

# **RIDASCREEN<sup>®</sup> FAST Gliadin**

**Art. No. R7002**

Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung  
von Gliadinen und verwandten Prolaminen

Enzyme immunoassay for the quantitative determination  
of gliadins and corresponding prolamins

In vitro Test

Lagerung bei 2 - 8 °C

*Storage at 2 - 8 °C*

Für weitere Fragen stehen Ihnen gerne zur Verfügung:

Please contact for questions and further information:

Zentrale/Switchboard

Tel./Phone: +49 (0) 61 51 - 81 02-0

Auftragsannahme/Order department

Fax: +49 (0) 61 51 - 81 02-20

E-Mail: [orders@r-biopharm.de](mailto:orders@r-biopharm.de)

Marketing & Vertrieb/Marketing & sales

Fax: +49 (0) 61 51 - 81 02-40

E-Mail : [info@r-biopharm.de](mailto:info@r-biopharm.de)

RIDA<sup>®</sup> und RIDASCREEN<sup>®</sup>  
sind eingetragene Marken der R-Biopharm AG  
Hersteller: R-Biopharm AG, Darmstadt, Deutschland

R-Biopharm AG ist ISO 9001 zertifiziert.

RIDA<sup>®</sup> and RIDASCREEN<sup>®</sup>  
are registered trademarks of R-Biopharm AG  
Manufacturer: R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany

R-Biopharm AG is ISO 9001 certified.

## Kurzinformation

RIDASCREEN®FAST Gliadin (R7002) ist ein Sandwich-Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Prolaminen aus Weizen (Gliadin), Roggen (Secalin) und Gerste (Hordein) in glutenfrei deklarierten Lebensmitteln.

Alle Reagenzien für die Durchführung des Enzymimmunoassays - inkl. Standards - sind im Testkit enthalten. Ein Testkit ist ausreichend für 48 Bestimmungen (einschl. Standardbestimmungen).

Zur Auswertung benötigt man ein Mikrotiterplatten-Photometer.

Probenvorbereitung:	homogenisieren und extrahieren
Standardmaterial:	Das RIDASCREEN® Standardmaterial ist auf den Standard der Prolamin Working Group kalibriert.
Zeitbedarf:	Probenvorbereitung Cocktail (patented) (für 10 Proben) ..... ca. 2 h Cocktail ECO (für 10 Proben) ..... ca. 35 min Testdurchführung (Inkubationszeit) ..... 30 min
Nachweisgrenze:	0,5 mg/kg (ppm) Gliadin bzw. 1 mg/kg (ppm) Gluten (abhängig von der Matrix)
Bestimmungsgrenze:	5 mg/kg (ppm) Gliadin bzw. 10 mg/kg (ppm) Gluten
Spezifität:	Der eingesetzte monoklonale Antikörper R5 erkennt die Gliadinfraktionen aus Weizen und verwandte Prolamine aus Roggen und Gerste.

Die Kreuzreaktivitäten der eingesetzten Antikörper wurden für das reine Lebensmittel (z.B. Maismehl) bestimmt. In einem zusammengesetzten / verarbeiteten Lebensmittel (z.B. Maisbrot) können diese Kreuzreaktivitäten verändert sein. Potentiell interferierende Substanzen (z.B. Polyphenole) können durch Spikeversuche erkannt werden.

Zur Erhöhung der Prüfungsqualität bei ELISA-Verfahren verweisen wir zusätzlich auf unser ELISA-Handbuch in der jeweiligen Fassung. Dieses führt Mindeststandards hinsichtlich der Rahmenbedingungen auf, die bei der Verwendung von Testsystemen der R-Biopharm AG und der Durchführung von ELISA-Analysen mit diesen Testsystemen zu beachten sind. Das Handbuch kann unter der Webseite [www.r-biopharm.com/de/produkte/lebensmittel-futtermittelanalytik](http://www.r-biopharm.com/de/produkte/lebensmittel-futtermittelanalytik) abgerufen, gedruckt und gespeichert werden.

## **Verwandte Produkte**

RIDASCREEN® Gliadin (Art. No. R7001)  
RIDASCREEN® Gliadin competitive (Art. No. R7021)  
RIDASCREEN®FAST Gliadin sensitive (Art. No. R7051)  
Cocktail (patented) (Art. No. R7006/R7016)  
RIDA® Cocktail ECO (Art. No. R7080)  
RIDA® Extraction Solution (colorless) (Art. No. R7098)  
Set of 3 processed Gliadin Assay Controls (Art. No. R7012)  
RIDA®QUICK Gliadin (Art. No. R7003/R7004/R7005)  
SureFood® Allergen Gluten PCR (Art. No.S3606)

### **1. Verwendungszweck**

RIDASCREEN®FAST Gliadin ist ein Sandwich-Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Kontaminationen durch Prolamine aus Weizen (Gliadin), Roggen (Secalin) und Gerste (Hordein) in Rohware wie Mehl (Buchweizen, Reis, Mais, Hafer, Teff) und Gewürzen, sowie in prozessierten Lebensmitteln wie Nudeln, Fertiggerichten, Backwaren, Wurst, Getränken und Eiscreme. Die Probenaufarbeitung mit Cocktail (patented) (R7006 / R7016) ist die offizielle R5-Mendez Methode nach dem Codex Alimentarius und der AOAC. Die schnellere Probenaufarbeitung mit dem umweltfreundlichen Cocktail ECO (R7080) eignet sich für das Screening von Proben. Gegenüber der Extraktion mit Cocktail (patented) erreicht der Cocktail ECO eine Extraktionseffizienz von etwa 70-110%.

### **2. Allgemeines**

Weizenmehl und Gluten werden häufig aufgrund ihrer physikochemischen Eigenschaften als Kleber- und Streckungsmittel bei der Verarbeitung von Nahrungsmitteln eingesetzt. Als Gluten bezeichnet man das Eiweißgemisch aus Prolaminen und Glutelinen, welches in Weizen, Roggen und Gerste vorkommt.

Zöliakie ist eine permanente Glutenunverträglichkeit, die zu einer Schädigung des Dünndarms führt. Die Symptome sind bei einer glutenfreien Diät reversibel.

Die Codex Alimentarius Kommission hat in dem "Codex Standard for Foods for Special Dietary Use for Persons Intolerant to Gluten" (CODEX STAN 118-1979) den Grenzwert für glutenfreie Lebensmittel auf 20 mg/kg Gluten festgesetzt. Dieser Grenzwert wurde auch von vielen nationalen Gesetzgebungen über-

nommen. Der Prolamingehalt (z.B. Gliadin) von Gluten wird mit 50 % festgelegt (CODEX STAN 118-1979).

