



# **RIDASCREEN®FAST Folsäure** **(Folic Acid)**

**REF R3203**

Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung  
von zugesetzter Folsäure

Enzyme immunoassay for the quantitative determination  
of added folic acid

In vitro Test

Lagerung bei 2 - 8 °C  
Storage at 2 - 8 °C (36 - 47 °F)



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

Auftragsannahme

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

E-Mail: [orders@r-biopharm.de](mailto:orders@r-biopharm.de)

Marketing & Vertrieb

E-Mail: [info@r-biopharm.de](mailto:info@r-biopharm.de)

R-Biopharm AG switchboard

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

Order department

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

E-mail: [orders@r-biopharm.de](mailto:orders@r-biopharm.de)

Marketing & sales

E-mail: [sales@r-biopharm.de](mailto:sales@r-biopharm.de)

RIDA<sup>®</sup>, RIDASCREEN<sup>®</sup> und RIDASOFT<sup>®</sup>  
sind eingetragene Marken der R-Biopharm AG.  
Hersteller: R-Biopharm AG, Darmstadt, Deutschland

R-Biopharm AG ist ISO 9001 zertifiziert.

RIDA<sup>®</sup>, RIDASCREEN<sup>®</sup> and RIDASOFT<sup>®</sup>  
are registered trademarks of R-Biopharm AG.  
Manufacturer: R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany

R-Biopharm AG is ISO 9001 certified.

## Kurzinformation

RIDASCREEN®FAST Folsäure (Folic Acid) (Art. Nr. R3203) ist ein kompetitiver Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von zugesetzter Folsäure in Milch, Milchpulver, Lebensmitteln für besondere medizinische Zwecke\*, Müsli und Getreideflocken, angereicherten Getreidemehlen, Vitaminpulver, Vitaminmischungen, Vitamintabletten und Vitaminsäften.

Alle Reagenzien für die Durchführung des Enzymimmunoassays, inkl. Standards, sind im Testkit enthalten. Ein Testkit ist ausreichend für maximal 48 Bestimmungen (einschließlich Standardbestimmungen). Zur Auswertung benötigt man ein Mikrotiterplatten-Photometer.

Probenvorbereitung:           Milch: direkt im Test einsetzen, evtl. verdünnen  
  Säfte: direkt im Test einsetzen, evtl. verdünnen  
  andere Matrices: extrahieren, evtl. verdünnen

Zeitbedarf:                        Probenvorbereitung (10 Proben).....10 - 60 min  
  Testdurchführung (Inkubationszeit).....25 min

Nachweisgrenze:                0,6 µg/l (ppb) (in der Messlösung\*\*)  
(bezogen auf die Standardsubstanz)

Spezifität:                        Folsäure .....100 %  
  Dihydrofolsäure.....ca. 14 %  
  Tetrahydrofolsäure.....< 0,5 %  
  5-Methyltetrahydrofolsäure.....< 0,5 %  
  Formyltetrahydrofolsäure.....< 0,5 %  
  Tetrahydrobiopterin.....< 0,5 %  
  6-Biopterin.....< 0,5 %

Die Spezifität des RIDASCREEN®FAST Folsäure 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 Ergebnissen 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.

\* Richtlinie 1999/21/EG Commission über diätetische Lebensmittel für besondere medizinische Zwecke

\*\* siehe Produktinformation

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.

## **1. Verwendungszweck**

RIDASCREEN®FAST Folsäure (Folic Acid) ist ein kompetitiver Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von zugesetzter Folsäure in Milch, Milchpulver, Lebensmitteln für besondere medizinische Zwecke, Müsli und Getreideflocken, angereicherten Getreidemehlen, Vitaminpulver, Vitaminmischungen, Vitamintabletten und Vitaminsäften.

