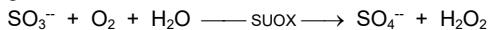


Enzymatische UV-Bestimmung von Sulfid (als Gesamtsulfid) in Lebensmitteln und anderen Probenmaterialien  
30 ml Puffer / 0,4 ml NADH-POD / 1,6 ml SUOX (30 Tests)

Nur für den Laborgebrauch  
Lagerung bei 2 - 8 °C

## Testprinzip

Enzymatische UV-Bestimmung mit NADH-Peroxidase (NADH-POD) und Sulfitoxidase (SUOX). Der Verbrauch von NADH wird bei 340 nm gemessen:



## Reagenzienvorbereitung

Das Testkit enthält folgende Reagenzien:

Flasche 1: Puffer (30 ml, TEA 0,8 M, NaN<sub>3</sub> 0,02 %)

Flasche 2: NADH-Tabletten (mit je 0,4 mg NADH)

Flasche 3: Suspension mit NADH-POD (0,4 ml, 14,5 U/ml)

Flasche 4: Suspension mit SUOX (1,6 ml, 2,5 U/ml)

Die Reagenzien sind bei 2 - 8 °C bis zum angegebenen Monatsende der Haltbarkeit stabil (siehe Etikett). Für eine langfristige Stabilität die Flasche 2 bei -30 bis -15 °C trocken lagern. Reagenzien vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) bringen.

## Zwei Reagenzien müssen wie folgt vorbereitet werden:

**Arbeitslösung 1 + 2:** Je nach Anzahl der untersuchten Proben 1 Tablette (Flasche 2) in 1 ml Puffer (Flasche 1) auflösen. Diese Arbeitslösung ist bis 1 Woche bei 2 - 8 °C stabil.

Dieses Kit kann gesundheitsgefährdende Substanzen enthalten. Sicherheitshinweise zu den enthaltenen Komponenten sind den jeweiligen Sicherheitsdatenblättern (MSDS) auf unserer Internetseite ([www.r-biopharm.de](http://www.r-biopharm.de)) zu entnehmen. Nach Gebrauch die Reagenzien mit dem Laborabfall entsorgen. Das Verpackungsmaterial kann dem Recycling zugeführt werden.

## Probenvorbereitung

- Flüssige und klare Proben direkt oder nach Verdünnen in den jeweiligen Messbereich einsetzen (siehe Testdurchführung).
- Trübe Lösungen filtrieren oder zentrifugieren.
- Kohlensäurehaltige Proben entgasen.
- Eine Carrez-Klärung ist für die Sulfid-Bestimmung nicht zulässig!
- Feste oder halb feste Proben zerkleinern und homogenisieren und mit Wasser extrahieren; filtrieren oder zentrifugieren.
- Da Sulfid flüchtig, reaktiv und leicht oxidierbar ist, ist bei der Vorbereitung der Proben und der Durchführung der Analyse besondere Vorsicht geboten. Aufgrund der Instabilität von Sulfidlösungen sollten die Proben schnellstmöglich nach der Vorbereitung analysiert werden.

## Testdurchführung

Wellenlänge: 340 nm

Schichtdicke: 1 cm

Gesamtvolumen: 3,060 ml

Temperatur: ~ 25 °C

Leerwert: gegen Luft oder Wasser

Probelösung: 1 - 30 µg/Test

	Reagenzienleerwert	Proben
Lösung 1+2	1000 µl	1000 µl
Probe	-	100 µl
Dest. Wasser	2000 µl	1900 µl
NADH-POD (Fl. 3)	10 µl	10 µl
Mischen, 5 min bei 20 - 25 °C inkubieren. Extinktion E <sub>1</sub> messen, dann Reaktion starten durch Zugabe von:		
SUOX (Flasche 4)	50 µl	50 µl
Mischen, bis zum Ende der Reaktion bei 20 - 25 °C inkubieren. (ca. 30 min)*. Extinktion E <sub>2</sub> messen.		

\*Ggf. die Extinktion in 5 Minuten Abständen weitermessen, bis die Reaktion beendet ist oder Schleichreaktion messen und subtrahieren.

## Berechnung der Ergebnisse

Die Berechnung erfolgt nach Lambert-Beer'schem Gesetz.

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

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

$$c = (3,060 \times 64,06 \times \Delta E) / (6,3 \times 1,00 \times 0,100 \times 1000)$$

$$c = 0,311 \times \Delta E \text{ [g/l]}$$

Wenn die Probe bei der Vorbereitung verdünnt wurde, muss das Ergebnis mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert werden.

Bei der Analyse von Proben, die zur Probenvorbereitung eingewogen werden, berechnet sich der Gehalt aus der eingewogenen Menge:

$$\text{Content [g/100 g]} = \frac{C_{\text{Test}} \text{ [g/l]}}{\text{Einwaage}_{\text{Probe}} \text{ [g/l]}} \times 100$$

## Leistungsdaten

### Spezifität

Sulfitoxidase reagiert mit Sulfiten, Isothiocyanaten und deren Glykosiden. Organische Sulfonsäureverbindungen können eine Schleichreaktion hervorrufen. Sulfide, Thiosulfate, Sulfat und organische Sulfinsäureverbindungen reagieren nicht. Gereinigte Reagenzien, wie Natriumsulfid, Natriumdisulfid und Kaliumdisulfid, absorbieren Feuchtigkeit und werden leicht oxidiert. Darüber hinaus sind wässrige Lösungen instabil und Werte < 100 % sind zu erwarten.