### 3. Testprinzip

Grundlage ist die Antigen-Antikörper-Reaktion. Die Vertiefungen der Mikrotiterstreifen sind mit spezifischen R5 Antikörpern gegen Gliadine beschichtet. Durch Zugabe von Standard oder Probe bindet vorhandenes Gliadin an die spezifischen Fängerantikörper. Das Ergebnis ist ein Antikörper-Antigen-Komplex. Nicht gebundene Anteile werden in einem Waschschrift entfernt. Danach erfolgt die Zugabe des Peroxidase-gekoppelten R5 Antikörpers. Das Antikörperkonjugat bindet an den Ak-Ag-Komplex. Es entsteht ein Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplex (Sandwich). Nicht gebundenes Antikörperkonjugat wird in einem Waschschrift entfernt. Der Nachweis erfolgt durch Zugabe von Substrat und Chromogen. Das an den Antikörper gebundene Enzym wandelt das farblose Chromogen in ein blaues Endprodukt um. Die Zugabe der Stopp Lösung führt zu einem Farbumschlag von blau nach gelb. Die Messung erfolgt photometrisch bei 450 nm. Die Extinktion ist proportional zu der Gliadin-Konzentration in der Probe.

### 4. Packungsinhalt

Mit den Reagenzien einer Packung können 48 Bestimmungen durchgeführt werden (einschließlich Standardbestimmungen). Jeder Testkit enthält:

Komponente	Deckelfarbe	Zustand		Inhalt
<b>Microtiter plate</b> Mikrotiterplatte	-	gebrauchsfertig		48 Kavitäten
<b>Buffer</b> Puffer	weiß	<b>Konzentrat</b>	<b>5x</b>	60 ml
<b>Standard 1</b> Standard 1	transparent	gebrauchsfertig	0 ng / ml Gliadin	1,3 ml
<b>Standard 2</b> Standard 2	transparent	gebrauchsfertig	10 ng / ml Gliadin	1,3 ml
<b>Standard 3</b> Standard 3	transparent	gebrauchsfertig	20 ng / ml Gliadin	1,3 ml
<b>Standard 4</b> Standard 4	transparent	gebrauchsfertig	40 ng / ml Gliadin	1,3 ml
<b>Standard 5</b> Standard 5	transparent	gebrauchsfertig	80 ng / ml Gliadin	1,3 ml
<b>Wash buffer</b> Waschpuffer	braun	<b>Konzentrat</b>	<b>10x</b>	100 ml
<b>Conjugate</b> Konjugat	rot	<b>Konzentrat</b>	<b>11x</b>	0,7 ml
<b>Substrate/Chromogen</b> Red Chromogen Pro	braun	gebrauchsfertig		10 ml
<b>Stop solution</b> Stopp Lösung	gelb	gebrauchsfertig		14 ml

## 5. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

### 5.1. Geräte

- Mikrotiterplatten-Photometer (450 nm)
- Zentrifuge, zentrifugierbare Reagenzröhrchen (z.B. Brand 10742512)
- Schüttler
- Schlagmühle, Mörser, Ultra-Turrax oder Homogenisator
- Wasserbad (50 °C)
- Messpipetten
- variable 20 µl - 200 µl und 200 - 1000 µl Mikropipetten

### 5.2. Reagenzien

- destilliertes oder deionisiertes Wasser
- gluten-freies **Magermilchpulver** (Lebensmittelqualität)
- **Cocktail (patented)** (R7006/R7016, 105 ml/1000 ml) oder **RIDA® Cocktail ECO** (R7080)
- **Ethanollösung (80 %)**: d.h. 120 ml Ethanol p.a. mit 30 ml destilliertem Wasser gut mischen

## 6. Vorsichtsmaßnahmen

Dieser Test ist nur von geschultem Laborpersonal durchzuführen. Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten.

Dieses Kit kann gesundheitsgefährdende Substanzen enthalten.

Sicherheitshinweise zu den enthaltenen Komponenten entnehmen Sie bitte den Sicherheitsdatenblättern (MSDS) zu diesem Produkt auf unserer Internetseite [www.r-biopharm.de](http://www.r-biopharm.de).

## 7. Reagenzien und ihre Lagerung

Die Reagenzien bei 2 - 8 °C lagern. Komponenten des Testkits auf keinen Fall einfrieren.

Nicht benötigte Kavitäten zusammen mit dem Trockenmittel im Folienbeutel gut verschlossen aufbewahren und weiterhin bei 2 - 8 °C lagern.

Das rötlich gefärbte Substrat/Chromogen ist lichtempfindlich, deshalb direkte Lichteinwirkung vermeiden.

Nach Ablauf des Verfallsdatums (siehe Testkit-Außenetikett) kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden.

Ein Austausch von Einzelreagenzien zwischen Kits verschiedener Chargennummern ist nicht zulässig.

## 8. Anzeichen für Reagenzienverfall

- eine Blaufärbung der Chromogenlösung vor Zugabe in die Kavitäten
- eine Extinktion kleiner 1,2 ( $E_{450\text{ nm}}$ ) für Standard 5

## 9. Probenvorbereitung

### 9.1. Testvorbereitungen

Luftgetragene Getreidestäube und unsaubere Laborausrüstung können zu einer Gliadinkontamination im Test führen. Daher vor Beginn und während der Durchführung des Tests Handschuhe tragen.

- Oberflächen, Glasgefäße, Schlagmühlen und weitere Ausrüstung mit 40 % Ethanol oder 2-Propanol reinigen
- Probenaufarbeitung und ELISA Testdurchführung in getrennten Räumen durchführen
- Reagenzien und Gerätschaften mit den Teststreifen RIDA<sup>®</sup>QUICK Gliadin (R7003 / R7004 / R7005) auf Gliadinkontamination überprüfen
- bei Verwendung des Cocktail (patented) wird empfohlen **unter einem Abzug** zu arbeiten, da er  $\beta$ -Mercaptoethanol enthält
- $\beta$ -Mercaptoethanol kann im ELISA stören, deshalb die Proben **mindestens 1:500** verdünnen (Empfehlung 1:500 für Proben mit ca. 20 mg/kg Gluten und 1:2500 für Proben mit ca. 100 mg/kg Gluten)

### 9.2. Extraktion mit Cocktail (patented) (R7006 / R7016, offizielle AOAC-Methode)

Eine ausreichend große Menge der Probe (mind. 5 g bzw. 5 ml) gut homogenisieren (sorgfältig zerstoßen, fein zermahlen und gut mischen bzw. die Lösung gut mischen).