## **2. Allgemeines**

Folsäure, früher als Vitamin B9 oder B11 bezeichnet, gehört zur Gruppe der wasserlöslichen Vitamine. Sie kann vom menschlichen Körper nicht selbst hergestellt werden und muss deshalb über die Nahrung aufgenommen werden. Folsäure spielt eine Schlüsselrolle für alle Wachstums- und Zellteilungsprozesse im Körper. Eine angemessene Aufnahme von Folsäure während der Schwangerschaft ist wichtig, um zum Beispiel Neuralrohrdefekte zu vermeiden. In einigen Ländern gibt es Vereinbarungen, in denen Brot, Zerealien, Mehl, Teigwaren, Reis oder andere Kornprodukte mit Folsäure in verschiedenen Konzentrationen angereichert werden, um den Vitaminstatus der Bevölkerung zu verbessern.

## **3. Testprinzip**

Grundlage ist eine Antigen-Antikörper-Reaktion. Die Kavitäten der Mikrotiterplatte sind mit spezifischen Antikörpern gegen Folsäure beschichtet. Bei Zugabe von Standard bzw. Probe und Konjugat konkurrieren freie und enzymmarkierte Folsäure um die Folsäure-Antikörperbindungsstellen (kompetitiver Enzymimmunoassay). Nicht gebundene, enzymmarkierte Folsäure wird anschließend in einem Waschschrift wieder entfernt. Der Nachweis erfolgt durch Zugabe von Substrat/Chromogen. Gebundenes Konjugat wandelt das Chromogen in ein blaues Endprodukt um. Die Zugabe der Stopp-Lösung führt zu einem Farbumschlag von blau nach gelb. Die Messung erfolgt photometrisch bei 450 nm; die Extinktion der Lösung ist umgekehrt proportional zur Folsäure-Konzentration in der Probe.

## 4. Packungsinhalt

Mit den Reagenzien einer Packung können max. 48 Bestimmungen durchgeführt werden (einschließlich Standardbestimmungen). Jeder Testkit enthält:

Komponente	Deckelfarbe	Zustand		Inhalt
<b>Microtiter plate</b> Mikrotiterplatte	-	gebrauchsfertig		48 Kavitäten
<b>Sample buffer</b> Probenpuffer	transparent	2-fach Konzentrat	2x	125 ml
<b>Standard 1</b> Standard 1	weiß	gebrauchsfertig	0 µg/L (ppb)	1,3 ml
<b>Standard 2</b> Standard 2	weiß	gebrauchsfertig	0,75 µg/L (ppb)	1,3 ml
<b>Standard 3</b> Standard 3	weiß	gebrauchsfertig	1,5 µg/L (ppb)	1,3 ml
<b>Standard 4</b> Standard 4	weiß	gebrauchsfertig	3 µg/L (ppb)	1,3 ml
<b>Standard 5</b> Standard 5	weiß	gebrauchsfertig	6 µg/L (ppb)	1,3 ml
<b>Standard 6</b> Standard 6	weiß	gebrauchsfertig	12 µg/L (ppb)	1,3 ml
<b>Wash buffer salt</b> <b>Tween</b> Waschpuffer (Salz)	-	Salz zum Auflösen		
<b>Conjugate</b> Konjugat	rot	gebrauchsfertig		3 ml
<b>Substrate/Chromogen</b> Substrat/Chromogen Red Chromogen Pro	braun	gebrauchsfertig		10 ml
<b>Stop solution</b> Stopp-Lösung	gelb	gebrauchsfertig		14 ml

## 5. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

### 5.1. Geräte

- Mikrotiterplatten-Photometer (450 nm)
- Schlagmühle, Mörser, Ultra-Turrax oder Homogenisator
- Zentrifuge + Zentrifugenröhrchen
- Wasserbad (100 °C)
- Eisbad (0 °C)
- Schüttler
- Optional: Faltenfilter und Trichter
- Messpipetten
- Variable 20 - 200 µl und 200 - 1000 µl Mikropipetten
- Optional: Mehrfachdispenser oder 8-Kanalpipette
- Optional: Mikrotiterplatten-Washer

## 5.2. Reagenzien

- Destilliertes Wasser oder demineralisiertes Wasser

## 6. Vorsichtsmaßnahmen

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

Dieser 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](http://www.r-biopharm.de).

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, Gefahrenstoff-verordnung etc.).

## 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 Standards, das Konjugat und das Substrat/Chromogen sind lichtempfindlich, deshalb direkte Lichteinwirkung vermeiden.

