

RIDASCREEN®FAST DON

REF R5901 (96 wells)

REF R5902 (48 wells)

Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung
von Deoxynivalenol

Enzyme immunoassay for the quantitative determination
of deoxynivalenol

In vitro Test
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

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®FAST DON (Art. Nr. R5901, 96 Kavitäten / R5902, 48 Kavitäten) ist ein kompetitiver Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Deoxynivalenol (DON) in Getreide (Gerste, Mais, Hafer, Roggen, Weizen), Malz und Futtermitteln. (siehe Kapitel 1. Verwendungszweck).

Alle Reagenzien für die Durchführung des Enzymimmunoassays (einschließlich Standardbestimmungen) sind im Testkit enthalten.

Ein Testkit ist ausreichend für 96 bzw. 48 Bestimmungen (einschl. Standardbestimmungen). Zur Auswertung benötigt man ein Mikrotiterplatten-Photometer.

Probenvorbereitung: homogenisieren, extrahieren und filtrieren

Zeitbedarf: Probenvorbereitung (für 10 Proben) ca. 10 min
Testdurchführung (Inkubationszeit) 8 min

Nachweisgrenze LoD: Gerste 0,117 mg/kg (ppm)
Mais 0,041 mg/kg (ppm)
Hafer 0,056 mg/kg (ppm)
Roggen 0,076 mg/kg (ppm)
Weizen 0,095 mg/kg (ppm)
Futtermittel 0,96 mg/kg (ppm)
Malz 0,103 mg/kg (ppm)

Bestimmungsgrenze LoQ: Gerste 0,279 mg/kg (ppm)
Mais 0,111 mg/kg (ppm)
Hafer 0,151 mg/kg (ppm)
Roggen 0,165 mg/kg (ppm)
Weizen 0,232 mg/kg (ppm)
Futtermittel 2,18 mg/kg (ppm)
Malz 0,226 mg/kg (ppm)

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 Deoxynivalenol-(DON)

RIDASCREEN®FAST DON SC (Art. Nr. R5905)

RIDASCREEN® DON (Art. Nr. R5906)

RIDA®QUICK DON RQS ECO (Art. Nr. R5911)

Trilogy® Liquid Standard Deoxynivalenol (DON) (Art. Nr. TAS-M21LM2-10)

Trilogy® Dried Standard Deoxynivalenol (DON) (Art. Nr. TAS-M21DM2-10)

1. Verwendungszweck

RIDASCREEN®FAST DON ist ein kompetitiver Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Deoxynivalenol in Getreide, Malz und Futtermitteln.

2. Allgemeines

DON, ein Mykotoxin aus der Gruppe der Trichothecene, wird von Feldpilzen der Gattung *Fusarium* gebildet. DON ist in pflanzlichen Produkten, vor allem in Getreide, nachzuweisen. Von den mehr als 150 bekannten Trichothecenen ist in Europa und Nordamerika DON das vorherrschende Toxin, daneben sind noch 3-Acetyl- bzw. 15-Acetyldeoxynivalenol von Bedeutung. Die Toxingehalte insbesondere in Weizen, Mais oder Reis liegen häufig im ppm (mg/kg) Bereich und stellen aufgrund der hohen zytotoxischen und immunsuppressiven Wirkungen dieser Toxine ein Gesundheitsrisiko für Mensch und Tier dar.

3. Testprinzip

Grundlage ist die Antigen-Antikörper-Reaktion. Die Vertiefungen der Mikrotiterstreifen sind mit spezifischen Antikörpern gegen anti-DON-Antikörper beschichtet. Zugabe von Standards bzw. Probelösung, enzymmarkiertes Deoxynivalenol (Enzymkonjugat) und anti-DON-Antikörper. Freies und enzymmarkiertes DON konkurrieren um die DON Antikörperbindungsstellen (kompetitiver

Enzymimmunoassay). Gleichzeitig werden auch die anti-DON-Antikörper von den immobilisierten Fänger-Antikörpern gebunden. Nicht gebundenes, enzymmarkiertes DON wird anschließend in einem Waschschrift wieder entfernt. Der Nachweis erfolgt durch Zugabe von Substrat/Chromogen. Gebundenes Enzymkonjugat 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 Deoxynivalenol Konzentration in der Probe.

