

Ameisensäure (Formiat)

UV-Test

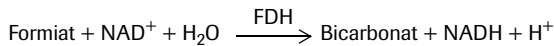
zur Bestimmung von Ameisensäure in Lebensmitteln und anderen Probenmaterialien

Best. Nr. 10 979 732 035

Test-Combination für 21 Bestimmungen

Prinzip (Lit. 1)

Ameisensäure (Formiat) wird in Gegenwart von Formiat-Dehydrogenase (FDH) durch Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NAD) quantitativ zu Bicarbonat oxidiert.



Die bei dieser Reaktion gebildete NADH-Menge ist der Ameisensäure-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. 22 ml Lösung, zusammengesetzt aus:
Kaliumphosphat-Puffer, pH ca. 7,5
2. Flasche 2 mit ca. 420 mg NAD, Li-Salz, Lyophilisat
3. Flasche 3 mit Lyophilisat Formiat-Dehydrogenase, ca. 80 U

Herstellung der Lösungen

1. Inhalt der Flasche 2 mit dem Inhalt der Flasche 1, ggf. unter Verwendung eines Magnetrührers, lösen (= Reaktionsgemisch 2).
2. Inhalt der Flasche 3 mit 1,2 ml bidest. Wasser lösen (= Lösung 3).

Stabilität der Reagenzien

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 2 Wochen haltbar.

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

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

Lösung 3 ist bei 2-8°C 5 Tage, bei -15 bis -25°C 3 Wochen haltbar.

Bestimmungsansatz

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

Glasküvette²: 1,00 cm Schichtdicke

Temperatur: 20-25°C

Testvolumen: 3,050 ml

Messung gegen Luft (im Strahlengang keine Küvette) oder gegen Wasser oder gegen Leerwert³

Probelösung: 0,4-20 µg Ameisensäure/Testansatz⁴ (in 0,100-2,000 ml Probevolumen)

| In Küvetten pipettieren | Leerwert | Probe |
|---|----------|----------|
| Reaktionsgemisch 2 | 1,000 ml | 1,000 ml |
| Probelösung* | - | 0,100 ml |
| bidest. Wasser | 2,000 ml | 1,900 ml |
| mischen**, nach ca. 5 min Extinktionen der Lösungen messen (E ₁). Reaktion starten durch Zugabe von | | |
| Lösung 3 | 0,050 ml | 0,050 ml |
| mischen**, 20 min bei 20-25°C verschlossen*** stehen lassen. Extinktionen von Leerwert und Probe unmittelbar nacheinander messen (E ₂). | | |

* 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

*** Z.B. mit Parafilm (Warenzeichen der American Can Company, Greenwich, Ct., USA) verschließen

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).

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 Z.B. bei Verwendung eines Zweistrahlphotometers

4 Siehe Hinweise zur Testdurchführung

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)

Berechnung

Nach der allgemeinen Berechnungsformel für die Bestimmung der Konzentration gilt:

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

V = Testvolumen [ml]

v = Probevolumen [ml]

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

d = Schichtdicke [cm]

ε = Extinktionskoeffizient von NADH bei:

$$340 \text{ nm} = 6,3 \text{ [l} \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}\text{]}$$

$$\text{Hg } 365 \text{ nm} = 3,4 \text{ [l} \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}\text{]}$$

$$\text{Hg } 334 \text{ nm} = 6,18 \text{ [l} \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}\text{]}$$

Hieraus ergibt sich für Ameisensäure:

$$c = \frac{3,050 \times 46,03}{\varepsilon \times 1,00 \times 0,100 \times 1000} \times \Delta E = \frac{1,404}{\varepsilon} \times \Delta E \text{ [g Ameisensäure/l Probelösung]}$$

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 Analyseergebnis auf die Einwaage bezogen:

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

1. Hinweise zur Testdurchführung

Im Testansatz muss die Ameisensäure-Menge zwischen 1 µg und 20 µg (Messung bei 365 nm) bzw. 0,4 µg und 10 µg (Messung bei 340, 334 nm) betragen. Zur Erzielung einer ausreichend hohen Extinktionsdifferenz ist die Probelösung soweit zu verdünnen, dass die Ameisensäure-Konzentration zwischen 0,04 und 0,2 g/l bzw. 0,02 und 0,1 g/l liegt.

