

Product information

Information about other products is available at: www.demeditec.com



Walnut ELISA

REF

DEWALE01



96



Demeditec Diagnostics GmbH
Lise-Meitner-Strasse 2
24145 Kiel – Germany
www.demeditec.com

CONTENTS/ INHALTSVERZEICHNIS

1. GENERAL INFORMATION	3
2. PRINCIPLE OF THE TEST	3
3. PRECAUTIONS	3
4. HEALTH AND SAFETY INSTRUCTIONS.....	3
5. REAGENTS	4
6. ADDITIONAL INSTRUMENTATION AND REAGENTS (NOT PROVIDED).....	4
7. SAMPLE PREPARATION	4
8. PROCEDURE.....	5
9. CALCULATION OF RESULTS.....	5
10. TYPICAL STANDARD VALUES.....	5
11. PERFORMANCE.....	6
12. REFERENCES	7
1. ALLGEMEINES	8
2. TESTPRINZIP	8
3. VORSICHTSMAßNAHMEN	8
4. GESUNDHEITS- UND SICHERHEITSVORSCHRIFTEN.....	9
5. REAGENZIEN	9
6. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE GERÄTE UND REAGENZIEN	9
7. PROBENVORBEREITUNG.....	10
8. TESTDURCHFÜHRUNG	10
9. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE	10
10. TYPISCHE STANDARDKURVE	11
11. TECHNISCHE DATEN	11
SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ASSAYS	12

Sensitivity (Walnut)	0.4 ppm
Recovery	60-106%
Incubation Time	60 min

1. GENERAL INFORMATION

Walnut (*Juglans regia*) belongs to the walnut plants (*Juglandaceae*). With 15% the fraction of proteins in walnuts is high. Some of these proteins are known for being allergenic, such as Jug r 1 and Jug r 4. Many of them are heat resistant making them stable to different production processes. For this reason walnut represents an important food allergen. For walnut allergic persons hidden walnut allergens in food are a critical problem. Already very low amounts of walnut can cause allergic reactions, which may lead to anaphylactic shock in severe cases. Because of this, walnut allergic persons must strictly avoid the consumption of walnuts or walnut containing food. Cross-contamination, mostly in consequence of the production process, is often noticed. The chocolate production process is a representative example. This explains why in many cases the existence of walnut residues in food cannot be excluded. For this reason sensitive detection systems for walnut residues in foodstuffs are required.

The **Walnut ELISA** represents a highly sensitive detection system and is particularly cap-able of the quantification of walnut residues in cookies, cereals, ice cream and chocolate.

2. PRINCIPLE OF THE TEST

The **Walnut** quantitative test is based on the principle of the enzyme linked immunosorbent assay. An antibody directed against walnut proteins is bound on the surface of a microtiter plate. Walnut containing samples or standards are given into the wells of the microtiter plate. After 20 minutes incubation at room temperature, the wells are washed with diluted washing solution to remove unbound material. A peroxidase conjugated second antibody directed against walnut proteins is given into the wells and after 20 minutes of incubation the plate is washed again. A substrate solution is added and incubated for 20 minutes, resulting in the development of a blue colour. The colour development is inhibited by the addition of a stop solution, and the colour turns yellow. The yellow colour is measured photometrically at 450 nm. The concentration of walnut is directly proportional to the colour intensity of the test sample.

3. PRECAUTIONS

Full compliance of the following good laboratory practices (GLP) will determine the reliability of the results:

1. Prior to beginning the assay procedure, bring all reagents to room temperature (20-25°C).
2. All reagents should be mixed by gentle inversion or swirling prior to use. Do not induce foaming.
3. Once the assay has been started, all subsequent steps should be completed without interruption and within the recommended time limits.
4. Replace caps in all the reagents immediately after use. Do not interchange vial stoppers.
5. Use a separate disposable tip for each specimen to prevent cross-contamination.
6. All specimens and standards should be run at the same time, so that all conditions of testing are the same.
7. Do not mix components from different batches.
8. Do not use reagents after expiration date.
9. Check both precision and accuracy of the laboratory equipment used during the procedure (micro-pipets, ELISA reader etc.).

