



کیت سنجش ایزوسیتریک اسید (D-Isocitric Acid Kit)

دی ایزو سیتریک اسید درمیان ترکیبات اصالت سنجی و تعیین کیفیت فراورده های آبمیوه ها به عنوان یکی از مهمترین فاکتورهای اصالت سنجی می باشد. تعیین مقدار این اسید در آبمیوه ها دارای اهمیت زیادی در تعیین اصالت و تشخیص تقلب در صنعت آب میوه به خصوص آب لیموترش است. بالا بودن نسبت سیتریک اسید به ایزوسیتریک اسید می تواند به عنوان یک شاخص افزودن اسید سیتریک در برخی آبمیوه ها مثل آب لیمو ترش مورد استفاده قرار گیرد. با توجه به واکنشی که آنزیم ایزوسیترات دهیدروژناز انجام می دهد، مقدار NADPH تولید شده در این واکنش نسبت استوکیومتری با میزان اسید ایزوسیتریک مصرف شده دارد. میزان NADPH با خوانش جذب در ۳۴۰ نانومتر اندازه گیری می شود. با توجه به جذب NADPH، مقدار اسید ایزوسیتریک اندازه گیری می شود.

شرکت دانش بنیان نوراژن پیشرو

آدرس: تهران - امیرآباد- خیابان کارگر شمالی - خیابان ۱۶ (فرشی
مقدم) - درب پردیس شمالی دانشگاه تهران- پارک علم و فناوری
دانشگاه تهران- ساختمان الکتروشیمی کد پستی: ۱۴۳۹۸۱۷۴۳۵

شماره ثبت: ۵۰۱۱۸۰
شناسه ملی: ۱۴۰۰۶۳۱۸۵۶۰



۰۹۱۳۳۹۸۸۱۴۸ - ۰۹۹۰۳۰۱۹۹۷۵

Noragene.pishro@gmail.com

www.noragene.com

روش آماده سازی آب میوه جهت اندازه گیری دی ایزوسیتریک آزاد

۲۵ میلی لیتر نمونه آب میوه به کمک سدیم هیدرواکسید ۲ مولار تا $\text{pH} = 7/6$ تنظیم شود. نمونه به بالن حجمی ۵۰ میلی لیتر منتقل شود و با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی لیتر برسد. سپس به آن ۰/۵ گرم پلی وینیل پلی پیرولیدان اضافه شود و پس از ۵ دقیقه همزدن شدید با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شود. از این نمونه به مقدار ۰/۱ میلی لیتر جهت انجام آزمون به کووت منتقل گردید.

روش آماده سازی آب میوه جهت اندازه گیری دی ایزوسیتریک آزاد و باند شده

مقدار ۵۰ میلی لیتر نمونه آب میوه صاف شود و به ارلن ۱۰۰ میلی لیتری منتقل شود و pH نمونه با کمک محلول سود ۱ مولار تا $\text{pH} = 11$ تنظیم شود در صورت وجود ترکیبات احیا کننده در نمونه مقدار ۰/۰۱ میلی لیتر محلول ۳۰ درصد پراکسید هیدروژن نیز اضافه خواهد شد. محلول به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار بگیرد pH اندازه گیری می شود تا در صورت نیاز مجدد تا عدد ۱۱ تنظیم گردد. محلول خنک شده و با اسید کلرید ریک ۱ مولار تا $\text{pH} = 7/6$ تنظیم شود و نمونه با آب مقطر به حجم رسانده شود سپس به آن ۰/۵ گرم پلی وینیل پلی پیرولیدان اضافه شود و پس از ۵ دقیقه همزدن شدید با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شود. از این نمونه به مقدار ۰/۱ میلی لیتر جهت انجام آزمون به کووت منتقل گردد.

روش آزمون

طول موج: ۳۴۰ نانومتر

کووت: ۱ سانتی متر نور (شیشه ای یا پلاستیکی)

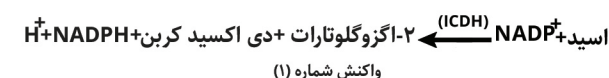
دما: تقریباً ۲۵ سانتی گراد

حجم نهایی: ۲/۳۲ میلی لیتر

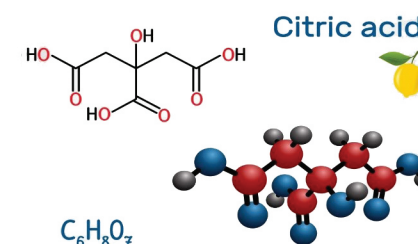
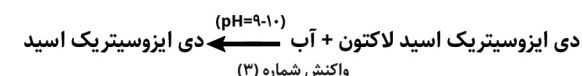
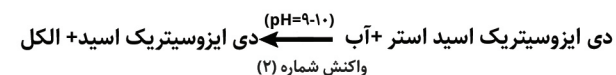
در مقابل هوا (بدون کووت در مسیر نور) یا در برابر آب

کیت سنجش ایزوسیتریک اسید (D-Isocitric Acid Kit)

دی ایزوسیتریک بوسیله نیکوتین آمید آدنین دی نوکلوتیدفسفات (NADP^+) در حضور آنزیم ایزوسیترات دهیدروژناز (ICDH) به ۲- اگزوگلوکوتارات و دی اکسید کربن تبدیل می شود.



