



## UTILIDAD DEL TEST

La presencia de cobre en vino es habitual debido tanto a los tratamientos fitosanitarios realizados sobre la uva, así como a la adición controlada de sales de cobre como parte del proceso de elaboración del vino. La mayor parte del cobre es precipitado en forma de sulfuros y filtrado posteriormente. Sin embargo, una concentración residual alta del mismo es tóxica y puede afectar severamente el proceso de fermentación alcohólica, acelerar la oxidación fenólica, ocasionar turbidez y producir precipitados en medio reductores. El control de la concentración de cobre es fundamental para asegurar tanto la estabilidad durante el proceso de maduración como garantizar el consumo seguro.

## MÉTODO

El cobre reacciona de forma específica con el cromógeno 4-(3,5-dibromo-2-piridilazo)-N-etil-N-sulfopropilnilina (3,5-diBr-PAESA) en presencia de dodecil-sulfato sódico (SDS). El aumento de color a 578 nm es directamente proporcional a la concentración de cobre.

## CONTENIDO

R1	1 x 30 mL 	Tampón acetato, pH 4.5, agentes enmascarantes <i>ATENCIÓN: H319 Provoca grave irritación ocular. P262 Evitar el contacto con los ojos, la piel y la indumentaria. P305+P351+P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.</i>
R2	1 x 30 mL 	Tampón acetato, pH 4.5 <i>ATENCIÓN: H319 Provoca grave irritación ocular. P262 Evitar el contacto con los ojos, la piel y la indumentaria. P305+P351+P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.</i>
R3	1 x vial	Ácido Ascórbico (polvo)
CTL	1 x 5 mL	Solución Cobre (1 mg/L)
CAL	1 x 5 mL	Solución de cobre (2 mg/L)

## PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Reactivo 1: Añadir una espátula (50-100 mg) de R3 a un vial de R1. Mezclar suavemente evitando la formación de espuma. El reactivo de trabajo es estable hasta 15 días conservado a 2-8 °C y evitando contaminaciones.

Reactivo 2: Listo para uso

## 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 CO<sub>2</sub> introduce inestabilidad en la medida. Muestras que contengan CO<sub>2</sub> 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 acodidamente 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'.

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

Pipetear en una cubeta:

	Reac. Blank (RB)		Reac. Muestra (RS)	
	Blanco	Muestra	Blanco	Muestra
Reactivo 1	400 µL	400 µL	--	--
Reactivo 2	--	--	400 µL	400 µL
Agua destilada	120 µL	--	120 µL	--
Muestra/Std	--	120 µL	--	120 µL

Mezclar e incubar durante 5 minutos a 37 °C. Leer la absorbancia a 578 nm para el blanco de reacción (RB) y la reacción de muestra (RS) (A).

La concentración de cobre se determina como:

$$T_{RB} = \frac{(A_{sample} - A_{blank})}{(A_{std} - A_{blank})} \times C \text{ mg/L} \quad T_{RS} = \frac{(A_{sample} - A_{blank})}{(A_{std} - A_{blank})} \times C \text{ mg/L}$$

$$Copper = (T_{RS} - T_{RB}) \text{ mg/L}$$

## APLICACIÓN PARA ANALIZADORES DIONYSOS®

GENERAL	Nombre	COPPER-RB	COPPER-RT
	Método	End Point A	End Point A
	Dirección	Creciente	Creciente
	Long. Onda Principal	578	578
	Long. Onda Secundaria	--	--
	Muestra	8	8
	Reactivo 1	200	200
	Reactivo 2	--	--
	Curva calibración	Factor*	Reg. Lineal
	Ciclo Blanco	14/315 ~ 18/405	14/315 ~ 18/405
	Ciclos Final Reacción	36/810 ~ 40/900	36/810 ~ 40/900
	Unidades	mg/L	mg/L
	Decimales	0.00	0.00
	Rango Medida	0.1 ~ 2	0.1 ~ 2
MONITOR	R1 Lím. Abs	0,5	0,5
	Ratio Dil. Auto.	5	5
	Vol. Muestra Dil. Auto	40	40
	Validez	1 mes	1 mes
	Calibración		

\*El factor a utilizar es el inverso de la pendiente de la recta de calibración CU-TEST.

Utilizar R1 para la reacción CU-BLANK y R2 para la reacción CU-TEST.

Utilizar la opción de métodos calculados para COBRE como:

[COBRE]  
 [CU-TEST]-[CU-BLANK]  
 Units: mg/L  
 Reference range: 0.1-2  
 Print experimental test: No

El procedimiento es lineal hasta 2 mg/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): 0.1 mg/L

Límite de Linealidad: 2 mg/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, Vol 1&2 (2008).
2. Abe A, Yamashita S, Noma A. Clin. Chem 1989; 35: 552-554.
3. Ribéreau-Gayon J, Peynaud E, Sudraud P, Ribéreau-Gayon P. Tratado de Enología. Ciencias y técnicas del vino. Vol 1, pp 259-261 (2008).

