

AZOTE AMMONIACAL

Méthode: enzymatique UV, $\lambda = 340$ nm

Code produit: KHPE036054

Constitution: 20 x 3 ml (60 tests)

Conservation: 4 - 8 °C

Pour "utilisation in vitro" uniquement

Principe (Réf. 1)

En présence de la Glutamate déshydrogénase (GIDH), l'azote ammoniacal réagit (1) avec l'oxoglutarate et le NADH pour donner du NAD et du L-Glutamate.



La quantité de NADH oxydé en NAD est proportionnelle à la quantité d'azote ammoniacal 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

1 x 60 ml Tampon R1
contient: tampon Good environ 15 mM
Oxoglutarate environ 2mM
conservateurs

20 x 3 ml Lyophilisat R2
contient: NADH environ 0,2 mM
GIDH environ 25 U/l

1 x 16 ml Starter R3

1 x 5 ml Etalon liquide 5mg/L

Préparation et stabilité des solutions

- Réactif reconstitué: Dans une fiole de Lyophilisat R2 ajouter environ 3 ml de tampon R1. Agiter délicatement jusqu'à complète dissolution. La solution est stable 10 jours conservée à 2-8 °C à l'abri de la lumière.
- Starter R3: prêt à l'emploi. Ajouter 0.75ml de R3 pour 3ml de tampon R1. Stabilité selon la DLU du kit

Préparation d'une solution étalon de 50 mg/l d'azote

Fabrication d'une solution mère de 1000 mg/l:

Dans un bécher de 1.000 ml, contenant environ 800 ml d'eau distillé, dissoudre 3,8 grammes de Chlorure d'ammonium (NH_4Cl), Agiter jusqu'à complète dissolution et compléter à 1000 ml avec de l'eau distillée.

Fabrication d'une solution à 50 mg/l:

Dans une fiole jaugée de 100 ml, contenant environ 80 ml d'eau distillé, pipeter exactement 5 ml de la solution mère. Agiter et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée.

Méthode A. (Mesure par rapport à un étalon à 50 mg/l)

Longueur d'onde: 340 nm
Cuvette: 1 cm
Température: ambiante
Volume final: 2.050 ml
Mesure par rapport à l'eau distillée.

Pipeter dans le tube	Blanc réactif	Etalon	Blanc échantillon	Echantillon
H ₂ O distillée	100 μ l			
Etalon 50 mg/l		100 μ l		
Echantillon			100 μ l	100 μ l
Réactif reconstitué	1,000 ml	1,000 ml		1,000 ml
Tampon R1.			1,000 ml	

Mélanger et attendre environ 3 minutes à température ambiante.

Starter R3	250 μ l	250 μ l		250 μ l
------------	-------------	-------------	--	-------------

Mélanger et attendre environ 7 minutes à température ambiante
Mesurer l'absorbance (Abs) de la solution finale.

Calculer:

(Abs blanc réactif - Abs éch) + Abs blanc échantillon.

----- x 50 = mg/l d'azote ammoniacal
(Abs blanc réactif - Abs étalon)

Spécificité (Réf. 1)

Cette méthode est spécifique de l'azote ammoniacal.

Linéarité

Pour un volume d'échantillon initial de 0,050 ml et un volume final après réaction de 2,050 ml, la méthode est linéaire jusqu'à environ 60 mg/l d'azote amoniacal.

Précision (Réf. 2)

Dans une double détermination, en utilisant 0.050 ml d'un même échantillon et un volume final après réaction de 2.050 ml, on peut obtenir une différence d'absorbance (Abs) qui varie de 0.010 à 0.015 unité, cela correspond à une concentration en azote ammoniacal d'environ 0.8 - 1,2 mg/l.

Les valeurs suivantes proviennent de la littérature:

CV = 0.88% - 1.16% solution de chlorure d'ammonium

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'azote ammoniacal 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 et centrifuger si l'échantillon est trouble.



Valeurs limites basses et hautes de température de conservation du kit.

Bibliographie

- Réf.1 - Fonseca-Wollheim, F., Bergmeyer, H.U. & Gutmann, (1974) in *Methoden der enzymatischen Analyse.*, vol 3 p. 1850-1853 and (1974) in *methods of Enzymatic analysis pp 1802-1806*, Verlag Chemie, Weinheim Academic Press, Inc. New York and London.
- Réf.2 - Bergmeyer. (1985) in *Methods of Enzymatic Analysis*, 3rd ed., vol. VII, pp 454-461, Verlag Chemie, Weinheim, Deefield Beach/Florida, Basel.
- Barchietto G., Cantoni, C., Frigerio, R. & Provera, D. (1984) *Esame comparativo dei prodotti di autolisi (Azoto non proteico, Urea, Ammoniaca)*, *Conservazione degli alimenti* 3, 12-17.

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

ISITEC-LAB SEPPAL

Tél : 05.63.22.05.45 Fax : 05.63.23.04.94

E-mail contact@isitec-lab.com - Sites Internet www.seppal.com et www.isitec-lab.com