



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

**Art. No. R7102**

Test immunoenzimatico per l'analisi quantitativa di  
proteine di soia

Test in vitro

Conservare a 2 - 8 °C

Prodotto da:  
R-Biopharm AG  
An der neuen Bergstraße 17  
D-64297 Darmstadt  
[www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com)

Per informazioni:

Telefono:

Centralino (0 61 51) 81 02-0

Telefax / E-Mail:

Ordini (0 61 51) 81 02-20  
[orders@r-biopharm.de](mailto:orders@r-biopharm.de)

Marketing

(0 61 51) 81 02-40  
[info@r-biopharm.de](mailto:info@r-biopharm.de)

Distribuito da:

R-Biopharm Italia Srl  
Via Morandi, 10  
20077 Melegnano MI  
Telefono 02 9823 3330  
[info@r-biopharm.it](mailto:info@r-biopharm.it) - [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com)

RIDA® e RIDASCREEN®  
sono marchi registrati della R-BIOPHARM AG  
Produttore: R-BIOPHARM AG, Darmstadt, Germania

R-BIOPHARM AG è certificata ISO 9001

# RIDASCREEN®FAST Soya

## Introduzione

RIDASCREEN®FAST Soya (Art. No. R7102) è un saggio immunoenzimatico a sandwich per l'analisi quantitativa di proteine di soia in alimenti e bevande non trattati e processati.

Tutti i reagenti richiesti per il saggio immunoenzimatico – inclusi gli standard – sono contenuti nel kit.

Il kit è sufficiente per 48 determinazioni (inclusi gli standard).

Per la quantificazione è richiesto un lettore per micropiastre.

Preparazione del campione:

omogeneizzazione ed estrazione

Tempo richiesto:

preparazione dei campioni (10 campioni) ..... ca. 25 min  
esecuzione del test (tempo d'incubazione) ..... 30 min

Calibratore:

proteine di soia (farina di soia con il 39% di proteine)

limite di rilevabilità:

0.24 mg/kg (ppm) di proteine di soia

limite

di quantificazione:

2.5 mg/kg (ppm) di proteine di soia

Specificità:

Gli anticorpi individuano in modo specifico le proteine di soia. (L'estrazione del campione a **100°C per 10 min** garantisce che tutte le proteine di soia vengano denaturate e possano essere rilevate tramite ELISA)

E' stata rilevata una cross-reattività con i legumi della famiglia delle Phaseoleae (es. fagioli) , legumi del genere *Vicia* (es. fave), piselli secchi / farina di piselli e arachidi.

La cross-reattività degli anticorpi utilizzati è stata determinata per le materie prime (ad esempio, farina di mais). In alimenti composti o trattati (ad esempio il pane di mais) le cross-reattività potrebbero essere diverse. Le sostanze interferenti (ad esempio polifenoli) possono essere rilevate con prove di contaminazione.

Al fine di aumentare la qualità della valutazione durante l'esecuzione di metodi ELISA, è disponibile la nostra guida Good ELISA Practice (GEP) che elenca gli standard minimi e le procedure concernenti le condizioni generali di utilizzo dei kit per analisi di R-Biopharm AG e di esecuzione dei test ELISA. Il manuale può essere recuperato, stampato e scaricato dal sito web <http://www.r-biopharm.com/products/food-feed-analysis>.

## **Prodotti correlati**

RIDA®QUICK Soya (Art.No. R7103)

Set of 3 processed Soya Assay Controls (Art.No. R7132)

SureFood® ALERGEN ID 4plex Soya/Celery/Mustard + IAC (Art.No. S3401)

SureFood® ALERGEN ID Soya (Art.No. S3101)

SureFood® ALERGEN QUANT Soya (Art.No. S3201)

## **1. Scopo**

RIDASCREEN®FAST Soya (Art. No. R7102) è un saggio immunoenzimatico a sandwich per l'analisi quantitativa di proteine di soia native e processate in alimenti. Tali prodotti sono bevande come insaccati, condimenti, prodotti da forno, gelati, cioccolato, zuppe, salse, margarina, ecc.

## **2. Generale**

Le proteine di soia possono essere presenti come ingrediente o come contaminazione in prodotti grezzi e trasformati. In base alla **direttiva EU 1169/2011** la soia deve essere dichiarata nelle etichette degli alimenti perché può causare reazioni allergiche. Regolamenti analoghi esistono ad esempio negli Stati Uniti, Canada, Australia e Nuova Zelanda.

