

亜硫酸（総亜硫酸）

F-キット(725854)とE-キット(E6275)・Liquid(E8600)の比較

1. 概要

製品	F-キット	E-キット	E-キット Liquid																												
製品番号	725 854	E6275	E8600																												
試薬容量	30 テスト	30 テスト	100 テスト																												
測定原理	亜硫酸オキシダーゼ (SUOX)、NADH ペルオキシダーゼ (NADH-POD) を用いた酵素反応 $\text{SO}_3^- + \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{SUOX}} \text{SO}_4^- + \text{H}_2\text{O}_2$ $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{NADH-POD}} 2 \text{H}_2\text{O} + \text{NAD}^+$ NADHの減少を340nmの吸光度で測定する SUOX は、F-キットではニワトリ肝臓由来品を、E-キットでは組換え体を使用		亜硫酸に特異的な発色剤を用いた比色定量法 $\text{SO}_3^- + \text{Chromogen} \longrightarrow \text{S-Chromogen 反応物}$ S-Chromogen 反応物を340nmの吸光度で測定しますが、NADHではなく酵素法でもありません。																												
公定法	薬局方 (JP, EP, USP) の精製白糖中の亜硫酸塩の測定法に準拠 EPではE6275の使用が可能であることを確認済み (Monograph No.0204)		—																												
試薬	■ バッファー (そのまま使用) ■ NADH (0.4 mg/錠) ■ NADH-POD: 0.3 mL (10U/mL) ■ SUOX: 1.6 mL (2.5 U/mL) 	■ バッファー (そのまま使用) ■ NADH (0.4 mg/錠) ■ NADH-POD: 0.4 mL (14.5 U/mL) ■ SUOX: 1.6 mL (2.5 U/mL) 	■ R1: バッファー ■ R2: 発色剤 ■ R3: 標準品 (SO₂=150 mg/L) 両試薬ともそのまま使用でき、開封後も安定																												
測定手順 (標準法)	<table><thead><tr><th>ステップ</th><th>サンプル (またはブランク)</th></tr></thead><tbody><tr><td>バッファー+NADH</td><td>1.000 mL</td></tr><tr><td>サンプル (または水)</td><td>0.100 mL</td></tr><tr><td>水</td><td>1.900 mL</td></tr><tr><td>NADH-POD</td><td>0.010 mL</td></tr><tr><td colspan="2">インキュベーション 5分 吸光度(A₁)測定</td></tr><tr><td>Vial 2</td><td>0.050 mL</td></tr><tr><td colspan="2">インキュベーション 30分 吸光度(A₂)測定</td></tr></tbody></table>		ステップ	サンプル (またはブランク)	バッファー+NADH	1.000 mL	サンプル (または水)	0.100 mL	水	1.900 mL	NADH-POD	0.010 mL	インキュベーション 5分 吸光度(A ₁)測定		Vial 2	0.050 mL	インキュベーション 30分 吸光度(A ₂)測定		<table><thead><tr><th>ステップ</th><th>サンプル (またはブランク)</th></tr></thead><tbody><tr><td>R1</td><td>2.000 mL</td></tr><tr><td>サンプル (または水、標準品)</td><td>0.100 mL</td></tr><tr><td colspan="2">インキュベーション 3分 吸光度(A₁)測定</td></tr><tr><td>R2</td><td>0.500 mL</td></tr><tr><td colspan="2">インキュベーション 10分 吸光度(A₂)測定</td></tr></tbody></table> 標準品の一点検量線によりサンプルの濃度を定量する 標準法 (v=0.1mL)での 測定範囲 (推奨) : 10 mg/L - 300 mg/L LoD : 2.5 mg/L、LoQ : 4.5 mg/L	ステップ	サンプル (またはブランク)	R1	2.000 mL	サンプル (または水、標準品)	0.100 mL	インキュベーション 3分 吸光度(A ₁)測定		R2	0.500 mL	インキュベーション 10分 吸光度(A ₂)測定	
ステップ	サンプル (またはブランク)																														
バッファー+NADH	1.000 mL																														
サンプル (または水)	0.100 mL																														
水	1.900 mL																														
NADH-POD	0.010 mL																														
インキュベーション 5分 吸光度(A ₁)測定																															
Vial 2	0.050 mL																														
インキュベーション 30分 吸光度(A ₂)測定																															
ステップ	サンプル (またはブランク)																														
R1	2.000 mL																														
サンプル (または水、標準品)	0.100 mL																														
インキュベーション 3分 吸光度(A ₁)測定																															
R2	0.500 mL																														
インキュベーション 10分 吸光度(A ₂)測定																															
直線性	→ 300 mg/L (sample = 0.100 mL)		→ 300 mg/L (0.100 mL).																												
LoD / LoQ	<table><thead><tr><th>ランベルト・ベールより算出</th><th>F-キット / E6275</th><th>E8600</th></tr></thead><tbody><tr><td>LoD (v = 2 mL, ΔA = 0.020)</td><td>0.3 mg/L</td><td>0.3 mg/L</td></tr><tr><td>LoQ (v = 0.5 mL, ΔA = 0.050)</td><td>3.1 mg/L</td><td>2.2 mg/L</td></tr></tbody></table>	ランベルト・ベールより算出	F-キット / E6275	E8600	LoD (v = 2 mL, ΔA = 0.020)	0.3 mg/L	0.3 mg/L	LoQ (v = 0.5 mL, ΔA = 0.050)	3.1 mg/L	2.2 mg/L																					
ランベルト・ベールより算出	F-キット / E6275	E8600																													
LoD (v = 2 mL, ΔA = 0.020)	0.3 mg/L	0.3 mg/L																													
LoQ (v = 0.5 mL, ΔA = 0.050)	3.1 mg/L	2.2 mg/L																													

