



RIDASCREEN[®] FAST Folsäure (Folic acid)

Art. Nr. R3203

Test immunoenzimatico per l'analisi quantitativa
dell'acido folico

Test in vitro

Conservare a 2 - 8 °C

Prodotto da:

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

Per informazioni

Telefono:

Centralino (0 61 51) 81 02-0

Telefax / E-mail:

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

Marketing

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

Distribuito da:

R-Biopharm Italia Srl
Via Morandi, 10
20077 Melegnano (MI)
Telefono 02 9823 3330
info@r-biopharm.it - www.r-biopharm.com

RIDA® e RIDASCREEN®
sono marchi registrati della R-BIOPHARM AG
Produttore: R-BIOPHARM AG, Darmstadt, Germania

R-BIOPHARM AG è certificata ISO 9001

RIDASCREEN® FAST Folsäure (Folic acid)

Introduzione

RIDASCREEN® FAST Folsäure (Art. No. R3203) è un immunodosaggio enzimatico competitivo per l'analisi quantitativa dell'acido folico aggiunto in latte, latte in polvere, alimenti dietetici*, grano e cereali, farina fortificata, vitamina in polvere, miscele, pastiglie e succhi di frutta vitaminici.

Tutti i reagenti richiesti per l'analisi immunoenzimatica – compresi gli standard – sono contenuti nel kit. Il kit è sufficiente per 48 determinazioni (inclusi gli standard). Per la quantificazione è richiesto uno spettrofotometro per micropiastre.

Preparazione campioni: latte: può essere utilizzato direttamente, diluire se necessario
succhi: possono essere utilizzati direttamente, diluire se necessario
altre matrici: estrazione, diluire se necessario

Tempo richiesto: preparazione campioni (10 campioni)..... 10 - 60 min
esecuzione del test (tempo di incubazione).... 25 min

Limite di rilevabilità: 0.5 µg/L (ppb) (nella soluzione di misurazione **)
(corrispondente alla
sostanza standard

La specificità del kit RIDASCREEN® FAST Folic Acid è stata determinata analizzando le cross-reattività delle sostanze corrispondenti in un sistema tampone. Nei campioni, la specificità può differire rispetto a quella determinata in un sistema tampone a causa dell'effetto matrice. Prima dell'analisi delle sostanze cross-reattive, l'utilizzatore deve determinare il limite di rilevabilità ed i valori di recupero della sostanza nella rispettiva matrice. Il kit non è in grado di discriminare tra analita e sostanza cross-reattiva.

Specificità:

Acido folico.....	100 %
Acido diidrofolico	ca. 14 %
Acido tetraidrofolico.....	< 0.5 %
5 Acido 5-metil-tetraidrofolico	< 0.5 %
Acido Formil tetraidrofolico	< 0.5 %
Tetraidrobiopterina	< 0.5 %
6-Biopterina.....	< 0.5 %

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

** vedere Product Info

Al fine di aumentare la qualità della valutazione durante l'esecuzione di metodi ELISA, è disponibile la nostra guida Good ELISA Practice (GEP) che elenca gli standard minimi e le procedure concernenti le condizioni generali di utilizzo dei kit per analisi di R-Biopharm AG e di esecuzione dei test ELISA. Il manuale può essere recuperato, stampato e scaricato dal sito web <http://www.r-biopharm.com/products/food-feed-analysis>.

1. Scopo

RIDASCREEN® FAST Folsäure (Folic Acid) è un immunodosaggio enzimatico competitivo per l'analisi quantitativa dell'acido folico aggiunto in latte, latte in polvere, alimenti dietetici*, grano e cereali, farina fortificata, vitamina in polvere, miscele, pastiglie e succhi di frutta vitaminici.

2. Generale

L'acido folico, noto anche come vitamina B9 oppure B11, appartiene al gruppo delle vitamine idrosolubili. Non è prodotto dal corpo umano ma deve essere introdotto con la dieta. L'acido folico svolge un ruolo molto importante in tutti i processi di crescita e divisione cellulare. Un'assunzione adeguata di acido folico durante la gravidanza è importante per evitare, ad esempio, difetti del tubo neurale. Alcuni paesi hanno deciso di fortificare pane, cereali, farina, pasta, riso o altri prodotti a base di cereali con acido folico in diverse concentrazioni come approccio preventivo al fine di migliorare l'assunzione di micronutrienti da parte della popolazione.

