| 1 Иммуносорбент | 1 планшет, разборный, 12 стрипов по 8 лунок |
| 2 Планшет для смешивания | 1 планшет, разборный, 12 стрипов по 8 лунок |
| 3 Градуировочные растворы С0, С1, С2, С3 и С4 с условными значениями концентрации ДОН – 0,00; 0,07; 0,20; 0,60 и 2,50 мг/кг, готовы к использованию | 5 флаконов по 0,7 мл |
| 4 Конъюгат, 21-кратный концентрат | 1 флакон, 1,0 мл |
| 5 Раствор для разведения конъюгата | 1 флакон, 20 мл |
| 6 Промывочный раствор, 10-кратный кон­центрат | 1 флакон, 50 мл |
| 7 Хромоген-субстратный раствор | 1 флакон, 14 мл |
| 8 Стоп-реагент | 1 флакон, 14 мл |

Примечания

1 Для удобства расчетов результатов анализа сделан перевод истинных концентраций ДОН в градуировочных растворах в массовые концентрации (мг/кг) ДОН в образцах путем умножения на коэффициент 20, учитывающий фактор разведения при подготовке пробы из исследуемого сухого образца продукции. Это позволяет находить значение массовой концентрации ДОН в образце непосредственно по градуировочному графику.

2 В состав набора вместо хромоген-субстратного раствора могут быть включены раствор хромогена ТМБ (3,3’,5,5’-тетраметилбензидин), 1 флакон, 0,7 мл, и субстратный буферный раствор, 1 флакон, 14 мл.

2.2 Принцип работы набора. В наборе МУЛЬТИСКРИН® Дезоксиниваленол использован метод прямого конкурентного иммуноферментного анализа (далее – ИФА). Токсин ДОН экстрагируют из размолотого образца дистиллированной водой. В лунки планшета для предварительного смешивания вносят рабочий раствор конъюгата ДОН с пероксидазой из корней хрена, добавляют градуировочные растворы с известной концентрацией ДОН или подготовленные к анализу растворы проб и аликвоты полученной смеси после предварительного перемешивания переносят в лунки иммуносорбента. Во время последующей инкубации ДОН в составе градуировочного раствора или анализируемой пробы конкурируют с конъюгатом за связывание с антителами, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок иммуносорбента. После промывки, в ходе которой из лунок удаляют не прореагировавшие с антителами микотоксины, добавляют хромоген-субстратный раствор, который под действием фермента в составе связанного с антителами конъюгата превращается в окрашенный продукт. Интенсивность окраски обратно пропорциональна содержанию ДОН в анализируемом образце или градуировочном растворе. Затем добавляют стоп-реагент, останавливающий ферментативную реакцию и одновременно изменяющий окраску раствора с голубой на желтую. Интенсивность окрашивания раствора в лунках измеряют на многоканальном планшетном фотометре как величину оптической плотности, выраженную в оптических единицах (о.е.), при длине волны 450 нм. На основании значений оптической плотности компьютерная программа строит градуировочный график и автоматически рассчитывает концентрации ДОН в исследуемых образцах.

3 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

3.1 При работе с набором следует соблюдать правила работы с химическими веществами.

3.2 Необходимо соблюдать меры предосторожности при работе с анализируемыми образцами, экстрактами и стандартами для градуировки, так как они содержат ДОН, обладающий токсическим действием.

Стоп-реагент содержит разбавленную серную кислоту, которая обладает раздражающим действием. В случае попадания на кожу и слизистые оболочки пораженный участок следует немедленно промыть большим количеством проточной воды.

3.3 Рабочие места должны быть обеспечены приточно-вытяжной вентиляцией.

3.4 При работе следует надевать халат и одноразовые пластиковые или резиновые перчатки.

3.5 Химическая посуда и оборудование, которые используют при работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

3.6 Запрещается прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с набором.

4 ПРАВИЛА РАБОТЫ С НАБОРОМ

4.1 Реагенты набора, экстракты проб, градуировочные и другие растворы, используемые в анализе, необходимо отбирать отдельными наконечниками к пипетке.

4.2 Не допускается использование набора после окончания срока годности.