亜硫酸測定における F-キットとE-キット Liquid (E8600) の比較

2. E-キットLiquid 亜硫酸 (E8600)のF-キットに対する評価

a) ラボでの評価手順

E-キットLiquidのバリデーションを行う場合、以下の手順にしたがってください：

- 同一の試料をF-キット酢酸とE-キットLiquid 亜硫酸 (E8600、100テスト) を使って併行して測定する。
- 当日ラボで調製したQCサンプルを使って回収率を求める。標品にはメタ重亜硫酸ナトリウム（ピロ亜硫酸ナトリウム） $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ を使うことを推奨する。亜硫酸ナトリウム Na_2SO_3 よりも安定である。また、グルタルアルデヒド2重亜硫酸ナトリウム付加物 (CAS 7420-89-5、Sigma-Aldrich 製品番号 108790) は数か月安定であり、使用を推奨する。
- ルーチン測定している試料を対象に、100テストを使い切るまで両方のキットで測定する（方法間の比較）。
- 試料の前処理はF-キットで測定するときの方法で行い、調製した同一の試料を両方のキットで測定する。（試料量は100 μL ）
- 試料中での安定性による影響を避けるため、両キットによる測定は同時に行う。（特に、アセトアルデヒド、酢酸、アンモニア、アスコルビン酸、エタノール、亜硫酸は試料中の安定性が問題となる。）

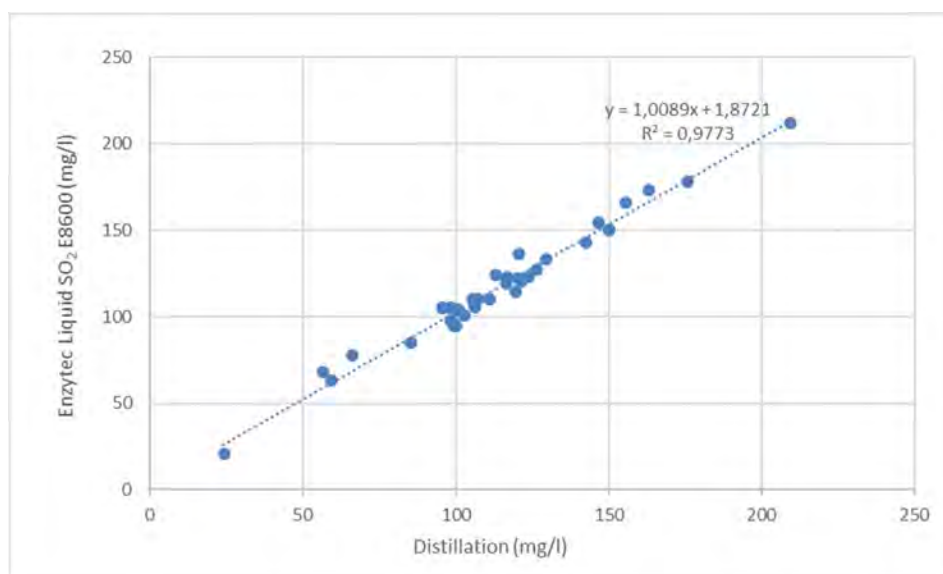
その他の項目（直線性、精度、再現性など）のバリデーションを行う場合、さらにキットを追加する必要があります。

b) R-Biopharm社内における評価結果

グルタルアルデヒド2重亜硫酸ナトリウム付加物 (CAS 7420-89-5)を使って求めた回収率

- 回収率：100 $\pm$ 5 % ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ または Na_2SO_3 を使用した場合、回収率が下がる可能性があります。)
- 注意：この回収率は E-キットLiquidの仕様に定められた値であり、すべてのロットで保証されます。

