

RIDASCREEN® Gliadin competitive

酶联免疫法定量检测醇溶谷蛋白及相应的醇溶谷蛋白的多肽序列

订货号: R7021

已被正式认证为 **AOAC Official Method of Analysis (OMA)** 官方方法

First Action Status 2015.05

体外检测试剂

储存温度 2 - 8 °C

拜发分析系统销售（北京）有限公司

电话: +86 10 8458 3218 传真: +86 10 8458 0691

地址:

拜发分析系统销售（北京）有限公司

北京市朝阳区阜通东大街 6 号方恒国际中心 A 座 1903

邮编: 100102

www.r-biopharm.com

欢迎随时联系德国拜发中国区:

电话:

客服中心: +86 10 8458 3218

传真/邮箱:

销售部: +86 10 - 84 58 32 18 - 223
info@r-biopharm.cn

市场部: +86 10 - 84 58 32 18 - 217
info@r-biopharm.cn

RIDA® 和 RIDASCREEN®

均为 R-Biopharm 德国拜发公司的注册品牌标志

制造商: R-Biopharm AG, Darmstadt, 德国

R-Biopharm AG 拥有 ISO 9001 认证。

RIDA® and RIDASCREEN®

are registered trademarks of R-Biopharm AG

Manufacturer: R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany

R-Biopharm AG is ISO 9001 certified.

产品简介

RIDASCREEN® Gliadin competitive（订货号：**R7021**）醇溶谷蛋白竞争性酶联免疫法检测试剂盒，用于定量检测食品（参见 1. 用途中列出的已验证样品基质）中含有的小麦（麦胶蛋白）、黑麦（黑麦碱）及大麦（大麦醇溶蛋白）中的醇溶谷蛋白。

RIDASCREEN® Gliadin competitive（订货号：**R7021**）醇溶谷蛋白竞争性酶联免疫法检测试剂盒已经是：

- **AACCI 38-55.01** 美国谷物化学师协会官方方法，针对啤酒、淀粉糖浆、发酵面类样品
- **AOAC-OMA Final Action** 官方正式标准方法（2015.05）
- 通过考核的 **ASBC** 标准方法（啤酒 - 49）

试剂盒中含有酶联免疫检测所需的所有试剂，包括标准品。

试剂盒足够进行 **96** 次检测（包括标准测定）。

定量分析需要使用微孔板酶标仪。

样品处理：均质、提取

检测时间：样品制备（以 10 个样品为例）..... 约 30 分钟
检测过程（孵育时间）40 分钟

标准品：**RIDASCREEN®** 试剂盒使用的标准品为水解物（由小麦、大麦和黑麦的混合物制得，**Gessendorf et al. (2009) Anal Bioanal Chem, 395: 1721-1728**）。

检测限：**2.3 mg 醇溶谷蛋白 / kg 食品样品***
（基质相关）即 **4.6 mg 麸质 / kg 食品样品***
1.9 – 2.6 mg/kg 麸质
*平均值

定量限：**5 mg 醇溶谷蛋白 / kg 食品样品**
即 **10 mg 麸质 / kg 食品样品**

特异性：试剂盒使用的 **R5** 单克隆抗体可与小麦中麦胶蛋白及黑麦和大麦中相应醇溶谷蛋白的有毒多肽序列反应。具体信息请参见德国拜发集团的产品验证报告。

试剂盒中所使用的抗体的交叉反应，是针对纯食品（例如玉米粉）本身进行的检测。而针对加工的配方食品（如玉米面包），此处给出的交叉反应可能会有所不

同。潜在的干扰物质（如多酚）会在进行样品的添加回收试验过程中通过结果分析出来。

为了提升进行 ELISA 检测时的效果，德国拜发集团建议您参考 GEP（ELISA 良好操作规程）手册，手册中为您详细介绍了如何正确使用和进行 ELISA 操作，及在操作过程中需要注意的关键点等。GEP 手册可以登录

