

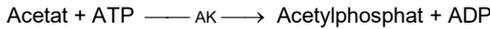
UV-Test zur Bestimmung von Essigsäure in Lebensmitteln und anderen Probenmaterialien
Test-Kombination für 50 Bestimmungen

Nur für den Laborgebrauch
Lagerung bei 2 - 8 °C

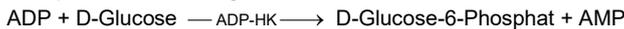
1. Testprinzip

Enzymatische Bestimmung mit Acetat-Kinase (AK), ADP-Hexokinase (ADP-HK) und Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G6P-DH).

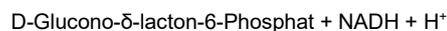
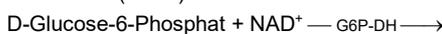
Essigsäure (Acetat) reagiert in Gegenwart von ATP und Acetat-Kinase (AK) zu Acetylphosphat und ADP. Die gebildete Menge an ADP ist äquimolar zur Acetatkonzentration und ist der begrenzende Faktor für die folgenden Schritte:



Für jedes Mol ADP, das in der Reaktion vorhanden ist, wird ein Mol D-Glucose durch eine ADP-abhängige Hexokinase in D-Glucose-6-Phosphat und AMP umgewandelt.



In Gegenwart von Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G6P-DH) reagieren D-Glucose-6-Phosphat und Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (NAD⁺) zu D-Glucono-δ-lacton-6-Phosphat und NADH/H⁺.



NAD wird dabei zu NADH reduziert. Die gebildete NADH-Menge wird bei 340 nm gemessen.

Da es keine lineare Beziehung zwischen der Essigsäurekonzentration und der bei 340 nm gemessenen OD gibt, sind dem Test-Kit vier Kalibratoren beigelegt. Eine Zwei-Punkt-Kalibrierung, wie sie von einigen Wettbewerbern verwendet wird, führt nicht zu genauen Ergebnissen über den gesamten Kalibrierungsbereich.

2. Reagenzien

2.1. Inhalt & Zusammensetzung

Der Test ist für eine manuelle und automatisierte Abarbeitung geeignet. Die Reagenzien reichen bei manueller Abarbeitung für 50 Bestimmungen. Die Anzahl der Bestimmungen bei automatisierter Abarbeitung ist um ein Vielfaches erhöht, jedoch Geräte-abhängig.

- Reagenz 1: 2 x 50 ml mit Puffer, NAD, ATP
- Reagenz 2: 2 x 12,5 ml mit Puffer, AK, ADP-HK, G6P-DH
- Kalibrator-Set: 4 x 3,5 ml (20, 100, 300 und 1300 mg/l Essigsäure)

2.2. Reagenzienvorbereitung

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig und müssen vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) gebracht werden. Komponenten nicht zwischen Kits verschiedener Chargen austauschen.

2.3. Lagerung & Haltbarkeit

Die Reagenzien sind bei sachgerechter Handhabung auch nach dem Öffnen bei 2 - 8 °C bis zum Monatsende der angegebenen Haltbarkeit stabil (siehe Etikett). Reagenzien nicht einfrieren.

2.4. Sicherheit & Entsorgung

Die üblichen Vorsichtsmaßnahmen beim Umgang mit Chemikalien sind zu beachten. Nicht verschlucken sowie Berührung mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.

Sicherheitshinweise zu den enthaltenen Komponenten sind den jeweiligen Sicherheitsdatenblättern (SDS) zu entnehmen. Nach Gebrauch können die Reagenzien mit dem Laborabfall entsorgt und das Verpackungsmaterial dem Recycling zugeführt werden.

3. Probenvorbereitung

- Die Probenvorbereitung für die manuelle und die automatisierte Testdurchführung ist identisch.
- Die Proben sollten vor der Messung auf Raumtemperatur gebracht werden.
- Flüssige, klare und annähernd neutrale Probelösungen direkt bzw. nach Verdünnen mit dest. Wasser auf eine Konzentration innerhalb des Messbereichs (siehe Leistungsdaten) im Test einsetzen.
- Trübe Lösungen filtrieren oder zentrifugieren.

- Stark gefärbte Proben gegebenenfalls entfärben.
- Kohlensäurehaltige Proben entgasen.
- Protein- oder fetthaltige Proben mit Carrez-Reagenzien klären.
- Feste Proben zerkleinern und homogenisieren, geeignete Probemenge einwiegen und mit Wasser extrahieren.
- Stark fetthaltige Proben in einen Messkolben einwiegen und mit heißem Wasser extrahieren; Probelösung zur Fettabcheidung abkühlen lassen (z. B. 15 min im Eisbad); Messkolben bis zur Marke mit Wasser auffüllen, wässrige Lösung vor dem Testen filtrieren.

4. Testdurchführung

Wellenlänge: 340 nm
Temperatur: 20 - 37 °C (während der Messung)
Messung: gegen Luft (ohne Küvette) oder Wasser
Messbereich: 20 - 1300 mg/l

	Reagenzleerwert	Probe / Kontrolle
Reagenz 1	2000 µl	2000 µl
Probe / Kontrolle	-	100 µl
Dest. Wasser	100 µl	-
Mischen, 3 min bei 20 - 37 °C inkubieren. Extinktion E ₁ messen, dann Zugabe von:		
Reagenz 2	500 µl	500 µl
Mischen, 15 min bei 20 - 37 °C inkubieren und Extinktion E ₂ messen.		

Der Reagenzleerwert muss bei jedem Lauf einmalig mitbestimmt und von jedem Probenergebnis abgezogen werden.

