

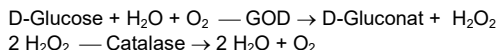
Zur Entfernung eines Glucose-Überschusses in Proben
Reagenzien für 32 Tests

Nur für den Laborgebrauch
Lagerung zwischen 2 und 8 °C

Testprinzip

Einige Test-Kits aus der Roche-Produktlinie beruhen auf der Bestimmung von Glucose, sodass die freie Glucose in einer zweiten Küvette gemessen und abgezogen werden muss (Lactose / Glucose, Saccharose / Glucose, Maltose und Stärke).

Diese Tests sind in ihrer Leistungsfähigkeit begrenzt, wenn die Probe einen Glucose-Überschuss enthält, weil dadurch der ΔA-Unterschied zwischen den zwei Küvetten zu niedrig und nicht reproduzierbar ist (Δ A < 0,100). Aus diesem Grund enthalten die relevanten Packungsbeilagen ein besonderes Verfahren, um den Überschuss an Glucose mittels der Enzyme Glucose-Oxidase (GOD) und Catalase zu entfernen:



Das vorliegende Test-Kit enthält alle Reagenzien, um dieses Verfahren für 32 Proben anzuwenden.

Reagenzien

- # 1: Reagenz 1 (Puffer): 1 Flasche, ca. 70 ml
- # 2: Reagenz 2 (GOD): 1 Flasche (roter Deckel), ca. 3,5 ml
- # 3: Catalase: 1 Flasche (schwarzer Deckel), ca. 1,0 ml
- # 4: Control sample: 1 Flasche (weißer Deckel), ca. 10 ml (Glucose 25 g/L, Lactose 1 g/L, Saccharose 1 g/L)

Alle Reagenzien sind gebrauchsfertig. Sie sind bei 2 - 8 °C bis zum Ende der Haltbarkeit stabil (siehe Etikett). Reagenzien vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur (20 – 25°C) bringen und vorsichtig mischen. Nach dem Gebrauch sofort wieder verschließen.

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.

Anwendungsbeispiele

Bestimmung von Lactose in Lactose-freien Proben (in Anlehnung zur deutschen § 64-Methode L 01.00-90)

Diese Methode ist für flüssige, feste oder pastöse Proben geeignet, weil die Carrez-Klärung zuerst stattfindet:

- Für feste Proben, eine repräsentative Menge an Proben entnehmen (50 – 100 g) und homogenisieren.
- Ca. 25 g Milch in einem Becherglas genau einwiegen, 25 ml dest. Wasser zugeben und mischen. Für Käse oder Joghurt ca. 15 - 20 g genau einwiegen, 30 ml Wasser zugeben und mischen, dann 20 min auf 50°C erhitzen.
- 5 ml von den Carrez-I (3,6 g K₄[Fe(CN)₆]x3H₂O / 100 ml) und Carrez-II-Lösungen (7,2 g ZnSO₄ x7H₂O / 100 ml) zugeben und nach jeder Zugabe gut mischen.
- Mit 1 M NaOH (ca. 3,5 ml) den pH-Wert auf 7,0 bis 7,5 einstellen.
- Probe in einen 100 ml Messkolben überführen, mit dest. Wasser bis zur Marke auffüllen, mischen und filtrieren.
- 5 ml des Filtrats in ein 50 ml Röhrchen pipettieren. Für die Kontrolle (Flasche 4), 1 ml Probe und 4 ml Wasser pipettieren.
- Nacheinander 2 ml Triethanolamin-Puffer (Reagenz 1), 100 µl GOD-Lösung (Reagenz 2), 10 µl Catalase und 2,890 ml dest. Wasser zugeben (alternativ 2,840 ml Wasser und 50 µl H₂O₂ 30% zugeben). Um Schaumbildung zu vermeiden, eventuell einen Tropfen Octan-1-ol zugeben.
- Röhrchen verschließen, Inhalt vorsichtig mischen und 3 Std. unter leichtem Schütteln inkubieren (Horizontalschüttler).
- Röhrchen in kochendem Wasser für 15 min erhitzen, dann abkühlen lassen.
- Probe mischen; Lactose-Glucose Test **mit 500 µl Filtrat** durchführen (H₂O entsprechend reduzieren), mit 40 min für die erste Inkubation (β-Galactosidase), 20 min für die Glucose-Reaktion, Faktor 2 für die Berechnung der Proben und Faktor 10 für die Kontrolle.

