

L-Glutaminsäure

Farb-Test

zur Bestimmung von L-Glutaminsäure in Lebensmitteln und anderen Probematerialien

Best. Nr. 10 139 092 035

Test-Combination für 3 × 13 Bestimmungen

Prinzip (Lit. 1)

L-Glutaminsäure (L-Glutamat) wird durch Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NAD) in Gegenwart des Enzyms Glutamat-Dehydrogenase (GIDH) oxidativ desaminiert zu 2-Oxoglutarat (1).



Das entstehende NADH setzt Jodnitrotetrazoliumchlorid (INT) in Gegenwart von Diaphorase zu einem Formazan um, welches im Maximum im sichtbaren Bereich bei 492 nm gemessen wird (2).



Das Gleichgewicht der Reaktion (1) liegt auf der Seite von L-Glutamat. Durch Abfangen des gebildeten NADH mit INT (2) wird das Gleichgewicht auf die Seite von 2-Oxoglutarat verschoben.

Die Test-Combination enthält

1. Flasche 1 mit ca. 25 ml Lösung, zusammengesetzt aus: Kaliumphosphat/Triethanolamin-Puffer, pH ca. 8,6; Polidocanol.
2. Drei Flaschen 2 mit je ca. 35 mg Lyophilisat, zusammengesetzt aus: Diaphorase, ca. 4 U; NAD, ca. 28 mg
3. Flasche 3 mit Jodnitrotetrazoliumchlorid-Lösung, ca. 2,5 ml
4. Flasche 4 mit ca. 1,2 ml Glutamat-Dehydrogenase-Lösung, ca. 1080 U
5. Flasche 5 mit L-Glutaminsäure-Testkontroll-Lösung zur Testkontrolle (Die Messung der Testkontroll-Lösung ist nicht erforderlich zur Berechnung von Ergebnissen.). Testkontroll-Lösung unverdünnt verwenden. (Verwendbar bis: s. Packungsetikett).

Herstellung der Lösungen

1. Inhalt der Flasche 1 unverdünnt verwenden.
2. Inhalt einer Flasche 2 mit 2,5 ml bidest. Wasser lösen.
3. Inhalt der Flasche 3 mit 6 ml bidest. Wasser verdünnen.
4. Inhalt der Flasche 4 unverdünnt verwenden.

Stabilität der Reagenzien

Lösung 1 ist stabil bei 2-8°C (s. Packungsetikett).

Lösung 1 vor Gebrauch auf 20-25°C bringen.

Der Inhalt der Flaschen 2 ist stabil bei 2-8°C (s. Packungsetikett).

Lösung 2 ist bei 2-8°C 1 Woche haltbar.

Lösung 2 vor Gebrauch auf 20-25°C bringen.

Der Inhalt der Flasche 3 ist stabil bei 2-8°C (s. Packungsetikett).

Lösung 3 ist im Dunkeln gelagert bei 2-8°C 3 Monate, bei 20-25°C 1 Monat haltbar.

Lösung 3 vor Gebrauch auf 20-25°C bringen.

Der Inhalt der Flasche 4 ist stabil bei 2-8°C (s. Packungsetikett). Eine schwache Opaleszenz bzw. geringe Trübung ist ohne Einfluss auf die Funktionsfähigkeit.

Bestimmungsansatz

Wellenlänge: (Hg) 492 nm

Glasküvette¹: 1,00 cm Schichtdicke

Temperatur: 20-25°C

Testvolumen: 3,030 ml

Messung gegen Luft (im Strahlengang keine Küvette), gegen Wasser oder Leerwert

Probeflösung: 0,4-14 µg L-Glutaminsäure/Testansatz² (in 0,200-2,000 ml Probevolumen)

1 Anstelle von Glasküvetten sind auch handelsübliche Einwegküvetten geeignet.

2 Siehe Hinweise zur Testdurchführung

3 Bei Serienanalysen können die Lösungen 1, 2 und 3 vorgemischt werden. Von dieser Reagenzienmischung (bei 20°C im Dunkeln etwa 1 Stunde stabil) 1,000 ml zum Test einsetzen.

