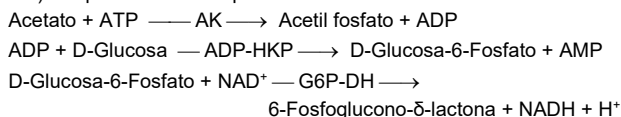


Ensayo enzimático para la determinación de ácido acético en alimentos y otras muestras
2 x 50 ml R1 y 2 x 12.5 ml R2 (50 ensayos)

Para uso sólo *in vitro*
Almacenar entre +2 - +8 °C

Principio

Ensayo enzimático con Acetato kinasa (AK), Hexokinasa ADP-dependiente (ADP-HKP) y Glucosa-6-Fosfato Deshidrogenasa (G6P-DH). Se produce NADH que se mide a 340 nm:



Reactivos

Los reactivos están listos para usar.
 # Reactivo 1: dos viales ≥ 50 ml (Buffer, NAD)
 # Reactivo 2: dos viales ≥ 12.5 ml (AK, ADP-HKP, G6P-DH)
 # Set Calibrador: 4 viales ≥ 3.5 ml c/uno (0.02 - 1.3 g/l ácido acético)

Los reactivos son estables hasta fin del mes de vencimiento, si se almacenan a 2 - 8 °C, aún luego de aperturas repetidas (si no se contaminan durante la manipulación). No congelar los reactivos. Dejar que los reactivos alcancen la temperatura de laboratorio antes de usar (20 - 25 °C).

Deben aplicarse las normas generales de seguridad para el trabajo en laboratorios químicos. No ingerir!. Evitar contacto con la piel y membranas mucosas.

El kit contiene sustancias peligrosas. Para las notas de seguridad de las sustancias contenidas, por favor refiérase a las hojas de seguridad del material apropiadas para este producto (MSDS) disponible en línea en www.r-biopharm.com. Luego de su uso, los reactivos pueden desecharse con el desecho del laboratorio. El material de empaque puede reciclarse.

Preparación de muestras

- Usar muestras líquidas y claras directamente o luego de diluirlas dentro del rango de medición (ver funcionamiento del ensayo)
- Filtrar o centrifugar soluciones turbias
- Degasificar muestras conteniendo dióxido de carbono
- Clarificar muestras conteniendo proteínas con clarificación de Carrez
- Moler y homogeneizar muestras sólidas o semisólidas y extraer con agua (ej. 30 min a 60 - 70°C). Filtrar o centrifugar, o aplicar clarificación de Carrez si es necesario
- Para muestras conteniendo grasa, extraer con agua caliente, enfriar para separar la grasa (refrigerador o hielo), remover la capa grasa y filtrar la capa acuosa

Procedimiento del ensayo

Longitud de onda: 340 nm
 Paso óptico: 1 cm
 Temperatura: 20 - 25 °C
 Medición: Contra aire o contra agua
 Sol. de muestra: 0.02 bis 1.3 g/l

	Blanco de reactivo (RB)	Muestras / Calibradores
Muestra / Calibrador	-	100 µl
Agua destilada	100 µl	-
Reactivo 1	2000 µl	2000 µl
Mezclar, incubar por 1 min a 37 °C o 3 min a 20 - 25 °C. Leer absorbancia A ₁ a tiempo, luego agregar:		
Reactivo 2	500 µl	500 µl
Mezclar, incubar por 10 min a 37 °C o 15 min a 20 - 25 °C. Leer absorbancia A ₂ a tiempo (no hay determinación a punto final)		

El blanco de reactivo debe realizarse una vez en cada corrida y debe sustraerse del resultado de cada muestra.

Cálculo de los resultados

1. $\Delta A = (A_2 - df \times A_1)_{muestra} - (A_2 - df \times A_1)_{RB}$
 df (factor de dilución) = factor de dilución de la densidad óptica:
 $df = (muestra + R1) / (muestra + R1 + R2) = 0,808$.

2. La curva de calibración se determina en Excel utilizando un polinomio de 4^{to} grado. Los valores de la concentración de los calibradores se grafican contra los valores correspondientes de Δ A. La concentración de las muestras se determina utilizando la ecuación polinómica o directamente del gráfico.

Está disponible una tabla de evaluación en Excel por pedido.

Ejemplo con valores típicos de absorbancia:

	Acido acético (g/l)	A ₂	Δ A (menos blanco)
Calibrador 1	0.02	0.288	0.077
Calibrador 2	0.1	0.534	0.323
Calibrador 3	0.3	0.940	0.729
Calibrador 4	1.3	1.871	1.660

3. Cálculo para muestras sólidas:

$$\text{contenido}_{\text{analito}} [\text{g}/100 \text{ g}] = \frac{\text{C}_{\text{analito}} [\text{g}/\text{l}]}{\text{peso}_{\text{muestra}} [\text{g}/\text{l}]} \times 100$$

Funcionamiento del ensayo

Especificidad

La determinación es específica para ácido acético. Las interferencias se midieron para ácido ascórbico hasta 1.0 g/l, para ácido cítrico hasta 2.5 g/l y para ácido tartárico hasta 3.5 g/l y pueden excluirse. Las interferencias se midieron para glicerol hasta 25 g/l y para sulfito (SO₂) hasta 1 g/l y pueden excluirse.

Rango de medición

El rango de medición recomendado es de 0.02 a 1.3 g/l, con el objeto de asegurar una Δ A ≅ 1.5 (A). Si se excede el rango, las muestras deben diluirse con agua destilada hasta una concentración dentro del rango de medición. El factor de dilución debe incluirse en el cálculo.

Sensibilidad

El Límite de Detección (LoD) el Límite de Cuantificación (LoQ) se determinaron de acuerdo con el método 32645:2008-11:

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

Calibración y Automatización

La estabilidad de la calibración es de 7 días. Están disponibles por pedido las Notas de Aplicación para sistemas automatizados.

Descargo de responsabilidad

Los datos corresponden a nuestro estado actual de tecnología y proporcionan información sobre nuestros productos y sus usos. R-Biopharm no ofrece garantía de ningún tipo, ya sea expresa o implícita, excepto que los materiales con los que están hechos sus productos son de calidad estándar. Los productos defectuosos serán reemplazados. No hay garantía de comerciabilidad de este producto o de la idoneidad del producto para cualquier propósito. R-Biopharm no será responsable de ningún daño, incluidos los daños especiales o consecuentes, o los gastos que surjan directa o indirectamente del uso de este producto.

