

Megazyme

酒石酸(塩)分析法

(液状安定品／迅速法)

TARTARIC ACID (TARTRATE)

(Liquid Stable, Rapid, Format)

ASSAY PROCEDURE

K-TART 12/19

K-TART

(用手法 200 回分)

(自動分析法／マイクロプレート法 2000 回分)

日本バイオコン株式会社

はじめに - INTRODUCTION -

酒石酸はブドウ果に天然で存在し、ワインに含まれる L-リンゴ酸とともに最も一般的な有機酸の1つです。ワイン製造業全体で、酒石酸はワインの全滴定酸度に影響する唯一の酸であると考えられているため、酒石酸の測定は全酸性度の重要な指標として使用されます。ワインの総酸度の一般的なレベルはおおよそ 0.4~1.0% (w/v) の範囲です。ワインの製造工程中に、ワインの総酸度が低すぎる場合、酒石酸を添加して酸性度を上げ、pH を下げることができます。これにより微生物汚染に対する防腐効果が生じます。

本分析キット(**K-TART**)は、特にワインや果汁に含まれる酒石酸の定量に適しています。

特異性、感度、直線性と精度

- SPECIFICITY, SENSITIVITY, LINEARITY AND PRECISION -

この分析法は白ワイン、赤ワイン、果汁の酒石酸に特異的です。2 g/L 以下の DL-リンゴ酸、DL-乳酸は、本分析法に反応や阻害は致しません。

吸光度差の最小値は 0.010 です。これはサンプル量 0.1mL を用いた場合、分析試料中の酒石酸濃度約 54mg/L に相当します。検出限界はサンプル量 0.1mL を用いた場合、分析試料中の酒石酸濃度約 108mg/L で、吸光度差 0.020 に相当します。

この分析は 0.15~11g/L の酒石酸間で直線性を示します。同一サンプルを2本1組で分析した場合、吸光度のバラつきは 0.005~0.010 の範囲で発生し、これはサンプル量 0.1mL を用いた場合、酒石酸濃度約 27~54mg/L に相当します。

サンプル調製中にサンプルが希釈される場合、結果に希釈係数 F を掛ける必要があります。サンプル調製時、例えば 10g/L を秤量する場合、0.02~0.05g/100g の誤差が生じます。

安全性 - SAFETY -

すべての化学物質に適用される一般的な安全対策を遵守する必要があります。この製品の安全な使用および取扱いの詳細、SDSについては日本バイオコンまでお問い合わせ下さい。

キット - KITS -

用手法 200 検体(自動分析法 検体/マイクロプレート法 2000 検体)分析用キットを提供しております。キットには以下のものが含まれます。

ボトル1: 清澄剤(11mL)。室温で2年以上安定です。

ボトル2:(×2) 酒石酸試薬1(44mL)。4°Cで6ヶ月以上安定です。

ボトル3:(×2) 酒石酸試薬2(28mL)。4°Cで6ヶ月以上安定です。

ボトル4: 酒石酸標準液。L-酒石酸(5mL; 5 g/L)。密封条件下、室温で5年以上安定です。

試薬溶液/懸濁液の調製

- PREPARATION OF REAGENT SOLUTIONS (SUPPLIED) -

1~4. 付属のボトル1~4をそのまま使用して下さい。

機器(推奨):

1. 使い捨てプラスチック製キュベット(光路 1cm、3.0mL)
2. マイクロピペッター、例 Gilson Pipetman®(200µL、1mL)
3. ポジティブディスプレイメント方式ピペッター、例 Eppendorf Multipette® - 5.0mL Combitip® (各試薬分注用)
4. 実験室用タイマー(ストップウォッチ)
5. 分析用天秤
6. 505nm に設定した分光光度計
7. ボルテックスミキサー
8. ワットマン No.1 濾紙(9cm 径)

A. 分析手順(用手法) - MANUAL ASSAY PROCEDURE -

| | |
|--------|---------------------------------------|
| 波長: | 505nm |
| キュベット | 光路 1cm (ガラスもしくはプラスチック) |
| 反応温度 | 約 25°C~37°C |
| 反応最終容量 | 2.50 mL |
| サンプル溶液 | 酒石酸 15~1100 µg (サンプル液量を 0.10mL とした場合) |