I germogli di soia (semi maturi, crudi) contengono ca. il 35% di proteine. Le proteine di soia hanno una composizione, in amminoacidi, simile a quella delle proteine di origine animale e contengono un'elevata percentuale di amminoacidi essenziali. Pertanto la soia è una delle poche piante considerata come fonte proteica ed è ampiamente utilizzata in sostituzione alle proteine di origine animale (ad esempio nel tofu, nel latte di soia o nello yogurt di soia). Oltre ad avere un

elevato contenuto proteico, i semi di soia sono anche ricchi di grassi (circa 20%) e sono utilizzati per la produzione di oli e grassi. L'utilizzo di soia in alimenti e mangimi è fortemente aumentato negli ultimi decenni, portando così ad un aumento delle reazioni allergiche.

### **3. Principio del test**

I pozzetti della micropiastra sono rivestiti con anticorpi specifici diretti contro le proteine di soia. Aggiungendo ai pozzetti gli standard o la soluzione col campione, le proteine di soia presenti si legano con gli anticorpi specifici. Il risultato è la formazione di un complesso antigene-anticorpo. I componenti non legati sono rimossi con un lavaggio. Si aggiunge quindi l'anticorpo coniugato con perossidasi (enzima coniugato), che si lega al complesso antigene-anticorpo dando luogo a un complesso anticorpo-antigene-anticorpo (sandwich). Dopo la rimozione mediante lavaggio del coniugato all'enzima non legato, si aggiunge la soluzione di substrato/cromogeno. L'enzima coniugato legato converte il cromogeno in un prodotto blu. L'aggiunta della soluzione di stop porta al viraggio del colore dal blu al giallo. La misurazione fotometrica viene eseguita a 450 nm. I valori di assorbimento sono proporzionali alla concentrazione di proteine di soia nel campione. I risultati sono espressi in mg/kg di proteine di soia.

### **4. Materiale fornito**

Ciascun kit contiene materiale sufficiente per 48 misurazioni (incluse le analisi degli standard). Ciascun kit contiene:

Componente	Colore Tappo	Formato		Volume
<b>Micropiastra</b>	-	Pronta all'uso		48 pozzetti
<b>4 x Extractor 3</b>	Marrone	Pronto all'uso		30 ml
<b>Allergen Extraction buffer</b>	Verde	<b>Concentrato</b>	<b>10x</b>	100 ml
<b>Standard 1*</b>	Trasparente	Pronto all'uso	0 mg/kg	1.3 ml
<b>Standard 2*</b>	Trasparente	Pronto all'uso	2.5 mg/kg	1.3 ml
<b>Standard 3*</b>	Trasparente	Pronto all'uso	5.0 mg/kg	1.3 ml
<b>Standard 4*</b>	Trasparente	Pronto all'uso	10.0 mg/kg	1.3 ml
<b>Standard 5*</b>	Trasparente	Pronto all'uso	20.0 mg/kg	1.3 ml
<b>Tampone di lavaggio</b>	Marrone	<b>Concentrato</b>	<b>10x</b>	100 ml
<b>Coniugato</b>	Rosso	<b>Concentrato</b>	<b>11 x</b>	0.7 ml
<b>Substrato/Cromogeno</b> Red Chromogen Pro	Marrone	Pronto all'uso		10 ml
<b>Soluzione di stop</b>	Giallo	Pronto all'uso		14 ml

\*) Il **fattore di diluizione pari a 100** per il campione è già stato considerato. Pertanto, le concentrazioni delle proteine di soia nei campioni possono essere lette direttamente dalla curva standard.

## 5. Materiale richiesto ma non fornito:

### 5.1. Attrezzatura:

- lettore per micropiastre (450 nm)
- centrifuga e provette per centrifuga
- miscelatore
- bagnetto termostato (60 °C / 140 °F e 100 °C / 212 °F)
- macinino da laboratorio / pestello e mortaio, Ultra-Turrax oppure omogenizzatore
- carta da filtro
- pipette graduate
- micropipette a volume variabile da 20 - 200 µl e 200 - 1000 µl
- se possibile pipette multicanale e/o pipetta multistepper

### 5.2. Reagenti:

- acqua distillata o deionizzata
- per la preparazione di campioni contenenti tannini e polifenoli: caseina (esempio Signa C5890) e polyvinylpyrrolidon (PVP) K15 oppure K17 (esempio AppliChem A2258).

## **6. Avvertenze e precauzioni per gli utilizzatori**

Il kit deve essere utilizzato da personale di laboratorio qualificato. Le istruzioni per l'uso devono essere seguite scrupolosamente.

