

Cocktail ECO

Art. No. R7080

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

Marketing & Vertrieb/Marketing & sales

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

E-Mail: info@r-biopharm.de

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

R-Biopharm AG ist ISO 9001 zertifiziert.

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

R-Biopharm AG is ISO 9001 certified.

1. Verwendungszweck

Der Cocktail ECO kann zur Aufarbeitung von Rohwaren, hitzebehandelten und prozessierten Lebensmitteln für die Glutenanalytik verwendet werden.

Der Cocktail ECO wird in Kombination mit den folgenden Testsystemen verwendet:

- RIDASCREEN® Gliadin (R7001)
- RIDASCREEN®FAST Gliadin (R7002)
- RIDASCREEN®FAST Gliadin sensitive (R7051)
- RIDA®QUICK Gliadin (R7003)
- RIDA®QUICK Gliadin (single packaged) (R7004)

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%.

Probenvorbereitung: homogenisieren und extrahieren

Zeitbedarf: Cocktail ECO (für 10 Proben)..... ca. 35 min.

2. Packungsinhalt

Komponente	Deckelfarbe	Zustand	Inhalt
Buffer ECO	grün	gebrauchsfertig	2 x 115 ml
Additive ECO	grün	gebrauchsfertig	6 g

3. Vorsichtsmaßnahmen und Handhabung

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

Der Cocktail ECO ist nicht kennzeichnungspflichtig. Ein Arbeiten unter dem Abzug ist nicht erforderlich. Sicherheitshinweise zu den enthaltenen Komponenten entnehmen Sie bitte den Sicherheitsdatenblättern (MSDS) zu diesem Produkt auf unserer Internetseite www.r-biopharm.de.

4. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

4.1. Geräte

- Zentrifuge + zentrifugierbare Reagenzröhrchen (z. B. Brand 10742512)
- Schüttler
- Schlagmühle, Mörser, Ultra-Turrax oder Homogenisator
- Wasserbad (50 °C)

4.2. Reagenzien

- destilliertes oder deionisiertes Wasser
- gluten-freies **Magermilchpulver** (Lebensmittelqualität)
- **Ethanollösung (80 %)**: d.h. 120 ml Ethanol p.a. mit 30 ml destilliertem Wasser gut mischen

5. Reagenzien und ihre Lagerung

Die Reagenzien bei 2 - 25 °C lagern (auf keinen Fall einfrieren).

6. Probenvorbereitung

6.1. Testvorbereitungen

Luftgetragene Getreidestäube und unsaubere Laborausrüstung können zu einer Glutenkontamination 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[®]QUICK Gliadin (R7003 / R7004 / R7005) auf Glutennkontamination überprüfen

6.2. Herstellen des Cocktail ECO

Um den Cocktail ECO zu erhalten, muss dem Buffer ECO das Additive ECO beigemischt werden. Da der Cocktail ECO nur eine Haltbarkeit von einem Tag hat, sollte immer nur soviel Cocktail ECO hergestellt werden, wie aktuell benötigt wird. Die Herstellmenge ist abhängig von der Probeneinwaage. Die minimale Probeneinwaage beträgt 0,25 g. **Da die Glutenkontamination oft heterogen ist,**

wird eine Probeneinwaage von 1 g empfohlen. Bei einer Probeneinwaage von 1 g werden für die nachfolgende Probenaufarbeitung 10 ml Cocktail ECO und 30 ml 80 % Ethanol benötigt.

