Seite 1 /

Bestimmung von Ethanol in Lebensmitteln Test-Kit für 32 Bestimmungen mit dem RIDA®CUBE SCAN Instrument (340 nm) Nur für den Laborgebrauch Lagerung bei 2 - 8 °C

### **Testprinzip**

Enzymatische Bestimmung mit Alkohol Dehydrogenase (ADH). NADH wird gebildet und bei 340 nm gemessen:

Ethanol + NAD<sup>+</sup> —— A-DH → Acetaldehyd + NADH + H<sup>+</sup>

#### Reagenzien

#1: 32 Teströhrchen mit ca. 800 µl Reagenz 1 (Puffer)

# 2: 32 Verschlusskappen mit 200 µl Reagenz 2 (Enzym)

# 3: 1 RFID-Karte (Radio Frequency Identification)

Die Reagenzien sind bei 2 - 8 °C bis zum Monatsende der Haltbarkeit stabil (siehe Etikett). Reagenzien nicht einfrieren. Reagenzien vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur (20 – 25 °C) bringen.

Die allgemeinen Regeln beim Arbeiten in chemischen Laboratorien beachten. Nicht verschlucken! Berührung mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.

Dieses Kit kann gesundheitsgefährdende Substanzen enthalten. Sicherheitshinweise zu den enthaltenen Komponenten entnehmen Sie bitte den Sicherheitsdatenblättern (MSDS) auf unserer Internetseite (www.r-biopharm.de). Nach Gebrauch die Reagenzien mit dem Laborabfall entsorgen. Das Verpackungsmaterial kann dem Recycling zugeführt werden.

### Probenvorbereitung

Ethanol ist flüchtig. Daher ist es notwendig spezifische Schritte einzuhalten, um eine verringerte Wiederfindungsrate zu verhindern:

- Beim Verdünnen der Probelösung, Probe immer unter die Oberfläche der Verdünnungslösung pipettieren
- Bei Filtration das Filtrat nicht tropfen, sondern an der Wand des Auffanggefäßes ablaufen lassen
- Wenn möglich, alle Schritte im geschlossenen Gefäß durchführen

# Allgemeine Probenvorbereitung:

- Klare, farblose und pH-neutrale Probelösungen direkt, bzw. nach Verdünnen in den relevanten Messbereich (siehe Test-Ergebnisse) einsetzen
- Trübe Lösungen filtrieren oder zentrifugieren
- Kohlensäurehaltige Proben entgasen
- Protein- und fetthaltige Proben mit Carrez-Klärung klären
- Feste und halbfeste Proben zerkleinern und homogenisieren und mit Wasser extrahieren; filtrieren oder zentrifugieren, oder bei Bedarf Carrez-Klärung anwenden
- Stark fetthaltige Proben in einen Messkolben (mind. 50 ml) einwiegen und mit heißem Wasser extrahieren; Probelösung zur Fettabscheidung abkühlen lassen (z.B. 15 min im Eisbad); Messkolben bis zur Marke mit Wasser auffüllen, Fettschicht entfernen und wässrige Lösung vor dem Testen filtrieren

#### **Testspezifikationen**

Die Testspezifikationen sind auf der RFID Karte gespeichert, sodass der Test automatisch ausgeführt wird.

Wellenlänge: 340 nm Temperatur: 37 °C

Kalibrierung: Gespeichert auf der RFID Karte
Testablauf: Probe + R1 / mischen / 2 min / A1 / R2 /

mischen / 10 min / A2

Probenvolumen:  $20~\mu I$  (Basis) oder  $100~\mu I$  (Sensitiv)

Das gewählte Volumen sollte präzise in das Reagenz 1 (Teströhrchen) pipettiert werden.

## Testdurchführung

RFID Karte auf dem Gerät platzieren

Probendetails in die Tablet App eingeben:
- Identifizierung
- Vol. (20 bzw. 100 μl)

Probe in das Teströhrchen (Reagenz 1) pipettieren

Teströhrchen mit Kappe (Reagenz 2) verschließen und in das Gerät einsetzen, Tür schließen

# **Ergebnisse**

Die Ergebnisse werden in mg/l angezeigt, mit den empfohlenen Messbereichen:

- von 20 bis 500 mg/l für die Basis Applikation (20 µl)
- von 4 bis 110 mg/l für die Sensitiv Applikation (100 μl)

Das Probenvolumen liegt bei 20 oder 100  $\mu$ l. Für die Sensitive Applikation (100  $\mu$ l) können Interferenzen durch die Probenmatrix auftreten, weil das Probenvolumen hoch ist. In diesem Fall müssen die Proben vorverdünnt werden, oder direkt in dem Test-Einsatz verdünnt werden (z. B. 50  $\mu$ l Probe und 50  $\mu$ l Wasser). Das Gesamtvolumen muss immer bei 100  $\mu$ l bleiben, und die Ergebnisse müssen mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor umgerechnet werden.

#### Hinweise

- Eine Qualitätskontrolle (z.B. Alkohol Standard Art. Nr. AQ03-015) sollte an jedem Tag, an dem Proben getestet werden, mitgeführt werden. Wenn diese Kontrolle mehr als 10% vom Sollwert abweicht, muss der Reagenzleerwert mit einer Wasserprobe gemessen werden, und ab diesem Zeitpunkt von allen Probenergebnissen abgezogen werden.
- Der Test ist sehr empfindlich. Ethanol aus der Luft könnte falsche positive Ergebnisse verursachen, sodass es notwendig ist in einem alkoholfreien Raum zu arbeiten.

