Ridascreen®FAST Mustard

Иммуноферментный метод для количественного определения горчицы

Арт. R6152

Тест для анализа in vitro
Хранить при температуре 2-8°C

Официальный дистрибьютор
R-Biopharm в Республике Беларусь
ОДО «КомПродСервис»
+375 (17) 336-50-54, +7 (499) 704-05-50
www.kompro d.com | info@komprod.com

Официальный дистрибьютор
R-Biopharm в Российской Федерации
ООО «Неотест»
+7 (499) 649-02-01
info@neo-test.ru | www.neo-test.ru

Общая информация

RIDASCREEN®FAST Senf/Mustard (арт. R6152) — это иммуноферментный сэндвич-анализ для количественного анализа горчицы в кетчупе, колбасе и сливочном сыре.

Все реагенты, необходимые для иммуноферментного анализа, в т.ч. стандарты, содержатся в тест-наборе, которого достаточно для 48 определений (включая стандарты). Для количественного определения необходим спектрофотометр для микротитровальных планшетов.

Пробоподготовка:	гомогенизация, экстрагирование, центрифугирование
Затраты времени:	Пробоподготовка (на 10 проб) прибл. 20 мин Проведение теста (время инкубации) 30 мин
Предел обнаружения:	0,1 мг/кг (ppm) горчичной муки; 0,08 – 0,11 мг/кг (ppm) в зависимости от матрицы
Предел количественного определения:	0,5 мг/кг (ppm) горчичной муки
Стандартный материал:	Стандартный материал RIDASCREENB® откалиброван на горчичной муке (желтая, коричневая и черная горчица).
Специфичность:	Антитела, используемые в тесте, специфически обнаруживают различные виды горчицы (желтая, белая, коричневая, черная горчица). Перекрестная реактивность к фасоли, фасоли пинто, белой фасоли, льняному семени, а также рапсу и семенам различных крестоцветных растений (*Brassicaceae*).

Перекрестная реактивность используемых антител была определена для чистого продукта (например, кукурузной муки). В составных/переработанных продуктах (например, кукурузном хлебе) перекрестная реакция может быть иной. Мешающие вещества (например, полифенолы) могут быть обнаружены с помощью опытов со спайками. Дополнительная информация изложена в обновленном отчете о валидации.

Для повышения качества оценки при проведении ИФА-процедур мы дополнительно ссылаемся на наше Руководство по надлежащей практике ИФА (GEP) в соответствующей версии. В нем перечислены минимальные стандарты, касающиеся базовых условий при использовании тест-наборов R-Biopharm AG и проведении ИФА-анализа. Руководство можно получить, распечатать и скачать на сайте

http://www.r-biopharm.com/products/food-feed-analysis.

Сопутствующие товары

SureFood® PCR ALLERGEN Mustard

Bioavid Lateral Flow Senf/Mustard (Арт. BL603-10 / BL603-25)

1. Назначение

Тест-система RIDASCREEN®FAST Senf/Mustard — это иммуноферментный сэндвич-анализ для количественного анализа горчицы в кетчупе, колбасе и сливочном сыре.

2. Общая информация

Аллерген может присутствовать как ингредиент или в качестве контаминанта в сырых и приготовленных продуктах. Согласно Постановлению (ЕС) № 1169/2011, горчица и продукты из нее должны быть заявлены на этикетках продуктов питания.

3. Принцип теста

Лунки микротитровальных стрипов покрыты специфическими антителами к белкам горчицы. При добавлении стандартов и образцов в лунки, присутствующие белки горчицы связываются со специфическими антителами. На этапе промывки несвязанные компоненты удаляются. Затем добавляется антитело, конъюгированное пероксидазой. Этот конъюгат антител связывается в Ab-Ag-комплекс. Образуется комплекс антитело-антиген-антитело (сэндвич). Любой несвязанный конъюгат затем удаляется на этапе промывки. Обнаружение белков горчицы происходит путем добавления субстрата/хромогена. Связанный с антителами фермент окрашивает бесцветный хромоген в голубой цвет. Добавление стоп-раствора меняет цвет раствора на желтый. Оптическая плотность измеряется фотометрически при длине волны 450 нм, и пропорциональна концентрации белков горчицы в пробе. Результат выражается в мг/кг горчичной муки.

4. Содержимое упаковки

Набор содержит реактивы для проведения 48 определений (включая стандарты).

Компонент	Цвет крышки	Форма		Объем
Микропланшет	-	Готов к использованию	-	48 лунок
Буфер для экстракции аллергенов	Зеленый	**Концентрат**	**10x**	100 мл
Стандарт 1*	Прозрачный	Готов к использованию	0,0 мг/кг	1,3 мл
Стандарт 2*	Прозрачный	Готов к использованию	0,5 мг/кг	1,3 мл
Стандарт 3*	Прозрачный	Готов к использованию	1,5 мг/кг	1,3 мл
Стандарт 4*	Прозрачный	Готов к использованию	4,5 мг/кг	1,3 мл
Стандарт 5*	Прозрачный	Готов к использованию	13,5 мг/кг	1,3 мл
Моющий буфер	Коричневый	**Концентрат**	**10x**	100 мл
Конъюгат	Красный	Готов к использованию	-	6 мл
Субстрат/Хромоген Red Chromogen Pro	Коричневый	Готов к использованию	-	10 мл
Стоп-раствор	Желтый	Готов к использованию	-	14 мл

*) Коэффициент разбавления 20 для образца уже учтен при маркировке. Поэтому концентрация горчицы в образцах может быть непосредственно считана со стандартной кривой.

