

ACIDE CITRIQUE

Méthode: enzymatique UV, $\lambda = 340 \text{ nm}$

Code produit: KHPE036057

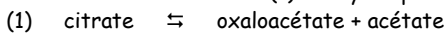
Constitution: 5 x 20 ml (50 tests)

Conservation: 4 - 8 °C

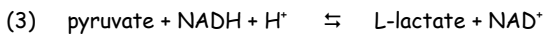
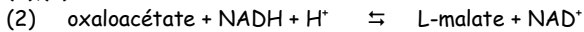
Pour "utilisation in vitro" uniquement

Principe (Réf. 1)

L'acide citrique (citrate) est transformé en oxaloacétate et acétate dans une réaction (1) catalysée par la citrate-lyase (CL)



En présence de la malate-déshydrogénase (MDH) et de la lactate-déshydrogénase (LDH), l'oxaloacétate et son dérivé de décarboxylation, le pyruvate, sont réduits en L-malate et en L-lactate par le nicotinamide-adénine-dinucléotide réduit (NADH) (2),(3).



La quantité de NADH oxydé en NAD^+ est proportionnelle au citrate présent dans le vin.

L'oxydation du NADH est mesurée par la diminution de son absorption à la longueur d'onde de **340 nm**.

Composition du kit

2 x 100 ml	Tampon R1 contient: tampon Good > 10 mM/L
5 x 20 ml	Lyophilisat R2 contient: NADH > 0,1 mM L-LDH > 500 U/l L-MDH > 200 U/l
5 x 0,5 ml	Enzyme (CL) R3 lyophilisée contient: Citrate-Liase (CL) > 300 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 conservée à 4-8 °C ou 30 jours congelée à -20°C. Ne congeler qu'une seule fois
- ENZIME R3 (CL): Dans un flacon d'enzyme R3, ajouter 0,5 ml de tampon R1 Good. La solution est stable 8 heures à 4-8 °C ou 30 jours congelée à -20°C. Ne congeler qu'une seule fois

Méthode

Longueur d'onde:	340 nm
Cuvette:	1 cm
Température:	37°C
Méthode:	Point final
Réaction :	8-13 minutes
Linéarité :	20 - 400 mg/L à 37°C en acide citrique
Rapport échantillon /réactifs :	1/40/1

Laisser les réactifs revenir à température avant utilisation

R/B : Blanc réactif

S : Echantillon

Pipeter dans la cuvette	R/B	S
Réactif R2 reconstitué	1.000 μL	1.000 μL
H ₂ O distillée	25 μL	
Echantillon		25 μL

Mélanger et attendre environ 3 minutes à 37°C.

Mesurer l'absorbance AS1 et AR/B1. Ajouter successivement:

2. ENZIME R3 reconstituée	25 μL	25 μL
---------------------------	------------------	------------------

Mélanger et attendre environ 5-10 minutes à 37°C.

Mesurer l'absorbance AS2 et AR/B2.

Calculer pour l'échantillon : $AS = (AS1 - AS2)$

Calculer pour le blanc réactif : $AR/B = (AR/B1 - AR/B2)$

Calculer la différence $\Delta A = AS - AR/B$

Acide citrique(g/L) = $1.281 \times \Delta A$

Spécificité (Réf. 1)

Cette méthode est spécifique de l'acide citrique.

Linéarité

Pour un volume d'échantillon initial de 0,025 ml et un volume final après réaction de 1.050 ml, la méthode est linéaire jusqu'à environ 0.5 g/l d'acide citrique (citrate).

Précision (Réf. 2)

Dans une double détermination, en utilisant 0.025 ml d'un même échantillon et un volume final après réaction de 1.050 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 citrique d'environ 0.007 - 0,011 g/l.

Les valeurs suivantes proviennent de la littérature:

CV = 1,0% solution d'acide citrique

CV = 1,3% 10 fois le même échantillon de vin avec une concentration moyenne de 0,4 g/l

Réactifs, précautions d'usage

Ce kit a été fabriqué pour déterminer l'acide citrique 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) - *Mollering, H (1985) in Methoden der enzymatischen Analyse, vol. VII, pp. 2-12, a Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beacc/Florida, Basel.*
 - *Pellet, M.V., Seigner C., Choen H., Dosage de l'acide*

Citrique, Technicon France Symposium, March 1970.

- *Seppi A. & Sperandio, A. (1983) L'acido Citrico nei vini, determinazione con metodo enzimatico e metodo chimico ufficiale. La rivista della Società Italiana di Scienza dell'Alimentazione - 12, 479-482.*

(Réf.2) - *Mollering H. (1985) in Methods of Enzymatic Analysis, 3rd ed., vol. VII, pp 39-47, Verlag Chemie, Weinheim, Deefield Beach/Florida, Basel.*

- *Recueil de méthodes internationales d'analyse des vins et des mouts, Complément n° 1 a l'édition officielle de juin 1990. Office International de la Vigne et du Vin pp.187-189.*

(Réf.3) - *Olschimke, D., Nieser, W. & Junge, Ch 1969 Bestimmung der Apfelsaure in Weinen und Traubensaften, Deutsche Lebensmittel-Rundschau 65, 383-384*

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