

Colorimetrischer Test zur Bestimmung von Weinsäure in Wein und Most
Test-Kombination für 100 Bestimmungen

Nur für den Laborgebrauch
Lagerung bei 2 – 8 °C

1. Testprinzip

Unter essigsäuren Bedingungen reagiert Weinsäure mit Vanadat und produziert dabei einen Farbkomplex (Meta-pervanadyltartrat). Die Intensität der Farbe ist proportional zur Konzentration der Weinsäure in der Probe und wird bei 520 nm gemessen.

2. Reagenzien

2.1. Inhalt & Zusammensetzung

Der Test ist für eine manuelle und automatisierte Abarbeitung geeignet. Die Reagenzien reichen bei manueller Abarbeitung für 100 Bestimmungen. Die Anzahl der Bestimmungen bei automatisierter Abarbeitung ist um ein Vielfaches erhöht, jedoch geräteabhängig.

- Reagenz 1: 2 x 80 ml mit Puffer
- Reagenz 2: 1 x 25 ml mit Chromogen
- Decolorant: 1 x 20 ml
- Kalibrator: 1 x 5 ml Standard mit 5 g/l Weinsäure

2.2. Reagenzienvorbereitung

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig und müssen vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur (20 – 25 °C) gebracht werden. Komponenten nicht zwischen Kits verschiedener Chargen austauschen.

2.3. Lagerung & Haltbarkeit

Die Reagenzien sind bei sachgerechter Handhabung auch nach dem Öffnen bei 2 – 8 °C bis zur aufgedruckten Haltbarkeit stabil (siehe Etikett). Reagenzien nicht einfrieren.

2.4. Sicherheit & Entsorgung

Der Test ist ausschließlich für den in der Zweckbestimmung beschriebenen Einsatz vorgesehen. Die Gebrauchsanweisung ist strikt zu befolgen.

Die üblichen Vorsichtsmaßnahmen beim Umgang mit Chemikalien sind anzuwenden. Das Produkt darf nicht verschluckt werden. Berührung mit Haut und Schleimhäuten ist zu vermeiden.

Sicherheitshinweise zu den enthaltenen Komponenten sind den jeweiligen Sicherheitsdatenblättern (SDS) zu entnehmen.

Nach Gebrauch sind die Reagenzien gemäß den geltenden Vorschriften als Laborabfall zu entsorgen. Das Verpackungsmaterial ist dem Recycling zuzuführen.

3. Probenvorbereitung

- Die Probenvorbereitung für die manuelle und die automatisierte Testdurchführung ist identisch.
- Probenlösungen vor der Messung auf Raumtemperatur bringen.
- Flüssige, klare und annähernd neutrale Probelösungen direkt bzw. nach Verdünnen mit destilliertem Wasser auf eine Konzentration im Messbereich (siehe Leistungsdaten) einsetzen.
- Weinproben können direkt eingesetzt werden.
- Die Lagerung von Weinproben bei 4 °C über eine längere Zeit kann zu einer Präzipitation von Weinstein führen, wodurch die Messung von Weinsäure zu unerwartet niedrigen Werten führt.
- Trübe Proben (z. B. Most): die Testlösung durch einen geriffelten Papier- oder Spritzenfilter filtrieren oder in einem Reaktionsröhrchen zentrifugieren (empfohlen werden 3000 U/min für mindestens 5 Minuten), bis ein klares Filtrat oder ein klarer Überstand entsteht. **Keine Aktivkohle benutzen, um intensiv gefärbte Rotweine zu entfärben!**
- Proben, die Kohlendioxid enthalten, durch Rühren in einem Becherglas, zentrifugieren oder mit Hilfe eines kurzen Ultraschallimpulses (10 s) entgasen.

