

Número de catálogo AQ 209 BG

Part #11178

## Aplicação do Kit

O Kit QuickTox para QuickScan Aflatoxina **Free** é desenvolvido para fornecer resultados quantitativos com rapidez em relação à presença de Aflatoxinas totais. Verificar a tabela abaixo para intervalos específicos de detecção, dependendo do grupo de matrizes e da diluição.

Grupo de Matrizes	LOD	Valor Máximo Reportado no Intervalo	Intervalo com Diluição <sup>2</sup>
MG1-MG8 <sup>3</sup>	2.5-2.7 ppb <sup>1</sup>	30 ppb	≥30 – 100 ppb
MG9 – Milho (Alta Sensibilidade) <sup>4</sup>	1.5 ppb	20 ppb	≥20 – 100 ppb
MG10-MG12	7.5 ppb	99 ppb	≥99 – 300 ppb <sup>5</sup>
MG13-MG16	2.7 ppb	30 ppb	>30-100 ppb
MG17 – Semente de Amendoim (alta sensibilidade)	2.5 ppb	30 ppb	N/A

1 Grupo de Matriz Dependente

2 A diluição é feita apenas para as amostras com resultados acima do intervalo de base. Depois de executar uma amostra diluída, selecione o fator de diluição 1: A - a partir da guia de diluição na janela Resultados do QuickScan.

3 O grupo de matrizes MG3 reporta resultados até “zero”, com um LOD de 2,7 ppb. Entretanto, não considerar preciso um resultado obtido abaixo do LOD.

4 MG9 – Milho (alta sensibilidade) reporta resultados até “zero”, com um LOD de 1.5 ppb. Obs.: Não assumir acurácia para um resultado obtido abaixo do LOD.

5 A matriz semente de avelã dentro do grupo MG10, não foi qualificada para o intervalo estendido, com diluição adicional.

Este ensaio foi certificado até 100 ppb como um Método de Desempenho Testado<sup>SM</sup>, #071502 pelo Instituto de Pesquisa AOAC para utilização em milho e trigo utilizando extração aquosa (EB17), bem como em cevada, aveia, sorgo, amendoim inteiro, semente de amendoim e casca de amendoim usando extração com solvente orgânico. Este ensaio também foi certificado para teste até 30 ppb em semente de amendoim (alta sensibilidade) usando o protocolo de extração com solvente orgânico.

## Funcionamento do Teste

Primeiramente, é colhida a amostra e em seguida, a aflatoxina presente é extraída e solubilizada. O extrato da amostra é então diluído em solução tampão antes do teste com a tira QuickTox.

Cada tira QuickTox possui uma almofada de absorção em cada extremidade. A fita de proteção com a seta indica qual extremidade da tira deve ser inserida no tubo de reação. A amostra flui no sentido de baixo para cima, sendo absorvida na parte superior pela almofada de absorção. Completados 5 minutos de reação, cortar e descartar a extremidade inferior da tira correspondente à fita com setas impressas. Inserir a tira no Scanner do QuickScan para quantificação dos resultados.

Protocolos de análise e extrações específicas são escolhidas para obter-se maior acuracidade e precisão. Cada matriz é atribuída a um Grupo de Matriz (MG). Cada MG possui uma curva padrão comum, um limite de detecção (LOD) e valor máximo reportado. Quando o usuário seleciona o grupo de matriz (MG) durante o teste, o software do Sistema QuickScan recupera as informações específicas do lote da tira que foram carregadas utilizando o Cartão Multi-Matrizes (MMBC) e utiliza a curva apropriada para obter um resultado preciso para a matriz sendo testada.

### AVISOS IMPORTANTES:

- É necessário que o programa do QuickScan esteja atualizado com a versão **4.9.4** (atualização 2 ou superior) possibilitando o teste de outras matrizes não incluídas no grupo de matrizes da tira.
- Escanear o Cartão Multi - Matrizes (MMBC) fornecido com o Kit uma vez para cada lote de kit
- Testar de acordo com o tempo requerido e efetuar leitura imediata para resultados precisos

### Conteúdo do Kit:

- 50 tiras QuickTox embaladas em recipiente dessecante
- 50 envelopes de Pó de Extração EB17 (cada 25g de amostra utiliza 1)
- 50 tubos de reação
- 100 ponteiros de pipeta
- Solução Tampão DB5
- Cartão Multi-Matrizes com lote específico

## Matrizes

**Nota:** É necessário escanear uma vez o Cartão Multi -Matrizes para cada lote de kit. O software QuickScan solicitará aos usuários selecionar um grupo de Matriz (MG) antes de prosseguir para a tela de resultado. Se você apenas pretende testar matrizes do grupo MG1 (milho, arroz integral, trigo), você deve escanear o lado do MMBC que tem somente o código de barras MG1. Desta forma, o software irá ignorar o aviso de seleção de MG e irá diretamente para a tela de resultados.

<ul style="list-style-type: none"> <li>Milho</li> <li>Arroz integral</li> <li>Trigo</li> </ul>			Pó de Extração EB17 <b>Grupo A</b> PROCEDIMENTOS PÁGINA 6
<ul style="list-style-type: none"> <li>Cevada</li> <li>Farelo de coco</li> <li>Milho (Alta Sens.)</li> <li>Farinha de milho</li> <li>Gérmen de milho</li> <li>Farelo de glúten de milho</li> <li>Sementes de algodão (deslintadas)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>DDGS</li> <li>Milho de canjica</li> <li>Aveia</li> <li>Arroz preto viscoso</li> <li>Arroz com casca</li> <li>Arroz branco</li> <li>Arroz branco viscoso</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Farelo de arroz</li> <li>Casca de arroz</li> <li>Centeio integral</li> <li>Sorgo</li> <li>Farelo de soja</li> </ul>	Extração com Etanol 50% <b>Grupo B</b> PROCEDIMENTOS PÁGINA 7
<ul style="list-style-type: none"> <li>Farelo de gérmen de milho</li> <li>Ração de glúten de milho</li> <li>Silagem de milho</li> <li>Farelo de sementes de algodão</li> </ul>	Etanol 80% Acetonitrila 84% Etanol 80% Acetonitrila 50%		<b>Grupo C:</b> PROCEDIMENTOS PÁGINA 8
<ul style="list-style-type: none"> <li>Casca de amendoim</li> <li>Semente de amendoim</li> <li>Amendoim inteiro</li> </ul>	Etanol 80%		<b>Grupo D:</b> PROCEDIMENTOS PÁGINA 9
<ul style="list-style-type: none"> <li>Semente de avelã</li> </ul>	Etanol 80% + Ácido acético 7%		<b>Grupo E:</b> PROCEDIMENTOS PÁGINA 10
<ul style="list-style-type: none"> <li>Semente de amendoim (Alta Sens.)</li> </ul>	Etanol 80%		<b>Grupo F:</b> PROCEDIMENTOS PÁGINA 11