3. Principio del test

Il test si basa su una reazione antigene-anticorpo. I pozzetti della micropiastra sono sensibilizzati con anticorpi specifici per l'acido folico. Ad essi vengono aggiunti gli standard per l'acido folico, rispettivamente le soluzioni campione e l'acido folico marcato con l'enzima (coniugato). L'acido folico libero e quello coniugato all'enzima competono per legarsi ai siti di legame dell'anticorpo. Il coniugato non legato viene quindi eliminato con un lavaggio. Nei pozzetti viene poi aggiunta la soluzione substrato/ cromogeno. Il coniugato legato trasforma il cromogeno in un prodotto blu. L'aggiunta della soluzione di stop provoca un viraggio del colore da blu a giallo. La determinazione quantitativa viene eseguita fotometricamente a 450 nm. Il valore di assorbanza è inversamente proporzionale alla concentrazione di acido folico nel campione.

4. Reagenti forniti

Ogni kit contiene materiale sufficiente per 48 analisi (inclusi gli standard).

Ogni kit contiene:

Componente	Colore Tappo	Formato		Volume
Micropiastra	-	Pronta all'uso		48 pozzetti
Sample buffer	Trasparente	Concentrato 2x	2 x	125 ml
Standard 1	Bianco	Pronto all'uso	0 µg/L (ppb)	1.3 ml
Standard 2	Bianco	Pronto all'uso	0.75 µg/L (ppb)	1.3 ml
Standard 3	Bianco	Pronto all'uso	1.5 µg/L (ppb)	1.3 ml
Standard 4	Bianco	Pronto all'uso	3 µg/L (ppb)	1.3 ml
Standard 5	Bianco	Pronto all'uso	6 µg/L (ppb)	1.3 ml
Standard 6	Bianco	Pronto all'uso	12 µg/L (ppb)	1.3 ml
Wash buffer salt Tween		Sali da sciogliere		
Conjugate	Rosso	Pronto all'uso		3 ml
Substrate/Chromogen Red Chromogen Pro	Marrone	Pronto all'uso		10 ml
Stop solution	Giallo	Pronto all'uso		14 ml

5. Materiale richiesto ma non fornito

5.1. Attrezzatura:

- spettrofotometro per micropiastre (450 nm)
- macinino da laboratorio, mortaio, ultra-turrax oppure omogeneizzatore
- centrifuga con relative provette
- bagno termostato (100°C / 212°F)
- bagno di ghiaccio (0°C/32°F)
- shaker
- opzionale: imbuto e carta da filtro
- pipette graduate
- micropipette 20 - 200 µl e 200 - 1000 µl
- opzionale: pipetta multicanale o pipetta da 8 canali

5.2. Reagenti:

- acqua distillata o demineralizzata

6. Avvertenze e precauzioni per gli utilizzatori

Il kit deve essere utilizzato da personale di laboratorio qualificato. Le istruzioni per l'uso devono essere seguite scrupolosamente.

Questo kit può contenere sostanze pericolose. Per le informazioni sulla pericolosità delle sostanze contenute, consultare le schede di sicurezza (MSDS) appropriate per questo prodotto, disponibili online all'indirizzo www.r-biopharm.com.

7. Conservazione

Conservare il kit a 2 - 8 °C (35 - 46 °F). Non congelare.

I pozzetti non utilizzati vanno riposti insieme all'essiccante nella loro confezione originale, che deve essere ben richiusa e conservata a 2 - 8 °C (35 - 46 °F).

Gli standard, il coniugato e la soluzione substrato/cromogeno sono fotosensibili: evitarne l'esposizione alla luce diretta.

Non si garantisce la qualità del prodotto dopo la data di scadenza (vedi etichetta sulla scatola del kit).

Non scambiare reagenti individuali tra kit con lotti differenti (ad eccezione del tampone per il campione, tampone di lavaggio (sali), soluzione di stop)

8. Indicazioni di instabilità o deterioramento dei reagenti

- Qualsiasi colorazione bluastra della soluzione substrato/cromogeno normalmente di colore rosso prima dell'analisi
- Valori inferiori a 0,6 unità di assorbanza ($A_{450\text{nm}} < 0,6$) per lo standard zero

9. Preparazione dei campioni

I campioni devono essere conservati in un luogo fresco, al riparo dalla luce. I campioni devono essere portati a temperatura ambiente prima del dosaggio (20 - 25 ° C / 68 - 77 ° F). Per il controllo qualità, si raccomanda di analizzare campioni di controllo.

Nota:

I campioni devono essere analizzati il giorno stesso in cui sono estratti.

