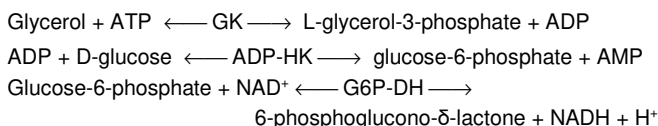


Test enzymatique pour la détection de l'acide acétique dans les aliments et autres échantillons
2 x 50 ml R1 et 2 x 12,5 ml R2 (50 tests en manuel, > 500 tests sur automates)

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

Principe

Test enzymatique avec glycérokinase (GK), hexokinase ADP-dépendante (ADP-HK) et Glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6P-DH). Le glycérol est phosphorylé par ATP plus Glycérokinase en L-glycérol-3-phosphate plus ADP. Le Glucose est phosphorylé en glucose-6-phosphate grâce à ADP-HK. En présence de G6P-DH, le glucose-6-phosphate est oxydé en produisant du NADH :



La quantité de NADH produite est équivalente au Glycérol initial, et elle est mesurée par l'absorbance à 340 nm.

Réactifs

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

- Réactif 1 : 2 x 50 ml (tampon / NAD)
- Réactif 2 : 2 x 12,5 ml (GK, ADP-HK, G6P-DH)

Les réactifs sont stables jusqu'au dernier jour du mois indiqué s'ils sont conservés entre 2 et 8 °C, même après ouvertures répétées (ne pas contaminer lors des manipulations). Ne pas congeler les réactifs. Amener les réactifs à température ambiante avant utilisation.

Appliquer les précautions habituelles en vigueur dans le laboratoire. Ne pas avaler ! Éviter tout contact avec la peau et les membranes 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
- Clarifier les échantillons contenant des protéines avec la méthode de Carrez.
- Ecraser et homogénéiser les échantillons solides et semi-solides et extraire avec de l'eau (ex. 30 min à 60 – 70°C). Filtrer ou centrifuger, ou utiliser une clarification de Carrez si nécessaire.
- Pour les échantillons gras, extraire avec de l'eau chaude, refroidir pour séparer les graisses (frigo ou glace), éliminer la couche lipidique et filtrer la fraction aqueuse.

Mode opératoire

Longueur d'onde : 340 nm
Chemin optique : 1 cm
Température : 37 °C / 20 - 25 °C
Blanc photomètre : Contre l'air ou l'eau

	Blanc réactif	Échantillons / Contrôles
Réactif 1	2000 µl	2000 µl
Échant. / Contrôle	-	100 µl
Eau distillée	100 µl	-
Mélanger, incuber 1 min à 37 °C ou 3 min à 20 - 25 °C. Lire l'absorbance A1 puis ajouter:		
Réactif 2	500 µl	500 µl
Mélanger, incuber 5 min à 37°C ou 10 min à 20 - 25°C. Lire l'absorbance A2.		

Le blanc réactif doit être mesuré une fois à chaque série, et être soustrait de chaque échantillon lors du calcul des résultats.

Calcul des résultats

Solution échantillon :

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

df: Facteur de dilution
BR: Blanc réactif

$$df = \frac{(\text{volume échant.} + R1)}{(\text{volume échant.} + R1 + R2)} = 0.808$$

$$C_{\text{Glycérol}} [\text{g/l}] = \frac{(V \times PM \times \Delta A)}{(\epsilon \times d \times v \times 1000)}$$

V: Volume total [ml] = 2.600
PM: Poids moléculaire [g/mol] = 92.10
d: Chemin optique [cm] = 1.00
v: Échantillon [ml] = 0.100
ε: Coefficient d'extinction NADH [l/mmol x cm] = 6.3 (at 340 nm)

Pour une mesure à 340 nm cela donne la formule suivante :

$$C_{\text{Glycérol}} [\text{g/l}] = 0,3801 \times \Delta A$$

Échantillons solides:

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

Performances du test

Spécificité

Le test est spécifique du glycérol. Le Déhydroxyacétone (< 0.3 g/l), le D-glucose, D-fructose ou le saccharose (< 50 g/L) n'ont aucune influence sur les résultats.

Linéarité et domaine de mesure

Le test est linéaire jusqu'à 1 g/l de glycérol. Le domaine de mesure recommandé est de 8 à 800 mg/l de glycérol.

Au-delà de la limite, les échantillons doivent être dilués avec de l'eau distillée pour revenir dans le domaine de mesure. Multiplier le résultat obtenu par le facteur de dilution.

Sensibilité

La limite inférieure de détection (Ld) et la limite de quantification (Lq) ont été déterminées dans des solutions aqueuses selon la norme DIN 32645:2008-1 :

- LD = 2,5 mg/l
- LQ = 4,5 mg/l

Automatisation

Des applications pour automates sont disponibles sur demande.

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.