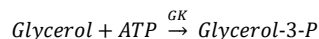


UTILIDAD DEL TEST

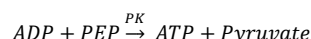
El glicerol (o glicerina) es un subproducto natural de la fermentación alcohólica, aportando sensación de cuerpo en boca. El contenido de glicerol está directamente relacionado con el grado de madurez de la uva, los microorganismos presentes y el procedimiento de fermentación utilizado (temperatura, especies de levaduras, fuente de nitrógeno).

MÉTODO

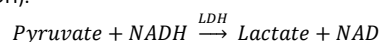
La Glicerolquinasa (GK) cataliza la fosforilación del glicerol mediante la acción de la adenosin-5'-trifosfato (ATP) a dihidroxiacetonafofato (DAP) y peróxido de hidrógeno.



ADP revertido a ATP mediante la reacción de fosfoenolpiruvato a piruvato catalizada por la piruvato kinasa (PK).



El piruvato es transformado en lactate consumiendo NADH⁺ mediante la lactate deshidrogenasa (LDH).



La concentración de glycerol es proporcional a la disminución de absorbancia a 340 nm.

CONTENIDO

R1	2 x 30 mL	Tampón pH 7.20, ATP 8mM, PEP 45 mM, GK (>200 U/mL), PK (>30 U/mL), LDH (>200 U/mL)
CTRL	1 x 3 mL	Glicerol 0.2 g/L (equivalente a 5,4 – 6,6 g/L)

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

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

Descartar si la absorbancia del blanco es inferior a 1.000 a 340 nm.

MUESTRAS

Para uso con muestras de vino.

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.

En procedimientos manuales, diluir la muestra 1:30 con agua destilada (1 parte de muestra + 29 partes de agua destilada). Muestras con concentración superior al rango de medida pueden necesitar diluciones adicionales. Multiplicar el resultado final por el factor de dilución.

En procedimientos automatizados, indique un factor de predilución de 1:30 en el apartado correspondiente de la aplicación. El control está listo para el uso: no diluir

PROCEDIMIENTO

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

Utilice WINECAL (código SY2100) o WINECAL-RTU (código SY2100R) como calibrador. El calibrador está listo para uso y no necesita dilución adicional para la determinación de glicerol.

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

Pipetear en una cubeta:

	Reac. Blanco	Reac. Muestra
Reactivo 1	900µL	900µL
Agua destilada	9 µL	--
Muestra/Patrón	--	9 µL

Mezclar e incubar durante 10 minuto a 37 °C. Leer la absorbancia a 340 nm (A₁).

La concentración de glicerol se determina como:

$$\text{Glycerol} = \frac{(A_1)_{\text{sample}} - (A_1)_{\text{blank}}}{(A_1)_{\text{standard}} - (A_1)_{\text{blank}}} \times 30 \times C \text{ g/L}$$

C es el valor de concentración indicado en el calibrador.

APLICACIÓN PARA ANALIZADORES DIONYSOS®

Modelo Dionysos	150	240
Nombre	GLICEROL	
Método	Punto Final A	
Dirección	Decreciente	
Onda Principal	340	
Onda Secundaria	--	
Muestra	3	
Reactivo 1	300	
Reactivo 2	--	
Calibración	Lineal	
Ciclo Blanco [150 240]	2 - 2	2 - 2
Ciclo Lectura [150 240]	18 - 19	20 - 21
Unidades	g/L	
Decimales	0.00	
Rango medida	0.01 ~ 0.4	
R1 Lim. Abs	10000	
Ratio Dil. Auto.	30	
Vol. Muestra Dil. Auto	10	

Prediluir la muestra de forma automática en un factor 30.

El CONTROL ya está prediluido y listo para su uso. Usar como control para evitar una dilución adicional.

El procedimiento es lineal hasta 12 g/L (0.4 g/L multiplicado por 30 (factor de Dilución). 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): 0.03 g/L

Límite de Linealidad: 12 g/L (=0.4 x factor dilución muestra)

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). Method OIV-MA-AS312-05. Resolution 377/2009
2. Bermejer, HU. Methods of Enzymatic Analysis, 2nd Ed. Vol. 1, p. 112-117. Academic Press, Inc. NY. (1974).