www.r-biopharm.com/products/food-feed-analysis 网站进行阅读或下载。

相关产品：

RIDASCREEN® Gliadin 麸质检测试剂盒（订货号：R7001）

RIDASCREEN® Total Gluten 燕麦中麸质检测试剂盒（订货号：R7041）

RIDASCREEN® FAST Gliadin sensitive 麸质快速高灵敏检测试剂盒（订货号：R7051）

RIDASCREEN®FAST Gliadin 快速麸质检测试剂盒（订货号：R7002）

RIDA®QUICK Gliadin 快速麸质检测卡（订货号：R7003, R7004, R7005）

RIDA® Extraction Solution (colorless) 过敏原提取液（无色）（订货号：R7098）

Cocktail Solution 提取缓冲液（订货号：R7006, R7016）

RIDA® Cocktail ECO 环保提取缓冲液（订货号：R7080）

Set of 3 processed Gliadin Assay Controls 经过加工的麸质质控物套装（订货号：R7012）

SureFood® ALLERGEN (real time PCR) Gluten 麸质过敏原实时荧光 PCR 检测试剂盒（订货号：S3106）

SureFood® ALLERGEN QUANT (real time PCR) Gluten 麸质过敏原定量实时荧光 PCR 检测试剂盒（订货号：S3206）

1. 用途

RIDASCREEN® Gliadin competitive（订货号：R7021） 醇溶谷蛋白竞争性酶联免疫法检测试剂盒，用于定量检测经过发酵或水解的食品，尤其是声明为“无麸质”的此类食品中含有的小麦（麦胶蛋白）、黑麦（黑麦碱）及大麦（大麦醇溶蛋白）中的醇溶谷蛋白。考虑到食品样品的多样性，下列不同种类的食品样品已经使用本试剂盒进行检测验证：包括无麸质啤酒、大米啤酒、玉米面粉、发酵面及甜菜糖浆等。当然，本试剂盒在经过使用者自行验证确认后，也可以用于其他种类样品。

具体的验证数据、结果及验证的食品基质等信息，欢迎查阅德国拜发集团提供的试剂盒验证报告。德国拜发集团的实验室持续地对不同种类样品进行验证并推出相应的样品处理方法说明（参见说明书 15. 其他样品处理方法），可供全球客户参考使用。

2. 概要

小麦粉及麸质蛋白因其耐热性和诸如质地、缩水性和芳香等方面的特性被极为普遍地用作食品原材料。麸质蛋白是醇溶谷蛋白和麦谷蛋白的混合物，存在于小麦、黑麦和大麦中。乳糜泻是因对麸质蛋白的不耐性而导致的常发性疾病，若避免食用麸质蛋白，则该病自消。

根据 **Codex Alimentarius** 食品法典（**CODEX STAN 118-1979**），将食品中麸质含量的标签标注分为两个等级：

1. “无麸质”食品，为含有不超过 **20 mg/kg** 的麸质蛋白的食品。
2. 标签上标注为“含有极少量麸质”的产品，其中允许含有超过 **20 mg/kg** 的麸质蛋白，但最多不能超过 **100 mg/kg**。

20 mg/kg 麸质这个限量值被很多国家的相关法规所采纳和使用。麸质中醇溶谷蛋白的含量在食品法典 **CODEX STAN 118-1979** 中被定义为 **50%**。

经过食品加工过程中的发酵或水解等处理后，完整的醇溶谷蛋白分子会部分或完全分解成小的肽段。针对患有乳糜泻的患者而言，这些分解后的小的肽段，即使在经过了胃的消化后，仍然具有毒性。

单个的小肽段无法使用夹心法 **ELISA** 检测，因为针对夹心法 **ELISA**，目标物上必须至少有两个结合位点。但，使用竞争法 **ELISA** 就可以检测出单个的肽段。