4 **INT ist lichtempfindlich. Nach Zugabe von Lösung 3 dürfen die Küvetten nicht im Licht stehen.**

5 Werden bei der Berechnung über den Extinktionskoeffizienten systematisch zu niedrige Ergebnisse erhalten (und können grobe Fehler bei der Durchführung der Bestimmung ausgeschlossen werden), so wird die Berechnung über einen Standard empfohlen.

BOEHRINGER MANNHEIM / R-BIOPHARM
Enzymatische BioAnalytik / Lebensmittelanalytik

Nur zur Verwendung in der Lebensmittelhygiene.

Lagern bei 2-8°C

Methoden-Empfehlungen und standardisierte Verfahren siehe unter Literatur (2)

In Küvetten pipettieren	Leerwert	Probe
Lösung 1 ³	0,600 ml	0,600 ml
Lösung 2 ³	0,200 ml	0,200 ml
Lösung 3 ^{3,4}	0,200 ml	0,200 ml
Probeflösung bzw. Testkontroll-Lsg.* bidest. Wasser	- 2,000 ml	0,200 ml 1,800 ml

mischen**, nach 2 min Extinktionen der Lösungen messen (E₁). Messung nach 2 min wiederholen.

Wenn eine Extinktionsänderung von grösser als 0,010 beobachtet wird, muss die Probe entsprechend Pkt. 7.3 (Entfernung reduzierender Verbindungen) vorbehandelt werden. Wird jedoch eine Extinktionsänderung von kleiner als 0,010 beobachtet, so ist eine Vorbehandlung der Probe entsprechend Pkt. 7.3 nicht erforderlich, wenn die Reaktion unmittelbar nach der letzten Extinktionsmessung gestartet wird durch Zugabe von

Lösung 4	0,030 ml	0,030 ml
----------	----------	----------

mischen**, Stillstand der Reaktion abwarten (ca. 15 min), Extinktionen von Leerwert und Probe unmittelbar nacheinander messen (E₂), Messung nach weiteren 2 min wiederholen.

Falls die Reaktion nicht zum Stillstand gekommen ist, Extinktionen weiter in 2 min-Abständen messen, bis eine konstante Extinktionszunahme pro 2 min erreicht ist.

* Vor der Dosierung der Probeflösung bzw. Standardlösung Enzymtest-Messpipette bzw. Pipettenspitze der Kolbenhubpipette mit der Probeflösung bzw. Standardlösung vorspülen.

** Z. B. mit Rührspatel oder durch Umschwenken nach Verschliessen z.B. mit Parafilm (Warenzeichen der American Can Company, Greenwich, Ct., USA)

Bei konstanter Extinktionszunahme bei E₂ wird die Extinktion auf die Zeit der Zugabe von Lösung 4 (GIDH) extrapoliert. (Tritt bei Leerwert und Probe eine gleiche Extinktionszunahme auf, so kann auf eine Extrapolation verzichtet werden, wenn zur Berechnung der Extinktionsdifferenzen (E₂-E₁) die unmittelbar nacheinander gemessenen Werte für Leerwert und Probe herangezogen werden.)

Für Leerwert und Probe Extinktionsdifferenzen (E₂-E₁) berechnen. Extinktionsdifferenz des Leerwertes von Extinktionsdifferenz der Probe abziehen.

$$\Delta E = (E_2 - E_1)_{\text{Probe}} - (E_2 - E_1)_{\text{Leerwert}}$$

Die gemessene Extinktionsdifferenz sollte zur Erzielung eines ausreichend präzisen Ergebnisses in der Regel mindestens 0,100 Extinktionseinheiten betragen (s. "Hinweise zur Testdurchführung" und "Empfindlichkeit und Nachweisgrenze", Pkt.4).

