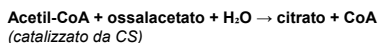


PRINCIPIO DEL METODO

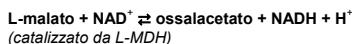
L'acido acetico (acetato), in presenza dell'enzima acetil-CoA sintetasi (ACS), dell'adenosina 5'-trifosfato (ATP) e del coenzima A (CoA), viene convertito in acetil-CoA:



Successivamente, l'acetil-CoA reagisce con l'ossalacetato, in presenza della citrato sintetasi (CS), formando citrato:



L'ossalacetato necessario per questa reazione viene prodotto a partire dallo ione L-malato, attraverso una reazione catalizzata dalla L-malato deidrogenasi (L-MDH), in presenza di nicotinammide adenina dinucleotide (NAD⁺). In questo processo il NAD⁺ viene ridotto a NADH:



La determinazione fotometrica della quantità di NADH formatosi (derivante dalla riduzione del NAD⁺) consente di quantificare l'acido acetico (acetato) presente nel campione. Non è necessaria la decolorazione nel caso di vini rossi molto strutturati (polifenoli totali > 2,5 g/L), poiché il reagente contiene PVP.

PRESTAZIONI ANALITICHE

Limite di quantificazione (LOQ)

Il metodo è in grado di discriminare fino a 0,050 g/L.

Linearità

Il metodo è lineare fino a 1,200 g/L.

CAMPIONE

Vino, mosto e aceto.

Note:

- Non è necessaria la decolorazione per i vini rossi molto strutturati (Polifenoli totali >2,5g/L) in quanto il reagente contiene PVP.

REAGENTI - CONCENTRAZIONE INIZIALE

		100 mL	250 mL
Reagente 1A (liquido)	Tampone di Good, acido L-malico, Magnesio Cloruro, PVP	1x80 mL	1x198 mL
Reagente 1B (liquido)	Citrato Synthase (CS), L-malate dehydrogenase (L-MDH), Acetyl CoA Synthetase (ACS)	1x4,5 mL	1x10,5 mL
Reagente 2 (liquido)	NAD, ATP, CoA	1x17 mL	1x42 mL

REAGENTI - CONSERVAZIONE E STABILITA'

Kit:	Conservare a +2-8°C. Non congelare. Stabile fino alla data di scadenza riportata sulla confezione.
Reagenti aperti:	Dopo l'apertura, i flaconi sono stabili fino alla data di scadenza indicata sul flacone se richiusi immediatamente dopo il prelievo e protetti da contaminazione, evaporazione, luce diretta e conservati alla temperatura riportata.
Reagente di lavoro 1:	Stabile 45 giorni a +2-8°C.

REAGENTI - PREPARAZIONE

Reagente di lavoro 1

Per preparare 10 mL di Reagente di lavoro 1 miscelare nelle seguenti proporzioni:

Reagente 1A	9,500	mL
Reagente 1B	0,500	mL

Agitare delicatamente per inversione. Lasciare a riposo per circa 5 minuti prima dell'uso

REATTIVI - PRECAUZIONI E AVVERTENZE

- La presente metodica descrive l'utilizzo del kit in manuale. Per l'utilizzo mediante analizzatori automatici consultare le applicazioni specifiche.
- Sono disponibili a richiesta le schede di controllo qualità dei reagenti, fare riferimento al n° di lotto riportato in etichetta.

MATERIALI AUSILIARI NON CONTENUTI NEL KIT

Pipette automatiche
Fotometro
Cuvette monouso (cammino ottico = 1cm).
Termostato 37°C

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

Reagente 1A Il prodotto non è classificato pericoloso

Reagente 1B Il prodotto non è classificato pericoloso

Reagente 2 Contiene: Tris-(idrossimetil)-amminometano

- Provoca irritazione cutanea. [H315]
- Provoca grave irritazione oculare. [H319]
- Lavare accuratamente dopo l'uso. [P264]
- Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/Proteggere il viso. [P280]
- Trattamento specifico (vedere su questa etichetta). [P321]
- Togliersi di dosso gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente. [P362]



Attenzione

SMALTIMENTO RIFIUTI

Il prodotto deve essere smaltito secondo le locali normative in materia di gestione dei rifiuti.

PROCEDURA ANALITICA

Lunghezza d'onda	λ = 340 nm
Cammino ottico	1 cm
Temperatura	37°C
Lettura	Contro acqua distillata
Reazione	end point (incremento)

Portare i reattivi a +15-25°C prima del loro utilizzo.

	STANDARD	CAMPIONE	
Reagente di lavoro 1	2000	2000	μL
Campione	-	20	μL
Standard	20	-	μL

Miscelare e incubare per 2 minuti a +37°C.

Leggere l'assorbanza (A1) del Campione e dello Standard contro acqua distillata.

Pipettare:

	STANDARD	CAMPIONE	
Reagente 2	400	400	μL

Miscelare e incubare per 10 minuti a +37°C.

Leggere l'assorbanza (A2) del Campione e dello Standard contro acqua distillata.

CALCOLO

$$\text{Acido Acetico (g/L)} = \frac{(A2 - (A1 \times 0,835) \text{ Campione}) - (A2 - (A1 \times 0,835) \text{ Bianco})}{(A2 - (A1 \times 0,835) \text{ Standard}) - (A2 - (A1 \times 0,835) \text{ Bianco})} \times 1,0$$

Note:

Per concentrazioni superiori a 1,2 g/L diluire il campione con acqua distillata. Ripetere la determinazione e moltiplicare il risultato ottenuto per il fattore di diluizione.

CONTROLLO DI QUALITA'

E' necessario eseguire i controlli ad ogni utilizzo del kit e verificare che i valori ottenuti siano inclusi nell'intervallo di riferimento riportato nelle istruzioni d'uso.

BIBLIOGRAFIA

- 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.
- Sarris J., Morfaux, J.N. Dupuy – Determination automatique de l'acidité volatile du vin. – Technicon France symposium Feb. 1972
- Beutler, H.-O. (1984) in Methods of Enzymatic Analysis, 3rd ed., vol. VI, pp 639-645, Verlag Chemie, Weinheim, Deefield Beach/Florida, Basel.

SIMBOLI GRAFICI ADOTTATI

	Leggere attentamente le istruzioni. Indica la necessità per l'utente di consultare le istruzioni per l'uso.		Numero di catalogo. Indica il numero di catalogo del produttore per l'identificazione del dispositivo.
	Consultare la scheda di sicurezza. Per maggiori informazioni, consultare la scheda di sicurezza (SDS).		Codice di partita. Indica il codice di partita del produttore per l'identificazione della partita o del lotto.
	Attenzione. Indica la necessità per l'utente di consultare le istruzioni per l'uso per importanti informazioni cautelative come avvertenze e precauzioni che, per una serie di ragioni, non possono essere presentate sul dispositivo.		Tenere lontano dalla luce del sole. Indica un dispositivo che deve essere protetto da fonti luminose.
	Produttore. Indica il produttore del dispositivo, come definito nelle Direttive UE 90/385/CEE, 93/42/CEE, 98/97/CE e (UE) 2017/746.		Utilizzare dispositivi di protezione individuale. Indica l'uso di dispositivi di protezione individuale quando e dove necessario.
	Data di scadenza. Indica la data dopo la quale il dispositivo non deve essere utilizzato.		Limite di temperatura. Indica i limiti di temperatura a cui il dispositivo può essere esposto in sicurezza.