Bestimmung von Lactose in Lactose-freier Milch oder Joghurt (vereinfachte Methode, nur für flüssige Proben)

Milchproben sind flüssig und gebrauchsfertig. Für Joghurt wird die Flüssigkeit wie folgt gewonnen:

- Joghurt homogenisieren und ca. 50 g Joghurt in 50 ml Röhrchen mehrmals verteilen (z. B. 4 x 50 g)
- Zentrifugieren bei 3500 g für 10 min. (2 - 8°C) und Überstände zusammenführen bis insgesamt mehr als 10 ml vorhanden sind
- 10 ml Probe in ein 50 ml Röhrchen pipettieren, 5 ml dest. Wasser zugeben und pH auf 7,6 mit NaOH (1M) einstellen; mit dest. Wasser bis auf 20 ml auffüllen (Verdünnungsfaktor 1:2)
- in der Methode (siehe unten) wird das Probenvolumen auf 2 ml erhöht, sodass die Verdünnung der Probe bei 1:10 erhalten bleibt

Die Entfernung von Glucose setzt sich aus 3 Schritten zusammen (GOD-Inkubation, Carrez-Klärung und pH Einstellung):

In 50 ml Röhrchen pipettieren	Control sample (ml)	Milch (ml)	Joghurt (ml)
Puffer (Reagenz 1)	2,000	2,000	2,000
Probe	1,000	1,000	2,000
GOD (Reagenz 2)	0,100	0,100	0,100
Catalase	0,010	0,010	0,010
Bidest. Wasser	3,890	3,890	2,890

Vorsichtig mischen und 3 Std. auf Horizontalschüttler inkubieren (300 rpm). *Inkubation kann Übernacht stattfinden**

Auf 100°C für 15 min erhitzen (Enzym-Inaktivierung), dann auf Raumtemperatur abkühlen lassen

Für Carrez-Klärung, bei jedem Schritt gut mischen:

Carrez-I-Lösung	0,500	0,500	0,500
Carrez-II-Lösung	0,500	0,500	0,500
NaOH (0,1 M)	1,000	1,000	1,000

Zentrifugieren (10 min bei 3000 g) und/oder filtrieren, 4,5 ml Überstand in ein 10 ml Röhrchen pipettieren und dazu geben:

HCl (0,1 M)	0,500	0,500	0,500
-------------	-------	-------	-------

Probe mischen. Lactose-Glucose Test **mit 500 µl Probe** durchführen (H₂O entsprechend reduzieren), 40 min für die erste Inkubation (β-Galactosidase), 20 min für die Glucose Reaktion und Faktor 10 für die Berechnung**.

* Für die Bestimmung von Saccharose/Glucose ist die Inkubation auf 3 Stunden begrenzt: wenn man über Nacht inkubiert kann ein Teil der Saccharose verloren gehen, weil eine Nebenaktivität der GOD zu einer Teilhydrolyse führt.

** Für Saccharose/Glucose wird der Test mit 500 µl Probe, 40 min Inkubation für die β-Fruktosidase, 20 min für die Glucose Reaktion und Faktor 10 für die Berechnung durchgeführt. Eine Applikation für Honigproben ist auf Anfrage erhältlich.

Hinweise

- Die untere Nachweisgrenze des Lactose-Glucose Tests liegt bei 7 mg/l mit v = 0,500 ml und ΔA = 0,020. Weil die Probe 1:10 verdünnt ist, liegt die Grenze bei 70 mg/l (< 0,01%).
- Der Lactose-Glucose Test zeigt Kreuz-Reaktionen mit Galactooligosacchariden (GOS), welche in Lactose-armer Milch vorhanden sein könnten. In diesem Fall ist es nicht möglich den Lactose-Rest unter 0,03 % zu quantifizieren.

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.

