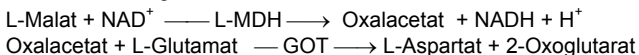


Enzymatische Bestimmung von L-Äpfelsäure in Lebensmitteln und anderen Probenmaterialien
2 x 50 ml R1 + 2 x 12,5 ml R2 (50 Tests)

Nur für den Laborgebrauch
Lagerung bei 2 - 8 °C

Testprinzip

Enzymatische Bestimmung mit L-Malat-Dehydrogenase (L-MDH) und Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT). NADH wird gebildet und bei 340 nm gemessen:



Reagenzien

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig:

- #1: Reagenz 1, ca. 50 ml x 2 Flaschen (Puffer, L-Glutamat, GOT)
- #2: Reagenz 2, ca. 12,5 ml x 2 Flaschen (NAD, L-MDH)

Die Reagenzien sind bei 2 - 8 °C bis zum Monatsende der Haltbarkeit stabil (siehe Etikett). Reagenzien nicht einfrieren. Reagenzien vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) bringen.

Die üblichen Vorsichtsmaßnahmen beim Umgang mit Chemikalien sollten beachtet werden. Nicht verschlucken! Berührung mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.

Dieser Kit kann weitere gesundheitsgefährdende Substanzen enthalten. Sicherheitshinweise zu den enthaltenen Komponenten entnehmen Sie bitte den Sicherheitsdatenblättern (MSDS) auf unserer Internetseite (www.r-biopharm.de). Nach Gebrauch die Reagenzien mit dem Laborabfall entsorgen. Das Verpackungsmaterial kann dem Recycling zugeführt werden.

Probenvorbereitung

- Klare, farblose und pH-neutrale Probelösungen direkt, bzw. nach Verdünnen in den angegebenen Messbereich (siehe Leistungsdaten) einsetzen
- Trübe Lösungen filtrieren oder zentrifugieren
- Kohlensäurehaltige Proben entgasen
- Protein- und fetthaltige Proben mit Carrez-Reagenzien klären
- Feste und halbfeste Proben zerkleinern und homogenisieren und mit Wasser extrahieren; filtrieren oder zentrifugieren, oder bei Bedarf Carrez-Klärung anwenden
- Stark fetthaltige Proben in einen Messkolben (mind. 50 ml) einwiegen und mit heißem Wasser extrahieren; Probelösung zur Fettabcheidung abkühlen lassen (z.B. 15 min im Eisbad); Messkolben bis zur Marke mit Wasser auffüllen, Fettschicht entfernen und wässrige Lösung vor dem Testen filtrieren
- Stark alkalische oder stark saure Proben mit KOH / NaOH bzw. HCl auf ca. pH 8 einstellen

Test Durchführung

Wellenlänge: 340 nm, Hg 334 nm, Hg 365 nm
Schichtdicke: 1 cm
Temperatur: 20 – 25 °C / 37 °C
Messung: Gegen Luft oder Wasser
Probe: 20 – 500 mg/l

	Reagenz-Blank (RB)	Proben
Probe / Standard	-	100 µl
Bidest. Wasser	100 µl	-
Reagenz 1	2000 µl	2000 µl
Mischen, 1 min bei 37 °C oder 3 min bei 20 - 25 °C inkubieren. Extinktion E ₁ messen, dann zugeben:		
Reagenz 2	500 µl	500 µl
Mischen, bis zum Ende der Reaktion inkubieren (ca. 10 min bei 37°C oder ca. 15 min bei 20 - 25 °C). Extinktion E ₂ messen.		

Der Reagenzblank muss bei jedem Lauf einmal durchgeführt werden, und von jedem Probenergebnis abgezogen werden.

Berechnung der Ergebnisse

$$\Delta A = (E_2 - df \times E_1)_{\text{Probe}} - (E_2 - df \times E_1)_{\text{RB}}$$

$$df = \text{Reagenzverdunnungsfaktor (Dilution factor)}$$

$$= (\text{Probevolumen} + R1) / (\text{Probevolumen} + R1 + R2) = 0,808.$$

$$c = (V \times MG \times \Delta A) / (\epsilon \times d \times v \times 1000) \quad [\text{L-Malat in g/l}] \text{ mit:}$$

V (Testvolumen)	= 2,600 [ml]
MG (Molekulargewicht)	= 134,09 [g/mol]
d (Schichtdicke)	= 1,00 [cm]
v (Probevolumen)	= 0,100 [ml]
ε (Extinktionskoeffizient NADH) [l x mmol ⁻¹ x cm ⁻¹]:	
340 nm = 6,3	334 nm = 6,18
365 nm = 3,4	

$$c = (2,600 \times 134,09 \times \Delta A) / (\epsilon \times 1 \times 0,1 \times 1000)$$

Hieraus ergibt sich bei 340 nm:

$$c_{\text{L-Malic}} [\text{g/l}] = 0,5534 \times \Delta A$$

Berechnung bei Feststoffen

$$\text{Gehalt}_{\text{L-Malic}} [\text{g}/100 \text{ g}] = \frac{c_{\text{L-malic}} [\text{g/l}]}{\text{Einwaage}_{\text{Probe}} [\text{g/l}]} \times 100$$

Leistungsdaten

Spezifität

Die Bestimmung ist spezifisch für L-Äpfelsäure.

Messbereich

Der Test ist zur Messung von L-Äpfelsäure Konzentrationen von 20 bis 500 mg/l geeignet. Wird dieser Bereich überschritten, sollten die Proben auf eine Konzentration von 60 bis 500 mg/l mit Aqua dest. verdünnt werden. Der Verdunnungsfaktor ist bei der Berechnung zu berücksichtigen.

Sensitivität

Die untere Nachweisgrenze (LoD) und die Quantifizierungsgrenze (LoQ) wurden nach der Methode DIN 32645:2008-11 ermittelt:

- LoD = 4.0 mg/l
- LoQ = 10 mg/l

Automatisierung

Applikationen für Automaten sind auf Anfrage erhältlich.

Haftungsausschluss

Diese Angaben entsprechen dem heutigen Stand unserer Kenntnisse und sollen über unsere Produkte und deren Anwendungsmöglichkeiten informieren. Sie haben somit nicht die Bedeutung, bestimmte Eigenschaften der Produkte oder deren Eignung für einen konkreten Einsatzzweck zuzusichern. R-Biopharm übernimmt keine Gewährleistung, außer für die standardisierte Qualität der Reagenzien. Defekte Produkte werden ersetzt. Für darüber hinaus gehende direkte, indirekte Schäden oder sonstige Kosten im Zusammenhang mit der Nutzung der Produkte haftet R-Biopharm nicht.