

Acetaldehyd

UV-Test

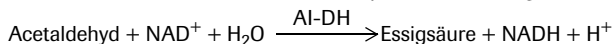
zur Bestimmung von Acetaldehyd in Lebensmitteln und anderen Probematerialien

Best. Nr. 10 668 613 035

Test-Combination für 3 × 11 Bestimmungen

Prinzip (Lit. 1)

Acetaldehyd wird in Gegenwart von Aldehyd-Dehydrogenase (Al-DH) durch Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NAD) quantitativ zu Essigsäure oxidiert.



Die bei der Reaktion gebildete NADH-Menge ist der Acetaldehyd-Menge äquivalent. NADH ist messgrösse und aufgrund seiner Absorption bei 334, 340 oder 365 nm zu bestimmen.

Die Test-Combination enthält

1. Flasche 1 mit ca. 100 ml Lösung, zusammengesetzt aus:
Kaliumdiphosphat-Puffer, pH ca. 9,0
2. Flasche 2 mit ca. 30 Tabletten; jede Tablette enthält:
NAD, ca. 0,8 mg
3. Drei Flaschen 3 mit Lyophilisat Aldehyd-Dehydrogenase, je ca. 4 U

Herstellung der Lösungen

1. Inhalt der Flasche 1 unverdünnt verwenden.
2. In einem Becherglas oder Zentrifugenglas je nach Anzahl der Bestimmungen für jeden Test (Leerwert und Proben) **eine** Tablette aus Flasche 2 mit **drei** ml Lösung aus Flasche 1 lösen (zur Entnahme der Tabletten aus Flasche 2 Pinzette benutzen), zur Beschleunigung des Lösens Tablette ggf. mit Rührstab zerdrücken; ergibt Reaktionsgemisch 2.
3. Inhalt einer Flasche 3 mit 0,6 ml bidest. Wasser lösen.

Stabilität der Lösungen

- Lösung 1 ist stabil bei 2-8°C (s. Packungsetikett).
Lösung 1 vor Gebrauch auf 20-25°C bringen.
Der Inhalt der Flasche 2 ist stabil bei 2-8°C (s. Packungsetikett).
Reaktionsgemisch 2 ist bei 2-8°C 1 Woche haltbar.
Reaktionsgemisch 2 vor Gebrauch auf 20-25°C bringen.
Der Inhalt der Flaschen 3 ist stabil bei 2-8°C (s. Packungsetikett).
Lösung 3 ist bei 2-8°C 1 Woche haltbar.

Bestimmungsansatz

- Wellenlänge¹: 340 nm, Hg 365 nm oder Hg 334 nm
Glasküvette²: 1,00 cm Schichtdicke
Temperatur: 20-25°C
Testvolumen: 3,250 ml
Messung gegen Luft (im Strahlengang keine Küvette) oder gegen Wasser oder Leerwert³.
Probelösung: 0,5-20 µg Acetaldehyd/Ansatz⁴ (in 0,200-0,500 ml Probevolumen)

In Küvetten pipettieren	Leerwert	Probe
Reaktionsgemisch 2	3,000 ml	3,000 ml
Probelösung*	-	0,200 ml
bidest. Wasser	0,200 ml	-
mischen**, nach ca. 3 min Extinktionen der Lösungen messen (E ₁). Reaktion starten durch Zugabe von		
Lösung 3	0,050 ml	0,050 ml
mischen**, nach Ablauf der Reaktion (ca. 3-5 min) Extinktionen von Leerwert und Probe unmittelbar nacheinander messen (E ₂).		

Es ist unbedingt erforderlich, während der Messung die Küvetten z. B. mit Parafilm zu verschliessen.

* Vor der Dosierung der Probelösung Enzymtest-Messpipette, bzw. Pipettenspitze der Kolbenhubpipette mit der Probelösung vorspülen.

** z. B. mit Rührspatel oder durch Umschwenken nach Verschliessen z. B. mit Parafilm (Warenzeichen der American Can Company, Greenwich, Ct., USA).