Nach Ablauf des Verfallsdatums (siehe Testkit-Außenetikett) darf das Testkit nicht mehr verwendet werden.

Ein Austausch von Einzelreagenzien zwischen Kits verschiedener Chargennummern ist nicht zulässig (Ausnahmen: Probenpuffer, Waschpuffer (Salz), Stopp-Lösung).

## 8. Anzeichen für Reagenzienverfall

- Bläuliche Färbung des rötlichen Substrat/Chromogens 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. Die Proben sollten vor der Probenvorbereitung auf 20 - 25 °C temperiert werden. Zur Qualitätskontrolle wird empfohlen, Kontrollproben mitzuführen.

**Anmerkung:** Die Proben sollten am Tag der Extraktion gemessen werden.

**Hinweis: Der Probenpuffer ist auch zur Probenvorbereitung von Vitamin B12-haltigen Proben in Verbindung mit dem RIDASCREEN®FAST Vitamin B12 (Art. Nr. R2103) verwendbar.**

### 9.1. Milch, Milchpulver und Lebensmittel für besondere medizinische Zwecke

#### Milch:

- Die homogenisierte Milch kann unverdünnt in den Test eingesetzt werden, eventuell mit Probenpuffer in den Messbereich verdünnen (Verdünnungsfaktor entsprechend neu berechnen!)
- 50 µl pro Kavität in den Test einsetzen

#### Milchpulver, Lebensmittel für besondere medizinische Zwecke:

- 1 g Probe in ca. 5 ml dest. Wasser suspendieren, mit dest. Wasser auf 10 ml auffüllen (Verdünnungsfaktor = 10)
- 10 min schütteln / rühren
- Die verdünnte Probe 3 min im Wasserbad bei 100 °C erhitzen, schnell abkühlen (Eisbad)
- Zentrifugieren (oder alternativ filtrieren), um ungelöste Bestandteile zu entfernen
- Überstand oder Filtrat gegebenenfalls mit Probenpuffer in den Messbereich des Tests verdünnen (Verdünnungsfaktor entsprechend neu berechnen!)
- 50 µl pro Kavität in den Test einsetzen

## 9.2. Müsli und Getreideflocken

Eine repräsentative Probe vor dem Extrahieren zermahlen und mischen (Partikelgröße < 250 µm).

- 1 g der gemahlene Probe in ein Reagenzgefäß einwiegen, in ca. 5 ml Probenpuffer suspendieren und mit Probenpuffer auf 10 ml auffüllen (Verdünnungsfaktor = 10)
- 10 min schütteln / rühren
- Ungelöste Bestandteile durch Zentrifugation (alternativ: filtrieren) entfernen
- Überstand abnehmen, falls der Überstand noch trüb sein sollte, filtrieren
- Überstand oder Filtrat gegebenenfalls mit Probenpuffer in den Messbereich des Tests verdünnen (Verdünnungsfaktor entsprechend neu berechnen!)
- 50 µl pro Kavität im Test einsetzen

## 9.3. Angereicherte Getreidemehle

Eine repräsentative Probe vor dem Extrahieren mischen, gegebenenfalls zerkleinern (Partikelgröße < 250 µm).

- 1 g der gemahlene Probe in ein Reagenzgefäß einwiegen, in ca. 5 ml Probenpuffer suspendieren und mit Probenpuffer auf 10 ml auffüllen (Verdünnungsfaktor = 10)
- 10 min schütteln / rühren
- Ungelöste Bestandteile durch Zentrifugation (alternativ: filtrieren) entfernen
- Überstand abnehmen, falls der Überstand noch trüb sein sollte, filtrieren
- Überstand oder Filtrat gegebenenfalls mit Probenpuffer in den Messbereich des Tests verdünnen (Verdünnungsfaktor entsprechend neu berechnen!)
- 50 µl pro Kavität im Test einsetzen

## 9.4. Vitaminpulver, Vitaminmischungen und Vitamintabletten

### Vitaminpulver / Vitaminmischung:

- 1 g Vitaminpulver / Vitaminmischung in 5 ml Probenpuffer lösen und mit Probenpuffer auf 10 ml auffüllen (Verdünnungsfaktor = 10)