Verdünnungstabelle

| Geschätzte Menge Ameisensäure im Liter | | Verdünnung mit Wasser | Verdünnungsfaktor F |
|--|-----------|-----------------------|---------------------|
| Messung bei | | | |
| 340 oder 334 nm | 365 nm | | |
| < 0,1 g | < 0,2 g | - | 1 |
| 0,1-1,0 g | 0,2-2,0 g | 1 + 9 | 10 |
| 1,0-10 g | 2,0-20 g | 1 + 99 | 100 |
| > 10 g | > 20 g | 1 + 999 | 1000 |

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 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 einzusetzen.

2. Technische Hinweise

2.1 Entkalkungsmittel können Ameisensäure enthalten. Deshalb sind Glasgefäße, die zu Herstellung und Aufbewahrung für Reagenzien zur Bestimmung von Ameisensäure dienen, nach dem Entkalken sehr sorgfältig mit Leitungswasser und anschließend mit bidest. Wasser zu spülen. (Ameisensäure in den Reagenz-Lösungen verursacht eine hohe Leerwert-Extinktionsdifferenz.)

2.2 Bei der Herstellung von Ameisensäure-Testkontroll-Lösungen ist die Flüchtigkeit von Ameisensäure zu berücksichtigen. So wird man Ameisensäure immer unter die Oberfläche (schwach alkalischer) Verdünnungsmittel dosieren.

2.3 Die Reagenzien, insbesondere NAD, müssen frei von Ameisensäure sein.

2.4 Bei der Berechnung ist eindeutig anzugeben, ob die Ergebnisse als Ameisensäure (Molmasse 46,03 g/Mol) oder als Formiat (Molmasse 45,02 g/Mol) angegeben werden. (Bei der enzymatischen Bestimmung wird das Formiat-Ion gemessen.)

3. Spezifität der Bestimmung (Lit. 1)

Die Bestimmung ist spezifisch für Ameisensäure. Essigsäure, Propionsäure, Oxalsäure und L-Ascorbinsäure beeinflussen die Bestimmung nicht. Formaldehyd vermindert zwar die Reaktionsgeschwindigkeit, beeinflusst aber nicht die Spezifität der Methode.

Bei der Analyse der Reinsubstanz Ameisensäure sind Ergebnisse von weniger als 100% zu erwarten, da sich die reine Säure allmählich in CO und Wasser zersetzt. (Bei der Herstellung der Ameisensäurelösung ist auf die Flüchtigkeit der Ameisensäure Rücksicht zu nehmen.)

4. Empfindlichkeit und Nachweisgrenze

Die geringste Extinktionsdifferenz, die das Verfahren unterscheiden kann, beträgt 0,004 Extinktionseinheiten. Das entspricht bei einem maximal einzusetzenden Probevolumen $v = 2,000$ ml und bei der Messung bei 340 nm einer Ameisensäure-Konzentration von 0,05 mg/l Probelösung (bei $v = 0,100$ ml entsprechend 1 mg/l Probelösung).

Die Nachweisgrenze von 0,2 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 0,4 μg Ameisensäure/Ansatz (0,2 mg Ameisensäure/l Probelösung; Probevolumen $v = 2,000$ ml) bis 20 μg Ameisensäure/Ansatz (0,2 g Ameisensäure/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 Ameisensäure-Konzentration von ca. 1-2 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. 0,01-0,02 g/100 g.)