- flüssige Lebensmittel:** zu 0,25 ml der homogenisierten Probe (bei tannin- und polyphenolhaltigen Lebensmitteln 0,25 g Magermilchpulver zugeben) 2,5 ml Cocktail (patented) hinzugeben, Gefäß verschließen und gut mischen

- **sonstige Lebensmittel (z.B. soja- und quinoahaltige Lebensmittel):** 0,25 g der homogenisierten Probe einwiegen und 2,5 ml Cocktail (patented) hinzugeben, Gefäß verschließen und gut mischen
- **tannin- und polyphenolhaltige Lebensmittel (z.B. Schokolade, Kaffee, Kakao, Kastanienmehl, Buchweizen, Hirse und Gewürzen):** 0,25 g der homogenisierten Probe einwiegen, 0,25 g Magermilchpulver und 2,5 ml Cocktail (patented) hinzugeben, Gefäß verschließen und gut mischen
- **Fleisch- und Wurstwaren:** die Gliadinverteilung kann in diesen Lebensmitteln sehr ungleich sein, deshalb 50 g Probe einwiegen und homogenisieren: 0,25 g der homogenisierten Probe einwiegen und 2,5 ml Cocktail (patented) hinzugeben, Gefäß verschließen und gut mischen
- **Haferproben:** die Gliadinverteilung kann sehr ungleich sein, zusätzlich sind diese Proben schwer zu homogenisieren. Deshalb 200 g Probe homogenisieren, die Probenaufarbeitung sollte dann mindestens mit dem vierfachen Ansatz durchgeführt werden: 1 g der homogenisierten Probe einwiegen und 10 ml Cocktail (patented) hinzugeben, Gefäß verschließen und gut mischen.

**Bitte alle Proben wie im Folgenden beschrieben weiter extrahieren:**

- 40 min bei 50 °C inkubieren
- Probe abkühlen lassen und anschließend mit 7,5 ml 80 % Ethanol (siehe 5.2.) versetzen (bei Haferproben: 30 ml 80 % Ethanol)
- Gefäß verschließen und 1 h bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) über Kopf schütteln oder mittels Rotator rotieren lassen
- zentrifugieren: 10 min, mind. 2500 g, bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) oder 2 ml des Extraktes in ein Reaktionsgefäß überführen und in einer Mikrozentrifuge für 10 min hochtourig zentrifugieren, um einen partikelfreien Überstand zu erhalten (alternativ kann der Extrakt nur filtriert werden)
- den partikelfreien Überstand in ein verschließbares Röhrchen überführen; je nach Probe kann es notwendig sein, den Überstand vorab noch zu filtrieren
- für die Verwendung im Test die Probe 1:12,5 (1+11,5 / 80 µl + 920 µl) mit verdünntem Puffer (siehe 10.1.) weiter verdünnen: der finale Verdünnungsfaktor ist 500
- nach dem Verdünnen sind 100 µl Probe je Kavität **sofort** (innerhalb 30 min) im Test einzusetzen

**Anmerkung:**

Der unverdünnte Überstand nach dem Zentrifugationsschritt bzw. das Filtrat ist in einem gut verschlossenen Gefäß bis zu vier Wochen im Dunkeln bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) haltbar.



### 9.3. Extraktion mit RIDA<sup>®</sup> Cocktail ECO für prozessierte Lebensmittel

Die schnellere Probenaufarbeitung mit dem umweltfreundlichen **Cocktail ECO** (R7080) eignet sich für das Screening von Proben. Gegenüber der Extraktion mit Cocktail (patented) erreicht der Cocktail ECO eine Extraktionseffizienz von etwa 70-110%.

Eine ausreichend große Menge der Probe (mind. 50 g bzw. 50 ml) gut homogenisieren (sorgfältig zerstoßen, fein zermahlen und gut mischen bzw. die Lösung gut mischen). Die notwendige Menge an gebrauchsfertigem Cocktail ECO gemäß der Produktinformation RIDA<sup>®</sup> Cocktail ECO (R7080) herstellen.

- **flüssige Lebensmittel:** zu 0,25 ml der homogenisierten Probe (bei tannin- und polyphenolhaltigen Lebensmitteln 0,25 g Magermilchpulver zugeben) 2,5 ml RIDA<sup>®</sup> Cocktail ECO hinzugeben, Gefäß verschließen und gut mischen
- **sonstige Lebensmittel (z.B. soja- und quinoahaltige Lebensmittel):** 0,25 g der homogenisierten Probe einwiegen und 2,5 ml RIDA<sup>®</sup> Cocktail ECO hinzugeben, Gefäß verschließen und gut mischen
- **tannin- und polyphenolhaltige Lebensmittel (z.B. Schokolade, Kaffee, Kakao, Kastanienmehl, Buchweizen, Hirse und Gewürze):** 0,25 g der homogenisierten Probe einwiegen, 0,25 g Magermilchpulver und 2,5 ml RIDA<sup>®</sup> Cocktail ECO hinzugeben, Gefäß verschließen und gut mischen
- **Fleisch- und Wurstwaren:** die Glutenverteilung kann in diesen Lebensmitteln sehr ungleich sein, deshalb 50 g Probe einwiegen und homogenisieren: 0,25 g der homogenisierten Probe einwiegen und 2,5 ml RIDA<sup>®</sup> Cocktail ECO hinzugeben, Gefäß verschließen und gut mischen
- **Haferproben:** die Glutenverteilung kann sehr ungleich sein, zusätzlich sind diese Proben schwer zu homogenisieren. Deshalb 200 g Probe homogenisieren, die Probenaufarbeitung sollte dann mindestens mit dem vierfachen Ansatz durchgeführt werden: 1 g der homogenisierten Probe einwiegen und 10 ml RIDA<sup>®</sup> Cocktail ECO hinzugeben, Gefäß verschließen und gut mischen.

