

# Megazyme

---

## ÁCIDO ACÉTICO

### PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

K-ACET 11/05

(53 Ensayos por Kit)

*Este folleto se puede conseguir en*  
**[www.megazyme.com](http://www.megazyme.com)** en los siguientes idiomas:  
**Inglés-Francés-Alemán-Italiano-Portugués**



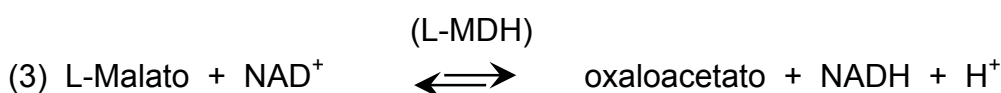
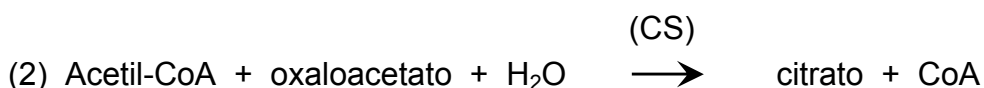
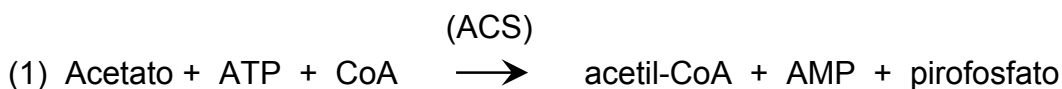
## INTRODUCCIÓN:

El ácido acético (acetato) aparece en una amplia gama de alimentos y bebidas, y en muchos otros materiales tales como papel, productos farmacéuticos e industriales. En la industria del vino es uno de los parámetros de calidad más importantes que se mide durante todo el proceso de vinificación. Este kit avanzado (K-ACET) también tiene la ventaja de tener un mayor tiempo de duración, ya que el acetil-coenzima A sintetasa (ACS) se suministra en forma de suspensión de sulfato de amonio, en vez de polvo liofilizado. Se ha incorporado también polovinilpirolidona (PVP) en el tampón para evitar la interferencia de los taninos que se pueden encontrar en los vinos tintos.

Este kit se recomienda para los análisis que se realizan de forma manual, pero se han optimizado dos kits adicionales para los análisis que se realizan de forma automática; K-ACETAF ha ampliado su linealidad de calibración a 30 µg/mL (en el ensayo final), beneficiándose también de un sistema de estabilización que reduce significativamente el porcentaje de deterioro (aumento de la absorción) del reagente preparado, un problema que se da en otros productos en el mercado. K-ACETAK es un nuevo formato de ensayo basado en acetato quinasa. Dado que en este caso no se produce una reacción indicadora, se consigue un cambio en la absorción estequiométrica con el volumen de ácido acético, dando como resultado una excelente calibración lineal ( $R^2 > 0.999$ ). Booklets for both auto-analyser format kits are available at [www.megazyme.com](http://www.megazyme.com).

## PRINCIPIO:

La sintatasa acetil-coenzima A (ACS) en presencia de adenosina-5'-trifosfato (ATP) y coenzima A (CoA) convierte el ácido acético en acetil-CoA (1), con la formación de adenosina-5'-monofosfato (AMP) y pirofosfato. El citrato sintasa (CS), en presencia de acetil-CoA convierte el oxaloacetato en citrato (2). El oxaloacetato requerido en la reacción (2) se forma a partir de malato-L y dinucleótido de adenina nicotinamida ( $NAD^+$ ) en presencia del malato-deshidrogenasa (L-MDH) (3). En esta reacción,  $NAD^+$  se reduce a NADH.



La determinación se basa en la formación de NADH, que se mide por el aumento de la capacidad de absorción a 340 nm. Como la reacción anterior es una reacción de equilibrio, el volumen de ácido acético presente se calcula por medio de la ecuación en la página 6.

### **ESPECIFICIDAD, SENSIBILIDAD, LINEALIDAD Y PRECISIÓN:**

El ensayo es específico para el ácido acético.