In der Literatur sind folgende Daten veröffentlicht:

VK = 1.0-2.2 %

Tomatenmark, Tomatenketchup:

$$r = 0.01 \text{ g}/100 \text{ g}$$

$$s_{(r)} = \pm 0.004 \text{ g}/100 \text{ g}$$

$$R = 0.02 \text{ g}/100 \text{ g}$$

$$S_{(r)} = \pm 0.007 \text{ g}/100 \text{ g}$$

VK = 0.65-1.64 % (Ameisensäure-Lösungen)

VK = 0.95-2.40 % (Apfelsäfte)

VK = 0.48-2.25 % (schwarze Johannisbeernektare)

VK = 0.67-2.15 % (Sauerkirschnektare)

(Lit. 1.1)

(Lit. 2.3)

(Lit. 3.3)

7. Störungen

- 7.1 Reduzierende Substanzen in der Probe können gelegentlich die Reaktionsgeschwindigkeit verringern. So kommt es bei Anwesenheit von 10 μg Schwefeldioxid im Test zu einem Reaktionsstillstand erst nach ca. 40 min. Der Einfluss von SO_2 lässt sich jedoch durch Zusatz von 10 μl Wasserstoffperoxid (30%, w/v) zum Testansatz vollständig beseitigen. L-Ascorbinsäure stört den Test - auch in hoher Menge - nicht.
- 7.2 In Gegenwart von Formaldehyd kann die Ameisensäure-Reaktion stark verzögert werden. Geringe Mengen (5 μg /Ansatz) verzögern die Ameisensäure-Reaktion merklich, 10 μg Formaldehyd führen zu einer leichten, 100 μg zu einer starken Hemmung des Enzyms FDH.
- 7.3 Störungen des Tests durch Amine (z. B. Fischinhaltsstoffe) sind nicht beobachtet worden.

8. Erkennen von Störungen

- 8.1 Ist die Umsetzung von Ameisensäure 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 Natriumformiat (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- 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 Ameisensäure 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 Probe 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;

"stärker gefärbte" Proben (ggf. auf ca. pH 7-8 eingestellt) gegen Probeleerwert (= Puffer bzw. bidest. Wasser + Probe) messen (Photometer mit Probeleerwert im Strahlengang auf 0,000 stellen);

stark gefärbte Proben, die unverdünnt oder mit einem höheren Probevolumen zum Test eingesetzt werden, mit Aktivkohle (z.B. 2 g/100 ml) behandeln;

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 Perchlorsäure oder Trichloressigsäure enteiuweissen, alternativ mit Carrez-Reagenzien klären.

Carrez-Klärung:

Geeignete Probemenge in einen 100 ml-Messkolben genau einwiegen, ca. 60 ml bidest. Wasser hinzufügen. Flüssige Probe in 100 ml-Messkolben, der ca. 60 ml bidest. Wasser enthält, pipettieren. Anschliessend 5 ml Carrez-I-Lösung (Kalium-hexacyanoferrat(II) (Ferrocyanid) 85 mM = 3,60 g $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \times 3 \text{H}_2\text{O}/100 \text{ ml}$) und 5 ml Carrez-II-Lösung (Zinksulfat, 250 mM = 7,20 g $\text{ZnSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}/100 \text{ ml}$) sorgfältig dosieren. Mit Natronlauge (0,1 M; 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 Ameisensäure in Fruchtsäften

Fruchtsäfte mit hohem Ameisensäure-Gehalt mit Wasser im Verhältnis 1 + 1 verdünnen; 0,100 ml zum Test einsetzen. Bei gefärbten Fruchtsäften (Buntsäfte) 5 ml Saft mit 100 mg Aktivkohle versetzen, ca. 1 min rühren, filtrieren.

Stark saure Säfte ggf. (bei Einsatz von hohem Probevolumen) mit Kalilauge (1 M) auf pH 7-8 einstellen.

Bestimmung von Ameisensäure in Sauerkonserven

Den flüssigen Anteil der Probe von Feststoffen trennen, z. B. durch Filtrieren, oder - ggf. zur Fettabscheidung - Probe 30 min in den Kühlschrank oder 20 min in Eisbad stellen. Filtrieren und gemäss der vorstehenden Verdünnungstabelle verdünnen.

