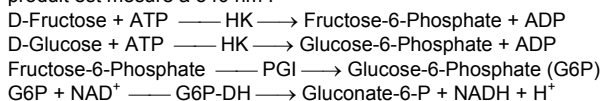


Détermination enzymatique du D-Glucose / D-Fructose dans les produits alimentaires
2 x 50 ml R1 + 2 x 12,5 ml R2 + 2 x 12,5 ml R3 (50 tests)

Pour usage *in vitro* uniquement
Conserver entre +2 et +8 °C

Principe

Test enzymatique avec l'Hexokinase (HK), la Phosphoglucose Isomérase (PGI) et la Glucose-6-Phosphate déshydrogénase (G6P-DH). Le NADH produit est mesuré à 340 nm :



Réactifs

Les réactifs sont prêts à l'emploi :

- #1: Réactif 1, env. 50 ml x 2 flacons (NAD, tampon)
- #2: Réactif 2, env. 12,5 ml x 2 flacons (HK, G6P-DH)
- #3: Réactif 3, env. 12,5 ml x 2 flacons (PGI)

Les réactifs sont stables jusqu'au dernier jour du mois indiqué, s'ils sont conservés entre 2 et 8 °C. Ne pas congeler les réactifs. Amener les réactifs à température ambiante avant utilisation.

Appliquer les précautions habituelles en vigueur dans le laboratoire. Ne pas avaler ! Éviter tout contact avec la peau et les membranes muqueuses.

Ce coffret peut contenir des substances dangereuses pour la santé. Pour avoir les informations sur les dangers des substances présentes, merci de consulter les fiches de sécurité appropriées (MSDS) disponibles sur notre site Internet www.r-biopharm.com. Après utilisation, les réactifs doivent être éliminés comme déchets de laboratoire. Les emballages peuvent être recyclés.

Préparation des échantillons

- Utiliser des échantillons liquides clairs, transparents et pratiquement neutres directement dans le test. Si nécessaire, diluer l'échantillon pour être dans le domaine de mesure (voir § Performances du test)
- Filtrer ou centrifuger les solutions troubles.
- Éliminer le gaz carbonique des échantillons.
- Clarifier les échantillons contenant des protéines avec la méthode de Carrez.
- Ecraser et homogénéiser les échantillons solides et semi-solides et extraire avec de l'eau. Filtrer ou centrifuger, ou utiliser une clarification de Carrez si nécessaire.
- Pour les échantillons contenant des matières grasses, peser une quantité suffisante d'échantillon dans un flacon volumétrique (min. 50 ml) et extraire avec de l'eau chaude. Refroidir pour séparer les graisses pendant 15 min. Ajuster à la marque, éliminer la couche de graisse au-dessus et filtrer la fraction aqueuse.
- Ajuster le pH à env. 8.0 en ajoutant KOH / NaOH aux échantillons acides ou HCl aux échantillons alcalins.

Mode opératoire

Longueur d'onde: 340 nm, Hg 334 nm, Hg 365 nm
Trajet optique: 1 cm
Température: 20 – 25 °C / 37 °C
Mesure: contre l'air ou l'eau
Échantillons: 20 – 1500 mg/l

	Blanc réactif (BR)	Échantillons
Échantillon / Standard	-	100 µl
Eau distillée	100 µl	-
Réactif 1	2000 µl	2000 µl
Mélanger, incuber 1 min à 37 °C ou 3 min à 20 - 25 °C. Lire l'absorbance A1, puis ajouter:		
Réactif 2	500 µl	500 µl
Mélanger, attendre la fin de la réaction (env. 10 min à 37°C ou 15 min à 20 - 25°C). Lire l'absorbance A2, puis ajouter :		
Réactif 2	500 µl	500 µl
Mélanger, attendre la fin de la réaction (env. 10 min à 37°C ou 15 min à 20 - 25°C). Lire l'absorbance A3.		

Le blanc réactif doit être mesuré une fois à chaque série, et être soustrait de chaque échantillon lors du calcul des résultats.