4. Manuelle Testdurchführung

Wellenlänge: 520 nm
Temperatur (Messung): 23 – 37 °C
Photometer-Abgleich: gegen Luft (ohne Küvette)
Messbereich: 0,2 – 5 g/l

	Reagenz-leerwert	Kalibrator	Probe / Kontrolle
Probe (Wein, Most)	-	-	500 µl
Kalibrator	-	100 µl	-
Bi-distilliertes Wasser	500 µl	400 µl	-
Decolorant	200 µl	200 µl	200 µl
Mischen* und 2 - 3 min inkubieren. Dann Zugabe von:			
Reagenz 1 (Puffer)	1500 µl	1500 µl	1500 µl
Mischen* und 5 Minuten bei 25 °C (empfohlen) inkubieren. Extinktion E₁ messen, dann Zugabe von:			
Reagenz 2 (Chromogen)	250 µl	250 µl	250 µl
Mischen und 25 °C (empfohlen) bis zum Ende der Reaktion inkubieren** (10 Minuten). Extinktionen E₂ messen (Farbe ist ca. 30 Minuten stabil).			

4.1 Wichtige Hinweise zur Testdurchführung

- Der Reagenzleerwert (Wasserprobe) **muss in jeder Messserie** mitbestimmt und von **jedem** Probenergebnis abgezogen werden.
- Das Reagenz 1 (enthält Essigsäure) und das Decolorant (enthält Hypochlorit) sollen nicht in größeren Mengen zusammen gemischt werden, da Chlorgas entstehen kann (Cl₂). Wenn mehr als 10 Küvetten gleichzeitig getestet werden, kann ein leichter Geruch von Chlorgas entstehen, sodass unter dem Abzug oder mit ausreichender Belüftung gearbeitet werden sollte.
- Die angegebenen Inkubationszeiten wurden bei 25 °C validiert und festgelegt. Die Durchführung des Tests ist grundsätzlich auch im Temperaturbereich von **23 °C – 37 °C** möglich.
- Wenn die Küvetten vor der ersten Inkubation* nicht gründlich gemischt werden, kann es zu einer schlechten Wiederfindung und damit unzuverlässigen oder nicht-reproduzierbaren Ergebnissen kommen.
- Zum Mischen jeder einzelnen Küvette wird die Verwendung von Rührspateln empfohlen. Entfernen Sie diese unmittelbar vor der Absorptionsmessung aus der Küvette. Rotweine verfärben sich nach Zugabe des Decolorants gelb.
- Während der zweiten Inkubation** können Luftblasen auftreten (Cl₂). In diesem Fall müssen diese mit einem Spatel entfernt werden, bevor die Extinktionen gemessen werden.
- Verwenden Sie für jeden Probenextrakt und die Kontrolllösungen separate Spitzen, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden; spülen Sie die Spitze vor dem Pipettieren.
- Für die Zugabe der Reagenzien wird die Verwendung einer Multistep-Pipette empfohlen. Verwenden Sie für jede Komponente eine separate Spitze.
- Das Ende der Reaktion bzw. ein Stillstand der Extinktionen sollte (zumindest bei den ersten Testdurchläufen bzw. der Validierung) stets abgewartet werden. Ist die Extinktion nach der empfohlenen Inkubationszeit nicht zum Stillstand gekommen, sollte weiter in bspw. 5-min-Abständen gemessen werden, bis ein konstanter Extinktionswert erreicht ist.

5. Berechnung der Ergebnisse

5.1. Berechnung bei Probelösungen

5.1.1. Gesamtkonzentration Weinsäure

Es gilt die Extinktionsdifferenz ΔE für jede Probe zu berechnen:

$$\Delta E = (E_2 - df \times E_1)_{\text{Probe oder Kontrolle}} - (E_2 - df \times E_1)_{\text{RLW}}$$

df: Dilution factor (Reagenzverdünungsfaktor)
RLW: Reagenzleerwert

$$df = \frac{\text{Probenvolumen} + \text{H}_2\text{O} + \text{R1} + \text{Decolorant}}{\text{Probenvolumen} + \text{H}_2\text{O} + \text{R1} + \text{R2} + \text{Decolorant}} = 0,898$$

$$C_{\text{Probe}} [\text{g/l}] = \frac{C_{\text{Kalibrator}} (\text{g/l})}{\Delta E_{\text{Kalibrator}}} \times \Delta E_{\text{Probe}}$$

