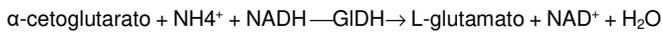


Ensayo enzimático para la determinación de amonio en alimentos y otras muestras
2 x 50 ml R1 y 2 x 12.5 ml R2 – 50 ensayos (manual) / ≥ 500 ensayos (auto analizador)

Para uso sólo *in vitro*
Almacenar entre 2 - 8 °C

Principio

El amonio (NH4+) reacciona con α-cetoglutarato en presencia de GlDH y de nicotinamida adenina dinucleótido reducido (NADH), para formar L-glutamato y NAD+.



El consumo de NADH es estequiométrico con la cantidad de amonio y se mide por el descenso de la absorbancia a 340 nm.

Reactivos

Los reactivos están listos para usar.

- Reactivo 1: 2 x 50 ml (Buffer / NADH)
- Reactivo 2: 2 x 12.5 ml (α-cetoglutarato / GlDH)

Los reactivos son estables hasta fin del mes de vencimiento, si se almacenan a 2 - 8 °C, aún luego de aperturas repetidas (si no se contaminan durante la manipulación). No congelar los reactivos. Dejar que los reactivos alcancen la temperatura de laboratorio antes de usar (20 - 25 °C).

Deben aplicarse las normas generales de seguridad para el trabajo en laboratorios químicos. No ingerir!. Evitar contacto con la piel y membranas mucosas.

El kit contiene sustancias peligrosas. Para las notas de seguridad de las sustancias contenidas, por favor refiérase a las hojas de seguridad del material apropiadas para este producto (MSDS) disponible en línea en www.r-biopharm.com. Luego de su uso, los reactivos pueden desecharse con el desecho del laboratorio. El material de empaque puede reciclarse.

Preparación de muestras

- Usar muestras líquidas y claras directamente o luego de diluirlas dentro del rango de medición (ver funcionamiento del ensayo)
- Filtrar o centrifugar soluciones turbias
- Degasificar muestras conteniendo dióxido de carbono
- No se permite la clarificación con Carrez para este ensayo, por favor utilice ácido perclórico para la precipitación de proteínas
- Moler y homogeneizar muestras sólidas o semisólidas y extraer con agua (ej. 30 min a 60 – 70°C). Filtrar o centrifugar, o aplicar clarificación con ácido perclórico si es necesario.
- Para muestras conteniendo grasa, extraer con agua caliente, enfriar para separar la grasa (refrigerador o hielo), remover la capa grasa y filtrar la capa acuosa
- Muestras de leche: mezclar 1 ml de leche + 4 ml de ácido tricloroacético (0.3 M). Luego de aprox. 5 min, centrifugar la muestra y usar el sobrenadante claro para el ensayo

Procedimiento del ensayo

Longitud de onda: 340 nm
Paso óptico: 1 cm
Temperatura: 37 °C / 20 - 25 °C
Medición: Contra aire o contra agua
Muestra: 5 - 95 mg/l

	Blanco de reactivo	Muestras / Controles
Reactivo 1	2000 µl	2000 µl
Muestra / Control	-	100 µl
Agua destilada	100 µl	-
Mezclar, incubar 1 min a 37 °C o 3 min a 20 - 25 °C. Leer absorbancia A1, luego agregar:		
Reactivo 2	500 µl	500 µl
Mezclar, incubar 5 min a 37°C o 15 min a 20 - 25 °C. Leer absorbancia A2.		

El blanco de reactivo debe realizarse una vez en cada corrida y debe sustraerse del resultado de cada muestra.

Cálculo de los resultados

Cálculo de las soluciones de muestras:

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

df: factor de dilución
RB: Blanco de reactivo

$df = \frac{(\text{volumen de muestra} + R1)}{(\text{volumen de muestra} + R1 + R2)} = 0.808$

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

V: Volumen total [ml] = 2.600
MW: Peso molecular [g/mol] = 17.03
d: Paso óptico [cm] = 1.00
v: Volumen de muestra [ml] = 0.100
ε: Coeficiente de extinción NADH [l/mmol x cm] = 6.3 (a 340 nm)

Para una determinación a 340 nm esto resulta en:

$C_{\text{Amonio}} [\text{g/l}] = 0.0703 \times \Delta E$

Cálculo para muestras sólidas:

$\text{Contenido}_{\text{Amonio}} [\text{g}/100 \text{ g}] = \frac{C_{\text{Amonio}} [\text{g}/\text{l}]}{\text{peso}_{\text{muestra}} [\text{g}/\text{l}]} \times 100$

Notas

- No se puede usar clarificación de Carrez en la preparación de las muestras por la absorción del amonio.
- Debido a la volatilidad del amonio, se recomienda que el Reactivo 1 se agregue primero y luego se pipetee la muestra.

Funcionamiento del ensayo

Especificidad

El ensayo es específico para amonio y no muestra efectos colaterales o interferencia para ácidos y azúcares relevantes o conservantes como sulfito.

Linealidad & Rango de medición

La linealidad es hasta 100 mg/l amonio. El rango de medición recomendado es entre 5 y 95 mg/l amonio.

Si se excede el rango, las muestras deben diluirse con agua destilada hasta una concentración de amonio dentro del rango de medición. El factor de dilución debe incluirse en el cálculo.

Sensibilidad

El Límite de Detección (LoD) y el Límite de Cuantificación (LoQ) se determinaron de acuerdo al método DIN 32645:2008-11 en solución acuosa bufferada:

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

Automatización

Están disponibles por pedido las Notas de Aplicación para sistemas automatizados.

Descargo de responsabilidad

Los datos corresponden a nuestro estado actual de tecnología y proporcionan información sobre nuestros productos y sus usos. R-Biopharm no ofrece garantía de ningún tipo, ya sea expresa o implícita, excepto que los materiales con los que están hechos sus productos son de calidad estándar. Los productos defectuosos serán reemplazados. No hay garantía de comerciabilidad de este producto o de la idoneidad del producto para cualquier propósito. R-Biopharm no será responsable de ningún daño, incluidos los daños especiales o consecuentes, o los gastos que surjan directa o indirectamente del uso de este producto.