### Ítems Não Fornecidos:

- Sistema QuickScan™ \*
- Triturador
- Peneira de 20 mesh
- Copos plásticos com tampa (para amostras de 25g) ou outro recipiente adequado para extração da amostra\*
- Proveta graduada \*
- Agitador orbital/rotatório
- Pipeta de volume fixo: 100 µL\*
- Filtro de café de papel \*
- Tubos e pipetas para centrifugação
- Microcentrifuga\*
- Recipientes para diluição adicional de amostras \*
- Pipeta para volumes maiores de diluição
- Timer
- Tesoura
- Água destilada, deionizada ou mineral
- Bolsas de extração
- Etanol 50%
- Etanol 80%
- Acetonitrila, 50% e/ou 84%
- Tampão DB5 (adicional para algumas matrizes)\*
- Sal não iodado (p/ as matrizes de amendoim)
- Peneira de 7 mesh (para semente de amendoim e amendoim inteiro)
- Tubos de polipropileno 12 X 75mm \* (alta sens. amendoim somente)
- Incubadora\* (alta sens. amendoim somente)

\* Disponíveis como acessórios →

### Acessórios disponíveis:

Item	Cat. No.	Part #
Sistema QuickScan	ACC 131	100504 + 11222
50 copos plásticos/tampas (para amostras de 25g) <i>Atenção: se utilizar estes copos para a extração com acetonitrila eles podem vaziar; vedar com Parafilm ou com selante similar</i>	ACC 012-50	11224
Proveta graduada (100 mL)	ACC 068	11207
Pipeta de volume fixo 100 µL (grátis 1 por local)	ACC 041	11202
Filtro de café de papel (100)	ACC 083	11434
Conjunto de Centrifugação: <i>Descartáveis para 50 testes</i>	ACC 010	11214
Microcentrifuga	ACC 064 E	11204
Conjunto de Extração - 50g <i>Envelopes adicionais de pó e bolsas de extração de amostra</i>	ACC 035	11216
Conjunto de Diluição FREE: <i>Descartáveis e envelopes de pó de extração para 100 diluições</i>	ACC 034	11215
Conjunto QuickTox para Diluição: <i>Ponteiras + tubos extras para 100 diluições - para teste de amostras acima do intervalo</i>	ACC 080	11219
Tampão DB5 <i>Tampão adicional necessário para matrizes que exigem mais de 100 µL por tira.</i>	KR-266-7	11665
Tubos poli.12X75mm	20-0128	12198
Incubadora	ACC BSH30112458	12458

## Precauções – Ler Antes de Realizar os Testes!

### Segurança

- 1. Descarte de materiais contaminados com Aflatoxina.**
  - a. Seguir os procedimentos de segurança de sua empresa quanto ao descarte de materiais potencialmente ou sabidamente contaminados com aflatoxina.
- 2. O pó de extração EB17 é inflamável e pode causar irritação.**
  - a. Evitar inalar o pó, bem como ter contato com a pele, olhos ou roupa. Utilizar equipamento de proteção individual incluindo óculos de proteção, luvas, máscara e avental durante o manuseio. Manter o pó longe de fontes de calor e chamas acesas.
  - b. Observar os regulamentos aplicáveis para descarte de amostras e reagentes.
  - c. Não aplicar alvejante (água clorada, cândida) nos materiais contendo EB17, como extratos e materiais de laboratório pois o pó de extração é incompatível com oxidantes fortes.
- 3. Etanol e acetonitrila são inflamáveis e tóxicos.**
  - a. Evitar inalar vapores, bem como ter contato com a pele, olhos ou roupa. Utilizar equipamento de proteção individual incluindo óculos de proteção, luvas (não de látex), máscara para vapor e avental durante o manuseio. Manter os frascos bem fechados e longe de fontes de calor e chamas acesas.
  - b. Observar os regulamentos aplicáveis para descarte de amostras e reagentes.
- 4. A acetonitrila pode vaziar**
  - a. Ter cuidado ao fechar os copos para extração: apertar bem
  - b. Para evitar vazamentos, quando utilizar copos plásticos para amostra (ACC-012), selar com parafilme ou produto similar antes de fechar a tampa.

### Geral

1. O usuário deve ler todas as instruções contidas no manual do produto, incluindo todas as precauções de segurança, antes do uso deste kit. O operador deve ser capaz de utilizar equipamentos comuns de teste, incluindo um triturador ou moinho, pipetas, provetas, etc. Treinamento para utilização deste produto e do Sistema QuickScan estão disponíveis através da EnviroLogix.
2. Os kits devem ser guardados sob refrigeração. Os recipientes que contém as tiras são dessecantes, portanto, antes de abrí-los aguardar que alcancem a temperatura ambiente. Após retirar as tiras a serem utilizadas, fechar o recipiente imediatamente. Evitar dobrar as tiras.
3. Amostras, reagentes, (incluindo água), tiras de teste, tampão devem ser usados em temperatura ambiente.
4. Realizar o teste em até no máximo 5 minutos após a diluição com o tampão para obter a performance ideal.

