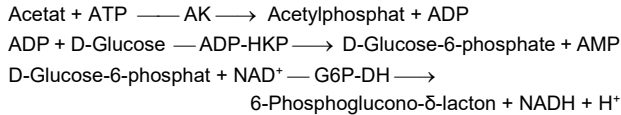


Enzymatische Bestimmung von Essigsäure in Lebensmitteln und anderen Probenmaterialien
2 x 50 ml R1 und 2 x 12,5 ml R2 (50 Tests)

Nur für den Laborgebrauch
Lagerung bei 2 - 8 °C

Testprinzip

Enzymatische Bestimmung mit Acetat-Kinase (AK), ADP-abhängige Hexokinase (ADP-HKP) und Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G6P-DH). NADH wird gebildet und bei 340 nm gemessen:



Reagenzien

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.
 Reagenz 1: zwei Flaschen ≥ 50 ml (Puffer, NAD)
 Reagenz 2: zwei Flaschen ≥ 12,5 ml (AK, ADP-HKP, G6P-DH)
 Kalibrator-Set: 4 Flaschen je ≥ 3,5 ml (0,02 - 1,3 g/l Essigsäure)

Die Reagenzien sind bei 2 - 8 °C bis zum Monatsende der Haltbarkeit auch nach mehrmaligem Öffnen stabil (wenn bei der Handhabung nicht kontaminiert). 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.

Dieses Kit kann 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 und flüssige Probelösungen direkt, bzw. nach Verdünnen in den Messbereich (siehe Leistungsdaten) einsetzen
- Trübe Lösungen filtrieren oder zentrifugieren
- Kohlensäurehaltige Proben entgasen
- Proteinhaltige Proben mit Carrez-Reagenzien klären
- Feste und halb feste Proben zerkleinern und homogenisieren und mit Wasser extrahieren (z.B. 30 min bei 60°C). Filtrieren oder zentrifugieren, bei Bedarf Carrez-Klärung anwenden.
- Stark fetthaltige Proben mit heißem Wasser extrahieren, dann zur Fettabcheidung abkühlen lassen (Eis oder Kühlschrank). Fettschicht entfernen und wässrige Lösung filtrieren.

Test Durchführung

Wellenlänge: 340 nm
 Schichtdicke: 1 cm
 Temperatur: 20 - 25 °C / 37 °C
 Messung: Gegen Luft oder Wasser
 Probe: 0,02 bis 1,3 g/l

	Reagenz-Blank (RB)	Proben / Kalibratoren
Probe / Kalibrator	-	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 im Zeittakt messen, dann zugeben:		
Reagenz 2	500 µl	500 µl
Mischen, 10 min bei 37°C oder 15 min bei 20 - 25 °C inkubieren. Extinktion E ₂ im Zeittakt messen (keine Endpunktbestimmung).		

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

Berechnung der Ergebnisse

$$1. \Delta A = (E_2 - df \times E_1)_{\text{Probe}} - (E_2 - df \times E_1)_{\text{RB}}$$

df = Reagenzverdünnungsfaktor (Dilution factor)
 = (Probenvolumen + R1) / (Probenvolumen + R1 + R2) = 0,808.

2. Die Konzentrationen der Kalibratoren werden gegen die zugehörige Extinktion aufgetragen. Die Ermittlung der Kalibrationskurve erfolgt in Excel über ein Polynom 4. Grades. Dabei werden die Sollwerte der Kalibratoren über die Δ E Werte aufgetragen. Die Konzentration der Proben wird anhand der Polynomgleichung oder direkt aus der Graphik ermittelt.

Eine Excel-Auswertetabelle ist auf Anfrage erhältlich.

Beispiel mit typischen Extinktionswerten:

	Essigsäure (g/l)	E ₂	Δ E (minus Blank)
Kalibrator 1	0,02	0,288	0,077
Kalibrator 2	0,1	0,534	0,323
Kalibrator 3	0,3	0,940	0,729
Kalibrator 4	1,3	1,871	1,660

3. Berechnung bei Feststoffen:

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

Leistungsdaten

Spezifität

Die Bestimmung ist spezifisch für Essigsäure. Interferenzen wurden für Ascorbinsäure bis 1,0 g/l, für Citronensäure bis 2,5 g/l und für Weinsäure bis 3,5 g/l vermessen und können ausgeschlossen werden. Interferenzen wurden für Glycerol bis 25 g/l und für Sulfid (SO₂) bis 1 g/l vermessen und können ausgeschlossen werden.

Messbereich

Der empfohlene Messbereich liegt zwischen 0,02 bis 1,3 g/l, um einen Δ E ≅ 1,5 (E) zu gewährleisten. Wird dieser Bereich überschritten, sollten die Proben auf eine Konzentration innerhalb des Messbereichs mit Bidest. Wasser. verdünnt werden. Der Verdünnungsfaktor 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 = 2,5 mg/l
- LoQ = 4,5 mg/l

Kalibration und Automatisierung

Die Kalibrationsstabilität beträgt 7 Tage. 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.

