

RIDASCREEN[®] Gliadin

酶联免疫法定量检测麸质及相应的醇溶谷蛋白

订货号: R7001



本产品已被认证为 AOAC Official Method of Analysis (OMA)

官方方法 Final Action Status 2012.01

体外检测试剂

储存温度 2 - 8 °C

拜发分析系统销售(北京)有限公司

电话: +86 10 8458 3218 传真: +86 10 8458 0691

地址:

拜发分析系统销售（北京）有限公司
北京市朝阳区阜通东大街 6 号方恒国际中心 A 座 1903
邮编: 1000102
www.r-biopharm.com

欢迎随时联系德国拜发中国区:

电话:

客服中心: +86 10 8458 3218

传真/邮箱:

销售部: +86 10 - 84 58 32 18 - 223
info@r-biopharm.cn

市场部: +86 10 - 84 58 32 18 - 217
info@r-biopharm.cn

RIDA® 和 RIDASCREEN®

均为 R-Biopharm 德国拜发公司的注册品牌标志
制造商: R-Biopharm AG, Darmstadt, 德国

R-Biopharm AG 拥有 ISO 9001 认证。

RIDA® and RIDASCREEN®

are registered trademarks of R-Biopharm AG
Manufacturer: R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany

R-Biopharm AG is ISO 9001 certified.

产品简介

RIDASCREEN® Gliadin (订货号: R7001) 麸质检测试剂盒, 采用夹心酶联免疫反应, 用于定量检测食品中含有的小麦 (麦胶蛋白)、黑麦 (黑麦碱) 及大麦 (大麦醇溶蛋白) 中的醇溶谷蛋白。

使用 R5 抗体的 RIDASCREEN® Gliadin 麸质检测试剂盒已经是:

- Codex Alimentarius 食品法典的一类官方方法
- AOAC-OMA Final Action 官方正式标准方法 (2012.01)
- AACCI 38-50.01 美国谷物化学师协会标准方法
- AOAC-RI 认证 (证书号: 120601)
- ICC 182 国际谷物科技学会标准方法

试剂盒中含有酶联免疫检测所需的所有试剂, 包括标准品。试剂盒足够进行 96 次检测 (包括标准测定)。定量分析需要使用微孔板酶标仪。

样品处理: 均质和提取

标准物质: RIDASCREEN® 标准物质是根据醇溶谷蛋白工作组机构的标准而校核的。

检测时间: 样品制备 (以 10 个样品为例) 约 2 小时
检测过程 (孵育时间) 1.5 小时

标准品: RIDASCREEN® 试剂盒使用的标准品为国际醇溶谷蛋白工作组 Prolamin Working Group 的标准品 (PWG-Gliadin, <http://www.wgpat.com/handling.html>)。

检测限:
(基质相关) 0.5 mg/kg (ppm) 醇溶谷蛋白, 相当于 1 mg/kg
(ppm) 麸质蛋白
0.06 – 1.24 mg/kg 醇溶谷蛋白
* 平均值

定量限: 2.5 mg/kg (ppm) 醇溶谷蛋白, 相当于 5 mg/kg
(ppm) 麸质蛋白

特异性: 单克隆抗体 R5 可与小麦中的麦胶蛋白片段及黑麦和大麦中相应的醇溶谷蛋白反应。具体信息请参见德国拜发集团的产品验证报告。

试剂盒中所使用的抗体的交叉反应，是针对纯食品（例如玉米粉）本身进行的检测。而针对加工的配方食品（如玉米面包），此处给出的交叉反应可能会有所不同。潜在的干扰物质（如多酚）会在进行样品的添加回收试验过程中通过结果分析出来。

为了提升进行 ELISA 检测时的效果，德国拜发集团建议您参考 GEP（ELISA 良好操作规程）手册，手册中为您详细介绍了如何正确使用和进行 ELISA 操作，及在操作过程中需要注意的关键点等。GEP 手册可以登录 www.r-biopharm.com/products/food-feed-analysis 网站进行阅读或下载。