### Vitamin-tabletten:

- Tabletten mörsern, sorgfältig mischen, davon 1 g in 5 ml Probenpuffer lösen und mit Probenpuffer auf 10 ml auffüllen (Verdünnungsfaktor = 10)

Mit diesen Proben wie folgt weiterarbeiten:

- 10 min schütteln / rühren
- Ungelöste Bestandteile durch Zentrifugation (alternativ: filtrieren) entfernen
- Überstand oder Filtrat gegebenenfalls mit Probenpuffer in den Messbereich des Tests verdünnen (Verdünnungsfaktor entsprechend neu berechnen!)
- 50 µl pro Kavität in den Test einsetzen

## 9.5. Vitaminsäfte

- Der homogenisierte Saft kann unverdünnt in den Test eingesetzt werden
- Gegebenenfalls ungelöste Bestandteile durch Zentrifugation (alternativ: filtrieren) entfernen
- Eventuell mit Probenpuffer in den Messbereich verdünnen (Verdünnungsfaktor entsprechend neu berechnen!)
- 50 µl pro Kavität im Test einsetzen

## 10. Testdurchführung

### 10.1. Testvorbereitungen

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

Der **Probenpuffer** liegt als 2-fach Konzentrat vor. Das Konzentrat 1:2 mit destilliertem Wasser verdünnen (z. B. 50 ml Pufferkonzentrat + 50 ml dest. Wasser). Der verdünnte Probenpuffer hat eine Haltbarkeit von 4 - 6 Wochen bei 2 - 8 °C.

Als **Waschpuffer** wird ein PBS-Tween-Puffer benötigt, benutzen Sie dazu bitte den beiliegenden Waschpuffer (Salz) (siehe Kapitel 4. Packungsinhalt). Zur Herstellung des Puffers den gesamten Inhalt des Beutels in 1 Liter dest. Wasser lösen. 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). Die Lösung ist ca. 8 - 12 Wochen bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) haltbar. Um die gebrauchsfertige Lösung herzustellen, 1 Teil des 10-fach Konzentrats mit 9 Teilen dest. Wasser mischen.

## 10.2. Testdurchführung

Standards und Proben müssen zeitgleich auf derselben Mikrotiterplatte abgearbeitet werden. Sorgfältiges Waschen ist sehr wichtig. Ein Eintrocknen der Kavitäten zwischen den Arbeitsschritten ist zu vermeiden.

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 µl des Standards bzw. der vorbereiteten Proben in die entsprechenden Kavitäten pipettieren; für jeden Standard oder Probe eine neue Pipettenspitze benutzen.
3. Je 50 µl Konjugat in die entsprechenden Kavitäten pipettieren (eventuell einen Mehrfachdispenser oder eine 8-Kanalpipette verwenden) und 15 min bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) lichtgeschützt inkubieren.
4. Die Kavitäten durch Ausschlagen der Flüssigkeit leeren und die Restflüssigkeit durch kräftiges Ausklopfen (dreimal hintereinander) auf saugfähigen Labortüchern entfernen. Die Kavitäten mit Hilfe einer 8-Kanalpipette mit gebrauchsfertigem Waschpuffer (siehe Kapitel 10.1.) waschen (250 µl pro Kavität), die Kavitäten leeren und die Restflüssigkeit entfernen. Diesen Vorgang noch zweimal wiederholen.
5. Je 100 µl Substrat/Chromogen in jede Kavität pipettieren (eventuell einen Mehrfachdispenser oder eine 8-Kanalpipette verwenden) und 10 min bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) im Dunkeln inkubieren.
6. Je 100 µl Stopp-Lösung in jede Kavität pipettieren (eventuell einen Mehrfachdispenser oder eine 8-Kanalpipette verwenden). Die Extinktion bei 450 nm innerhalb von 5 min nach Zugabe der Stopp-Lösung messen.

## 11. Auswertung

Für die Auswertung ist bei R-Biopharm eine speziell für die RIDASCREEN® Enzymimmunoassays entwickelte Software, die **RIDASOFT® Win.NET** (Art. Nr. Z9996FF), erhältlich. Diese Software gibt das Ergebnis sowohl in µg/kg bzw. µg/l als auch in µg/100 g bzw. µg/100 ml an.