Il tampone per i campioni può essere utilizzato anche per la preparazione dei campioni contenenti vitamina B12 da analizzare con il kit RIDASCREEN®FAST Vitamin B12 (R2103).

9.1. Latte, latte in polvere e alimenti dietetici

Latte

- Il latte omogeneizzato può essere analizzato direttamente. Se necessario, diluire i campioni di latte con il tampone per il campione nell'intervallo di analisi (in questo caso è necessario calcolare il nuovo fattore di diluizione)
- utilizzare 50 µL per ogni pozzetto

Latte in polvere e alimenti per scopo medico preciso:

- sospendere 1 g di campione in circa 5 ml di acqua distillate, portare a 10 ml con acqua distillata (fattore di diluizione = 10)
- miscelare per 10 min
- riscaldare il campione diluito per 3 min a 100°C (212°F) in un bagnetto d'acqua, raffreddare rapidamente (in un bagno di ghiaccio), diluire il surnatante o filtrare

- se necessario con il tampone per il campione nell'intervallo di analisi (in questo caso è necessario calcolare il nuovo fattore di diluizione)
- utilizzare 50 µL di questo liquido per pozzetto

9.2. Grano e cereali

Triturare e miscelare accuratamente un campione rappresentativo prima di avviare la procedura di estrazione (dimensione delle particelle < 250 µm)

- pesare 1 g di campione macinato e introdurlo in un contenitore adatto, sospendere con circa 5 ml di tampone per il campione e portare a 10 ml con il tampone per il campione (fattore di diluizione = 10)
- miscelare per 10 min
- centrifugare (o in alternativa filtrare) per rimuovere tutti i componenti che non si sono disciolti
- prelevare il surnatante e, se ancora torbido, filtrare
- diluire il surnatante o filtrare se necessario con il tampone per il campione nell'intervallo di analisi (in questo caso è necessario calcolare il nuovo fattore di diluizione)
- utilizzare 50 µL di questo liquido per pozzetto

9.3. farina fortificata

Triturare e miscelare accuratamente un campione rappresentativo prima di procedere alla procedura di estrazione.

- pesare 1 g di farina omogeneizzata in un contenitore adatto, sospendere con circa 5 ml di tampone per il campione e portare a 10 ml con il tampone per il campione (fattore di diluizione = 10)
- miscelare per 10 min
- centrifugare (o in alternativa filtrare) per rimuovere tutti i componenti che non si sono disciolti
- prelevare il surnatante e, se ancora torbido, filtrare
- diluire il surnatante o filtrare se necessario con il tampone per il campione nell'intervallo di analisi (in questo caso è necessario calcolare il nuovo fattore di diluizione)
- utilizzare 50 µL di questo liquido per pozzetto

9.4. Vitamina in polvere, miscele e compresse

Vitamine in polvere/miscele

- sciogliere 1 g di vitamina in polvere/miscela in 5 ml di tampone per il campione e portare a 10 ml con il tampone per il campione (fattore di diluizione = 10)

Compresse

- polverizzare le compresse e scioglierne 1 g in 5 ml di tampone per il campione e portare a 10 ml con il tampone per il campione (fattore di diluizione = 10)

Proseguire con questi campioni come descritto sotto:

- miscelare per 10 min
- centrifugare (o in alternativa filtrare) per rimuovere tutti i componenti che non si sono disciolti
- diluire il surnatante o filtrare se necessario con il tampone per il campione nell'intervallo di analisi (in questo caso è necessario calcolare il nuovo fattore di diluizione)
- utilizzare 50 µL di questo liquido per pozzetto

9.5. succo vitaminizzato

- il succo vitaminizzato omogenizzato può essere utilizzato direttamente nel test
- centrifugare (o in alternativa filtrare) per rimuovere tutti i componenti che non si sono disciolti
- diluire se necessario con il tampone per il campione nell'intervallo di analisi (in questo caso è necessario calcolare il nuovo fattore di diluizione)
- utilizzare 50 µL di questo liquido per pozzetto

10. Esecuzione del test

10.1. Indicazioni preliminari

Portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (20-25°C/68-77°F) prima dell'uso.

Il **tampone per il campione** è fornito concentrato 2X. Diluire il concentrato 1:2 con acqua distillata (ad esempio 50 ml di tampone per il campione concentrato + 50 ml di acqua distillata). Il tampone per il campione diluito scade dopo circa 4-6 settimane se conservato a 2-8°C (36-46°F).