相关试剂盒产品：

Cocktail Solution 样品处理缓冲液（订货号：R7006 / R7016）

RIDA® Cocktail ECO 环保型样品处理缓冲液（订货号：R7080）

RIDA® Extraction Solution (colourless) 无色样品提取缓冲液（订货号：R7098）

RIDASCREEN®QUICK Gliadin 麸质快速检测条（订货号：R7003 / R7004 / R7005）

RIDASCREEN®FAST Gliadin 麸质快速检测试剂盒（订货号：R7002）

RIDASCREEN® Gliadin competitive 麸质竞争法检测试剂盒（订货号：R7021）

RIDASCREEN® Total Gluten 麸质检测试剂盒（燕麦类样品）（订货号：R7041）

Set of 3 processed Gliadin Assay Controls 麸质质控物（订货号：R7012）

SureFood® Allergen 4plex Cereals 谷物类四合一 PCR 检测试剂盒（订货号：S7006）

SureFood® Allergen Gluten 麸质过敏原 PCR 检测试剂盒（订货号：S3606）

1. 用途

RIDASCREEN® Gliadin 麸质检测试剂盒（订货号：R7001），采用夹心酶联免疫反应，用于定量检测食品中存在的小麦（麦胶蛋白）、黑麦（黑麦碱）及大麦（大麦醇溶蛋白）中的醇溶谷蛋白。本试剂盒基于特异性单克隆 R5 抗体，可准确检测到仍然具有致敏性及乳糜泄患者毒性的醇溶谷蛋白的氨基酸片段。

本试剂盒适用于定量检测未经加工的和经过加工的各类食品样品基质中的完整的醇溶谷蛋白，覆盖了重要的无麸质食品种类，包括大米基和玉米基食品、大豆、淀粉、假谷、豆类、调味料、果汁类、巧克力坚果酱、鲜奶酪、香蒜酱、肉类、植物基蛋白肉类、饼干、甜品、蛋糕、鱼类、面包、糖果和土豆制品等。本夹心法酶联免疫试剂盒可以定量检测小麦中完整的麦胶蛋白，及黑麦和大麦中完整的相关蛋白。本方法不适用于定量检测经过发酵或水解的麸质。

本试剂盒也适用于检测其他种类的食品，建议使用者在检测前对样品的适用性进行确认或验证。

请参看德国拜发集团的产品验证报告了解产品的验证数据和技术详情。德国拜发集团的实验室持续地对不同种类样品进行验证并推出相应的样品处理方法说明（参见说明书 15. 其他样品处理方法），可供全球客户参考使用。

所有的样品都要使用 **Cocktail Solution** 样品处理缓冲液（订货号：R7006 / R7016, 官方正式的 **R5** 抗体 **Mendez** 方法）进行样品提取处理。

可以使用环保的 **Cocktail Eco** 提取液（订货号：R7080）来进行快速的样品提取，从而进行筛查检测。与官方方法中要求的使用 **Cocktail**（专利）缓冲液进行样品提取相比，使用环保的 **Cocktail Eco** 提取液来进行样品提取，提取效率大约为官方方法的 70-110% 左右。

2. 概要

小麦粉及麸质因其耐热性和诸如质地、缩水性和芳香等方面的特性被极为普遍地用作食品原材料。麸质蛋白是醇溶谷蛋白和麦谷蛋白的混合物，存在于小麦、黑麦和大麦中。乳糜泻是因对麸质蛋白的不耐性而导致的常发性疾病，若避免食用麸质蛋白，则该病自消。

根据 **Codex Alimentarius** 食品法典（**CODEX STAN 118-1979**），将食品中麸质含量的标签标注分为两个等级：

1. “无麸质”食品，为含有不超过 20 mg/kg 的麸质蛋白的食品。
2. 标签上标注为“含有极少量麸质”的产品，其中允许含有超过 20 mg/kg 的麸质蛋白，但最多不能超过 100 mg/kg。