Der Verlauf der Standardkurve kann dem beigefügten Analysenzertifikat entnommen werden.

Hinweis für die Berechnung ohne Software:

$$\frac{\text{Extinktion Standard (bzw. Probe)}}{\text{Extinktion Nullstandard}} \times 100 = \% \text{ Extinktion}$$

Der Nullstandard muss somit gleich 100 % gesetzt und die Extinktionswerte in Prozent (%) angeben werden. Die für die Standards errechneten Werte können dann in einem Koordinatensystem auf halblogarithmischem Millimeterpapier gegen die Folsäure-Konzentration (µg/kg bzw. µg/l) auftragen werden.

Um die in den Proben enthaltene tatsächliche Folsäure-Konzentration zu erhalten, muss die aus der Standardkurve abgelesene Konzentration noch mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multipliziert werden.

## 12. 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.

## 13. 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.


Für weitere Produktinformationen und Applikationen kontaktieren Sie bitte [info@r-biopharm.de](mailto:info@r-biopharm.de).

## Versionsübersicht

Versionsnummer	Kapitel und Bezeichnung
2016-05-23	Freigabeversion
2023-10-09	Aktuelle Version Generelle Überarbeitung Vorgenommene Änderungen: <ul style="list-style-type: none"><li>– Kurzinformation</li><li>– Nachweisgrenze</li><li>– 6. Vorsichtsmaßnahmen</li><li>– 11. Auswertung</li></ul>

## Symbolerklärung

Allgemeine Symbole:

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

## Haftungsausschluss

Der Anwender trägt das alleinige Risiko bei der Verwendung der Produkte und Dienstleistungen der R-Biopharm AG.

Die R-Biopharm AG gewährleistet, dass ihre Produkte und Dienstleistungen allen von ihr festgelegten Qualitätskontrollstandards entsprechen. Die R-Biopharm AG wird nach ihrer Wahl Komponenten, Produkte oder wiederkehrende Dienstleistungen austauschen oder ausbessern, die sich innerhalb produktspezifischer Gewährleistungsfristen oder Ablaufdaten als mangelhaft in der Verarbeitung oder im Material erweisen und die sich nach der Prüfung und im Ermessen der R-Biopharm AG als mangelhaft erweisen.

Diese Gewährleistung tritt an die Stelle jeglicher Gewährleistungen hinsichtlich Qualität, Beschreibung, Eignung für einen bestimmten Zweck, Marktgängigkeit, Produktivität oder anderer Spezifikationen. Die R-Biopharm AG ist in keiner Weise verantwortlich für jegliche Nutzung ihrer Produkte und weist hiermit alle anderen ausdrücklichen oder stillschweigenden Rechtsbehelfe ab, bzw. übernimmt ausdrücklich keine Garantien, Gewährleistungen oder Haftungen, die sich aus dem Gesetz oder anderweitig ergeben. Die R-Biopharm AG übernimmt des Weiteren keine Haftung für entgangenen Gewinn oder Schäden – direkt, indirekt oder anderweitig – an Personen oder Eigentum im Zusammenhang mit der Verwendung ihrer Produkte oder Dienstleistungen.

Diese Haftungsregelung kann nur durch ein schriftliches, von einem autorisierten Vertreter der R-Biopharm AG unterzeichnetes Dokument verlängert, geändert oder ausgetauscht werden.

# RIDASCREEN®FAST Folsäure (Folic Acid)

## Brief information

RIDASCREEN®FAST Folsäure (Folic Acid) (Art. No. R3203) is a competitive enzyme immunoassay for the quantitative determination of added folic acid in milk, milk powders, food for special medical purpose\*, grain and cereals, fortified flour, vitamin powders, vitamin mixtures, vitamin tablets, and vitamin juices.

All reagents required for the enzyme immunoassay, including standards, are contained in the test kit. The test kit is sufficient for a maximum of 48 determinations (including standards). A microtiter plate spectrophotometer is required for quantification.

