

Best. Nr. GLY 742
Inhalt: 40 Tests

Methode
Enzymatischer Farbttest, GPO-PAP-Methode

	GK	
Glycerin + ATP	→	Glycerin-3-phosphat + ADP
	GPO	
Glycerin-3-phosphat + O ₂	→	Dihydroxyaceton- Phosphat + H ₂ O ₂
	Peroxidase	
H ₂ O ₂ + 2,4-Dichlorphenol	→	Chinoniminfarbstoff
+ 4-Aminophenazon		

Reagenz

Inhalt / Konzentrationen:

- Startreagenz (Kappen in PE-Flasche)
L-Glycerin-3-phosphat-oxidase (GPO) aus Mikroorganismen > 3,5 kU/L, Glycerokinase (GK) aus *Bacillus stearothermophilus* > 0,9 kU/L, Peroxidase (POD) > 3,5 kU/L, ATP 2,4 mmol/L, 4-Aminophenazon 0,15 mmol/L
- Pufferlösung (vorportioniert in Rundküvetten)
2,4-Dichlorphenol 4 mmol/L, Natriumazid < 0,1 %, Triton X-100 < 1%, PIPES-Puffer 50 mmol/L, pH 7,5

Sicherheitshinweis

Die Pufferlösung (Rundküvette) enthält Natriumazid (< 0,1 %) und Triton X-100 (< 1%). Verschlucken, Berührung mit der Haut und Schleimhäuten vermeiden. Ein Sicherheitsdatenblatt steht auf unserer Webseite zur Verfügung.¹⁾

Lagerung und Haltbarkeit

Die Testreagenzien sind bei +2°C bis +8°C bis zu dem auf der Packung angegebenen Verfalldatum haltbar. Schraubkappen erst unmittelbar vor der Messung aus dem Behälter entnehmen.

Messbedingungen

Messgerät: Biodiesel Photometer Diaglobal

Messwellenlänge: 520nm

Temperatur: Raumtemperatur

Der Algorithmus zur Berechnung des Analyseergebnisses ist in dem genannten Photometer einprogrammiert.

Arbeitsanleitung für wässrige Lösungen

Probenmaterial

Glycerinphase aus der Biodieselherstellung, glycerinhaltige wässrige Lösungen

Arbeitsanleitung

A. Glycerinpräparate

Probe 1:1000 wie folgt verdünnen:
Genau 1,26 g des Glycerinproduktes auf der Analysenwaage abwiegen, in VE-Wasser lösen und im Messkolben auf 1L auffüllen.
Von dieser Lösung 10 µL zur Bestimmung einsetzen.
Die Bestimmung kann als Einzelmessung oder in Serie (mit Saldierung der E(0)-Werte = Nullpunkte) durchgeführt werden.

In Rundküvette pipettieren:	
	Analyse
Verdünnte Probe	10 µL
Mischen	

- Test <GLY wäss.> anwählen
- Küvette mit Probe in das Photometer einsetzen (Nullpunkteinstellung)
- Kappe aus der PE-Flasche aufschrauben und Startreagenz durch mehrmaliges Kippen aus der Kappe lösen
- Taste [ON/ENTER] drücken
- Küvette sofort wieder in das Photometer einsetzen
- Nach Ablauf der Reaktionszeit wird das Messergebnis der Probe in mg/dL und % angezeigt

Berechnung

Angezeigtes Ergebnis = GLY [mg/dL]*
= GLY [%]**

* Glycerin-Konzentration d. wässrigen Lösung

** Glycerin-Gehalt d. unverdünnten Probe in %

Messbereich

12,6 - 200 mg/dL bzw. 10 - 110 %

Liegt die Glycerinkonzentration unter 10%, ist das Verdünnungsverhältnis entsprechend zu modifizieren.

Zum Beispiel:

Probe 1: 100 verdünnen (Ergebnis / 10) bzw.

Probe 1: 10 verdünnen (Ergebnis / 100)

B. Wässrige Glycerinlösungen

1 mL Lösung auf 1 L (1:1000) mit VE-Wasser verdünnen. 10 µL zur Bestimmung einsetzen.

Testdurchführung wie oben angegeben.

Richtigkeitskontrolle

Die Richtigkeit der Messung kann durch Mitführen eines Vergleichspräparates (z.B. Glycerin p.a., Merck) überprüft werden.