#### **Bitte alle Proben wie im Folgenden beschrieben weiter extrahieren:**

- 10 min bei 50 °C im Wasserbad inkubieren
- Probe abkühlen lassen und anschließend mit 7,5 ml 80 % Ethanol (siehe 5.2.) versetzen (bei Haferproben: 30 ml 80% Ethanol)
- Gefäß verschließen und 10 min bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) über Kopf schütteln oder mittels Rotator rotieren lassen
- zentrifugieren: 5 min, mind. 2500 g, bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) oder 2 ml des Extraktes in ein Reaktionsgefäß überführen und in einer

- Mikrozentrifuge für 5 min hochtourig zentrifugieren, um einen partikelfreien Überstand zu erhalten (alternativ kann der Extrakt nur filtriert werden)
- den partikelfreien Überstand in ein verschließbares Röhrchen überführen; je nach Probe kann es notwendig sein, den Überstand vorab noch zu filtrieren
  - für die Verwendung im Test die Probe 1:12,5 (1+11,5 / 80 µl + 920 µl) mit verdünntem Puffer (siehe 10.1.) weiter verdünnen: der finale Verdünnungsfaktor ist 500
  - nach dem Verdünnen sind 100 µl Probe je Kavität **sofort** (innerhalb 30 min) im Test einzusetzen

### **Anmerkung:**

Der unverdünnte Überstand nach dem Zentrifugationsschritt bzw. das Filtrat ist in einem gut verschlossenen Gefäß bis zu zwei Wochen im Dunkeln bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) haltbar.

## **10. Testdurchführung**

### 10.1. Testvorbereitungen

Alle Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) bringen.

Der **Puffer** liegt als 5fach Konzentrat vor. Das benötigte Aliquot am Tag der Testdurchführung 1:5 (1+4) mit dest. Wasser verdünnen (z. B. 3 ml Konzentrat + 12 ml dest. Wasser, ausreichend für die Verdünnung von 10 Proben). Es ist sicherzustellen, dass der Puffer nicht mit Gliadin verunreinigt wird.

Das **Konjugat** (Flasche mit rotem Verschluss) liegt als 11fach Konzentrat vor. Da die rekonstituierte Konjugatlösung nur begrenzte Haltbarkeit aufweist, immer nur soviel Konjugat-Konzentrat verdünnen, wie unmittelbar benötigt wird. Das Konjugat-Konzentrat vor Entnahme vorsichtig mischen. Um die gebrauchsfertige Konjugatlösung herzustellen, muss das Konzentrat 1:11 (1+10) mit dest. Wasser verdünnt werden (z.B. 200 µl Konzentrat + 2 ml dest. Wasser, ausreichend für 2 Mikrotiterstreifen). Es ist darauf zu achten, dass das Wasser nicht mit Gliadin kontaminiert ist.

Der **Waschpuffer** liegt als 10fach Konzentrat vor und muss vor Gebrauch 1:10 (1+9) mit dest. Wasser verdünnt werden (z. B. 100 ml Pufferkonzentrat + 900 ml dest. Wasser). Vor dem Verdünnen darauf achten, dass evtl. gebildete Kristalle vollständig durch Erwärmen im Wasserbad bei 37 °C gelöst werden. Der verdünnte Puffer hat eine Haltbarkeit von vier Wochen bei 20 - 25 °C.

## 10.2. Testdurchführung

Sorgfältiges Waschen ist sehr wichtig. Ein Eintrocknen der Kavitäten zwischen den Arbeitsschritten vermeiden.

Pro Testansatz sollten nicht mehr als drei Mikrotiterstreifen (24 Kavitäten) verwendet werden. Bei mehr als drei Streifen sollte eine zweite unbeschichtete Platte (z.B. low binding von Greiner bio-one Kat.-Nr. 655101 oder Mikrotiter Assembly Breakable Strip 1x8, Thermo Scientific) als Vorplatte verwendet werden, um eine Zeitverzögerung über die Platte zu vermeiden. Alle Standards und Proben werden auf die unbeschichtete Platte pipettiert (mind. 150 µl pro Kavität) und werden dann zügig mit einer 8-Kanal Pipette auf die beschichtete Platte transferiert.

Es wird empfohlen das Konjugat, das Substrat/Chromogen und die Stopplösung mit einer Multikanal- oder einer Multistepper-Pipette zu pipettieren um eine Zeitverzögerung über die Platte zu vermeiden.

1. So viele Kavitäten in den Halterahmen einsetzen, wie für alle Standards und Proben in Doppelbestimmung benötigt werden. Die Positionen der Standards und der Proben protokollieren.
2. Je 100 µl der Standards bzw. der vorbereiteten Proben in Doppelbestimmung in die entsprechenden Kavitäten pipettieren und 10 min bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) inkubieren.
3. Die Kavitäten durch Ausschlagen der Flüssigkeit leeren und die Restflüssigkeit durch kräftiges Ausklopfen (dreimal hintereinander) auf saugfähigen Labortüchern entfernen. Die Kavitäten mit jeweils 250 µl verdünntem Waschpuffer (siehe 10.1.) waschen. Diesen Vorgang weitere zweimal wiederholen.
4. Je 100 µl verdünntes Konjugat (siehe 10.1.) in die entsprechenden Kavitäten pipettieren und weitere 10 min bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) inkubieren.
5. Die Kavitäten durch Ausschlagen der Flüssigkeit leeren und die Restflüssigkeit durch kräftiges Ausklopfen (dreimal hintereinander) auf saugfähigen Labortüchern entfernen. Die Kavitäten mit jeweils 250 µl verdünntem Waschpuffer (siehe 10.1.) waschen. Diesen Vorgang weitere zweimal wiederholen.
6. Je 100 µl Substrat/Chromogen in die Kavitäten pipettieren. 10 min bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) im Dunkeln inkubieren.
7. Je 100 µl Stopp Lösung in jede Kavität pipettieren und vorsichtig manuell mischen. Die Extinktion bei 450 nm innerhalb von 30 min nach Zugabe der Stopp Lösung messen.

## 11. Auswertung

Für die Auswertung ist bei R-Biopharm eine speziell für die RIDASCREEN® Enzymimmunoassays entwickelte Software, die RIDASOFT® Win.NET, erhältlich. Die Auswertung sollte mittels Cubic spline-Funktion erfolgen. Der Verlauf der Standardkurve kann dem beigefügten Analysenzertifikat entnommen werden. Im Dokument ‚Compliance Criteria‘ sind Kriterien zur Beurteilung von Standardkurven enthalten.

Höhere Extinktionswerte ( $E_{450\text{ nm}}$ ) der Eichkurve im Vergleich zu den Daten laut Zertifikat, insbesondere für den Null-Standard, können auf ungenügendes Waschen oder eine Gliadin-Kontamination hinweisen.

Proben mit Extinktionswerten ( $E_{450\text{ nm}}$ ) > Standard 5 weiter verdünnen und nochmals bestimmen.

