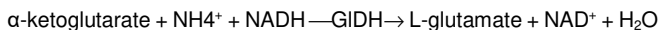


Test enzymatique pour la détection de l'ammoniaque dans les aliments et autres échantillons
2 x 50 ml R1 et 2 x 12,5 ml R2 (50 tests en manuel, > 500 tests sur automates)

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

Principe

L'ammoniaque (NH₄⁺) réagit avec l'α-ketoglutarate en présence de (GIDH) et du nicotinamide-adenine dinucleotide réduit (NADH), en formant du L-glutamate et du NAD⁺ :



La disparition du NADH dans la cuvette est proportionnelle à la quantité d'ammoniaque. Elle est mesurée par la baisse d'absorbance à 340 nm.

Réactifs

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

- Réactif 1 : 2 x 50 ml (tampon / NADH)
- Réactif 2 : 2 x 12,5 ml (α-ketoglutarate / GIDH)

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
- Eliminer le gaz carbonique des échantillons
- La clarification de Carrez n'est pas autorisée pour ce test, utiliser une méthode à l'acide perchlorique.
- Ecraser et homogénéiser les échantillons solides et semi-solides et extraire avec de l'eau (par ex. 30 min à 60 – 70°C). Filtrer ou centrifuger, ou clarifier à l'acide perchlorique 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.
- Échantillons de lait: mélanger 1 ml de lait + 4 ml d'acide trichloro-acétique (0,3 M). Après env. 5 min, centrifuge l'échantillon et utiliser le surnageant clarifié dans le test.

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
Échantillon: 5 - 95 mg/l

	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 15 min à 20 – 25°C. Lire l'absorbance A ₂ .		

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 :

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

df: Facteur de dilution
BR: Blanc réactif

$$df = \frac{(\text{volume échant.} + R1)}{(\text{volume échant.} + R1 + R2)} = 0,808$$

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

V: Volume total [ml] = 2.600
PM: Poids moléculaire [g/mol] = 17.03
d: Chemin optique [cm] = 1.00
v: Échantillon [ml] = 0.100
ε: Coefficient d'extinction NADH [l/mmol x cm] = 6.3 (à 340 nm)

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

$$C_{\text{Ammoniaque}} [g/l] = 0,0703 \times \Delta A$$

Échantillons solides :

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

Notes

- La clarification de Carrez ne peut pas être utilisée à cause de l'absorption d'ammoniaque.
- Comme l'ammoniaque est volatile, il est recommandé d'ajouter d'abord le réactif R1 et ensuite l'échantillon.

Performances du test

Spécificité

Le test est spécifique de l'ammoniaque et ne montre pas d'autre ni d'interférences avec diverses molécules telles que des sucres, acides organiques ou agents conservateurs comme le sulfite.

Linéarité et domaine de mesure

La linéarité monte à 100 mg/l d'ammoniaque. Le domaine de mesure recommandé est de 5 à 95 mg/l.

Au-delà de cette 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 = 0,7 mg/l
- LQ = 1,2 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.