

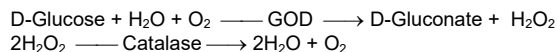
Élimination d'un excès de Glucose dans les échantillons
Réactifs pour 32 échantillons

Réactifs de laboratoire uniquement
Conserver entre +2 et +8°C

Principe

Plusieurs test enzymatiques de la gamme Roche passent par le dosage du Glucose, ce qui conduit à mesurer le Glucose libre dans une seconde cuvette pour pouvoir le soustraire (Lactose / Glucose, Sucrose / Glucose, Maltose et Amidon).

Ces tests ne fonctionnent pas correctement si l'échantillon contient un excès de Glucose, car la différence entre les deux cuvettes sera faible et non-reproductible ($\Delta A < 0,100$). Pour cette raison, les instructions de ces tests indiquent une procédure spéciale pour éliminer un excès de Glucose, ceci grâce à l'utilisation des enzymes Glucose Oxidase (GOD) et catalase:



Le coffret présent contient les réactifs nécessaires pour traiter 32 échantillons selon cette procédure.

Réactifs

- # 1: Reagent 1 (buffer): 1 flacon, env. 70 ml
- # 2: Reagent 2 (GOD): 1 flacon (bouchon rouge), env. 3,5 ml
- # 3: Catalase: 1 flacon (bouchon noir), env. 1,0 ml
- # 4: Control sample: 1 flacon (bouchon blanc), env. 10 ml (Glucose 25 g/L, Lactose 1 g/L, Sucrose 1 g/L)

Les réactifs sont prêts à l'emploi. Ils sont stables entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption indiquée. Amener les réactifs jusqu'à t° ambiante (20 – 25°C) avant utilisation. Mélanger doucement avant pipetage. Fermer immédiatement après utilisation.

Ce coffret peut contenir des substances dangereuses pour la santé. Pour avoir les informations sur les dangers des substances présentes, merci de se référer aux fiches de sécurité appropriées (MSDS) disponibles sur notre site internet www.r-biopharm.com. Après utilisation, les réactifs doivent être éliminés comme déchets de laboratoire. Les emballages peuvent être recyclés.

Exemples d'applications

Détermination du Lactose dans des produits dé lactosés (sur la base de la loi allemande § 64 - L 01.00-90)

Cette méthode est adaptée aux produits liquides ou solides, parce qu'elle débute par la clarification de Carrez :

- Pour des échantillons solides, prendre un échantillon représentatif (50 – 100 g) et mixer (tamiser si nécessaire).
- Peser avec précision env. 25 g de lait dans un bécher, ajouter 25 ml d'eau et mélanger; pour le fromage (solide) ou le yaourt (semi-solide), peser avec précision 15 – 20 g d'échantillon préparé comme ci-dessus et ajouter 30 ml d'eau, chauffer à 50°C pendant 20 min en agitant.
- Ajouter et bien mélanger à chaque étape les solutions de Carrez: 5 ml Carrez-I (3,6 g $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ / 100 ml) puis 5 ml Carrez-II (7,2 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ / 100 ml).
- Ajuster le pH à 7,0 – 7,5 avec NaOH (1 M, env. 3,5 ml).
- Transférer quantitativement l'échantillon dans une fiole jaugée de 100 ml, remplir à la marque et filtrer.
- Pipeter 5 ml du filtrat dans un tube de 50 ml tube (type Falcon). Pour le contrôle (fl. 4), pipeter 1 ml d'échantillon et 4 ml d'eau.
- Ajouter successivement 2 ml de tampon triéthanolamine (réactif 1), 100 µl de GOD (réactif 2), 10 µl de Catalase et 2,890 ml d'eau (il est aussi possible d'ajouter 2,840 ml d'eau et 50 µl de H_2O_2 30%). Pour éviter la mousse, il est possible d'ajouter une goutte d'octanol.
- Mélanger doucement pendant 3 h (agitateur rotatif).
- Chauffer dans de l'eau bouillante pendant 15 min, ensuite laisser refroidir.
- Mélanger, effectuer le test Lactose-Glucose **avec 500 µl d'échantillon** (réduire H_2O proportionnellement), 40 min pour la réaction avec la β -Galactosidase, 20 min pour la réaction du Glucose, facteur 2 pour le calcul des échantillons et facteur 10 pour le contrôle.