BOEHRINGER MANNHEIM / R-BIOPHARM Enzymatische BioAnalytik / Lebensmittelanalytik

Nur zur Verwendung in der Lebensmittelhygiene.

Lagern bei 2-8°C

Methoden-Empfehlungen und standardisierte Verfahren siehe unter Literatur (2)

Für Leerwert und Probe Extinktionsdifferenzen (E₂-E₁) berechnen. Extinktionsdifferenz des Leerwertes von Extinktionsdifferenz der Probe abziehen.

$$\Delta E = (E_2 - E_1)_{\text{Probe}} - (E_2 - E_1)_{\text{Leerwert}}$$

Die gemessene Extinktionsdifferenz sollte zur Erzielung eines ausreichend präzisen Ergebnisses in der Regel mindestens 0,100 Extinktionseinheiten betragen (s. "Hinweise zur Testdurchführung" und "Empfindlichkeit und Nachweisgrenze", Pkt. 4).

Berechnung

Nach der allgemeinen Berechnungsformel für die Bestimmung der Konzentration gilt:

$$c = \frac{V \times \text{MG}}{\varepsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta E \text{ [g/l]}$$

V = Testvolumen [ml]

v = Probevolumen [ml]

MG = Molekulargewicht der zu bestimmenden Substanz [g/mol]

d = Schichtdicke [cm]

ε = Extinktionskoeffizient von NADH bei:
340 nm = 6,3 [l × mmol⁻¹ × cm⁻¹]
Hg 365 nm = 3,4 [l × mmol⁻¹ × cm⁻¹]
Hg 334 nm = 6,18 [l × mmol⁻¹ × cm⁻¹]

Hieraus ergibt sich für Acetaldehyd:

$$c = \frac{3,250 \times 44,05}{\varepsilon \times 1,00 \times 0,200 \times 1000} \times \Delta E = \frac{0,7158}{\varepsilon} \times \Delta E \text{ [g Acetaldehyd/l Probe-lösung]}$$

Ist bei der Vorbereitung der Probe eine Verdünnung vorgenommen worden, muss das Ergebnis mit dem Verdünnungsfaktor F multipliziert werden.

Bei der Analyse fester und halbfester Proben, die für die Vorbereitung der Probe eingewägt werden, wird das Analysenergebnis auf die Einwaage bezogen:

$$\text{Gehalt}_{\text{Acetaldehyd}} = \frac{c_{\text{Acetaldehyd}} \text{ [g/l Probelösung]}}{\text{Einwaage}_{\text{Probe}} \text{ in g/l Probelösung}} \times 100 \text{ [g/100 g]}$$

1. Hinweise zur Testdurchführung

Im Testansatz soll die Acetaldehyd-Menge zwischen 1 µg und 20 µg (Messung bei 365 nm) bzw. 0,5 µg und 10 µg (Messung bei 340, 334 nm) betragen. Die Probelösung ist also soweit zu verdünnen, dass die Acetaldehyd-Konzentration zwischen 0,02 und 0,10 g/l bzw. 0,01 und 0,05 g/l liegt.

Verdünnungstabelle

Geschätzte Menge an Acetaldehyd im Liter		Verdünnung mit Wasser	Verdünnungsfaktor F
Messung bei			
340 oder 334 nm	365 nm		
< 0,05 g	< 0,10 g	-	1
0,05-0,5 g	0,10-1,0 g	1 + 9	10
0,5-5,0 g	1,0-10 g	1 + 99	100
> 5,0 g	> 10 g	1 + 999	1000

1 Das Absorptionsmaximum von NADH liegt bei 340 nm. Bei Verwendung von Spektralphotometern wird im Absorptionsmaximum, bei Verwendung von Spektral-Linienphotometern mit Hg-Dampflampe wird bei einer Messstrahlung von 365 nm oder 334 nm gemessen.

