

Ammoniak

UV-Test

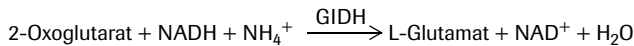
zur Bestimmung von Ammoniak in Lebensmitteln und anderen Probematerialien, sowie zur Bestimmung von Stickstoff nach Kjeldahl-Aufschluss (s. Pkt. 12.2)

Best. Nr. 11 112 732 035

Test-Combination für 50 Bestimmungen

Prinzip (Lit. 1)

Ammoniak setzt 2-Oxoglutarat in Gegenwart von Glutamat-Dehydrogenase (GIDH) und reduziertem Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NADH) zu L-Glutamat um, wobei NADH verbraucht wird.



Die während der Reaktion verbrauchte NADH-Menge ist der Ammoniak-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. 60 ml Lösung, zusammengesetzt aus: Triethanolaminpuffer, pH ca. 8,0; 2-Oxoglutarat, 150 mg
2. Flasche 2 mit ca. 50 Tabletten; jede Tablette enthält: NADH, ca. 0,4 mg
3. Flasche 3 mit ca. 1,2 ml Glutamat-Dehydrogenase-Lösung, ca. 1000 U
4. Flasche 4 mit Ammoniak-Testkontroll-Lösung zur Testkontrolle (Die Messung der Testkontroll-Lösung ist nicht erforderlich zur Berechnung von Ergebnissen.). Testkontroll-Lösung unverdünnt verwenden. (Verwendbar bis: siehe Packungsetikett).

Herstellung der Lösungen

1. Inhalt der Flasche 1 unverdünnt verwenden.
2. In einem Becherglas oder Reagenzglas je nach Anzahl der Bestimmungen für jeden Test (Leerwert und Proben) **eine** Tablette aus Flasche 2 mit **einem** ml Lösung aus Flasche 1 lösen (zur Entnahme der Tabletten aus Flasche 2 Pinzette benutzen), ergibt Reaktionsgemisch 2.
3. Inhalt der Flasche 3 unverdünnt verwenden.

Stabilität der Reagenzien

Lösung 1 ist stabil bei 2-8°C (s. Packungsetikett).

Lösung 1 vor Gebrauch auf 20-25°C bringen.

Tabletten 2 sind stabil bei 2-8°C (s. Packungsetikett).

Reaktionsgemisch 2 ist bei 2-8°C 3 Tage haltbar.

Reaktionsgemisch 2 vor Gebrauch auf 20-25°C bringen.

Inhalt der Flasche 3 ist stabil bei 2-8°C (s. Packungsetikett).

Bestimmungsansatz

Wellenlänge¹: 340 nm, Hg 365 nm oder Hg 334 nm

Glasküvette²: 1,00 cm Schichtdicke

Temperatur: 20-25°C

Testvolumen: 3,020 ml

Messung gegen Luft (im Strahlengang keine Küvette) oder gegen Wasser

Probeflösung: 0,2-8 µg Ammoniak/Ansatz³ (in 0,100-2,000 ml Probeflösung)

In Küvetten pipettieren	Leerwert	Probe
Reaktionsgemisch 2	1,000 ml	1,000 ml
Probeflösung*	-	0,100 ml
bidest. Wasser	2,000 ml	1,900 ml
mischen**, nach ca. 5 min bei 20-25°C Extinktionen der Lösungen messen (E ₁). Reaktion starten durch Zugabe von		
Lösung 3	0,020 ml	0,020 ml
mischen**, Stillstand der Reaktion abwarten (ca. 20 min) und Extinktionen der Lösungen messen (E ₂). Falls die Reaktion nach 20 min nicht zum Stillstand gekommen ist, Extinktionen weiter in 2 min-Abständen messen, bis eine konstante Extinktionsabnahme pro 2 min erreicht ist.		

* Vor der Dosierung der Probeflösung Enzymtest-Messpipette bzw. Pipettenspitze der Kolbenhubpipette mit der Probeflösung 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)

Bei konstanter Extinktionsabnahme von E₂ wird die Extinktion auf die Zeit der Zugabe von Lösung 3 (GIDH) extrapoliert.

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

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

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

Ist die Extinktionsdifferenz der Proben (ΔE_{Probe}) grösser als 1,000 (gemessen bei 340, bzw. Hg 334 nm), bzw. 0,500 (gemessen bei Hg 365 nm), so ist die Konzentration von Ammoniak in der Probeflösung zu hoch. Die Probeflösung ist dann gemäss Verdünnungstabelle zu verdünnen.

