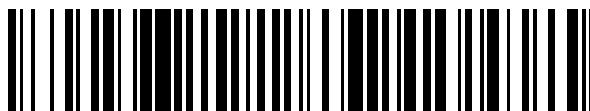


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 701 333**

51 Int. Cl.:

A23L 5/20 (2006.01)

G01N 33/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.06.2015 PCT/AT2015/000083**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.12.2015 WO15188205**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.06.2015 E 15734055 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.10.2018 EP 3154373**

54 Título: **Proceso de extracción de contaminantes de productos agrícolas, así como dispositivo para ello**

30 Prioridad:

12.06.2014 AT 2512014 U

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

21.02.2019

73 Titular/es:

**ERBER AKTIENGESELLSCHAFT (100.0%)
Erber Campus 1
3131 Getzersdorf bei Traismauer, AT**

72 Inventor/es:

**BINDER, EVA-MARIA;
CVAK, BARBARA;
SCHIESSL, ALOIS y
HÄUBL, GEORG**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 701 333 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Proceso de extracción de contaminantes de productos agrícolas, así como dispositivo para ello

La presente invención se refiere a un proceso para extraer contaminantes de alimentos agrícolas o comestibles o forrajes que contienen alimentos agrícolas, que comprende poner en contacto un disolvente para los contaminantes con los productos agrícolas o los comestibles o forrajes que presentan o contienen los contaminantes acumulados, así como al menos un tampón de extracción en un recipiente de mezcla que opcionalmente se puede cerrar, así como un dispositivo para extraer contaminantes de los productos agrícolas o de la superficie de los productos agrícolas o comestibles o forrajes que contienen productos agrícolas, que comprende un recipiente de mezcla que opcionalmente se puede cerrar.

Los productos agrícolas y los comestibles o forrajes que contienen productos agrícolas están contaminados o cargados a menudo con contaminantes tales como micotoxinas, alérgenos u OGM (organismos genéticamente modificados), cuyas impurezas o cargas de micotoxinas, alérgenos u OGM no sólo llevan a pérdidas económicas significativas, sino que sobre todo pueden causar un daño considerable a la salud en los consumidores finales. Las micotoxinas son particularmente peligrosas en particular porque tienen una estabilidad muy alta contra influencias químicas y físicas, tales como temperatura, de modo que incluso después del procesamiento de los productos agrícolas en comestibles o forrajes, a menudo todavía pueden detectarse esencialmente en concentraciones no alteradas y pueden ejercer sus efectos nocivos sobre los consumidores finales. Los contaminantes alérgicos pueden causar reacciones alérgicas o incluso un shock anafiláctico en personas que sufren de alergias. La ley prohíbe la adición de productos agrícolas con OGM a los alimentos, y el fabricante de alimentos debe garantizar que no haya esos contaminantes en los alimentos.

En cuanto a los efectos nocivos de las micotoxinas, se ha encontrado que algunas de ellas tienen un efecto carcinogénico, otras conducen a trastornos del desarrollo de individuos que reciben comestibles o forrajes contaminados con micotoxinas o, por ejemplo, muestran un fuerte efecto estrogénico, por lo que pueden causar trastornos hormonales o, finalmente, se ha encontrado que también pueden contribuir a un aumento en las tasas de aborto involuntario en animales.

Otros contaminantes, como los organismos genéticamente modificados (OGM), también pueden tener efectos adversos, aunque a menudo no se entienden completamente, ya que los estudios a largo plazo a menudo todavía existen o no se han completado.

Por ejemplo, existe un problema adicional, por ejemplo, al entregar productos agrícolas, en cuanto a investigar si un lote entregado está libre de contaminantes no deseados, como micotoxinas u OGM, y si es así, y qué cantidades y tipos de contaminantes, como las micotoxinas o los OGM están contenidos en el mismo. Los contaminantes no deseados se disuelven de su análisis a partir de los productos agrícolas con disolventes orgánicos en métodos convencionales como, por ejemplo, etanol, metanol, acetato de etilo, cloroformo, acetonitrilo o sus soluciones acuosas. Por ejemplo, los silos de cereales en los EE. UU. y Europa actualmente suelen tomar muestras de los cereales entregados, para lo cual el grano se muele y luego se analiza respecto de los parámetros más diversos. Dichas investigaciones preliminares no sólo son problemáticas, ya que por lo general no hay o sólo hay laboratorios y equipos muy limitados para la detección de sustancias dañinas en depósitos para productos agrícolas, ya sea por motivos de costos o por el hecho de que tales silos generalmente no son granjas grandes, en las que el personal especializado y las instalaciones para la detección de sustancias nocivas están presentes continuamente o se pueden mantener en stock, pero especialmente en el sentido de que el grano de los camiones entregados sólo puede descargarse cuando se han realizado todas las pruebas necesarias y no se exceden los límites prescritos por ley.