Die folgende Berechnungsformel ergibt sich aus der Tatsache, dass die Konzentration des Kalibrators 5 g/l beträgt, das Volumen des Kalibrators jedoch um den Faktor 1:5 reduziert wird:

$$C_{\text{Probe}} [\text{g/l}] = \frac{\Delta E_{\text{Probe}}}{\Delta E_{\text{Kalibrator}}}$$

5.2. Kontrollen

Kontroll- oder Referenzproben sollten zur Qualitätskontrolle bei jedem Lauf mitgeführt werden.

Als zertifiziertes Referenzmaterial empfehlen wir:

- TraceCERT@43484 Supelco / Tartrate Standard für IC / 1000 mg/L tartrate in water; Sigma # 43484

6. Leistungsdaten

6.1. Spezifität

Der Test ist spezifisch für D-Weinsäure und L-Weinsäure; Meso-Weinsäure reagiert nicht.

6.2. Interferenzen

Äpfelsäure und Milchsäure stören die Farbreaktion nicht, solange deren Konzentration unter 5 g/l liegt. Bei höheren Konzentrationen kann die Wiederfindung auf 80 % sinken.

Wenn die Weinproben sehr stark gefärbt sind, kann das Decolorant die Probe in den angegebenen Volumina nicht entfärben; in diesem Fall die Probe 1:2 verdünnen und erneut entfärben.

6.3. Linearität, Messbereich & Sensitivität

Linearität ist bis 5 g/l Weinsäure gegeben (500 μ l Probe). Der empfohlene Messbereich beträgt 0,2 – 5 g/l.

Die Linearität des Photometers kann durch das Testen von Kalibratoren mit Konzentrationen von 1, 2, 3 und 4 g/l geprüft werden (den mitgelieferten Kalibrator mit Wasser verdünnen; Konzentrationen außerhalb des linearen Bereiches nicht berechnen).

Sensitivität: in der manuellen Applikation liegt die untere Nachweisgrenze bei ca. 0,1 g/l ($\Delta E = 0,050$).

7. Unterstützende Dokumente

Auf Anfrage bieten wir Ihnen folgende Dokumente:

- Enzytec™ Color Tartaric acid Validierungsbericht
- Enzytec™ Color Tartaric acid Excel-Auswertevorlage
- Enzytec™ Color Tartaric acid Technical Information
- Enzytec™ Liquid Allgemeines Probenvorbereitungshandbuch
- Enzytec™ Liquid Troubleshooting-Handbuch

Sicherheitsdatenblätter (SDS) und Analysenzertifikate (CoA) sind in digitaler Form und unter Angabe der Chargennummer über folgenden Link erhältlich:

<https://eifu.r-biopharm.com/>



8. Grenzen dieser Methode

Die Testergebnisse können in Abhängigkeit von der Probenmatrix, der individuellen Testdurchführung und den Umgebungsbedingungen im Labor variieren. Die Nachweis- und Quantifizierungsgrenzen hängen von der jeweiligen Probenmatrix und dem Extraktionsverfahren ab. Detaillierte Informationen entnehmen Sie bitte dem aktuellen Validierungsbericht.

Für den vorliegenden Test wurden nur angegebene Matrices validiert.

Bei der Analyse einer nicht-validierten Matrix wird empfohlen, die erzielten Ergebnisse durch Dotierexperimente zu überprüfen. Falls erforderlich, ist eine geeignete Probenvorbereitung für die betreffende Probenmatrix zu entwickeln und ggf. zu validieren.

Die Verantwortung für die Validierung nicht geprüfter Matrices sowie für die Sicherstellung der Eignung des Tests für den vorgesehenen Zweck liegt ausschließlich beim Anwender.