Questo kit può contenere sostanze pericolose. Per le informazioni sulla pericolosità delle sostanze contenute, consultare le schede di sicurezza (MSDS) appropriate per questo prodotto, disponibili online all'indirizzo [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

## **7. Conservazione**

Conservare il kit a 2 - 8 °C (35 - 46 °F). Non congelare alcun componente del kit.

Riporre i pozzetti inutilizzati nella busta originaria, richiuderli nella confezione insieme all'essiccante fornito e conservarli a 2 - 8 °C (35 - 46 °F).

La soluzione substrato/cromogeno è fotosensibile, evitare pertanto di esporla a luce diretta.

La garanzia di qualità scade alla data di scadenza riportata sulla confezione del kit.

Non scambiare singoli reagenti appartenenti a kit con numero di lotto differente.

## **8. Indicazioni di instabilità o deterioramento dei reagenti**

- qualsiasi colorazione bluastra della soluzione substrato/cromogeno normalmente rossa, prima dell'esecuzione del test
- un valore inferiore a 0.8 unità di assorbanza ( $A_{450\text{ nm}} < 0.8$ ) per lo standard 5
- Extractor 3 inodore dopo ripetute aperture della bottiglia; l'Extractor 3 dovrebbe avere un odore di mercaptoetanol (uova marce). (Per verificare, fare muovere aria sulla bottiglia aperta).

## **9. Preparazione dei campioni**

Strumenti come il macinino da laboratorio devono essere meticolosamente puliti prima e dopo l'uso, per evitare lo spargimento di tracce di allergene e contaminazioni.

L' **Allergen Extraction buffer** è fornito **concentrato 10X**. Prima della diluizione del tampone concentrato sciogliere eventuali cristalli mediante riscaldamento a 37 °C (98.6 °F) in un bagnetto termostatico e mescolare accuratamente. Successivamente diluire il tampone riscaldato concentrato **1:10 (1+9) con acqua distillata** prima di utilizzarlo (es. 100 ml di tampone concentrato + 900 ml di acqua distillata). L' Allergen Extraction buffer diluito è stabile a 2-8 °C (35.6 – 46.4 °F) per circa 12 settimane. Si raccomanda di lavorare sotto cappa chimica a causa della presenza di  $\beta$ - mercaptoetanololo nell' Extractor 3. Il pH del campione deve essere neutro.

#### 9.1. Estrazione di campioni solidi (**senza** caseina)

- omogeneizzare bene un quantitativo sufficiente di campione (5 - 50 g)
- pesare 1 g di campione omogeneizzato, aggiungere 2.5 ml di Extractor 3 e 17.5 ml di Allergen Extraction Buffer (AEB) preriscaldato (60°C/140°F) e diluito, chiudere la provetta, mescolare energicamente e riscaldare per **10 minuti a 100° C/212° F** in un bagno d'acqua. (l'intera provetta contenente il campione deve essere coperta con acqua bollente)
- lasciare raffreddare il campione (ad esempio in un bagno di ghiaccio) e centrifugare 10 min, almeno 2500 g, se possibile, a 4°C (39°F) e / o filtrare l'estratto (In alternativa centrifugare 2 ml di estratto ad alta velocità per 10 min in provette di reazione utilizzando una microcentrifuga)
- diluire l'estratto 1:5 (1+4) con l' Allergen Extraction Buffer diluito (esempio 100 µl di campione estratto + 400 µl di Allergen Extraction Buffer diluito)
- utilizzare 100 µl per pozzetto

#### 9.2 Estrazione di campioni liquidi (**senza** caseina)

- prelevare 1 ml di campione, aggiungere 2.5 ml di Extractor 3 e 16.5 ml di Allergen Extraction Buffer (AEB) preriscaldato (60°C/140°F) e diluito, chiudere la provetta, mescolare energicamente e riscaldare per **10 minuti a 100° C/212°F** in un bagno d'acqua (l'intera provetta contenente il campione deve essere coperta con acqua bollente)
- lasciare raffreddare il campione (ad esempio in un bagno di ghiaccio) e centrifugare 10 min, almeno 2500 g, se possibile, a 4°C (39°F) e/o filtrare

- l'estratto (In alternativa centrifugare 2 ml di estratto ad alta velocità per 10 min in provette di reazione utilizzando una microcentrifuga)
- diluire l'estratto 1:5 (1+4) con l' Allergen Extraction Buffer diluito (esempio 100 µl di campione estratto + 400 µl di Allergen Extraction Buffer diluito)
  - utilizzare 100 µl per pozzetto

### 9.3 Estrazione di campioni contenenti tannini e polifenoli quali spezie, cioccolato, caffè (**con** caseina e PVP)

Aggiungere all' Allergen Extraction Buffer (AEB) diluito, 0.25% di caseina e 1% di PVP per assicurare una corretta estrazione delle proteine di soia da spezie, cioccolato ed altre matrici contenenti polifenoli (per maggiori dettagli, richiedi il report di validazione). La solubilità dei componenti è migliore se la soluzione viene prima riscaldata a 60 °C / 140° F.

