

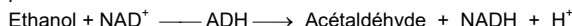
Détermination enzymatique de l'éthanol dans les produits alimentaires ou autres
 AOAC® Official Method™ 2017.07 pour le kombucha, les jus de fruits et la bière sans alcool
 2 x 50 ml R1 + 2 x 12,5 ml R2 (50 tests)

Pour usage *in vitro* uniquement

Conserver entre +2 et +8 °C

Principe

Test enzymatique avec la l'alcool déshydrogenase (ADH). Le NADH produit est mesuré à 340 nm :



Réactifs

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

Réactif 1 : deux flacons ≥ 50 ml (tampon)

Réactif 2 : deux flacons ≥ 12,5 ml (NAD, ADH)

Les réactifs sont stables jusqu'au dernier jour du mois indiqué, s'ils sont conservés entre 2 et 8 °C. Ne pas congeler les réactifs. Amener les réactifs à température ambiante avant utilisation (20 - 25 °C).

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

- AOAC® method pour le kombucha, les jus de fruits et la bière sans alcool: filtrer ou centrifuger les solutions troubles, tester les solutions claires directement, ou après dilution dans le domaine de mesure prévu.
- Utiliser des échantillons liquides clairs, transparents et pratiquement neutres directement dans le test. Si nécessaire, diluer l'échantillon pour être dans le domaine de mesure (voir § Performances du test)
- Eliminer 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. Filtrer ou centrifuger, ou utiliser une clarification de Carrez si nécessaire.

Mode opératoire

Longueur d'onde: 340 nm
 Trajet optique: 1 cm
 Température: 20 – 25 °C / 37 °C
 Mesure: contre l'air ou l'eau
 Échantillons: 3 – 500 mg/l

	Blanc réactif (BR)	Échantillons
Réactif 1	2000 µl	2000 µl
Échantillon / Standard	-	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, attendre la fin de la réaction (env. 10 min à 37°C ou 15 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.

Afin d'éviter l'évaporation, l'échantillon doit être pipeté dans le réactif 1 préalablement distribué.

Calcul des résultats

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

df (dilution factor) = facteur de dilution de la densité optique, du fait des volumes de réactifs rajoutés pendant le test.

$df = (\text{échantillon} + R1) / (\text{échantillon} + R1 + R2) = 0,808$

$c = (V \times MW \times \Delta A) / (\epsilon \times d \times v \times 1000)$ [en g/l d'Éthanol]

$c = (2,600 \times 46,07 \times \Delta A) / (\epsilon \times 1 \times 0,1 \times 1000)$

Il en résulte pour un test à 340 nm ($\epsilon = 6.3 \text{ l} \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$):

$C_{\text{Éthanol}} [\text{g/l}] = 0,190 \times \Delta A$

Alcool en volume (Vol. %) = $C_{\text{Éthanol}} [\text{g/l}] / 7,894$

Remarques

Le test est très sensible. L'éthanol présent dans l'air (issu par ex. des produits de nettoyage et de désinfection) provoque une réaction parasite ou des faux résultats. Il est donc nécessaire de réaliser le test dans une atmosphère sans éthanol, ou alors dans des cuvettes fermées et étanches.

Parce que l'alcool est volatile, il est nécessaire de préparer les échantillons de manière appropriée.

- Si l'échantillon doit être dilué, pipeter l'échantillon en dessous de la surface du diluant.
- Utiliser un volume échantillon de 100 µl minimum.
- Si l'échantillon doit être filtré, le filtrat ne doit pas tomber en gouttes mais doit couler le long du récipient de réception.
- Tester les échantillons dilués dans la journée
- La précision est hautement dépendante de la maîtrise du pipetage

Performances du test

Spécificité

L'enzyme ADH oxide les alcools primaires. Le recouvrement de l'éthanol est d'env. 100%, tandis que les autres alcools primaires (n-butanol et n-propanol) montrent un recouvrement inférieur. Les alcools secondaires et tertiaires peuvent conduire à un bruit de fond non-spécifique.

Linéarité et domaine de mesure

Le test est linéaire jusqu'à 500 mg/l en Éthanol. Le domaine de mesure recommandé va de 20 à 300 mg/l, afin d'avoir $\Delta A \approx 1.5$ (A). Lorsque les valeurs dépassent ce domaine de mesure, les échantillons doivent être dilués avec de l'eau distillée dans une fourchette de 50 à 300 mg/l. 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 selon la norme DIN 32645:2008-1 :

- Ld = 1.9 mg/l
- Lq = 3.3 mg/l

Précision et recouvrement

Pour le kombucha, les jus de fruit et la bière sans alcool:

- écart type relatif de la répétabilité [RSD(r)] < 2%
- écart type relatif de la reproductibilité [RSD(R)] < 3%
- recouvrement = 95-105%

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.