4.3 При проведении анализа нельзя использовать реагенты из разных серий данного набора или отдельные компоненты из наборов других изготовителей.

4.4 Для приготовления каждого реагента должна использоваться отдельная емкость. Вся используемая для приготовления реагентов стеклянная посуда должна быть тщательно вымыта хромовой смесью и многократно промыта водопроводной водой и сполоснута дистиллированной водой.

4.5 Необходимо обратить внимание на тщательное, но аккуратное перемешивание содержимого каждого компонента, а также растворов в лунках планшета для смешивания. Во всех случаях следует избегать образования пены.

4.6 Если выполнение ИФА начато, то все последовательные стадии следует заканчивать, не делая перерывов, соблюдая рекомендуемые ограничения по времени и выдерживая установленную продолжительность инкубации. Следует исключить подсыхание лунок на всех этапах проведения ИФА.

4.7 Во время проведения ИФА следует избегать попадания прямых солнечных лучей на рабочие поверхности или держать компоненты на ярком свету во время инкубации или хранения.

4.8 Поставленный в наборе хромоген-субстратный раствор перед использованием должен быть бесцветным. Посуду, которая будет в ходе реакции контактировать с этим раствором, отмывают без применения синтетических моющих средств. Используют только новые наконечники.

4.9 Необходимо использовать микропланшетный фотометр и дозаторы пипеточные переменного объема, поверенные государственной метрологической службой.

5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

5.1 При работе с набором следует использовать следующие средства измерений, оборудование и материалы.

Автоматический микропланшетный фотометр, позволяющий измерять оптическую плотность раствора при длине волны 450 нм, с пределом допускаемой погрешности измерения оптической плотности не более 5 %.

Весы лабораторные среднего класса точности с наибольшим пределом взвешивания 400 г и погрешностью взвешивания не более 0,1 г.

Восьмиканальный дозатор переменного объема (5-300) мкл с погрешностью дозирования не более 3 % со сменными одноразовыми наконечниками.

Одноканальные дозаторы переменного объема: (5-50) мкл с погрешностью дозирования не более 5 %, (20-200) мкл с погрешностью дозирования не более 2 %, (100-1000) мкл с погрешностью дозирования не более ±1,5 % со сменными одноразовыми наконечниками соответствующего объема.

Водяная баня, обеспечивающая температуру нагрева (37–40) °С.

Лабораторный встряхиватель, диапазон регулирования скорости   
(0-300) об/мин.

Мельница типа «Циклон» (CyclotecTecator, Швеция; ЛМТ-1, Россия и др.), снабженная металлическими ситами с отверстиями диаметром 1 мм, обеспечивающая 100 %-ный проход частиц через указанные сита.

Мельница типа МЛЗ или других аналогичных марок по ТНПА, обеспечивающая требуемую крупность размола.

Сита лабораторные для мукомольной промышленности с номинальным размером круглого отверстия в свету или квадратного отверстия сетки 1 мм.

Секундомер или таймер.

Термостат, обеспечивающий температуру (20-25) °С.

Холодильник бытовой, обеспечивающий температуру (2-8) °С в холодильной камере, и температуру не выше минус 18 °С в морозильной камере.

Воронки стеклянные.

Колбы конические вместимостью 100 мл.

Стаканы вместимостью 100 и 500 мл.

Цилиндры вместимостью 50, 100 и 500 мл.

Пробирки с пробкой вместимостью 15 мл.

Стеклянные или пластмассовые флаконы с завинчивающейся крышкой вместимостью 20 мл.

Фильтры обеззоленные «белая лента».

Бумага индикаторная универсальная.

Стеклянные или полиэтиленовые емкости с плотно закрывающимися крышками.

Пленка «парафильм», клейкая лента или крышка для микротитровального планшета.

Чашки Петри стеклянные многоразовые диаметр 100 мм, высота 15 мм или кюветы для дозирования жидких реагентов при использовании многоканальной пипетки.

Штатив для пробирок.

Перчатки резиновые или пластиковые.

Вода дистиллированная или деионизованная.

5.2 Реактивы, используемые в работе.