4. HEALTH AND SAFETY INSTRUCTIONS

1. Do not smoke or eat or drink or pipet by mouth in the laboratory.
2. Wear disposable gloves whenever handling patient specimens.
3. Avoid contact of substrate and stop solution with skin and mucosa (possible irritation, burn or toxicity hazard). In case of contact, rinse the affected zone with plenty of water.
4. Handling and disposal of chemical products must be done according to good laboratory practices (GLP).

5. REAGENTS

The kit contains reagents for 96 determinations. They have to be stored at 2-8°C. Expiry data are found on the labels of the bottles and the outer package.

1. **SORB MT** Microtiter plate consisting of 12 strips with 8 breakable wells each, coated with anti-walnut antibodies.
2. **CAL 1 – 5** Walnut Standards (0; 2; 6; 20; 60 ppm of walnut): 5 vials with 2.0 mL each, dyed red, ready-to-use.
3. **ENZ CONJ** Conjugate (anti-walnut-peroxidase): 15 mL, dyed red, ready-to-use.
4. **SUB TMB** Substrate Solution (TMB): 15 mL, ready-to-use.
5. **STOP SOLN** Stop Solution (0.5 M H₂SO₄): 15 mL, ready-to-use.
6. **SAM DIL 10x** Extraction and sample dilution buffer (Tris): 2 x 120 mL as 10x concentrate, dyed red. Dilute 1+9 with distilled water. Stored at 4°C the diluted buffer is stable for at least one week. If during the cold storage crystals precipitate, the concentrate should be warmed up to 37°C for 15 minutes.
7. **WASH SOLN 10x** Washing Solution (PBS + Tween 20): 60 mL as 10x concentrate. Dilute 1+9 with distilled water. Stored at 4°C the diluted buffer is stable for at least 4 weeks. If during the cold storage crystals precipitate, the concentrate should be warmed up to 37°C for 15 minutes.
8. Instruction Manual.

6. ADDITIONAL INSTRUMENTATION AND REAGENTS (NOT PROVIDED)

Instrumentation

- 100 - 1000 µL micropipets
- Volumetric flask
- Analytical balance
- Mortar, mixer
- Water bath
- Centrifuge
- ELISA reader (450 nm)
- Plastic bag to store unused microtiter strips.

Reagents

- double distilled water

7. SAMPLE PREPARATION

Due to high risk of cross-contamination all applied instruments like applicator, mortar, glass vials etc. have to be **cleaned thoroughly** before and after each sample. Walnut proteins adhere very strongly to different surfaces. To identify possible cross-contamination caused by previous extractions it is strongly recommended to note the sequence of the extractions.

The following sample preparation should be applied for all kinds of samples:

1. To maximize homogeneity and representativeness of the sample drawing, a minimum of 5 g sample should be pulverized finely in a mortar, impact mill etc.
2. 1 g of the homogenized mixture is suspended in 20 mL of **pre-diluted** extraction buffer. Afterwards the suspension is incubated for 15 min in a preheated water bath at 60°C. To ensure good homogeneity, the samples should be shaken every two minutes.
3. The samples are centrifuged for 10 minutes at 2000 g. If it is not possible to separate the supernatant from the precipitate completely, the suspension should be filtrated if necessary.
4. 100 µL of particle-free solution are applied per well. If the results of a sample are out of the measuring range, further dilution with the **pre-diluted** extraction and sample dilution buffer is necessary. The additional dilution has to be considered when calculating the concentration.

8. PROCEDURE

The washing solution is supplied as 10x concentrate and has to be **diluted** 1+9 with double distilled water before use. In any case the **ready-to-use** standards provided should be determined twofold. When samples in great quantities are determined, the standards should be pipetted once before the samples and once after the samples. For final interpretation the arithmetic mean is used for calculation. In consideration of GLP and quality control requirements a duplicate measurement of samples is recommended.

