

UV-Test zur Bestimmung von Lactose/D-Galactose in Lebensmitteln und anderen Probenmaterialien  
Test-Kombination für 50 Bestimmungen

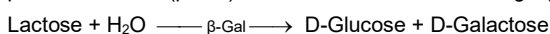
Nur für den Laborgebrauch  
Lagerung bei 2 - 8 °C

**Hinweis:** Der vorliegende Enzytec™ Liquid Lactose/D-Galactose Test (E8110) ist in Kombination mit dem Enzytec™ Liquid D-Galactose Test (E8120) für die quantitative Bestimmung von Lactose in Milchprodukten und anderen Lebensmitteln geeignet. Er ist auch für die Bestimmung von Spuren von Lactose in milchfreien Produkten geeignet, um die Lactosefreiheit zu bestätigen. Ausgenommen sind lactosefreie Milchprodukte, die enzymatisch mit  $\beta$ -Galactosidase behandelt wurden; diese sollten mit dem Enzytec™ Liquid Lactose/D-Glucose Test (E8130) in Kombination mit dem Enzytec™ Glucose Remover (E3400) bestimmt werden.

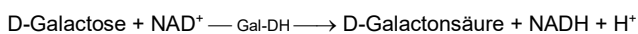
## 1. Testprinzip

Enzymatische Bestimmung mit  $\beta$ -Galactosidase ( $\beta$ -Gal) und Galactose-Dehydrogenase (Gal-DH).

Lactose wird in Anwesenheit von H<sub>2</sub>O durch das Enzym  $\beta$ -Galactosidase ( $\beta$ -Gal) in D-Glucose + D-Galactose gespalten:



Die entstehende D-Galactose wird in Gegenwart von Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (NAD) und Galactose-Dehydrogenase (Gal-DH) zu D-Galactonsäure + NADH + H<sup>+</sup> oxidiert:



NAD wird dabei zu NADH reduziert. Die gebildete NADH-Menge ist proportional zur gebildeten Menge an Lactose und freier D-Galactose und wird bei 340 nm gemessen.

## 2. Reagenzien

### 2.1. Inhalt & Zusammensetzung

Der Test ist für eine manuelle und automatisierte Abarbeitung geeignet. Die Reagenzien reichen bei manueller Abarbeitung für 50 Bestimmungen. Die Anzahl der Bestimmungen bei automatisierter Abarbeitung ist um ein Vielfaches erhöht, jedoch geräteabhängig.

- Reagenz 1: 2 x 50 ml mit Puffer, NAD,  $\beta$ -Gal
- Reagenz 2: 2 x 12,5 ml mit Puffer, Gal-DH

### 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. Probenvorbereitung

- Die Probenvorbereitung für die manuelle und die automatisierte Testdurchführung ist identisch.
- Die Proben sollten vor der Messung auf Raumtemperatur gebracht werden.
- Flüssige, klare und annähernd neutrale Probelösungen direkt bzw. nach Verdünnen mit dest. Wasser auf eine Konzentration innerhalb des Messbereichs (siehe Leistungsdaten) im Test einsetzen.
- Trübe Lösungen filtrieren oder zentrifugieren.
- Stark gefärbte Proben gegebenenfalls entfärben.

- 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 einwiegen und mit heißem Wasser extrahieren; Probelösung zur Fettabcheidung abkühlen lassen (z. B. 15 min im Eisbad); Messkolben bis zur Marke mit Wasser auffüllen, wässrige Lösung vor dem Testen filtrieren.

## 4. Testdurchführung

Wellenlänge: 340 nm  
Temperatur: 20 - 37 °C (während der Messung)  
Messung: gegen Luft (ohne Küvette) oder Wasser  
Messbereich: 30 - 2500 mg/l

	Reagenzleerwert	Probe / Kontrolle
<b>Reagenz 1</b>	2000 $\mu$ l	2000 $\mu$ l
<b>Probe / Kontrolle</b>	-	100 $\mu$ l
<b>Dest. Wasser</b>	100 $\mu$ l	-
Mischen, 40 min bei 20 - 30 °C oder 20 min bei 37 °C inkubieren. Extinktion E <sub>1</sub> messen, dann Zugabe von:		
<b>Reagenz 2</b>	500 $\mu$ l	500 $\mu$ l
Mischen, 20 min bei 20 - 37 °C inkubieren und Extinktion E <sub>2</sub> messen.		
<b>Hinweis:</b> Bitte beachten Sie bei der Durchführung dieses enzymatischen Tests, dass die Inkubationstemperatur 20 °C nicht unterschreitet, da dies zu einer verminderten Enzymaktivität und entsprechend verringerten Wiederfindungen führt.		

Der Reagenzleerwert muss bei jedem Lauf einmalig mitbestimmt und von jedem Probenergebnis abgezogen werden.