5. Необходимые реагенты и оборудование, не входящие в состав набора

5.1. Оборудование

- Спектрофотометр для микротитровальных планшетов (450 нм)
- Центрифуга + центрифужные виалы (альтернативно – гофрированный бумажный фильтр)
- Шейкер
- Водяная баня
- Лабораторная мясорубка / кофемолка, ступка и пестик, ультратурракс или гомогенизатор
- Градуированные пипетки
- Микропипетки переменного объема 20 – 200 мкл и 200 – 1000 мкл.

5.2. Реагенты:

- дистиллированная или деионизированная вода

6. Меры предосторожности

Данный анализ должен проводиться только квалифицированным персоналом лаборатории. Необходимо строго следовать инструкциям по применению.

Данный набор может содержать опасные вещества. Сведения об опасности содержащихся веществ см. в соответствующих паспортах безопасности материалов (MSDS) для данного продукта, доступных в Интернете по адресу www.r-biopharm.com.

7. Условия хранения

Храните набор при температуре 2 – 8°C. Не замораживайте компоненты набора.

Верните неиспользованные микролунки в оригинальный фольгированный пакет, запечатайте их вместе с прилагаемым влагопоглотителем и далее храните при температуре 2 – 8°C.

Субстрат/хромоген чувствителен к свету, поэтому избегайте воздействия прямого света.

Гарантия качества не распространяется на реактивы с истекшим сроком годности, указанным на этикетке набора.

Не меняйте отдельные реагенты между наборами с разными номерами партий.

8. Признаки распада реагентов

- Голубая окраска раствора красновато окрашенного субстрата/хромогена до внесения в лунки.
- Оптическая плотность меньше 1,2 ($E_{450нм}$ < 0,8) для стандарта 5.

9. Пробоподготовка

Рабочие инструменты, такие как мельница, стеклянные флаконы или шпатели, должны быть очищены до и после каждой пробоподготовки, чтобы удалить остатки яиц и избежать контаминации.

Буфер для экстракции аллергенов поставляется в виде **10-кратного концентрата**. Перед разбавлением концентрата буфера полностью растворите кристаллы на водяной бане при температуре 37°C и хорошо перемешайте. Затем разбавьте нагретый концентрат буфера дистиллированной водой в соотношении 1:10 (1+9, т.е. 100 мл концентрата буфера + 900 мл

дистиллированной воды). Разведенный буфер стабилен при температуре 20 – 25°C в течение примерно четырех недель.

9.1 Пробоподготовка для всех образцов

- тщательно измельчите 5 г образца и хорошо перемешайте
- отмерьте 1 г образца и добавьте 20 мл разбавленного буфера для экстракции аллергенов (буфер для экстракции уже должен иметь температуру 60°C)
- или добавьте 19 мл разбавленного буфера для экстракции аллергенов к 1 мл жидкого образца (буфер для экстракции уже должен иметь температуру 60°C)
- интенсивно перемешайте и инкубируйте в течение 10 минут при температуре 60°C, после чего остудите
- центрифугирование: 10 мин, не менее 2500 g, по возможности при температуре 4°C и/или профильтруйте экстракт (альтернативно 2 мл экстракта можно центрифугировать на высокой скорости в течение 10 минут в реакционных микропробирках с использованием микроцентрифуги)
- для анализа используйте 100 мкл супернатанта или фильтрата на лунку.

Примечание:

Анализ чистых специй может привести к извлечению значительно ниже 100 % из-за интерференции ингредиентов специй. Для специй степень извлечения должна быть проверена путем сравнения извлечения с добавлением 1 г сухого обезжиренного молока (пищевого) и без добавления сухого молока.

Экстракты образцов могут храниться при температуре 2 – 8°C в течение 5 дней.

10. Проведение теста

10.1 Предварительные комментарии

Перед использованием доведите все реагенты до комнатной температуры (20 – 25°C).

Промывочный буфер поставляется в виде 10-кратного концентрата. Перед разбавлением полностью растворите образовавшиеся кристаллы на водяной бане при температуре 37°C. Перед использованием буфер необходимо разбавить дистиллированной водой в соотношении 1:10 (1+9, т.е. 100 мл концентрата буфера + 900 мл дистиллированной воды). Разведенный промывочный буфер стабилен при температуре 20 – 25°C в течение примерно четырех недель.

10.2 Процедура анализа

Строго следуйте рекомендованной процедуре промывки. Не допускайте высыхания микролунок между этапами работы.

Не используйте более 3 стрипов (24 лунки) за один раз. В случае использования более трех стрипов, используйте второй планшет без покрытия (например, с низким связыванием от Greiner bio-one Cat.-No. 655101 или Mikrotiter Assembly Breakable Strip 1×8, Thermo Scientific) в качестве предварительного планшета, чтобы избежать временного сдвига.