El diferencial de absorción menor del ensayo es de 0,005 unidades. Esto corresponde a 0,07 mg/L de la solución de muestra a un volumen máximo de muestra de 2 mL (o a 1,4 mg/L con un volumen de muestra de 0,1 mL). El límite de detección es de 0,14 mg/L, que se deriva de un diferencial de absorción de 0,010 con un volumen máximo de muestra de 2 mL.

El ensayo es lineal a lo largo del intervalo de 0,3 a 20 µg de ácido acético por ensayo. En determinaciones dobles utilizando una solución de muestra, se puede producir una diferencia de absorción de 0,005 a 0,010. Con un volumen de muestra de 2 mL, esto corresponde a una concentración de ácido acético de aproximadamente entre 0,07 y 0,14 mg/L de solución de muestra. Los datos de reproducibilidad para serie de muestras han sido publicados por Beutler<sup>1</sup> con valores c.v. desde 0,6 a 2,8 % para varias muestras. Si la muestra se diluye durante su preparación, el resultado se multiplica por el factor de dilución, F. Si en la preparación de la muestra, la muestra se pesa, por ejemplo, 10 g/L, cabe esperar una diferencia entre 0,02 a 0,05 g/100 g.

### **INTERFERENCIA:**

Los ésteres del ácido acético (p.ej. acetato de etilo) se encuentran con frecuencia en presencia del ácido acético. El acetato de etilo se hidroliza lentamente en las condiciones del ensayo y es responsable de las reacciones de fluencia lenta. El efecto de los ésteres de ácido acético se puede eliminar extrapolando el valor de  $A_2$  al momento en que se añadió el ACS. Esta acción se realiza más fácilmente tomando lecturas adicionales de absorción a los 16 y 20 min, utilizando la herramienta de cálculo basada en **Mega-Calc**<sup>TM</sup> Excel (la cual se puede bajar desde la página web de Megazyme donde aparece este kit). Este valor  $A_2$  corregido proporcionará la concentración de ácido acético. La concentración total de acetato (incluidos los ésteres) se puede calcular dejando que la reacción alcance el punto final (hasta que el valor de absorción se estabilice).

Si la conversión de ácido se ha completado en el tiempo especificado en el ensayo (aprox. 10-12 min), en general se puede concluir que no se producido ninguna interferencia. Sin embargo, se puede hacer otra comprobación añadiendo ácido

acético (aprox. 10 µg en 0,1 mL) en la cubeta, cuando se complete la reacción. Se debería observar un aumento significativo de la absorción.

Las sustancias que interfieren en la muestra analizadas se pueden identificar incluyendo un estándar interno. Cabe esperar una recuperación cuantitativa de este estándar. Las pérdidas en la manipulación y extracción de la muestra se pueden identificar realizando experimentos de recuperación, es decir, añadiendo ácido acético a la muestra en las fases iniciales de la extracción.

### **SEGURIDAD:**

En general, los reagentes utilizados en la determinación del ácido acético no son materiales peligrosos según el Reglamento de Sustancias Peligrosas. Sin embargo, el concentrado tampón contiene azida de sodio 0,02 % (w/v) como conservante. Es necesario observar todas las medidas generales de seguridad que se aplican a todas las sustancias químicas.

### **KITS:**

Megazyme dispone de kits idóneos para realizar 53 determinaciones. Los kits contienen el método completo de ensayo además de:

**Botella 1:** Tampón TEA (30 mL, 0,8 M, pH 8,4) mas ácido málico L (60 mM), cloruro de magnesio (20 mM) y azida de sodio 0,02 % (w/v) como conservante.

Estable durante > 2 años a 4°C.

**Botella 2: (x2)** NAD<sup>+</sup> (67 mg) mas ATP (137 mg), PVP (30 mg) y CoA (9,8 mg). Se aconseja el polvo seco.

Estable durante > 5 años a -20°C.

**Botella 3:** L-Malato deshidrogenasa (1250 U/mL) mas una suspensión de sintasa (180 U/mL), 1,1 mL. Estable durante > 2 años a 4°C.

**Botella 4:** Suspensión de acetil-Coenzima A (1,1 mL, 90 U/mL).

Estable durante > 2 años a 4°C.

