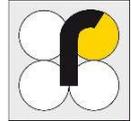


r-biopharm®



RIDASCREEN® Zearalenon ECO

REF R1403

Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung
von Zearalenon

Enzyme immunoassay for the quantitative determination
of zearalenone

In vitro Test

Lagerung bei 2 - 8 °C
Storage at 2 - 8 °C (36 - 46 °F)



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, 64297 Darmstadt, Germany

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

Für weitere Fragen stehen Ihnen gerne zur Verfügung:

Please contact for questions and further information:

R-Biopharm AG Zentrale

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

R-Biopharm AG switchboard

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

Auftragsannahme

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

E-Mail: orders@r-biopharm.de

Order department

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

E-mail: orders@r-biopharm.de

Marketing & Vertrieb

E-Mail: info@r-biopharm.de

Marketing & sales

E-mail: sales@r-biopharm.de

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

R-Biopharm AG ist ISO 9001 zertifiziert.

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

R-Biopharm AG is ISO 9001 certified.

Kurzinformation

RIDASCREEN® Zearalenon ECO (Art. Nr. R1403) ist ein kompetitiver Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Zearalenon in Mais und Weizen. (siehe Kapitel 1. Verwendungszweck).

Alle Reagenzien für die Durchführung des Enzymimmunoassays, inkl. Standards, sind im Testkit enthalten. Der Testkit ist ausreichend für maximal 96 Bestimmungen (einschließlich Standardbestimmungen). Zur Auswertung benötigt man ein Mikrotiterplatten-Photometer.

Probenvorbereitung: homogenisieren, extrahieren, zentrifugieren und verdünnen

Zeitbedarf: Probenvorbereitung (für 10 Proben) ca. 10 min
Testdurchführung (Inkubationszeit)..... 45 min

Nachweisgrenze:.....7,5 µg/kg (ppb)

Bestimmungsgrenze:.....20 µg/kg (ppb)

Spezifität: Zearalenon.....100 %

Weitere Informationen können dem Validierungsbericht entnommen werden.

Die Spezifität des RIDASCREEN® Zearalenon ECO Tests wurde durch die Bestimmung der Kreuzreaktivität zu den entsprechenden Substanzen im Puffersystem ermittelt. In Proben kann die Spezifität aufgrund von Matrixeffekten von den im Puffersystem ermittelten Werten abweichen. Vor der Analyse von kreuzreaktiven Substanzen muss deren Nachweisgrenze und Wiederfindungsrate in der jeweiligen Matrix durch den Anwender bestimmt werden. Der Test kann nicht zwischen Analyten und kreuzreaktiven Substanzen diskriminieren.

Zur Erhöhung der Prüfungsqualität bei ELISA-Verfahren verweisen wir zusätzlich auf unser ELISA-Handbuch. 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 <https://food.r-biopharm.com/media/technical-guides/> abgerufen, gedruckt und gespeichert werden.

Weitere Produkte und Zubehör für den Nachweis von Zearalenon

RIDASCREEN®FAST Zearalenon (Art. Nr. R5502)

RIDASCREEN®FAST Zearalenon SC (Art. Nr. R5505)

RIDA®QUICK Zearalenon RQS (Art. Nr. R5504)

RIDA®ABSORBANCE 96 (Art. Nr. ZRA96FF)

RIDASOFT®Win.NET Food & Feed (Art. Nr. Z9996FF)

Trilogy® Zertifiziertes Referenzmaterial und Standards für Zearalenon (ISO 17034)

1. Verwendungszweck

RIDASCREEN® Zearalenon ECO (Art. Nr. R1403) ist ein kompetitiver Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Zearalenon in Mais und Weizen.

2. Allgemeines

Das Mykotoxin Zearalenon wird von Pilzen der Gattung *Fusarium* gebildet. Es ist ein Phytohormon und besitzt neben seiner anabolen hauptsächlich eine östrogene Wirkung. Als Östrogen wirkende 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 Standards bzw. Probenlösung, 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 Waschschrift wieder entfernt. Hinzugegeben wird Substrat/Chromogen, gebundenes Enzymkonjugat wandelt das Chromogen in ein blaues Endprodukt um. Die Zugabe der Stopplösung 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 96 Bestimmungen durchgeführt werden (einschließlich Standardbestimmungen). Jedes Testkit enthält:

Komponente	Deckelfarbe	Zustand		Inhalt
Microtiter plate K Mikrotiterplatte	-	Gebrauchsfertig		96 Kavitäten
ECO extractor ECO Extractor	Transparent	Konzentrat	10-fach	120 ml
Standard 1* Standard 1	Weiß	Gebrauchsfertig	0 µg/l	1,3 ml
Standard 2* Standard 2	Weiß	Gebrauchsfertig	7,5 µg/l	1,3 ml
Standard 3* Standard 3	Weiß	Gebrauchsfertig	22,5 µg/l	1,3 ml
Standard 4* Standard 4	Weiß	Gebrauchsfertig	67,5 µg/l	1,3 ml
Standard 5* Standard 5	Weiß	Gebrauchsfertig	202,5 µg/l	1,3 ml
Standard 6* Standard 6	Weiß	Gebrauchsfertig	607,5 µg/l	1,3 ml
Wash buffer salt Tween Waschpuffersalz Tween	-	Salz zum Auflösen	-	-
Conjugate Konjugat	Rot	Gebrauchsfertig	-	6 ml
Antibody Antikörper	Schwarz	Gebrauchsfertig	-	6 ml
Substrate/Chromogen Substrat/Chromogen Red Chromogen Pro	Braun	Gebrauchsfertig	-	13 ml
Stop solution Stopp-Lösung	Gelb	Gebrauchsfertig	-	14 ml

*) Die Konzentrationsangaben berücksichtigen bereits den Verdünnungsfaktor 30, der sich aus der Probenvorbereitung ergibt. So können die Zearalenon-Konzentrationen der Proben (µg/kg) direkt aus der Standardkurve abgelesen werden.

5. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

5.1 Geräte

- Laborhandschuhe
- Waage (Messbereich mindestens bis zu 50 g, Genauigkeit von $\pm 0,01$ g)
- Schlagmühle, Mörser, Ultra-Turrax oder Homogenisator
- Messzylinder (Kunststoff oder Glas) 25 ml
- Zentrifuge (mind. 3.500 x g) + zentrifugierbare Reagenzröhrchen mit Verschluss (z. B. 50 ml centrifuge tubes von Greiner Art. Nr. 227261)
- (Horizontal-) Schüttler
- Vortexer
- Variable 20 - 200 μ l und 200 - 1000 μ l Mikropipetten
- Gegebenenfalls: Multistepper oder 8-Kanalpipette für 50 μ l, 100 μ l und 250 μ l
- Mikrotiterplatten-Photometer (450 nm)
- Optional: RIDA[®] ABSORBANCE 96 (Art. Nr. ZRA96FF)
- Optional: RIDASOFT[®] Win.NET Food & Feed (Art. Nr. Z9996FF)

5.1 Reagenzien

- Destilliertes Wasser (dest. Wasser) oder deionisiertes Wasser

6. Vorsichtsmaßnahmen

Der Test ist ausschließlich zur Anwendung im Rahmen der Zweckbestimmung geeignet.

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

Die Standards enthalten Zearalenon. Besondere Vorsicht ist geboten. Hautkontakt vermeiden (Handschuhe tragen)!

Dieses Kit kann gesundheitsgefährdende Substanzen enthalten. Sicherheitshinweise zu den enthaltenen Komponenten entnehmen Sie bitte den Sicherheitsdatenblättern (SDS) zu diesem Produkt auf unserer Internetseite www.r-biopharm.de.

Die Kavitäten der Mikrotiterstreifen (beschichtete Mikrotiterplatte aus dem Kit) dürfen nicht wiederverwendet werden. Für jeden Standard und jedes Probenextrakt separate Pipettenspitzen verwenden, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.

Alle Reagenzien und Materialien müssen nach Gebrauch unter Beachtung des Schutzes von Mensch und Umwelt eigenverantwortlich verwertet oder beseitigt

werden. Bitte beachten Sie bei der Entsorgung die jeweils national geltenden Vorschriften (z. B. Kreislaufwirtschaftsgesetz, Gefahrenstoffverordnung etc.).

7. Reagenzien und ihre Lagerung

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

Für die Entnahme von Mikrotiterstreifen den Folienbeutel erst nach Erreichen der Raumtemperatur (20 - 25 °C) öffnen, um die Bildung von Kondenswasser in den Kavitäten zu vermeiden.

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 unter Expiration) darf das Testkit nicht mehr verwendet werden.

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

8. Anzeichen für Reagenzienverfall

- Bläuliche Färbung des rötlichen Substrat/Chromogen vor Zugabe in die Kavitäten
- Absorption kleiner 0,8 ($A_{450\text{ nm}} < 0,8$) für Standard 1

9. Probenvorbereitung

Die Proben kühl und lichtgeschützt lagern.

Alle Reagenzien und Proben vor Gebrauch auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) bringen und die Probenvorbereitung bei Raumtemperatur durchführen.

Eine repräsentative Probe (eine unter offiziellen Probenahmeverfahren gezogene Probe) vor dem Extrahieren zerkleinern und mischen (empfohlene Korngröße: 500 µm).

9.1 Vorbereitung der Komponenten

Für die Extraktion wird der **verdünnte ECO Extractor** benötigt. Der ECO Extractor liegt als 10-fach Konzentrat vor und muss daher vor Gebrauch 1:10 (1 + 9) mit deionisiertem oder dest. Wasser verdünnt werden (z. B. 100 ml Konzentrat + 900 ml dest. Wasser). Der verdünnte ECO Extractor ist eine Woche bei 2 - 8 °C haltbar. Beim Auftreten einer Trübung im verdünnten ECO Extractor (z. B. verursacht durch Kontaminationen), ist dieser zu verwerfen.

