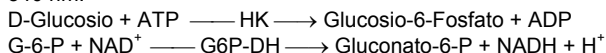


Determinazione enzimatica del D-Glucosio in prodotti alimentari
2 x 50 ml R1 + 2 x 12,5 ml R2 (50 prove)

Solo per uso *in vitro*
Conservare tra +2 e +8 °C

Principio

Test enzimatico con Esochinasi (HK) e Glucosio-6-Fosfato Deidrogenasi (G-6-P DH). Il NADH prodotto viene misurato a 340 nm:



Reagenti

I reagenti sono pronti all'uso:

#1: Reagente 1, ca. 50 ml x 2 flaconi (NAD, tampone)

#2: Reagente 2, ca. 12,5 ml x 2 flaconi (HK, G6P-DH)

Tutti i reagenti sono stabili fino alla fine del mese di scadenza indicato, se conservati a temperatura compresa tra 2 e 8°C. Non congelare i reagenti. Portare i reagenti a temperatura ambiente (20-25°C) prima dell'utilizzo.

Applicare le comuni norme di sicurezza necessarie in un laboratorio chimico. Non ingerire. Evitare il contatto con la pelle e le mucose.

Questo kit contiene sostanze pericolose. Per informazioni sul rischio delle sostanze contenute, fare riferimento alla scheda di sicurezza di questo prodotto, disponibile on line sul sito www.r-biopharm.com. Dopo l'impiego, i reattivi devono essere eliminati come rifiuti di laboratorio. Gli imballaggi possono essere riciclati.

Preparazione dei campioni

- I campioni liquidi limpidi e non colorati, a pH neutro possono essere utilizzati tal quali o dopo diluizione in un intervallo di concentrazione opportuno (vedere la sezione Performance del kit)
- Filtrare o centrifugare le soluzioni torbide
- Degassare i campioni contenenti anidride carbonica
- Chiarificare i campioni contenenti proteine o grassi con il reattivo di Carrez
- Macinare ed omogeneizzare i campioni solidi o semi-solidi ed estrarli in acqua. Filtrare o centrifugare, o utilizzare la chiarificazione di Carrez se necessario
- Per campioni contenenti grassi, pesare il campione in un provettone (da almeno 50 ml) ed estrarre con acqua calda; raffreddare consentendo al grasso di separarsi (ad esempio in un bagno di ghiaccio per 15 min); portare a volume con acqua, rimuovere lo strato di grasso sulla superficie e filtrare la fase acquosa prima dell'analisi
- Portare a pH di circa 8 aggiungendo KOH/NaOH a campioni acidi e HCl a soluzioni alcaline.

Procedure operative

Lunghezza d'onda: 340 nm, Hg 334 nm, Hg 365 nm

Cammino ottico: 1 cm

Temperatura: 20 - 25 °C / 37 °C

Misura: contro aria o acqua

Campioni: 20 - 1500 mg/l

	Bianco reagente (BR)	Campioni
Campione / Standard	-	100 µl
Acqua distillata	100 µl	-
Reagente 1	2000 µl	2000 µl
Mescolare, incubare 1 min a 37 °C o 3 min a 20 - 25 °C, leggere l'assorbanza A1, poi aggiungere:		
Reagente 2	500 µl	500 µl
Mescolare, attendere la fine della reazione (circa 10 min a 37°C o 15 min a 20 - 25°C), in seguito leggere l'assorbanza A2.		

Il bianco reattivo deve essere misurato una volta ad ogni serie, e sottratto ad ogni campione nel calcolo dei risultati.

Calcolo dei risultati

Soluzione campione

$$\Delta A = (A_2 - df \times A_1)_{\text{campione}} - (A_2 - df \times A_1)_{\text{BR}}$$

df (fattore di diluizione) = fattore di diluizione della densità ottica; corregge i valori di assorbanza sulla base dei volumi di reattivi aggiunti durante il test

$$df = (\text{campione} + R1) / (\text{campione} + R1 + R2) = 0,808.$$

$$c = (V \times MW \times \Delta A) / (\epsilon \times d \times v \times 1000) \quad [\text{in g/l di D-glucosio}] \text{ con:}$$

V	(volume totale)	= 2,600 [ml]
MW	(peso molecolare)	= 180,16 [g/mol]
d	(cammino ottico)	= 1,00 [cm]
v	(volume campione)	= 0,100 [ml]
ε	(Coefficiente di assorbanza del NADH) [l x mmol ⁻¹ x cm ⁻¹]:	
	340 nm = 6,3	334 nm = 6,18
		365 nm = 3,4

$$c = (2,600 \times 180,16 \times \Delta A) / (\epsilon \times 1 \times 0,1 \times 1000)$$

Ne risulta per una determinazione a 340 nm:

$$C_{\text{D-Glucosio}} [\text{g/l}] = 0,744 \times \Delta A$$

Campioni solidi

$$\text{Contenuto}_{\text{D-Glucosio}} [\text{g}/100 \text{ g}] = \frac{C_{\text{D-Glucosio}} [\text{g/l}]}{\text{Peso}_{\text{campione}} [\text{g/l}]} \times 100$$

Performance del test

Specificità

Il test è specifico per il D-Glucosio. Nessuna interferenza è stata osservata per il D-fruttosio, galattosio, lattosio, maltosio, mannitolo, sorbitolo e saccarosio. Il mannosio non mostra interferenze fino a 5 g/l, ma comporta recuperi troppo deboli a più alte concentrazioni.

Intervallo di misurazione

Il test misura la concentrazione in D-Glucosio da 20 a 1500 mg/l. Quando i valori superano questo range di misura, i campioni devono essere diluiti con acqua distillata tra 100 e 1500 mg/l. Moltiplicare il risultato ottenuto per il fattore di diluizione.

Sensibilità

Il limite inferiore di rivelazione (Ld) ed il limite di quantificazione (Lq) sono stati determinati secondo la norma DIN 32645:2008 - 11:

- Ld = 4.0 mg/l
- Lq = 10 mg/l

Automazione

Applicazioni per sistemi automatici sono disponibili su richiesta.

Dichiarazione liberatoria

I dati corrispondono al nostro attuale stato di tecnologia e forniscono informazioni sui nostri prodotti e sul loro uso.

R-Biopharm non fornisce alcuna garanzia, esplicita o implicita, oltre a quella relativa alla qualità standard dei materiali di cui sono costituiti i suoi prodotti. Nel caso tali materiali risultassero difettosi, R-Biopharm si impegna a fornire prodotti sostitutivi. Non esiste garanzia di commerciabilità o di idoneità del prodotto per uno scopo particolare. R-Biopharm non è da ritenersi responsabile per danni, ivi compresi danni speciali o indiretti, o spese derivanti direttamente o indirettamente dall'utilizzo del prodotto.