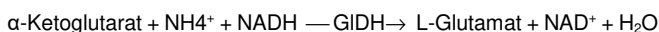


Enzymatische UV-Bestimmung von Ammoniak in Lebensmitteln und anderen Probenmaterialien
2 x 50 ml R1 und 2 x 12,5 ml R2 – 50 Tests (manuell) / ≥ 500 Tests (Auto-Analysegerät)

Nur für den Laborgebrauch
Lagerung bei 2 - 8 °C

Testprinzip

Ammoniak setzt α-Ketoglutarat in Gegenwart von GIDH und reduziertem Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid (NADH) zu L-Glutamat und NAD⁺ um:



Die verbrauchte Menge an NADH ist der umgesetzten Menge an Ammoniak äquivalent und wird bei 340 nm gemessen.

Reagenzien

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.

- Reagenz 1: 2 x 50 ml (Puffer / NADH)
- Reagenz 2: 2 x 12,5 ml (α-Ketoglutarat / GIDH)

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 sind den jeweiligen Sicherheitsdatenblättern (MSDS) auf unserer Internetseite (www.r-biopharm.de) zu entnehmen. 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
- Carrez-Fällung darf mit diesem Test *nicht* eingesetzt werden, proteinhaltige Proben müssen mit Perchlorsäure geklärt werden
- Feste und halb feste Proben zerkleinern und homogenisieren und mit Wasser extrahieren (z.B. 30 min bei 60°C). Filtrieren oder zentrifugieren oder bei Bedarf Perchlorsäure-Klärung anwenden.
- Stark fetthaltige Proben mit heißem Wasser extrahieren, dann zur Fettabscheidung abkühlen lassen (Eis oder Kühlschrank). Fettschicht entfernen und wässrige Lösung filtrieren.
- Milchproben: 1 ml Milch + 4 ml Trichloressigsäure (0,3 M) mischen, nach ca. 5 min den Niederschlag zentrifugieren und klaren Überstand im Test einsetzen.

Testdurchführung

Wellenlänge: 340 nm
Schichtdicke: 1 cm
Temperatur: 37 °C / 20 - 25 °C
Messung: gegen Luft oder Wasser
Proben: 5 - 95 mg/l

	Reagenzienleerwert	Probe / Kontrolle
Reagenz 1	2000 µl	2000 µl
Probe / Kontrolle	-	100 µl
dest. Wasser	100 µl	-
Mischen, 1 min bei 37 °C oder 3 min bei 20 - 25 °C inkubieren. Extinktion E ₁ messen, dann zugeben:		
Reagenz 2	500 µl	500 µl
Mischen, 5 min bei 37°C oder 15 min bei 20 - 25 °C inkubieren. Extinktion E ₂ messen.		

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

Berechnung der Ergebnisse

Berechnung bei Probelösungen:

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

df: dilution factor (Reagenzverdünnungsfaktor)

RLW: Reagenzienleerwert

$$df = \frac{(\text{Probevolumen} + R1)}{(\text{Probevolumen} + R1 + R2)} = 0,808$$

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

V:	Testvolumen [ml]	= 2,600
MG:	Molekulargewicht [g/mol]	= 17,03
d:	Schichtdicke [cm]	= 1,00
v:	Probevolumen [ml]	= 0,100
ε:	Extinktionskoeffizient NADH [l/mmol x cm]	= 6,3 (bei 340 nm)

Hieraus ergibt sich für eine Messung bei 340 nm:

$$C_{\text{Ammoniak}} [\text{g/l}] = 0,0703 \times \Delta E$$

Berechnung bei Feststoffen:

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

Hinweise

- Eine Carrez-Klärung kann bei der Probenaufarbeitung aufgrund der Absorption von Ammoniak nicht angewendet werden.
- Aufgrund der Flüchtigkeit von Ammoniak wird empfohlen, erst die Menge an Reagenz 1 vorzulegen und anschließend die Probenmenge zu pipettieren.

Leistungsdaten

Spezifität

Der Test ist spezifisch für Ammoniak und zeigt keine Nebenaktivitäten oder Interferenzen mit verschiedenen relevanten Säuren, Zuckern oder Konservierungsstoffen wie Sulfid.

Linearität & Messbereich

Linearität ist bis 100 mg/l Ammoniak gegeben. Der empfohlene Messbereich liegt zwischen 5 und 95 mg/l Ammoniak.

Wird dieser Bereich überschritten, sollten die Proben mit dest. Wasser auf eine Ammoniak-Konzentration in den Messbereich 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 in gepufferter wässriger Lösung ermittelt:

- LoD = 0,7 mg/l
- LoQ = 1,2 mg/l

Automatisierung

Applikationen für Auto-Analysegeräte 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.