مقدار NADPH تشکیل شده طی این واکنش از نظر استوکیومتری با مقدار دی ایزوسیتریک برابر است. این ترکیب در طول موج ۳۴۰ نانومتر بیشترین میزان جذب را خواهد داشت. دی ایزوسیتریک های باند شده با لاکتون و استرها با کمک هیدرولیز قلیایی آزاد می شوند و اکشن های (۲) و (۳) می توانند پس از آزاد شدن بر اساس واکنش شماره (۱) مورد اندازه گیری قرار گیرد.



محتویات کیت

- محلول شماره ۱:
بافر (۱۲ میلی لیتر بافر با $\text{pH}=7/6$)
- محلول شماره ۲:
نیکوتین آمید آدنین دی نوکلوتیدفسفات (NADP^+)
- محلول شماره ۳:
محلول ایزوسیترات دهیدروژناز (۲/۱ میلی لیتر) (ICDH)
- محلول شماره ۴:
محلول استاندارد دی ایزوسیتریک
(۵ میلی لیتر) (Iso Citric Acid Standard)



شرایط نگه داری محصول

- محلول شماره ۱: بافر
قابل نگهداری برای بیش از ۱ سال در دمای ۴ درجه سانتی گراد.
- محلول شماره ۲: نیکوتین آمید آدنین دی نوکلوتیدفسفات (NADP^+)
قابل نگهداری برای بیش از ۲ سال در دمای ۱۰- درجه سانتی گراد.
- محلول شماره ۳: محلول ایزوسیترات دهیدروژناز
قابل نگهداری برای بیش از ۶ ماه در دمای ۴ درجه سانتی گراد.
- محلول شماره ۴: محلول استاندارد دی ایزوسیتریک
(Iso Citric Acid Standard)
قابل نگهداری برای بیش از ۱ سال در دمای ۱۰- درجه سانتی گراد.

آماده سازی محلول های واکنشگر

- ۱- از محتویات ظرف شماره ۱ همانطور که ارائه شده است، استفاده کنید. برای مدت بیش از ۱ سال در ۴ درجه سانتی گراد پایدار می باشد.
 - ۲- محتویات ظرف شماره ۲ را در ۱۰/۲ میلی لیتر آب مقطر حل کنید. برای مدت بیش از ۱ سال در دمای ۴ درجه سانتی گراد و برای مدت بیش از ۲ سال در دمای ۱۰- درجه سانتی گراد پایدار می باشد.
 - ۳- از محتویات ظرف شماره ۳ همانطور که ارائه شده است، استفاده کنید. برای مدت بیش از ۶ ماه در ۴ درجه سانتی گراد پایدار می باشد.
 - ۴- از محتویات ظرف شماره ۴ همانطور که ارائه شده است، استفاده کنید. برای مدت بیش از ۱ سال در دمای ۱۰- درجه سانتی گراد پایدار می باشد.
- نکته: محلول استاندارد دی ایزوسیتریک فقط در مواردی مورد سنجش قرار می گیرد که در مورد صحت دستگاه اسپکتروفتومتر تردید وجود داشته باشد و یا در مواردی که مشکوک به وجود مهار کننده می باشد.

رقیق سازی نمونه

مقدار دی ایزوسیتریک موجود در سل (به عنوان مثال ۰/۱ میلی لیتر نمونه) می بایست بین ۱ تا ۸۰ میکروگرم باشد. در غیر این صورت نمونه در حدی رقیق شود که غلظت این اسید به ۰/۰۱ تا ۰/۸ گرم در لیتر باشد. اگر کمتر از ۰/۱ بود مقدار (D-Isocitric acid) ΔA مقدار نمونه بیشتر خواهد شد یا رقیق سازی کمتر صورت می گیرد.

شفاف سازی نمونه

اگر نمونه نیاز به رقیق سازی نداشت جهت بی رنگ کردن نمونه برای هر ۱۰ میلی لیتر نمونه ۰/۲ گرم پلی وینیل پلی پیرولیدان استفاده شود و نمونه به مدت ۵ دقیقه به شدت مخلوط شود و سپس با واتمن شماره ۱ صاف شود.