

Enzymatische Methode zur Bestimmung von Pyruvat in Wein, Lebensmitteln und Getränken
 2 x 60 ml R1 + 5 x 20 ml R2 + 1 x 2.5 ml R3 + 1 x 10 ml R4
 (50 Bestimmungen bei manueller Abarbeitung, 500 Bestimmungen auf automatischem Analysegerät)

Nur für den *in vitro* Gebrauch
 Lagerung zwischen 2 °C und 8 °C

Testprinzip

Laktatdehydrogenase (LDH) katalysiert die Reduktion von Pyruvat zu Laktat bei gleichzeitiger Oxidation von NADH zu NAD. Die Abnahme der Absorption von NADH ist direkt proportional zur Konzentration von Pyruvat in der Probe. Mit dem im Kit enthaltenen Standard können Sie eine Kalibrierungskurve erstellen, auf die Sie sich beziehen können. Durch Aufzeichnung der Absorptionswerte und Konzentrationen der einzelnen Punkte auf dieser Kurve können die Konzentrationen der einzelnen Proben bestimmt werden.

Testspezifikationen

Wellenlänge: 340 nm (334 - 365 nm)
 Schichtdicke: 1,00 cm (Glas; Plastik)
 Temperatur: 37 °C
 Methode: Endpunktmessung
 Reaktionszeit: 3 + 5 (10) Minuten
 Messung: gegen Luft oder dest. Wasser
 Linearität: 10 - 400 mg/l

Reagenzien

- #1: R1 - Puffer (> 400 mmol/l): 2 Flaschen mit ca. 60 ml
- #2: R2 - NADH (LDH > 250 KU/l): 5 Flaschen mit ca. 20 ml
- #3: R3 - LDH gebrauchsfertig (NADH > 0,1 mmol/l): 1 Flasche mit ca. 2,5 ml
- #4: R4 - Flüssigstandard: 1 Flasche mit ca. 10 ml (Pyruvat-Lösung = 400 mg/l)

Alle Reagenzien sind gebrauchsfertig. Bringen Sie die Reagenzien vor der Verwendung auf Arbeitstemperatur. Vor der Zugabe vorsichtig umrühren. Nach Gebrauch sofort verschließen.

Dieses Produkt wurde für die In-vitro-Diagnostik hergestellt. Zusätzlich zu den möglichen Risikohinweisen kann das Reagenz Konservierungsstoffe (wie Natriumazid oder andere) enthalten, deren Gesamtkonzentration unter den in den Richtlinien 67/548/CEE und 88/379/CEE und den nachfolgenden Änderungen zur Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung gefährlicher Zubereitungen (Reagenzien) genannten Grenzwerten liegt.

Nicht verschlucken. Kontakt mit Haut und Schleimhäuten vermeiden. Auf dem Sicherheitsdatenblatt sind die Arbeitsverfahren für den Umgang mit diesem Produkt aufgeführt. Sicherheitsdatenblätter können auf Anfrage zur Verfügung gestellt werden.

Nach Gebrauch müssen die Reagenzien als Laborabfall entsorgt werden.

Stabilität

Die Reagenzien sind bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum stabil, wenn sie bei 2 - 8 °C gelagert, sowie verschlossen und in ihrem intakten Primärbehälter aufbewahrt werden; vorausgesetzt, dass sie während ihrer Verwendung nicht kontaminiert wurden.

Wenn der Primärbehälter beschädigt ist, entsorgen Sie ihn.

Vorbereitung der Arbeitsreagenz

Lösen Sie ein Fläschchen **R2 - NADH** mit 20 ml **R1 - PUFFER** und rühren Sie dabei vorsichtig, um Schaumbildung zu vermeiden. Sofort nach Gebrauch verschließen. Die Produkte müssen so gehandhabt werden, dass jegliche Kontamination vermieden wird. Nach Gebrauch sofort verschließen.

Stabilität des Arbeitsreagenz

Das Arbeitsreagenz ist stabil für:

- 7 Tage bei 2 - 8 °C
- 60 Tage bei -20 °C. Einmal einfrieren.

Probenvorbereitung

- Wein kann direkt analysiert werden.
- Verwenden Sie flüssige, klare und nahezu neutrale Proben direkt oder nach Verdünnung in den entsprechenden Messbereich 10 - 400 mg/l.
- Trübe Lösungen filtern oder zentrifugieren.
- Entgasen Sie Proben, die Kohlendioxid enthalten.
- Feste Proben zerkleinern und homogenisieren, die entsprechende Probenmenge abwiegen und mit Wasser extrahieren.

Testdurchführung

Pipettieren Sie in die Küvette:	Reagenz Blank (Leerwert)	Probe	Standard
Arbeitsreagenz (1+2)	2000 µl	2000 µl	2000 µl
Wasser	50 µl	-	-
Reagenz 4 - CAL	-	-	50 µl
Probe	-	50 µl	-
Mischen und etwa 3 Minuten bei 37 °C inkubieren. Die Extinktion A1 von Reagenzienleerwert, Probe und Standard messen. Dann hinzugeben:			
Reagenz 3 - LDH	50 µl	50 µl	50 µl
Vorsichtig mischen. Messen Sie die Absorption A2 von Reagenzleerwert, Probe und Standard nach 5 - 10 Minuten bei 37 °C.			

Berechnung der Ergebnisse

Verwenden Sie diese allgemeine Formel, um die Konzentration zu berechnen:

$$\Delta A_{\text{Probe}} = (A_2 - A_1)_{\text{Probe}} - (A_2 - A_1)_{\text{REAGENZ BLANK}}$$

$$\Delta A_{\text{Standard}} = (A_2 - A_1)_{\text{Standard}} - (A_2 - A_1)_{\text{REAGENZ BLANK}}$$

Verwenden Sie die allgemeine Formel zur Berechnung der Konzentration:

$$\text{Pyruvic acid (mg/l)} = \frac{V \times MW}{\epsilon \times d \times v} \times \Delta \text{Abs}$$

V = Testvolumen gesamt = 2,100 ml

v = Probenvolumen = 0,050 ml

d = optische Weglänge = 1 cm

ϵ = Extinktionskoeffizient für molares NADH = 6,3 l/mmol x cm

MW = 88,1 g/mol

Also: **Pyruvic acid (mg/l) = 587 x Δ Abs**

Leistungsdaten

- Spezifität:** Der Test ist spezifisch für Brenztraubensäure (*pyruvic acid*). Es sind keine Interferenzen bekannt.
- Linearität:** Der Test ist zwischen 10 und 400 mg/l linear. Bei Pyruvatkonzentrationen von mehr als 400 mg/l wird die Probe mit destilliertem Wasser verdünnt, um die Konzentration in den genannten Bereich zu bringen, die Bestimmung wiederholt und das Ergebnis mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert. Bei Konzentrationen unter 10 mg/l kann die Probe von 0,050 auf 0,200 ml erhöht werden, wobei R1+2 unverändert bleibt (2000 μ l) und V auf 2,250 ml steigt. In dieser Situation (Probenvolumen = 0,200 ml) wird wie folgt berechnet:
Pyruvic acid (mg/l) = 157,3 x Δ Abs
- In diesem Fall sinkt der untere Grenzwert auf 2 mg/l.
- Anwendungen für automatisierte Analysensysteme sind auf Anfrage erhältlich.

Referenzen

- Methods of Enzymatic Analysis, Ed. by H.U.Bergmeyer, 3rd ed., Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach/Florida, Basel (1985).
- Marbach E.P., Clin. Chem. 13, 314 (1967).

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.