Berechnung mit Extinktionskoeffizient⁵

Nach der allgemeinen Berechnungsformel für die Bestimmung der Konzentration gilt:

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

V = Testvolumen [ml]

v = Probevolumen [ml]

MG = Molekulargewicht der zu bestimmenden Substanz [g/mol]

d = Schichtdicke [cm]

ε = Extinktionskoeffizient von Formazan bei 492 nm

$$= 19,9 \text{ [l} \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}\text{]}$$

Hieraus ergibt sich für L-Glutaminsäure:

$$c = \frac{3,030 \times 147,13}{19,9 \times 1,00 \times 0,200 \times 1000} \times \Delta E = 0,1120 \times \Delta E \text{ [g L-Glutaminsäure/l Probeflösung]}$$

Ist bei der Vorbereitung der Probe eine Verdünnung vorgenommen worden, muss das Ergebnis mit dem Verdünnungsfaktor F multipliziert werden.

Berechnung mit Standard⁵

Nach der allgemeinen Berechnungsformel für die Bestimmung der Konzentration unter Bezug auf einen Standard gilt:

$$c = \frac{\Delta E_{\text{Probe}}}{\Delta E_{\text{Standard}}} \times c_{\text{Standard}} \text{ [g/l Probelösung]}$$

Die Konzentration der Probelösung errechnet sich aus der Konzentration der Standardlösung.

$$c = \frac{\Delta E_{\text{Probe}}}{\Delta E_{\text{Standard}}} \times c_{\text{Standard}} \text{ [g L-Glutaminsäure/l Probelösung]}$$

Ist bei der Vorbereitung der Probe eine Verdünnung vorgenommen worden, muss das Ergebnis mit dem Verdünnungsfaktor F multipliziert werden.

Bei der Analyse fester und halbfester Proben, die für die Vorbereitung der Probe eingewägt werden, wird das Analyseergebnis auf die Einwaage bezogen:

$$\text{Gehalt}_{\text{L-Glutaminsäure}} = \frac{c_{\text{L-Glutaminsäure}} \text{ [g/l Probelösung]}}{\text{Einwaage}_{\text{Probe}} \text{ in g/l Probelösung}} \times 100 \text{ [g/100 g]}$$

1. Hinweise zur Testdurchführung

Im Testansatz muss die L-Glutaminsäuremenge zwischen 0,4 µg und 14 µg betragen. Zur Erzielung einer ausreichend hohen Extinktionsdifferenz ist die Probelösung soweit zu verdünnen, dass die L-Glutaminsäure-Konzentration maximal 0,07 g/l beträgt.

Verdünnungstabelle

Geschätzte Menge an L-Glutaminsäure im Liter	Verdünnung mit Wasser	Verdünnungsfaktor F
< 0,07 g	-	1
0,07-0,7 g	1 + 9	10
0,7-7 g	1 + 99	100
> 7 g	1 + 999	1000

Ist die gemessene Extinktionsdifferenz (ΔE) zu klein (z.B. < 0,100), so ist die Probelösung erneut herzustellen (höhere Einwaage oder weniger starke Verdünnung), oder das in die Küvette zu pipettierende Probevolumen (v) ist bis auf 2,000 ml zu erhöhen. In diesem Fall ist das Volumen der hinzuzufügenden Wassermenge entsprechend zu verringern, so dass in den Ansätzen für Probe und Leerwert das gleiche Testvolumen vorliegt. Das geänderte Probevolumen v ist in die Berechnungsformel entsprechend einzusetzen.

2. Technische Hinweise

2.1 Bei Serienanalysen können die Lösungen 1, 2 und 3 vorgemischt werden. Die Mischung ist im Dunkeln aufbewahrt bei 20-25°C ca. 1 Stunde stabil. Zur Bestimmung 1,000 ml des Reagenziengemischs zum Test einsetzen.

2.2 Nach Zugabe von INT (Lösung 3 oder Reagenziengemisch) ist das Reaktionssystem lichtempfindlich (Tages- und Kunstlicht). Die Inkubation muss im Dunkeln erfolgen:

- Bei Inkubation im Photometer Küvettenraum des Photometers und Lichtweg schliessen.
- Küvetten mit lichtundurchlässigem Deckel abdecken oder in einem verschliessbaren Schrank aufbewahren.