Las investigaciones se complican aún más por el hecho de que hay un gran número de micotoxinas muy diferentes que no se pueden extraer todas con los mismos disolventes o mezclas de disolventes o mezclas de agentes de extracción de los productos agrícolas, de modo que sólo para una prueba, por ejemplo, en un silo de granos, una variedad de diferentes disolventes, tiras de detección y similares deben mantenerse en stock para poder llevar a cabo pruebas preliminares para una posible o en términos de una contaminación de concreto con micotoxinas. Como resultado de ello, los camiones deben transportar los lotes de grano y someterse a varias pruebas antes de descargarlos para que los productos agrícolas, que pueden estar cargados con micotoxinas, no ingresen en las industrias de comestibles y forrajes, lo que hace que la descontaminación sea más costosa en general. Por las razones mencionadas anteriormente, es particularmente importante que todo el procedimiento de las pruebas se pueda realizar de la manera más simple y rápida posible y en los lotes más pequeños posibles, ya que, sólo cuando se han realizado todas las pruebas y no se superan los valores límite legales, el grano puede ser descargado de un camión.

El documento US 2005/0142254 describe un proceso para la extracción de contaminantes de productos agrícolas, que comprende poner en contacto un disolvente para los contaminantes con el producto agrícola, y un tampón de extracción con una hemina y/o una sustancia que contiene hemo.

Del documento US 2005/0287682 A1 se ha de extraer un método en el que un recipiente, como una placa de Petri,

un micropocillo o un tubito se llena con una primera sustancia y, posteriormente, sobre esta primera sustancia se dispone una película fácilmente soluble en el interior del recipiente, cuya película aísla la primera sustancia respecto del medio ambiente u, opcionalmente, otras sustancias en el interior del contenedor.

La presente invención ahora tiene como objetivo proporcionar un método con el que sea posible extraer micotoxinas de forma confiable de productos agrícolas o comestibles o forrajes que contengan productos agrícolas, sin que se introduzcan al mismo tiempo para los consumidores finales sustancias peligrosas o dañinas, tales como disolventes orgánicos u otros reactivos peligrosos en las muestras. Para lograr este objetivo, el proceso de acuerdo con la invención se lleva a cabo esencialmente de tal manera que el tampón de extracción contenido en una película soluble en disolvente, mezclado con al menos un tensioactivo especialmente no iónico, así como el producto agrícola o comestible o forraje contaminado se pone en contacto con agua fría como disolvente en el recipiente de mezcla, y el tampón de extracción y los contaminantes se ponen en solución sacudiendo o agitando en el recipiente de mezcla. Al disolver el tampón de extracción que contiene una película soluble en un disolvente mezclado con al menos un tensioactivo sacudiendo o agitando con agua en un recipiente de mezcla, es posible reducir el número de reactivos que se deben mantener en stock en la medida de lo posible y, en particular, puede garantizarse que un personal técnicamente capacitado, especialmente en pequeñas empresas, no esté presente con dichas evidencias, ya que la disolución de una bolsa en la que también están contenidos todos los disolventes adecuados para la extracción de contaminantes, también es fácil de confiar a un niño o un principiante del deporte a vela.

Además, el proceso se lleva a cabo para que el comestible o el forraje se pongan en contacto con el agua fría como disolvente en el recipiente de mezcla, que tenga éxito en uno y el mismo recipiente de reacción, en particular una vaso para mezclar todos los ingredientes, tras lo cual las micotoxinas acumuladas en los productos agrícolas pueden disolverse o reducirse cuantitativamente y, como consecuencia, la pregunta puede aclararse de inmediato, por ejemplo, mediante una prueba rápida, si y qué cantidades de micotoxinas están presentes en la superficie de los productos agrícolas.

Como corresponde a un desarrollo del procedimiento de acuerdo con la invención, al realizar el procedimiento de manera tal que se use agua a una temperatura de entre 8 °C y 25 °C, en particular, agua destilada, se evita emplear calentadores o dispositivos con los que se puede calentar agua, de modo que el consumo de energía y el tiempo requerido para llevar a cabo el proceso se pueden mantener extremadamente bajos. Incluso si el procedimiento es completamente funcional con agua del grifo, en particular, si se debe garantizar que no se incorporen contaminantes o impurezas con los disolventes como, por ejemplo, nitratos, se prefiere usar agua destilada.

