

RIDASCREEN[®] FAST Zearalenon SC

Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von
Zearalenon

Enzyme immunoassay for the quantitative analysis of
zearalenone

Art. No.: R5505

In vitro Test

Lagerung bei 2 - 8 °C

Storage at 2 - 8 °C

R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany

Tel.: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Telefax: +49 (0) 61 51 81 02-20

Anschrift:

R-Biopharm AG
An der neuen Bergstraße 17
D-64297 Darmstadt
www.r-biopharm.de

Für weitere Fragen stehen Ihnen gerne zur Verfügung:

Telefon:

Zentrale / Auftragsannahme (0 61 51) 81 02-0

Telefax / E-Mail:

Auftragsannahme (0 61 51) 81 02-20
orders@r-biopharm.de

Marketing

(0 61 51) 81 02-40
info@r-biopharm.de

RIDA[®] und RIDASCREEN[®]
sind eingetragene Warenzeichen 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.

Kurzinformation

RIDASCREEN®FAST Zearalenon SC (Art. Nr.: R5505) ist ein kompetitiver Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Zearalenon in Getreide. Alle Reagenzien für die Durchführung des Enzymimmunoassays – inkl. Standards - sind im Testkit enthalten.

Ein Testkit ist ausreichend für 48 Bestimmungen (einschl. Standardbestimmung). Zur Auswertung benötigt man ein Mikrotiterplatten-Photometer.

Für die Durchführung des Tests ist keine spezielle über die eines Laboranten / Technikers hinausgehende Ausbildung erforderlich. Falls notwendig, wird jedoch auf Anfrage eine kostenlose Einarbeitung angeboten.

Probenvorbereitung: extrahieren, filtrieren, verdünnen

Zeitbedarf: Probenvorbereitung (für 10 Proben)
Getreide ca. 10 min
Testdurchführung (Inkubationszeit) 15 min

Nachweisgrenze: 5 µg/kg (ppb)
(bezogen auf die Standardsubstanz)
Die Nachweisgrenze wurde durch wiederholte Messungen (n=10) von negativen Maisproben bestimmt (Durchschnittskonzentration + 2 x Standardabweichung: 2,4 + 2 x 1,4).

Bestimmungsgrenze: 16 µg/kg (ppb)
(bezogen auf die Standardsubstanz)
Die Bestimmungsgrenze wurde durch wiederholte Messungen (n=10) von negativen Maisproben bestimmt (Durchschnittskonzentration + 10 x Standardabweichung: 2,4 + 10 x 1,4).

1. Verwendungszweck

RIDASCREEN®FAST Zearalenon SC ist ein kompetitiver Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Zearalenon in Getreide.

2. Allgemeines

Zearalenon, ein Mykotoxin, wird von Pilzen der Gattung *Fusarium* gebildet. Zearalenon ist ein Phytohormon und hat, neben seiner anabolen Wirkung, hauptsächlich östrogene Wirkung. Als östrogenwirkende Substanz kann Zearalenon bei Tieren zu Fertilitätsstörungen und zum klinischen Erscheinungsbild des Hyperöstrogenismus führen, ein Krankheitsbild, das vor allem bei weiblichen Schweinen häufig beschrieben ist, aber auch bei anderen Tierspezies wie Kühen, Pferden und Schafen auftreten kann.

Eine potentielle Gefährdung des Menschen durch dieses Mykotoxin, das über Nahrungsmittel pflanzlichen und tierischen Ursprungs aufgenommen werden kann, wird intensiv diskutiert.

3. Testprinzip

Grundlage ist die Antigen-Antikörper-Reaktion. Die Vertiefungen der Mikrotiterstreifen sind mit Fängerantikörpern gegen anti-Zearalenon-Antikörper beschichtet. Zugegeben werden Null-Standard bzw. Probelösung, enzymmarkiertes Zearalenon (Enzymkonjugat) und anti-Zearalenon-Antikörper. Freies und enzymmarkiertes Zearalenon konkurrieren um die Zearalenon-Antikörperbindungsstellen (kompetitiver Enzymimmunoassay). Gleichzeitig werden auch die anti-Zearalenon-Antikörper von den immobilisierten Fängerantikörpern gebunden. Nicht gebundenes, enzymmarkiertes Zearalenon wird anschließend in einem Waschschritt wieder entfernt. Hinzugegeben wird Substrat/Chromogen, gebundenes Enzymkonjugat wandelt das Chromogen in ein blaues Endprodukt um. Die Zugabe des Stopp-Reagenzes führt zu einem Farbumschlag von blau nach gelb. Die Messung erfolgt photometrisch bei 450 nm; die Extinktion der Lösung ist umgekehrt proportional zur Zearalenon-Konzentration in der Probe.