4. Packungsinhalt

Mit den Reagenzien einer Packung können max. 96 (R5901) bzw. 48 (R5902) Bestimmungen durchgeführt werden (einschließlich Standardbestimmungen). Jeder Testkit enthält:

Komponente	Deckelfarbe	Zustand		Inhalt
Microtiter plate M Mikrotiterplatte M	-	gebrauchsfertig		96 Kavitäten (R5901) 48 Kavitäten (R5902)
Standard 1* Standard 1	weiß	gebrauchsfertig	0 mg/l	1,3 ml
Standard 2* Standard 2	weiß	gebrauchsfertig	0,222 mg/l	1,3 ml
Standard 3* Standard 3	weiß	gebrauchsfertig	0,666 mg/l	1,3 ml
Standard 4* Standard 4	weiß	gebrauchsfertig	2 mg/l	1,3 ml
Standard 5* Standard 5	weiß	gebrauchsfertig	6 mg/l	1,3 ml
Wash buffer salt Tween Waschpuffersalz Tween		Salz zum Auflösen		
Conjugate Konjugat	rot	gebrauchsfertig		6 ml (R5901) 3 ml (R5902)
Antibody Antikörper	schwarz	gebrauchsfertig		6 ml (R5901) 3 ml (R5902)
Substrate/Chromogen Substrat/Chromogen Red Chromogen Pro	braun	gebrauchsfertig		10 ml
Stop solution Stopp-Lösung	gelb	gebrauchsfertig		14 ml

- *) Die Konzentrationsangaben berücksichtigen bereits den Verdünnungsfaktor 20, der sich aus der Probenvorbereitung ergibt. So können DON-Konzentrationen der Proben 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)
- Getreidemühle, Schlagmühle, Mörser, Ultra- Turrax oder Homogenisator
- Messzylinder (Plastik oder Glas) 100 ml, 1 l
- Filterpapier: Whatman No. 1 oder Vergleichbares
- Optional: (Horizontal) – Schüttler
- Variable 20 – 200 μ l und 100 – 1000 μ l Mikropipetten
- Optional: Multisteppler oder 8- Kanalpipette für 50, 100 und 250 μ l
- Mikrotiterplatten- Photometer (450 nm)
- Optional: RIDASOFT® Win.NET (Art. Nr. Z9996FF)

5.2. Reagenzien:

- destilliertes oder deionisiertes Wasser

6. Vorsichtsmaßnahmen

Das Produkt / 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 DON, 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 <https://food.r-biopharm.com/de/produkte/ridascreenfast-don/> .

Die Kavitäten der Mikrotiterstreifen (beschichtete Mikrotiterplatte aus dem Kit, siehe Kapitel 10.2 Testdurchführung) 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
- Extinktion kleiner 0,8 ($E_{450\text{ nm}} < 0,8$) für Standard 1

9. Probenvorbereitung

Die Proben kühl und lichtgeschützt lagern.

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

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

- 5 g der zerkleinerten Probe einwiegen und 100 ml destilliertes Wasser *) hinzufügen
 - die Probe 2 min mit einem Ultra-Turrax (oder Vergleichbarem) homogenisieren oder 3 min kräftig schütteln (manuell oder mittels Schüttler)
 - den Extrakt durch einen Whatman No. 1 Papierfilter (oder vergleichbaren Filter) filtrieren
 - 50 µl Filtrat pro Kavität im Test einsetzen
- *) die Probeneinwaage kann entsprechend vergrößert werden, aber dazu muss das Volumen des Wassers angepasst werden z. B. 25 g in 500 ml dest. Wasser oder 50 g in 1000 ml dest. Wasser

10. Testdurchführung

10.1. Testvorbereitungen

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

Die spezifische Reaktion startet erst mit der Zugabe des spezifischen Antikörpers. Wenn eine einfache Pipette eingesetzt wird, sollten nicht mehr als drei Streifen pro Testansatz eingesetzt werden. Bis zu 6 Streifen können bei Verwendung von Multikanal- oder Multistepper-Pipetten eingesetzt werden.