The procedure is according to the following scheme:

1. Prepare samples as described above.
2. Pipet 100 μ L **ready-to-use** standards or prepared samples in duplicate into the appropriate wells of the microtiter plate.
3. Incubate for 20 minutes at room temperature.
4. Wash the plate three times as follows: Discard the contents of the wells (dump or aspirate). Pipet 300 μ L of diluted washing solution into each well. After the third repetition empty the wells again and remove residual liquid by striking the plate against a paper towel. The wash procedure is critical. Insufficient washing will result in poor precision and falsely elevated absorbencies.
5. Pipet 100 μ L of conjugate (anti-walnut-peroxidase) into each well.
6. Incubate for 20 minutes at room temperature.
7. Wash the plate as outlined in 4.
8. Pipet 100 μ L of substrate solution into each well.
9. Allow the reaction to develop in the dark (e.g. cupboard or drawer; the chromogen is light-sensitive) for 20 minutes at room temperature.
10. Stop enzyme reaction by adding 100 μ L of stop solution (0.5 M H₂SO₄) into each well. The blue colour will turn yellow upon addition.
11. After thorough mixing, measure absorbance at 450 nm (reference wavelength 620 nm), using an ELISA reader. The colour is stable for 30 minutes.

9. CALCULATION OF RESULTS

The ready-to-use standards are prepared for a direct determination of sample concentrations. The dilution of samples in the extraction process as described in the above stated sample preparation procedure is already considered. Additional dilution due to high sample concentration has to be accounted for.

1. Calculate the average optical density (OD 450 nm) for each set of reference standards or samples.
2. Construct a standard curve by plotting the mean optical density obtained for each reference standard against its concentration in ppm on semi-log graph paper with the optical density on the vertical (y) axis and the concentration on the horizontal (x) axis. Alternatively the evaluation can be carried out by software. In this case the 4-parameter method should be preferred.
3. Using the mean optical density value for each sample, determine the corresponding concentration of walnut in ppm from the standard curve. Depending on experience and/or the availability of computer capability, other methods of data reduction may be employed.

10. TYPICAL STANDARD VALUES

The following table contains an example for a typical standard curve. The binding is calculated as percent of the absorption of the 60 ppm standard. These values are only an example and should not be used instead of the standard curve which has to be measured in each new test.

Walnut (ppm)	% binding of 60 ppm
60	100
20	80
6	55
2	32
0	12

11. PERFORMANCE

Sensitivity

The limit of detection (LOD) of the **Walnut test** is 0.4 ppm.

The limit of quantification (LOQ) of the **Walnut test** is 2 ppm.

As matrices can have variable influence on the LOD in specific cases, and the range of matrices that was tested is of course limited, the end user if needed may evaluate its own LOD values depending on the matrices to be analyzed.

Alternatively, any results below LOQ should be just reported quantitatively as "< LOQ".

Cross-reactivity

For the following foods no cross-reactivity could be detected:

Adzuki bean	Cayenne	Crab, raw	Gliadin	Onion	Rice
Almond	Celery	Cumin	Goat's milk	Paprika	Rye
Apricot	Cherry	Date	Guar gum	Pea	Saccharose
Barley	Chestnut	Dill	Gum arabic	Peach	Sesame
Bean, white	Chia seeds	Duck	Horseradish	Peanut	Shrimps
Beef	Chicken	Egg, dried	Isinglass	Pepper, black	Soy flour
Beef, cooked	Chickpea	Ewe's milk	Kidney bean	Pine seed	Soy lecithin
Bovine gelatin	Chili	Fennel	Kiwi	Plum	Split pea
Brazil nut	Cinnamon	Fenugreek	Lamb	Poppy	Sunflower seed
Buckwheat	Clove	Fish gelatin	Leek	Pork	Thyme
Cabbage, white	Cocoa	Flaxseed	Lentil	Potato	Tofu
Caraway seeds	Coconut	Garden cress	Lupin	Prawn cooked	Tomato
Cardamom	Cod	Garlic, fresh	Macadamia	Prawn, raw	Turkey
Carob gum	Corn	Garlic, granulated	Mustard, yellow	Pumpkin seed	Turmeric
Carrot	Cow's milk	Ginger, ground	Nutmeg	Radish	Wheat
Cashew	Crab, cooked	Ginger, fresh	Oats	Rapeseed	