Für die Verdünnungs- und Waschzyklen wird der PBS-Tween-Puffer benötigt, dazu bitte das dem Kit beiliegende Wash buffer salt Tween (siehe Kapitel 4.) benutzen. Zur Herstellung des Waschpuffers wird der gesamte Inhalt des Beutels in 1 Liter destilliertem Wasser gelöst. Der **gelöste Waschpuffer** ist ca. 4 - 6 Wochen bei 2 - 8 °C haltbar.

Alternativ: Inhalt des Beutels in 100 ml dest. Wasser lösen (10-fach Konzentrat). Um die gebrauchsfertige Lösung herzustellen 1 Teil des 10-fach Konzentrats mit 9 Teilen dest. Wasser mischen. Die Lösung ist ca. 8 - 12 Wochen bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) haltbar.

9.2 Vorbereitung von Mais- und Weizenproben

1. 5 g der zerkleinerten, homogenisierten Probe einwiegen und 25 ml **verdünnten ECO Extractor** *) hinzufügen
2. Kurz vortexen bis die Probe vollständig durchnässt ist (ca. 10 s)
3. 5 min bei Raumtemperatur kräftig schütteln (z. B. liegend, Horizontal-schüttler)
4. Probe zentrifugieren: 5 min / ≥ 3500 g / Raumtemperatur (20 - 25 °C)
5. Überstand 1:6 (1 + 5) mit **gelöstem Waschpuffer** verdünnen (z. B. 100 μ l Überstand + 500 μ l gelöster Waschpuffer)
6. 50 μ l pro Kavität im Test einsetzen

*) Die Probeneinwaage kann entsprechend vergrößert werden, in dem Fall muss das Volumen des verdünnten ECO Extractors entsprechend angepasst werden, z. B. 10 g in 50 ml verdünnten ECO Extractor.

Anmerkung

Da der Probenverdünnungsfaktor von 30 bereits in der Standardkurve berücksichtigt ist, beträgt der Faktor nach der oben beschriebenen Probenvorbereitung 1. Bei Proben, die außerhalb des Messbereiches gemessen wurden ($> 607,5 \mu\text{g}/\text{kg}$) wird eine weitere Verdünnung empfohlen. Dazu den nach der Zentrifugation (Schritt 4) erhaltenen Überstand mit verdünntem ECO Extractor verdünnen, z.B. 1:x ($200 \mu\text{l}$ Überstand + $(x - 1) * 200 \mu\text{l}$ verdünnter ECO Extractor). Anschließend die reguläre 1:6 Endverdünnung des verdünnten Überstandes mit gelöstem Waschpuffer durchführen (Schritt 5). Der zusätzliche Verdünnungsfaktor x muss bei der Kalkulation entsprechend berücksichtigt werden.

10. Testdurchführung

10.1 Testvorbereitungen

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

Nicht verwendete Reagenzien sofort wieder bei 2 - 8 °C lagern.

10.2 Testdurchführung

Sorgfältiges Waschen ist sehr wichtig. Ein Eintrocknen der Kavitäten zwischen den Arbeitsschritten vermeiden. Für die Reproduzierbarkeit der Testergebnisse ist ein gleichmäßiges Waschen der Kavitäten erforderlich. Die beschriebenen Waschsequenzen deshalb immer einhalten.

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

Bei allen Inkubationen direkte Sonneneinstrahlung vermeiden und die Mikrotiterplatte abdecken.

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 $50 \mu\text{l}$ der Standards bzw. der nach Kapitel 9 vorbereiteten Proben als Doppelbestimmung in die entsprechenden Kavitäten pipettieren, für jeden Standard oder Probe neue Pipettenspitzen benutzen.
3. Je $50 \mu\text{l}$ Konjugat in die entsprechenden Kavitäten pipettieren.
4. Je $50 \mu\text{l}$ Antikörperlösung in die entsprechenden Kavitäten pipettieren, vorsichtig manuell mischen und 30 min bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) im Dunkeln inkubieren.

5. Die Kavitäten durch Ausschlagen der Flüssigkeit leeren und die Restflüssigkeit durch kräftiges Ausklopfen (dreimal hintereinander) auf saugfähigen Labortüchern entfernen. Alle Kavitäten mit jeweils 250 µl gelöstem Waschpuffer (siehe Kapitel 9.1) befüllen und anschließend wie zuvor entleeren. Diesen Vorgang weitere zweimal wiederholen (insgesamt drei Waschzyklen).
6. Je 100 µl Substrat/Chromogen in die Kavitäten pipettieren und 15 min bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) im Dunkeln inkubieren.
7. Je 100 µl Stopp-Lösung in jede Kavität pipettieren und vorsichtig manuell mischen. Die Absorption bei 450 nm innerhalb von 15 min nach Zugabe der Stopp-Lösung messen.

