



RIDASCREEN® FAST Соя

Арт. No. R7102

Иммуноферментный метод для количественного
определения соевого белка

Анализ in vitro

Хранить при 2-8°C

Пожалуйста, обращайтесь по вопросам технической поддержки и дополнительной информации к официальным дистрибьюторам на территории Вашей страны:

**Официальный дистрибьютор
в России:**

ООО "НеоТест"

ул. Растопчина, 1Г, г. Владимир

+7 499 649 02 01

info@neo-test.ru

www.neo-test.ru

Техническая поддержка

support@neo-test.ru

+7 499 704 05 50



**Официальный дистрибьютор
в Беларуси:**

ОДО "КомПродСервис"

ул. Филимонова, 25Г, г. Минск

+375 17 336 50 54

info@komprod.com

www.komprod.com

Техническая поддержка

supprt@komprod.com

+375 17 336 50 54



RIDA® и RIDASCREEN®

являются зарегистрированными торговыми марками R-Biopharm AG.

Производитель: R-Biopharm AG, Дармштадт, Германия

R-Biopharm AG имеет сертификат ISO 9001.

RIDA® and RIDASCREEN®

are registered trademarks of R-Biopharm AG

Manufacturer: R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany

R-Biopharm AG is ISO 9001 certified.

Общая информация

Тест-система Ridascreen®FAST Soya (арт. R7102) это набор для иммуноферментного анализа, предназначенный для количественного определения соевого белка в продуктах питания.

Все реактивы для проведения ИФА, включая градуировочные растворы, содержатся в тест-наборе. Один тест-набор рассчитан на проведение 48 определений (включая градуировочные растворы). Для оценки результатов необходим микропланшетный фотометр.

Пробоподготовка: гомогенизировать, экстрагировать.

Затраты времени:

Пробоподготовка (на 10 проб) - прикл. 25 мин.

Постановка анализа (время инкубации) - 30 мин.

Калибратор: соевый протеин (соевая мука с содержанием соевого белка 39%).

Предел обнаружения: 0,24 мг/кг (ppm) соевого белка.

Предел количественного определения: 2,5 мг/кг соевого белка.

Специфичность:

Антитела специфически обнаруживают термически денатурированные соевые белки. (Экстракция образца при 100 °С в течение 10 минут гарантирует, что все соевые белки денатурируют и могут быть обнаружены в тесте). Существует перекрестная реактивность с бобовыми культурами рода Phaseoleae (например, фасоль), рода Vicia (например, фасоль фава), сушеным горохом/гороховой мукой и арахисом.

Перекрестная реактивность антител была определена для чистых пищевых продуктов (например, кукурузной муки). В готовой/обработанной пище (например, кукурузном хлебе) перекрестная реактивность может быть другой. Мешающие вещества (например, полифенолы) могут быть обнаружены с помощью экспериментов со спайками.

1. Назначение

Тест-система Ridascreen®FAST Soya это набор для иммуноферментного количественного определения соевого белка в продуктах питания, таких как колбасы, заправки, хлебобулочные изделия, шоколад, супы, соусы, маргарин и т. д.

2. Общая информация

Соевые белки могут присутствовать в качестве ингредиента или примеси в сырых и переработанных продуктах. Согласно постановлению (ЕС) № 1169/2011, соя должна быть указана на этикетках пищевых продуктов, поскольку она может вызывать аллергические реакции. Подобные правила существуют, например, в США, Канаде, Австралии и Новой Зеландии. Соевые бобы (зрелые семена, сырые) содержат ок. 35% белков и широко используются в качестве заменителя белков животного происхождения (тофу, соевое молоко или соевый йогурт). Помимо высокого содержания белка, соевые бобы также богаты жирами (около 20%) и используются для производства масел и жиров. Использование сои в пищевой и кормовой промышленности сильно увеличилось за последние десятилетия.

3. Принцип теста

Основой теста является реакция антиген-антитело. Лунки микротитровального планшета сенсibilизированы антителами к соевым белкам. При внесении градуировочных растворов либо проб имеющийся соевый белок связывается со специфическими антителами, образуя комплекс антиген-антитело.

Несвязанные реагенты удаляются из лунок планшета на стадии промывки, после чего вносятся ферментно маркированные антитела (конъюгат), которые связываются с комплексом антиген-антитело, образуя комплекс антитело-антиген-антитело (сэндвич). После удаления несвязанных реагентов во время промывки планшета в его лунки дозируется субстрат/хромоген. Связанный с антителами фермент окрашивает бесцветный хромоген в голубой цвет. Добавление стоп-реагента меняет цвет раствора на желтый. Оптическая плотность измеряется при 450 нм, она пропорциональна концентрации соевых белков в пробе. Результат выражается в мг / кг соевых белков.

