



R1	1 × 30 mL - Buffer pH 8
R2	30 tablets - NADH tablets
R3	1 × 0,4 mL - NADH Peroxydase
R4	1 × 1,6 mL - Sulfite Oxydase
C	2g - Sulfite Control

v040E-21121

### Reagents preparation:

Dissolve 1 tablet of NADH (R2) with 1 ml of solution R1.

### Sample preparation:

The amount of sulphite present in the reaction cuvette should range between 0.6 and 30 µg of sulphite.

Thus, if a sample volume of 0.10 mL is used the sample solution must be diluted to yield a sulphite concentration between 6 and 300 mg/L.

However, the sample volume can vary from 0.10 to 2.00 mL, by replacing the water. So the analyte range can vary from 0.30 to 300 mg/L depending on the chosen sample volume.

L-Ascorbic acid inhibits sulfite oxidase.

Higher concentrations of L-ascorbic acid in the assay reacts with hydrogen peroxide and thus produce results that are too low : it is necessary to remove L-ascorbic acid with the use of ascorbate oxidase before the sulphite assay.

### Precision:

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

### Assay procedure:

Wavelength: 340nm / Optical path: 1cm / Temperature: 20-37°

Measurement: against water or air.

	Blank	Sample
R 1 (+R2)	1.0 ml	1.0 ml
R 3	0.01 ml	0.01 ml
Water	2.0 ml	1.9 ml
Sample	0	0.1 ml
Mix and read the DO	<b>DO1</b>	<b>DO 1</b>
R 4	0.05 ml	0.05 ml
Mix and read DO after 30 min	<b>DO 2</b>	<b>DO 2</b>

### Calculation

Determine the values for blank and samples:

$$\Delta DO = [ DO 1 - DO 2 ]_{\text{sample}} - [ DO 1 - DO 2 ]_{\text{blank}}$$

Sulphite concentration is given by:

$$C = \frac{V_{\text{tot}} \times MW}{\varepsilon \times l \times v_{\text{éch}} \times 1000} \times \Delta DO$$

Depending of the chosen sample volume:

Sample volume	Measurement range	Calcul
0,1 ml (+1,9 ml H <sub>2</sub> O)	6 – 300 mg/L SO <sub>2</sub>	0,31115 x ΔDO
1 ml (+1 ml H <sub>2</sub> O)	0,6 – 30 mg/L SO <sub>2</sub>	0,031115 x ΔDO
2 ml (+0 ml H <sub>2</sub> O)	0,3 – 15 mg/L SO <sub>2</sub>	0,015557 x ΔDO

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, if stored at 2-8 °C, contamination is avoided.

### Warnings and precautions

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

Take necessary precautions for the use of laboratory reagents.

### Assay control

Sulphite kit reagents must be validated with the use of the standard included in the kit. The standard must be prepared :

Dissolve 60 mg (~ 30 mg sulfite) of included powder control in 100 ml of a 1 g/L citric acid solution. Use this 300 mg SO<sub>2</sub> / L solution on the same day of preparation.

Sulphite powder absorb moisture and are oxidized easily and aqueous solutions are instable. Therefore, results of < 100% have to be expected in analysis.

### References:

EN 1988-2 : 1998 – Foodstuffs – Determination of sulfite – Part 2 : enzymatic method

### Préparation des réactifs :

Dissoudre 1 comprimé de NADH (R2) pour 1 ml de solution R1

### Préparation de l'échantillon :

La quantité de sulfite présent dans la cuvette de réaction doit être comprise entre 0.6 et 30 µg de sulfite.

Ainsi, si un volume d'échantillon de 0.1 ml est utilisé, l'échantillon doit être dilué afin d'obtenir une concentration en sulfite comprise entre 6 et 300 mg/L.

Cependant, le volume échantillon peut varier entre 0,10 et 2,00 ml, en remplaçant l'eau mise en jeu. La gamme de mesure peut donc varier de 0,30 à 300 mg/L en fonction du volume échantillon choisi.

La sulfite oxydase est inhibée par l'acide L-ascorbique.

De plus, avec de forte concentration, l'acide ascorbique réagit avec H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produisant des résultats trop faibles : il est nécessaire d'enlever l'acide ascorbique avec l'utilisation d'Ascorbate Oxydase avant l'essai.

### 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: 340nm / Trajet optique: 1cm / Température: 20-37 °C

Mesurer contre l'eau ou l'air

	Blanc	Echantillon
R 1 (+R2)	1,0 ml	1,0 ml
R 3	0,01 ml	0,01 ml
Eau	2,0 ml	1,9 ml
Echantillon	0	0,1 ml
Agiter et lire la DO	<b>DO1</b>	<b>DO 1</b>
R 4	0,05 ml	0,05 ml
Agiter et lire la DO à 30 min	<b>DO 2</b>	<b>DO 2</b>

### Calcul :

Détermination des valeurs pour le blanc et les essais :

$$\Delta DO = [ DO 1 - DO 2 ]_{\text{éch}} - [ DO 1 - DO 2 ]_{\text{blanc}}$$

La concentration en Sulfite est calculée par :

$$C = \frac{V_{\text{tot}} \times MW}{\varepsilon \times l \times v_{\text{éch}} \times 1000} \times \Delta DO$$

Soit, en fonction du volume échantillon mis en jeu :

Volume échantillon	Gamme de mesure	Calcul
0,1 ml (+1,9 ml H <sub>2</sub> O)	6 – 300 mg/L SO <sub>2</sub>	0,31115 x ΔDO
1 ml (+1 ml H <sub>2</sub> O)	0,6 – 30 mg/L SO <sub>2</sub>	0,031115 x ΔDO
2 ml (+0 ml H <sub>2</sub> O)	0,3 – 15 mg/L SO <sub>2</sub>	0,015557 x ΔDO

Le résultat doit être multiplié par le facteur de dilution, si nécessaire.

### Instruction de stockage et stabilité des réactifs :

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

### 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.

### Contrôle de qualité :

Les réactifs du kit Sulfite doivent être validés par le dosage du contrôle inclus dans le kit ; le contrôle est à reconstituer :

Dissoudre 60 mg (~ 30 mg sulfite) de contrôle en poudre fourni dans 100 mL d'une solution d'acide citrique à 1 g/L. Cette solution à 300 mg de SO<sub>2</sub> / L est à utiliser le jour-même.

Les poudres de sulfite absorbent l'humidité et s'oxydent facilement et les solutions aqueuses sont instables. Ainsi des résultats inférieurs à 100% sont probables lors du dosage.

### Références :

EN 1988-2 : 1998 – Produits alimentaires – Dosages des sulfites – Partie 2 : méthode enzymatique

EXP

use before  
Date d'expiration

REF

catalogue number  
N° dans le catalogue

LOT

Lot  
N° de lot



Store at 2-8°C  
Conserver à 2-8°C



Biosentec  
48 chemin des Palanques Sud  
31120 Portet sur Garonne