Die Gliadinkonzentration in ng/ml (ppb), die aus der RIDASOFT® Win.NET Standardkurve abgelesen wird, muss weiter mit dem Verdünnungsfaktor von mindestens 500 multipliziert werden. Dieses Ergebnis wird dann noch mit 2 multipliziert, um die Glutenkonzentration zu erhalten (Gluten besteht zu 50 % aus Gliadin, Codex Definition). Bei der RIDASOFT® Win.NET (ab Version 1.93) werden die Ergebnisse in Gliadin und Gluten angezeigt.

### Rechenbeispiel:

Die Absorption einer Probe entspricht einer Konzentration von 10 ng/ml Gliadin in der Standardkurve. Multipliziert mit dem empfohlenen Verdünnungsfaktor 500 ergibt sich ein Wert von 5000 ng/ml entsprechend 5 mg/kg (ppm) Gliadin bzw. 0,0005 % Gliadin. Um den Glutengehalt zu berechnen, muss mit dem Faktor 2 multipliziert werden, dies ergibt 10 mg/kg Gluten (0,001 % Gluten). Die Probe ist deshalb als „glutenfrei“ zu bezeichnen, da die Konzentration unterhalb von 20 mg/kg liegt.

### Generell:

Ein negatives Ergebnis schließt nicht aus, dass eine Allergenkontamination unterhalb der Nachweisgrenze dieses Testes vorliegt, oder dass andere Getreidekomponenten, wie z.B. Stärke, in einer Probe enthalten sein können.

Aufgrund der Vielzahl an Lebensmitteln können Matrixeffekte nicht ausgeschlossen werden. In prozessierten (z.B. Erhitzung, Trocknung, etc.) Lebensmitteln können Proteine verändert und/oder fragmentiert werden, dies kann die Wiederfindung/Kreuzreaktivität beeinträchtigen.

Zur Bestimmung der Kreuzreaktivitäten wurde jeweils eine exemplarische Probe verwendet, andere Proben können verschiedene Ergebnisse liefern. Alle

Kreuzreaktivitäten und exemplarisch analysierten Matrices sind im Validierungsbericht beschrieben.

### **Empfehlungen:**

Um eine hohe analytische Sicherheit zu gewährleisten wird empfohlen:

- bei extrem sauren oder basischen Proben den pH-Wert auf neutral einzustellen
- jede Probe als Doppelbestimmung zu analysieren
- glutenfreie und glutenhaltige (dotierte) Proben als Testkontrollen mitzuführen
- zur Prüfung auf richtige und störungsfreie Durchführung der Bestimmung Spike Versuche durchzuführen
- Ergebnisse mit PCR (z.B. mit SureFood<sup>®</sup> Allergen Gluten) zu bestätigen
- bei der Analyse mittels Automaten (z.B. Thunder Bolt<sup>®</sup> / Bolt) sich an [info@r-biopharm.de](mailto:info@r-biopharm.de) zu wenden

Bei der Herstellung von Lebensmittel wie z.B. Bier und Sauerteig werden Proteine fragmentiert. Im Sandwich ELISA ist die Wiederfindung für fragmentierte Proteine vermindert. Daher sollten diese Proben mit einem kompetitiven ELISA Testsystem, wie dem RIDASCREEN<sup>®</sup> Gliadin competitive (R7021), analysiert werden.

### **Weitere Applikationen:**

- Probenaufarbeitung für prozessierte Lebensmittel mit der RIDA<sup>®</sup> Extraction Solution (colorless) (Art. Nr. R7098) - **nur nach Validierung**
- Probenaufarbeitung für Rohwaren mit Ethanol
- Probenaufarbeitung für polyphenolhaltige Rohwaren (z.B. Schokolade, Kaffee, Kakao, Buchweizen) mit Fischgelatine und Ethanol

**Für weitere Produktinformationen und Applikationen kontaktieren Sie bitte [info@r-biopharm.de](mailto:info@r-biopharm.de).**

Diese Angaben entsprechen dem heutigen Stand unserer Kenntnisse und sollen über unsere Produkte und deren Anwendungsmöglichkeiten informieren. Sie haben somit nicht die Bedeutung, bestimmte Eigenschaften der Produkte oder deren Eignung für einen konkreten Einsatzzweck zuzusichern. R-Biopharm übernimmt keine Gewährleistung, außer für die standardisierte Qualität der Reagenzien. Defekte Produkte werden ersetzt. Für darüber hinaus gehende direkte, indirekte Schäden oder sonstige Kosten im Zusammenhang mit der Nutzung der Produkte haftet R-Biopharm nicht.

# RIDASCREEN<sup>®</sup>FAST Gliadin

## Brief information

RIDASCREEN<sup>®</sup>FAST Gliadin (R7002) is a sandwich enzyme immunoassay for the quantitative analysis of prolamins from wheat (gliadin), rye (secalin) and barley (hordein) in as gluten-free declared food.

All reagents required for the enzyme immunoassay - including standards - are contained in the test kit. The test kit is sufficient for 48 determinations (including standards).

A microtiter plate spectrophotometer is required for measurement.

Sample preparation:	homogenization and extraction
Standard material:	The RIDASCREEN <sup>®</sup> standard material is calibrated to the standard of the Prolamin Working Group.
Time requirement:	sample preparation Cocktail (patented) (for 10 samples)..... approx. 2 h Cocktail ECO (for 10 samples) ..... approx. 35 min test implementation (incubation time) ..... 30 min
Limit of detection:	0.5 mg/kg (ppm) gliadin or to 1 mg/kg (ppm) gluten (depending on matrix)
Limit of quantification:	5 mg/kg (ppm) gliadin or to 10 mg/kg (ppm) gluten
Specificity:	The monoclonal antibody R5 reacts with the gliadin-fractions from wheat and corresponding prolamins from rye and barley.

Cross reactivities of the used antibodies have been determined for pure food (e.g. corn flour). In composed / processed food (e.g. maize bread) cross reactivities might be different. Interfering substances (e.g. polyphenols) can be detected by spike experiments.

In order to increase the quality of assessment when performing ELISA-procedures, we refer additionally to our Good ELISA Practice (GEP) – Manual in the respective version. Such lists minimum standards concerning the framework conditions when using test-kits of R-Biopharm AG and performing ELISA-analysis.

The manual can be retrieved, printed and downloaded under the website [www.r-biopharm.com/products/food-feed-analysis](http://www.r-biopharm.com/products/food-feed-analysis).