Все стандарты и образцы пипетируют в планшет без покрытия (не менее 150 мкл на лунку) и затем быстро переносят 8-канальной пипеткой в планшет с покрытием.

Во избежание временного сдвига рекомендуется пипетировать конъюгат, субстрат/хромоген и стоп-раствор многоканальной или шаговой пипеткой (степпером).

1. Поместите в рамку микропланшета необходимое для всех стандартов и проб количество стрипов, и запротоколируйте.
2. Добавьте 100 мкл каждого стандарта или подготовленного образца в двух экземплярах в отдельные лунки и инкубируйте в течение 10 мин при комнатной температуре (20 – 25°C).
3. По окончании инкубации, вылейте жидкость из лунок путем резкого переворачивания планшета, капельки жидкости, оставшиеся в лунках, удалите путем энергичного троекратного постукивания рамки с лунками по столу, накрытому фильтровальной бумагой. Внесите в каждую лунку по 250 мкл моющего буфера (см. п. 10.1) и вылейте жидкость снова. Повторите процедуру промывки еще дважды.
4. Добавьте в каждую лунку по 100 мкл конъюгата. Осторожно перемешайте содержимое планшета вручную и инкубируйте в течение 10 минут при комнатной температуре (20–25°C).
5. По окончании инкубации вылейте жидкость из лунок путем резкого переворачивания планшета, удалите оставшиеся в лунках капельки жидкости путем энергичного троекратного постукивания рамки с лунками по столу, накрытому фильтровальной бумагой. Внесите в каждую лунку по 250 мкл моющего буфера (см. п. 10.1) и вылейте жидкость снова. Повторите процедуру промывки еще дважды.
6. Добавьте в лунки по 100 мкл раствора субстрат/хромогена, аккуратно перемешайте содержимое вручную и инкубируйте в течение 10 минут при комнатной температуре (20 – 25°C) в темноте.
7. Добавьте в лунки по 100 мкл стоп-раствора и аккуратно перемешайте содержимое вручную и измерьте оптическую плотность в течение 10 минут после добавления стоп-раствора при длине волны 450 нм.

11. Оценка результата

Для оценки иммуноферментного анализа RIDASCREEN® предлагается специальное программное обеспечение RIDA®SOFT Win.NET (арт. Z9996). Расчет производится с помощью кубической сплайн-функции. Ход стандартной кривой указан в сертификате гарантии качества, вложенном в тест-набор. В документе "Критерии соответствия" приведены критерии для оценки стандартных кривых. Для обеспечения качества следует использовать контроль анализа.

По сравнению с сертификатом, более высокие значения оптической плотности ($A_{450\ нм}$) для калибровочной кривой, особенно для нулевого стандарта, могут быть результатом недостаточной промывки или контаминации аллергеном.

Обратите внимание:

При работе в соответствии с описанной пробоподготовкой коэффициент разведения составляет 20. Концентрацию аллергена можно считать непосредственно со стандартной кривой (коэффициент разбавления образца 20 уже учтен для стандартных концентраций (см. 4. *)).

Общие замечания

Образцы с отрицательным результатом все еще могут содержать загрязнение аллергеном ниже предела обнаружения анализа, либо они могут содержать другие компоненты аллергена, например, липиды.

Из-за множества типов продуктов питания нельзя исключить матричные эффекты. В обработанных пищевых продуктах (например, при термической обработке, обезвоживании и т.д.) белки могут быть изменены или фрагментированы, что может повлиять на степень извлечения/перекрестной реактивности.

Образцы, содержащие аллергены, подвергшиеся термической обработке, показывают пониженную степень извлечения, поскольку белки денатурируют и больше не распознаются антителом. Снижение степени извлечения в сильно зависит от температуры и продолжительности термообработки. Если образцы подвергаются термообработке при высокой температуре, извлечение может значительно снизиться.

Для оценки перекрестной реактивности был проанализирован только один примерный образец, другие образцы могут показать другой результат. Все перекрестные реакции и примерные анализируемые матрицы описаны в обновленном отчете о валидации.

Содержание белка и белковый состав могут значительно отличаться у разных видов горчицы. Поэтому разные сорта могут давать разные результаты, так как для калибровки использовались типовые сорта. Содержание белка в стандартном материале описано в отчете о валидации и может быть использовано для расчета содержания белка.

Рекомендации

Для обеспечения высоких аналитических показателей рекомендуется:

- Доведите pH очень кислых или щелочных образцов до нейтрального значения
- Используйте образцы без аллергенов и образцы, содержащие аллергены (со спайками), в качестве контроля анализа
- Проводите эксперименты со спайками для точности и правильности процедуры
- Анализируйте каждый образец материала в двух экземплярах
- Проведите ПЦР SureFood® для подтверждения результатов

КомПродСервис НеоТест

Техническая поддержка и прием заявок:
+375 (17) 336-50-54, +7 (499) 704-05-50, +7 (499) 649-02-01
info@komprod.com | support@komprod.com | info@neo-test.ru