2.3 Die Berechnung der Ergebnisse erfolgt üblicherweise als L-Glutaminsäure (Molmasse 147,13). Bei der Berechnung als mono-Natrium-Glutamat Monohydrat („MSG“) ist die Molmasse 187,13 zu verwenden (bei der enzymatischen Bestimmung wird das Glutamat-Ion gemessen).

3. Spezifität der Bestimmung (Lit. 1)

Die Bestimmung ist spezifisch für L-Glutaminsäure.

Bei der Analyse der Reinsubstanz L-Glutaminsäure sind Ergebnisse von ca. 99% zu erwarten.

4. Empfindlichkeit und Nachweisgrenze (Lit. 1.2)

Die geringste Extinktionsdifferenz, die das Verfahren unterscheiden kann, beträgt 0,005 Extinktionseinheiten. Das entspricht bei einem maximal einzusetzenden Probevolumen $v = 2,000$ ml einer L-Glutaminsäure-Konzentration von 0,06 mg/l Probelösung (bei $v = 0,100$ ml entsprechend 0,3 mg/l Probelösung).

Die Nachweisgrenze von 0,2 mg L-Glutaminsäure/l ergibt sich aus der Extinktionsdifferenz von 0,020 und dem maximalen Probevolumen $v = 2,000$ ml.

5. Linearität

Linearität der Bestimmung ist gegeben von 0,4 µg L-Glutaminsäure/Ansatz (0,2 mg L-Glutaminsäure/l Probelösung; Probevolumen $v = 2,000$ ml) bis 14 µg L-Glutaminsäure/Ansatz (0,07 g L-Glutaminsäure/l; Probevolumen $v = 0,200$ ml).

6. Präzision

Bei einer Doppelbestimmung, ausgehend von einer Probelösung, ist mit Unterschieden bei den Extinktionsdifferenzen von 0,005 bis 0,010 Extinktionseinheiten zu rechnen. Das entspricht bei einem Probevolumen $v = 0,200$ ml einer Konzentration von ca. 0,5-1 mg L-Glutaminsäure/l. (Ist bei der Vorbereitung der Probe eine Verdünnung vorgenommen worden, ist mit dem Verdünnungsfaktor F zu multiplizieren. Bei einer Einwaage von 1 g Probe/100 ml = 10 g/l sind die zu erwartenden Unterschiede ca. 0,005-0,01 g/100 g.)

In der Literatur sind folgende Daten veröffentlicht:

VK = 0,8 % L-Glutaminsäure-Lösung (Lit. 1.1)

VK = 0,81 % L-Glutaminsäure-Lösung (n = 15)

VK = 0,88 % L-Glutaminsäure-Lösung (n = 15) (Lit. 1.2)

Fleischwurst:

$x = 0,13$ g/100 g $r = 0,01$ g/100 g $s_{(r)} = \pm 0,0035$ g/100 g

$R = 0,013$ g/100 g $s_{(R)} = \pm 0,0047$ g/100 g

Tomatenmark:

$r = 0,08$ g/100 g $s_{(r)} = \pm 0,03$ g/100 g

$R = 0,11$ g/100 g $s_{(R)} = \pm 0,04$ g/100 g (Lit. 2.3)

7. Störungen

7.1 Ist in einer Probe die NH_4^+ -Konzentration höher als die L-Glutamat-Konzentration, so läuft die Reaktion **langsamer** ab.

7.2 Test-Kombinationen, die nach Ablauf der Haltbarkeitsfrist gebraucht werden, oder Reagenzienmischungen aus Diaphorase, NAD und INT, die vor ihrer Verwendung über eine Stunde bei 20-25°C aufbewahrt werden (siehe³), verursachen eine verzögerte Reaktion bzw. führen zu einer Schleichreaktion, die durch Extrapolieren von E_2 auf den Zeitpunkt der Zugabe von Lösung 4 (GIDH) bei der Berechnung berücksichtigt werden muss.

