ETHANOL

COD 12847 60 mL
Apenas para utilização *in vitro* no laboratório

BioSystems
REAGENTS & INSTRUMENTS

ETANOL
ÁLCOOL DESIDROGENASE

UTILIZAÇÃO PREVISTA
Reagente para a medição de etanol em diversos tipos de amostra.

PRINCÍPIO DO MÉTODO
O etanol presente na amostra reage com a álcool desidrogenase na presença de NAD^+ gerando NADH que pode ser medido através de espectrofotometria.

$$\text{Etanol} + NAD^+ \xrightarrow{\text{Álcool desidrogenase}} \text{Acetaldeído} + NADH$$

CONTEÚDO E COMPOSIÇÃO
A. Reagente. 1 x 45 mL. Pipes 100 mmol/L, pH 7,9.
B. Reagente. 1 x 15 mL. Pipes 50 mmol/L, NAD 15 mmol/L, álcool desidrogenase > 18 KU/L, pH 6,2.
S. Padrão. 1 x 5 mL. Etanol. Padrão primário aquoso.

Para mais advertências e precauções, ver a ficha de dados de segurança do produto (SDS).

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE
Conservar a 2-8ºC.

Os componentes são estáveis até à data de validade indicada na etiqueta do kit, sempre que sejam conservados bem fechados e se evite a contaminação durante a sua utilização.

Indicações de deterioração: absorvância do branco superior ao limite indicado em "Parâmetros do ensaio".

EQUIPAMENTO ADICIONAL
Analisador, espectrofotómetro ou fotómetro com cuvete termostática a 37ºC para leituras a 340 nm.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES
Os reagentes e o padrão estão prontos para a sua utilização.

PROCEDIMENTO
Procedimento manual (Notas 1 e 2)

1. Preaquecer os reagentes e o fotómetro a 37 ºC.
2. Pipetar numa cuvete:

	Branco de reagente (RB)	Padrão/Amostra
Água destilada	48 µL	-
Padrão/Amostra	-	48 µL
Reagente A	900 µL	900 µL

3. Misturar e incubar durante 1 minuto a 37 ºC.
4. Pipetar numa cuvete:

Reagente B	300 µL	300 µL

5. Misturar e inserir a cuvete no instrumento. Iniciar o cronómetro.
6. Medir a absorvância a 340 nm depois de 30 segundos (A1) e depois de 4 minutos (A2) do branco de reagente, do padrão e da amostra.
7. Calcular a concentração de etanol (C) utilizando a seguinte fórmula:

$$\frac{(A2 - A1)_{Amostra} - (A2 - A1)_{RB}}{(A2 - A1)_{Padrão} - (A2 - A1)_{RB}} \times C_{Padrão}\,[mg/L] = C_{Amostra}\,[mg/L]$$

CALIBRAÇÃO
Deve realizar-se um branco de reagente cada dia e calibrar depois de uma mudança de lote de reagente ou quando o exijam os procedimentos de controlo de qualidade.

CONTROLO DE QUALIDADE
Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio programa de controlo de qualidade interno, bem como procedimentos de correção no caso de que os resultados dos controlos não se encontrem entre os limites de aceitação.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS[1-3]
As características metrológicas descritas foram obtidas utilizando um analisador Y15. Os detalhes sobre os dados de avaliação estão disponíveis sob solicitação.

– Limite de deteção: 25 mg/L.
– Limite de linearidade: 2000 mg/L.
– Precisão:

Concentração média	Repetibilidade (CV)	Imprecisão total (CV)
542 mg/L	1,1 %	4,4 %
1361 mg/L	0,9 %	4,8 %

– Veracidade: os resultados obtidos com estes reagentes não apresentam diferenças sistemáticas significativas ao ser comparados com um procedimento de referência. Os detalhes do estudo comparativo estão disponíveis sob solicitação.