2 Anstelle der Glasküvetten sind auch handelsübliche Einwegküvetten geeignet.

3 Z. B. bei Verwendung eines Zweistrahlphotometers.

4 Siehe Hinweise zur Testdurchführung.

Bedingt durch die Flüchtigkeit von Acetaldehyd wird beim Verdünnen von Proben folgendes Vorgehen vorgeschlagen:

Messkolben etwa zur Hälfte mit bidest. Wasser füllen und Probe mit Enzymtest- oder Kolbenhubpipette unter die Wasseroberfläche pipettieren. Messkolben mit bidest. Wasser bis zur Marke auffüllen und mischen.

Ist die gemessene Extinktionsdifferenz (ΔE) zu klein (z.B. $< 0,100$), so ist die Probelösung erneut herzustellen (höhere Einwaage oder weniger starke Verdünnung), oder das in die Küvette zu pipettierende Probevolumen (v) ist bis auf 0,500 ml zu erhöhen. Das Volumen an Lösung 1 bzw. Reaktionsgemisch 2 bleibt dabei unverändert (3,000 ml).

In gleichem Mass ist das in die Leerwert-Küvette zu pipettierende Volumen an bidest. Wasser zu erhöhen. Geändertes Probevolumen (v) und Testvolumen (V) sind in der Berechnungsformel entsprechend zu berücksichtigen.

2. Technische Hinweise

2.1 Acetaldehyd ist sehr flüchtig (Siedepunkt ca. 21°C), so dass alle Gefässe, die Probe (-lösungen) oder Testkontroll-Lösungen enthalten, stets verschlossen sein müssen.

2.2 Wegen der hohen Flüchtigkeit von Acetaldehyd muss bei allen Pipettierschritten (Herstellung von Probe- und Testkontroll-Lösungen, Verdünnungen, Pipettieren dieser Lösungen in die Küvetten) die Acetaldehydhaltige Lösung immer unter die Flüssigkeitsoberfläche dosiert werden.

2.3 Acetaldehyd wird leicht (bei Anwesenheit von Sauerstoff der Luft) zu Essigsäure oxidiert. Deshalb müssen Proben möglichst rasch nach Probeziehung bzw. -gewinnung untersucht werden, auch Testkontroll-Lösungen haben nur eine begrenzte Haltbarkeit.

2.4 Acetaldehyd liegt (nach einer bestimmten Lagerzeit) in polymerer Form vor, die bei der enzymatischen Bestimmung nicht umgesetzt wird. Deshalb ist Acetaldehyd stets frisch zu destillieren, wenn eine Testkontroll-Lösung hergestellt werden soll. Alternativ kann Acetaldehyd-ammoniak (1-Amino-ethanol) als Testkontrollmaterial verwendet werden.

2.5 Acetaldehyd hat einen charakteristisch stechenden Geruch; Acetaldehyd reizt die Schleimhäute und wirkt narkotisierend. Deshalb sollte Acetaldehyd vor der Herstellung einer Standardlösung bei ca. -15 bis -25°C gelagert und mit einer ebenfalls bei ca. -15 bis -25°C gelagerten Glaspipette unter die Wasseroberfläche im Messkolben pipettiert werden. (Vor dem Wägen ist der Messkolben stets zu schliessen; s. Pkt. 2.1).

3. Spezifität

Al-DH setzt, allerdings mit erheblich geringer Geschwindigkeit, auch andere Aldehyde wie Propionaldehyd, Glykolaldehyd und Benzaldehyd um; in Anwesenheit dieser Aldehyde kann Acetaldehyd durch Extrapolation von E_2 auf den Zeitpunkt der Zugabe von Lösung 3 (Al-DH) berechnet werden. Unter vorliegenden Reaktionsbedingungen ist die Oxidation von Formaldehyd, Crotonaldehyd, Glycerinaldehyd so gering, dass ihr Einfluss auf die Acetaldehyd-Bestimmung, auch bei hohem Überschuss, vernachlässigt werden kann.