Sample preparation:           milk: can be applied directly, dilution if necessary  
  juices: can be applied directly, dilution if necessary  
  other matrices: extraction, dilution if necessary

Time requirement:           sample preparation (10 samples).....10 - 60 min  
  test implementation (incubation time).....25 min

Limit of detection:           0.6 µg/L (ppb) (in measurement solution\*\*)  
(corresponding to standard substance)

Specificity:

Folic acid.....	100 %
Dihydrofolic acid.....	approx. 14 %
Tetrahydrofolic acid.....	< 0.5 %
5-Methyltetrahydrofolic acid.....	< 0.5 %
Formyltetrahydrofolic acid.....	< 0.5 %
Tetrahydrobiopterin.....	< 0.5 %
6-Biopterin.....	< 0.5 %

The specificity of the RIDASCREEN®FAST Folic Acid test was determined by analyzing the cross-reactivities to corresponding substances in a 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 Limit of Detection and the recovery for the substance in the respective sample matrix. The test cannot discriminate between analytes and cross-reactive substances.

\* Commission Directive 1999/21/EC on dietary foods for special medical purposes

\*\* see product information

In order to increase the quality of assessment when performing ELISA procedures, we refer additionally to our Good ELISA Practice brochure. It contains 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/>.

## **1. Intended use**

RIDASCREEN®FAST Folsäure (Folic Acid) is a competitive enzyme immunoassay for the quantitative determination of added folic acid in milk, milk powder, food for special medical purpose, grain and cereals, fortified flour, vitamin powders, vitamin mixtures, vitamin tablets, and vitamin juices.

## **2. General**

Folic acid also known as vitamin B9 or vitamin B11 belongs to the group of water-soluble vitamins. It cannot be produced by the human body and therefore must be included in the diet in order to meet the daily requirements. Folic acid plays a key role in all growth and cell division processes. Adequate folic acid intake during pregnancy is important to avoid neural tube defects, for example. Some countries have agreed to fortify either bread, cereals, flour, pasta, rice or other grain products with folic acid in different concentrations as a preventive approach to improve micronutrient status of the population.

## **3. Test principle**

The basis of the test is the antigen-antibody reaction. The microtiter wells are coated with specific antibodies against folic acid. Folic acid standards, respectively sample and enzyme labelled folic acid (conjugate) are added. Free folic acid and enzyme-conjugated folic acid compete for the antibody binding sites (competitive enzyme immunoassay). Any unbound conjugate is then removed in a washing step. Substrate/chromogen is added to the wells, bound 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 resulting absorbance values are inversely proportional to the folic acid concentration of the sample.

## 4. Reagents provided

Each kit contains sufficient materials for a maximum of 48 measurements (including standard analyses). Each test kit contains:

Component	Cap Color	Format		Volume
<b>Microtiter plate</b>	-	ready to use		48 wells
<b>Sample buffer</b>	transparent	2-fold concentrate	2x	125 mL
<b>Standard 1</b>	white	ready to use	0 µg/L (ppb)	1.3 mL
<b>Standard 2</b>	white	ready to use	0.75 µg/L (ppb)	1.3 mL
<b>Standard 3</b>	white	ready to use	1.5 µg/L (ppb)	1.3 mL
<b>Standard 4</b>	white	ready to use	3 µg/L (ppb)	1.3 mL
<b>Standard 5</b>	white	ready to use	6 µg/L (ppb)	1.3 mL
<b>Standard 6</b>	white	ready to use	12 µg/L (ppb)	1.3 mL
<b>Wash buffer salt Tween</b>	-	salt for dissolving		
<b>Conjugate</b>	red	ready to use		3 mL
<b>Substrate/Chromogen Red Chromogen Pro</b>	brown	ready to use		10 mL
<b>Stop solution</b>	yellow	ready to use		14 mL

## 5. Materials required but not provided

### 5.1. Equipment:

- Microtiter plate spectrophotometer (450 nm)
- Laboratory mincer / grinder, mortar, ultra-turrax or homogenizer
- Centrifuge + centrifugal vials
- Water bath (100 °C / 212 °F)
- Ice bath (0 °C / 32 °F)
- Shaker
- Optional: paper filter and funnel
- Graduated pipettes
- Variable 20 - 200 µL and 200 - 1000 µL micropipettes
- Optional: multi-dispenser or 8-channel pipette
- Optional: microtiter plate washer

### 5.2. Reagents:

- Distilled water or demineralized 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.