For the following commodities of the table above the results were between 0.5*LOQ and LOQ of the kit. So it cannot be completely excluded that these matrices may provide values above the LOQ in specific cases:

Almond	Buckwheat	Cocoa
--------	-----------	-------

The following cross reactions were determined:

Hazelnut	0.0004%
Pecan	3.5%
Pistachio	0.0002%

Precision

Intra-assay Precision	4 – 9%
Inter-assay Precision	12%

Linearity

The serial dilution of spiked samples (cookies, cereals, ice cream and chocolate) resulted in a dilution linearity of 93% - 117%.

Recovery

Mean recovery was determined by spiking samples with different amounts of walnut:

Cookies	103%
Cereals	106%
Ice cream	87%
Chocolate	60%

12. REFERENCES

1. Doi H, et al. (2008) – Reliable enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of walnut proteins in processed foods. *J Agric Food Chem*, 56(17):7625-30
2. Wallowitz M, et al. (2006) – Jug r 4, a legumin group food allergen from walnut (*Juglans regia* Cv. Chandler). *J Agric Food Chem*, 54(21):8369-15
3. Niemann L, et al. (2009) – Detection of walnut residues in foods using an enzyme-linked immunosorbent assay. *J Food Sci*, Published Online 10 Jun 2009
4. Goetz DW, et al. (2005) – Cross-reactivity among edible nuts: double immunodiffusion, crossed immunoelectrophoresis and human specific IgE serologic surveys. *Ann All Asthma Immunol*, 95(1):45-52

Empfindlichkeit	0,4 ppm
Wiederfindung	60 – 106%
Inkubationszeit	60 min

1. ALLGEMEINES

Die Walnuss (*Juglans regia*) gehört zu den Walnussgewächsen (Juglandaceae) und hat mit ca. 15% einen hohen Proteinanteil im Kern. Einige dieser Proteine sind als allergieauslösend bekannt, wie z.B. rJug r 1 und rJug r 4. Desweiteren sind viele dieser Proteine hitzeresistent, was sie stabil gegenüber verschiedenen Produktionsprozessen macht. Aus diesem Grund stellt die Walnuss ein bedeutsames Nahrungsmittelallergen dar. Für Walnuss-allergiker sind versteckte Walnussallergene in Nahrungsmitteln ein kritisches Problem. Schon sehr geringe Mengen von Walnuss lösen allergische Reaktionen bis hin zum anaphylaktischen Schock aus. Aus diesem Grund müssen Walnussallergiker auf den Konsum von Walnüssen oder walnusshaltigen Nahrungsmitteln strikt verzichten. Aufgrund von Kreuzkontaminationen, meist bedingt durch den Produktionsprozess von Nahrungsmitteln wie z.B. bei Schokolade, kann bei einigen Lebensmitteln das Vorhandensein von Walnussrückständen nicht ausgeschlossen werden. Um diese detektieren zu können, bedarf es sensitiver Nachweissysteme.

Der **Walnuss Test** stellt ein hochsensibles Nachweissystem dar und ist insbesondere zur Quantifizierung von Walnussrückständen in Keksen, Cerealien, Eiscreme und Schokolade geeignet.