Bestimmung von Ameisensäure in Wein

Probe in gleicher Weise, wie unter Fruchtsäften angegeben, behandeln. Bei Rotwein 5 ml Probe mit 100 mg Aktivkohle versetzen, ca. 1 min rühren, filtrieren. 0,200 ml Probe zum Test einsetzen.

Bestimmung von Ameisensäure in Essig

Probe mit Kalilauge (1 M) neutralisieren (pH 7-8). Mit Wasser im Verhältnis 1 + 1 verdünnen. 0,200 ml zum Test einsetzen.

Bestimmung von Ameisensäure in Obst- und Gemüse-Erzeugnissen

Ca. 50 g im Homogenisator zerkleinertes Gemüsegut in 250 ml-Messkolben genau einwiegen und mit ca. 100 ml Wasser versetzen. Mischung ca. 15 min bei geschlossenem Kolben rühren (Magnetrührer). Mit Wasser bis zur Marke auffüllen, mischen. Mischung filtrieren, ggf. zentrifugieren. Stark saure Probelösungen mit wenigen Tropfen Kalilauge (1 M) auf pH 7-8 einstellen. Probelösung, ggf. gemäss Verdünnungstabelle verdünnt, mit $v = 0,100$ ml zum Test einsetzen.

Bestimmung von Ameisensäure in Fisch- und Fleisch-Erzeugnissen

Etwa 5 g homogenisierte Probe in einen Homogenisierungsbecher genau einwiegen, ca. 20 ml Perchlorsäure-Lösung (1 M) hinzufügen und 10 min homogenisieren. Inhalt quantitativ in ein Becherglas spülen. Unter Rühren (Magnetrührer) mit Kalilauge (2 M) auf pH 9-10 einstellen. Mit ca. 20 ml

Wasser Inhalt quantitativ in einen 100 ml-Messkolben spülen, mit bidest. Wasser bis zur Marke auffüllen, wobei darauf zu achten ist, dass die Fettschicht oberhalb der wässrigen Schicht an der Marke steht. Mischung schütteln. 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 zum Test einsetzen. Zur Gehaltsberechnung von Ameisensäure Volumenverdrängungsfaktor berücksichtigen (Ergebnis $\times 0,98$).

Bestimmung von Ameisensäure in Backwaren (Lit. 3.5)

Ca. 5 g homogenisierte Probe in 100 ml Messkolben genau einwiegen; ca. 75 ml bidest. Wasser zugeben und 15 min bei 20-25°C extrahieren. Messkolben mit bidest. Wasser bis zur Marke auffüllen; anschliessend filtrieren und Filtrat zum Test einsetzen.

Bestimmung von Ameisensäure in Honig (Lit. 3.6-3.8)

Ca. 10 g Honig in einen 100 ml Messkolben genau einwiegen; mit bidest. Wasser bis zur Marke auffüllen und mischen. Lösung zum Test einsetzen.

Bestimmung von Ameisensäure in Konfitüre

Ca. 20 g homogenisierte Probe in ein 100 ml-Becherglas einwiegen und mit ca. 20 ml heissem Wasser (ca. 60°C) versetzen. Anschliessend 2 ml Carrez-I-Lösung (15 g Kalium-hexacyanoferrat(II) (Ferrocyanid), $K_4[Fe(CN)_6] \times 3 H_2O/100$ ml) und 2 ml Carrez-II-Lösung (30 g Zinksulfat, $ZnSO_4 \times 7 H_2O/100$ ml) zugeben. Mit ca. 2 ml Natronlauge (1 M) pH auf 7,5-8,5 einstellen. Nach jeder Zugabe mischen. Lösung auf 20-25°C abkühlen lassen und quantitativ in 100 ml-Messkolben überführen. Messkolben mit Wasser bis zur Marke auffüllen, mischen und filtrieren. 0,500 ml Filtrat zum Test einsetzen.

