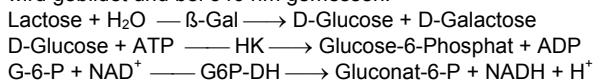


Enzymatische Bestimmung von Lactose/D-Glucose in Lebensmitteln und anderen Probenmaterialien
2 x 50 ml R1 / 2 x 12,5 ml R2 (50 Tests)

Nur für den Laborgebrauch
Lagerung bei 2 - 8 °C

Testprinzip

Enzymatische Bestimmung mit β-Galactosidase (β-Gal), Hexokinase (HK) und Glucose-6-Phosphat Dehydrogenase (G6P-DH). NADH wird gebildet und bei 340 nm gemessen:



Reagenzien

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.

Reagenz 1: zwei Flaschen ≥ 50 ml (NAD, β-Gal, ATP)

Reagenz 2: zwei Flaschen ≥ 12,5 ml (HK, G6P-DH)

Die Reagenzien sind bei 2 - 8 °C bis zum Monatsende der Haltbarkeit stabil (siehe Etikett). Reagenzien nicht einfrieren. Reagenzien vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) bringen.

Die üblichen Vorsichtsmaßnahmen beim Umgang mit Chemikalien sollten beachtet werden. Nicht verschlucken! Berührung mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.

Das 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.

Probenvorbereitung

- Klare Probelösungen direkt, bzw. nach Verdünnen in den angegebenen Messbereich (siehe Leistungsdaten) einsetzen
- Trübe Lösungen filtrieren oder zentrifugieren
- Kohlensäurehaltige Proben entgasen
- Protein- und fetthaltige Proben mit Carrez-Reagenzien klären
- Feste und halb feste Proben zerkleinern und homogenisieren und mit Wasser extrahieren; filtrieren oder zentrifugieren, oder bei Bedarf Carrez-Klärung anwenden
- Stark fetthaltige Proben in einen Messkolben (mind. 50 ml) einwiegen und mit heißem Wasser extrahieren; Probelösung zur Fettabcheidung abkühlen lassen (z. B. 15 min im Eisbad); Messkolben bis zur Marke mit Wasser auffüllen, Fettschicht entfernen und wässrige Lösung vor dem Testen filtrieren
- Stark alkalische oder stark saure Proben mit KOH / NaOH bzw. HCl auf ca. pH 7 einstellen

Test Durchführung

Wellenlänge: 340 nm
Schichtdicke: 1 cm
Temperatur: 20 - 25 °C
Messung: Gegen Luft oder Wasser
Probe: 30 - 2500 mg/l

	Reagenz Blank (RB)	Proben
Probe / Standard	-	100 µl
Bidest. Wasser	100 µl	-
Reagenz 1	2000 µl	2000 µl
Mischen, ca. 20 min bei 20 - 25 °C inkubieren. Extinktion E ₁ messen, dann zugeben:		
Reagenz 2	500 µl	500 µl
Mischen, bis zum Ende der Reaktion inkubieren (ca. 15 min bei 20 - 25 °C). Dann Extinktion E ₂ messen.		

Der Reagenzblank muss bei jedem Lauf einmal durchgeführt werden, und von jedem Probenergebnis abgezogen werden.

Berechnung der Ergebnisse

Gesamt Lactose (Lactose und D-Glucose)

$$\Delta A = (E_2 - df \times E_1)_{\text{Probe}} - (E_2 - df \times E_1)_{\text{RB}}$$

$$df = \text{Reagenzverdünnungsfaktor (Dilution factor)}$$

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

$$c = (V \times MG \times \Delta A) / (\epsilon \times d \times v \times 1000) \quad [\text{gesamt Lactose in g/l}]$$

$$c = (2,600 \times 342,30 \times \Delta A) / (\epsilon \times 1 \times 0,1 \times 1000)$$

Hieraus ergibt sich bei 340 nm ($\epsilon = 6,3 \text{ l} \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$):

$$C_{\text{Gesamt Lactose}} [\text{g/l}] = 1,413 \times \Delta A$$

Lactose

Das Ergebnis des Tests beinhaltet die Menge an Lactose plus freie D-Glucose in der Probe. Es wird mit dem Molekulargewicht der Lactose (342,3 g/mol) berechnet, also als "Gesamt Lactose" bezeichnet. Für die Differenzierung der zwei Zuckerarten muss die freie D-Glucose mit dem Enzytec™ Liquid D-Glucose Assay (E8140) getestet werden. Das Ergebnis wird unter Berücksichtigung des Verhältnisses im Molekulargewicht (Faktor 1,9) von der Gesamt-Lactose abgezogen:

$$C_{\text{Lactose}} [\text{g/l}] = C_{\text{Gesamt Lactose}} - 1,90 \times C_{\text{Glucose}}$$

Beispiel:

Gesamt Lactose (E8130)	1,500 g/l
D-Glucose (E8140)	0,400 g/l
Lactose = 1,500 g/l - 1,90 x 0,400 g/l	= 0,740 g/l

Bei einem Verhältnis von D-Glucose zu Lactose in der Probe größer als 10:1, ist die Präzision der Bestimmung von Lactose beeinträchtigt. Der Glucose Überschuss muss in diesem Fall mit dem Enzytec™ Glucose Remover (E3400) zerstört werden.

Berechnung bei Feststoffen

$$\text{Gehalt}_{\text{Analyt}} [\text{g}/100 \text{ g}] = \frac{C_{\text{Analyt}} [\text{g}/\text{l}]}{\text{Einwaage}_{\text{Probe}} [\text{g}/\text{l}]} \times 100$$

Leistungsdaten

Spezifität

Die Bestimmung ist spezifisch für Lactose und D-Glucose.

Messbereich

Der empfohlene Messbereich liegt zwischen 50 und 2500 mg/l (Lactose und D-Glucose). Wird dieser Bereich überschritten, sollten die Proben auf eine Konzentration von 100 bis 2500 mg/l verdünnt werden.

Sensitivität

Die untere Nachweisgrenze (LoD) und die Quantifizierungsgrenze (LoQ) wurden nach der Methode DIN 32645:2008-11 ermittelt:

- LoD = 30 mg/l (Gesamt Lactose)
- LoQ = 50 mg/l (Gesamt Lactose)

Automatisierung

Applikationen für Automaten sind auf Anfrage erhältlich.

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.