

ACIDE ACETIQUE (liquide)

Méthode: enzymatique UV

Code produit: KHPE036062

Constitution: 10 x 10 ml

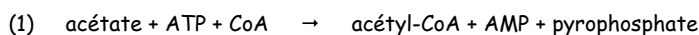
Conservation: 4 - 8 °C

Pour "utilisation in vitro" uniquement

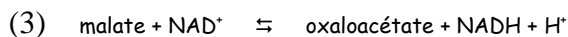
Principe (Réf.1)

L'acide acétique (acétate) est transformé en acétyl-CoA par l'acétyl-CoA-synthétase (ACS) en présence de l'adénosine-5'-triphosphate (ATP) et du coenzyme A (CoA) (1).

La citrate-synthétase (CS) catalyse la réaction entre l'acétyl-CoA et l'oxaloacétate pour donner le citrate (2).



L'oxaloacétate nécessaire dans la réaction (2) est obtenu par oxydation du malate par la malate-déshydrogénase (MDH) en présence de nicotinamide-adénine-dinucléotide (NAD) (3).



Le dosage repose sur la formation de NADH, mesurée par l'augmentation de l'absorbance à **340 nm**.

L'ajout de PVP au milieu réactionnel est nécessaire pour éviter les interférences dues aux composés phénoliques du vin.

Composition du kit

10 x 9 ml	Tampon R1 contient: tampon Good > 20 mmol/L, MgCl acide L-Malique environ 0,1 mM
10 x 1 ml	R2 (liquide) contient: NAD > 0,2 mmol/l, ATP > 2 mmol/L Coenzyme A > 0.1 mmol/L
1 x 2,6 ml	R3 (liquide) Enzymes contient: CS > 20 U/l, L-MDH > 10 U/l
1 x 10 ml	R4 (liquide), contient: ACS > 2 U/l

Préparation et stabilité des solutions

1.	Réactif de travail : Mélanger 1 flacon de tampon R1 avec 1 flacon de R2 , (9ml de R1 + 1ml de R2), puis ajouter 0.25 ml de R3 Laisser reposer la solution finale pendant au moins 5 minutes à 15/20°C avant la première utilisation. La solution est stable 4 jours et se conserve à 4-8 °C.
2.	R4 (ACS): réactif prêt à l'emploi et se conserve à 4-8 °C jusqu'à la date d'expiration du kit.

Méthode A.

Longueur d'onde:	340 nm (334-365 nm)
Cuvette:	1 cm, Mesure par rapport à l'eau distillée.
Température:	37°C
Méthode:	Point final
Réaction:	5 + 10 minutes
Linéarité:	20-500 mg/l à 37°C en acide acétique.
Echantillon/réactifs:	1/100/10

Pipeter dans la cuvette	Etalon	Echantillon
ETALON 1 g/l	0,010 ml	
ECHANTILLON		0,010 ml
1. Réactif de travail	1,000 ml	1,000 ml

Mélanger et mesurer l'absorbance (Abs 1) de la solution par rapport à l'eau distillée après 5 minutes d'incubation à 37°C.

Ajouter successivement:

2. R4 ACS	0,100 ml	0,100 ml
-----------	----------	----------

Mélanger et attendre environ 10 minutes à 37°C. Mesurer l'absorbance (Abs 2) de la solution.

Calculer:

$$\frac{\text{Echantillon Abs2-Abs1}}{\text{Etalon Abs2-Abs1}} \times 1 = \text{g/l acide Acétique}$$

Tout échantillon dont la concentration est supérieur à 1.2 g/l devra être dilué, le résultat final devra ainsi tenir compte du facteur de dilution.

Lel Δ Abs de l'étalon sera utilisé pour toute la série des échantillons à analyser.

Spécificité (Réf.1)

Cette méthode est spécifique de l'acide acétique.

Linéarité

Pour un volume d'échantillon initial de 0,010 ml et un volume final après réaction de 1,110 ml, la méthode est linéaire jusqu'à environ 1,2 g/l d'acide acétique (acétate).

Précision (Réf.2)

Dans une double détermination, en utilisant 0.010 ml d'un même échantillon et un volume final après réaction de 1.110 ml, on peut obtenir une différence d'absorbance (Abs) qui varie de 0.010 à 0.015 unité, cela correspond à une concentration en acide acétique d'environ 0.002 - 0,003 g/l.

Les valeurs suivantes proviennent de la littérature:

CV = 0.6% - 1.6% solution d'acide acétique

CV = 1.5% - 1.8% vin blanc

CV = 1.7% - 2.1% vin rouge

Réactifs, précautions d'usage

Ce kit a été fabriqué pour déterminer l'acide acétique dans les aliments et les boissons.

Les réactifs employés ne sont pas considérés comme des substances dangereuses selon la norme communautaire 67/548/ECC et ses modifications ultérieures.

Toutefois il sera opportun de se conformer aux mesures générales de sûreté prévues pour la manipulation des substances chimiques.

Après l'utilisation, les réactifs doivent être stockés en accord avec la réglementation en vigueur. Le matériel présent dans ce kit, pourra être mis dans des poubelles destinées au recyclage.

Préparation de l'échantillon

Généralement non prévisible. Pour tous les vins structurés (Polyphénols totaux > 2,5 g/l), les décolorer avec du charbon actif ou une solution de PVP à 1% poids/Volume.

Bibliographie

- (Réf.1) - Bergmeyer, H.U. & Mollering, H (1974) in *Methoden der enzymatischen Analyse 2nd ed., vol 3 p. 1520-1528, Verlag Chemie, Weinheim Academic Press, Inc. New York and London.*
- Sarris J., Morfaux, J.N. Dupuy - *Détermination automatique de l'acidité volatile du vin. - Technicon France symposium Feb. 1972*
- (Réf.2) - Beutler, H.-O. (1984) in *Methods of Enzymatic Analysis, 3rd ed., vol. VI, pp 639-645, Verlag Chemie, Weinheim, Deefield Beach/Florida, Basel.*

Règlement général

Les réactifs sont prévus pour une utilisation exclusive en laboratoire. On retiendra donc que les personnes, habilitées à la manipulation de substances chimiques, par leur formation et par leur culture, auront prises toutes les précautions d'usage même sans indication explicite sur l'emballage.

Par exemple: toujours porter des lunettes de protection et si possible des gants de protection, éviter le contact avec la peau et les muqueuses, ne pas boire, manger ou fumer dans le laboratoire.

Significations des pictogrammes imprimés



Réactifs pour diagnostic in vitro uniquement



Numérot de Lot



Voir fiche d'information d'utilisation



Fabricant



Distributeur



Date de péremption



Valeurs limites basses et hautes de température de conservation du kit