20 mg/kg 麸质这个限量值被很多国家的相关法规所采纳和使用。麸质中醇溶谷蛋白的含量在食品法典 **CODEX STAN 118-1979** 中被定义为 50%。

3. 检测原理

检测的基础是抗原抗体反应。微孔板中包被有针对醇溶谷蛋白的 **R5** 特异性抗体。加入标准品或样品，其中含有的醇溶谷蛋白和特殊的捕获抗体结合形成抗体抗原复合物。没有结合的部分在洗涤步骤中被除去。随后加入过氧化物酶标记的抗体。抗体酶连接物和抗体抗原复合物结合，形成抗体-抗原-抗体复合物（三明治）。没有结合的抗体酶连接物在洗涤步骤中被除去。将底物和发色剂加入孔中孵育。和抗体结合的酶将无色的发色剂转化为蓝色的产物。加入反应终止液后使颜色由蓝色转变为黄色。在 450 nm 处测量。吸光度值与样品中的醇溶谷蛋白浓度成正比。检测结果为 ng/mL 醇溶谷蛋白。

4. 试剂盒组份

每一个盒中的试剂足够进行 96 个试验（包括标准测定），盒中的组份如下：

试剂盒中的组份	瓶盖颜色	试剂状态	含量
Microtiter plate 微孔板	-	即开即用型	96 孔

Buffer 缓冲液	白色	浓缩液	5 倍浓缩	60 ml
Standard 1 标准品 1	透明	即开即用型	0 ng/ml Gliadin	1.3 ml
Standard 2 标准品 2	透明	即开即用型	5 ng/ml Gliadin	1.3 ml
Standard 3 标准品 3	透明	即开即用型	10 ng/ml Gliadin	1.3 ml
Standard 4 标准品 4	透明	即开即用型	20 ng/ml Gliadin	1.3 ml
Standard 5 标准品 5	透明	即开即用型	40 ng/ml Gliadin	1.3 ml
Standard 6 标准品 6	透明	即开即用型	80 ng/ml Gliadin	1.3 ml
Wash buffer 洗涤缓冲液	棕色	浓缩液	10 倍浓缩	100 ml
Conjugate 酶标记物	红色	浓缩液	11 倍浓缩	1.2 ml
Substrate 底物	绿色	即开即用型		7 ml
Chromogen 发色剂	蓝色	即开即用型		7 ml
Stop solution 终止液	黄色	即开即用型		14 ml

5. 另需的试剂和设备

5.1. 设备:

- 实验室手套
- 天平（量程至少为 50 g，精度为 ± 0.01 g）
- 搅拌棒、均质器、匀浆机
- 离心机（至少 2500 g），离心管（例如 Greiner 的 50 mL 离心管）
- 振荡器
- 水浴（60 °C 和 100 °C，请注意了解水浴锅的温度偏差情况）
- 槽状滤纸（孔径 8 - 12 μ m）
- 移液管
- 量筒
- 可调式 20 μ l - 200 μ l 和 200 - 1000 μ l 微量移液器
- 选配：空白 96 孔板（例如 Thermo Fisher Scientific 订货号 95029390，或 Greiner bio-one 订货号 655901）
- 选配：8 道排枪（100 μ l）
- 微孔板酶标仪（450 nm）
- 德国拜发专业分析软件 RIDASOFT® Win.NET (订货号：Z9996FF)

5.2. 试剂:

- 蒸馏水或去离子水
- 不含麸质的脱脂奶粉（食品级）
- **Cocktail (patented)** 提取液，订货号：R7006 / R7016，（105 ml / 1000 ml）。
- 乙醇溶液（80 %）：取 120 ml 乙醇与 30 ml 蒸馏水充分混合

6. 操作者应该注意之事项

建议由经过相关培训的实验人员进行本试剂盒的使用操作。请严格按照说明书的要求使用本试剂盒。

试剂盒中可能含有对健康有害的物质。

请在德国拜发集团官方网站 www.r-biopharm.com 上获取 MSDS，了解关于本试剂盒内所含化学品的安全信息。

板孔（试剂盒中提供的预包被微孔板，及 10.2 中提到的额外的预混板）均不可二次使用。每个标准品和样品取液时均需要换新枪头，以避免交叉污染。请在移取不同的标准品及样品时，均换用新的干净的移液头，避免交叉污染。