Si, como corresponde a un desarrollo adicional de la invención, se selecciona como tampón de extracción al menos un tampón seleccionado del grupo del tampón de borato con un pH de 8,5, tampón de carbonato con un pH de 9,1, tampón de citrato con un pH de 7,1, tampón de fosfato con un pH de 7,4 y tampón de Tris/HCl con un pH de 7,4, resulta una extracción cuantitativa de todas las micotoxinas conocidas de los productos agrícolas, sin que se utilicen productos químicos nocivos para seres humanos o animales y, al mismo tiempo, es posible con un procedimiento tal llevar a cabo las extracciones de micotoxinas de los productos a temperatura ambiente, es decir, a temperaturas de entre 15 °C y 25 °C para poner a disposición un procedimiento de rápida implementación y con ahorro de energía, que tampoco requiere de productos químicos nocivos para seres humanos o animales.

Si, como es el caso con un desarrollo adicional de la invención, el procedimiento se lleva a cabo de tal manera que el tampón de extracción se usa en una concentración de entre 10 mM y 100 mM, se puede asegurar que las micotoxinas puedan entrar cuantitativamente en solución y, por lo tanto, se dispone de una prueba cualitativa de su presencia y una prueba cuantitativa respecto del contenido de contaminantes, de modo que se puede decidir en el lugar si, por ejemplo, un lote de productos agrícolas suministrados debe someterse a un tratamiento adicional que elimine las micotoxinas o si se sigue utilizando de inmediato, ya que, por ejemplo, la carga de micotoxinas o contaminantes es tan baja que está por debajo de un rango perjudicial para seres humanos o animales.

Si, como es el caso con un desarrollo adicional de la invención, el procedimiento se lleva a cabo de tal manera que se agregue un portador en polvo al tampón de extracción, en particular un silicato en polvo inerte, como sílice de alta pureza, es posible mantener las propiedades de solubilidad del tampón de extracción de manera consistente y al mismo tiempo mejorar significativamente la procesabilidad del tampón de extracción, en particular su introducción dirigida en la película soluble en disolvente, por lo que no sólo se mejora la procesabilidad, sino que en particular se puede aumentar la precisión del analista, ya que la cantidad de tampón de extracción utilizada también es cuantificable con precisión.

Si, como es el caso con un desarrollo adicional de la invención, al agregar 0,1 a 1% de tensioactivo al tampón de extracción, se logra una disolución aún más rápida y más completa de las micotoxinas adsorbidas en los productos agrícolas en el tampón de extracción mezclado con agua. Además, al seleccionar el tensioactivo de polioxietileno (23) lauril éter (Brij 35), polioxietileno (20) acetil éter (Brij 58), 4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)-fenilpolietilglicol (Triton X100), (1,1,3,3-tetrametilbutil)-fenilpolietilglicol (Triton X114), polisorbato 20, polisorbato 80 o dodecilsulfato de sodio, se garantiza una disolución particularmente rápida de los contaminantes, especialmente las micotoxinas, con lo cual se puede proporcionar un ahorro de tiempo adicional para averiguar si los productos agrícolas o los comestibles o forrajes que contienen estos productos están o no están contaminados con micotoxinas.

Una realización del proceso particularmente rápida y confiable tiene éxito porque, como corresponde a un desarrollo adicional de la invención, se usa la película soluble en disolvente como una bolsa cerrada por todos lados que contiene un tampón de al menos dos de los siguientes componentes: sales de sodio o potasio de ácido bórico, ácido carboxílico, ácido cítrico, ácido fosfórico, ácido fosforoso, TRIS (tris(hidroxi-metil)-aminometano), así como NaCl, donde el tampón después de la disolución tiene una molaridad de 6 a 250 mM, en particular 10 a 100 mM, y el pH está en el intervalo de 6,5 a 9,5, en particular entre 7,1 y 9,1. En este caso, una desviación del valor pH de $\pm 0,3$ no tiene efecto sobre el resultado de la prueba. Con dicho procedimiento se garantiza que, por un lado, no se deban usar disolventes orgánicos potencialmente dañinos o, por lo tanto, difíciles de eliminar, sino que sólo se deban usar sistemas tamponantes a base de agua que son inocuos para las personas y el medio ambiente, que también las soluciones consumidas o cargadas con micotoxinas sean fáciles de procesar, es decir, no tengan que someterse a un tratamiento complejo, como sería el caso, por ejemplo, con el uso de disolventes orgánicos, que los productos químicos pueden ser manejados y disueltos de manera segura y confiable por personal no capacitado utilizando bolsas de plástico selladas en todos los lados, que son solubles en agua, a saber, y en particular además, se puedan extraer las cantidades requeridas de disolventes, concretamente agua, por ejemplo, una impresión de la bolsa, por lo que el proceso requiere de una cantidad de tiempo extremadamente pequeña. Finalmente, un almacenamiento de pequeñas bolsas de plástico selladas es fácilmente posible y no requiere personal capacitado ni un cuidado especial para el almacenamiento.

