# - MANUALE DI ISTRUZIONI -

REAGENTI SFUSI PSILOCYBIN QTEST (DA UTILIZZARE CON IL FOTOMETRO QTEST)

Analisi precisa della concentrazione di psilocibina in funghi, tartufi ed estratti

### INFORMAZIONI IMPORTANTI - LEGGERE PRIMA DI UTILIZZARE!

- Indossare indumenti protettivi, guanti e occhiali e ricordare sempre che la soluzione di rilevamento contiene un acido! Prestare particolare attenzione durante il pipettaggio della soluzione nelle cuvette.
- Utilizzare questo kit a temperatura ambiente (se conservato in frigorifero, lasciarlo riscaldare per un'ora ora).
- Valutare il risultato immediatamente dopo il tempo di sviluppo di 15 minuti.
- Questo kit funziona solo con materiale fungino essiccato (sostanze solide o in polvere). Esso Non funziona con i funghi freschi.
- Maneggiare con cautela l'ago semi-smussato e l'acqua calda (**rischio di lesioni/ustioni**).
- Le cuvette hanno un piccolo triangolo che deve essere rivolto nella direzione del raggio luminoso del LED.
- Leggere tutte le istruzioni (queste e quelle del fotometro QTest) almeno una volta prima di iniziare il test.

## ISTRUZIONI PER L'USO

### 1. CAMPO DI UTILIZZO

- Questo kit di analisi è destinato a utenti esperti che sono consapevoli dei pericoli legati alla pipettatura di acidi. Per aumentare l'accuratezza del risultato, si consiglia di utilizzare una pipetta da 1 ml con puntali espellibili, ma sono incluse anche siringhe monouso.
- Il Psilocybin QTest calcola la quantità totale di entrambi i principi attivi (psilocibina e psilocina) presenti nel campione di funghi. Sebbene il risultato totale sia espresso in termini di psilocibina, solo perché si tratta dell'alcaloide più conosciuto, i risultati forniscono la potenza dei funghi, inclusi sia la psilocibina che la psilocina.
- Con i reagenti contenuti in questo kit è possibile eseguire almeno 25 analisi di concentrazione e il reagente è sufficiente per eseguire altre 5 misurazioni in bianco.

### 2. PREPARAZIONE AL TEST

Estraete tutti gli articoli dal kit. Oltre alle presenti istruzioni, dovreste avere:

- 4 guanti protettivi
- 1 x Fiala di plastica marrone grande con tappo a vite (40 ml di soluzione di estrazione trasparente -> **da conservare in luogo fresco!**)
- 1 x Fiala con la soluzione di rilevamento (30 ml di soluzione di rilevamento - leggermente gialla)
- 5 siringhe da 1 ml
- 5 x Aghi semi-smussati
- 25 x Puntali per siringhe (Sterifilt)
- 25 x provette da 1,5 ml
- 25 provette da 2 ml
- 25 x Cuvette trasparenti

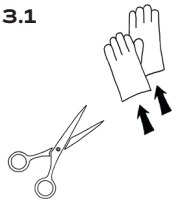
Avrete anche bisogno di una bilancia milligrammatica, un bagnomaria a 176 °F o 80 °C (o una pentola per bollire l'acqua), pinzette (o pinze da cucina), forbici/macinino e un piccolo imbuto o un pezzo di carta piegato per versare con attenzione il materiale fungino nella provetta da reazione con la fiala della soluzione di estrazione.

**Quando si analizza materiale essiccato:** prima di iniziare il test, è necessario omogeneizzare accuratamente il materiale fungino essiccato. Gli strumenti più adatti sono un mortaio e un pestello per campioni liofilizzati, un macinino tradizionale o anche delle forbici con una provetta Falcon da 50 ml. Non è necessario ridurre il campione in polvere, poiché ciò causerebbe un intasamento del filtro molto più facile. Quindi mescolare accuratamente il materiale tritato. Per il test occorreranno 50 milligrammi (mg) di materiale. Il risultato indicherà la percentuale di psilocibina in 1 grammo (g) del materiale omogeneizzato rimanente (in termini di mg/g).