7.3 Hohe Konzentrationen an reduzierenden Substanzen, z. B. L-Ascorbinsäure in Kutterhilfsmitteln oder schweflige Säure in Fruchtsäften, stören den Test, da sie mit INT reagieren und eine Schleichreaktion verursachen. Diese Störung wird durch Vorbehandlung der Probe mit H_2O_2 eliminiert:

Eine Probemenge, die ca. 2 mg L-Glutaminsäure enthält, in 50 ml-Messkolben einwägen bzw. einpipettieren, wenn erforderlich, nach Verdünnung. Mit Wasser auf 40 ml auffüllen, 0,5 ml KOH (2M) und 0,01 ml H_2O_2 30% (w/v) zugeben und 10 min bei ca. 70°C inkubieren. Mit H_2SO_4 (1 M) auf pH 7-8 einstellen und Lösung auf 20-25°C abkühlen. Zur Marke mit Wasser auffüllen, mischen, filtrieren.

8. Erkennen von Störungen

8.1 Ist die Umsetzung von L-Glutaminsäure nach der unter "Bestimmungsansatz" angegebenen Zeit beendet, so kann im allgemeinen auf einen störungsfreien Ablauf geschlossen werden.

8.2 Nach Ablauf der Reaktion kann durch Zugabe von L-Glutaminsäure (qualitativ oder quantitativ) die Reaktion wieder gestartet werden: Die erneute Änderung der Extinktion nach Zugabe des Standardmaterials ist ein Beweis für den störungsfreien Ablauf der Bestimmung.

8.3 Grobe Fehler beim Testansatz und Störungen der Bestimmung durch Inhaltsstoffe der Probe können auch erkannt werden, wenn aus einer Probelösung eine Doppelbestimmung mit verschiedenen Probevolumina (z.B. 0,100 ml und 0,200 ml) ausgeführt wird: Die gemessenen Extinktionsdifferenzen müssen den eingesetzten Probevolumina proportional sein.

Bei der Analytik fester Proben wird die Einwägung verschiedener Mengen (z.B. 1 g und 2 g) in 100 ml-Messkolben empfohlen. Bei gleichen Probevolumina für die Testansätze muss Proportionalität zwischen Extinktionsdifferenz und Einwaage gegeben sein.

8.4 Störungen der Bestimmung durch Inhaltsstoffe der Probe können weiterhin durch Mitführen eines internen Standards erkannt werden: Neben Probe-, Leerwert- und Standardansatz wird ein weiterer Ansatz mit Probe- und Testkontroll-Lösung analysiert. Aus den ermittelten Extinktionsdifferenzen wird die Wiederfindung berechnet.

8.5 Verluste während der Vorbereitung der Probe können durch Wiederfindungsversuche erkannt werden: Die Probe wird mit und ohne zugesetztem Standardmaterial vorbereitet und anschliessend gemessen. Der Zusatz muss (innerhalb des Analysenfehlers) quantitativ wiedergefunden werden.

9. Gefährlichkeit der Reagenzien

Die Reagenzien zur Bestimmung von Glutaminsäure enthalten gefährliche Stoffe oder Zubereitungen im Sinne der Gefahrstoffverordnung, des Chemikaliengesetzes oder der EG-Richtlinien 67/548 und 99/45 und deren Änderungs- und Anpassungsrichtlinien. Weitere Informationen finden Sie in den Sicherheitsdatenblättern und auf dem Etikett der betroffenen Flaschen.

