

## UTILIDAD DEL TEST

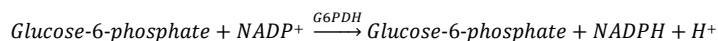
D-Glucosa y D-Fructosa son los principales azúcares reductores (fermentables) presentes en la uva y en otras frutas. El contenido de D-glucosa y D-fructosa en la uva es similar (en una relación entre 0.74 y 1.12), con pequeñas variaciones en función del estado de madurez de la uva y su variedad. Dado que la D-glucosa es fermentada más rápidamente por las levaduras, el seguimiento de la relación entre D-glucosa y D-fructosa, además de su suma total, proporciona información tanto sobre el proceso de fermentación como del grado final de dulzor esperado. Los niveles de fructosa se calculan a partir del contenido total de glucosa y fructosa (código SY2404) restando directamente el contenido de glucosa.

## MÉTODO

La hexoquinasa (HK) cataliza la fosforilación de D-Glucosa y D-Fructosa mediante la adenosin-5'-trifosfato ATP.



La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) cataliza la oxidación de la glucosa-6-fosfato a 6-fosfogluconato mediante la reducción de NADP<sup>+</sup>.



El aumento de absorbancia a 340 nm asociada a la formación de NADPH es directamente proporcional a la concentración de D-glucosa en la muestra.

## CONTENIDO

R1	2 x 30 mL	Tampón TEA 100 mM pH 7.6, ATP 4 mM, NADP <sup>+</sup> 3mM
R2	1 x 15 mL	HK (>0.5 UI/L), G6PDH (>1.8 UI/L)
CTRL	1 x 3 mL	Control Glucosa 1,5 g/L (1,35-1,65 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 superior a 0.300 a 340 nm.

## MUESTRAS

Para uso con muestras de vino y mosto.

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. Las muestras con concentración superior al intervalo de medida se deben diluir acordemente con agua destilada y 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) or 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	720 µL	720 µL
Agua destilada	9 µL	--
Muestra/Patrón	--	9 µL

Mezclar e incubar durante 1 minuto a 37 °C. Leer la absorbancia a 340 nm (A<sub>1</sub>).

Después añadir a la cubeta:

	Reac. blanco	Reac. muestra
Reactivo 2	180 µL	180 µL

Mezclar e incubar durante 5 minutos a 37 °C. Leer la absorbancia a 340 nm (A<sub>2</sub>).

La concentración de glucosa se determina como:

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

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

## APLICACIÓN PARA ANALIZADORES DIONYSOS®

Modelo Dionysos	150	240
Nombre	GLUCOSA	
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]	20 - 21	31 - 32
Unidades	g/L	
Decimales	0.00	
Rango medida	0.03 ~ 8	
R1 Lim. Abs	3000	
Ratio Dil. Auto.	--	
Vol. Muestra Dil. Auto	--	

El procedimiento es lineal hasta 8 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): 0.03 g/L

Límite de Linealidad: 8 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, 2<sup>nd</sup> Ed. Vol. 1, p. 112-117. Academic Press, Inc. NY. (1974).