11. Auswertung

Für die Auswertung ist bei R-Biopharm optional eine speziell für die RIDASCREEN® Enzymimmunoassays entwickelte Software, die **RIDASOFT® Win.NET Food & Feed (Art. Nr. Z9996FF)**, erhältlich. Die Auswertung sollte mittels *Cubic Spline* erfolgen.

Für die Auswertung ist abzuklären, dass für den aktuellen Testlauf alle Qualitätskriterien erfüllt sind. Der Verlauf der Standardkurve kann dem Qualitätssicherheitszertifikat (Analysezertifikat) entnommen werden.

Hinweis für die Berechnung ohne Software:

$$\frac{\text{Absorption Standard (bzw. Probe)}}{\text{Absorption Nullstandard}} \times 100 = B/B_0 (\%)$$

Den Nullstandard somit gleich 100 % setzen und die Absorptionswerte in Prozent angeben. Die errechneten Werte für die Standards in einem Koordinatensystem halblogarithmisch gegen die Zearalenon-Konzentration [µg/l] auftragen.

12. Interpretation der Ergebnisse

Ergebnisse zwischen Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze können auf einen geringen Gehalt des untersuchten Analyten in der Probe hinweisen. Ermittelte Werte in diesem Bereich sind aufgrund der hohen Schwankungsbreite des Tests aber mit einer hohen Unsicherheit versehen. Ergebnisse sollten deshalb nicht quantitativ als Wert, sondern qualitativ “< Bestimmungsgrenze“ angegeben werden.

Ein Ergebnis unterhalb der Nachweisgrenze schließt nicht aus, dass eine Zearalenon-Kontamination unterhalb der Nachweisgrenze dieses Tests vorliegt. Die Interpretation des Ergebnisses sollte entsprechend $<$ Nachweisgrenze ($\mu\text{g}/\text{kg}$) formuliert werden.

Proben mit Absorptionswerten ($E_{450 \text{ nm}}$) $<$ Standard 6 sollten weiter verdünnt und nochmals bestimmt werden. Bei einer weiteren Verdünnung muss der zusätzliche Verdünnungsfaktor bei der Berechnung des Ergebnisses berücksichtigt werden.

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

13. Grenzen der Methode

Testergebnisse können in Abhängigkeit von der Matrix, der Testdurchführung und den Laborbedingungen schwanken.

Nachweis- und Bestimmungsgrenzen sind abhängig von der jeweiligen Probenmatrix, dem Grad der Prozessierung und dem Extraktionsverfahren.

Eine falsche Einwaage der zu untersuchenden Probe hat Einfluss auf das Messergebnis (z. B. wird bei einer Einwaage von +10 % eine um 10 % höhere Konzentration gemessen). Zuverlässige Messergebnisse sind in der Regel bei einer Abweichung der Einwaage bis maximal ± 1 % gegeben.

14. Empfehlung

Um eine hohe analytische Sicherheit zu gewährleisten wird empfohlen, jede Probe als Doppelbestimmung zu analysieren. Jedes Labor kann für sich nach einer qualifizierten Risiko-Management-Analyse entscheiden, den Test in Einzelbestimmung durchzuführen. Dies hat keinen Einfluss auf die Funktion des Testkits. Es ist aber zu beachten, dass sich hierdurch das Risiko erhöht, Fehler in der Durchführung des Tests (z. B. Pipettierfehler) zu übersehen. Außerdem ist eine höhere Schwankung der Ergebnisse bei Einzelbestimmungen zu erwarten.

Um eine hohe analytische Sicherheit zu gewährleisten, wird außerdem empfohlen:

- Pipettenspitzen vor dem Pipettieren jeweils mit Standard oder Probenextrakt vorzuspülen.

- Zur Qualitätskontrolle Testkontrollen mitzuführen. Hierfür sind natürlich und künstlich (dotierte) kontaminierte Proben zu verwenden.
- Bei extrem sauren oder basischen Proben den pH-Wert der Probe vor der Extraktion auf neutral (pH 6,5 bis 7,5) einzustellen.
- Zur Prüfung auf richtige und störungsfreie Durchführung der Bestimmung Dotierungsversuche durchzuführen.

15. Weitere Informationen

Für weitere Produktinformationen kontaktieren Sie bitte info@r-biopharm.de.

