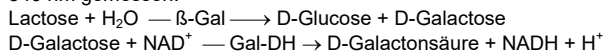


Enzymatische Bestimmung von Lactose/D-Galactose in Lebensmitteln und anderen Probenmaterialien  
2 x 50 ml R1 / 2 x 12,5 ml R2 (50 Tests)

Nur für den Laborgebrauch  
Lagerung bei 2 - 8 °C

**Testprinzip**

Enzymatische Bestimmung mit β-Galactosidase (β-Gal) und Galactose Dehydrogenase (Gal-DH). NADH wird gebildet und bei 340 nm gemessen:



**Reagenzien**

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.

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

# Reagenz 2: zwei Flaschen ≥ 12,5 ml (Gal-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](http://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 Fettabscheidung abkühlen lassen (z. B. 15 min im Eisbad); Messkolben bis zur Marke mit Wasser auffüllen, Fettschicht entfernen und wässrige Lösung vor dem Testen filtrieren

**Testdurchführung**

Wellenlänge: 340 nm  
Schichtdicke: 1 cm  
Temperatur: 20 - 25 °C  
Messung: Gegen Luft oder Wasser  
Probe: 30 - 2000 mg/l

	Reagenz Blank (RB)	Proben
<b>Probe / Standard</b>	-	100 µl
<b>Bidest. Wasser</b>	100 µl	-
<b>Reagenz 1</b>	2000 µl	2000 µl
Mischen, ca. 20 min bei 20 - 25 °C inkubieren. Extinktion E <sub>1</sub> messen, dann zugeben:		
<b>Reagenz 2</b>	500 µl	500 µl
Mischen und bis zum Ende der Reaktion inkubieren (≥ 15 min bei 25°C oder ≥ 40 min bei 20°C). Dann Extinktion E <sub>2</sub> messen.		

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

**Berechnung der Ergebnisse**

**Gesamt Lactose (Lactose und D-Galactose)**

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

df = Reagenzverdünnungsfaktor (Dilution factor)  
= (Probevolumen + R1) / (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-Galactose 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-Galactose mit dem Enzytec™ Liquid D-Galactose Assay (E8120) getestet werden. Das Ergebnis wird unter Berücksichtigung des Verhältnisses im Molekulargewicht (Faktor 1,9) von der Gesamt-Lactose abgezogen:

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

**Beispiel:**

Gesamt Lactose (E8110) 1,500 g/l  
D-Galactose (E8120) 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-Galactose zu Lactose in der Probe größer als 10:1, ist die Präzision der Bestimmung von Lactose beeinträchtigt.

**Leistungsdaten**

**Spezifität**

Die Bestimmung ist spezifisch für Lactose und freie D-Galactose. Gal-DH oxidiert außer D-Galactose auch L-Arabinose zu 100%. Alolactose und Lactulose werden von β-Gal mit ca. 80% bzw. 30% erkannt.

**Messbereich**

Der empfohlene Messbereich liegt zwischen 50 und 2000 mg/l (Lactose und D-Galactose). Wird dieser Bereich überschritten, sollten die Proben auf eine Konzentration von 100 bis 2000 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.