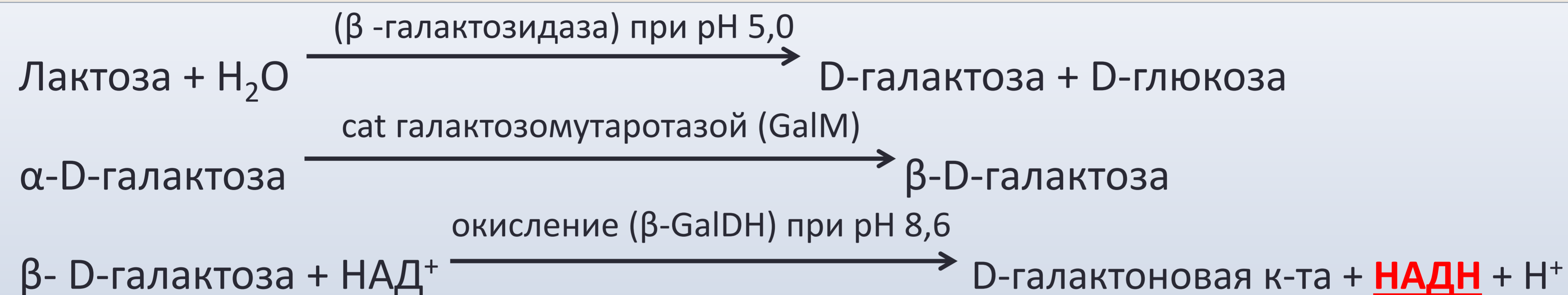


# Определение лактозы ферментативным методом

Авсянкина И.О., Карнакова М.Ю.

Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены», Минск, Республика Беларусь

Ферментные методы измерения лактозы основаны на гидролизе лактозы до D-галактозы, и D-глюкоза с  $\beta$ -галактозидазой с последующим определением либо D-галактоза или D-глюкоза:



Количество **НАДН**, образующегося в этой реакции, стехиометрическое по отношению к количеству лактозы. Именно **НАДН** измеряется увеличением поглощение при 340 нм.

## ПО ТНПА:

Содержания лактозы в **безлактозных** молочных продуктах должно составлять не более 0,1 г/л (0,01%)

Содержания лактозы в **низколактозных** молочных продуктах должно составлять не более 10 г/л (1,0%)

Для определения лактозы и D-галактозы применяем набор фирмы "Megazyme" «Lactose and D-Galactose (rapid)»

## Условия пробоподготовки:

1 см<sup>3</sup> образца

4 см<sup>3</sup> воды t=50°C

2,5 см<sup>3</sup> 0,2М уксусная кислота

2,5 см<sup>3</sup> ацетата натрия

фильтрация

Для количественного определения лактозы используют прозрачный фильтрат в количестве 0,2 см<sup>3</sup>

## Целью работы – разработка

условий пробоподготовки для определения лактозы и установление нижнего предела обнаружения лактозы в безлактозных, низколактозных молочных продуктах ферментативным методом.

Нижний предел обнаружения лактозы в наборе на уровне **0,000296%**, что удовлетворяет требованиям ТНПА.

Реактивы, дозируемые в кювету, см <sup>3</sup>	Обозначение кювет			
	Лактоза		D-галактоза	
	Контроль	Проба	Контроль	Проба
Проба	-	0,20	-	0,20
Раствор 4 ( $\beta$ -галактозидаза)	0,20	0,20	-	-
Перемешивают, выдерживают в течение 10 минут при t=25 °C				
Дистиллированная вода	2,20	2,00	2,40	2,20
Раствор 2 (буфер)	0,20	0,20	0,20	0,20
Раствор 3 (NAD <sup>+</sup> )	0,10	0,10	0,10	0,10
Перемешивают, выдерживают в течение 3 минут, измеряют оптическую плотность растворов A <sub>1</sub>				
Реактив 5 ( $\beta$ -GalDH/GalM)	0,02	0,02	0,02	0,02
Перемешивают, через 15 минут измеряют оптическую плотность растворов A <sub>2</sub> .				

**Контакты:** Телефон: (017) 284-13-70, факс: (017) 284-03-45

E-mail: rspch@rspch.by

Реактивы, дозированные в кювету, см <sup>3</sup>	Обозначение кювет			
	Лактоза		D-галактоза	
	Контроль	Проба	Контроль	Проба
Проба	-	0,20	-	0,20
Раствор 4 (β - галактозидаза)	0,20	0,20	-	-
Перемешивают, выдерживают в течение 10 минут при t=25 °C				
Дистиллированная вода	2,20	2,00	2,40	2,20
Раствор 2 (буфер)	0,20	0,20	0,20	0,20
Раствор 3 (NAD <sup>+</sup> )	0,10	0,10	0,10	0,10
Перемешивают, выдерживают в течение 3 минут, измеряют оптическую плотность растворов A <sub>1</sub>				
Реактив 5 (β- GalDH/GalM)	0,02	0,02	0,02	0,02
Перемешивают, через 15 минут измеряют оптическую плотность растворов A <sub>2</sub> .				

Реактивы, дозируемые в кювету, см <sup>3</sup>	Обозначение кювет			
	Лактоза		D-галактоза	
	Контроль	Проба	Контроль	Проба
Проба	-	0,20	-	0,20
Раствор 4 (β - галактозидаза)	0,20	0,20	-	-
Перемешивают, выдерживают в течение 10 минут при t=25 °C				
Дистиллированная вода	2,20	2,00	2,40	2,20
Раствор 2 (буфер)	0,20	0,20	0,20	0,20
Раствор 3 (NAD <sup>+</sup> )	0,10	0,10	0,10	0,10
Перемешивают, выдерживают в течение 3 минут, измеряют оптическую плотность растворов A <sub>1</sub>				
Реактив 5 (β-GalDH/GalM)	0,02	0,02	0,02	0,02
Перемешивают, через 15 минут измеряют оптическую плотность растворов A <sub>2</sub> .				