

Ферментативный анализ для определения мочевины и аммиака 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)

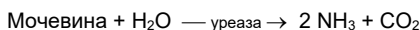
Только для анализа *in vitro*
Хранить при 2 - 8 °С

Принцип метода

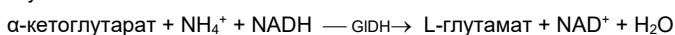
Ферментативный УФ-тест с уреазой и глутаматдегидрогеназой (GIDH). Результат представляет собой сумму аммиака после расщепления мочевины и свободного аммиака. Для дифференциации результата свободный аммиак необходимо определить в отдельном тесте с использованием жидкого аммиака E8390 Enzytec™ и вычесть из результата этого теста E8395 Enzytec™.

Принцип работы теста

Фермент уреазы расщепляет мочевину до аммиака и углекислого газа:



Аммиак реагирует с α-кетоглутаратом в присутствии GIDH и никотинамидадениндинуклеотида (NADH) с образованием L-глутамата и NAD⁺:



Расход NADH стехиометрически связан с количеством образовавшегося аммиака или половиной количества мочевины. Поглощение измеряется при 340 нм.

Реагенты

Все реагенты готовы к использованию.

- Реагент 1: 2 x 50 мл (буфер, NADH)
- Реагент 2: 2 x 12.5 мл (α-кетоглутарат, уреазы, GIDH)

Реагенты стабильны до конца срока годности, указанного на упаковке, при хранении при температуре 2–8 °С. Не замораживайте реагенты. Дайте реагентам достичь комнатной температуры перед использованием (20–25 °С).

Должны соблюдаться общие правила безопасности при работе в химических лабораториях. Реагенты не глотать! Избегайте контакта реагентов с кожей и слизистыми оболочками.

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

Пробоподготовка

- Используйте жидкие или прозрачные образцы непосредственно или после разбавления до соответствующего диапазона измерения (см. характеристики теста). При расчете необходимо учитывать коэффициент разбавления.
- Отфильтруйте или отцентрифугируйте мутные растворы.
- Дегазируйте образцы, содержащие углекислый газ.
- Измельчите и гомогенизируйте твердые и полутвердые образцы, экстрагируйте необходимое количество образца хлорной кислотой и КОН.
- Пробы молока: осадите трихлоруксусной кислотой (напр., 0,3 М, 1:4), центрифугируйте прибл. 5 мин и используйте прозрачный супернатант.
- Осветление раствором Кареза использовать запрещено!
- Подробное руководство по подготовке проб предоставляется по запросу.

Процедура анализа

Длина волны: 340 нм
Температура: 37 °С или 20 - 25 °С
Измерения: против воздуха
Образец: вода 8 - 170 мг/л

	Холостой образец	Образец / контроль
Реагент 1	2000 мкл	2000 мкл
Образец/контроль	-	100 мкл
Дист. вода	100 мкл	-
Перемешайте, инкубируйте 3 мин при 20-37°C. Измерьте абсорбцию A1, затем добавьте:		
Реагент 2	500 мкл	500 мкл
Перемешайте, инкубируйте ок. 20 мин при 20–37 °С. Измерьте абсорбцию A2.		

Холостое значение реагента должно быть определено один раз для каждого запуска и вычтено из результата каждого образца.

Вычисление результатов

Вычисление для растворов образцов

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

df: фактор разведения
RB: Холостая проба

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

$C_{\text{Мочевина}} [\text{г/л}] = \frac{(V \times MW \times \Delta A)}{(\epsilon \times 2 \times d \times v \times 1000)}$

V: Исследуемый объем [мл] = 2.600
MW: Молекулярная масса [г/моль] = 60.06
d: Оптический путь [см] = 1.00
v: Объем образца [мл] = 0.100
ε: Коэффициент экстинкции NADH [л/ммоль x см] = 6.3 (при 340 нм)

Для определения при 340 нм это дает:

$C_{\text{Мочевина}} [\text{г/л}] = 0.1239 \times \Delta A$

Вычисления для твёрдых образцов

$\text{Содержание}_{\text{Мочевина}} [\text{г/100 г}] = \frac{C_{\text{Мочевина}} [\text{г/л}]}{\text{масса}_{\text{образца}} [\text{г/л}]} \times 100$

Дифференциация мочевины и свободного аммиака

$C_{\text{Мочевина без свободного аммиака}} [\text{г/л}] = C_{\text{Мочевина/Аммиак}} - (C_{\text{Аммиак}} \times 1.763)$

Технические характеристики

Специфичность

Тест специфичен для мочевины/аммиака и не показывает побочных действий или взаимодействий с соответствующими органическими кислотами, сахарами или консервантами, такими как аскорбиновая кислота. Сульфит и лимонная кислота не мешают при концентрациях 6,25 г/л и 25 г/л соответственно.

Линейность и диапазон измерений

Линейность дается до 190 мг/л мочевины. Рекомендуемый диапазон измерения составляет от 8 до 170 мг/л мочевины.

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. Результаты: LoD = 4,0 мг/л и LoQ = 8,0 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 Ламберту-Беру. Наименьшая разница в абсорбции, которую может определить этот метод, составляет ΔA = 0,005, в результате чего LoD составляет 0,08 мг/л. На основании ΔA = 0,020 был рассчитан LoQ, равный 0,33 мг/л.

Автоматизация и валидация

Листы приложений для автоматизированных систем и отчеты о проверке клиентов доступны по запросу.

Официальный дистрибьютор в России:
ООО "НеоТест"
ул. Растищина, 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

