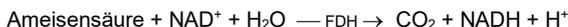


UV-Test zur Bestimmung von Ameisensäure in Lebensmitteln und anderen Probenmaterialien  
Test-Kombination für 25 Bestimmungen

Nur für den Laborgebrauch  
Lagerung bei 2 - 8 °C

## 1. Testprinzip

Ameisensäure (Formiat) wird durch Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (NAD) in Gegenwart von Formiat-Dehydrogenase (FDH) quantitativ zu Bicarbonat (CO<sub>2</sub>) oxidiert:



Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (NAD) wird dabei zu NADH reduziert. Der Anstieg von NADH wird anhand seiner spezifischen Absorption bei einer Wellenlänge von 340 nm gemessen. Das Ergebnis wird als Ameisensäure [g/l] ausgegeben.

## 2. Reagenzien

### 2.1. Inhalt & Zusammensetzung

Der Test ist für eine manuelle und automatisierte Abarbeitung geeignet. Die Reagenzien reichen bei manueller Abarbeitung für 25 Bestimmungen. Die Anzahl der Bestimmungen bei automatisierter Abarbeitung ist um ein Vielfaches erhöht, jedoch Geräte-abhängig.

- Reagenz 1: 1 x 50 ml mit Puffer, FDH
- Reagenz 2: 1 x 12,5 ml mit Puffer, NAD

### 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.
- Feste oder halb feste Proben zerkleinern oder homogenisieren. Ausreichende Menge der Probe in einen Messkolben einwiegen (Messbereich beachten), mit Wasser extrahieren, filtrieren oder klären, falls erforderlich.
- Proteinhaltige Proben gegebenenfalls mit Carrez-Reagenzien klären.

## 4. Testdurchführung

Wellenlänge: 340 nm  
Temperatur: 20 - 37 °C (während der Messung)  
Messung: gegen Luft (ohne Küvette) oder Wasser  
Messbereich: 5 - 400 mg/l

	Reagenzleerwert	Probe / Kontrolle
<b>Reagenz 1</b>	2000 µl	2000 µl
<b>Probe / Kontrolle</b>	-	100 µl
<b>Dest. Wasser</b>	100 µl	-
Mischen, 3 min bei 20 - 37 °C inkubieren. Extinktion E <sub>1</sub> messen, dann Zugabe von:		
<b>Reagenz 2</b>	500 µl	500 µl
Mischen, 40 min bei 20 - 37 °C inkubieren und Extinktion E <sub>2</sub> messen.		

Bei einer Ameisenkonzentration unter 50 mg/l ist das Probenvolumen auf 200 µl zu erhöhen; gleiches gilt in diesem Fall auch für den Reagenzleerwert.

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

## 5. Berechnung der Ergebnisse

### 5.1. Berechnung bei Probelösungen

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

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 Reagenzvolumina erfordert Umrechnung des Reagenzverdünungsfaktors (df). Bei Erhöhung des Volumens stark saurer Proben, kann es zur Beeinflussung des Testsystems kommen. Dies gilt es zu überprüfen.

$$C_{\text{Ameisensäure}} [\text{g/l}] = \frac{(V \times MG \times \Delta E)}{(\varepsilon \times d \times v \times 1000)} = 0,190 \times \Delta E$$

V:	Testvolumen Basisapplikation [ml]	= 2,600
MG:	Molekulargewicht [g/mol]	= 46,03
d:	Schichtdicke [cm]	= 1,00
v:	Probenvolumen [ml]	= 0,100
ε:	Extinktionskoeffizient NADH [l/mmol x cm]	= 6,3 (bei 340 nm)

### 5.2. Berechnung bei Feststoffen

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

### 5.3. Kontrollen & Akzeptanzkriterien

Kontroll- oder Referenzproben sollten zur Qualitätskontrolle bei jedem Lauf mitgeführt werden. Die Wiederfindung von Ameisensäure-Kontrolllösungen sollte innerhalb 100 ± 5 % liegen. Die Wiederfindung für extrahierte Lebensmittelproben sollte innerhalb 100 ± 10 % liegen.

**Hinweis:** Im Allgemeinen wird empfohlen, die Proben nach dem Öffnen und der Extraktion umgehend im Test einzusetzen und zu messen.

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 muss die Flüchtigkeit der Ameisensäure berücksichtigt werden.)

## 6. Leistungsdaten

### 6.1. Spezifität & Nebenaktivitäten

Die Ameisensäure-Dehydrogenase ist spezifisch für Ameisensäure. Andere Carbonsäuren wie Essigsäure, Oxalsäure oder Zitronensäure beeinflussen den Test nicht.

### 6.2. Interferenzen

Formaldehyd und Histamin stören nicht bis 10 g/l und Wasserstoffperoxid und Ascorbinsäure bis 5 g/l. Bei Natriumsulfit ist eine niedrigere Wiederfindung ab einer Konzentration von 1,5 g/l zu erwarten.

### 6.3. Linearität, Messbereich & Sensitivität

Die Linearität ist bis 500 mg/l Ameisensäure gegeben, wobei der empfohlene Messbereich zwischen 5 und 400 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  $v = 200 \mu\text{l}$  ermittelt. Hieraus ergibt sich ein LoD von 0,5 mg/l.

Die Bestimmungsgrenze (LoQ) wurde mittels Präzisionsprofil ermittelt (200 µl Probenvolumen) und beträgt 2,5 mg/l.

Die geringste Extinktionsdifferenz, die das Verfahren unterscheiden kann, beträgt  $\Delta E = 0,005$ . Für ein Probenvolumen von  $v = 1000 \mu\text{l}$  ergibt sich ein errechnetes LoD von 0,128 mg/L. Auf Basis von  $\Delta E = 0,010$  wurde ein LoQ von 0,256 mg/L errechnet.

## 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.