空気を対照(レファレンス側にセルを入れない)、または水を対照に分析

| ピペットでキュベットに添加 | サンプル | 標準 | ブランク |
|--|---------|---------|---------|
| サンプル溶液 | 0.10 mL | - | - |
| 標準液 | - | 0.10 mL | - |
| 蒸留水(約25°C) | 1.75 mL | 1.75 mL | 1.85 mL |
| 酒石酸試薬1 | 0.40 mL | 0.40 mL | 0.40 mL |
| 混合*し、試薬添加の正確に1分後、反応液の吸光度測定(A ₁) | | | |
| 酒石酸試薬2 | 0.25 mL | 0.25 mL | 0.25 mL |
| 混合*し、試薬添加の正確に4分後、反応液の吸光度測定(A ₂)。 | | | |

* プラスチック製スパテルで攪拌するか、キュベット蓋またはパラフィンフィルムでキュベットに蓋をして穏やかに反転させる。

赤ワインの場合の分析法(用手法)

| ピペットでキュベットに添加 | サンプル | 標準 | ブランク |
|--|---------|---------|---------|
| 溶液1(清澄化試薬) | 0.05 mL | 0.05 mL | 0.05 mL |
| サンプル溶液 | 0.10 mL | - | - |
| 標準液 | - | 0.10 mL | - |
| 蒸留水(約25°C) | 1.70 mL | 1.70 mL | 1.80 mL |
| 混合*し、1分反応。次に以下の試薬を添加。 | | | |
| 酒石酸試薬1 | 0.40 mL | 0.40 mL | 0.40 mL |
| 混合*し、試薬添加の正確に1分後、反応液の吸光度測定(A ₁)。 | | | |
| 酒石酸試薬2 | 0.25 mL | 0.25 mL | 0.25 mL |
| 混合*し、試薬添加の正確に4分後、反応液の吸光度測定(A ₂)。 | | | |

算出法（用手法）

ブランク、標準液とサンプルの吸光度差 $\Delta A (A_2 - A_1)$ をそれぞれ算出します。
標準液とサンプルの吸光度差からブランクの吸光度差を差し引いて $\Delta A_{標準}$ 、 $\Delta A_{試料}$ を求めます。
十分に正確な結果を得るには、 $\Delta A_{標準}$ 、 $\Delta A_{試料}$ は少なくとも 0.100 の吸光度差が必要です。
酒石酸の濃度は、以下のように計算することができます。

$$c = \frac{\Delta A_{試料}}{\Delta A_{標準} / c_{標準}} \times F \quad [\text{g/L}]$$

ここで:

$c_{標準}$ = 酒石酸標準液の濃度 (g/L)
 F = 希釈率

サンプルを調製中に希釈した場合は、計算結果に希釈係数 F を乗じる必要があります。
固体および半固体サンプルを秤量後分析する場合、含有量 (g/100g) は、秤量値から以下のように算出されます。

酒石酸含量

$$= \frac{\text{酒石酸濃度 [g/L サンプル液]}}{\text{サンプル重量 [g/L サンプル液]}} \times 100 \quad [\text{g/100g}]$$

NOTE: 上記は、メガザイムウェブサイト (www.megazyme.com) の各製品ページからダウンロード可能な Megazyme *Mega-Calc*TM を使用することで簡単に計算できます。

B. 分析手順（自動分析法） - AUTO-ANALYSER ASSAY PROCEDURE -

波長: 505nm
反応温度: 約 25°C または 37°C
反応最終容量: 0.250 mL
サンプル溶液: 酒石酸 1.5~110 μg (サンプル液量を 0.01mL とした場合)

| ピペットでセルに添加 | サンプル | 標準 |
|---------------------------------------|----------|----------|
| サンプル溶液 | 0.010 mL | - |
| 標準液 | - | 0.010 mL |
| 蒸留水 (約25°C) | 0.175 mL | 0.175 mL |
| 酒石酸試薬1 | 0.040 mL | 0.040 mL |
| 混合*し、試薬添加の正確に1分後、反応液の吸光度測定 (A_1) | | |
| 酒石酸試薬2 | 0.025 mL | 0.025 mL |
| 混合*し、試薬添加の正確に4分後、反応液の吸光度測定 (A_2)。 | | |