Versionsübersicht

Versionsnummer	Kapitel und Bezeichnung
2025-06-06	Freigabeversion

Symbolerklärung

Allgemeine Symbole:

	Gebrauchsanweisung beachten
	Chargennummer
	Verfallsdatum (YYYY-MM-DD)
	Lagertemperatur
	Artikelnummer
	Anzahl Testbestimmungen
	Herstelldatum (YYYY-MM-DD)
	Hersteller + Adresse

Haftungsausschluss

1. R-Biopharm AG leistet für Sach- und Rechtsmängel über einen Zeitraum von 12 Monaten (bzw. im Falle von Produkten, die eine kürzere Haltbarkeit haben, bis zum Ablauf des Haltbarkeitsdatums) Gewähr, gerechnet vom Tag des Gefahrübergangs, vorbehaltlich einer frist- und formgerechten Rüge durch den Kunden, wobei die vereinbarte Beschaffenheit und Eignung für die vertraglich vorausgesetzte Verwendung und Übergabe mit vereinbartem Zubehör und vereinbarten Anleitungen („subjektiven Anforderungen“) entscheiden, ob eine Sache mangelhaft ist.
2. Insbesondere erstreckt sich die Gewährleistung und die sich hieraus ergebende Haftung aufgrund Pflichtverletzung wegen Schlechtleistung nicht auf Folgen, die nicht nachweisbar auf fehlerhaftem Material, Konstruktion, Herstellerstoffen, Nutzungsleistungen, oder fehlerhafter Ausführung beruhen, und auch nicht auf die Folgen fehlerhafter Benutzung oder ungeeigneter Lagerung oder chemischer, elektromagnetischer, mechanischer oder elektrolytischer Einflüsse, die von vereinbarten Produktspezifikationen, Produktbeschreibungen oder in dem jeweils produktspezifischen Datenblatt der R-Biopharm AG oder herstellerseits vorgesehenen durchschnittlichen Standardeinflüssen abweichen.
3. R-Biopharm AG übernimmt auch keine Gewährleistung für nicht von R-Biopharm AG vollzogenen Veränderungen, Bearbeitungen, Nutzungen oder Verarbeitungen, die nicht dem vertraglich vereinbarten Bestimmungszweck der Produkte entsprechen oder mit der allgemeinen Produktsicherheit vereinbar sind.
4. Die Haftung der R-Biopharm AG für die leicht fahrlässige Verletzung wesentlicher Vertragspflichten (Pflichten, die für die Erreichung des Vertragszwecks wesentlich sind und auf deren Einhaltung der Vertragspartner regelmäßig vertrauen darf) ist auf den vertragstypisch vorhersehbaren Schaden begrenzt; die Haftung der R-Biopharm AG für die leicht fahrlässige Verletzung anderer Pflichtverletzungen ist ausgeschlossen.
5. Ziff. 1-4 gelten nicht bei Arglist, grober Fahrlässigkeit oder Vorsatz der R-Biopharm AG oder Verletzung von Leib, Leben oder Gesundheit, der Übernahme einer Garantie, eines Beschaffungsrisikos nach § 276 BGB oder einer Haftung nach einem gesetzlich zwingenden Haftungstatbestand oder soweit sonst gesetzlich eine längere Verjährungsfrist zwingend festgesetzt ist. § 305 b BGB (der Vorrang der Individualabrede in mündlicher oder textlicher oder schriftlicher Form) bleibt unberührt. Eine Umkehr der Beweislast ist mit der vorstehenden Regelung nicht verbunden.

RIDASCREEN® Zearalenon ECO

Brief information

RIDASCREEN® Zearalenon ECO (Art. No. R1403) is a competitive enzyme immunoassay for the quantitative determination of zearalenone in corn and wheat (see chapter 1. Intended use).

All reagents required for the enzyme immunoassay, including standards, are contained in the test kit. The test kit is sufficient for a maximum of 96 determinations (including standards). A microtiter plate spectrophotometer is required for quantification.

Sample preparation: homogenization, extraction, centrifugation and dilution

Time requirement: sample preparation (for 10 samples)... approx. 10 min
test implementation (incubation time)..... 45 min

Limit of detection (LoD):.....7.5 µg/kg (ppb)

Limit of quantification (LoQ):.....20 µg/kg (ppb)

Specificity: Zearalenone.....100 %

Please see the validation report for further information.

The specificity of the RIDASCREEN® Zearalenon ECO test was determined by analyzing the cross reactivities to corresponding substances in buffer system. In samples, the specificity may deviate from those determined in the buffer system due to matrix effects. Prior to the analysis of cross-reactive substances, the user has to determine the LoD and the Recovery for the substance in the respective sample matrix. The test cannot discriminate between analytes and cross-reactive substances.

In order to increase the quality of assessment when performing ELISA procedures, we refer additionally to our Good ELISA Practice brochure. It lists minimum standards and conditions that are required when using test kits of R-Biopharm AG to perform ELISA analysis. The brochure can be retrieved, printed and downloaded from the website

<https://food.r-biopharm.com/media/technical-guides/>.