Berechnung

Nach der allgemeinen Berechnungsformel für die Bestimmung der Konzentration gilt:

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

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 Ammoniak:

$$c = \frac{3,020 \times 17,03}{\epsilon \times 1,00 \times 0,100 \times 1000} \times \Delta E = \frac{0,5143}{\epsilon} \times \Delta E \text{ [g Ammoniak/l Probeflösung]}$$

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:

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

1. Hinweise zur Testdurchführung

Im Testansatz muss die Menge an Ammoniak zwischen 0,2 µg und 8 µg betragen. Zur Erzielung einer ausreichend hohen Extinktionsdifferenz ist die Probeflösung soweit zu verdünnen, dass die Konzentration an Ammoniak zwischen 0,01 und 0,08 g/l liegt.

Verdünnungstabelle

Geschätzte Menge an Ammoniak im Liter	Verdünnung mit Wasser	Verdünnungsfaktor F
< 0,08 g	-	1
0,08-0,8 g	1 + 9	10
0,8-8,0 g	1 + 99	100

1. Das Absorptionsmaximum von NADH liegt bei 340 nm. Bei Verwendung von Spektralphotometern wird im Absorptionsmaximum, bei Verwendung von Spektral-Linienphotometern mit Hg-Dampflampe bei einer Messstrahlung von 365 nm **oder** 334 nm gemessen.
2. Anstelle von Glasküvetten sind auch handelsübliche Einwegküvetten geeignet.
3. S. Hinweise zur Testdurchführung

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 zu 2,000 ml zu erhöhen. In diesem Fall ist das Volumen der hinzuzufügenden Wassermenge entsprechend zu verringern, so dass in den Ansätzen für Probe und Leerwert das gleiche Testvolumen vorliegt. Das geänderte Probevolumen v ist in der Berechnungsformel entsprechend zu berücksichtigen.

2. Technische Hinweise

2.1 Zum Test nur frisch destilliertes Wasser verwenden.

2.2 In ammoniakfreier Atmosphäre arbeiten (Rauchverbot im Labor beachten).

3. Spezifität der Bestimmung (Lit. 1)

Die Bestimmung ist spezifisch für Ammoniak.

Bei der Analyse der Reinsubstanz Ammoniumsulfat sind Ergebnisse von ca. 100% zu erwarten.

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 $v = 2,000$ ml und Messung bei 340 nm einer Ammoniak-Konzentration von 0,02 mg/l Probelösung (bei $v = 0,100$ ml entsprechend 0,4 mg/l Probelösung).

Die Nachweisgrenze von 0,08 mg/l ergibt sich aus der Extinktionsdifferenz von 0,020 (gemessen bei 340 nm) und dem maximalen Probevolumen $v = 2,000$ ml.

5. Linearität

Linearität der Bestimmung ist gegeben von ca. 0,2 μg Ammoniak/Ansatz (0,08 mg Ammoniak/l Probelösung; Probevolumen $v = 2,000$ ml) und 8 μg Ammoniak/Ansatz (0,08 g Ammoniak/l Probelösung; Probevolumen $v = 0,100$ 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 $v = 0,100$ ml und Messung bei 340 nm einer Ammoniak-Konzentration von ca. 0,4-0,8 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. 0,004-0,01 g/100 g.)

In der Literatur sind folgende Daten veröffentlicht:

VK = 1,6 % (Plasma) (Lit. 1.1)

VK = 0,88-1,16 % (Ammoniumchlorid-Lösungen) (Lit. 1.2)

VK = 0,34 % (Ammoniumchlorid-Lösung)

VK = 0,36-0,96 % (Fleischproben) (Lit. 3.2)

7. Störungen

Bei der in Lebensmitteln durchzuführenden Eiweissfällung mit Perchlorsäure entstehen gelegentlich Proteinbruchstücke, welche in Lösung bleiben und im alkalischen Puffermilieu allmählich Ammoniak bilden können, was zu Schleichreaktionen führt. Diese Ammoniak-Bildung ist sehr gering und lässt sich vom Ammoniak-Gehalt der Probe durch Extrapolation der Extinktion E_2 auf die Zeit der Zugabe von Lösung 3 (GIDH) abgrenzen und berechnen.

Die üblichen Lebensmittelinhaltsstoffe stören die Bestimmung von Ammoniak nicht. Lediglich hohe Konzentrationen von Gerbstoffen in Fruchtsäften können zu einer Verzögerung der GIDH-Reaktion führen. Daher sollten Fruchtsäfte stets mit PVPP behandelt werden.

Auch relativ hohe Konzentrationen von Schwermetallen erschweren durch Trübungsbildung eine zuverlässige Messung von Ammoniak. In den meisten Fällen können hohe Metallionen-Konzentrationen als Hydroxide durch Alkalisieren der Probelösung entfernt werden ($\text{pH} > 7,5$).