El objetivo de la invención es proporcionar un dispositivo con el que sea posible extraer contaminantes de productos agrícolas o de la superficie de productos agrícolas de manera simple y confiable, y cuyo dispositivo no requiera una cantidad excesiva de espacio y, además, puede ser operado de manera segura y confiable por personal no experimentado. Para lograr este objetivo, el dispositivo de acuerdo con la invención se caracteriza esencialmente por que el recipiente de mezcla se forma a partir de una bolsa de plástico plegable que contiene un tampón de extracción encerrado en una película soluble, en particular soluble en agua. Al estar formado el recipiente de mezcla a partir de una bolsa plástica plegable que encierra un tampón de extracción incluido en una película soluble, en particular soluble en agua, se proporciona un dispositivo en el que el tampón de extracción está contenido en una bolsa y cuyo dispositivo también es plegable. En un dispositivo de este tipo, el disolvente se puede insertar directamente en el recipiente de plástico o en la bolsa de plástico y, adicionalmente, agregarse a los productos agrícolas por examinar, de modo que, por ejemplo, se vuelven obsoleta la reserva de recipientes como copas, vasos, matraces de Erlenmeyer y similares, en los cuales normalmente se llevan a cabo tales estudios.

En la medida en que, como corresponde a un desarrollo adicional de la invención, la bolsa de plástico se cierre en un extremo con soldaduras que tienen un elemento de rasgado y, además, el tampón de extracción encerrado en la película soluble en agua se acomode en la bolsa de plástico cerrada, además se asegura que el tampón de extracción incluido en la película soluble en agua no entre prematuramente en contacto con la humedad y se disuelva por ejemplo en forma prematura. Además, al proporcionar la bolsa de plástico con un elemento de rasgado en un extremo, simplemente rasgando la bolsa de plástico, se puede proporcionar el recipiente de mezcla requerido que ya tiene una cantidad adecuada de tampón de extracción incluido en la película soluble en agua para el tamaño del recipiente, especialmente la bolsa. Por lo que corresponde a un desarrollo adicional de la invención, al estar diseñado el dispositivo de modo que un extremo de la bolsa de plástico se forme con un doble fondo, y que la película dirigida hacia el interior de la bolsa de plástico, que forma un doble fondo de la bolsa de plástico sea la película soluble en agua que contenga el tampón de extracción, se proporciona un dispositivo particularmente sencillo de manejar, en el que sólo deben llenarse más agua y los productos agrícolas que deben examinarse para poder llevar a cabo una investigación sobre la presencia de contaminantes, en particular micotoxinas en la superficie de los productos agrícolas.

De acuerdo con un desarrollo adicional de la invención, el dispositivo está diseñado de tal manera que el elemento de rasgado se diseñe como una varilla de plástico, en particular varillas de agitación, por lo que se asegura con una simple agitación en el interior de la bolsa de plástico después de agregar agua o después de agregar productos agrícolas una disolución completa y segura del tampón de extracción y una disolución de las micotoxinas posiblemente presentes en los productos agrícolas.

Para simplificar el funcionamiento y, en particular, para permitir que incluso el personal sin entrenamiento realice un examen correcto, la bolsa de plástico se proporciona de manera convencional con una escala según un desarrollo adicional de la invención. Al proporcionar dicha escala, incluso el personal no capacitado puede insertar exactamente la cantidad correcta de disolvente en el recipiente de plástico para realizar un examen confiable y especialmente un examen cuantitativo.

La invención se explicará con más detalle a continuación con referencia a realizaciones ejemplares ilustradas en el dibujo. En ellas se muestra:

Fig. 1 muestra un dispositivo de acuerdo con la invención que comprende un tampón de extracción encerrado en una película soluble en agua.

Fig. 2 muestra otra realización del dispositivo de la Fig. 1, en el que el tampón de extracción se prevé en el doble fondo de una bolsa de plástico, y

Fig. 3 muestra el dispositivo de la Fig. 1 en estado abierto en uso.

En detalle, la Fig. 1 muestra un recipiente de mezcla en forma de una bolsa de plástico 1, en cuyo interior está contenido un tampón de extracción 3 alojado en una película soluble en agua 2. En este caso, el tampón de extracción se puede mezclar con un ácido silícico de alta pureza como portador, por lo que se mejora su llenado y homogeneización, pero sus propiedades de extracción no se ven afectadas. La bolsa 1 se muestra en la ilustración de la Fig. 1 en estado cerrado y en su extremo superior se prevé un elemento de rasgado 4, en el que se incluye un elemento 5 en forma de varilla, cuyo elemento en forma de varilla 5 al abrir la bolsa 1 simplemente se arranca y luego se puede quitar de la parte desgarrada del elemento de rasgado 4 y, por ejemplo, puede ser utilizado como una varilla de agitación. Además, la bolsa 1 en su lado exterior presenta una escala 6, con la que, en uso, se puede determinar la cantidad exacta de agua por llenar.

