



Sample preparation:

The concentration of Trehalose in the sample used in the assay procedure has to be between 0.1 to 1 g/l.
If necessary, extract trehalose from sample with hot water (80°C)
(Ex.: Weigh 1.0 g of sample into a beaker, and add 40 ml of hot distilled water (~80°C). Mix 15 min. Transfer the solution into a 50 ml volumetric flask and adjust the volume)
Filter if necessary.

Removal of reducing sugars:

If sample contain glucose, it is necessary to remove it.
- Take 0.2 ml of the solution to be analysed
- Add 0.2 ml of a solution of sodium Borohydride at 10 mg/ml in 50 mM sodium hydroxide. Mix vigorously and store at 40°C for 30 min
- Add 0.5 ml of a solution of acetic acid at 200 mM. Mix vigorously with a vortex mixer. *One effervescence could be observed.*

Precision:

Under the described conditions, measurement accuracy is 5% on a control solution

Assay procedure:

Wavelength: 340nm / Optical path: 1cm / Temperature: 20-37°C
Measurement: against water or air.

	Blank	Sample
R 1	1,0 ml	1,0 ml
Water	2,0 ml	1,9 ml
Sample	0	0,1 ml
R 2	0,02 ml	0,02 ml
Mix and read the DO after 10 min	DO1	DO 1
R H	0,02 ml	0,02 ml
Mix and read DO after 20 min	DO 2	DO 2

Calculation

Determine the values for blank and samples:
 $\Delta DO = [DO 2 - DO 1]_{\text{sample}} - [DO 2 - DO 1]_{\text{blank}}$

Trehalose concentration is given by:

$$C = \frac{V \times MW}{\epsilon \times l \times v \times 1000 \times 2} \times \Delta T_{\text{Trehalose}} \quad (\text{g/L})$$

In the assay procedure:

$$C = 0,8283 \times \Delta DO \quad [\text{g/l of Trehalose in the sample}]$$

Dilution factor of the sample has to be considered in the calculation.
If reducing sugars had been removal, the result must be multiplied by the factor 0.9/0.2, by 4.5

Storage instructions and reagent stability

The reagents are stable up to the indicated month of expiry, if stored at 2-8 °C, contamination is avoided.

Warnings and precautions

Do not swallow. Avoid contact with the skin and mucous membranes.
Take necessary precautions for the use of laboratory reagents.

Assay control

Trehalose reagents must be validated with the use of standard included in the kit. The Glucose standard is ready-to-use.
For Trehalose, weigh 500 mg by liter : it corresponds to a solution at 447 mg/L of Trehalose.

Enzymatic UV 340nm test

Test de dosage enzymatique en UV à 340 nm

R1	1 x 30 mL - Buffer pH 7,5 / NADP 73mg / ATP 90mg
R2	1 x 0,6 mL - Hexokinase 160U / Glucose-6-phosphate dehydrogenase 200U
RH	1 x 0,6 mL - Trehalase 375 U
CGlc	1 x 2 mL - Glucose Control solution Solution de contrôle de Glucose
CTre	1 x 1 g - Trehalose Control

Préparation de l'échantillon :

La concentration en Tréhalose dans l'échantillon utilisé pour l'essai doit être comprise entre 0,1 et 1 g/l.
Si besoin, extraire le tréhalose de l'échantillon avec de l'eau à 80°C
(Ex. : Peser 1 g d'échantillon, le placer dans un bécher, et ajouter 40 ml d'eau distillée chauffée à 80°C. Agiter 15 min. Transférer la solution dans une fiole jaugée de 50 ml et ajuster le volume)
Filtrer si nécessaire.

Elimination des sucres réducteurs :

Si l'échantillon contient du glucose, il est nécessaire de l'éliminer.
- Prélever 0,2 ml de la solution à doser.
- Ajouter 0,2 ml d'une solution de Borohydrure de sodium à 10 mg/ml dans de l'Hydroxyde de sodium à 50 mM. Agiter vigoureusement et incubé à 40°C pendant 30 min.
- Ajouter ensuite 0,5 ml d'une solution d'acide acétique à 200 mM. Agiter vigoureusement à l'aide d'un vortex. *Une effervescence doit être observée.*

Précision :

Dans les conditions de l'essai décrites ci-dessus, la précision de la mesure est de 5% sur une solution de contrôle

Procédure d'essai :

Longueur d'onde: 340nm / Trajet optique: 1cm / Température: 20-37 °C
Mesurer contre l'eau ou l'air

	Blanc	Echantillon
R 1	1,0 ml	1,0 ml
Eau	2,0 ml	1,9 ml
Echantillon	0	0,1 ml
R 2	0,02 ml	0,02 ml
Agiter et lire la DO à 10 min	DO1	DO 1
R H	0,02 ml	0,02 ml
Agiter et lire la DO à 20 min	DO 2	DO 2

Calcul :

Détermination des valeurs pour le blanc et les essais:
 $\Delta DO = [DO 2 - DO 1]_{\text{éch}} - [DO 2 - DO 1]_{\text{blanc}}$

La concentration en Tréhalose est calculé par :

$$C = \frac{V \times MW}{\epsilon \times l \times v \times 1000 \times 2} \times \Delta T_{\text{Trehalose}} \quad (\text{g/L})$$

Soit, dans les conditions de l'essai :

$$C = 0,8283 \times \Delta DO \quad [\text{g/l de Tréhalose dans l'échantillon}]$$

Le résultat doit être multiplié par le facteur de dilution F, si nécessaire.
Si les sucres réducteurs ont été éliminés, il est nécessaire de multiplier le résultat par 0,9 / 0,2, soit par 4,5.

Instruction de stockage et stabilité des réactifs :

Les réactifs sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée, s'ils sont stockés entre 2 et 8 °C.

Précaution :

Ne pas avaler. Eviter tout contact avec la peau et les muqueuses.
Prendre les précautions nécessaires vis-à-vis de l'utilisation de réactifs de laboratoire.

Contrôle de qualité :

Les réactifs du kit Tréhalose doivent être validés par le dosage des contrôles inclut dans le kit ; le contrôle Glucose est prêt à l'emploi.
Pour le tréhalose, peser 500 mg par litre : cela correspond à une solution à 447 mg/L de Tréhalose.

EXP

use before
Date d'expiration

REF

catalogue number
N° dans le catalogue

LOT

Lot
N° de lot

2°C / 8°C

Store at 2-8°C
Conserver à 2-8°C


v16-15041

Biosentec
65 allée Campferan
31320 Auzeville Tolosane