

Determinazione enzimatica in prodotti alimentari
2 x 50 ml R1 / 2 x 12,5 ml R2 (50 prove)

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

Principio

Test enzimatico con con β-Fruktosidasi, Esochinasi (HK), Fosfoglucoisomerasi (PGI) e Glucosio-6-Fosfato Deidrogenasi (G-6-P DH). Il NADH prodotto viene misurato a 340 nm:



Reagenti

I reagenti sono pronti all'uso.

Reagente 1: due flaconi ≥ 50 ml (NAD, β-Fruktosidasi, ATP, PGI)

Reagente 2: due flaconi ≥ 12,5 ml (HK, G6P-DH)

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 può contenere 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 possono essere utilizzati tal quali o dopo diluizione in un intervallo di concentrazione opportuno (vedere la sezione Performance del kit)
- Filtrare o centrifugare le soluzioni torbide
- Degassare i campioni contenenti anidride carbonica
- Chiarificare i campioni contenenti proteine o grassi con il reattivo 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 circa pH 7.0, 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 – 1500 mg/l

	Bianco reagente (BR)	Campioni
Campione / Standard	-	100 µl
Acqua distillata	100 µl	-
Reagente 1	2000 µl	2000 µl
Mescolare, incubare ca. 15 min a 20 - 25 °C. Leggere l'assorbanza A ₁ , poi aggiungere:		
Reagente 2	500 µl	500 µl
Mescolare, attendere la fine della reazione (circa 15 min a 20 - 25°C), in seguito leggere l'assorbanza A ₂ .		

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

Calcolo dei risultati

Zucchero totale

$\Delta A = (A_2 - df \times A_1)_{\text{campione}} - (A_2 - df \times A_1)_{\text{BR}}$
 df (fattore di diluizione) = fattore di diluizione della densità ottica, sulla base dei volumi di reattivi aggiunti durante il test:
 $df = (\text{campione} + R1) / (\text{campione} + R1 + R2) = 0,808.$

$c = (V \times MW \times \Delta A) / (\epsilon \times d \times v \times 1000)$ [g/l di "Zuccheri totali"]
 $c = (2,600 \times 180,16 \times \Delta A) / (\epsilon \times 1 \times 0,1 \times 1000)$
 Ne risulta per una determinazione a 340 nm:
 $C_{\text{zuccheri totali}} [\text{g/l}] = 0,744 \times \Delta A$

Il risultato è la somma del Saccarosio, D-Glucosio e D-Fruktosio presenti nel campione. È calcolato come "Zucchero Totale", con il peso molecolare del Glucosio (180,16 g/mol).

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 il Saccarosio, D-Glucosio e D-Fruktosio. Gli oligosaccaridi di tipo raffinoso sono idrolizzati, ma più lentamente del saccarosio.

Intervallo di misurazione

L'intervallo di misura raccomandato va da 10 a 1500 mg/l (Saccarosio, D-Glucosio, D-Fruktosio). Quando i valori superano questo range di misura, i campioni devono essere diluiti tra 100 e 1500 mg/l.

Sensibilità

Il limite inferiore di rivelazione (Ld) ed il limite di quantificazione (Lq) sono stati determinati secondo la norma DIN 32645:2008 - 11:
 - Ld = 6 mg/l
 - Lq = 10 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.