En la Fig. 2, se muestra otra variante de un dispositivo de acuerdo con la invención, en la que, en la medida de lo posible, se conservan los números de referencia. La bolsa 1 está provista, a su vez, de una escala 6 y, además, tiene en su extremo superior un elemento de rasgado 4 diseñado como un borde desgarrable 4. El elemento de rasgado 4 en la ilustración de acuerdo con la Fig. 2 está provisto de una perforación 7, en la que, cuando se abre la bolsa 1, la bolsa 1 puede abrirse simplemente arrancando el elemento de rasgado 4 superior a lo largo de la perforación 7. Además, la parte inferior de la bolsa 1 se forma con un doble fondo 8, en donde entre el extremo inferior de la bolsa 1 y el doble fondo 8 está incluido el tampón de extracción 3. En uso, tal bolsa 1 se abre, se llena con agua hasta la marca deseada y se disuelve agitando suavemente la bolsa o agitando en el interior de la película desprendible 2, que cubre el tampón de extracción 3 como doble fondo 8, de modo que el tampón entra en contacto con el disolvente. Después de disolver el tampón de extracción 3, el producto agrícola 9 por examinar se llena en el interior de la bolsa 1 y se deja reposar durante unos minutos o se agita más para disolver los contaminantes contenidos en la superficie del producto 9 tan pronto como sea posible. Por supuesto, el producto agrícola y el tampón por disolver pueden llenarse al mismo tiempo o en cualquier orden. Posteriormente, es suficiente probar, por ejemplo, mediante una prueba de la tira, si o, en el caso de una prueba de la tira cuantitativa, qué cantidad y/o tipos de contaminantes o micotoxinas están presentes en la superficie del producto agrícola 9.

En la Fig. 3, se muestra la bolsa 1 de la Fig. 1, donde se exhibe en esta representación en estado abierto y el tampón de extracción 3 ya está en disolución, porque la película soluble en agua 2 ya presenta grietas y destrucción y también se llenaron productos agrícolas 9 por ensayar así como el disolvente agua. Para disolver o facilitar la disolución del tampón de extracción 3 o para separar los contaminantes de la superficie de los productos agrícolas 9, la agitación se efectúa con la varilla de agitación 5 en el interior de la bolsa 1.

Después de la disolución completa del tampón de extracción 3, se puede examinar, por ejemplo, con una prueba de tira convencional la presencia de contaminantes.

Ejemplo 1: Recuperación de varias micotoxinas en muestras de maíz:

Las siguientes tablas muestran la recuperación de las diversas micotoxinas en muestras de maíz cuando se analizan con distintos tampones que consisten en sales y tensioactivos, así como un resumen de la recuperación de las toxinas en el sistema tamponante de fosfato (cada concentración 10 mM y 100 mM), con pruebas ELISA:

- tampón de carbonato, pH 8,5,
- tampón de carbonato, pH 9,1,
- tampón de citrato, pH 7,1,
- tampón de fosfato, pH 7,4 y tampón de Tris/HCl, pH 7,5.

Las siguientes claves se dan en las tablas para la recuperación:

Resultado	Recuperación
(+)	< 30 %
+	30-50 %
++	50-80 %
+++	> 80 %
Resultados de las pruebas de tiras (LFDs):	

Aflatoxinas:

La Tabla 1 indica las recuperaciones de aflatoxinas en muestras de maíz. Se probaron varias combinaciones de tampones (sal + tensioactivo).

Tabla 1: Aflatoxinas

Tampón [mM]	Tween 20 [%] 0,1/1	Tween 80 [%] 0,1/1	Triton X100 [%] 0,1/1	Triton X114 [%] 0,1/1	Brij 35 [%] 0,1/1	Brij 58 [%] 0,1/1	SDS [%] 0,1/1
Borato 10 mM	++/++	++/+++	++/++	++/+++	++/++	++/+++	+++/ ++
Borato 100 mM	++/++	++/++	++/++	++/++	++/++	++/++	+++/ ++
Carbonato 10 mM	++/+++	++/+++	++/++	++/+++	++/++	++/+++	+++/ ++
Carbonato 100 mM	++/+++	++/+++	++/++	++/+++	++/++	++/++	+++/ ++
Citrato 10 mM	+/+	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	++/+
Citrato 100 mM	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	++/+
Fosfato 10 mM	++/+++	++/+++	++/++	++/++	++/+++	++/+++	+++/ ++
Fosfato 100 mM	++/+++	++/++	++/++	++/++	++/+++	++/+++	+++/ ++
Tris/HCl 10 mM	++/++	++/++	++/++	++/++	++/++	++/++	+++/ ++
Tris/HCl 100 mM	++/++	++/++	++/++	++/++	++/++	++/++	+++/ ++

5

Desoxinivalenol:

La Tabla 2 indica las recuperaciones de desoxinivalenol en muestras de maíz. Se probaron varias combinaciones de tampones (sal + tensioactivo).

