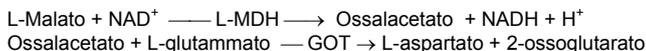


Determinazione enzimatica dell'acido L-Malico in matrici alimentari  
2 x 50 ml R1 + 2 x 12,5 ml R2 (50 prove)

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

**Principio**

Test enzimatico con L-Malato Deidrogenasi (L-MDH) e Glutammato-Ossalacetato-Transaminasi (GOT). Il NADH prodotto viene misurato a 340 nm:



**Reagenti**

I reagenti sono pronti all'uso:

- #1: Reagente 1, ca. 50 ml x 2 flaconi (tampone, GOT)
- #2: Reagente 2, ca. 12,5 ml x 2 flaconi (NAD, L-MDH)

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](http://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 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.

**Procedura operativa**

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 – 500 mg/l

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

$\Delta A = (A_2 - df \times A_1)_{\text{campione}} - (A_2 - df \times A_1)_{\text{BR}}$   
df (fattore di diluizione) = fattore di diluizione della densità ottica  
df = (campione + R1) / (campione + R1 + R2) = 0,808.

$c = (V \times MW \times \Delta A) / (\epsilon \times d \times v \times 1000)$  [in g/l di L-Malato] con:  
V (volume totale) = 2,600 [ml]  
MW (peso molecolare) = 134,09 [g/mol]  
d (cammino ottico) = 1,00 [cm]  
v (volume campione) = 0,100 [ml]  
 $\epsilon$  (Coefficiente di assorbanza del NADH) [ $l \times mmol^{-1} \times cm^{-1}$ ]:  
340 nm = 6,3      334 nm = 6,18      365 nm = 3,4

$c = (2,600 \times 134,09 \times \Delta A) / (\epsilon \times 1 \times 0,1 \times 1000)$

Ne risulta per una determinazione a 340 nm:

$C_{L\text{-Malato}} [g/l] = 0,5534 \times \Delta A$

**Campioni solidi**

Contenuto  $C_{L\text{-Malato}} [g/100 g] = \frac{C_{L\text{-Malato}} [g/l]}{\text{Peso campione} [g/l]} \times 100$

**Performance del test**

**Specificità**

Il test è specifico per l'acido L-Malico.

**Intervallo di misurazione**

Il test misura la concentrazione in acido L-Malico da 20 a 500 mg/l. Quando i valori superano questo range di misura, i campioni devono essere diluiti con acqua distillata tra 60 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.