10. Allgemeine Hinweise zur Vorbereitung der Proben

Flüssige, klare, farblose oder gefärbte und annähernd neutrale Proben direkt, nach Verdünnen gemäss Verdünnungstabelle oder mit einem Probevolumen bis 2,000 ml zum Test einsetzen;

trübe Lösungen filtrieren;

Kohlensäure-haltige Proben (z.B. durch Filtration) entgasen;

saure Proben mit Kalilauge, Natronlauge oder durch Zugabe von Natriumbicarbonat auf ca. pH 8 einstellen;

feste und halbfeste Proben zerkleinern oder homogenisieren, mit Wasser extrahieren bzw. lösen, wenn nötig filtrieren;

Protein-haltige Proben mit Perchlorsäure enteiuweissen;

Fett-haltige Proben mit heissem Wasser extrahieren (Extraktionstemperatur über dem Schmelzpunkt des jeweiligen Fettes), zur Abscheidung des Fettes abkühlen lassen, Messkolben bis zur Marke auffüllen, 15 min in Eisbad stellen.

11. Anwendungsbeispiele

Bestimmung von L-Glutaminsäure in Sojasosse und Würze

Probe gemäss Verdünnungstabelle verdünnen und zum Test einsetzen.

Bestimmung von L-Glutaminsäure in Fleischextrakt, Brüh- und Suppenwürfeln

Ca. 1g Probe genau einwiegen und in ca. 70 ml Wasser lösen, 10 min bei etwa 70°C erhitzen, abkühlen lassen auf 20-25°C; in 100 ml-Messkolben überführen und mit Wasser bis zur Marke auffüllen; umschütteln und zur Fettabtrennung durch ein Filter, welches mit der Lösung angefeuchtet wurde, filtrieren. Ist die Lösung noch trübe, so wird noch einmal durch dasselbe Filterpapier filtriert. Klare Lösung zum Test einsetzen, ggf. verdünnen (s. Verdünnungstabelle).

Bestimmung von L-Glutaminsäure in Fleisch-Erzeugnissen (Wurst)

Ca. 10 g kleingeschnittene Wurstprobe genau einwiegen und mit 80 ml Perchlorsäure (1 M) 10 min lang im Homogenisator (oder Ultra-Turrax-Gerät oder IKA-Mühle) homogenisieren, anschliessend zentrifugieren, Überstand dekantieren und filtrieren. Vom Filtrat die ersten ml verwerfen. 20 ml Filtrat im Becherglas mit Kalilauge (2 M), auf pH 10,0 einstellen (Volumen an Kalilauge messen). Zur quantitativen Fällung des gebildeten Kaliumperchlorats 20 min ins Eisbad oder in den Kühlschrank stellen; filtrieren. Klare Lösung zum Test einsetzen, ggf. verdünnen (s. Verdünnungstabelle). Bei der Berechnung Wassergehalt der Probe berücksichtigen.

Zur Berechnung des Gehalts (in g/100 g) nach der unter "Berechnung" angegebenen Formel wird die Konzentration der Probe in der Probelösung benötigt. Bei Anwendung der oben beschriebenen Vorbereitung der Probe und unter Berücksichtigung des Wassergehaltes der Probe berechnet sich die Einwaage der Probe nach:

$$\text{Einwaage}_{\text{Probe}} = \frac{a \times 1000 \times d}{(b + a \times w) \times (d + e)} \quad [\text{g/l}]$$

Hierbei sind:

- a: Einwaage der Probe in g
- b: Volumen Perchlorsäure in ml
- d: Volumen Filtrat für Neutralisation in ml
- e: Volumen KOH zur Neutralisation in ml
- w: Wasseranteil der Probe in (%w/w)/100
- 1000: Umrechnungsfaktor g in mg

(Die Dichte des Probe-eigenen Wassers bei 20-25°C ist praktisch gleich 1 g/ml und kann bei der Berechnung unberücksichtigt bleiben.)

Bestimmung von L-Glutaminsäure in Obst- und Gemüse-Erzeugnissen

Ca. 1 g der homogenisierten Probe genau einwiegen und mit ca. 50 ml Wasser extrahieren (10 min), im 100 ml-Messkolben mit Wasser bis zur Marke auffüllen; mischen, filtrieren. Klare Lösung zum Test einsetzen, ggf. verdünnen (s. Verdünnungstabelle).