## Preparo das Amostras

1. Preparar uma amostra composta de acordo com o seu próprio plano de amostragem ou de acordo com as instruções disponibilizadas nos documentos de referência da USDA / GIPSA para obter ajuda em configurar um plano que se adapte às suas necessidades. Se necessário, contatar nosso Suporte Técnico para mais informações. Note, o procedimento de silagem de milho foi qualificado utilizando amostras com um teor de humidade variando entre 50-70%, o qual é um intervalo típico para esta matriz.
2. Salvo indicação em contrário, triturar as amostras utilizando um moedor que produza uma amostra capaz de passar 95% por uma peneira 20 mesh.

**Nota – Trigo:** Triturar deixando a consistência muito fina pode afetar a fluidez e a acuracidade do teste. Contate o Suporte Técnico para informações.

**Nota - Amendoim:** A velocidade do triturador precisa ser controlada para evitar o sobreaquecimento da amostra e liberação de óleo pelas sementes de amendoim e amendoim inteiro. Uma trituração ideal permite que cerca de 90% da amostra passe por uma peneira de 7 mesh.

**Nota - Silagem de Milho:** Deve-se usar um moedor de café ou triturador equivalente, durante 1 minuto, para alcançar a consistência correta da amostra triturada.

3. Misturar bem o material triturado antes da sub-amostragem, para minimizar variabilidade.
4. Escolher o peso da amostra de 25 ou 50g de forma a haver espaço para o líquido se mover em meio à amostra durante a agitação.

## Purificação da Amostra

Dependendo da amostra, há diversos métodos para separar partículas do extrato.

Centrifugação	Filtragem	Decantação
1. Encher um tubo de microcentrífuga com extrato da amostra. 2. Centrifugar pelo tempo determinado à 2000 x g (não RPM). 3. Retirar a amostra da camada líquida superior	1. Colocar um filtro de café de papel em um recipiente limpo. 1. Despejar o extrato no filtro. Wait no more than 2 min. 2. Puxar a borda do filtro para acessar o filtrado	1. Deixar a amostra decantar até formar uma camada líquida superior 2. Retirar a amostra da camada superior

## Intervalo com Diluição

Para testar amostras à níveis superiores ao limite base de quantificação

- Se após a realização e leitura do teste o resultado inicial for maior que o limite superior do intervalo base, as amostras podem ser diluídas novamente e retestadas para estender a faixa de quantificação (ver tabela da Pág. 1).
- Misturar extrato com o reagente de extração apropriado (EB17, Etanol ou Acetonitrila) na proporção 1:6. Exemplo: 1 parte de extrato purificado + 5 partes de diluente; 100 µL + 500 µL. Medir com precisão e misturar bem.
  - Nota: Para as matrizes extraídas com EB17, deve-se preparar uma Solução de Diluição EB17. Misturar 1 envelope do Pó de Extração EB17 com 300 mL de água e misturar bem. Esta mistura irá ficar turva. Ela pode ser armazenada por até 30 dias em temperatura ambiente. Re-suspender a solução antes de cada uso.
- Repetir o teste como anteriormente, adicionar o tampão + extrato diluído ao tubo de reação, e então, adicionar uma nova tira pelo tempo especificado. Exemplo: para milho, pipetar 100 µL de DB5 + 100 µL do extrato diluído com Solução de Diluição em um novo tubo de reação, adicionar uma nova tira e aguardar 4 minutos para ter os resultados.
- Na Tela de Resultados do QuickScan, escolher 1:A na tabela de diluição mostrada. O Sistema irá calcular e salvar o nível de aflatoxina em amostras diluídas.

## Uso do Sistema QuickScan

Instruções detalhadas sobre a utilização do Sistema QuickScan são fornecidas com cada unidade e também podem ser encontradas em [www.envirologix.com/quickscan](http://www.envirologix.com/quickscan). O cartão específico por lote (cartão Multi-matrizes) deve ser escaneado no QuickScan antes do teste.

Em resumo, após realizar o teste e cortar a extremidade inferior da tira, a mesma deve ser inserida de imediato no QuickScan:

QuickScan I: o código de barras deve ser posicionado com a face virada para **baixo**.

QuickScan II: o código de barras deve ser posicionado com a face virada para **cima**.

Após fechar o suporte (QSI) ou a gaveta (QSII), clicar em “Ler Teste” no Menu principal. A tela “Selecionar Grupo de Matrizes” irá aparecer se mais de um código de barras tiver sido escaneado utilizando-se o cartão multi-matrizes. Selecionar o grupo equivalente à matriz sendo testada. Os resultados são salvos em um arquivo eletrônico, permitindo a cada usuário controlar e reportar os resultados com facilidade.

## Armazenamento do Kit

O Kit QuickTox deve ser armazenado sob refrigeração. Observar a validade descrita na caixa do kit. Sua exposição prolongada à temperaturas elevadas pode afetar adversamente os resultados dos testes. Proteger todos os componentes do kit de temperaturas extremas - quentes ou frias- quando não estiver em uso. Não expor à luz do sol ou à ambientes quentes no interior de veículos. Abrir o tubo somente no momento do uso das tiras.