**Quando si testano gli estratti:** gli estratti sono solitamente più concentrati. Per garantire che il risultato cromatico del test rientri comunque nell'intervallo lineare del Psilocybin QTest, è necessario ridurre di conseguenza la quantità di materiale di partenza. Prima di eseguire il test, omogeneizzare la sostanza. In genere, gli estratti di metanolo sono triplicati, quindi se si dispone di un estratto grezzo, si consiglia di dividere la quantità utilizzata per il test per tre (~16,7 mg) o di diluire l'estratto nella soluzione di estrazione e di utilizzarne solo una parte. Se l'estratto è notevolmente più concentrato, ridurre la quantità iniziale di conseguenza. L'estratto deve essere il più possibile privo di solventi, poiché questi possono interferire con la soluzione di estrazione. Ricordate che alla fine dovrete moltiplicare il risultato ottenuto dal fotometro per il fattore utilizzato per ottenere il risultato effettivo per il campione rimanente.

### 3. ESECUZIONE DEL TEST

**3.1**



In primo luogo, indossare i guanti in nitrile in dotazione e indossare indumenti protettivi adeguati e occhiali di sicurezza. Se si indossano lenti a contatto, rimuoverle. I liquidi contenuti nelle fiale contengono acidi che possono causare irritazione cutanea o gravi lesioni agli occhi. In caso di contatto con il liquido, rimuovere immediatamente gli indumenti interessati e sciacquare la zona cutanea interessata con acqua per diversi minuti. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare l'occhio interessato con acqua corrente per diversi minuti. (Tenere gli animali domestici, in particolare i gatti, lontani dall'area di test).

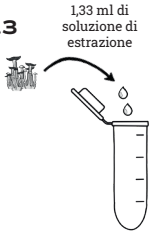
**3.2**

Pesare con cura **50 mg (0,05 g)** del materiale omogeneizzato utilizzando una bilancia milligrammo accurata. Per gli estratti concentrati, utilizzare una quantità proporzionalmente inferiore.

***Nota:*** *dai un'occhiata al nostro negozio: abbiamo bilance economiche, precise e calibrata di cui potete fidarvi.*

Preriscaldare il bagnomaria a 80 °C (176 °F) o circa 1 litro d'acqua (circa quattro tazze) in una pentola sul fornello o in un bollitore. Quando l'acqua bolle, spegnere il fornello.

**3.3**



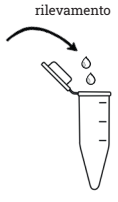

Aprire la provetta di plastica da 2 ml e pipettare 1,33 ml di soluzione di estrazione al suo interno (se si utilizza la siringa, è necessario procedere in due fasi: prima 1 ml e poi 0,33 ml). Quindi versare con cautela il materiale fungino utilizzando un piccolo imbuto o un pezzo di carta piegato. Rimettere il tappo e agitare la provetta per circa 30 secondi. Quindi, appoggiare la fiala e attendere 10 minuti. Ripetere il processo di agitazione due volte durante questo periodo di attesa, una volta dopo circa 3 minuti e di nuovo dopo circa 7 minuti. Se il materiale si attacca alla parte superiore, agitare più spesso durante l'attesa.

**3.4**

Se disponete di una centrifuga, potete anche centrifugare la biomassa e utilizzare il surnatante privo di particelle. In caso contrario, aprite la confezione della siringa e del filtro per siringa. Fissate il filtro alla siringa. Aprite la provetta di plastica e inserite il filtro (assicuratevi di inserire il filtro rotondo il più dritto e stretto possibile nella provetta da 2 ml!). Il filtro dovrebbe poter essere inserito solo leggermente nel recipiente di reazione e sigillarlo completamente. Ora potete capovolgere il recipiente di reazione, tirare completamente lo stantuffo della siringa e tenerlo in quella posizione. Questo creerà una pressione negativa e la siringa si riempirà lentamente di liquido; per il passaggio successivo vi serviranno solo 0,33 ml. Tuttavia, vi consigliamo di aspirare circa 0,5 ml (se il filtro si intasa, potete pulirlo con cura e riprovare).