Zu Schwimmbadwasser-Proben zugesetztes Natriumthiosulfat stört den Test bis zu einer Menge von 1 mg/Testansatz nicht.

8. Erkennen von Störungen

8.1 Ist die Umsetzung von Ammoniak 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 Ammoniak (Ammoniumchlorid, Ammoniumsulfat; 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 Probe 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 Ammoniak 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 oder mit einem Probevolumen bis 2,000 ml zum Test einsetzen;

trübe Lösungen filtrieren;

Kohlensäure-haltige Proben (z.B. durch Filtration) entgasen;

saure Proben mit Kalilauge oder Natronlauge auf ca. pH 7-8 einstellen;

saure und schwach gefärbte Proben mit Kalilauge oder Natronlauge auf pH 7-8 einstellen und ca. 15 min stehen lassen;

stark gefärbte Proben, die unverdünnt oder mit einem höheren Probevolumen zum Test eingesetzt werden, mit Polyvinylpyrrolidon, PVPP (2,5-5 g/100 ml) behandeln;

feste und halbfeste Proben zerkleinern oder homogenisieren, mit Wasser extrahieren bzw. lösen, wenn nötig filtrieren;

Protein-haltige Proben mit Perchlorsäure oder Trichloressigsäure enteiweissen;

Fett-haltige Proben mit heissem Wasser extrahieren (Extraktionstemperatur über dem Schmelzpunkt des jeweiligen Fettes), zur Abscheidung des Fettes abkühlen lassen, Messkolben bis zur Marke auffüllen, 15 min in Eisbad stellen und filtrieren;

Emulsionen mit Trichloressigsäure brechen.

Wichtiger Hinweis

Die Carrez-Klärung kann bei der Vorbereitung der Proben zur Ammoniak-Bestimmung wegen zu geringer Wiederfindungsrate nicht angewendet werden (Adsorption von Ammoniak).

11. Anwendungsbeispiele

Bestimmung von Ammoniak in Fruchtsäften

10 ml Fruchtsaft (klare, trübe oder gefärbte Säfte) - bei Erhöhung des Probenvolumens v ggf. neutralisieren und dann mit Wasser auf 20 ml auffüllen - mit 0,5-1,0 g (I) angefeuchtetem Polyvinylpyrrolidon (PVPP) in einem Becherglas versetzen und etwa 1 min rühren (Magnetrührer). Probeflösung filtrieren und zum Test einsetzen.

Bestimmung von Ammoniak in Wasser (Schwimmbad-Wasser/Niederschlagswasser) (Lit. 3.1, 3.4)

Wasserprobe ggf. filtrieren und klare Probe zum Test einsetzen. Je nach entsprechender Konzentration Probeflösung entweder verdünnen (s. Verdünnungstabelle) oder bis Probefvolumen v = 2,000 ml zum Test einsetzen.

Bestimmung von Ammoniak in Milch

1 ml Milch mit 4 ml Trichloressigsäure (0,3 M) mischen. Niederschlag nach etwa 5 min abzentrifugieren. Überstand dekantieren und mit KOH (10 M) neutralisieren, (Verdünnungsfaktor kann wegen der starken Konzentration der KOH vernachlässigt werden), filtrieren und 1,000 bis 2,000 ml Probeflösung zum Test einsetzen.

Bestimmung von Ammoniak in Backwaren

Ca. 10 g zerkleinerte Probe in einen Homogenisierungsbecher genau einwiegen, etwa 20 ml Perchlorsäure (1 M) hinzufügen und ca. 2 min homogenisieren. Weiter verfahren, wie unter "Fleisch und Fleisch-Erzeugnissen" angegeben. Zum Test höchstens 1,000 ml Probeflösung einsetzen.

Bestimmung von Ammoniak in Fleisch, Fleisch-Erzeugnissen (Lit. 3.2, 3.3) und Käse

Etwa 5 g homogenisierte Probe (aus einer Probemenge von ca. 100 g im Mischer zerkleinert und gleichmässig gemischt) in einen Homogenisierungsbecher einwiegen, ca. 20 ml Perchlorsäure (1 M) hinzufügen und ca. 2 min homogenisieren. Inhalt mit ca. 40 ml Wasser quantitativ in ein Becherglas spülen. Unter Rühren (Magnetrührer) zuerst mit Kalilauge (5 M) grob, dann mit Kalilauge (1 M) auf den pH-Wert 7,0 (<7,5) fein einstellen. Anschliessend den Inhalt mit Wasser quantitativ in einen 100 ml-Messkolben spülen und bis zur Marke auffüllen, wobei darauf zu achten ist, dass die Fettschicht oberhalb, die wässrige Schicht an der Marke steht.