2. TESTPRINZIP

Der **Walnuss Test** basiert auf dem Prinzip des Enzymimmunoassay (EIA). Ein gegen Walnussprotein gerichteter Antikörper ist auf der Oberfläche der Mikrotiterplatte gebunden. Darauf wird die Walnuss enthaltende Probe bzw. Standards in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte gegeben. Es findet eine Bindung zwischen Antikörper und Walnussprotein statt. Nach 20-minütiger Inkubation bei Raumtemperatur wird die Platte mit verdünntem Waschpuffer gewaschen, um nichtgebundenes Material zu entfernen. Ein Peroxidase-markierter, gegen Walnussprotein gerichteter zweiter Antikörper wird in die Vertiefungen pipettiert. Nach einer weiteren 20-minütigen Inkubation wird erneut gewaschen. Eine Substratlösung wird hinzupipettiert und 20 Minuten inkubiert, wodurch in den Vertiefungen ein blauer Farbstoff entwickelt wird. Die Farbentwicklung wird durch Zugabe einer Stopp-Lösung beendet, wobei ein Farbumschlag von blau nach gelb stattfindet. Die resultierende Farbe wird spektrophotometrisch bei 450 nm gemessen. Die Walnusskonzentration ist der Intensität der Färbung direkt proportional.

3. VORSICHTSMAßNAHMEN

Die volle Übereinstimmung mit den folgenden Regeln für eine gute Laborpraxis (GLP) wird zu vertrauenswürdigen Ergebnissen führen:

1. Vor der Testdurchführung müssen alle Reagenzien auf Raumtemperatur gebracht werden (20-25°C).
2. Alle Reagenzien sollten vor der Verwendung durch leichtes Kippen oder Schwenken gemischt werden. Die Erzeugung von Schaum sollte dabei vermieden werden.
3. Wenn mit der Testdurchführung einmal begonnen ist, sollten alle nachfolgenden Schritte ohne Unterbrechung und innerhalb der empfohlenen Zeitgrenzen vollzogen werden.
4. Unmittelbar nach Entnahme der Reagenzien sollten die Flaschen wieder mit ihren Stopfen verschlossen werden. Die Verschlüsse dürfen nicht verwechselt werden!
5. Für jede Probe muss eine separate Einmal-Pipettenspitze verwendet werden, um eine Verschleppung bzw. Kreuzkontamination zu vermeiden.
6. Alle Proben und Standards sollten gleichzeitig getestet werden, so dass die Bedingungen für alle identisch sind.
7. Komponenten von verschiedenen Chargen dürfen nicht verwendet oder gemischt werden.
8. Reagenzien dürfen nach der Verfallszeit nicht benutzt werden.
9. Es sollten ständig die Präzision und die Richtigkeit für die Laborgeräte kontrolliert werden, die man für das Testverfahren benutzt (Mikropipetten, Washer, ELISA-Reader, etc.).

4. GESUNDHEITS- UND SICHERHEITSVORSCHRIFTEN

1. Im Laboratorium darf nicht geraucht, gegessen und getrunken werden. Das Pipettieren mit dem Mund ist nicht zulässig.
2. Beim Einsatz von Proben menschlichen Ursprungs müssen Einmalhandschuhe getragen werden.
3. Der Kontakt der Stopp-Lösung mit Haut und Schleimhäuten sollte vermieden werden, da mögliche Reizungen, Verbrennungen oder Vergiftungsgefahr auftreten können. Sollte ein Kontakt entstehen, muss der betroffene Bereich mit ausreichend Wasser abgespült werden.
4. Die Handhabung und die Beseitigung von chemischen Produkten muss nach den Richtlinien für eine gute Laborpraxis (GLP) erfolgen.

5. REAGENZIEN

Der Kit enthält Reagenzien für 96 Bestimmungen. Sie müssen bei 2-8°C gelagert werden. Das Verfallsdatum ist auf jeder Komponente sowie auf der Verpackung angegeben.