RIDASCREEN® Gliadin competitive 麸质竞争法检测试剂盒（订货号：**R7021**）使用的标准品是由经过了胃蛋白酶和胰蛋白酶分解的小麦、黑麦和大麦得到的肽段，在经过了蛋白测定后经过混合和冻干而成的。蛋白测定的方法依据的是杜马斯法。

本检测方法可直接指示为醇溶谷蛋白浓度，因而符合食品法典中规定的检测限要求。结果表述为 **mg/kg**（**ppm**）醇溶谷蛋白。水解标准品由 **Prof. Dr. Köhler** 工作组制作（德国食品化学研究中心）。

3. 检测原理

检测原理为抗原-抗体反应。微孔板中包被有醇溶谷蛋白。同时加入标准品（小麦、黑麦和大麦的水解物）、具有代表性的样品提取液和过氧化物标记的抗麦胶蛋白抗体酶标记物（与单克隆抗体 **R5** 连接）。游离的醇溶谷蛋白与板上固定的醇溶谷蛋白竞争醇溶谷蛋白抗体结合位点（竞争性酶联免疫法）。在洗涤步骤中，溶液中没有连接的酶标记物被除去。将底物/发色剂加入孔中，孵育。结合在微孔板上的酶标记物将发色剂转化为蓝色的产物。加入反应终止液后使颜色由蓝色转变为黄色。在 **450 nm** 处测量。吸光度值与样品中的醇溶谷蛋白的浓度成反比。检测结果为 **ng/mL** 醇溶谷蛋白。

4. 试剂盒组份

每一个盒中的试剂足够进行 **96** 个试验（包括标准测定），盒中的组份如下：

组份	瓶盖颜色	试剂状态		含量
Microtiter plate 微孔板	-	即开即用		96 孔
Buffer 缓冲液	白色	浓缩液	5x	60 ml
Standard 1* 标准品 1	透明	即开即用	0 ng/ml	1.3 ml
Standard 2* 标准品 2	透明	即开即用	10 ng/ml	1.3 ml
Standard 3* 标准品 3	透明	即开即用	30 ng/ml	1.3 ml
Standard 4* 标准品 4	透明	即开即用	90 ng/ml	1.3 ml
Standard 5* 标准品 5	透明	即开即用	270 ng/ml	1.3 ml
Wash buffer 洗涤缓冲液	棕色	浓缩液	10x	100 ml
Conjugate 酶标记物	红色	浓缩液	11x	0.7 ml
Substrate/Chromogen 底物/ 发色剂	棕色	即开即用		10 ml
Stop Solution 终止液	黄色	即开即用		14 ml

*标准品中含有小麦、黑麦和大麦的水解物。与 AOAC OMA Approval 2015.05 官方方法不同的是，标准品的浓度为醇溶谷蛋白的浓度。可以按照食品法典的定义(Definition Codex Alimentarius)，将醇溶谷蛋白的浓度乘以 2，即得到麸质的浓度。

5. 另需的试剂和设备

5.1. 设备：

- 实验室手套
- 天平（量程至少为 50 g，精度为 ± 0.01 g）
- 搅拌棒、均质器、匀浆机
- 试管
- 振荡器/旋转振荡器
- 槽状滤纸（孔径 8 - 12 μm ）
- 移液管
- 量筒
- 可调式 20 μl - 200 μl 和 200 - 1000 μl 微量移液器
- 选配：空白 96 孔板（例如 Thermo Fisher Scientific 订货号 95029390，或 Greiner bio-one 订货号 655901）
- 选配：8 道排枪（100 μl ）
- 微孔板酶标仪（450 nm）
- 德国拜发专业分析软件 RIDASOFT® Win.NET (订货号：Z9996FF)

5.2. 试剂:

- 蒸馏水或去离子水
- 乙醇溶液（60 %），用于样品提取（淀粉、糖浆）：每 150 ml 乙醇和 100 ml 蒸馏水充分混合。
- 新鲜配制含有 10 %鱼明胶的乙醇溶液（60%），用于提取含有多酚类物质的样品（例如啤酒、酒花）：如鱼明胶液体，Serva 公司，订货号 22156 或 Sigma 公司订货号 G-7765，两者均含 45%固体物
- 1 M 氢氧化钠