Rimuovere la siringa dal tubo di plastica. Inoltre, staccare il filtro sterile dalla siringa e picchiettare delicatamente la siringa con l'unghia tenendola in posizione verticale. In questo modo, le bolle d'aria saliranno in superficie e sarà possibile spingere con cautela la soluzione di estrazione fino a quando nella siringa rimarranno esattamente 0,33 ml senza bolle d'aria. Il modo più accurato per eseguire questa operazione è utilizzare una pipetta; se non ne avete una a disposizione, seguite le nostre istruzioni il più fedelmente possibile.

**3.5**

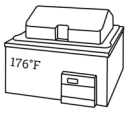



Pipettare 0,33 ml (330 µl) della soluzione di estrazione filtrata nella provetta da reazione più piccola da 1,5 ml utilizzando una pipetta per una maggiore precisione o cercare di essere il più precisi possibile con la siringa. Aggiungere 1 ml di soluzione di rilevamento e chiudere la provetta di reazione. Mescolare i liquidi capovolgendo più volte la provetta.

***NOTA:*** *il liquido nella provetta di reazione potrebbe ora essere verdastro. Questo cambiamento di colore indica la presenza di psilocina nel campione, ma non fornisce un risultato quantitativo. È comunque necessario incubare la provetta in acqua calda.*

***PREPARARE UN CAMPIONE DI CONTROLLO:*** *Da un punto di vista scientifico, a questo punto sarebbe sempre corretto preparare un'altra provetta seguendo gli stessi passaggi utilizzati per la provetta del campione, ma senza aggiungere alcun campione. Utilizzare solo le soluzioni di estrazione e rilevamento, seguendo lo stesso protocollo, e incubare anche questa provetta nel bagnomaria. Questa provetta funge da bianco, ovvero da riferimento senza campione, che potrà essere utilizzato successivamente nel fotometro per correggere eventuali colori o segnali di fondo.*

**3.6**




Incubare i campioni a 80 °C (176 °F) per 15 minuti in un bagnomaria o in una pentola/bollitore. Le provette di reazione dovrebbero essere abbastanza piene e quindi galleggiare in posizione verticale sull'acqua; se possibile, utilizzare un rack galleggiante.

***Nota:*** *per riscaldare l'acqua, rimuovere la pentola dalla fonte di calore, spegnere il fornello e attendere 5 minuti. Se si utilizza una pentola/bollitore, assicurarsi che l'acqua non sia più in ebollizione. Temperature troppo elevate comportano un aumento dei risultati di misurazione e devono essere rigorosamente evitate.*

**3.7**

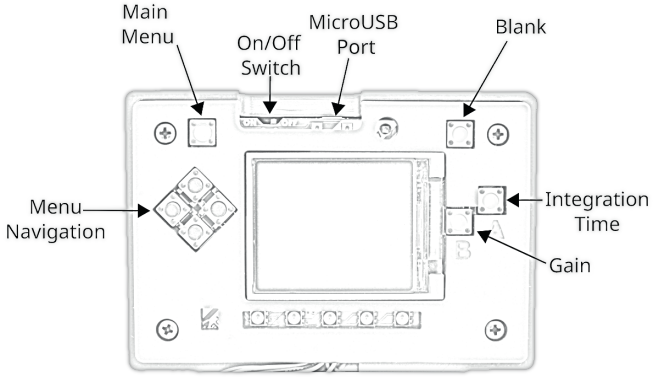
La soluzione nella provetta inizierà a cambiare colore. Dopo 15 minuti, rimuovere con cautela la provetta galleggiante dal bagnomaria. Dopo alcuni minuti, le provette saranno abbastanza fredde da poter essere maneggiate. Nel frattempo, avviare il fotometro, selezionare il metodo di rilevamento della psilocibina e lasciare che il LED si stabilizzi per almeno 5 minuti. Ora puoi aprire la provetta di reazione e pipettare l'intera soluzione in una cuvetta. Inizia azzerando il fotometro utilizzando il tuo bianco preparato, quindi procedi con la misurazione del campione.