Détermination du lactose dans le lait ou le yaourt dé lactosés (procédure simplifiée pour échantillons liquides uniquement)

Les échantillons de lait sont liquides donc prêts à l'emploi. Pour le yaourt, le liquide est extrait par centrifugation:

- Homogénéiser l'échantillon de yaourt et verser env. 50 g dans des tubes de 50 ml (ex. 4 tubes x 50 g)
- centrifuger à 3500 g pendant 10 min. (2 - 8°C) et rassembler les surnageants pour avoir plus de 10 ml au total
- transférer 10 ml de surnageant dans un tube de 50 ml, ajouter 5 ml d'eau dist. et ajuster le pH à 7,6 avec NaOH (1M); ajuster à 20 ml avec de l'eau dist. (soit une dilution au 1/2)
- dans la procédure ci-dessous, le volume échantillon est à 2 ml pour que la dilution finale soit aussi au 1/10^{ème}.

L'élimination du Glucose se déroule en 3 étapes (incubation avec la GOD, clarification de Carrez et enfin ajustement du pH):

Pipeter dans des tubes de 50 mL tubes:	Control sample (ml)	Lait (ml)	Yaourt (ml)
Tampon (reagent 1)	2.000	2.000	2.000
Echantillon	1.000	1.000	2.000
GOD (reagent 2)	0.100	0.100	0.100
Catalase	0.010	0.010	0.010
Eau bidistillée	3.890	3.890	2.890
Mélanger doucement, incuber 3 h sur agitateur horizontal (300 rpm). <i>L'incubation peut être réalisée pendant une nuit *</i>			
Chauffer 15 min à 100 °C (inactivation des enzymes), ensuite laisser refroidir à t° ambiante			
Pour la clarification de Carrez, ajouter et mélanger à chaque étape :			
Carrez-I-solution	0.500	0.500	0.500
Carrez-II-solution	0.500	0.500	0.500
NaOH (0,1 M)	1.000	1.000	1.000
Centrifuger 10 min à 3000 g et/ou filtrer le surnageant. Transférer 4,5 ml de surnageant dans un tube de 10 ml et ajouter :			
HCl (0,1 M)	0.500	0.500	0.500
Mélanger, ensuite réaliser le test Lactose/Glucose avec 500 µl d'échantillon (réduire H_2O proportionnellement), 40 min d'incubation pour la β -Galactosidase, 20 min pour la réaction du Glucose et facteur 10 pour la dilution**			

* Pour le dosage du Sucrose/Glucose, l'incubation est limitée à 3 h: si l'on incubé toute la nuit, une partie du Sucrose est perdue à cause d'une activité résiduelle de la GOD qui provoque une hydrolyse partielle du Sucrose.

** Pour le Sucrose/Glucose, le test est réalisé avec 500 µl d'échantillon, 40 min d'incubation pour la β -Fructosidase, 20 min pour la réaction du Glucose et facteur 10 pour le calcul des résultats. Une application pour les échantillons de miel est disponible sur demande.

Notes

- La limite inférieure du test Lactose-Glucose est à 7 mg/l avec $v = 0,500$ ml et $\Delta A = 0,020$. Comme l'échantillon est dilué au 1:10 durant la préparation, la limite est à 70 mg/l (< 0,01%).
- Le test Lactose-Glucose test montre des réactions croisées avec les Galacto-oligosaccharides (GOS) qui peuvent être présents dans le lait dé lactosé. Dans ce cas il n'est pas possible de quantifier le reste de lactose en dessous de 0,03 %.

Clause de responsabilité: Ces données correspondent à nos connaissances techniques actuelles et fournissent des informations sur nos produits et leur utilisation. R-Biopharm ne donne aucune garantie d'aucune sorte, exprimée ou implicite, en dehors du fait que les matières premières utilisées pour la fabrication de ce produit sont de qualité standard. Les produits défectueux seront remplacés. Il n'y a aucune garantie sur la valeur marchande ce produit, ou de son adéquation à un but quelconque. R-Biopharm ne pourra être tenu responsable pour aucun dommage, y compris dommages spéciaux ou indirects, ou pour des dépenses résultant directement ou indirectement de l'utilisation de ce produit.