

GLUCOSE/FRUCTOSE LIQUIDE

Méthode: enzymatique UV, 340 nm

Code produit: KHPE036066

Constitution: 5 x 20 ml

Conservation: 4 - 8 °C

Pour "utilisation in vitro" uniquement

Principe (Réf.1)

Le glucose et le fructose sont phosphorylés par l'adénosine-5'-triphosphate (ATP) en glucose-6-phosphate (G-6-P) et fructose-6-phosphate (F-6-P) dans une réaction (1) et (2) catalysée par l'héxokinase (HK).



Le fructose-6-P, est converti (3) en Glucose-6-P par la phosphoglucose-isomérase (PGI).



En présence de glucose-6-phosphate-déshydrogénase (G6P-DH) le glucose-6-phosphate est oxydé par le nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate (NADP) en gluconate-6-phosphate. Il se forme du nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate réduit (NADPH) (4).



La quantité de NADPH formé au cours de la réaction est proportionnelle à la quantité de glucose contenue dans le vin. On la détermine par son absorption à 340 nm.

L'ajout de PVP au milieu réactionnel est nécessaire pour éviter les interférences dues aux composés phénoliques du vin.

Composition du kit

5 x 20 ml	R1 Tampon
	Contient: NADP > 0.2 mM
	ATP > 2mM
	G6PDH > 5U/l
1 x 4 ml	R2 , Enzyme HK
1 x 4 ml	R3 Starter, liquide PGI

Préparation et stabilité des solutions

- R1 : TAMPON prêt à l'emploi**
- Réactif de travail (R2+R3) :** mélanger 2 ml de R2 avec 2 ml de R3.
Le réactif de travail est stable 3 mois à 2/8°C

Méthode manuelle

Longueur d'onde:	340 nm
Cuvette:	1 cm
Température:	37°C
Méthode:	Point final
Réaction :	1 + 5 (10) minutes
Linéarité :	60 - 3000 mg/L à 37°C en GF
Rapport échantillon /réactifs :	1/100/5

Pipeter dans la cuvette	Contrôle	Echantillon
Réactif R1	1.000 µL	1.000 µL
H2O distillée	10 µL	
Echantillon		10 µL

Mélanger. Attendre 1 minute. Mesurer l'absorbance AS0 et AR/B0. Puis ajouter successivement:

Réactif de travail	50 µL	50 µL
--------------------	-------	-------

Mélanger et attendre environ 5/10 minutes à 37°C. Mesurer l'absorbance AS1 et AR/B1.

Calculer l'échantillon Glucose/Fructose ASTS = (AS1 - AS0);
Et le Réactif/Blanc Glucose/Fructose AR/BTS = (AR/B1 - AR/B0).

Calc. la différence pour le GLUCOSE/FRUCTOSE :
 $\Delta\text{ATS} = \text{ASTS} - \text{AR/BTS}$.

Spécificité (Réf.1)

Cette méthode est spécifique du Glucose-Fructose.

Linéarité

Pour un volume d'échantillon initial de 10 µl et un volume final après réaction de 1060 µl, la méthode est linéaire jusqu'à environ 8 g/l de sucres fermentescibles

Précision (Réf.2)

Dans une double détermination, en utilisant 0.010 ml d'un même échantillon et un volume final après réaction de 1.060 ml, on peut obtenir une différence d'absorbance (Abs) qui varie de 0.005 à 0.010 unités, cela correspond à une concentration en glucose fructose d'environ 0.003 - 0,006 g/l.

Les valeurs suivantes proviennent de la littérature:

CV = 0.5% solution de glucose fructose

CV = 1.0% vin blanc

CV = 1.2% vin rouge

Réactifs, précautions d'usage

Ce kit a été fabriqué pour déterminer le glucose fructose 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. Ajouter au réactif, 10 % de son volume, en solution mère de PVP.

Solution mère de PVP : 40g/l

Pour 100ml de solution peser 4g de PVP et compléter à 100ml d'eau distillée.

Bibliographie

- (Réf.1) - *Ministero dell'Agricoltura e Foreste (1986) Approvazione dei "Metodi Ufficiali di analisi per i mosti, i vini, gli agri di vino (aceti) e i sottoprodotti della vinificazione". Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana, n. 161 del 14 luglio 1986.*
- *Bergmeyer, H.U. & Mollering, H (1974) in Methoden der enzymatischen Analyse 2nd ed., vol 3 p. 1520-1528, Verlag Chemie, Weinheim Academic Press, Inc. New York and London.*
- *Rimmer J.G., - Automated Analysis for Quality Control in the Soft Drinks Industry.- Technicon England Symposium 1971, 307-312.*
- (Réf.2) - *Beutler, H.-O. (1984) in Methods of Enzymatic Analysis, 3rd ed., vol. VI, pp 639-645, Verlag Chemie, Weinheim, Deefield Beach/Florida, Basel.*
- *Henniger, G. & Mascaro, L. (1985) Enzymatic-Ultraviolet Determination of Glucose and Fructose in Wine: Coll. Study, J. Assoc. Off. Anal. Chem. 68, 1021-1024*

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.