5. Berechnung der Ergebnisse

5.1. Berechnung bei Probelösungen

5.1.1. Konzentration Essigsäure

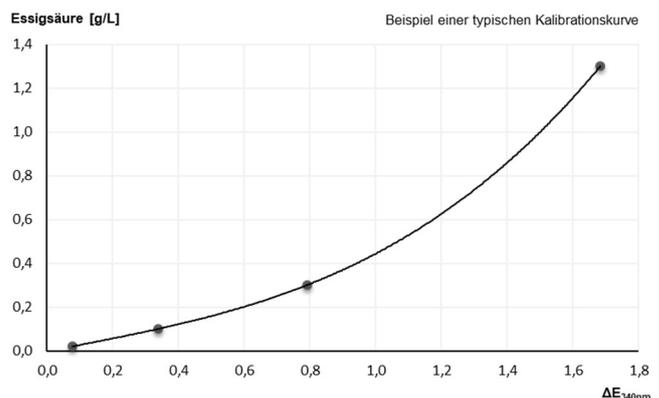
$$\Delta E = (E_2 - df \times E_1)_{\text{Probe}} - (E_2 - df \times E_1)_{\text{RLW}}$$

df: Dilution factor (Reagenzverdünungsfaktor)
RLW: Reagenzleerwert

$$df = \frac{\text{Probenvolumen} + R1}{\text{Testvolumen}} = 0,808$$

Eine Erhöhung des Probenvolumens (bis max. 1000 µl) bei unveränderten Reagenzvolamina erfordert Umrechnung des Reagenzverdünungsfaktors (df). Bei Erhöhung des Volumens kann es zur Beeinflussung des Testsystems kommen. Generell gilt es dies Matrix-abhängig zu überprüfen.

Die Ermittlung der Kalibrationskurve erfolgt in Excel über ein Polynom 3. Grades. Dabei werden die Sollwerte der Kalibratoren über die ΔE-Werte aufgetragen. Die Konzentration der Proben wird anhand der Polynomgleichung ermittelt. Eine Excel-Auswertetabelle ist auf Anfrage erhältlich.



5.2. Berechnung bei Feststoffen

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

5.3. Kontrollen & Akzeptanzkriterien

Kontroll- oder Referenzproben sollten zur Qualitätskontrolle bei jedem Lauf mitgeführt werden. Hierfür empfehlen wir Enzytec™ Liquid Multi-Acid Standard low (E8460).

Die Wiederfindung von Enzytec™ Liquid Multi-Acid Standard low sowie anderen wässrigen Kontrolllösungen sollten innerhalb $100 \pm 5 \%$ liegen.

6. Leistungsdaten

6.1. Spezifität & Nebenaktivitäten

Die Bestimmung ist spezifisch für Essigsäure. Für die Bestimmung der Nebenaktivitäten des Messsystems wurden hochkonzentrierte organische Säurelösungen (10 g/l) im Essigsäure-Reagenz gemessen. D-Milchsäure, Fumarsäure, Oxalessigsäure und Propionsäure weisen keine Nebenaktivitäten auf.

6.2. Interferenzen

Alle getesteten Substanzen wurden in höheren Einzelkonzentrationen in Gegenwart von 1 g/l Essigsäure getestet und zeigten keine Interferenzen (für Details siehe Validierungsbericht).

6.3. Linearität, Messbereich & Sensitivität

Die Linearität ist bis 1500 mg/l Essigsäure gegeben, wobei der empfohlene Messbereich zwischen 20 und 1300 mg/l (100 µl Probenvolumen) liegt.

Die Nachweisgrenze (LoD) wurde nach der Methode DIN 32645:2008-11 in gepufferter wässriger Lösung für ein Probenvolumen von $v = 100 \mu\text{l}$ ermittelt. Hieraus ergibt sich ein LoD von 2,2 mg/l. Die Bestimmungsgrenze (LoQ) beträgt 3,8 mg/l.

6.4. Kalibration

Die Kalibrationsstabilität beträgt 7 Tage. Die Gültigkeit der Kalibration sollte täglich mit einer Kontrollprobe verifiziert werden.

6.5. Automatisierung mittels Pictus 500

6.5.1. Bestimmungsgrenze (LoQ)

P500 Applikation	LoQ
High Range	90 mg/l
Basic Range	16 mg/l

6.5.2. Messbereiche

P500 Applikation	Messbereich
High Range	bis 6,5 g/l
Basic Range	bis 1300 mg/l

6.5.3. Präzision und Richtigkeit

Hier dargestellt sind Daten der Messung einer wässrigen Lösung.

High Range

Zielkonzentration, mg/l	150	1008
Mittelwert, mg/l	153,1	992
SD, mg/l	5,10	10,4
RSD, %	3,3	1,0
Wiederfindung, %	102,1	98,4

Basic Range

Zielkonzentration, mg/l	150	994
Mittelwert, mg/l	152,4	1009
SD, mg/l	1,60	13,4
RSD, %	1,1	1,3
Wiederfindung, %	101,6	100,1

7. Unterstützende Dokumente

Auf Anfrage bieten wir Ihnen folgende Dokumente:

- Enzytec™ Liquid Validierungsberichte
- Enzytec™ Liquid Probenvorbereitungshandbuch
- Enzytec™ Liquid Excel-Auswertevorlagen
- Enzytec™ Liquid Troubleshooting-Handbuch

Sicherheitsdatenblätter (SDS) und Analysenzertifikate (CoA) sind in digitaler Form unter folgendem Link erhältlich

<https://eifu.r-biopharm.com/>



8. Dienstleistungen & technischer Support

Auf Anfrage bieten wir Ihnen folgende Leistungen:

- Kundenspezifisches Troubleshooting
- Daten- & Ergebnisanalyse
- Kunden-Workshops & Webinare
- Automatisierung: applikativer Support und technischer Service

9. 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.