**Botella 5:** Solución de ácido acético estándar (5 mL, 0,10 mg/mL).

Estable durante > 2 años a 4°C.

### **PREPARACIÓN DE SOLUCIONES/SUSPENSIONES DE REAGENTES:**

1. Use el contenido de la botella 1 según se suministra.  
Estable durante > 2 años a 4°C.
2. Disuelva el contenido de la botella 2 en 5,5 mL de agua destilada. Divídala en partes alícuotas del tamaño adecuado y guárdelas en tubos de polipropileno a -20°C entre uso y uso y si es posible se ha de mantener frescos durante su

uso. Una vez disuelto, el reagente es estable durante > 2 años a -20°C. **No** disuelva el contenido de la segunda botella hasta que sea necesario.

- 3 & 4.** Use el contenido de las botellas 3 y 4 según se suministran. Antes de abrir por primera vez, agite la botella para eliminar cualquier enzima que se haya quedado en el tapón de goma. A continuación, guarde las botellas en posición vertical. **Agite la botella para que se mezcle su contenido antes de utilizarlo.**

Estable durante > 2 años a 4°C.

- 5.** Use el contenido de la botella número 5 según se entrega.

Estable durante > 2 años a 4°C.

**NOTA:** La solución estándar de ácido acético solo se utiliza en el ensayo cuando existe alguna duda sobre la precisión del espectrofotómetro que se está utilizando o cuando se sospecha que las sustancias que intervienen en la muestra están produciendo una inhibición. La concentración de ácido acético se determina directamente a partir del coeficiente de extinción de NADH (véase página 6).

#### **EQUIPO (RECOMENDADO):**

1. Tubos de vidrio de prueba (con la base redonda; 16 x 100 mm).
2. Cubetas de plástico desechables (paso de luz de 1 cm, 3 mL).
3. Micropipetas, p.ej. Gilson Pipetman® (20 µL y 100 µL).
4. Pipeta de desplazamiento positivo p.ej. Eppendorf Multipette®  
- con 5 mL de Combitip® (para administrar partes alícuotas de 0,2 mL de NAD<sup>+</sup>/ATP/CoA).  
- con 25 mL de Combitip® (para administrar partes alícuotas de 2 mL de agua destilada y 0,5 mL de tampón TEA).
5. Balanza de precisión.
6. Espectrofotómetro a 340 nm.
7. Agitador vibrador de tubos Vortex (p.ej. Agitador de tubos de prueba IKA® Yellowline TTS2).
8. Cronómetro.
9. Papel filtro Whatman No.1 (9 cm).

## PROCEDIMIENTO:

<b>Longitud de onda:</b>	340 nm
<b>Cubeta:</b>	paso de luz de 1 cm (vidrio o plástico)
<b>Temperatura:</b>	~ 25°C
<b>Volumen final:</b>	2,84 mL
<b>Solución de muestra:</b>	0,3-20 µg de ácido acético por cubeta (en volumen de muestra de 0,10-2 mL)

**Medir contra corriente de aire** (sin cubeta en el paso de luz) o contra agua

Pipeta en cubetas	Muestra sin tratar	Muestra
agua destilada (~ 25°C)	2,10 mL	2,00 mL
muestra	-	0,10 mL
solución 1 (tampón TEA/PVP)	0,50 mL	0,50 mL
solución 2 (NAD <sup>+</sup> /ATP/CoA)	0,20 mL	0,20 mL
Mezcle*, lea la absorción de las soluciones (A <sub>0</sub> ) transcurridos aprox. 3 min e inicie las reacciones añadiendo:		
suspensión 3 (L-MDH/CS)	0,02 mL	0,02 mL
Mezcle*, lea la absorción de las soluciones (A <sub>1</sub> ) transcurridos aprox. 4 min e inicie las reacciones añadiendo:		
suspensión 4 (ACS)	0,02 mL	0,02 mL
Mezcla*, lea las absorciones de las soluciones (A <sub>2</sub> ) al final de la reacción (aprox. 12 min). Si la reacción no se ha detenido transcurridos 12 min, continúe leyendo las absorciones a intervalos de 4 min hasta que no cambien durante 20 min, y a continuación utilice la hoja de cálculo <b>Mega-Calc</b> <sup>TM</sup> para tener en cuenta la velocidad de reacción lenta.		