Zur Abscheidung des Fettes und zur Ausfällung des Kaliumperchlorat-Niederschlags 20 min in den Kühlschrank stellen. Anschliessend filtrieren. Die ersten ml verwerfen. Klare, ggf. leicht trübe Lösung, ggf. nach Verdünnen gemäss Verdünnungstabelle, zum Test einsetzen.

Gehalt von Ammoniak nach der allgemeinen Berechnungsformel berechnen, wobei noch mit dem Volumen-Verdrängungsfaktor K = 0,98 zu multiplizieren ist.

Bestimmung von Ammoniak in Lakritzwaren, Salmiakpastillen

Ca. 1 g zerkleinertes und homogenisiertes Probematerial in einen 100 ml-Messkolben genau einwiegen, ca. 60 ml heisses Wasser (60-70°C) zugeben und 10 min mit Magnetrührer rühren bis alles vollständig gelöst ist. Messkolben auf 20-25°C abkühlen und mit bidest. Wasser bis zur Marke auffüllen, mischen und filtrieren.

Die ersten ml Filtrat verwerfen. Das (nahezu) klare Filtrat, ggf. gemäss Verdünnungstabelle verdünnt, zum Test einsetzen.

12. Weitere Anwendungsmöglichkeiten

Die Methode ist auch anwendbar bei der Untersuchung von Düngemitteln, Pharmaka, Kosmetika, Papier (s. Lit. 2.1) und in der Forschung bei der Analytik biologischer Proben. Zu Probenahme, Behandlung und Stabilität der Probe siehe Lit. 1.1-1.2.

Beispiele:

12.1 Bestimmung von Ammoniak in Düngemitteln

Etwa 10 g Probe zerkleinern und gründlich mischen. Ca. 100 mg des homogenen Materials in ein 100 ml - Becherglas genau einwiegen und mit 50 bis 60 ml Wasser versetzen. Mit verdünnter Salzsäure (1 M) oder - bei sauren Düngemitteln - mit verdünnter Natronlauge (1 M) pH-Wert von 7-8 einstellen. Auf einem beheizbaren Magnetrührer etwa 10 min auf 60-70°C erwärmen. Abkühlen, quantitativ in einen 100 ml - Messkolben überführen und mit Wasser bis zur Marke auffüllen. Lösung mischen und ggf. filtrieren.

Zum Test 0,100 ml der klaren Lösung - ggf. vorher verdünnen - einsetzen.

12.2 Bestimmung von Stickstoff nach Kjeldahl-Aufschluss

Die Bestimmung von Gesamt-Stickstoff kann über die Ammoniak-Bestimmung in einer nach der Kjeldahl-Methode mineralisierten Probe erfolgen. Hierzu sind in üblicher Weise die Proben nass zu versetzen (Schwefelsäure) und der hierbei aus Stickstoff gebildete Ammoniumanteil nach vorliegender Vorschrift zu bestimmen.

Ca. 2 g der zerkleinerten und homogenisierten Probe in einen 100 ml-Kjeldahl-Kolben genau einwiegen, 20 ml Schwefelsäure (D = 1,84g/ml) und etwa 30 mg Katalysator-Gemisch (z. B. nach Wieninger) oder eine Kjeldahl-Tablette hinzufügen, ca. 2-3 Stunden erhitzen, bis die Probe aufgeschlossen ist (gelbliche oder blau-grüne Lösung). Probe abkühlen lassen und vorsichtig (Schutzbrille) quantitativ in ein mit ca. 600 ml eisgekühltem Wasser gefülltes Becherglas überführen. Hierbei ständig rühren (Magnetrührer, Eisbad). Mit etwa 60 ml Kalilauge (10 M) neutralisieren (pH 6-8).

Die neutralisierte Lösung quantitativ in einen 1 l - Messkolben überführen, mit Wasser bis zur Marke auffüllen und mischen. Die Mischung ggf. filtrieren (manchmal erforderlich nach Aufschluss mit Kjeldahl-Tabletten); die ersten ml verwerfen. Lösung ggf. verdünnen und zum Test einsetzen.