Кислота соляная х.ч. (плотность 1,19 г/мл, массовая доля НСl 38,3 %),

Натрия гидроокись х.ч.

Примечание - Допускается применение другого оборудования и реактивов, не уступающих по своим свойствам и качеству приведенным выше.

6 ПОДГОТОВКА К ВЫПОЛНЕНИЮ ИЗМЕРЕНИЙ

6.1 Приготовление 20 %-го раствора натрия гидроокиси

Взвешивают (10,00±0,04) г натрия гидроокиси в стакане вместимостью 100 мл и растворяют в 40 мл дистиллированной воды. После охлаждения до температуры (20-25) °С раствор переносят в полиэтиленовую емкость с плотно закрывающейся крышкой.

Срок хранения при температуре (20±5) ºС – 1 мес.

6.2 Приготовление рабочего промывочного раствора

Содержимое флакона с концентратом промывочного раствора интенсивно встряхивают в течение 10-20 с, в случае образования кристаллов помещают флакон на водяную баню при температуре 37 °С и выдерживают до полного растворения кристаллов.

Рабочий промывочный раствор готовят в стакане вместимостью 500 мл, разбавляя концентрат промывочного раствора дистиллированной водой в соотношении 1+9.

Раствор переносят в стеклянную ёмкость с плотно закрывающейся крышкой.

Срок хранения раствора при температуре (2-8) °С – 1 мес.

6.3 Приготовление рабочего раствора конъюгата

Рабочий раствор конъюгата готовят в пробирке или флаконе, разбавляя концентрат конъюгата ДОН-пероксидазы раствором для разведения конъюгата в 21 раз (соотношение по объему 1+20).

Объем рабочего раствора конъюгата должен быть приготовлен из расчета 150 мкл рабочего раствора конъюгата на каждую лунку.

Рабочий раствор конъюгата перемешивают круговыми движениями, не допуская образования пены.

Раствор готовят непосредственно перед использованием.

6.4 Приготовление хромоген-субстратного раствора.

Хромоген-субстратный раствор готовят в темных стеклянных или пластмассовых флаконах непосредственно перед использованием. Приготовленный раствор хранению не подлежит.

Раствор ТМБ разводят субстратным буферным раствором в 21 раз (соотношение по объему 1+20) из расчета 100 мкл на каждую из заданного количества лунок. Для этого в чистый флакон вместимостью 20 мл вносят необходимое количество субстратного буферного раствора, добавляют соответствующее количество раствора ТМБ и интенсивно перемешивают в течение (30-40) с.

Примечание – Субстратный буферный раствор и раствор хромогена могут поставляться в одном флаконе в форме готового для использования компонента.

Приготовленный или поставленный в наборе хромоген-субстратный раствор необходимо предохранять от попадания света и контакта с металлами или ионами металлов. Перед использованием раствор должен быть бесцветным. Посуду, которая будет в ходе реакции контактировать с этим раствором, отмывают без применения синтетических моющих средств. Используют только новые наконечники.

7 ОТБОР ОБРАЗЦОВ И ПОДГОТОВКА ПРОБ

7.1 Отбор образцов проводят по СТБ 1036, ГОСТ 13496.0, ГОСТ 13586.3, ГОСТ 13979.0, ГОСТ 26312.1, ГОСТ 27668, ГОСТ ISO 6497, и другим ТНПА на конкретные виды продукции.

Отобранные образцы могут храниться в защищенном от света месте при температуре от плюс 2 до плюс 25 оС в течение 30 суток без доступа влаги. Допускается хранение при температуре минус 18 оС в течение 6 месяцев в условиях исключающих изменение их влажности. Перед проведение подготовки проб замороженные образцы должны быть разморожены при температуре от плюс 2 до плюс 4 оС.

7.2 Доводят температуру образца, отобранного в соответствии с п. 7,1, до значений от плюс 20 до плюс 25 оС, выдерживая его при температуре окружающей среды.

