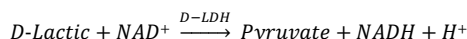


## UTILIDAD DEL TEST

La mayor parte del ácido láctico presente en el vino se produce principalmente durante la fermentación maloláctica debido a la transformación de L-málico en L-láctico, por lo que la mayoría de láctico en el vino (hasta un 75%) corresponde al isómero L. Por el contrario, el D-láctico se origina a partir del metabolismo de la glucosa (y otras hexosas) por bacterias lácticas (en su mayoría *Leuconostoc* y *Lactobacillus*). La competencia de estas bacterias lácticas con las levaduras por el consumo de los azúcares podría llegar a inhibir la fermentación alcohólica. La presencia de D-láctico superior a 0.3 g/L es un signo de contaminación bacteriana.

## MÉTODO

La D-Lactato deshidrogenasa (D-LDH) reacciona de forma específica con el D-láctico para formar piruvato con reducción de NAD<sup>+</sup>:



El incremento de absorbancia a 340 nm asociado a la producción de NADH es directamente proporcional a la concentración de D-láctico en la muestra.

## CONTENIDO

R1	2 x 30 mL	Tampón TRIS 00 mM pH 9.0, D-LDH (>50 U/mL)
R2	1 x 15 mL	NAD <sup>+</sup> 20 mM, conservantes  <i>ATENCIÓN: H302 Nocivo por ingestión. P301+P310: EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.</i>
CTRL	1 x 3 mL	Ácido D-Láctico, 0.3 g/L (2,5 – 3,4 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 0.500 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 CO<sub>2</sub> introduce inestabilidad en la medida. Muestras que contengan CO<sub>2</sub> deben desgasificarse 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'.

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 10 minutos a 37 °C. Leer la absorbancia a 340 nm (A<sub>2</sub>).

La concentración de D-láctico se determina como:

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

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	D-LACTIC	
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	0.02 ~ 0.60	
R1 Lim. Abs	5000	
Ratio Dil. Auto.	--	
Vol. Muestra Dil. Auto	--	

El procedimiento es lineal hasta 0.6 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): 0.02 g/L

Límite de Linealidad: 0.6 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).
3. Zoecklein BW, Fugelsang KC, Gump BH, Nury FS. Wine analysis and production. Van Nostrand Reinhold, 1<sup>st</sup> Ed. (1990).