4. Packungsinhalt

Mit den Reagenzien einer Packung können bis zu 47 Bestimmungen durchgeführt werden (plus 1 Standardbestimmung). Jeder Testkit enthält:

- 1 x Mikrotiterplatte mit 48 Kavitäten (6 Streifen à 8 Kavitäten, teilbar),
beschichtet mit Fängerantikörpern gegen anti-Zearalenon-Antikörper
- 1 x Zearalenon-Standard ^{*}), 1,3 ml
0 ppb (Nullstandard)
in Methanol/Wasser, gebrauchsfertig
- 1 x Konjugat (3 ml)..... roter Verschluss
Peroxidase-konjugiertes Zearalenon, gebrauchsfertig
- 1 x Anti-Zearalenon-Antikörper (3 ml) schwarzer Verschluss
monoklonal, gebrauchsfertig
- 1 x Substrat-/Chromogenlösung (10 ml)..... brauner Verschluss
rötlich gefärbt
- 1 x Stopp-Reagenz (14 ml)..... gelber Verschluss
enthält 1 N Schwefelsäure

^{*}) Nur Standard 1 (0 ppb) ist im Testkit enthalten. Die B/B₀-Werte der chargenspezifischen Standardkurve sind auf dem im Testkit befindlichen QS-Zertifikat angegeben. Für die Berechnung der Ergebnisse siehe 11. Auswertung.

5. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

5.1. Geräte:

- Mikrotiterplatten-Photometer (450 nm)
- Messzylinder (Plastik oder Glas) 100 ml
- zur Probenvorbereitung: Filtertrichter und Auffanggefäß (50 ml) aus Glas
- Labor- oder Getreidemühle
- optional: Schüttler
- Filterpapier: Whatman No. 1 (oder Vergleichbares)
- 50 µl, 100 µl und 1000 µl Mikropipetten

für USDA/GIPSA Extraktionsmethode

- Ultra-Turrax (oder Vergleichbares)
- Filterspritze (JM 1000 oder Vergleichbares)

5.2. Reagenzien:

- Methanol
- Methanol (70 %): 70 ml Methanol (100 %) mit 30 ml dest. Wasser mischen
- destilliertes oder deionisiertes Wasser

6. Vorsichtsmaßnahmen

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

Die Dekontamination der Glasgeräte und toxischen Lösungen erfolgt am zweckmäßigsten mit einer Natriumhypochlorit-Lösung (10 % (v/v)) über Nacht (Lösung mit HCl auf pH 7 einstellen).

Das Stopp-Reagenz enthält 1 N Schwefelsäure (R36/38, S2-26).

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.

Die Substrat-/Chromogenlösung ist lichtempfindlich, deshalb direkte Lichteinwirkung vermeiden.

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

Der Test kann bei entsprechender Lagerung mindestens bis zum Verfallsdatum (angegeben auf der Kitpackung) für eine ordnungsgemäße Analyse eingesetzt werden.

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

8. Anzeichen für Reagenzienverfall

- bläuliche Färbung der rötlichen Substrat-/Chromogenlösung vor Zugabe in die Kavitäten
- Extinktion kleiner 0,6 ($E_{450 \text{ nm}} < 0,6$) für den Nullstandard

9. Probenvorbereitung

Die Proben kühl und lichtgeschützt lagern.

Eine repräsentative Probe (eine unter offiziellen Probenahme-Vorschriften gezogene Probe) vor dem Extrahieren zerkleinern und mischen.