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](http://www.r-biopharm.com).

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.

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

The standards, the conjugate and the substrate/chromogen are 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 (exception: sample buffer, wash buffer (salt), stop solution).

## 8. Indication of instability or deterioration of reagents

- Bluish coloration of the red stained substrate/chromogen prior to test implementation
- An absorption smaller than 0.6 ( $A_{450\text{ nm}} < 0.6$ ) for the zero standard

## 9. Preparation of samples

The samples should be stored in a cool place, protected from light. The samples should be brought to room temperature before analysis (20 - 25 °C / 68 - 77 °F). For quality control, it is recommended to analyze control samples.

**Remark:** The samples should be measured at the day of extraction.

**Note:** The sample buffer can also be used for the sample preparation of vitamin B12 containing samples in combination with the RIDASCREEN®FAST Vitamin B12 (Art. No. R2103).

### 9.1. Milk, milk powder and food for special medical purpose

#### Milk:

- Homogenized milk can be directly applied in the test, dilute if necessary with sample buffer into the testing range (new calculation of the dilution factor is necessary!)
- Add 50 µL per well in the assay

#### Milk powder, food for special medical purpose:

- Suspend 1 g sample in approx. 5 mL distilled water, fill up to 10 mL with distilled water (dilution factor = 10)
- Shake / mix for 10 min
- Heat the diluted samples for 3 min at 100 °C (212 °F) in a water bath, cool down quickly (ice bath)
- Centrifuge (or alternatively filter) in order to remove undissolved components
- Dilute the supernatant or filtrate if necessary with sample buffer into the testing range (new calculation of the dilution factor is necessary!)
- Add 50 µL per well in the assay

### 9.2. Grain and cereals

A representative sample should be ground and thoroughly mixed before proceeding with the extraction procedure (particle size < 250 µm).

- Weigh 1 g of ground sample into a suitable vial, suspend with approx. 5 mL sample buffer and fill up to 10 mL with sample buffer (dilution factor = 10)
- Shake / mix for 10 min
- Centrifuge (or alternatively filter) in order to remove undissolved components
- Take supernatant, if supernatant is still turbid, filtrate
- Dilute the supernatant or filtrate if necessary with sample buffer into the testing range (new calculation of the dilution factor is necessary!)
- Add 50 µL per well in the assay

### 9.3. Fortified flour

A representative sample should be ground and thoroughly mixed before proceeding with the extraction procedure (particle size < 250 µm).

- Weigh 1 g of the homogenized flour sample into a suitable vial, suspend with approx. 5 mL sample buffer and fill up to 10 mL with sample buffer (dilution factor = 10)
- Shake / mix for 10 min
- Centrifuge (alternative: filter) in order to remove undissolved components
- Take supernatant, if supernatant is still turbid, filtrate
- Dilute the supernatant or filtrate if necessary with sample buffer into the testing range (new calculation of the dilution factor is necessary!)
- Add 50 µL per well in the assay

### 9.4. Vitamin powders, vitamin mixtures, and vitamin tablets

#### Vitamin powders / vitamin mixtures:

- Dissolve 1 g of vitamin powder / vitamin mixture in 5 mL sample buffer and fill up to 10 mL with sample buffer (dilution factor = 10)

#### Vitamin tablets:

- Crush the tablets and dissolve 1 g in 5 mL sample buffer and fill up to 10 mL with sample buffer (dilution factor = 10)

Continue with these samples as is described below:

- Shake / mix for 10 min
- Centrifuge (alternative: filter) in order to remove undissolved components
- Dilute the supernatant or filtrate if necessary with sample buffer into the testing range (new calculation of the dilution factor is necessary!)
- Add 50 µL per well in the assay

### 9.5. Vitamin juices

- The homogenized juice can be used directly in the test
- Centrifuge (alternative: filter) in order to remove undissolved components
- Dilute if necessary with sample buffer into the testing range (new calculation of the dilution factor is necessary!)
- Add 50 µL per well in the assay

## 10. Test implementation

### 10.1. Test preparation

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

The **sample buffer** is provided as a 2-fold concentrate. The concentrate is diluted 1:2 with distilled water (e.g. 50 mL sample buffer concentrate + 50 mL distilled water). The diluted sample buffer expires after approx. 4 - 6 weeks at 2 - 8 °C (36 - 46 °F).