- omogeneizzare bene un quantitativo sufficiente di campione (5 - 50 g)
- pesare 1 g di campione omogeneizzato, aggiungere 2.5 ml di Extractor 3 e 17.5 ml di Allergen Extraction Buffer (AEB) preriscaldato (60°C/140°F) e diluito. Chiudere la provetta, mescolare energicamente e riscaldare per **10 minuti a 100° C/212° F** in un bagno d'acqua. (l'intera provetta contenente il campione deve essere coperta con acqua bollente)
- lasciare raffreddare il campione (ad esempio in un bagno di ghiaccio) e centrifugare 10 min, almeno 2500 g, se possibile, a 4°C (39°F) e / o filtrare l'estratto (In alternativa centrifugare 2 ml di estratto ad alta velocità per 10 min in provette di reazione utilizzando una microcentrifuga)
- diluire l'estratto 1:5 (1+4) con l' Allergen Extraction Buffer (esempio 100 µl di campione estratto + 400 µl di di Allergen Extraction diluito)
- utilizzare 100 µl per pozzetto

**Il tampone diluito caseina/PVP può essere conservato a 2-8°C (35-46°F) per 7 giorni. Il campione estratto può essere conservato a 2-8°C (35-46°F) per 3 giorni. L'estratto può essere conservato a -20°C (-4°F) per alcuni mesi.**

## .10. Esecuzione del test

## 10.1. Preparazione del test ELISA

Portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (20-25°C/68-77°F) prima dell'uso.

Il **coniugato** (flacone con tappo rosso) è fornito concentrato 11X. Dal momento che l'enzima coniugato diluito ha una stabilità limitata, è consigliabile ricostituire solo la quantità necessaria ad effettuare il dosaggio. Prima di pipettare l'enzima, agitarlo accuratamente. Ricostituire l'enzima coniugato concentrato diluendolo 1:11 (1+10) con acqua distillata (es. 200 µl di coniugato concentrato + 2.0 ml di acqua, distillata, sufficiente per 2 strip).

Il **tampone di lavaggio** è fornito concentrato 10X. Prima dell'uso il tampone deve essere diluito 1:10 (1+9) con acqua distillata (ad esempio 100 ml di tampone concentrato + 900 ml di acqua distillata). Prima della diluizione sciogliere eventuali cristalli mediante riscaldamento a 37°C (99°F) in un bagnetto termostatico. Il tampone di lavaggio diluito è stabile a 2-8°C (35-46°F) per 4 settimane.

## 10.2. Procedura per l'esecuzione del test

Eseguire attentamente la procedura di lavaggio raccomandata. Evitare l'asciugamento dei pozzetti tra i vari passaggi del test.

Non utilizzare più di 3 strip (24 pozzetti) alla volta. Nel caso di più di tre strip, deve essere utilizzata una seconda piastra non rivestita (ad es. a basso legame Greiner Bio-One Cat.-No. 655.101) per evitare un cambiamento di piastra nel corso del tempo. Tutti gli standard e i campioni devono essere aggiunti nella piastra non rivestita e poi rapidamente trasferiti nella micropiastra rivestita con una pipetta a 8 canali.

1. Inserire un numero sufficiente di pozzetti nel supporto per tutti gli standard e campioni da eseguire in duplicato. Registrare le posizioni assegnate agli standard e ai campioni.
2. Pipettare 100 µl di ciascuna soluzione standard o di campione preparato nei pozzetti corrispondenti e incubare per 10 minuti a temperatura ambiente (20-25°C/68-77°F).
3. Eliminare il liquido dai pozzetti e picchiettare energicamente per 3 volte la piastra capovolta su carta assorbente per eliminare ogni residuo di liquido. Riempire i pozzetti con 250 µl di tampone di lavaggio diluito e svuotarli nuovamente. Ripetere l'operazione di lavaggio altre due volte.