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

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

10.2. Testdurchführung

Sorgfältiges Waschen ist sehr wichtig. Ein komplettes 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 Multistep-Pipette zu pipettieren, um eine Zeitverzögerung über die Platte zu vermeiden.

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

1. So viele Kavitäten in den Halterahmen einsetzen, wie für alle Standards und Proben benötigt werden. Die Positionen der Standards und der Proben protokollieren.
2. 50 µl Standard bzw. der nach Kapitel 9 vorbereiteten Probe in die entsprechenden Kavitäten pipettieren; für jeden Standard oder Probe neue Pipettenspitzen benutzen.
3. Je 50 µl Konjugat in die entsprechenden Kavitäten pipettieren.
4. Je 50 µl Antikörper in jede Kavität pipettieren. Vorsichtig durch leichte manuelle Bewegung der Platte mischen und 5 min (+/- 1) bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) inkubieren.
1. 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 mit jeweils 250 µl gebrauchsfertigem Waschpuffer (siehe Kapitel 10.1) befüllen und anschließend wie zuvor entleeren. Diesen Vorgang weitere zweimal wiederholen (insgesamt drei Waschzyklen).
5. 100 µl Substrat/Chromogen in jede Kavität pipettieren und 3 min (+/- 0,5) bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) im Dunkeln inkubieren.
6. 100 µl Stopp-Lösung in jede Kavität pipettieren. Vorsichtig manuell mischen und die Extinktion bei 450 nm innerhalb von 10 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 RIDA®SOFT Win.net (Art. Nr. Z9996FF), erhältlich.

Die Auswertung sollte mittels Logit-Log erfolgen.

Der Verlauf der Standardkurve kann dem beigefügten Analysenzertifikat entnommen werden.

Hinweis für die Berechnung ohne Software:

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

Den Nullstandard somit gleich 100 % setzen und die Extinktionswerte in Prozent angeben. Die errechneten Werte für die Standards in einem Koordinatensystem auf halblogarithmischem Millimeterpapier gegen die Deoxynivalenol-Konzentration [mg/kg] auftragen.

12. Interpretation der Ergebnisse

Ergebnisse zwischen Nachweisgrenze (LoD) und Bestimmungsgrenze (LoQ) 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 “< LoQ“ angegeben werden.

Ein Ergebnis unterhalb der LoD schließt nicht aus, dass eine Mykotoxinkontamination unterhalb der Nachweisgrenze dieses Testes vorliegt. Die Interpretation des Ergebnisses sollte entsprechend < LoD (mg/kg) formuliert werden.

Proben mit Absorptionswerten ($E_{450 \text{ nm}}$) < Standard 5 können 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 DON 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 fehlerhafte Probeneinwaage hat einen direkten (1:1) Einfluss auf das Messergebnis (z. B. führt eine Einwaage von +10 % zu einer um 10 % höheren gemessenen Konzentration). 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 Verifizierung der Methodengenauigkeit und der korrekten Durchführung der Bestimmung Dotierungsversuche durchzuführen

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

Versionsnummer	Kapitel und Bezeichnung
2017-07-18	Freigabeversion
2025-11-11	Aktuelle Version Generelle Überarbeitung Vorgenommene Änderungen: - Anpassung des Layouts an aktuelle Vorgaben - Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für spezifische Matrices wurden ergänzt - Ergänzungen in den Kapiteln 6 und 7 - Testauswertung wurde angepasst - Kapitel 12-14 geändert - Haftungsausschuss wurde erneuert - FGIS Abarbeitung wurde entfernt - AOAC Approval wurde entfernt

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 herstellenseits 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®FAST DON

Brief information

RIDASCREEN®FAST DON (Art. No. R5901, 96 wells / R5902, 48 wells) is a competitive enzyme immunoassay for the quantitative determination of deoxynivalenol (DON) in cereals (barley, corn, oats, rye, wheat), malt and feed. (see chapter 1. Intended use). Wheat, barley, malted barley, oats and corn are approved by AOAC Research Institute.