Образец размалывают на мельнице типа «Циклон». При отсутствии мельницы такого типа образец размалывают на лабораторной мельнице МЛЗ или мельнице других аналогичных марок, не снабженных ситами. Затем просеивают через лабораторное сито с отверстиями диаметром 1 мм. Остаток на сите снова измельчают на мельнице марки МЛЗ так, чтобы он весь прошел через сито с отверстиями диаметром 1 мм, добавляют к просеянной части и тщательно перемешивают.

7.3 При анализе каждого образца выполняют два параллельных определения.

Взвешивают (5,0±0,1) г размолотого образца, приготовленного по п.7.2. Навеску исследуемой пробы помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл и цилиндром добавляют 100 мл дистиллированной воды. Важно соблюдать соотношение масса образца: объем экстрагирующей смеси = 1:20.

7.4 Коническую колбу закрывают пробкой и, не допуская разбрызгивания, встряхивают вручную или на встряхивателе при 150 об./мин в течение 5-7 мин. Затем раствор выдерживают в течение  
5-10 мин для осаждения частиц пробы и фильтруют в стеклянную пробирку через бумажный фильтр («белая лента»). Контроль рН фильтрата проводят с помощью универсальной индикаторной бумаги, доводя до значения рН 6-8, с использованием концентрированной соляной кислоты или 20 %-го раствора гидроокиси натрия.

Пробирку закрывают пробкой, профильтрованный раствор перемешивают и используют для проведения ИФА в течение двух часов.

8 ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

8.1 Перед проведением ИФА компоненты набора, подготовленные реагенты и исследуемые пробы выдерживают при комнатной температуре (20-25) °С в течение не менее 60 мин. Перед использованием жидкие реагенты и пробы тщательно перемешивают легким встряхиванием, избегая образования пены.

8.2 Составляют схему расположения лунок для градуировочных растворов и растворов проб в микропланшетах согласно таблице 2, с учетом того, что для каждого градуировочного раствора и раствора пробы потребуется по две лунки.

Таблица 2 – Схема расположения лунок

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Лунка | Номер стрипа | | | | | | | | | | | |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| A | С0 | С0 | П4 | П4 |  |  |  |  |  |  |  |  |
| B | С1 | С1 | П5 | П5 |  |  |  |  |  |  |  |  |
| C | С2 | С2 | П6 | П6 |  |  |  |  |  |  |  |  |
| D | С3 | С3 | П7 | П7 |  |  |  |  |  |  |  |  |
| E | С4 | С4 | П8 | П8 |  |  |  |  |  |  |  |  |
| F | П1 | П1 | П9 | П9 |  |  |  |  |  |  |  |  |
| G | П2 | П2 | П10 | П10 |  |  |  |  |  |  |  |  |
| H | П3 | П3 | П11 | П11 |  |  |  |  |  |  |  |  |

Примечания:

1. С0-С4 – градуировочные растворы в лунках A-E стрипов №1 и №2,   
П1-П11 – растворы проб в лунках F-H стрипов №1 и №2 и в лунках A-H стрипов №3 и № 4.

2. Для проведения исследований рекомендуется использовать 8-канальную пипетку. Не следует использовать более 4 стрипов в одной группе исследований.

8.3 Подготовка иммуносорбента

Планшетный иммуносорбент освобождают от упаковочного пакета. Необходимое для проведения анализа количество стрипов вставляют в рамку. Оставшиеся неиспользованные стрипы немедленно помещают в фольгированный пакет, герметично заклеивают его клейкой лентой и хранят в холодильнике при температуре (2-8) °С в течение 6 месяцев, но не дольше срока годности набора.

8.4 Планшет для смешивания конъюгата и проб освобождают от упаковочного пакета. Необходимое количество стрипов, равное количеству стрипов иммуносорбента, устанавливают в рамку. Схема маркировки этих стрипов аналогична схеме маркировки иммуносорбента. Неиспользованные стрипы помещают в пакет и хранят при температуре   
(2-8) оС в течение всего срока годности набора.

9 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Выполняют ИФА согласно приведенной в таблице 3 схеме и описаниям этапов.

9.1 В чашку Петри или пластмассовую кювету дозатором вносят конъюгат в объеме из расчета 1,5 мл на стрип.