6. 操作者应该注意之事项

建议由经过相关培训的实验人员进行本试剂盒的使用操作。请严格按照说明书的要求使用本试剂盒。

试剂盒中可能含有对健康有害的物质。请在德国拜发集团官方网站 www.r-biopharm.com 上获取 MSDS，了解关于本试剂盒内所含化学品的安全信息。

板孔（试剂盒中提供的预包被微孔板，及 10.2 中提到的额外的预混板）均不可二次使用。每个标准品和样品取液时均需要换新枪头，以避免交叉污染。请在移取不同的标准品及样品时，均换用新的干净的移液头，避免交叉污染。

所有试剂和材料在使用后必须按照保护人类和环境的要求进行回收或独立处置。请遵守相应的国家法规（如《循环管理法》、《危险物质条例》等）。

7. 储存条件

保存试剂盒于 2 - 8 °C，不要冷冻。

请在回温到室温（20 - 25°C）后，再打开铝箔袋取出其中的微孔板，以避免在微孔板孔中形成冷凝水。

将不用的微孔板放进原锡箔袋中并且与提供的干燥剂一起重新密封储存于 2 - 8°C 条件下。

红色底物/发色剂对光敏感，因此要避免直接暴露在光线下。

对过了有效期（见试剂盒标签）的试剂盒不再提供任何质量保证。

不能交叉使用不同批号的盒中试剂。

8. 试剂变质的迹象

- 红色底物/发色剂在使用前颜色变蓝

–零标准品的吸光度值小于 1.2 ($A_{450\text{ nm}} < 1.2$)

9. 样品处理

进行操作和样品提取前，请先戴上实验室手套。空气中含有的谷物粉尘以及受污染的实验室设备会导致检测过程被醇溶谷蛋白污染。因此建议采取以下措施：

- 器物表面、玻璃容器、粉碎机和其他的设备用 60 %乙醇（参见 5.2.）清洁
- 样品处理和 ELISA 酶联免疫分析应在独立的房间进行
- 试剂和设备使用 RIDA® QUICK Gliadin（订货号：R7003, R7004, R7005）免疫层析法快速检测条来检测是否被麦胶蛋白污染

使用之前将所有试剂回温至室温（20 - 25 ° C）。

提取淀粉和糖浆等样品时，需要 60%的乙醇溶液：例如取 150 ml 乙醇与 100 ml 蒸馏水均匀混合。

对于含有多酚的样品（如啤酒、麦芽、啤酒花）的提取，必须制备含有 10% 液态鱼明胶（鱼明胶乙醇溶液）的乙醇溶液（60%）。例如取 30 毫升蒸馏水置于 100 毫升的量筒中，加入 10 克液态鱼胶，搅拌均匀。再加入 60 毫升乙醇，搅拌均匀。使用电子 pH 计及 1 M NaOH 溶液将 pH 值调至 8.5，再用蒸馏水定容至 100 毫升。鱼明胶在 60%乙醇中不能完全溶解，而是保持悬浮状态。因此，在取用是需要先搅拌均匀，再取所需要的量使用。鱼明胶乙醇溶液在室温（20 - 25° C）下可保存 2 周。

9.1. 样品提取

RIDASCREEN® Gliadin competitive (R7021) 醇溶谷蛋白竞争性酶联免疫法检测试剂盒仅适用于检测使用乙醇提取的样品，不适用于检测用 **Cocktail (patented)** 提取液处理的样品。