Bei der Analyse von Reinsubstanz Acetaldehyd unmittelbar nach Destillation (s. Pkt. 2.4) ist mit Ergebnissen von ca. 100% zu rechnen. (Eine Wiederfindung von weniger als 100% bedeutet nicht unbedingt eine unvollständige Umsetzung bei der enzymatischen Bestimmung, sondern ist eher ein Hinweis für den Verlust an Analyt während der Handhabung, dem Verlust an Analyten bei der Herstellung der Acetaldehydlösung und beim Pipettieren der verdünnten Acetaldehydlösung in den Testansatz.)

Hinweis:

Bei der Bestimmung von Acetaldehyd in Proben, die auch Sulfit enthalten, wird "Gesamtacetaldehyd" gemessen, also die Summe von freiem und an Sulfit gebundenem Acetaldehyd.

4. Empfindlichkeit und Nachweisgrenze (Lit. 1.2)

Die geringste Extinktionsdifferenz, die das Verfahren unterscheiden kann, beträgt 0,005 Extinktionseinheiten. Das entspricht bei einem maximal einzusetzenden Probevolumen $v = 0,500$ ml bei einem Testvolumen $V = 3,550$ ml und Messung bei 340 nm einer Konzentration an Acetaldehyd von ca. 0,25 mg/l (bei $v = 0,100$ ml und $V = 3,150$ ml entsprechend ca. 1 mg/l Probelösung).

Die Nachweisgrenze von 1 mg/l ergibt sich aus der Extinktionsdifferenz von 0,020 (gemessen bei 340 nm), dem maximalen Probevolumen $v = 0,500$ ml und dem Testvolumen $V = 3,550$ ml.

5. Linearität

Linearität der Bestimmung ist gegeben von ca. 0,5 μg Acetaldehyd/Ansatz (1 mg Acetaldehyd/l Probelösung; Probevolumen $v = 0,500$ ml; Testvolumen $V = 3,550$ ml) bis 20 μg Acetaldehyd/Ansatz (0,20 g Acetaldehyd/l Probelösung; Probevolumen $v = 0,100$ ml; Testvolumen $V = 3,150$ ml).

6. Präzision

Bei einer Doppelbestimmung, ausgehend von einer Probelösung, ist mit Unterschieden bei den Extinktionsdifferenzen von 0,005 bis 0,010 Extinktionseinheiten zu rechnen. Das entspricht bei einem Probevolumen $v = 0,200$ ml und einem Testvolumen $V = 3,250$ ml einer Acetaldehyd-Konzentration von ca. 0,5 - 1 mg/l. (Ist bei der Vorbereitung der Probe eine Verdünnung vorgenommen worden, ist mit dem Verdünnungsfaktor F zu multiplizieren. Bei einer Einwaage von 1 g Probe/100 ml = 10 g/l sind die zu erwartenden Unterschiede ca. 0,005-0,01 g/100 g.)

In der Literatur sind folgende Daten veröffentlicht:

$CV = 2,2 \%$ (Lit. 1.1)

$x = 4 \mu\text{g}/\text{Test}$ $CV = 3,7 \%$ $n = 16$
 $x = 20 \mu\text{g}/\text{Test}$ $CV = 0,77 \%$ $n = 16$ (Lit. 1.2)

7. Störungen

Inhaltsstoffe tierischer Probematerialien stören die Bestimmung von Acetaldehyd nicht. Pflanzliche (Poly-) Phenole verlangsamen die Umsetzung von Acetaldehyd.

Störungen von Alkoholen auf den Testablauf treten auch bei einem hohen Überschuss nicht auf. Auch reduzierende Substanzen, wie Ascorbinsäure, Schwefeldioxid (bis zu 50 μg SO_2 /Ansatz) beeinträchtigen die Acetaldehyd-Bestimmung nicht.

8. Erkennen von Störungen

8.1 Ist die Umsetzung von Acetaldehyd nach der unter "Bestimmungsansatz" angegebenen Zeit beendet, so kann im allgemeinen auf einen störungsfreien Ablauf geschlossen werden.