1. **SORB MT** Mikrotiterplatte mit 96 Kavitäten (12 Streifen mit je 8 Vertiefungen, einzeln abbrechbar), beschichtet mit walnussbindenden Antikörpern.
2. **CAL 1 – 5** Walnuss Standards: 5 Fläschchen mit je 2,0 mL (0, 2, 6, 20, 60 ppm Walnuss), rot eingefärbt, gebrauchsfertig.
3. **ENZ CONJ** Konjugat (anti-Walnuss-Peroxidase), 15 mL, rot eingefärbt, gebrauchsfertig.
4. **SUB TMB** Substratlösung (TMB), 15 mL, gebrauchsfertig.
5. **STOP SOLN** Stopp-Lösung (0,5 M H₂SO₄), 15 mL, gebrauchsfertig.
6. **SAM DIL 10x** Extraktions- und Proben-Verdünnungspuffer (TRIS), 2 x 120 mL als 10x-Konzentrat, rot eingefärbt. Gebrauchslösung: 1+9 mit dest. Wasser verdünnen. Der verdünnte Puffer ist bei 4°C mindestens eine Woche haltbar. Falls bei der gekühlten Lagerung Kristalle ausfallen sollten, das Konzentrat 15 Minuten im Wasserbad (37°C) erwärmen.
7. **WASH SOLN 10x** Waschlösung (PBS + Tween 20), 60 mL als 10x-Konzentrat. Gebrauchslösung: 1+9 mit dest. Wasser verdünnen. Der verdünnte Puffer ist bei 4°C mindestens 4 Wochen haltbar. Falls bei der gekühlten Lagerung Kristalle ausfallen sollten, das Konzentrat 15 Minuten im Wasserbad (37°C) erwärmen.
8. Arbeitsanleitung.

6. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE GERÄTE UND REAGENZIEN

Geräte

- 100 - 1000 µL Mikropipetten
- Messkolben
- Analysenwaage
- Mörser, Mixer
- Wasserbad
- Zentrifuge
- Mikrotiterplatten-Photometer (450 nm)
- Ein wiederverschließbarer Plastikbeutel für die Lagerung unbenutzter Streifen.

Reagenzien

- bidestilliertes Wasser

7. PROBENVORBEREITUNG

Aufgrund der hohen Gefahr von Kreuzkontaminationen müssen alle verwendeten Arbeitsgeräte wie Spatel, Mörser, Glasgefäße etc. vor und nach jeder Probe **gründlich gereinigt** werden. Walnussproteine haften sehr stark an den Oberflächen. Es wird empfohlen, die Reihenfolge der Extraktionen festzuhalten, um eventuelle Kreuzkontaminationen durch Vorextrakte besser identifizieren zu können.

Folgende Probenvorbereitung sollte für alle Arten von Proben angewandt werden:

1. Um eine möglichst homogene und repräsentative Probennahme zu gewährleisten, sollten mindestens 5 g Probe in einem Mörser, Schlagmühle etc. fein zermahlen und gut durchgemischt werden.
2. Von dieser Mischung wird 1 g entnommen und in 20 mL **verdünntem** Extraktionspuffer suspendiert. Anschließend wird die Suspension für 15 min in einem vorgeheizten Wasserbad bei 60°C inkubiert. Die Proben sollten währenddessen alle zwei Minuten geschüttelt werden, um eine gute Durchmischung zu gewährleisten.
3. Die Proben werden bei mindestens 2500 g für 10 min zentrifugiert. Sollte sich der Überstand anschließend nicht partikelfrei abtrennen lassen, kann gegebenenfalls noch einmal filtriert werden.
4. Für den Test werden pro Kavität 100 µL partikelfreie Lösung eingesetzt. Sollte das Ergebnis des Tests oberhalb des Messbereichs liegen, kann die Lösung gegebenenfalls mit **verdünntem** Extraktionspuffer weiter verdünnt und erneut bestimmt werden.

8. TESTDURCHFÜHRUNG

Der Waschpuffer liegt als 10faches Konzentrat vor und muss vor dem Gebrauch 1+9 mit bidestilliertem Wasser **verdünnt** werden. Die **gebrauchsfertigen** Standards sollten in jedem Fall im Doppelansatz bestimmt werden. Bei größeren Mengen von Proben sollten die Standards einmal vor und einmal nach den Proben pipettiert und der Mittelwert zur Auswertung herangezogen werden. Unter Berücksichtigung von GLP und Qualitätsmanagement ist eine Bestimmung der Proben im Doppelansatz zu empfehlen.