取足够大量的样品（至少 50 g 或 50 ml），充分均质（仔细捣碎，碾磨，充分混合），以确保所取的和制备的是足够有代表性的样品。

- 固态食品样品（如淀粉和淀粉糖浆）：1 g 有代表性的样品溶于 10 ml 60 %乙醇溶液（参见 5.2.）中，混合，盖紧。
- 含有多酚类物质的食品样品（如麦芽汁、酒花）：1 ml 有代表性的样品溶于 10 ml 含有 10 %鱼明胶的 60 %乙醇溶液混合（参见 9.）中，混合，盖紧。
- 液态食品样品（如酱油）：1 ml 有代表性的样品溶于 9 ml 60 %乙醇溶液（参见 5.2.）中，混合，盖紧。
- 啤酒样品：1 ml 样品和 9 ml 含有 10 %鱼明胶的 60 %乙醇溶液混合（参见 9.），混合，盖紧。

针对所有样品的后续处理方法：

- 至少 30 秒完全混合（漩涡混合器）
- 继续回旋振荡 10 分钟
- 离心：10 min / 至少 2500 g / 室温（20 - 25 °C）并/或过滤
- (或者，取 2 ml 提取液，置入高速离心管中，10 分钟 > 10000 g 高速离心)
- 上清液收集于可密闭的干净试管中
- 若在离心后仍然无法得到无颗粒的澄清上清液，则可再进行过滤
- 离心或过滤后得到的上清液可置于密封管中，在未经稀释的情况下，则可在室温（20 - 25 °C）条件下暗处保存约 4 周左右。
- 离心或过滤后得到的上清液，需要在检测前，使用缓冲液进行稀释（参见 10.2.）。

10. 检测步骤

10.1. 检测前的准备

使用之前将所有试剂回温至室温（20 - 25 °C）。

黄色的样品缓冲液为 5 倍浓缩液。请在进行检测的当天按照所需要的量，使用蒸馏水进行新鲜的 1:5（1+4）稀释配置（例如 3 ml 样品缓冲液浓缩液 + 12 ml 蒸馏水，足够用于 10 个样品的处理）。请特别注意，样品缓冲液一定不要被样品或其他材料污染。

酶标记物（红色瓶盖瓶子）为 11 倍浓缩液。由于稀释的酶标记物的弱稳定性，所以只稀释实际需用量的酶标记物。在吸取浓缩液之前，要轻轻的振摇以便充分混均。用蒸馏水以 1:11（1+10）的比例稀释酶标记物浓缩液（例如：100 µl 浓缩液 + 1.0 ml 蒸馏水，足够 2 个微孔板条用）。注意水不要被醇溶谷蛋白污染。

洗涤缓冲液为 10 倍浓缩液，在使用前必须按比例 1:10（1+9）用蒸馏水稀释（例如：100 ml 缓冲液浓缩液 + 900 ml 蒸馏水）。在稀释前注意，如果存在结晶，应在 37 °C 水浴锅中加热完全溶解。稀释后的缓冲液在 20 - 25 °C 条件下可保存 4 周。

其他不使用的试剂请立刻放回冰箱 2 - 8 °C 保存。

10.2. 检测操作

按照样品处理方法得到的样品提取液，必须在检测前用稀释后的缓冲液（参见 10.1.）进行 1:50（1 + 49）的稀释（例如 980 µl 稀释后的缓冲液 + 20 µl 样品提取液）。

仔细洗板非常重要。避免在操作过程中微孔出现干燥。

建议使用多道移液器或自动分配器进行酶标记物、底物和终止液的加样，以避免单个加样产生的孔间反应时间差。

1. 将足够标准品和样品检测所需数量的孔条插入微孔板架，均做两个平行实验，记录下标准品和样品的位置。
2. 将 50 µl 标准品及按照 9. 提取并按照 10.2. 稀释处理好的样品溶液加到相应的微孔中，均做两个平行实验。
3. 向每一个微孔中加入 50 µl 稀释后的酶标记物溶液（参见 10.1.），充分混合，在室温条件下（20 - 25 °C）孵育 30 分钟。
4. 倒出孔中的液体，将微孔板架倒置在吸水纸上拍打（每轮拍打 3 次）以保证完全除去孔中的液体。每孔加入 250 µl 稀释后的洗涤缓冲液（参见 10.1.）洗涤微孔。上述操作重复进行三遍（总共洗板 4 次）。
5. 向每一个微孔中加入 100 µl 底物/发色剂（棕色瓶盖），充分混合后在室温（20 - 25 °C）条件下暗处孵育 10 分钟。
6. 向每一个微孔中加入 100 µl 反应终止液，充分混合。在加入反应终止液后 10 分钟内于 450 nm 处测量吸光度值。

