

By mixing sample and chromogen in pH 4,8 buffered solution, the reaction develops in a few minutes a colouring measurable red.

L'échantillon est dilué dans une solution tamponnée à pH 4,8 contenant le chromogène. La réaction développe en quelques minutes une coloration rouge mesurable.

R1	1 × 150 mL - Buffer pH 4.8
R2	10 doses - Reductant
R3	1 × 15 mL - Chromogen
S	1 × 5 mL - Standard solution Solution standard

The R2 reagent must be dissolved with 15 ml of R1 reagent. This solution is stable 3 week with 4°C.

If crystals appear, bring the reagent to ambient temperature and mix gently until to have limp solution

Preparation of the standard solution:

It is necessary to prepare a standard solution, include in the kit

Preparation of the sample:

The copper concentration in the sample used for the test has to be between 0.25 and 1.5 mg/L.

Precision:

Under the described conditions, measurement accuracy is 5% on a control solution

Assay procedure:

Wavelength: 580nm / Optical path: 1cm / Temperature: 20-37°

Measurement: against water or air.

	Blank	Standard	Sample
R 1	1 ml	1 ml	1 ml
Water	0,2 ml	0	0
Standard	0	0,2 ml	0
Sample	0	0	0,2 ml
Mix and read the DO	DO 1	DO 1	DO 1
R 2	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml
Mix and read the DO after 20 mn	DO 2	DO 2	DO 2

Calculation

Determine the following values for each cuvette
ADO = DO 2 – DO 1

Determine the absorbance differences then

For standard : $\Delta A_{\text{standard}} = ADO_{\text{standard}} - ADO_{\text{blank}}$

Pour l'échantillon : $\Delta A_{\text{sample}} = ADO_{\text{sample}} - ADO_{\text{blank}}$

determine the Copper concentration in the samples as described below

$$C(\text{mg/L of Copper}) = \frac{\Delta A_{\text{sample}}}{\Delta A_{\text{standard}}} \times C_{\text{standard}}$$

Dilution factor of the sample has to be considered in the calculation.

Storage instructions and reagent stability

The reagents are stable up to the indicated month of expiry.

Storage conditions: 18 – 25 °C, darkness.

Warnings and precautions

Do not swallow. Avoid contact with the skin and mucous membranes.

Take necessary precautions for the use of laboratory reagents.

General information on sample preparation

- Use liquid samples, clear, colorless and with pH practically 8, directly, or after dilution.
- Crush or homogenize solid or semi-solid samples
- Deproteinize samples containing proteins with perchloric acid; alternatively clarify with Carrez reagents.
- Extract samples containing fat with hot water

Le réactif R2 doit être dissous avec 15 mL de réactif R1. Cette solution est stable 3 semaine à 4°C.

Si des cristaux apparaissent, laisser le réactif revenir à température ambiante et mélanger doucement jusqu'à obtention d'une solution limpide.

Préparation de la solution standard :

Il est nécessaire d'utiliser une solution standard, fourni dans le kit.

Préparation de l'échantillon :

La concentration en cuivre dans l'échantillon utilisé pour l'essai doit être comprise entre 0,25 et 1,5 mg/L.

Précision :

Dans les conditions de l'essai décrites ci-dessus, la précision de la mesure est de 5% sur une solution de contrôle.

Procédure d'essai :

Longueur d'onde: 580nm / Trajet optique: 1cm / Température: 20-37 °C

Mesurer contre l'eau ou l'air

	Blanc	Standard	Echantillon
R 1 (avec R2 reconstitué)	1 ml	1 ml	1 ml
Eau	0,2 ml	0	0
Standard	0	0,2 ml	0
Echantillon	0	0	0,2 ml
Agiter et lire la DO	DO 1	DO 1	DO 1
R 3	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml
Agiter et lire la DO à 20 min	DO 2	DO 2	DO 2

Calcul :

Déterminer les valeurs suivantes pour chaque cuve
ADO = DO 2 – DO 1

Déterminer ensuite les différences d'absorbance :

Pour le standard : $\Delta A_{\text{standard}} = ADO_{\text{standard}} - ADO_{\text{blanc}}$

Pour l'échantillon : $\Delta A_{\text{échantillon}} = ADO_{\text{échantillon}} - ADO_{\text{blanc}}$

Déterminer la concentration en cuivre dans les échantillons comme décrit ci-dessous :

$$C(\text{mg/L de Cuivre}) = \frac{\Delta A_{\text{échantillon}}}{\Delta A_{\text{standard}}} \times C_{\text{standard}}$$

Si l'échantillon a été dilué, le résultat doit être multiplié par le facteur de dilution F.

Instruction de stockage et stabilité des réactifs :

Les réactifs sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée

Conditions de stockage : 18 – 25 °C , dans l'obscurité.

Précaution :

Ne pas avaler. Eviter tout contact avec la peau et les muqueuses.

Prendre les précautions nécessaires vis-à-vis de l'utilisation de réactifs de laboratoire.

Informations générales de préparation de l'échantillon :

- Utiliser des échantillons liquides transparents, clairs et neutres.
- Broyer et homogénéiser les échantillons solides ou semi-solides.
- Déprotéiner les échantillons avec de l'acide perchlorique, ou avec le réactif de Carrez.
- Extraire les matières grasses des échantillons avec de l'eau chaude.