

ACIDE ACETIQUE

Méthode: enzymatique UV

Code produit: KHPE036058

Constitution: 5 x 20 ml

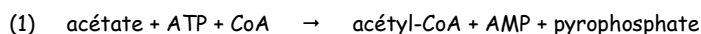
Conservation: 4 - 8 °C

Pour "utilisation in vitro" uniquement

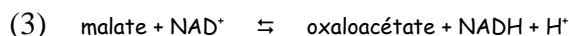
Principe (Réf.1)

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

2 x 100 ml	Tampon R1 contient: tampon Good > 10 mM acide L-Malique environ 0,1 mM
5 x 20 ml	Lyophilisat R2 contient: NAD > 0,2 mM ATP > 2 mM Coenzyme A > 25 U/l
1 x 2,5 ml	Enzyme R3 contient: CS > 2 U/l L-MDH > 10 U/l
1 x 2,5 ml	R4 "STARTER" Contient: ACS > 0,1 U/l

Préparation et stabilité des solutions

- R2 reconstitué avec le tampon R1: dissoudre le contenu d'un flacon de R2 avec 20 ml de tampon R1. Agiter délicatement jusqu'à complète dissolution. La solution est stable 10 jours et se conserve à 4-8 °C. Divisible en aliquots pour congélation.
- R4 STARTER (ACS): La solution est stable 3 mois après ouverture et se conserve à 4-8 °C. NE PAS CONGELER

Méthode A. (Mesure par rapport à un étalon à 1,0 g/l dilué à 0,5 g/l avec H2O distillée) pour spectrophotomètre en manuel

Longueur d'onde: 340 nm
Cuvette: 1 cm
Température: ambiante
Volume final: 2.100 ml
Mesure par rapport à l'eau distillée.

Pipeter dans la cuvette	Etalon	Echantillon
ETALON 0,5 g/l	0,050 ml	
ECHANTILLON		0,050 ml
1. R2 reconstitué avec 0.5 ml de R3	2,000 ml	2,000 ml

Mélanger et mesurer l'absorbance (Abs 1) de la solution par rapport à l'eau distillée. Ajouter successivement:

2. R4 STARTER	0,050 ml	0,050 ml
---------------	----------	----------

Mélanger et attendre environ 15-20 minutes à température ambiante. Mesurer l'absorbance (Abs 2) de la solution.

Calculer:

$$\frac{\text{Echantillon Abs2-Abs1}}{\text{Etalon Abs2-Abs1}} \times 0,5 = \text{g/l acide Acétique}$$

Tout échantillon dont la concentration est supérieur à 1 g/l devra être dilué, le résultat final devra ainsi tenir compte du facteur de dilution.

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

Méthode B. (instruments avec cellules à flux)

Longueur d'onde: 340 nm
tube: minimum 3 ml
Température: ambiante
Volume final: 2.050 ml
Mesure par rapport à l'eau distillée.

Préparation du réactif reconditionné: Dans un flacon de R2 reconstitué avec 20 ml de tampon R1, ajouter 0,5 ml de R3 et le contenu d'un flacon de STARTER R4 reconstitué avec 0,5 ml d'eau distillé. Attendre 30 minutes avant la première utilisation. La solution est stable 10 heures à température ambiante.

Pipeter dans le tube	Blanc réactif	Etalon	Blanc échantillon	Echantillon
H ₂ O distillée	0,050 ml			
Etalon 0,5 g/l		0,050 ml		
Echantillon			0,050 ml	0,050 ml
Réactif reconstitué	2,000 ml	2,000 ml		2,000 ml
Tampon R1			2,000 ml	

Mélanger et attendre environ 15-20 minutes à température ambiante. Mesurer l'absorbance (Abs) de la solution finale.

Calculer:

$$\frac{(\text{Abs éch.} - \text{Abs blanc réactif.}) - \text{Abs blanc échantillon.}}{(\text{Abs étalon} - \text{Abs blanc réactif.})} \times 0,5 = \text{g/l ac. Acétique}$$

Spécificité (Réf.1)

Cette méthode est spécifique de l'acide acétique.

Linéarité

Pour un volume d'échantillon initial de 0,050 ml et un volume final après réaction de 2,100 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 0.050 ml d'un même échantillon et un volume final après réaction de 2.100 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 0.004 - 0.006 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

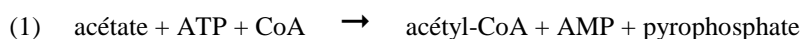
METHODOLOGIE ACIDE ACETIQUE (5x20ml) 0-1 g/l pour automate en monoréactif

REF : KHPE036058

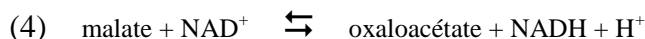
• PRINCIPE DU DOSAGE :

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.

• RECONSTITUTION DES REACTIFS :

Un coffret contient 2 flacons 100ml de Tampon R1, 5 flacons de Lyophilisat R2, 1 flacon de STARTER R4, 1 flacon d'enzyme R3.

- Dissoudre un flacon de Lyophilisat R2 avec 20 ml de tampon R1.

Remarque : 10 jours de conservation.

PREPARATION DU MONOREACTIF DE TRAVAIL :

- 5 ml de lyophilisat R2 reconstitué
- 5 ml de tampon R1
- 125µl de « STARTER » R4
- 125µl d'enzyme R3
- 1ml de PVP solution mère (voir ci-dessous).

Pour 11 ml de réactif.

Remarques : 8^H à 10^H de conservation.

- **Solution mère de PVP** (réf : Prolabo 26616.184 Polyvinyl pyrrolidone PM 40.000) : **40 g/l**
Pour 100 ml de solution, peser 4g de PVP et compléter à 100ml d'eau distillée.