Tabla 2: Desoxinivalenol

Tampón [mM]	Tween 20 [%] 0,1/1	Tween 80 [%] 0,1/1	Triton X100 [%] 0,1/1	Triton X114 [%] 0,1/1	Brij 35 [%] 0,1/1	Brij 58 [%] 0,1/1	SDS [%] 0,1/1
Borato 10 mM	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / ++
Borato 100 mM	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / ++
Carbonato 10 mM	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / ++
Carbonato 100 mM	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / ++
Citrato 10 mM	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / +
Citrato 100 mM	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / +
Fosfato 10 mM	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / ++
Fosfato 100 mM	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / ++
Tris/HCl 10 mM	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / ++
Tris/HCl 100 mM	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / +++	+++ / ++

Fumonisin:

La Tabla 3 indica las recuperaciones de fumonisinas en muestras de maíz. Se probaron varias combinaciones de tampones (sal + tensioactivo).

5

Tabla 3: Fumonisin

Tampón [mM]	Tween 20 [%] 0,1/1	Tween 80 [%] 0,1/1	Triton X100 [%] 0,1/1	Triton X114 [%] 0,1/1	Brij 35 [%] 0,1/1	Brij 58 [%] 0,1/1	SDS [%] 0,1/1
Borato 10 mM	++ / +++	++ / +++	++ / +++	++ / +++	++ / (+)	++ / (+)	++ / (+)
Borato 100 mM	++ / +++	++ / +++	++ / +++	++ / +++	++ / (+)	++ / (+)	++ / (+)
Carbonato 10 mM	++ / +++	++ / +++	++ / +++	++ / +++	++ / (+)	++ / (+)	++ / (+)
Carbonato 100 mM	++ / +++	++ / +++	++ / +++	++ / +++	++ / (+)	++ / (+)	++ / (+)
Citrato 10 mM	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / (+)	++ / (+)	++ / (+)
Citrato 100 mM	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / (+)	++ / (+)	++ / (+)
Fosfato 10 mM	++ / +++	++ / +++	++ / +++	++ / +++	++ / (+)	++ / (+)	++ / (+)

Fosfato 100 mM	++/+++	++/+++	++/+++	++/+++	++/(+)	++/(+)	++/(+)
Tris/HCl 10 mM	++/+++	++/+++	++/+++	++/+++	++/(+)	++/(+)	++/(+)
Tris/HCl 100 mM	++/+++	++/+++	++/+++	++/+++	++/(+)	++/(+)	++/(+)

Zearalenonas:

La Tabla 4 indica las recuperaciones de zearalenonas en muestras de maíz. Se probaron varias combinaciones de tampones (sal + tensioactivo).

5

Tabla 4: Zearalenonas:

Tampón [mM]	Tween 20 [%] 0,1/1	Tween 80 [%] 0,1/1	Triton X100 [%] 0,1/1	Triton X114 [%] 0,1/1	Brij 35 [%] 0,1/1	Brij 58 [%] 0,1/1	SDS [%] 0,1/1
Borato 10 mM	+++/>++	+++/>++	+++/>++	+++/>++	+++/>++	+++/>++	+++/>+
Borato 100 mM	+++/>++	+++/>++	+++/>++	+++/>++	+++/>++	+++/>++	+++/>+
Carbonato 10 mM	++/+++	++/+++	+++/>++	++/+++	+++/>++	++/+++	+++/>+
Carbonato 100 mM	++/+++	++/+++	+++/>++	++/+++	+++/>++	++/+++	+++/>+
Citrato 10 mM	+/>+	+/>+	+/>+	+/>+	+/>+	+/>+	++/>+
Citrato 100 mM	+/>+	+/>+	+/>+	+/>+	+/>+	+/>+	++/>+
Fosfato 10 mM	+++/>++	+++/>++	+++/>++	+++/>++	+++/>++	+++/>++	+++/>+
Fosfato 100 mM	+++/>++	+++/>++	+++/>++	+++/>++	+++/>++	+++/>++	+++/>+
Tris/HCl 10 mM	++/+++	++/+++	++/+++	++/+++	+++/>++	++/+++	+++/>+
Tris/HCl 100 mM	++/+++	++/+++	++/+++	++/+++	+++/>++	++/+++	+++/>+

Tabla 5: Resumen de los resultados de la LFD:

