

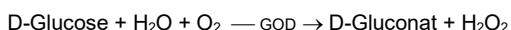
Entfernung eines Glucose-Überschusses in Lebensmitteln und anderen Probenmaterialien
Reagenzien für 32 Bestimmungen

Nur für den Laborgebrauch
Lagerung bei 2 - 8 °C

1. Testprinzip

Einige Test-Kits aus der Enzytec™ Liquid Produktlinie beruhen auf der Bestimmung von Glucose, sodass die freie Glucose in einer zweiten Küvette gemessen und abgezogen werden muss (Enzytec™ Liquid Lactose/D-Glucose (E8130), Enzytec™ Liquid Sucrose/D-Glucose (E8180) und Enzytec™ Liquid Maltose/Sucrose/D-Glucose (E8170)).

Diese Tests sind in ihrer Leistungsfähigkeit begrenzt, falls die eingesetzte Probe einen Glucose-Überschuss enthält. Durch den Glucose-Überschuss ist der ΔE -Unterschied zwischen den zwei gemessenen Küvetten zu niedrig und nicht reproduzierbar ($\Delta E < 0,100$). Aus diesem Grund enthalten die relevanten Packungsbeilagen ein besonderes Verfahren, um den Überschuss an Glucose mittels der Enzyme Glucose-Oxidase (GOD) und Catalase zu entfernen:



Das vorliegende Enzytec™ Glucose Remover Test-Kit enthält alle Reagenzien, um dieses Verfahren für 32 Proben anzuwenden.

2. Reagenzien

2.1. Inhalt & Zusammensetzung

Die mit dem Enzytec™ Glucose Remover aufgearbeiteten Proben sind für eine manuelle und automatisierte Abarbeitung geeignet. Die Reagenzien reichen für 32 Bestimmungen.

- Reagenz 1 (Puffer): 1 Flasche, ca. 70 ml
- Reagenz 2 (GOD): 1 Flasche (roter Deckel), ca. 3,5 ml
- Catalase: 1 Flasche (schwarzer Deckel), ca. 1,0 ml
- Control sample: 1 Flasche (weißer Deckel), ca. 10 ml (Glucose 25 g/l, Lactose 1 g/l, Saccharose 1 g/l)

2.2. Reagenzienvorbereitung

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig und müssen vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) gebracht werden. Komponenten nicht zwischen Kits verschiedener Chargen austauschen.

2.3. Lagerung & Haltbarkeit

Die Reagenzien sind bei sachgerechter Handhabung auch nach dem Öffnen bei 2 - 8 °C bis zum Monatsende der angegebenen Haltbarkeit stabil (siehe Etikett). Reagenzien nicht einfrieren.

2.4. Sicherheit & Entsorgung

Die üblichen Vorsichtsmaßnahmen beim Umgang mit Chemikalien sind zu beachten. Nicht verschlucken sowie Berührung mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.

Sicherheitshinweise zu den enthaltenen Komponenten sind den jeweiligen Sicherheitsdatenblättern (SDS) zu entnehmen. Nach Gebrauch können die Reagenzien mit dem Laborabfall entsorgt und das Verpackungsmaterial dem Recycling zugeführt werden.

3. Anwendungsbeispiele

Bestimmung von Lactose in Lactose-freien Proben (in Anlehnung zur deutschen § 64-Methode L 01.00-90)

Diese Methode ist für flüssige, feste oder pastöse Proben geeignet, da die Carrez-Klärung vor der Glucose Oxidation durchgeführt wird:

- Für feste Proben, eine repräsentative Menge an Proben (50 - 100 g) entnehmen und homogenisieren.
- Ca. 25 g Milch in einem Becherglas genau einwiegen, 25 ml dest. Wasser zugeben und mischen. Für Käse oder Joghurt ca. 15 - 20 g genau einwiegen, 30 ml Wasser zugeben und mischen, dann 20 min auf 50 °C erhitzen.
- 5 ml von Carrez-I-Lösung (3,6 g $K_4[Fe(CN)_6]$ x 3 H_2O / 100 ml) und 5 ml Carrez-II-Lösung (7,2 g $ZnSO_4$ x 7 H_2O / 100 ml) zugeben und nach jeder Zugabe gut mischen.

- Mit 1 M NaOH (ca. 3,5 ml) den pH-Wert auf 7,0 bis 7,5 einstellen.
- Probe in einen 100 ml Messkolben überführen, mit dest. Wasser bis zur Marke auffüllen, mischen und filtrieren.
- 5 ml des Filtrats in ein 50 ml Röhrchen pipettieren. Für die Control sample (Flasche 4), 1 ml Probe und 4 ml Wasser pipettieren.
- Nacheinander 2 ml Triethanolamin-Puffer (Reagenz 1), 100 μ l GOD-Lösung (Reagenz 2), 10 μ l Catalase und 2,890 ml dest. Wasser zugeben (alternativ 2,840 ml Wasser und 50 μ l H_2O_2 30 % zugeben). Um Schaumbildung zu vermeiden, eventuell einen Tropfen Octan-1-ol zugeben.
- Röhrchen verschließen, Inhalt vorsichtig mischen und 3 Std. unter leichtem Schütteln inkubieren (Horizontalschüttler).
- Röhrchen in kochendem Wasser für 15 min erhitzen, dann abkühlen lassen.
- Probe mischen; die anschließende Bestimmung im jeweiligen Enzytec™ Liquid Test-Kit durchführen.

