

Determinazione enzimatica dell'acido D- e L-Lattico (senza differenziazione) in matrici alimentari e non
2 x 50 ml R1 più 2 x 12,5 ml R2 (50 prove)

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

Principio

Test enzimatico con D-Lattato Deidrogenasi (L-LDH) e L-Lattato Deidrogenasi (L-LDH), senza differenziazione. Il NADH prodotto viene misurato a 340 nm:



Reagenti

I reagenti sono pronti all'uso.

Reagente 1: due flaconi ≥ 50 ml (tampone, D-LDH, L-LDH)

Reagente 2: due flaconi ≥ 12,5 ml (NAD)

Tutti i reagenti sono stabili fino alla fine del mese di scadenza indicato, 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 contiene sostanze pericolose. Per informazioni sul rischio delle sostanze contenute, fare riferimento alla scheda di sicurezza 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 limpidi e non colorati, a pH neutro possono essere utilizzati tal quali o dopo diluizione in un intervallo di concentrazione opportuno (vedere sezione Performance del kit)
- Filtrare o centrifugare le soluzioni torbide
- Degassare i campioni contenenti anidride carbonica
- Chiarificare i campioni contenenti proteine o grassi con i reattivi di Carrez
- Macinare ed omogeneizzare i campioni solidi o semi-solidi ed estrarli in acqua. Filtrare o centrifugare, o utilizzare la chiarificazione di Carrez se necessario
- Per campioni contenenti grassi, pesare il campione in un provettone (da almeno 50 ml) ed estrarre con acqua calda; raffreddare consentendo al grasso di separarsi (ad esempio in un bagno di ghiaccio per 15 min); portare a volume con acqua, rimuovere lo strato di grasso sulla superficie e filtrare la fase acquosa prima dell'analisi
- Portare a pH di circa 8 aggiungendo KOH/NaOH a campioni acidi e HCl a soluzioni alcaline.

Procedura operativa

Lunghezza d'onda: 340 nm

Cammino ottico: 1 cm

Temperatura: 20 – 25 °C / 37 °C

Misura: contro aria o acqua

Campioni: 10 – 500 mg/l

| | Bianco reagente (BR) | Campioni |
|--|----------------------|----------|
| Campione / Standard | - | 100 µl |
| Acqua distillata | 100 µl | - |
| Reagente 1 | 2000 µl | 2000 µl |
| Mescolare, incubare 1 min a 37 °C o 3 min a 20 - 25 °C. Leggere l'assorbanza A1, poi aggiungere: | | |
| Reagente 2 | 500 µl | 500 µl |
| Mescolare, attendere la fine della reazione (circa 10 min a 37°C o 15 min a 20 - 25°C). Leggere l'assorbanza A2. | | |

Il bianco reattivo deve essere misurato una volta ad ogni serie, e sottratto ad ogni campione nel calcolo dei risultati.

Calcolo dei risultati

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

df (fattore di diluizione) = fattore di diluizione della densità ottica
df = (campione + R1) / (campione + R1 + R2) = 0,808.

$$c = (V \times MW \times \Delta A) / (\epsilon \times d \times v \times 1000) \quad [\text{in g/l di D-/L-Lattato}]$$

$$c = (2,600 \times 90,1 \times \Delta A) / (\epsilon \times 1 \times 0,1 \times 1000)$$

Ne risulta per una determinazione a 340 nm ($\epsilon = 6,3 \text{ l} \cdot \text{mmol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$):

$$c_{\text{D-/L-Lattato}} [\text{g/l}] = 0,3718 \times \Delta A$$

Campioni solidi:

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

Performance del test

Specificità

Il test è specifico per l'acido D- e L-Lattico. L'acido ascorbico, l'acido idrossibutirrico ed i solfiti (SO₂) interferiscono a partire da 0,02 g/l. L'acido ossalico interferisce a partire da 0,2 g/l, e tutte le altre sostanze provate fino a 20 g/l non interferiscono.

Linearità e intervallo di misurazione

Il test è lineare fino a 500 mg/l d'acido D-/L- Lattico. L'intervallo di misura raccomandato va da 25 a 500 mg/l, per un $\Delta A \cong 1.5$ (A). Quando i valori superano questo range, i campioni devono essere diluiti con acqua distillata tra 50 e 500 mg/l. Moltiplicare il risultato ottenuto per il fattore di diluizione.

Sensibilità

Il limite inferiore di rivelazione (Ld) ed il limite di quantificazione (Lq) sono stati determinati secondo la norma DIN 32645:2008 - 11:

$$- \text{Ld} = 5 \text{ mg/l}$$

$$- \text{Lq} = 10 \text{ mg/l}$$

Automazione

Applicazioni per sistemi automatici sono disponibili su richiesta.

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.