4. Содержимое упаковки

Упаковка для проведения теста содержит реактивы для проведения 48 определений (включая градуировочные растворы). В каждой упаковке содержится:

1 шт – микротитровальный планшет с 48 лунками (6 стрипов по 8 лунок).

4 шт – Экстрактор 3 (30 мл, коричневая крышка).

1 шт – буфер для экстракции аллергенов (100 мл, зеленая крышка, концентрат x10).

5 шт – градуировочные растворы (по 1,3 мл), концентрации: 0 мг/кг (нулевой градуировочный раствор), 2,5 мг/кг, 5,0 мг/кг, 10,0 мг/кг, 20,0 мг/кг, готовы к использованию.

1 шт – моющий буфер (100 мл, коричневая крышка, концентрат x10).

1 шт – концентрат (x 11) конъюгата (0,7 мл), антитела, конъюгированные пероксидазой (красная крышка).

1 шт – Ред Хромоген Про, раствор субстрат/хромоген (10 мл, коричневая крышка).

1 шт – стоп-реагент (14 мл, желтая крышка), содержит 1 н-серную кислоту.

Концентрации градуировочных растворов уже учитывают коэффициент разведения 100. В соответствии с этим концентрация соевого белка в пробе может быть получена непосредственно по градуировочной кривой.

5. Дополнительно требуемые реактивы и устройства

5.1. Устройства:

микропланшетный фотометр (450 нм),

центрифуга + пробирки для центрифуги,

шейкер,

водяная баня 60°C и 100°C,

лабораторная мясорубка / измельчитель, пестик и ступка, Ultra-Turrax или гомогенизатор,

градуированная пипетка,

фильтровальная бумага,

пипет-дозаторы переменного объема 20-200 мкл и 200-1000 мкл.

5.2. Реактивы:

- дистиллированная или деионизированная вода.

- для пробоподготовки пищевых продуктов, содержащих танины и полифенолы: казеин (например, Sigma C5890) и поливинилпирролидон (PVP) K15 или K17 (например, AppliChem A2258).

6. Меры предосторожности

Тест должен проводиться опытным лабораторным персоналом с соответствующим образованием. Строго придерживайтесь инструкций по проведению анализа. Моющий буфер содержит тимеросал. Избегать контакта с кожей. Стоп-реагент содержит 1 н серную кислоту. Экстрактор 2 содержит β-меркаптоэтанол. Рекомендуется работать под вытяжкой.

7. Реагенты и их хранение

Реагенты хранить при температуре 2 – 8 °С. Компоненты тест-системы ни в коем случае не замораживать. Стрипы должны храниться с осушителем в плотно закрытом фольгированном пакете при температуре 2 – 8 °С.

Раствор хромогена светочувствителен, поэтому при работе с ним следует избегать воздействия прямых солнечных лучей.

По истечении срока годности (смотри внешнюю этикетку теста) фирма не несет гарантии по качеству.

Замена отдельных реагентов на реагенты из наборов других партий не допускается.

8. Признаки распада реагентов

- Голубая окраска раствора красновато окрашенного субстрата/хромогена до внесения в лунки.

- Оптическая плотность меньше 0,8 ($E_{450\text{nm}} < 0,8$) для градуировочного раствора 5.

- Экстрактор 3 без запаха после многократного открывания бутылки; Экстрактор 3 должен пахнуть меркаптоэтанолом (тухлыми яйцами). (Для проверки аккуратно пролейте пар из открытой бутылки).

9. Пробоподготовка

Рабочие устройства, такие как мельница, стеклянные флаконы или шпатели, необходимо очистить перед и после каждой пробоподготовки удалять остатки продуктов и избегать загрязнения.

Подготовка к проведению теста

Перед использованием тест-системы доведите температуру всех реагентов до комнатной (20 – 25°C).

Буфер для экстрагирования аллергенов поставляется в концентрированном виде (10х).

Перед разведением концентрата следует растворить образовавшиеся кристаллы путем нагрева на водяной бане (37°C), перемешать. Нагретый концентрат разбавить дистиллированной водой в пропорции 1:10 (1+9) (напр., 100 мл концентрата + 900 мл дистиллированной воды). Раствор буфера для экстрагирования аллергенов может храниться прим. в течение 12 недель при 2-8°C.

Рекомендуется работать под вытяжкой из-за наличия β-меркаптоэтанола в экстракторе 3. pH образцов должен быть доведен до нейтральных значений.