## Reatividade Cruzada

As micotoxinas a seguir foram testadas com este kit utilizando os protocolos aqui especificados. Não ocorreram quaisquer resultados falsos positivos ao nível de 200 ppm:

- DON (deoxynivalenol)
- Fumonisina B<sub>1</sub>
- Ocratoxina A
- Zearalenona

## Precauções e Notas

- Este produto não pode ser aplicado para nenhum outro tipo de cultura, além dos especificados neste manual.
- Este ensaio é calibrado com amostras de referência fornecidas pelo Laboratório Trilogy Analytical, sediado em Washington, MO e outros fornecedores e dados associados de HPLC. O desempenho de outras amostras de matrizes foi validado utilizando-se amostras fortificadas com aflatoxina.
- Como todos os testes, é recomendado, quando necessário, que os resultados sejam confirmados por métodos alternativos.
- O teste foi otimizado para ser usado com o protocolo fornecido neste kit. Desvios deste protocolo podem invalidar os resultados deste teste. Pipetagem precisa, bem como mistura adequada e completa são essenciais para obterem-se resultados precisos.
- Os resultados gerados através do uso correto deste kit refletem a condição da amostra de trabalho diretamente testada. Extrapolações dessa condição aos respectivos lotes originais devem ser baseadas em procedimentos confiáveis de amostragem e cálculos estatísticos, os quais indicam os efeitos randômicos e não randômicos de amostragem de lotes de sementes e incerteza do ensaio. Um resultado negativo da amostra de trabalho obtido em testes corretamente realizados não significa, necessariamente, que o lote original é inteiramente negativo para a análise ou micotoxina em questão.

## Procedimentos para Matrizes do Grupo A: Matrizes Aquosas (EB17)

Matrizes: • Arroz Integral • Milho (Pó de Extração EB17) • Trigo

- Rever Preparação da Amostra na Página 3 referentes às notas de consistência da trituração.
- Utilizar água destilada, deionizada ou mineral.
- Para testar amostras com peso 50g será necessário Pó de Extração EB17 adicional (# Catálogo ACC-035)

### Extração da Amostra

	Amostras de 25g	Amostras de 50g
<b>Milho, Arroz Integral</b>	1. Adicionar 1 envelope de EB17 na amostra 2. Adicionar 75 mL de água	1. Adicionar 2 envelopes de EB17 na amostra 2. Misturar à seco o EB17 à amostra 3. Adicionar 150 mL de água
<b>Trigo</b>	1. Adicionar 1 envelope de EB17 na amostra 2. Adicionar 75 mL de água	1. Adicionar 150 mL de água, molhando completamente a amostra 2. Adicionar 2 envelopes de EB17

**Agitar:** Escolher entre agitar mecanicamente ou manualmente

**Agitador Mecânico:** Agitar na velocidade máxima por 1 minuto

**Manual:** Agitar vigorosamente por 2 minutos

**Clarificar Extrato:** escolher centrifugar ou filtrar

\*Não filtrar amostras de trigo, somente centrifugar.

**Centrifugar:** 30 segundos à 2000 x g (FCR, não RPM)

**Filtrar:** Utilizar filtro de café (de papel)

### Misturar o Tampão e o Extrato e então Realizar o Teste

1. Adicionar 100 µL de solução Tampão DB5 ao tubo de reação (descartar ponteira da pipeta)
2. Adicionar 100 µL do extrato clarificado ao tubo de reação
3. Homogeneizar bem com a ponteira da pipeta; descartar ponteira
4. Adicionar a tira de teste ao tubo de reação com as setas para baixo; aguardar o tempo de reação
  - a. 4 minutos: Milho e Arroz Integral
  - b. 5 minutos: Trigo
5. Imediatamente cortar e descartar a almofada inferior com as setas impressas.
6. Colocar a tira no suporte do Scanner do QuickScan com o código virado pra baixo
7. Quando solicitado, selecionar: “MG1 (arroz integral, milho, trigo)”.

### DICAS!

#### Obtenha Extração Completa

- Molhar completamente a amostra antes de agitar
- Assegurar-se de ter líquido movimentando em meio à amostra enquanto agita

#### Para um Melhor Desempenho

- Utilizar a pipeta para promover uma mistura melhor
- Não reutilizar amostras diluídas
- Efetuar a leitura da tira imediatamente após o tempo de reação

#### Evitar Contaminação

- Utilizar um tubo de reação novo para cada teste
- Manter a solução Tampão DB5 fechada sempre que possível
- Utilizar novas ponteiros de pipeta para cada passo

**TABELA A: Guia Resumido de Matrizes da Tira**

Matriz	LOD (ppb)	1o Passo	2o Passo	3o Passo	Agitar	Clarificar	Volume Tubo de Reação	Tempo Reação				
Arroz Integral	2.7	25g	1 x EB17	75 mL água	1 min – agitador mecânico <u>ou</u> 2 min – manualmente	Filtrar ou Centrifugar	100 µL DB5 100 µL extrato	4 min				
		50g	2 x EB17, mistura seca	150 mL água								
Milho		25g	1 x EB17	75 mL água					1 min – agitador mecânico <u>ou</u> 2 min – manualmente	Centrifugar	100 µL DB5 100 µL extrato	5 min
		50g	2 x EB17, mistura seca	150 mL água								
Trigo		25g	1 x EB17	75 mL água	1 min – agitador mecânico <u>ou</u> 2 min – manualmente	Centrifugar	100 µL DB5 100 µL extrato	5 min				
		50g	150 mL água	2 x EB17								

## Procedimentos para Matrizes do Grupo B: Matrizes adicionais

- Matrizes:**
- *Cevada*
  - *Farelo de Coco*
  - *Milho (alta sens.)*
  - *Farinha de Milho*
  - *Gérmen de Milho*
  - *Farelo de Glúten de Milho*
  - *Semente de Algodão (deslindada)*
  - *DDGS*
  - *Milho de Canjica*
  - *Aveia*
  - *Arroz preto viscoso*
  - *Arroz com casca*
  - *Arroz branco*
  - *Casca de arroz*
  - *Arroz branco viscoso*
  - *Farelo de Arroz*
  - *Sorgo*
  - *Farelo de Soja*
  - *Centeio*

Rever Preparação da Amostra na Página 3 referentes às notas de consistência da trituração.