Come **soluzione di lavaggio** è necessario un tampone Tween-PBS. Utilizzare il tampone di lavaggio (busta) contenuto nel kit (vedi punto 4.). Disciogliere tutto il contenuto di tampone della busta in un litro di acqua distillata. La soluzione pronta all'uso scade dopo circa 4 - 6 settimane a 2 - 8 °C (36 - 46 °F).

In alternativa: Disciogliere il contenuto della busta in soli 100 mL di acqua distillata per ottenere un tampone di lavaggio concentrato dieci volte. Questa soluzione scade dopo circa 8 - 12 settimane, conservata a temperatura ambiente (20 - 25 °C / 68 - 77 °F). Utilizzare 1 parte di questo concentrato e discioglierlo in 9 parti di acqua distillata per ottenere il tampone di lavaggio pronto all'uso.

10.2. Procedura per l'esecuzione del test

Gli standard ed i campioni devono essere analizzati sulla micropiastra allo stesso tempo. Seguire attentamente le procedure di lavaggio raccomandate. Evitare di far asciugare i pozzetti durante le fasi di lavoro.

1. Inserire un numero sufficiente di pozzetti nel supporto della micropiastra per tutti gli standard e i campioni da eseguire. Registrare le posizioni ad essi assegnate.
2. Aggiungere 50 µL di ciascuna soluzione standard o di campione preparato ai pozzetti corrispondenti, utilizzando un puntale nuovo per ogni standard o campione.
3. Introdurre 50 µL di coniugato in ogni pozzetto (utilizzando una pipetta multicanale oppure una pipetta da 8 canali) ed incubare per 15 minuti a temperatura ambiente (20 - 25 °C / 68 - 77 °F).
4. Eliminare il liquido dai pozzetti e picchiettare energicamente per 3 volte la piastra capovolta su carta assorbente per eliminare ogni residuo di liquido. Con una pipetta a 8 canali, riempire i pozzetti con il tampone di lavaggio pronto all'uso (250 µL/pozzetto) (vedi 10.1.). Svuotare nuovamente i pozzetti per eliminare tutto il liquido rimasto. Ripetere l'operazione di lavaggio altre due volte.
5. Aggiungere 100 µL di substrato/cromogeno (utilizzando una pipetta multicanale oppure una pipetta da 8 canali) in ogni pozzetto ed incubare per 10 minuti a temperatura ambiente (20-25°C / 68-77°F) e al buio.
6. Aggiungere 100 µl della soluzione di stop (utilizzando una pipetta multicanale oppure una pipetta da 8 canali) in ogni pozzetto e leggere le assorbanze a 450 nm entro 5 minuti.

11. Risultati

Per l'elaborazione dei test ELISA RIDASCREEN® è disponibile uno speciale software denominato RIDA® SOFT Win/ RIDA® SOFT Win.net (codice: Z9996). I risultati sono espressi in µg/kg e rispettivamente in µg/100 g e µg/100 ml.

L'andamento della curva standard è visibile nel Certificato di Controllo di Qualità incluso nel kit.

Note per il calcolo senza l'ausilio del software:

$$\frac{\text{Assorbanza dello standard (o campione)}}{\text{Assorbanza standard 0}} \times 100 = \% \text{ assorbimento}$$

Lo standard zero risulta pertanto essere il 100% e i valori di assorbanza sono quotati in percentuali. I valori calcolati per gli standard vanno inseriti in un sistema di coordinate su un grafico semilogaritmico contro la concentrazione di acido folico in [µg/kg] o [µg/l].

Per ottenere la concentrazione di acido folico effettivamente contenuta in un campione è necessario moltiplicare il valore letto sulla curva standard per il corrispondente fattore di diluizione. Operando secondo le procedure descritte, i fattori di diluizione risultano essere come indicato nella Tabella 1. Nel caso delle capsule vitaminizzate il calcolo riguarda l'intero contenuto e pertanto dipende dal singolo volume di una capsula.

R-Biopharm non fornisce alcuna garanzia, esplicita o implicita, oltre a quella relativa alla qualità standard dei materiali di cui sono costituiti i suoi prodotti. Nel caso tali materiali risultassero difettosi, R-Biopharm si impegna a fornire prodotti sostitutivi. Non esiste garanzia di commerciabilità o di idoneità del prodotto per uno scopo particolare. R-Biopharm non è da ritenersi responsabile per danni, ivi compresi danni speciali o indiretti, o spese derivanti direttamente o indirettamente dall'utilizzo del prodotto.