

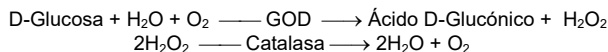
Para la eliminación del exceso de Glucosa en muestras  
Reactivos para 32 muestras

Para uso "in vitro" solamente  
Conservar entre +2 y +8°C

### Principio

Algunos test enzimáticos de la línea Roche se basan en la determinación de Glucosa, lo que lleva a tener que medir la Glucosa libre en una segunda cubeta y substraerla del test principal (Lactosa/Glucosa, Sacarosa/Glucosa, Maltosa y Almidón).

Estos test no funcionan correctamente si la muestra contiene un exceso de Glucosa, porque la diferencia entre las dos cubetas será muy pequeña y no reproducible ( $\Delta A < 0,100$ ). Por esta razón, las instrucciones de estos test indican un procedimiento especial para eliminar este exceso de Glucosa, mediante el uso de las enzimas Glucosa oxidasa (GOD) y catalasa:



El presente kit contiene los reactivos necesarios para tratar 32 muestras según este procedimiento.

### Reactivos

- # 1: Reactivo 1 (tampón): 1 frasco, aprox. 70 ml
- # 2: Reactivo 2 (GOD): 1 frasco (tapón rojo), aprox. 3,5 ml
- # 3: Catalasa: 1 frasco (tapón negro), aprox. 1,0 ml
- # 4: Muestra de control: 1 frasco (tapón blanco), aprox. 10 ml (Glucosa 25 g/L, Lactosa 1 g/L, Sacarosa 1 g/L)

Los reactivos están listos para utilizar. Son estables entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad indicada. Atemperar los reactivos a temperatura ambiente (20°–25° C) antes de su uso. Mezclarlos suavemente antes de pipetear. Cerrarlos inmediatamente después de su uso.

Este kit puede contener sustancias perjudiciales para la salud. Las advertencias sobre los componentes de este producto están en la correspondiente ficha de datos de seguridad de nuestra página web [www.r-biopharm.de](http://www.r-biopharm.de). Tras su uso, los reactivos pueden ser desechados como residuos de laboratorio. Los embalajes pueden ser reciclados.

### Ejemplos de aplicaciones

#### Determinación de Lactosa en productos delactosados (sobre la base de la ley alemana § 64 - L 01.00-90)

Este método es aplicable tanto a productos líquidos como sólidos, ya que primero hay una clarificación por "Carrez", seguido de una oxidación de la glucosa:

- Para sólidos, tomar una muestra representativa (50 - 100 g), moler y homogenizar cuidadosamente (filtrar si es necesario).
- Pesar con precisión unos 25 g de leche en un recipiente adecuado, añadir 25 ml de agua y mezclar con un agitador magnético. Para queso (sólido) o yogur (semisólido), pesar con precisión 15 - 20 g de muestra preparada como arriba y añadir 30 ml de agua, calentar a 50°C durante 20 min agitando.
- Añadir y mezclar bien después de cada paso las soluciones 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) y 5 ml Carrez-II (7,2 g  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ /100 ml).
- Ajustar el pH a 7,0 - 7,5 con NaOH (1 M, aprox. 3,5 ml).
- Transferir el preparado a un matraz aforado de 100 ml, enrasar con agua destilada y filtrar.
- Pipetear 5 ml del filtrado en un tubo de 50 ml tubo (tipo Falcon). Para el control (frasco 4), pipetear 1 ml de control y 4 ml de  $\text{H}_2\text{O}$ .
- Añadir sucesivamente 2 ml de tampón trietanolamina (reactivo 1), 100 µl de solución GOD (reactivo 2), 10 µl de Catalasa y 2,890 ml de agua (alternativa: añadir 2,840 ml de agua y 50 µl de  $\text{H}_2\text{O}_2$  30%). Para evitar la formación de espuma, se puede añadir una gota de octanol.
- Mezclar suavemente durante 3 h (agitador rotatorio).
- Poner el tubo en agua hirviendo durante 15 min y luego dejar enfriar.
- Mezclar y utilizar **500 µl de la muestra** para el test de Lactosa-Glucosa, 40 min para la reacción con la β-Galactosidasa, 20 min para la reacción de la Glucosa, utilizar un factor de 2 para calcular las muestras y un factor de 10 para el control.

