

Ферментативный анализ на этанол в пищевых продуктах и других материалах образцов
Официальный метод АОАС® 2017.07 для чайного гриба, соков и безалкогольного пива 2 x 50
мл R1 + 2 x 12,5 мл R2 (50 анализов)

Только для анализа *in vitro*

Хранить при +2 - +8°C

Принцип работы

Ферментативный тест с алкогольдегидрогеназой (АДГ).
Образуется НАДН и измеряется при 340 нм:



Реагент

Реагенты готовы к использованию.

Реагент 1: два флакона ≥ 50 мл (буфер)

Реагент 2: два флакона ≥ 12,5 мл (НАД, АДГ)

Реагенты стабильны до конца указанного месяца годности при хранении при температуре 2–8 °С. Не замораживайте реагенты. Дайте реагентам достичь лабораторной температуры перед использованием (20–25 °С).

Должны применяться общие правила безопасности при работе в химических лабораториях. Не глотать! Избегайте контакта с кожей и слизистыми оболочками.

Этот комплект может содержать опасные вещества. Примечания об опасности содержащихся веществ см. в соответствующих паспортах безопасности материалов (MSDS) для этого продукта, доступных онлайн на сайте www.r-biopharm.com. После использования реагенты могут быть утилизированы вместе с лабораторными отходами. Упаковочные материалы могут быть переработаны.

Пробоподготовка

- Метод АОАС для чайного гриба, соков и безалкогольного пива: фильтровать или центрифугировать, если они мутные, и использовать прозрачные растворы сразу или после разбавления до соответствующего диапазона измерения.
- Используйте прозрачные образцы сразу или после разбавления до соответствующего диапазона измерения.
- Дегазируйте образцы, содержащие углекислый газ.
- Осветление образцов, содержащих белки или жиры, с помощью осветления *Sargez*.
- Измельчить и гомогенизировать твердые или полутвердые образцы и экстрагировать водой. Фильтруйте или центрифугируйте, или при необходимости используйте осветление *Sargez*.

Процедура анализа

Длина волны: 340 нм

Оптич. путь: 1 см

Температура: 20 – 25 °С / 37 °С

Измерения: Против воздуха или против воды

Раствор образца: 3 – 500 мг/л

	Хол. образец (RB)	Образцы
Реагент 1	2000 мкл	2000 мкл
Образец / Стандарт	-	100 мкл
Дист. вода	100 мкл	-
Перемешать, инкубировать 1 мин. при 37°C или 3 мин. при 20 - 25 °С. Измерьте абсорбцию A1, затем добавьте:		
Реагент 2	500 мкл	500 мкл
Перемешать, дождаться окончания реакции (инкубация ок. 10 мин при 37°C или ок. 15 мин при 20-25°C). Измерите абсорбцию A2.		

Бланк реагента должен выполняться один раз для каждого запуска и вычитаться из каждой пробы при подсчете результатов.

Во избежание испарения образец необходимо пипетировать в ранее дозированный реагент 1.

Вычисление результатов

$$\Delta A = (A_2 - df \times A_1)_{\text{образец}} - (A_2 - df \times A_1)_{\text{RB}}$$

C df = коэффициент разбавления оптических плотностей через объемы реагентов:

$$df = (\text{объем образца} + R1) / (\text{объем образца} + R1 + R2) = 0.808$$

$$c = (V \times MW \times \Delta A) / (\epsilon \times d \times v \times 1000) \quad [\text{г/л этанола}]$$

$$c = (2.600 \times 46.07 \times \Delta A) / (\epsilon \times 1 \times 0.1 \times 1000)$$

Для определения при 340 нм ($\epsilon = 6.3 \text{ l} \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$):

$$C_{\text{этанол}} [\text{г/л}] = 0.190 \times \Delta A$$

$$\text{Алкоголь по объему} [\text{об. \%}] = C_{\text{этанол}} [\text{г/л}] / 7.894$$

Примечание

Анализ очень чувствителен. Этанол из воздуха (например, дезинфицирующие или чистящие средства) вызывает реакции ползучести и ложные результаты. Необходимо проводить анализ в воздухе, не содержащем этанола, или работать с закрытыми (воздушно-плотными) кюветами.

Из-за очень летучих характеристик этанола необходимо следовать соответствующим процедурам:

- При разбавлении раствора образца пипетирование образца всегда должно находиться под поверхностью раствора для разбавления.
- Используйте минимум 100 мкл образца для разбавления.
- При фильтрации раствора пробы фильтрат должен не капать, а смывать стенки контейнера.
- Используйте разбавленные образцы в течение одного дня.
- Точность сильно зависит от техники пипетирования

Характеристики теста

Специфичность

АДГ окисляет первичные спирты. Извлечение этанола составляет около 100%, в то время как другие первичные спирты (н-пропанол и н-бутанол) показывают более низкое извлечение. Вторичные и третичные спирты могут привести к реакции ползучести.

Линейность и диапазон измерений

Тест линейный до 500 мг/л этанола. Рекомендуемый диапазон измерения составляет от 20 до 300 мг/л, чтобы поддерживать $\Delta A = 1.5$ (A). Когда значения превышают этот диапазон, пробы должны быть разбавлены до 50 – 300 мг/л дист. вода. При расчете необходимо учитывать коэффициент разбавления.

Чувствительность

Предел обнаружения (LoD) и предел количественного определения (LoQ), определенные в соответствии с методом DIN 32645:2008-11:

- LoD = 1.9 мг/л
- LoQ = 3.3 мг/л

Точность и восстановление

Для чайного гриба, соков и безалкогольного пива:

- относительное стандартное отклонение для повторяемости

$$[\text{RSD}(r)] < 2\%$$

- относительное стандартное отклонение для воспроизводимости

$$[\text{RSD}(R)] < 3\%$$

- восстановление = 95-105%

Официальный дистрибьютор в России:

ООО "НеоТест"
ул. Раstopчина, 1Г, г. Владимир
+7 499 649 02 01
info@neo-test.ru
www.neo-test.ru



Официальный дистрибьютор в Беларуси:

ОДО "КомПродСервис"
ул. Филимонова, 25Г, г. Минск
+375 17 336 50 54
info@komprod.com
www.komprod.com