Arbeitsanleitung für organische Proben

Probenmaterial

Biodiesel (Endprodukt)
Biodiesel-Phase während des Herstellprozesses

Zusätzlich erforderlich:

LH 051 Reaktionsgefäße mit Styroporperlen

Arbeitsanleitung

Die Bestimmung wird als Einzelmessung durchgeführt. Die wasserunlöslichen Fettsäuremethylester, die eine starke Trübung der Pufferlösung verursachen würden, werden durch Adsorption an Styroporperlen aus dem Bestimmungsansatz entfernt.

- **1000 µL** VE-Wasser in das Reaktionsgefäß mit Styroporperlen geben
- **20 µL** Biodiesel auf die Styroporperlenschicht auftragen und Kapillarpipette mit der wässrigen Lösung spülen
- Inhalt des Reaktionsgefäßes durch mehrfaches kräftiges Schütteln vermischen
- 1 Minute stehen lassen
- **500 µL** der wässrigen Lösung in die Pufferlösung GLY 742 pipettieren
- Test <GLY org.> anwählen
- Küvette mit Probe in das Photometer einsetzen (Nullpunkteinstellung)
- Kappe aus der PE-Flasche aufschrauben und Startreagenz durch mehrmaliges Kippen aus der Kappe lösen
- Taste [ON/ENTER] drücken
- Küvette sofort wieder in das Photometer einsetzen
- Nach Ablauf der Reaktionszeit (2 - 3 Min.) wird das Messergebnis in Ma% im Display angezeigt

Berechnung

Konzentration des Glycerins:

c (mg/dL) = Ext x Faktor

Umrechnung in Massenprozent :

c (Ma%) = c (mg/dL) / Dichte (Biodiesel) / 1000

Dieser Wert wird vom Gerät ausgegeben.

Die Dichte des Biodiesels ist mit 0,8776 g/cm³ angesetzt.

Messbereich

0,001 - 0,250 Ma%

Verdünnen bei Überschreitung des Messbereiches

Erscheint im Display die Anzeige GLY > 0,25 Ma%, liegt der Glyceringehalt oberhalb des Messbereiches.

In diesem Falle empfiehlt es sich, die im Reaktionsgefäß enthaltene wässrige Restlösung mit VE-Wasser 1:20 zu verdünnen und die Bestimmung mit 500 µL dieser Verdünnung zu wiederholen. Ergebnis x 20

Hinweise

- Soll die Glycerinkonzentration lediglich zur Korrektur des Triglyceridwertes ermittelt werden, empfiehlt es sich, die Bestimmung nach dem Arbeitsgang TRI 742 durchzuführen (Reagenz: GLY 742, Mode <TRI>, Ergebnis in g/dL TRI).
- Das Gesamt-Glycerin - also die Summe aus freiem und in den Mono-, Di-, und Triglyceriden gebundenem Glycerin nach EN 14105 kann ebenfalls mit dem Triglyceridtest TRI 742 bestimmt werden.

Hinweise zur Entsorgung

Abfallschlüsselnummer 180106:

Küvetten mit Reagenz gelten als Sonderabfall. Reagenz nicht in Oberflächenwasser oder die Kanalisation gelangen lassen.

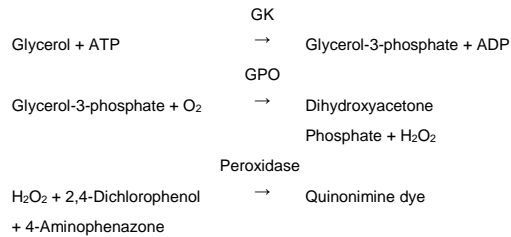
Entsorgung gemäß den behördlichen Vorschriften. Nichtkontaminierte und restentleerte Verpackungen können einer Wiederverwertung zugeführt werden.