9. Dienstleistungen & technischer Support

Auf Anfrage bieten wir Ihnen u.a. folgende Dienstleistungen:

- Kundenspezifisches Troubleshooting
- Workflowanalyse
- Daten- & Ergebnisanalyse
- Kunden-Workshops & Webinare
- Automatisierung: applikativer Support & technischer Service

10. Haftungsausschluss

Diese Angaben entsprechen dem aktuellen Stand unserer Kenntnisse und dienen ausschließlich der Information über unsere Produkte und deren Anwendungsmöglichkeiten. Sie stellen keine Zusicherung bestimmter Eigenschaften oder deren Eignung für einen konkreten Verwendungszweck dar.

R-Biopharm AG leistet für Sach- und Rechtsmängel über einen Zeitraum von 12 Monaten (bzw. im Falle von Produkten, die eine kürzere Haltbarkeit haben, bis zum Ablauf des Haltbarkeitsdatums oder bei limitierter Verwendung bis zum Erreichen der Anzahl der Verwendungen) Gewähr, gerechnet vom Tag des Gefahrübergangs, vorbehaltlich einer frist- und formgerechten Rüge durch den Kunden, wobei die vereinbarte Beschaffenheit und Eignung für die vertraglich vorausgesetzte Verwendung und Übergabe mit vereinbartem Zubehör und vereinbarten Anleitungen („subjektiven Anforderungen“) entscheiden, ob eine Sache mangelhaft ist.

Die R-Biopharm AG übernimmt keine Gewährleistung für Folgen aus der Versäumnis

- Die Gebrauchs- oder Sicherheitsanweisungen eines Produktes zu lesen, zu verstehen oder zu befolgen;
- geschultes und qualifiziertes Personal für das Produkt einzusetzen;
- geeignete Industriestandards- und Praktiken anzuwenden, insbesondere Good Laboratory Practices;
- für das Produkt geeignete Kontroll-/Proben-/Probenmatrices oder Abarbeitungsverfahren/Prozesse einzusetzen und dies, soweit erforderlich, zu überprüfen;
- sonstige fehlerhafte Benutzung;
- Veränderung oder Bearbeitungen der Produkte

- g. unsachgemäße Lagerung durch den Kunden oder Dritte
- h. Folgen chemischer, elektromagnetischer, mechanischer oder elektrolytischer Einflüsse außerhalb der von R-Biopharm AG dokumentierten Standardbereiche
- i. Schäden und Störungen, die durch von R-Biopharm nicht zu vertretende äußere Einwirkungen entstanden sind (z.B. Einbruch, Diebstahl, Blitzschlag, Feuer, Wasser, höhere Gewalt).

R-Biopharm AG haftet für Arglist, grobe Fahrlässigkeit oder Vorsatz der R-Biopharm AG, Verletzung von Leib, Leben oder Gesundheit, der Übernahme einer Garantie, eines Beschaffungsrisikos nach § 276 BGB oder einer Haftung nach einem anderen gesetzlich zwingenden Haftungstatbestand.

Die Haftung der R-Biopharm AG für die leicht fahrlässige Verletzung wesentlicher Vertragspflichten (Pflichten, die für die Erreichung des Vertragszwecks wesentlich sind und auf deren Einhaltung der Vertragspartner regelmäßig vertrauen darf) ist auf den vertragstypisch vorhersehbaren Schaden begrenzt; die Haftung der R-Biopharm AG für die leicht fahrlässige Verletzung anderer Pflichtverletzungen ist ausgeschlossen.

ALLE WEITEREN AUSDRÜCKLICHEN ODER STILLSCHWEIGENDEN GEWÄHRLEISTUNGEN ODER GARANTIEEN JEGLICHER ART SIND AUSGESCHLOSSEN, UNABHÄNGIG DAVON, OB SIE SICH AUS GEPFLOGENHEITEN, GESCHÄFTSPRAKTIKEN, DEM GESCHÄFTSVERLAUF ZWISCHEN DEN PARTEIEN ODER ANDEREN UMSTÄNDEN ERGEBEN.

Die R-Biopharm AG übernimmt keine Haftung für Folgeschäden, insbesondere entgangenen Gewinn, Produktionsrückstände oder sonstige mittelbare Schäden.