Bestimmung von Ameisensäure in Protein-haltigen Proben

Protein-haltige Probelösungen im Verhältnis 1 + 2 mit Trichloressigsäure (30 mM) versetzen, 1 min rühren und im Messkolben mit Kalilauge (1 M) neutralisieren. Mit bidest. Wasser bis zur Marke auffüllen und filtrieren. Klare, ggf. noch zu verdünnende Lösung zum Test einsetzen.

12. Weitere Anwendungsmöglichkeiten

Die Methode ist auch anwendbar bei der Untersuchung von Papier, Kartons und Pappen (empfohlene Vorbereitung der Probe: Extraktion von Ameisensäure mit Wasser bei 60°C in einem geschlossenen Gefäss; s. Lit. 2.1). Zur Analytik von biologischen Proben in der Forschung siehe Lit. 1.1 und 3.10.

Literatur

- Höpner, T. & Knappe, J. (1974) in Methoden der enzymatischen Analyse (Bergmeyer, H. U., Hrsg.) 3. Aufl., Bd. 2, S. 1596-1600; Verlag Chemie, Weinheim, und (1974) in Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer, H. U., ed.) 2nd ed., vol. 3, pp. 1551-1555; Verlag Chemie, Weinheim/Academic Press, Inc., New York and London
- Schaller, K.-H. & Triebig, G. (1984) in Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer, H.-U., ed.) 3rd ed., vol. VI, pp. 668-672, Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach/Florida, Basel
- Untersuchung von Papier, Kartons und Pappen für Lebensmittelverpackungen (gem. Empf. XXVI der Kunststoffkommission des Bundesgesundheitsamtes) Kapitel 8 (Methoden), Pkt. 3.4.8 (März 1979)
- Gombocz, E., Hellwig, E., Vojir, F. & Petuely, F. (1981) Über die erzielbare Genauigkeit von enzymatischen Analysenverfahren bei Lebensmitteln; Einsatz eines Zentrifugalanalysators als Analysenautomat, Deutsche Lebensmittel-Rundschau **77**, 7
- Ämtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64, LFGB; Untersuchung von Lebensmitteln: Bestimmung der Ameisensäure in Tomatenmark, Tomatenketchup und vergleichbaren Erzeugnissen, 26.11.03-15 (November 1983); Bestimmung der Ameisensäure in Tomatenketchup und vergleichbaren Erzeugnissen, 52.01.01-15 (November 1983)
- Schweizerisches Lebensmittelbuch, Kapitel 61B (Enzymatische Bestimmungen)/3.5. (1985); Kapitel 28A (Frucht- und Gemüsesäfte u.a.)/75 (1988); Kapitel 44 (Konservierungsmittel)/5.2 (1992)
- Brautechnische Analysenmethoden, Band III, S. 556 und 576-580 (1982), Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission (MEBAK), herausgegeben von F. Drawert im Selbstverlag der MEBAK, Freising
- Reinefeld, E. & Blesner, K.-M. (1977) Enzymatische Bestimmung von Ameisensäure und ihre Anwendung auf Melassen, Zucker **30**, 650-652
- Ahrens, E. & Dizer, H. (1978) Zur Frage der Ameisensäurebildung durch Schimmelpilze und der Sterilität von Gärrohrchen, Flüssiges Obst **45**, 428-430
- Gierschner, K. & Herbst, R. (1981) Zur Ermittlung chemischer Kennzahlen zur Beurteilung des mikrobiologisch-hygienischen Zustandes von Fruchtsäften und gleichartigen Erzeugnissen (Mitt. I), Deutsche Lebensmittel-Rundschau **76**, 433-436
- Drawert, F., Paul, H. & Hagen, W. (1981) Enzymatische Bestimmung von Oxalsäure und Ameisensäure in Bier, Brauwissenschaft **34**, 57-61
- Ayuto, M. & Rohns, G. (1984) Ameisensäure in Lebkuchen - ein Zusatzstoff? Z. Lebensm. Unters. Forsch. **179**, 243-244
- Stoya, W., Wachendörfer, G., Kary, I., Siebentritt, P. & Kaiser, E. (1986) Ameisensäure als Therapeutikum gegen Varrobose und ihre Auswirkungen auf den Honig, Deutsche Lebensmittel-Rundschau **82**, 217-221
- Talpay, B. (1989) Inhaltsstoffe des Honigs - Ameisensäure (Formiat), Deutsche Lebensmittel-Rundschau **85**, 143-147
- Laub, E., Metzler, B., Ptz, A. & Roth, M. (1987) Zur Rückstandssituation zugelassener Varroabekämpfungsmittel in Honig, Lebensmittelchem. Gerichtl. Chem. **41**, 107-109
- Eksi, A. & Simsir, I. (1987) Zusammenhang von Ameisensäuregehalt und der Schimmelzahl in Tomatenmark, Deutsche Lebensmittel-Rundschau **83**, 156-157
- Rabinowitz, J. C. (1974) in Methoden der enzymatischen Analyse (Bergmeyer, H. U., Hrsg.) 3. Aufl., Bd. 2, S. 1593, Verlag Chemie, Weinheim, und (1974) in Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer, H.U., ed.) 2nd ed., vol. 3, pp.1546-1550; Verlag Chemie, Weinheim/Academic Press, Inc., New York and London
- Beutler, H.-O., Schneider, H. & Henniger, G. (1986) Formic Acid - A New Test Kit for Enzymatic Determination, Poster-Präsentation bei Association of Official Analytical Chemists Annual International Meeting, Scottsdale, AZ, USA