9.1. Экстракция из твердых образцов (без казеина)

- гомогенизируйте репрезентативное количество образца (5-50 г),
- взвесить 1 г гомогенизированного образца, добавить 2,5 мл экстрактора 3 и 17,5 мл предварительно нагретого (60 °C) и разбавленного буфера для экстракции аллергенов, закрыть флакон, энергично перемешать и поместить раствор на **10 мин при 100 °C** в бане с кипящей водой (всю пробирку с образцом следует погрузить в кипящую воду),
- дайте образцу быстро остыть (например, в ледяной бане) и центрифугируйте 10 мин минимум при 2500 g, если возможно, при 4 °C и / или отфильтруйте экстракт (альтернативно 2 мл экстракта можно центрифугировать при высокой скорости в течение 10 мин в реакционных пробирках с помощью микроцентрифуги),
- разбавить экстракт 1:5 (1 + 4) разбавленным буфером для экстракции аллергенов (например, 100 мкл экстракта образца + 400 мкл разбавленного буфера для экстракции аллергенов),
- используйте 100 мкл экстракта на лунку в анализе

9.2. Экстракция из жидких образцов (без казеина)

- возьмите 1 мл гомогенизированного образца, добавьте 2,5 мл экстрактора 3 и 16,5 мл предварительно нагретого (60 °С) и разведенного буфера для экстракции аллергенов, закройте флакон, энергично перемешайте и поместите раствор на **10 мин при 100 °С** в баню с кипящей водой (всю пробирку с образцом следует поместить в кипящую воду),
- дайте образцу немного остыть (например, на ледяной бане) и центрифугируйте 10 мин минимум при 2500 g, если возможно, при 4 ° С и / или отфильтруйте экстракт (альтернативно 2 мл экстракта можно центрифугировать при высокой скорости в течение 10 мин с помощью микроцентрифуги),
- разбавить экстракт 1 : 5 (1 + 4) разбавленным буфером для экстракции аллергенов (например, 100 мкл экстракта образца + 400 мкл разбавленного буфера для экстракции аллергенов),
- используйте 100 мкл экстракта на лунку в анализе.

9.3. Экстракция из пищевых продуктов, содержащих танины и полифенолы, например специй, шоколада и кофе (с казеином и PVP)

В разбавленный буфер для экстракции аллергенов добавьте 0,25% казеина и 1% PVP, это помогает извлекать соевые белки из различных приправ, шоколада и других матриц, содержащих полифенолы. Компоненты лучше растворяются, если раствор предварительно нагреть до 60 °С.

- гомогенизируйте репрезентативное количество пробы (5-50 г),
- взвесить 1 г гомогенизированного образца, добавить 2,5 мл экстрактора 3 и 17,5 мл предварительно нагретого (60 °С) и разбавленного буфера для экстракции аллергенов (содержащего 0,25% казеина и 1% PVP). Закрывать флакон, энергично перемешать и поместить флакон на 10 минут в баню с кипящей водой 100 °С (всю пробирку с образцом погрузить в кипящую воду),
- дайте образцу немного остыть (например, на ледяной бане) и центрифугируйте 10 мин минимум при 2500 g, если возможно, при 4 ° С и/или отфильтруйте экстракт (альтернативно: 2 мл экстракта можно центрифугировать при высокой скорости в течение 10 мин с помощью микроцентрифуги),
- разбавить экстракт 1 : 5 (1 + 4) разбавленным буфером для экстракции аллергенов (например, 100 мкл экстракта образца + 400 мкл разбавленного буфера для экстракции аллергенов),
- используйте 100 мкл экстракта на лунку в анализе.

Разбавленный буфер для экстракции с казеином/PVP можно хранить при 2-8 ° C в течение 7 дней. Экстракты образцов можно хранить при 2-8 ° C в течение 3 дней. Экстракты можно хранить при -20 ° C в течение нескольких месяцев.

10. Проведение теста

10.1. Подготовка теста

Перед использованием тест-системы доведите температуру всех реагентов до комнатной (20 - 25°C).

Конъюгат антител (флакон с красной крышкой) поставляется в концентрированном виде (11х). Поскольку разбавленный препарат конъюгата имеет ограниченную стабильность, перед анализом следует разбавлять буфером только требуемое количество конъюгата. Перед разбавлением осторожно перемешайте конъюгат. Для приготовления готового к использованию раствора конъюгата необходимо разбавить концентрат дистиллированной водой в соотношении 1:11 (1+10) (например, 200 мкл концентрата конъюгата + 2 мл воды – достаточно для 2-х стрипов).

