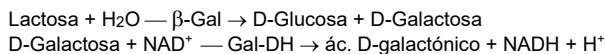


Determinación enzimática de Lactosa / D-Galactosa en productos alimenticios  
2 x 50 ml R1 / 2 x 12,5 ml R2 (50 pruebas)

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

**Principio**

Ensayo enzimático con β-Galactosidasa (β-Gal) y Galactosa Deshidrogenasa (G6P-DH). Se produce NADH que es medido a 340 nm:



**Reactivos**

Los reactivos están listos para usar.

# Reactivo 1: dos frascos ≥ 50 ml (NAD, β-Gal)

# 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](http://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: 30 – 2000 mg/l

	Blanco reactivo (BR)	Muestras
<b>Muestra/ standard</b>	-	100 µl
<b>Agua destilada</b>	100 µl	-
<b>Reactivo 1</b>	2000 µl	2000 µl
Mezclar, incubar por aprox. 20 min a 20 - 25 °C. Leer la absorbancia A <sub>1</sub> , luego añadir:		
<b>Reactivo 2</b>	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 <sub>2</sub> .		

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**

**Lactosa total**

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

$c = (V \times MW \times \Delta A) / (\epsilon \times d \times v \times 1000)$  [g/l de Lactosa Total]

$c = (2,600 \times 342,30 \times \Delta A) / (\epsilon \times 1 \times 0,1 \times 1000)$

Resulta para una determinación a 340 nm:

$C_{Lactosa\ Total} [g/l] = 1,413 \times \Delta A$

**Lactosa**

El resultado incluye la cantidad de Lactosa más la de Galactosa libre en la muestra. Se calcula como "Lactosa Total", con el peso molecular del Lactosa (342,3 g/mol). Para distinguir los dos azúcares, la Galactosa libre debe medirse separadamente con Enzytec™ Liquid D-Galactosa (E8120). La Lactosa es calculada por sustracción de la Galactosa libre, teniendo en cuenta el cociente de los pesos moleculares:

$C_{Lactosa} [g/l] = C_{Lactosa\ total} - 1,90 \times C_{Galactosa}$

**Ejemplo:**

Lactosa Total (E8110) 1,500 g/l  
D-Galactosa (E8120) 0,400 g/l  
Lactosa = 1,500 g/l – 1,90 x 0,400 g/l = 0,740 g/l

Si el cociente Lactosa/D-Galactosa es superior a 10:1, se disminuyen la precisión del resultado Lactosa.

**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 Lactosa y D-Galactosa libre. El Gal-DH oxida a la D-Galactosa, pero también L-arabinosa al 100%. La β-Gal reconoce a Allolactosa y Lactulosa al 80% y 30% respectivamente.

**Rango de medida**

El rango de medida recomendado va desde 50 a 2000 mg/l (Lactosa / D-Galactosa). Cuando los valores superan este rango, las muestras deben diluirse desde 100 a 2000 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 = 30 mg/l  
- LQ = 50 mg/l

**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.