

Ферментативный анализ для определения D-глюконовой кислоты в пищевых продуктах и других материалах образцов
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

Ферментативное УФ-определение D-глюконовой кислоты и D-глюконо-δ-лактона с глюконаткиназой (GK), АДФ-зависимой гексокиназой (ADP-HK) и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназой (G6P-DH).

Принцип метода

D-глюконовая кислота превращается АТФ в присутствии фермента GK в D-глюконат-6-фосфат:

D-глюконовая кислота + АТФ — GK → D-глюконат-6-фосфат + АДФ

Полученный АДФ превращается с D-глюкозой с помощью АДФ-GK в D-глюкозо-6-фосфат:

АДФ + D-глюкоза — ADP-HK → D-глюкозо-6-фосфат + АМФ

D-глюкозо-6-фосфат + НАД⁺ — G6P-DH →

D-глюконо-δ-лактон-6-фосфат + НАДН + Н⁺

Никотинамидадениндинуклеотид (НАД) восстанавливается до НАДН. Потребление НАД эквивалентно количеству D-глюконовой кислоты и измеряется при длине волны 340 нм.

Реагенты

Все реагенты готовы к использованию.

- Реагент 1: 2 x 50 мл (буфер, НАД)
- Реагент 2: 2 x 12,5 мл (ADP-HK, G6P-DH, GK)

Реактивы стабильны до конца указанного срока годности при хранении при 2-8°C, даже после многократного вскрытия (если не было загрязнений). Не замораживайте реагенты. Дайте реагентам достичь лабораторной температуры перед использованием (20–25 °C).

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

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

Подготовка

- Отрегулируйте pH до 10-11 образцов в помощью 5 M NaOH.
- 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 и полутвердые образцы, экстрагируйте необходимое количество образца хлорной кислотой и КОН.
- Для осветления белковосодержащих проб рекомендуется подготовка хлорной кислотой или трихлоруксусной кислотой.
- При необходимости обесцвечивать сильно окрашенные образцы с помощью PVPP.
- 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: 2 - 1500 мг/л

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

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

Вычисление результатов

Вычисления для растворов образцов:

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

df: фактор разведения

RB: холостой образец

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

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

V: Исследуемый объем [мл] = 2.600

MW: Молекулярная масса [г/моль] = 196.16

d: Оптический путь [см] = 1.00

v: Объем образца [мл] = 0.100

ε: Коэффициент экстинкции НАДН [л/ммоль x см] = 6.3 (at 340 nm)

Для определения при 340 нм:

$$C_{\text{D-глюконовая кислота}} [\text{г/л}] = 0.809 \times \Delta A$$

Вычисления для твердых образцов:

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

Технические характеристики

Специфичность

Тест специфичен для D-глюконовой кислоты и не показывает побочных действий или взаимодействий с другими соответствующими кислотами. В присутствии D-/L-яблочной кислоты, а также D-, L- и мезовинной кислоты до 6,25 г/л не было выявлено помех. Сульфит не оказывает влияния при концентрации 0,75 г/л или ниже.

Линейность & Диапазон измерений

Линейность дается до 2000 мг/л D-глюконовой кислоты. Рекомендуемый диапазон измерения составляет от 2 до 1500 мг/л D-глюконовой кислоты.

Если этот диапазон превышен, образцы следует разбавить дист. воды до концентрации глюконовой 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:

- Объем образца v = 100 мкл: LoD = 1.44 мг/л
LoQ = 2.49 мг/л
- Объем образца v = 1000 мкл: LoD = 0.25 мг/л
LoQ = 0.42 мг/л

Автоматизация & Валидационный отчет

Приложения для автоматизированных систем и валидационные отчеты клиентов доступны по запросу.

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