Related product and accessories for zearalenone determination

RIDASCREEN®FAST Zearalenon (Art. No. R5502)

RIDASCREEN®FAST Zearalenon SC (Art. No. R5505)

RIDA®QUICK Zearalenon RQS (Art. No. R5504)

RIDA®ABSORBANCE 96 (Art. No. ZRA96FF)

RIDASOFT®Win.NET Food & Feed (Art. No. Z9996FF)

Trilogy® Certified reference materials and standards for zearalenone (ISO 17034)

1. Intended use

RIDASCREEN® Zearalenon ECO (Art. No. R1403) is a competitive enzyme immunoassay for the quantitative determination of zearalenone in corn and wheat.

2. General information

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 cow, horse and sheep. The potential health risk for humans induced by this mycotoxin, which is taken up with foods of vegetable or animal origin, is extensively discussed.

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. Zearalenone standards 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 the 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 96 measurements (including standard analyses). Each test kit contains:

Component	Cap color	Format		Volume
Microtiter plate K	-	Ready to use		96 wells
ECO extractor	Transparent	Concentrate	10 x	120 mL
Standard 1*	White	Ready to use	0 µg/L	1.3 mL
Standard 2*	White	Ready to use	7.5 µg/L	1.3 mL
Standard 3*	White	Ready to use	22.5 µg/L	1.3 mL
Standard 4*	White	Ready to use	67.5 µg/L	1.3 mL
Standard 5*	White	Ready to use	202.5 µg/L	1.3 mL
Standard 6*	White	Ready to use	607.5 µg/L	1.3 mL
Wash buffer salt Tween	-	Dissolve the salt	-	-
Conjugate	Red	Ready to use	-	6 mL
Antibody	Black	Ready to use	-	6 mL
Substrate/Chromogen Red Chromogen Pro	Brown	Ready to use	-	13 mL
Stop solution	Yellow	Ready to use	-	14 mL

(* The dilution factor 30 for the sample preparation has already been considered. Therefore, the zearalenone concentrations of samples (µg/kg) can be read directly from the standard curve.

5. Reagents required but not provided

5.1 Equipment

- Gloves
- Scale (measurement range at least up to 50 g and precision of ± 0.01 g)
- Laboratory mincer / grinder, mortar, ultra-turrax or homogenizer
- Graduated cylinder (plastic or glass) 25 mL
- Centrifuge (at least 3,500 x g) + centrifugal vials with cap (e.g. 50 mL centrifuge tubes from Greiner Art. No. 227261)
- Shaker (horizontal)
- Vortex
- Variable 20 - 200 µL and 200 - 1000 µL micropipettes
- If necessary: 8-channel pipette for 50 µL, 100 µL und 250 µL
- Microtiter plate spectrophotometer (450 nm)
- Optional: RIDA® ABSORBANCE 96 (Art. Nr. ZRA96FF)
- Optional: RIDASOFT® Win.NET Food & Feed (Art. No. Z9996FF)

5.2 Reagents

- Distilled water (dist. water) or deionized water

6. Warnings and precautions for the users

The test is only suitable within the scope of its intended use.

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

The standards contain zearalenone. Particular care should be taken. Avoid contact of the reagent with the skin (use gloves)!

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

Do not reuse wells of the microtiter strips (coated microtiter plate, see chapter 10.2 Test procedure). Use separate pipette tips for each standard and each sample extract to avoid cross contamination.

All reagents and materials must be recovered or disposed after use at customers own responsibility according to the protection of human health and the environment. Please observe the applicable national regulations concerning waste disposal (e.g. Waste Management Act, Regulations on Dangerous Chemicals, etc.).

7. Storage instructions

Store the kit at 2 - 8 °C (36 - 46 °F). Do not freeze any test kit components.

To avoid moisture inside the wells, open the foil bag for withdrawal of microwells only after having reached room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F).

Return any unused microwells to their original foil bag, reseal them together with the desiccant provided and further store at 2 - 8 °C (36 - 46 °F).

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

Do not use the test kit after the expiration date (see test kit label).

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

8. Indication of instability or deterioration of reagents

- Bluish coloration of the reddish substrate/chromogen prior to test implementation
- Value of less than 0.8 absorbance units ($A_{450\text{ nm}} < 0.8$) for standard 1

9. Sample preparation

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

Bring all reagents and samples to room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F) before use and perform the sample preparation at room temperature.

A representative sample (according to accepted sampling techniques) should be ground and thoroughly mixed prior to proceeding with the extraction procedure (recommended particle size: 500 µm).

9.1 Preparation of components

The **diluted ECO extractor** is required for the extraction. ECO Extractor is available as a 10-fold concentrate and must therefore be diluted 1:10 (1 + 9) with deionized or distilled water before use (e. g. 100 mL concentrate + 900 mL dist. water). The diluted ECO Extractor has a shelf life of one week at 2 - 8 °C. If turbidity occurs in the diluted ECO Extractor (e.g. caused by contamination), it must be discarded.

For dilution and wash cycles, the PBS Tween buffer is needed; please use the enclosed wash buffer salt Tween (see chapter 4.). To prepare the buffer, dissolve the entire contents of the pouch in 1 L distilled water. The **dissolved wash buffer** can be stored for approximately 4 to 6 weeks at 2 - 8 °C.

