

UTILIDAD DEL TEST

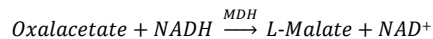
El ácido cítrico no es muy abundante en la uva en comparación con otros ácidos orgánicos. Al final de la fermentación puede añadirse para elevar la acidez, lo que aumenta la eficacia de los sulfitos presentes. También es utilizado para prevenir la turbidez férrica, ya que forma complejos solubles con hierro y cobre, aunque esta práctica tiene restricciones legales. El ácido cítrico también aporta sensación de frescura al vino, aunque en cantidades excesivas resulta desagradable.

MÉTODO

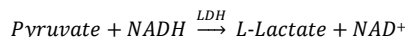
El ácido cítrico se convierte en oxalacetato y oxalato por acción de la citrato liasa (CL).



La MDH presente favorece esta reacción eliminando el oxalacetato del medio, transformándolo a malato con formación de NAD⁺.



En caso de descarboxilación espontánea del oxalacetato a piruvato (por ejemplo, en presencia de altas concentraciones de metales divalentes) la presencia de LDH permite contabilizar el piruvato formado transformándolo a lactato, con formación de NAD⁺.



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

CONTENIDO

R1	1 x 13,5 mL	Tampón TRIS 100 mM, LDH (>5 U/mL), MDH (>5 U/mL)
R2	1 x 1,5 mL	NADH
R3	1 vial	CL liofilizada
R4	1 x 3 mL	Tampón TRIS 100 mM
CTRL	1 x 3 mL	Citrato 0,50 g/L (0,53 – 0,67 g/L)

Este kit incluye un vial vacío para la preparación del Reactivo 2.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Reactivo 1: Vaciar el contenido de R2 en la botella de R1. Mezclar suavemente evitando la formación de espuma. Esta mezcla es estable hasta 15 días conservada a 2-8 °C y evitando contaminación. No congelar.

Reactivo 2: Resuspender el contenido de un vial R3 con la totalidad de R4, asegurándose de que todo el contenido ha sido disuelto. Utilizando una pipeta, transferir esta solución a la botella vacía suministrada. Esta mezcla es estable hasta 15 días conservada a 2-8 °C y evitando contaminación. No congelar.

Descartar si la absorbancia del blanco es inferior a 1.000 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 acordeamente con agua estilada. Multiplicar el resultado final por el factor de dilución.

PROCEDIMIENTO

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

Utilice WINECAL (código SY2100) o WINECALRTU (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:

	Reac. Blanco	Reac. Muestra
Reactivo 1	800 µL	800 µL
Agua destilada	12 µL	--
Muestra/Patrón	--	12 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	120 µL	120 µL

Mezclar e incubar durante 10 minutos a 37 °C. Leer la absorbancia a 340 nm (A₂).

La concentración de ácido cítrico se determina como:

$$\text{Citric} = \frac{(A_2 - 0.87 \times A_1)_{\text{sample}} - (A_2 - 0.87 \times A_1)_{\text{blank}}}{(A_2 - 0.87 \times A_1)_{\text{standard}} - (A_2 - 0.87 \times A_1)_{\text{blank}}} \times C \text{ g/L}$$

El factor 0.87 se usa para corregir la absorbancia por la dilución tras añadir R2. C es el valor de concentración indicado en el calibrador para cítrico.

APLICACIÓN PARA ANALIZADORES DIONYSOS®

Modelo Dionysos	150	240
Nombre	CITRICO	
Método	Punto Final A	
Dirección	Creciente	
Onda Principal	340	
Onda Secundaria	--	
Muestra	3	
Reactivo 1	200	
Reactivo 2	30	
Calibración	Linear	
Ciclo Blanco [150 240]	3 - 4	3 - 4
Ciclo Lectura [150 240]	21 - 22	31 - 32
Unidades	g/L	
Decimales	0.00	
Rango medida	0.06 ~ 1.00	
R1 Lim. Abs	10000	
Ratio Dil. Auto.	--	
Vol. Muestra Dil. Auto	--	

El procedimiento es lineal hasta 1.00 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): 0.06 g/L

Límite de Linealidad: 1.00 g/L

NOTAS

Se recomienda utilizar vinos control para verificar la calidad de la calibración. Cada laboratorio debe establecer sus propios criterios de aceptación, así como las acciones correctivas necesarias en caso de rechazo.

REFERENCIAS

1. Compendium of International methods of analysis – OIV, Vol1&2 (2008)
2. Bermejer, HU. Methods of Enzymatic Analysis, 2nd Ed. Vol. 1, p. 112-117. Academic Press, Inc. NY. (1974).