Im allgemeinen ist Entfärben der Probe nicht notwendig. Soll dennoch entfärbt werden, kann die Probelösung mit 1% Polyamidpulver oder Polyvinylpyrrolidon (PVPP) durch kurzes Rühren (1 min) und anschliessendes Filtrieren entfärbt werden.

12. Weitere Anwendungsmöglichkeiten

Die Methode ist auch anwendbar bei der Untersuchung von Pharmaka und in der Forschung bei der Analytik von biologischen Proben. Zu Probenahme, Behandlung und Stabilität der Probe s. Lit. 1.1, 1.2.

Bestimmung von L-Glutaminsäure in Fermentationsproben und Zellkulturmedien

Analysenprobe, ggf. nach Zentrifugation, zum Abstoppen enzymatischer Vorgänge 15 min in Wasserbad (80°C) stellen und anschliessend zentrifugieren. Überstand, ggf. gemäss Verdünnungstabelle verdünnt, zur Bestimmung einsetzen. (Alternativ kann auch eine Enteiuweissung mit Perchlorsäure erfolgen. Siehe die oben beschriebenen Anwendungsbeispiele.)

Gallertartige Agar-Medien mit Wasser homogenisieren und wie oben beschrieben weiterbehandeln.

Literatur

- 1.1 Beutler, H.-O. & Michal, G. (1974) in Methoden der enzymatischen Analyse (Bergmeyer, H. U., Hrsg.) 3. Aufl., Bd. 2, S. 1753-1759, Verlag Chemie, Weinheim, und (1974) in Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer, H. U., ed.) 2nd ed., vol. 4, pp. 1708-1713, Verlag Chemie, Weinheim/Academic Press, Inc. New York and London
- 1.2 Beutler, H.-O. (1985) in Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer, H. U., ed.) 3rd. ed., vol. VIII, pp. 369-376, Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach/Florida, Basel
- 2.1 International Standard ISO 4134 (December 1978) Meat and meat products - Determination of L-(+)- glutamic acid content (Reference method)
- 2.2 Bundesverband der Deutschen Feinkostindustrie e.V. Bonn, Analysenmethoden: Bestimmung von L-Glutaminsäure in Tomatenmark (enzymatische Methode) IV/71 (Dezember 1979)
- 2.3 Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64. LFGB; Untersuchung von Lebensmitteln: Bestimmung von L-Glutaminsäure (L-Glutamat) in Fleischerzeugnissen, 07.00-17 (Juni 2008); Bestimmung von L-Glutaminsäure (L-Glutamat) in Wurstwaren, 08.00-19 (November 1981); Bestimmung der L-Glutaminsäure in Tomatenmark, 26.11.03-9 (Mai 1983); Bestimmung von L-Glutaminsäure in Tomatenketchup und vergleichbaren Erzeugnissen, 52.01.01-9 (November 1983)
- 2.4 Schweizerisches Lebensmittelbuch, Kapitel 61B (Enzymatische Bestimmungen)/4.1 (1981), Kapitel 12 (Fleischextrakte, Bouillon-Präparate, Sulzen)/13 (1981), Kapitel 13 (Würzen, Suppen, Saucen)/12 (1981)
- 2.5 Gombocz, E., Hellwig, E., Vojir, F. & Petuely, F. (1981) Deutsche Lebensmittel-Rundschau **77**, 4
- 2.6 Belgien: Bestimmung von Glutaminsäure in Suppen, konzentrierten und getrockneten Suppenprodukten, Warenwetgeving (Maart 1983)
- 2.7 Nordisk Metodikkommittée for Livsmedel - Nordic Committee on Food Analysis, L-Glutaminsyra och Mononatrium-Glutamat. Enzymatisk Bestämning i Fisk- och Köttvaror samt i Soppor - L-Glutamic Acid and Monosodium Glutamate. Enzymatic Determination in Meat and Fish and in Soups, UDC 547.466.64:577.15:637.5 No 138, 1991
- 2.8 Standard der Russischen Föderation / Standard of the Russian Federation / GOSSTANDART ROSSII GOST R 51198-98 (1998) Meat and meat products. Method for determination of L-(+)-glutamic acid content
- 3.1 Bauer, F. (1983) Freie Glutaminsäure in Fleischwaren, Ernährung/Nutrition **7**, 688
- 3.2 Ruf, F. & Siepe, V. (1983) Enzymatic method for the determination of "free" glutamic acid in soups, sauces and related products, alimentaria **22**, 177-180
- 3.3 Stamm, H. (1989) Zum Glutaminsäuregehalt von Leber, Lebensmittelchem. Gerichtl. Chem. **43**, 128-129
- 3.4 Fritsch, R.J., Martens, F. & Belitz, H.-D. (1992) Monitoring Cheddar cheese ripening by chemical indices of proteolysis; 1. Determination of free glutamic acid, soluble nitrogen, and liberated amino groups, Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung **194**, 330-336