Cocktail (patented) 提取缓冲液中含有巯基乙醇。建议在通风橱里进行操作。请避免接触皮肤（请戴实验手套！）。

所有试剂和材料在使用后必须按照保护人类和环境的要求进行回收或独立处置。请遵守相应的国家法规（如《循环管理法》、《危险物质条例》等）。

7. 储存条件

保存试剂盒于 2 - 8 °C，不要冷冻。

请在回温到室温（20 - 25 °C）后，再打开铝箔袋取出其中的微孔板，以避免在微孔板孔中形成冷凝水。

将不用的微孔板放进原锡箔袋中并且与提供的干燥剂一起重新密封储存于 2 - 8 °C 条件下。

无色发色剂对光敏感，因此要避免直接暴露在光线下。

对过了有效期（见试剂盒标签）的试剂盒不再提供任何质量保证。

不能交叉使用不同批号的盒中试剂。

8. 试剂变质的迹象

- 发色剂在使用前颜色变蓝

-标准品 6 的吸光度值小于 1.2 ($A_{450\text{ nm}} < 1.2$)

9. 样品处理

进行操作和样品提取前，请先戴上实验室手套。空气中含有谷物粉尘以及受污染的实验室设备会导致检测过程被醇溶谷蛋白污染。因此建议采取以下措施：

- 器物表面、玻璃容器、粉碎机和其他的设备用 40 %乙醇或者异丙醇清洁
- 样品处理和 ELISA 酶联免疫分析应在独立的房间进行
- 试剂和设备使用 RIDA® QUICK Gliadin (订货号：R7003 / R7004 / R7005) 快速检测条检测是否存在醇溶谷蛋白污染
- 建议在通风厨中进行与 Cocktail (patented) 提取缓冲液相关的操作，因为 Cocktail (patented) 样品处理缓冲液中含有 β -Mercaptoethanol β -巯基乙醇
- β -Mercaptoethanol β -巯基乙醇会破坏后面的 ELISA 反应。所以需要将处理好的样品进行至少 1:500 的稀释
- 样品须冷藏避光保存

9.1. 用 Cocktail (patented) 样品处理缓冲液提取 (订货号：R7006 / R7016, AOAC 官方标准检测方法)

取足够大量的样品 (至少 50 g 或 50 ml)，充分均质 (仔细捣碎，碾磨，充分混合)，以确保所取的和制备的是足够有代表性的样品。

- 液态食品样品：0.25 ml 均质样品中加入 2.5 ml Cocktail (patented) 提取液，密闭上容器并充分混合
- 其他食品样品 (例如含有大豆或小米的食品样品)：称取 0.25 g 均质样品，加入 2.5 ml Cocktail (patented) 提取液，密闭上容器并充分混合
- 含有丹宁和多酚的食品样品 (如巧克力、咖啡、可可、板栗粉、荞麦、藜麦和调味料)：称取 0.25 g 均质样品，加入 0.25 g 脱脂奶粉和 2.5 ml Cocktail (patented) 提取液，密闭上容器并充分混合
- 肉类和香肠样品：这类食品中麦胶蛋白的含量可能非常不均衡，所以称取样品 5 应足够量大并且足够代表性，同时确保样品彻底均质均匀：称取 0.25 g 均质样品，加入 2.5 ml Cocktail (patented) 样品处理缓冲液，密闭上容器并充分混合
- 燕麦样品：样品中的麸质分布可能不均匀，而且此类样品比较难均质。因此，取至少 200 g 样品进行均质，然后，提取至少四倍以上标准量的样品用于检测：称取 1 克均质后的样品，加入 10 ml Cocktail (patented) 样品处理缓冲液，密闭上容器并充分混合。