### Interferenzen

L-Ascorbinsäure hemmt die Sulfitoxidase. Hohe Konzentrationen von L-Ascorbinsäure reagieren mit Wasserstoffperoxid, das als Zwischenprodukt gebildet wird und zu niedrigen Werten führt. L-Ascorbat muss vor der Sulfidbestimmung entfernt werden, z. B. mit Hilfe von Ascorbatoxidase.

### Messbereich

Der empfohlene Messbereich ist 1 µg - 30 µg. Bei einem Volumen von 100 µl Probe entspricht dies 10 - 300 mg/l. Wenn dieser Bereich überschritten wird, sollten die Proben mit destilliertem Wasser auf eine Konzentration innerhalb des Messbereichs verdünnt werden. Der Verdünnungsfaktor muss in die Berechnung einbezogen werden.

### Sensitivität

Die Empfindlichkeit wird mit dem obigen Lambert-Beer-Gesetz berechnet und variiert somit in Abhängigkeit von v und dem gewählten ΔE. Das minimale ΔE, das reproduzierbar gemessen werden kann, ist ΔE = 0,020 (E). Das Probenvolumen (v) kann auf bis zu 2 ml erhöht werden (Wasser entsprechend reduzieren). Dies ergibt beispielhaft:  
- mit v = 0,100 ml und ΔE = 0,050, Grenzwert = 15 mg/l (Routine)  
- mit v = 0,500 ml und ΔE = 0,050, Grenzwert = 3 mg/l (Mittelgröße)  
- mit v = 2,000 ml und ΔE = 0,020, Grenzwert = 0,3 mg/l (Maximum)

### Qualitätskontrolle

Bereiten Sie jeden Tag eine frische Qualitätskontrolle vor. Zum Erhalt von 300 mg/l äquivalentem SO<sub>2</sub>, lösen Sie eine der folgenden Mengen in jeweils 100 ml Citronensäurelösung (1 g/l):

- 59 mg Natriumsulfid (Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, 50,8 % SO<sub>2</sub>)
- 44,5 mg Natriumdisulfid (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 67,4 % SO<sub>2</sub>)
- 52 mg Kaliumdisulfid (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 57,6 % SO<sub>2</sub>)

**Ergänzende technische Hinweise**

Sollten bei der Abarbeitung nicht zufriedenstellende Ergebnisse festgestellt werden, können folgende Empfehlungen angewendet werden:

1. Arbeitslösung 1+2: Je nach Anzahl der untersuchten Proben 1 Tablette (Flasche 2) in 1 ml Puffer (Flasche 1) auflösen.  
Empfehlung: Lassen Sie die Arbeitslösung mindestens 30 Minuten vor Einsatz im Test ruhen. Damit stellen Sie sicher, dass die NADH-Tabletten vollständig gelöst und Sie eine noch stabilere Arbeitslösung erhalten. Dies kann sich positiv auf die E<sub>1</sub> Messung auswirken.
2. Da Sulfid flüchtig, reaktiv und leicht oxidierbar ist, ist bei der Vorbereitung der Proben und der Durchführung der Analyse besondere Vorsicht geboten.  
Empfehlung: Messen Sie den Blankwert in Doppelbestimmung und ziehen Sie den Mittelwert dieser beiden Blankwerte von Ihren Proben ab. Dadurch erhalten Sie einen noch genaueren Blankwert, was sich nach Abzug positiv auf die Ergebnisqualität Ihrer eingesetzten Proben auswirken kann.
3. Die Erfahrung zeigt, dass sich die Wasserqualität auf die Ergebnisqualität enzymatischer Tests auswirken kann.  
Empfehlung: Verwenden Sie bei der Abarbeitung des Kits E6275 nur Wasser in höchster Qualität, damit gewährleisten Sie beste Ergebnisse. Im Zweifelsfall, Wasser mit Aktivkohle behandeln (1 g/100 ml einrühren und nach ca. 3 min filtrieren).
4. Schleichreaktionen haben einen Einfluss auf die Ergebnisqualität, besonders bei Proben im niedrigen Konzentrationsbereich.  
Empfehlung: Mischen Sie nach R2 Zugabe und messen Sie die Absorptionswerte der Lösungen (E<sub>2</sub>) genau 30 Minuten nach der E<sub>1</sub> Messung (wie in der Gebrauchsanweisung beschrieben). Nach genau weiteren 15 min messen Sie erneut die Absorptionen der Lösungen (E<sub>3</sub>).

Da die Schleichreaktion nun nur während 15 min gemessen wurde (zwischen E<sub>2</sub> und E<sub>3</sub>), aber auf die 30 min Inkubationszeit extrapoliert werden muss, nach denen die Messung durchgeführt wurde (zwischen E<sub>1</sub> und E<sub>2</sub>), wird die Schleichreaktion mit dem Faktor 2 gemäß der folgenden Berechnung abgezogen:

$$\Delta A = (E_1 - E_2) - 2 \times (E_2 - E_3)$$

Dieses System ermöglicht eine schnelle und systematische Messung der Schleichreaktion über E<sub>3</sub> und deren automatische Subtraktion über das Ihnen vorliegende Excel-Template.

**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.