

Determinazione enzimatica del D-Galattosio in prodotti alimentari  
2 x 50 ml R1 / 2 x 12,5 ml R2 (50 test)

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

**Principio**

Test enzimatico con Galattosio Deidrogenasi (Gal-DH). Il NADH prodotto viene misurato a 340 nm:  
D-Galattosio + NAD<sup>+</sup> — Gal-DH —> Acido Galattonico + NADH

**Reagenti**

I reagenti sono pronti all'uso.

# Reagente 1: due flaconi ≥ 50 ml (NAD)

# Reagente 2: due flaconi ≥ 12,5 ml (Gal-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](http://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 concentrati 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

**Procedura operativa**

Lunghezza d'onda: 340 nm  
Cammino ottico: 1 cm  
Temperatura: 20 - 25 °C  
Misura: contro aria o acqua  
Campioni: 15 - 1000 mg/l

	Bianco reagente (BR)	Campioni
<b>Campione / Standard</b>	-	100 µl
<b>Acqua distillata</b>	100 µl	-
<b>Reagente 1</b>	2000 µl	2000 µl
Mescolare, incubare ca. 3 min a 20 - 25 °C. Leggere l'assorbanza A <sub>1</sub> , poi aggiungere:		
<b>Reagente 2</b>	500 µl	500 µl
Mescolare, attendere la fine della reazione (≥ 15 min a 25°C o ≥ 40 min a 20°C), in seguito leggere l'assorbanza A <sub>2</sub> .		

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

**Calcolo dei risultati**

**Soluzione campione**

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

**c** = (V x MW x Δ A) / (ε x d x v x 1000) [in g/l di D-Galattosio] con:

V	(volume totale)	= 2,600 [ml]
MW	(peso molecolare)	= 180,16 [g/mol]
d	(cammino ottico)	= 1,00 [cm]
v	(volume campione)	= 0,100 [ml]
ε	(Coefficiente di assorbanza del NADH) [l x mmol <sup>-1</sup> x cm <sup>-1</sup> ]:	
	340 nm = 6,3	334 nm = 6,18
		365 nm = 3,4

**c** = (2,600 x 180,16 x Δ A) / (ε x 1 x 0,1 x 1000)

Ne risulta per una determinazione a 340 nm:

$c_{D-Galattosio} [g/l] = 0,744 \times \Delta A$

**Campioni solidi**

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

**Performance del test**

**Specificità**

Il test è specifico del D-Galattosio. La Gal-DH ossida D-Galattosio, ma anche L-Arabinosio al 100%.

**Intervallo di misurazione**

L'intervallo di misura raccomandato va da 25 a 1000 mg/l. Quando i valori superano questo range di misura, i campioni devono essere diluiti tra 50 e 1000 mg/l.

**Sensibilità**

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

- LoD = 15 mg/l (D-Galattosio)
- LoQ = 25 mg/l (D-Galattosio)

**Automazione**

Su richiesta sono disponibili applicazioni per sistemi automatici.

**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.