Alternative: Dissolve the contents of the pouch in 100 mL distilled water (10-fold concentrate). The solution can be stored for approximately 8 – 12 weeks at room temperature (20 - 25 °C). To prepare the ready-to-use solution, mix 1 part of the 10-fold concentrate with 9 parts of distilled water.

9.2 Preparation of corn and wheat samples

1. Weigh 5 g of ground and homogenized sample into a suitable vessel and add 25 mL of **diluted ECO extractor** *)
2. Vortex the sample briefly (approx. 10 seconds)
3. Shake the sample vigorously for 5 minutes manually or with an orbital shaker
4. Centrifuge at 3,500 g for 5 minutes at room temperature (20 - 25 °C / 36 – 46 °F)
5. Dilute the supernatant 1:6 (1 + 5) with **dissolved wash buffer**, e.g. 100 µL of supernatant + 500 µL dissolved wash buffer
6. Add 50 µL per well in the assay

*) The sample weight can be increased if required; however, the volume of diluted ECO Extractor must be adjusted proportionally — e.g. 10 g of sample in 50 mL of diluted ECO Extractor.

Note

Since the dilution factor of 30 is already incorporated into the standard curve, the factor is 1 after the sample preparation described above. For samples measured outside the calibration range ($> 607.5 \mu\text{g}/\text{kg}$), further dilution is recommended. Therefore, dilute the supernatant obtained after centrifugation (step 4) with diluted ECO Extractor, e.g., 1:x (200 µL supernatant + $(x - 1) \cdot 200 \mu\text{L}$ diluted ECO Extractor). Then, carry out the regular 1:6 final dilution of the diluted supernatant with dissolved wash buffer according to step 5. The additional dilution factor x must be taken into account accordingly in the calculation.

10. Test procedure

10.1 Test preparation

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

Components should be stored immediately at 2 - 8 °C (36 - 46 °F) when no longer required.

10.2 Test procedure

Carefully follow the recommended washing procedure to obtain unambiguous results. Do not allow microwells to dry between work steps.

It is recommended to pipette the conjugate, the antibody, the substrate/chromogen and the stop solution with a multi-channel or stepper pipette to avoid a time shift over the plate.

Avoid direct sunlight during all incubations. Therefore, cover the microtiter plates.

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. Pipette 50 µL of each standard or sample (prepared according to chapter 9) in duplicate to the wells, using a new pipette tip for each standard or sample.
3. Add 50 µL of conjugate into each well
4. Add 50 µL of antibody into each well. Gently mix by shaking the plate manually and incubate for 30 minutes at room temperature (20 – 25 °C / 68 – 77 °F) in the dark.
5. 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 dissolved wash buffer (see chapter 9.1) and pour out the liquid as before. Repeat two more times (total of three wash cycles).
6. Add 100 µL of substrate/chromogen to each well and incubate for 15 min at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F) in the dark.
7. Add 100 µL of stop solution into each well. Mix gently by shaking the plate manually and measure the absorbance at 450 nm. Read within 15 min after addition of stop solution.

11. Evaluation

A special software, **RIDASOFT® Win.NET Food & Feed (Art. No. Z9996FF)**, is optional available for evaluation of the RIDASCREEN® enzyme immunoassays. The evaluation should be done using the Cubic Spline function.

For the evaluation it should be clarified that all quality criteria are fulfilled for the current test run. The course of the standard curve is shown in the certificate of analysis (CoA).

Remark for the calculation without software:

$$\frac{\text{absorbance standard (or sample)}}{\text{absorbance zero standard}} \times 100 = B/B_0 (\%)$$

The zero standard is thus made equal to 100 % and the absorbance values are quoted in percentages. The values calculated for the standards are entered in a system of coordinates semilogarithmic against the zearalenone concentration [$\mu\text{g/L}$].

12. Result interpretation

Results between LoD (Limit of Detection) and LoQ (Limit of Quantification) indicate a low zearalenone concentration in the sample. Calculated results show a high uncertainty in this area due to the method's higher variation below LoQ. Therefore, such results should not be reported with a quantitative value, but qualitative as "< LoQ".

A result below the LoD does not exclude a zearalenone contamination below the detection limit of the assay. The result should be reported accordingly: < LoD.

For further dilution and new measurement of samples is recommended for absorbance values ($A_{450 \text{ nm}}$) < standard 6. In case of a further dilution, the additional dilution factor must be taken into account when calculating the **zearalenone** concentration.

Compared to the certificate, higher absorbance values ($A_{450 \text{ nm}}$) for the standard curve, especially for the zero standard, may be a result of insufficient washing or **zearalenone** contamination.

13. Limits of the method

Test results may vary depending on the sample matrix, the actual test procedure and the laboratory environment.