11. 结果评估

请使用 R-Biopharm 德国拜发公司专门为 RIDASCREEN® 系列产品设计的应用软件 RIDASOFT® Win（订货号：Z9996FF）来进行结果分析。使用 4 参数功能或 Cubic spline 功能进行结果评估。选择评估曲线类型后，就请固定使用该类型，而不要频繁更改。由于建立曲线的数学公式的不同，选择 Cubic spline 功能时，超出曲线范围的值（< 标准品 2，及 > 标准品 5）无法被直接读出和赋值。选择 4 参数功能，则可以直接读出在标准品 1 和标准品 2 之间的结果赋值（参见 13. 方法局限性）。进行样品的结果评估前，请确认该次检测的数据结果尤其是标准曲线，是符合基本评估要求的。关于标准曲线请参看试剂盒中附带的质保证书。

本试剂盒也可以使用单孔检测。良好的单孔检测操作，不会影响试剂盒的性能。但若使用单孔检测，请在 RIDASOFT® Win 软件中正确选择单点检测设置。不建议将单孔检测的方法设立为常规检测方法。建议实验室按照自身情况，对若使用单孔检测时可能存在的风险进行风险管理分析。友情提示，单孔检测的方法不符合 EN 15633-1 和 EN 15842 标准的要求。在单孔检测的情况下，检测过程中出现错误（例如移液错误）但被忽视的可能性是会大大增加的。此外，单孔检测也可能会引致检测结果出现更大的偏差。

12. 结果分析

从标准曲线上读出的醇溶谷蛋白浓度 ng/ml，必须乘以样品稀释倍数 500，从而得到样品的最终检测结果。RIDASOFT® Win 软件中已自动设定了 500 的稀释倍数。

RIDA® SOFT Win（1.93 版本及以上）的检测结果显示以 mg/kg 醇溶谷蛋白和 mg/kg 麸质的形式给出。R5 抗体可以检测出麦胶蛋白、黑麦碱和大麦醇溶蛋白。

计算举例:

从标准曲线上可以读出样品的检测结果为 50 ng/ml（ppb）麦胶蛋白。乘以稀释倍数 500，得到 25000 ng/ml 麦胶蛋白，即 25 mg/kg（ppm）麦胶蛋白。再乘以 2，换算成麸质浓度，即为 50 mg/kg（ppm）麸质。

若需要继续换算成麸质的含量，则通常乘以 2 作为换算参数。然而这个换算的准确性是极大程度地与检测的样品相关，尤其是针对淀粉样品（淀粉的水洗程度越高，则样品中谷蛋白的比例也越大；在这种情况下，换算参数就大于 2，即麸质的浓度要更高）。

在 LOD 和 LOQ 浓度范围之间的检测结果，指示所检测的样品中含有少量的目标检测物（花生）。在这个范围区间内的浓度，是普遍存在比较大的变异性和不确定性的，请周知。建议不将落在此范围区间内的浓度值直接采纳为定量检测结果值进行报告，而是报告为 < LOQ 的形式。

低于 LOD 浓度范围的检测结果，并不能完全排除样品中没有低于 LOD 浓度的麸质污染的可能性，包括其他成份例如脂。在出具检测结果报告时请给予相应的考量和正确的表述。