## **Related products**

RIDASCREEN® Gliadin (Art. No. R7001)  
RIDASCREEN® Gliadin competitive (Art. No. R7021)  
RIDASCREEN®FAST Gliadin sensitive (Art. No. R7051)  
Cocktail (patented) (Art. No. R7006/R7016)  
RIDA® Cocktail ECO (Art. No. R7080)  
RIDA® Extraction Solution (colorless) (Art. No. R7098)  
Set of 3 processed Gliadin Assay Controls (Art. No. R7012)  
RIDA®QUICK Gliadin (Art. No. R7003/R7004/R7005)  
SureFood® Allergen Gluten PCR (Art. No.S3606)

## **1. Intended use**

RIDASCREEN®FAST Gliadin is a sandwich enzyme immunoassay for the quantitative analysis of contaminations by prolamins from wheat (gliadin), rye (secalin), and barley (hordein) in raw products like flours (buckwheat, rice, corn, oats, teff) and spices as well as in processed food like noodles, ready-to-serve meals, bakery products, sausages, beverages and ice cream.

The sample preparation using the Cocktail (patented) (R7006/R7016) is the official R5-Mendez method according to the Codex Alimentarius and the AOAC. The faster sample preparation using the environmental-friendly Cocktail ECO (R7080) is convenient for the screening of samples. The Cocktail ECO has an extraction efficiency of approx. 70 - 110% compared to Cocktail (patented)

## **2. General**

The use of wheat flour and gluten in foodstuffs is extremely common because of their heat stability and useful effects on e.g. texture, moisture retention and flavour. Gluten is a mixture of prolamin and glutelin proteins present in wheat, rye and barley.

Coeliac disease is a permanent intolerance to gluten that results in damage to the small intestine and is reversible when gluten is avoided by diet.

The Codex Alimentarius Commission has stipulated in the „Codex Standard for Foods for Special Dietary Use for Persons Intolerant to Gluten” (CODEX STAN 118-1979) the limit value for gluten-free food at 20 mg/kg gluten. This threshold has also been adopted by many national legislations. The prolamin content (e.g. gliadin) of gluten is generally assumed to be 50 % (CODEX STAN 118-1979).

### 3. Test principle

The basis of the test is the antigen-antibody reaction. The wells of the microtiter strips are coated with specific R5 antibodies against gliadins. By adding the standard or sample solution to the wells, present gliadin will bind to the specific capture antibodies. The result is an antibody-antigen-complex. Components not bound by the antibodies are then removed in a washing step. Then R5 antibody conjugated to peroxidase is added. This conjugate is bound to the Ab-Ag-complex. An antibody-antigen-antibody (sandwich) complex is formed. Any unbound conjugate is then removed in a washing step. Substrate/Chromogen are added to the wells and incubated. Bound conjugate converts the colorless chromogen into a blue product. The addition of the stop solution leads to a color change from blue to yellow. The measurement is made photometrically at 450 nm. The absorbance is proportional to the gliadin concentration of the sample.

### 4. Reagents provided

Each kit contains sufficient materials for 48 measurements (including standard analyses). Each test kit contains:

Component	Cap color	Format		Volume
<b>Microtiter plate</b>	-	Ready to use		48 wells
<b>Buffer</b>	White	<b>Concentrate</b>	<b>5x</b>	60 ml
<b>Standard 1</b>	Transparent	Ready to use	0 ng / ml gliadin	1.3 ml
<b>Standard 2</b>	Transparent	Ready to use	10 ng / ml gliadin	1.3 ml
<b>Standard 3</b>	Transparent	Ready to use	20 ng / ml gliadin	1.3 ml
<b>Standard 4</b>	Transparent	Ready to use	40 ng / ml gliadin	1.3 ml
<b>Standard 5</b>	Transparent	Ready to use	80 ng / ml gliadin	1.3 ml
<b>Wash buffer</b>	Brown	<b>Concentrate</b>	<b>10x</b>	100 ml
<b>Conjugate</b>	Red	<b>Concentrate</b>	<b>11x</b>	0.7 ml
<b>Substrate/Chromogen</b> Red chromogen Pro	Brown	Ready to use		10 ml
<b>Stop solution</b>	Yellow	Ready to use		14 ml



## 5. Reagents required but not provided

### 5.1. Equipment

- microtiter plate spectrophotometer (450 nm)
- centrifuge, centrifugal vials (e.g. Brand 10742512)
- shaker
- laboratory mincer / grinder, pestle and mortar, ultra-turrax or homogenizer
- water bath (50 °C / 122 °F)
- graduated pipettes
- variable 20 µl - 200 µl and 200 - 1000 µl micropipettes

### 5.2. Reagents

- distilled or deionized water
- gluten-free **skimmed milk powder** (food quality)
- **Cocktail (patented)** (R7006 / R7016, 105 ml / 1000ml) or **RIDA® Cocktail ECO** (R7080)
- **ethanol solution (80 %)**: i.e. add 120 ml ethanol p.a. to 30 ml distilled water and shake well

## 6. Warnings and precautions for the users

This test should only be carried out by trained laboratory personal. The instructions for use must be strictly followed.

This kit may contain hazardous substances. For hazard notes on the contained substances please refer to the appropriate material safety data sheets (MSDS) for this product, available online at [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

## 7. Storage instructions

Store the kit at 2 - 8 °C (35 - 46 °F). **Do not freeze any test kit components.**

Return any unused microwells to their original foil bag, reseal them together with the desiccant provided and further store at 2 - 8 °C (35 - 46 °F).

The reddish substrate/chromogen is light sensitive, therefore, avoid exposure to direct light.

No quality guarantee is accepted after expiry of the kit (see kit label).

Do not interchange individual reagents between kits of different lot numbers.

## 8. Indication of instability or deterioration of reagents

- any bluish coloration of the chromogen solution prior to test implementation
- a value of less than 1.2 absorbance units ( $A_{450\text{ nm}}$ ) for standard 5

## 9. Preparation of Samples

### 9.1. Preliminary comments

Airborne cereal dust and dirty laboratory equipment lead to gliadin contamination of the assay. Therefore, before starting and during the assay wear gloves.

- clean surfaces, glass vials, mincers and other equipment with 40 % ethanol or 2-propanol
- carry out the sample preparation in a room isolated from the ELISA procedure
- check for gliadin contamination of reagents and equipment with the test strips RIDA<sup>®</sup>QUICK Gliadin (R7003/R7004/R7005)
- when using the Cocktail (patented), it is recommended to work **under a chemical hood**, because it contains  $\beta$ -mercaptoethanol
- $\beta$ -mercaptoethanol can disturb the ELISA, therefore dilute the samples **at least 1:500** (recommendation 1:500 for samples with approx. 20 mg/kg gluten and 1:2500 for samples with approx. 100 mg/kg gluten).