Detection and quantification limits depend on the respective sample matrix, the degree of processing and the extraction method.

An incorrect weight of the sample to be analyzed will have a 1:1 effect on the measurement result (e.g. a 10 % higher concentration is measured with a weigh in of +10 %). A sufficient accuracy is given with a fluctuation of max. ± 1 %.

14. Recommendation

In order to ensure a high analytical performance we recommend to analyze each sample material in duplicates. Each laboratory may decide to perform the test in single determinations after a qualified risk management analysis. This has no influence on the function of the test kit. However, it should be noted that this increases the risk of overlooking errors in the performance of the test (e.g. pipetting errors). Moreover, a higher result variation will occur when pipetting in single determinations.

To ensure a high analytical performance, we recommend:

- Pre-flush pipette tips with standard or sample extract prior to pipetting.
- Carry along test controls for quality control. Naturally and artificially (spiked) contaminated samples should be used.
- In case of extremely acidic or basic samples, adjust the sample's pH value (pH 6.5 - 7.5) to neutral prior to extraction.
- Analysis of artificially contaminated samples (spiked samples) shall be conducted to verify the accuracy and error-free execution of the assay.

15. Further information

For further product information, please contact your local distributor or R-Biopharm at this address: sales@r-biopharm.de.

Version overview

Version number	Chapter and title
2025-06-06	Release version

Explanation of symbols

General symbols:

	Follow the instructions for use
	Batch number
	Expiry date (YYYY-MM-DD)
	Storage temperature
	Article number
	Number of test determinations
	Manufacturing date (YYYY-MM-DD)
	Manufacturer + address

Disclaimer

1. In conformance with the German Civil Code (“BGB”) R-Biopharm AG provides a limited warranty (“Gewährleistung”) against defects in design and manufacture present at delivery that make the Product unsuitable or unsafe for the contractually specified Product use and location through properly qualified personnel. Such limited warranty warrants Product title and against such material Product defects for 12 months, or if the Product is provided with a shelf life, the length of the declared shelf life, calculated from the date of risk transfer pursuant to delivery terms, and further provided customer provides timely and proper notice of the defect.
ALL OTHER WARRANTIES OR GUARANTIES, EXPRESS OR IMPLIED, OF ANY KIND ARE EXCLUDED, WHETHER IMPLIED BY CUSTOM, PRACTICE, THE COURSE OF DEALING BETWEEN THE PARTIES OR OTHERWISE. The responsibility for any express or implied warranties or extensions of R-Biopharm’s own warranty made by dealers, distributors, or resellers is solely with such dealer, distributor, or reseller, and R-Biopharm AG expressly disclaims liability for such warranties.
2. R-Biopharm Products are designed for sole use by properly trained and qualified personnel applying appropriate industry standards and practices. Defects are covered only to the extent that such defects are demonstrably the result of defective material, design, parts, or faulty workmanship, which affect safety or result in substandard performance below specifications. R-Biopharm AG is not liable for any improper use nor the consequences of
 - a. the failure to read, understand and follow use and safety instructions, or use proper preparation and storage;
 - b. the failure to utilize trained and unqualified personnel, suitable samples or sampling techniques;
 - c. chemical, electromagnetic, mechanical, or electrolytic influences outside R-Biopharm AG provided standard perimeters through product specific data sheets, written product descriptions, or as otherwise expressly agreed upon in writing; or
 - d. any combination thereof.
3. R-Biopharm AG is also not liable for any changes or modifications, not carried out by R-Biopharm AG, nor consequences of use, applications, or processing which are unsafe or otherwise inconsistent with intended Product purpose as limited by written Product descriptions and specifications of R-Biopharm AG.
4. R-Biopharm AG’s liability for ordinary breach of contract is limited to repair, replacement, other substitute performance, or refund. The choice of remedies is within R-Biopharm AG’s sole discretion. R-Biopharm AG is not contractually liable for any incidental, or consequential damages, including but not limited to purchaser’s expenses, losses, or damages from loss of good will, frustrated business purposes, sales expectations, investment loss, actual or anticipated lost profits, End User indemnity, or any other business expenditures.
5. The foregoing limited warranty is solely intended to fulfill the warranty requirements (“Gewährleistung”) implied by German Civil Code. It is not intended to extend the scope or period of such Gewährleistung or provide additional warranties. Nor is this Disclaimer otherwise intended to limit or extent mandatory liability for damages in tort resulting from injury to life, body, or health, for intentional or grossly negligent acts, fraud, or due to strict liability under applicable product liability laws. A reversal of the burden of proof or rules of contract interpretation is not intended.

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:

Dr. Ralf M. Dreher

Vorstand / Board of Management:

Christian Dreher (Vorsitzender / Chairman),

Ute Salzbrenner, Dr. Frank Apostel,

Dr. Frank Vitzthum

Handelsregister / Commercial Register:

Amtsgericht Darmstadt HRB 8321