NOTAS
1. Os volumes propostos são para a utilização de uma cuvete semi-micro. Podem ser utilizados outros volumes se se mantém a relação entre os reagentes e a amostra.
2. Ao analisar amostras sólidas e semissólidas que se pesam para a sua preparação, o conteúdo (mg/Kg) (CT) é calculado a partir da quantidade de amostra pesada (W), do volume no qual se prepara a amostra pesada (V) e da concentração obtida na amostra (C) de acordo como se descreve em seguida:

$$\frac{C_{Amostra}\,(mg/L) \times V\,(L)}{W_{Amostra}\,(Kg)} = CT_{Amostra}\,[mg/Kg]$$

BIBLIOGRAFIA

1. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Evaluation of precision of quantitative measurement methods; Approved guideline – Third edition. EP5-A3. Wayne: USA 2004.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Evaluation of detection capability for clinical laboratory measurement procedures; Approved guideline – Second edition. EP17-A2. Wayne: USA 2012.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: a statistical approach; Approved guideline – Third edition. EP6-A. Wayne: USA 2003.
4. Worsfold PJ, Růžička J, Hansen EH. Rapid Automatic Enzimatic Method for the Determination of Alcohol in Blood and Beverage Using Flow Injection Analysis. Analyst 1981; 106: 1309-1317.
5. Morad AM, Hikal AH, Buchanin R. Gas-Liquid Choromatographic Determination of Ethanol in "Alcohol-Free" Beverages and Fruit Juice. Chromatographia 1980; 13 (3): 161-163.

AMOSTRAS

Procedimentos de preparação

- Filtrar ou centrifugar as soluções turvas.
- Desgaseificar as amostras com dióxido de carbono num banho de ultrassons ou agitar a amostra num copo de precipitação durante aproximadamente 1 minuto.
- Amostras com concentrações superiores ao limite de linearidade especificado devem ser diluídas adequadamente com água destilada. Multiplicar a concentração obtida pelo fator de diluição.
- Triturar e/ou homogeneizar amostras sólidas.

Sumos de frutas e bebidas semelhantes[4-5]**:** Filtrar, clarificar e/ou diluir o sumo se necessário, como descrito em "Procedimentos de Preparação".

Outras aplicações: O método também pode ser utilizado com outros tipos de amostras. Entre em contacto com o seu fornecedor para obter mais informações.

PARÂMETROS DO ENSAIO (Nota 2)

Estes reagentes podem também ser utilizados noutros analisadores automáticos. Solicite informações ao seu distribuidor.

BioSystems Y15

Reagente 1: Utilizar o Reagente A.

Reagente 2: Utilizar o Reagente B.

GERAL	
None	**ETHANOL**
None abreviado	tempo fixo bi-reagente
Tipo de amostra	-
Modo de análise	mg/L
Unidades	crescente
Decimais	0
PROCEDIMENTO	
Leitura	monocromática
Amostra	12
Reagente 1	225
Reagente 2	75
Lavagem	1,2
Fator pré-diluição	*
Filtro principal	340
Filtro referência	-
Leitura 1	120 s
Leitura 2	360 s
Reagente 2	72 s
CALIBRAÇÃO	
Tipo de calibração	específico
Curva de calibração	-
OPÇÕES	
Limite absorvância branco	0,500
Limite branco cinético	-
Limite de linearidade	2000

* Definido pelo utilizador

BioSystems Y25

Reagente 1: Utilizar o Reagente A.

Reagente 2: Utilizar o Reagente B.

GERAL	
None	**ETHANOL**
None abreviado	tempo fixo bi-reagente
Tipo de amostra	-
Modo de análise	mg/L
Unidades	crescente
Decimais	0
PROCEDIMENTO	
Leitura	monocromática
Amostra	12
Reagente 1	225
Reagente 2	75
Lavagem	1,2
Fator pré-diluição	*
Filtro principal	340
Filtro referência	-
Leitura 1	105 s
Leitura 2	345 s
Reagente 2	75 s
CALIBRAÇÃO	
Tipo de calibração	específico
Curva de calibração	-
OPÇÕES	
Limite absorvância branco	0,500
Limite branco cinético	-
Limite de linearidade	2000

* Definido pelo utilizador