#### Determinación de lactosa en leche o yogur delactosado (procedimiento simplificado para muestras líquidas)

Las muestras de leche son líquidas y no necesitan preparación. Para yogur, el líquido es extraído mediante centrifugación:

- Homogenizar la muestra de yogur y repartir unos 50 g en varios tubos de 50 ml (ej. 4 tubos x 50 g)
- centrifugar a 3500 g durante 10 min (2-8°C) y reunir el sobrenadante de todos los tubos para tener más de 10 ml en total
- transferir 10 ml del sobrenadante en un tubo de 50 ml, añadir 5 ml de agua dest. y ajustar el pH a 7,6 con NaOH (1M); ajustar a 20 ml con agua dest. (o sea un dilución de 1/2)
- en el procedimiento siguiente, el volumen de muestra será de 2 ml para que la dilución final sea de 1/10.

La eliminación de la Glucosa se desarrolla en 3 etapas (incubación con la GOD, precipitación Carrez y por último el ajuste del pH):

Pipetear en tubos de 50 ml	Muestra control (ml)	Leche (ml)	Yogur (ml)
Tampón (reactivo 1)	2,000	2,000	2,000
Muestra	1,000	1,000	2,000
GOD (reactivo 2)	0,100	0,100	0,100
Catalasa	0,010	0,010	0,010
Agua bidestilada	3,890	3,890	2,890
Mezclar suavemente e incubar 3 h en agitador horizontal (300 rpm). <i>La incubación puede realizarse durante la noche*</i>			
Calentar 15 min a 100 °C (inactivación de las enzimas), a continuación dejar enfriar a temperatura ambiente			
<b>Para la clarificación Carrez, mezclar bien después de cada paso</b>			
Solución Carrez-I	0,500	0,500	0,500
Solución Carrez-II	0,500	0,500	0,500
NaOH (0,1 M)	1,000	1,000	1,000
<b>Centrifugar 10 min a 3000 g y/o filtrar.</b>			
<b>Transferir 4,5 ml de sobrenadante en un tubo de 10 ml y añadir</b>			
HCl (0,1 M)	0,500	0,500	0,500
Mezclar y realizar el test Lactosa/Glucosa <b>con 500 µl de muestra</b> , (reducir $\text{H}_2\text{O}$ concordantemente), 40 min de incubación para la β-Galactosidasa, 20 min para la reacción de la Glucosa y factor de dilución de 10**			

\* Para el test de Sacarosa/Glucosa, la incubación se limita a 3 h: si se incuba toda la noche, se pierde una parte de Sacarosa debido a una actividad residual de la GOD que causa su hidrólisis parcial.

\*\* Para la Sacarosa/Glucosa, el test se realiza con 500 µl muestra, 40 min. de incubación para la β-Fruktosidasa, 20 min. para la reacción de la Glucosa y factor de 10 para el cálculo de los resultados. Una aplicación para las muestras de miel está disponible sobre pedido.

### Notas

- El límite de detección más bajo del test de Lactosa-Glucosa es de 7 mg/l con  $v = 0,500$  ml y  $\Delta A = 0,020$ . Como la muestra se diluye 1:10 durante la preparación, el límite es de 70 mg/l (< 0.01%).
- El ensayo Lactosa-Glucosa muestra reacciones cruzadas con los Galactooligosacáridos (GOS), los cuales pueden estar presentes en la leche delactosada. En ese caso no es posible cuantificar el resto de lactosa por debajo de un 0,03%.

**Aviso:** Los datos corresponden con el estado actual de la tecnología y facilitan información sobre nuestros productos y sus usos. R-Biopharm no ofrece ninguna garantía, ni expresa ni implícita, excepto que los reactivos con los que están hechos los productos son de una calidad estándar. Los productos defectuosos serán reemplazados. No se ofrece garantía de comerciabilidad o aptitud para un uso o destino específico. R-Biopharm no asumirá en ningún momento responsabilidad alguna por posibles daños directos, indirectos o sobre los costos como consecuencia del uso de este producto.