С помощью восьмиканального дозатора в лунки планшета для смешивания вносят по 150 мкл рабочего раствора конъюгата, приготовленного в соответствии с п.6.3 (допускается использование одноканального дозатора). Затем в лунки планшета для смешивания в соответствии с их маркировкой одноканальным дозатором вносят по 50 мкл градуировочных растворов в порядке возрастания их концентраций и растворов исследуемых проб, приготовленных в соответствии с п. 7.4.

9.2 Используя восьмиканальную пипетку с новыми наконечниками для идентичных стрипов, аккуратно перемешивают содержимое лунок стрипа в планшете для смешивания путем пипетирования раствора вверх и вниз 3-4 раза, не допуская образования пены, и немедленно переносят по 100 мкл полученной смеси в соответствующие лунки иммуносорбента.

Примечание – Временной интервал от начала перемешивания до начала инкубирования – не более 3 мин, с тем, чтобы минимизировать возможные артефакты, обусловленные разным временем протекания иммунохимической реакции в первых и последних стрипах.

9.3 Иммуносорбент заклеивают изолирующим листком или закрывают крышкой и инкубируют при температуре (20-25) °С в течение 30 мин в термостате или на воздухе, исключая попадание света на планшет.

9.4 По окончании времени инкубации удаляют растворы из всех лунок путем резкого переворачивания планшета. Затем с помощью восьмиканальной пипетки промывают лунки 4 раза по 200 мкл каждую рабочим промывочным раствором (п.6.2), который предварительно вносят в чистую ванночку в объеме из расчета 6,5 мл на один стрип.

При промывании планшета необходимо контролировать заполнение всех лунок и полное удаление жидкости; не допуская переполнения лунок и перетекания промывочного раствора между ними. Остатки жидкости удаляют, постукивая планшетом по ровной поверхности, покрытой фильтровальной бумагой.

9.5 В чашку Петри или пластмассовую кювету дозатором вносят хромоген-субстратный раствор из расчета 1 мл на стрип.

В каждую лунку промытого планшета восьмиканальным дозатором вносят 100 мкл хромоген-субстратного раствора. Общее время внесения должно быть не более 2 мин. Закрывают планшет изолирующим листком или крышкой и инкубируют в течение 15 мин в термостате или на воздухе способом, исключающим попадание света, при температуре (20-25) °С.

9.6 Останавливают ферментативную реакцию путем внесения во все лунки планшета по 100 мкл стоп-реагента, предварительно внесенного в чашку Петри или пластмассовую кювету из расчета 1 мл на стрип. Растворы в лунках перемешивают круговыми движениями планшета по поверхности лабораторного стола.

9.7 В течение не более 15 мин после остановки реакции измеряют в планшетном спектрофотометре оптическую плотность растворов в лунках при длине волны 450 нм.

10 РАСЧЕТЫ, ГРАФИЧЕСКИЕ ПОСТРОЕНИЯ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

10.1 Для построения градуировочного графика и расчета концентрации ДОН в анализируемых образцах используют прилагаемый шаблон программы в Microsoft Excel, поставляемый к набору на компакт-диске по запросу, или программное обеспечение стороннего производителя (например, встроенное программное обеспечение микропланшетного фотометра), после внесения необходимых параметров данного ИФА. В расчетную программу введены условные значения концентраций ДОН в градуировочных растворах в терминах массовых концентраций (мг/кг) с учетом установленного фактора разведения при пробоподготовке.

10.2  На основании внесенных оператором в таблицу раздела 1 прилагаемого шаблона параллельных измерений оптической плотности для каждого градуировочного раствора производится построение градуировочного графика зависимости *logit* Вi/В0 (ось ординат) от концентрации Сi (ось абсцисс), где:

*logit* Вi/В0 = *lg*(Вi/В0 /1 – Вi/В0),

Вi – среднее значение оптической плотности для *i-*гоградуировочного раствора, о.е,

В0 – среднее значение оптической плотности для градуировочного раствора С0, о.е,

Сi – концентрация ДОН в градуировочном растворе, мг/кг.