\* por ejemplo con una espátula de plástico o dando la vuelta suavemente a la cubeta después de haberla tapado con una tapa o Parafilm<sup>®</sup>.

## CALCULO:

Si la absorción (A<sub>2</sub>) de la muestra aumenta lentamente pasada la rápida reacción inicial, se debe tener en cuenta esta fluencia lenta lineal leyendo los valores de absorción a los 16 y 20 min. Estos datos se pueden introducir en la calculadora de **Mega-Calc**<sup>TM</sup>, para que nos de el valor A<sub>2</sub> corregido.

Calcule las diferencias de absorción (A<sub>1</sub>-A<sub>0</sub>) y (A<sub>2</sub>-A<sub>0</sub>) de vacío y muestra. Con el equilibrio de la reacción indicadora anterior (3), **no** existe una proporcionalidad lineal entre la diferencia de absorción medida y la concentración de ácido acético, por lo que  $\Delta A_{\text{ácido acético}}$  se calcula utilizando la ecuación siguiente:

$\Delta A_{\text{ácido acético}} =$

$$\left[ \frac{(A_2 - A_0)_{\text{muestra}} - \frac{(A_1 - A_0)_{\text{muestra}}^2}{(A_2 - A_0)_{\text{muestra}}}}{(A_2 - A_0)_{\text{muestra}}} \right] - \left[ \frac{(A_2 - A_0)_{\text{vacío}} - \frac{(A_1 - A_0)_{\text{vacío}}^2}{(A_2 - A_0)_{\text{vacío}}}}{(A_2 - A_0)_{\text{vacío}}} \right]$$

El valor de  $\Delta A_{\text{ácido acético}}$ , por regla general deberá ser de al menos 0,100 unidades de absorción para conseguir resultados suficientemente precisos.

La concentración de ácido acético se puede calcular de la siguiente forma:

$$c = \frac{V \times MW}{\varepsilon \times d \times v} \times \Delta A_{\text{ácido acético}} \quad [\text{g/L}]$$

**Donde:**

V = volumen final [mL]

MW = peso molecular del ácido acético [g/mol]

$\varepsilon$  = coeficiente de extinción del NADH a 340 nm  
= 6300 [l x mol<sup>-1</sup> x cm<sup>-1</sup>]

d = paso de luz [cm]

v = volumen de la muestra [mL]

**Sigue para el ácido acético:**

$$c = \frac{2,84 \times 60,05}{6300 \times 1,0 \times 0,10} \times \Delta A_{\text{ácido acético}} \quad [\text{g/L}]$$

$$= 0,2707 \times \Delta A_{\text{ácido acético}} \quad [\text{g/L}]$$

Si la muestra se ha diluido durante la preparación, el resultado se debe multiplicar por el factor de dilución, F.

Cuando se analicen muestras sólidas o semisólidas que se pesan para preparar la muestra, el contenido (g/100 g) se calcula a partir de la cantidad pesada de la siguiente forma:

**Contenido de ácido acético**

$$= \frac{C_{\text{ácido acético}} [\text{g/L solución de muestra}]}{\text{peso}_{\text{muestra}} [\text{g/L solución de muestra}]} \times 100 \quad [\text{g/100 g}]$$

**NOTA:** Estos cálculos se pueden simplificar utilizando la aplicación **Mega-Calc**<sup>™</sup> de Megazyme, que se puede descargar desde la página web donde aparece el producto ([www.megazyme.com](http://www.megazyme.com)).

## PREPARACIÓN DE LA MUESTRA:

### 1. Dilución de la muestra.

La cantidad de ácido acético presente en la cubeta (es decir, en los 0,1 mL de muestra que se está analizando) deberá situarse entre 0,3 y 20 µg. La solución de muestra por tanto se debe diluir lo suficiente como para conseguir una concentración de ácido acético entre 0.03 y 0.20 g/L.

