

Ферментативный анализ для определения D-молочной кислоты в пищевых продуктах и других образцах
2 x 50 мл R1 и 2 x 12,5 мл R2 – 50 анализов (вручную) / ≥ 500 анализов (автоматический анализатор)

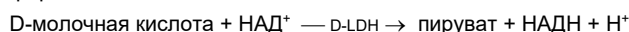
Только для анализа *in vitro*
Хранить при 2 - 8 °C

Описание

Ферментативный УФ-тест для количественного определения D-молочной кислоты с помощью D-лактатдегидрогеназы (D-LDH). Для определения суммы D- и L-молочной кислоты подходит тест Enzytec™ Liquid D-/L-Молочная кислота E8240. Если требуется только концентрация L-молочной кислоты, используйте жидкую L-молочную кислоту Enzytec™ E8260 или вычитите определенную концентрацию D-молочной кислоты из результата теста E8240.

Принцип метода

D-молочная кислота превращается в пируват в присутствии фермента D-LDH:



Никотинамидадениндинуклеотид (НАД) в процессе восстанавливается до НАДН. Израсходованное количество НАД эквивалентно превращенному количеству D-молочной кислоты и измеряется при 340 нм.

Реагенты

Все реагенты готовы к использованию.

- Реагент 1: 2 x 50 мл (буфер, D-LDH)
- Реагент 2: 2 x 12,5 мл (буфер, NAD)

Реагенты стабильны до конца указанного месяца годности при хранении при температуре 2–8 °C. Не замораживайте реагенты. Дайте реагентам достичь лабораторной температуры перед использованием (20–25 °C).

Должны применяться общие правила безопасности при работе в химических лабораториях. Не глотать! Избегайте контакта с кожей и слизистыми оболочками.

Этот комплект может содержать дополнительные опасные вещества. Примечания об опасности содержащихся веществ см. в соответствующих паспортах безопасности материалов (MSDS) для этого продукта, доступных онлайн на сайте www.rbiopharm.com. После использования реагенты могут быть утилизированы вместе с лабораторными отходами. Упаковочные материалы могут быть переработаны.

Пробоподготовка

- Используйте прозрачные, бесцветные и pH-нейтральные жидкие образцы непосредственно или после разбавления до соответствующего диапазона измерения (см. характеристики теста).
- Отфильтруйте или отцентрифугируйте мутные растворы.
- Дегазируйте образцы, содержащие углекислый газ.
- Измельчите и гомогенизируйте твердые образцы, взвесьте необходимое количество образца и экстрагируйте водой.
- Если образец содержит белки, осветлите его реагентом Карреза.
- Образцы, содержащие жир, взвесьте в мерной колбе (минимум 50 мл) и экстрагируйте горячей водой; охладите, чтобы жир отделился; доведите до метки водой, снимите верхний жировой слой и отфильтруйте водную часть.
- Подробное руководство по подготовке проб предоставляется по запросу.

Процедура анализа

Длина волны: 340 нм
Температура: 37 °C или 20 - 25 °C
Измерения: Против воздуха или против воды
Образец: 20 - 500 мг/л

	Холостая проба	Образцы / Контроли
Реагент 1	2000 мкл	2000 мкл
Образец/Контроль	-	100 мкл
Дист. вода	100 мкл	-
Перемешать, инкубировать 3 мин at 37 °C или 20 - 25 °C. Измерить абсорбцию A ₁ , затем добавить:		
Реагент 2	500 мкл	500 мкл
Перемешать, подождать конца реакции (инкубировать прим. 10 мин при 37°C или 15 мин при 20 - 25 °C) и измерить A ₂ .		

Холостой образец должен ставиться параллельно исследуемым пробам и стандартам для каждого анализа и вычитаться из результата каждого образца.

Вычисление результатов

Вычисление для растворов образца:

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

df: Фактор разведения

RB: Холостая проба

$$df = \frac{(\text{объём образца} + R1)}{(\text{исслед. объём})} = 0.808$$

$$C_{\text{D-молочной кислоты}} [\text{г/л}] = \frac{(V \times MW \times \Delta A)}{(\epsilon \times d \times v \times 1000)}$$

V:	Исследуемый объём [мл]	= 2.600
MW:	Молекулярная масса [г/моль]	= 90.08
d:	Оптический путь [см]	= 1.00
v:	Объём образца [мл]	= 0.100
ε:	Коэффициент экстинкции НАДН [л/ммоль x см]	= 6.3 (при 340 нм)

Результаты определения при 340 нм:

$$C_{\text{D-молочной кислоты}} [\text{г/л}] = 0.3718 \times \Delta A$$

Вычисления для твёрдых образцов:

$$\text{Содержание}_{\text{D-молочной кислоты}} [\text{г/100 г}] = \frac{C_{\text{D-молочной кислоты}} [\text{г/л}]}{\text{масса}_{\text{образца}} [\text{г/л}]} \times 100$$

Технические характеристики

Специфичность

Тест специфичен для D-молочной кислоты и не показывает побочных действий или взаимодействий с другими соответствующими органическими кислотами до 20 г/л. Сульфит и аскорбиновая кислота не оказывали влияния при концентрации 0,02 г/л или ниже.

Линейность & Диапазон измерений

Линейность дается до 700 мг/л D-молочной кислоты, при этом рекомендуемый диапазон измерений составляет от 20 до 500 мг/л.

Если этот диапазон превышен, образцы следует разбавить дист. воды до концентрации D-молочной кислоты в пределах диапазона измерений. При расчете необходимо учитывать коэффициент разбавления.

Чувствительность

Предел обнаружения (LoD) и предел количественного определения (LoQ) определяли по методу DIN 32645:2008-11 в забуференном водном растворе для объема образца v = 100 мкл. Были получены результаты: LoD 5 мг/л и LoQ 20 мг/л.

Для максимального объема образца v = 1000 мкл и тестового объема V = 3,5 мл теоретические значения LoD и LoQ были определены расчетным путем по закону Ламберта-Бера. Наименьшая разница в абсорбции, которую может определить этот метод, составляет ΔA = 0,005, в результате чего LoD составляет 0,21 мг/л.

На основании ΔA = 0,010 был рассчитан LoQ, равный 0,43 мг/л.

Автоматизация

Приложений для автоматизированных систем предоставляются по запросу.

Официальный дистрибьютор
в России:
ООО "НеоТест"
ул. Рапошчина, 1Г, г. Владимир
+7 499 649 02 01
info@neo-test.ru
www.neo-test.ru



Официальный дистрибьютор
в Беларуси:
ОДО "КомПродСервис"
ул. Филимонова, 25Г, г. Минск
+375 17 336 50 54
info@komprod.com
www.komprod.com

