

# Zitronensäuretest

## Zitronensäuretest im Ejakulat

für 96 photometrische Bestimmungen des Zitronensäuregehaltes im Seminalplasma auf einer Mikrotiterplatte, CE-gekennzeichnet

**Bestellnr.: 3050**



### Inhalt:

**Reagenz 1:** 1 Flasche mit 20 ml

Eisen (III)chloridlösung - (schäumt leicht - nicht schütteln!)

**Reagenz 2:** 1 Flasche mit 10 ml Isopropanol

**Reagenz 3:** 1 Flasche mit 2 ml Zitronensäurestandard  
(4 mg / ml = 20,79 mM)

### Lagerung:

Bei Raumtemperatur zwischen 2 und 25°C lagern. Vor Licht schützen.

### Haltbarkeit:

12 Monate ab Herstellungsdatum.

### Hinweis:

Für jede Charge ist ein Analysenzertifikat online bei [www.fertipro.com](http://www.fertipro.com) erhältlich.

FertiKult Gück GmbH  
Zietenstraße 25a  
10783 Berlin

Tel. 030 - 21 47 37 38  
Fax 030 - 21 47 37 39

[office@fertikult.de](mailto:office@fertikult.de)  
[www.fertikult.de](http://www.fertikult.de)



## Anwendungsbereich

Die Sekrete der Prostata drüse bilden zu etwa 1/3 das die Spermatozoen enthaltende Seminalplasma. Der Gehalt an Zitronensäure im Seminalplasma ermöglicht eine zuverlässige Aussage über die sekretorische Aktivität der Prostata drüse (Comhaire 1986).

## Gebrauchsanleitung

### Weitere benötigte Materialien:

- Mikrotiterplattenleser / Photometer (405 nm Filter)
- Mikropipetten und Spritzen
- Zentrifugenröhrchen
- Mikrotiterplatte
- Reagenzröhrchen oder Eppendorfreaktionsgefäße

### Testprinzip:

Der Zitronensäuretest erfolgt in 2 Schritten:

- a) Spermatozoen und Bruchstücke werden mit Hilfe von Isopropanol aus dem Seminalplasma entfernt.
- b) Nach der Zentrifugation wird eine Eisenchloridlösung zu einer definierten Menge Seminalplasma hinzugefügt. Die Eisenionen bilden zusammen mit Citrat einen Komplex, der die Lösung gelb einfärbt. Die Intensität der Farbe steht in direkter Beziehung zu der Menge an Citrat und kann mit einem Photometer oder Mikrotiterplattenleser bestimmt werden.

### Durchführung:

1. Mischen Sie 100µl Reagenz 2 mit 100µl Samen oder Seminalplasma (Probenlösung).
2. Vermischen Sie 100µl Zitronensäurestandard (Reagenz 3) mit 100µl Reagenz 2 (Standardlsg.).
3. Zentrifugieren Sie die Proben- und Standardlösung jeweils 10 Minuten bei mindestens 1500 g.
4. Pipettieren Sie jeweils 25µl des Überstandes sehr vorsichtig, um keinerlei Sediment aufzunehmen, in eine leere Vertiefung der Mikrotiterplatte. Bei trübem Überstand zentrifugieren Sie nochmals für 10 Minuten mit höherer Geschwindigkeit.
5. Fügen Sie 200µl Reagenz 1 langsam zu jeder Vertiefung hinzu.
6. Messen Sie die optische Dichte (OD) der Probenlösung und der Standardlösung bei 405 nm.



Berechnung der Gesamtmenge an Zitronensäure:

Der gemessene Wert der Probe ( $OD_{\text{Probe}}$ ) wird durch den Wert der Standardlösung ( $OD_{\text{Standard}}$ ) dividiert und mit der Konzentration der Standard-lösung (4 mg / ml) multipliziert.

$$\text{Zitronensäure [mg/ml]} = OD_{\text{Probe}} / OD_{\text{Standard}} \times 4 \text{ [mg/ml]}$$

Um die Gesamtmenge an Zitronensäure zu ermitteln, wird das Ergebnis mit dem Gesamtvolumen der Samenprobe oder des Seminalplasmas multipliziert. Ein Wert von 52 mMol/Ejakulat wird als normal angesehen (WHO 1992).

Reproduzierbarkeit des Zitronensäuretests:

4 verschiedene Proben wurden jeweils 10x auf ihren Gehalt an Zitronensäure untersucht:

Mittelwert [mg/ml]	10,69	10,97	10,65	11,91
S.D.	0,521	0,581	0,796	0,648
V.C. (%)	4,87	5,29	7,47	5,44

5 Proben wurden auf 0, 1, 2 und 3 mg Zitronensäure eingestellt und dann mit dem Zitronensäuretest untersucht. Die gemessenen Ergebnisse wurden gegen eine Standard kurve mit Zitronensäure bestimmt:

eingestellt [mg]	0	1	2	3
gemessen [mg]	0	1,2	1,9	3,4
Wiederfundrate	(-)	120%	95%	115%

Berechnung der Umdrehungszahl der Zentrifuge:

Die Umdrehungszahl Ihrer Zentrifuge kann mit folgender Formel ermittelt werden:

$$\begin{aligned} \text{Upm} &= \text{Umdrehungen pro Minute} \\ r &= \text{Radius der Zentrifuge in mm} \\ \text{Upm} &= (g / (1,118 \times r))^{1/2} \times 1000 \end{aligned}$$

Beispiel: Sie wollen bei 300g zentrifugieren. Der Radius beträgt 100 mm. Bei wieviel Upm müssen Sie zentrifugieren?

$$\text{Upm} = (300 / 1,118 \times 100)^{1/2} \times 100 = (2,68)^{1/2} \times 1000 = \underline{\underline{1638}}$$



### Sicherheitshinweis:

**Reagenz 1:** gesundheitsschädlich bei Verschlucken; hautreizend; nicht in die Augen gelangen lassen

**Reagenz 2/3:** hochentzündlich, Reizungen der Augen möglich, Dämpfe können zu Benommenheit und Schwindel führen.

Alle humanen organischen Substanzen sollten als potentiell infektiös betrachtet werden. Behandeln Sie alle Proben so, als ob sie HIV oder Hepatitis übertragen könnten. Tragen Sie immer Sicherheitskleidung wenn Sie mit Proben und Reagenzien arbeiten (Handschuhe, Kittel, Augen-/Gesichtsschutz).