TOXINA PBS Tampón	Tween 20 [%] 0,1/1	Tween 80 [%] 0,1/1	Triton X100 [%] 0,1/1	Triton X114 [%] 0,1/1	Brij 35 [%] 0,1/1	Brij 58 [%] 0,1/1	SDS [%] 0,1/1
Alfatoxinas 10 mM	++/>++	++/>++	++/>++	++/>++	++/+++	++/>++	+++/>+
Alfatoxinas 100 mM	++/>++	++/>++	++/>++	++/>++	++/+++	++/>++	+++/>+
Desoxinivalenol	+++/>+	+++/>+	+++/>++	+++/>+	+++/>++	+++/>+	+++/>+

10 mM							
Desoxinivalenol 100 mM	+++/+	+++/+	+++/++	+++/+	+++/>++	+++/>+	+++/> +
Fumonisin 10 mM	++/>++	++/>++	++/>+++	++/>++	++/()	++/()	++/
Fumonisin 100 mM	++/>++	++/>++	++/>+++	++/>++	++/()	++/()	++/
Zearalenone 10 mM	++/>+++	+++/>+	+++/>++	+++/>+	+++/>++	+++/>+	+++/> +
Zearalenone 100 mM	++/>+++	+++/>+	+++/>++	+++/>+	+++/>++	+++/>+	+++/> +

De estas tablas se deduce que los resultados de LFD y ELISA son comparables y que los diferentes sistemas tamponantes, así como diferentes tensioactivos y concentraciones son aplicables al método de extracción y proporcionan resultados confiables.

5 Ejemplo 2 Extracción de alérgenos alimentarios con tampón de extracción contenido en películas solubles en agua:

Tris/HCl y un tampón de PBS, cada uno sellado en una película soluble en agua, se colocan en un recipiente de plástico y se mezclan con agua fría del grifo hasta que se forman soluciones de 100 mM, 150 mM, 200 mM y 250 mM, respectivamente. Las soluciones tenían valores de pH de entre 6,5 y 8,8, dependiendo del tampón utilizado.

10 Con ambos tampones de extracción fue posible extraer cuantitativamente los siguientes alérgenos alimentarios con las cuatro concentraciones diferentes: β -lactoglobulina, caseína, cacahú, proteína, maní, pescado, avellana, crustáceos, lupinos, almendras, leche, ovalbúmina, pistacho, mostaza, sésamo, soja, nuez.

Ejemplo 3: Extracción de organismos genéticamente modificados con tampón de extracción contenido en películas solubles en agua

15 Tris/HCl, PBS y tampón de borato, cada uno sellado junto con Tween o Triton y gel de sílice en una película soluble en agua, se colocan en un recipiente de plástico y se tratan con agua fría del grifo hasta formar soluciones de 100 mM, 150 mM, 200 mM y 250 mM.