Die Testdurchführung verläuft nach dem folgenden Schema:

1. Proben nach Vorschrift vorbereiten.
2. 100 µL **gebrauchsfertige** Standards bzw. vorbehandelte Proben im Doppelansatz in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte geben.
3. Platte 20 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
4. Platte wie folgt dreimal waschen: Vertiefungen der Platte entleeren (auskippen oder absaugen) und 300 µL endverdünnte Waschlösung dazugeben. Nach der dritten Wiederholung Vertiefungen erneut leeren und Flüssigkeitsreste durch Ausschlagen der Mikrotiterplatte auf einem Papiertuch entfernen. Der Waschvorgang ist ein kritischer Schritt. Ungenügendes Waschen führt zu einer geringen Präzision und fälschlicherweise erhöhten Extinktionen.
5. 100 µL Konjugat (anti-Walnuss-Peroxidase) in die Vertiefungen pipettieren.
6. Platte 20 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
7. Vertiefungen wie in Punkt 4 beschrieben waschen.
8. 100 µL Substratlösung zugeben.
9. Platte abdecken und 20 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubieren.
10. Substratreaktion durch Zugabe von 100 µL Stopp-Lösung (0,5 M H₂SO₄) beenden.
11. Nach sorgfältigem Mischen erfolgt die Messung der Extinktion bei 450 nm (eventuell Referenzwellenlänge 620 nm). Die Farbe ist maximal 30 Minuten stabil.

9. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

1. Für jede Probe bzw. jeden Standard wird die gemittelte Extinktion berechnet.
2. Aus den gemittelten Werten der Standardreihe wird graphisch auf halblogarithmischem Millimeterpapier oder über ein EDV-Programm (4-Parameter-Auswertung) eine Eichkurve erstellt. Die Extinktion jedes Standards (y-Achse) wird gegen die Konzentration in ppm (x-Achse) aufgetragen.
3. Mit Hilfe dieser Kurve wird für die gemittelten Extinktionen der Proben der Wert in ppm für Walnuss abgelesen. Die ermittelten Konzentrationen beziehen sich direkt auf den Walnussgehalt der eingewogenen Probe. Sollte der Extrakt aufgrund eines zu hohen Walnussgehalts zusätzlich verdünnt worden sein, muss dies bei der Auswertung berücksichtigt werden.

10. TYPISCHE STANDARDKURVE

Die folgende Tabelle enthält ein Beispiel für eine Standardreihe. Die Werte dieser Standardkurve sind nur als Beispiel bestimmt und dürfen nicht an Stelle der in jedem Test neu zu erstellenden Kurve verwendet werden.

Walnuss (ppm)	OD-% von 60 ppm
60	100
20	80
6	55
2	32
0	12

11. TECHNISCHE DATEN

Empfindlichkeit

Die mittlere untere Nachweisgrenze des **Walnuss Tests** beträgt 0,4 ppm.

Die untere Bestimmungsgrenze des **Walnuss Tests** beträgt 2 ppm.

Da jede Matrix einen unterschiedlichen Einfluss auf die LOD haben kann und die Bandbreite der getesteten Matrices begrenzt ist, sollte im Bedarfsfall für jede zu untersuchende Matrix eine spezifische LOD ermittelt werden.

Alternativ können alle Ergebnisse unterhalb der LOQ als quantitativ „< LOQ“ angegeben werden.

Spezifität

Für die folgenden Nahrungsmittel wurde ein negatives Ergebnis und damit keine Kreuzreaktivität festgestellt:

