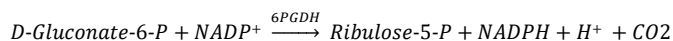
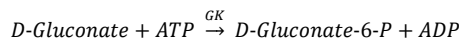


UTILIDAD DEL TEST

El ácido D-glucónico (conjuntamente con su forma ciclada, D-Gluconolactona) es un parámetro para evaluar el estado sanitario de la uva. Su concentración aumenta en proporción al grado de infección por hongos (por ejemplo, del género *Botrytis*). Es muy recomendable su determinación cuando el grado de humedad es elevado durante el proceso de maduración de la uva para adaptar el proceso de vinificación adecuadamente.

MÉTODO

La D-gluconato quinasa (GK) cataliza la reacción del ácido D-glucónico con adenosin-5'-trifosfato (ATP) para producir 6-fosfato-D-gluconato, el cual es transformado a ribulosa-5-fosfato por medio de la D-gluconato-6-fosfato deshidrogenasa (6-PGDH) liberando NADPH.



El aumento de absorbancia a 340 nm asociada a la formación de NADPH es directamente proporcional a la concentración de ácido glucónico en la muestra.

La D-gluconolactona puede ser determinada conjuntamente si la muestra es tratada previamente en medio básico (pH >11) para transformarla en D-gluconato.

CONTENIDO

R1	2 x 30 mL	Tampón 100 mM, pH 7.6, ATP 8 mM, NADP ⁺ 1.5 mM
R2	1 x 15 mL	GK (>5 UI/L), 6PGDH (>5 UI/L)
CTRL	1 x 3 mL	Ácido glucónico 1 g/L (0,85 – 1,15 g/L)

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Los reactivos están listos para uso y son estables hasta la fecha de caducidad conservados a 2-8 °C. No congelar.

Descartar si la absorbancia del blanco es superior a 0.500 OD a 340 nm.

MUESTRAS

Para uso con muestras de vino y otras bebidas.

Las muestras deben estar libres de turbidez y partículas. Centrifugar o filtrar en caso necesario. La presencia de CO₂ introduce inestabilidad en la medida. Muestras que contengan CO₂ se deben desgasificar previamente. En muestras con intensidad de color muy alta, el pigmento puede interferir en la medida. Tratar con PVPP (0.1 g por cada 10 mL) para reducir el nivel de color. Muestras con concentración superior al rango de medida deben diluirse acordemente con agua estilada. Multiplicar el resultado final por el factor de dilución.

Para incluir la D-gluconolactona en la medida trate la muestra con hidróxido de potasio 2M suficiente como para llevar el pH >11 e incubar 10 minutos a 25 °C. Aplicar corrección por dilución en el resultado final. La D-gluconolactona no puede ser determinada de forma independiente del D-glucónico.

PROCEDIMIENTO

Trate calibradores, controles y muestras como 'Muestra'. Utilice agua destilada como 'Blanco'.

Utilice WINECAL (código SY2100) o WINECAL-RTU (código SY2100RTU) como calibrador.

Los volúmenes referidos pueden ajustarse a otros procedimientos analíticos. La funcionalidad esperada puede variar si se utilizan razones S:R1:R2 diferentes.

Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Muestra/Std
Reactivo 1	720 µL	720 µL
Agua destilada	9 µL	--
Muestra/Std	--	9 µL

Mezclar e incubar durante 1 minuto a 37 °C. Leer la absorbancia a 340 nm (A₁)

Después añadir a la cubeta:

	Reac. Blanco	Reac. Muestra
Reactivo 2	180 µL	180 µL

Mezclar e incubar durante 3 minutos a 37 °C. Leer la absorbancia a 340 nm (A₂).

La concentración de D-glucónico se determina como:

$$D - Gluconic = \frac{(A_2 - 0.80x A_1)_{sample} - (A_2 - 0.80x A_1)_{blank}}{(A_2 - 0.80x A_1)_{standard} - (A_2 - 0.80x A_1)_{blank}} \times C \text{ g/L}$$

El factor 0.80 se usa para corregir la absorbancia por la dilución tras añadir R2..C es el valor de concentración indicado en la etiqueta del calibrador.

APLICACIÓN PARA ANALIZADORES DIONYSOS®

Modelo Dionysos	150	240
Nombre	GLUCONICO	
Método	Punto Final A	
Dirección	Creciente	
Onda Principal	340	
Onda Secundaria	--	
Muestra	3	
Reactivo 1	240	
Reactivo 2	60	
Calibración	Lineal	
Ciclo Blanco [150 240]	3 - 4	3 - 4
Ciclo Lectura [150 240]	21 - 22	31 - 32
Unidades	g/L	
Decimales	0.00	
Rango medida	0,10 ~ 2,00	
R1 Lim. Abs	5000	
Ratio Dil. Auto.	--	
Vol. Muestra Dil. Auto	--	

El procedimiento es lineal hasta 2.00 g/L. calibre con un único punto utilizando el calibrador de mayor concentración, o con varios puntos según determine su procedimiento de trabajo.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

Límite de Cuantificación (LoQ): 0.10 g/L

Límite de Linealidad: 2.00 g/L

NOTAS

El uso de una muestra control de forma regular proporciona información sobre el estado de calibración y posibles deterioros del reactivo. En caso de desviaciones superiores al 15% sobre el valor diana se aconseja revisar el estado de calibración de la prueba.

REFERENCIAS

1. Compendium of International methods of analysis – OIV, Vol1&2 (2008).
2. Resolution OIV-Oeno 622-2019. Determination Of D-Gluconic Acid In Wines And Musts By Automated Enzymatic Method