**Tabla De la Dilución**

Concentración estimada de ácido acético (g/L)	Dilución con agua	Factor de dilución (F)
< 0.20	No es necesaria dilución	1
0.20-2.0	1 + 9	10
2.0-20	1 + 99	100
> 20	1 + 999	1000

Si el valor de  $\Delta A_{\text{ácido acético}}$  es demasiado bajo (p. ej. < 0.100), pese más muestra o diluya con menos fuerza. Como alternativa, la muestra que se debe verter en la cubeta se puede aumentar a 2,0 mL, asegurándose de que los componentes de la muestra y el agua destilada en la reacción sumen 2,1 mL, utilizando el nuevo volumen de muestra en la ecuación.

### 2. Manipulación de la muestra.

El ácido acético es volátil, por lo que hay que tener cuidado cuando se seque, ya que de lo contrario puede haber muestras calientes que contengan este analito en forma de ácido. Los problemas asociados a la volatilidad del ácido acético se pueden reducir convirtiéndolo en sal (p.ej. acetato de sodio o acetato de potasio). Esto se consigue ajustando el pH de la muestra a 7,5 aproximadamente, utilizando 1 M NaOH o KOH antes de secar o calentar a temperaturas elevadas.

### 3. Clarificación de la muestra.

#### a. Soluciones:

**Solución Carrez I.** Disuelva 3,60 g de hexacianoferrato de potasio (II)  $\{K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O\}$  (Sigma cat. no. P-9387) en 100 mL de agua destilada. Guárdelo a temperatura ambiente.

**Solución Carrez II.** Disuelva 7,20 g de sulfato de cinc  $(ZnSO_4 \cdot 7H_2O)$  (Sigma cat. no. Z-4750) en 100 mL de agua destilada. Guárdelo a temperatura ambiente.

**Hidróxido sódico (NaOH, 100 mM).** Disuelva 4 g de NaOH en 1 L de agua destilada. Guárdelo a temperatura ambiente.



### **b. Procedimiento:**

Vierta la muestra líquida en un matraz de 100 mL que contenga aproximadamente 60 mL de agua destilada, o pese suficiente cantidad de muestra en un matraz de 100 mL y añada 60 mL de agua destilada.

Añada con cuidado 5 mL de solución Carrez I, 5 mL de solución Carrez II y 10 mL de solución de NaOH (100 mM). Mezcle cada vez que añada un componente. Llene el matraz hasta la marca, mezcle y filtre.

### **4. Consideraciones generales.**

**(a) Muestras líquidas:** muestras claras, ligeramente coloreadas y aproximadamente neutras se pueden utilizar directamente en el ensayo.

**(b) Muestras ácidas:** Si se va a analizar más de 0,1 mL de una muestra ácida sin diluir (como vino o zumo de fruta), el pH de la dilución se debe aumentar a 8,4 aproximadamente, utilizando 2 M NaOH, y la solución incubada a temperatura ambiente durante 30 min.

**(c) Dióxido de carbono:** las muestras que contengan una cantidad importante de dióxido de carbono, como por ejemplo la cerveza, se deben desgasificar aumentando el pH a 8,4 aproximadamente con 2 M NaOH y agitando suavemente o removiéndolo con una varilla de vidrio.

**(d) Muestras coloreadas:** puede que haya que realizar una muestra adicional sin tratar, es decir, una muestra sin ACS, en caso de muestras coloreadas.

**(e) Muestras muy coloreadas:** Si se utilizan sin diluir, las muestras muy coloreadas se deben tratar añadiendo 0,2 g de polivinilpolipirrolidona (PVPP)/10 mL de muestra. Agitar bien el tubo durante 5 minutos y a continuación filtre en papel Whatman No. 1.

**(f) Muestras sólidas:** homogeneizar o triturar muestras sólidas en agua destilada y filtrar si fuera necesario.

**(g) Muestras que contengan grasas:** extraiga dichas muestras con agua caliente a una temperatura por encima del punto en que se derrite la grasa, por ejemplo, en un matraz de 100 mL. Ajuste a 20°C y llene el matraz hasta la marca con agua. Guárdelo en hielo o en un frigorífico durante 15-30 min y a continuación fíltrelo. Tire los primeros mL de lo que filtre, y utilice el sobrenadante claro (que puede estar ligeramente opalescente) para el ensayo. Otra alternativa es clarificar con reagentes Carrez.