Berechnung:

Stickstoffgehalt der Probe (in %)

$$\begin{aligned} &= \frac{\Delta E \times V \times MG \times 100}{\varepsilon \times d \times v \times 1000 \times \text{Einwaage [g]}} \\ &= \frac{\Delta E \times 3,020 \times 14,01 \times 100}{\varepsilon \times 1,00 \times 0,100 \times 1000 \times \text{Einwaage [g]}} \end{aligned}$$

12.3 Bestimmung von Ammoniak in Fermentationsproben und Zellkulturmedien

Analysenprobe, ggf. nach Zentrifugation, zum Abstoppen enzymatischer Vorgänge 15 min in Wasserbad (80°C) stellen und anschliessend zentrifugieren. Überstand, ggf. gemäss Verdünnungstabelle verdünnt, zur Bestimmung einsetzen. (Alternativ kann auch eine Enteiweissung mit Perchlorsäure erfolgen. Siehe die oben beschriebenen Anwendungsbeispiele.)

Gallertartige Agar-Medien mit Wasser homogenisieren und wie oben beschrieben weiter behandeln.

Literatur

- 1 da Fonseca-Wollheim, F., Bergmeyer, H. U. & Gutmann, I. (1974) in Methoden der enzymatischen Analyse (Bergmeyer, H. U. Hrsg.) 3. Aufl., Bd. 2, S. 1850-1853, Verlag Chemie, Weinheim und (1974) in Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer, H. U. ed.) 2nd ed., vol. 4, pp. 1802-1806, Verlag Chemie, Weinheim/Academic Press, Inc., New York and London
- 2 Bergmeyer, H. U. & Beutler, H.-O. (1985) in Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer, H. U., ed.) 3rd ed., vol. VIII, pp. 454-461, Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach/Florida, Basel
- 2.1 Untersuchung von Papieren, Kartons und Pappen für die Lebensmittelverpackungen (gem. Empfehlungen XXXVI der Kunststoffkommission des Bundesgesundheitsamtes) Kapitel 8 (Methoden) Pkt. 3.4.2 (Ammoniak)
- 2.2 Brautechnische Analysenmethoden, Band III, S. 597-599 (1982), Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission (MEBAK), herausgegeben von F. Drawert im Selbstverlag der MEBAK, Freising
- 3.1 Höpner, Th. (1977) Enzymatische Methoden in der Wasseranalytik - Möglichkeiten und Grenzen, Vom Wasser **49**, 173-182
- 3.2 Gerhardt, U. & Quang, T. D. (1979) Methoden zur Ammoniakbestimmung in Fleisch und Fleischerzeugnissen, Fleischwirtschaft **59**, 946-948
- 3.3 Barchietto, G., Cantoni, C., Frigerio, R. & Provera, D. (1984) Esame comparativo dei prodotti di autolisi nella carne di maiale (Azoto non proteico, Urea, Ammoniac), Conservazione degli Alimenti **3**, 12-17
- 3.4 Bartels, U. (1991) Die enzymatische Bestimmung von Ammonium im Niederschlagswasser, CLB Chemie in Labor und Biotechnik **42**, 377-382
- 3.5 Cheuk, W. L. & Finne, G. (1984) Enzymatic determination of urea and ammonia in refrigerated seafood products, J.Agric.Food Chem. **32**, 14-18

Ammoniak-Testkontroll-Lösung (Flasche 4)

Konzentration: siehe Flaschenetikett

Ammoniak-Testkontroll-Lösung ist eine stabilisierte wässrige Lösung von Ammoniak. Sie dient als Testkontroll-Lösung für die enzymatische Bestimmung von Ammoniak in Lebensmitteln und anderen Probematerialien.

Anwendung:

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

Die Testkontroll-Lösung wird anstelle der Probelösung zur Bestimmung eingesetzt.

2. "Quantitativer Nachstart":

Nach Ablauf der Reaktion mit Probelösung und Messung von E_2 werden 0,050 ml der Testkontroll-Lösung zum Probeansatz gegeben. Nach Ablauf der Reaktion (ca. 20 min) wird die Extinktion E_3 gemessen. Aus der Differenz ($E_2 - E_3$) 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 von der Angabe des Flaschenetiketts ab.

3. Interner Standard:

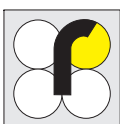
Zur Prüfung auf richtige und störungsfreie Durchführung der Bestimmung (keine groben Fehler bei Testansatz; Probe ist frei von Hemmsubstanzen) kann die Testkontroll-Lösung als interner Standard verwendet werden:

In Küvetten pipettieren	Leerwert	Probe	Standard	Probe + Standard
Reaktionsgemisch 2	1,000 ml	1,000 ml	1,000 ml	1,000 ml
Probelösung	-	0,100 ml	-	0,050 ml
Testkontroll-Lsg.	-	-	0,100 ml	0,050 ml
bidest. Wasser	2,000 ml	1,900 ml	1,900 ml	1,900 ml

mischen, nach ca. 5 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