请按照以下步骤对样品进行提取操作：

- 50 °C 水浴条件下孵育 40 分钟

- 样品快速冷却（1 - 3 分钟）
然后加入 7.5 ml 80 %乙醇（参见 5.2.）（针对燕麦样品“加入 30 ml 80%的乙醇”），盖紧，彻底混匀
- 在室温条件下（20 - 25 °C）回旋振荡或借助旋转器振荡 1 小时
- 离心：10 min / 至少 2500 g / 室温（20 - 25 °C），或过滤。
（也可以取 2 ml 提取液加入到新的试管中，10 分钟 > 10000 g 高速离心）
- 上清液收集于可密闭的干净试管中
- 若在离心后仍然无法得到无颗粒的澄清上清液，则可再进行过滤
- 离心或过滤后得到的上清液可置于密封管中，在未经稀释的情况下，则可在室温（20 - 25 °C）条件下暗处保存约 8 周左右。
- 离心或过滤后得到的上清液，需要在检测前，使用缓冲液进行稀释（参见 10.2.）。稀释后的样品提取液不稳定，必须在 30 分钟内被用于检测。

10. 检测步骤

10.1. 检测前的准备

使用之前将所有试剂回温至室温（20 - 25 °C）。

样品缓冲液为 5 倍浓缩液。检测当日取需要的缓冲液按比例 1:5（1+4）用蒸馏水稀释（例如：3 ml 浓缩液 + 12 ml 蒸馏水，足够用于 10 份样品的稀释）。应确保缓冲液不被醇溶谷蛋白污染。

酶连接物（红色瓶盖）为 11 倍浓缩液。由于稀释的酶连接物的弱稳定性，所以只稀释实际需用量的酶连接物。在吸取浓缩液之前，要轻轻的振摇以便充分混均。用蒸馏水以 1:11（1+10）的比例稀释酶连接物浓缩液（例如：200 µl 浓缩液 + 2.0 ml 蒸馏水，足够 2 个微孔板条用）。注意水不要被醇溶谷蛋白污染。

洗涤缓冲液为 10 倍浓缩液，在使用前必须按比例 1:10（1+9）用蒸馏水稀释（例如：100 ml 缓冲液浓缩液 + 900 ml 蒸馏水）。在稀释前注意，如果存在结晶，应在 37 °C 水浴锅中加热完全溶解。稀释后的缓冲液在 20 - 25 °C 条件下可保存 4 周。

其他不使用的试剂请立刻放回冰箱 2 - 8 °C 保存。

10.2. 检测操作

按照 9.1. 处理得到的样品提取液，必须在检测前用稀释后的缓冲液（参见 10.1.）进行 1:12.5（1 + 11.5）的稀释（例如 920 µl 稀释后的缓冲液 + 80 µl 样品提取液）。最终的稀释倍数为 500。

稀释后的样品提取液请立即（30 分钟内）用于检测。若放置时间太长会影响检测的回收率。

仔细洗板非常重要。避免在操作过程中微孔出现干燥。

每次检测不应使用多于 6 条微孔板条（48 孔）。若必须使用多于六条微孔板条，建议另外取用一块空白的干净的微孔板（参见 5.1）作为预混板使用，以去除因为单孔加样而带来的孔与孔之间的反应时间差。即将所有的标准品和样品都先加入到预混板中（至少 150 μl 每孔），然后使用八道移液器将预混板孔中的液体快速地准确移加 100 μl 到试剂盒的反应板孔中。

