

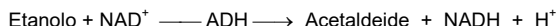
Determinazione enzimatica dell' Etanolo in matrici alimentari
 AOAC® Official Method™ 2017.07 per tè kombucha, succhi di frutta e birra analcolica
 2 x 50 ml R1 + 2 x 12,5 ml R2 (50 prove)

Solo per uso *in vitro*

Conservare tra +2 e +8 °C

Principio

Test enzimatico con Alcol-Deidrogenasi (ADH). Il NADH prodotto viene misurato a 340 nm:



Reagenti

I reagenti sono pronti all'uso.

Reagente 1: due flaconi ≥ 50 ml (tampone)

Reagente 2: due flaconi ≥ 12,5 ml (NAD, ADH)

Tutti i reagenti sono stabili fino alla fine del mese di scadenza indicato, se conservati a temperatura compresa tra 2 e 8°C. Non congelare i reagenti. Portare i reagenti a temperatura ambiente (20-25°C) prima dell'utilizzo.

Applicare le comuni norme di sicurezza necessarie in un laboratorio chimico. Non ingerire. Evitare il contatto con la pelle e le mucose.

Questo kit può contenere sostanze pericolose. Per informazioni sul rischio delle sostanze contenute, fare riferimento alla scheda di sicurezza di questo prodotto, disponibile on line sul sito www.r-biopharm.com. Dopo l'impiego, i reattivi devono essere eliminati come rifiuti di laboratorio. Gli imballaggi possono essere riciclati.

Preparazione dei campioni

- Metodo AOAC® per tè kombucha, succhi di frutta e birra analcolica: filtrare o centrifugare se il campione è torbido, utilizzare direttamente il campione limpido, o dopo diluizione nell'intervallo di concentrazione opportuno
- I campioni liquidi e limpidi sono utilizzati tal quali o dopo diluizione nell'intervallo di concentrazione opportuno
- Degassare i campioni contenenti anidride carbonica
- Chiarificare i campioni contenenti proteine o grassi con i reattivi di Carrez
- Macinare ed omogeneizzare i campioni solidi o semi-solidi ed estrarli in acqua. Filtrare o centrifugare, o utilizzare la chiarificazione di Carrez se necessario

Procedura operativa

Lunghezza d'onda: 340 nm

Cammino ottico: 1 cm

Temperatura: 20 – 25 °C / 37 °C

Misura: contro aria o acqua

Campioni: 3 – 500 mg/l

	Bianco reagente (BR)	Campioni
Reagente 1	2000 µl	2000 µl
Campione / Standard	-	100 µl
Acqua distillata	100 µl	-
Mescolare, incubare 1 min a 37 °C o 3 min a 20 - 25 °C. Leggere l'assorbanza A1, poi aggiungere:		
Reagente 2	500 µl	500 µl
Mescolare, attendere la fine della reazione (circa 10 min a 37°C o 15 min a 20 - 25°C). Leggere l'assorbanza A2.		

Il bianco reattivo deve essere misurato una volta ad ogni serie, e sottratto ad ogni campione nel calcolo dei risultati.

Per evitare l'evaporazione, il campione deve essere pipettato nel reattivo 1 dopo la sua dispensazione.

Calcolo dei risultati

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

df (fattore di diluizione) = fattore di diluizione della densità ottica

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

$c = (V \times MW \times \Delta A) / (\epsilon \times d \times v \times 1000)$ [in g/l di Etanolo]

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

Ne risulta per una determinazione a 340 nm ($\epsilon = 6.31 \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$):

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

Alcool-per-volume [Vol. %] = $c_{\text{Etanolo}} [\text{g/l}] / 7.894$

Note

Il test è molto sensibile. L'etanolo presente nell'aria (derivante ad es. prodotti di pulizia e di disinfezione) causa una reazione collaterale o dei falsi risultati. È dunque necessario realizzare la prova in un'atmosfera senza etanolo, o in alternativa in cuvette chiuse ermeticamente.

Poiché l'alcool è volatile, è necessario preparare i campioni secondo procedure adatte:

- Se il campione deve essere diluito, pipettare il campione al disotto della superficie del diluente.
- Utilizzare almeno 100 µl di campione per le diluizioni.
- Se il campione deve essere filtrato, il filtrato non deve cadere goccia a goccia ma lungo il recipiente di ricezione.
- Utilizzare campioni diluiti nella stessa giornata.
- La precisione dipende molto dalla tecnica di pipettaggio

Performance del test

Specificità

L'enzima ADH ossida gli alcool primari. Il recupero dell'etanolo è appr. del 100%, mentre gli altri alcool primari (n-butanolo e n-propanolo) mostrano un recupero inferiore. Gli alcool secondari e terziari possono fornire un segnale di fondo aspecifico.

Linearità e intervallo di misurazione

Il test è lineare fino a 500 mg/l di etanolo. L'intervallo di misura raccomandato va da 20 a 300 mg/l, per un $\Delta A \approx 1.5$ (A). Quando i valori superano questo range, i campioni devono essere diluiti con acqua distillata tra 50 e 300 mg/l. Moltiplicare il risultato ottenuto per il fattore di diluizione.

Sensibilità

Il limite inferiore di rivelazione (Ld) ed il limite di quantificazione (Lq) sono stati determinati secondo la norma DIN 32645:2008 - 11:

- Ld = 1,9 mg/l
- Lq = 3,3 mg/l

Precisione e recupero

Per tè kombucha, succhi di frutta e birra analcolica:

- deviazione standard relativa per la ripetibilità [RSD(r)] < 2%
- deviazione standard relativa per la riproducibilità [RSD(R)] < 3%
- recupero = 95-105%

Dichiarazione liberatoria

I dati corrispondono al nostro attuale stato di tecnologia e forniscono informazioni sui nostri prodotti e sul loro uso.

R-Biopharm non fornisce alcuna garanzia, esplicita o implicita, oltre a quella relativa alla qualità standard dei materiali di cui sono costituiti i suoi prodotti. Nel caso tali materiali risultassero difettosi, R-Biopharm si impegna a fornire prodotti sostitutivi. Non esiste garanzia di commerciabilità o di idoneità del prodotto per uno scopo particolare. R-Biopharm non è da ritenersi responsabile per danni, ivi compresi danni speciali o indiretti, o spese derivanti direttamente o indirettamente dall'utilizzo del prodotto.