Extração da amostra: Consultar a Tabela B abaixo para determinar o volume de etanol 50% – se 2x ou 4x

	Amostras de 25g	Amostras de 50g
<b>Etanol 2x</b>	Adicionar 50 mL de Etanol 50% à amostra	Adicionar 100 mL de Etanol 50% à amostra
<b>Etanol 4x</b>	Adicionar 100 mL de Etanol 50% à amostra	Adicionar 200 mL de Etanol 50% à amostra

**Agitar:** Escolher entre agitar mecanicamente ou manualmente

<b>Agitador Mecânico:</b> Agitar na velocidade máxima por 1 minuto	<b>Manual:</b> Agitar vigorosamente por 2 minutos
--	---

**\*Para aveia,** centrifugar imediatamente depois de agitar, antes de formar pasta

**Clarificar Extrato:** Centrifugar por 1 minuto à 2000 x g (FCR, não RPM)

**Misturar o Tampão e o Extrato e então Realizar o Teste**

1. **Consultar TABELA B** para definir o volume de solução Tampão DB5 e do extrato
2. Adicionar solução Tampão DB5 ao tubo de reação (descartar ponteira da pipeta)
3. Adicionar o extrato clarificado ao tubo de reação
4. Homogeneizar bem com a ponteira da pipeta; descartar ponteira
5. Adicionar a tira de teste ao tubo de reação, setas para baixo
6. Aguardar 5 minutos de reação. Para sementes de algodão, 7 minutos.
7. Imediatamente cortar e descartar a almofada inferior com as setas impressas.
8. Colocar a tira no suporte do Scanner do QuickScan, código virado pra baixo
9. Quando solicitado, selecionar o Grupo de Matrizes que estão sendo testadas

### DICAS!

#### Obtenha Extração Completa

- Molhar completamente a amostra antes de agitar
- Assegurar-se de ter líquido movimentando em meio à amostra enquanto agita

#### Para um Melhor Desempenho

- Utilizar a pipeta para promover uma mistura melhor
- Não reutilizar amostras diluídas
- Efetuar a leitura da tira imediatamente após o tempo de reação

#### Evitar Contaminação

- Utilizar um tubo de reação novo para cada teste
- Manter a solução Tampão DB5 fechada sempre que possível
- Utilizar novas ponteiras de pipeta para cada passo

**TABELA B: Guia Resumido de Matrizes. Extração com Etanol 50%**

Matriz	Grupo de Matriz	LOD (ppb)	Proporção Etanol	Agitar	Clarificar	Volume DB5	Volume Extrato	Tempo Reação
*Milho (alta sens.)*	MG9	1.5	2x	1 min em agitador ou manualmente 2 Min	Centrifugar 1 Min a 2000 X g	300 µL	200 µL	5 min
Semente de algodão	MG2	2.5	4x			100 µL	100 µL	7 min
Cevada	MG8	2.7	2x			200 µL	100 µL	5 min
Farinha de milho	MG8							
Aveia	MG7							
Arroz com casca	MG7							
Sorgo	MG7							
Farelo de soja	MG8							
Centeio	MG6							
Farelo de coco	MG3	2.7	4x			100 µL	100 µL	5 min
Gérmen de milho	MG2	2.5						
Farelo / glúten / milho	MG3	2.7						
DDGS	MG2	2.5						
Milho de canjica	MG3	2.7						
Arroz preto viscoso	MG13	2.7						
Farelo de arroz	MG2	2.5						
Casca de arroz	MG16	2.7						
Arroz branco	MG 15	2.7						
Arroz branco viscoso	MG 14	2.7	200 µL	100 µL	5 min			

## Procedimentos para Matrizes do Grupo C: Matrizes adicionais

- Matrizes:
- Farelo de gérmen de milho
  - Ração de glúten de milho
  - Farelo de semente de algodão
  - Silagem de milho

Rever Preparação da Amostra na Página 3 referentes às notas de consistência da trituração.

**Extração da Amostra:** Adicionar o solvente apropriado à amostra

	<b>Amostras de 25g</b>	<b>Amostras de 50g</b>
<i>Farelo de Gérmen de Milho, Silagem de milho</i>	Adicionar 50 mL de Etanol 80%	Adicionar 100 mL de Etanol 80%
<i>Ração de glúten de milho</i>	Adicionar 40 mL de Acetonitrila 84%	Adicionar 80 mL de Acetonitrila 84%
<i>Farelo de algodão</i>	Adicionar 50 mL de Acetonitrila 50%	Adicionar 100 mL de Acetonitrila 50%

**Agitar:** Escolher entre agitar mecanicamente ou manualmente

<b>Agitador Mecânico:</b> Agitar na velocidade máxima por 1 minuto ( <i>Ração de glúten de milho</i> , 2 minutos)	<b>Manual:</b> Agitar vigorosamente por 2 minutos
---	---

**Clarificar Extrato:** Deixar o extrato decantar

<i>Farelo de Gérmen de Milho:</i>	2 minutos
<i>Ração de glúten de milho:</i>	1 minuto
<i>Farelo de algodão:</i>	mínimo 2 minutos
<i>Silagem de milho:</i>	centrifugar 1 min a 2000 x g

**Misturar o Tampão e o Extrato e então Realizar o Teste**

1. Consultar a TABELA C para definir volume de solução Tampão DB5 e do extrato  
**NOTA, Ração de glúten de milho:** Pré-misturar DB5 e extrato em um frasco limpo. Adicionar 200 µL da pré-mistura ao tubo de reação.
2. Adicionar solução Tampão DB5 ao tubo de reação (descartar ponteira da pipeta).
3. Adicionar o extrato clarificado ao tubo de reação.
4. Homogeneizar bem com a ponteira da pipeta; descartar ponteira.
5. Colocar a tira de teste no tubo de reação com as setas para baixo.
6. Aguardar 5 minutos (tempo de reação).
7. Imediatamente cortar e descartar a almofada inferior com as setas impressas.
8. Colocar a tira no suporte do Scanner do QuickScan, código virado pra baixo (QS1), para cima (se QS2).
9. Quando solicitado, selecionar o Grupo de Matrizes que estão sendo testadas

### DICAS!

#### Obtenha Extração Completa

- Molhar completamente a amostra antes de agitar
- Assegurar-se de ter líquido movimentando em meio à amostra enquanto agita