L-Glutaminsäure-Testkontroll-Lösung (Flasche 5)

Konzentration: siehe Flaschenetikett

L-Glutaminsäure-Testkontroll-Lösung ist eine stabilisierte wässrige Lösung von L-Glutaminsäure. Sie dient als Testkontroll-Lösung für die enzymatische Bestimmung von L-Glutaminsäure in Lebensmitteln und anderen Probenmaterialien.

Andwendung:

1. Zusatz der L-Glutaminsäure-Testkontroll-Lösung zum Testansatz:

Die Testkontroll-Lösung wird anstelle der Probelösung zur Bestimmung eingesetzt.

2. "Quantitativer Nachstart":

Nach Ablauf der Reaktion mit Probelösung und Messung von E_2 werden 0,100 ml der Testkontroll-Lösung zum Probeansatz gegeben. Nach Ablauf der Reaktion (ca. 15 min) wird die Extinktion E_3 gemessen. Aus der Differenz ($E_3 - E_2$) wird nach der allgemeinen Berechnungsformel die Konzentration berechnet. Hierbei ist das geänderte Gesamtvolumen zu berücksichtigen. Wegen der Verdünnung des Testansatzes durch die Zugabe der Testkontroll-Lösung weicht das Ergebnis geringfügig von der Angabe des Flaschenetiketts ab.

3. Interner Standard:

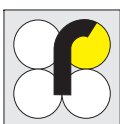
Zur Prüfung auf richtige und störungsfreie Durchführung der Bestimmung (keine groben Fehler bei Testansatz; Probe ist frei von Hemmsubstanzen) kann die Testkontroll-Lösung als interner Standard verwendet werden:

In Küvetten pipettieren	Leerwert	Probe	Standard	Probe + Standard
Lösung 1	0,600 ml	0,600 ml	0,600 ml	0,600 ml
Lösung 2	0,200 ml	0,200 ml	0,200 ml	0,200 ml
Lösung 3	0,200 ml	0,200 ml	0,200 ml	0,200 ml
Probelösung	-	0,200 ml	-	0,100 ml
Testkontroll-Lsg.	-	-	0,200 ml	0,100 ml
bidest. Wasser	2,000 ml	1,800 ml	1,800 ml	1,800 ml

mischen, nach ca. 2 min Extinktionen der Lösungen messen (E_1). Weiter verfahren wie im Arbeitsschema bei "Bestimmungsansatz" angegeben. Die entsprechenden Fussnoten und "Hinweise" zur Testdurchführung sind zu beachten.

Die Wiederfindung des Standards berechnet sich nach:

$$\text{Wiederfindung} = \frac{2 \times \Delta E_{\text{Probe + Standard}} - \Delta E_{\text{Probe}}}{\Delta E_{\text{Standard}}} \times 100 [\%]$$



R-BIOPHARM AG
An der neuen Bergstraße 17
D-64297 Darmstadt
Telefon + 49 61 51 / 81 02-0
Fax + 49 61 51 / 81 02-20
www.r-biopharm.com