All reagents required for the enzyme immunoassay, including standards, are contained in the test kit. The test kit is sufficient for 96 or 48 determinations (including standards). A microtiter plate spectrophotometer is required for quantification.

Sample preparation: homogenization, extraction and filtration

Time requirement: sample preparation (for 10 samples) approx. 10 min
test implementation (incubation time) 8 min

Limit of detection (LoD): Barley 0.117 mg/kg (ppm)
Corn 0.041 mg/kg (ppm)
Oats 0.056 mg/kg (ppm)
Rye 0.077 mg/kg (ppm)
Wheat 0.095 mg/kg (ppm)
Feed 1.064 mg/kg (ppm)
Malt 0.103 mg/kg (ppm)

Limit of quantification (LoQ): Barley 0.279 mg/kg (ppm)
Corn 0.111 mg/kg (ppm)
Oats 0.151 mg/kg (ppm)
Rye 0.168 mg/kg (ppm)
Wheat 0.232 mg/kg (ppm)
Feed 2.415 mg/kg (ppm)
Malt 0.226 mg/kg (ppm)

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 products and accessories for DON determination

RIDASCREEN®FAST DON SC (Art. No. R5905)

RIDASCREEN® DON (Art. No. R5906)

RIDA®QUICK DON RQS ECO (Art. No. R5911)

TRILOGY® Liquid Standard Deoxynivalenol (DON) (Art. No. TAS-M21LM2-10)

TRILOGY® Dried Standard Deoxynivalenol (DON) (Art. No. TAS-M21LM2-20)

1. Intended use

RIDASCREEN®FAST DON is a competitive enzyme immunoassay for the quantitative analysis of DON in cereals, malt and feed.

2. General

DON belongs to the trichothecene group of mycotoxins and is formed by fungi of the genus *Fusarium*. DON often occurs in plant products particularly in cereals. Of the trichothecene mycotoxins DON, 3-acetyl- and 15-acetyl-DON are the most frequently occurring toxins in Europe and Northern America. The toxin concentrations found in wheat, corn or rice are often in the ppm range. Due to their high cytotoxic and immunosuppressive properties these toxins pose a risk to human and animal health.

3. Test principle

The basis of the test is the antigen-antibody reaction. The microtiter wells are coated with capture antibodies directed against anti-DON antibodies. DON standards or sample solutions, deoxynivalenol enzyme conjugate and anti-deoxynivalenol antibodies are added. Free deoxynivalenol and deoxynivalenol enzyme conjugate compete for the deoxynivalenol antibody binding sites (competitive enzyme immunoassay). At the same time, the anti-deoxynivalenol 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 deoxynivalenol concentration in the sample.

4. Reagents provided

Each kit contains sufficient materials for as many as 96 (R5901) or 48 (R5902) analyses (including standard analyses). Each test kit contains:

Component	Cap color	Format		Volume
Microtiter plate M	-	Ready to use		96 wells (R5901) 48 wells (R5902)
Standard 1*	White	Ready to use	0 mg/L	1.3 mL
Standard 2*	White	Ready to use	0.222 mg/L	1.3 mL
Standard 3*	White	Ready to use	0.666 mg/L	1.3 mL
Standard 4*	White	Ready to use	2 mg/L	1.3 mL
Standard 5*	White	Ready to use	6 mg/L	1.3 mL
Wash buffer salt Tween		Dissolve the salt		
Conjugate	Red	Ready to use		6 mL (R5901) 3 mL (R5902)
Antibody	Black	Ready to use		6 mL (R5901) 3 mL (R5902)
Substrate/Chromogen Red Chromogen Pro	Brown	Ready to use		10 mL
Stop solution	Yellow	Ready to use		14 mL

*) The dilution factor 20 for the sample has already been considered. Therefore, the deoxynivalenol concentrations of samples can be read directly from the standard curve.