4. In ogni pozzetto aggiungere 100 µl di enzima coniugato diluito ed incubare per 10 minuti a temperatura ambiente (20-25°C/68-77°F).
5. Eliminare il liquido dai pozzetti e picchiettare energicamente per 3 volte la piastra capovolta su carta assorbente per eliminare ogni residuo di liquido. Riempire i pozzetti con 250 µl di tampone di lavaggio diluito e svuotarli nuovamente. Ripetere l'operazione di lavaggio altre due volte.
6. Aggiungere in ogni pozzetto 100 µl della soluzione substrato/cromogeno. Agitare delicatamente facendo oscillare manualmente la piastra e incubare per 10 minuti a temperatura ambiente (20-25°C/68-77°F) e al buio.
7. Aggiungere 100 µl di soluzione di stop in ogni pozzetto. Miscelare delicatamente facendo oscillare manualmente la piastra e leggere le assorbanze a 450 nm entro 10 minuti dall'aggiunta della soluzione di stop.

## 11. Risultati

Per la valutazione delle analisi eseguite con i kit per analisi immunoenzimatiche RIDASCREEN® è disponibile un apposito software, denominato RIDA®SOFT Win / RIDA®SOFT Win.net (cod. Z9996). Il calcolo deve essere fatto usando una funzione spline cubica. Il grafico della curva standard è riportato sul Certificato di Controllo di Qualità allegato ad ogni kit. Per il controllo di qualità è possibile utilizzare il set di controlli per la soia (R7132).

In confronto al certificato, valori di assorbanza più elevati ( $A_{450\text{ nm}}$ ) per la curva di calibrazione, soprattutto per lo standard zero, sono indice di lavaggio insufficiente o di contaminazione da soia.

Si raccomanda una ulteriore diluizione ed una nuova lettura dei campioni per valori di assorbanza ( $A_{450\text{ nm}}$ ) > dello standard 5.

### **Nota bene:**

Operando in accordo alle procedure descritte, il fattore di diluizione è 100. La concentrazione di proteine di soia può essere letta direttamente sulla curva standard – il fattore di diluizione del campione pari a 100 è già stato considerato per la concentrazione degli standard (vedi 4. \*).

Per diluizioni del campione superiori a 1:100 l'ulteriore fattore di diluizione deve essere tenuto in considerazione per il calcolo della concentrazione delle proteine di soia.

Ad esempio, se un campione viene analizzato per una concentrazione di proteine di soia dell' 1% (corrispondente a 10000 mg/kg di farina di soia o di 3900 mg /kg

di proteine di soia), il campione deve essere diluito 1:70000 (1:100 in base alla preparazione del campione ed ulteriore 1:700 con l'Allergen Extraction Buffer).

## **In generale**

I campioni che sono risultati negativi potrebbero contenere tracce di allergene sotto del limite di rilevazione del test, oppure potrebbero contenere altri componenti allergenici come, ad esempio, i lipidi.

A causa della grande varietà di alimenti, non è possibile escludere eventuali effetti matrice. Negli alimenti trasformati (ad esempio trattamento termico, disidratazione), le proteine possono essere modificate o frammentate ed interferire pertanto con i valori di recupero e le cross-reattività.

Per la valutazione della cross-reattività, è stato analizzato un solo campione rappresentativo, altri campioni possono mostrare un risultato diverso. Tutte le sostanze cross-reattive ed i campioni esemplari testati sono descritti nel rapporto di validazione.

## **Raccomandazioni:**

Per garantire risultati ottimali delle analisi:

- Analizzare ogni campione in duplicato
- Come controllo dell'analisi eseguita dovrebbero essere testati campioni privi di allergene e campioni contenenti allergene (spike)
- A causa della grande varietà di alimenti, non è possibile escludere eventuali effetti matrice. Eseguire prove di spike per una procedura corretta ed accurata
- Eseguire un'analisi PCR con i kit SureFood® per la conferma dei risultati
- Per informazioni dettagliate sull'utilizzo in automazione del kit con gli strumenti ChemWell® o GEMINI contattare [info@r-biopharm.it](mailto:info@r-biopharm.it).

**Ulteriori informazioni sono disponibili tramite il proprio distributore locale.**

## Ulteriori note applicative

- ELISA: tamponi di allergeni
- Preparazione dei caseinati

R-Biopharm non fornisce alcuna garanzia, esplicita o implicita, oltre a quella relativa alla qualità standard dei materiali di cui sono costituiti i suoi prodotti. Nel caso tali materiali risultassero difettosi, R-Biopharm si impegna a fornire prodotti sostitutivi. Non esiste garanzia di commerciabilità o di idoneità del prodotto per uno scopo particolare. R-Biopharm non è da ritenersi responsabile per danni, ivi compresi danni speciali o indiretti, o spese derivanti direttamente o indirettamente dall'utilizzo del prodotto.