## 5. Berechnung der Ergebnisse

### 5.1. Berechnung bei Probelösungen

#### 5.1.1. Gesamtkonzentration Lactose

Das Ergebnis des E8110 Tests umfasst zusätzlich die Mengen an freier D-Galactose, die in der Probe vorhanden sein könnten. Die Summe Lactose/D-Galactose wird mit dem Molekulargewicht der Lactose (342,3 g/mol) berechnet und als *Gesamtlactose* bezeichnet.

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

df: Dilution factor (Reagenzverdünnungsfaktor)  
RLW: Reagenzleerwert

$$df = \frac{\text{Probenvolumen} + R1}{\text{Testvolumen}} = 0,808$$

Eine Erhöhung des Probenvolumens (bis max. 1000  $\mu$ l) bei unveränderten Reagenzvolumina erfordert Umrechnung des Reagenzverdünnungsfaktors (df). Bei Erhöhung des Volumens kann es zur Beeinflussung des Testsystems kommen. Generell gilt es dies Matrix-abhängig zu überprüfen.

$$C_{\text{Gesamtlactose}} [\text{g/l}] = \frac{(V \times \text{MG} \times \Delta E)}{(\varepsilon \times d \times v \times 1000)} = 1,413 \times \Delta E$$

V: Testvolumen Basisapplikation [ml] = 2,600  
MG: Molekulargewicht [g/mol] = 342,30  
d: Schichtdicke [cm] = 1,00  
v: Probevolumen [ml] = 0,100  
 $\varepsilon$ : Extinktionskoeffizient NADH [l/mmol x cm] = 6,3 (bei 340 nm)

## 5.1.2. Berechnung der tatsächlichen Lactose-Konzentration

Für die Differenzierung von Lactose und D-Galactose muss die freie D-Galactose mit dem Enzytec™ Liquid D-Galactose Test (E8120) bestimmt werden. Das Ergebnis wird von der Gesamtlactose abgezogen:

$$C_{\text{Lactose}} [\text{g/l}] = C_{\text{Gesamtlactose (E8110)}} - 1,9 \times C_{\text{D-Galactose (E8120)}}$$

### Beispiel: Enzytec™ Liquid Multi-Sugar Standard low (E8440)

Gesamtlactose (E8110)	=	1,45 g/l
D-Galactose (E8120)	=	0,50 g/l
<hr/>		
Lactose =	1,45 g/l - 1,9 × 0,50 g/l	= 0,50 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.

## 5.2. Berechnung bei Feststoffen

$$\text{Gehalt}_{\text{Lactose}} [\text{g}/100 \text{ g}] = \frac{C_{\text{Lactose}} [\text{g/l Probelösung}]}{\text{Einwaage}_{\text{Probe}} \text{ in g/l Probelösung}} \times 100$$

## 5.3. Kontrollen & Akzeptanzkriterien

Kontroll- oder Referenzproben sollten zur Qualitätskontrolle bei jedem Lauf mitgeführt werden. Hierfür empfehlen wir Enzytec™ Liquid Multi-Sugar Standard low (E8440).

Die Wiederfindung des Enzytec™ Liquid Multi-Sugar Standard low sowie anderen wässrigen Kontrolllösungen sollten innerhalb 100 ± 5 % liegen.

## 6. Leistungsdaten

### 6.1. Spezifität

Die Bestimmung ist spezifisch für Lactose und freie D-Galactose.

### 6.2. Interferenzen & Nebenaktivitäten

Der Test zeigt keine Interferenzen mit verschiedenen relevanten Alkoholen, Säuren, Süßungsmitteln und den meisten Zuckern. Im Falle von Sulfit gibt es bei oder unter 0,5 g/l keine Interferenzen. Ascorbinsäure interferiert nicht bei oder unter 0,1 g/l.

Bekannte Nebenaktivitäten: L-Arabinose und Allolactose werden zu 100 % und Lactulose zu ca. 30 % mitbestimmt.

### 6.3. Linearität, Messbereich & Sensitivität

Die Linearität ist bis 2500 mg/l Lactose gegeben (100 µl Probenvolumen).

Die Nachweisgrenze (LoD) wurde nach der Methode DIN 32645:2008-11 in gepufferter wässriger Kontrolllösung für ein Probenvolumen von v = 100 µl ermittelt. Hieraus ergibt sich ein LoD von 5,0 mg/l für Lactose.

Die Bestimmungsgrenze (LoQ) wurde mittels Präzisionsprofil ermittelt und beträgt 30 mg/l für Lactose.

Die geringste Extinktionsdifferenz, die das Verfahren unterscheiden kann, beträgt ΔE = 0,005. Für ein Probenvolumen von v = 1000 µl ergibt sich ein errechnetes LoD von 0,95 mg/l. Auf Basis von ΔE = 0,010 wurde ein LoQ von 1,9 mg/l errechnet.

## 7. 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/>



## 8. Dienstleistungen & technischer Support

Auf Anfrage bieten wir Ihnen folgende Leistungen:

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

## 9. 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.