**3.8**

**RISULTATI:** La concentrazione corrispondente di psilocibina/psilocina è indicata in milligrammi per grammo di materiale (mg/g). Questa concentrazione si applica al materiale omogeneizzato rimanente.

Per gli estratti, è necessario moltiplicare il numero letto sul fotometro per lo stesso fattore con cui è stato ridotto il materiale di partenza all'inizio del processo. Ad esempio, se è stato testato un estratto 3X e il materiale di partenza è stato ridotto di un fattore tre, è necessario moltiplicare per tre per ottenere il risultato corretto. Allo stesso modo, se è stato testato un estratto 10X (utilizzando 5 mg), è necessario moltiplicare per dieci.

## 4. BREVI ISTRUZIONI FOTOMETRO QTEST




**Primi passi:**

- Accendere il fotometro.
- Leggere le istruzioni „README" disponibili nella sezione fotometro del nostro negozio online (collegarlo al computer).
- Viene visualizzata la schermata introduttiva, seguita dalla schermata predefinita dell'assorbanza.
- Premere il pulsante in alto a sinistra per accedere al menu e utilizzare il gruppo di 4 pulsanti sul lato sinistro per navigare „↑↓" nel menu.
- Per selezionare una modalità (ad es. trasmissione) premere il pulsante destro „→" nel gruppo.
- Premere il pulsante in alto a sinistra per tornare al menu in qualsiasi momento.
- Seleziona la misurazione della psilocibina utilizzando il menu di navigazione.
- Lascia che i LED si riscaldino!
- Prima di iniziare una misurazione, è necessario azzerare (ovvero „calibrare") il colorimetro. In questo modo si imposta lo sfondo di misurazione rispetto al quale verrà confrontato il campione. Posizionare il campione di riferimento nel supporto della cuvetta. Posizionare il coperchio nero che blocca la luce sul supporto della cuvetta (il triangolo rivolto verso il basso deve essere posizionato parallelamente allo schermo del fotometro e assicurarsi che sia rivolto verso di voi).
- Premere il pulsante Blank in alto a destra. Dovrebbe apparire una linea lampeggiante „Blanking" sullo lo schermo.
- Una volta terminata la cancellazione, inserire il campione e registrare il valore di concentrazione.
- Ora è possibile misurare diversi campioni uno dopo l'altro senza dover premere un nuovo pulsante.
- Non lasciare che l'acido goccioli sul fotometro, in particolare sulle parti ottiche. Lavora in modo pulito!
- Seguire le stesse istruzioni d'uso e di sicurezza descritte nel manuale del fotometro.

## SIGNAL CHAT E DOMANDE FREQUENTI

Consulta la nostra sezione FAQ all'indirizzo https://www.miraculix-lab.de/en/qtest-photometer/step-by-step-guide

Per assistenza nella valutazione, in particolare con il fotometro, iscriviti alla nostra chat Signal (domande e risposte rapide con noi e altri utenti del fotometro!).

