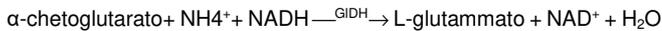


Determinazione enzimatica dell'ammoniaca in alimenti ed altre matrici
2 x 50 ml R1 and 2 x 12.5 ml R2 – 50 test (manuale) / ≥ 500 test (analizzatore automatico)

Solo per uso *in vitro*
Conservare tra +2 - +8 °C

Principio

L'ammoniaca (NH₄⁺) reagisce con l' α-chetoglutarato in presenza di glutammato-deidrogenasi (GIDH) e riduce il coenzima nicotinammide-adenina dinucleotide (NADH), formando L-glutammato e NAD⁺.



La quantità di NADH consumato è stechiometricamente correlata alla quantità di ammoniaca presente nel campione e viene misurata attraverso il decremento di assorbanza a 340 nm.

Reagenti

I reagenti sono pronti all'uso.

- Reagente 1: 2 x 50 ml (Buffer / NADH)
- Reagente 2: 2 x 12.5 ml (α-chetoglutarato / GIDH)

Tutti i reagenti sono stabili fino alla fine del mese di scadenza indicato, anche dopo ripetute aperture se non contaminati durante l'utilizzo e se conservati a temperatura compresa tra 2 e 8°C. Non congelare i reagenti. Portare i reagenti a temperatura ambiente (20-25°C) prima dell'utilizzo. Applicare le comuni norme di sicurezza necessarie in un laboratorio chimico. Non ingerire. Evitare il contatto con la pelle e le mucose. Questo kit può contenere sostanze pericolose. Per informazioni sul rischio delle sostanze contenute, fare riferimento alla scheda di sicurezza (MSDS) di questo prodotto, disponibile on line sul sito www.r-biopharm.com. Dopo l'impiego, i reattivi devono essere eliminati come rifiuti di laboratorio. Gli imballaggi possono essere riciclati.

Preparazione dei campioni

- I campioni liquidi e limpidi possono essere analizzati tal quali, o dopo diluizione nell'intervallo di concentrazione opportuno (vedi sezione Performance del test)
- Filtrare o centrifugare le soluzioni torbide
- Degassare i campioni contenenti anidride carbonica
- La chiarifica con reattivo di Carrez non è adatta a questo test, pertanto utilizzare la precipitazione con acido perclorico per deproteinizzare
- Macinare ed omogeneizzare i campioni solidi o semi-solidi ed estrarli in acqua (es. 30 min a 60-70°C). Filtrare o centrifugare oppure precipitare le proteine con acido perclorico se necessario
- Per campioni contenenti grassi, estrarre in acqua calda, raffreddare per permettere la separazione del grasso (in frigorifero o congelatore), rimuovere la linea di grasso dalla superficie e filtrare la soluzione acquosa
- Campioni di latte: miscelare 1 ml di latte + 4 ml di acido tricloroacetico (0.3 M). Dopo circa 5 min, centrifugare il campione ed utilizzare il surnatante limpido per il test.

Procedure operative

Lunghezza d'onda: 340 nm
Cammino ottico: 1 cm
Temperatura: 37 °C / 20 - 25 °C
Misurazione: contro acqua distillata
Linearità: 5 - 95 mg/l

	Bianco Reagente (RB)	Campioni / Controlli
Reagente 1	2000 µl	2000 µl
Campione/Controllo	-	100 µl
Acqua distillata	100 µl	-
Mescolare, incubare a 37°C per 1 min oppure a 20-25°C per 3 min. Leggere l'assorbanza A ₁ , quindi aggiungere:		
Reagente 2	500 µl	500 µl
Mescolare, incubare a 37°C per 5 min oppure a 20-25°C per 15 min. Leggere l'assorbanza A ₂		

Il bianco reagente va ripetuto ad ogni sessione analitica e sottratto ad ogni campione.

Calcolo dei risultati

Calcolo nella soluzione campione:

$$\Delta A = (A_1 \times df - A_2)_{\text{campione}} - (A_1 \times df - A_2)_{\text{RB}}$$

df: Fattore di diluizione
RB: Bianco reagente

$$df = \frac{(\text{volume campione} + R1)}{(\text{volume campione} + R1 + R2)} = 0.808$$

$$C_{\text{Ammoniaca}} [\text{g/l}] = \frac{(V \times MW \times \Delta A)}{(\epsilon \times d \times v \times 1000)}$$

V: Volume totale [ml] = 2.600
MW: Peso molecolare [g/mol] = 17.03
d: Cammino ottico [cm] = 1.00
v: Volume di soluzione campione [ml] = 0.100
ε: Coefficiente di estinzione molare NADH [l/mmol x cm] = 6.3 (a 340 nm)

Per una determinazione a 340 nm:

$$C_{\text{Ammoniaca}} [\text{g/l}] = 0.0703 \times \Delta A$$

Calcolo per campioni solidi:

$$\text{Contenuto}_{\text{Ammoniaca}} [\text{g}/100 \text{ g}] = \frac{C_{\text{Ammoniaca}} [\text{g/l}]}{\text{peso}_{\text{campione}} [\text{g/l}]} \times 100$$

Note

- Il reagente di Carrez non può essere utilizzato nella preparazione del campione poichè adsorbe ammoniaca.
- A causa della volatilità dell'ammoniaca, si raccomanda di aggiungere prima il Reagente 1 e dopo pipettare il campione.

Performance del test

Specificità

La determinazione è specifica per l'ammoniaca. Non sono state riscontrate interferenze con i più rilevanti acidi organici, zuccheri o conservanti quali i solfiti.

Linearità ed intervallo di misura

Il test è lineare fino a 100 mg/l di ammoniaca. L'intervallo di misura raccomandato è tra 5 e 95 mg/l. Per concentrazioni di ammoniaca superiori, diluire il campione con acqua distillata per riportarlo nel range di misura. Il fattore di diluizione deve essere considerato nel calcolo dei risultati.

Sensibilità

Il Limite di Rilevabilità (LoD) e il Limite di Quantificazione (LoQ) è stato determinato in accordo con la norma DIN 32645:2008-11 in soluzione tampone:

- LoD = 0.7 mg/l
- LoQ = 1.2 mg/l

Automazione

Su richiesta, sono disponibili applicazioni su sistemi automatici.

Dichiarazione liberatoria

I dati corrispondono al nostro attuale stato di tecnologia e forniscono informazioni sui nostri prodotti e sul loro uso. R-Biopharm non fornisce alcuna garanzia, esplicita o implicita, oltre a quella relativa alla qualità standard dei materiali di cui sono costituiti i suoi prodotti. Nel caso tali materiali risultassero difettosi, R-Biopharm si impegna a fornire prodotti sostitutivi. Non esiste garanzia di commerciabilità o di idoneità del prodotto per uno scopo particolare. R-Biopharm non è da ritenersi responsabile per danni, ivi compresi danni speciali o indiretti, o spese derivanti direttamente o indirettamente dall'utilizzo del prodotto.