ワインおよびフルーツジュース中の総亜硫酸のE-キットLiquid 亜硫酸 (E8600)と通気蒸留法による測定の比較



E-キットLiquid 亜硫酸 (E8600)と通気蒸留法での測定値の相関係数は97.7% であった。

なお、相関係数は測定する試料によって異なることがあります。

RIDA®CUBE 総亜硫酸 (RCS4600)

RIDA®CUBE SCANによる自動測定

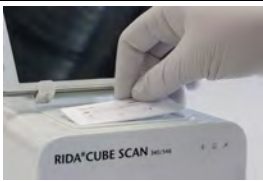
1. 概要

バッファーが入ったチューブに試料と基質を分注し、酵素が入ったキャップをしてRIDA CUBE SCANにセットすると、自動的に測定が始まり約10分で定量値が得られます。

pHがアルカリ性の条件下で、アルデヒドなど亜硫酸が結合した分子からSO₂を遊離させて測定します。化学両論的に亜硫酸と特異的に反応した色素を340nmの吸光度で測定します。アスコルビン酸などのレダクトンとは反応しません。



2. 測定手順

RFIDカードを 機器に置く	
試料情報を タブレットに入力 - 試料名 - 試料量 (20/100μl)	
チューブ (試薬 1) に 試料を 20 または 100 μl 分注する	 
チューブにキャップ (試薬 2) をしたのち、 機器にセットして ドアを閉める	 
測定範囲 ベーシック測定 (試料量 20 μl) : 20 ~ 300 mg/l 高感度測定 (試料量 100 μl) : 5 ~ 60 mg/l 注意: 蒸留水を試料として試薬ブランクを測定し、測定値からブランクを差し引く必要がある場合があります。	

RIDA® CUBE 総亜硫酸 (RCS4600) キット構成

- # 1: 試薬 1 (バッファー) 約800 μl、32本 (チューブ)
- # 2: 試薬 2 (酵素) 約200 μl、32本 (キャップ)
- # 3: RFIDカード、1枚



RIDA® CUBE SCAN 仕様

寸法 : 16 x 13.5 x 14.5 cm (H x W x D)

重量 : 2.2 kg

光源 : LED

波長選択 : フィルター

フォトメーター分解能 : 0.0001 ABS

再現性 : <1.5% CV at 1 OD

直線性 : 0.1000 – 3.0000 OD

± 1.5% または ± 0.01 OD の良い方

温度制御 : 37°C ± 2°C

インターフェース : RS232, USB, Bluetooth

電源 : 12V DC, 2A

RIDA®CUBE 遊離亜硫酸 (RCS4610)

RIDA®CUBE SCANによる自動測定

1. 概要

バッファーが入ったチューブに試料と基質を分注し、酵素が入ったキャップをしてRIDA CUBE SCANにセットすると、自動的に測定が始まり約10分で定量値が得られます。

pHが酸性の条件下で、遊離の亜硫酸を特異的に反応する色素を使って測定します。化学両論的に亜硫酸と反応した色素を340nmの吸光度で測定します。

2. 測定手順

RFIDカードを 機器に置く	
タブレットに入力 - 試料名 - 測定法 “Sensitive” または “Creep reaction” を選択する	
チューブ (試薬 1) に 試料を100 µl 分注する	 
チューブにキャップ (試薬 2) をしたのち、 機器にセットして ドアを閉める	 
測定範囲 試料量 100 µl : 4 ~60 mg/l 通常は“Sensitive”で測定します。ある種の試料では吸光度のクリーブにより、実際より遊離亜硫酸濃度が高くなることがあります。そのような試料は、“Creep reaction”で測定します（測定時間約25分）。 蒸留水を試料として試薬ブランクを測定し、測定値からブランクを差し引く必要がある場合があります。	



RIDA® CUBE 遊離亜硫酸 (RCS4610) キット構成

- # 1: 試薬 1 (バッファー) 約800 µl、32本 (チューブ)
- # 2: 試薬 2 (酵素) 約200 µl、32本 (キャップ)
- # 3: RFIDカード、1枚



RIDA® CUBE SCAN 仕様

寸法 : 16 x 13.5 x 14.5 cm (H x W x D)

重量 : 2.2 kg

光源 : LED

波長選択 : フィルター

フォトメーター分解能 : 0.0001 ABS

再現性 : <1.5% CV at 1 OD

直線性 : 0.1000 – 3.0000 OD

± 1.5% または ± 0.01 OD の良い方

温度制御 : 37°C ± 2°C

インターフェース : RS232, USB, Bluetooth

電源 : 12V DC, 2A