

Détermination enzymatique du Lactose / D-Galactose dans les produits alimentaires
2 x 50 ml R1 / 2 x 12,5 ml R2 (50 tests)

Pour usage *in vitro* uniquement
Conserver entre +2 et +8 °C

Principe

Test enzymatique avec la β-Galactosidase (β-Gal) et la Galactose déshydrogénase (Gal-DH). Le NADH produit est mesuré à 340 nm :
Lactose + H₂O — β-Gal —> D-Glucose + D-Galactose
D-Galactose + NAD⁺ — Gal-DH —> acide Galactonique + NADH

Réactifs

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

Réactif 1 : deux flacons ≥ 50 ml (NAD, β-Gal)

Réactif 2 : deux flacons ≥ 12,5 ml (Gal-DH)

Les réactifs sont stables jusqu'au dernier jour du mois indiqué, s'ils sont conservés entre 2 et 8 °C. Ne pas congeler les réactifs. Amener les réactifs à température ambiante avant utilisation (20 - 25 °C).

Appliquer les précautions habituelles en vigueur dans le laboratoire. Ne pas avaler ! Éviter tout contact avec la peau et les membranes muqueuses.

Ce coffret peut contenir des substances dangereuses pour la santé. Pour avoir les informations sur les dangers des substances présentes, merci de consulter les fiches de sécurité appropriées (MSDS) disponibles sur notre site Internet www.r-biopharm.com. Après utilisation, les réactifs doivent être éliminés comme déchets de laboratoire. Les emballages peuvent être recyclés.

Préparation des échantillons

- Utiliser des échantillons liquides et clairs directement dans le test. Si nécessaire, diluer l'échantillon (domaine de mesure).
- Filtrer ou centrifuger les solutions troubles.
- Éliminer le gaz carbonique des échantillons.
- Clarifier les échantillons contenant des protéines avec la méthode de Carrez.
- Ecraser et homogénéiser les échantillons solides et semi-solides et extraire avec de l'eau. Filtrer ou centrifuger, ou utiliser une clarification de Carrez si nécessaire.
- Pour les échantillons contenant des matières grasses, peser une quantité suffisante d'échantillon dans un flacon volumétrique (min. 50 ml) et extraire avec de l'eau chaude. Refroidir pour séparer les graisses pendant 15 min. Ajuster à la marque, éliminer la couche de graisse au-dessus et filtrer la fraction aqueuse.

Mode opératoire

Longueur d'onde: 340 nm
Trajet optique: 1 cm
Température: 20 – 25 °C
Mesure: contre l'air ou l'eau
Échantillons: 30 – 2000 mg/l

	Blanc réactif (BR)	Échantillons
Échantillon / Standard	-	100 µl
Eau distillée	100 µl	-
Réactif 1	2000 µl	2000 µl
Mélanger, incuber env. 20 min à 20 - 25 °C. Lire l'absorbance A ₁ , puis ajouter:		
Réactif 2	500 µl	500 µl
Mélanger, attendre la fin de la réaction (≥ 15 min à 25°C ou ≥ 40 min à 20°C), et ensuite lire l'absorbance A ₂ .		

Le blanc réactif doit être mesuré une fois à chaque série, et être soustrait de chaque échantillon lors du calcul des résultats.

Calcul des résultats

Lactose total (Lactose + D-Galactose)

$\Delta A = (A_2 - df \times A_1)_{\text{échantillon}} - (A_2 - df \times A_1)_{BR}$
df (dilution factor) = facteur de dilution de la densité optique, du fait des volumes de réactifs rajoutés pendant le test.
 $df = (\text{échantillon} + R1) / (\text{échantillon} + R1 + R2) = 0,808$.

$c = (V \times MW \times \Delta A) / (\epsilon \times d \times v \times 1000)$ [Lactose total en g/l]

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

Il en résulte pour une détermination à 340 nm:

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

Lactose

Le résultat comprend la quantité de Lactose plus celle de D-Galactose libre dans l'échantillon. Il est calculé comme "Lactose Total", avec le poids moléculaire du Lactose (342,3 g/mol). Pour différencier les deux sucres, le Galactose libre doit être mesuré séparément avec le test Enzytec™ Liquid D-Galactose (E8120). Le Lactose est calculé par soustraction du Galactose libre, en tenant compte du ratio 1,9 entre les poids moléculaires:

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

Exemple:

Lactose total (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

Si le ratio D-Galactose / Lactose est supérieur à 10 :1, la précision du test Lactose est diminuée.

Performances du test

Spécificité

Le test est spécifique du Lactose et du D-Galactose libre. La Gal-DH oxyde le D-Galactose, mais aussi le L-Arabinose à 100%. L'Allo lactose et le Lactulose sont reconnus par la β-Gal à 80% et 30% respectivement.

Domaine de mesure

Le domaine de mesure recommandé va de 50 à 2000 mg/l (Lactose et D-Galactose). Lorsque les valeurs dépassent ce domaine de mesure, les échantillons doivent être dilués dans une fourchette de 100 à 2000 mg/l.

Sensibilité

La limite inférieure de détection (Ld) et la limite de quantification (Lq) ont été déterminées selon la norme DIN 32645:2008-1 :

- Ld = 30 mg/l (Lactose total)
- Lq = 50 mg/l (Lactose total)

Automatisation

Des applications pour automates sont disponibles sur demande.

Clause de responsabilité

Ces données correspondent à nos connaissances techniques actuelles et fournissent des informations sur nos produits et leur utilisation. R-Biopharm ne donne aucune garantie d'aucune sorte, exprimée ou implicite, en dehors du fait que les matières premières utilisées pour la fabrication de ce produit sont de qualité standard. Les produits défectueux seront remplacés. Il n'y a aucune garantie sur la valeur marchande de ce produit, ou de son adéquation à un but quelconque.