13. 方法局限性

样品的基质、检测操作过程和检测实验室环境，都可能直接影响检测结果。

检测限和定量限直接与不同的样品基质、样品的被加工程度及样品提取效果相关。

检测结果超出试剂盒曲线范围，则无法保证其仍具有良好的回收率等技术性能。因此，尤其是那些正好位于本方法技术性能限制结点浓度（如位于检测限浓度、定量限浓度、检测范围上限浓度点）的样品，可能出现结点周围（或检查范围内、或检测范围外）的波动。因此，在测定回收率时，请规避检测曲线范围的起始点（LOD, LOQ）和终点（最大标准曲线浓度点）这样的绝对值浓度，而是选取在曲线范围中部区间的浓度。

样品称量的偏差可以直接导致检测结果的偏差（例如，称量时多了 10%，则检测结果浓度也会高出 10%）。若要得到可靠并有效的检测结果，则样品称量的偏差应该不得超过 $\pm 1\%$ 。

请联系德国拜发获取本试剂盒产品的详细验证报告，了解其他食品样品的检测性能情况。德国拜发的产品验证报告中，包含有国际联合实验室间验证及国际环形实验的数据。

本试剂盒的验证选取的是部分有代表性的样品基质。若需要检测未经德国拜发验证的样品基质，则建议用人工加标实验的方法进行该基质的性能验证。同时建议对有需要的样品基质进行验证。

食品的基质多种多样，因此无法完全保证检测彻底不受样品基质的干扰。样品基质干扰可能导致假阳性或偏高的检测结果，也可能因为存在抑制效应而导致偏低的检测结果。样品基质干扰与本试剂盒所使用的抗体的特异性无关，可通过人工加标实验的方法进行证实。

在样品提取或检测的过程中引入外来蛋白（例如 **BSA**、鱼胶原蛋白或脱脂奶粉），可以在某种程度上抑制基质干扰。

在加工（加热、烘干）食品的过程中，蛋白质可能会出现变性等变化，以及/或者变成片段，从而导致针对此类样品基质的交叉反应结果出现改变。

交叉反应是指抗体在捕获目标抗原的同时，附带地也将与目标抗原类似的位点捕获而产生的一种附带反应。尤其是抗原的类似物种容易发生交叉反应。与基质干扰不同，交叉反应是抗原抗体间的一种特殊反应。在外环境影响（如加热、干燥）下，某些类似抗原物会出现结构上的改变从而令其结果上与目标检测抗原非常接近。因此，在食品加工过程后，会出现交叉反应增强或者减弱的情况。

在测定交叉反应时，所选用的是具有代表性的样品，但不排除其他样品可能带来结果的偏差。德国拜发集团提供的试剂盒国际验证报告中，已明确列出了试剂盒性能测试中使用的样品和基质。

经过热加工处理了的样品，若使用乙醇法进行提取，可能出现回收率偏低的情况。因此建议针对经过热加工处理了的样品，使用 **Cocktail (patented)** 缓冲液进行提取后使用夹心法 **ELISA** 试剂盒 **RIDASCREEN® Gliadin** (订货号: **R7001**) 麸质检测试剂盒来进行检测。使用 **Cocktail (patented)** 缓冲液提取的样品不适用于进行 **RIDASCREEN® Gliadin competitive (R7021)** 醇溶谷蛋白竞争性酶联免疫法检测。而若使用夹心法 **ELISA** 试剂盒 **RIDASCREEN® Gliadin** (订货号: **R7001**) 麸质检测试剂盒检测经过了水解的样品，则可能会出现回收率偏低的情况。因此，针对经过了热加工处理的及经过了水解的样品，必须在分析检测时充分考虑其特殊性，建议同时使用夹心法和竞争法两种方法的试剂盒来检测其麸质含量，并谨慎地进行两种方法的检测结果分析，从风险控制的角度出发应选取高值作为最终检测值。

下表显示了在检测水解类样品时的结果差异范围（关于本检测方法具体性能的详细信息请参阅 **AOAC** 期刊 **Int. 98:1346-1354, 2015** 上发表的文献）