- 5 g der zerkleinerten Probe einwiegen und 25 ml Methanol (70 %) *) hinzufügen
- 3 min kräftig schütteln (manuell oder mittels Schüttler)
wir empfehlen für die Extraktion die Verwendung eines Schüttlers oder Mixers
- den Extrakt durch einen Whatman No. 1 Papierfilter (oder vergleichbaren Filter) filtrieren
- 1 ml des Filtrats mit 1 ml destilliertem oder deionisiertem Wasser verdünnen
- 50 µl Filtrat pro Kavität im Test einsetzen

*) die Probeneinwaage kann entsprechend vergrößert werden, aber dazu muss das Volumen des Methanol/Wasser-Gemisches angepasst werden, z. B. 10 g in 50 ml Methanol (70 %)

USDA/GIPSA Extraktionsmethode

- 50 g der zerkleinerten Probe einwiegen und 250 ml Methanol (70 % *) hinzufügen
- die Probe 2 min mit einem Ultra-Turrax (oder Vergleichbarem) homogenisieren oder 3 min kräftig schütteln (manuell oder mittels Schüttler)
- den Extrakt durch eine Filterspritze (JM 1000 oder Vergleichbare) filtrieren: dazu den Probenextrakt bis etwa 1 cm unterhalb des Randes in den Spritzenkörper einfüllen; mit dem Spritzenkolben ca. 1,5 ml des Extraktes durch den Filter drücken
- den filtrierten Extrakt in einem sauberen Gefäß auffangen
- 1 ml des Filtrats mit 1 ml destilliertem oder deionisiertem Wasser verdünnen
- 50 µl des verdünnten Filtrats pro Kavität im Test einsetzen

Anmerkung:

Proben, die außerhalb des Messbereichs, mit Werten > 1000 µg/kg (ppb) gemessen werden, sind für eine genaue Bestimmung z.B. 1:3 (1+2) mit Methanol/Wasser (35/65) weiter zu verdünnen. Der daraus resultierende Verdünnungsfaktor 3 ist entsprechend bei der Kalkulation zu berücksichtigen (d.h. die Ergebnisse müssen noch mit 3 multipliziert werden).

10. Testdurchführung

10.1. Testvorbereitungen

1. Alle Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) bringen.
2. Die spezifische Reaktion startet erst mit der Zugabe des spezifischen Antikörpers. Wenn eine einfache Pipette eingesetzt wird, sollten trotzdem nicht mehr als drei Streifen pro Testansatz eingesetzt werden. Bis zu 6 Streifen können bei Verwendung von Multistep-Pipetten eingesetzt werden.
3. Nicht verwendete Reagenzien sofort wieder bei 2 - 8 °C lagern.

Der **Zearalenon Standard 1 (0 ppb)** liegt gebrauchsfertig vor. Die B/B₀-Werte der Zearalenon Standards 2 - 7 (25, 50, 100, 200, 400 und 1000 ppb) werden auf dem im Testkit befindlichen QS-Zertifikat angegeben. Die Standardkurve wird anhand dieser Werte mit der RIDA[®]SOFT Win berechnet (siehe Kapitel 11.). Der Verdünnungsfaktor 10 für die Proben wurde in der Berechnung bereits berücksichtigt.

10.2. Testdurchführung

Sorgfältiges Waschen ist sehr wichtig. Ein komplettes Eintrocknen der Kavitäten zwischen den Arbeitsschritten und verzögerte Intervalle zwischen den Arbeitsschritten vermeiden. Die Reproduzierbarkeit der Testergebnisse hängt in starkem Maße vom gleichmäßigen Waschen der Kavitäten ab. Die beschriebenen Waschsequenzen deshalb immer einhalten.

Bei allen Inkubationen direkte Sonneneinstrahlung vermeiden und deshalb die Mikrotiterplatten abdecken.