Моющий буфер поставляется в концентрированном виде (10х). Необходимое количество буфера разбавить дистиллированной водой в пропорции 1:10 (1+9) (напр., 100 мл концентрата + 900 мл дистиллированной воды). При кристаллизации буфера следует растворить кристаллы на водяной бане при 37°C. Раствор буфера хранить в течение 4 недель при 2-8°C.

10.2 Проведение теста

Точность результатов теста зависит от равномерного промывания лунок. В процессе работы следует избегать высыхания лунок в перерывах между отдельными этапами работы.

Не используйте одновременно более 3 стрипов (24 лунок). В случае более трех стрипов второй планшет без покрытия (например, с низким связыванием от Greiner bio-one, кат. № 655101) следует использовать в качестве предварительного планшета, чтобы избежать сдвига во времени. Все стандарты и образцы переносятся дозатором в планшет без покрытия (не менее 150 мкл на лунку), а затем быстро переносятся на планшет для микротитрования с покрытием с помощью 8-канальной пипетки.

1. В рамку микротитровального планшета помещают количество стрипов, необходимое для градуировочных растворов и проб. В протокол вносятся позиции градуировочных растворов и проб.

2. В соответствующие лунки в повторностях вносят по 100 мкл градуировочных растворов либо растворов проб и инкубируют в течение 10 минут при комнатной температуре (20-25°C).

3. По окончании инкубации, жидкость из лунок выливают путем резкого переворачивания планшета, капельки жидкости, оставшиеся в лунках, удаляют путем энергичного троекратного

постукивания рамки с лунками по столу, накрытому фильтровальной бумагой. В каждую лунку вносят по 250 мкл моющего буфера (см. п. 10.1). Процедуру промывки лунок повторяют еще дважды.

4. В каждую лунку вносят по 100 мкл рабочего раствора конъюгата. Осторожно перемешивают содержимое планшета и инкубируют в течение 10 минут при комнатной температуре (20-25°C).

5. По окончании инкубации, жидкость из лунок выливают путем резкого переворачивания планшета, капельки жидкости, оставшиеся в лунках удаляют путем энергичного троекратного постукивания рамки с лунками по столу, накрытому фильтровальной бумагой. В каждую лунку вносят по 250 мкл моющего буфера (см. п. 10.1). Процедуру промывки лунок повторяют еще дважды.

6. В лунки вносят по 100 мкл раствора субстрат/хромоген, аккуратно перемешивают содержимое и инкубируют в течение 10 минут при комнатной температуре (20-25 °C) в темноте.

7. В лунки вносят по 100 мкл стоп-реагента и аккуратно перемешивают содержимое. В течение 10 минут после добавления стоп-реагента необходимо измерить оптическую плотность при 450 нм.

11. Оценка

Для оценки можно заказать в R-Biopharm программное обеспечение RIDA® SOFT Win (арт. Z9999), разработанное специально для тест-систем RIDASCREEN® ФАСТ. Оценка осуществляется с помощью функции кубический сплайн.

Вид градуировочной кривой можно сопоставить с сертификатом качества на партию.

Более высокая оптическая плотность градуировочной кривой по сравнению с сертификатом качества, особенно для нулевого градуировочного раствора, может свидетельствовать о недостаточной промывке либо контаминации молочным белком. Для контроля качества анализа необходимо использовать R7132 Soya Assay Controls.

Пробы, имеющие оптическую плотность выше градуировочного раствора 5, должны быть дополнительно разбавлены и повторно исследованы. Дополнительное разведение проб производится таким образом, чтобы они находились в линейной части графика.

Обратите внимание:

При работе по указанной схеме коэффициент разведения составляет 100. В соответствии с этим концентрация соевого белка в пробе может быть получена непосредственно по градуировочной кривой – указанные концентрации градуировочных растворов уже учитывают коэффициент разведения 100 (см. п. 4). При разведении проб выше 1:100 необходимо учитывать дополнительное разведение.

Примечания:

Образцы, с отрицательным результатом, могут содержать соевый белок ниже предела обнаружения метода, или они могут содержать другие компоненты аллергена, такие как, например, липиды. Из-за множества видов пищи нельзя исключить матричный эффект. В обработанных пищевых продуктах белки могут быть изменены или фрагментированы, это может повлиять на извлечение и перекрестную реактивность.

Рекомендации:

Для обеспечения высокой надежности результатов анализа:

- рекомендуется все пробы анализировать в повторностях;
- при постановке теста рекомендуется проводить анализ отрицательных и положительных проб в качестве контролей;
- среди множества видов пищи нельзя исключить матричные эффекты. Для обеспечения точного результата рекомендуется проводить эксперименты с пиковыми значениями.