**(h) Muestras que contengan proteína:** desproteíne las muestras con proteínas con reagentes Carrez.

## **EJEMPLOS PARA PREPARAR LAS MUESTRAS:**

### **(a) Determinación de ácido acético en vino.**

En el vino blanco, utilice 0,10 mL en el ensayo. Se pueden utilizar volúmenes de hasta 2,0 mL en muestras con un bajo contenido de ácido.

En el vino tinto que contenga aproximadamente 0,2 g de ácido acético /L, utilice 0,10 mL de muestra sin decolorar en el ensayo. En el vino tinto que contenga menos de 0,1 g de ácido acético /L, decolorar añadiendo 0,2 g de PVPP por 10 mL de muestra y agite durante 5 min. Filtre una parte alícuota de la muestra en filtro de papel Whatman No. 1 y ajuste el pH a 8,4.

Cuando utilice grandes volúmenes de muestra, las muestras de vino con alta concentración de alcohol puede retrasar la actividad de las enzimas utilizados en la determinación del acetato. En dichos casos, aumente los tiempos de incubación a 20 min, y mida las absorciones para confirmar que la reacción haya concluido.

*Normalmente, una dilución de 1:5 y un volumen de muestra de 0,1 mL es lo adecuado.*

### **(b) Determinación de ácido acético en zumos de fruta.**

En los zumos de fruta con alto nivel ácido acético (aprox. 0,3 g/L), diluya una parte alícuota de la muestra en un volumen igual de agua y utilice 0,1 mL para el ensayo. Si desea analizar un mayor volumen de muestra, ajuste el pH de la solución a aproximadamente 8,4 antes de realizar el análisis. Los zumos con color se deben decolorar según se describe en el aparato de "Consideraciones Generales (e)" más arriba. Utilice 0,10 a 2 mL de muestra para el ensayo (ajuste el pH a 8,4 si requiere volúmenes más grandes). *Normalmente no hay que diluirlo y un volumen de muestra de 0,1 mL es adecuado.*

### **(c) Determinación del ácido acético en vinagre.**

Diluya la muestra según la tabla de dilución para el ensayo. *Normalmente una dilución de 1:500 y un volumen de muestra de 0,1 mL es adecuado.*

### **(d) Determinación del ácido acético en salsas y aliños amargos.**

Separe los sólidos del componente líquido. Añada 1 g de muestra a 40 mL de agua y ajuste el volumen a 100 mL. Guarde la solución a 4°C durante 20 min para conseguir que se separe la grasa. Filtre una parte alícuota de capa acuosa, tirando los primeros mL. Disuelva una parte alícuota del volumen filtrado según la tabla de dilución, si fuera necesario. *Normalmente, no es necesario una dilución y un volumen de muestra de 0,1 mL es adecuado.*

### **(e) Determinación del ácido acético en la cerveza.**

Desgasifique la cerveza filtrándola o removiéndola durante 5 min. Analice la muestra sin diluir. *Normalmente, no es necesaria ninguna dilución y un volumen de muestra de 0,2 mL es adecuado.*

