

GLYCEROL

Méthode: enzymatique Trinder, $\lambda = 550 \text{ nm}$

Code produit: KHPE036049

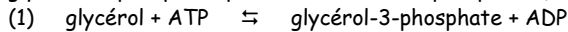
Constitution: 4 x 100 ml (400 tests)

Conservation: 4 - 8 °C

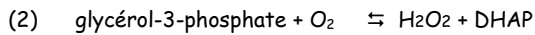
Pour "utilisation in vitro" uniquement

Principe (Réf. 1)

La glycérokinase (GK) catalyse la phosphorylation du glycérol en glycérol-3-phosphate par l'adénosine-5'-triphosphate (ATP) (1).



Le glycérolphosphate et l'oxygène en présence de la glycérolphosphate oxydase (GPO) sont transformés en peroxyde d'hydrogène et en DHAP (2).



Le peroxyde d'hydrogène avec le 4-aminoantipyrine (PAP) et le m-toluène substitué (TOOS) en présence d'une peroxydase (POD) forment un complexe coloré (3)



La quantité produite du chromophore est proportionnelle à la quantité de glycérol présente initialement dans l'échantillon.

Composition du kit

4 x 100 ml	Tampon R1 contient: tampon Good environ 0.1 M m-toluène substitué > 0.3 mM
4 fioles	Lyophilisat R2 contient: GK > 100 U/l, POD > 1 KU/l GPO > 4 KU/l, PAP > 0.1 mM ATP environ 2 mM/l
1 x 5 ml	ETALON "CONTROLE" 0,208 g/l contient: solution aqueuse stabilisée de glycérol.

Préparation et stabilité des solutions

1.	Dissoudre une fiole de réactif R2 avec 100 ml de réactif R1 et agiter délicatement jusqu'à dissolution complète. Eviter de faire mousser. Vous pouvez diviser cette solution en aliquotes, pour utiliser le volume nécessaire pour la journée, stockée à 4-8°C et congeler le reste. Laisser le réactif atteindre la température ambiante avant utilisation. La solution R2 reconstituée est stable 30 jours à 4-8°C. Jusqu'à 6 mois congelée à -20°C. Ne congeler qu'une seule fois.
----	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Préparation de l'échantillon

Les échantillons de vin peuvent être analysés directement.

Méthode.

Longueur d'onde: 550 nm (530-570 nm)

Trajet optique: 1 cm

Température: ambiante ou 37°C

Méthode: Point final

Réaction: 5 à 10 min

Echantillon/réactifs: 1/100

Mesure par rapport à l'eau distillée.

Pipeter dans le tube	Blanc réactif	Etalon	Echantillon
H ₂ O distillée	0,010 ml		
Etalon 0,2 g/l		0,010 ml	
Echantillon			0,010 ml
Réactif reconstitué	1,000 ml	1,000 ml	1,000 ml

Mélanger et attendre environ 5 - 10 minutes à 37°C.

Mesurer l'absorbance (Abs) de la solution finale.

La couleur finale est stable 60 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière.

Calculer:

(Abs éch - Abs blanc réactif).

-----x 20.8= mg/dl de glycérol

(Abs étalon - Abs blanc réactif)

(Abs éch - Abs blanc réactif).

-----x 0.208= g/l de glycérol

(Abs étalon - Abs blanc réactif)

Spécificité (Réf. 1)

Cette méthode est spécifique du glycérol.

Linéarité

Pour un volume d'échantillon initial de 0,010 ml et un volume final après réaction de 1,010 ml, la méthode est linéaire jusqu'à environ 500 mg/l de glycérol. Pour les concentrations en glycérol > 500mg/l diluer les échantillons.

Précision (Réf. 2)

Dans une double détermination, en utilisant 0.010 ml d'un même échantillon et un volume final après réaction de 1.010 ml, si on peut obtenir une différence d'absorbance (Abs) qui varie de 0.010 à 0.015 unités, cela correspond à une concentration en glycérol d'environ 0.04 - 0,06 g/l.

Les valeurs suivantes proviennent de la littérature:

CV = 0.4% -1.0% solution de glycérol

CV = 1.0% - 1.5% vin blanc

CV = 1.2% - 1.8% vin rouge

Réactifs, précautions d'usage

Ce kit a été fabriqué pour déterminer le glycérol 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.

Bibliographie

- (Réf.1) - Kreutz F.H. (1962) *Enzymatische Glycerin Klin. Wochemschrif*, 40, 362-363.
- *Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts, Complément n. 1 à l'édition officielle de juin 1990. OFFICE INTERNATIONAL DE LA VIGNE ET DU VIN, S. 149-151.*
- Plessi, M. Monzani, A., & Coppini, D. (1989). *Determination of the monosaccharide ad alcool content of balsamic and other vinegars by enzymatic methods. Agric. Biol. Chem.* 52, 25-30.
- (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.

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.