Probenanzahl und Einwaage	Herstellen Cocktail ECO		Benötigte Volumina pro Probe	
	Buffer ECO	Additive ECO	Cocktail ECO	80% Ethanol
1 Probe à 0,25 g	3 ml	60 mg	2,5 ml	7,5
5 Probe à 0,25 g	15 ml	300 mg	2,5 ml	7,5
10 Probe à 0,25 g	27 ml	540 mg	2,5 ml	7,5
20 Probe à 0,25 g	56 ml	1,08 g	2,5 ml	7,5
1 Probe à 1 g	12 ml	240 mg	10 ml	30
10 Proben à 1 g	120 ml	2,4 g	10 ml	30

6.3. Testvorbereitungen

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 2,5 ml 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 Cocktail ECO 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 ECO hinzugeben, Gefäß verschließen und gut mischen
- **Fleisch- und Wurstwaren:** die Gliadinverteilung kann in diesen Lebensmitteln sehr ungleich sein, deshalb 50 g Probe homogenisieren: 0,25 g der homogenisierten Probe einwiegen und 2,5 ml Cocktail ECO 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 ECO hinzugeben, Gefäß verschließen und gut mischen

Bitte alle Proben wie im Folgenden beschrieben weiter extrahieren:

- 10 min bei 50 °C inkubieren
- Probe abkühlen lassen und anschließend mit 7,5 ml 80 % Ethanol versetzen (bei 1g Probeneinwaage: 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) und/oder filtrieren (alternativ 2 ml des Extraktes in ein Reaktionsgefäß überführen und in einer Mikrozentrifuge für 10 min hochtourig zentrifugieren)
- den Überstand in ein verschließbares Röhrchen überführen

Anmerkung:

Der 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.

Beim Einsatz im **ELISA RIDASCREEN® Gliadin (R7001)**, **RIDASCREEN®FAST Gliadin (R7002)** und **RIDASCREEN®FAST Gliadin Sensitive (R7051)** (siehe jeweilige Testkitanleitung):

- die Probe 1:12,5 (1+11,5 / 80 µl + 920 µl) mit Probenverdünnungspuffer aus dem ELISA Kit weiter verdünnen: der finale Verdünnungsfaktor ist 500 (Achtung: bei R7001 und bei R7002 muss der Probenverdünnungspuffer vor Gebrauch noch 1:5 verdünnt werden; siehe jeweilige Testkitbeschreibung).
- 100 µl pro Kavität **sofort** im Test einsetzen.

Beim Einsatz im **Lateral Flow Teststreifen RIDA®QUICK Gliadin** (siehe auch jeweilige Testkitanleitung):

- 500 µl des Probenverdünnungspuffers aus dem Lateral Flow Testkit in ein Reaktionsröhrchen vorlegen
- 50 µl der extrahierten Probe dazugeben.

7. Allgemeine Empfehlungen

Um eine hohe analytische Sicherheit zu gewährleisten:

- glutenfreie und glutenhaltige (dotierte) Proben als Testkontrollen mitführen
- zur Prüfung auf richtige und störungsfreie Durchführung der Bestimmung Dotierungsversuche durchzuführen
- stark saure oder stark alkalische Proben müssen vorab neutralisiert werden
- Ergebnisse mit PCR (z. B. mit SureFood® PCR Allergen Gluten) bestätigen

- 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® Gliadin competitive (R7021), analysiert werden.

Für weitere Produktinformationen kontaktieren Sie bitte 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.

Cocktail ECO

1. Intended use

The Cocktail ECO can be used for the sample preparation of raw materials, heat treated and processed food.

The Cocktail ECO is used in combination with the following test systems:

- RIDASCREEN® Gliadin (R7001)
- RIDASCREEN®FAST Gliadin (R7002)
- RIDASCREEN®FAST Gliadin sensitive (R7051)
- RIDA®QUICK Gliadin (R7003)
- RIDA®QUICK Gliadin (single packaged) (R7004)

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).

Sample preparation: homogenization and extraction

Time requirement: Cocktail ECO (for 10 samples) approx. 35 min.

2. Reagents provided

Component	Cap color	Format	Volume
Buffer ECO	green	Ready to use	2 x 115 ml
Additive ECO	green	Ready to use	6 g

3. Warnings and precautions for the users

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

The Cocktail Eco contains no hazardous substances. It is not necessary to work under a chemical hood. 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.