1. So viele Kavitäten in den Halterahmen einsetzen, wie für den Standard und die Proben benötigt werden. Die Positionen von Standard und Proben protokollieren.
2. 50 µl Standard oder vorbereitete Probe in die entsprechenden Kavitäten pipettieren; für Standard oder Probe jeweils neue Pipettenspitzen benutzen.
3. Je 50 µl Enzymkonjugatlösung (roter Verschluss) in die entsprechenden Kavitäten pipettieren.
4. 50 µl der anti-Zearalenon-Antikörperlösung (schwarzer Verschluss) in jede Kavität pipettieren. Vorsichtig manuell mischen und 10 min (+/- 1) bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) inkubieren.

5. Die Kavitäten durch Ausschlagen der Flüssigkeit leeren und die Restflüssigkeit durch kräftiges Ausklopfen (dreimal hintereinander) auf sauberen, saugfähigen Labortüchern entfernen. Die Kavitäten mit Hilfe einer Waschflasche oder Multikanal-Pipette (250 µl pro Kavität) mit destilliertem oder deionisiertem Wasser waschen, die Kavitäten erneut leeren und die Restflüssigkeit entfernen. Diesen Waschvorgang noch zweimal wiederholen.
6. 100 µl Substrat/Chromogen (brauner Verschluss) in jede Kavität pipettieren. Vorsichtig manuell mischen und 5 min (+/- 0,5) bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) im Dunkeln inkubieren.
7. 100 µl Stopp-Reagenz (gelber Verschluss) in jede Kavität pipettieren. Vorsichtig manuell mischen und die Extinktion bei 450 nm innerhalb von 10 min nach Zugabe des Stopp-Reagenzes messen.

11. Auswertung

Zur Berechnung der Ergebnisse muss die für Standard 1 (0 ppb) gemessene Absorption und die im QS-Zertifikat angegebenen B/B₀-Werte für die Standards 2 - 7 (25, 50, 100, 200, 400, 1000 ppb) in die RIDA[®]SOFT Win eingegeben werden. Daraus errechnet das Programm die entsprechende Standardkurve und die resultierenden Gehalte an Zearalenon in den Proben.

Bitte beachten:

Für die Auswertung des RIDASCREEN[®] ELISA-Tests wurde eine spezielle Software von R-Biopharm entwickelt. Mit diesem Programm können die Ergebnisse einfach berechnet werden.

Die RIDA[®]SOFT Win / RIDA[®]SOFT Win.net (Art. Nr. R9996) ist bei R-Biopharm erhältlich. Bitte fordern Sie ein kostenloses Up-date Ihrer Software an.

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. Darüber hinaus gehende Ansprüche für direkte oder indirekte Schäden oder Kosten aus der Nutzung der Produkte bestehen nicht.

Producer:

R-Biopharm AG
An der neuen Bergstraße 17
64297 Darmstadt
Germany
www.r-biopharm.de

For further information please contact: (U.S.)

R-Biopharm, Inc.

870 Vossbrink Dr., Washington, MO 63090
phone: 001 877 78 9-30 33
fax: 001 866 92 2-58 56

mail: info@r-biopharm.com
http: www.r-biopharm.com

RIDASCREEN[®]FAST Zearalenon SC

Brief information

RIDASCREEN[®]FAST Zearalenon SC (Art. No.: R5505) is a competitive enzyme immunoassay for the quantitative analysis of zearalenone in cereals.

All reagents required for the enzyme immunoassay - including standards - are contained in the test kit.

The test kit is sufficient for 48 determinations (including standard).

A microtiter plate spectrophotometer is required for quantification.

Technicians need no specialized training to perform the RIDASCREEN[®]FAST Zearalenon SC test, however, free support is offered by the distributor on request, if necessary.

Sample preparation: extraction, filtration, dilution

Time requirement: sample preparation (for 10 samples)
cereals approx. 10 min
test implementation (incubation time) 15 min

Limit of detection: 5 µg/kg (ppb)
(corresponding to the standard substance)
The limit of detection (LOD) values were investigated with repeated measurements (n=10) of blank corn samples (mean concentration + 2 x standard deviation: 2.4 + 2 x 1.4).

Limit of quantification: 16 µg/kg (ppb)
(corresponding to the standard substance)
The limit of quantification (LOQ) values were investigated with repeated measurements (n=10) of blank corn samples (mean concentration + 10 x standard deviation: 2.4 + 10 x 1.4).