#### Para um Melhor Desempenho

- Utilizar a pipeta para promover uma mistura melhor
- Não reutilizar amostras diluídas
- Efetuar a leitura da tira imediatamente após o tempo de reação

#### Evitar Contaminação

- Utilizar um tubo de reação novo para cada teste
- Manter a solução Tampão DB5 fechada sempre que possível
- Utilizar novas ponteiras de pipeta para cada passo

**TABELA C: Guia Resumido de Matrizes e Outros Solventes**

Matriz	Grupo de Matriz	LOD (ppb)	Solução de Extração	Agitar	Decantar	Volume DB5	Volume Extrato	Tempo Reação
<i>Farelo de Gérmen de Milho</i>	MG6	2.7	2x Etanol 80%	1 min – agitador <u>ou</u> 2 min – manual	2 min	200 µL	100 µL	5 min
<i>Ração de glúten de milho</i>	MG5	2.5	1.6x Acetonitrila 84% *	2 min – agitador <u>ou</u> 2 min – manual	1 min	Pré-misturar 500 µL DB5 + 100 µL extrato (teste 200 µL)		
<i>Silagem de milho</i>	MG3 **	2.7	2x, Etanol 80%	1 min – agitador <u>ou</u> 2 min – manual	Centrifugar 1 min a 2000 xg	200 µL	100 µL	
<i>Farelo de algodão</i>	MG4	2.5	2x Acetonitrila 50% *	1 min – agitador <u>ou</u> 2 min – manual	≥ 2 min	200 µL	100 µL	

\* Cuidado ao manipular a Acetonitrila. Consultar a página 3 do manual sobre medidas preventivas.

\*\* Resultados são reportados até “zero”. No entanto, não considerar precisos os resultados obtidos abaixo do LOD.



## Procedimentos para Matrizes do Grupo D: Amendoim

Matrizes: • Casca de amendoim • Semente de Amendoim • Amendoim inteiro

Rever Preparação da Amostra na Página 3 referentes às notas de consistência da trituração.

### Extração da Amostra

- Preparar uma solução de água salgada: (a) Adicionar 29.4g de sal (não iodado) para cada 100 mL de água engarrafada. (b) Misturar bem, até formar uma solução homogênea.

	<u>Amostras de 25g</u>	<u>Amostras de 50g</u>
Criar Mistura Pastosa *	1. Adicionar 20 mL de água salgada à amostra 2. Misturar bem, misturar lentamente	1. Adicionar 40 mL de água salgada à amostra 2. Misturar bem, misturar lentamente
Adicionar Solvente	3. Adicionar 75 mL de Etanol 80% 4. A amostra deverá ficar completamente molhada	3. Adicionar 150 mL de Etanol 80% 4. A amostra deverá ficar completamente molhada

*\*Nota: A pasta da casca de amendoim não terá a mesma consistência que a pasta da semente de amendoim e do amendoim inteiro; ela ficará mais como uma mistura seca devido à alta absorção da matriz.*

O protocolo de extração acima fornece instruções para amostras de 25 e 50g. Para alterar o tamanho da amostra, manter a mesma proporção da solução salgada e do etanol.

Água Salgada: 0.8 mL/g amostra

Etanol: 3 mL/g amostra

**Exemplo: 200 g amostra**

- 160 mL Água Salgada
- 600 mL Etanol 80%

**Agitar:** Escolher entre agitar mecanicamente ou manualmente

<b>Agitador Mecânico:</b> Agitar na velocidade máxima por 1 minuto	<b>Manual:</b> Agitar vigorosamente por 2 minutos
--	---

### Clarificar Extrato:

- Despejar em um filtro de café (de papel). Misturar bem o extrato clarificado antes de testar.

### Misturar o Tampão e o Extrato e então Realizar o Teste

- Consultar a TABELA D para definir volume do DB5 e extrato.
- Adicionar a solução Tampão DB5 ao tubo de reação (descartar ponteira da pipeta).
- Adicionar o extrato clarificado ao tubo de reação.
- Homogeneizar bem com a ponteira da pipeta (descartar ponteira).
- Adicionar a tira de teste ao tubo de reação, setas para baixo.
- Aguardar 4 minutos (tempo de reação).
- Imediatamente cortar e descartar a almofada inferior com as setas impressas.
- Colocar a tira no suporte do Scanner do QuickScan, código virado para baixo
- Quando solicitado, selecionar o Grupo de Matrizes que estão sendo testadas

### TABELA D: Guia Resumido de Matrizes de Amendoim

Matriz	Grupo de Matriz	LOD (ppb)	Pasta	Solução de Extração	Agitar	Clarificar	Volume DB5	Volume Extrato	Tempo Reação
Casca de Amendoim	MG12	7.5	25g: adicionar 20 mL água salgada	3x, Etanol 80%	1 min – agitador 2 min – manual	Filtrar; misturar bem	200 µL	100 µL	4 min
Semente de Amendoim	MG10		50g: adicionar 40 mL água salgada				400 µL	100 µL	
Amendoim Inteiro	MG11		40 mL água salgada				400 µL	100 µL	

### DICAS!

#### Obtenha Extração Completa

- Molhar completamente a amostra antes de agitar
- Assegurar-se de ter líquido movimentando em meio à amostra enquanto agita

#### Para um Melhor Desempenho

- Utilizar a pipeta para promover uma mistura melhor
- Não reutilizar amostras diluídas
- Efetuar a leitura da tira imediatamente após o tempo de reação

#### Evitar Contaminação

- Utilizar um tubo de reação novo para cada teste
- Manter a solução Tampão DB5 fechada sempre que possível
- Utilizar novas ponteiros de pipeta para cada passo

## Procedimentos para Matrizes do Grupo E: Avelã

Matrizes: • Avelã

Rever Preparação da Amostra na Página 3 referentes às notas de consistência da trituração.