建议酶标记物、底物/发色剂和终止液的加取均使用多道移液器或分液器，以减少加液上板的孔间时间差。

1. 将足够标准品和样品检测所需数量的孔条插入微孔板架，均做两个平行实验，记录下标准品和样品的位置。
2. 将 100 μl 标准品及按照 9.样品处理方法处理好并按照 10.2.稀释后的样品溶液加到相应的微孔中，均做两个平行实验。在室温条件下（20 - 25 $^{\circ}\text{C}$ ）孵育 30 分钟。
3. 倒出孔中的液体，将微孔板架倒置在吸水纸上拍打（每轮拍打 3 次）以保证完全除去孔中的液体。每孔加入 250 μl 稀释后的洗涤缓冲液（参见 10.1.）洗涤微孔。上述操作重复进行两遍（总共三次洗板）。
4. 向每一个微孔中加入 100 μl 稀释后的酶连接物溶液（参见 10.1.），在室温条件下（20 - 25 $^{\circ}\text{C}$ ）继续孵育 30 分钟。
5. 倒出孔中的液体，将微孔板架倒置在吸水纸上拍打（每轮拍打 3 次）以保证完全除去孔中的液体。每孔加入 250 μl 稀释后的洗涤缓冲液（参见 10.1.）洗涤微孔。上述操作重复进行两遍（总共三次洗板）。
6. 向每一个微孔中加入 50 μl 底物和 50 μl 发色剂，充分混合后在室温（20 - 25 $^{\circ}\text{C}$ ）条件下暗处孵育 30 分钟。
7. 向每一个微孔中加入 100 μl 反应终止液，充分混合。在加入反应终止液后 30 分钟内于 450 nm 处测量吸光度值。

11. 结果评估

请使用 R-Biopharm 德国拜发公司专门为 RIDASCREEN[®] 系列产品设计的应用软件 RIDASOFT[®] Win（订货号：Z9996FF）来进行结果分析。使用 Cubic spline 功能进行结果评估。

进行样品的结果评估前，请确认该次检测的数据结果尤其是标准曲线，是符合基本评估要求的。关于标准曲线请参看试剂盒中附带的质保证书。

本试剂盒也可以使用单孔检测。良好的单孔检测操作，不会影响试剂盒的性能。但若使用单孔检测，请在 RIDASOFT[®] Win 软件中正确选择单点检测设置。不建议将单孔检测的方法设立为常规检测方法。建议实验室按照自身情况，对若使用单孔检测时可能存在的风险进行风险管理分析。友情提示，单孔检测的方法不符合 EN 15633-1 和 EN 15842 标准的要求，也与 AOAC 认证的方法不符。在单孔检测的情

况下，检测过程中出现错误（例如移液错误）但被忽视的可能性是会大大增加的。此外，单孔检测也可能会引致检测结果出现更大的偏差。

从 RIDASOFT® Win 软件的标准曲线上读出的醇溶谷蛋白浓度为 ng/ml (ppb)，其必须乘以相对应的至少 500 倍的稀释倍数。此结果再乘以 2 可以得到麸质蛋白的浓度（Codex 定义的麦胶蛋白含量一般为麸质蛋白的 50 %）。RIDASOFT® Win 软件（1.93 或更新的版本）分析的结果表示为醇溶谷蛋白和麸质的结果。

计算举例：

某样品的吸收值对应标准曲线中浓度为 10 ng/ml 的醇溶谷蛋白。乘以建议的稀释倍数 500 得到 5000 ng/ml 即 5 mg/kg (ppm) 醇溶谷蛋白，也就是 0.0005 %醇溶谷蛋白。再乘以 2 得到麸质蛋白含量为 10 mg/kg (ppm) (0.001 %麸质蛋白)。此样品可视为“无麸质”，因为其浓度小于 20 mg/kg (ppm)。

12. 结果分析

在 LOD 和 LOQ 浓度范围之间的检测结果，指示所检测的样品中含有少量的目标检测物（花生）。在这个范围区间内的浓度，是普遍存在比较大的变异性和不确定性的，请周知。建议不将落在此范围区间内的浓度值直接采纳为定量检测结果值进行报告，而是报告为 < LOQ 的形式。

低于 LOD 浓度范围的检测结果，并不能完全排除样品中没有低于 LOD 浓度的麸质污染的可能性，包括其他成份例如脂。在出具检测结果报告时请给予相应的考量和正确的表述。

检测结果若超出了试剂盒标准 6 的浓度，则需要将样品进行进一步的稀释后再重新检测。请按照 9.1.的描述，用缓冲液进行 1:12.5 的稀释。然后，将稀释样液再使用下面的混合液进行继续稀释：

