Kit Amidon

Cat. No. 031

Test de dosage enzymatique en UV à 340 nm

For Research Use Only

Starch + (n-1) H2O —— Amyloglucosidase ——▶ n D-Glucose

D-Glucose + ATP —— HK ——▶ Glucose-6-phosphate + ADP

Glucose-6-phosphate + NAD —G-6-PDH——▶ D-gluconate-6-phosphate + NADH

R1 Amidon	1 × 30 mL - Buffer pH 4,5
R2 Amidon	1 × 0,6 mL - Amyloglucosidase
C Amidon	1 × 1 gramme - amidon / starch
Kit #010	1 × 1 kit - D-Glucose

031-22152

PREPARATION DE L'ECHANTILLON :

La concentration en Amidon dans l'échantillon utilisé pour l'essai doit être comprise entre 0,05 et 0,8 g/l après l'étape de solubilisation.

L'amidon, ou les produits contenant de l'amidon, doit être prétraité avant de réaliser la mesure afin de rendre soluble l'amidon.
Vu sa simplicité, la solubilisation de l'amidon avec du dimethylsulfoxide DMSO* en milieu acide est recommandée.

SOLUBILISATION DE L'AMIDON (DMSO* et HCl*)

Peser 100 mg d'échantillon.
Ajouter 20 ml de DMSO* et 5 ml d'HCl* à 36%.
Boucher, et placer sous agitation permanente à 60°C de 30 à 60 minutes.
Laisser refroidir et ajouter 50 ml d'eau.
Rectifier le pH avec 9.5 ml de NaOH* 5N, puis avec NaOH 1N jusqu'à pH 3.
Finir la rectification du pH avec NaOH 0,1N jusqu'à un pH compris entre 4 et 5 (goutte à goutte).
Compléter le volume à 100 ml avec de l'eau dans une fiole jaugée.

PREPARATION DES REACTIFS :

Préparer le « réactif d'hydrolyse » en respectant les proportions suivantes
Mélanger 10 ml de R1 avec 50 µL de R2

Cette préparation « réactif d'hydrolyse » est stable 4 semaines, si elle est stockée entre 2 et 8 °C.

PROCEDURE D'ESSAI EN 2 ETAPES :

1. **Hydrolyse avec les réactifs Amidon**

Préchauffer un bain marie à 60°C.

	Blanc réactif	Blanc échantillon	Echantillon
Réactif d'hydrolyse	1,0 ml	-	1,0 ml
Eau	0,5 ml	1,0 ml	-
Echantillon	-	0,5 ml	0,5 ml
Agiter, placer à 60°C et laisser agir 15 min			

2. **Dosage du glucose avec le kit Glucose**

Longueur d'onde: 340nm / Trajet optique: 1cm / Température: 20-37 °C
Mesurer contre l'eau ou l'air

	Blanc réactif	Blanc échantillon	Echantillon
R 1	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
Eau	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
Echantillon hydrolysé	0.3 ml	0,3 ml	0,3 ml
Agiter et lire la DO	**DO1**	**DO1**	**DO 1**
R 2	0,02 ml	0,02 ml	0,02 ml
Agiter et lire la DO à 20 min	**DO2**	**DO 2**	**DO 2**

* REACTIFS SUPPLEMENTAIREs NON FOURNIS

CALCUL :

Détermination des valeurs : ***ΔDO = [DO 2 – DO 1]***
Puis
$\Delta Amidon = \Delta DO_{échantillon} - \Delta DO_{blanc\ échantillon} - \Delta DO_{blanc\ réactif}$

La concentration en Amidon (g/L) est donnée par :

$$C = \frac{V \times MW}{\varepsilon \times l \times v \times 1000} \times \Delta Amidon \times 3 \times Fd$$

Avec :
V = volume total (2,32 ml),
MW : masse molaire du glucose issu de l'hydrolyse (162,1 g/mol),
ε : coéf. d'extinction molaire du NADH (6,22 L/mmol/cm),
l : longueur du trajet optique (1 cm),
v : volume échantillon (0,3 ml),
1000 : conversion d'unité (mol <-> mmol),
3 : facteur de dilution liée à l'hydrolyse,
Fd : dilution supplémentaire si nécessaire

Soit, dans les conditions de l'essai :

C = 0,60462 × ΔAmidon × Fd
[g/l d' Amidon dans l'échantillon traité]

Pour des échantillons solides :

$$\textbf{Contenu en Amidon} = \frac{C\ (g/L)}{pesée\ (g/L)} \times 100 \quad (g/100g)$$

INSTRUCTION DE STOCKAGE ET STABILITE DES REACTIFS :

Les réactifs sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée, s'ils sont stockés entre 2 et 8 °C.

PRECAUTIONS :

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.

CONTROLE DE QUALITE :

Les réactifs du kit Amidon #031 doivent être validés par le dosage du contrôle inclus dans le kit ; le contrôle est à préparer (solubilisation avec DMSO* et HCl*).
Les réactifs du kit Glucose #010 doivent être validés par le dosage du contrôle inclus dans le kit. Le protocole est disponible sur demande.

PRECISION :

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

EXP	*use before* *Date d'expiration*	REF	catalogue number N° dans le catalogue
LOT	Lot N° de lot	2°C 8°C	Store at 2-8°C Conserver à 2-8°C

Biosentec
48 chemin des Palanques Sud
31120 Portet sur Garonne