8.2 Nach Ablauf der Reaktion kann durch Zugabe von Acetaldehyd (bzw. von Acetaldehyd-ammoniak = 1-Amino-ethanol; qualitativ oder quantitativ) die Reaktion wieder gestartet werden: Die erneute Änderung der Extinktion nach Zugabe des Standardmaterials ist ein Beweis für den störungsfreien Ablauf der Bestimmung.

8.3 Grobe Fehler beim Testansatz und Störungen der Bestimmung durch Inhaltsstoffe der Probe können auch erkannt werden, wenn aus einer Probelösung eine Doppelbestimmung mit verschiedenen Probevolumina (z.B. 0,100 ml und 0,200 ml) ausgeführt wird: Die gemessenen Extinktionsdifferenzen müssen den eingesetzten Probevolumina proportional sein.

Bei der Analytik fester Proben wird die Einwägung verschiedener Mengen (z.B. 1 g und 2 g) in 100 ml-Messkolben empfohlen. Bei gleichen Probevolumina für die Testansätze muss Proportionalität zwischen Extinktionsdifferenz und Einwaage gegeben sein.

8.4 Störungen der Bestimmung durch Inhaltsstoffe der Probe können weiterhin durch Mitführen eines internen Standards erkannt werden: Neben Probe-, Leerwert- und Standardansatz wird ein weiterer Ansatz mit Probe- und Testkontroll-Lösung analysiert. Aus den ermittelten Extinktionsdifferenzen wird die Wiederfindung berechnet.

8.5 Verluste während der Vorbereitung der Proben können durch Wiederfindungsversuche erkannt werden: Die Probe wird mit und ohne zugesetztem Standardmaterial vorbereitet und anschliessend gemessen. Der Zusatz muss (innerhalb des Analysenfehlers) quantitativ wiedergefunden werden.

9. Gefährlichkeit der Reagenzien

Die Reagenzien zur Bestimmung von Acetaldehyd sind keine gefährlichen Stoffe oder Zubereitungen im Sinne der Gefahrstoffverordnung, des Chemikaliengesetzes oder der EG-Richtlinie 67/548/EWG und deren Änderungs- und Anpassungsrichtlinien. Die beim Umgang mit Chemikalien üblichen Vorsichtsmassnahmen sollten jedoch beachtet werden.

Nach Gebrauch können die Reagenzien unter Beachtung der örtlichen Vorschriften zum Abwasser gegeben werden. Das Verpackungsmaterial kann dem Recycling zugeführt werden.

10. Allgemeine Hinweise zur Vorbereitung der Proben

Flüssige, klare, farblose und annähernd neutrale Proben direkt, nach Verdünnen gemäss Verdünnungstabelle (zur Vermeidung von Acetaldehyd-Verlusten ist die zu verdünnende Lösung immer unter die Oberfläche des Verdünnungsmittels zu pipettieren) oder mit einem Probevolumen bis 0,500 ml zum Test einsetzen;

trübe Lösungen filtrieren (es können hierbei geringe Verluste an Acetaldehyd auftreten);

Kohlensäure-haltige Proben (z.B. durch Filtration) entgasen (es können hierbei geringe Verluste an Acetaldehyd auftreten) oder mit Ätzkali (KOH) oder Ätznatron (NaOH) alkalisieren, um CO₂ in Form von Bicarbonat zu binden;

saure Proben durch Zugabe von Natronlauge oder Kalilauge auf pH 8-9 einstellen;

saure und schwach gefärbte Proben durch Zugabe von Natronlauge oder Kalilauge auf pH 8-9 einstellen und ca. 15 min stehen lassen;