### Extração da Amostra

- Preparar uma solução de água salgada: (a) Adicionar 29.4g de sal (não iodado) para cada 100 mL de água engarrafada. (b) Misturar bem, até formar uma solução homogênea.

	<u>Amostras de 25g</u>	<u>Amostras de 50g</u>
Criar Mistura Pastosa *	1. Adicionar 20 mL de água salgada à amostra 2. Misturar bem, misturar lentamente	1. Adicionar 40 mL de água salgada à amostra 2. Misturar bem, misturar lentamente
Adicionar Solvente	3. Adicionar 72 mL de Etanol 80% 4. Adicionar 3 mL de ácido acético 7% 5. A amostra deverá ficar completamente molhada	3. Adicionar 144 mL de Etanol 80% 4. Adicionar 3 mL de ácido acético 7% 5. A amostra deverá ficar completamente molhada

*\*Nota: Vinagre comercial com 7% de ácido acético pode ser utilizado.*

O protocolo de extração acima fornece instruções para amostras de 25 e 50g. Para alterar o tamanho da amostra, manter a mesma proporção da solução salgada e do etanol.

Água salgada: 0.8 mL/g Etanol 80%: 2.88mL/g Ácido acético: 0.12 mL/g
--

<b>Exemplo: Amostra de 200 g</b> → 160 mL Água Salgada → 576 mL Etanol 80% → 24 mL ácido acético 7%
--

**Agitar:** Escolher entre agitar mecanicamente ou manualmente

<b>Agitador Mecânico:</b> Agitar na velocidade máxima por 1 minuto	<b>Manual:</b> Agitar vigorosamente por 2 minutos
--	---

### Clarificar Extrato:

- Despejar em um filtro de café (de papel). Misturar bem o extrato clarificado antes de testar.

### Misturar o Tampão e o Extrato e então Realizar o Teste

- Consultar a TABELA E para definir volume do DB5 e extrato.
- Adicionar a solução Tampão DB5 ao tubo de reação (descartar ponteira da pipeta).
- Adicionar o extrato clarificado ao tubo de reação.
- Homogeneizar bem com a ponteira da pipeta (descartar ponteira).
- Adicionar a tira de teste ao tubo de reação, setas para baixo.
- Aguardar 4 minutos (tempo de reação).
- Imediatamente cortar e descartar a almofada inferior com as setas impressas.
- Colocar a tira no suporte do Scanner do QuickScan, código virado para baixo.
- Quando solicitado, selecionar o Grupo de Matrizes que estão sendo testadas.

### DICAS!

#### Obtenha Extração Completa

- Molhar completamente a amostra antes de agitar
- Assegurar-se de ter líquido movimentando em meio à amostra enquanto agita

#### Para um Melhor Desempenho

- Utilizar a pipeta para promover uma mistura melhor
- Não reutilizar amostras diluídas
- Efetuar a leitura da tira imediatamente após o tempo de reação

#### Evitar Contaminação

- Utilizar um tubo de reação novo para cada teste
- Manter a solução Tampão DB5 fechada sempre que possível
- Utilizar novas ponteiros de pipeta para cada passo

**TABELA E: Guia Resumido de Matrizes**

Matriz	Grupo de Matriz	LOD (ppb)	Pasta	Solução de Extração	Agitar	Clarificar	Volume DB5	Volume Extrato	Tempo Reação
Semente de avelã	MG10	7.5	25g: adicionar 20 mL água salgada	2.88X Etanol 80% + 0.12x ácido acético 7%	1 min – agitador 2 min – manual	Filtrar; misturar bem	400 µL	100 µL	4 min
			50g: adicionar 40 mL água salgada						

## Procedimentos para Matrizes do Grupo F: Semente de amendoim Alta Sensibilidade (necessário incubadora)

Matrizes: • Semente de Amendoim (alta sensibilidade)

Rever “Preparação da Amostra” na Página 3 referentes as etapas de coleta e trituração da amostra.

### Extração da Amostra

- Preparar uma solução de água salgada: (a) adicionar 29,4g de sal (não iodado) para cada 100 mL de água engarrafada. (b) misturar bem até formar uma solução homogênea.

	<u>Amostras de 25g</u>	<u>Amostras de 50g</u>
Criar mistura pastosa	1. Adicionar 10 mL de água salgada à amostra 2. Misturar bem e lentamente	1. Adicionar 20 mL de água salgada à amostra 2. Misturar bem e lentamente
Adicionar o solvente	3. Adicionar 50 mL de Etanol 80% 4. A amostra deverá ficar completamente molhada	3. Adicionar 100 mL de Etanol 80% 4. A amostra deverá ficar completamente molhada

O protocolo de extração acima fornece instruções para amostras de 25g e 50g. Para alterar o tamanho da amostra, manter as proporções solução salgada e etanol.

Água salgada: 0,4 mL/g Etanol 80%: 2,0mL/g	<b>Exemplo: Amostra de 200 g</b> → 80 mL água salgada → 400 mL Etanol 80%
---	---

**Ligar a incubadora** e regular a temperatura para 22°C; deixar estabilizar por, no mínimo, 10 minutos.

**Agitar:** Escolher entre agitar mecanicamente ou manualmente

<b>Agitador Mecânico:</b> Agitar na velocidade máxima por 1 minuto	<b>Manual:</b> Agitar vigorosamente por 2 minutos
--	---

### Clarificar Extrato:

- Passar a amostra por um filtro de papel (café). Misturar bem o extrato clarificado antes de testar.

### Misturar o Tampão e o Extrato e, então, realizar o Teste

- Consultar a TABELA F para definir volume do tampão DB5 e extrato.
- Adicionar o DB5 ao tubo de reação (12x75mm) e descartar ponteira da pipeta.
- Adicionar o extrato clarificado ao tubo de reação.
- Homogeneizar bem com a ponteira da pipeta e descartar ponteira.
- Inserir o tubo na incubadora
- \*Aguardar 2 minutos para a estabilização da temperatura.
- Adicionar a tira de teste ao tubo de reação, setas para baixo.
- Aguardar 4 minutos (tempo de reação).
- Cortar imediatamente a almofada onde estão impressas as setas.
- Colocar a tira no suporte do Scanner do QuickScan com o código voltado para baixo.
- Quando solicitado, selecionar o Grupo de Matrizes que está sendo testado.

