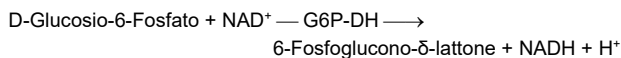
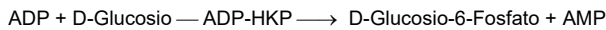
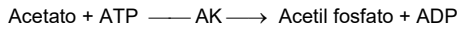


Determinazione enzimatica dell'acido acetico in alimenti ed altre matrici
2 x 50 ml R1 e 2 x 12.5 ml R2 (50 prove)

Solo per uso *in vitro*
Conservare tra +2 - +8 °C

Principio

Test enzimatico con Acetato Chinasi (AK), Esochinasi ADP-dipendente (ADP-HKP) e Glucosio-6-Fosfato Deidrogenasi (G6P-DH). Il NADH prodotto dalla reazione viene misurato a 340 nm:



Reagenti

I reagenti sono pronti all'uso.

Reagente 1: 2 bottiglie da ≥ 50 ml (Buffer, NAD)

Reagente 2: 2 bottiglie ≥ 12.5 ml (AK, ADP-HKP, G6P-DH)

Set di Calibranti: 4 bottiglie ≥ 3.5 ml ciascuna (0.02 - 1.3 g/l di acido acetico)

Tutti i reagenti sono stabili fino alla fine del mese di scadenza indicato, anche dopo ripetute aperture se non contaminati durante l'utilizzo, e se conservati a temperatura compresa tra 2 e 8°C. Non congelare i reagenti. Portare i reagenti a temperatura ambiente (20-25°C) prima dell'utilizzo.

Applicare le comuni norme di sicurezza necessarie in un laboratorio chimico. Non ingerire. Evitare il contatto con la pelle e le mucose.

Questo kit può contenere sostanze pericolose. Per informazioni sul rischio delle sostanze contenute, fare riferimento alla scheda di sicurezza di questo prodotto, disponibile on line sul sito www.r-biopharm.com. Dopo l'impiego, i reattivi devono essere eliminati come rifiuti di laboratorio. Gli imballaggi possono essere riciclati.

Preparazione dei campioni

- I campioni liquidi e limpidi possono essere analizzati tal quali, o dopo diluizione nell'intervallo di concentrazione opportuno (vedi sezione Performance del test)
- Filtrare o centrifugare le soluzioni torbide
- Degasare i campioni contenenti anidride carbonica
- Chiarificare i campioni contenenti proteine con il reattivo di Carrez
- Macinare ed omogeneizzare i campioni solidi o semi-solidi ed estrarli in acqua (es. 30 min a 60°C). Filtrare o centrifugare, o chiarificare con reattivo di Carrez se necessario
- Per campioni contenenti grassi, estrarre in acqua calda, raffreddare per permettere la separazione del grasso (20 – 30 min in frigorifero), rimuovere la linea di grasso dalla superficie e filtrare la soluzione acquosa

Procedure operative

Lunghezza d'onda: 340 nm

Cammino ottico: 1 cm

Temperatura: 20 - 25 °C

Misurazione: contro acqua distillata

Linearità: da 0.02 a 1.3 g/l

| | Bianco Reagente (RB) | Campioni / Calibranti |
|--|----------------------|-----------------------|
| Campione/Calibrante | - | 100 µl |
| Acqua distillata | 100 µl | - |
| Reagente 1 | 2000 µl | 2000 µl |
| Mescolare, incubare a 37°C per 1 min oppure a 20-25°C per 3 min. Leggere l'assorbanza A ₁ al tempo esatto, quindi aggiungere: | | |
| Reagente 2 | 500 µl | 500 µl |
| Mescolare, incubare a 37°C per 10 min oppure a 20-25°C per 15 min. Leggere l'assorbanza A ₂ al tempo esatto (la reazione non è a punto finale). | | |

Il bianco reagente va ripetuto ad ogni sessione analitica e sottratto ad ogni campione.

Calcolo dei risultati

$$1. \Delta A = (A_2 - df \times A_1)_{\text{campione}} - (A_2 - df \times A_1)_{\text{BR}}$$

df (fattore di diluizione) = fattore di diluizione della densità ottica:
df = (campione + R1) / (campione + R1 + R2) = 0,808.

2. La curva di calibrazione viene elaborata in Excel, utilizzando una interpolazione polinomiale di quarto grado. I valori di concentrazione target dei calibranti sono riportati contro i valori corrispondenti di Δ OD. La concentrazione di acido acetico dei campioni viene ricavata dall'equazione polinomiale oppure direttamente dal grafico. Su richiesta, è disponibile un Foglio di calcolo Excel.

Esempi di valori di assorbanza tipica dei calibranti:

| | Acido Acetico (g/l) | A ₂ | Δ OD (meno il Bianco) |
|---------------------|---------------------|----------------|-----------------------|
| Calibrante 1 | 0.02 | 0.288 | 0.077 |
| Calibrante 2 | 0.1 | 0.534 | 0.323 |
| Calibrante 3 | 0.3 | 0.940 | 0.729 |
| Calibrante 4 | 1.3 | 1.871 | 1.660 |

3. Calcolo per campioni solidi:

$$\text{Contenuto analita [g/100 g]} = \frac{C_{\text{analita}} \text{ [g/l]}}{\text{peso estrazione [g/l]}} \times 100$$

Performance del test

Specificità

La determinazione è specifica per l'acido acetico. Non sono state riscontrate interferenze per l'acido ascorbico (fino ad 1.0 g/l), l'acido citrico (fino a 2.5 g/l) e per l'acido tartarico (fino a 3.5 g/l). Non interferiscono nella misurazione il glicerolo (fino a 25 g/l) ed i solfiti (SO₂) fino ad 1 g/l.

Intervallo di misura

L'intervallo di misura raccomandato è tra 0.02 to 1.3 g/l, al fine di garantire un Δ A non superiore a ≅ 1.5 (A). Per concentrazioni di acido acetico superiori, diluire il campione con acqua distillata, ritestare e moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

Sensibilità

Il Limite di Rilevabilità (LoD) and Limite di Quantificazione (LoQ) è stato determinato in accord con la norma DIN 32645:2008-11:

- LoD = 2.5 mg/l
- LoQ = 4.5 mg/l

Calibrazione ed Automazione

La curva di calibrazione è stabile 7 giorni.

Su richiesta, sono disponibili applicazioni su sistemi automatici.

Dichiarazione liberatoria

I dati corrispondono al nostro attuale stato di tecnologia e forniscono informazioni sui nostri prodotti e sul loro uso. R-Biopharm non fornisce alcuna garanzia, esplicita o implicita, oltre a quella relativa alla qualità standard dei materiali di cui sono costituiti i suoi prodotti. Nel caso tali materiali risultassero difettosi, R-Biopharm si impegna a fornire prodotti sostitutivi. Non esiste garanzia di commerciabilità o di idoneità del prodotto per uno scopo particolare. R-Biopharm non è da ritenersi responsabile per danni, ivi compresi danni speciali o indiretti, o spese derivanti direttamente o indirettamente dall'utilizzo del prodotto.