### **(f) Determinación del ácido acético en el queso duro.**

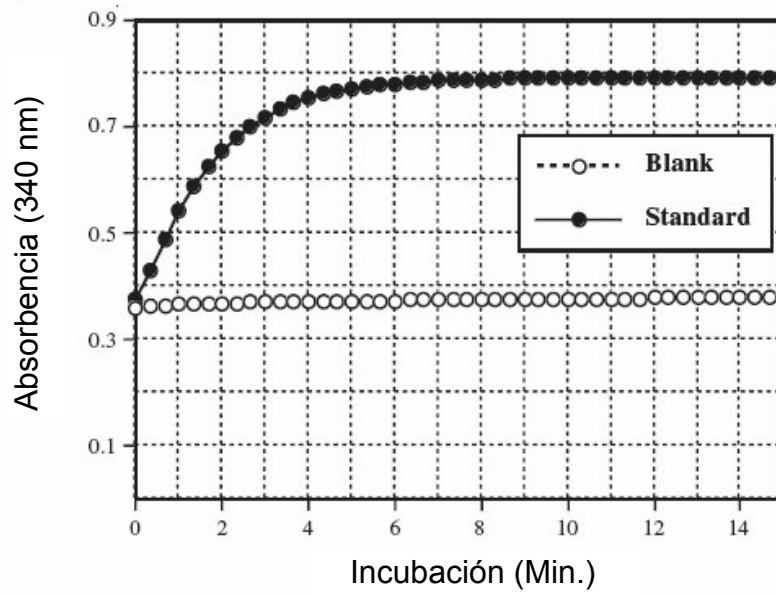
Pese aproximadamente 2 g de queso en un matraz de 100 mL y añada 60 mL de agua destilada. Incube el matraz a 60°C aproximadamente durante 20 min, agitándolo de forma intermitente. Enfríe el matraz a 20-25°C y llénelo hasta la marca con agua destilada. Guarde el matraz a 4°C durante 30-60 min y filtre después una parte alícuota en papel Whatman GF/A filtro de fibra de vidrio. Utilice la solución que ha filtrado en el ensayo. *Normalmente, no es necesaria ninguna dilución y un volumen de muestra de 0,2 mL es adecuado.*

### **(g) Determinación del ácido acético en la mayonesa o el yogurt.**

Ponga aproximadamente 5 g de muestra en un matraz de 100 mL y añada aproximadamente 50 mL de agua destilada. Caliéntelo en agua caliente a 50-60°C durante 20 min agitándolo de forma intermitente. Enfríe el matraz a aproximadamente 20°C y añada agua destilada hasta la marca. Meta el matraz en un frigorífico durante 30 min. Filtre la solución en un papel Whatman GF/A de filtro de fibra de vidrio y utilice la solución aclarada o ligeramente turbia en el ensayo. *Normalmente, no se requiere dilución y un volumen de muestra de 0,1 mL es adecuado.*

## **REFERENCIAS:**

1. Beutler, H. -O. (1988). Determination with Acetyl-CoA Synthetase. In *Methods of Enzymatic Analysis* (Bergmeyer, H. U., ed.), 3rd ed., **Vol.VI**, pp. 639-645, VCH Publishers (UK) Ltd., Cambridge, UK.
2. AOAC Official Methods of Analysis (2002). 17th ed., Chapter 32, pp. 47-48.
3. Green, A. (1971). In *Biochemistry of fruits and their products*. (Hulme, C. H., ed.), **Vol 2**, Chapter 11, Academic Press, London and New York.
4. Chemistry of Winemaking (1964). *Advances in Chemistry Series*, **137**, A. Dinsmoor Webb. American Chemical Society, pp. 136-137.
5. Rankine, B. (2002). *Making good wine*. Pan Macmillan Australia Pty. Ltd., Sydney, Australia.



**Figura 1.** Aumento de la absorción a 340 nm en la incubación de 15  $\mu\text{g}$  de ácido acético con L-malato deshidrogenasa, citrato sintasa y acetilcoenzima A sintetasa en presencia de  $\text{NAD}^+$ .

**NOTAS:**



**Megazyme International Ireland Ltd.,  
Bray Business Park, Bray,  
Co. Wicklow,  
IRLANDA**

**Teléfono: (353.1) 286 1220**

**Fax: (353.1) 286 1264**

**Página Web: [www.megazyme.com](http://www.megazyme.com)**

**Correo electrónico: [info@megazyme.com](mailto:info@megazyme.com)**

---

**SIN GARANTÍA**

La información contenida en este librete está, al mejor de nuestro conocimiento, verdad y exacto, pero puesto que las condiciones del uso están más allá de nuestro control, de ninguna garantía se da o se implica por lo que se refiere a cualquier recomendación o sugerencia que puedan ser hechas o que ningún uso no infringirá ninguna patentes.