## 5. LIMITAZIONI

- Il test Psilocybin QTest è stato sviluppato per consentire la determinazione più lineare e accurata della concentrazione di psilocibina/psilocina. Anche la norbaeocistina e la baeocistina non danno risultati falsi positivi. Poiché il test è anche incredibilmente sensibile, possono verificarsi deboli reazioni false positive con materiale fungino che non contiene psilocibina. La reazione crociata è molto probabilmente una reazione falsa positiva all'indolo reattivo. Pertanto, quando si analizzano funghi selvatici, è necessario correlare il risultato di concentrazione potenzialmente debole con la morfologia dei funghi e assicurarsi che si tratti di funghi contenenti psilocibina.
- I funghi raccolti in natura possono sempre essere dei cosiddetti „doppi". Ciò è particolarmente pericoloso nel caso del fungo velenoso Galerina marginata. Un risultato positivo alla concentrazione non esclude la possibilità che la quantità omogeneizzata contenga anche altri funghi velenosi potenzialmente letali.
- Fonti di potenziali imprecisioni nei risultati di concentrazione: i campioni sono stati bolliti con calore aggiuntivo e non solo incubati in acqua calda, il che ha portato a un risultato di concentrazione più elevato (quasi nero), pesatura imprecisa (bilancia non accurata), variazioni nella quantità di liquido di estrazione aggiunto, reagenti di rilevamento scaduti/scoloriti, non tutta la psilocibina/psilocina è stata estratta a causa del breve tempo di estrazione, tempo di incubazione troppo breve o troppo lungo, campione non rappresentativo testato ( quantità omogeneizzata troppo piccola o insufficientemente omogeneizzata).

## 6. CONSERVAZIONE E DURATA DI CONSERVAZIONE

Conservare i reagenti in frigorifero (35 - 46 °F o 2 - 8 °C) e al riparo dalla luce solare diretta per una durata di conservazione di almeno 18 mesi dalla data di produzione. In particolare, la soluzione di estrazione deve essere sempre conservata in frigorifero. Prelevare aliquote della soluzione di estrazione direttamente dalle provette aumenta la stabilità, poiché non è necessario estrarre più volte l'intera soluzione dal frigorifero. Il liquido di estrazione può assumere una leggera colorazione giallastra nel tempo. Non c'è problema. È comunque utilizzabile.

## 7. AVVERTENZE

- Prestare attenzione alle etichette sulle fiale dei reagenti.
- Il kit di analisi deve essere sempre tenuto lontano dalla portata dei bambini e degli animali.
- Quando si utilizza il kit di analisi, indossare guanti adeguati, indumenti protettivi e dispositivi di protezione per il viso/gli occhi.
- Se si indossano lenti a contatto, rimuoverle prima dell'uso.
- Tutti i materiali e i liquidi forniti non devono essere ingeriti o inalati.
- I liquidi inclusi nel kit di prova contengono vari acidi che possono causare irritazione cutanea o gravi danni/irritazioni agli occhi. Evitare il contatto con la pelle, gli occhi, la bocca o gli indumenti.
- In caso di contatto con le aree sopra menzionate, rimuovere immediatamente gli indumenti interessati. Sciacquare o lavare immediatamente le zone cutanee interessate con abbondante acqua per diversi minuti.
- In caso di contatto con gli occhi, sciacquarli immediatamente con abbondante acqua per diversi minuti.
- Maneggiare con cautela l'ago semi-smussato e l'acqua calda (rischio di lesioni/ustioni).

## 8. DICHIARAZIONI DI NON RESPONSABILITÀ

- I test Miraculix QTests devono essere utilizzati solo a scopo di ricerca e per quantificare sostanze sconosciute.
- Il campione potrebbe essere adulterato con una o più sostanze sconosciute che reagiscono in modo incrociato con i reagenti, influenzando il risultato quantitativo.
- Il risultato non significa che il campione sia sicuro per il consumo. Potrebbe comunque contenere sostanze indesiderate e impurità che possono essere nocive o addirittura letali.
- Il risultato non serve a identificare la specie di fungo. I funghi contenenti psilocibina possono avere un aspetto simile a quello dei funghi velenosi. I funghi che non contengono psilocibina potrebbero reagire in modo incrociato con i reagenti e produrre lievi colorazioni. Si tratta di una reazione falsa positiva presumibilmente dovuta all'indolo reattivo.
- Miraculix non si assume alcuna responsabilità per l'uso o l'uso improprio del kit di test o dei risultati.
- I campioni trattati con il kit di analisi non devono essere consumati.
- Tecnologia in attesa di brevetto.