

Determinación enzimática de D-Galactosa en productos alimenticios
2 x 50 ml R1 / 2 x 12,5 ml R2 (50 pruebas)

Para uso "in vitro" solamente
Conservar entre +2 y +8 °C

Principio

Ensayo enzimático con Galactosa Deshidrogenasa (G6P-DH). Se produce NADH que es medido a 340 nm:
D-Galactosa + NAD⁺ → Gal-DH → ác. D-galactónico + NADH + H⁺

Reactivos

Los reactivos están listos para usar.

Reactivo 1: dos frascos ≥ 50 ml (NAD)

Reactivo 2: dos frascos ≥ 12,5 ml (Gal-DH)

Los reactivos son estables hasta el final del mes indicado en la fecha de vencimiento, se deben almacenar a +2 - +8 °C. No se deben congelar los reactivos. Dejar que los reactivos alcancen la temperatura del laboratorio antes de su uso (20 - 25 °C).

Se deben seguir las normas habituales de trabajo del laboratorio.
¡No ingerir! Evitar el contacto con piel y mucosas.

Este kit puede contener sustancias peligrosas. Para informarse sobre las sustancias peligrosas contenidas, por favor consultar las hojas de seguridad de materiales (MSDS) de este producto, disponible en línea en www.r-biopharm.com. Luego de su uso, los reactivos pueden eliminarse como residuos de laboratorio. Los embalajes pueden reciclarse.

Preparación de las muestras

- Usar muestras líquidas limpias, directamente o después de una dilución en el rango de medida relevante
- Las soluciones turbias deben filtrarse o centrifugarse
- Las muestras con dióxido de carbono deben degasificarse
- Las muestras con contenido graso o proteico deben clarificarse por el método de clarificación de Carrez
- Las muestras sólidas o semi-sólidas deben molerse y homogeneizarse. Luego extraer con agua, filtrar o centrifugar, o realizar una clarificación de Carrez si es necesario.
- Para muestras con contenido graso, se debe pesar la muestra en un frasco volumétrico (min. 50 ml) y extraer con agua caliente; enfriar para permitir la separación del contenido graso; llevar a volumen con agua, remover la capa grasa superior y filtrar la capa acuosa antes del ensayo

Método operatorio

Longitud de onda: 340 nm
Trayecto óptico: 1 cm
Temperatura: 20 - 25 °C
Medida: contra aire o agua
Muestras: 15 - 1000 mg/l

	Blanco reactivo (BR)	Muestras
Muestra/ standard	-	100 µl
Agua destilada	100 µl	-
Reactivo 1	2000 µl	2000 µl
Mezclar, incubar por aprox. 3 min a 20 - 25 °C. Leer la absorbancia A ₁ , luego añadir:		
Reactivo 2	500 µl	500 µl
Mezclar, esperar el final de la reacción (≥ 15 min a 25 °C o ≥ 40 min a 20 °C). Leer la absorbancia A ₂ .		

El blanco de reactivo debe medirse una vez por cada serie, y debe sustraerse de cada muestra en el cálculo de los resultados.

Cálculo de los resultados

Solución muestra

$\Delta A = (A_2 - df \times A_1)_{muestra} - (A_2 - df \times A_1)_{RB}$
df (factor de dilución) = factor de dilución de la densidad óptica, a causa de los volúmenes de reactivos añadidos durante la prueba
 $df = (muestra + R1) / (muestra + R1 + R2) = 0,808$.

$c = (V \times MW \times \Delta A) / (\epsilon \times d \times v \times 1000)$ [en g/l de D-Galactosa] con:

V	(volumen total)	= 2,600 [ml]
MW	(peso molecular)	= 180,16 [g/mol]
d	(camino óptico)	= 1,00 [cm]
v	(volumen muestra)	= 0,100 [ml]
ε	(Coeficiente de absorbanza del NADH) [l x mmol ⁻¹ x cm ⁻¹]:	
	340 nm = 6,3	334 nm = 6,18
		365 nm = 3,4

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

Resulta para una determinación a 340 nm:

$c_{D-Galactosa} [g/l] = 0,744 \times \Delta A$

Muestras sólidas

Contenido [g/100 g] = $\frac{C_{ensayo} [g/l]}{peso_{muestra} [g/l]} \times 100$

Rendimiento del ensayo

Especificidad

El ensayo es específico del D-Galactosa. El Gal-DH oxida a la D-Galactosa, pero también L-arabinosa al 100%.

Rango de medida

El rango de medida recomendado va desde 25 a 1000 mg/l. Cuando los valores superan este rango, las muestras deben diluirse desde 50 a 1000 mg/l.

Sensibilidad

El límite inferior de detección (LD) y el límite de cuantificación (LQ) se determinaron según la norma DIN 32645:2008 - 11:

- LD = 15 mg/l (D-Galactosa)
- LQ = 25 mg/l (D-Galactosa)

Automatización

Están disponibles aplicaciones para autoanalizadores a pedido.

Aviso

Los datos corresponden a nuestro estado actual de tecnología y proporciona información sobre nuestros productos y sus usos. R-Biopharm no ofrece garantías de ningún tipo, ya sea expresa o implícita, excepto que los materiales con los que están fabricados sus productos son de calidad estándar. Los productos defectuosos serán reemplazados. No hay ninguna garantía de comercialización de este producto, o de la idoneidad del producto para cualquier propósito. R-Biopharm no será responsable de ningún daño, incluyendo daño especial o consecuente, o gastos derivados directa o indirectamente del uso de este producto.