Bestimmung von Lactose in Lactose-freier Milch oder Joghurt (vereinfachte Methode nur für flüssige Proben)

Milchproben sind flüssig und gebrauchsfertig. Für Joghurt wird die Flüssigkeit wie folgt gewonnen:

- Joghurt homogenisieren und ca. 50 g Joghurt in 50 ml Röhrchen mehrmals verteilen (z. B. 4 Röhrchen x 50 g).
- Zentrifugieren bei 3.500 g für 10 min (2 - 8 °C) und Überstände zusammenführen bis insgesamt mehr als 10 ml vorhanden sind.
- 10 ml Probe in ein 50 ml Röhrchen pipettieren, 5 ml dest. Wasser zugeben und pH auf 7,6 mit NaOH (1M) einstellen; mit dest. Wasser bis auf 20 ml auffüllen (Verdünnungsfaktor 1:2).
- In der Methode (siehe unten) wird das Probenvolumen auf 2 ml erhöht, sodass die Verdünnung der Probe bei 1:10 erhalten bleibt.

4. Durchführung

Die Entfernung von Glucose setzt sich aus drei Schritten zusammen (GOD-Inkubation, Carrez-Klärung und pH-Einstellung):

In 50 ml Röhrchen pipettieren	Control sample (ml)	Milch (ml)	Joghurt (ml)
Puffer (Reagenz 1)	2,000	2,000	2,000
Probe	1,000	1,000	2,000
GOD (Reagenz 2)	0,100	0,100	0,100
Catalase	0,010	0,010	0,010
Bidest. Wasser	3,890	3,890	2,890
Vorsichtig mischen und 3 Std. auf Horizontalschüttler inkubieren (300 rpm). <i>Inkubation kann über Nacht stattfinden*</i> .			
Auf 100 °C für 15 min erhitzen (Enzym-Inaktivierung), dann auf Raumtemperatur abkühlen lassen.			
Für Carrez-Klärung, bei jedem Schritt gut mischen:			
Carrez-I-Lösung	0,500	0,500	0,500
Carrez-II-Lösung	0,500	0,500	0,500
NaOH (0,1 M)	1,000	1,000	1,000
Zentrifugieren (10 min bei 3.000 g) und / oder filtrieren, 4,5 ml Überstand in ein 10 ml Röhrchen pipettieren und dazu geben:			
HCl (0,1 M)	0,500	0,500	0,500
Probe mischen. Den jeweiligen Enzytec™ Liquid Test durchführen und einen Faktor 10 (bedingt durch die Proben-aufarbeitung) für die Berechnung verwenden.			

* Für die Bestimmung von Saccharose/D-Glucose ist die Inkubation auf 3 Std. begrenzt: falls man über Nacht inkubiert, kann ein Teil der Saccharose verloren gehen, da eine Nebenaktivität der GOD zu einer Teilhydrolyse führt.

5. Kontrollen & Akzeptanzkriterien

Die Effizienz des Glucose-Abbaus in Lactose-freier Milch beträgt $\geq 95\%$.

Die im Kit enthaltene Control sample sollte zur Qualitätskontrolle bei jedem Lauf mitgeführt werden.

Die Wiederfindung der Control sample sollte für D-Glucose innerhalb $100 \pm 5\%$ und für Lactose und Saccharose innerhalb $100 \pm 10\%$ liegen.

6. Leistungsdaten

6.1. Spezifität & Nebenaktivitäten

Der Lactose/D-Glucose Test zeigt Kreuz-Reaktionen mit Galactooligosacchariden (GOS), welche in Lactose-amer Milch vorhanden sein könnten. In diesem Fall ist es nicht möglich den Lactose-Rest unter $0,03\%$ zu quantifizieren.

6.2. Linearität, Messbereich & Sensitivität

Siehe hierzu die jeweiligen Enzytec™ *Liquid* Test-Kit Beschreibungen und Validierungsberichte.

7. Automatisierung mittels Pictus 500

Mit dem Enzytec™ Glucose Remover aufgearbeitete Proben können auch automatisiert im jeweiligen Enzytec™ *Liquid* Test-Kit abgearbeitet werden.

8. Unterstützende Dokumente

Auf Anfrage bieten wir Ihnen folgende Dokumente:

- Enzytec™ *Liquid* Validierungsberichte
- Enzytec™ *Liquid* Probenvorbereitungshandbuch
- Enzytec™ *Liquid* Excel-Auswertevorlagen
- Enzytec™ *Liquid* Troubleshooting-Handbuch

Sicherheitsdatenblätter (SDS) und Analysenzertifikate (CoA) sind in digitaler Form unter folgendem Link erhältlich

<https://eifu.r-biopharm.com/>



9. Dienstleistungen & technischer Support

Auf Anfrage bieten wir Ihnen folgende Leistungen:

- Kundenspezifisches Troubleshooting
- Daten- & Ergebnisanalyse
- Kunden-Workshops & Webinare
- Automatisierung: applikativer Support und technischer Service

10. 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.