Программа автоматически рассчитает по градуировочному графику концентрацию ДОН в исследуемых пробах в мг/кг после внесения оператором значений оптической плотности в о.е, в соответствующие графы таблицы раздела 2 прилагаемого шаблона.

За окончательный результат измерений принимают среднее арифметическое значение результатов измерений двух параллельных проб, при этом полученный результат округляют до второго десятичного числа.

10.3 Интерпретация результатов

В случае, когда концентрация ДОН в растворе исследуемой пробы превышает максимальное значение концентрации ДОН в градуировочном растворе С4, то есть, когда результат измерений оптической плотности раствора пробы менее оптической плотности градуировочного раствора с концентрацией 2,50 мг/кг проводят разбавление подготовленного раствора исследуемой пробы, используя для разбавления дистиллированную воду. Полученный результат измерений вносят в таблицу раздела 2 с указанием фактора разведения. Программа автоматически вычислит массовую концентрацию ДОН мг/кг.

11 ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И АНАЛИТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ НАБОРА

11.1 Параметры ИФА для градуировочных растворов – связывание конъюгата ДОН с пероксидазой: B0 – от 1,3 до 2,7 о.е; В1/В0 – не более 95 %, В4/В0 – не более 40 %.

11.2 Чувствительность: минимальная концентрация ДОН в градуирочных растворах, достоверно определяемая с помощью набора, не превышает 0,07 мг/кг.

11.3 Специфичность. В наборе МУЛЬТИСКРИН® Дезоксиниваленол при изготовлении иммуносорбента используются высокоспецифичные антитела. Кросс-реактивность используемой антисыворотки относительно микотоксинов Т-2 и НТ-2 составляет меньше 0,1 %.

11.4 Диапазон измерений составляет от 0,07 до 2,50 мг/кг.

11.5 Извлечение (открытие) добавки ДОН в холостом образце продукта – не менее 75 %.

11.6 Повторяемость (коэффициент вариации) результатов определения ДОН в контрольных пробах различных видов продуктов в одной постановке ИФА не превышает 15 %.

11.7 Воспроизводимость (коэффициент вариации) результатов определения ДОН в контрольных пробах различных видов продуктов в нескольких постановках ИФА в лаборатории не превышает 25 %.

12 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

12.1 Набор хранят в упаковке изготовителя при температуре   
(2-8) °С в течение всего срока годности, не допуская замораживания.

12.2 Срок годности набора – 12 месяцев от даты изготовления.

Таблица 3 – Схема анализа

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Разбавление концен­трата конъюгата и концентрата промы­вочного раствора |  | Разбавить необходимое количество концентрата конъюгата раствором для разведения конъюгата и концентрата промывочного раствора дистиллированной водой |
| Подготовка иммуносорбента |  | Вставить необходимое количество стрипов с иммобилизованными антителами |
| Подготовка планшета для смешивания |  | Вставить необходимое количество стрипов |
| *Планшет для смешивания* | | |
| Внесение рабочего раствор конъюгата |  | Добавить по 150 мкл конъюгата в каждую лунку |
| Внесение градуиро­вочных растворов и растворов анализиру­емых проб |  | Добавить по 50 мкл градуировочного раствора и подготовленного раствора пробы в соответствующую лунку |
| *Иммуносорбент* | | |
| Перенесение содержи­мого из планшета для смешивания в иммуносорбент | рис1 | Перенести по 100 мкл перемешанных проб из планшета для смешивания в соответствующие лунки иммуносорбента |
| Инкубация |  | Выдержать при температуре  (20-25) °С в темноте в течение 30 мин |
| Промывание |  | Промыть четыре раза промывочным раствором порциями по 200 мкл на каждую лунку |
| Внесение хромоген-субстратного раствора | рис1 | Добавить по 100 мкл в каждую лунку и выдержать 15 мин в темноте при температуре (20-25) °С |
| Внесение стоп-реагента | рис1 | Добавить по 100 мкл в каждую лунку |
| Измерение оптиче­ской плотности |  | Измерить на микропланшетном фотометре, длина волны 450 нм |



Техническая поддержка и прием заявок:

+375 (17) 336-50-54, +7 (499) 704-05-50, info@komprod.com