Adzuki Bohne	Fenchel	Kakao	Leinsamen	Pinienkern	Sesam
Aprikose	Fisch / Dorsch	Kardamon	Linse	Porree	Shrimps
Bockshornklee	Fischgelatine	Karotte	Lupine	Pute	Soja-Lecithin
Bohne, weiß	Garnele	Kartoffel	Macadamia	Raps	Sojamehl
Buchweizen	Garnele, gekocht	Kichererbse	Maismehl	Reis	Sonnenblumenkern
Cashew	Gartenkresse	Kidneybohne	Mandel	Rettich	Thymian
Cayennepfeffer	Gerste	Kirsche	Marone	Rindergelatine	Tofu
Chia-Samen	Gliadin	Kiwi	Meerrettich	Rindfleisch	Tomate
Chili	Guakernmehl	Knoblauch, frisch	Mohn	Rindfleisch, gekocht	Vollei
Cumin	Gummi arabicum	Knoblauch, granuliert	Muskatnuss	Roggen	Vollmilch
Curcuma	Hafer	Kokosnuss	Nelke	Saccharose	Weißkohl
Dattel	Hausenblase	Krabbe, gekocht	Paprika	Schafsmilch	Weizenkörner
Dill	Huhn	Krabbe, roh	Paranuss	Schälereerbse	Ziegenmilch
Ente	Ingwer, frisch	Kümmel	Pfeffer, schwarz	Schweinefleisch	Zimt
Erbse	Ingwerpulver	Kürbiskern	Pfirsich	Sellerie, Staude	Zwiebel
Erdnuss	Johannisbrotkern	Lamm	Pflaume	Senf	

Für die folgenden Nahrungsmittel der obenstehenden Tabelle waren die Ergebnisse zwischen 0,5xLOQ und LOQ des Test-Kits. Es kann nicht komplett ausgeschlossen werden, dass diese Matrices in Einzelfällen zu Ergebnissen oberhalb der LOQ führen:

Buchweizen	Kakao	Mandel
------------	-------	--------

Folgende Kreuzreaktionen wurden festgestellt:

Haselnuss	0,0004%
Pekannuss	3,5%
Pistazie	0,0002%

Präzision

Intra-Assay Präzision	4 – 9%
Inter-Assay Präzision	12%

Linearität














Die schrittweise Verdünnung dotierter Proben über fünf Stufen (Kekse, Cerealien, Eiscreme, Schokolade) ergab Verdünnungslinearitäten von 93 – 117%.

Wiederfindung

Die folgenden mittleren Wiederfindungsraten wurden anhand aufgestockter Proben bestimmt:

Kekse	103%
Cerealien	106%
Eiscreme	87%
Schokolade	60%

SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ASSAYS

Symbol	English	Deutsch	Française	Espanol	Italiano
	European Conformity	CE-Konformitätskennzeichnung	Conforme aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea
	Consult instructions for use	Gebrauchsanweisung beachten	Consulter les instructions d'utilisation	Consulte las Instrucciones	Consultare le istruzioni per l'uso
	In vitro diagnostic device	In-vitro-Diagnostikum	utilisation Diagnostic in vitro	Diagnóstico in vitro	Per uso Diagnostica in vitro
	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Seulement dans le cadre de recherches	Sólo para uso en investigación	Solo a scopo di ricerca
	Catalogue number	Katalog-Nr.	Référence	Número de catálogo	No. di catalogo
	Lot. No. / Batch code	Chargen-Nr.	No. de lot	Número de lote	Lotto no
	Contains sufficient for <n> tests/	Ausreichend für "n" Ansätze	Contenu suffisant pour "n" tests	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenuto sufficiente per "n" saggi
	Note warnings and precautions	Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen beachten	Avertissements et mesures de précaution font attention	Tiene en cuenta y advertencias precauciones	Annoti avvisi e le precauzioni
	Storage Temperature	Lagerungstemperatur	Température de conservation	Temperatura de conservacion	Temperatura di conservazione
	Expiration Date	Mindesthaltbarkeitsdatum	Date limite d'utilisation	Fecha de caducidad	Data di scadenza
	Legal Manufacturer	Hersteller	Fabricant	Fabricante	Fabbricante
<i>Distributed by</i>	Distributed by	Vertrieb durch	Distribution par	Distribución por	Distribuzione da parte di
	Version	Version	Version	Versión	Versione
	Single-use	Einmalverwendung	À usage unique	Uso único	Uso una volta