„stärker gefärbte“ Proben, (falls erforderlich auf pH 8-9 eingestellt) gegen Probeleerwert (= Puffer bzw. bidest. Wasser + Probe) messen (Photometer mit Probeleerwert im Strahlengang auf 0,000 einstellen);

stark gefärbte Proben mit Polyamid, Polyvinylpyrrolidon, PVPP oder Aktivkohle (z.B. 2 g/100 ml Probe) behandeln (es können hierbei geringe Verluste an Acetaldehyd auftreten);

feste und halbfeste Proben zerkleinern oder homogenisieren, mit Wasser extrahieren bzw. lösen, wenn nötig filtrieren; ggf. Trübstoffe und Farbstoffe mit Carrez-Reagenzien (s.u.) entfernen;

Protein-haltige Proben mit Carrez-Reagenzien (s.u.) klären oder mit Perchlorsäure enteiuweissen;

Fett-haltige Proben mit warmen Wasser in einem Messkolben mit Steigrohr extrahieren, zur Abscheidung des Fettes abkühlen lassen, Steigrohr mit Wasser nachspülen, Messkolben bis zur Marke auffüllen, 15 min in Eisbad stellen und filtrieren; alternativ nach Extraktion mit warmen Wasser mit Carrez-Reagenzien klären.

Carrez-Klärung:

Geeignete Probemenge in einen 100 ml-Messkolben genau einwiegen, 60 ml bidest. Wasser hinzufügen. Die flüssige Probe in einem 100 ml-Messkolben, der ca. 60 ml bidest. Wasser enthält, pipettieren. Anschliessend 5 ml Carrez-I-Lösung (Kaliumhexacyanoferrat(II) (Ferrocyano)id) 85 mM = 3,60 g K₄[Fe(CN)₆] × 3 H₂O/100 ml) und 5 ml Carrez-II-Lösung (Zinksulfat, 250 mM = 7,20 g ZnSO₄ × 7 H₂O/100 ml) sorgfältig dosieren. Mit Natronlauge (0,1 mM; z.B. 10 ml) pH 7,5-8,5 einstellen. Nach jeder Zugabe mischen, Messkolben mit Wasser bis zur Marke auffüllen, mischen und filtrieren.

11. Anwendungsbeispiele

Bestimmung von Acetaldehyd in Fruchtsäften

Trübe Säfte filtrieren, gefärbte Säfte auf pH ca. 8,0 einstellen und ca. 15 min stehen lassen, ggf. gegen Probeleerwert messen, stark gefärbte Säfte mit Aktivkohle (z. B. 2 g/100 ml Saft) entfärben, ggf. verdünnen oder mit einem Probevolumen bis 0,500 ml zum Test einsetzen.

Bestimmung von Acetaldehyd in Weisswein (Lit. 3.1, 3.2)

Weisswein mit Natronlauge (2 M) auf pH 8,0 einstellen. Sofort 0,100- 0,500 ml zum Test einsetzen.

Hinweis:

Bei der Bestimmung von Acetaldehyd in Proben, die auch Sulfid enthalten, wird „Gesamtacetaldehyd“ gemessen, also die Summe von freiem und an Sulfid gebundenem Acetaldehyd.

Bestimmung von Acetaldehyd in Rotwein (Lit. 3.1, 3.2)

Rotwein vor dem Einsatz zum Test ggf. wie folgt entfärben: 10 ml Rotwein und 0,2 g Aktivkohle mischen, ca. 30 s rühren und schnell filtrieren. Klare, meistens farblose Probe ohne weitere Verdünnung verwenden. 0,200 ml zum Test einsetzen.

(Eine Neutralisation nach der Entfärbung ist in der Regel nicht erforderlich.)

Hinweis:

Bei der Bestimmung von Acetaldehyd in Proben, die auch Sulfid enthalten, wird „Gesamtacetaldehyd“ gemessen, also die Summe von freiem und an Sulfid gebundenem Acetaldehyd.

Bestimmung von Acetaldehyd in Spirituosen

Branntweine unverdünnt mit v = 0,200 ml (ggf. 0,500 ml) direkt zum Test einsetzen.