Ameisensäure-Testkontroll-Lösung

Die Testkontroll-Lösung dient zur Kontrolle für die enzymatische Bestimmung von Ameisensäure in Lebensmitteln und anderen Probenmaterialien.

Reagenzien

Natrium-formiat, p.A.

Herstellung der Testkontroll-Lösung

148 mg Natrium-formiat auf 0,1 mg genau einwiegen und im Messkolben mit bidest. Wasser auf 1000 ml auffüllen und gründlich mischen (entspricht ca. 0,1 g Ameisensäure/l).

Lösung vor Gebrauch frisch herstellen. Ggf. kann die Lösung portionsweise eingefroren werden.

Anwendung:

1. Zusatz der Ameisensäure-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 0,050 ml der Testkontroll-Lösung zum Probeansatz gegeben. Nach Ablauf der Reaktion (ca. 20 min) wird die Extinktion E_3 gemessen. Aus der Differenz ($E_3 - E_2$) 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 von dem Ergebnis ab, das gemäss Pkt. 1 ermittelt wurde.

3. Interner Standard:

Zur Prüfung auf richtige und störungsfreie Durchführung der Bestimmung (keine groben Fehler bei Testansatz; Probe ist frei von Hemmstoffen) 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 entspr. Fussnoten und "Hinweise zur Testdurchführung" sind zu beachten.

Die Wiederfindung des Standards berechnet sich nach:

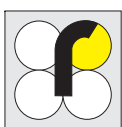
$$\text{Wiederfindung} = \frac{2 \times \Delta E_{\text{Probe + Standard}} - \Delta E_{\text{Probe}}}{\Delta E_{\text{Standard}}} \times 100 [\%]$$

4. Wiederfindungsversuch mit Originalproben:

Zur Absicherung der Messung einschliesslich Vorbereitung der Probe können Wiederfindungsversuche durchgeführt werden. Hierfür wird entweder die oben genannte Testkontroll-Lösung verwendet oder aber eine Testkontroll-Lösung mit einer geeigneten Konzentration.

Die Originalprobe wird mit und ohne Zusatz von Natrium-formiat gemessen, wobei der Zusatz an Natrium-formiat entsprechen soll

- der in der Originalprobe erwarteten Ameisensäure-Menge, oder
- der Menge, die z.B. gemäss Standards oder sonstiger Regelungen in der Originalprobe enthalten sein darf.



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

