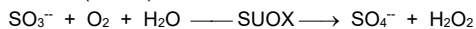


Test enzymatique pour la détermination du Sulfite (SO₂ total) dans les aliments et autres échantillons
30 ml tampon / 0,4 ml NADH-POD / 1,6 ml SUOX (30 tests)

Pour usage *in vitro* seulement
Conserver entre +2 et +8 °C

Principe

Test enzymatique avec NADH-peroxidase (NADH-POD) et sulfite oxidase (SUOX). La diminution du NADH est mesurée à 340 nm:



Préparation des réactifs

Quatre réactifs sont présents dans le coffret.

Flacon 1 : Tampon (30 ml; TEA 0,8 M; Na₂S 0,02%)

Flacon 2 : tablettes NADH (0,4 mg de NADH chacune)

Flacon 3 : Suspension NADH-POD (0,4 ml ; 14,5 U/ml)

Flacon 4 : Suspension SUOX (1,6 ml ; 2,5 U/ml)

Les réactifs sont stables jusqu'au dernier jour du mois indiqué, s'ils sont conservés entre 2 et 8 °C. Ne pas congeler les réactifs. Amener les réactifs à température ambiante avant utilisation.

Solution de travail 1+2 : dissoudre 1 tablette (flacon 2) pour 1 ml de tampon (flacon 1), en fonction du nombre de test requis.

Appliquer les précautions habituelles en vigueur dans le laboratoire. Ne pas avaler ! Éviter tout contact avec la peau et les muqueuses. Ce coffret peut contenir des substances dangereuses pour la santé. Pour avoir les informations sur les dangers des substances présentes, merci de consulter les fiches de sécurité appropriées (MSDS) disponibles sur notre site Internet www.r-biopharm.com. Après utilisation, les réactifs doivent être éliminés comme déchets de laboratoire. Les emballages peuvent être recyclés.

Préparation des échantillons

- Utiliser des échantillons liquides et clairs directement, ou après dilution dans le domaine de mesure (voir Performances du test)
- Filtrer ou centrifuger les solutions troubles
- Éliminer le gaz carbonique des échantillons
- La clarification de Carrez n'est pas autorisée pour le test sulfite
- Ecraser et homogénéiser les échantillons solides et semi-solides et extraire avec de l'eau, ensuite filtrer ou centrifuger
- Comme le sulfite est volatile, réactif et facilement oxydable, prendre des précautions particulières lors de la préparation des échantillons et lors de l'analyse. Du fait de l'instabilité du sulfite en solution, les échantillons doivent être analysés aussi vite que possible après préparation.

Mode opératoire

Longueur d'onde : 340 nm

Chemin optique : 1 cm

Volume total : 3,060 ml

Température : ~ 25°C

Blanc photomètre : contre air ou eau

Échantillons : 1 – 30 µg/cuvette

	Blanc réactifs	Échantillons
Solution 1+2	1000 µl	1000 µl
Échantillon	-	100 µl
Eau distillée	2000 µl	1900 µl
NADH-POD (flacon 3)	10 µl	10 µl
Mélanger, incubé 5 min à 20 - 25 °C. Lire l'absorbance A ₁ en temps fixé, ensuite démarrer la réaction en rajoutant :		
SUOX (flacon 4)	50 µl	50 µl
Mélanger incubé à 20 - 25 °C jusqu'à la fin de la réaction (env. 30 min)*. Lire l'absorbance A ₂ en temps fixé.		

*Si nécessaire, continuer à mesurer l'absorbance toutes les 5 min jusqu'à ce que la réaction soit terminée, ou alors mesurer la réaction non-spécifique pour la soustraire

Calcul des résultats

Les résultats sont calculés avec la loi de Lambert-Beer.

$$\Delta A = (A_2 - A_1)_{\text{échantillon ou standard}} - (A_2 - A_1)_{\text{blanc}}$$

$$c = (V \times MW \times \Delta A) / (\epsilon \times d \times v \times 1000) \text{ [g/l]}$$

$$c = (3,060 \times 64,06 \times \Delta A) / (6,3 \times 1,00 \times 0,100 \times 1000)$$

$$c = 0,311 \times \Delta A \text{ [g/l]}$$

Si l'échantillon a été dilué durant la préparation, multiplier le résultat par le facteur de dilution.

Pour l'analyse d'échantillons solides, calculer le résultat à partir de la pesée :

$$\text{Contenu [g/100g]} = \frac{C_{\text{test}} \text{ [g/l]}}{\text{poids échantillon [g/l]}} \times 100$$

Performances du test

Spécificité

La Sulfite oxidase réagit avec les sulfites, les isothiocyanates et leurs glycosides. Des composés organiques sulfoniques peuvent engendrer une réaction non-spécifique. Les sulfides, le thiosulfate, le sulfate et les composés organiques sulfoniques ne réagissent pas dans les conditions du test. Les réactifs comme le sulfite de sodium, disulfite de sodium ou de potassium absorbent l'humidité et sont rapidement oxydés. De plus ils sont instables en solution aqueuse. Dans ces conditions, il est normal d'obtenir des recouvrements inférieurs à 100 %.

Interférences

L'acide ascorbique inhibe la sulfite oxidase. Des hautes concentrations en acide L-ascorbique réagissent avec le peroxyde d'hydrogène qui est formé dans la réaction, ce qui conduit à des résultats trop bas. Le L-ascorbate doit être éliminé avant de réaliser le test sulfites, par exemple en utilisant de l'ascorbate oxidase.

Domaine de mesure

Le domaine de mesure recommandé est de 1 µg – 30 µg/cuvette. Pour un volume de 100 µl, cela correspond à 10 – 300 mg/l. Au-delà, il est nécessaire de diluer les échantillons avec de l'eau jusqu'à revenir dans le domaine de mesure. Le facteur de dilution doit être pris en compte dans les calculs.

Sensibilité

La sensibilité est calculée avec la loi de Lambert-Beer ci-dessus, et donc varie selon le v et ΔA choisis. The ΔA minimum qui peut être mesuré de façon reproductible est ΔA = 0.020 (A). Le volume échantillon (v) peut être augmenté à 2 ml (réduire l'eau de manière correspondante). Ce calcul donne les par ex. les résultats suivants :

- avec v = 0.100 ml et ΔA = 0.050, limite = 15 mg/l (routine)

- avec v = 0.500 ml et ΔA = 0.050, limite = 3 mg/l (intermédiaire)

- avec v = 2.000 ml et ΔA = 0.020, limite = 0,3 mg/l (maximum)

Contrôle qualité

Préparer un contrôle qualité chaque jour dans 100 mL d'acide citrique (1g/l) afin d'obtenir 300 mg/l d'équivalent SO₂ :

- sulfite de sodium (Na₂SO₃, 50.8% SO₂), dissoudre 59 mg

- di-sulfite de sodium (Na₂S₂O₅, 67.4 % SO₂), dissoudre 44,5 mg

- di-sulfite de potassium (K₂S₂O₅, 57.6% SO₂), dissoudre 52 mg

Clause de responsabilité

Ces données correspondent à nos connaissances techniques actuelles et fournissent des informations sur nos produits et leur utilisation. R-Biopharm ne donne aucune garantie d'aucune sorte, exprimée ou implicite, en dehors du fait que les matières premières utilisées pour la fabrication de ce produit sont de qualité standard. Les produits défectueux seront remplacés. Il n'y a aucune garantie sur la valeur marchande de ce produit, ou de son adéquation à un but quelconque.