	Symbol	Beer			Starch syrup		Sourdough	
		gluten-free	15 mg/kg prolamin	50 mg/kg prolamin	gluten-free	naturally contaminated	35 mg/kg prolamin	75 mg/kg prolamin
Total number of laboratories		13	12	11	13	13	13	13
Total number of replicates		26	24	22	26	26	26	26
Overall mean		1.2	13.1	59.7	0.7	5.3	24.2	72.8
Recovery (%)			87	119			69	97
Repeatability SD* (mg/kg)	s(r)	1.2	4.0	18.6	1.0	0.9	5.6	14.2
Reproducibility SD* (mg/kg)	s(R)	1.5	4.8	18.6	1.5	1.8	6.3	20.0
Repeatability rel. SD* (%)	RSD(r)	97.9	30.2	31.2	157.2	16.3	23.1	19.5
Reproducibility rel. SD* (%)	RSD(R)	126.1	36.9	31.2	236.1	34.4	25.9	27.5
Horrat value		8.1	3.4	3.6	13.8	2.8	2.6	3.3

–在检测中

作为校准使用的胃蛋白酶/胰蛋白酶消化参数，不能适用于所有的水解工艺。建议使用者根据各自要检测的特殊样品，进行相应的验证。

- 食品样品的基质种类繁多，本试剂盒方法无法保证能够准确识别和检测到所有的发酵及水解食品。食品水解后仍然可能存在 **R5** 抗体不能识别的大的麸质蛋白片段，从而对乳糜泄患者而言存在潜在风险。

14. 建议

为了获得更好的检测效果，我们建议：

- 按照 **EN 15633-1** 和 **15842** 标准的要求来进行检测，例如每个样品均进行双平行检测。
- 在取液加样前，使用对应的标准品或样品液预润移液器枪头。
- 检测样品的同时进行质控样品的检测，以确定检测的效果和正确性。使用不含麸质的阴性样品和人工添加麸质的阳性样品作为质控样品进行检测。德国拜发的验证报告中给出了进行样品人工添加的示例。
- 针对强酸性或强碱性样品，需要在检测前先将其 **pH** 值调整至中性（**6.5** 至 **7.5** 间）。
- 可使用 **SureFood®** 系列 **PCR** 检测试剂盒来进行结果验证
- 若需要配合全自动工作站例如 **Thunder Bolt® / Bolt** 进行全自动检测操作，请联系德国拜发 **R-Biopharm** 集团 info@r-biopharm.de 了解详情

15. 其他样品处理方法

- 检测酶制剂及未经加工的食品中的麸质或 β -乳球蛋白
- **RIDASCREEN® Gliadin competitive** 醇溶谷蛋白竞争性酶联免疫法检测试剂盒的高灵敏度分析方法

欢迎联系德国拜发 R-Biopharm 集团了解更多产品和检测方法的相关信息 info@r-biopharm.de !

图标解释

- 通用图标:



参照产品说明书



批号



保质期 (年-月)



贮存温度



订货号



检测样品量



生产日期 (年-月)



生产商 + 地址

声明

用户承担使用产品和服务的全部风险。R-Biopharm AG 将保证其产品和服务符合 R-Biopharm AG 设定的所有质量控制标准，并且 R-Biopharm AG 可以选择更换或维修在以下方面存在缺陷的任何组件，产品或重复服务：产品特定保修期内或有效期之内的工艺或材料，并且经核查应披露其本身具有的缺陷。该保证明确替代关于质量，描述，对任何特定目的的适用性，适销性，生产率或任何其他事项的所有其他明示或暗示的保证。R-Biopharm AG 对产品的正确使用不承担任何责任，并因此不承担法律或其他方式产生的所有其他明示或暗示的补救，保证，担保或责任，或与使用任何产品或服务有关的直接或间接损害，并且对任何利润损失概不负责。除非通过 R-Biopharm AG 授权代表签署的书面文书，否则本担保不可以扩展，更改或更改。