赤ワインの場合の分析法(自動分析法)

| ピペットでキュベットに添加 | サンプル | 標準 |
|--|----------|----------|
| 溶液1 (清澄化試薬) | 0.005 mL | 0.005 mL |
| サンプル溶液 | 0.010 mL | - |
| 標準液 | - | 0.010 mL |
| 蒸留水 (約25°C) | 0.170 mL | 0.170 mL |
| 混合*し、1分反応。以下の試薬を添加 | | |
| 酒石酸試薬1 | 0.040 mL | 0.040 mL |
| 混合*し、試薬添加の正確に1分後、反応液の吸光度測定(A ₁)。 | | |
| 酒石酸試薬2 | 0.025 mL | 0.025 mL |
| 混合*し、試薬添加の正確に4分後、反応液の吸光度測定(A ₂)。 | | |

算出法 (自動分析法)

$$A_2 - (A_1 \times 225/250)$$

C. 分析手順(マイクロプレート法) - MICROPLATE ASSAY PROCEDURE -

NOTE:

1. 一点標準法または検量線で測定される酒石酸の一連の分析バッチごとに、同一ロットの試薬を用いて一度に分析する必要があります。
2. 酒石酸濃度の算出は、用手法手順(3ページ)の記載に従って行ないます。

分析法

| | |
|----------|-----------------------------------|
| 波長: | 505nm |
| マイクロプレート | 96穴 (ガラスまたはプラスチック製の底が平らなもの) |
| 反応温度 | 約25°Cまたは37°C |
| 最終反応液量 | 0.250 mL |
| 直線性 | サンプル量 0.01mL 時、酒石酸で 1.5~110µg/ウェル |

| ピペットでウェルに添加 | サンプル | 標準 | ブランク |
|--|----------|----------|----------|
| サンプル溶液 | 0.010 mL | - | - |
| 標準液 | - | 0.010 mL | - |
| 蒸留水 (約25°C) | 0.175 mL | 0.175 mL | 0.185 mL |
| 酒石酸試薬1 | 0.040 mL | 0.040 mL | 0.040 mL |
| 混合*し、試薬添加の正確に1分後、反応液の吸光度測定(A ₁) | | | |
| 酒石酸試薬2 | 0.025 mL | 0.025 mL | 0.025 mL |
| 混合*し、試薬添加の正確に4分後、反応液の吸光度測定(A ₂)。 | | | |

* マイクロプレートリーダーの自動攪拌機能を使用、もしくは 50~100µL のピペッティング

赤ワインの場合の分析法(マイクロプレート法)

| | | | |
|--|----------|----------|----------|
| ピペットでウェルに添加 | サンプル | 標準 | ブランク |
| 溶液1 (清澄化試薬) | 0.005 mL | 0.005 mL | 0.005 mL |
| サンプル溶液 | 0.010 mL | - | - |
| 標準液 | - | 0.010 mL | - |
| 蒸留水 (約25°C) | 0.170 mL | 0.170 mL | 0.180 mL |
| 混合*し、1分反応。以下の試薬を添加 | | | |
| 酒石酸試薬1 | 0.040 mL | 0.040 mL | 0.040 mL |
| 混合*し、試薬添加の正確に1分後、反応液の吸光度測定(A ₁)。 | | | |
| 酒石酸試薬2 | 0.025 mL | 0.025 mL | 0.025 mL |
| 混合*し、試薬添加の正確に4分後、反応液の吸光度測定(A ₂)。 | | | |

マイクロプレート法分析用機器 (推奨)

1. ポリスチレン製使い捨て 96 穴マイクロプレート(底が平らで透明なもの)。
Matrix Technologies 社#4915 または同等品
2. 使い捨て 25mL 容試薬リザーバー。Matrix Technologies 社#8093-11 または同等品
3. マイクロピペッター、例 GilsonPipetman® (200μL、1mL)。マルチチャンネルマイクロピペッター、例: GilsonPipetman® Ultra 8チャンネル(1-20μL、20-300μL)。
4. 実験室用タイマー(ストップウォッチ)
5. 分析用天秤
6. マイクロプレートシェーカー、例 Heidolph Titramax 100 または 1000。または同等品
7. 505nm に設定したマイクロプレートリーダー
8. ボルテックスミキサー
9. ワットマン No.1 濾紙(9cm 径)

サンプルの調製 - SAMPLE PREPARATION -

1. サンプル希釈

キュベット中に添加される酒石酸の量(すなわち、試料 0.1mL 中)は、15~1100μg の範囲である必要があります。従って試料溶液の酒石酸が 0.15~11g/L の範囲に入るよう、濃度を調整します。