### 9.2. Extraction with the Cocktail (patented) (R7006 / R7016, official AOAC method)

Homogenize well a sufficient amount (at least 5 g or 5 ml) of sample (grind it thoroughly to powder and mix well or mix well the solution respectively).

- liquid food samples**: use 0.25 ml of the homogenized sample (with tannin and polyphenol containing samples add 0.25 g of skimmed milk powder) and add 2.5 ml of the Cocktail (patented), close the vial and mix well
- other food samples (e.g. soy and quinoa containing samples)**: weigh 0.25 g of the homogenized and add 2.5 ml of the Cocktail (patented), close the vial and mix well
- tannin and polyphenol containing food samples (e.g. chocolate, coffee, cocoa, chestnut flour, buckwheat, millet, and spices)**: weigh 0.25 g of the homogenized sample, add 0.25 g of skimmed milk powder, and add 2.5 ml of the Cocktail (patented), close the vial and mix well
- meat and sausages**: in these matrices gliadin may be not distributed evenly, therefore, weigh 50 g sample and homogenize: weigh 0.25 g of the

homogenized sample and add 2.5 ml of the Cocktail (patented), close the vial and mix well

- **oat samples:** gliadin may not be distributed evenly, furthermore the samples are difficult to homogenize. Therefore, homogenize 200g, then carry out the extraction with at least the fourfold amount of reagents: weigh 1 g of the homogenized sample and add 10 ml of the Cocktail (patented), close the vial and mix well

**Please further extract all samples as described in the following:**

- incubate for 40 min at 50 °C (122 °F)
- let the sample cool down and then mix it with 7.5 ml 80 % ethanol (see 5.2.) (for oat samples: 30 ml 80 % ethanol)
- close the vial and shake for 1 h up side down or by a rotator at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F)
- centrifuge: 10 min, at least 2500 g, at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F) or 2 ml of the extract can be centrifuged with high speed for 10 min in reaction caps by using a microcentrifuge to obtain a particle free supernatant (alternatively, the extract can only be filtered)
- put the particle free supernatant in a screw top vial (depending on the sample the supernatant needs to be filtered too)
- dilute the sample 1:12.5 (1+11.5 / 80 µl + 920 µl) with diluted buffer (see 10.1.): the final dilution factor is 500
- after dilution, use **immediately** (within 30 min) 100 µl per well in the assay

**Remark:**

The supernatant obtained after the centrifugation or the filtrate can be stored in a tightly closed vial in the dark at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F) up to four weeks.

### 9.3. Extraction with RIDA<sup>®</sup> Cocktail ECO for processed food

The faster sample preparation using the environmental-friendly **Cocktail ECO** (R7080) is convenient for the screening of samples. The Cocktail ECO has an extraction efficiency of approx. 70 - 110% compared to Cocktail (patented).

Homogenize well a sufficient amount (at least 50 g or 50 ml) of sample (grind it thoroughly to powder and mix well or mix well the solution respectively). Prepare the necessary amount of RIDA<sup>®</sup> Cocktail ECO according to the product information R7080.

- **liquid food samples:** use 0.25 ml of the homogenized sample (with tannin and polyphenol containing samples add 0.25 g of skimmed milk powder) and add 2.5 ml of RIDA<sup>®</sup> Cocktail ECO, close the vial and mix well
- **other food samples (e.g. soya and quinoa containing food):** to 0.25 g of a homogenized sample add 2.5 ml of RIDA<sup>®</sup> Cocktail ECO, close the vial and mix well
- **tannin and polyphenol containing food samples (e.g. chocolate, coffee, cocoa, chestnut flour, buckwheat, millet, and spices):** weigh 0.25 g of the homogenized sample, add 0.25 g of skimmed milk powder, and add 2.5 ml of RIDA<sup>®</sup> Cocktail ECO, close the vial and mix well
- **meat and sausages:** in these matrices gluten may be distributed not evenly; therefore, weigh 50 g sample and homogenize: weigh 0.25 g of the homogenized sample and add 2.5 ml of the RIDA<sup>®</sup> Cocktail ECO, close the vial and mix well
- **oat samples:** gluten may not be distributed evenly; furthermore the samples are difficult to homogenize. Therefore, homogenize 200g, then carry out the extraction with at least the fourfold amount of reagents: weigh 1 g of the homogenized sample and add 10 ml of the RIDA<sup>®</sup> Cocktail ECO, close the vial and mix well

**Please further extract all samples as described in the following:**

- incubate for 10 min at 50 °C (122 °F)
- let the sample cool down and then mix it with 7.5 ml 80 % ethanol (see 5.2.) (for oat samples: 30 ml 80 % ethanol)
- close the vial and shake for 10 min up side down or by a rotator at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F)
- centrifuge: 5 min, at least 2500 g, at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F) or 2 ml of the extract can be centrifuged with high speed for 5 min in reaction caps by using a microcentrifuge to obtain a particle free supernatant (alternatively, the extract can only be filtered)
- put the particle free supernatant in a screw top vial (depending on the sample the supernatant needs to be filtered too)
- dilute the sample 1:12.5 (1+11.5 / 80 µl + 920 µl) with diluted buffer (see 10.1.): the final dilution factor is 500
- after dilution, use **immediately** (within 30 min) 100 µl per well in the assay

## Remark:

The supernatant obtained after the centrifugation or the filtrate can be stored in a tightly closed vial in the dark at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F) up to two weeks.

## 10. Test implementation

### 10.1. Test preparation

Bring all reagents to room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F) before use.

The **buffer** is provided as a concentrate (5fold). Only the amount which actually is needed should be diluted 1:5 (1+4) with distilled water (e. g. 3 ml concentrate + 12 ml distilled water, sufficient for the dilution of 10 samples). Make sure that the buffer is not contaminated with gliadin.

The **conjugate** (bottle with red cap) is provided as a concentrate (11fold). Since the diluted conjugate has a limited stability, only the amount which actually is needed should be diluted. Before pipetting, the conjugate concentrate should be shaken carefully. For reconstitution, the conjugate concentrate is diluted 1:11 (1+10) with distilled water (e. g. 200 µl concentrate + 2 ml distilled water, sufficient for 2 microtiter strips). Take care that the water is not contaminated with gliadin.