Bestimmung von Acetaldehyd in Bier (Lit 3.3) und Sekt

Proben ca. 30 sec im Becherglas zur Entfernung von Kohlensäure rühren, oder Proben mit Ätzkali (KOH) oder Ätznatron (NaOH) versetzen bis der pH ca. 9 beträgt (bei gefärbten Proben), oder Proben über Faltenfilter filtrieren. Ggf. zur Bestimmung verdünnen oder mit einem Probevolumen bis 0,500 ml zum Test einsetzen.

Bestimmung von Acetaldehyd in Joghurt und Frucht-Joghurt

Ca. 40 g Joghurt (bzw. Frucht-Joghurt) in ein Becherglas genau einwiegen, 4 ml Citronensäure-Lösung (20% w/v) hinzufügen, leicht rühren, mit Wasser in einen 50 ml-Messkolben überspülen und anschliessend mit Wasser bis zur Marke auffüllen. Mischen und durch Faltenfilter filtrieren, ggf. zentrifugieren. Die ersten ml verwerfen; die meistens klare Lösung mit v = 0,200 ml zum Test einsetzen.

Bestimmung von Acetaldehyd in Obst- und Gemüseprodukten, Brot und fettarmen Milchprodukten

Zerkleinerte Probe in z. B. 100 ml-Messkolben einwiegen, mit Wasser extrahieren (verschlossenen Messkolben kräftig schütteln), Messkolben bis zur Marke auffüllen und filtrieren. Falls das Filtrat nicht „ausreichend“ klar ist, mit Carrez-Reagenzien klären (s. oben).

Ggf. zur Bestimmung verdünnen oder mit einem Probevolumen bis 0,500 ml zum Test einsetzen.

Bestimmung von Acetaldehyd in Kaffee, Kakao und fetthaltigen Milchprodukten (z. B. Butter)

Homogenisierte Probe z. B. in einen 100 ml-Messkolben einwiegen, mit warmen Wasser (Temperatur über dem Schmelzpunkt vom Fett) extrahieren (Steigrohr verwenden), Steigrohr mit Wasser nachspülen, auf 20 bis 25°C abkühlen lassen, Messkolben bis zur Marke auffüllen und ca. 15 min in Eisbad oder Kühlschranks stellen und filtrieren.

Ggf. zur Bestimmung verdünnen oder mit einem Probevolumen bis 0,500 ml zum Test einsetzen.

12. Weitere Anwendungsmöglichkeiten

Die Methode ist auch in der Forschung bei der Analytik von biologischen Proben anwendbar.

Zu Probenahme, Behandlung und Stabilität der Probe s. Bernt, E. & Bergmeyer, H.U. (1974) in Methoden der enzymatischen Analyse (Bergmeyer, H.U., Hrsg.) 3. Aufl., Bd. 2, S. 1552, Verlag Chemie, Weinheim, sowie Lit. 1.

Literatur

- 1.1 Lundquist, F. (1974) in Methoden der enzymatischen Analyse (Bergmeyer, H. U., (Hrsg.) 3. Aufl., Bd. 2, S. 1555-1559, Verlag Chemie, Weinheim und (1974) in Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer, H. U., ed.) 2nd ed., Vol. 3, p. 1509-1513, Verlag Chemie, Weinheim/Academic Press, Inc., New York and London.
- 1.2 Beutler, H.-O. (1984) in Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer, H. U., ed.) 3rd ed., vol. VI, pp. 606-613, Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach/Florida, Basel.
- 2.1 Gombocz, E., Hellwig, E., Vojir, F. & Petuely, F. (1981) Deutsche Lebensmittel-Rundschau **77**, 8.
- 2.2 Schweizerisches Lebensmittelbuch (1985); Kapitel 61 B/5.1.
- 2.3 Brautechnische Analysenmethoden, Band III, Seiten 547-550 (1982), Methodensammlung der Mitteleuropäischen Analysenkommission (MEBAK), Herausgegeben von F. Drawert im Selbstverlag der MEBAK, Freising.
- 3.1 Joyeux, A. & Lafon-Lafourcade, S. (1979) Dosage de l'acétaldéhyde dans les vins par méthode enzymatique, comparaison avec les méthodes chimiques, Ann. Fals. Exp. Chim. **72**, 321-324.
- 3.2 McCloskey, L. P. & Mahaney, P. (1981) An enzymatic assay for acetaldehyde in grape juice and wine, Am. J. Enol. Vitic. **32**, 159-162.
- 3.3 Delcour, J. A., Caers, J. M., Dondeyne, P., Delvaux, F. & Robberechts, E. (1982) An enzymatic assay for the determination of acetaldehyde in beers, J. Inst. Brew. **88**, 384-386.