### DICAS!

#### Obtenha extração completa

- Molhar completamente a amostra antes de agitar
- Garantir que o líquido se movimenta vigorosamente em meio à amostra durante a agitação

#### Para um melhor desempenho

- Pipetar e descartar a amostra para misturar
- Não reutilizar amostras diluídas
- Efetuar a leitura da tira imediatamente após o tempo de reação

#### Evitar contaminação

- Utilizar um novo tubo de reação para cada teste
- Manter a solução tampão DB5 fechada sempre que possível
- Utilizar novas ponteiros de pipeta para cada passo

**TABELA F: Guia Resumido – Semente de amendoim (alta sensibilidade)**

Matriz	Grupo de Matriz	LOD (ppb)	Pasta	Solução de Extração	Agitar	Clarificar	Volume DB5	Volume Extrato	Inserir tubo na incubadora	Tempo reação
Semente de Amendoim (alta sens.)	MG17	2.5	25g adicionar 10 mL água salgada 50g adicionar 20 mL água salgada	2x, Etanol 80%	1 min - agitador 2 min – manual	Filtrar; misturar bem	300 µL	200 µL	Aclimatar o tubo por 2 min*	4 min

\*A etapa de aclimação é necessária somente se a temperatura do ambiente de teste é desconhecida ou está fora do intervalo 20-24° C

## GARANTIA LIMITADA

EnviroLogix Inc. (“EnviroLogix”) garante os produtos vendidos nos termos deste instrumento (“os Produtos”) contra defeitos nos materiais e na fabricação quando usados de acordo com as instruções a ele aplicáveis por período não superior ao prazo de validade impresso na embalagem. Se o Produto não estiver em conformidade com a Garantia Limitada e o cliente notificar a EnviroLogix por escrito descrevendo os defeitos encontrados dentro do período de garantia, inclusive prontificando-se a devolvê-lo à EnviroLogix para avaliação, a EnviroLogix reparará ou substituirá, a seu critério exclusivo, qualquer produto ou parte do mesmo que comprovadamente apresente defeitos nos materiais ou de fabricação dentro do prazo de garantia.

**A ENVIROLOGIX NÃO OFERECE NENHUM OUTRO TIPO DE GARANTIA, NEM EXPRESSA NEM TÁCITA, COMO, POR EXEMPLO, GARANTIA PARA FINS COMERCIAIS OU PARA FINALIDADES ESPECÍFICAS.** A garantia ora prestada e os dados, especificações e descrições dos produtos da EnviroLogix encontrados em catálogos publicados e na literatura de produtos da EnviroLogix são as únicas declarações que a EnviroLogix reconhece referentes a seus Produtos e à garantia por ela oferecida. Nenhuma outra declaração ou afirmação, escrita ou verbal, por parte de funcionários, agentes ou representantes da EnviroLogix, salvo se firmada por escrito e assinada por encarregado devidamente autorizado da EnviroLogix Inc., será considerada autorizada nem deverá servir de embasamento para nenhum cliente, nem faz parte do contrato de venda ou da presente garantia.

A EnviroLogix não oferece garantia contra danos ou defeitos sofridos durante o transporte ou o manuseio de seus produtos, nem decorrentes de acidentes ou uso impróprio ou anormal dos Produtos, assim como não oferece garantia contra defeitos em produtos ou componentes que não sejam de sua fabricação. A EnviroLogix repassa ao cliente a garantia por ela recebida (se houver) do fabricante desses produtos ou de componentes fabricados por terceiros. A presente garantia também não se aplica a Produtos que tenham sofrido tentativa de alteração ou modificação que não tenham autorização por escrito fornecida pela EnviroLogix.

ESTA GARANTIA É EXCLUSIVA. A única e exclusiva obrigação da EnviroLogix será de reparar ou trocar os Produtos defeituosos de maneira e no período anteriormente mencionado. Com respeito aos Produtos ou qualquer parte dos mesmos a EnviroLogix não assume e não assumirá nenhuma outra obrigação, agravante, responsabilidade estrita ou qualquer outra base que não esteja nesta Garantia. Em nenhuma circunstância baseada nesta Garantia Limitada, a EnviroLogix se responsabilizará por danos acidentais, especiais ou consequentes.

Esta Garantia Limitada expressa a totalidade das obrigações da EnviroLogix com respeito aos Produtos. Se se determinar que qualquer parte desta Garantia Limitada é inaplicável ou ilegal, o restante da mesma permanecerá em plena vigência.

## Licença

Este kit foi desenvolvido com o uso de reagentes próprios da EnviroLogix. EnviroLogix, o logotipo da EnviroLogix, QuickTox e QuickScan, são marcas registradas da EnviroLogix Inc.

© EnviroLogix 2018

 <p><b>Para Suporte Técnico Contatar:</b> <b>EnviroLogix do Brasil</b> <b>Diagnósticos Ltda.</b></p> <p><a href="mailto:suportetecnico@envirologix.com">suportetecnico@envirologix.com</a></p>	<p><b>Praça Emílio Marconato,1000</b> <b>Galpão G24 – Jd. Primavera</b> <b>Jaguariúna/SP</b> <b>CEP 13916-074, Brasil</b></p> <p><b>Tel 1: + 55 (19) 3307-8887</b> <b>Tel 2: + 55 (19) 3307-8889</b></p> <p>Página na web: <b><a href="http://www.envirologix.com.br">www.envirologix.com.br</a></b> <b>Contato Vendas:</b> <b><a href="mailto:vendas@envirologix.com">vendas@envirologix.com</a></b></p>
---	---