1. Intended use

RIDASCREEN®FAST Zearalenon SC is a competitive enzyme immunoassay for the quantitative analysis of zearalenone in cereals.

2. General

The mycotoxin zearalenone is formed by fungi of the genus *Fusarium*.

Zearalenone is a phytohormone which displays, apart from its anabolic properties, mainly estrogenic effects. Because of its estrogenic properties, zearalenone may induce fertility disorders in animals with clinical signs of hyperestrogenism - an aspect of a disease which although reported mainly in hogs, is described in other species such as cows, horses and sheep.

The potential health risk for humans induced by this mycotoxin, which can be ingested with foods of vegetable or animal origin, has been discussed intensely.

3. Test principle

The basis of the test is the antigen-antibody reaction. The microtiter wells are coated with capture antibodies directed against anti-zearalenone antibodies.

Zero standard or sample solutions, zearalenone enzyme conjugate and anti-zearalenone antibodies are added. Free zearalenone and zearalenone enzyme conjugate compete for the zearalenone antibody binding sites (competitive enzyme immunoassay). At the same time, the anti-zearalenone antibodies are also bound by the immobilized capture antibodies. Any unbound enzyme conjugate is then removed in a washing step. Substrate/chromogen is added to the wells, bound enzyme conjugate converts 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 inversely proportional to the zearalenone concentration in the sample.

4. Reagents provided

Each kit contains sufficient materials for as many as 47 analyses (plus 1 standard). Each test kit contains:

- 1 x Microtiter plate with 48 wells (6 strips with 8 removable wells each)
coated with capture antibodies against anti-zearalenone antibodies
- 1 x Zearalenone standard ^{*}), 1.3 ml
0 ppb (zero standard),
in methanol/water, ready to use
- 1 x Conjugate (3 ml)red cap
peroxidase conjugated zearalenone, ready to use
- 1 x Anti-zearalenone antibody (3 ml).....black cap
monoclonal, ready to use
- 1 x Substrate/chromogen (10 ml) brown cap
stained red
- 1 x Stop reagent (14 ml) yellow cap
contains 1 N sulfuric acid

*) Only standard 1 (zero standard) is included in the test kit. The standard curve (B/B₀) is provided with the certificate of the test kit. For the calculation of results see 11. Results.

5. Reagents required but not provided

5.1. Equipment:

- microtiter plate spectrophotometer (450 nm)
- graduated cylinder: 100 ml plastic or glass
- glassware for preparing sample extract: filter funnel and 50 ml flask
- grinder (mill)
- optional: shaker
- filter paper: Whatman No. 1 (or equivalent)
- 50 µl, 100 µl and 1000 µl micropipettes

for USDA/GIPSA extraction method

- ultra-turrax (or equivalent)
- filter syringe (JM 1000 or equivalent)

5.2. Reagents:

- methanol
- methanol solution (70 %): mix 70 ml methanol (100 %) with 30 ml distilled water
- distilled or deionized water

6. Warnings and precautions for the users

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

Decontamination of the glassware and zearalenone solutions is best carried out using a sodium hypochlorite solution (10 % (v/v)) overnight (adjust solution with HCl to pH 7).

The stop solution contains 1 N sulfuric acid (R36/38, S2-26).

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

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

The test kit can be regularly used at least up to the expiry date (indicated on the kit label), if stored correctly.

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

8. Indication of instability or deterioration of reagents

- any bluish coloration of the reddish substrate/chromogen solution prior to test implementation
- a value of less than 0.6 absorbance units ($A_{450\text{ nm}} < 0.6$) for the zero standard

9. Preparation of Samples

The samples should be stored in a cool place, protected from light.

A representative sample (according to accepted sampling techniques) should be ground and thoroughly mixed prior to proceeding with the extraction procedure.