The **wash buffer** is provided as a 10fold concentrate. Before use, the buffer has to be diluted 1:10 (1+9) with distilled water (i.e. 100 ml buffer concentrate + 900 ml dist. water). Prior to dilution, dissolve eventually formed crystals by incubating the buffer in a water bath at 37 °C (99 °F). The diluted buffer is stable at 20 - 25 °C (68 -77 °F) for four weeks.

### 10.2. Test procedure

Carefully follow the recommended washing procedure. Do not allow microwells to dry between working steps.

Do not use more than three strips (24 wells) at a time. If more than three strips are needed, a second uncoated plate (e.g. low binding from Greiner bio-one Cat.-No. 655101) should be used as a pre-plate to avoid a time shift over the microtiter plate. All standards and samples are pipetted into the uncoated plate (at least 150 µl per well) and then quickly transferred to the coated microtiter plate with an 8-channel pipette.

1. Insert a sufficient number of wells into the microwell holder for all standards and samples to be run in duplicate. Record standard and sample positions.

2. Add 100 µl of each standard or sample to separate duplicate wells and incubate for 10 min at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F).
3. Pour out the liquid of the wells and tap the microwell holder upside down vigorously (three times) on absorbent paper to ensure complete removal of liquid from the wells. Fill all the wells with 250 µl diluted wash buffer (see 10.1.) and pour out the liquid again. Repeat two more times.
4. Add 100 µl of the diluted conjugate (see 10.1.) to each well and incubate for 10 min at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F).
5. Pour out the liquid of the wells and tap the microwell holder upside down vigorously (three times in a row) on absorbent paper to ensure complete removal of liquid from the wells. Fill all the wells with 250 µl diluted wash buffer (see 10.1.) and pour out the liquid again. Repeat two more times.
6. Add 100 µl of substrate/chromogen to each well. Incubate for 10 min at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F) in the dark.
7. Add 100 µl of the stop solution to each well. Mix gently by shaking the plate manually and measure the absorbance at 450 nm. Read within 30 min after addition of stop solution.

## 11. Results

A special software, the RIDASOFT® Win.NET (Art. Nr. Z9996) is available for evaluation of the RIDASCREEN® enzyme immunoassays. The calculation should be done by use of a cubic spline function. The course of the standard curve is shown in the Quality Assurance Certificate enclosed in the test kit. The document 'Compliance Criteria' provides criteria for evaluating standard curves.

Higher absorbance values ( $A_{450\text{ nm}}$ ) of the calibration curve – especially for the zero standard – as mentioned on the certificate may be a result of insufficient washing or gliadin contamination.

A further dilution and new detection of the samples is recommended for absorbance values ( $A_{450\text{ nm}}$ ) > standard 5.

The gliadin concentration in ng/ml (ppb) is read from the RIDASOFT® Win.NET calibration curve and must be further multiplied by the dilution factor of at least 500. This result is then multiplied by 2 in order to obtain the gluten concentration (gliadin represents 50 % of the proteins present in gluten, Codex Definition). The RIDASOFT® Win.NET (version 1.93 or newer) indicates the results in gliadin and gluten.

## Example

The absorbance value of a sample corresponds to 10 ng/ml gliadin in the calibration curve. Multiplying by the recommended dilution factor 500 leads to 5000 ng/ml, corresponding to 5 mg/kg (ppm) gliadin, respectively 0.0005 % gliadin. To calculate the gluten content, it is necessary to multiply by factor 2 which results in 10 mg/kg gluten, respectively 0.001 % gluten. This sample is considered to be gluten-free, because the gluten concentration is below 20 mg/kg.

## In general

Samples tested negative still may contain an allergen contamination below the limit of detection of the assay or they may contain other cereal components such as starch.

Due to the multitude of food types, matrix effects cannot be excluded. In processed food (e.g. heat treatment, dehydration, etc.), proteins may be altered or fragmented, this may have an impact on the recovery/cross reactivity.

For evaluation of the cross reactivity only one exemplary sample was analyzed, other samples may show a different result. All cross reactivities and exemplary analyzed matrices are described in the Validation report.

## Recommendation

In order to ensure a high analytical performance:

- adjust the pH to a neutral value for extremely acidic or alkaline samples
- analyze each sample material in duplicates
- use also gluten free and gluten containing (spiked) samples as test controls
- do spike experiments to ensure an accurate and failure-free test procedure
- confirm results with PCR (e.g. SureFood<sup>®</sup> Allergen Gluten)
- contact [sales@r-biopharm.de](mailto:sales@r-biopharm.de) if automates (e.g. ThunderBolt<sup>®</sup> / Bolt) are used

During the production of foods such as beer or sourdough, proteins are fragmented. In sandwich ELISAs protein fragments lead to a reduced recovery, such samples should be analyzed with a competitive ELISA test systems like the RIDASCREEN<sup>®</sup> Gliadin competitive (R7021).

## Further application notes:

- Sample preparation for processed food with the RIDA<sup>®</sup> Extraction Solution (colorless) (Art. No. R7098) - **only after validation**
- Sample preparation for raw materials with ethanol.
- Sample preparation for polyphenol containing raw materials (e.g. chocolate, coffee, cacao, buckwheat) with fish gelatine and ethanol

**For further product information and applications contact your local distributor or R-Biopharm AG.**

The data corresponds to our present state of technology and provides information on our products and their uses. R-Biopharm makes no warranty of any kind, either expressed or implied, except that the materials from which its products are made are of standard quality. Defective products will be replaced. There is no warranty of merchantability of this product, or of the fitness of the product for any purpose. R-Biopharm shall not be liable for any damages, including special or consequential damage, or expense arising directly or indirectly from the use of this product.

### **R-Biopharm AG**

Postanschrift / Postal Address:

An der neuen Bergstraße 17

64297 Darmstadt, Germany

Sitz / Corporate Seat: Pfungstadt

Tel.: +49 (0) 61 51 - 81 02-0

Fax: +49 (0) 61 51 - 81 02-40

E-mail: [info@r-biopharm.de](mailto:info@r-biopharm.de)

[www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com)

Vorsitzender des Aufsichtsrats /

Chairman of Supervisory Board:

Dietrich Mollat

Vorstand / Board of Management:

Dr. Ralf M. Dreher (Vorsitzender / Chairman),

Dr. Carsten Bruns, Christian Dreher,

Dr. Hans Frickel, Jochen Hirsch, Dr. Peter Schubert

Handelsregister / Commercial Register:

Amtsgericht Darmstadt HRB 8321