5. Materials 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) 100 mL, 1 L
- filter paper: Whatman No. 1 or equivalent
- optional: shaker
- variable 20 - 200 μ L and 200 - 1000 μ L micropipettes
- Microtiter plate spectrophotometer (450 nm)
- Optional: RIDASOFT® Win.NET Food & Feed (Art. No. Z9996FF)

5.2. Reagents

- distilled or deionized water

6. Warnings and precautions for the users

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

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

The standards contain DON. 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 <https://food.r-biopharm.com/de/produkte/ridas-greenfast-don/>.

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 solution 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
- a 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 from light.

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

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 into a suitable container and add 100 mL of distilled water *)
- blend the sample by ultra-turrax (or equivalent) for two minutes or shake vigorously for three minutes (manually or with shaker)
- filter the extract through Whatman No. 1 filter (or equivalent)
- use 50 µL of the filtrate per well in the test

*) sample size may be increased if required, but the volume of water must be adapted accordingly, e.g.: 25 g in 500 ml of distilled water or 50 g in 1000 mL of distilled water

10. Test implementation

10.1. Test preparation

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

The specific reaction starts with the addition of the specific antibody. Not more than three strips should be applied to the test, when a single step pipette is used. More strips (up to 6) could be applied, when a multichannel or multistepper pipette is used.

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

As **wash buffer** a PBS tween buffer is needed. Please use the buffer salt contained in the kit (see 4.). Dilute the entire buffer salt in one liter of distilled water. The ready to use washing buffer expires after approx. 4 - 6 weeks at 2 - 8 °C (36 - 46 °F).

Alternative: Dissolve the contents of the envelope in 100 mL of distilled water to obtain a 10fold concentrated washing buffer. Use 1 part of this concentrate and dissolve with 9 parts of distilled water to obtain the ready to use washing buffer.
The 10fold concentrate expires after approx. 8 - 12 weeks, store at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F).

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. Record standard and sample positions.
2. Pipet 50 µL of standard or sample (prepared according to chapter 9) into separate wells; use a new pipette tip for each standard or sample.
3. Add 50 µL of conjugate to each well.
4. Add 50 µL of antibody to each well. Mix gently by shaking the plate manually and incubate for 5 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, fill the wells (250 µL per well) with wash buffer (see 10.1.). Empty the wells again and remove all remaining liquid. Repeat the washing step two more times (total of three wash cycles).
6. Add 100 µL of substrate/chromogen to each well and incubate for 3 min (+/- 0.5) at room temperature (20 - 25 °C; 68 - 77 °F) in the dark.
7. Add 100 µL of stop solution to each well. Mix gently by shaking the plate manually and measure the absorbance at 450 nm. Read within 10 minutes after addition of stop solution.

11. Results

A special software, the RIDA®SOFT Win.net (Art. No. Z9996), is available to evaluate the RIDASCREEN® enzyme immunoassays.

The evaluation should be done using the logit-log 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:

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

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 semilogarithmic graph paper against the deoxynivalenol concentration [mg/kg].

The deoxynivalenol concentration in mg/kg corresponding to the extinction of each sample can be read from the calibration curve.

12. Result interpretation

Results between LoD (Limit of Detection) and LoQ (Limit of Quantification) indicate a low DON concentration in the sample. Unless the precision of the test has been validated with a specific sample matrix, results below the measuring range should not be reported with a quantitative value, but qualitatively "< LoQ". Further information on this can be found in the current validation report.

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

A further dilution and new detection of samples is recommended for absorbance values ($A_{450\text{ nm}}$) < standard 5. In case of a further dilution, the additional dilution factor must be taken into account when calculating the DON 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 DON 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 sample weight will have a 1:1 effect on the measurement result (e.g. a 10 % higher sample weight will result in a 10 % higher measured concentration). A sufficient accuracy is achieved with a maximum fluctuation of $\pm 1\%$.

14. Recommendation

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 method accuracy and proper execution.

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

Version overview

Version number	Chapter and title
2017-07-18	Release version
2025-11-11	Current version General revision Changes made: – Adaptation of the layout to current specifications – Detection limits for specific matrices have been added – Additions to chapters 6 and 7 – Result evaluation was adapted – Chapters 12-14 have changed – Disclaimer has been renewed – FGIS processing has been removed – AOAC Approval has been removed

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