希釈表

| 推定酒石酸濃度(g/L) | 水による希釈 | 希釈度 (F) |
|--------------|--------|---------|
| < 11 | 希釈不要 | 1 |
| 11~110 | 1 + 9 | 10 |
| > 110 | 1 + 99 | 100 |

サンプル吸光度 ΔA の値が低すぎる(例えば<0.100)場合、サンプル量を増やすか、希釈度を下げます。

サンプルの調製例

果汁中の酒石酸の定量

通常、透明な中性液は、希釈を除きそのまま定量可能です。混濁液は一般に、希釈前に遠心分離または濾過のみ実施すれば充分です。通常、着色液は適切な酒石酸濃度に希釈すれば分析可能です。また着色液は赤ワイン用の分析法で分析することも可能です。

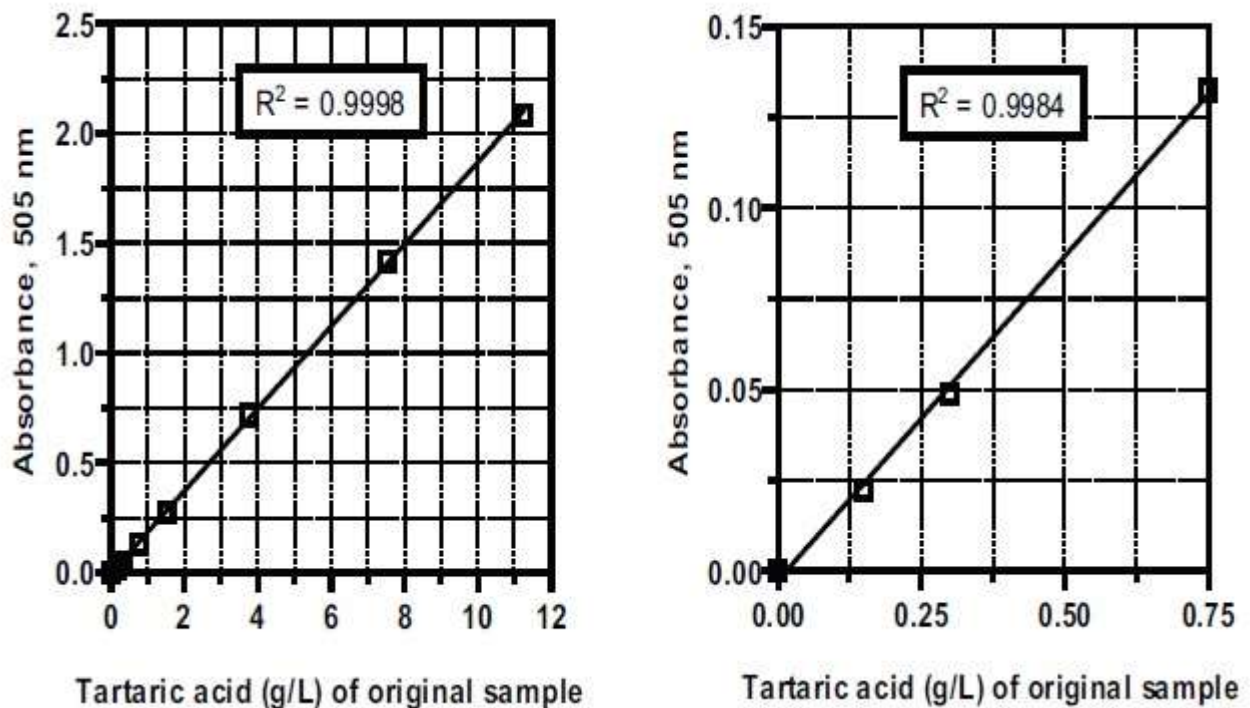


図1. K-TART 法による酒石酸定量の検量線とその直線性

酒石酸標準品を用い、25°C、光路長 1cm にて測定。

日本バイオコン株式会社

名古屋本社

〒454-0852 名古屋市中川区昭和橋通三丁目 23 番地1 バイオコンビル
TEL 052-661-8105 (代表) FAX 052-659-0888

TEL 052-659-4898 (試薬担当直通)

E-mail : bj-megazyme@biocon.co.jp

Homepage : <http://www.biocon.co.jp>

この小冊子に記載されている情報は、当社が知る限りにおいて事実かつ正確に記載されていますが、使用条件が当社の管理範囲外であるため、本文中にどのような推奨や示唆があったとしても、如何なる使用も特許を侵害しないということを保証しているものではありません