A PBS-Tween buffer is required as **wash buffer**, please use the wash buffer salt (pouch) contained in the kit (see chapter 4. Reagents provided). Dissolve the total content of the pouch in one liter of distilled water. The ready to use wash buffer expires after approx. 4 - 6 weeks at 2 - 8 °C (36 - 46 °F).

Alternatively: Dissolve the content of the pouch in 100 mL of distilled water to obtain a 10-fold concentrated wash buffer. This solution expires after approx. 8 - 12 weeks, stored at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F). Use one part of this concentrate and dissolve with 9 parts of distilled water to obtain the ready to use washing buffer.

### 10.2. Test procedure

Standards and samples must be tested on one microtiter plate at one time. Carefully follow the recommended washing procedure. Do not allow microwells to dry between working steps.

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. Add 50 µL of each standard or prepared sample in duplicate to the wells; use a new pipette tip for each standard or sample.
3. Add 50 µL of conjugate to each well (multi-dispenser or 8-channel pipette) and incubate for 15 min at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F) in the dark.
4. Pour the liquid out of the wells and tap the microwell holder upside down vigorously (three times in a row) against absorbent paper to ensure complete removal of liquid from the wells. Using an 8-channel pipette, fill the wells with ready to use wash buffer (250 µL per well) (see chapter 10.1). Empty the wells again and remove all remaining liquid. Repeat the washing step two more times.

5. Add 100 µL of the substrate/chromogen to each well (multi-dispenser or 8-channel pipette) and incubate for 10 min at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F) in the dark.
6. Add 100 µL of stop solution to each well (multi-dispenser or 8-channel pipette) and measure the absorbance at 450 nm within 5 min after addition of stop solution.

## 11. Results

A special software, the **RIDASOFT® Win.NET** (Art. No. Z9996FF), is available for evaluation of the RIDASCREEN® enzyme immunoassays. The results are given in µg/kg respectively µg/L and µg/100 g respectively µg/100 mL.

The course of the standard curve is shown in the Certificate of analysis (CoA) enclosed in the test kit.

Remark for the calculation without software:

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

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 on semi-logarithmic graph paper against the folic acid concentration (µg/kg or µg/L).

In order to obtain the folic acid concentration actually contained in a sample, the concentration read from the standard curve must be further multiplied by the corresponding dilution factor.

## 12. 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.

## 13. 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.









**For further product information and applications, please contact your local distributor or R-Biopharm at this address: [sales@r-biopharm.de](mailto:sales@r-biopharm.de).**

### Version overview

Version number	Chapter and title
2016-05-23	Release version
2023-10-09	Current version General revision Changes made: <ul style="list-style-type: none"><li>– Brief information</li><li>– Limit of Detection</li><li>– 6. Warnings and precautions for the users</li><li>– 11. Results</li></ul>

### Explanation of symbols

General symbols:

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

## Disclaimer

The user assumes all risk in using R-Biopharm AG's products and services.

R-Biopharm AG will warrant that its products and services meet all quality control standards set by R-Biopharm AG, and R-Biopharm AG will, at its option, replace or repair any components, product or repeat services which prove to be defective in workmanship or material within product specific warranty periods or expiration dates and which our examination shall disclose to our satisfaction to be defective as such.

This warranty is expressly in lieu of all other warranties, expressed or implied, as to quality, description, fitness for any particular purpose, merchantability, productiveness, or any other matter. R-Biopharm AG shall be in no way responsible for the proper use of its products and hereby disclaims all other remedies, warranties, guarantees or liabilities, expressed or implied, arising by law or otherwise, and it shall have no liability for any lost profits or damage, direct, indirect or otherwise, to person or property, in connection with the use of any of its products or services.

This warranty shall not be extended, altered or varied except by a written instrument signed by an authorized representative of R-Biopharm AG.

### **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](mailto:info@r-biopharm.de)

[www.r-biopharm.com](http://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