- 含 2%的 Cocktail (patented) 缓冲液
- 含 6% 的 80%乙醇
- 含 92% 的缓冲液

相当于，例如 100 µl Cocktail (patented) 缓冲液 + 300 µl 80%乙醇 + 4600 µl 缓冲液。只有使用这个混合液进行后续样品稀释，才能保证进一步稀释的样品，其溶剂体系与 9.1.样品处理后的溶剂体系一致。

若所得到的标准曲线的 OD 吸光度值显著高于试剂盒中质保证书给出的标准曲线的 OD 吸光度值，尤其是当零标准品出现这个情况的时候，很可能该次检测的洗板不充分或者检测过程中被过敏原污染。

13. 方法局限性

样品的基质、检测操作过程和检测实验室环境，都可能直接影响检测结果。

检测限和定量限直接与不同的样品基质、样品的被加工程度及样品提取效果相关。

检测结果超出试剂盒曲线范围，则无法保证其仍具有良好的回收率等技术性能。因此，尤其是那些正好位于本方法技术性能限制节点浓度（如位于检测限浓度、定量限浓度、检测范围上限浓度点）的样品，可能出现节点周围（或检查范围内、或检测范围外）的波动。因此，在测定回收率时，请规避检测曲线范围的起始点（LOD, LOQ）和终点（最大标准曲线浓度点）这样的绝对值浓度，而是选取在曲线范围中部区间的浓度。

样品称量的偏差可以直接导致检测结果的偏差（例如，称量时多了 10%，则检测结果浓度也会高出 10%）。若要得到可靠并有效的检测结果，则样品称量的偏差应该不得超过 $\pm 1\%$ 。

请联系德国拜发获取本试剂盒产品的详细验证报告，了解其他食品样品的检测性能情况。德国拜发的产品验证报告中，包含有国际联合实验室间验证及国际环形实验的数据。

本试剂盒的验证选取的是部分有代表性的样品基质。若需要检测未经德国拜发验证的样品基质，则建议用人工加标实验的方法进行该基质的性能验证。同时建议对有需要的样品基质进行验证。

食品的基质多种多样，因此无法完全保证检测彻底不受样品基质的干扰。样品基质干扰可能导致假阳性或偏高的检测结果，也可能因为存在抑制效应而导致偏低的检测结果。样品基质干扰与本试剂盒所使用的抗体的特异性无关，可通过人工加标实验的方法进行证实。

在样品提取或检测的过程中引入外来蛋白（例如 BSA、鱼胶原蛋白或脱脂奶粉），可以在某种程度上抑制基质干扰。

在加工（加热、烘干）食品的过程中，蛋白质可能会出现变性等变化，以及/或者变成片段，从而导致针对此类样品基质的交叉反应结果出现改变。

交叉反应是指抗体在捕获目标抗原的同时，附带地也将与目标抗原类似的位点捕获而产生的一种附带反应。尤其是抗原的类似物种容易发生交叉反应。与基质干扰不同，交叉反应是抗原抗体间的一种特殊反应。在外环境影响（如加热、干燥）下，某些类似抗原物会出现结构上的改变从而令其结果上与目标检测抗原非常接近。因此，在食品加工过程后，会出现交叉反应增强或者减弱的情况。

在测定交叉反应时，所选用的是具有代表性的样品，但不排除其他样品可能带来结果的偏差。德国拜发集团提供的试剂盒国际验证报告中，已明确列出了试剂盒性能测试中使用的样品和基质。

不同品种的小麦、黑麦和大麦中的蛋白含量和蛋白构成可能各有不同，因此可能导致检测结果出现不同的偏差性。

R5 抗体的主要捕获位点是氨基酸肽段 QQPFP，这也正是乳糜泄毒性片段的肽段部分。这个片段在小麦、黑麦和大麦的醇溶谷蛋白中都存在。然而，这个片段在黑麦和大麦中的出现频率高于在小麦中的出现频率，因此在使用小麦标定的情况下黑麦和大麦的检测结果会偏高。