- weigh 5 g of ground sample and add it to a suitable container with 25 ml of methanol (70 %) *)
- shake vigorously for 3 min (manually or with shaker)
we recommend the extraction by using a shaker or blender
- filter the extract through Whatman No. 1 filter (or equivalent)
- dilute 1 ml of the obtained filtrate with 1 ml of distilled or deionized water
- use 50 µl of the filtrate per well in the test

*) Sample size may be increased if required, but the volume of methanol/water must be adapted accordingly, e.g.: 10 g in 50 ml of methanol (70 %)

USDA/GIPSA extraction method:

- weigh 50 g of ground sample into a suitable container and add 250 ml of methanol (70 %)
- blend the sample by ultra-turrax (or equivalent) for two minutes or shake vigorously for three minutes (manually or with shaker)
- filter the extract using a filter syringe (JM 1000 or equivalent): pour the sample extract into the syringe within 1 cm from the top; using the plunger, push approx. 1.5 ml of the extract through the syringe filter
- collect the filtered extract into a clean tube
- dilute 1 ml of the obtained filtrate with 1 ml of distilled or deionized water
- use 50 µl of the diluted filtrate per well in the test

Remark:

Samples found out of range, > 1000 µg/kg (ppb) have to be diluted, e.g. 1:3 (1+2) with methanol/water (35/65), in order to get a correct result. The resulting dilution factor 3 has to be taken into account when calculating the result (the results need to be multiplied by 3).

10. Test implementation

10.1. Preliminary comments

1. Bring all reagents to room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F) before use.
2. The specific reaction starts with the addition of the specific antibody. Nevertheless, not more than three strips should be applied to the test, when a single step pipette is utilized. More strips (up to 6) can be applied, when a multistep pipette is used.
3. Return all reagents to 2 - 8 °C (35 - 46 °F) immediately after use.

The **zearalenone standard 1 (0 ppb)** is provided ready to use. B/B₀-values of zearalenone standards 2 - 7 (25, 50, 100, 200, 400, 1000 ppb) are reported on the certificate of the test. The standard curve is calculated with the RIDA[®]SOFT Win (see chapter 11.) according to those values. The dilution factor 10 for the sample has been considered in this calculation.

10.2. Test procedure

Accurate washing is very important. Do not allow microwells to dry up totally and avoid prolonged intervals between the working steps. Reproducibility in any EIA is largely dependent upon the consistency with which the microwells are washed. Carefully follow the recommended washing sequence as outlined in the EIA test procedure.

Avoid direct sunlight during all incubations. Covering the microtiter plates is recommended.

1. Insert a sufficient number of wells into the microwell holder for the standard and samples to be run. Record standard and sample positions.
2. Pipet 50 µl of standard or prepared sample into separate wells; use a new pipette tip for the standard or each sample.
3. Add 50 µl of enzyme conjugate solution (red cap) to each well.
4. Add 50 µl of anti-zearalenone antibody solution (black cap) to each well. Mix gently by shaking the plate manually and incubate for 10 min (+/- 1) at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F).
5. Dump the liquid out of the wells into a sink. Tap the microwell holder upside down onto a clean filter towel (three times in a row) to remove all remaining liquid from the wells. Using a wash bottle or multichannel pipette and fill the wells with distilled or deionized water (250 µl per well). Empty the wells again and remove all remaining liquid. Repeat the washing step two more times.

6. Add 100 µl of substrate/chromogen (brown cap) to each well. Mix gently by shaking the plate manually and incubate for 5 min (+/- 0.5) at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F) in the dark.
7. Add 100 µl of stop solution (yellow cap) to each well. Mix gently by shaking the plate manually and measure the absorbance at 450 nm. Read within 10 minutes.

11. Results

For calculation of results you need to transfer the measured absorbance for standard 1 (0 ppb) as well as the B/B₀ values for standards 2 - 7 (25, 50, 100, 200, 400, 1000 ppb) provided with the kit certificate, into the RIDA[®]SOFT Win. From this the software program calculates the standard curve and the content of zearalenone in the samples.

Please note:

For evaluation of this RIDASCREEN[®] ELISA kit, a special software program has been developed by R-Biopharm. With this program the calculation of results can easily be performed.

The RIDA[®]SOFT Win / RIDA[®]SOFT Win.net (Art. Nr. R9996) can be ordered from your local distributor. Please contact your local distributor for a free of charge up-date of your software.

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. If any materials are defective, R-Biopharm will provide a replacement product. 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.