4. Materials required but not provided

4.1. Equipment

- centrifuge, centrifugal vials (e.g. Brand 10742512)
- shaker
- laboratory mincer / grinder, pestle and mortar, ultra-turrax or homogenizer
- water bath (50 °C / 122 °F)

4.2. Reagents

- distilled or deionized water
- gluten-free **skim milk powder** (food quality)
- **Ethanol solution (80 %)**: i.e. add 120 ml ethanol p.a. to 30 ml distilled water and shake well

5. Storage instructions

Store the kit at 2 - 8 °C (35 - 46 °F) (do not freeze).

6. Preparation of Samples

6.1. Preliminary comments

Airborne cereal dust and dirty laboratory equipment lead to gluten 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 gluten contamination of reagents and equipment with the test strips RIDA[®]QUICK Gliadin (R7003/R7004/R7005)

6.2. Mixing of the Cocktail ECO

To produce the Cocktail ECO it is necessary to add the Additive ECO to the Buffer ECO. Only mix the quantity of Cocktail ECO that is actually needed because the stability of the Cocktail ECO is only one day. The volume needed depends on the weigh in. The minimal weigh in is 0.25 g. **Due to the fact that the gluten contamination is often very heterogeneous a sample weigh in of 1 g is recommended.** For a sample weigh in of 1 g use 10 ml Cocktail ECO and 30 ml 80 % Ethanol for the following sample preparation.

Number of samples and weigh in	Production Cocktail ECO		Needed volume per sample	
	Buffer ECO	Additive ECO	Cocktail ECO	80% Ethanol
1 sample à 0.25 g	3 ml	60 mg	2.5 ml	7.5
5 samples à 0.25 g	15 ml	300 mg	2.5 ml	7.5
10 samples à 0.25 g	27 ml	540 mg	2.5 ml	7.5
20 samples à 0.25 g	56 ml	1,08 g	2.5 ml	7.5
1 sample à 1 g	12 ml	240 mg	10 ml	30
10 samples à 1 g	120 ml	2,4 g	10 ml	30

6.3. Preparations

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 and add 2.5 ml of the Cocktail ECO, close the vial and mix well
- **other food samples (e.g. soy and quinoa containing samples):** weigh 0.25 g of the homogenized sample and add 2.5 ml of the 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 the Cocktail ECO, close the vial and mix well
- **meat and sausages:** in these matrices gliadin may not be distributed evenly, therefore, homogenized 50 g sample: weigh 0.25 g of the homogenized sample and add 2.5 ml of the Cocktail ECO, close the vial and mix well
- **oat samples:** gliadin may not be distributed evenly, furthermore the samples are difficult to homogenize. Therefore, homogenize 200 g, 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 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 (for 1 g sample weigh in: 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) and/or filter the extract (alternatively 2 ml of the extract can be centrifuged with high speed for 10 min in reaction caps by using a microcentrifuge)
- transfer the supernatant in a screw top vial

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.

When using the **ELISA RIDASCREEN® Gliadin (R7001)**, **RIDASCREEN®FAST Gliadin (R7002)** und **RIDASCREEN®FAST Gliadin Sensitive (R7051)** (see also the respective test kit insert):

- dilute the sample 1:12.5 (1+11.5 / 80 µl + 920 µl) with buffer: the final dilution factor is 500 (Attention: for R7001 and R7002 the sample dilution buffer needs to be diluted 1:5 before use, see respective test kit insert)
- use immediately 100 µl per well in the assay.

When using the **lateral flow test strip RIDA®QUICK Gliadin** (see also respective test kit insert):

- 500 µl of the sample dilution buffer from the test kit are transferred to a test tube
- 50 µl of the extracted sample are added.

Recommendation:

In order to ensure a high analytical performance:

- Use also gluten free and gluten containing (spiked) samples as test controls
- Carry out spiking experiments for an accurate and correct procedure
- Strong acidic or alkaline samples have to be neutralized prior to analysis
- Confirm results with PCR (e.g. SureFood® PCR Allergen Gluten)
- In 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® Gliadin competitive (R7021)

Further product information and application notes, please contact sales@r-biopharm.de.

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

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, Jochen Hirsch, Dr. Peter Schubert

Handelsregister / Commercial Register:

Amtsgericht Darmstadt HRB 8321