Con ambos tampones de extracción fue posible extraer cuantitativamente los siguientes organismos genéticamente modificados con las cuatro concentraciones diferentes y cuantificar los resultados usando los lectores Statfax® y Chromate®: RUR, Cry1F, Cry1AB, Cry3bb, LL, Cry34AB1, VIP, Btk, BR, B2R, EPSPS, DAS CryIAC.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la extracción de contaminantes de productos agrícolas (9) o comestibles o forrajes que contienen alimentos agrícolas, que comprende un contacto de un disolvente para los contaminantes con los productos agrícolas (9) o comestibles o forrajes que presentan o contienen los contaminantes acumulados, así como al menos un tampón de extracción (3) y opcionalmente un portador en pulverulento en un recipiente de mezcla opcionalmente cerrable, caracterizado por que el tampón de extracción (1) contenido en una película soluble en disolvente (2) mezclado con al menos un tensioactivo especialmente no iónico, así como el producto agrícola (9) o el comestible o forraje contaminado se ponen en contacto con agua fría como disolvente en el recipiente de mezcla, y el tampón de extracción (3) y los contaminantes se disuelven sacudiendo o agitando en el recipiente de mezcla.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por que se usa agua a una temperatura de entre 8 y 25 °C, en particular agua destilada.
3. Procedimiento según la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que como tampón de extracción (3) se selecciona al menos un tampón seleccionado del grupo de tampón de borato con un pH de 8,5, tampón de carbonato con un pH de 9,1, tampón de citrato con un pH de 7,1, tampón de fosfato con un pH de 7,4 y tampón de Tris/HCl con un pH de 7,4.
4. Procedimiento según la reivindicación 1, 2 o 3, caracterizado por que el tampón de extracción (3) se usa en una concentración de entre 10 mM y 100 mM.
5. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por que al tampón de extracción (3) se agrega 0,1 al 1% de tensioactivo.
6. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado por que como portador en polvo se usa un silicato inerte en polvo, tal como ácido silícico de alta pureza.
7. Procedimiento según la reivindicación 6, caracterizado por que el tensioactivo se selecciona de entre polioxietileno (23) lauril éter (Brij 35), polioxietileno (20) acetil éter (Brij 58), 4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)-fenil-polietilglicol (Triton X100), (1,1,3,3-tetrametilbutil)-fenil-polietilglicol (Triton X114), polisorbato 20, polisorbato 80 o dodecilsulfato de sodio.
8. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado por que se usa la película soluble en disolvente (2) como una bolsa cerrada por todos lados (1) que contiene un tampón de al menos dos de los siguientes componentes: sales de sodio o potasio de ácido bórico, ácido carboxílico, ácido cítrico, ácido fosfórico, ácido fosforoso, TRIS (tris(hidroximetil)-aminometano) y NaCl, en donde el tampón tiene una molaridad de 6 a 250 mM, en particular de 10 a 100 mM después de la disolución, y el valor del pH está en el intervalo de 6,5-9,5, en particular entre 7,1 y 9,1.
9. Dispositivo para extraer contaminantes de productos agrícolas o de la superficie de productos agrícolas (9) o comestibles o forrajes que contienen productos agrícolas que comprende un recipiente de mezcla que se puede cerrar opcionalmente, caracterizado por que el recipiente de mezcla se forma a partir de una bolsa de plástico plegable (1) que encierra un tampón de extracción (3) incluido en una película soluble, en particular soluble en agua (2).
10. Dispositivo según la reivindicación 9, caracterizado por que la bolsa de plástico (1) está cerrada con soldaduras que presentan en particular en un extremo un elemento de rasgado (4) y por que el tampón de extracción (3) incluido en la película soluble en agua (2) se aloja en la bolsa de plástico (1) cerrada.
11. Dispositivo según la reivindicación 9 o 10, caracterizado por que se forma un extremo de la bolsa de plástico (1) está formada con doble fondo (8), y que la película (2) dirigida hacia el interior de la bolsa de plástico (1), que forma un doble fondo (8) de la bolsa de plástico (1) es la película soluble en agua (2) que encierra el tampón de extracción (3).
12. Dispositivo según una de las reivindicaciones 9 a 11, caracterizado por que el elemento de rasgado (4) está diseñado como una varilla de plástico, en particular una varilla de agitación.
13. Dispositivo según una de las reivindicaciones 9 a 12, caracterizado por que, de una manera en sí conocida, la bolsa de plástico (1) presenta una escala (6).

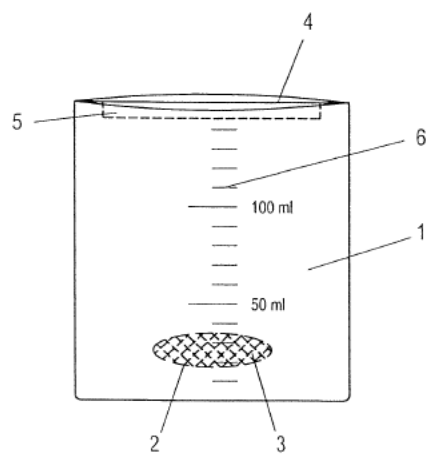


Fig. 1

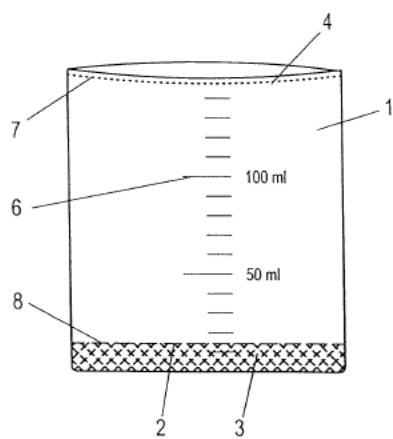


Fig. 2

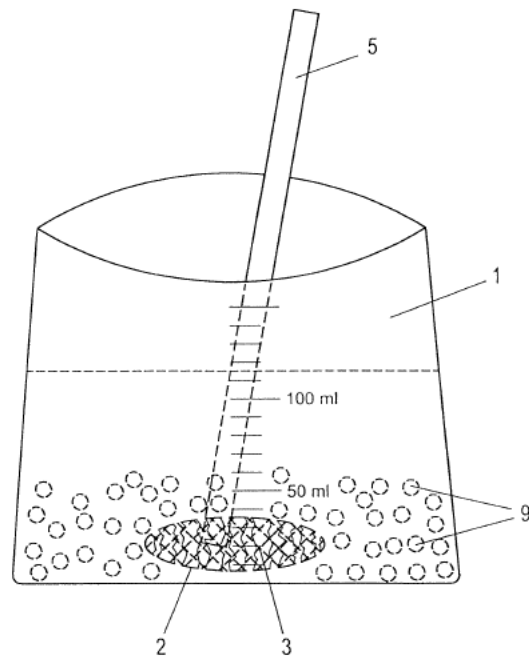


Fig. 3