最新的研究发现，小麦中醇溶谷蛋白和麸质的实际换算比例应为大约 1.5。但食品法典 Codex Alimentarius 仍然保持的正式换算比例是 2。

14. 建议

为了获得更好的检测效果，我们建议：

- 按照 EN 15633-1 和 15842 标准的要求来进行检测，例如每个样品均进行双平行检测。
- 在取液加样前，使用对应的标准品或样品液预润移液器枪头。
- 检测样品的同时进行质控样品的检测，以确定检测的效果和正确性。使用不含麸质的阴性样品和人工添加麸质的阳性样品作为质控样品进行检测。德国拜发的验证报告中给出了进行样品人工添加的示例。
- 针对强酸性或强碱性样品，需要在检测前先将其 pH 值调整至中性（6.5 至 7.5 间）。
- 可使用 SureFood® 系列 PCR 检测试剂盒来进行结果验证
- 在啤酒或发酵类食品种类的生产过程中，蛋白质通常被片段化了。夹心法 ELISA 检测蛋白质片段的回收率是较低的。因此针对此类样品，请使用竞争性 ELISA 方法即 RIDASCREEN® Gliadin competitive 麸质竞争法检测试剂盒（订货号：R7021）进行检测
- 若需要配合全自动工作站例如 Thunder Bolt® / Bolt 进行全自动检测操作，请联系德国拜发 R-Biopharm 集团 info@r-biopharm.de 了解详情

15. 其他样品处理方法

- 使用 RIDA® Extraction Solution（colorless）提取缓冲液（无色）（订货号：R7098）检测加工食品的方法 - 仅仅适用于经过了验证实验的情况
- 使用乙醇提取法检测生食类
- 使用乙醇添加鱼胶的方法检测含有多酚的样品（如巧克力、咖啡、可可、荞麦等）
- RIDASCREEN®FAST 过敏原检测试剂盒系列 - 拭子法定性检测生产线或设备表面上的过敏原

欢迎联系德国拜发 R-Biopharm 集团了解更多产品和检测方法的相关信息！

参考文献

- [1] Lacorn et al. (2021) Determination of Gliadin as a Measure of Gluten in Food by R5 sandwich ELISA RIDASCREEN® Gliadin Matrix Extension: Collaborative Study 2012.01, J. AOAC Int (publication in progress).
- [2] Schall, E., Scherf, K.A., Bugyi, Z., Hajas, L., Török, K., Koehler, P., Poms, R.E., D' Amico, S., Schoenlechner, R., & Tömösközi, S. (2020) Food Chem. 313, 126049.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126049>.
- [3] Wieser et al.: Celiac Disease and Gluten. (2014) Elsevier Inc. Amsterdam, ISBN 978-0-12-420220-7, Seite 107.
- [4] Wieser, H. & Koehler, P. (2009) Eur. Food Res. Technol. 229, 9-13.

图标解释

- 通用图标:

-  参照产品说明书
-  批号
-  保质期 (年-月)
-  贮存温度
-  订货号
-  检测样品量
-  生产日期 (年-月)
-  生产商 + 地址

声明

用户承担使用产品和服务的全部风险。R-Biopharm AG 将保证其产品和服务符合 R-Biopharm AG 设定的所有质量控制标准，并且 R-Biopharm AG 可以选择更换或维修在以下方面存在缺陷的任何组件，产品或重复服务：产品特定保修期内或有效期之内的工艺或材料，并且经核查应披露其本身具有的缺陷。该保证明确替代关于质量，描述，对任何特定目的的适用性，适销性，生产率或任何其他事项的所有其他明示或暗示的保证。R-Biopharm AG 对产品的正确使用不承担任何责任，并因此不承担法律或其他方式产生的所有其他明示或暗示的补救，保证，担保或责任，或与使用任何产品或服务有关的直接或间接损害，并且对任何利润损失概不负责。除非通过 R-Biopharm AG 授权代表签署的书面文书，否则本担保不可以扩展，更改或更改。