# Haftungsausschluss

Diese Angaben entsprechen dem heutigen Stand unserer Kenntnisse und sollen über unsere Produkte und deren Anwendungsmöglichkeiten informieren. Sie haben somit nicht die Bedeutung, bestimmte Eigenschaften der Produkte oder deren Eignung für einen konkreten Einsatzzweck zuzusichern. R-Biopharm übernimmt keine Gewährleistung, außer für die standardisierte Qualität der Reagenzien. Defekte Produkte werden ersetzt. Für darüber hinaus gehende direkte, indirekte Schäden oder sonstige Kosten im Zusammenhang mit der Nutzung der Produkte haftet R-Biopharm nicht.



page 1 /

Determination of Ethanol in food products
Test-kit for 32 determinations on the RIDA®CUBE SCAN instrument (340 nm)

For in vitro use only Store between +2 and +8°C

### **Principle**

Enzymatic test with Alcohol Dehydrogenase (ADH). NADH is produced and is measured at 340 nm:

Ethanol + NAD<sup>+</sup> —— A-DH → Acetaldehyd + NADH + H<sup>+</sup>

#### Reagents

# 1: 32 tubes with 800 μL reagent 1 (buffer)# 2: 32 caps with 200 μL reagent 2 (enzyme)

# 3: 1 RFID card (Radio Frequency Identification)

The reagents are stable up to the end of the indicated month of expiry, if stored at 2 - 8 °C. Do not freeze the reagents. Let the reagents reach the laboratory temperature before use (20 - 25 °C).

The general safety rules for working in chemical laboratories should be applied. Do not swallow! Avoid contact with skin and mucous membranes.

This kit may contain hazardous substances. For hazard notes on the contained substances, please refer to the appropriate material safety data sheets (MSDS), available online at www.r-biopharm.com. After use, the reagents can be disposed of with the laboratory waste. Packaging materials may be recycled.

## Sample preparation

Because Ethanol is volatile, it is necessary to follow specific rules, otherwise the recovery will be low:

- When diluting sample solution, pipeting of the sample must be always under the surface of the dilution solution
- When filtering sample solution, the filtrate has not to drop, but rinse down the wall of the container
- Perform all steps in a closed vial, open when necessary

## General sample preparation procedures:

- Use clear, liquid samples directly, or after dilution into the relevant measuring range
- Filter or centrifuge turbid solutions
- Degas samples containing carbon dioxide
- Clarify samples containing proteins or fat with Carrez clarification
- Crush and homogenize solid or semi-solid samples and extract with water; filtrate or centrifuge, or use Carrez clarification if necessary
- For fat containing samples, weigh sample into a volumetric flask (min. 50 ml) and extract with hot water; cool to allow the fat to separate (for example on an ice bath for 15 min). Make up to the mark with water, remove the fatty layer on the top and filter the aqueous part before testing.

## **Assay specifications**

The test instructions are saved on the RFID card and are executed automatically by the instrument.

Wavelength: 340 nm Temperature: 37 °C

Calibration: Saved on the RFID card

Test sequence: Sample + R1 / mix / 2 min / A1 / R2 / mix /

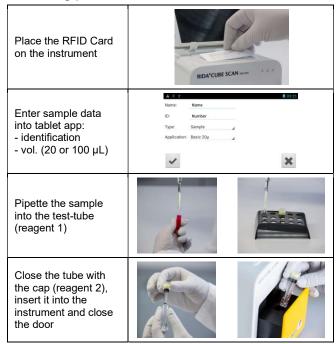
10 min / A2

Sample volume: 20 µL (basic) or 100 µL (sensitive)

The selected volume must be pipeted

precisely into reagent 1 (test tube).

## Handling procedure



#### Results

The results are given in mg/l by the instrument, and following ranges are recommended:

- from 20 to 500 mg/L for the basic application (20 µL)
- from 4 to 110 mg/L for the sensitive application (100 μL)

The sample volume is 20  $\mu L$  or 100  $\mu L.$  For the sensitive application (100  $\mu L)$ , interferences from the sample matrix may occur because of the high sample volume. In this case the samples must be pre-diluted, or they must be diluted directly into the cuvette (e.g. 50  $\mu L$  sample and 50  $\mu L$  water). The total volume must stay at 100  $\mu L$ , and results must be recalculated according to the dilution factor.

#### **Notes**

- Use a quality control every day where a run is performed (e.g. Alcohol Standard AQ03-015). If the deviation of this quality control is higher than 10%, it is necessary to measure the reagent blank with a water sample, and to subtract it from all future sample results.
- The assay is very sensitive. Ethanol from the air could cause false positive results, so it is necessary to run the assay in a room which is free from Alcohol.

# **Disclaimer**

This information corresponds to our present state of technology and provides information on our products and their uses. R-Biopharm makes no warranty of any kind, either expressed or implied, except that the materials from which its products are made are of standard quality. Defective products will be replaced. There is no warranty of merchantability of this product, or of the fitness of the product for any purpose. R-Biopharm shall not be liable for any damages, including special or consequential damage, or expense arising directly or indirectly from the use of this product.