Calcul des résultats

D-Glucose

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

df (dilution factor) = facteur de dilution de la densité optique, du fait des volumes de réactifs rajoutés pendant le test.
df = (échantillon + R1) / (échantillon + R1 + R2) = 0,808.

$$c = (V \times MW \times \Delta A) / (\varepsilon \times d \times v \times 1000) \quad [\text{en g/l de D-glucose}]$$

$$c = (2,600 \times 180,16 \times \Delta A) / (\varepsilon \times 1 \times 0,1 \times 1000)$$

Il en résulte pour un test à 340 nm ($\varepsilon = 6.3 \text{ l} \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$):

$$C_{\text{D-Glucose}} [\text{g/l}] = 0,744 \times \Delta A$$

D-Fructose

$$\Delta A = (A_3 - df \times A_2)_{\text{Échantillon}} - (A_3 - df \times A_2)_{\text{BR}}$$

df = (échantillon + R1 + R2) / (échantillon + R1 + R2 + R3) = 0,839.

$$c = (V \times MW \times \Delta A) / (\varepsilon \times d \times v \times 1000) \quad [\text{en g/l de D-glucose}]$$

$$c = (3,100 \times 180,16 \times \Delta A) / (\varepsilon \times 1 \times 0,1 \times 1000)$$

Il en résulte pour un test à 340 nm ($\varepsilon = 6.3 \text{ l} \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$):

$$C_{\text{D-Fructose}} [\text{g/l}] = 0,877 \times \Delta A$$

D-Glucose et D-Fructose sans différenciation

Ajouter les réactifs 2 et 3 immédiatement l'un derrière l'autre et incuber une seule fois.

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

df = (échantillon + R1) / (échantillon + R1 + R2 + R3) = 0,677.

$$c = (V \times MW \times \Delta A) / (\varepsilon \times d \times v \times 1000) \quad [\text{en g/l de D-glucose}]$$

$$c = (3,100 \times 180,16 \times \Delta A) / (\varepsilon \times 1 \times 0,1 \times 1000)$$

Il en résulte pour un test à 340 nm ($\varepsilon = 6.3 \text{ l} \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$):

$$C_{\text{D-Glucose / D-Fructose}} [\text{g/l}] = 0,877 \times \Delta A$$

Échantillons solides

$$\text{Contenu} [\text{g}/100 \text{ g}] = \frac{C_{\text{D-Glucose / D-Fructose}} [\text{g/l}]}{\text{poids}_{\text{échantillon}} [\text{g/l}]} \times 100$$

Performances du test

Spécificité

Le test est spécifique du D-Glucose et D-Fructose. Aucune interférence n'a été observée pour le Galactose, Lactose, Maltose, Mannitol, Sorbitol et saccharose. Le mannose ne montre pas d'interférences jusqu'à 5 g/l, mais induit des recouvrements trop faibles à de plus hautes concentrations. Si le ratio D-Glucose/ D-Fructose est supérieur à 10:1, la précision du test pour le D-Fructose diminue.

Domaine de mesure

Le test mesure la concentration en D-Glucose / D-Fructose de 20 à 1500 mg/l (total des deux sucres). Lorsque les valeurs dépassent ce domaine de mesure, les échantillons doivent être dilués avec de l'eau distillée dans une fourchette de 100 à 1500 mg/l. Multiplier le résultat obtenu par le facteur de dilution.

Sensibilité

La limite inférieure de détection (Ld) et la limite de quantification (Lq) ont été déterminées selon la norme DIN 32645:2008-1 :

- Ld = 4.0 mg/l
- Lq = 10 mg/l

Automatisation

Des applications pour automates sont disponibles sur demande.

Clause de responsabilité

Ces données correspondent à nos connaissances techniques actuelles et fournissent des informations sur nos produits et leur utilisation. R-Biopharm ne donne aucune garantie d'aucune sorte, exprimée ou implicite, en dehors du fait que les matières premières utilisées pour la fabrication de ce produit sont de qualité standard. Les produits défectueux seront remplacés. Il n'y a aucune garantie sur la valeur marchande de ce produit, ou de son adéquation à un but quelconque.