Acetaldehyd-Testkontroll-Lösung

Zur Kontrolle der Testdurchführung ist neben Acetaldehyd (s. Pkt. 2.4) auch Acetaldehyd-Ammoniak (= 1-Amino-ethanol), z.B. von Fluka/Buchs (Schweiz), Kat. Nr. 00090, geeignet.

Hinweis

Acetaldehyd-Ammoniak ist reizend und entzündlich. Bei der Handhabung sind die entsprechenden Sicherheitsmassnahmen zu beachten. Bei Hautkontakt ist mit Wasser gründlich zu waschen, bei Augenkontakt ist mit Wasser ca. 15 min sorgfältig zu spülen, evtl. ist ein Augenarzt aufzusuchen.

Testkontroll-Lösung

Ca. 80 mg Testkontrollmaterial/l bidest. Wasser; entspricht ca. 50 mg Acetaldehyd/l. Testkontroll-Lösung vor Gebrauch frisch herstellen.

Anwendung:

1. Zusatz der Acetaldehyd-Testkontroll-Lösung zum Testansatz:

Die Testkontroll-Lösung wird anstelle der Probelösung zur Bestimmung eingesetzt. (Die Messung der Testkontroll-Lösung ist nicht erforderlich zur Berechnung von Ergebnissen.)

2. "Quantitativer Nachstart":

Nach Ablauf der Reaktion mit Probelösung und Messung von E_2 werden 0,100 ml der Testkontroll-Lösung zum Probeansatz gegeben. Nach Ablauf der Reaktion (ca. 5 min) wird die Extinktion E_3 gemessen. Aus der Differenz ($E_3 - E_2$) wird nach der allgemeinen Berechnungsformel die Konzentration berechnet. Hierbei ist das geänderte Gesamtvolumen zu berücksichtigen. Wegen der Verdünnung des Testansatzes durch die Zugabe der Testkontroll-Lösung weicht das Ergebnis geringfügig vom erwarteten Wert ab.

3. Interner Standard:

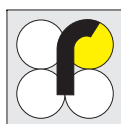
Zur Prüfung auf richtige und störungsfreie Durchführung der Bestimmung (keine groben Fehler bei Testansatz; Probe ist frei von Hemmsubstanzen) kann die Testkontroll-Lösung als interner Standard verwendet werden:

In Küvetten pipettieren	Leerwert	Probe	Standard	Probe + Standard
Reaktionsgemisch 2	3,000 ml	3,000 ml	3,000 ml	3,000 ml
bidest. Wasser	0,200 ml	-	-	-
Probelösung	-	0,200 ml	-	0,100 ml
Testkontroll-Lsg.	-	-	0,200 ml	0,100 ml

mischen, nach ca. 3 min Extinktionen der Lösungen messen (E_1). Weiter verfahren wie im Arbeitsschema bei "Bestimmungsansatz" angegeben. Die entsprechenden Fussnoten und "Hinweise zur Testdurchführung" sind zu beachten.

Die Wiederfindung des Standards berechnet sich nach:

$$\text{Wiederfindung} = \frac{2 \times \Delta E_{\text{Probe + Standard}} - \Delta E_{\text{Probe}}}{\Delta E_{\text{Standard}}} \times 100 [\%]$$



R-BIOPHARM AG
An der neuen Bergstraße 17
D-64297 Darmstadt
Telefon + 49 61 51 / 81 02-0
Fax + 49 61 51 / 81 02-20
www.r-biopharm.com