Literatur

- <http://www.diaglobal.de>

Order No. GLY 742
Contents: 40 tests

Method
 Enzymatic colorimetric test, GPO-PAP method



Reagents
 Contents / concentrations of the ready-to-use solution:

1. Starter reagent (screw caps)
 - L-glycerol-3-phosphate-oxidase (GPO) from microorganisms > 3.5 kU/L, Glycerokinase (GK) from bacillus stearothermophilus > 0.9 kU/L, Peroxidase (POD) >3.5 kU/L, ATP 2.4 mmol/L, 4-Aminophenazone 0.15 mmol/L
2. Buffer solution (pre-portioned in round cuvettes)
 - 2,4-Dichlorophenol 4 mmol/L, Sodium azide < 0.1 %, Triton X-100 < 1%, PIPES-buffer 50 mmol/L, pH 7.5

Safety information
 The buffer solution (round cuvette) contains sodium azide (< 0.1 %) and Triton X-100. Do not swallow and avoid contact with skin and mucous membranes. A safety data sheet is available on our website.¹⁾

Storage and shelf life
 The test reagents can be kept at a temperature between +2°C and +8°C until the expiry date indicated on the packaging. Please take the screw caps out of the container just before the analysis.

Measurement conditions
 Measurement device: Biodiesel Photometer Diaglobal

Meas. wavelength: 520nm

Temperature: Room temperature

The algorithm to compute the analysis result is coded in the above-named photometer.

Working instructions for aqueous solutions

Sample material
 Aqueous glycerol solutions

A. Compounds of glycerol
 Dilute sample 1 : 1000 in this way: Weigh exactly 1.26 g from the glycerol compound, dilute with dest. water and fill up to 1 L in volumetric flask. Take 10 µL from this solution for measurement.
 The measurement can be performed as a single as well as a serial measurement (with a balancing of the A (0) values = blank values).

Pipette into round cuvette:	
	Analysis
Sample	10 µL
Mix thoroughly	

- Select <GLY aqu.>
- Insert analysis cuvette (blank value)
- Screw the cap from PE-bottle onto the cuvette, dissolve the starter reagent by inverting several times
- Press [ON/ENTER]
- Insert cuvette into the photometer immediately
- After the end of the reaction the measurement result of the sample is shown in mg/dL and in % resp.

Calculation
 Result on display = GLY [mg/dL]
 = GLY [%]

Measurement range
 12.6 - 200 mg/dL resp. 10 - 110 %

B. Aqueous glycerol solutions
 Fill up 1 mL solution to 1 L (1:1000) with dest. water. Take 10 µL from this solution for measurement. Procedure of measurement like stated above. If the glycerol concentration is expected to be less than 10%, please dilute as follows:
 Dilute sample 1: 100, result / 10
 Dilute sample 1: 10, result / 100

Note
 For the calculation of the glycerol concentration in percent v/v, the density of glycerol 1.26 g/cm³ has been used.

Working instructions for biodiesel

Sample material
 Biodiesel

Additionally required:
LH 051 Reaction tubes with polystyrene pearls

Working instructions
 Indissoluble fatty acid methyl ester wick may be create a turbidity in buffer solution will be eliminated through the adsorption on polystyrene pearls.

- Pipette **1000 µL** dest. water in reaction tube with polystyrene pearls
- Pipette **20 µL** biodiesel with micropipettor on polystyrene pearls and wash out well
- Mix thoroughly by shaking it well
- Wait 1 minute
- Pipette **500 µL** aqueous solution into cuvette GLY 742 with buffer solution
- Select <GLY org.>
- Insert analysis cuvette (blank value)
- Screw the screw cap from PE-bottle onto the cuvette, dissolve the starter reagent by inverting several times
- Press [ON/ENTER]
- Insert cuvette into the photometer immediately
- At the end of the reaction time (2 - 3 min) the measurement result will be displayed in Ma%

Calculation:
 Concentration of glycerol:
 $c \text{ (mg/dL)} = \text{absorbance} \times \text{factor}$
 $c \text{ (Ma \%)} = c \text{ (mg/dL)} / \text{density (biodiesel)} / 1000$
 This value is shown on the display.
 Density of biodiesel: 0.8776 g/cm³ has been used

Measurement range
 0.001 - 0.250 Ma%

Dilute when exceeding the measurement range
 In case of exceeding measurement range, on display will shown > 0.25 Ma%. In that case dilute the rest aqueous solution of reaction tube with dest. water (1:20) and repeat the measurement with 500 µL of this dilution.
 Result x 20

Note
 If the glycerol concentration required only for correction of triglycerid value please perform the measurement with reagent GLY 742 in mode <TRI>. Result in g/dL TRI

Information on disposal
 Waste code number 180106:
 Vials with reagent are considered hazardous waste. Do not allow reagent to reach surface water or sewage system. Dispose of in accordance with official regulations. Non-contaminated and completely empty packaging can be recycled.

Bibliography
 1. <http://www.diaglobal.de>